



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:
«ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ & ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΜΕΝΩΝ ΕΔΑΦΩΝ»



Εκπόνηση: ΔΕΣΠΟΙΝΑ Ι. ΓΕΩΡΓΙΑΔΟΥ

Εξεταστική επιτροπή:
Δανάη Βενιέρη (επιβλέπουσα)
Νικόλαος Νικολαΐδης
Δανιήλ Μωραΐτης

ΧΑΝΙΑ, ΙΟΥΛΙΟΣ 2009

Ευχαριστίες

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της πτυχιακής μου εργασίας κ. Δανάη Βενιέρη, λέκτορα, για την πολύτιμη βοήθεια και την άψογη συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας αυτής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, τον κ. Νικόλαο Νικολαΐδη, καθηγητή, και τον Δρ. Δανιήλ Μωραΐτη, για τις χρήσιμες υποδείξεις τους. Ευχαριστώ ιδιαίτερα την κ. Φωτεινή Σταμάτη για την παραχώρηση των εδαφικών δειγμάτων και τις συμβουλές της, καθώς επίσης και την κ. Άννα Σταυρουλάκη και τον Δρ. Νικόλαο Ξεκουκουλιωτάκη για την πολύτιμη συμβολή τους στην πραγματοποίηση των εργαστηριακών μετρήσεων και την βοήθειά τους καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την οικογένειά μου για την ηθική και οικονομική συμπαράσταση όχι μόνο κατά τη διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας αλλά και καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου. Τέλος, ευχαριστώ ιδιαίτερα τους φίλους μου, και ιδιαίτερα τον κ. Χαρίδημο Κανδαράκη, για την κατανόηση και τη συνεχή ενθάρρυνση στην προσπάθειά μου αυτή.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών, κύριο σκοπό της έρευνας και των πρακτικών διαχείρισης των εδαφών αποτέλεσε η μεγιστοποίηση της αγροτικής παραγωγής. Κατά συνέπεια, αναπτύχθηκαν σύγχρονα γεωργικά συστήματα με μεγάλες παραγωγικές δυνατότητες, ωστόσο, ιδιαίτερα απαιτητικά, με συνέπειες στην ποιότητα του ύδατος και του εδάφους.

Στην παγκόσμια βιβλιογραφία συναντά κανείς πλήθος μελετών που εξετάζουν τους παράγοντες που χαρακτηρίζουν την ποιότητα του εδάφους και που προτείνουν παράλληλα δείκτες εδαφικής ποιότητας ως απάντηση στις αυξανόμενες ανάγκες βελτίωσης και ελέγχου των εδαφών παγκοσμίως. Οι δείκτες ποιότητας του εδάφους μπορεί να είναι φυσικές, χημικές ή βιολογικές ιδιότητες, διαδικασίες, και χαρακτηριστικά που μπορούν να μετρηθούν για τον έλεγχο των μεταβολών στο έδαφος.

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, έγιναν πειράματα προσδιορισμού του άνθρακα και του αζώτου της μικροβιακής βιομάζας, της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης και του περιεχομένου σε υδρογονάνθρακες σε καλλιεργημένα εδάφη από διάφορες περιοχές του Ν. Χανίων, της Κρήτης. Οι δείκτες αυτοί επιλέχτηκαν, μεταξύ άλλων, καθώς παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα και χρησιμοποιήθηκαν με σκοπό την εκτίμηση της ποιότητας των εδαφών αυτών ως προς τη γονιμότητα και την καταλληλότητά τους ως προς την παραγωγική ικανότητα.

Αρχικά, παρουσιάζεται μια βιβλιογραφική επισκόπηση αναφορικά με την ποιότητα των εδαφών και των δεικτών που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της και στη συνέχεια περιγράφονται τα υλικά και οι μέθοδοι που εφαρμόστηκαν για τον υπολογισμό των επιλεγμένων δεικτών.

Ακολουθεί παρουσίαση των αποτελεσμάτων των πειραματικών διαδικασιών και τέλος, γίνεται παράθεση των γενικών και επιμέρους συμπερασμάτων που προέκυψαν κατά την εκπόνηση της μελέτης αυτής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1. Ποιότητα εδάφους	1
1.2. Δείκτες ποιότητας εδάφους	4
1.3. Επιλογή δεικτών	8
1.4. Ερμηνεία μετρήσεων	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΕΠΙΛΟΓΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ	11
2.1. Χρήση βιοχημικών παραμέτρων	11
2.1.1. Η χρήση μεμονωμένων ιδιοτήτων	12
2.1.2. Η χρήση απλών δεικτών	13
2.1.3. Η χρήση σύνθετων δεικτών που προκύπτουν από το συνδυασμό διαφόρων ιδιοτήτων	14
2.2. Επιλογή βιοχημικών παραμέτρων	15
2.3. Μικροβιακή βιομάζα	15
2.4. Δραστηριότητα αφυδρογονάσης	17
2.5. Υδρογονάνθρακες	22
2.6. Μέθοδοι προσδιορισμού	26
2.6.1. Μέθοδοι προσδιορισμού μικροβιακής βιομάζας (C και N)	26
2.6.1.1. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης για το N της μικροβιακής βιομάζας (TKN)	28
2.6.2. Μέθοδοι προσδιορισμού της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης	29
2.6.2.1. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης για την αφυδρογονάση	31
2.6.3. Μέθοδοι προσδιορισμού των υδρογονανθράκων	32
2.6.3.1. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης για τους υδρογονάνθρακες	33
2.7. Μέθοδος εξαγωγής με ζεστό νερό (hot water extraction)	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΜΕΛΕΤΗΣ	36
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	37
4.1. Υλικά	37
4.2. Πειραματικές διαδικασίες	39
4.2.1. Μέτρηση δραστηριότητας αφυδρογονάσης	39
4.2.2. Μέτρηση υδρογονανθράκων	41
4.2.3. Μέτρηση μικροβιακής βιομάζας (C και N)	41
4.2.3.1. Μέτρηση N της βιομάζας	43
4.2.3.2. Μέτρηση C της βιομάζας	45
4.3. Μέθοδος εξαγωγής με ζεστό νερό (hot water extraction)	46
4.3.1. Δραστηριότητα αφυδρογονάσης	46
4.3.2. Υδατάνθρακες	47
4.3.3. Άζωτο βιομάζας	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	49
5.1. Δραστηριότητα της αφυδρογονάσης	49
5.1.1. Αποτελέσματα επεξεργασίας με hot-water	50
5.2. Υπολογισμός υδρογονανθράκων	52
5.2.1. Αποτελέσματα επεξεργασίας με hot-water	53

5.3. Μέτρηση μικροβιακής βιομάζας	55
5.3.1. Μέτρηση N της μικροβιακής βιομάζας	55
5.3.1.1. Αποτελέσματα επεξεργασίας με hot-water.....	56
5.3.2. Μέτρηση C μικροβιακής βιομάζας	58
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	63
6.1. Συμπεράσματα και παρατηρήσεις	63
6.2. Επίλογος	70

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών, κύριο σκοπό της έρευνας και των πρακτικών διαχείρισης των εδαφών αποτέλεσε η μεγιστοποίηση της αγροτικής παραγωγής (Tislade et al., 1993). Κατά συνέπεια, αναπτύχθηκαν σύγχρονα γεωργικά συστήματα με μεγάλες παραγωγικές δυνατότητες, ωστόσο, ιδιαίτερα απαιτητικά, (Altieri, 1999) με συνέπειες στην ποιότητα του ύδατος και του εδάφους.

Τα επόμενα χρόνια, οι πιέσεις στο έδαφος και οι εσωτερικές του λειτουργίες προβλέπεται να αυξηθούν ακόμα περισσότερο, λόγω της αλλαγής κλίματος (ξηρασίες, έντονες υδατοπτώσεις) και των αυξανόμενων ανταγωνιστικών απαιτήσεων από τα συστήματα παραγωγής συγκομιδών, βιολογικών καυσίμων και ξυλείας (Ragnarsdottir). Στην περίπτωση αυτή, ο ρυθμός σχηματισμού του εδάφους θα είναι κατά πολύ πιο αργός έναντι του ρυθμού εδαφικής απώλειας (European Commission (EC), 2002), και ως εκ τούτου, για να αποφευχθούν δυσάρεστες συνέπειες, είναι πρωταρχικής σημασίας το έδαφος κατά τη διαχείρισή του να θεωρείται ως μη ανανεώσιμος φυσικός πόρος και να προωθηθεί η ανάπτυξη εναλλακτικών βιώσιμων συστημάτων διαχείρισης των εδαφών που να ενισχύουν την οικολογική λειτουργία τους παρά να προωθούν την επιδείνωσή τους. (Stamati F., Nikolaidis N., Venieri D., Psillakis E., Kalogerakis N.)

1.1. Ποιότητα εδάφους

Στην παγκόσμια βιβλιογραφία συναντά κανείς πλήθος μελετών που εξετάζουν τους παράγοντες που χαρακτηρίζουν την ποιότητα του εδάφους και που προτείνουν παράλληλα δείκτες εδαφικής ποιότητας ως απάντηση στις αυξανόμενες ανάγκες βελτίωσης και ελέγχου των εδαφών παγκοσμίως. Το κύριο ενδιαφέρον των μελετών αυτών εστιάζεται στην πολυπλοκότητα (απαίτηση μέτρησης μεγάλου αριθμού εδαφικών ιδιοτήτων) και τη συγκρισιμότητα των δεικτών αυτών (μη παγκοσμίως εφαρμόσιμοι). Κατά γενική ομολογία, οι προτεινόμενοι δείκτες θα πρέπει να

απεικονίζουν τις σημαντικές οικολογικές λειτουργίες του εδάφους, να έχουν χαμηλό κόστος και να παρουσιάζουν ακρίβεια και αρκετή ευαισθησία στις αλλαγές στην εδαφική ποιότητα και λειτουργία.

Όσον αφορά στον καθορισμό της εδαφικής ποιότητας, πρόσφατα έχει αναγνωριστεί η ουσιαστική συμμετοχή του εδάφους στην παραγωγή προϊόντων και στην εξυγίανση του νερού και της ατμόσφαιρας, υπογραμμίζοντας κατά συνέπεια το ρόλο του εδάφους τόσο στην παραγωγή όσο και στην περιβαλλοντική ποιότητα. Το γεγονός αυτό έχει οδηγήσει σε μια αφθονία ορισμών της εδαφικής ποιότητας, ξεκινώντας από μια καθαρά γεωργική άποψη και καταλήγοντας σε περιβαλλοντική προοπτική. Ωστόσο, είναι πλέον ευρέως αποδεκτός ο ορισμός των Karlen et al. (1997): *«η εδαφική ποιότητα είναι η ικανότητα ενός συγκεκριμένου τύπου εδάφους να λειτουργεί, μέσα στα φυσικά ή ελεγχόμενα όρια ενός οικοσυστήματος, να στηρίζει τη φυτική και τη ζωική παραγωγικότητα, να διατηρεί ή να βελτιώνει την ποιότητα των υδάτων και της ατμόσφαιρας, και να ενισχύει την ανθρώπινη υγεία και δραστηριότητα».*

Ομοίως, έχουν γίνει προσπάθειες για το διαχωρισμό της έννοιας της εδαφικής ποιότητας από αυτήν της εδαφικής υγείας. Τα όρια των δύο εννοιών δεν είναι ιδιαίτερα σαφή, αλλά αυτήν την περίοδο γίνεται αποδεκτό ότι ο όρος ποιότητα αναφέρεται στην ικανότητα του εδάφους να πραγματοποιεί μια συγκεκριμένη λειτουργία, ενώ η υγεία αναφέρεται στη γενική κατάστασή του εδάφους.

Γενικά, θα μπορούσαμε να πούμε ότι υπάρχει μια σύγχυση σχετικά με τον προσδιορισμό της ποιότητας του εδάφους κι αυτό γιατί οι διάφοροι ερευνητές ακολουθούν διαφορετικές μεθόδους και εξετάζουν διαφορετικές παραμέτρους ή συνδυασμούς αυτών καθώς δεν έχουν καταλήξει σε μια συγκεκριμένη, κατάλληλη και ευρέως αποδεκτή μέθοδο εκτίμησης της εδαφικής ποιότητας.

Παράλληλα, ένας σημαντικός αριθμός μελετών προτείνει, για τον προσδιορισμό της ποιότητας ενός εδάφους, το βέλτιστο επίπεδο της ποιότητας με το οποίο θα πρέπει να συγκρίνεται κάθε φορά η ποιότητα του υπό μελέτη εδάφους. Γενικά, διακρίνονται δύο απόψεις: η πρώτη θεωρεί ότι ένα μέγιστης ποιότητας έδαφος είναι αυτό που

βρίσκεται σε ισορροπία με όλα τα συστατικά του περιβάλλοντος, για παράδειγμα, ένα πολύ καλής ποιότητας έδαφος (τέλειο έδαφος) που αναπτύχθηκε κάτω από μια πολύ καλής ποιότητας βλάστηση. Η δεύτερη άποψη υποστηρίζει ότι έδαφος υψηλής ποιότητας είναι αυτό που είναι ικανό να διατηρεί υψηλή παραγωγικότητα ενώ παράλληλα να προκαλεί τη μικρότερη δυνατή περιβαλλοντική διαταραχή.

Η άποψη του τέλειου εδάφους δε χρησιμοποιείται συχνά και έχει αμφισβητηθεί από πολλούς μελετητές, καθώς στην πλειοψηφία του αναπτυγμένου σύγχρονου κόσμου τα εδάφη αυτά έχουν εκλείψει. Ακόμα, η διατήρηση δειγμάτων τέτοιων εδαφών σε μουσεία και ερευνητικά κέντρα ενδεχομένως να έχει επηρεάσει κάποιες ιδιότητες τους με αποτέλεσμα να αμφισβητείται η χρήση τους ως δείκτες της εδαφικής ποιότητας.

Η δεύτερη άποψη θεωρείται πιο σωστή καθώς η παραγωγικότητα θεωρείται ως η κύρια λειτουργία του εδάφους, δικαιολογώντας, με τον τρόπο αυτό, τον ορισμό της εδαφικής ποιότητας. (F. Gil-Sotres, C. Trasar-Cepeda, M.C. Leirós and S. Seoane, 2004)

Καθώς δεν υπάρχει ακριβής ορισμός της ποιότητας του εδάφους, οι διάφοροι μελετητές μπορούν να δώσουν οποιαδήποτε σημασία ταυιάζει στην έρευνά τους κάθε φορά, η οποία δεν είναι απαραίτητα ανακριβής, αλλά ίσως αυθαίρετη, καθώς συμπεριλαμβάνει εκείνες τις παραμέτρους που ενδιαφέρουν τον εκάστοτε μελετητή. Επομένως, ίσως θα ήταν προτιμότερο, αντί να γίνονται προσπάθειες να προσδιοριστεί η ποιότητα του εδάφους, να γίνεται λόγος για την «έννοια της ποιότητας του» καθώς, σύμφωνα με τους Sojka και Urchurch (1999), οτιδήποτε μπορεί να οριστεί απείρως είναι πρακτικά μη προσδιορίσιμο.

Εντούτοις, παρά τη δυσκολία εύρεσης ενός κατάλληλου ορισμού, η διατήρηση της εδαφικής ποιότητας είναι κρίσιμη για το περιβάλλον. (Smith et al., 1993; Arshad and Martin, 2002), αν και αυτό είναι ένα σύνθετο θέμα λόγω της σημασίας του κλίματος, του εδάφους, της βλάστησης, του ανθρώπινου παράγοντα και των αλληλεπιδράσεων τους. Πράγματι, τα εδάφη υπόκεινται σε φυσική ή περιβαλλοντική υποβάθμιση, που συνοδεύεται συχνά από διάβρωση, δύλιση, ακόμα και χωρίς ανθρώπινη επέμβαση (Popp et Al, 2000).

Αναζητώντας στο διαδίκτυο τον όρο «ποιότητα εδάφους», εμφανίζεται ένας τεράστιος αριθμός δημοσιεύσεων (ιδίως μετά το 1940), γεγονός που αποδεικνύει κατά κάποιο τρόπο τη σημασία που αποδίδεται σε αυτό το θέμα. Από το 2000, έχουν εμφανιστεί περισσότερες από 9000 δημοσιεύσεις. Εντούτοις, στην περίπτωση που αναζητήσουμε τους όρους «εκτίμηση ποιότητας εδάφους» ή «δείκτες ποιότητας εδάφους» ο αριθμός των εμφανιζόμενων αποτελεσμάτων είναι κατά πολύ μικρότερος, εκ των οποίων πολύ λίγα παρέχουν έναν δείκτη που να επιτρέπει την αντικειμενική μέτρηση της εδαφικής ποιότητας. Το γεγονός αυτό υπογραμμίζει την άποψη ότι μεγάλο μέρος της επιστημονικής έρευνας προσπαθεί να κάνει αντικειμενική μια περιοχή που είναι υποκειμενική από τη φύση της και δύσκολη να προσδιοριστεί, την ποιότητα του εδάφους. (F. Bastida, A. Zsolnay, T. Hernández, C. García, 2008)

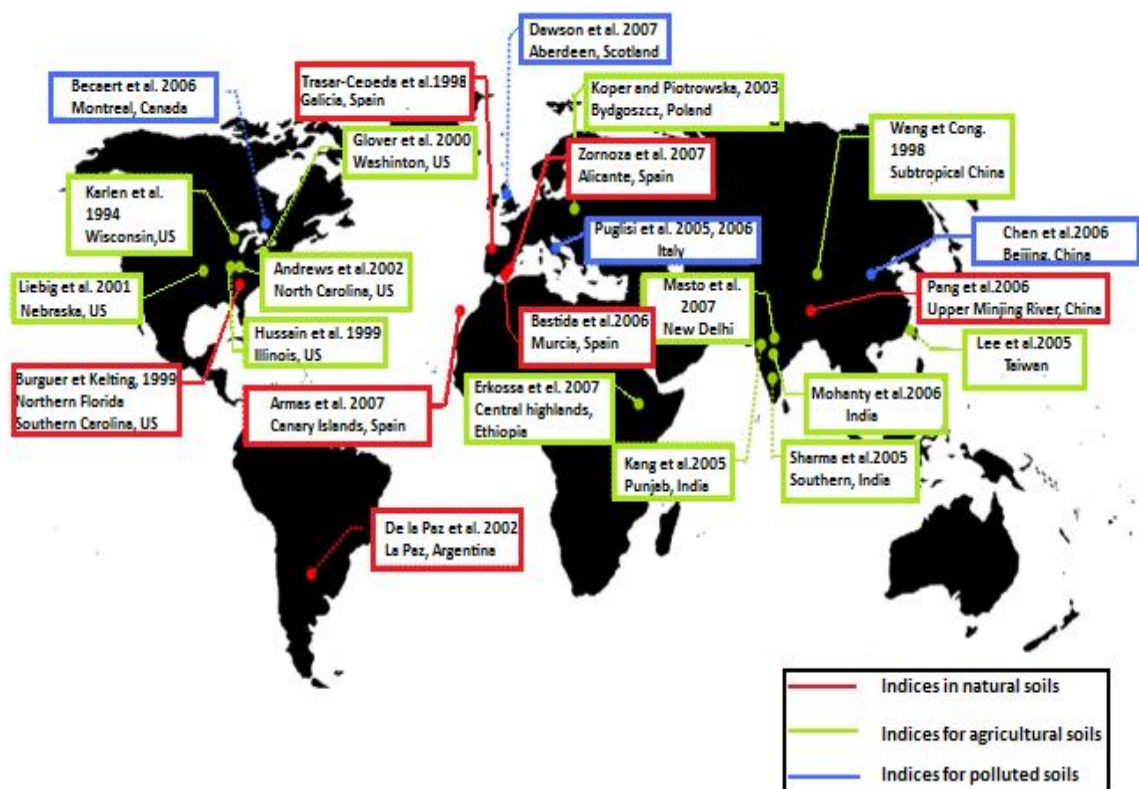
1.2. Δείκτες ποιότητας εδάφους

Ένας δείκτης εδαφικής ποιότητας θα μπορούσε να οριστεί ως το ελάχιστο σύνολο παραμέτρων που, όταν συσχετίζονται, παρέχουν αριθμητικά στοιχεία όσον αφορά στην ικανότητα ενός εδάφους να πραγματοποιεί μια ή περισσότερες λειτουργίες. Ένας δείκτης εδαφικής ποιότητας είναι, συνεπώς, μια μετρήσιμη ιδιότητα που επηρεάζει την ικανότητα ενός εδάφους να πραγματοποιεί μια δεδομένη λειτουργία (Acton and Padbury, 1993). Όλες οι μελέτες για τους δείκτες εδαφικής ποιότητας καταδεικνύουν την πολυπλοκότητα του θέματος καθώς μια ποικιλία φυσικών, χημικών, μικροβιολογικών και βιοχημικών ιδιοτήτων θα πρέπει να ληφθούν υπόψη (F. Bastida, A. Zsolnay, T. Hernández, C. García, 2008)

Στη διεθνή βιβλιογραφία θα συναντήσει κανείς έναν αρκετά μεγάλο αριθμό αναφορών που ασχολείται με την παραγωγή και τη χρήση των δεικτών ποιότητας του εδάφους (Soil Quality Indicators, SQIs), (Εικόνα 1.1.). Οι δείκτες ποιότητας του εδάφους μπορεί να είναι φυσικές, χημικές ή βιολογικές ιδιότητες, διαδικασίες και χαρακτηριστικά που μπορούν να μετρηθούν για τον έλεγχο των μεταβολών στο

έδαφος. Οι πιο χρήσιμοι τύποι δεικτών εξαρτώνται από τις λειτουργίες του εδάφους για τις οποίες αξιολογούνται. Οι λειτουργίες αυτές περιλαμβάνουν:

- την παροχή ενός φυσικού, χημικού και βιολογικού περιβάλλοντος για τους ζωντανούς οργανισμούς
- τη ρύθμιση και το διαχωρισμό της ροής του νερού, την αποθήκευση και ανακύκλωση των θρεπτικών ουσιών και άλλων στοιχείων
- την ενίσχυση της βιολογικής δραστηριότητας και την ποικιλομορφία στη φυτική και ζωική παραγωγικότητα
- το φιλτράρισμα, την αποθήκευση, την υποβάθμιση, τη σταθεροποίηση και την αποτοξίνωση οργανικών και ανόργανων υλικών και
- την παροχή μηχανικής υποστήριξης για τους ζωντανούς οργανισμούς και τις δομές τους.



Εικόνα 1.1. Παγκόσμιος χάρτης των δεικτών εδαφικής ποιότητας για τα καλλιεργημένα (πράσινο χρώμα) και τα μη καλλιεργημένα εδάφη (κόκκινο χρώμα).

Η έντονη προσπάθεια εύρεσης δεικτών εδαφικής ποιότητας, προκύπτει από τη σημασία τους για διάφορα θέματα, όπως:

- την εντατικοποίηση των προσπαθειών για τη διατήρηση και τη βελτίωση των εδαφικών συνθηκών
- την αξιολόγηση των πρακτικών εδαφικής διαχείρισης
- το συσχετισμό της ποιότητας του εδάφους με αυτήν άλλων πόρων
- τη συλλογή των απαραίτητων πληροφοριών και στοιχείων για τον καθορισμό νέων τάσεων και προοπτικών

Η ποιότητα του εδάφους καθορίζεται από την παρατήρηση ή τη μέτρηση διάφορων διαφορετικών ιδιοτήτων ή διαδικασιών. Καμία εδαφική παράμετρος δεν μπορεί από μόνη της να αποτελέσει δείκτη της εδαφικής ποιότητας. Οι δείκτες της ποιότητας του εδάφους μπορούν να διακριθούν σε τέσσερις γενικές ομάδες: σε *οπτικούς, φυσικούς, χημικούς, βιολογικούς και βιοχημικούς δείκτες*.

Οι *οπτικοί δείκτες* προκύπτουν από την παρατήρηση ή τη φωτογραφική ερμηνεία. Η εικόνα του εδάφους, η αλλαγή στο εδαφικό χρώμα, η συγκέντρωση, η απορροή, οι αυλακώσεις, η βλάστηση, τα είδη ζιζανίων και η απόθεση είναι μόνο μερικά παραδείγματα τέτοιων δεικτών. Τα οπτικά στοιχεία μπορεί να αποτελέσουν σαφή ένδειξη για ενδεχόμενη απειλή ή μεταβολή της εδαφικής ποιότητας.

Οι *φυσικοί δείκτες* σχετίζονται με την κατανομή των στερεών μορίων και πόρων. Παραδείγματα φυσικών δεικτών είναι το ειδικό φαινόμενο βάρος, το πορώδες, η συνολική σταθερότητα, η σύσταση και η συμπιεστότητα. Οι φυσικοί δείκτες πρωτίστως απεικονίζουν περιορισμούς στην αύξηση ριζών, διήθηση ή μετακίνηση του ύδατος μέσα στην εδαφοτομή.

Οι *χημικοί δείκτες* περιλαμβάνουν μετρήσεις pH, αλατότητας, ποσοστού οργανικής ουσίας, συγκέντρωσης φωσφόρου, ικανότητας ανταλλαγής κατιόντων, ανακύκλωσης θρεπτικών ουσιών και συγκεντρώσεων στοιχείων που μπορούν να είναι πιθανοί μολυσματικοί παράγοντες (βαρέα μέταλλα, ραδιενεργές ενώσεις, κ.λ.π.) ή εκείνων που απαιτούνται για την ανάπτυξη των φυτών. Η χημική κατάσταση του

εδάφους επηρεάζει τις σχέσεις εδάφους - φυτών, την ποιότητα του ύδατος, την αποθηκευτική ικανότητα, τη διαθεσιμότητα θρεπτικών ουσιών και ύδατος για τα φυτά και τους άλλους οργανισμούς, την κινητικότητα των μολυσματικών παραγόντων και μερικές φυσικές καταστάσεις, όπως την τάση για τη διαμόρφωση σκληρής επιφανειακής στρώσης.

Οι *βιολογικοί δείκτες* περιλαμβάνουν τις μετρήσεις των μικρο- και μακρο-οργανισμών, τη δραστηριότητά τους ή υποπροϊόντα τους. Ο γεωσκώληκας, τα νηματώδη ή οι πληθυσμοί τερμιτών έχουν συχνά προταθεί. Ο ρυθμός αναπνοής μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση της μικροβιακής δραστηριότητας, συγκεκριμένα για τη μικροβιακή αποσύνθεση της οργανικής ουσίας του εδάφους. Το Ergosterol, ένα μυκητιακό υποπροϊόν, έχει χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση της δραστηριότητας των οργανισμών που παίζουν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό και τη σταθερότητα των εδαφών. Μέτρηση των ποσοστών αποσύνθεσης φυτικών υπολειμμάτων ή μετρήσεις των αριθμών σπόρων ζιζανίων ή παθογόνων πληθυσμών μπορούν επίσης να χρησιμεύσουν ως βιολογικοί δείκτες εδαφικής ποιότητας.

Οι *βιοχημικοί δείκτες*. Πρόκειται για τις βιοχημικές ιδιότητες του εδάφους, αλλά δεν υπάρχει ακόμα καμία ευρέως αποδεκτή μέθοδος ως προς τον τρόπο με τον οποίο πρέπει να χρησιμοποιηθούν. Παρατηρώντας τις τάσεις ως προς τη χρήση τους κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας, γενικά, οι βιοχημικές ιδιότητες αφορούσαν τους βιολογικούς κύκλους των στοιχείων (C, N, P και S) και χρησιμοποιούνταν για τη διάγνωση της ποιότητας του εδάφους. Αυτές οι ιδιότητες περιλαμβάνουν και τις γενικές βιοχημικές παραμέτρους (τον C και το N της μικροβιακής βιομάζας, τη δραστηριότητα αφυδρογονασών και τη δυνατότητα ανοργανοποίησης του N) και συγκεκριμένες βιοχημικές παραμέτρους (τη δραστηριότητα των υδρολυτικών ενζύμων, όπως η φωσφατάση, η ουρεάση και η β-γλυκοσιδάση). Οι βιοχημικές ιδιότητες μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε μεμονωμένα, ως απλοί δείκτες, είτε σε συνδυασμό χρησιμοποιώντας σύνθετες εξισώσεις που προκύπτουν από μαθηματικούς συνδυασμούς ή από την εφαρμογή στατιστικών προγραμμάτων. (USDA Natural Resources Conservation Service, 1996)

1.3. Επιλογή δεικτών

Η επιλογή των δεικτών που θα καταστήσουν δυνατό τον προσδιορισμό της ποιότητας του εδάφους είναι επίσης μεγάλης σημασίας. Κατά την κανονική λειτουργία του εδάφους εμπλέκεται ένα πλήθος φυσικών, χημικών και βιοχημικών παραμέτρων. Ωστόσο, καθώς είναι αδύνατο να ληφθούν υπόψη στο σύνολο τους αυτές οι παράμετροι κατά τη διαδικασία εκτίμησης της εδαφικής ποιότητας, είναι αναγκαίο να γίνει μια κατάλληλη επιλογή αυτών.

Οι παράμετροι που θα επιλεγούν θα πρέπει να πληρούν μια σειρά προϋποθέσεων και συγκεκριμένα να παρουσιάζουν:

- ευαισθησία στην παρουσία του μέγιστου αριθμού υποβαθμιστικών παραγόντων
- συνέπεια στην κατεύθυνση της επερχόμενης αλλαγής από ένα δεδομένο μολυσματικό παράγοντα
- δυνατότητα απεικόνισης των διαφορετικών επιπέδων υποβάθμισης του εδάφους

Σε ότι αφορά στην επιλογή των ιδιοτήτων για τον προσδιορισμό της ποιότητας ενός εδάφους οι Doran και Parkin (1996) προτείνουν ένα ελάχιστο σετ δεδομένων στο οποίο περιλαμβάνονται φυσικές (σύσταση, βάθος ριζών, ταχύτητα διήθησης, φαινόμενη πυκνότητα, ικανότητα συγκράτησης νερού), χημικές (pH, συνολικός C, ηλεκτρική αγωγιμότητα, θρεπτικές ουσίες) βιολογικές (αναπνοή εδάφους) και βιοχημικές (C και N μικροβιακής βιομάζας, ενδεχομένως N που μπορεί να μεταλλοποιηθεί) ιδιότητες.

Γενικά, οι φυσικές και οι φυσικοχημικές ιδιότητες τυγχάνουν περιορισμένης χρήσης και αποδοχής καθώς μεταβάλλονται μόνο όταν το έδαφος υφίσταται σημαντικές αλλαγές (Filip, 2002). Αντίθετα, οι βιολογικές και οι βιοχημικές ιδιότητες παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία σε μικρές εδαφικές μεταβολές (Klein et al., 1985;

Nannipieri et al., 1990; Yakovchenko et al., 1996). Ως εκ τούτου, όταν πρόκειται να υπολογιστούν η συνολική αντοχή των φυσικών λειτουργιών του εδάφους και οι διαφορετικές του χρήσεις, βασικούς δείκτες θα πρέπει να αποτελούν βιολογικές και βιοχημικές παράμετροι.

Κατά γενική ομολογία, η επιλογή των δεικτών θα πρέπει να βασίζεται:

- στη χρήση εδάφους
- στη σχέση μεταξύ ενός δείκτη και τη λειτουργία του εδάφους που αξιολογείται
- στην ευκολία και την αξιοπιστία της μέτρησης
- στην ποικιλία των χρόνων και των περιοχών δειγματοληψίας
- στην ευαισθησία της μέτρησης στις μεταβολές κατά τη διαχείριση του εδάφους
- στη συμβατότητα με τον τυπικό τρόπο δειγματοληψίας και ελέγχου
- στις δεξιότητες που απαιτούνται για τη χρήση και την ερμηνεία των δεικτών.

Ο βέλτιστος χρόνος και η θέση για την παρατήρηση ή τη δειγματοληψία δεικτών εδαφικής ποιότητας εξαρτώνται από τη λειτουργία για την οποία γίνεται η αξιολόγηση. Η συχνότητα μετρήσεων ποικίλλει επίσης σύμφωνα με το κλίμα και την εδαφική χρήση.

Η εδαφική ποικιλότητα σε μια περιοχή, ένα λιβάδι, ένα δάσος ή ένα βιότοπο μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στην επιλογή των δεικτών. Σχετικά με τη λειτουργία, τέτοιοι παράγοντες όπως, η μονάδα του εδαφικού χάρτη ή το στάδιο ανάπτυξης συγκομιδών μπορεί να είναι κρίσιμοι. Για παράδειγμα, τα ίχνη από τις ρόδες των τρακτέρ μπορούν να επηρεάσουν εντυπωσιακά πολλές ιδιότητες που μελετώνται για την παραγωγικότητα των καλλιεργειών. Το ιστορικό των τεχνικών που ακολουθήθηκαν και ακολουθούνται θα πρέπει επίσης να καταγράφεται για την εξασφάλιση μιας έγκυρης ερμηνείας των πληροφοριών. (USDA Natural Resources Conservation Service, 1996)

1.4. Ερμηνεία μετρήσεων

Η ερμηνεία των μετρήσεων των δεικτών κατά τον προσδιορισμό της ποιότητας του εδάφους αποτελεί, στις μέρες μας, μια σημαντική πρόκληση για τους ερευνητές. Τα εδάφη και οι τιμές δεικτών τους ποικίλλουν λόγω των διαφορών στο πρωτογενές υλικό, τις κλιματικές συνθήκες, την τοπογραφική θέση, τους οργανισμούς που ζουν στο έδαφος και τον τύπο βλάστησης. Για παράδειγμα, η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων μπορεί να σχετίζεται με την οργανική ουσία, αλλά μπορεί επίσης να συνδέεται με το είδος και την ποσότητα αργίλου.

Οι αλλαγές πρέπει να αξιολογούνται σαν ομάδα, με την αλλαγή σε οποιοδήποτε δείκτη να αξιολογείται μόνο σε σχέση με τις αλλαγές στους υπόλοιπους. Αξιολογήσεις πριν και μετά από, ή με και χωρίς επέμβαση, απαιτούνται επίσης για την ανάπτυξη κατάλληλων και σημαντικών σχέσεων για τα διάφορα είδη εδαφών και των λειτουργιών που αναμένονται από αυτά. Ο γενικός στόχος πρέπει να είναι η διατήρηση ή η βελτίωση της ποιότητας του εδάφους χωρίς να προκαλούνται επιπτώσεις σε άλλους πόρους. (USDA Natural Resources Conservation Service, 1996)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΕΠΙΛΟΓΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

2.1. Χρήση βιοχημικών παραμέτρων

Η ποιότητα του εδάφους ως έννοια, όπως προαναφέρθηκε, έχει δεχθεί πολλούς ορισμούς και ίσως γι' αυτό το λόγο, απέχει πολύ ο ποσοτικός προσδιορισμός της. Σε πολλές μελέτες έχει γίνει ανάλυση της εδαφικής ποιότητας με τη χρήση διαφόρων ιδιοτήτων. Ωστόσο, μόνο λίγες από αυτές έχουν χρησιμοποιήσει τα ληφθέντα αποτελέσματα για την καθιέρωση ενός δείκτη εδαφικής ποιότητας. Επιπλέον, οι λίγοι δείκτες που υπάρχουν δεν έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως. Συνεπώς, δεν υπάρχει κανένας παγκοσμίως εφαρμόσιμος τύπος για τη μέτρηση την εδαφικής ποιότητας. Επισημαίνεται στο σημείο αυτό, ότι είναι σημαντικό να μη γίνεται σύγχυση του δείκτη με τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για να τον καθιερώσουν.

Αν και οι μέθοδοι υπάρχουν, οι δείκτες δεν χρησιμοποιούνται ποτέ σε μεγάλη κλίμακα, ούτε ακόμη και σε περιοχές με παρόμοιες κλιματικές, αγρονομικές κ.α. συνθήκες. Τα περισσότερα προβλήματα σχετικά με την εφαρμογή τους σχετίζονται με τη φτωχή τυποποίηση των μεθόδων και με τη χωρική κλίμακα στην οποία μπορούν να εφαρμοστούν. Με αυτή την έννοια, ένας σαφής καθορισμός των συνθηκών στις οποίες έχει αποκτηθεί ένας δείκτης θα πρέπει να ληφθεί υπόψη, έτσι ώστε να μπορεί να εφαρμοστεί τουλάχιστον σε τοπική κλίμακα. Σε αυτήν την περίπτωση ο προσδιορισμός και η χρήση μερικών σημαντικών παραγόντων της υπό μελέτης περιοχής, όπως οι κλιματικές παράμετροι και ο τύπος και η πυκνότητα βλάστησης είναι ουσιαστικής σημασίας για τη μείωση της φτωχής τυποποίησης και για την επίλυση προβλημάτων σχετικά με τη χωρική κλίμακα.

Επιπλέον, ένας δείκτης εδαφικής ποιότητας πρέπει ως έναν ορισμένο βαθμό να ορίζεται ως εξαρτώμενος από τη χρήση, έτσι ώστε να μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγαλύτερη κλίμακα. Αυτό διευκολύνει την επιλογή ενός ελάχιστου συνόλου δεικτών που μπορεί να εξετάσει τη μέγιστη ικανότητα του εδάφους για μια συγκεκριμένη λειτουργία.

Υπάρχουν τρεις τρόποι προσέγγισης όσον αφορά στη χρήση γενικών και ειδικών βιοχημικών παραμέτρων για τον προσδιορισμό της εδαφικής ποιότητας:

1. Η χρήση μεμονωμένων ιδιοτήτων
2. Η χρήση απλών δεικτών
3. Η χρήση σύνθετων δεικτών που προκύπτουν από το συνδυασμό διαφόρων ιδιοτήτων

2.1.1. Η χρήση μεμονωμένων ιδιοτήτων

Η χρήση μιας μεμονωμένης βιοχημικής ιδιότητας είναι μια κοινή μέθοδος για την εκτίμηση της ποιότητας των εδαφών όταν η έννοια της ποιότητας αναφέρεται αποκλειστικά στην παραγωγική ικανότητα. Στο πλαίσιο αυτό έχουν γίνει πολλές προσπάθειες να βρεθεί μια σχέση μεταξύ της παραγωγικότητας και της τιμής μιας εδαφικής παραμέτρου. Για παράδειγμα, γνωρίζοντας ότι η καλλιέργεια του εδάφους συνήθως μειώνει το οργανικό περιεχόμενο του έγιναν προσπάθειες να προσδιοριστεί η σχέση μεταξύ της περιεκτικότητας σε οργανικές ουσίες και της παραγωγικότητας του εδάφους.

Για τον υπολογισμό της ποιότητας του εδάφους με τη χρήση μεμονωμένων ιδιοτήτων περίπου το 40% του συνόλου των δημοσιευμένων μελετών χρησιμοποιούν μια γενική βιοχημική παράμετρο ως δείκτη, όπως για παράδειγμα τον C της μικροβιακής βιομάζας, τη δραστηριότητα της αφυδρογονάσης, την αναπνοή του εδάφους, την ικανότητα ανοργανοποίησης του N, το περιεχόμενο σε ATP κ.α. ενώ το υπόλοιπο 60% λαμβάνει υπόψη μια συγκεκριμένη βιοχημική παράμετρο όπως η δραστηριότητα της ουρεάσης (urease) ή της φωσφατάσης (phosphatase).

Η χρήση των μεμονωμένων ιδιοτήτων ως δεικτών της εδαφικής ποιότητας αφήνουν διάφορα προβλήματα άλυτα, επιβεβαιώνοντας έτσι αυτά που έχουν επισημανθεί από τους Skujins (1978), Nannipieri et al. (1990) and Nannipieri (1994). Οι μελετητές αυτοί (και πολλοί άλλοι) θεωρούν ότι είναι εννοιολογικά λάθος να υποθέσει κανείς ότι μια μεμονωμένη ενζυμική δραστηριότητα, η οποία απεικονίζει τα ένζυμα

που καταλύουν μια συγκεκριμένη αντίδραση στο έδαφος, θα μπορούσε να ληφθεί ως δείκτης για περισσότερες σύνθετες λειτουργίες, όπως η συνολική μικροβιακή δραστηριότητα, η γονιμότητα ή η ποιότητα του εδάφους, οι οποίες εξαρτώνται από πολλές αντιδράσεις και ιδιότητες.

2.1.2. Η χρήση απλών δεικτών

Ο Dalal (1998) πρότεινε ότι οι περιορισμοί που παρουσιάζονται κατά τη χρήση μεμονωμένων βιοχημικών ιδιοτήτων θα μπορούσαν να αποφευχθούν με τη χρήση απλών δεικτών, δηλαδή σχέσεων μεταξύ δύο βιοχημικών ιδιοτήτων. Η αναλογία μεταξύ των τιμών δύο παραμέτρων αντιπροσωπεύει έναν απλό συνδυασμό δύο διαφορετικών μετρήσεων για ένα ενιαίο κριτήριο (Filip, 2002).

Εντούτοις, αυτοί οι δείκτες τυγχάνουν περιορισμένης χρήσης και εκτίμησης για την αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι απλοί δείκτες είναι το μεταβολικό πηλίκο (qCO_2), το πηλίκο του ρυθμού θανάτου (qD) και η αναλογία μεταξύ βιοχημικών ιδιοτήτων και της συνολικής περιεκτικότητας σε C και N (συγκεκριμένες δραστηριότητες εάν η βιοχημική ιδιότητα που χρησιμοποιείται είναι ενζυμική δραστηριότητα, Barriuso et al., 1988) ή του C της βιομάζας (Kandeler and Eder, 1993; Landi et al., 2000).

Εν περιλήψει, η χρήση των απλών δεικτών για την αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας πάσχει από τους ίδιους περιορισμούς με τη χρήση μεμονωμένων βιοχημικών ιδιοτήτων: την έλλειψη επιτέδων αναφοράς, την έλλειψη συνεπούς συμπεριφοράς της ίδιας αναλογίας στα πειράματα διαφορετικών μελετών, και την έλλειψη αντικειμενικών κριτηρίων για το συσχετισμό μιας μεταβλητής του δείκτη με την τροποποίηση μιας δεδομένης διαδικασίας που εμφανίζεται στο έδαφος. Με άλλα λόγια, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η άποψη των Sojka and Urchurch (1999), ότι η αναζήτηση ενός απλού, προσιτού, εφαρμόσιμου ποιοτικού δείκτη του εδάφους είναι ανέφικτη.

2.1.3. Η χρήση σύνθετων δεικτών που προκύπτουν από το συνδυασμό διαφόρων ιδιοτήτων

Μια άλλη επιλογή για την αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας είναι η χρήση σύνθετων δεικτών που προκύπτουν από τους συνδυασμούς διαφορετικών βιοχημικών ιδιοτήτων του εδάφους. Μερικές από αυτές τις προσπάθειες πραγματοποιήθηκαν αρχικά στη δεκαετία του '80, όπως οι δείκτες του Stefanic et al. (1984) και του Beck (1984), που σχεδιάστηκαν για την εδαφική γονιμότητα. Ο δείκτης του Stefanic ή ο βιολογικός δείκτης γονιμότητας, χρησιμοποιεί μια μαθηματική έκφραση των τιμών της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης και της καταλάσης. Ο δείκτης του Beck ή ο αριθμός ενζυμικής δραστηριότητας, περιλαμβάνει την αφυδρογονάση, την καταλάση, τη φωσφατάση, την πρωτεάση και τη β-γλυκοσιδάση. Μερικές από αυτές τις εκφράσεις αναδιατυπώθηκαν κατά τη διάρκεια της επόμενης δεκαετίας (Stefanic, 1994).

Αυτές οι εκφράσεις είναι ουσιαστικά πολυωνυμικοί τύποι στους οποίους οι τιμές των ενζυμικών δραστηριοτήτων πολλαπλασιάζονται με εμπειρικούς παράγοντες. Η αδυναμία τους βρίσκεται στην έλλειψη μιας σταθερής και αντικειμενικής τιμής αναφοράς. Ωστόσο, η χρήση των σύνθετων εκφράσεων στις οποίες διάφορες βιοχημικές ιδιότητες λαμβάνονται υπόψη εμφανίζονται να είναι μια ελπιδοφόρα πρακτική.

Με τον συνυπολογισμό διαφορετικών βιοχημικών ιδιοτήτων είναι πιο πιθανό να απεικονιστεί καλύτερα η πολυπλοκότητα του εδαφικού συστήματος, ενώ οι σύνθετες εκφράσεις επίσης φαίνεται να είναι κατάλληλες για την περιγραφή της εδαφικής ποιότητας, τουλάχιστον για τις συνθήκες για τις οποίες έχουν σχεδιαστεί. Το κύριο μειονέκτημα αυτών των σύνθετων δεικτών είναι ότι δεν έχουν δοκιμαστεί σε θέσεις ή συνθήκες διαφορετικές από αυτές για τις οποίες έχουν σχεδιαστεί και λόγω αυτού, προς το παρόν, δεν υπάρχει κανένας τρόπος να εξακριβωθεί εάν είναι ή όχι παγκοσμίως έγκυροι. (F. Gil-Sotres, C. Trasar-Cepeda, M.C. Leirós and S. Seoane, 2004)

2.2. Επιλογή βιοχημικών παραμέτρων

Όπως προαναφέρθηκε, οι φυσικές και φυσικοχημικές ιδιότητες τυγχάνουν περιορισμένης χρήσης και αποδοχής καθώς μεταβάλλονται μόνο όταν το έδαφος

υφίσταται σημαντικές αλλαγές (Filip, 2002). Αντίθετα, οι βιολογικές και οι βιοχημικές ιδιότητες παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία σε μικρές εδαφικές μεταβολές (Klein et al., 1985; Nannipieri et al., 1990; Yakovchenko et al., 1996). Συνεπώς, όταν πρόκειται να υπολογιστούν η συνολική αντοχή των φυσικών λειτουργιών του εδάφους και οι διαφορετικές του χρήσεις, βασικούς δείκτες θα πρέπει να αποτελούν βιολογικές και βιοχημικές παράμετροι.

Ως εκ τούτου, στα πλαίσια της εργασίας αυτής, έγιναν πειράματα προσδιορισμού του C και του N της μικροβιακής βιομάζας, της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης και του περιεχομένου σε υδρογονάνθρακες σε καλλιεργημένα εδάφη από διάφορες περιοχές του Ν. Χανίων, της Κρήτης. Οι δείκτες αυτοί, παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα, κάποια από τα οποία περιγράφονται στη συνέχεια.

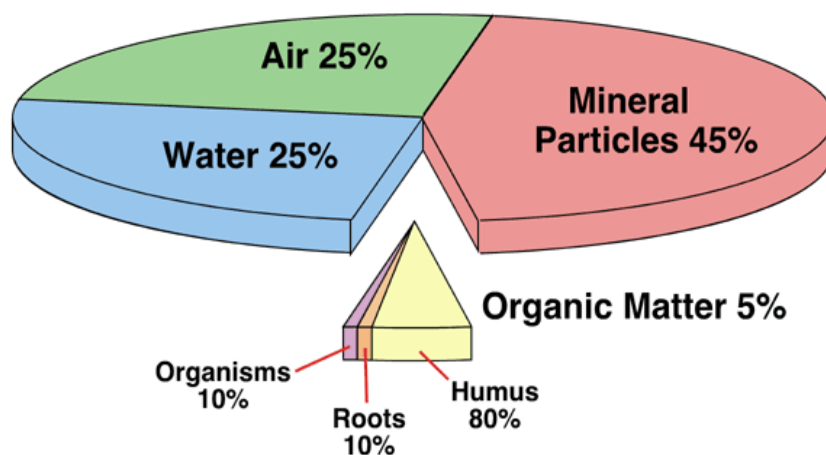
2.3. Μικροβιακή βιομάζα

Μεταξύ των γενικών παραμέτρων ο C της μικροβιακής βιομάζας θεωρείται ως η πιο αξιόπιστη (41% των μελετών) και ακολουθεί η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης (28% των μελετών) και η ικανότητα ανοργανοποίησης του N (16% των μελετών). Η δραστηριότητα της φωσφατάσης (28%), της β- γλυκοσιδάσης (β-glucosidase) (16%) και της ουρεάσης (11%) είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες συγκεκριμένες βιοχημικές παράμετροι και στην ουσία αντιπροσωπεύουν τους κύκλους των P, C και N.

Ο C της μικροβιακής βιομάζας και η ικανότητα ανοργανοποίησης του N χρησιμοποιήθηκαν αρχικά στον υπολογισμό των μεταβολών της ποιότητας του εδάφους εξαιτίας διαχειριστικών τεχνικών και χρήσεων, ενώ η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης (ως γενικός δείκτης ζωντανών μικροοργανισμών) μελετήθηκε επίσης και σε εδάφη που είχαν μολυνθεί από βαρέα μέταλλα και εντομοκτόνα, καθώς επίσης και για το βαθμό επαναφοράς των υποβαθμισμένων εδαφών.

Η μικροβιακή βιομάζα αντιπροσωπεύει το ζωντανό τμήμα της οργανικής ουσίας του εδάφους, εκτός από τα ζώα και τις ρίζες των φυτών. Αν και αποτελεί συνήθως λιγότερο από το 5% της εδαφικής οργανικής ουσίας (Dalal, 1998), όπως φαίνεται και

στην Εικόνα 2.1., πραγματοποιεί πολλές κρίσιμες λειτουργίες στο εδαφικό οικοσύστημα, μεταξύ των οποίων θα μπορούσε να επισημανθεί ότι είναι ταυτόχρονα και πηγή και δεξαμενή των θρεπτικών ουσιών, συμμετέχει στους μετασχηματισμούς των C, N, P και S, διαδραματίζει ενεργό ρόλο στην αποικοδόμηση των ξενοβιοτικών οργανικών ενώσεων και στην αδρανοποίηση των βαρέων μετάλλων, συμμετέχει στο σχηματισμό της δομής του εδάφους κ.α. (F.Gil - Sotres, C. Trasar - Cepeda, M.C. Leirós and S. Seoane, 2004)



Εικόνα 2.1. Συνήθης σύσταση εδαφών.

Ο C της μικροβιακής βιομάζας έχει προταθεί ως πιο ευαίσθητος δείκτης των αλλαγών που συμβαίνουν σε ένα έδαφος σε σχέση με τον συνολικό οργανικό C (Anderson and Domsch, 1990), καθώς η μικροβιακή βιομάζα ενός εδάφους ανταποκρίνεται γρηγορότερα στις αλλαγές από ότι η οργανική ουσία (Powlson and Jenkinson, 1981). Αυτό σημαίνει ότι εάν ένα έδαφος βρίσκεται σε διαδικασία υποβάθμισης, αυτή η υποβάθμιση θα μπορούσε να ανιχνευθεί πρώτιστα από τις μικροβιακές αλλαγές, ενώ δε θα ανιχνεύονταν αλλαγές στην οργανική ουσία σε έναν πρόωρο στάδιο υποβάθμισης. Ο Sparling (1997) πρότεινε ότι αυτή η αναλογία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη σύγκριση εδαφών με διαφορετικά μέρη οργανικής ουσίας. Οι Jenkinson και Ladd (1981) επίσης πρότειναν για τα καλλιεργημένα εδάφη,

ότι μια τιμή 2.2 αυτής της αναλογίας απεικονίζει μια καλή ισορροπία μεταξύ των δύο μερών C (C μικροβιακής βιομάζας και συνολικός οργανικός C). Εντούτοις, αλλαγές σε αυτήν την αναλογία λόγω των διαφορετικών διαχειριστικών ή καλλιεργητικών πρακτικών θα μπορούσε να επισκιαστούν από κλιματικούς παράγοντες που έχουν επιπτώσεις σε αυτήν την αναλογία (Insam et al., 1989).

Διαφορές σε αυτό το «ζωντανό» μέρος του C μπορεί να απεικονίζουν αλλαγές στο έδαφος εξαιτίας διαχειριστικών πρακτικών, οργώματος, τροποποιήσεων, μόλυνσης ή ακόμη και αλλαγής κλίματος, τα οποία σχετίζονται μάλλον περισσότερο με την έννοια της περιβαλλοντικής ποιότητας ενός εδάφους. Συνεπώς, λαμβάνοντας υπόψη τους βασικούς ρόλους της μικροβιακής βιομάζας για την κατάλληλη λειτουργία του εδάφους, δεν προκαλεί εντύπωση η διαδεδομένη χρήση της ως ποιοτικού δείκτη του εδάφους.

Εντούτοις, πρέπει να σημειωθεί ότι είναι δυνατό να υπάρχουν διαφορές στη μικροβιακή βιομάζα μεταξύ διαφορετικών τύπων εδάφους χωρίς να υπάρχουν διαφορές στην ποιότητα (Schloter et al., 2003), και για το λόγο αυτό είναι απαραίτητο η αξιολόγηση των εδαφών να γίνεται με την εξέταση ποικίλων δεικτών. (F. Bastida, A. Zsolnay, T. Hernández, C. García, 2008)

2.4. Δραστηριότητα αφυδρογονάσης

Η μεγάλη ποσότητα βιομηχανικών χημικών ουσιών, λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται σήμερα σηματοδοτεί έναν αυξανόμενο περιβαλλοντικό κίνδυνο. Ειδικά στο έδαφος, αυτές οι τοξικές ενώσεις μπορεί να προκαλέσουν αρνητικά και ίσως ανεπανόρθωτα αποτελέσματα στην ποιότητα και την υγεία του, καθώς έχουν επιπτώσεις στο μικρο-βιόκοσμο με εμφανείς αλλαγές στην ενζυμική δραστηριότητα, την εδαφική αναπνοή, τη βιομάζα και τους μικροβιακούς πληθυσμούς.

Οι δραστηριότητες των εδαφικών ενζύμων, έχουν προταθεί ως κατάλληλοι δείκτες της ποιότητας αγροτικών και μη αγροτικών εδαφών καθώς:

- είναι ένα μέτρο της εδαφικής μικροβιακής δραστηριότητας και επομένως συσχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με τους θρεπτικούς κύκλους και το μετασχηματισμό των διαφόρων στοιχείων
- είναι ευαίσθητες στις μεταβολές που προκαλούνται και από φυσικούς και από ανθρωπογενείς παράγοντες
- η διαδικασία υπολογισμού τους είναι σχετικά απλή και
- μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες διαδικασιών υποβάθμισης και βιοεξυγίανσης. (M. A. Rao, R. Scelza, F. Russo, L. Gianfreda, 2006)

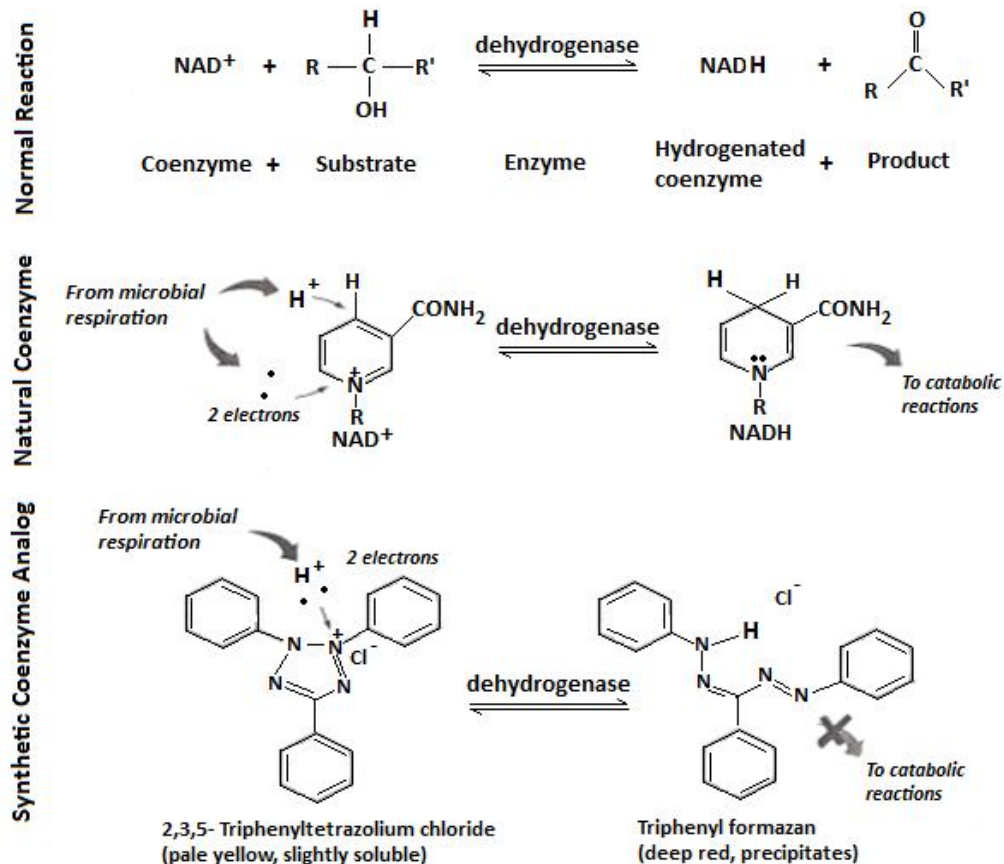
Ένα από τα γενικά κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τον καθορισμό της μικροβιακής δραστηριότητας και τη βιομάζας στο έδαφος είναι η δραστηριότητα των αφυδρογονασών (Ross 1971; Trevors et al. 1982). Η αφυδρογονάση είναι ένα ενζυμικό συγκρότημα που χρησιμεύει ως ένας γενικός δείκτης μικροβιακής δραστηριότητας και που συσχετίζεται με την οξείδωση οργανικών ενώσεων και τη μεταφορά των ηλεκτρονίων προς παραγωγή ενέργειας για το μικροβιακό κύτταρο. Οι ενδοκυτταρικές αφυδρογονάσες ανήκουν στις οξειδοοδουκτάσες (ή οξειδαναγωναίες) και καταλύουν την οξείδωση των οργανικών ενώσεων με το διαχωρισμό δύο ατόμων H. Κάποιες συγκεκριμένες αφυδρογονάσες μεταφέρουν το διαχωρισμένο H είτε σε νικοτιναμιδο-αδενινο δινουκλεοτίδια (NAD) είτε σε φωσφορικά νικοτιναμιδο-αδενινο δινουκλεοτίδια (NADP). Μέσω αυτών των συνενζύμων τα άτομα H συμμετέχουν στις περιοριστικές διαδικασίες της βιοσύνθεσης.

Για το λόγο αυτό, η δραστηριότητα του συνόλου των αφυδρογονασών ενός εδάφους εξαρτάται από τις αντίστοιχες των επιμέρους αφυδρογονασών, οι οποίες αποτελούν θεμελιώδες μέρος του ενζυμικού συστήματος όλων των μικροοργανισμών (ένζυμα του αναπνευστικού μεταβολισμού, του κύκλου του κιτρικού άλατος και του μεταβολισμού του N).

Οι αφυδρογονάσες είναι ένζυμα που βρίσκονται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς. Τα ένζυμα αυτά λαμβάνουν μέρος σε πολλές διεργασίες συμπεριλαμβανομένης και της μεταφοράς ζευγών ηλεκτρονίων. Ένα παράδειγμα

μεταφοράς ηλεκτρονίων με αφυδρογονάση φαίνεται στην Εικόνα 2.2. Σε καταβολικές αντιδράσεις, όπως για παράδειγμα αντιδράσεις που περιλαμβάνουν τη μετατροπή σύνθετων ή υψηλής ενέργειας ενώσεων σε απλούστερες ή χαμηλότερης ενέργειας ενώσεις, οι αφυδρογονάσες καταλύουν τη μεταφορά των ζευγών ηλεκτρονίων από κάποια υποστρώματα στα NAD^+ προς το σχηματισμό NADH . Τα NADH στη συνέχεια μεταφέρουν τα ηλεκτρόνια σε άλλες ενώσεις, χρησιμεύοντας με αυτόν τον τρόπο ως μεσάζοντες μεταφοράς ηλεκτρονίων. Σε αναβολικές αντιδράσεις (αντίθετες των καταβολικών), λαμβάνουν μέρος τα NADP^+ αντίστοιχα. Δύο υδρογόνα προστίθενται για τη διατήρηση της ενέργειας που καταναλώνεται. Πρόκειται για τα ηλεκτρόνια που μεταφέρονται. Καθώς οι αφυδρογονάσες λαμβάνουν μέρος και στη μεταφορά ηλεκτρονίων των αερόβιων οργανισμών, η δραστηριότητά τους αποτελεί μέτρο της αναπνοής και της γενικής μικροβιακής δραστηριότητας. (Ian Pepper, Charles Gerba, 2004)

Κατά συνέπεια, η δραστηριότητα αφυδρογονασών χρησιμεύει ως ένας δείκτης του μικροβιολογικού οξειδοαναγωγικού συστήματος και μπορεί να θεωρηθεί καλό μέτρο των μικροβιακών οξειδωτικών δραστηριοτήτων του εδάφους (Skujins 1973; Casida 1977; Tabatabai 1982).



Εικόνα 2.2. Μεταφορά ηλεκτρονίων με την αφυδρογονάση

Οι μικροοργανισμοί του εδάφους και ιδιαίτερα ο μικρο-βιόκοσμος (microbiota), διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στην ανακύκλωση των στοιχείων και στη σταθεροποίηση της εδαφικής δομής. Ενεργούν επίσης και ως πηγή και δεξαμενή για τις ασταθείς θρεπτικές ουσίες και τον άνθρακα. Η ανοργανοποίηση του οργανικού περιεχομένου του εδάφους πραγματοποιείται από μια μεγάλη κοινότητα μικροοργανισμών και περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα μεταβολικών διαδικασιών. Τα ένζυμα του εδάφους θεωρείται ότι είναι σε θέση να διακρίνουν τις πρακτικές διαχείρισης του εδάφους πιθανόν επειδή σχετίζονται με τη μικροβιακή βιομάζα, η οποία είναι ευαίσθητη σε τέτοιες επεξεργασίες. Τα ένζυμα του εδάφους ρυθμίζουν τη διαδικασία μετασχηματισμού των στοιχείων που απαιτούνται για την αύξηση των φυτών του εδάφους. Η δραστηριότητα των εδαφικών ενζύμων, είτε εξωκυτταρικών είτε

ενδοκυτταρικών εξαρτάται από την αμειψισπορά, τις διάφορες τροποποιήσεις, το όργωμα και τη γεωργική διαχείριση. Ο μετασχηματισμός του N στο έδαφος περιλαμβάνει μια σειρά διαδικασιών, οι οποίες ρυθμίζονται από διάφορα εξωκυτταρικά υποβιβαστικά ένζυμα. Ο μετασχηματισμός του οργανικού P μέσω ενζυμικών αντιδράσεων και η σταθεροποίηση του P στην ίδια τη βιομάζα παίζουν θεμελιώδη ρόλο στον κύκλο του P και είναι πιθανό να επηρεαστεί από τις τροποποιήσεις P. (Supradip Sah, Ved Prakash, Samaresh Kundu, Narendra Kumar and Banshi Lal Mina, 2008)

Οι ενζυμικές δραστηριότητες στα αστικά στερεά απόβλητα κατά τη διάρκεια της λίπανσης έχουν μελετηθεί από τους Garcia et al. (1992). Έχουν μετρηθεί επίσης για τον έλεγχο της μικροβιακής δραστηριότητας και της γονιμότητας του εδάφους (Frankenberger and Dick 1983; Beyer et al. 1993). Κατά συνέπεια, η ενζυμική δραστηριότητα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο των αποτελεσμάτων της προσθήκης λιπαντικών αστικών στερεών αποβλήτων (compost) στη μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους. Ο Perucci (1990) έδειξε ότι η προσθήκη 2.5% compost αύξησε μερικές δραστηριότητες εδαφικών ενζύμων μόνιμα κατά τη διάρκεια ενός έτους επώασης. Αύξηση στις δραστηριότητες εδαφικών ενζύμων παρατηρήθηκαν επίσης μετά από την προσθήκη compost στα υπαίθρια πειράματα (Perucci 1992). Η διάρκεια της αύξησης είχε να κάνει με το ρυθμό εφαρμογής του compost και ήταν είτε παροδική είτε διήρκεσε μέχρι την επόμενη εφαρμογή του compost. Μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι ανεπιθύμητα υλικά, και συγκεκριμένα τα βαρέα μέταλλα, έχουν επιπτώσεις στην ενζυμική δραστηριότητα σε αυτά τα compost (Garcia et al. 1992) ή στα εδάφη που τροποποιούνται με τα compost (Perucci 1992).

Σε μια μελέτη για την ενζυμική συμπεριφορά μετά από προσθήκη λιπαντικών αστικών στερεών αποβλήτων (compost) στο έδαφος (Claire Serra-Wittling, Sabine Houot and Enrique Barriuso, 2004) οι αφυδρογονάσεις, τα μόνα αυστηρά ενδοκυτταρικά ένζυμα, ήταν τα μοναδικά για τα οποία η δραστηριότητα στο τροποποιημένο έδαφος αυξήθηκε σημαντικά αναλογικά με την προσθήκη του λιπάσματος. Κατά τη διάρκεια της επώασης, η ανοργανοποίηση του C και η

δραστηριότητα της αφυδρογονάσης παρουσίασε σημαντική συσχέτιση, καταδεικνύοντας την αφυδρογονάση ως αξιόπιστο δείκτη της συνολικής μικροβιακής δραστηριότητας.

Η αφυδρογονάση, περιλαμβάνεται στην αναπνευστική αλυσίδα των μικροοργανισμών και έχει χρησιμοποιηθεί συχνά ως παράμετρος για την αξιολόγηση της γενικής μικροβιακής δραστηριότητας του εδάφους (Nannipieri et al 1990) και των composts (Forster et al 1993). Ακόμα κι αν η σχετική δραστηριότητα των χωριστά δοκιμασμένων ενζύμων είναι χαμηλότερη στο compost από ότι στο έδαφος, η γενική μικροβιολογική δραστηριότητα, όπως υποδεικνύεται από την αφυδρογονάση, είναι μεγαλύτερη στο compost. (Claire Serra-Wittling, Sabine Houot and Enrique Barriuso, 1994)

Η αφυδρογονάση λαμβάνει, επίσης, μέρος στο μικροβιακό μεταβολισμό του O_2 . Αυτή η δραστηριότητα εξαρτάται από τη μεταβολική κατάσταση του εδαφικού βιοκόσμου και μπορεί να είναι ένας καλός δείκτης της εδαφικής μικροβιακής δραστηριότητας στις ημιάγονες περιοχές (Garcia et Al 1994). (Engracia Madejón, Pilar Burgos, Rafael López, Francisco Cabrera, 2001)

2.5. Υδρογονάνθρακες

Η εξαγωγή και ο ακριβής προσδιορισμός των υδρογονανθράκων του εδάφους είναι ουσιαστικής σημασίας για την αξιολόγηση του ρόλου των υδρογονανθράκων στη σταθεροποίηση των εδαφικών συνόλων (Piccolo, 1996). Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες χρωματομετρικές μέθοδοι για τον καθορισμό των συνολικών υδρογονανθράκων. (Piccolo A., Zena A., Conte P., 1970)

Χωρίς αμφιβολία, ο καταλληλότερος δείκτης που χρησιμοποιείται για τα καλλιεργημένα εδάφη είναι η οργανική ουσία (ή οργανικός άνθρακας), αν και είναι παράξενο το γεγονός ότι αυτοί οι παράμετροι δε χρησιμοποιούνται ευρέως στην εκτίμηση της ποιότητας των μη καλλιεργημένων εδαφών, δεδομένου ότι η εδαφική οργανική ουσία συσχετίζεται με την αύξηση της παραγωγής αλλά και με την ανάπτυξη των φυτών σε φυσικές συνθήκες, όπου η βλάστηση είναι ουσιαστική για την αποφυγή

υποβιβαστικών διαδικασιών ή όπου μπορεί να παίξει αμυντικό ρόλο για κάποιους μολυσματικούς παράγοντες. (F. Bastida, A. Zsolnay, T. Hernández, C. García, 2008)

Ο οργανικός άνθρακας του εδάφους (Soil Organic Carbon, SOC) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη βελτίωση της εδαφικής ποιότητας και της βιώσιμης παραγωγής. Η οργανική ουσία του εδάφους (Soil Organic Matter, SOM) είναι ένα από τα σημαντικότερα συστατικά του εδάφους λόγω της ικανότητάς της να επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών έμμεσα και άμεσα (Bongiovanni and Lobartini, 2006). Έμμεσα, βελτιώνει τις χημικές και φυσικές συνθήκες του εδάφους αυξάνοντας την ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων και ενισχύοντας τη συσσωμάτωση, τον αερισμό και τη συγκράτηση του ύδατος. Η βελτίωση των βιολογικών ιδιοτήτων του εδάφους έχει επιπτώσεις στην εδαφική μικροβιακή ποικιλομορφία και τον πληθυσμό και με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ένα κατάλληλο περιβάλλον για την αύξηση των ριζών των φυτών και των εδαφικών μικροβίων (Senesi and Loffredo, 1999).

Οι πιο ορατές λειτουργίες της SOM περιλαμβάνουν αλλαγές των φυσικών ιδιοτήτων του εδάφους όπως το φαινόμενο ειδικό βάρος, η συνολική σταθερότητα, το πορώδες και υδατοχωρητικότητα όταν εφαρμόζεται για μεγάλες περιόδους (Edwards and Loft, 1982; Schjønning and Christensen, 1994). Γενικά, αυξάνοντας την περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα του εδάφους παρουσιάζεται αύξηση στη σταθερότητα, ανεξάρτητα από την προέλευση της πίεσης (Kay, 1998).

Στον Πίνακα 2.1. παρουσιάζονται οι σχέσεις μεταξύ των μερών SOC και των φυσικών ιδιοτήτων εδαφικών δειγμάτων που συλλέχθηκαν στο στάδιο συγκομιδής του ρυζιού μετά από 41 έτη. Το φαινόμενο ειδικό βάρος του εδάφους παρουσιάζει έντονα αρνητικό συσχετισμό με το συνολική και κάθε τμηματική συγκέντρωση SOC, ενώ το πορώδες παρουσίασε ιδιαίτερα θετικό συσχετισμό με κάθε μέγεθος SOC. Αυτό οφείλεται προφανώς στον υψηλότερο βαθμό συνολικής συσσωμάτωσης στα εδάφη που έλαβαν τα οργανικά υλικά. Από τα μέρη SOC, τα μεγάλα συσσωματώματα (2–0,25mm) και τα μικρά (μεγέθους < 0,053mm) παρουσιάζουν πολύ υψηλό θετικό συσχετισμό με τα μεγάλα σύνολα μεγέθους πάνω από 0,25mm αλλά έντονα αρνητικό συσχετισμό με τα μικρού μεγέθους σύνολα (<0,25mm). Στη σύγκριση, μικρο-

συσσωμάτων SOC (0,25 –0,053mm) παρουσιάστηκε η χαμηλότερη συσχετική σχέση. Η διαφορετική συμβολή κάθε μέρους SOC στην εδαφική συσσώματωση οδηγεί στην πρόταση ότι μερικά συγκεκριμένα μέρη της εδαφικής οργανικής ουσίας λαμβάνουν μέρος στη συνολική σταθεροποίηση του εδάφους (Roberson et al., 1991). Εντούτοις, οι μηχανισμοί και οι ρόλοι των μερών εδαφολογικής οργανικής ουσίας (SOM) στη διαδικασία της εδαφικής δομικής σταθεροποίησης δεν έχει τεκμηριωθεί ακόμα καλά. (Seul Bi Lee, Chang Hoon Lee, Ki Yuol Jung, Ki Do Park, Dokyoung Lee and Pil Joo Kim, 2009)

Parameters	Total C	Organic matter fraction		
		2–0.25 mm	0.25–0.053 mm	<0.053 mm
Bulk density (g cm ⁻³)	–0.888***	–0.912***	–0.711**	–0.835***
Porosity (% v v ⁻¹)	0.909***	0.943***	0.841***	0.843***
Aggregate size distribution (%)				
>2 mm	0.819**	0.762**	0.607*	0.818**
2–1 mm	0.925***	0.842***	0.651*	0.910***
1–0.5 mm	0.905***	0.811**	0.557	0.922***
0.5–0.25 mm	0.859***	0.752**	0.455	0.885***
>0.25 mm	–0.923***	–0.824**	–0.555	–0.939***

* Denote significance at 5.0% level.

** Denote significance at 1.0% level.

*** Denote significance at 0.1% level.

Πίνακας 2.1. Συσχετισμοί μεταξύ του μεγέθους των μερών του οργανικού C του εδάφους και των φυσικών ιδιοτήτων σε μακροπρόθεσμα λιπασμένο έδαφος ορυζώνα μετά από 41 έτη (n = 12). (Seul Bi Lee, Chang Hoon Lee, Ki Yuol Jung, Ki Do Park, Dokyoung Lee and Pil Joo Kim, 2009)

Ως ουσιαστικός δείκτης της εδαφικής ποιότητας, ο οργανικός άνθρακας του εδάφους (SOC) και τα διαφορετικά ασταθή μέρη του παίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό των χημικών, φυσικών και βιολογικών ιδιοτήτων του εδάφους.

Η εφαρμογή λιπάσματος μπορεί να αυξήσει την εδαφική οργανική ουσία (SOM). Η επίδραση αυτή έχει αναγνωριστεί και χρησιμοποιηθεί για σχεδόν 4000 έτη στην Κίνα, την Ιαπωνία και την Κορέα προκειμένου να αποκατασταθεί η γονιμότητα του

εδάφους και να επιτευχθεί ικανοποιητική παραγωγή (Dormaar et al., 1988), καθώς η SOM συμβάλλει στο θρεπτικό ανεφοδιασμό, τη βελτίωση των φυσικών ιδιοτήτων του εδάφους, την προστασία από τη διάβρωση και την προώθηση της βιολογικής δραστηριότητας (Jimenez et al., 2002).

Ο συνολικός οργανικός C του εδάφους (SOC) μπορεί να μην είναι ευαίσθητος στις αλλαγές στην ποιότητα του εδάφους που προκύπτουν από σχετικά πρόσφατες αλλαγές στις εδαφικές διαχειριστικές πρακτικές, καθώς παίρνει συχνά πολλά έτη για να ανιχνευθούν οι αλλαγές στην ποσότητα και την ποιότητα του SOC (Hassink et al., 1997). Εντούτοις, το ελαφρύ μέρος C (Light Fraction Carbon, LFC) παίζει ουσιαστικό ρόλο στο βραχυπρόθεσμο κύκλο εργασιών των θρεπτικών ουσιών στα εδάφη (Alvarez et al., 1998), και θεωρείται ότι είναι ένας πρόωρος δείκτης των αλλαγών της εδαφικής ποιότητας, δεδομένου ότι ανταποκρίνεται γρήγορα στις αλλαγές στον ανεφοδιασμό C πριν αυτές οι αλλαγές να μπορούν να μετρηθούν με άλλα μέσα (Haynes, 2000). Έχει προταθεί ότι το ελαφρύ μέρος (LF) του SOM μπορεί να είναι μια ασταθής πηγή μεταλλοποιήσιμου C και N (Whalen et al., 2000). Έχει αποδειχθεί ότι είναι μια πολύ μεγαλύτερη βραχυπρόθεσμη δεξαμενή για το N από το βαρύ μέρος (Compton και Boone, 2002), συσχετίζεται καλά με το ρυθμό ανοργανοποίησης του N (Barrios et al., 1996), και είναι ο καθοδηγητικός παράγοντας στην αναπνοή του εδάφους. (Wei Gong, Xiaoyuan Yan, Jingyan Wang, Tingxing Hu and Yuanbo Gong, 2008)

Η αξιολόγηση της παραγωγικότητας του εδάφους και της βελτίωσης ή της συντήρησης της ποιότητας και της υγείας του είναι απαραίτητη για τον καθορισμό βιώσιμων γεωργικών πρακτικών (Wright. and Anderson, 2000). Από αυτή τη σκοπιά, η μελέτη της επιρροής των διαχειριστικών πρακτικών στις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους και τα χαρακτηριστικά των φυτών αποκτά ουσιαστική σημασία. Έχουν αναφερθεί στοιχεία ότι η διαχείριση του εδάφους είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη φυτών σε ξηρές συνθήκες για τη ρίζα (mycorrhizae) (Caravaca et al., 2003; Alguacil et al., 2005), την αύξηση της περιεκτικότητας σε θρεπτικές ουσίες (Smith and Read, 1997), τη βελτίωση του εδαφικής συσσωμάτωσης στα διαβρωμένα χώματα (Caravaca et al., 2002) και τη μείωση της πίεσης του ύδατος (Auge' , 2001).

Οι υδρογονάνθρακες θεωρείται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο από αυτή την άποψη και έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για την εκτίμηση αυτής της συμμετοχής (Cheshire, 1979). Οι Haynes και Beare (1996) βρήκαν ότι η περιεκτικότητα σε υδρογονάνθρακες των εκχυλισμάτων με τη διαδικασία hot-water μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης της εδαφικής ποιότητας, ιδιαίτερα σε σχέση με την εδαφική συσσώμωση.

Οι εδαφικοί υδρογονάνθρακες, οι οποίοι αντιπροσωπεύουν το 5 - 25% του SOM, αποτελούν ένα σημαντικό μέρος της ασταθούς ομάδας του SOM και επηρεάζονται συνήθως από τις αλλαγές χρήσης εδάφους (Guggenberger et al., 1995). Οι Spaccini et al. (2000) επίσης αναφέρουν ότι οι υδρογονάνθρακες και οι χουμικές ουσίες θεωρούνται, αντίστοιχα, πρότυπα για τα ασταθή και σταθερά μέρη της λίμνης του εδαφικού OC.

Οι υδρογονάνθρακες είναι πολύ σημαντικοί συνδετικοί παράγοντες για τα εδαφικά σύνολα (Haynes and Beare, 1996). Επιπλέον, πολλοί μελετητές έχουν διαπιστώσει ότι το ποσοστό υδρογονάνθρακα στα εδάφη συσχετίζεται θετικά με τη συνολική σταθερότητα (Tisdall and Oades, 1982; Angers and Mehuys, 1989; Haynes and Francis, 1993). Η περιεκτικότητα σε υδρογονάνθρακες που αποσπάστηκε με hot water χρησιμοποιούνται ως δείκτης της εδαφικής ποιότητας, ιδιαίτερα σε σχέση με την εδαφική συσσώμωση (Haynes and Beare, 1996).

2.6. Μέθοδοι προσδιορισμού

2.6.1. Μέθοδοι προσδιορισμού μικροβιακής βιομάζας (C και N)

Η αρχική μέθοδος υποκαπνισμού (fumigation) - επώασης για τη μέτρηση του άνθρακα της μικροβιακής βιομάζας, (Jenkinson and Powlson, 1976), εξακολουθεί να αποτελεί τη πιο συνηθισμένη διαδικασία για τη μέτρηση της βιομάζας. Ωστόσο, στο εργαστήριο έχει σχεδόν ολοκληρωτικά αντικατασταθεί από τη μέθοδο fumigation-εξαγωγής (η αύξηση στο αποσπώμενο N, P και S, μετά τον υποκαπνισμό του εδάφους).

Ο υποκαπνισμός του εδάφους με χλωροφόρμιο (CHCl_3) που ακολουθείται από την απόσπαση με διάφορα διαλύματα αλάτων έχει χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση του μικροβιακού S (Saggar et al., 1981), του P (Brookes et al., 1982; Hedley and Stewart, 1982), και του N (Brookes et al., 1985; Amato and Ladd, 1988; Joergensen and Brookes, 1990). Η μέθοδος fumigation- εξαγωγής χρησιμοποιήθηκε αρχικά για τον προσδιορισμό του P της μικροβιακής βιομάζας (Brookes et al., 1982), στη συνέχεια για το μικροβιακό N (Brookes et al., 1985) και τέλος για το μικροβιακό C (Vance et al., 1987).

Το χλωροφόρμιο χρησιμοποιήθηκε ως το μέσο για τον υποκαπνισμό (καπνογόνο) σε αυτές τις μεθόδους για τη μέτρηση του μικροβιακού C και N, καθώς είναι ένα αποτελεσματικό βιοκτόνο, χωρίς να διαλυτοποιεί τη μη μικροβιακή οργανική μάζα του εδάφους ή να την αποσυνθέτει (Jenkinson, 1976). Μια βελτιωμένη αναλυτική διαδικασία προτάθηκε από τον Chaussod et al. (1988) και βελτιώθηκε για εργαστηριακή χρήση από τον Wu et al. (1990). Πρόσφατα, προτάθηκε μια μικρή τροποποίηση στη διαδικασία υποκαπνισμού. Αντί για απαλλαγμένο από αιθανόλη χλωροφόρμιο, το οποίο είναι κάπως δύσκολο να παραχθεί (Jenkinson and Powlson, 1976), το χλωροφόρμιο σταθεροποιείται με 25 ppm amylene (Fisons). Με τον τρόπο αυτό τα αποτελέσματα είναι ενδεικτικά αυτών που προέκυψαν με τη χρήση απιονισμένου χλωροφορμίου. (Mueller et al., 1992; Kaiser et al., 1992). (Carol Grace, Murray Hart & Phil C. Brookes, 2006)

Μέτρηση N της βιομάζας

Η μέθοδος Kjeldahl στην αναλυτική χημεία είναι μια μέθοδος για τον ποσοτικό προσδιορισμό του αζώτου των χημικών ουσιών που αναπτύχθηκε από τον Johan Kjeldahl το 1883. Η μέθοδος περιλαμβάνει τη θέρμανση μιας ουσίας με θειικό οξύ, με το οποίο γίνεται αποσύνθεση της οργανικής ουσίας με οξείδωση για την απελευθέρωση μορφών αζώτου όπως το θειικό άλας αμμωνίου.

Σήμερα, η μέθοδος Kjeldahl έχει αυτοματοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό και χρησιμοποιεί συγκεκριμένους καταλύτες (οξειδίο υδραργύρου ή θειικό άλας χαλκού) για την επιτάχυνση της αποσύνθεσης.

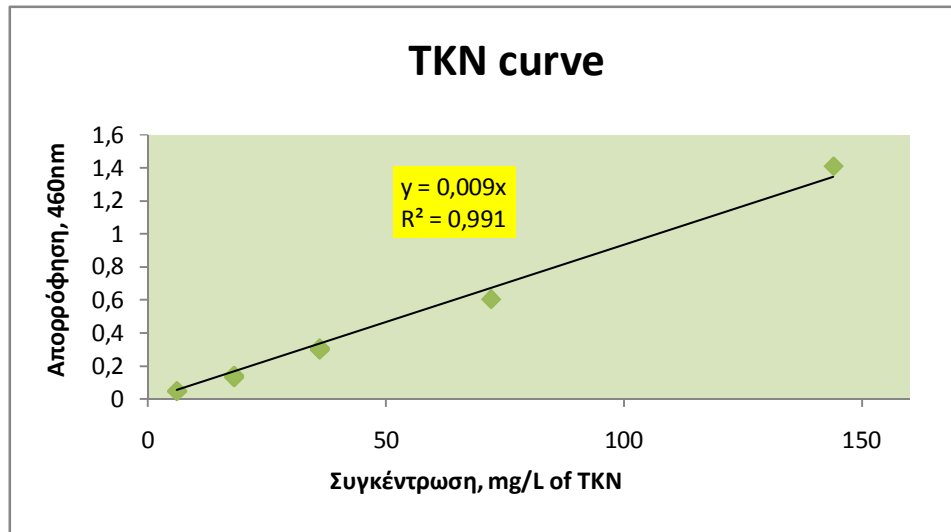
Το συνολικό άζωτο Kjeldahl ή TKN (Total Kjeldahl Nitrogen) είναι το συνολικό ποσό οργανικού αζώτου: αμμωνία (NH_3) και αμμώνιο (NH_4^+) στη χημική ανάλυση του εδάφους, του νερού ή των υγρών αποβλήτων (π.χ. απόβλητα αποχέτευσης εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων). Για τον υπολογισμό του συνολικού αζώτου (TN), οι συγκεντρώσεις του nitrate-N και του nitrite-N προστίθενται στο TKN. Το TKN καθορίζεται με τον ίδιο τρόπο όπως το οργανικό άζωτο, εκτός από το ότι η αμμωνία δεν αποβάλλεται πριν από το βήμα της χώνευσης.

2.6.1.1. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης για το N της μικροβιακή βιομάζας (TKN)

Η καμπύλη του TKN (Σχήμα 2.1.) προέκυψε από πρότυπο διάλυμα NH_3 (αμμωνίας), με κατάλληλες αραιώσεις (Πίνακας 2.2.). Τα διαλύματα αυτά ακολούθησαν τη διαδικασία του φασματοφωτομέτρου. Σύμφωνα με το εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου, $1,5\text{ppm N-NH}_3 = 6\text{ppm TKN}$.

mg/L N-NH ₃	mg of TKN /L	Abs _{460 nm}
1,5	6	0,047
1,5	6	0,048
4,5	18	0,131
4,5	18	0,140
9	36	0,309
9	36	0,298
18	72	0,605
36	144	1,410

Πίνακας 2.2. Δεδομένα κατασκευής πρότυπης καμπύλης



Σχήμα 2.1. Καμπύλη του TKN

2.6.2. Μέθοδοι προσδιορισμού της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης

Για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της εδαφικής αφυδρογονάσης, γίνεται πρόσθεση διαφόρων αποδεκτών ηλεκτρονίων στα εδαφικά δείγματα. Η πρόσθεση υδατοδιαλυτών αλάτων tetrazolium αποδεικνύεται ιδιαίτερα κατάλληλη καθώς διαμορφώνουν μη υδατοδιαλυτές χρωματισμένες φορμαζάνες (formazans) οι οποίες μπορούν να μετρηθούν με τη φασματομετρία. Η μέθοδος με 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) ως αποδέκτη ηλεκτρονίων, που έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό triphenyl-formazan, έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως (Lenhard, 1956 Thalmann, 1968), [10], και θεωρείται ιδιαίτερα αξιόπιστη καθώς παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία και επαναληψιμότητα ενώ ταυτόχρονα είναι δυνατή η εφαρμογή της σε διάφορους τύπους εδάφους χωρίς να απαιτείται γνώση της ικανότητας διατήρησης της υγρασίας τους. (L.E Casida, Jr, D.A.Klein and Thomas Santoro, 1964)

Η χρησιμότητα της μεθόδου με TTC για την επί τόπου μέτρηση της αναπνοής των μικροοργανισμών στο έδαφος έχει αναγνωριστεί από πολλούς μελετητές, όπως ο Hirte, ο Lenhard, ο Schaefer και ο Stevenson. Στην πραγματικότητα ο Stevenson θεωρεί τη μέθοδο αυτή ως ένα αξιόπιστο δείκτη της μικροβιακής δραστηριότητας στο έδαφος.

Παρατήρησε μια σημαντική σχέση μεταξύ της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης με TTC και την ενδογενή αναπνοή του εδάφους, παρόλο που δεν εντόπισε συσχετισμό μεταξύ της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης και των βακτηριακών πληθυσμών αν δεν είχαν προηγηθεί οργανικές τροποποιήσεις στο έδαφος.

Η περισσότερο χρησιμοποιούμενη έρευνα που αφορά στη δραστηριότητα της αφυδρογονάσης είναι με διαφορά αυτή του Casida et al. (1977). Η δοκιμή αυτή περιλαμβάνει συνήθως την επώαση του εδαφικού δείγματος το οποίο αναμιγνύεται με ένα διάλυμα TTC, σε αεροστεγή δοχεία για τον αποκλεισμό του οξυγόνου. Στην περίπτωση αυτή το TTC αποτελεί τον υπέρτατο υποδοχέα ηλεκτρονίων κατά τη διάρκεια της αναπνοής. Τα δείγματα θα πρέπει να είναι φρέσκα, πρόσφατα συλλεγμένα καθώς σύμφωνα με τη μελέτη αυτή τα αποτελέσματα της αφυδρογονάσης επηρεάζονται αντιστρόφως από την αποθήκευση, ακόμα και στους 4° C (Ross, 1970). Ο αποκλεισμός του οξυγόνου ευνοεί τη μεταφορά των ηλεκτρονίων στο TTC, μετατρέποντας την απαλή κίτρινη, ελαφρώς υδατοδιαλυτή ένωση σε μια μη υδατοδιαλυτή κόκκινη χρωστική ουσία, την triphenyl-formazan (TPF).

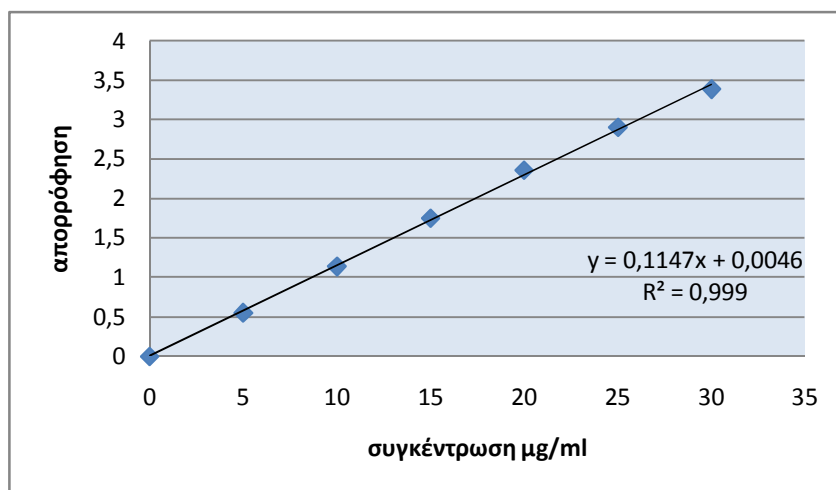
Στα γόνιμα εδάφη με υψηλά ποσοστά οργανικής ουσίας, δε χρειάζεται προσθήκη θρεπτικών συστατικών και στην πραγματικότητα, ένα από τα πλεονεκτήματα της αφυδρογονάσης έναντι των άλλων ενζύμων, είναι ότι δεν απαιτείται καμία τροποποίηση και δεν υποκινεί κατά προτίμηση καμία ομάδα μικροοργανισμών. Μετά την επώαση, τα εδαφικά δείγματα επεξεργάζονται με ένα διαλύτη για την απομάκρυνση του TPF. Ο Casida et al. (1970) χρησιμοποίησε την αιθανόλη, και ο τρόπος αυτός παρέμεινε ο πιο συνηθισμένος. Η συγκέντρωση του TPF στο δείγμα καθορίζεται με σπεκτροφωτομετρική απορρόφηση. Το διαλυμένο κατάλοιπο, TPF, απορροφά φως στην ορατή περιοχή ($\lambda=485\text{nm}$). Πάνω από ένα συγκεκριμένο εύρος συγκεντρώσεων, ο βαθμός με τον οποίο το TPF απορροφά το φως είναι ουσιαστικά η γραμμική λειτουργία της συγκέντρωσης του TPF στο διάλυμα της μεθανόλης. Συνεπώς, είναι δυνατή η κατασκευή μιας πρότυπης καμπύλης από τις μετρήσεις της απορρόφησης της ουσίας TPF συγκεκριμένων διαλυμάτων. (Ian Pepper, Charles Gerba, 2004)

2.6.2.1. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης για την αφυδρογονάση

Για τη δημιουργία της πρότυπης καμπύλης παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκεκριμένων συγκεντρώσεων TPF (Πίνακας 2.3.). Τα διαλύματα παρασκευάστηκαν σε μεθανόλη σε τελικό όγκο 20ml. Για το μηδενισμό του φωτομέτρου (485nm) χρησιμοποιήθηκε επίσης μεθανόλη. Στο Σχήμα 2.2., παρουσιάζεται η πρότυπη καμπύλη που προέκυψε από τη φωτομέτρηση των παραπάνω διαλυμάτων.

Χ (Συγκέντρωση TPF σε $\mu\text{g ml}^{-1}$)	A (Μ.Ο. Τιμών Απορρόφησης)
0	0,000
5	0,553
10	1,138
15	1,748
20	2,359
25	2,899
30	3,384

Πίνακας 2.3. Δεδομένα κατασκευής πρότυπης καμπύλης



Σχήμα 2.2. Πρότυπη καμπύλη της ουσίας TPF

2.6.3. Μέθοδοι προσδιορισμού των υδρογονανθράκων

Οι μέθοδοι ανάλυσης των υδρογονανθράκων μέσα στα ιζήματα περιλαμβάνουν συνήθως την εξαγωγή, το διαχωρισμό και τελικά τον ποσοτικό προσδιορισμό των σακχάρων. Αυτές οι διαδικασίες χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο σε περιπτώσεις όπου είναι απαραίτητος ο ακριβής προσδιορισμός των σακχάρων. Σε πολλές περιπτώσεις όπου μια εκτίμηση των συνολικών υδρογονανθράκων είναι περισσότερο σημαντική, ειδικά όταν μελετάται η ισορροπία της μάζας της οργανικής ουσίας ή επιδιώκεται ένας συσχετισμός με τη συνολική οργανική ουσία είναι ικανοποιητική η άμεση ανάλυση με μια χρωματομετρική δοκιμή σχετική με πρότυπα γλυκόζης (Rogers 1965; Swain 1966, 1967). Τρεις κύριες μέθοδοι χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των συνολικών υδρογονανθράκων: η μέθοδος της ανθρόνης (anthrone), του N - ethylcarbazole και της φαινόλης - θειικού οξέος.

Η μέθοδος της ανθρόνης παρουσιάστηκε αρχικά ως ποιοτική δοκιμή για τους υδρογονάνθρακες (Dreywood 1946) και αργότερα χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό τους (Morris 1948). Ωστόσο, οι μοριακές απορροφητικότητες του αμύλου, της κυτταρίνης, της γλυκόζης, της φρουκτόζης και άλλων φυσικά εμφανιζόμενων υδρογονανθράκων εμφάνισαν μεγάλες διαφορές με τη μέθοδο αυτή (Koehler 1952; Handa 1966). Έχει αποδειχθεί ικανοποιητική για τα ελεύθερα σάκχαρα μέσα στο νερό της θάλασσας αλλά λιγότερο ευαίσθητη σε μεθυλιωμένα σάκχαρα και πεντόζες (Antia και Lee 1963). Εντούτοις, έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για τον προσδιορισμό των υδρογονανθράκων μέσα στο νερό της θάλασσας και σε ιζήματα (Strickland και Parsons 1968; Biggs και Wetzel 1968).

Η μέθοδος του N-ethylcarbazole προτάθηκε για την ανάλυση υδρογονανθράκων στο θαλάσσιο νερό στα μέσα της δεκαετίας του '50 (Lewis και Rakestraw 1955). Με τη μέθοδο αυτή, διάφορα σάκχαρα παρουσίασαν ίδιες μοριακές απορροφητικότητες με αυτές της μεθόδου της ανθρόνης (Zein - Eldin και May 1958). Εντούτοις, άλλα υλικά (όχι υδρογονάνθρακες) στο νερό της θάλασσας παρεμβαίνουν στην ανάλυση N-ethylcarbazole των συνολικών υδρογονανθράκων (McLaughlin et al 1960).

Η μέθοδος φαινόλης - θειικού οξέος περιγράφηκε αρχικά ως μη συγκεκριμένη ποσοτική δοκιμή για τους υδρογονάνθρακες (Dubois et al 1956). Αργότερα έγινε σύγκριση της μεθόδου αυτής με τη μέθοδο της ανθρόνης και του N - ethylcarbazole (Handa, 1966) και αποδείχθηκε καταλληλότερη για τη συνολική ανάλυση υδρογονανθράκων επειδή οι μοριακές απορροφητικότητες για τα περισσότερα σάκχαρα παρουσίασαν πτώση, ενώ προέκυψαν μεγάλες παραλλαγές στις μοριακές απορροφητικότητες για τα διάφορα σάκχαρα με τις άλλες δύο μεθόδους. Στη συνέχεια, η μέθοδος φαινόλης - θειικού οξέος χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των συνολικών υδρογονανθράκων στα ιζήματα. (Sol M. Gerchakov, Patrick G. Hatchery)

Η μέθοδος φαινόλης - θειικού οξέος αποτελεί ένα παράδειγμα χρωματομετρικής μεθόδου που χρησιμοποιείται ευρέως για τον προσδιορισμό της συνολικής συγκέντρωσης των υδρογονανθράκων. Ένα καθαρό υδατικό διάλυμα υδρογονανθράκων τοποθετείται σε ένα δοκιμαστικό κύλινδρο και προστίθεται φαινόλη και θειικό οξύ. Το διάλυμα αποκτά ένα κίτρινο - πορτοκαλί χρώμα ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης μεταξύ των υδρογονανθράκων και της φαινόλης. Η απορρόφηση στα 485nm είναι αναλογική με την αρχική συγκέντρωση των υδρογονανθράκων στο δείγμα. Με τη μέθοδο αυτή γίνεται ο προσδιορισμός των ολικών σακχάρων που υπάρχουν στο δείγμα. Επειδή η μέθοδος αυτή δεν είναι στοιχειομετρική, είναι απαραίτητη η κατασκευή πρότυπης καμπύλης με τη χρήση γνωστών τιμών συγκέντρωσης υδρογονανθράκων.(Dubois et al. 1956)

2.6.3.1. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης για τους υδρογονάνθρακες

Παρασκευάστηκε διάλυμα φαινόλης και διάλυμα γλυκόζης (stock). Για το διάλυμα φαινόλης, 25gr φαινόλης διαλύθηκαν σε 500ml απιονισμένου νερού. Για το διάλυμα γλυκόζης, σε 10gr γλυκόζης προστέθηκε απιονισμένο νερό μέχρι τα 100ml. Συνεπώς, η συγκέντρωση του διαλύματος προέκυψε 100μg/ ml. Σε 8 δοκιμαστικούς σωλήνες έγιναν αραιώσεις του διαλύματος αυτού, όπως παρουσιάζονται στον ακόλουθο Πίνακα 2.4.

Σε κάθε σωλήνα προστέθηκε νερό μέχρι τα 20ml, δηλαδή, στον πρώτο 19ml νερό, στο δεύτερο 18ml κ.τ.λ. Στη συνέχεια, από κάθε σωλήνα παρασκευάστηκαν τα εξής διαλύματα:

A) 2ml διαλύματος σωλήνα + 2ml διαλύματος φαινόλης + 10ml H₂SO₄

B) 2ml διαλύματος σωλήνα + 2ml νερό + 10ml H₂SO₄

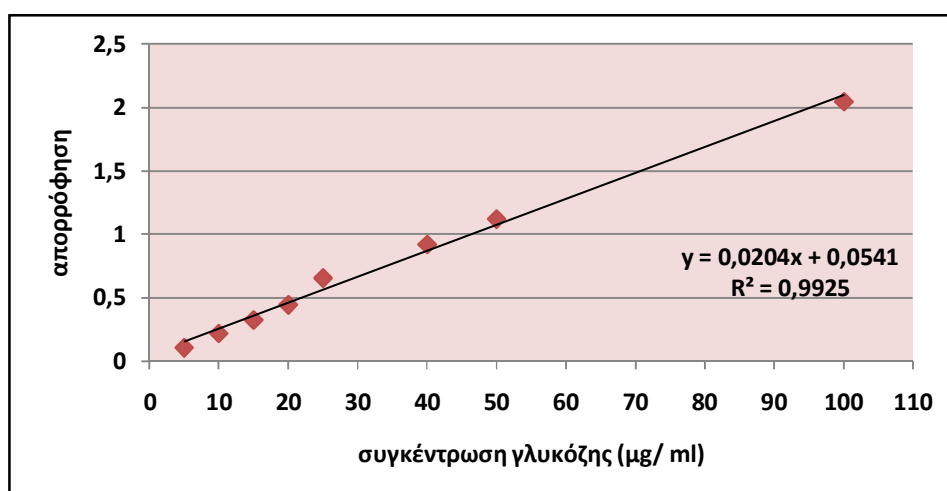
Γ) 2ml διαλύματος σωλήνα + 2ml διαλύματος φαινόλης + 10ml νερό

Ακολούθησε η φωτομέτρησή τους (485nm).

Οι τιμές της φωτομέτρησης των διαλυμάτων της σειράς Β και Γ, λειτούργησαν διορθωτικά και από τα αποτελέσματα της σειράς Α (Πίνακας 2.4.) προέκυψε η πρότυπη καμπύλη που παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.3.

ml δ/τος	Συγκέντρωση Γλυκόζης(μg/ml)	Απορρόφηση
1	5	0,108
2	10	0,221
3	15	0,326
4	20	0,446
5	25	0,657
8	40	0,922
10	50	1,122
20	100	2,046

Πίνακας 2.4. Δεδομένα κατασκευής πρότυπης καμπύλης.



Σχήμα 2.3. Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης γλυκόζης για τον προσδιορισμό των υδρογονανθράκων

2.7. Μέθοδος εξαγωγής με ζεστό νερό (hot water extraction)

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, θεωρήθηκε σημαντικό να ελεγχθούν τα αποτελέσματα των παραπάνω βιοχημικών παραμέτρων και μετά από επεξεργασία των αρχικών εδαφικών δειγμάτων με τη μέθοδο του ζεστού νερού.

Η μέθοδος εξαγωγής με ζεστό νερό (hot water extraction) θεωρείται ότι μπορεί να εξαγάγει εύκολα το αποσυντιθέμενο μέρος του οργανικού αζώτου που προέρχεται από τη μικροβιακή βιομάζα του εδάφους, από εκκρίματα ρίζας και κυτταρικά λύματα και φαίνεται να αντιπροσωπεύει ένα σχετικά ασταθές μέρος του συνολικού οργανικού N (Curtin et al., 2006). Για το λόγο αυτό, η μέθοδος αυτή συμπεριλαμβάνεται σε πολλές μελέτες και γίνεται σύγκριση των αποτελεσμάτων της με αυτά των υπόλοιπων μεθόδων και εξετάζεται τυχόν συσχετισμός τους. (Joanne Burton, Chengrong Chen, Zhihong Xu and Hossein Ghadiri, 2007)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη και η εκτίμηση κάποιων βιοχημικών παραμέτρων σε εδαφικά δείγματα που συλλέχθηκαν από διάφορες τοποθεσίες του Νομού Χανίων, της Κρήτης. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκαν πειράματα προσδιορισμού της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης, του περιεχομένου σε υδρογονάνθρακες και του ποσού του C και του N της βιομάζας των εδαφών αυτών. Στα πλαίσια της μελέτης αυτής, έγινε προσπάθεια εκτίμησης της ποιότητας των εδαφών αυτών ως προς τη γονιμότητα και την καταλληλότητά τους ως προς την παραγωγική ικανότητα με βάση τις προαναφερθείσες βιοχημικές ιδιότητες.

Όλα τα πειράματα διενεργήθηκαν στα Εργαστήρια Υδρογεωχημικής Μηχανικής και Αποκατάστασης εδαφών & Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας του Τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης.

Στο επόμενο κεφάλαιο παρατίθενται αναλυτικά στοιχεία για τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν καθώς επίσης και η περιγραφή των μεθόδων που ακολουθήθηκαν για τον προσδιορισμό των παραμέτρων που εξετάστηκαν.

Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραματικών διαδικασιών και τέλος, γίνεται παρουσίαση των γενικών και επιμέρους συμπερασμάτων που προέκυψαν κατά την εκπόνηση της μελέτης αυτής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. Υλικά

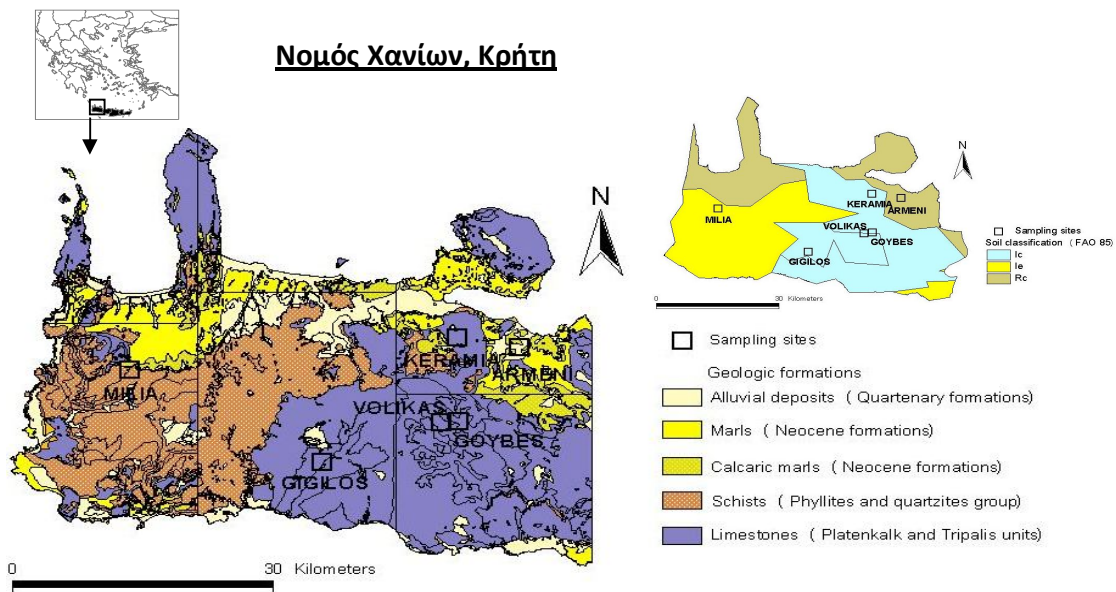
Για την εκπόνηση της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκαν δείγματα που συλλέχθηκαν από διάφορες τοποθεσίες του Νομού Χανίων, της Κρήτης. Πρόκειται για δείγματα από καλλιεργημένα εδάφη καθώς επίσης και από δύο περιοχές με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, τα οποία θεωρήθηκαν ως ξεχωριστή κατηγορία με το χαρακτηρισμό «ειδικά οικοσυστήματα». Στον Πίνακα 4.1. παρουσιάζονται τα δείγματα αυτά καθώς επίσης και κάποια χαρακτηριστικά τους, ενώ στην Εικόνα 4.1. φαίνεται ο γεωλογικός χάρτης του Ν. Χανίων και οι περιοχές όπου έγιναν οι δειγματοληψίες.

Οι κύριοι εδαφικοί τύποι που βρίσκονται στην περιοχή των Χανίων, σύμφωνα με το σύστημα FAO UNESCO, είναι ασβεστούχα και αρκετά θρεπτικά Leptosols (ή lithosols) και ασβεστούχα Regosols που και οι δύο αντιστοιχούν σε μικρού πάχους χώματα πάνω από σκληρό βράχο. Η δειγματοληψία, πραγματοποιήθηκε στα τέλη της άνοιξης του 2007 και το χειμώνα του 2008. Τα δείγματα από τους Αρμένους λαμβάνουν ανόργανη λίπανση.

Τα εδαφικά δείγματα τοποθετήθηκαν για ξήρανση στους 40°C για 24 ώρες. Στη συνέχεια, κοσκινίστηκαν από κόσκινο με μέγεθος οπών 2mm και αποθηκεύτηκαν σε πλαστικά κουτιά πριν από κάθε περαιτέρω ανάλυση.

Κωδικός Δείγματος	Τοποθεσία	Υψόμετρο	Γεωλογικό Υπόβαθρο	Φαιν. ειδικό βάρος	Αμμος	Αργίλος	Ιλύς	pH
		m		Kg/m ³	% w/w			
Καλλιεργημένα εδάφη								
A	Μηλιά	515	Σχιστόλιθοι της φυλλιτικής και χαλαζιακής σειράς	1112	65	15	20	7,84
B	Αρμένιοι	10	Αλλουβιακές αποθέσεις (τεταρτογενείς σχηματισμοί)	1056	61	24	15	7,8
C	Αρμένιοι	10	Αλλουβιακές αποθέσεις (τεταρτογενείς σχηματισμοί)	998	55	17	28	7,77
D	Αρμένιοι	10	Αλλουβιακές αποθέσεις (τεταρτογενείς σχηματισμοί)	904	40	29	31	7,71
E	Μηλιά	496	Σχιστόλιθοι της φυλλιτικής και χαλαζιακής σειράς	1004	57	25	18	7,12
Ειδικά Οικοσυστήματα								
F	Κεραμειά	440	Ασβεστόλιθοι της σειράς Τρυπολίου	862,0	53,9	15	31	7,68
G	Βόλικας	1550	Ασβεστόλιθοι και δολομίτες (σειράς πλακωδών)	832,0	39,0	32	29	7,71

Πίνακας 4.1. Εδαφικά δείγματα που μελετήθηκαν και διάφορα χαρακτηριστικά τους.



Εικόνα. 4.1. Γεωλογικός χάρτης του Νομού Χανίων και περιοχές δειγματοληψίας.

4.2. Πειραματικές διαδικασίες

4.2.1. Μέτρηση δραστηριότητας αφυδρογονάσης

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης βασίστηκε στη μελέτη του Chu (2000). Για κάθε εδαφικό δείγμα έγιναν τουλάχιστον 2 επαναλήψεις. Για κάθε επανάληψη, 2 gr δείγματος αναμίχθηκαν με 2,5ml 1% TTC (pH= 7,6) σε σκουρόχρωμα δοχεία και τοποθετήθηκαν σε κλίβανο στους 37°C για 24 ώρες (Εικόνα 4.2.). Η υγρασία του μίγματος αυτού ήταν τόση ώστε να υπάρχει μια μικρή ποσότητα ελεύθερου υγρού στην επιφάνεια του χώματος μετά την ανάδευση. Μετά από 24 ώρες, προστέθηκαν 10ml μεθανόλης στα δείγματα και τοποθετήθηκαν στον αναδευτήρα ώστε να ομογενοποιηθούν. Ακολούθησε διήθηση των δειγμάτων με glass fiber filters τα οποία ξεπλένονταν με μεθανόλη για την απομάκρυνση του κοκκινωπού χρώματος που προκλήθηκε από το TTC (Εικόνα 4.3.). Το διήθημα τοποθετήθηκε σε κωνική φιάλη και προστέθηκε μεθανόλη μέχρι τα 100ml. Στη συνέχεια, έγινε η φωτομέτρηση των δειγμάτων σε οπτική πυκνότητα 485nm. Ο μηδενισμός του φωτομέτρου έγινε με

μεθανόλη. Με βάση την πρότυπη καμπύλη για τη formazan σε μεθανόλη και χρησιμοποιώντας το μέσο όρο των τιμών της φωτομέτρησης για κάθε δείγμα, προέκυψαν οι συγκεντρώσεις της formazan σε mg/L. Στη συνέχεια, έγινε αναγωγή της περιεκτικότητας της formazan σε g εδαφικού δείγματος.



Εικόνα 4.2. Τοποθέτηση δειγμάτων στον κλίβανο στους 37°C.



Εικόνα 4.3. Διήθηση των δειγμάτων με glass fiber filters

4.2.2. Μέτρηση υδρογονανθράκων

Η μέτρηση των υδρογονανθράκων στα εξεταζόμενα δείγματα βασίστηκε στη phenol-sulfuric acid μέθοδο που παρουσιάστηκε από τον Dubois (1956). Αρχικά έγινε υδρόλυση των δειγμάτων με θειικό οξύ. Συγκεκριμένα, από κάθε εδαφικό δείγμα ζυγίστηκαν δύο ποσότητες του 1gr. Στο 1gr χώματος προστέθηκαν 10ml 0,25M H_2SO_4 ενώ στο άλλο 1gr του ίδιου δείγματος προστέθηκαν 10 ml 1M H_2SO_4 . Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν για κυκλική ανακίνηση για 16 ώρες. Στη συνέχεια, προστέθηκε και στα δύο διαλύματα 1ml 0,1M EDTA για την αποφυγή καθίζησης σακχαριτών με δισθενή και τρισθενή κατιόντα και το pH προσαρμόστηκε στο 4 με τη βοήθεια μιας βάσης (5M NaOH). Ακολούθησε φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 3500 στροφές για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, περίπου 9ml του υπερκείμενου υγρού διηθήθηκε από φίλτρο διαμέτρου 2μm. Για την απομάκρυνση τυχόν παρεμβάσεων ανόργανων ιόντων το διήθημα διαπεράστηκε αρχικά από ρεζίνη για κατιόντα (2gr) και στη συνέχεια από ρεζίνη για ανιόντα (2gr). Τελικά, για την περαιτέρω διαδικασία προσδιορισμού των ολικών υδρογονανθράκων χρησιμοποιήθηκαν 2ml από το υγρό που προέκυψε. Στον όγκο αυτό προστέθηκαν 2ml διαλύματος φαινόλης (όπως περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 2) και 10ml πυκνού H_2SO_4 και ακολούθησε η φωτομέτρηση του (οπτική πυκνότητα: 485nm). Με βάση την αντίστοιχη πρότυπη καμπύλη προέκυψαν οι συγκεντρώσεις των περιεχόμενων υδρογονανθράκων σε mg/g εδαφικού δείγματος.

4.2.3. Μέτρηση μικροβιακής βιομάζας (C και N)

Ο προσδιορισμός της μικροβιακής βιομάζας (C και N) των εξεταζόμενων δειγμάτων έγινε βάσει της μεθόδου των Vance και Brookes (1987).

Επεξεργασία δειγμάτων για μέτρηση μικροβιακής βιομάζας (C και N)

Αρχικά έγινε ο προσδιορισμός της υγρασίας των εδαφικών δειγμάτων. Τα δείγματα αφού ζυγίστηκαν, τοποθετήθηκαν σε κλίβανο στους 105° C για 24 ώρες. Στη συνέχεια, ξαναζυγίστηκαν και με τον παρακάτω τύπο υπολογίστηκε η περιεχόμενη υγρασία κάθε δείγματος.

$$\theta_g = (m-d)/d \quad (\%)$$

όπου θ_g : η περιεχόμενη υγρασία (gravimetric)

m : η μάζα του εδάφους πριν την ξήρανση

d : η μάζα του εδάφους μετά την ξήρανση

Για κάθε δείγμα ζυγίστηκαν 6 ίσες ποσότητες των 10gr και τοποθετήθηκαν σε δοχεία με πώμα (Schott bottles). Στη συνέχεια προστέθηκε απιονισμένο νερό μέχρι τον επιθυμητό βαθμό υγρασίας (40%). Στα 3 από αυτά, στα οποία δε θα γινόταν fumigation προστέθηκαν 40ml 0,5M K_2SO_4 . Ακολούθησε ανάδευση τους για 30 λεπτά και στη συνέχεια διήθησή τους από φίλτρα (Whatman No 42 filter paper), (Witt et al., 2000). Τα δείγματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν ως διορθωτικά.

Τα υπόλοιπα 3 δείγματα τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα (desiccator), στο οποίο τοποθετήθηκε επίσης ένα βρεγμένο χαρτί για τη διασφάλιση της υγρασίας. Παράλληλα, στο desiccator εισήχθη και ένα δοχείο ζέσεως με 25ml χλωροφόρμιο και λίγα boiling chips. Δημιουργήθηκαν συνθήκες κενού με τη βοήθεια μιας αντλίας και αφού το χλωροφόρμιο έβρασε για 2 λεπτά, το desiccator ασφαλίστηκε και τοποθετήθηκε στο σκοτάδι για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Για τη διατήρηση των συνθηκών κενού, πρώτα ασφαλίστηκε η βαλβίδα στο καπάκι του desiccator και στη συνέχεια γινόταν η αποσύνδεση της αντλίας.

Μία μέρα μετά, αφαιρέθηκε το δοχείο με το χλωροφόρμιο και για τυχόν υπολείμματα χλωροφορμίου, με τη βοήθεια αντλίας, έγινε αφαίρεση του αέρα 2-3

φορές ακόμα. Στη συνέχεια, τα δείγματα εξήχθησαν από το desiccator και προστέθηκαν σε αυτά 40ml 0,5M K_2SO_4 . Ακολούθησε ανάδευσή τους για 30 λεπτά και στη συνέχεια διήθησή τους από φίλτρα (Whatman No 42 filter paper). Το διήθημα αυτό χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για τον προσδιορισμό του άνθρακα και του αζώτου της βιομάζας.

4.2.3.1. Μέτρηση N της βιομάζας

Διαδικασία χώνευσης υγρών δειγμάτων για μέτρηση TKN

Για τη διεξαγωγή της διαδικασίας της χώνευσης χρησιμοποιήθηκε συσκευή τύπου Digesdahl Digestion Apparatus της εταιρείας Hach (Εικόνα 4.4.) η οποία τοποθετήθηκε στον απαγωγό. Αρχικά, μεταφέρθηκαν 20ml από το υγρό δείγμα στο Digesdahl digestion flask των 100ml. Η ποσότητα των 20ml καθορίστηκε από τον παρακάτω ενδεικτικό Πίνακα 4.2. που βρίσκεται στο εγχειρίδιο της συσκευής χώνευσης.



Εικόνα 4.4. Συσκευή μέτρησης TKN.

Αναμενόμενη συγκέντρωση αζώτου (mg/ L)	Ποσότητα δείγματος (ml) για χώνευση (B)	Όγκος ανάλυσης*(ml) που θα ληφθεί μετά τη χώνευση για ανάλυση TKN (C)	Αραίωση του όγκου ανάλυσης σε 25ml
0,5-28	40	10	
2-112	20	5	
11-560	10	2	
45-2250	5	1	
425-22500	1	0,5	

*πρόκειται για ενδεικτικές τιμές

Πίνακας 4.2. Ενδεικτικός πίνακας για τη διαδικασία χώνευσης υγρών δειγμάτων για τη μέτρηση του TKN.

Στη συνέχεια προστέθηκαν 5ml πυκνού θεικού οξέος (98%) και 6 - 10 boiling chips. Η θερμοκρασία ρυθμίστηκε αρχικά στους 440° C, στη συνέχεια όμως ανάλογα με την ένταση του βρασμού ρυθμιζόταν κατάλληλα. Όταν η συσκευή έφτασε στην επιθυμητή θερμοκρασία, επιτράπηκε η παροχή νερού στην υδραντλία. Το δείγμα με κατάλληλη διάταξη τοποθετήθηκε στη συσκευή μόνο εφόσον είχε επιτευχθεί η επιθυμητή θερμοκρασία και θερμάνθηκε μέχρι το θεικό οξύ να φτάσει σε σημείο βρασμού (οπτική παρατήρηση λευκού καπνού). Από το σημείο αυτό, το δείγμα αφέθηκε να βράζει για ακόμα 4 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκαν 10ml 50% H₂O₂ (υπεροξείδιο του υδρογόνου) σε ειδικό δοχείο της διάταξης που επέτρεπε την αργή προσθήκη του στο δείγμα. Για την απομάκρυνση της περίσσειας H₂O₂ το αφήσαμε 1 λεπτό ακόμα. Το ζεστό flask απομακρύνθηκε από τη συσκευή και αφέθηκε πάνω σε κεραμική βάση να κρυώσει. Μετά από τουλάχιστον 1 λεπτό απομακρύνθηκε η στήλη από το flask. Αφού κρύωσε προστέθηκε απιονισμένο νερό μέχρι τα 100ml. Ακολούθησε η προετοιμασία του δείγματος για φωτομέτρηση.

Διαδικασία ανάλυσης υγρών δειγμάτων για μέτρηση TKN

Σε 2 εσφυρισμένους ογκομετρικούς κυλίνδρους (με καπάκι) των 25ml τοποθετήθηκαν 5ml από το παραπάνω αραιωμένο δείγμα στον ένα και 5ml nanoH₂O

στον άλλο, ποσότητα που προέκυψε επίσης από τον Πίνακα 4.2. Στη συνέχεια προστέθηκε στον κάθε κύλινδρο 1 σταγόνα TKN indicator και αναμίχθηκαν. Έπειτα, προστέθηκαν λίγες σταγόνες KOH 8N ανακατεύοντας μέχρι να φανεί ελαφρύς μπλε χρωματισμός. Συνεχίσαμε προσθέτοντας και ανακατεύοντας KOH 1N μέχρι να σταθεροποιηθεί το μπλε χρώμα. Συμπληρώθηκε $\text{na}\text{noH}_2\text{O}$ μέχρι τα 20ml. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 3 σταγόνες Mineral Stabiliser και αφού αναμίχθηκε προστέθηκαν 3 σταγόνες PolivinyI Alcohol Dispersing Agent. Συμπληρώσαμε με $\text{na}\text{noH}_2\text{O}$ ως τα 25ml και αναμίξαμε. Τέλος, προστέθηκε 1ml αντιδραστήριο Nessler και μετά από ανάμιξη αφέθηκε για 2 λεπτά να γίνει η αντίδραση. Αφού έγινε μηδενισμός του φωτομέτρου με το νερό που υπέστη την παραπάνω διαδικασία, έγινε η μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων (460nm). Το αποτέλεσμα εκφρασμένο σε mg/ L υπολογίστηκε μέσω της απορρόφησης από την καμπύλη αναφοράς της μεθόδου. Η τελική περιεκτικότητα σε ppm TKN υπολογίστηκε από τη σχέση:

$$\text{ppm TKN} = 75 * A / B * C$$

όπου A : τιμή (mg/ L) που προέκυψε από την καμπύλη αναφοράς

B : ml δείγματος για χώνευση (Πίνακας 4.2.)

C : ml δείγματος για ανάλυση (Πίνακας 4.2.)

4.2.3.2. Μέτρηση C της βιομάζας

Η μέτρηση του οργανικού C της βιομάζας έγινε με ειδική συσκευή προσδιορισμού του TOC (Εικόνα 4.5.). Αρχικά έγινε οξίνιση των δειγμάτων σε τιμή pH= 3,5. Στη συσκευή αυτή ουσιαστικά μετράται ο C που προέρχεται από την καύση του δείγματός μας με αέρα (προϊόντα καύσης : $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{ανόργανα προϊόντα καύσης}$). Με παροχή αέρα στο δείγμα απομακρύνεται το CO_2 (δεν συμπεριλαμβάνεται στη μέτρηση) και συνεπώς μετράται ο C που παραμένει. Από τις ενδείξεις του μηχανήματος (AREA σε

ppm) με τη βοήθεια της κατάλληλης κάθε φορά καμπύλης προκύπτει η ζητούμενη συγκέντρωση του C.



Εικόνα 4.5. Όργανο μέτρησης TOC

4.3. Μέθοδος εξαγωγής με ζεστό νερό (hot water extraction)

Στην παρούσα μελέτη, για τη διεξαγωγή της μεθόδου με ζεστό νερό έγινε η ακόλουθη προεπεξεργασία των εδαφικών δειγμάτων. Από κάθε εδαφικό δείγμα, 4g χώματος αναμίχθηκαν με 20ml απιονισμένο νερό και τοποθετήθηκαν σε κλίβανο στους 70°C για 18 ώρες. Ακολούθησε κυκλική ανακίνηση των δειγμάτων για 30 λεπτά και έπειτα αφέθηκαν για επιπλέον 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν για φυγοκέντρωση για 10 λεπτά και ακολούθησε διήθησή τους από φίλτρα Whatman No 42 (filter paper) και έπειτα από φίλτρα μεγέθους πόρων 0,45μm.

Το τελικό διήθημα χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης, του περιεχομένου σε υδρογονάνθρακες και του ποσού του C και του N της βιομάζας των υπό μελέτη εδαφικών δειγμάτων.

4.3.1. Δραστηριότητα αφυδρογονάσης

Για κάθε εδαφικό δείγμα, 2ml δείγματος αναμίχθηκαν με 2,5ml 1% TTC (pH= 7,6) σε σκουρόχρωμα δοχεία και τοποθετήθηκαν σε κλίβανο στους 37° C για 24 ώρες. Η

υγρασία του μίγματος αυτού ήταν τόση ώστε να υπάρχει μια μικρή ποσότητα ελεύθερου υγρού στην επιφάνεια του χώματος μετά την ανάδευση. Μετά από 24 ώρες, προστέθηκαν 10ml μεθανόλης στα δείγματα και τοποθετήθηκαν στον αναδευτήρα ώστε να ομογενοποιηθούν. Ακολούθησε διήθηση των δειγμάτων με glass fiber filters τα οποία ξεπλένονταν με μεθανόλη για την απομάκρυνση του κοκκινωπού χρώματος που προκλήθηκε από το TTC. Το διήθημα τοποθετήθηκε σε κωνική φιάλη και προστέθηκε μεθανόλη μέχρι τα 100ml. Στη συνέχεια, έγινε η φωτομέτρηση των δειγμάτων σε οπτική πυκνότητα 485nm. Ο μηδενισμός του φωτομέτρου έγινε με μεθανόλη. Με βάση την πρότυπη καμπύλη για τη formazan σε μεθανόλη και χρησιμοποιώντας το μέσο όρο των τιμών της φωτομέτρησης για κάθε δείγμα, προέκυψαν οι συγκεντρώσεις της formazan σε mg/L. Στη συνέχεια, έγινε αναγωγή της περιεκτικότητας της formazan σε g εδαφικού δείγματος.

4.3.2. Υδρογονάνθρακες

Για κάθε εδαφικό δείγμα, σε ποσότητα 10ml προστέθηκε 1ml 0,1M EDTA και το pH προσαρμόστηκε στο 4 με τη βοήθεια μιας βάσης (5M NaOH). Για την απομάκρυνση τυχόν παρεμβάσεων ανόργανων ιόντων το διήθημα διαπεράστηκε αρχικά από ρεζίνη για κατιόντα (2g) και στη συνέχεια από ρεζίνη για ανιόντα (2g). Τελικά, για την περαιτέρω διαδικασία προσδιορισμού των ολικών υδατανθράκων χρησιμοποιήθηκαν 2ml από το υγρό που προέκυψε. Στον όγκο αυτό προστέθηκαν 2ml διαλύματος φαινόλης και 10ml πυκνού H_2SO_4 και ακολούθησε η φωτομέτρηση του (οπτική πυκνότητα: 485nm). Με βάση την αντίστοιχη πρότυπη καμπύλη προέκυψαν οι συγκεντρώσεις των περιεχόμενων υδρογονανθράκων σε mg/g εδαφικού δείγματος.

4.3.3. Άζωτο βιομάζας

Αρχικά έγινε αραιώση 1:2 των υγρών δειγμάτων και 2 ποσότητες των 10ml τοποθετήθηκαν σε δοχεία με πώμα (Schott bottles). Στο 1 από αυτά, στο οποίο δε θα

γινόταν fumigation προστέθηκαν 40ml 0,5M K_2SO_4 . Το δεύτερο δείγμα τοποθετήθηκε σε δοχείο desiccator, στο οποίο τοποθετήθηκε επίσης ένα βρεγμένο χαρτί για τη διασφάλιση της υγρασίας. Παράλληλα, στο desiccator εισήχθη και ένα δοχείο ζέσεως με 25ml χλωροφόρμιο και λίγα boiling chips. Δημιουργήθηκαν συνθήκες κενού με τη βοήθεια μιας αντλίας και αφού το χλωροφόρμιο έβρασε για 2 λεπτά, το desiccator ασφαλίστηκε και τοποθετήθηκε στο σκοτάδι για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Για τη διατήρηση των συνθηκών κενού, πρώτα ασφαλίστηκε η βαλβίδα στο καπάκι του desiccator και στη συνέχεια γινόταν η αποσύνδεση της αντλίας.

Μία μέρα μετά, αφαιρέθηκε το δοχείο με το χλωροφόρμιο και για τυχόν υπολείμματα χλωροφορμίου, με τη βοήθεια αντλίας, έγινε αφαίρεση του αέρα 2-3 φορές ακόμα. Στη συνέχεια, το δείγμα εξήχθη από το desiccator και προστέθηκε σε αυτό 40ml 0,5M K_2SO_4 . Το τελικό υγρό χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για τον προσδιορισμό του αζώτου της μικροβιακής βιομάζας, όπως περιγράφηκε παραπάνω.

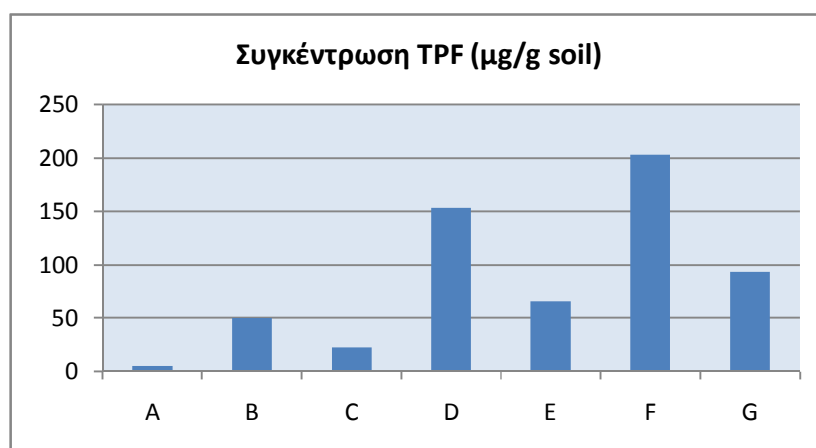
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1. Δραστηριότητα της αφυδρογονάσης

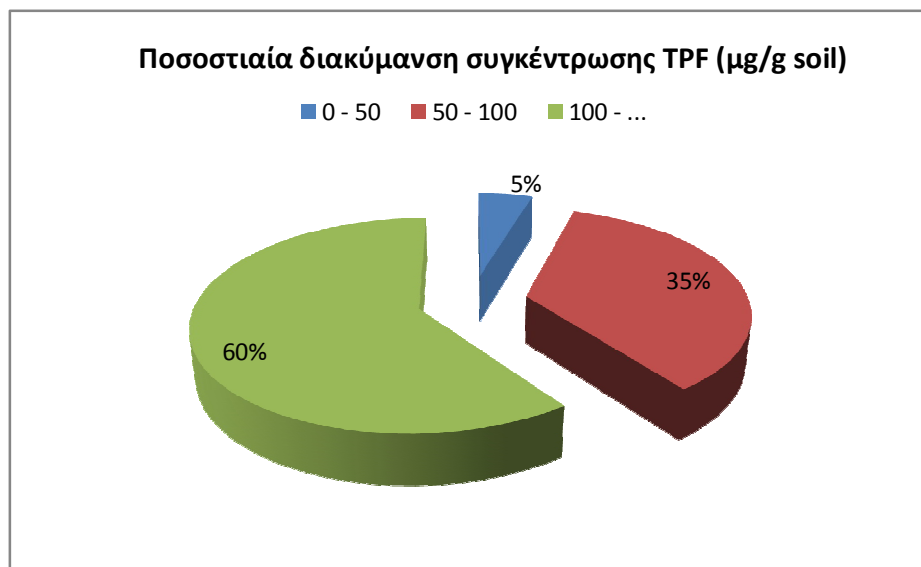
Τα αποτελέσματα της επεξεργασίας των δειγμάτων με τη μέθοδο του TTC, για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης, παρατίθενται στον Πίνακα 5.1. Στο Σχήμα 5.1. παρουσιάζεται γραφικά η συγκέντρωση της ουσίας TPF ανά g κάθε εδαφικού δείγματος, ενώ στο Σχήμα 5.2. φαίνεται η ποσοστιαία διακύμανση της συγκέντρωσης της ουσίας TPF (μg/g δείγματος).

ΔΕΙΓΜΑ	Συγκέντρωση TPF (μg/g soil)
A	4,97
B	50,01
C	22,19
D	153,18
E	65,78
F	202,88
G	93,24

Πίνακας 5.1. Συγκέντρωση της ουσίας TPF ανά g εδαφικού δείγματος



Σχήμα 5.1. Γραφική απεικόνιση της συγκέντρωσης της ουσίας TPF ανά g εδαφικού δείγματος



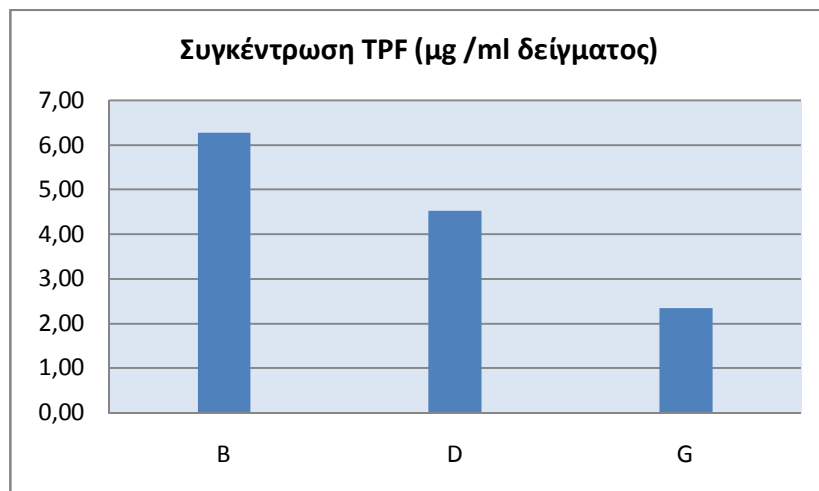
Σχήμα 5.2. Ποσοστιαία διακύμανση της συγκέντρωσης της ουσίας TPF (μg/g δείγματος), στο σύνολο των δειγμάτων.

5.1.1. Αποτελέσματα επεξεργασίας με hot-water

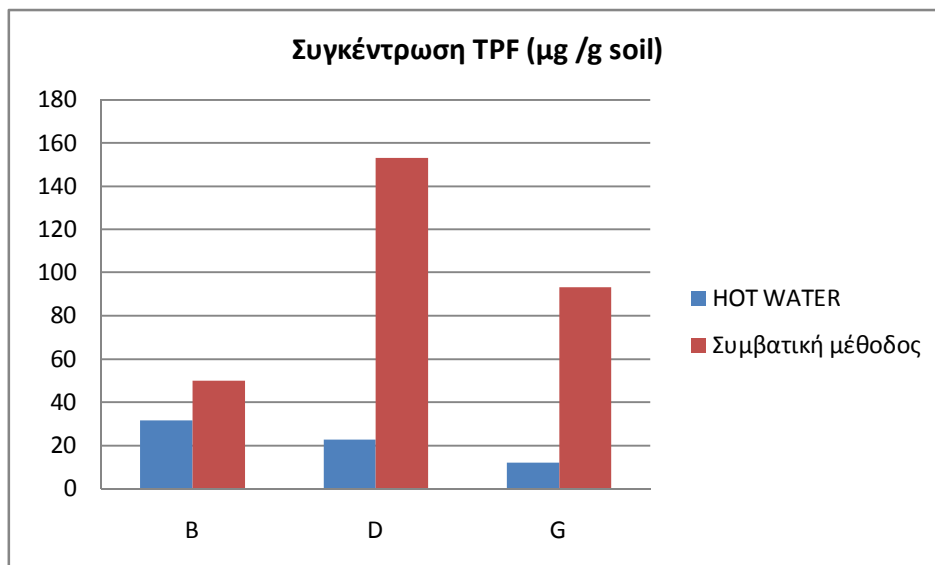
Στον Πίνακα 5.2. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επεξεργασίας με hot-water για τη μέτρηση της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης. Στο Σχήμα 5.3. φαίνεται η γραφική απεικόνιση της συγκέντρωσης της ουσίας TPF ανά g εδαφικού δείγματος με επεξεργασία με hot-water ενώ στο Σχήμα 5.4. δίνεται το συγκριτικό διάγραμμα της συγκέντρωσης της ουσίας TPF ανά g εδαφικού δείγματος με τη συμβατική μέθοδο και με την επεξεργασία με hot-water.

ΔΕΙΓΜΑ	Συγκέντρωση TPF (μg/g soil)
B	31,39
D	22,67
G	11,77

Πίνακας 5.2. Συγκέντρωση της ουσίας TPF/g εδαφικού δείγματος με επεξεργασία με hot-water.



Σχήμα 5.3. Γραφική απεικόνιση της συγκέντρωσης της ουσίας TPF ανά g εδαφικού δείγματος με επεξεργασία με hot-water.



Σχήμα 5.4. Συγκριτικό διάγραμμα της συγκέντρωσης της ουσίας TPF ανά g εδαφικού δείγματος με τη συμβατική μέθοδο και με την επεξεργασία με hot-water.

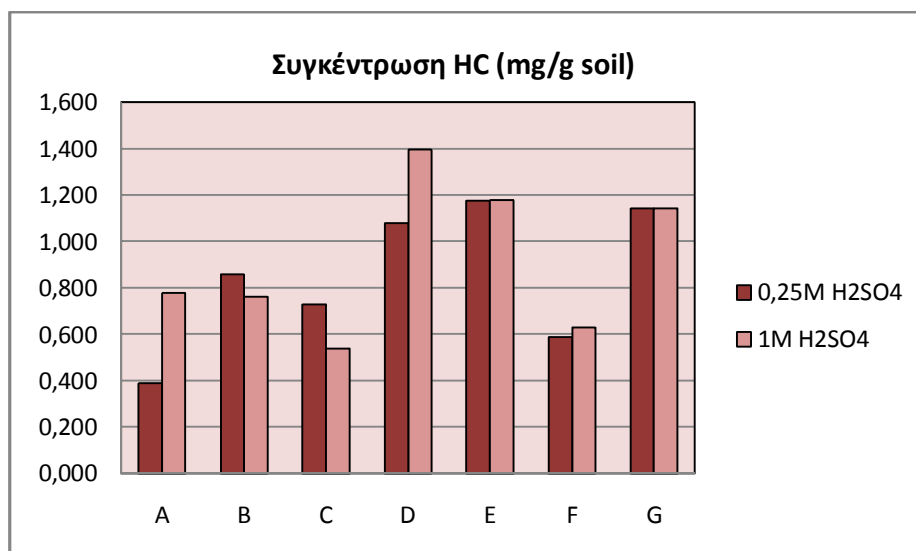
(σ.σ. Pearson < 0,5)

5.2. Υπολογισμός υδρογονανθράκων

Στον Πίνακα 5.3. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μεθόδου φαινόλης – θειικού οξέος για τον υπολογισμό των υδρογονανθράκων ανά g χώματος. Στο Σχήμα 5.5. απεικονίζεται γραφικά η συγκέντρωση των υδρογονανθράκων σε mg/ g εδαφικού δείγματος για υδρόλυση με 0,25M H₂SO₄ και 1M H₂SO₄.

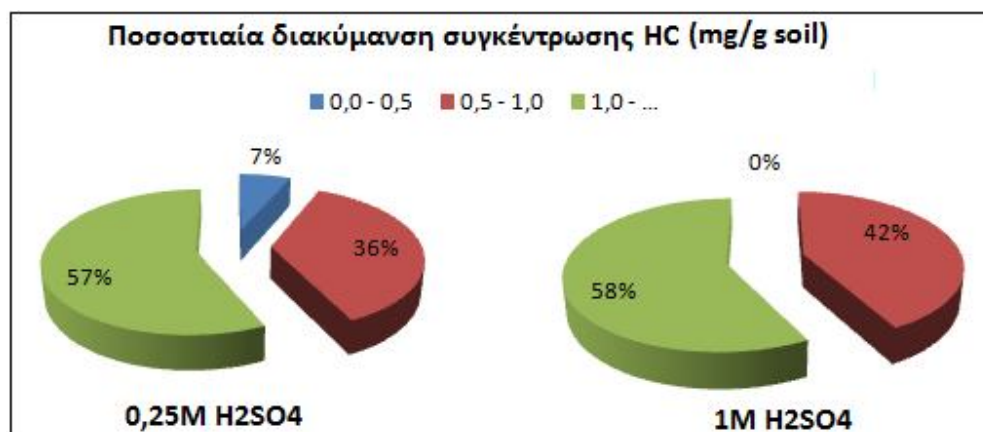
ΔΕΙΓΜΑ	Συγκέντρωση HC mg/g soil	
	0,25M H ₂ SO ₄	1M H ₂ SO ₄
A	0,389	0,779
B	0,858	0,763
C	0,730	0,540
D	1,078	1,395
E	1,177	1,180
F	0,589	0,631
G	1,143	1,145

Πίνακας 5.3. Συγκέντρωση HC (mg/g soil) που προέκυψε από τη μέθοδο φαινόλης – θειικού οξέος, για υδρόλυση των δειγμάτων με 0,25M H₂SO₄ και 1M H₂SO₄.



Σχήμα 5.5. Γραφική απεικόνιση της συγκέντρωσης των υδρογονανθράκων σε mg/ g εδαφικού δείγματος για υδρόλυση με 0,25M H₂SO₄ και 1M H₂SO₄. (σ.σ. Pearson = 0,77)

Τέλος, στο Σχήμα 5.6. παρουσιάζεται η ποσοστιαία διακύμανση της συγκέντρωσης HC (mg/g soil) για υδρόλυση με 0,25M H₂SO₄ και 1M H₂SO₄.



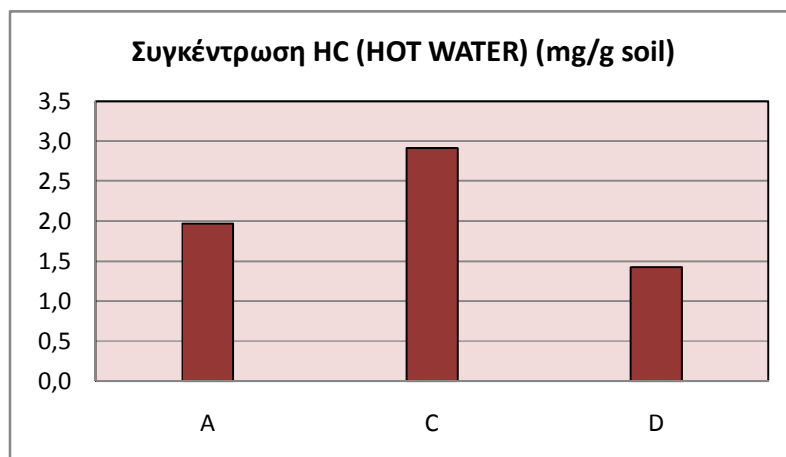
Σχήμα 5.6. Ποσοστιαία διακύμανση της συγκέντρωσης HC (mg/g soil) για υδρόλυση με 0,25M H₂SO₄ και 1M H₂SO₄

5.2.1. Αποτελέσματα επεξεργασίας με hot-water

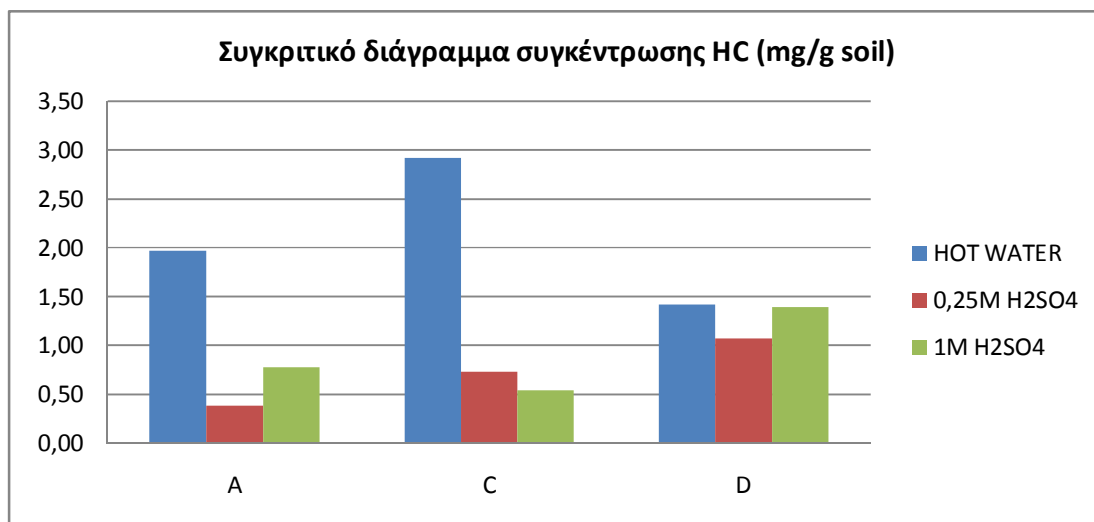
Στη συνέχεια παρατίθενται τα αποτελέσματα για τον προσδιορισμό των υδρογονανθράκων από την επεξεργασία των δειγμάτων με hot-water. Στον Πίνακα 5.4. δίνεται η συγκέντρωση των HC (mg/g soil) που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water. Στο Σχήμα 5.7. παρουσιάζεται η γραφική απεικόνιση της συγκέντρωσης των υδρογονανθράκων σε mg/g δείγματος που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water και στο Σχήμα 5.8. φαίνεται το συγκριτικό διάγραμμα της συγκέντρωσης των HC (mg/ g soil) με τη συμβατική μέθοδο και με την επεξεργασία με hot-water.

ΔΕΙΓΜΑ	Συγκέντρωση HC (mg/g soil)
A	0,395
C	0,584
D	0,285

Πίνακας 5.4. Συγκέντρωση HC (mg/g soil) που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water.



Σχήμα 5.7. Γραφική απεικόνιση της συγκέντρωσης των υδρογονανθράκων σε mg/ g δείγματος που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water.



Σχήμα 5.8. Συγκριτικό διάγραμμα της συγκέντρωσης των HC (mg/ g soil) με τη συμβατική μέθοδο και με την επεξεργασία με hot-water. (σ.σ. Pearson < 0,5)

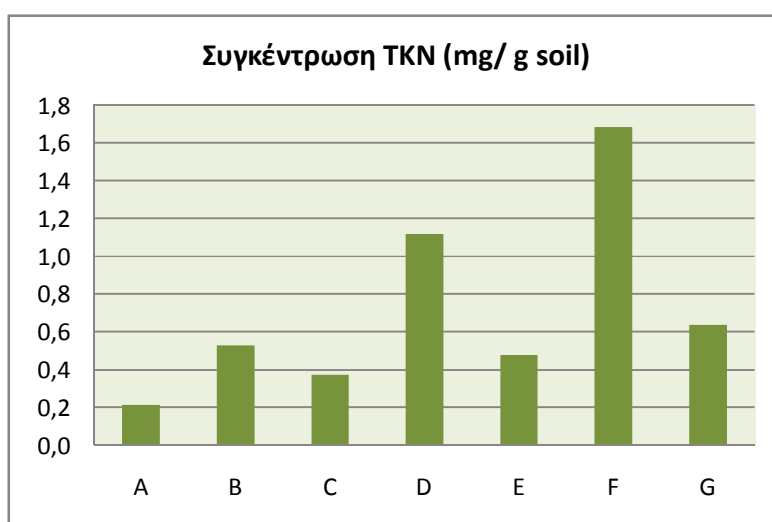
5.3. Μέτρηση μικροβιακής βιομάζας

5.3.1. Μέτρηση N της μικροβιακής βιομάζας

Στον Πίνακα 5.5. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μεθόδου μέτρησης της συγκέντρωσης του N της μικροβιακής βιομάζας(TKN) σε mg/g εδαφικού δείγματος. Στο Σχήμα 5.9. παρουσιάζεται γραφικά η συγκέντρωση του TKN σε mg/g εδαφικού δείγματος που προέκυψε από τη διαδικασία με και χωρίς fumigation.

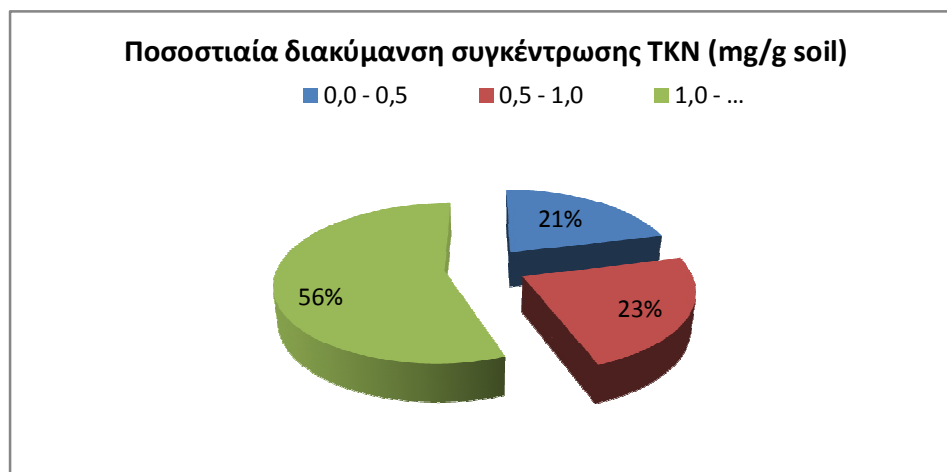
ΔΕΙΓΜΑ	TKN(mg/ g soil)
A	0,213
B	0,532
C	0,372
D	1,117
E	0,479
F	1,684
G	0,638

Πίνακας 5.5. Αποτελέσματα μεθόδου προσδιορισμού του N της μικροβιακής βιομάζας.



Σχήμα 5.9. Γραφική παρουσίαση της συγκέντρωσης του TKN σε mg/g εδαφικού δείγματος.

Στο παρακάτω Σχήμα 5.10. παρουσιάζεται η ποσοστιαία διακύμανση της συγκέντρωσης του TKN (mg/g soil) στο σύνολο των εδαφικών δειγμάτων.



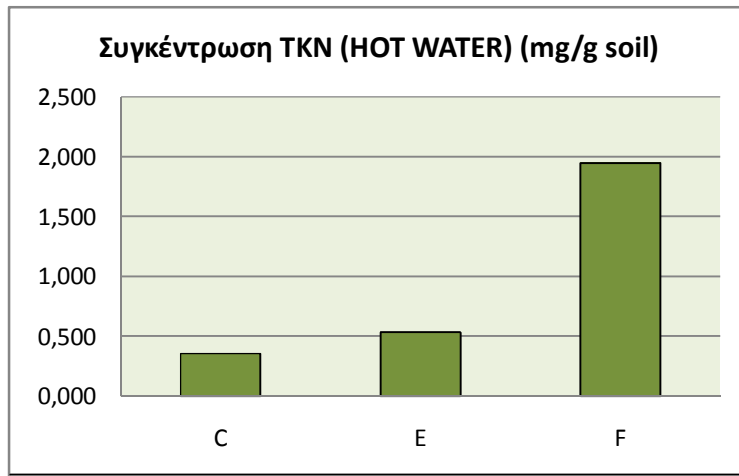
Σχήμα 5.10. Ποσοστιαία διακύμανση της συγκέντρωσης του TKN (mg/g soil) στο σύνολο των εδαφικών δειγμάτων.

5.3.1.1. Αποτελέσματα επεξεργασίας με hot-water

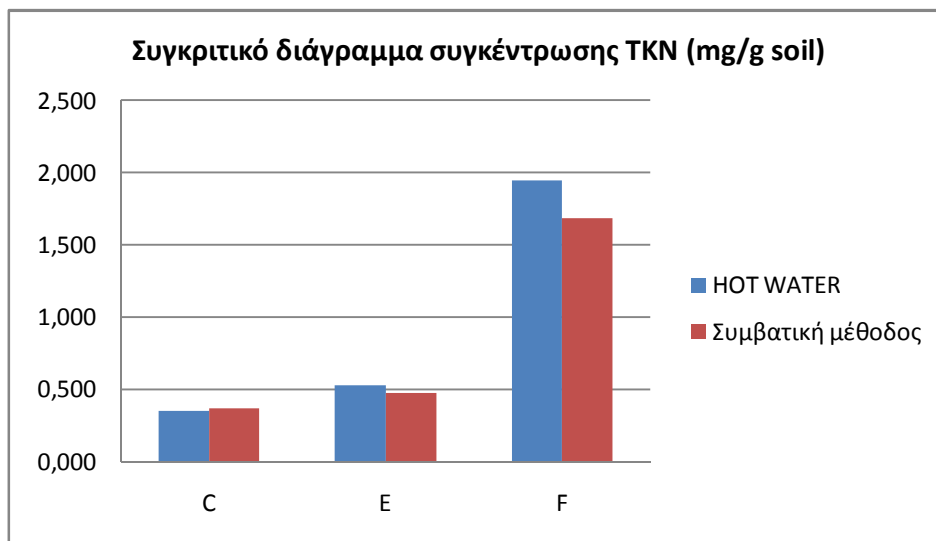
Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα προσδιορισμού της συγκέντρωσης TKN μετά από επεξεργασία των δειγμάτων με hot-water (Πίνακας 5.6.). Στο Σχήμα 5.11. δίνεται η γραφική απεικόνιση της συγκέντρωσης TKN (mg/g soil) που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water και στο Σχήμα 5.12. το συγκριτικό διάγραμμα της συγκέντρωσης του TKN (mg/g soil) με τη συμβατική μέθοδο και μετά από επεξεργασία με hot-water.

ΔΕΙΓΜΑ	TKN (mg/g soil)
C	0,355
E	0,532
F	1,950

Πίνακας 5.6. Συγκέντρωση TKN (mg/g soil) που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water.



Σχήμα 5.11. Γραφική απεικόνιση της συγκέντρωσης TKN (mg/g soil) που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water.



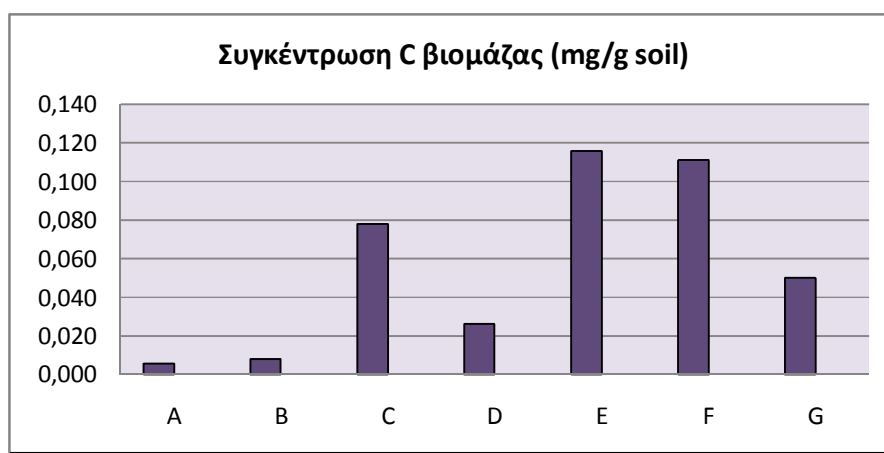
Σχήμα 5.12. Συγκριτικό διάγραμμα της συγκέντρωσης του TKN (mg/g soil) με τη συμβατική μέθοδο και με την επεξεργασία με hot-water. (σ.σ. Pearson = 0,99)

5.3.2. Μέτρηση C μικροβιακής βιομάζας

Στον Πίνακα 5.7. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα μετρήσεων του C της μικροβιακής βιομάζας, των υπό μελέτη εδαφικών δειγμάτων, σε mg C ανά g εδαφικού δείγματος.

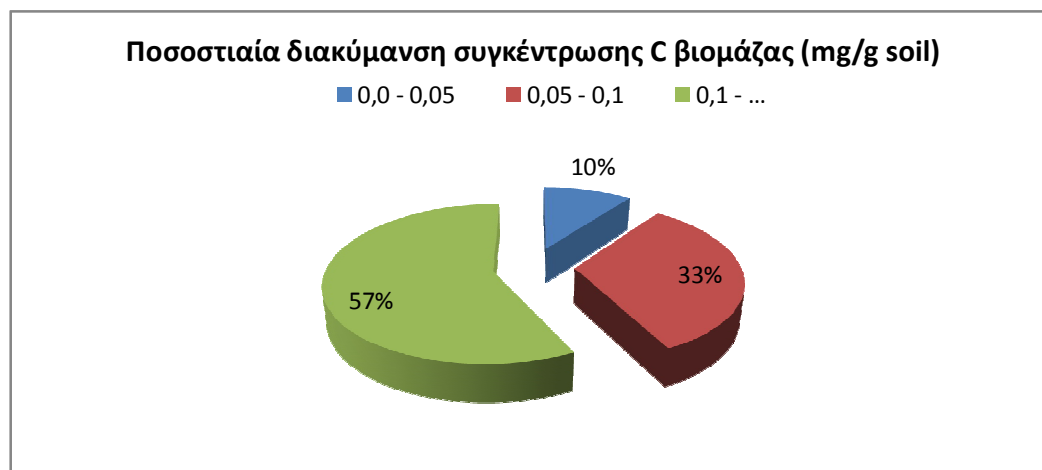
ΔΕΙΓΜΑ	mg C/g soil
A	0,006
B	0,008
C	0,078
D	0,026
E	0,116
F	0,111
G	0,050

Πίνακας 5.7. Τιμές συγκέντρωσης του C της μικροβιακής βιομάζας ανά g εδαφικού δείγματος.



Σχήμα 5.13. Γραφική απεικόνιση της συγκέντρωσης C της μικροβιακής βιομάζας σε g εδαφικού δείγματος.

Στο παρακάτω Σχήμα 5.14. παρουσιάζεται η ποσοστιαία διακύμανση της συγκέντρωσης του C της μικροβιακής βιομάζας (mg C/g soil).

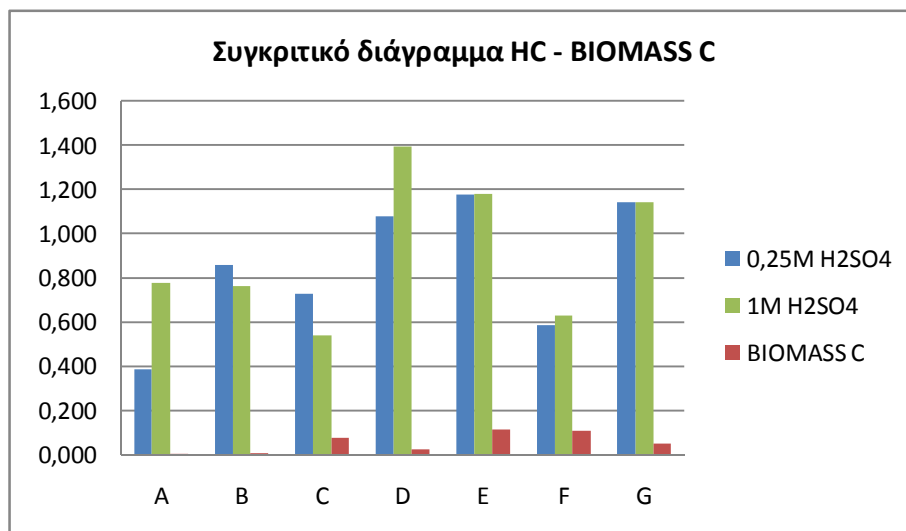


Σχήμα 5.14. Ποσοστιαία διακύμανση της συγκέντρωσης του C της μικροβιακής βιομάζας (mg C/g soil)

Στα πλαίσια της μελέτης αυτής εξετάστηκε και ο λόγος C/N της μικροβιακής βιομάζας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.8. Ακόμα, στο Σχήμα 5.15. παρουσιάζεται ένα συγκριτικό διάγραμμα της συγκέντρωσης των υδρογονανθράκων και του άνθρακα της μικροβιακής βιομάζας.

ΔΕΙΓΜΑ	C/N
A	0,027
B	0,015
C	0,209
D	0,023
E	0,242
F	0,066
G	0,078

Πίνακας 5.8. Λόγος C/N της μικροβιακής βιομάζας.

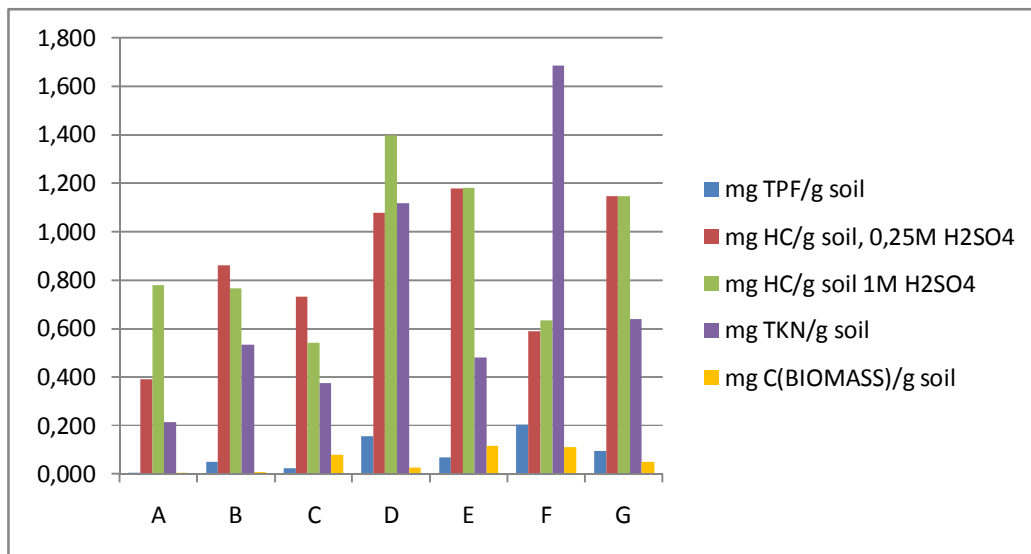


Σχήμα 5.15. Συγκριτικό διάγραμμα της συγκέντρωσης των υδρογονανθράκων και του άνθρακα της μικροβιακής βιομάζας για όλα τα δείγματα.

Στον Πίνακα 5.9. παρουσιάζονται συνολικά όλες οι παράμετροι που εξετάστηκαν για κάθε εδαφικό δείγμα και στο Σχήμα 5.16. δίνεται η γραφική απεικόνιση όλων αυτών των παραμέτρων.

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ	ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΑΘΡΑΚΕΣ		ΒΙΟΜΑΖΑ	
	mg TPF/g soil	mg /g soil		mg TKN/g soil	mg C/g soil
		0,25M H ₂ SO ₄	1M H ₂ SO ₄		
A	0,005	0,389	0,779	0,213	0,006
B	0,050	0,858	0,763	0,532	0,008
C	0,022	0,730	0,540	0,372	0,078
D	0,153	1,078	1,395	1,117	0,026
E	0,066	1,177	1,180	0,479	0,116
F	0,203	0,589	0,631	1,684	0,111
G	0,093	1,143	1,145	0,638	0,050

Πίνακας 5.9. Αποτελέσματα όλων των παραμέτρων που εξετάστηκαν για κάθε εδαφικό δείγμα που μελετήθηκε.



Σχήμα 5.16. Συγκριτικό διάγραμμα όλων των παραμέτρων που εξετάστηκαν για κάθε εδαφικό δείγμα που μελετήθηκε.

Στον Πίνακα 5.10. υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία για το σύνολο των δειγμάτων. Τέλος, στο Σχήμα 5.17 παρουσιάζεται ένα δενδρόγραμμα ενδεικτικό της ομοιότητας μεταξύ των δειγμάτων με βάση τις τέσσερις παραμέτρους που εξετάστηκαν.

	DEHYDROGENASE	HC/0,25M H ₂ SO ₄	HC/1M H ₂ SO ₄	BIOMASS N	BIOMASS C
DEHYDROGENASE	1	0,195	0,261	0,977	0,381
HC/0,25M H ₂ SO ₄	0,195	1	0,770	0,011	0,200
HC/1M H ₂ SO ₄	0,261	0,770	1	0,063	-0,109
BIOMASS N	0,977	0,011	0,063	1	0,380
BIOMASS C	0,381	0,200	-0,109	0,380	1

Πίνακας 5.10. Pearson correlation μεταξύ όλων των παραμέτρων του συνόλου των δειγμάτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1. Συμπεράσματα και παρατηρήσεις

Δραστηριότητα αφυδρογονάσης

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η δραστηριότητα αφυδρογονασών χρησιμεύει ως ένας δείκτης του μικροβιολογικού οξειδοαναγωγικού συστήματος και μπορεί να θεωρηθεί καλό μέτρο των μικροβιακών οξειδωτικών δραστηριοτήτων του εδάφους (Skujins 1973; Casida 1977; Tabatabai 1982).

Η μέθοδος με TTC που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία, για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης, διακρίνεται για την ευκολία εφαρμογής της και τη χρησιμότητα της. Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο αυτή, παρουσίασαν σχετικά υψηλές τιμές συγκέντρωσης της ουσίας TPF (Σχήμα 5.1.) καθώς το 60% των δειγμάτων παρουσίασε συγκέντρωση TPF πάνω από 100μg ανά g εδαφικού δείγματος (Σχήμα 5.2.).

Ωστόσο, παρατηρείται μεγάλη ανομοιομορφία στις συγκεντρώσεις TPF που μετρήθηκαν μεταξύ των δειγμάτων, ακόμα και αυτών που προέρχονται από την ίδια περιοχή δειγματοληψίας. Οι πολύ χαμηλές τιμές συγκέντρωσης TPF μπορεί να οφείλονται είτε στην αρχική κακή κατάσταση των εδαφών λόγω μακροχρόνιας καλλιέργειας ή στη μετέπειτα διαχείριση τους (συντήρηση, επεξεργασία). Στη διεθνή βιβλιογραφία, η μέθοδος με TTC έχει από πολλούς αμφισβητηθεί εξαιτίας της μειωμένης ευαισθησίας της. Για το λόγο αυτό, πολλοί ερευνητές (Benefield, 1977, Trevors, 1984, Groffiths, 1989, W. von Merci και F. Schinner, 1991) προτείνουν τη χρήση του INT για τη μέτρηση της αφυδρογονάσης αντί για το TTC. Η μέθοδος του TTC προϋποθέτει αναερόβιες συνθήκες που συχνά είναι δύσκολο να επιτευχθούν. Συνεπώς, το O₂ που εισάγεται στα δείγματα οδηγεί σε μείωση της ευαισθησίας της μεθόδου. Αντίθετα, το O₂ δεν επηρεάζει το INT, με αποτέλεσμα η εφαρμογή αναερόβιων συνθηκών κατά τη διεξαγωγή της μεθόδου αυτής, να μην είναι απαραίτητη.

Υδρογονάνθρακες

Η εξαγωγή και ο ακριβής προσδιορισμός των υδρογονανθράκων του εδάφους είναι ουσιαστικής σημασίας για την αξιολόγηση του ρόλου των υδρογονανθράκων στη σταθεροποίηση των εδαφικών συνόλων (Piccolo, 1996).

Η εφαρμογή της μεθόδου φαινόλης - θεικού οξέος για τον προσδιορισμό των υδρογονανθράκων, έδωσε σχετικά υψηλές τιμές συγκέντρωσης υδρογονανθράκων στα δείγματα που μελετήθηκαν (Πίνακας 5.3.). Αν και πρόκειται για μια αρκετά πολύπλοκη διαδικασία που απαιτεί πολλή προσοχή κατά την επεξεργασία των δειγμάτων, τα αποτελέσματα της υδρόλυσης των δειγμάτων με τους δύο τύπους οξέων (0,25M H₂SO₄ και 1M H₂SO₄) δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές, εκτός από κάποιες μεμονωμένες περιπτώσεις (Σχήμα 5.5.). Ωστόσο, ακόμα και στις περιπτώσεις όπου υπήρξε διαφορά, δε φαίνεται η πυκνότητα του θεικού οξέος να επηρεάζει μονοσήμαντα την περιεκτικότητα των υδρογονανθράκων, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να διεξαχθεί κάποιο συμπέρασμα σχετικά με την επιλογή μιας συγκεκριμένης συγκέντρωσης διαλύματος θεικού οξέος. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.5., σε ορισμένες περιπτώσεις η υδρόλυση με 0,25M H₂SO₄ έδωσε υψηλότερη συγκέντρωση υδρογονανθράκων από αυτήν που προέκυψε με υδρόλυση με 1M H₂SO₄, ενώ σε άλλες περιπτώσεις συνέβη ακριβώς το αντίθετο.

Για τον έλεγχο της συσχέτισης των αποτελεσμάτων των περιεχομένων υδρογονανθράκων με τους δύο τύπους οξέος, υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson και προέκυψε ίσος με 0,77, τιμή που φανερώνει μια σχετικά καλή συσχέτιση.

Μικροβιακή βιομάζα

Όπως προαναφέρθηκε, η μικροβιακή βιομάζα αποτελεί ίσως τον πιο διαδεδομένο και κατάλληλο δείκτη ποιότητας του εδάφους. Διαφορές σε αυτό το «ζωντανό» μέρος του C μπορεί να απεικονίζουν αλλαγές στο έδαφος εξαιτίας διαχειριστικών πρακτικών, οργώματος, τροποποιήσεων, μόλυνσης ή ακόμη και αλλαγής κλίματος.

Η ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος με fumigation, που εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη για τον προσδιορισμό του C και N της μικροβιακής βιομάζας, απέδωσε ιδιαίτερα υψηλές τιμές συγκέντρωσης TKN (Πίνακας 5.5.), σε αντίθεση με αυτές του C (Πίνακας 5.7.). Αν και όλα τα δείγματα παρουσίασαν έστω και μια μικρή ποσότητα C ή N, σε καμία περίπτωση δεν μπορεί να προκύψει ταύτιση ή συσχέτιση των τιμών των δύο μετρούμενων παραμέτρων της μικροβιακής βιομάζας. Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδοθεί ίσως στην πολυπλοκότητα της μεθόδου, τα πολλά στάδια επεξεργασίας και φροντίδας των εδαφικών δειγμάτων, σε ενδεικτικές τιμές που λήφθηκαν κατά τους υπολογισμούς, στην ευαισθησία σε εξωτερικούς παράγοντες (θερμοκρασία, φως κ.α.).

Σύγκριση του συνόλου των δεικτών

Από το Σχήμα 5.16 που παρουσιάζει τα αποτελέσματα όλων των εξεταζόμενων βιοχημικών παραμέτρων για κάθε εδαφικό δείγμα, παρατηρούμε ότι κάποιες παράμετροι παρουσίασαν ομοιόμορφη και κάποιες άλλες ανομοιόμορφη συμπεριφορά στο σύνολο των δειγμάτων. Για παράδειγμα το δείγμα F παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση της ουσίας TPF, τη μεγαλύτερη συγκέντρωση TKN και τη δεύτερη μεγαλύτερη συγκέντρωση C της βιομάζας αλλά μια σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα υδρογονανθράκων. Δεδομένου ότι οι μικροοργανισμοί του εδάφους αποικοδομούν τους υδρογονάνθρακες που βρίσκονται σε αυτό, οπότε όταν οι μικροοργανισμοί είναι πολλοί οι υδρογονάνθρακες είναι λίγοι στο έδαφος, το δείγμα F θα μπορούσε να θεωρηθεί καλής ποιότητας. Αντιθέτως, το δείγμα E εμφανίζει μία από τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων και σε C της βιομάζας αλλά σχετικά μέτριες συγκεντρώσεις της ουσίας TPF και TKN, καθιστώντας το έτσι μάλλον σε μέτριας ποιότητας δείγμα.

Για μια σαφέστερη εικόνα της συσχέτισης μεταξύ των παραμέτρων που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία, υπολογίστηκαν οι επιμέρους συντελεστές Pearson, r , (Πίνακας 5.10). Επισημαίνεται στο σημείο αυτό ότι όσο η τιμή του

συντελεστή Pearson τείνει προς τη μονάδα τόσο καλύτερη είναι η συσχέτιση (θετική συσχέτιση, δηλαδή αναμένεται αύξηση στην τιμή της μιας ιδιότητας να συνεπάγεται και αύξηση στην τιμή της άλλης ιδιότητας.) Ωστόσο, στην περίπτωση των υδρογονανθράκων επειδή όπως προαναφέρθηκε αποικοδομούνται από τους μικροοργανισμούς του εδάφους είναι επιθυμητή μια μικρή τιμή του συντελεστή Pearson μεταξύ των υδρογονανθράκων και της βιομάζας και των υδρογονανθράκων και της αφυδρογονάσης, καθώς φανερώνεται έτσι η ενεργότητα των μικροοργανισμών του εδάφους (αρνητική συσχέτιση). Με βάση τις τιμές του Πίνακα 5.10., προκύπτει πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης και του N της βιομάζας ($r = 0,977$), ενώ σε σχέση με τον C της βιομάζας ο συντελεστής Pearson προέκυψε ίσος με $r=0,381$. Ακόμα, η τιμή του συντελεστή Pearson μεταξύ του C και του N της βιομάζας βρέθηκε $r=0,380$, γεγονός που δεν φανερώνει κάποια συσχέτιση μεταξύ των δύο δεικτών. Τέλος, παρατηρούμε ότι η συσχέτιση των υδρογονανθράκων με τις υπόλοιπες ιδιότητες που εξετάστηκαν προέκυψε πράγματι χαμηλή ($-0,109 < r < 0,261$), όπως αναμενόταν.

Το δενδρόγραμμα του Σχήματος 5.17 είναι ενδεικτικό της ομοιότητας μεταξύ των δειγμάτων με βάση τις τέσσερις παραμέτρους που μελετήθηκαν. Για παράδειγμα, τα δείγματα B, G, C και E παρουσιάζουν μεγάλη ομοιότητα μεταξύ τους (κοντά στο 99%) γεγονός που δείχνει ότι έχουν παρόμοια ποιότητα και συμπεριφορά. Αντίθετα, το δείγμα F δεν έχει καμιά ομοιότητα με τα υπόλοιπα, δηλαδή, στην περίπτωση αυτή οι τιμές των παραμέτρων του συγκεκριμένου δείγματος διέφεραν κατά πολύ από αυτές των υπολοίπων δειγμάτων. Ακόμα, το δείγμα A παρουσίασε βαθμό ομοιότητας 78% με όλα τα δείγματα εκτός από το δείγμα F. Ομοίως και το δείγμα D, που με εξαίρεση το δείγμα F, παρουσίασε ομοιότητα που φτάνει το 83% με τα δείγματα B, G, C και E και το 78% με το δείγμα A.

Αναλογία C/N

Η αναλογία C/N της οργανικής μάζας του εδάφους είναι ένα μέτρο της ποιότητάς του και όσο μικρότερη η αναλογία τόσο λιγότερο σταθερή είναι η οργανική μάζα του εδάφους. Γενικά, όταν η αναλογία C/N εμφανίζει τιμή μεταξύ 3–5, στο έδαφος κυριαρχούν τα βακτήρια, ενώ όταν η τιμή της αναλογίας αυτής είναι μεταξύ 4–15 στο έδαφος υπάρχουν περισσότεροι μύκητες (Paul and Clark 1989).

Στην περίπτωση των δειγμάτων μας (Πίνακας 5.8.), ο λόγος αυτός είναι σχεδόν μηδενικός καθώς οι τιμές του C είναι κατά πολύ μικρότερες από αυτές του N της βιομάζας, γεγονός που μαρτυρά, ίσως, την εξαιρετικά χαμηλή σταθερότητα της οργανικής ουσίας των υπό μελέτη εδαφών. Ακόμα, οι τιμές αυτές φανερώνουν πλήρη έλλειψη μυκήτων στο έδαφος που αποτελούν τους κύριους αποικοδομητές της οργανικής ουσίας του.

Έλεγχος συσχέτισης C μικροβιακής βιομάζας και των υδρογονανθράκων

Στο Σχήμα 5.15, παρουσιάζονται σχηματικά οι συγκεντρώσεις του C της μικροβιακής βιομάζας και των υδρογονανθράκων. Παρατηρούμε για άλλη μια φορά την αρνητική συσχέτιση των δύο παραμέτρων, καθώς οι τιμές του C της μικροβιακής βιομάζας είναι κατά πολύ μικρότερες από αυτές των περιεχόμενων υδρογονανθράκων σε κάθε δείγμα.

Μέθοδος με ζεστό νερό

Όσον αφορά στη μέθοδο με ζεστό νερό, όπως φαίνεται από το Σχήμα 5.4., όταν εφαρμόστηκε για τη δραστηριότητα της αφυδρογονάσης, έδωσε ιδιαίτερα χαμηλές τιμές σε σχέση με τη συμβατική διαδικασία, χωρίς να μπορεί να προκύψει κάποια συσχέτιση των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων (συντελεστής Pearson, $r < 0,5$). Αντίθετα, στην περίπτωση των μετρούμενων υδρογονανθράκων, οι τιμές της

συγκέντρωσης που προέκυψαν με τη μέθοδο με ζεστό νερό ήταν κατά πολύ υψηλότερες, από αυτές της συμβατικής μεθόδου ($r < 0,5$) ιδίως για τα δείγματα Α και C (Σχήμα 5.8.). Ωστόσο, κατά τη μέτρηση του N της βιομάζας οι τιμές που προέκυψαν από τη συμβατική μέθοδο με fumigation και από τη μέθοδο με ζεστό νερό παρουσιάζουν ιδιαίτερα καλή συσχέτιση ($r = 0,99$), όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5.12.

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, είναι μάλλον προφανές ότι η χρήση της μεθόδου με ζεστό νερό, σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να θεωρείται αξιόπιστη χωρίς προηγουμένως να έχει εξεταστεί ο συσχετισμός των αποτελεσμάτων της με αυτά της αντίστοιχης συμβατικής μεθόδου. Ανεξάρτητα από το γεγονός ότι στην περίπτωση του N της βιομάζας ο συσχετισμός ήταν σχεδόν απόλυτος, από τη μελέτη αυτή, δεν θα μπορούσε να προταθεί η μέθοδος αυτή ως γενικά αποδεκτή και αξιόπιστη, καθώς στις υπόλοιπες δύο παραμέτρους η απόκλιση των τιμών ήταν εξαιρετικά υψηλή.

Παρατηρήσεις

Θα πρέπει στο σημείο αυτό να επισημανθεί ότι τα δείγματα που εξετάστηκαν ήταν περιβαλλοντικά και όχι κλινικά. Αυτό σημαίνει ότι υπόκεινται σε μεγάλο βαθμό σε κλιματικές αλλαγές, αλλαγές λόγω διαχειριστικών πρακτικών, σε φυσικές αλλαγές, κ.α., γεγονός που μπορεί εν μέρει να δικαιολογήσει τις χαμηλές τιμές των εξεταζόμενων βιοχημικών παραμέτρων ή ακόμα και την μη καλή συσχέτιση τους.

Ακόμα, οι χαμηλές τιμές του άνθρακα της βιομάζας μπορεί να οφείλονται στο γεγονός ότι τα εδαφικά δείγματα που μελετήθηκαν, προέρχονταν όλα από έντονα καλλιεργούμενες περιοχές, καθώς είναι γνωστό ότι η καλλιέργεια του εδάφους συνήθως μειώνει το οργανικό περιεχόμενο του.

Τα δείγματα μας, όπως έχει ήδη αναφερθεί, δεν εξετάστηκαν αμέσως μετά τη συλλογή τους αλλά παρέμειναν για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα, μετά από κατάλληλη επεξεργασία, σε χαμηλή θερμοκρασία και στη συνέχεια, αφού ξηράνθηκαν φυλάχτηκαν για αρκετό καιρό επίσης σε πλαστικά δοχεία. Ωστόσο, αν και είναι γνωστό ότι ανάλογα με τη φύση του δείγματος, εφαρμόζονται κατάλληλες τεχνικές συντήρησης

που επιβραδύνουν τις χημικές και βιολογικές μεταβολές που υφίσταται το δείγμα από τη χρονική στιγμή της συλλογής του, εμποδίζοντας έτσι την αλλοίωση της σύστασης του, η άμεση ανάλυση των δειγμάτων θεωρείται πάντα ιδανική. Σύμφωνα με μια μελέτη του Ross (1970), τα δείγματα θα πρέπει να είναι φρέσκα και πρόσφατα συλλεγμένα καθώς, σύμφωνα με τη μελέτη αυτή, τα αποτελέσματα της αφυδρογονάσης επηρεάζονται αντιστρόφως από την αποθήκευση, ακόμα και στους 4°C (θερμοκρασία συντήρησης μετά τη συλλογή). Συνεπώς, θεωρείται πιθανό, η συντήρηση των εξεταζόμενων δειγμάτων να επηρέασε τις βιοχημικές ιδιότητες τους και να αποτελεί ακόμα μια αιτία για τη μη καλή συσχέτιση των αποτελεσμάτων.

Αν και οι επιλεγμένες βιοχημικές παράμετροι χρησιμοποιούνται ευρέως για τον προσδιορισμό της ποιότητας του εδάφους και θεωρούνται αρκετά αξιόπιστες, στη διεθνή βιβλιογραφία, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από διάφορους ερευνητές παρουσιάζουν ποικίλες αντιφάσεις. Για παράδειγμα, ο C της μικροβιακής βιομάζας παρουσίασε αύξηση με την ένταση της βοσκής στα λιβάδια (Holt, 1997; Banerjee et al., 2000) και με την περιοδική καλλιέργεια δημητριακών (Dalal, 1998), ενώ μειώθηκε σε καλλιεργημένα εδάφη (Caldwell et al., 1999; Kandeler et al., 1999b) και η απουσία του οργώματος ήταν ασαφής (Dalal, 1998). Επιπλέον, η μικροβιακή βιομάζα C αυξήθηκε σε εδάφη στα οποία προστέθηκαν οργανικά λιπάσματα (Dalal, 1998), παρουσίασε ακανόνιστη συμπεριφορά στη λίπανση με ανόργανο N (Singh and Singh, 1993; Ladd et al., 1994) και δεν αντέδρασε με συνοχή στην παρουσία ζιζανιοκτόνων (Voos and Groffman, 1997). Παράλληλα, η μικροβιακή βιομάζα δεν θα μπορούσε να θεωρηθεί καλός δείκτης της τοξικότητας βαρέων μετάλλων στα εδάφη (Dalal, 1998). Στα εργαστηριακά πειράματα έχει παρατηρηθεί ότι η βιομάζα παρουσιάζει μείωση με την πρόσθεση Cd ή Cu (Fig. 1), εντούτοις, στα υπαίθρια πειράματα σύμφωνα με τον Kandeler et al. (1996) παρατηρήθηκε ότι η μικροβιακή βιομάζα αυξάνεται όταν μίγματα μετάλλων προστίθενται στο χώμα, αν και άλλοι μελετητές έχουν παρατηρήσει μειώσεις στη μικροβιακή βιομάζα εδαφών στα οποία έχουν προστεθεί λάσπες μολυσμένες με βαρέα μέταλλα (Chander and Brookes, 1993; Valsecchi et al., 1995; Filip, 2002).

Όπως ο C της μικροβιακής βιομάζας, η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως για την αξιολόγηση της επιρροής της διαχείρισης του εδάφους στην ποιότητά του και τα αποτελέσματα που προέκυψαν, σε μερικές περιπτώσεις, είναι επίσης αντιφατικά. Για παράδειγμα, το όργανο μπορεί και να αυξήσει και να μειώσει τη δραστηριότητα της αφυδρογονάσης (Bergstrom et al., 1998, 2000) ενώ η προσθήκη οργανικών λιπασμάτων, και αστικών και βιομηχανικών αποβλήτων γενικά αυξάνει τη δραστηριότητα τους (Bardgett et al., 1995; Pascual et al., 1999; Langer and Gunther, 2001). Γενικά, η δραστηριότητα της δεν επηρεάζεται από την παρουσία βαρέων μετάλλων, εκτός αν πρόκειται για πολύ υψηλές δόσεις. (F. Gil-Sotres, C. Trasar-Cepeda, M.C. Leirós and S. Seoane, 2004)

6.2. Επίλογος

Λαμβάνοντας υπόψη όλα όσα αναφέρθηκαν στην παρούσα εργασία αλλά και όσα προέκυψαν πειραματικά, κατά τη διάρκεια της εκπόνησής της, προκύπτει το συμπέρασμα ότι η χρήση του συγκεκριμένου συνδυασμού των τεσσάρων εδαφικών παραμέτρων δεν κατάφερε να αποδώσει μια ικανοποιητική εικόνα της ποιότητας των εξεταζόμενων εδαφών. Οι βιοχημικές παράμετροι που μελετήθηκαν παρουσίασαν σε κάποιες περιπτώσεις ομοιόμορφη και σε άλλες ανομοιόμορφη συμπεριφορά στο σύνολο των δειγμάτων χωρίς να μπορεί να προκύψει κάποια αντιστοιχία ή συσχέτιση που θα μπορούσε στη συνέχεια να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της ποιότητας του κάθε εδάφους. Συνεπώς, ο συγκεκριμένος συνδυασμός των βιοχημικών παραμέτρων δεν μπορεί να προταθεί ως αξιόπιστος δείκτης για τον προσδιορισμό της εδαφικής ποιότητας.

Ωστόσο, αν η κάθε βιοχημική ιδιότητα εξεταστεί μεμονωμένα ή σε κατάλληλο συνδυασμό το τελικό συμπέρασμα μπορεί να είναι διαφορετικό. Με εξαίρεση τον C της βιομάζας οι υπόλοιπες τρεις παράμετροι παρουσίασαν ικανοποιητικές τιμές συγκέντρωσης που είναι πιθανό με κατάλληλο συνδυασμό με άλλες παραμέτρους να μπορούν να απεικονίσουν την ποιότητα του εδάφους. Για παράδειγμα, η

δραστηριότητα της αφυδρογονάσης σε συνδυασμό με το N της μικροβιακής βιομάζας παρουσίασε ιδιαίτερα θετική συσχέτιση, γεγονός που θα μπορούσε να δικαιολογήσει τον συνδυασμό τους ως δείκτη της εδαφικής ποιότητας. Σε κάθε περίπτωση, δεν προτείνεται η χρήση μιας μεμονωμένης ιδιότητας. Αντίθετα, κρίνεται απαραίτητος ο συνυπολογισμός διαφόρων παραμέτρων ώστε να παρασχεθεί μια πλήρης εικόνα της ποιότητας του εδάφους.

Η ποιότητα του εδάφους ως έννοια, έχει δεχθεί πολλούς ορισμούς και ίσως γι' αυτό το λόγο, απέχει πολύ ο ποσοτικός προσδιορισμός της. Σε πολλές μελέτες έχει γίνει ανάλυση της εδαφικής ποιότητας με τη χρήση διαφόρων ιδιοτήτων. Ωστόσο, μόνο λίγες από αυτές έχουν χρησιμοποιήσει τα ληφθέντα αποτελέσματα για την καθιέρωση ενός δείκτη εδαφικής ποιότητας. Επιπλέον, οι λίγοι δείκτες που υπάρχουν δεν έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως. Συνεπώς, δεν υπάρχει κανένας παγκοσμίως εφαρμόσιμος τύπος για τη μέτρηση της εδαφικής ποιότητας.

Αν και οι μέθοδοι υπάρχουν, οι δείκτες δεν χρησιμοποιούνται ποτέ σε μεγάλη κλίμακα, ούτε ακόμη και σε περιοχές με παρόμοιες κλιματικές, αγρονομικές κ.α. συνθήκες. Τα περισσότερα προβλήματα σχετικά με την εφαρμογή τους σχετίζονται με τη φτωχή τυποποίηση των μεθόδων και με τη χωρική κλίμακα στην οποία μπορούν να εφαρμοστούν. Με αυτή την έννοια, ένας σαφής καθορισμός των συνθηκών στις οποίες έχει αποκτηθεί ένας δείκτης θα πρέπει να ληφθεί υπόψη, έτσι ώστε να μπορεί να εφαρμοστεί τουλάχιστον σε τοπική κλίμακα. Σε αυτήν την περίπτωση προσδιορίζοντας και χρησιμοποιώντας μερικούς σημαντικούς παράγοντες της υπό μελέτη περιοχής, όπως οι κλιματικές παράμετροι και ο τύπος και η πυκνότητα βλάστησης είναι ουσιαστικοί για τη μείωση της φτωχής τυποποίησης και για την επίλυση προβλημάτων σχετικά με τη χωρική κλίμακα.

Σε κάθε περίπτωση, ο συνυπολογισμός των παραμέτρων διαφορετικών ειδών (φυσικών, χημικών και βιολογικών) είναι απαραίτητος ώστε να παρασχεθεί μια πλήρης εικόνα της ποιότητας του εδάφους (Frankenberger and Dick, 1983; Nannipieri et al., 1990; Dick, 1994; Gelsomino et al., 2006), καθώς ένας δεδομένος παράγοντας μπορεί να έχει σοβαρές επιπτώσεις σε ένα δείκτη αλλά όχι απαραίτητα και σε άλλους.

Τέλος, από την παρούσα μελέτη, κρίνεται ουσιαστικής σημασίας και προτείνεται η συνέχιση των προσπάθειών της επιστημονικής κοινότητας για την εύρεση ενός κατάλληλου δείκτη για τον προσδιορισμό της ποιότητας του εδάφους, που να πληρεί όλες τις απαιτούμενες προϋποθέσεις και να μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγάλη κλίμακα δίνοντας αξιόπιστα και ικανοποιητικά αποτελέσματα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. A. Lagomarsino, M.C. Moscatelli, A. Di Tizio, R. Mancinelli, S. Grego, S. Marinari, "Soil biochemical indicators as a tool to assess the short-term impact of agricultural management on changes in organic C in a Mediterranean environment", 2008
2. Alvarez, C.R., Alvarez, R., Grigera, M.S., Lavado, R.S., 1998. Associations between organic matter fractions and the active soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 30, 767–773.
3. Alvarez, R., Alvarez, C.R., 2000. Soil organic matter pools and their associations with carbon mineralization kinetics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 184–189.
4. Anderson, T.H., Domsch, K.H., 1990. Application of ecophysiological quotients (qCO₂ and qD) on microbial biomass from soils of differing cropping histories. *Soil Biology & Biochemistry* 25, 393–395.
5. Arshad, M.A., Martin, S., 2002. Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 88, 153–160.
6. Bardgett, R.D., James, L., Leemans, D.K., 1995. Microbial biomass and activity in a grassland soil amended with different application rates of silage effluent—a laboratory study. *Bioresource Technology* 52, 175–180.
7. Barrios, E., Buresh, R.J., Sprent, J.I., 1996. Nitrogen mineralization in density fractions of soil organic matter from maize and legume cropping systems. *Soil Biol. Biochem.* 28, 1459–1465.
8. Bastida, F., Moreno, J.L., Hernández, T., García, C., 2006a. Microbiological activity in a soil 15 years after its revegetation. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2503–2507.
9. Bastida, F., Moreno, J.L., Hernández, T., García, C., 2006b. Microbiological degradation index of soils in a semiarid climate. *Soil Biol. Biochem.* 38, 3463–3473.
10. Beck, T., 1984. Methods and applications of soil microbiological analyses at the Landsensanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau (LBB) in Munich for the determination of some aspects of soil fertility, in: Nemes, M.P., Kiss, S., Papacostea, P., Stefanic, G., Rusan, M. (Eds.), Fifth Symposium on Soil Biology. Roman National Society of Soil Science, Bucharest, pp. 13–20.
11. Bergstrom, D.W., Monreal, C.M., Tomlin, A.D., Miller, J.J., 2000. Interpretation of soil enzyme activities in a comparison of tillage practices along a topographic and textural gradient. *Canadian Journal of Soil Science* 80, 71–79.
12. Beyer L, Wachendorf C, Elsner DC, Knabe R (1993) Suitability of dehydrogenase activity assay as an index of soil biological activity. *Biol Fertil Soils* 16:52-56
13. Bongiovanni, M.D., Lobartini, J.C., 2006. Particulate organic matter, carbohydrate, humic acid contents in soil macro- and microaggregates as affected by cultivation. *Geoderma* 136, 660–665.
14. Brookes P. C., Powlson D. S. and Jenkinson D. S. (1982) Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 14, 319–329.
15. Brookes, P. C., Landman, A., Pruden, G., & Jenkinson, D. S. (1985). Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 17, 837–842.
16. Caravaca, F., Masciandaro, G., Ceccanti, B., 2002. Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. *Soil Tillage Res.* 68, 23–30.
17. Carol Grace, Murray Hart & Phil C. Brookes "Laboratory Manual of the Soil Microbial Biomass Group", 2006
18. Chaussod, R., Houot, S., Guirand, D. and Hetier, J.M. (1988) Size and turnover of the microbial biomass in agricultural soils: laboratory and field measurements. In: *Nitrogen*

Efficiency in Agricultural Soils (D.S. Jenkinson and K.A. Smith, eds) pp. 312-326. Elsevier Applied Science, Amsterdam.

19. Chu, H.Y., Lin, X.G., Takeshi, F., Morimoto, S., 2007. Soil microbial biomass, dehydrogenase activity, bacterial community structure in response to long-term fertilizer management. *Soil Biol. Biochem.* 39, 2971–2976.
20. Claire Serra-Wittling, Sabine Houot and Enrique Barriuso, “Soil enzymatic response to addition of municipal solid-waste compost”, 1994
21. Compton, J.E., Boone, R.D., 2002. Soil nitrogen transformation and the role of light fraction organic matter in forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 34, 933–943.
22. Dalal, R.C., 1998. Soil microbial biomass—what do the numbers really mean? *Australian Journal of Experimental Agriculture* 38, 649–665.
23. Dormaar, J.F., Lindwall, C.W., Kozub, G.C., 1988. Effectiveness of manure and commercial fertilizer in restoring productivity of an artificially eroded Dark Brown Chernozemic soil under dryland conditions. *Can. J. Soil Sci.* 68, 669–679.
24. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356.
25. E.B.R. Perotti, A. Pidello, I. Leyendeker, C. Trasar-cepada, M.C. Leirós, F. Gil-Sotres, “Behaviour of enzymatic activities and root elongation in Argiudoll soils from the Argentine Humid Pampa treated with biosolids”, 2008
26. Edwards, C.A., Loft, J.R., 1982. Nitrogenous fertilizers and earthworms populations in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry* 147, 515–521.
27. Engracia Madejón, Pilar Burgos, Rafael López, Francisco Cabrera, “Soil enzymatic response to addition of heavy metals with organic residues”, 2001
28. European Commission (EC), 2002. Communication from the Commission to Council, the European Parliament, the Economic and Social Committee and the Committee of the Regions: Towards a Thematic Strategy for Soil Protection. COM (2002) 179.
29. F. Bastida, A. Zsolnay, T. Hernández, C. García “Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective”, 2008
30. F. Gil-Sotres, C. Trasar-Cepeda, M.C. Leirós and S. Seoane “Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties”, 2004
31. Filip, Z., 2002. International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 88, 169–174.
32. Frankenberger WT, Dick WA (1983) Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil Sci Soc Am J* 47:945-951
33. García C, Hernández T, Costa F, Ceccanti B, Ciardi C (1992) changes in ATP content, enzyme activity and inorganic nitrogen species during composting of organic wastes. *Can J Soil Sci* 72:243 -253
34. García, C., Hernández, T., Costa, F., 1994. Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions. *Soil Biol. Biochem.* 26, 1185–1191.
35. Halvorson, J.J., Smith, J.L., Papendick, R.I., 1996. Integration of multiple soil parameters to evaluate soil quality: a field experiment example. *Biol. Fertil. Soils* 21, 207–214.
36. Hassink, J., Whitmore, A.P., Kubat, J., 1997. Size and density fractionation of soil organic matter and the physical capacity of soils to protect organic matter. *Eur. J. Agron.* 7, 189–199.
37. Haynes, R.J., 2000. Labile organic matter as an indicator of organic matter quality in arable and pastoral soils in New Zealand. *Soil Biol. Biochem.* 32, 211–219.
38. Ian Pepper, Charles Gerba, “Environmental Microbiology”, 2004 Influence of cadmium on the metabolic quotient, L:D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biology and Fertility of Soils* 32, 8–16.

39. Insam, H., Parkinson, D., Domsch, K.H., 1989. Influence of macroclimate on soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 21, 211–221.
40. J. K. Friedel, K. Mölter and W. R. Fischer, “Comparison and improvement of methods for determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and iodonitrotetrazolium chloride”, 1993
41. Jenkinson, D.S., Ladd, J.N., 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul, E.A., Ladd, J.N. (Eds.), *Soil Biochemistry*. Marcel Dekker, New York, pp. 415–471.
42. Jimenez, M.P., Horra, A.M., Pruzzo, L., Palma, R.M., 2002. Soil quality: a new index based on microbiological and biochemical parameter. *Biol. Fertil. Soils* 35, 302–306.
43. Joanne Burton, Chengrong Chen, Zhihong Xu and Hossein Ghadiri, “Soluble organic nitrogen pools in adjacent native and plantation forests of subtropical Australia”, 2007
44. Joanne Burton, Chengrong Chen, Zhihong Xu, Hossein Ghadiri, “Soluble organic nitrogen pools in adjacent native and plantation forests of subtropical Australia”, 2007
45. Kaiser, E.-A., Mueller, T., Joergensen, R.G., Insam, H. and Heinemeyer, O. (1992) Evaluation of methods to estimate the soil microbial biomass and the relationship with soil texture and organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 24, 675–683.
46. Kandeler, E., Eder, G., 1993. Effect of cattle slurry in grassland on microbial biomass and on activities of various enzymes. *Biology and Fertility of Soils* 16, 249–254. Landi, L., Renella, G., Moreno, J.L., Falchini, L., Nannipieri, P., 2000.
47. Kandeler, E., Kampichler, C., Horak, O., 1996. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biology and Fertility of Soils* 23, 299–306.
48. Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F., Schuman, G.E., 1997. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. *Soil Sci. Soc. Am. J.*
49. Kay, B.D., 1998. Soil structure and organic carbon: a review. In: Lal, R., et al. (Eds.), *Soil Processes and the Carbon Cycle*. CRC Press LLC, pp. 169–197.
50. Klein, D.A., Sorensen, D.L., Redente, E.F., 1985. Soil enzymes: a predictor of reclamation potential and progress, in: Tate, R.L., Klein, D.A. (Eds.), *Soil Reclamation Processes. Microbiological Analyses and Applications*. Marcel Dekker, New York, pp. 273–340.
51. L.E Casida, Jr, D.A. Klein and Thomas Santoro, “Soil Dehydrogenase activity”, 1964
52. Langer, U., Gunther, T., 2001. Effects of alkaline dust deposits from phosphate fertilizer production on microbial biomass and enzyme activities in grassland soils. *Environmental Pollution* 112, 321–327.
53. M. A. Rao, R. Scelza, F. Russo, L. Gianfreda “Soil enzymatic activities as potential indicators of organic soil pollution”, 2006
microbial biomass in 0.5 M K₂SO₄ soil extracts, 1990.
54. Mueller, T., Joergensen, R.G. and Meyer, B. (1992) Estimation of soil microbial biomass C in the presence of living roots by fumigation-extraction. *Soil Biology and Biochemistry* 24, 179–181.
55. Nannipieri, P., 1994. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution, in: Pankhurst, C.E., Double, B.M., Gupta, V.V.S.R., Grace, P.R. (Eds.), *Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems*. CSIRO, Melbourne, pp. 238–244.
56. Nannipieri, P., Ceccanti, B., Grego, S., 1990. Ecological significance of biological activity in soil, in: Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.), *Soil Biochemistry*, vol. 6. Marcel Dekker, New York, pp. 293–355.
57. Papendick, R.I., Parr, J.F., 1992. Soil quality— the key to a sustainable agriculture. *Am. J. Altern. Agric.* 7, 2–3.

58. Pascual, J.A., García, C., Hernández, T., 1999. Lasting microbiological and biochemical effects of the addition of municipal solid waste to an arid soil. *Biology and Fertility of Soils* 30, 1–6.
59. Perucci P (1990) Effect of the addition of municipal solid-waste compost on microbial biomass and enzyme activities in soil. *Biol Fertil Soils* 10:221-226
60. Perucci P (1992) Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuse. *Biol Fertil Soils* 14:54-60
61. Piccolo A., Zena A., Conte P., “A comparison of acid hydrolyses for the determination of carbohydrate content in soils”, 1970
62. Popp, J.H., Hyatt, D.E., Hoag, D., 2000. Modeling environmental condition with indices: a case study of sustainability and soil resources. *Ecol. Model.* 130, 131–143.
63. Powlson, D.S., Jenkinson, D.S., 1981. A comparison of the organic matter, biomass, adenosine-triphosphate, and mineralizable nitrogen contents of ploughed and direct drilled soils. *J. Agric. Sci.* 97, 713–721.
64. R. G. Joergensen and P. C. Brookes, “Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of
65. Ragnarsdottir K.V. Pumping carbon into soils: A novel CO₂ sequestration method. *Elements*. In press.
66. Roberson, E.B., Sarig, S., Firestone, K., 1991. Crop cover management of polysaccharide-mediated aggregation in an orchard soil. *Soil Science and Society of America Journal* 55, 734–739.
67. Roberto García-Ruiz, Victoria Ochoa, M. Belén Hinojosa, Jose Antonio Carreira, “Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems”, 2008
68. Schjonning, P., Christensen, B.T., 1994. Physical and chemical properties of a sandy loam receiving animal manure, mineral fertilizer or no fertilizer for 90 years. *European Journal of Soil Science* 45, 257–268.
69. Schloter, M., Dilly, O., Munch, J.C., 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agric. Ecosyst. Environ.* 98, 255–262.
70. Senesi, N., Loffredo, E., 1999. The chemistry of soil organic matter. In: Spark, D.L. (Ed.), *Soil Physical Chemistry*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 239–370.
71. Seul Bi Lee, Chang Hoon Lee, Ki Yuol Jung, Ki Do Park, Dokyoung Lee and Pil Joo Kim, “Changes of soil organic carbon and its fractions in relation to soil physical properties in a long-term fertilized paddy”, 2009
72. Shine-Tsern Cho, Shu-Hsien Tsai, Anita Ravindran, Ammaiyappan Selvam, Shang-Shyng Yang, “Seasonal variation of microbial populations and biomass in *Tatachia* grassland soils of Taiwan”, 2007
73. Skujins, J., 1978. History of abiotic soil enzyme research, in: Burns, R.G. (Ed.), *Soil Enzymes*. Academic Press, New York, pp. 1–49.
74. Smith, J.L., Halvorson, J.J., Papendick, R.I., 1993. Using multivariable-indicator kriging for evaluating soil quality. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 743–749.
75. Sojka, R.E., Upchurch, D.R., 1999. Reservations regarding the soil quality concept. *Soil Science Society of America Journal* 63, 1039–1054.
76. Sol M. Gerchakov, Patrick G. Hatchery, “Improved Technique For Analysis Of Carbohydrates”
77. Sparling, G.P., 1997. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health, in: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (Eds.), *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, Wallingford, pp. 97–119.
78. Stamati F., Nikolaidis N., Venieri D., Psillakis E., Kalogerakis N. “Methology for the assessment of soil organic matter quality: Application to Mediterranean soils from Greece.”

- 79.Stefanic, G., 1994. Biological definition, quantifying method and agricultural interpretation of soil fertility. *Romanian Agriculture Research* 2, 107–116.
- 80.Stefanic, G., Eliade, G., Chinorgeanu, I., 1984. Researches concerning a biological index of soil fertility, in: Nemes, M.P., Kiss, S., Papacostea, P., Stefanic, G., Rusan, M. (Eds.), *Fifth Symposium on Soil Biology*. Roman National Society of Soil Science, Bucharest, pp. 35–45.
- 81.Supradip Sah, Ved Prakash, Samaresh Kundu, Narendra Kumar and Banshi Lal Mina “Soil enzymatic activity as affected by long term application of farm yard manure and mineral fertilizer under a rainfed soybean–wheat system in N-W Himalaya”, 2008
- 82.Tisdale S.L.; Nelson W.L.; Beaton J.D.; Havlin J.L. *Soil fertility and fertilizers*. 5th edition. MacMillan, New York. 1993. 634 pp.
- 83.Tisdall, J.M., Oades, J.M.,1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil. Sci.* 33, 141–163.
- 84.USDA Natural Resources Conservation Service “Indicators for Soil Quality Evaluation”, 1996
- 85.Vance, E. D., Brookes, P. C., & Jenkinson, D. S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19, 703–707.
- 86.Wei Gong, Xiaoyuan Yan, Jingyan Wang, Tingxing Hu and Yuanbo Gong, “Long-term manure and fertilizer effects on soil organic matter fractions and microbes under a wheat–maize cropping system in northern China”, 2008
- 87.Whalen, J.K., Bottomley, P.J., Myrold, D.D., 2000. Carbon and nitrogen mineralization from light- and heavy fraction additions to soil. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1345–1352.
- 88.Witt Christian, John L. Gaunt, Catherine C., Galicia Johannes C.G. Ottow, Heinz-Ulrich Neue “A rapid chloroform-fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon and nitrogen in flooded rice soils”, 1999
- 89.Xiao-gang Li, Feng-min Li, Bhupinderpal-Singh, Zed Rengel, Zheng-yan Zhan, “Soil management changes organic carbon pools in alpine pastureland soils”, 2006
- 90.Yakovchenko, V.I., Sikora, L.J., Rauffman, D.D., 1996. A biologically based indicator of soil quality. *Biology and Fertility of Soils* 21, 245–251.
- 91.Ναυροζίδης Α. Σταύρος "Αξιολόγηση των επιπτώσεων της επιφανειακής διάθεσης προεπεξεργασμένου κασσίγαρου σε καλλιέργειες καλαμποκιού", 2008.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Στον Πίνακα Π.1. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων της ουσίας TPF για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης. Από τον μέσο όρο των μετρήσεων και με τη βοήθεια της αντίστοιχης πρότυπης καμπύλης (Κεφάλαιο 2) προκύπτει η συγκέντρωση της ουσίας αυτής. Στην τελευταία στήλη του πίνακα γίνεται αναγωγή της συγκέντρωσης TPF ανά g εδαφικού δείγματος. Στην συνέχεια δίνεται ο αντίστοιχος πίνακας (Πίνακας Π.2.) που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water.

ΔΕΙΓΜΑ	ΜΕΤΡΗΣΗ			ΑΡΑΙΩΣΗ	Μ.Ο.	$X = (Y - 0,0046) / 0,1147$ ($\mu\text{g/ml}$)	$X * 100\text{ml} / 2 \text{ g soil} =$ $X(\mu\text{gTPF/g soil})$
	A	B	Γ				
A	0,027	0,010	0,011		0,016	0,099	4,97
B	0,095	0,141	0,122		0,119	1,000	50,01
C	0,065	0,046			0,056	0,444	22,19
D	0,220	0,337	0,509	0,256	0,356	3,064	153,18
E	0,191	0,120			0,156	1,316	65,78
F	0,405	0,361	0,636	0,322	0,470	4,058	202,88
G	0,204	0,233			0,219	1,865	93,24

Πίνακας Π.1. Συγκέντρωση της ουσίας TPF ανά g εδαφικού δείγματος

ΔΕΙΓΜΑ	Μ.Ο.	$X = (Y - 0,0046) / 0,1147$ ($\mu\text{g/ml}$)	$X * 100\text{ml/g soil} = X(\mu\text{gTPF/g soil})$
B	0,019	0,126	31,39
D	0,015	0,091	22,67
G	0,010	0,047	11,77

Πίνακας Π.2. Συγκέντρωση της ουσίας TPF ανά g εδαφικού δείγματος με τη μέθοδο hot-water

Στον Πίνακα Π.3. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τον πειραματικό προσδιορισμό των υδρογονανθράκων. Από τον μέσο όρο των μετρήσεων και με τη βοήθεια της αντίστοιχης πρότυπης καμπύλης (Κεφάλαιο 2) προκύπτει η συγκέντρωση των υδρογονανθράκων. Στην τελευταία στήλη του πίνακα γίνεται αναγωγή της συγκέντρωσης αυτής ανά g εδαφικού δείγματος. Στην συνέχεια δίνεται ο αντίστοιχος

πίνακας (Πίνακας Π.4.) που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water.

ΔΕΙΓΜΑ	Μ.Ο. ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ		X= (Y-0,0541)/0,0204 μg/ml		X*14ml /1g soil= X μg (H/C)/g soil		X*14ml /1g soil= X mg (H/C)/g soil	
	0,25M H ₂ SO ₄	1M H ₂ SO ₄	0,25M H ₂ SO ₄	1M H ₂ SO ₄	0,25M H ₂ SO ₄	1M H ₂ SO ₄	0,25M H ₂ SO ₄	1M H ₂ SO ₄
A	0,621	1,189	27,789	55,632	389,049	778,853	0,389	0,779
B	1,304	1,166	61,270	54,505	857,775	763,069	0,858	0,763
C	1,118	0,841	52,152	38,574	730,127	540,029	0,730	0,540
D	1,625	2,087	77,005	99,652	1078,069	1395,127	1,078	1,395
E	1,769	1,773	84,064	84,260	1176,892	1179,637	1,177	1,180
F	0,912	0,974	42,054	45,093	588,755	631,304	0,589	0,631
G	1,720	1,722	81,662	81,760	1143,265	1144,637	1,143	1,145
	αραίωση 1:2							

Πίνακας Π.3. Συγκέντρωση των υδρογονανθράκων ανά g εδαφικού δείγματος

ΔΕΙΓΜΑ	Μ.Ο. ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ	X= (Y-0,0541)/0,0204 μg/ml	X*14ml /0,4= X μg OC/g soil	X mg OC/g soil
A	1,204	56,368	1972,868	1,973
C	1,755	83,377	2918,211	2,918
D	0,884	40,681	1423,848	1,424

Πίνακας Π.4. Συγκέντρωση των υδρογονανθράκων ανά g εδαφικού δείγματος που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water.

Ο παρακάτω Πίνακας Π.5. περιλαμβάνει τα αποτελέσματα από τον πειραματικό προσδιορισμό του N της βιομάζας. Από τον μέσο όρο των μετρήσεων και για τις δύο διαδικασίες (fumigation και no fumigation) και με τη βοήθεια της αντίστοιχης πρότυπης καμπύλης του TKN (Κεφάλαιο 2) προκύπτει η συγκέντρωση του TKN για τα δείγματα που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία και γίνεται αναγωγή της συγκέντρωσης αυτής ανά g εδαφικού δείγματος. Στη συνέχεια, προσδιορίζεται η τιμή F_N που ισούται με τη διαφορά της τιμής που προέκυψε από τη διαδικασία με fumigation μείον την τιμή που προέκυψε από τη διαδικασία χωρίς fumigation. Τέλος, προσδιορίζεται η τιμή B_N που προκύπτει από τη διαίρεση της τιμής F_N με τον συντελεστή $K_N=0.45$ και η οποία αντιστοιχεί στην συγκέντρωση TKN που περιέχεται στο εξεταζόμενο δείγμα σε mg/g

δείγματος. Στην συνέχεια δίνεται ο αντίστοιχος πίνακας (Πίνακας Π.6.) που προέκυψε από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη μέθοδο hot-water.

ΔΕΙΓΜΑ	fumigation	no fumigation	Abs=0,0094* A(=mg/ L of TKN)		TKN = 75 * A * C / B * 40/1000(L)/10(g soil)		FN	BN
			A= Abs / 0,0094		TKN(mg/ g soil)			
A	0,250	0,238	26,596	25,319	1,995	1,899	0,096	0,213
B	0,260	0,230	27,660	24,468	2,074	1,835	0,239	0,532
C	0,215	0,194	22,872	20,638	1,715	1,548	0,168	0,372
D	0,400	0,337	42,553	35,851	3,191	2,689	0,503	1,117
E	0,253	0,226	26,915	24,043	2,019	1,803	0,215	0,479
F	0,547	0,452	58,191	48,085	4,364	3,606	0,758	1,684
G	0,665	0,629	70,745	66,915	5,306	5,019	0,287	0,638

Πίνακας Π.5. Συγκέντρωση του TKN ανά g εδαφικού δείγματος

ΔΕΙΓΜΑ	fumigation	no fumigation	Abs=0,0094*A(=mg /L of TKN)		TKN=75*A*C/B*40/1000(L)/10(ml δείγματος)		FN	BN
			A= Abs / 0,0094		TKN(mg/g soil)			
C	0,027	0,025	2,872	2,660	2,154	1,995	0,160	0,355
E	0,027	0,024	2,872	2,553	2,154	1,915	0,239	0,532
F	0,035	0,024	3,723	2,553	2,793	1,915	0,878	1,950

Πίνακας Π.6. Συγκέντρωση του TKN ανά g εδαφικού δείγματος με τη μέθοδο hot-water

Παρακάτω, (Πίνακας Π.7.) δίνονται οι καμπύλες βαθμονόμησης (Calibration curves) και κάποια χαρακτηριστικά τους που προέκυψαν για τη μέτρηση του C της βιομάζας από την αντίστοιχη συσκευή που χρησιμοποιήθηκε (TOC analyzer).

Calibration curve			Εύρος συγκεντρώσεων, mg/L
1	$y = 0.0189x - 46.248$	R2 = 0.9967	100-240
2	$y = 0.0033x - 8.7287$	R2 = 0.9997	40-100
3	$y = 0.0010x - 0.4059$	R2 = 0.9969	10-40
4	$y = 0.0003x - 0.7352$	R2 = 0.9987	1-10

Πίνακας Π.7. Καμπύλες βαθμονόμησης για τη μέτρηση του C της βιομάζας

Στον Πίνακα Π.8. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τη μέτρηση του C της βιομάζας. Από τον μέσο όρο των μετρήσεων (Areas) και με τη βοήθεια της αντίστοιχης κάθε φορά καμπύλης βαθμονόμησης (Πίνακας Π.7.) προκύπτει η συγκέντρωση του C της βιομάζας. Στη συνέχεια, γίνεται αναγωγή της τιμής αυτής ανά g εδαφικού δείγματος. Υπολογίζεται η τιμή Fc που ισούται με τη διαφορά της τιμής που προέκυψε από τη διαδικασία με fumigation μείον την τιμή που προέκυψε από τη διαδικασία χωρίς fumigation. Τέλος, προσδιορίζεται η τιμή Bc που προκύπτει από τη διαίρεση της τιμής Fc με τον συντελεστή Kc=0.45 και η οποία αντιστοιχεί στη ζητούμενη συγκέντρωση του C της βιομάζας που περιέχεται στο εξεταζόμενο δείγμα σε mg/g δείγματος.

ΔΕΙΓΜΑ	Area 1	Area 2	Area 3	Area 4	Area 5	Area 6	Calibration Curve	mean	CV	Concentration (mg/L)/10g soil	mg C/g soil	Fc	Bc
A	35120	35795	30986	28769	28544	36263	2	33967,0	7,67	103,362	0,413	0,003	0,006
A-fum.	35300	34181	33128	34044	29908	26584	2	34163,3	2,61	104,010	0,416		
B	28980	28567	28737	26452	29760	29248	2	28624,0	4,00	85,731	0,343	0,004	0,008
B-fum.	30129	30631	29664	26686	27360	25190	2	28894,0	6,08	86,622	0,346		
C	31052	31520	29077	30732	31080	28713	2	30362,3	3,85	91,467	0,366	0,035	0,078
C-fum.	32584	33038	32329	33449	33500	33229	2	33021,5	1,44	100,242	0,401		
D	8451	8431	8579	9383	10166	10097	1	8487,0	0,95	114,156	0,457	0,012	0,026
D-fum.	8791	9225	8675	8219	9063	7882	1	8642,5	5,89	117,095	0,468		
E	32765	33950	29855	31829	30550	17106	2	31789,8	5,19	96,178	0,385	0,052	0,116
E-fum.	36853	37397	37800	35083	34293	32969	2	35732,5	5,37	109,189	0,437		
F	9504	9404	8052	7823	7884	6772	1	8533,4	9,91	115,033	0,460	0,050	0,111
F-fum.	9206	8517	8650	9522	10070	11785	1	9193,0	6,94	127,500	0,510		
G	35593	36122	35388	37319	28857	28097	2	36105,5	2,40	110,419	0,442	0,023	0,050
G-fum.	36027	36142	36140	42940	46817	48684	2	37812,3	9,04	116,052	0,464		

Πίνακας Π.8. Συγκέντρωση του C της βιομάζας ανά g εδαφικού δείγματος