ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

''Φυτοεξυγίανση με το αλόφυτο *Limonium cornarianum* ρυπασμένων εδαφών με κάδμιο (Cd)''

Μπλάνας Γρηγόρης

Εξεταστική Επιτροπή:

Καθηγητής Καλογεράκης Ν. (επιβλέπων)

Καθηγητής Νικολαΐδης Ν.

Καθηγητής Καρατζάς Γ.

ΧΑΝΙΑ 2013

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια της ολοκλήρωσης των σπουδών μου στο Προπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών του τμήματος των Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης.

Θέλω να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου κ. Νικόλαο Καλογεράκη για το θέμα της παρούσας διπλωματικής που μου πρότεινε και για την προθυμία του να τεθεί επιβλέπων.

Ευχαριστώ επίσης τη κα. Ελένη Μανουσάκη για την αμέριστη υποστήριξη που μου παρείχε σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας εργασίας, τη βοήθεια και τις συμβουλές που μου προσέφερε καθώς και την κα. Κοσμούλα Γαλανάκη για την πολύτιμη βοήθειά της στα πρώτα στάδια της πειραματικής διαδικασίας.

Οι ευχαριστίες απευθύνονται επίσης προς τους συμφοιτητές μου και τους διδάσκοντες του τμήματος για την πολύπλευρη συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Επίσης, ευχαριστώ το Μεσογειακό Αγρονομικό Ινστιτούτο Χανίων (MAICh) για τη φιλοξενία και την παραχώρηση εργαστηριακού εξοπλισμού για την υλοποίηση μέρους των πειραματικών αναλύσεων που ήταν απαραίτητες για την παρούσα εργασία και την κα. Saru Maria-Liliana για τις μετρήσεις των μετάλλων στο ICP-MS.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου για την υποστήριξή τους στις επιλογές μου και τη βοήθεια που μου προσέφεραν για να καταφέρω να φτάσω ως εδώ σήμερα.

Χανιά 2013

Μπλάνας Γρηγόρης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο όρος Φυτοαποκατάσταση ή Φυτοεξυγίανση αναφέρεται σε κάθε σύστημα ή διαδικασία στην οποία χρησιμοποιούνται φυτά για την in situ και ex situ αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών και υδάτων, μέσω της απομάκρυνσης, διάσπασης και σταθεροποίησης των ρυπαντών (Cunningham et al., 1996; Schnoor et al., 1995). Η τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης παρουσιάζει έντονο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια ως εναλλακτική μέθοδος εξυγίανσης ρυπασμένων εδαφών και υπόγειων υδάτων και βασίζεται στη διαπίστωση ότι κάποια φυτά έχουν τη δυνατότητα να προσλαμβάνουν τα βαρέα μέταλλα και να τα αποθηκεύουν στους ιστούς τους.

Η φυτοσυσσώρευση είναι μία μέθοδος της τεχνολογίας της φυτοεξυγίανσης. Υπερτερεί των συμβατικών μεθόδων αποκατάστασης εδαφών στο ότι είναι πολύ οικονομικότερη αλλά και φιλικότερη προς το περιβάλλον. Στηρίζεται στην καλλιέργεια φυτών στο ρυπασμένο έδαφος, τα οποία προσλαμβάνουν τα βαρέα μέταλλα και τα αποθηκεύουν στους ιστούς τους. Έπειτα, τα φυτά κόβονται και απομακρύνονται, συνεπώς γίνεται και απομάκρυνση του ρύπου.

Μία άλλη μέθοδος φυτοεξυγίανσης είναι η φυτοσταθεροποίηση, στην οποία δεν γίνεται απομάκρυνση του μετάλλου από την περιοχή αλλά μείωση της επικινδυνότητάς του για το περιβάλλον με τη σταθεροποίησή του στην περιοχή της ρίζας, είτε με πρόσληψη ή προσρόφηση στις ρίζες είτε επεμβαίνοντας στη βιοδιαθεσιμότητά του με ουσίες που εκκρίνει το φυτό από τις ρίζες του.

Ο μηχανισμός της φυτοέκκρισης είναι μία νέα, πολλά υποσχόμενη μέθοδος φυτοεξυγίανσης που προτάθηκε πρόσφατα από το εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής & Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας, του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος, του Πολυτεχνείου Κρήτης. Τα αλόφυτα (φυτά ανθεκτικά στην υψηλή αλατότητα) εκκρίνουν από τους αλαταδένες και τις αλατώδεις κύστεις τους μαζί με τα άλατα και βαρέα μέταλλα, ενδεχομένως σαν μηχανισμό αποτοξίνωσης από τα το ρύπο.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία εξετάζεται η δυνατότητα για φυτοσυσσώρευση Cd από το αλόφυτο *Limonium cornarianum (Λειμονίαστρο του Κορνάρου)* το οποίο είναι ένα

αυτοφυές, ενδημικό φυτό της Κρήτης. Διαθέτει αλατώδεις αδένες, γι' αυτό το λόγο εξετάζουμε και τη δυνατότητα φυτοέκκρισης Cd του φυτού παράλληλα με τη δυνατότητα φυτοσυσσώρευσής του. Το συγκεκριμένο φυτό δεν έχει εξεταστεί προηγουμένως για σκοπούς φυτοαποκατάστασης, όμως έρευνες με φυτά τις ίδιας οικογένειας έδειξαν ότι ενδεχομένως να είναι και υπερσυσσωρευτές βαρέων μετάλλων.

Πραγματοποιήθηκαν πειράματα διάρκειας 8 εβδομάδων σε έδαφος της περιοχής που ρυπάναμε με Cd. Δημιουργήθηκαν δύο ομάδες φυτών, όπου στη μία προστέθηκε ο παράγοντας της αλατότητας. Σκοπός ήταν ο χαρακτηρισμός της ανθεκτικότητας του φυτού στα μέταλλα, της ικανότητάς του να τα συσσωρεύει στους ιστούς του και να τα εκκρίνει από τα φύλλα του, καθώς και ποια είναι η επίδραση της αλατότητας στα παραπάνω.

Από τα αποτελέσματα συμπεραίνουμε ότι το *Limoniastrum cornarianum* δεν παρουσίασε σημάδια τοξικότητας από το Cd και υπό συγκεκριμένες συνθήκες φαίνεται να είναι υπερσυσσωρευτής. Βέβαια, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας είναι ένα πρώιμο στάδιο και συνίσταται περεταίρω έρευνα πάνω στο συγκεκριμένο φυτό για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων αλλά και για να εξακριβωθεί κάτω από ποιες συνθήκες (αλατότητα, τύπο εδάφους, αυτοφυές ή όχι κ.α.) έχει βέλτιστη απόδοση.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ολοένα και αναπτυσσόμενη παγκόσμια βιομηχανία, εκτός από τα οφέλη που έχει επιφέρει στην καθημερινή μας ζωή, δεν θα μπορούσε να μην έχει και αρνητικές πτυχές. Ένα σημαντικό πρόβλημα που χρίζει άμεσης αντιμετώπισης, λόγο των κινδύνων που μπορεί να προξενήσει σε φυτά, ζώα και ανθρώπους, είναι η ρύπανση του περιβάλλοντος με βαρέα μέταλλα, όπως το Cd. Η απορρύπανση των μολυσμένων εδαφών και υδάτων κρίνεται άκρως απαραίτητη για την αποφυγή της εισροής των τοξικών αυτών ουσιών στην τροφική αλυσίδα.

Σε αντίθεση με τους οργανικούς ρύπους, τα μέταλλα δεν αποδομούνται βιολογικά, συνεπώς πρέπει να γίνει αφαίρεσή τους από το έδαφος. Οι χρησιμοποιούμενες τεχνικές για την αποκατάσταση των ρυπασμένων εδαφών είναι η απομόνωση και συγκράτηση, ο μηχανικός διαχωρισμός, η χημική επεξεργασία και η έκπλυση, οι οποίες έχουν καλή απόδοση καθαρισμού για μικρές μόνο περιοχές, είναι τεχνικές ex situ και απαιτούν ειδικό εξοπλισμό, γεγονός που τις καθιστά δαπανηρές. Επιπροσθέτως καταστρέφουν τα βιολογικά χαρακτηριστικά και τη δομή του εδάφους και είναι μη αποδεκτές από το ευρύ κοινό.

Έχει παρατηρηθεί ότι αρκετά είδη φυτών , ιδιαιτέρως τα αλόφυτα, είναι κατάλληλα για να χρησιμοποιηθούν για την τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης, αφού έχουν τη δυνατότητα να προσλαμβάνουν και να συγκεντρώνουν μεγάλες ποσότητες βαρέων μετάλλων στους ιστούς τους, διότι διαθέτουν από τη φύση τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας και αντιμετώπισης. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι το πολύ χαμηλό κόστος της, αφού δεν απαιτεί κάποιο εξειδικευμένο τεχνολογικό εξοπλισμό, είναι τεχνολογία in situ συνεπώς μπορεί να εφαρμοστεί άμεσα στο πεδίο και τέλος αποτελεί μία εξ ολοκλήρου φυσική διεργασία η οποία δεν αλλοιώνει τα βιολογικά, χημικά και υδραυλικά χαρακτηριστικά του καθαριζόμενου εδάφους, όπως συμβαίνει με τις συμβατικές μεθόδους (Manousaki &Kalogerakis 2011).

Τα αλόφυτα έχουν κερδίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών τα τελευταία χρόνια, για τους τομείς της φυτοεξυγίανσης και της φυτοσταθεροποίησης, διότι επιδεικνύουν μεγάλες αντοχές σε αλατώδη εδάφη αλλά και άλλες αβιοτικές καταπονήσεις, όπως οι υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων. Μας δίνεται η δυνατότητα να τα χρησιμοποιήσουμε είτε για τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων στο έδαφος (φυτοσταθεροποίηση) είτε για την απομάκρυνσή τους από αυτό (φυτοσυσσώρευση). Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι μερικά αλόφυτα εκκρίνουν από τους αλαταδένες τους, μαζί με τα περίσσεια άλατα και μέταλλα, γεγονός που ανοίγει ένα νέο πεδίο στη φυτοεξυγίανση, τη μέθοδο της φυτοέκκρισης.

2. <u>ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ</u>

2.1. <u>Το Cd στο περιβάλλον</u>

2.1.1. <u>Πηγές Cd στο περιβάλλον</u>

Σύμφωνα με το Lasat (2000), τα στοιχεία που έχουν μεταλλικές ιδιότητες (όλκιμα, αγώγιμα, σταθερά ως κατιόντα, ικανά να λειτουργούν ως υποκαταστάτες, κλπ) και έχουν ατομικό αριθμό >20 ορίζονται ως βαρέα μέταλλα. Η περιεκτικότητα των βαρέων μετάλλων στο έδαφος επηρεάζεται από τη βιομηχανική δραστηριότητα στην περιοχή. Τα πιο ευρέως συναντούμενα βαρέα μέταλλα ως ρύποι βιομηχανικών δραστηριοτήτων είναι τα Cd, Zn, Pb, Cr, Cu και Hg.

Τα μέταλλα που βρίσκονται στο έδαφος προέρχονται από φυσικές ή ανθρωπογενείς πηγές (Alloway 1995, Orcutt & Nilsen 2000). Το Cd εμφανίζεται πάντα σε συνδυασμό με τον ψευδάργυρο. Ευρίσκεται επίσης στις βιομηχανίες ως αναπόφευκτο υποπροϊόν του ψευδάργυρου, του μολύβδου και του χαλκού κατά την εξαγωγή τους. Αφού χρησιμοποιηθεί εισάγεται στο περιβάλλον, κυρίως μέσω του εδάφους. Συναντάται σε συγκεντρώσεις που στο έδαφος και στα ιζήματα είναι μεγαλύτερες του 1 mg/kg (Peterson & Alloway, 1979) και στο θαλασσινό νερό, συνήθως ως σύμπλοκα χλωρίου, μικρότερη από 1 mg/kg (Mohlenberg & Jensen, 1980).

Η σημαντικότερη φυσική πηγή μετάλλων είναι τα πυριγενή πετρώματα, τα οποία περιέχουν μεγάλες συγκεντρώσεις Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Sn, Hg και Pb. Άλλοι φυσικοί τρόποι παραγωγής βαρέων μετάλλων είναι οι εκρήξεις ηφαιστείων και οι πυρκαγιές των δασών, όπως επίσης και τα θαλάσσια αεροζόλ (Μανουσάκη 2008).

Οι ανθρωπογενείς δράσεις που προκαλούν ρύπανση του περιβάλλοντος με Cd μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες (Κουϊμτζής και λοιποί, 1998, Chen et al., 2000, Orcutt and Nilsen, 2000, Mulligan et al., 2001, Naidu et al., 2003, Qadir et al., 2004a, Zarcinas et al., 2004, Yanai et al., 2006, Kirkham, 2006, Μανουσάκη, 2008):o

- Γεωργικές όπως φωσφορικά λιπάσματα, εναπόθεση ιλύος, νερό άρδευσης.

• Βιομηχανικές όπως εξόρυξη και επεξεργασία μεταλλευμάτων (ιδιαιτέρα ως παραπροϊόν της χύτευσης του ψευδαργύρου), επεξεργασίες πλαστικών (χρήση ως σταθεροποιητής στο PVC), κραμάτων, χαρτιού, μικροηλεκτρονικών, ελαστικών, κλωστοϋφαντουργία (χρωστική ουσία).

• Αστικές όπως αποτέφρωση απορριμμάτων, στραγγίσματα από ΧΥΤΑ, καύση γαιανθράκων και πετρελαίου για θέρμανση ή παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, εκπομπή αεροζόλ μέσων μεταφοράς, μπαταρίες.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται το εύρος συγκεντρώσεων στο έδαφος και τα επιτρεπόμενα όρια ορισμένων βαρέων μετάλλων.

Metal	Soil concentration range[a] (mg kg^{-1})	Regulatory limits[b] (mg kg^{-1})
Pb	1.00-6,900	600
Cd	0.10-345	100
Cr	0.05-3,950	100
Hg	<0.01-1,800	270
Zn	150.00-5,000	1,500

[a)] Riley *et al.*, 1992

[b)] Nonresidential direct contact soil cleanup criteria (NJDEP, 1996)

Πίνακας 2.1. Εύρος συγκεντρώσεων στο έδαφος και επιτρεπόμενα όρια για βαρέα μέταλλα (Lasat, 2000)

2.1.2. Μορφές του Cd στο έδαφος

Το Cd, όπως τα περισσότερα μέταλλα, σπάνια συναντάται σε καθαρή μορφή στο έδαφος. Συνήθως συνυπάρχει σε μικρές ποσότητες σε μεταλλεύματα του ψευδαργύρου (Zn) ως Cd και $CdCO_3$, από τα οποία και το εξάγουμε ως παραπροϊόν (Mulligan et al., 2001, Καραγιαννίδης, 2002). Η δισθενής του μορφή είναι εξαιρετικά διαλυτή, γεγονός που το καθιστά βιοδιαθέσιμο για την απορρόφηση από το ριζικό σύστημα των φυτών.

Οι διάφορες μορφές οι οποίες το βρίσκουμε είναι:

- Ως ελεύθερα μεταλλικά ιόντα και διαλυτά σύμπλοκα μετάλλων
- Προσροφημένο σε ανόργανα συστατικά του εδάφους
- Δεσμευμένα στην οργανική ύλη του εδάφους
- Κατακρημνισμένα ως οξείδια, υδροξείδια, ανθρακικά άλατα κ.α. (Παπαδημητρίου, 2012).

2.1.3. Μηχανισμοί πρόσληψης του Cd από τις ρίζες

Η μεταφορά των μετάλλων από το έδαφος στις ρίζες των φυτών γίνεται μέσω των μηχανισμών της συμμεταφοράς και της διάχυσης. Με τη συμμεταφορά, τα διαλυμένα μεταλλικά ιόντα που βρίσκονται στο εδαφικό διάλυμα κινούνται προς την επιφάνεια των ριζών. Οι ρίζες απορροφούν νερό από την περιοχή της ριζόσφαιρας ώστε να καλύψουν τις βιολογικές ανάγκες του φυτού. Αν τα ιόντα απορροφούνται από τις ρίζες ταχύτερα από το ρυθμό που προμηθεύονται στο έδαφος, δημιουργείται μία ζώνη απεμπλουτισμού, παρακείμενη στις ρίζες. Έτσι δημιουργείται μία κλίση συγκέντρωσης η οποία καθοδηγεί τη διάχυση των ιόντων προς τη ζώνη απεμπλουτισμού που περικλείει τις ρίζες (Lasat, 2000).

2.1.4. Μηχανισμοί πρόσληψης μετάλλων από τα φυτά

Απορρόφηση από τις ρίζες

Το σύστημα έδαφος-φυτά είναι ένα ανοικτό σύστημα υποκείμενο σε εισαγωγές ρυπαντών, όπως λιπάσματα και φυτοφάρμακα, και σε απώλειες, όπως η απομάκρυνση με το συγκομιζόμενο φυτικό υλικό, η έκπλυση, η διάβρωση και η αεριοποίηση.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τα ποσά των βαρέων μετάλλων που απορροφώνται από τα φυτά είναι εκείνοι που ελέγχουν:

- την συγκέντρωση και το είδος του μετάλλου στο εδαφοδιάλυμα
- την μετακίνηση του μετάλλου από το έδαφος στην επιφάνεια της ρίζας

- την μεταφορά του μετάλλου από την επιφάνεια της ρίζας μέσα στην ρίζα και
- την μετακίνησή του από την ρίζα στους βλαστούς.

Η πρόσληψη από τα φυτά ευκίνητων ιόντων που είναι παρόντα στο εδαφοδιάλυμα, καθορίζεται κατά ένα μεγάλο μέρος από την συνολική ποσότητα του ιόντος στο εδαφοδιάλυμα. Οι *Mycorrhizae* είναι συμβιωτικοί μύκητες που αυξάνουν αποτελεσματικά την απορροφητική επιφάνεια της ρίζας και μπορούν να βοηθήσουν αποτελεσματικά την πρόσληψη θρεπτικών ιόντων, όπως φωσφορικών και ιχνοστοιχείων.

Η απορρόφηση των μετάλλων από τις ρίζες των φυτών μπορεί να είναι παθητική η ενεργός. Η παθητική (μη μεταβολική) πρόσληψη περιλαμβάνει την διάχυση των ιόντων του εδαφοδιαλύματος στην ενδοδερμίδα της ρίζας. Η ενεργός πρόσληψη πραγματοποιείται, αντίθετα, στην κλίση της συγκέντρωσης, απαιτεί – ως εκ τούτου – ενέργεια και μπορεί επομένως να παρεμποδιστεί από την παρουσία τοξινών. Οι μηχανισμοί πρόσληψης από τα φυτά διαφέρουν μεταξύ των μετάλλων π.χ. η πρόσληψη Pb θεωρείται γενικά ενεργός, ενώ αυτή του Cu, του Mo και του Zn είναι πιθανά ενεργός η ένας συνδυασμός ενεργού και παθητικής πρόσληψης.

Οι μηχανισμοί απορρόφησης μπορούν να ποικίλουν για διαφορετικά ιόντα μετάλλων, αλλά ιόντα που απορροφώνται με τους ίδιους μηχανισμούς είναι πιθανόν να ανταγωνιστούν το ένα με το άλλο. Η απορρόφηση Zn εμποδίζεται από το Cu και το H+, αλλά όχι από το Fe και το Mn. Η απορρόφηση Cu εμποδίζεται από το Zn, NH_4, το Ca και το K.

Η ριζόσφαιρα είναι μία ζώνη πλάτους περίπου 1-2 mm μεταξύ των ριζών και του περιβάλλοντος εδάφους. Δέχεται αξιόλογα ποσά οργανικών ενώσεων από τις ρίζες, συμπεριλαμβανομένων και των εκκριμάτων. Οι οργανικές αυτές ενώσεις προκαλούν έντονη μικροβιολογική και βιοχημική δραστηριότητα στην ριζόσφαιρα, με αποτέλεσμα την αύξηση της κινητικότητας μερικών από τα μέταλλα που είναι ισχυρά προσροφημένα στο έδαφος, με την διαδικασία της όξυνσης, οξειδοαναγωγικές μεταβολές, η τον σχηματισμό οργανικών συμπλόκων

Σε τροφοπενίες Fe και Zn των σιτηρών, στα εκκρίματα των ριζών υπάρχουν ουσίες που επιδρούν αποτελεσματικά στην κινητοποίηση αυτών και άλλων μετάλλων στις περιοχές προσρόφησης κοντά στην ρίζα. Τα εκκρίματα ρίζας καπνού αύξησαν την εκχύλιση του Cd από το έδαφος, αλλά μείωσαν αυτήν του Fe, ενώ – αντίθετα – εκκρίματα ρίζας του αραβόσιτου δεν είχαν επιπτώσεις στις συγκεντρώσεις σε κανένα από τα μέταλλα αυτά.

Η πρόσληψη βαρέων μετάλλων από τα φυτά είναι μεγαλύτερη όταν τα φυτά αναπτύσσονται στο θερμοκήπιο. Αναφέρεται ότι η πρόσληψη Cd από φυτά μαρουλιού και κρεμμυδιών που καλλιεργήθηκαν στο θερμοκήπιο, είναι 6 και 25 φορές μεγαλύτερη, αντίστοιχα, απ’ ότι όταν καλλιεργούνται στο ίδιο έδαφος στο χωράφι.

Οι σχετικές διαφορές στην πρόσληψη των μεταλλικών ιόντων μεταξύ των διαφορετικών φυτικών ειδών και ποικιλιών ελέγχονται γενετικά και μπορούν να οφείλονται σε διάφορους παράγοντες, όπως η επιφάνεια της ρίζας, η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων της ρίζας, τα εκκρίματα της ρίζας και η εξατμισοδιαπνοή. Η εξατμισοδιαπνοή έχει επιπτώσεις στην μαζική ροή του εδαφοδιαλύματος κοντά στην ρίζα και, επομένως, στην μετακίνηση των ιόντων στην επιφάνεια της ρίζας.

Ορισμένα φυτικά είδη έχουν βρεθεί ότι συσσωρεύουν πολύ υψηλές συγκεντρώσεις ορισμένων βαρέων μετάλλων, χωρίς να παρουσιάζουν προβλήματα. Τα φυτά αυτά αναφέρονται ως «υπερσυσσωρευτές» (hyperaccumulators). Κάποια είδη του γένους *Thlaspi* έχει αποδειχθεί ότι είναι «υπερσυσσωρευτές» του Zn, του Cd και του Pb, συγκεκριμένα συσσωρεύουν συγκεντρώσεις Zn πάνω από 3%, Cd πάνω από 0,01% και Pb πάνω από 0,8%. Φυτικά είδη του γένους *Alyssum* που αναπτύσσονται σε εδάφη σερπεντίνη μπορούν να συσσωρεύσουν πάνω από 2% Ni. Οι «υπερσυσσωρευτές», επομένως, μπορεί να χρησιμοποιηθούν για απομάκρυνση βαρέων μετάλλων από ρυπασμένα εδάφη (Xenidis, 2013, Ρουμπελάκη, 2011)

Φυλλώδης απορρόφηση

Τα φυτά, εκτός από την απορρόφηση μέσω του ριζικού συστήματος, μπορούν επίσης να προσροφήσουν σημαντικά ποσά μεταλλικών στοιχείων, μέσω της απορρόφησης από τα φύλλα. Αυτό αξιοποιείται στην γεωργία ως μέσο παροχής σε περιπτώσεις τροφοπενιών κυρίως Mn και Cu, στα φυτά, μπορεί όμως να αποτελέσει σημαντική είσοδο ατμοσφαιρικών ρύπων, όπως Cd, στην τροφική αλυσίδα. Η φυλλώδης απορρόφηση των διαλυτών ουσιών εξαρτάται από τα φυτικά είδη, την θρεπτική κατάσταση των φυτών, το πάχος της επιδερμίδας των φύλλων, την ηλικία του φύλλου, την υγρασία στην επιφάνεια των φύλλων και την φύση των διαλυτών ουσιών. Ανταγωνισμοί μετάλλων, όπως στην ρίζα, μπορεί να εμφανιστούν και στην φυλλώδη απορρόφηση (π.χ. Cu και Zn). Μόρια Pb που προστίθεται από την ατμόσφαιρα στα φύλλα δεν εισέρχονται στο φυτό, διότι δεν διαπερνούν την επιδερμίδα των φύλλων, παραμένουν όμως στην επιφάνεια των φύλλων και μπορεί να απορροφηθούν μέσω της επιδερμίδας από μερικά *bryophytes* (Xenidis, 2013).

2.1.5. Παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη μετάλλων

Ο παρακάτω πίνακας αναφέρει επιγραμματικά τους παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά.

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

Πίνακας 2.2. Παράγοντες που επηρεάζουν την συμπεριφορά και τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος (Naidu et al., 2003).

2.1.5.1. Εδαφικοί παράγοντες (αβιοτικοί)

- Ολική συγκέντρωση του μετάλλου στο έδαφος:

είναι από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζει την πρόσληψη από τα φυτά. Οι Lund et al. (1981) βρήκαν θετική συσχέτιση μεταξύ του ολικού Cd στο έδαφος και στην συγκέντρωσή του στα φύλλα σε διάφορα είδη φυτών.

- Το εδαφικό pH:

ο σημαντικότερος παράγοντας που ελέγχει την πρόσληψη μετάλλων. Το pH επιδρά σε όλους τους μηχανισμούς προσρόφησης του Cd στο έδαφος. Το Cd είναι περισσότερο ευκίνητο σε τιμές pH μεταξύ 4.5 και 5.5, ενώ η κινητικότητά του μειώνεται για τιμές pH πάνω από 7.5 (Prasad 1995, Das et al. 1997, Lasat 2000).

- Η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων του εδάφους:

είναι αρνητική η συσχέτισή της με την ποσότητα του Cd που απορροφούν τα φυτά. Όταν μειώνεται η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων του εδάφους, μειώνεται η δύναμη που συγκρατεί τα κατιόντα των μετάλλων στα σωματίδια του εδάφους, συνεπώς αυξάνεται η βιοδιαθεσιμότητά τους (Lasat 2000, Wahid et al. 2009).

- Η οργανική ουσία του εδάφους:

συνεισφέρει στην ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων, που αναφέραμε παραπάνω, δημιουργώντας σύμπλοκα με τα μέταλλα, μειώνοντας τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Αν και το Cd δεν δημιουργεί ισχυρές συνδέσεις με τη διαλυμένη οργανική ουσία, η βιοδιαθεσιμότητά του μειώνεται παρουσία αυτής (Prasad, 1995).

- Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του εδάφους:

επηρεάζει τη χημική ισορροπία των κλασμάτων του Cd στο έδαφος (Alloway, 1995, Prasad, 1995, Ghosh & Singh, 2005). Η αύξηση του οξειδοαναγωγικού δυναμικού μειώνει το ανταλλάξιμο κλάσμα του Cd και αυξάνει την ανηγμένη μορφή του (Prasad, 1995).

- Η παρουσία άλλων κατιόντων: τα στοιχεία με παρόμοιες ιδιότητες δρουν μεταξύ τους είτε ανταγωνιστικά είτε συνεργατικά. Έρευνες έδειξαν ότι η παρουσία Cu, Ni, Se, Mn, P και Zn μειώνουν την πρόσληψη του Cd από τα φυτά, ο Pb δρα άλλοτε συνεργατικά και άλλοτε ανταγωνιστικά με το Cd, ενώ η εφαρμογή αζωτούχων λιπασμάτων αυξάνει την πρόσληψη του Cd (Alloway, 1995, Μανουσάκη, 2008).
- Η αλατότητα του εδάφους: έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει θετικά την πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά, λόγο της επίδρασης που έχει στη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων, με τρεις τρόπους: 1) τα μέταλλα αντικαθιστούν το Na^+ στις θέσεις ανταλλαγής με αποτέλεσμα με αποτέλεσμα να απελευθερώνονται στο εδαφικό διάλυμα (Wahla & Kirkham 2009), 2) γίνεται διαλυτοποίηση της οργανικής ουσίας στην οποία βρίσκονται προσροφημένα μέταλλα (Wahla & Kirkham 2009) και 3) σχηματίζονται διαλυτά σύμπλοκα $CdCl_2$ (Wahla & Kirkham 2009, Bingham et al. 1983, Kirkham 2006, Ghnaya et al. 2007).
- Το ποσοστό και το είδος της αργίλου του εδάφους: επηρεάζει την ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων του εδάφους και συνεπώς και την βιοδιαθεσιμότητα των (Bingham et al. 1983, Παπαμίχος 1996) λόγο των ανιόντων που περιέχουν τα αργιλικά εδάφη, τα οποία συγκρατούν τα μεταλλικά κατιόντα. Όσο μεγαλύτερο ποσοστό αργίλου περιέχει ένα έδαφος τόσο πιο μεγάλη θα είναι η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων.

2.1.5.2. Παράγοντες που σχετίζονται με το φυτό (βιοτικοί)

- Είδος, τμήμα, ηλικία και στάδιο ανάπτυξης του φυτού: έχει παρατηρηθεί ότι ακόμα και φυτά της ίδιας οικογένειας παρουσιάζουν μεταξύ τους σημαντικές διαφορές στην ικανότητα συσσώρευσης βαρέων μετάλλων και ως προς την αντοχή τους σε αυτά. Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει διαφορά στη συγκέντρωση στα διάφορα τμήματα του φυτού αλλά και ότι σημαντικό ρόλο παίζουν η ηλικία και το στάδιο ανάπτυξής του (Orcutt & Nilsen, 2000, Wahid et al., 2009).

• Οι εκκρίσεις της ρίζας: η απελευθέρωση από τις ρίζες οργανικών και ανόργανων εκκρίσεων προκαλεί διέγερση της μικροβιακής δραστηριότητας στη ριζόσφαιρα και σε ορισμένες περιπτώσεις ενισχύουν τη διαλυτότητα των μεταλλικών ιόντων, είτε με το σχηματισμό σύμπλοκων ιόντων είτε μειώνοντας το pH γύρω από τις ρίζες αλλάζοντας τοπικά τα χαρακτηριστικά του εδάφους(Raskin et al., 1994, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Nascimento & Xing, 2006, Μανουσάκη, 2008, Naidu et al., 2003).

• Οι μικροοργανισμοί του εδάφους: καθιστούν βιοδιαθέσιμα τα μεταλλικά ιόντα μέσω των βιολογικών τους διεργασιών και βοηθούν στην πρόσληψή τους από τα φυτά. Οι Wahid et al. (2009) βρήκαν ότι τα μυκόρριζα συντελούν στην αύξηση της πρόσληψης Cd από φασόλια και καλαμπόκι έως και κατά 41%, ανάλογα και με το εδαφικό pH και τη διαθέσιμη συγκέντρωση Cd.

2.1.6. Επιπτώσεις του Cd στο περιβάλλον

Τα υψηλά επίπεδα μετάλλων στο έδαφος προκαλούν υποβάθμιση της ποιότητάς του και μειώνουν την απόδοση των καλλιεργειών και την ποιότητα των γεωργικών προϊόντων (Long et al., 2002). Τα βαρέα μέταλλα είναι ικανά να παρεμποδίσουν την αποσύνθεση των περιττών για το χώμα στοιχείων και να παρεμποδίσουν την εδαφικά αναπνοή. Επιπλέον, εμπεριέχουν σημαντικούς κινδύνους για την υγεία των ανθρώπων, των ζώων και γενικότερα των οικοσυστημάτων (Blaylock & Huang, 2000).

Η μακροπρόθεσμη παρουσία των βαρέων μετάλλων στο περιβάλλον, λόγο του γεγονότος ότι δεν μπορούν να υποστούν βιοδιάσπαση ούτε να διάσπαση με χημικές διεργασίες, επιδεινώνει την απειλή για την υγεία των ανθρώπων, της πανίδας και της χλωρίδας (Gisbert et al., 2003). Η τάση αυτή να συσσωρεύονται στο έδαφος αυξάνει τον κίνδυνο να μεταφέρονται με τα επιφανειακά ύδατα στους επιφανειακούς και τους υπόγειους αποδέκτες.

Το Cd θεωρείται ένας εξαιρετικά επικίνδυνος και τοξικός ρύπος, ακόμα και σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις. Ο χρόνος ημιζωής του έχει υπολογιστεί περί τα 18 χρόνια στη φύση και στα 10 χρόνια στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι Hüttermann et al. (1999) έδειξαν ότι η συσσώρευση Cd στα ανώτερα στρώματα των δασικών εδαφών εμποδίζει τη φυσική αναδόμηση των δασικών ειδών με αποτέλεσμα την υποβάθμιση των δασών. Επιπλέον, έχει μεγάλη διαλυτότητα στο νερό, διαταράσσει την τιμή του pH και τη συγκέντρωση του O_2 στο νερό, επηρεάζει τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης (Ravera, 1974) και λειτουργεί ως ενζυμικός αναστολέας (Lockwood, 1976).

2.1.7. Επιπτώσεις του Cd στον άνθρωπο

Ο σημαντικότερος λόγος που αναζητάμε αποτελεσματικούς τρόπους καθαρισμού του εδάφους και των νερών από το Cd, και γενικότερα από τα βαρέα μέταλλα, είναι διότι έχει τη δυνατότητα να συσσωρεύεται στους ιστούς των φυτών και των ζώων και μέσω της τροφικής αλυσίδας να περνάει και στον ανθρώπινο οργανισμό όπου προκαλεί πληθώρα προβλημάτων.

Η τοξικολογία του Cd είναι πολύπλοκη επειδή προσβάλλει πολλά συστήματα. Μετά την εισπνοή εισέρχεται στους πνεύμονες και σημειώνεται κατακράτηση 25-30%, η οποία εξαρτάται από το μέγεθος και τη διαλυτότητα των σωματιδίων που περιέχουν το Cd. Η απορρόφηση από το έντερο είναι μικρή, περίπου 5-10%, ο ρυθμός δε της απορρόφησης αυξάνει σε άτομα με χαμηλά αποθέματα σιδήρου. Μετά την απορρόφηση το Cd σχηματίζει μεταλλοθειονεϊνη, μια πρωτεΐνη χαμηλού μοριακού βάρους. Η πρωτεΐνη αυτή στο μόριό της περιέχει θειο-αμινοξέα που η λειτουργία τους είναι να ρυθμίζουν στους ιστούς τα επίπεδα των ουσιωδών μετάλλων, ειδικά δε του ψευδαργύρου και του χαλκού. Το Cd εισέρχεται στο μόριο της μεταλλοθειονεϊνη, επειδή ο μεταβολισμός του είναι παρόμοιος με εκείνον του ψευδαργύρου και περίπου 80- 90% του Cd είναι ενωμένο με αυτή την πρωτεΐνη. Στη συνέχεια το σύμπλεγμα Cd - μεταλλοθειονεϊνη μεταφέρεται στους νεφρούς με την κυκλοφορία, όπου και προκαλεί καταστροφή των σωληναρίων, όταν η συγκέντρωση του Cd υπερβεί τα 200 mg/ kg βάρος.

Ο χρόνος της μισής ζωής του Cd στο σώμα είναι μεγάλος, περίπου 7-30 χρόνια και η αποβολή του αργή. Η κύρια οδός αποβολής είναι από τα ούρα. Το Cd συσσωρεύεται κυρίως στους νεφρούς και το ήπαρ και σε μικρότερες ποσότητες σε άλλα όργανα. Οξεία δηλητηρίαση από εισπνοή ατμών οξειδίου του Cd μπορεί να συμβεί κατά τη χύτευσή του, τα φαινόμενα της οποίας εμφανίζονται μετά από 4- 10 ώρες με δύσπνοια, βήχα, βάρος στο στήθος και αίσθημα καύσου. Εμφανίζονται επίσης συμπτώματα, όπως το σύνδρομο του πυρετού από καπνούς μετάλλου με ρίγη και μυαλγίες εντοπιζόμενες στη μέση και τα άκρα. Μετά 24 - 48 ώρες από την έκθεση παρουσιάζεται οξύ πνευμονικό οίδημα, το οποίο σε ελαφρές περιπτώσεις υποχωρεί μετά μία εβδομάδα περίπου και σε βαριές περιπτώσεις η δύσπνοια είναι επιδεινούμενη με συρρίττουσα αναπνοή και αιμοπτύσεις. Στις περιπτώσεις αυτές μέσα σε μία εβδομάδα επισυμβαίνει ο θάνατος.

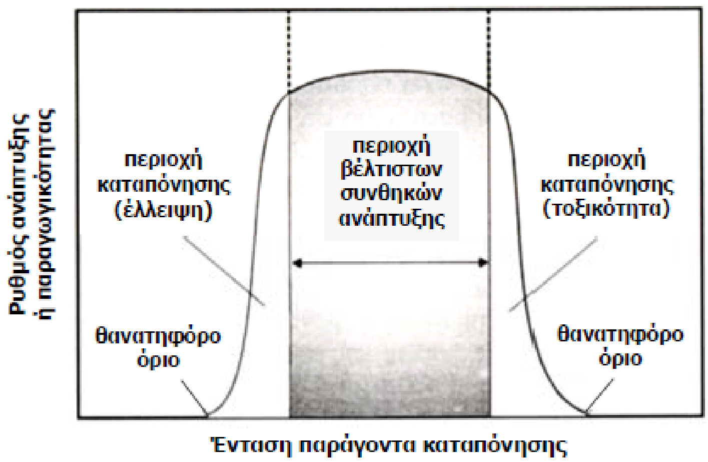
Εμφανίζονται επίσης σακχαρουρία και αμινοξιουρία καθώς και σχηματισμός λίθων με υπερασβεστουρία, η οποία οδηγεί προς οστεομαλακία. Το Cd ενοχοποιήθηκε επίσης ότι προκαλεί αρτηριακή υπέρταση σε πειραματόζωα, αν και ο μηχανισμός πρόκλησης παραμένει άγνωστος. Άτομα με υπέρταση φαίνεται ότι αποβάλλουν περισσότερο Cd στα ούρα και η σχέση μεταξύ Cd προς ψευδάργυρο είναι υψηλότερη στους νεφρούς από ότι σε άτομα με φυσιολογική αρτηριακή πίεση μεταξύ εργαζομένων που εκτίθενται σε Cd και γενικότερου πληθυσμού. (Hammer 1972).

Το Cd έχει ενοχοποιηθεί και ως καρκινογόνο, χωρίς όμως να υπάρχουν ισχυρές αποδείξεις γι' αυτό. Έτσι ενώ παλαιότερα εθεωρείτο ότι οι εργαζόμενοι σε εργασίες με Cd ανέπτυσσαν καρκίνο του προστάτη, νεώτερες επιδημιολογικές έρευνες δεν επιβεβαίωσαν κάτι τέτοιο, ούτε για τον καρκίνο του προστάτη ούτε για άλλες μορφές καρκίνου. Πάντως σε πειράματα με βακτηρίδια και κύτταρα πειραματόζωων και ανθρώπου, παρατηρήθηκαν μεταλλάξεις μετά από έκθεση σε Cd. Επίσης σε ασθενείς, οι οποίοι υπέφεραν από την ασθένεια itai-itai, βρέθηκαν στα λευκοκύτταρα χρωματοσωματικές διαταραχές.

Η ασθένεια itai-itai εμφανίστηκε μεταξύ ηλικιωμένων πολύτοκων γυναικών στην Ιαπωνία και η αιτία της αποδόθηκε στην κατανάλωση ρυζιού, το οποίο είχε μολυνθεί με Cd από νερό που είχε περάσει μέσα από περιοχές ορυχείων Cd. Η ασθένεια είναι επώδυνη και οφείλεται στην οστεομαλακία. Παρατηρούνται πολλαπλά κατάγματα και νεφρική δυσλειτουργία. Η παθογένεση της ασθένειας σήμερα είναι σε αμφιβολία, επειδή διαπιστώθηκε και σε περιοχές όπου δεν υπάρχει μόλυνση από Cd και αποδίδεται μάλλον σε μία μορφή ανεπάρκειας της βιταμίνης D.

2.2. Παράγοντες καταπόνησης των φυτών

Στο φυσικό περιβάλλον τα φυτά εκτίθενται πολλές φορές σε αντίξοες συνθήκες οι οποίες επηρεάζουν δυσμενώς τόσο την ανάπτυξη αλλά και την ίδια τους την επιβίωση. Ο όρος «καταπόνηση» αναφέρεται στην επίδραση δυσμενών παραγόντων του περιβάλλοντος, οι οποίοι τείνουν να παρεμποδίσουν την εύρυθμη λειτουργία των φυσιολογικών μηχανισμών. Κάθε φυτικός οργανισμός έχει προσαρμοστεί μέσω της εξέλιξης να αναπτύσσεται χωρίς προβλήματα μέσα σε καθορισμένα όρια συνθηκών του περιβάλλοντος, επομένως, εάν παραβιαστούν τα όρια αυτά, ο φυτικός οργανισμός θα επιβαρυνθεί και θα εμφανίσει τα πρώτα συμπτώματα καταπόνησης (Σχήμα 2.1) (Καραμπουρνιώτης, 2003).



Σχήμα 2.1. Τα βέλτιστα όρια ανάπτυξης ενός φυτικού οργανισμού και η εμφάνιση συμπτωμάτων καταπόνησης (Καραμπουρνιώτης, 2003)

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

Πίνακας 2.3. Παράγοντες καταπόνησης των φυτών (Καραμπουρνιώτης, 2003).

2.2.1. Καταπόνηση των φυτών από Cd και άλλα βαρέα μέταλλα

Τα φυτά χρειάζονται για την ομαλή ανάπτυξη και λειτουργία τους μία ορισμένη ποσότητα θρεπτικών συστατικών, ανάμεσα στα οποία είναι και ίχνη βαρέων μετάλλων όπως ο χαλκός, το κοβάλτιο, ο ψευδάργυρος, ως δομικά στοιχεία των ενζύμων και των πρωτεϊνών. Σε περίπτωση όμως που αυτά ή άλλα μέταλλα (όπως ο μόλυβδος, το Cd, ο υδράργυρος, το αρσενικό) βρεθούν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μέσα στο φυτό, είναι εξαιρετικά τοξικά (Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003, Τσέκος, 2004).

2.2.1.1. Επιπτώσεις καταπόνησης των φυτών από Cd και άλλα βαρέα μέταλλα

Η μόλυνση του εδάφους με βαρέα μέταλλα έχει άμεσο αντίκτυπο στην ανάπτυξη των φυτών, με κύριο αποτέλεσμα την επιβράδυνση της ανάπτυξής τους. Η εμφάνιση των συμπτωμάτων γίνεται μέσα σε λίγα μόλις λεπτά μετά την έκθεση του φυτού σε υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων και παρουσιάζονται εν γένει παρακάτω.

- Δυσλειτουργίες στην μεταφορά ιόντων όπως Ca^{2+}, Mg^{2+}, NO^{3-} και K^{+} μέσω των μεμβρανών.
- Παρεμποδίζεται η λειτουργίας της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων για την αναπνοή και τη φωτοσύνθεση,
- Μη αντιστρεπτή παρεμπόδιση της δραστηριότητας των ενζύμων
- Σημαντική πτώση της παραγωγής ενέργειας (Καραμπουρνιώτης 2003).

Λόγω του ότι τα άλατα του Cd διαλύονται εύκολα στο νερό και είναι ιδιαίτερα ευκίνητο μέσα στο φλοίωμα με αποτέλεσμα να μπορεί να μεταφερθεί με ευκολία στα διάφορα μέρη του φυτού, το Cd θεωρείται ένα από τα τοξικότερα μέταλλα στο έδαφος (Wahid et al. 2009). Το επίπεδο τοξικότητας του Cd στα φύλλα των φυτών κυμαίνεται από 5-30ppm (Orcutt & Nilsen 2000).

Τα αποτελέσματα της τοξικότητας του Cd στα φυτά είναι:

- αναστολή της ανάπτυξης των ριζών,
- μείωση της βιομάζας και
- θανάτωση του φυτού.

Τα πρώτα οπτικά σημάδια της τοξικότητας του Cd σε ένα φυτό είναι (Das et al., 1997, Wahid et al. 2009):

- Χλώρωση των φύλλων
- μείωση της αύξησης του φυτού

- στρίψιμο των φύλλων
- κάψιμο των άκρων των φύλλων
- χλώρωση του βλαστού

Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι το Cd συμβάλει στην απορρόφηση από το φυτό διαφόρων άλλων στοιχείων όπως τα Ca, Mg, P, K (Prasad 1995, Das et al. 1997, Wahid et al. 2009). Επιπλέον, μπορεί να επιδράσει αρνητικά στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης (Ewais 1997) είτε διασπώντας τη χλωροφύλλη είτε επηρεάζοντας τα ένζυμα των χλωροπλαστών (Prasad 1995, Wahid et al. 2009).

2.2.1.2. <u>Μηχανισμοί αντιμετώπισης της καταπόνησης από βαρέα μέταλλα</u>

Οι διάφοροι τύποι φυτών έχουν αναπτύξει ποικίλους μηχανισμούς και στρατηγικές για να καταφέρνουν να αντιμετωπίζουν τις υψηλές συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων και τις διάφορες καταπονήσεις που δύνανται αυτά να προκαλέσουν. Οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι:

- Καθήλωση των μεταλλικών ιόντων στο κυτταρικό τοίχωμα

Ένα μεγάλο μέρος των μετάλλων προσροφάται στα τοιχώματα του ριζικού συστήματος, στις αρνητικά φορτισμένες θέσεις COO^- που βρίσκονται στα κυτταρικά τοιχώματα (Prasad, 1995, Orcutt & Nilsen, 2000, Hall, 2002, Καραμπουρνιώτης, 2003).

- Μείωση της μεταφοράς διάμεσο της πλασματικής μεμβράνης

Η πλασματική μεμβράνη μπορεί να θεωρηθεί ως η πρώτη ενεργή δομή η οποία είναι στόχος της τοξικότητας των βαρέων μετάλλων. Η ανθεκτικότητά της περιλαμβάνει την προστασία της ακεραιότητάς της από τη ζημιά που μπορεί να προκαλέσουν τα βαρέα μέταλλα. Η μεμβράνη παίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση των μετάλλων, εμποδίζοντας ή μειώνοντας την είσοδό τους στο κύτταρο (Hall, 2002, Μανουσάκη, 2008).

- Ενεργός μεταφορά και απομόνωση στο χυμοτόπιο

Στο χυμοτόπιο των κυττάρων γίνεται η αποθήκευση και η συσσώρευση των βαρέων μετάλλων. Μέσα εκεί γίνεται και διαμερισματοποίηση των μετάλλων αφού πρώτα συμπλοκοποιηθούν αντιδρώντας είτε με οργανικά οξέα είτε με αμινοξέα (Raskin et al., 1994, Salt et al., 1998, Hall, 2002, Yang et al., 2005, Nascimento and Xing, 2006, Μανουσάκη, 2008).

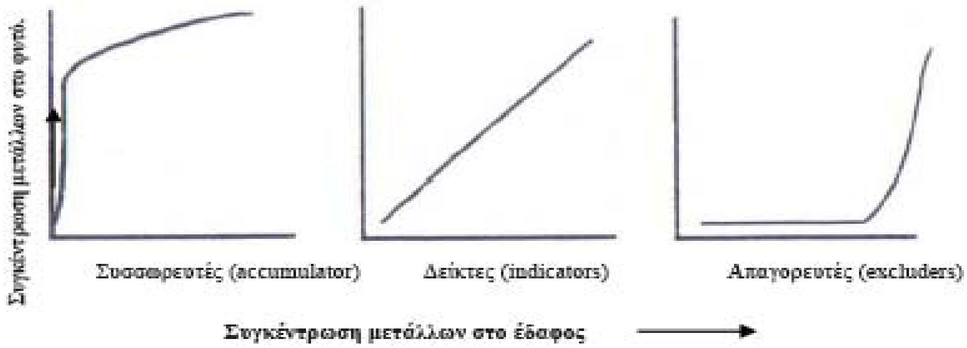
- Συμπλοκοποίηση μετάλλων στο κυτταρόπλασμα

Θεωρείται ο σημαντικότερος μηχανισμός αποτοξίνωσης και ανθεκτικότητας. Στο κυτταρόπλασμα γίνεται η συμπλοκοποίηση των μετάλλων με οργανικά οξέα, αμινοξέα και πεπτίδια όπως οι φυτοχηλατίνες και οι μεταλλοθειονίνες (Hall, 2002, Γαλάτης και λοιποί, 2003).

- Τα μυκόρριζα

Τα μυκόρριζα είναι κοινά όργανα συμβίωσης μεταξύ των ριζών ενός φυτού και ενός κατάλληλου μύκητα. Έχουν την ικανότητα, μεταξύ άλλων, να απορροφούν τα βαρέα μέταλλα που βρίσκονται στο έδαφος, μειώνοντας έτσι την απορρόφηση αυτών από τις ρίζες των φυτών (Orcutt & Nilsen, 2000, Hall, 2002, Γαλανάκη, 2011).

Επίσης, αποτοξίνωση των φυτών από τα βαρέα μέταλλα γίνεται με την απόρριψη φύλλων όπου βρίσκονται συσσωρευμένα, με την έκπλυση από τα φύλλα και τα τριχώματα του φυτού από τη βροχή ή με την έκλυσή τους στην ατμόσφαιρα μέσω των στομάτων που βρίσκονται στα φύλλα (Alloway, 1995, Orcutt & Nilsen, 2000Γαλανάκη, 2011, Salt et al., 1998, Peer et al., 2005, Γαλάτης και λοιποί, 2009).



Εικόνα 2.1. Στρατηγικές των φυτών για την αντιμετώπιση των υψηλών συγκεντρώσεων μετάλλων στο έδαφος. Ανατύπωση από τον Baker 1981 στο: Orcutt & Nilsen 2000)

2.2.2. Καταπόνηση αλατότητας

Ο όρος αλατότητα αναφέρεται στην ύπαρξη υψηλής συγκέντρωσης διαλυτών αλάτων (ανόργανων ιόντων) στο περιβάλλον των ριζών των φυτών και μετριέται έμμεσα μέσω της μέτρησης της ηλεκτρικής αγωγιμότητας (EC) (dS/m). Τα κατιόντα που βρίσκονται στο νερό και συνήθως σχετίζονται με την αύξηση της αλατότητας στο έδαφος είναι το νάτριο, το ασβέστιο και το μαγνήσιο ενώ τα ανιόντα είναι το χλώριο, τα θειικά και τα ανθρακικά. Τα ιόντα που ευθύνονται κυρίως για την αύξηση της αλατότητας με τη συσσώρευσή τους στο έδαφος είναι το νάτριο και το χλώριο.

Υψηλές συγκεντρώσεις νατρίου και χλωρίου στο έδαφος προκαλούν αυξημένες αναλογίες Na^+/Ka^+,Na^+/Cl^-, Ca^{++}/Mg^{++} και $Cl^-NO_3^-$, που έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία θρεπτικών διαταραχών στα φυτά και την περαιτέρω μείωση της ανάπτυξής τους (Adams, 1995, Chartzoulakis et al., 2000).

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

* Πηγή: Griffin, 1990

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

Πίνακας 2.4. Πιθανή βλάβη μιας καλλιέργειας από τις αυξανόμενες συγκεντρώσεις αλάτων.

2.2.2.1. Επιπτώσεις της καταπόνησης της αλατότητας στα φυτά

Η συσσώρευση υδατοδιαλυτών αλάτων στα εδάφη, συνιστά ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα τους. Οι βλαπτικές επιδράσεις των διαλυτών αλάτων αφορούν την βλάστηση των σπόρων και την ανάπτυξη των φυτών και οφείλονται είτε στην αδυναμία των φυτών να προσλάβουν νερό από το έδαφος, εξαιτίας της οσμωτικής πίεσης του εδαφικού διαλύματος, που είναι αποτέλεσμα παρουσίας υψηλών συγκεντρώσεων αλάτων σε αυτό, είτε την χειροτέρευση των φυσικών ιδιοτήτων του εδάφους, που προκαλείται από την παρουσία του ανταλλάξιμου νατρίου σε υψηλά επίπεδα, είτε τέλος, στις υψηλές τιμές του pH.

Η σημασία του νερού είναι γνωστή, σαν διαλύτης των ανόργανων αλάτων πριν την πρόσληψή τους από τις ρίζες καθώς την κίνησή τους μέσα στα αγγεία και στους ιστούς του φυτού, τη μεταφορά των σχηματιζόμενων ουσιών με τις άλλες φυσιολογικές λειτουργίες από το ένα σημείο του φυτικού σώματος στο άλλο.

Η αυξημένη αλατότητα στο εδαφικό διάλυμα δεν επιτρέπει στα φυτά την πρόσληψη νερού με αποτέλεσμα να δημιουργούνται σύντομα προβλήματα και δυσάρεστα συμπτώματα στο φυτό. Προφανώς τα συμπτώματα που προκαλούνται στα φύλλα των φυτών μοιάζουν με αυτά της έλλειψης νερού ή από την καταστροφή των ριζών μια και όλες αυτές οι αιτίες έχουν το ίδιο αποτέλεσμα, στερούν δηλαδή από το φυτό την ικανότητα να απορροφά νερό που του είναι απαραίτητο για την θρέψη και την λειτουργία του.

Ένα σοβαρό πρόβλημα για τα φυτά που αναπτύσσονται σε αλατούχα εδάφη, είναι η ανεπαρκής πρόσληψη καλίου (K^+). Αυτό συμβαίνει εξαιτίας του ανταγωνισμού που υπάρχει ανάμεσα των ιόντων Na^+ και της πρόσληψης K^+ από ένα μηχανισμό χαμηλής έλξης, αλλά και επειδή το κάλιο είναι σχεδόν πάντα σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές του νατρίου σε τέτοια εδάφη.

Εάν υπάρχει αρκετό ασβέστιο, του οποίου η παρουσία είναι κρίσιμη μπορεί να ολοκληρωθεί ένας υψηλός μηχανισμός έλξης έχοντας προτίμηση στη μεταφορά καλίου, ώστε τα φυτά να μπορέσουν να απορροφήσουν αρκετό κάλιο και να περιορίσουν το νάτριο. Σε ορισμένα αλατούχα εδάφη, με χαμηλή συγκέντρωση ασβεστίου, η λίπανση με νάτριο είναι πιθανό να αυξήσει και να βελτιώσει την παραγωγή. Λόγω της ευνοϊκής επίδρασης του Ca^{++} στη δομή του εδάφους, πολλές φορές χρησιμοποιείται γύψος ($CaSO_4$) που προμηθεύει με Ca^{++} και μερική οξύτητα στο έδαφος, η οποία βοηθά στην απομάκρυνση του νατρίου. Μερικές φορές εφαρμόζεται και το θείο, το οποίο οξειδώνεται και σχηματίζει θειικά οξύ, που απομακρύνει και αυτό το νάτριο.

Οι ζημιές στα φυτά από διαλυτά άλατα στο έδαφος κυμαίνονται από μείωση στη βλάστηση χωρίς άλλα ορατά συμπτώματα μέχρι και μια σοβαρή μείωση της βλάστησης με αποτέλεσμα τα φυτά να φαίνονται ζαρωμένα και με μικρά, ζωηρού χρώματος φύλλα. Επίσης παρουσιάζεται σοβαρή χλώρωση στα φύλλα από την ζημιά των ριζών, με συνέπεια την μειωμένη πρόσληψη σιδήρου, περιφερειακή ξήρανση των φύλλων, σοβαρή μάρανση των φυτών ενώ το έδαφος είναι υγρό, ξήρανση των ριζών και τελικά καταστροφή του φυτού. Η βλάστηση των σπόρων μειώνεται ή εμποδίζεται (Μολυμπάκης 2011)

Γενικότερα προκαλείται:

- Παρεμπόδιση της λειτουργίας των ενζύμων (Orcutt & Nilsen 2000, Καραμπουρνιώτης 2003, Jithesh et al. 2006).
- Ανισορροπία στην πρόσληψη και μεταφορά των θρεπτικών στοιχείων (Orcutt & Nilsen 2000, Καραμπουρνιώτης 2003).
- Δυσλειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών (Orcutt & Nilsen 2000, Καραμπουρνιώτης 2003, Jithesh et al. 2006, Γαλάτης και λοιποί 2009).
- Δυσλειτουργία στις διαδικασίες της αναπνοής και της φωτοσύνθεσης (Orcutt & Nilsen 2000, Καραμπουρνιώτης 2003, Jithesh et al. 2006).
- Επηρεάζει το οσμωτικό δυναμικό και προκαλεί οσμωτική καταπόνηση (Bajji et al. 1998, Jithesh et al. 2006, Γαλάτης και λοιποί 2009).
- Η δημιουργία ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) με αποτέλεσμα την εμφάνιση οξειδωτικής καταπόνησης (Orcutt & Nilsen 2000, Καραμπουρνιώτης 2003, Jithesh et al. 2006).

2.2.2.2. Προσαρμογή των φυτών στην καταπόνηση από αλατότητα

Σε αλατούχο έδαφος τα φυτά καταπονούνται από την περίσσεια ανόργανων αλάτων και ενώ μερικά φυτά επηρεάζονται δυσμενώς από την παρουσία τους με αποτέλεσμα να μην επιβιώνουν σε αλατούχα εδάφη, άλλα μπορούν να επιζήσουν ή ακόμα και να ευδοκιμήσουν.

Τα φυτά τα οποία ευδοκιμούν και αναπτύσσονται σε αλατούχα εδάφη και παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στις υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων αναφέρονται από τους Orcutt & Nilsen (2000) ως αλόφυτα. Ο Ungar (1991) ως αλόφυτα αναφέρει τα φυτά εκείνα που είναι ανθεκτικά στην υψηλή εδαφική αλατότητα και είναι ικανά να συσσωρεύουν σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις Na^+ και Cl^-, ενώ οι Flowers & Colmer (2008) αναφέρουν ως αλόφυτα τα φυτά εκείνα τα οποία μπορούν να επιβιώσουν και να αναπαραχθούν σε περιβάλλον που η συγκέντρωση αλατιού είναι 200mM NaCl ή μεγαλύτερη.

Τα αλόφυτα μπορούν να καταταχθούν σε τρεις κατηγορίες:

- Τα υποχρεωτικώς αλόφυτα, τα οποία αναπτύσσονται βέλτιστα υπό συνθήκες αλατότητας, ενώ παρουσιάζουν μειωμένη ανάπτυξη σε συνθήκες μειωμένης αλατότητας.
- Τα δυνητικώς αλόφυτα, που εμφανίζουν τις μεταβολικές διεργασίες των αλόφυτων όταν εκτεθούν σε μέτριες συγκεντρώσεις αλάτων (Orcutt & Nilsen, 2000).
- Τα γλυκόφυτα, τα οποία εμφανίζουν χαμηλή αντοχή στην καταπόνηση της αλατότητας και δεν συσσωρεύουν ιόντα στου ιστούς τους (Orcutt & Nilsen, 2000).

Ωστόσο, και τα μη-αλόφυτα έχουν μηχανισμούς αντιμετώπισης της αλατότητας.

Τα αλόφυτα έχουν προταθεί ως καλύτερα προσαρμοζόμενα στην αντιμετώπιση και άλλων περιβαλλοντικών καταπονήσεων, όπως ρύπανση εδαφών με βαρέα μέταλλα, σε σχέση με τα ευαίσθητα στην αλατότητα φυτά που χρησιμοποιούνται για τη μέθοδο της φυτοεξυγίανσης (Manousaki & Kalogerakis, 2011).

Για την αντιμετώπιση των υψηλών συγκεντρώσεων αλατότητας τα αλόφυτα έχουν αναπτύξει δύο μηχανισμούς άμυνας, την ανθεκτικότητα και την αποφυγή.

Μηχανισμός Ανθεκτικότητας

Με τη στρατηγική της ανθεκτικότητας τα φυτά προσλαμβάνουν και συσσωρεύουν τα άλατα εντώς των κυττάρων τους για να αντισταθμίσουν το χαμηλό δυναμικό νερού του εδάφους και να εξασφαλίσουν τις επιθυμητές πιέσεις σπαργής (Orcutt & Nilsen 2000, Καραμπουρνιώτης 2003, Dajic 2006, Γαλάτης και λοιποί 2009, Hameed et al., 2010). Την τοξικότητα των υψηλών συγκεντρώσεων αλατότητας μέσα στα κύτταρά τους την αντιμετωπίζουν είτε προσλαμβάνοντας μεγαλύτερη αναλογία νερού ως προς την ξηρή τους βιομάζα (Orcutt & Nilsen 2000, Breckle 2002, Dajic 2006), είτε μεταφέροντας τα ιόντα Na^+ και Cl^- στα χυμοτόπια (Glenn et al. 1999, Orcutt & Nilsen 2000, Καραμπουρνιώτης 2003, Dajic 2006, Γαλάτης και λοιποί 2009, Hameed et al. 2010, Manousaki & Kalogerakis, 2010). Η διαφορά που δημιουργείται ανάμεσα στο δυναμικό του νερού του κυτοπλάσματος με αυτό του χυμοτοπίου εξισορροπείται με μηχανισμούς οσμωρύθμισης ή οσμωτικής εξισορρόπησης. Η οσμωρύθμιση στο κυτόπλασμα επιτυγχάνεται με τη σύνθεση συμβατών οσμωλυτών χαμηλού μοριακού βάρους (Orcutt & Nilsen 2000, Rhodes et al. 2002, Καραμπουρνιώτης 2003, Dajic 2006, Jithesh et al. 2006, Ben Hassine et al. 2009, Γαλάτης και λοιποί 2009, Hameed et al. 2010, Manousaki & Kalogerakis 2010). Οι συνηθέστεροι οσμωλύτες είναι σάκχαρα, πολυαμίνες, μεθυλιωμένες ινοσιτόλες, πολυόλες-πολυυδατωμένες αλκοόλες και φορτισμένοι μεταβολίτες (Γαλάτης και λοιποί, 2009).

Επίσης, είναι πιθανό η συσσώρευση οσμωλυτών να λειτουργεί προστατευτικά στην έλλειψη νερού επειδή είναι υδρόφιλοι και μπορούν να υποκαταστήσουν το ελλείπον νερό στο πρωτεϊνικό κέλυφος ή στις μεμβράνες (Καραμπουρνιώτης 2003, Γαλάτης και λοιποί 2009).

Μηχανισμός Αποφυγής

Με τους μηχανισμούς της αποφυγής τα φυτά δεν επιτρέπουν την είσοδο των ιόντων των αλάτων στο εσωτερικό των ευαίσθητων κυττάρων τους, ούτως ώστε να τα προστατέψουν από της τοξικές τους συνέπειες. Η ρύθμιση της αλατότητας επιτυγχάνεται με 3 κυρίως τρόπους:

- Με ενεργό αποκλεισμό.

Τα είδη των φυτών που ελέγχουν την αλατότητα στο εσωτερικό τους με ενεργό αποκλεισμό δεν απορροφούν τα άλατα με τις ρίζες τους αλλά τα αποκλείουν ενεργητικά στο εξωτερικό τους περιβάλλον (π.χ. *Rhizophora mangle*).

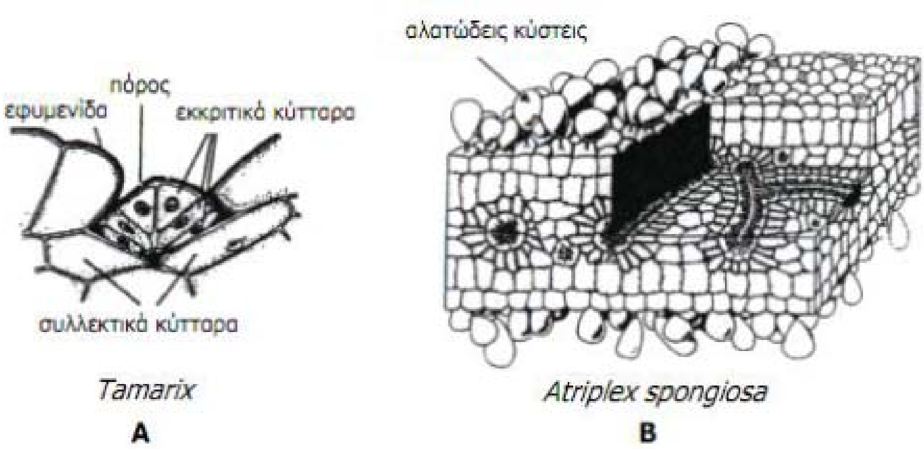
- Με απομάκρυνση από εξειδικευμένα κύτταρα.

Ορισμένα είδη φυτών εκκρίνουν το αλάτι που προσροφούν με τις ρίζες τους από εξειδικευμένα κύτταρα που βρίσκονται στα φύλλα τους, με αποτέλεσμα να το αποβάλουν από το εσωτερικό τους, μειώνοντας με αυτό τον τρόπο την συγκέντρωση των αλάτων μέσα στο φυτό (π.χ. είδη των Tamarix και *Limonium*).

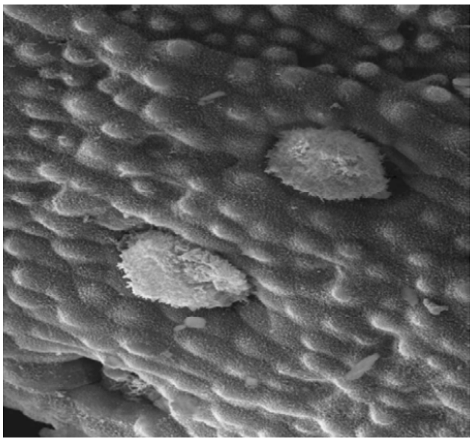
- Με ρύθμιση κατανομής

Σε ορισμένα είδη φυτών τα ιόντα Na^+ υπόκεινται σε ανακυκλοφορία μεταξύ των υπόγειων και των υπέργειων τμημάτων με σκοπό να επιτευχθεί ο δυναμικός έλεγχος της κατανομής των ιόντων στο εσωτερικό του φυτού (Καραμπουρνιώτης & Λιακόπουλος, 2011).

Όπως αναφέραμε παραπάνω, ορισμένα φυτά που χρησιμοποιούν τους μηχανισμούς της αποφυγής για να προστατευθούν από τις υψηλές συγκεντρώσεις αλατότητας έχουν αναπτύξει κάποιες εξειδικευμένες εκκριτικές δομές ώστε να απομακρύνουν το πλεονάζον αλάτι από το σύστημά τους. Οι εξειδικευμένοι αυτοί εκκριτικοί μηχανισμοί συναντώνται με τρεις διαφορετικές δομές: τους αλατώδεις αδένες, τις αλατώδεις κύστες και τους εξειδικευμένους αλατώδεις αδένες που συναντώνται σε ορισμένα εντομοφάγα φυτά και οι οποίοι δεν εκκρίνουν μόνο άλατα αλλά και ένζυμα της πέψης (Orcutt & Nilsen, 2000). Οι αλατώδεις αδένες και οι αλατώδεις κύστες μπορεί να έχουν παρόμοια λειτουργία αλλά παρουσιάζουν ανατομικές διαφορές. Οι αλατώδεις αδένες αποτελούνται από 4-10 κύτταρα που είναι ενσωματωμένα στην επιφάνεια των φύλλων και καλύπτονται από την εφυμενίδα, όπως στην περίπτωση των φυτών *Tamarix* και *Limonium*, ή από δύο μόνο κύτταρα, όπως στην περίπτωση των φυτών *Spartina*. Το αλάτι και το νερό εκκρίνονται στην επιφάνεια των φύλλων μέσω μικρών οπών που υπάρχουν στην εφυμενίδα για το λόγο αυτό (Orcutt & Nilsen, 2000, Μανουσάκη, 2008). Οι αλατώδεις κύστες αποτελούνται από δύο διαφορετικά κύτταρα, το μισχοειδές και το κυστικό. Μέσω του μισχοειδούς κυττάρου διοχετεύονται από το εσωτερικό του φύλλου το Na^+ και το Cl^- στο κυστικό κύτταρο, όπου και αποθηκεύονται. Όταν η συγκέντρωση των ιόντων αυξηθεί, το κύτταρο θραύεται ή σπάει ο μίσχος και το χλωριούχο νάτριο κρυσταλλώνει στην επιφάνεια των φύλλων ή επιστρέφει στο έδαφος (Orcutt & Nilsen, 2000, Μανουσάκη, 2008).



Εικόνα 2.2. Αλατώδης αδένας στα φύλλα του είδους *Tamarix* (Α) και εγκάρσια τομή του φύλλου του είδους *Atriplex spongiosa* με τις αλατώδεις κύστεις (Β) (Orcutt & Nilsen, 2000).



Εικόνα 2.3. Αλατούχοι αδένες του φυτού *Tamarix*, όπως εμφανίζονται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Τα άλατα απομακρύνονται με τη μορφή κόκκων. Φαίνονται επίσης τα επιδερμικά κύτταρα τα οποία παρουσιάζουν προεκβολές με τη μορφή θηλών. Μικροφωτογράφιση: Φασσέας, Εργαστήριο Ηλεκτρονικών Οργάνων, Γ.Π.Α.(http://www.aua.g/g/dep/bio/lab/morfol/karabourniotis_res_files/stressphysiology1.pdf

Ο Breckle (2002) αναφέρει ότι οι μηχανισμοί αυτοί στοχεύουν στη διατήρηση μιας σταθερής συγκέντρωσης Na^{+} στους ιστούς των αλόφυτων. Επιπλέον, διευκρινίζει ότι δεν χρησιμοποιούν όλα τα φυτά τους ίδιους μηχανισμούς ελέγχου, ούτε όλους τους μηχανισμούς. Κάθε ομάδα φυτών έχει αναπτύξει και ενεργοποιεί τους δικούς της μηχανισμούς. Βάση αυτού οδηγήθηκε στην κατηγοριοποίηση των αλόφυτων σε αλο-αποκλειστές, αλο-περιέκτες και αλο-συσσωρευτές.

2.2.2.3. Έκκριση βαρέων μετάλλων από τους αλαταδένες και τις κύστεις των φυτών

Έχει διαπιστωθεί ότι οι αλαταδένες στα φύλλα ορισμένων ειδών αλόφυτων, εκτός των ιόντων Na^{+} και Cl^{-} συσσωρεύουν και εκκρίνουν και άλλα ιόντα που ενδεχομένως να είναι τοξικά για τα φυτά, όπως Zn, Cu, Cd, Pb. Με τον τρόπο αυτό αντιμετωπίζονται οι τοξικές συνέπειες των υψηλών συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων που λαμβάνουν τα φυτά από το μολυσμένο έδαφος με τις ρίζες τους (Manousaki & Kalogerakis, 2010).

Πιο συγκεκριμένα, τα φυτά του γένους *Atriplex* έχουν την ικανότητα να εκκρίνουν τα Cd, Zn, Se, B, Mo, Cu, Pb (Lutts et al., 2004, Reboreda & Caçador, 2007, Lefévre et al., 2009, Manousaki & Kalogerakis, 2010), το *Tamarrix Aphylla* τα Cd και Li (Hagemeyer & Waisel, 1988, Manousaki & Kalogerakis, 2010), το *Tamarix Smyrnensis* τα Cd και Mb (Kadukova et al., 2008, Manousaki et al., 2008). Επίσης, έκκριση μετάλλων μέσω αλαταδένων παρατηρείται στα αλόφυτα του γένους *Spartina* για τα Na, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb και Cd (Rozema et al., 1991, Burke et al., 2000, Weis & Weis, 2004, Mahon & Carman, 2008).

Η παρουσία βαρέων μετάλλων έχει αναφερθεί και στις εκκρίσεις των τριχωμάτων φυτών που δεν ανήκουν στα Αλόφυτα, όπως για παράδειγμα η έκκριση Cd σε φυτά του είδους *Brassica juncea* (Salt et al. 1995 στο: Manousaki & Kalogerakis 2010) και η έκκριση Cd, Zn, Pb σε φυτά καπνού (*Nicotiana tabacum*) τα οποία εκκρίνουν κρυστάλλους από τα αδενικά τριχώματα στα φύλλα τους (Choi et al. 2001). Συγκεκριμένα, όπως αναφέρουν οι Choi et al. (2001), τα *Nicotiana tabacum* μπορούν να εκκρίνουν μέχρι και 16 μg Cd ανά g φρέσκιας φυτικής ουσίας, από τους αδένες τους.

2.3. Φυτοεξυγίανση

2.3.1. Περιγραφή της μεθόδου

Ο όρος Φυτοαποκατάσταση ή Φυτοεξυγίανση (Phytoremediation) αναφέρεται σε κάθε σύστημα ή διαδικασία στην οποία χρησιμοποιούνται φυτά για την in situ και ex situ αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών, υλικών καθιζήσεων, διάσπασης και σταθεροποίησης ρυπαντών (Cunningham et al., 1996; Schnoor et al., 1995).

Τοξικά βαρέα μέταλλα και μεταλλοειδή όπως τα Cd, Hg, As, Se, απελευθερώνονται συνεχώς στο περιβάλλον με τη μεταλλουργία, τη βιομηχανία και τη γεωργία, θέτοντας σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία. αυτό καθιστά αναγκαίο την ανάπτυξη ενός αειφόρου προγράμματος απομάκρυνσης ή/και αποτοξικοποίησής τους. Οι τεχνολογίες εξυγίανσης που βασίζονται στα φυτά, όπως είναι η φυτοεξυγίανση, θεωρούνται χαμηλού κόστους, καθώς γίνονται in situ και απαιτούν ως αποκλειστική πηγή ενέργειας τον ήλιο (LeDuc and Terry, 2005). Εργαστηριακές μελέτες έδειξαν ότι η τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση μεγάλης ποικιλίας ρυπαντών, τόσο οργανικών (π.χ. υδρογονάνθρακες πετρελαίου, χλωριωμένοι διαλύτες, μικροβιοκτόνα, PAH’s), όσο και ανόργανων (βαρέα μέταλλα, μεταλλοειδή, ραδιενεργά) μετατρέποντάς τους σε απλούστερες και λιγότερο τοξικές ενώσεις.

Η τεχνολογία αυτή βασίζεται στην αρχή ότι οι ρίζες των φυτών διεισδύουν στον τρισδιάστατο όγκο του μολυσμένου εδάφους και μέσω του αγγειακού συστήματος των φυτών, το υδατικό διάλυμα μεταφέρεται από το έδαφος στην ατμόσφαιρα. Εάν το υδατικό διάλυμα του εδάφους περιέχει και μέταλλα (ή κάποιο άλλο ρύπο) τότε εγγυημένα αυτά θα μεταφερθούν στο φυτό. Η σχετική ροή μάζας στην πρόληψη θρεπτικών συστατικών διαφέρει από φυτό σε φυτό.

Η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των Η.Π.Α. (Ε.Ρ.Α) κατατάσσει τη φυτοεξυγίανση στις λεγόμενες καινοτόμες τεχνολογίες επεξεργασίας (innovative treatment technologies). Οι τεχνολογίες αυτές χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία επικίνδυνων αποβλήτων και άλλων ρυπογόνων παραγόντων, χωρίς όμως να υπάρχουν αρκετές πληροφορίες σχετικά με το κόστος και την απόδοση που έχουν υπό διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας.

2.3.2. Τεχνικές και μορφές φυτοεξυγίανσης

Οι διάφορες τεχνικές της φυτοεξυγίανσης στοχεύουν στην αποδόμηση, την ακινητοποίηση ή την απομάκρυνση (μέσω συσσώρευσης ή διασκόρπισης) του ρύπου. Σκοπός της αποδόμησης και της απομάκρυνσης είναι η συγκέντρωση του ρύπου στο έδαφος ή στο νερό να μειωθεί στα επιτρεπόμενα από το νόμο επίπεδα. Με τις μεθόδους τις ακινητοποίησης στοχεύουμε στην αδρανοποίηση και την απομόνωση του ρύπου ώστε να αποφευχθεί η μετανάστευσή του από το έδαφος στα υπόγεια ή τα επιφανειακά νερά και στην ατμόσφαιρα (Παπαδημητρίου, 2012)

ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ

Ριζοαποδόμηση (Rhizodegradation)

Γίνεται βιοαποδόμηση του ρύπου στην περιοχή της ριζόσφαιρας μέσω των μικροοργανισμών που βρίσκονται εκεί. Η παρουσία των φυτών ευνοεί αυτή τη διαδικασία με διάφορες ουσίες που αυτά εκκρίνουν από τις ρίζες τους.

Φυτοαποδόμηση (Phytodegradation)

Περιλαμβάνει διαδικασίες οι οποίες οδηγούν στη διάσπαση/αποδόμηση του ρυπαντή. Η διάσπαση πραγματοποιείται είτε εντός του φυτού, μέσω μεταβολικών διεργασιών, είτε εξωτερικά στην περιοχή της ρίζας μέσω παραγωγής ενζύμων. Κατόπιν συντελείται ενσωμάτωση του αποδομημένου ρύπου στους φυτικούς ιστούς. Ο μηχανισμός αυτός βρίσκει εφαρμογή σε ρυπασμένα εδάφη, επιφανειακά και υπόγεια ύδατα.

ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ

Φυτοσυσσώρευση (Phytoextraction)

Η τεχνική αυτή βρίσκει εφαρμογή σε εδάφη ρυπασμένα με βαρέα μέταλλα. Τα φυτά προσλαμβάνουν το ρύπο, τον αποθηκεύουν στα υπέργεια τμήματά τους και τα οποία κόβουμε και απομακρύνουμε το ρύπο.

Ριζοδιήθηση (Rhizofiltration)

Η ριζοδιήθηση περιλαμβάνει τη ρόφηση στις φυτικές ρίζες ρυπαντών οι οποίοι βρίσκονται σε υδατικά διαλύματα. Τα φυτά αναπτύσσονται σε θερμοκήπια με τη μέθοδο της υδροπονίας, δηλαδή οι ρίζες τους βρίσκονται εντός υδατικού διαλύματος αντί του εδάφους.

ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ

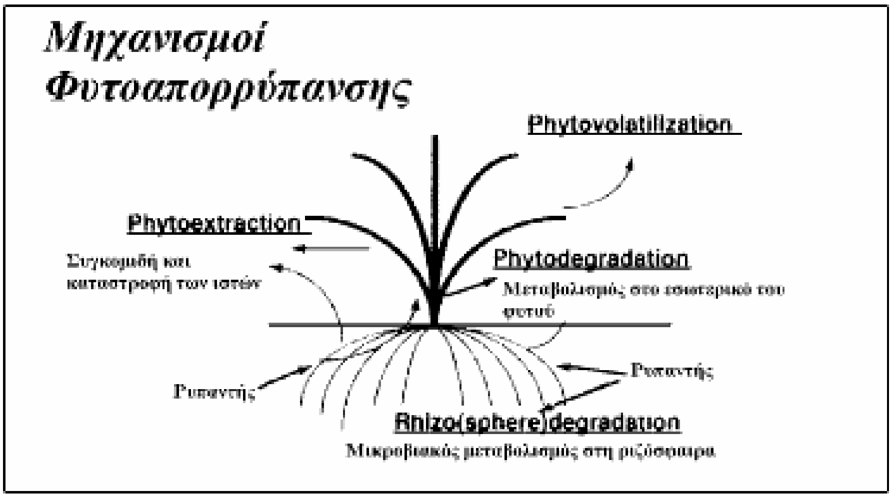
Φυτοεξάτμιση (Phytovolatilization)

Γίνεται πρόσληψη του ρύπου από το έδαφος/νερό και εξάτμισή-απελευθέρωσή του από τα φύλλα των φυτών με τη διεργασία της εξατμισοδιαπνοής, αφού πρώτα μετατραπούν σε πτητικές μορφές. Στην τεχνική αυτή δεν είναι απαραίτητη η συγκομιδή του φυτού για την απομάκρυνση των ρύπων.

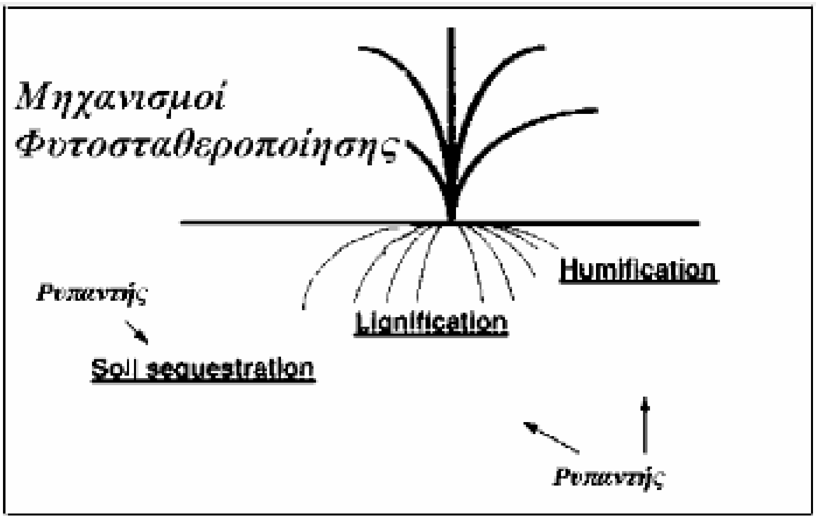
ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΣΗ

Φυτοσταθεροποίηση (Phytostabilization)

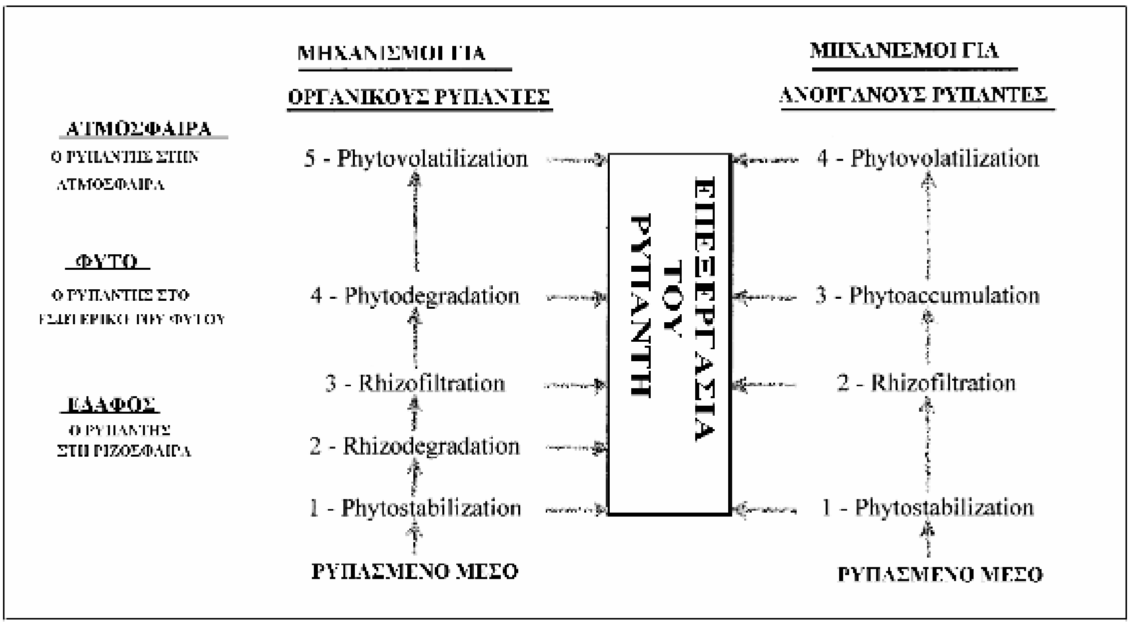
Έχει ως στόχο την αδρανοποίηση και απομόνωση του ρυπαντή ώστε να παρεμποδιστεί η μετανάστευση του (migration) από το έδαφος στο υπόγειο νερό ή στην ατμόσφαιρα. Η φυτοσταθεροποίηση βασίζεται στην ικανότητα των φυτών να εκκρίνουν ουσίες , μέσω των ριζών τους, οι οποίες ευνοούν μηχανισμούς όπως η χουμοποίηση (humification)-δέσμευση του ρυπαντή στα χουμικά συστατικά του εδάφους, η λιγνιτοποίηση (lignification)-δέσμευση στα κυτταρικά τοιχώματα των ριζών και δέσμευση στα εδαφικά σωματίδια (soil sequestration) (Flatham and Lanza, 1998).



Σχήμα 2.2. Μηχανισμοί που εμπλέκονται στην διαδικασίας της φυτοαπορρύπανσης (Raskin et al., 1998).



Σχήμα 2.3. Μηχανισμοί που εμπλέκονται στην διαδικασίας της φυτοσταθεροποίησης (Raskin et al., 1998).



Σχήμα 2.4. Μηχανισμοί εξυγίανσης στο σύστημα έδαφος- φυτό-ατμόσφαιρα (Raskin et al., 1998).

2.3.3. <u>Φυτοσυσσώρευση</u>

Η φυτοσυσσώρευση αναφέρεται στη χρήση συγκεκριμένων φυτών για τη μεταφορά μετάλλων από το έδαφος και τη συγκέντρωσή τους στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα του φυτού. Ένα είδος ή συνδυασμός ειδών μπορεί να επιλεγεί και να φυτευτεί σε μία περιοχή ανάλογα με τον τύπο των μετάλλων που είναι παρόντα και τις συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή (US EPA, 2001, Lasat,2002, Ernst, 2005, Nascimento and Xing, 2006). Το ιδανικό φυτό για να χρησιμοποιηθεί για φυτοσυσσώρευση πρέπει να διαθέτει τα εξής χαρακτηριστικά (Chaney et al., 1997, Krämer and Chardonnens, 2001, Garbisu and Alkorta, 2001, Clemens et al., 2002, Pulford and Watson, 2003, Ernst, 2005, Yang et al., 2005, Eapen and D'Souza, 2005, Kirkham, 2006):

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

Η φυτοσυσσώρευση εφαρμόζεται σε μέταλλα (π.χ. Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, No, Ni, Pb, Zn), μεταλλοειδή (π.χ. As, Se) ραδιονουκλεΐδια (π.χ. ^{90}Sr, ^{137}Cs, ^{239}Pu, ^{234}U, ^{238}U και αμέταλλα (π.χ. B) (US EPA, 2000, US EPA, 2001, Pletsch, 2004). Η φυτοσυσσώρευση θεωρείται ότι δεν είναι εφαρμόσιμη σε περιπτώσεις θρεπτικών ιχνοστοιχείων και οργανικών ρυπαντών καθώς αυτοί μπορεί να μεταβολιστούν ή να αεριοποιηθούν από το φυτό, εμποδίζοντας έτσι την όποια συσσώρευση.

Η φυτοσυσσώρευση βασίζεται κυρίως σε συγκεκριμένα είδη φυτών τα οποία καλούνται υπερσυσσωρευτές (hyperaccumulators) και τα οποία απορροφούν ασυνήθιστα μεγάλες ποσότητες μετάλλων σε σύγκριση με άλλα φυτά. Για να χαρακτηριστεί ένα φυτό ως υπερσυσσωρευτής πρέπει να έχει την ικανότητα απορρόφησης έως και 100 φορές μεγαλύτερη ποσότητα μετάλλου σε σχέση με ένα κοινό φυτό και να παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του μετάλλου στα υπέργεια τμήματά του από ότι στις ρίζες. Έτσι, για παράδειγμα, ένα φυτό υπερσυσσωρευτής μπορεί να συγκεντρώσει περισσότερο από 1000 mg/kg (0,1%) (επί ξηρού βάρους) μετάλλων όπως Co, Cu, Cr, Pb ή 10000 mg/kg (1%) μετάλλων όπως τα Zn και Ni, χωρίς να παρουσιάσει σημάδια τοξικότητας. Αντίστοιχα, τα αλόφυτα είναι φυτά τα οποία είναι ανθεκτικά και σε αρκετές περιπτώσεις συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες αλάτων (κυρίως NaCl, αλλά επίσης και αλάτων των Ca και Mg). Οι υπερσυσσωρευτές και τα αλόφυτα επιλέγονται και φυτεύονται στην προς αποκατάσταση περιοχή με βάση το είδος του μετάλλου ή άλατος, τη συγκέντρωση αυτών των συστατικών/ενώσεων και τις συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή (Anderson et al., 1999, McGrath et al., 2001, Gardea-Torresdey et al., 2005, Chaney et al., 1997, Salt et al., 1998, Boyd and Martens, 1998, Lasat, 2000, Henry, 2000, US EPA, 2001, Lasat, 2002, Pulford and Watson, 2003, Terry et al., 2003, Yanqun et al., 2005, Krämer, 2005, Kirkham, 2006).

Σχεδόν όλα τα γνωστά φυτά υπερσυσσωρευτές μετάλλων έχουν ανακαλυφθεί σε εδάφη πλούσια σε μέταλλα και είναι ενδημικά σε τέτοια εδάφη, αποδεικνύοντας ότι η υπερσυσσώρευση αποτελεί μία οικοφυσιολογική προσαρμογή στην έντονη παρουσία των μετάλλων και μία ένδειξη-εκδήλωση της αντίστασης σε αυτές τις υψηλές συγκεντρώσεις. Τα φυτά αυτά είναι συνήθως σπάνια και βρίσκονται μόνο σε συγκεκριμένες περιοχές σε όλο τον κόσμο, ενώ έχουν ταυτοποιηθεί λιγότερα από 400 είδη για 8 διαφορετικά βαρέα μέταλλα. Η φυτοσυσσώρευση λαμβάνει χώρα κυρίως στη ζώνη του ριζικού συστήματος των φυτών. Η ζώνη του ριζικού συστήματος των φυτών είναι περιορισμένη και σχετικά αβαθής με την πλειοψηφία των ριζών να αναπτύσσονται σε μικρό βάθος από την επιφάνεια του εδάφους, γεγονός που αποτελεί έναν δυνητικό περιορισμό της φυτοσυσσώρευσης.

Η αποτελεσματικότητα της φυτοσυσσώρευσης μπορεί να περιοριστεί από τη ρόφηση των μετάλλων σε σωματίδια του εδάφους και από τη χαμηλή διαλυτότητα των μετάλλων. Ωστόσο, η διαλυτότητα των μετάλλων μπορεί να αυξηθεί με την προσθήκη οξέων ή χειλικών μέσων, επιτρέποντας έτσι την απορρόφηση του ρυπαντή από το φυτό, όπως για παράδειγμα γίνεται αύξηση της διαλυτότητας των Pb και U με τη βοήθεια EDTA και κιτρικού οξέος αντίστοιχα. Πρέπει όμως να ληφθεί σοβαρά υπόψη η πιθανότητα των δυσμενών επιπτώσεων από τη χρήση των χημικών αντιδραστηρίων στην ποιότητα των υπόγειων νερών, στην ανάπτυξη των φυτών και στην αύξηση της διαλυτότητας άλλων στοιχείων.

Η φυτοσυσσώρευση παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα. Οι ρύποι απομακρύνονται μόνιμα από το έδαφος, ενώ η ποσότητα του προς απόρριψη υλικού είναι σημαντικά μειωμένη. Σε πολλές περιπτώσεις, ο συσσωρευμένος ρυπαντής είναι δυνατόν να ανακτηθεί από τη ρυπασμένη βιομάζα. Από την άλλη πλευρά η χρήση των υπερσυσσωρευτών περιορίζεται από χαμηλή ανάπτυξη, αβαθές ριζικό σύστημα και μικρή παραγωγή βιομάζας. Οι περιορισμοί και τα μειονεκτήματα που εμποδίζουν την εφαρμογή της μεθόδου συνοψίζονται στον πίνακα 2.5 (Lasat, 2000, Μανουσάκη, 2008).

Περιορισμοί λόγω της βιολογίας του φυτού	**Ρυθμιστικοί περιορισμοί**	**Άλλοι περιορισμοί**
Χαμηλή αντοχή του φυτού	Έλλειψη δεδομένων κόστους και επίδοσης	Ζώνη ρύπανσης κάτω από την περιοχή των ριζών
Έλλειψη μεταφορά τους ρύπου από τις ρίζες στους βλαστούς	Διάθεση των ρυπασμένων αποβλήτων των φυτών	Χρονοβόρα διαδικασία
Μικρό μέγεθος των χρησιμοποιούμενων φυτών	Κίνδυνος ρύπανσης της τροφικής αλυδίδας	Ρύπος σε βιολογικά μη διαθέσιμη μορφή Έλλειψη ειδών κατάλληλων για φυτοεξυγίανση

Πίνακας 2.5. Παράγοντες που επηρεάζουν την εφαρμοσιμότητα της φυτοσυσσώρευσης (Lasat, 2000).

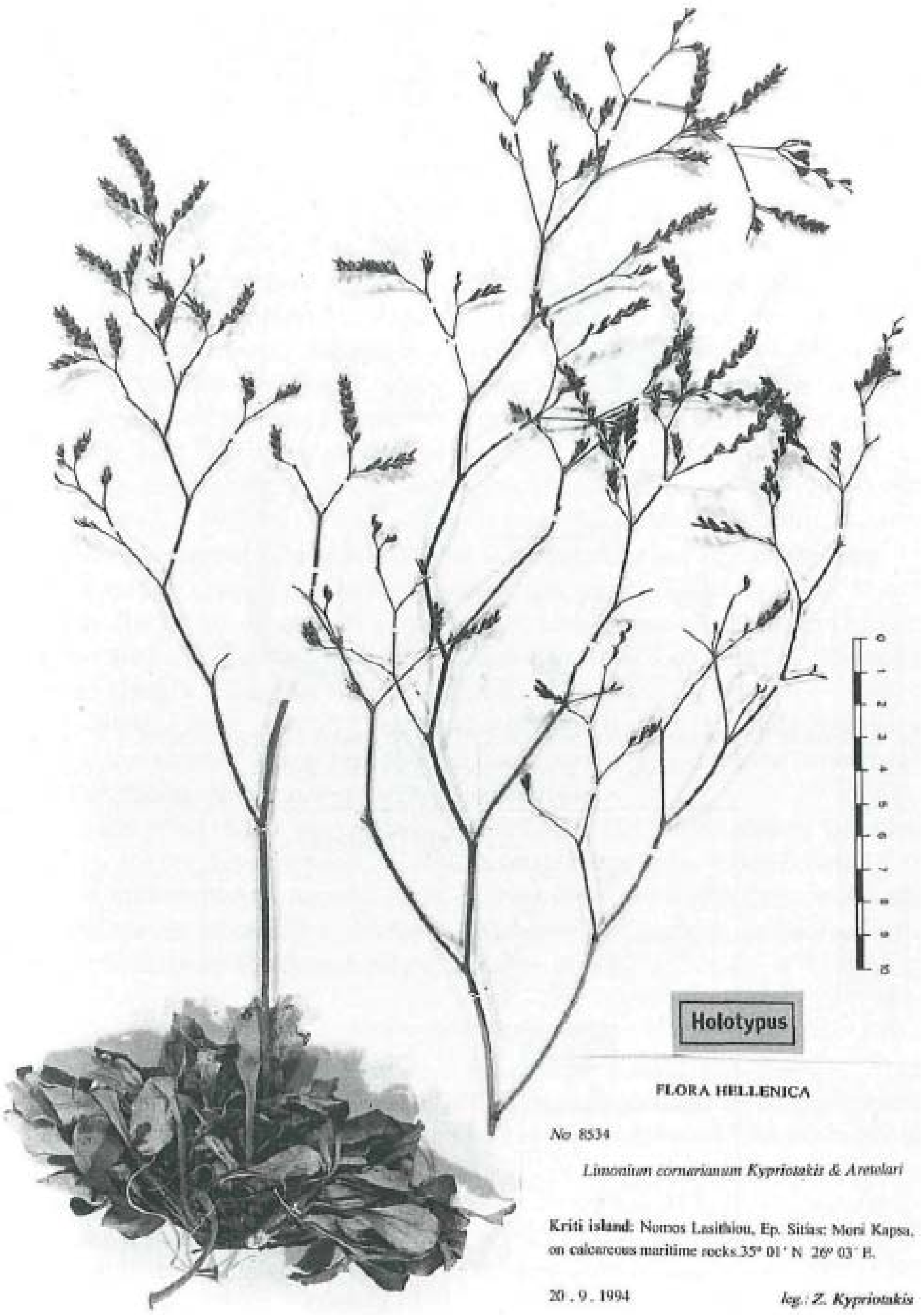
2.4. <u>Επιλογή και χαρακτηριστικά του υπό εξέταση φυτού</u>

Για την παρούσα διπλωματική έρευνα επιλέξαμε το αλόφυτο *Limonium cornarianum* (Λιμόνιον στου Κορνάρου) της οικογένειας *Plumpaginaceae* με σκοπό να εξετάσουμε την ικανότητά του για φυτοσυσσώρευση και φυτοσταθεροποίηση.

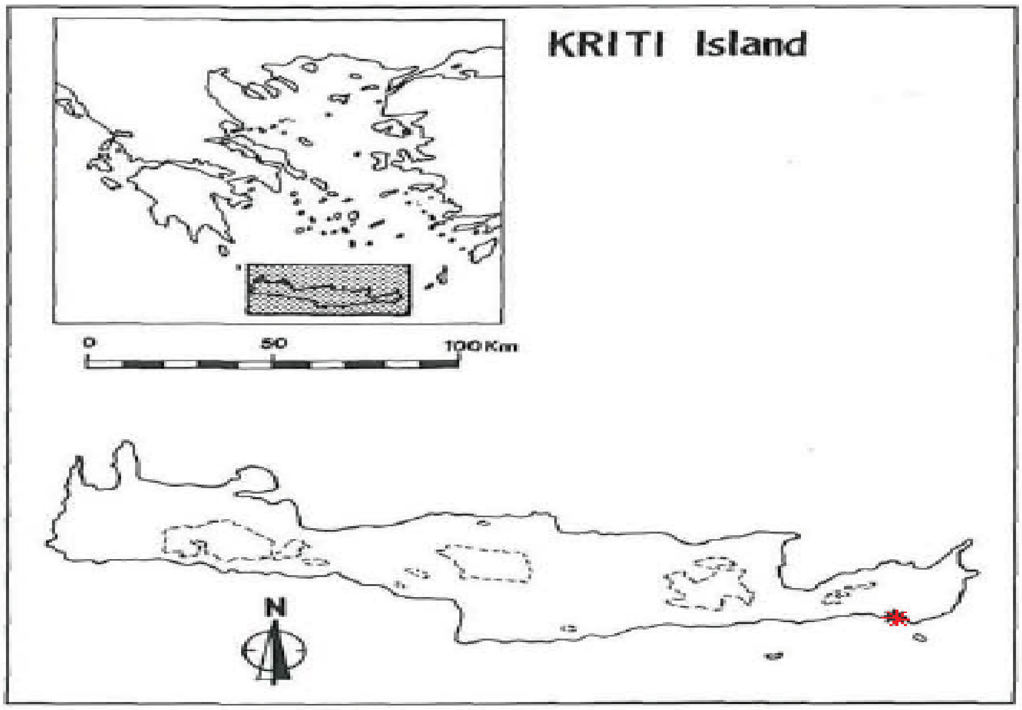
Εικόνα 2.4. Το *Limonium cornarianum* στο φυσικό περιβάλλον

Εικόνα 2.5. Άνθος του *Limonium cornarianum*

Πρόκειται για ένα πολυετές ημιθαμνώδες φυτό (χαμαίφυτο) με ρόδακα στη βάση και ύψος μέχρι 60 cm. Τα φύλλα του είναι φλεβώδη με πράσινο χρώμα, οξεία έως ελαφρά οξεία, με στενό χονδρώδες περιθώριο, πλατύτερα στο μέσο του φύλλου και λεπταίνουν απότομα στο μίσχο. Το μήκος του κυμαίνεται από 2,7 – 9 cm, πλάτους έως 2 cm και πάχους περίπου 0,1 mm. Οι ανθοφόροι βλαστοί είναι κάπως κυρτοί και διακλαδίζονται. Τα άνθη είναι μικρά και βγαίνουν σε πυκνές κατακόρυφες ομάδες, το ένα πάνω από το άλλο. Τα πέταλά τους, 4 έως 4,5 mm, έχουν ιώδες χρώμα και σχηματίζουν σωλήνα, διάστιχα, 4 έως 6 ανά cm. Ανθοφορεί τον Ιούνιο. Το *Limonium cornarianum* φυτρώνει πολύ γρήγορα (από 2-4 μέρες) και τα τελικά ποσοστά φύτρωσης φτάνουν το 100% σε όλες τις θερμοκρασίες. Το φως δεν επηρεάζει τη φύτρωση. Το *L. cornarianum* συναντάται σε περιβάλλον με ξηρά βράκτια, τα οποία σχηματίζουν μία ‘’θήκη’’ απ΄όπου ξεπροβάλει μόνο το ακραίο τμήμα του άνθους. Το βρίσκουμε κυρίως στη νότια-ανατολική Κρήτη και συγκεκριμένα στα παράκτια ασβεστολιθικά πετρώματα κάτω από τη Μονή Καψά, καθώς και σε σχισμές ασβεστολιθικών βράχων στο ομώνυμο φαράγγι σε απόσταση μέχρι και 1500 μέτρα από την ακτή και στην ευρύτερη παράκτια περιοχή της Ιεράπετρας. Χρησιμοποιείται στην ανθοδετική και σε βραχόκηπους ως καλλωπιστικό (Kypriotakis et al., 1998).



Εικόνα 2.6. Το *Limonium cornarianum*



Εικόνα 2.7. Εμφάνιση του *Limonium cornarianum* στην Κρήτη

Το συγκεκριμένο φυτό επιλέχθηκε διότι είναι ένα αυτοφυές είδος της Κρήτης, επομένως μπορεί να αποκτηθεί άμεσα και με χαμηλότερο κόστος και είναι εγκλιματισμένο στις τοπικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Επιπλέον δεν απαιτεί ιδιαίτερες καλλιεργητικές τεχνικές. Επίσης, ως αλόφυτο που είναι, παρουσιάζει ανθεκτικότητα στις υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων και αναμένουμε να συμβεί το ίδιο και με τις υψηλές συγκεντρώσεις Cd που θα το καταπονήσουμε. Τέλος θα μπορέσουμε να εξετάσουμε τη μέθοδο της φυτοέκκρισης χάρη στους εκκριτικούς μηχανισμούς που διαθέτει στην επιφάνεια των φύλλων του.

Εικόνα 2.8.& 2.9. Τα φύλλα του *L. cornarianum* πριν και κατά τη διάρκεια του πειράματος με εμφανείς τις αλατώδεις εκκρίσεις στη δεύτερη περίπτωση.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. Επιλογή πειραματικών συνθηκών

Για το πείραμά μας επιλέχθηκε έδαφος από αγροτεμάχιο της περιοχής Βατόλακκος του νομού Χανίων, το οποίο δεν είχε καλλιεργηθεί για μερικά χρόνια ώστε να μην περιέχει ήδη μέταλλα ή άλλους ρύπους εξαιτίας των καλλιεργητικών μεθόδων. Κατά τη συλλογή του εδάφους προσπαθήσαμε να αποφύγουμε παρακείμενα σε δέντρα μέρη διότι παλαιότερη πιθανή χρήση φυτοφαρμάκων θα επηρέαζε και θα αλλοίωνε τα αποτελέσματά μας

3.2. Πολλαπλασιασμός του φυτού *Limonium cornarianum*

Για την καλλιέργεια των φυτών πήραμε σπόρους από την τράπεζα σπερμάτων του Μεσογειακού Αγρονομικού Ινστιτούτου Χανίων τους οποίους τοποθετήσαμε σε θάλαμο φύτρωσης, σε συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και ηλιοφάνειας για την ανάπτυξή τους. Έπειτα τους φυτέψαμε σε μικρά γλαστράκια με φυτόχωμα και αφήσαμε τα φυτά να αναπτυχθούν για 5-6 μήνες. Τέλος, μεταφυτέψαμε τα φυτά στις γλάστρες του πειράματος αλλάζοντας και το είδος του εδάφους φύτευσης και τα αφήσαμε 2 εβδομάδες για να προσαρμοστούν στις νέες συνθήκες.

3.3. Προετοιμασία των φυτών

Τα φυτά μεταφέρθηκαν στο χώρο του θερμοκηπίου του Πολυτεχνείου Κρήτης όπου και μεταφυτεύθηκαν στις γλάστρες του πειράματος. Το έδαφος στο οποίο φυτεύθηκαν, αφού πρώτα αφαιρέσαμε χειρονακτικά τις πέτρες και τα οργανικά υλικά (όπως ξύλα, φύλλα, χορτάρι και λοιπά), αναμείχθηκε για να αποκτήσει ομοιόμορφη σύσταση. Στη συνέχεια πληρώθηκαν οι γλάστρες του πειράματος, ύψους 20 cm και διαμέτρου χείλους 20,5 cm, με την ίδια ποσότητα χώματος, με μέσο όρο βάρους 3757,4 g. Επίσης κρατήθηκαν δύο δείγματα εδάφους τα οποία και αναλύθηκαν στο εργαστήριο Εδαφολογίας και Φυλλοδιαγνωστικής του Μεσογειακού Αγρονομικού Ινστιτούτου Χανίων και τα χαρακτηριστικά του αποδίδονται στον παρακάτω πίνακα.

Χαρακτηριστικά Εδάφους	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Μ.Ο.
Χαρακτηρισμός του εδάφους	Αμμοπηλώδες	Αμμοπηλώδες	Αμμοπηλώδες
Άργιλος (%)	14,72	14,72	14,72
Άμμος (%)	53,28	53,28	53,28
Ιλύς (%)	32	32	32
pH	6.24	5.86	6.05
Οργανική ουσία (%)	3.1	3.2	3.15
Ολικό $CaCO_3$ (%)	0	0	0.00
Ι.Α.Κ. (NaA_oC, pH 8.2) (me/100g)	5.5	5.2	5.35
ειδ. ηλ. Αγωγιμότητα (ms/cm)	0.66	0.56	0.61

Πίνακας 3.1. Χαρακτηριστικά του εδάφους

Σε κάθε γλάστρα φυτεύτηκε από ένα φυτό. Τα φυτά παρέμειναν για μία περίοδο προσαρμογής και ανάπτυξης τεσσάρων μηνών σε εξωτερικό χώρο του θερμοκηπίου. Η άρδευσή τους κατά το διάστημα αυτό γινόταν με νερό βρύσης κάθε 3-4 ημέρες (2 φορές την εβδομάδα), ελέγχοντας σε καθημερινή βάση αν χρειάζονται συχνότερο ή αραιότερο πότισμα.

3.4. Κύριο πειραματικό μέρος

3.4.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Μετά την περίοδο προσαρμογής που αναφέραμε παραπάνω, τα φυτά μεταφέρθηκαν για τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας, η οποία διήρκησε 8 εβδομάδες (Δεκέμβρης – Φεβρουάριος). Το διάστημα αυτό λαμβάναμε μετρήσεις με συσκευή data logger (Log32), που είχε τοποθετηθεί στο χώρο του θερμοκηπίου, της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας. Με βάση την φωτοπερίοδο της εποχής θεωρήθηκαν ως «Ημέρα» οι ώρες από 7.30 έως 17.30 και ως «Νύχτα» οι ώρες 17.20 έως 7.40. Στον πίνακα 3.2. φαίνονται το εύρος η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία που επικρατούσαν κατά τη διάρκεια του πειράματος και οι μέσες τιμές τους.

	Θερμοκρασία (^oC)		Σχετική Υγρασία (%)	
	Έυρος	Μέση Τιμή	Έυρος	Μέση Τιμή
Ημέρα	2.7-19.6	11.45	41-93	74.28
Νύχτα	2.8-17.4	9.33	51-96	78.65

Πίνακας 3.2. Μέγιστες, ελάχιστες και μέσες τιμές θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας κατά τη διάρκεια του πειράματος

Επιπλέον μετεωρολογικά δεδομένα για την ηλιακή ακτινοβολία και τη βροχόπτωση κατά τη διάρκεια του πειράματος λήφθηκαν από το μετεωρολογικό σταθμό του Πολυτεχνείου Κρήτης. Η μέση ηλιακή ακτινοβολία υπολογίστηκε στα 185,54 W/m^2 και η μέση βροχόπτωση στα 0,032 mm, η οποία όμως δεν επηρέασε το πότισμα των φυτών καθώς, όπως προείπαμε, βρισκόντουσαν μέσα σε θερμοκήπιο.

Το σύνολο των φυτών στα οποία βασίστηκε το πείραμά μας ήταν 18και χωρίστηκαν σε 4 ομάδες, με γνώμονα να έχουν παρόμοια συνολική βιομάζα. Τις 2 πρώτες ομάδες (Group X & Y) τις αποτελούσαν 4 μέλη την καθεμία και ήταν οι επεμβάσεις ελέγχου (μάρτυρες). Οι άλλες 2 ομάδες (Group Z &W) αριθμούσαν 5 μέλη η καθεμία και ήταν αυτές στις οποίες έγιναν οι επεμβάσεις με Cd. Μία ομάδα ελέγχου και μία με Cd (Group X & Z) ποτίζονταν με νερό από τη βρύση, δηλαδή σχετικά 0% περιεκτικότητα αλατότητας και οι άλλες δύο με διάλυμα αλατότητας 0,5% NaCl. Το διάλυμα της αλατότητας παρασκευαζόταν επιτόπου στο θερμοκήπιο με την προσθήκη μαγειρικού αλατιού σε νερό βρύσης. Στον πίνακα 3.3. φαίνονται οι ομάδες των φυτών και οι επεμβάσεις που ακολουθήθηκαν.

Όνομα ομάδας - επέμβαση	Συγκέντρωση Cd (ppm)	Συγκέντρωση NaCl (%)
X: 0/0	0	0
Y: 0/0.5	0	0.5
Z: 30/0	30	0
W: 30/0.5	30	0.5

Πίνακας 3.3. Ομάδες του *L. cornarianum* και οι επεμβάσεις που ακολουθήθηκαν

Εικόνα 3.1. Τα φυτά *L. cornarianum* στο θερμοκήπιο

3.4.2. Έκθεση των φυτών στα μέταλλα

Αφού μεταφέρθηκαν τα φυτά μέσα στο θερμοκήπιο έγινε και η ρύπανση τους με Cd. Η συγκέντρωση που επιλέχθηκε για την επέμβαση ήταν 30 mg Cd/kg ξηρού βάρους εδάφους, συγκέντρωση η οποία είναι 10 φορές μεγαλύτερη από την ανώτατη οριακή τιμή Cd στο έδαφος σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία. Η οριακή τιμή Cd στο έδαφος είναι 1-3 mg/kg (Εφημερίδα της Κυβέρνησης 641/Β). Η μόλυνση έγινε σε μία δόση, με τεχνητή προσθήκη υδατικού διαλύματος $Cd(NO_3)_2 \bullet H_2O$ στη ριζόσφαιρα. Όλα τα φυτά ποτίζονταν με την ίδια ποσότητα νερού (200 ml) κάθε 3-4 ημέρες. Το πότισμα γινόταν με τέτοιο τρόπο (150 ml στην επιφάνεια του εδάφους και 50 ml στο πιάτο της γλάστρας) ώστε να αποφεύγεται η εκροή του νερού και η έκπλυση του ρύπου από το χώμα. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν και τα πλαστικά πιάτα κάτω από τις γλάστρες.

3.4.3. Μετρήσεις στα φυτά

3.4.3.1. Προσδιορισμός της ποσότητας Cd που εκκρίνεται στην επιφάνεια των φύλλων

Ο προσδιορισμός της ποσότητας του Cd που εκκρίνεται στην επιφάνεια των φύλλων του κάθε φυτού έγινε με τη μέθοδο Hagemeyer & Waisel (1998). Μετά τη λήξη του πειράματος, αποκόπηκαν τα υπέργεια τμήματα των φυτών και εμβαπτίστηκαν σε 100 ml διαλύματος HNO_3 0,15 v/v για 2 λεπτά, ούτως ώστε να διαλυθούν οι ενώσεις που βρίσκονται στην επιφάνεια αλλά και μέσα στις κρύπτες των φύλλων. Τα διαλύματα που προέκυψαν τα διηθήσαμε με τη χρήση ηθμών 125 mm και τοποθετήθηκαν σε πλαστικά φιαλίδια Falcon. Έπειτα αποθηκεύτηκαν εν ψυχρώ μέχρι τον προσδιορισμό του Cd με τη χρήση φασματοσκοπίας ICP-MS (Agilent Technologies 7500 series CX) με αυτόματο δειγματολήπτη ASX-500 Series.

3.4.3.2. Προσδιορισμός των παραμέτρων αύξησης

Αφού κόψαμε τα υπέργεια τμήματα των φυτών και έγινε η επεξεργασία τους με τη μέθοδο Hagemeyer & Waisel, τα πλύναμε μία φορά με νερό βρύσης και απιονισμένο. Επίσης, αφαιρέσαμε τις ρίζες με προσοχή από το έδαφος και τις πλύναμε 2 φορές με νερό βρύσης και απιονισμένο. Το πλύσιμο των υπέργειων τμημάτων και των ριζών έγινε με σκοπό την απομάκρυνση όλων των ξένων σωματιδίων που βρίσκονταν πάνω σε αυτά. Στη συνέχεια μετρήθηκε το νωπό βάρος κάθε δείγματος υπέργειου τμήματος, ακολούθησε ξήρανση σε φούρνο στους 70^{o}C για 48 ώρες και μέτρηση του ξηρού βάρους τους. Με τον τρόπο αυτό προσδιορίσαμε το περιεχόμενό νερό των υπέργειων τμημάτων και τη βιομάζα των υπέργειων τμημάτων αλλά και των ριζών. Ο υπολογισμός του περιεχομένου τους σε νερό έγινε με τον παρακάτω τρόπο: (περιεχόμενο σε νερό) (%) = $\frac{νωπό\ βάρος - ξηρό\ βάρος}{νωπό\ βάρος}$*100%. Τέλος, τα ξηρά πλέον δείγματα αλέστηκαν σε μύλο και αποθηκεύτηκαν σε ξηρό περιβάλλον μέχρι τη μέτρηση του περιεχομένου τους σε μέταλλα με χρήση φασματοσκοπίας ICP-MS.

3.4.3.3. Προσδιορισμός της χλωροφύλλης

Για τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης ακολουθήσαμε τη μέθοδο του Harborne (1984). Την τελευταία μέρα του πειράματος, πριν κόψουμε τα υπέργεια τμήματα των φυτών, συλλέξαμε 0,4 g νωπών φύλλων από κάθε φυτό, τα οποία τα πλύναμε με νερό βρύσης και απιονισμένο. Στη συνέχεια, για κάθε φυτό ξεχωριστά, τοποθετήσαμε τα φύλλα σε πορσελάνινο ιγδίο όπου τα ομογενοποιήσαμε προσθέτοντας 10 ml υδατικού διαλύματος ακετόνης 80% v/v. Έπειτα πραγματοποιήθηκαν 2 φυγοκεντρίσεις για κάθε εκχύλισμα, για 1 λεπτό στις 16000 rcf. Συμπληρώσαμε μετά με την καθαρή εκχύλιση με το ίδιο διάλυμα ακετόνης μέχρι τελικού όγκου 8 ml και μετρήσαμε την απορρόφηση σε φασματοφωτόμετρο UV (UV mini 1240 SHIMADZU) για δύο μήκη κύματος ακτινοβολίας, 663 και 646 nm, στις κατάλληλες αραιώσεις ώστε να βρίσκεται μέσα στο εύρος γραμμικότητας του οργάνου. Ως τυφλό διάλυμα για τη βαθμονόμηση και το μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιήσαμε το υδατικό διάλυμα ακετόνης 80% v/v. Οι συγκεντρώσεις των a-,b- και ολικής χλωροφύλλης υπολογίστηκαν από τις παρακάτω εξισώσεις:

Ολική Χλωροφύλλη (mg/l) = $17{,}3*A_{646} + 7{,}18*A_{663}$,

Χλωροφύλλη a (mg/l) = $12{,}21*A_{663} - 2{,}81*A_{646}$,

Χλωροφύλλη b (mg/l) = $20{,}13*A_{646} – 5{,}03*A_{663}$,

όπου A_{646} και A_{663} οι απορροφήσεις στα 663 και 646 nmαντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις υπολογίστηκαν για 1 g νωπού φύλλου.

3.4.3.4. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης στο φυτικό ιστό

Για να γίνει ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του Cd στο φυτικό ιστό χρησιμοποιήσαμε μία τροποποίηση της μεθόδου του Soon (1998). Πήραμε 0,5 g ξηρού και κονιορτοποιημένου δείγματος φυτικού ιστού από κάθε φυτό ξεχωριστά, τα τοποθετήσαμε σε πορσελάνινες κάψες και τα αποτεφρώσαμε σε πυραντήριο στους 600^{o}C για 4,5 ώρες. Στη συνέχεια τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν. Έπειτα προσθέσαμε 10 ml HCl 2N με ταυτόχρονη θέρμανση σε θερμαινόμενη πλάκα περίπου στους 100^{o}C με σκοπό να διαλυθεί η τέφρα. Το διάλυμα το διηθήσαμε και το αραιώσαμε με υπερκάθαρο ύδωρ μέχρι τελικού όγκου 50 ml. Το τελικό διάλυμα το αποθηκεύσαμε σε ψυγείο, σε θερμοκρασία μικρότερη των 10^{o}C και όχι περισσότερο από μία εβδομάδα. Τέλος, κάναμε τον προσδιορισμό του Cd με χρήση φασματοσκοπίας ατομικής εκπομπής με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, ICP-MS (Agilent Technologies 7500 series CX) με αυτόματο δειγματολήπτη ASX-500 Series.

4. <u>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ</u>

4.1. <u>Επίδραση του Cd και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού</u>

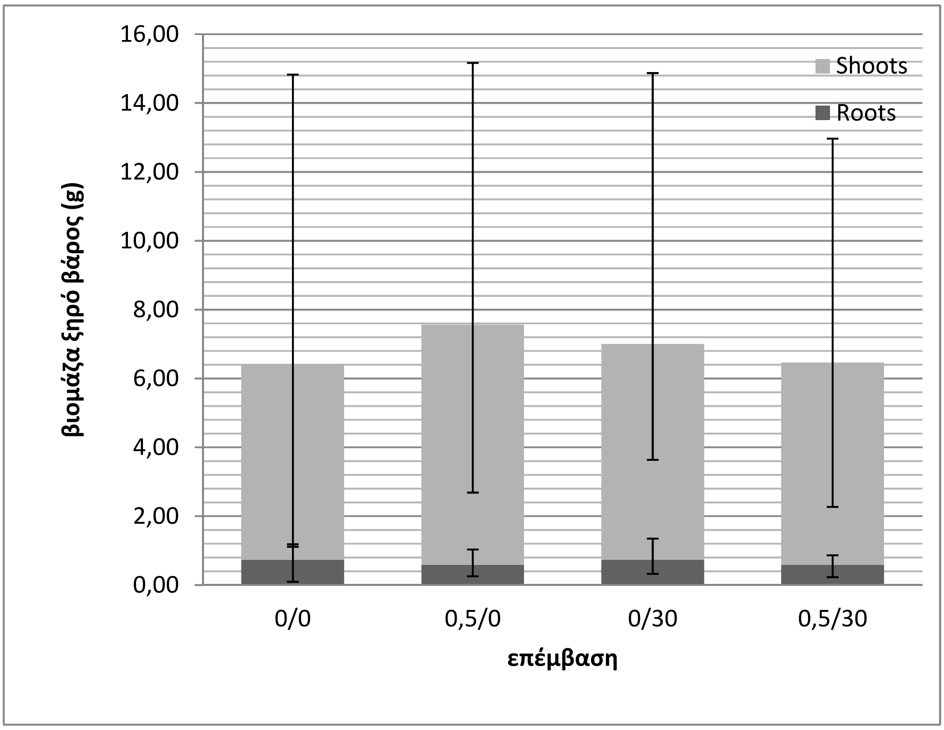
Σε προηγούμενο κεφάλαιο αναφερθήκαμε εκτεταμένα στις επιπτώσεις που επιφέρουν τα βαρέα μέταλλα και η αλατότητα στα φυτά. Επιγραμματικά, και συγκεκριμένα για το Cd, η εμφάνιση της τοξικότητας παρατηρείται με χλώρωση των φύλλων και μείωση της αύξησης του φυτού (Das et al., 1997, Wahid et al., 2009), στρίψιμο των φύλλων, κάψιμο των άκρων και χλώρωση του βλαστού (Wahid et al., 2009). Τα συνηθέστερα συμπτώματα της τοξικότητας του Cd στα φυτά είναι η αναστολή της ανάπτυξης των ριζών, η μείωση βιομάζας τους και τελικά ο θάνατος των φυτών.

Όσον αφόρα τις υψηλές συγκεντρώσεις αλατότητας, όπως αναφέραμε και προηγουμένως, δύναται να επιφέρουν παρεμπόδιση της λειτουργίας των ενζύμων, ανισορροπία στην πρόσληψη και τη μεταφορά των θρεπτικών στοιχείων, δυσλειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών, δυσλειτουργία στις διαδικασίες της αναπνοής και της φωτοσύνθεσης και προκαλεί οσμωτική και οξειδωτική καταπόνηση (Orcutt & Nilsen 2000, Καραμπουρνιώτης 2003, Jithesh et al. 2006, Γαλάτης και λοιποί 2009,Bajji et al. 1998)

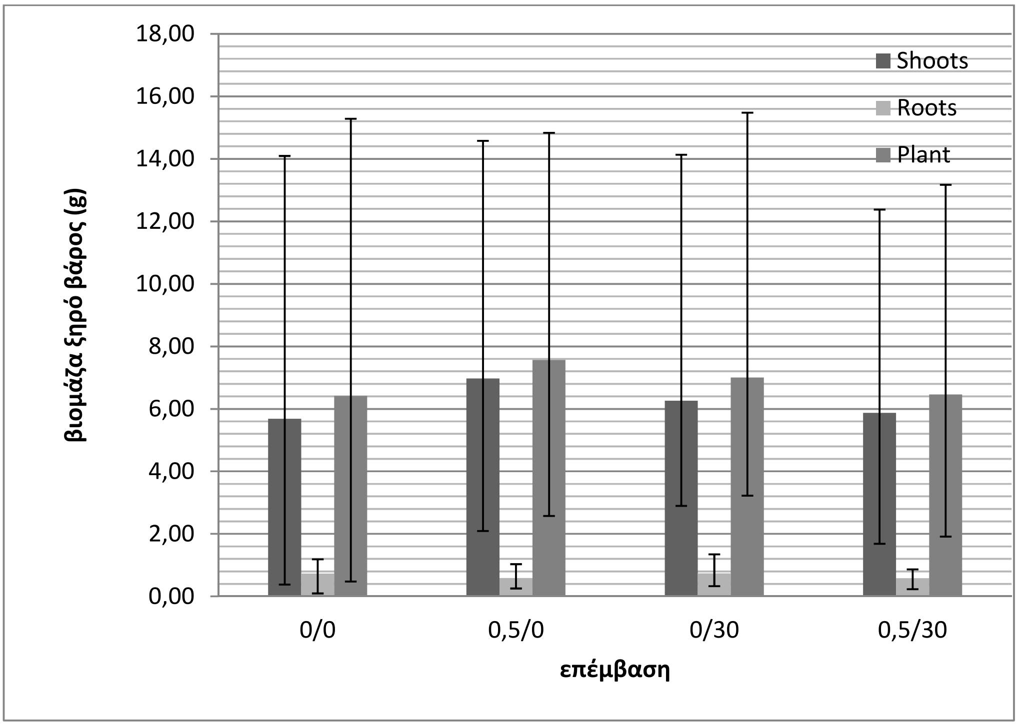
Καθ΄ όλη τη διάρκεια του πειράματος γινόταν οπτική παρατήρηση των φυτών για πιθανά σημάδια τοξικότητας. Η παρατήρηση δεν οδήγησε σε καμία οφθαλμοφανή ένδειξη τοξικότητας από το Cd, την αλατότητα ή το συνδυασμό των δύο καταπονήσεων.

4.1.1. <u>Επίδραση του Cd και της εδαφικής αλατότητας στη βιομάζα</u>

Στα σχήματα 4.1. και 4.2. που παρατίθενται παρακάτω φαίνεται η κατανομή της βιομάζας του φυτού *Limonium cornarianum*. Συγκρίνοντας τις επεμβάσεις χωρίς αλατότητα, 0/0 και 0/30, βλέπουμε ότι στην επέμβαση με την προσθήκη Cd, 0/30, αυξάνεται ελαφρώς η βιομάζα των υπέργειων τμημάτων των φυτών. Συγκρίνοντας όμως τις επεμβάσεις με προσθήκη αλατότητας, 0,5/0 και 0,5/30, εδώ εμφανίζεται μία ελαφριά μείωση στην ανάπτυξη της βιομάζας των υπέργειων τμημάτων στην επέμβαση με την προσθήκη Cd, 0,5/30. Το κάδμιο λοιπόν δεν μπορούμε να πούμε ότι επηρέασε με κάποιο συγκεκριμένο τρόπο την ανάπτυξη της βιομάζας των φυτών, όμως αυτό είναι κάτι το οποίο δεν μπορούμε να μιλήσουμε με σιγουριά καθώς η ομαδοποίηση των φυτών έγινε οπτικά και ενδέχεται αυτές οι μικρές διαφορές να προϋπήρχαν της μόλυνσης με Cd. Αντιθέτως, είναι σχεδόν βέβαιο ότι στις επεμβάσεις της αλατότητας, 0,5/0 και 0,5/30, επιβραδύνθηκε η ανάπτυξη του ριζικού συστήματος των φυτών, γεγονός που μας εκπλήσσει καθώς από ένα αλόφυτο, όπως το *L. cornarianum* θα περιμέναμε, αν όχι να υποβοηθάτε η ανάπτυξή του παρουσία αλατότητας, τουλάχιστον να μην επηρεάζεται αρνητικά.



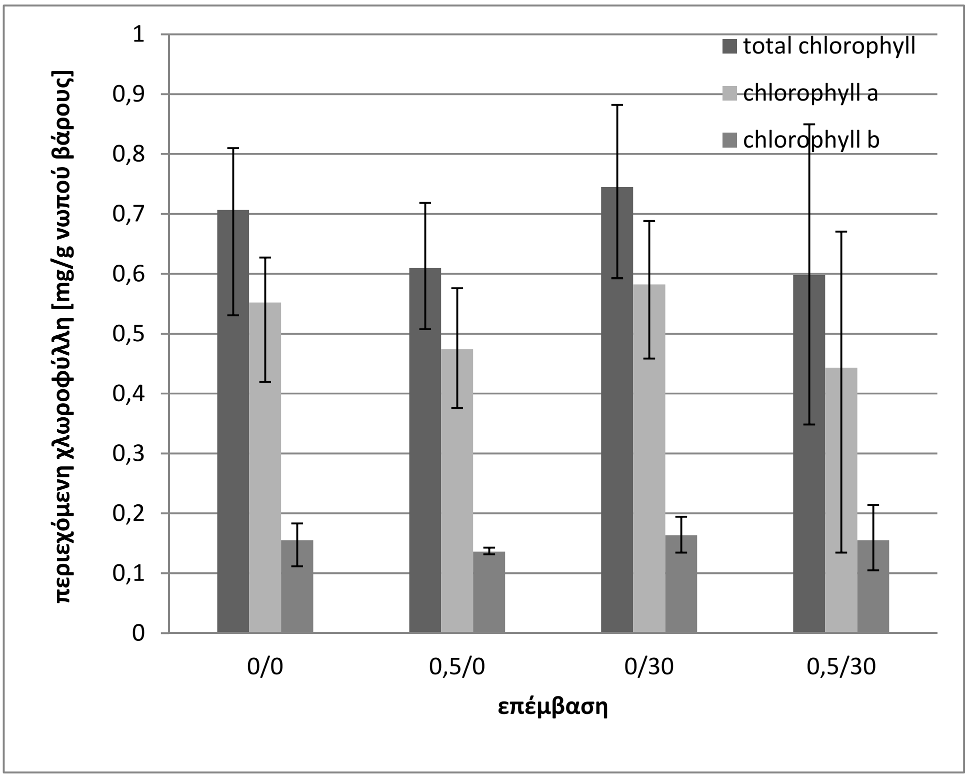
Σχήμα 4.1. Βιομάζα επί ξηρού βάρους του *L. cornarianum*, σε καθαρό και ρυπασμένο με 30 ppm έδαφος, με 0 και 0,5% αλατότητα, στις ρίζες και το υπέργειο τμήμα του φυτού.



Σχήμα 4.2. Βιομάζα επί ξηρού βάρους του *L. cornarianum*, σε καθαρό και ρυπασμένο με 30 ppm έδαφος, με 0 και 0,5% αλατότητα, αναλυτικά στις ρίζες, στο υπέργειο τμήμα και συνολικά στο φυτό.

4.1.2. Επίδραση του Cd και της εδαφικής αλατότητας στη χλωροφύλλη

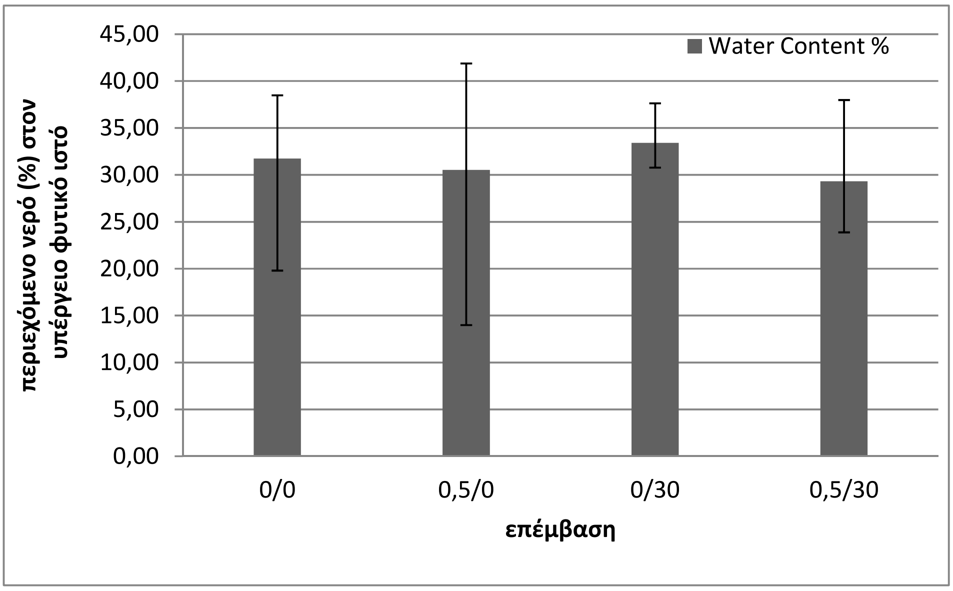
Στο σχήμα 4.3. παρουσιάζεται η περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του *L. cornarianum*. Όπως φαίνεται από το σχήμα, το Cd δεν επηρεάζει αρνητικά την παραγωγή της χλωροφύλλης στο φυτό. Αντιθέτως, η αλατότητα φαίνεται να εμποδίζει την παραγωγή κυρίως της a- χλωροφύλλης. Όπως αναφέραμε παραπάνω, δυσλειτουργίες στη διαδικασία τα φωτοσύνθεσης είναι αναμενόμενες σε καταπονήσεις λόγο υψηλής αλατότητας, όμως, λόγο του ότι το *L. cornarianum* είναι αλόφυτο, θα περιμέναμε να μην επηρεαστεί από την αλατότητα, όπως συνέβη με το *Halimione portulacoides* (Γαλανάκη, 2011). Το παράδοξο σε αυτή την περίπτωση εντοπίζεται στην επέμβαση με Cd χωρίς προσθήκη αλατότητας, στην οποία εμφανίζεται μεγαλύτερη ποσότητα χλωροφύλλης και από το τυφλό. Αυτό ίσως να δικαιολογείται από το γεγονός ότι η προσθήκη του Cd στο έδαφος έγινε ως ένυδρο νιτρικό άλας και το άζωτο ίσως να ωφέλησε σαν λίπασμα τα φυτά αυτά. Ανάλογες παρατηρήσεις έχουν αναφερθεί και σε άλλα φυτά όπως το *Limoniastrum monopetalum* και το *Atriplex halimus* (Γαλανάκη, 2011, Μανουσάκη, 2008).



Σχήμα 4.3. Περιεχόμενη χλωροφύλλη σε mg/g νωπού βάρους στα φύλλα του *L. cornarianum*, σε καθαρό και ρυπασμένο με 30 ppm έδαφος, με 0 και 0,5% αλατότητα.

4.1.3. Επίδραση του Cd και της εδαφικής αλατότητας στην περιεκτικότητα σε H_2O

Στο σχήμα 4.4. βλέπουμε την περιεκτικότητα σε νερό επί τοις εκατό στους βλαστούς του *L. cornarianum*. Ομοίως και εδώ, το Cd δεν φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την επί τοις εκατό περιεκτικότητα σε νερό των υπέργειων τμημάτων των φυτών και μάλιστα στην επέμβαση χωρίς αλατότητα με προσθήκη Cd, 0/30, η περιεκτικότητα σε νερό παρουσιάζεται μεγαλύτερη και από το τυφλό, 0/0. Όπως είπαμε και παραπάνω, αυτό δικαιολογείται διότι η ρύπανση με Cd έγινε με τη μορφή ένυδρου νιτρικού άλατος του καδμίου. Από τη σύγκριση των επεμβάσεων (0/0)-(0,5/0) και (0/30)-(0,5/30) παρατηρούμε ότι η παρουσία της αλατότητας προκαλεί και εδώ μία ελαφριά μείωση στο περιεχόμενο σε νερό στους ιστούς των φυτών και μάλιστα η μείωση αυτή είναι μεγαλύτερη παρουσία καδμίου.

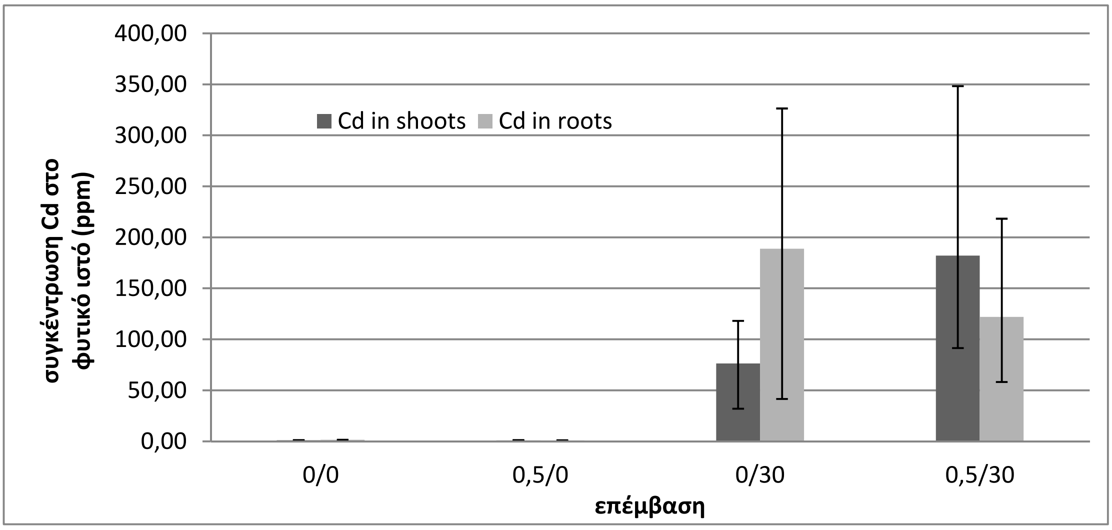


Σχήμα 4.4. Περιεχόμενο σε νερό επί τοις εκατό του *L. cornarianum*, σε καθαρό και ρυπασμένο με 30 ppm έδαφος, με 0 και 0,5% αλατότητα.

4.2. Συσσώρευση Cd στο φυτικό ιστό

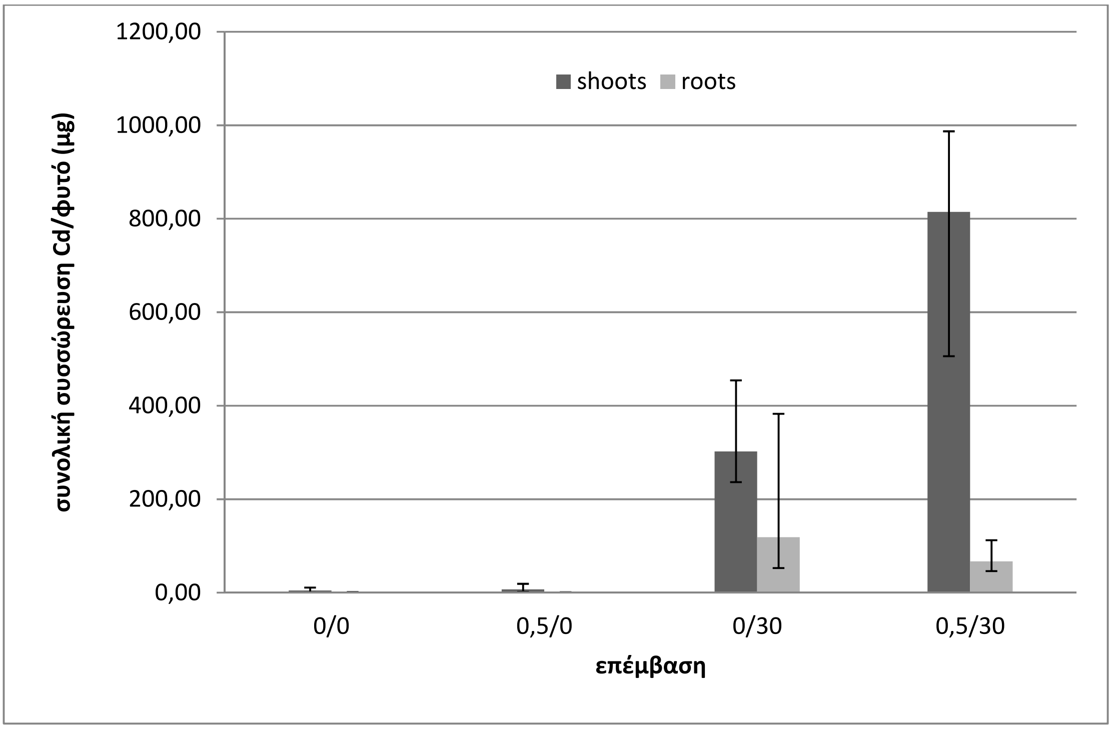
Οι συγκεντρώσεις του Cd στα υπέργεια τμήματα των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε ρυπασμένο έδαφος είναι μεγαλύτερες από τα όρια συγκέντρωσης που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά (5-30 ppm ξηρού βάρους σύμφωνα με τους Orcutt & Nielsen, 2000). Πιο αναλυτικά, στα υπέργεια τμήματα των φυτών οι συγκεντρώσεις του Cd κυμαίνονται από 76,30 έως 182,15 ppm κατά μέσο όρο, ενώ ή μέγιστη συγκέντρωση που μετρήθηκε έφτασε τα 348,29 ppm. Οι τιμές αυτές είναι κατά πολύ υψηλότερες, έως τρεις τάξεις μεγέθους, από τις τιμές που εμφανίστηκαν στα φυτά-μάρτυρες, τα οποία δεν είχαν μολυνθεί με Cd. Σε αυτά, οι μέσοι όροι συγκεντρώσεων του Cd στα υπέργεια τμήματα κυμαίνονται από 0,87 έως 0,93 ppm και η μέγιστη συγκέντρωση που μετρήθηκε είναι 1,30 ppm. Στις ρίζες, οι συγκεντρώσεις του Cd βρέθηκαν και εκεί μεγάλες στις ομάδες των φυτών που έγινε ρύπανση με κάδμιο. Κατά μέσο όρο, οι τιμές των συγκεντρώσεων κυμαίνονται από 122,03 έως 188,77 ppm και η μέγιστη τιμή που μετρήθηκε φτάνει τα 326,47 ppm. Όσον αφορά τις ομάδες των μαρτύρων, οι τιμές των συγκεντρώσεων του Cd κυμάνθηκαν από 0,81 έως 1,40 ppm, με μέγιστη τιμή τα 1,71 ppm. Ο λόγος της συγκέντρωσης (υπέργεια τμήματα):(ρίζες) για τις επεμβάσεις με Cd υπολογίστηκε στα 0,40 κατά μέσο όρο, χωρίς την προσθήκη αλατότητας, και 1,49 κατά μέσω όρο με την προσθήκη αλατότητας.

Από το σχήμα 4.5. μπορούμε να δούμε ότι ενώ ποτίζοντας τα φυτά με νερό βρύσης, η μεγαλύτερη συγκέντρωση Cd εντοπίζεται στις ρίζες, με την προσθήκη αλατότητας το μεγαλύτερο μέρος του Cd μετατοπίζεται στα υπέργεια τμήματα των φυτών. Επίσης παρατηρείται ότι η προσθήκη αλατότητας έχει θετική επίδραση στην απορρόφηση του Cd από το *L. cornarianum*, πράγμα που συμβαίνει και με άλλα αλόφυτα που έχουν μελετηθεί, όπως το *L. monopetalum* (Γαλανάκη, 2011). Όχι μόνο απορροφώνται μεγαλύτερες ποσότητες Cd στα υπέργεια τμήματα παρουσία αλατότητας αλλά και μεγάλο μέρος του Cd που θα παρέμενε στις ρίζες μεταφέρθηκε στα υπέργεια τμήματα των φυτών. Για την ακρίβεια, ενώ στη μέθοδο χωρίς αλατότητα συγκεντρώθηκαν περίπου 265 ppm Cd σε ολόκληρο το φυτό (188,77 ppm στις ρίζες και 76,30 ppm στα υπέργεια τμήματα), με την προσθήκη του αλατούχου διαλύματος η συνολική συγκέντρωση φτάνει στα 304 ppm (122 ppm στις ρίζες και 182 ppm στα υπέργεια τμήματα). Δηλαδή, η συγκέντρωση στις ρίζες μειώνεται κατά 66,75 ppm και ταυτόχρονα στα υπέργεια τμήματα αυξάνει κατά 106 ppm.



Σχήμα 4.5. Συγκέντρωση Cd σε ppm επί ξηρό βάρος στα υπέργεια τμήματα και στις ρίζες του *L. cornarianum*, σε καθαρό και ρυπασμένο με 30 ppm έδαφος, με 0 και 0,5% αλατότητα. Παρουσιάζονται οι μέσες, οι ελάχιστες και οι μέγιστες τιμές.

Στο σχήμα 4.6. αποδίδεται η συνολική απομάκρυνση του Cd από το έδαφος. Όπως φαίνεται στο σχήμα αυτό και στις δύο περιπτώσεις των επεμβάσεων με Cd τα υπέργεια τμήματα συγκέντρωσαν ποσοτικά περισσότερο Cd από τις ρίζες. Αυτό δικαιολογείται λόγο της μεγαλύτερης βιομάζας που βρίσκεται στα υπέργεια τμήματα (όπως δείχνουν και τα σχήματα 4.1. & 4.2.). Έτσι, αν και τα φυτά της ομάδας με Cd χωρίς προσθήκη αλατότητας είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση ρύπου στις ρίζες, όσον αφορά τη συνολική συσσώρευση τα υπέργεια τμήματα αποθήκευσαν μεγαλύτερη ποσότητα. Το συνολικό Cd που συσσωρεύτηκε στα υπέργεια μέρη του φυτού μετρήθηκε στα 302,24 μg για τη μέθοδο χωρίς αλατότητα και στα 814,69 μg για τη μέθοδο με προσθήκη αλατότητας. Οι αντίστοιχες τιμές για τις ρίζες είναι στα 118,54 και 67,14 μg. Δηλαδή, όχι μόνο απορροφά μεγαλύτερες ποσότητες Cd στα υπέργεια τμήματα παρουσία αλατότητας αλλά και μεγάλο μέρος του Cd που θα παρέμενε στις ρίζες μεταφέρθηκε στα υπέργεια τμήματα των φυτών.



Σχήμα 4.6. Συνολική συσσώρευση Cd σε μg επί ξηρό βάρος στα υπέργεια τμήματα και στις ρίζες του *L. cornarianum*, σε καθαρό και ρυπασμένο με 30 ppm έδαφος, με 0 και 0,5% αλατότητα.

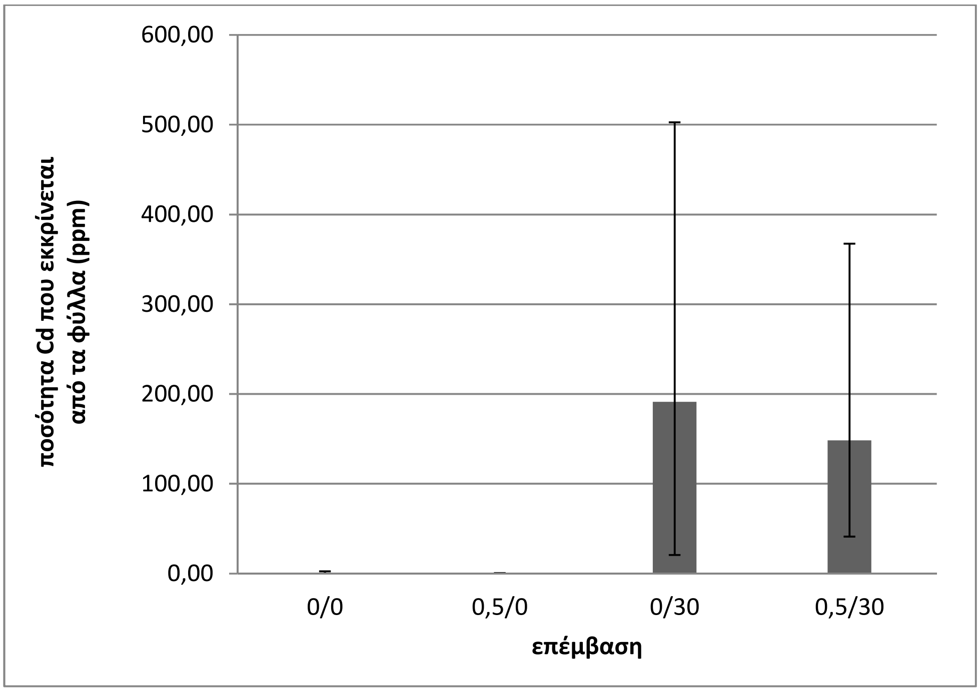
Η ανάλυση των αποτελεσμάτων μας δείχνει ότι το *L. cornarianum* πληροί τις προϋποθέσεις για να χρησιμοποιηθεί για τη μέθοδο της συσσώρευσης για την εξυγίανση ρυπασμένων εδαφών με Cd. Το φυτό μας αποδείχθηκε ότι είναι ανθεκτικό σε υψηλά επίπεδα συγκεντρώσεων μετάλλων, συσσωρεύει μεγάλα ποσά μετάλλων στους υπέργειους ιστούς του, θερίζεται εύκολα, έχει μικρές θρεπτικές απαιτήσεις και επιπλέον δεν παρουσίασε κανένα πρόβλημα από ασθένειες ή παράσιτα.

Όπως έχουμε αναφέρει και σε προηγούμενο κεφάλαιο, για να χαρακτηριστεί ένα φυτό ως υπερσυσσωρευτής καδμίου πρέπει να παρουσιάζει συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 100 ppm στα υπέργεια τμήματά του και η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια να είναι μεγαλύτερη από των ριζών. Βάση αυτού, βλέπου με ότι το *L. cornarianum* είναι υπερσυσσωρευτής Cd μόνο στην περίπτωση που ποτίζεται με διάλυμα αλατότητας, αφού στην επέμβαση που χρησιμοποιήθηκε νερό βρύσης, παρόλο που οι συγκεντρώσεις στα υπέργεια τμήματα είναι κοντά ή και ξεπερνούν τα 100 ppm, η αποθηκευμένη ποσότητα καδμίου που βρίσκεται στις ρίζες είναι κατά πολύ μεγαλύτερη από αυτή των υπέργειων τμημάτων και στα πέντε δείγματα.

4.3. <u>Έκκριση Cd από τον υπέργειο φυτικό ιστό</u>

Η έκκριση του Cd στα φύλλα των φυτών μετρήθηκε στα 191,43 ppm στη μέθοδο με Cd χωρίς προσθήκη αλατότητας και στα 148,47 ppm κατά μέσο όρο στη μέθοδο με Cd και με προσθήκη αλατότητας, με μέγιστες τιμές τα 502,68 και 367,50 ppm αντίστοιχα.

Η έκκριση του Cd από τους αλαταδένες του *Limonium cornarianum* μας δείχνει ότι οι εκκριτικοί μηχανισμοί του φυτού δεν είναι εκλεκτικοί μόνο για τα άλατα, αλλά χρησιμοποιούνται και για την έκκριση μετάλλων ή και άλλων ουσιών που βρίσκονται στη ριζόσφαιρα και απορροφούνται από τις ρίζες του φυτού, αφού λειτουργούν ως μηχανισμός αποτοξίνωσης του φυτού. Δυστυχώς όμως τα συμπεράσματά μας για την έκκριση δεν είναι αξιόπιστα διότι λόγο της μορφολογίας του φυτού και του τρόπου ποτίσματος τα αποτελέσματα που πήραμε ίσως να είναι αλλοιωμένα. Θα πρέπει λοιπόν να γίνουν περεταίρω έρευνες πάνω στο *L. cornarianum* στις οποίες θα ληφθούν υπόψη οι παραπάνω ανασταλτικοί παράγοντες για να εξαχθούν πιο έγκυρα αποτελέσματα. Με τα μέχρι στιγμής δεδομένα θα μπορούσαμε να πούμε, με κάθε επιφύλαξη, ότι το *L. cornarianum* φαίνεται να εκκρίνει Cd από τους αλαταδένες του.



Σχήμα 4.7. Ποσότητα Cd σε μg/g που εκκρίνεται από τα φύλλα του *L. cornarianum*, σε καθαρό και ρυπασμένο με 30 ppm έδαφος, με 0 και 0,5% αλατότητα.

5. Συμπεράσματα

Από τα πειράματα που έλαβαν χώρα εξάγαμε ιδιαίτερα ενδιαφέροντα αποτελέσματα. Κατ΄ αρχάς φάνηκε ότι το *Limonium cornarianum* είναι ικανό να συγκεντρώσει στους ιστούς του μεγάλες ποσότητες Cd, κατά πολύ μεγαλύτερες από αυτές που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά κατά τους Orcutt & Nielsen (2000) χωρίς να παρουσιάζει συμπτώματα τοξικότητας εξαιτίας αυτού, ούτε από την οπτική παρατήρηση αλλά ούτε και στις μετρήσεις που έγιναν για την παραγωγή βιομάζας, την περιεχόμενη χλωροφύλλη και το περιεχόμενο νερό στους ιστούς των φυτών. Πρόκειται λοιπόν για ένα φυτό-συσσωρευτή του μετάλλου που μελετήθηκε, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξυγίανση ρυπασμένων εδαφών.

Η παρουσία της αλατότητας στο νερό άρδευσης μας οδηγεί σε ανάμεικτα αποτελέσματα. Η παραγόμενη βιομάζα των υπέργειων τμημάτων δεν επηρεάζεται από το NaCl, αντιθέτως οι ρίζες εμφανίστηκαν λιγότερο ανεπτυγμένες. Η χλωροφύλλη και το ποσοστό του περιεχόμενου νερού φαίνεται να παρουσιάζουν ελαφριά μείωση λόγο της αλατότητας. Παρουσιάζεται δηλαδή ένα σημάδι τοξικότητας από το αλάτι, το οποίο δεν έγινε εμφανές κατά την οπτική παρατήρηση και σε βαθμό που δεν στάθηκε ικανό να αποβεί μοιραίο για τα φυτά μας.

Από την άλλη, η παρουσία της αλατότητας βοήθησε στο να μεταφερθούν μεγαλύτερες ποσότητες καδμίου στα υπέργεια τμήματα των φυτών και ταυτόχρονα να μειωθεί η ποσότητά του στις ρίζες τους. Επιπλέον, κατά την παρουσία αλατότητας, το *L. cornarianum* πληροί τις προδιαγραφές για να χαρακτηριστεί υπερσυσσωρευτής καδμίου.

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα και τις παρατηρήσεις του πειράματος καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το *L. cornarianum* είναι ένα πολύ ανθεκτικό φυτό σε υψηλές συγκεντρώσεις Cd καθώς είναι ικανό να απορροφά μεγάλες ποσότητες Cd χωρίς να παρουσιάζει σημάδια τοξικότητας ή άλλες αρνητικές επιπτώσεις στις λειτουργίες του. Η παρουσία αλατότητας το καθιστά υπερσυσσωρευτή του μετάλλου, γεγονός που χρίζει περαιτέρω έρευνας, ούτως ώστε να ξεκαθαριστούν οι συνθήκες στις οποίες οι μηχανισμοί του φυτού λειτουργούν βέλτιστα.

Λαμβάνοντας υπόψη μας τα παραπάνω, καθώς και το ότι το *L. cornarianum* είναι ένα πολυετές φυτό που δεν απαιτεί ιδιαίτερες καλλιεργητικές τεχνικές, φαίνεται να είναι ένα πολλά υποσχόμενο φυτό για τις εφαρμογές της φυτοαποκατάστασης των εδαφών από το Cd και πιθανών και από άλλα βαρέα μέταλλα. Επιπλέον, λόγο της αλοφυτικής του φύσης και της ιδιαιτερότητας που παρουσίασε κατά την άρδευσή του με διάλυμα αλατότητας είναι ένα ιδανικό φυτό για να χρησιμοποιηθεί για φυτοσυσσώρευση σε αλατούχα εδάφη ρυπασμένα με κάδμιο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Alloway B.J (1995) “The Origins of Heavy metals in soils” in: Alloway B.J., Heavy Metals in Soils, 2nd edition, Blackie Academic and Professional, an imprint of Chapman & Hall, 1995, UK.

Anderson, C.W.N., Brooks, R.R., Chiarucci, A., LaCoste, C., Leblanc, M., Robinson, B.H., Simcock, R., Stewart, R.B., 1999. “Phytomining of nickel, thallium and gold”. J.Geochem. Explor. 67, 408-418.

Anderson, T.A., Kruger, E.L., Coats, J.R., 1994. “Enhanced degradation of a mixture of tree herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant”. Chemosphere 28, 2620-2639.

Bajji, M., Kinet, J.-M., Lutts, S., 1998. “Salt effects on roots and leaves of *Atriplex halimus L*. and their corresponding callus cultures”. Plant Sci. 137, 133-139.

Ben Hassine A., Ghanem M.E., Bouzid S., Lutts S. (2009) “ Abscisic acid has contrasting effects on salt excretion and polyamine concentrations of an inland and a coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus*” Annals of Botany 104, 920-927.

Bingham F.T., Strong J.E., Sposito G. (1983) “Influence of Chloride Salinity on Cadmium uptake by Swiss chard” Soil Science 135, 159-167.

Blaylock M., Ensley B., Salt D., Kumar N., Dushenkov V., Raskin I. (1995) “Phytoremediation: A Novel Strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants” Biotechnology 13, 468-474.

Breckle S-W. (2002) “Salinity, Halophytes and Salt Affected Natural Ecosystems” in: Läuchli A. And Lüttge U. (eds) Salinity: Environment-Plants-Molecules, 53-57, Klower Academic Publishers, Netherlands, 2002.

Burke, D.J., Weis, J.S., Weis, P., 2000. “Release of metals by the leaves of the salt marsh grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*”. Estuarine, Coastal and Shelf Science 51, 155-168.

Chaney R.L., Angle J.S., Broadhurst C.L., Peters C.A., Tappero R.V., Sparks D.L. (2007) “Improved Understanding of Hyperaccumulation Yields Commercial Phytoextraction and Phytomining Technologies” Journal of Environmental Quality 36, 1423-1437.

Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Baker, A.J.M., 1997. “Phytoremediation of soil metals”. Current Opinion in Biotechnology 8, 276-284.

Chen Y., Li X., Shen Z. (2004) “Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process” Chemosphere 57, 187-198.

Clemens, S., Palmgren, M.G., Krämer, U., 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. Trends Plant Science 7, 310-315.

Cunningham S.D., Berti W.R., Huang J.W. (1995) “Phytoremediation of contaminated soils” Trends in Biotechnology 13, 395-397.

Dajic Z. (2006) “Salt Stress” in: Madhava Rao K.V., Raghavendra A.S., Janardhan Reddy K. (eds.), Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants, 41–99.

Das P., Samantaray S., Rout G.R. (1997) “Studies on Cadmium Toxicity in Plants: A Review” Environmental Pollution 98, 30-36.

Ernst, W.H.O., 1996. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. Appl. Geochem. 11, 162-167.

Ernst, W.H.O., 2005. Phytoextraction of mine wastes - options and impossibilities. Chem. Erde - Geochem. 65 S1, 30-41.

Ernst, W.H.O., Verkleij, J.A.C, Schat, H., 1992. Metal tolerance in plants. Acta Bot. Neerl. 41, 223-251.

Ewais, E.A., 1997. Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weeds. Biol. Plantarum. 39, 403-409.

Garbisu, C., Alkorta, I., 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. Bioresour. Technol. 77, 224-236.

Gardea-Torresdey J. L., Peralta-Videa J. R., de la Rosa G., Parsons J.G. (2005) “Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy”. 249, 1798-1808.

Ghnaya T., Slama I., Messedi D., Grignon C., Habib Ghorbel M., Abdelly C. (2007) “Cd-induced growth reduction in the halophyte *Sesuvium portulacastrum* is significantly improved by NaCl” Journal of Plant Research 120, 309–316.

Ghnaya, T., Nouairi, I., Slama, I., Messedi, D., Grignon, C., Adbelly C., Ghorbel, M.H., 2005. Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*. J. Plant Physiology 162, 1131-1157.

Ghosh M., Singh S.P., 2005 “A Review on Phytoremediation of Heavy Metals and Utilization of its Byproducts” Applied Ecology and Environmental Research 3, 1-15.

Glenn E. P., O'Leary J. W., 1984. “Relationship between salt accumulation and water content of dicotyledonous halophytes” Plant, Cell and Environment 7, 250-261.

Glenn E.P., Brown J.J., Blumwald E., 1999. “Salt Tolerance and Crop Potential of Halophytes” Critical Reviews in Plant Sciences 18, 227-255.

Greger M., Kautsky L. Sandberg T., 1995. “A Tentative Model of Cd Uptake in Potamogeton pectinatus in Relation to Salinity” Environmental and Experimental Botany 35 (2), 215-227.

Hagemeyer, J., Waisel, Y., 1988. Excretion of ions (Cd^{2+}, Li^{+}, Na^{+} and Cl^{-}) by *Tamarix*

aphylla. Physiol. Plantarum 73, 542–548.

Hall J.L., 2002. “Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance” Journal of Experimental Botany 53, 1-13.

Huang, J.W., Chen, J., Berti, W.R., Cunningham, S.D., 1997. “Phytoremediation of leadcontaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction”. Environmental Science Technologies 31, 792-805.

Jiang, X.J., Luo, Y.M., Zhao, O.G., Baker, A.J.M., Christie, P., Wong, M.H., 2003. “Soil Cd availability to Indian mustard and environmental risk following EDTA addition to Cd contaminated soil”,Chemosphere 50, 812-819.

Jithesh M.N., Prashanth S.R., Sivaprakash K.R., Parida A.K., 2006. “Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defense”, Journal of Genetics 85 (3), 235-254.

Kadukova J., Kalogerakis N., 2007. “Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis Bunge*”, European Journal of Soil Biology 43. 216-222.

Kadukova J., Manousaki E., Kalogerakis N., 2008. “Pb and Cd Accumulation and Phyto-Excretion by Salt Cedar (*Tamarix smyrnensis Bunge*”, International Journal of Phytoremediation 10, 34-46.

Kirkham M.B. 2006. “Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments”, Geoderma 137, 18-33.

Kos B. and Leštan D. (2003) “Induced phytoextraction / soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barriers” Environmental Science and Technology 37, 622-629.

Lasat M.M., 2002. “Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms” Journal of Environmental Quality 31, 109-124.

Lefévre I., Marchal G., Meerts P., Corrıal E., Lutts S. 2009. “Chloride salinity reduces cadmium accumulation by the Mediterranean halophyte species Atriplex halimus L.” Environmental and Experimental Botany 65, 140-151.

Mahon S. & Carman R. K. (2008). “The Influence of salinity on the uptake, distribution, and excretion of metals by the *smooth cord grass*, *Spartina alterniflora* (Loisel.), grown in sediment contaminated by multiple metals”, Estuaries and Coasts 31:1089–1097

Manousaki E., Kadukova J., Papadantonakis N., Kalogerakis N., 2008. “Phytoextaction and phytoexcretion of Cd by the leaves of *Tamarix smyrnensis* growing on contaminated non-saline and saline soils”, Environmental Research 106 (3): 326-332.

Manousaki E., Kalogerakis N., 2009. “Phytoextraction of Pb and Cd by the Mediterranean saltbush (Atriplex halimus L.): metal uptake in relation to salinity”, Environmental Science and Pollution Research 106, 844-854.

Manousaki E., Kalogerakis N, 2010. “Halophytes-an emerging trend in phytoremediation”, International Journal of Phytoremediation, In Print.

Manousaki E., Kalogerakis N., 2011. “Halophytes Present New Opportunities in Phytoremediation of Heavy Metals and Saline Soils”, Industrial and Engineering Chemistry Research 50, 656-660.

McGrath, S.P., Zhao, F.J., Lombi, E., 2001. “Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils”, Plant Soil 232, 208-213.

Mulligan, C.N., Yong, R.N., Gibbs, B.F., 2001. Remediation technologies for metalcontaminated soils and groundwater: an evaluation. Eng. Geol. 60, 193-207.

Naidu, R., Gupta, V.V.S.R., Rogers, S., Kookana, R.S., Bolan, N.S., Adriano, D.C., (2003) Chapter 2, Bioavailability of metals in the soil plant environment and its potential role in risk assessment, In: Naidu, R., Gupta, V.V.S.R., Kookana, R.S., Rogers, S., Adriano, D., (eds) Bioavailability, toxicity and risk relationships in ecosystems. Science Publishers Inc., Enfield, NH, 21-57.

Nascimento, C.W.A., Xing, B., 2006. “Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation.” Scientia Agricola 63, 299-312.

Neumann, D., zur Nieden, U., Lichtenberger, O., Leopold, I., 1995.” How does Armeria maritima tolerate high heavy metal concentrations?” Journal of Plant Physiology 151, 99-112.

Orcutt, D.M., Nilsen, E.T., (2000) The physiology of plants under stress - Soil and biotic factors. John Wiley & Sons, Inc.

Prasad M.N.V. (1995) “Cadmium Toxicity and Tolerance in Vascular Plants”, Environmental and Experimental Botany 35, 1367-1372.

Qadir, M., Boers, Th.M., Schubert, S., Ghafoor, A., Murtaza, G., 2003. “Agricultural water management in water-starved countries: challenges and opportunities”, Agricultural Water Management 62, 166-183.

Qadir, M., Qureshi, R.H., Ahmad, N., 1996. “Reclamation of a saline-sodic soil by gypsum and *Leptochloa fusca*”, Geoderma 74, 207-219.

Qadir, M., Schubert, S., Steffens, D., 2004. “Phytotoxic substances in soils”. Encyclopedia of Soils in the Environment, Elsevier, 218-223.

Raskin I., Smith R.D., Salt D.E., 1997. "Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment" Current Opinion in Biotechnology 8, 221-229.

Reboreda R., Caçador I., 2007. "Copper, zinc and lead speciation in salt marsh sediments colonised by *Halimione portulacoides* and *Spartina maritime*" Chemosphere.

Rhodes D., Nadolska-Orczyk A., Rich P.J.,2002. "Salinity, Osmolytes and Compatible Solutes" in: Läuchli A. and Lüttge U. (eds.) Salinity: Environment – Plants – Molecules, 53-77, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 2002.

Rozema Jelte, Buys Ed, Otte L. Marinus, Broekman A. Rob, and Ernst H.O. Wilfried, 1991. "Ion content and ion excretion of *Spartina anglica* in relation to salinity and redox potential of salt marsh soil" Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde 154, 109-313.

Salt D.E., Smith R.D., Raskin I. (1998) "Phytoremediation" Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49, 643-669.

Schmidt U., 2003. "Enhancing Phytoextraction: The Effect of Chemical Soil Manipulation on Mobility, Plant Accumulation, and Leaching of Heavy Metals" Journal of Environmental Quality 32, 1939-1954.

Toderich K.N., Tsukatani T., Black C.C., Takabe K., Katayama Y., 2002. "Adaptations of Plants to Metal/Salt Contained Environments: Glandlar Structure and Salt Excretion" Discussion Paper No.552, Kyoto Institute of Economic Research, Kyoto University.

Twomey J Amanda, Naidu P., Bodapati & Fukai Shu, 2008. "Evidence of salt secretion at the stem of *Melaleuca cuticularis Labill*." Available from: Nature Precedings. http://precedings.nature.com/documents/2450/version/1/files/npre20082450-1.pdf.

Wahid A., 2003. "Physiological Significance of Morpho-Anatomical Features of Halophytes with Particular Reference to *Cholistan Flora*, Review" International Journal of Agriculture and Biology 5 (2), 207-211.

Wahid A., Arshad M., Farooq M., 2009. "Cadmium Phytotoxicity: Responses, Mechanisms and Mitigation Strategies: A Review" in: E. Lichtfouse (ed.) Organic Farming, Pest Control and Remediation of Soil Pollutants, Sustainable Agriculture Reviews, Springer Science and Business Media B.V. 2009.

Wahid A., Arshad M., Farooq M. (2009) "Cadmium Phytotoxicity: Responses, Mechanisms and Mitigation Strategies: A Review" in: E. Lichtfouse (ed.) Organic Farming, Pest Control and Remediation of Soil Pollutants, Sustainable Agriculture Reviews1, Springer Science and Business Media B.V. 2009.

Wahla I.H., Kirkham M.B. (2008) “Heavy metal displacement in salt-water-irrigated soil during phytoremediation”, Environmental Pollution 155, 270-286.

Weis J.S., Weis P. (2004) “Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration”, Environment International 30, 684-699.

Yanai, J., Zhao, F., McGrath, S., Kosaki, T., 2006. “Effects of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator Thlaspi caerulescens Hance”. Environmental Pollution 139, 160-177.

Zarcinas, B.A., Ishak, C.F., McLaughlin, M.J., Cozens, G., 2004. “Heavy metals in soils and crops in Southeast Asia. Peninsular Malaysia”, Environmental Geochemical Health 26, 345-358.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Γαλάτης Β., Γανωτάκης Δ., Γκανή-Σπυροπούλου Κ., Καραμπουρνιώτης Γ., Κοτζαμπάσης Κ., Κωνσταντινίδου Ε-Ι., Μενετής Ι., Ρουμπελάκη-Αγγελάκη Κ.Α. (2009), “Φυσιολογία Φυτών: από το μόριο στο περιβάλλον”, επιμέλεια: Ρουμπελάκη-Αγγελάκη Κ.Α., Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο.

Καραγιαννίδης, Π.Π., 2002. Ειδική ανόργανη χημεία, τα στοιχεία και οι ενώσεις τους. 2η έκδοση, Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.

Καραμπουρνιώτης Γ.Α. (2003), “Φυσιολογία Καταπονήσεων των Φυτών”, Εκδόσεις Έμβρυο και Γ. Καραμπουρνιώτης, Αθήνα.

Κεραμίδας, Β., Σινάνης, Κ., 2005. Εδαφολογία. Πανεπιστημιακές σημειώσεις μαθήματος, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Κουϊμτζής, Θ., Φυτιάνος, Κ., Σαμαρά-Κωνσταντινίδου, Κ., 1998. Χημεία Περιβάλλοντος,1η έκδοση, University Studio Press, Θεσσαλονίκη.

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

Τσέκος, Ι.Β., 2004. Φυσιολογία φυτών. 2η έκδοση, Εκδόσεις Αδελφών Κυριακίδη, Θεσσαλονίκη.

ΔΙΑΔΙΚΤΙΑΚΕΣ ΠΗΓΕΣ

http://postgra.hydro.ntua.gr/docs/lessons/48/xenidis/Fytoapokatastasi_notes.pdf

http://www.food-info.net/gr/metal/cadmium.htm

http://www.iatronet.gr/article.asp?art_id=345 http://www.pemptousia.gr/2011/06/%CE%AD%CE%B4%CE%B1%CF%86%CE%BF%CF%82-%E2%80%93-%CE%B2%CE%B1%CF%81%CE%B9%CE%AC-%CE%BC%CE%AD%CF%84%CE%B1%CE%BB%CE%BB%CE%B1-%CF%86%CF%85%CF%84%CE%AC

http://ressources.ciheam.org/om/pdf/a31/CI971 547.pdf

http://www. nap.edu/openbook/0309041899/html

http://www.plantstress.com/Articles/toxicity_m/phytoremed.pdf

http://www.clu-in.org/download/remed/lasat.pdf

http://www.clu-in.org/download/toolkit/phyto_e.pdf

http://www.clu-in.org/download/remed/introphyto.pdf

http://www.epa.gov/sw-846/ main.htm

http://precedings.nature.com/documents/2450/version/1/files/npre20082450-1.pdf

http://www.cup.gr/Previews/978-960-524-168-1-Preview.pdf

http://postgra.hydro.ntua.gr/docs/lessons/48/xenidis/Fytoapokatastasi_notes.pdf