ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
Δ.Π.Μ.Σ. "ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ"

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ

Υπό

Δήμητρας Απ. Γλαβίνα

Εξεταστική Επιτροπή:

Βενιέρη Δανάη (επιβλέπουσα)
Νικολαΐδης Νικόλαος
Μωραΐτης Δανιήλ

-Χανιά 2009-

Ευχαριστίες

Πρώτα απ' όλα, θέλω να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της διπλωματικής εργασίας μου, Λέκτορα κα. Δανάη Βενιέρη, για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση της κατά τη διάρκεια της δουλειάς μου καθώς και για τις περαιτέρω σημαντικές συμβουλές της. Ευχαριστώ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον Καθηγητή κ. Νικόλαο Νικολαΐδη και τον Δρ. κ. Δανιήλ Μωραΐτη. Ιδιαίτερα ευχαριστώ την κα. Φωτεινή Σταμάτη για την παραχώρηση των εδαφικών δειγμάτων και χρήσιμων πληροφοριών για την εκπόνηση της εργασίας, την κα. Άννα Ανδρουλάκη και τον Δρ. κ. Νικόλαο Ξεκουκουλωτάκη για την πολύτιμη βοήθειά τους και τις υποδείξεις τους.

Ευχαριστώ τους φίλους μου και συμφοιτητές μου στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών που γνώρισα τα τελευταία δύο χρόνια στα Χανιά.

Πάνω απ' όλα, είμαι ευγνώμων στους γονείς μου, Απόστολο και Μαρία Γλαβίνα για την ολόψυχη αγάπη και υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια. Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω την αδερφή μου Μάγδα. Αφιερώνω αυτήν την εργασία στους γονείς μου.

Περίληψη

Κύριος στόχος της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας είναι η μελέτη και ο καθορισμός της ποιότητας εδαφών με βάση κάποιες συγκεκριμένες και ευρέως αποδεκτές βιοχημικές παραμέτρους (αφυδρογονάση, συγκέντρωση υδρογονανθράκων, βιομάζα N και C). Στο εργαστήριο πραγματοποιήθηκαν πειράματα για την μελέτη των παραμέτρων αυτών σε εδαφολογικά δείγματα.

Στο Κεφάλαιο 1 της εργασίας παρουσιάζονται διάφορες βιοχημικές παράμετροι και η χρήση τους ως δείκτες της εδαφολογικής ποιότητας. Επίσης παρουσιάζεται η έννοια της ποιότητας του εδάφους, ο καθορισμός και η ποσοτική μέτρηση της στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Στο Κεφάλαιο 2 παρουσιάζεται ο σκοπός της εργασίας.

Στο Κεφάλαιο 3 παρουσιάζονται αναλυτικότερα οι βιοχημικές παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία για την μέτρηση της ποιότητας των εδαφολογικών δειγμάτων και οι λόγοι που τις καθιστούν απαραίτητες στον ποσοτικό καθορισμό της εδαφολογικής ποιότητας.

Στο Κεφάλαιο 4 γίνεται αναφορά στην δειγματοληψία και παρουσιάζεται εκτενώς η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την πραγματοποίηση των πειραμάτων.

Στο Κεφάλαιο 5 παρουσιάζονται και αναλύονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν.

Στο Κεφάλαιο 6 αναλύονται τα συμπεράσματα, τα οποία προέκυψαν από την διεξαγωγή των πειραμάτων, όσον αφορά την ποιότητα των εδαφολογικών δειγμάτων αλλά και την αποτελεσματικότητα των παραμέτρων που χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες ποιότητας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Αξιολόγηση της ποιότητας του εδάφους με βιοχημικούς δείκτες

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 10 ετών, η ποιότητα του εδάφους αποτελεί θέμα μέγιστου ενδιαφέροντος για την εδαφική επιστήμη. Είναι τόσο μεγάλο το ενδιαφέρον, ώστε η βάση δεδομένων Soil Science CAB Abstracts Database (CAB International Publishing) παρέχει περισσότερες από 1500 δημοσιεύσεις που χρησιμοποιούν ως λέξη κλειδί τον όρο αυτό. Οι επιστήμονες έχουν επικεντρωθεί κυρίως στον καθορισμό της έννοιας «ποιότητα του εδάφους» και στην εύρεση αξιόπιστων τρόπων για την αξιολόγηση της. Τα τελευταία χρόνια έχει αναγνωριστεί ο ρόλος του εδάφους τόσο στην αγροτική παραγωγή όσο και στη διατήρηση της ποιότητας του νερού και της ατμόσφαιρας και άρα της περιβαλλοντικής ποιότητας. Το γεγονός αυτό έχει οδηγήσει σε μια αφθονία ορισμών του όρου της εδαφικής ποιότητας, με τον ορισμό που έδωσε ο Karlen το 1997 να ξεχωρίζει. Σύμφωνα με αυτόν η «ποιότητα του εδάφους» ορίζεται ως : «η ικανότητα ενός συγκεκριμένου είδους εδάφους να στηρίζει τη φυτική και τη ζωική παραγωγικότητα, να διατηρεί ή να ενισχύει την ποιότητα του νερού και της ατμόσφαιρας και να στηρίζει την ανθρώπινη υγεία και οίκηση μέσα στα φυσικά ή επιβαλλόμενα όρια ενός οικοσυστήματος». Ομοίως, έχουν γίνει προσπάθειες διαχωρισμού της έννοιας της ποιότητας του εδάφους από αυτήν της εδαφικής υγείας. Τα όρια των δύο εννοιών δεν είναι ιδιαίτερα σαφή αλλά έχει γίνει πλέον αποδεκτό ότι ο όρος ποιότητα αναφέρεται στην ικανότητα του εδάφους να πραγματοποιήσει μια συγκεκριμένη λειτουργία, ενώ η υγεία αναφέρεται στη γενική του κατάσταση.

Παρά το μεγάλο αριθμό των επιστημονικών εγγράφων που περιέχουν ως λέξη κλειδί τον όρο «ποιότητα του εδάφους», λιγότερο από το 20% εξετάζουν τον ποσοτικό προσδιορισμό της. Το γεγονός αυτό αντανακλά την δυσκολία που παρουσιάζει η ποσοτική εκτίμηση της ποιότητας του εδάφους, δεδομένης της δυσκολίας που παρουσιάζει η αναζήτηση των ποσοτικών δεικτών για την εδαφική ποιότητα. Η δυσκολία οφείλεται κυρίως στις πολλαπλές αλλαγές που πραγματοποιούνται στο έδαφος σε μία μεγάλη χρονική περίοδο. Οι επιστήμονες επικεντρώνονται κυρίως στην εύρεση των δεικτών που απεικονίζουν καλύτερα τις αλλαγές στην ποιότητα του εδάφους. Παρόλο που η εδαφική ποιότητα επηρεάζεται από έναν μεγάλο αριθμό δεικτών, η πλειοψηφία των επιστημόνων επιλέγει μια μικρή ομάδα (βασικά βιολογικούς και βιοχημικούς δείκτες) για την αξιολόγηση της. Δυστυχώς, είναι εμφανής η απουσία μιας κατάλληλης και ευρέως αποδεκτής διαδικασίας για την μέτρηση της ποιότητας του εδάφους.

<u>1.2 Βιοχημικές ιδιότητες ως δείκτες ποιότητας του εδάφους: ποιοι και γιατί;</u>

Η επιλογή των δεικτών που επιτρέπουν τον ποσοτικό προσδιορισμό της ποιότητας του εδάφους είναι πολύ σημαντική. Ένας απέραντος αριθμός φυσικών, χημικών και βιοχημικών ιδιοτήτων συμμετέχουν στη λειτουργία του εδάφους. Είναι λοιπόν αδύνατο να ληφθούν υπ΄ όψιν όλες αυτές τις ιδιότητες, και άρα είναι απαραίτητο να γίνει μια επιλογή. Οι επιλεγμένοι δείκτες πρέπει να ικανοποιούν μια σειρά προϋποθέσεων: (α) ευαισθησία στην παρουσία του μέγιστου πιθανού αριθμού παραγόντων υποβάθμισης (β) συνέπεια στην κατεύθυνση της αλλαγής που συμβαίνει ως αποτέλεσμα κάποιου μολυσματικού παράγοντα και (γ) δυνατότητα απεικόνισης διαφορετικών επίπεδων υποβάθμισης. Όπως επισημαίνει ο Nortcliff (2002), η αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας θα έχει ελάχιστη ή καμία αξία εάν οι δείκτες δεν επιλεχθούν σωστά. Γι΄ αυτό πρέπει να παρέχουν το κατάλληλο υλικό για να είναι σε θέση να μετρήσουν τις τάσεις, να συγχέουν την εδαφική ποιότητα με άλλα συστατικά του συστήματος, και όπου τίθενται προληπτικά κατώτατα όρια, να μπορούν να αξιολογήσουν την ποιότητα σύμφωνα με αυτά.

Όσον αφορά την επιλογή των ιδιοτήτων ως δείκτες, οι Doran και Parkin το 1996 επινόησαν ένα «ελάχιστο σύνολο στοιχείων» για τη χρήση του στην αξιολόγηση της ποιότητας του εδάφους, το οποίο περιλαμβάνει φυσικές (σύσταση, βάθος ριζών, ταχύτητα διήθησης, ειδικό βάρος, ικανότητα διατήρησης ύδατος), χημικές (pH, συνολικός άνθρακας, ηλεκτρική αγωγιμότητα, θρεπτικό επίπεδο) και βιολογικές (μικροβιακή βιομάζα, εδαφική αναπνοή) ιδιότητες, αν και πολλές από τις ιδιότητες που περιλαμβάνονται σε αυτό το σύνολο δεδομένων, π.χ. η σύσταση, δεν ικανοποιούν τις απαιτήσεις που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Γενικά, οι φυσικές και φυσικό-χημικές παράμετροι έχουν μικρή χρησιμότητα καθώς αλλάζουν μόνο όταν το έδαφος υποβάλλεται σε μια πραγματικά δραστική αλλαγή. Αντίθετα, οι βιολογικές και βιοχημικές παράμετροι είναι ευαίσθητες στις μικρές τροποποιήσεις στις οποίες μπορεί να υποβληθεί το χώμα παρουσία οποιουδήποτε παράγοντα υποβάθμισης. Ως εκ τούτου, όποτε πρέπει να αξιολογηθεί η ικανότητα διατήρησης των φυσικών λειτουργιών του εδάφους, οι βασικοί δείκτες πρέπει να περιλαμβάνουν τις βιολογικές και βιοχημικές παραμέτρους. Λαμβάνοντας υπ΄ όψιν τον ευρύ αριθμό των βιολογικών και βιοχημικών ιδιοτήτων που συμμετέχουν στη λειτουργία του εδάφους, οι Visser και Parkinson (1992) επισήμαναν την ανάγκη να χρησιμοποιηθούν συγκεκριμένες ομάδες παραμέτρων. Μία ομάδα είναι αυτή της «βιοτικής κοινότητας», η οποία υπονοεί την χρήση των παραμέτρων που σχετίζονται με τη δομή του μικροβιακού πληθυσμού. Οι παράμετροι αυτές χρησιμοποιούνται κλασικά για να ελέγξουν τη σύνθεση των διαφορετικών λειτουργικών ομάδων των μικροοργανισμών που υπάρχουν στο έδαφος. Μία δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει τις «μελέτες πληθυσμών», οι οποίες εξετάζουν τη δυναμική συγκεκριμένων οργανισμών ή των κοινοτήτων των οργανισμών αυτών (βιολογικοί δείκτες). Μία τρίτη ομάδα, το «επίπεδο οικοσυστήματος», περιλαμβάνει τη χρήση παραμέτρων που σχετίζονται με τους βιογεωχημικούς κύκλους των C, N, P, και S, ειδικά όταν αυτοί συμμετέχουν στο μετασχηματισμό της οργανικής ουσίας του εδάφους. Από όλα τα παραπάνω προκύπτει η ανάγκη χρήσης παραμέτρων που σχετίζονται με το μέγεθος, την ποικιλομορφία και τη δραστηριότητα της μικροβιακής βιομάζας καθώς επίσης και με τη δραστηριότητα των υδρολυτικών ενζύμων του εδάφους.

Η χρήση της «βιοτικής κοινότητας» ως επιλογή είναι γενικά περιορισμένη στη σφαίρα της μικροβιολογίας. Σήμερα, η δομή των μικροβιακών πληθυσμών καθορίζεται συνήθως με μοριακές τεχνικές όπως ο χαρακτηρισμός του DNA, αντί των κλασσικών τεχνικών απαρίθμησης και προσδιορισμού. Δυστυχώς, αυτές οι μοριακές τεχνικές χρειάζονται δαπανηρό εξοπλισμό και ειδικευμένο προσωπικό και έτσι η χρησιμότητά τους ως καθιερωμένο διαγνωστικό εργαλείο είναι περιορισμένη. Εντούτοις, με την ανάπτυξη της τεχνολογίας του αναγκαίου εξοπλισμού το πρόβλημα αυτό θα περιοριστεί δραστικά. Η χρήση των βιολογικών δεικτών («μελέτες πληθυσμών») προϋποθέτει να καθοριστεί ποιος δείκτης αντιστοιχεί σε μια συγκεκριμένη επεξεργασία του εδάφους ή μολυσματικό παράγοντα. Επομένως, παρά το γεγονός ότι η ομάδα αυτή αποτελεί μια από τις καλύτερες επιλογές, η χρήση της περιορίζεται σοβαρά από τη δυσκολία εύρεσης του μολυσματικού παράγοντα που επηρεάζει κάθε φορά το χώμα. Κατά συνέπεια, δεν είναι παράξενο ότι η πλειοψηφία των παραμέτρων που χρησιμοποιούνται ως δείκτες της εδαφικής ποιότητας είναι οι βιοχημικές ιδιότητες που απεικονίζουν είτε τη δραστηριότητα των μικροβιακών πληθυσμών (γενικές βιοχημικές παράμετροι) είτε τη δραστηριότητα των υδρολυτικών ενζύμων του εδάφους (συγκεκριμένες βιοχημικές παράμετροι). Επιπλέον, οι βιοχημικές παράμετροι είναι σε θέση να απεικονίσουν την πραγματική ροή της οργανικής ουσίας και των απαραίτητων στοιχείων του εδάφους και τη μεταφορά τους σε άλλα εδάφη και άλλα μέρη του περιβάλλοντος. Γενικά, οι παράμετροι που θα επιλεχθούν για τον καθορισμό της ποιότητας του εδάφους πρέπει να χαρακτηρίζουν το έδαφος ως δυναμικό μέρος της βιόσφαιρας.

1.2.1 Χρήση των βιοχημικών ιδιοτήτων ως δεικτών της εδαφικής ποιότητας

Από μία συνολική εκτίμηση των ερευνητικών συγγραμμάτων που δημοσιεύτηκαν από το 1990 ως σήμερα και που περιλαμβάνουν ως λέξεις κλειδιά την ποιότητα του εδάφους, τις βιοχημικές ιδιότητες του εδάφους και τα ένζυμα του εδάφους, είναι φανερό ότι υπάρχουν τρεις προσεγγίσεις σχετικά με τη χρήση και των γενικών και των ειδικών βιοχημικών παραμέτρων για τον υπολογισμό της ποιότητας του εδάφους:

(1) η χρήση των ιδιοτήτων μεμονωμένα

(2) η χρήση απλών δεικτών και

(3) η χρήση σύνθετων δεικτών που προέρχονται από συνδυασμούς διαφορετικών παραμέτρων ή που συνάγονται βάσει στατιστικών μεθόδων.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα κάθε μιας από τις τρεις αυτές προσεγγίσεις.

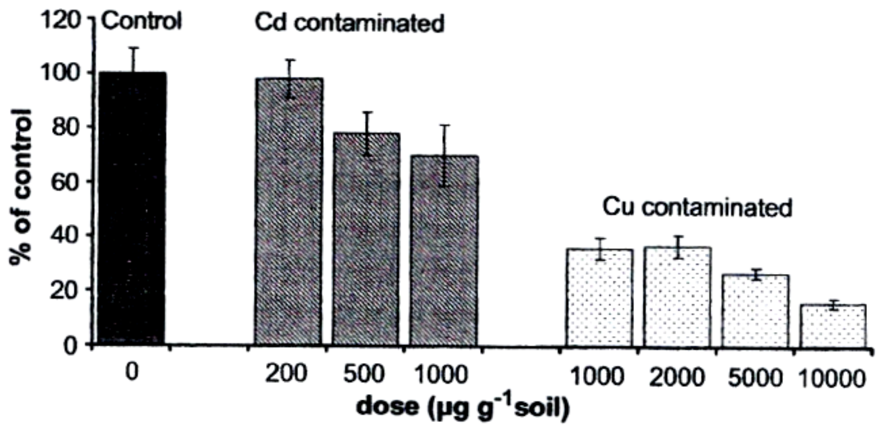
Μεμονωμένες ιδιότητες

Η χρήση μιας και μόνο βιοχημικής ιδιότητας είναι μια κοινή πρακτική που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της ποιότητας του εδάφους. Αυτή η πρακτική υιοθετείται κυρίως όταν η έννοια της ποιότητας αναφέρεται αποκλειστικά στην παραγωγική ικανότητα ή όταν γίνονται προσπάθειες να βρεθεί η σχέση που συνδέει την τιμή μιας παραμέτρου με την παραγωγικότητα. Οι πρακτικές καλλιέργειας, γενικά, μειώνουν την οργανική ουσία των εδαφών, με αποτέλεσμα να γίνονται συνεχώς προσπάθειες για την εύρεση ενός συσχετισμού μεταξύ της παραγωγικότητας και της ποσότητας οργανικής ουσίας που περιέχεται στο υπό μελέτη έδαφος. Για την εκτίμηση της ποιότητας του εδάφους με τη χρήση μιας μεμονωμένης παραμέτρου, το 40% των δημοσιευμένων συγγραμμάτων χρησιμοποιεί μια γενική βιοχημική παράμετρο όπως η μικροβιακή βιομάζα C, η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης, η εδαφική αναπνοή, η ικανότητα ανοργανοποίησης του αζώτου, η ικανότητα υδρόλυσης FDA ή η περιεκτικότητα σε ATP, ενώ το υπόλοιπο 60% χρησιμοποιεί μια ειδική βιοχημική παράμετρο όπως η ουρεάση ή η δραστηριότητα της φωσφατάσης.

Μεταξύ των γενικών παραμέτρων, η μικροβιακή βιομάζα C θεωρείται η πιο αξιόπιστη (από το 41% των ερευνητών) και ακολουθεί η δραστηριότητα των αφυδρογονασών (28%) και η ικανότητα ανοργανοποίησης του N (16%). Η φωσφατάση (28%), η β- γλυκοσιδάση (16%) και η ουρεάση (11%) είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιημένες παράμετροι μεταξύ των ειδικών βιοχημικών παραμέτρων και, υπό κατάλληλες συνθήκες, αντιπροσωπεύουν τους κύκλους του φωσφόρου, του άνθρακα και του αζώτου. Η μικροβιακή βιομάζα C και η ικανότητα ανοργανοποίησης του N χρησιμοποιήθηκαν πρώτιστα για να υπολογίσουν τις αλλαγές στην ποιότητα του εδάφους λόγω της διαχείρισης και της χρήσης, ενώ η δραστηριότητα των αφυδρογονασών έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως στα εδάφη που επηρεάζονται από βαρέα μέταλλα και φυτοφάρμακα, καθώς επίσης και για τη διάγνωση του βαθμού αποκατάστασης υποβιβασμένων εδαφών.

Η μικροβιακή βιομάζα αντιπροσωπεύει το ζωντανό τμήμα της οργανικής ουσίας του εδάφους, αποκλείοντας τα ζώα και τις ρίζες των φυτών. Αν και η μικροβιακή βιομάζα αποτελεί συνήθως λιγότερο από 5% της οργανικής ουσίας του εδάφους, πραγματοποιεί πολλές σημαντικές λειτουργίες στο οικοσύστημα, μεταξύ των οποίων θα μπορούσαν να επισημανθούν οι εξής: είναι ταυτόχρονα και πηγή και δέκτης θρεπτικών ουσιών, συμμετέχει στις μετατροπές του C, N, P και S, διαδραματίζει ενεργό ρόλο στη διάσπαση των ξενοβιοτικών οργανικών ενώσεων και στην ακινητοποίηση των βαρέων μετάλλων, συμμετέχει στο σχηματισμό της δομής του εδάφους, κ.λ.π.

Λαμβάνοντας υπ' όψιν το βασικό ρόλο που διαδραματίζει η μικροβιακή βιομάζα στην σωστή λειτουργία του εδάφους, δεν είναι περίεργη η διαδεδομένη χρήση της ως δείκτη της ποιότητάς του. Εντούτοις, οι έρευνες που παρουσιάστηκαν από διαφορετικούς επιστήμονες εμφάνισαν αντιφατικά αποτελέσματα. Η μικροβιακή βιομάζα C αυξήθηκε με την αύξηση της έντασης της βοσκής σε λιβάδια σε έρευνες των Holt και Banerjee (1998). Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση της με αλλαγή χρήσης του εδάφους από καλλιέργεια δημητριακών σε λιβάδι (Dalal, 1998). Αντίθετα παρατηρήθηκε μείωσή της όταν καλλιεργείται το χώμα, ενώ η επίδραση της απουσίας οργώματος ήταν ασαφής (Dalal, 1998). Επιπλέον, η μικροβιακή βιομάζα C αυξήθηκε σε εδάφη όπου οι καλλιεργητές παρείχαν οργανικά λιπάσματα (Dalal, 1998), ενώ παρουσίασε ακανόνιστη συμπεριφορά με ανόργανη λίπανση N (Singh και Singh, 1993 Ladd, 1994) και δεν επηρεάστηκε από την παρουσία ζιζανιοκτόνων (Voos και Groffman, 1997). Τέλος, η μικροβιακή βιομάζα δεν θα μπορούσε να θεωρηθεί καλός δείκτης της τοξικότητας των βαρέων μετάλλων στα χώματα (Dalal, 1998). Σε εργαστηριακά πειράματα έχει παρατηρηθεί ότι η βιομάζα μειώνεται με την προσθήκη Cd ή Cu (Σχήμα 1.1). Αντίθετα, σε υπαίθρια πειράματα που πραγματοποίησε ο Kandeler το 1996 παρατηρήθηκε ότι η μικροβιακή βιομάζα αυξάνεται με την προσθήκη μιγμάτων μετάλλων στο χώμα, αν και άλλοι ερευνητές παρατήρησαν μείωση στη μικροβιακή βιομάζα σε χωράφια που εφοδιάζονται με λάσπες μολυσμένες με βαρέα μέταλλα (Chander και Brookes, 1993, Valsecchi, 1995, Filip, 2002). Λαμβάνοντας υπόψη τα συμπεράσματα αυτά, είναι φανερό ότι η χρήση της μικροβιακής βιομάζας C ως αξιόπιστος δείκτης της ποιότητας του εδάφους είναι ιδιαίτερα αμφισβητήσιμη.



Σχήμα 1.1 . Μικροβιακή βιομάζα C σε εδάφη μολυσμένα με διαφορετικές ποσότητες Καδμίου και Χαλκού, ως ποσοστό της τιμής της μικροβιακής βιομάζας σε μη μολυσμένο έδαφος (1200 mg/kg) (Gil-Sotres, 2005)

Η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης στο έδαφος θεωρείται δείκτης του μικροβιακού οξειδοαναγωγικού συστήματος και των οξειδωτικών δραστηριοτήτων στο χώμα. Όπως συμβαίνει και με τη μικροβιακή βιομάζα, αυτή η παράμετρος χρησιμοποιείται κυρίως για να αξιολογήσει την επιρροή της διαχείρισης του εδάφους στην ποιότητα του ενώ έχουν προκύψει από τη μελέτη της επίσης αντιφατικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα, έχει ανακαλυφθεί ότι το όργωμα μπορεί και να αυξήσει και να μειώσει τη δραστηριότητα της αφυδρογονάσης (Bergstrom, 1998, 2000) ενώ η προσθήκη οργανικών λιπασμάτων, αποβλήτων αποχέτευσης και βιομηχανικών αποβλήτων αυξάνει γενικά τη δραστηριότητα της (Bardgett, 1995, Pascual, 1999, Langer και Gunther, 2001). Γενικά, η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης δεν επηρεάζεται από την παρουσία βαρέων μετάλλων, με εξαίρεση τις πολύ υψηλές δόσεις (Kandeler, 1996, Filip, 2002). Η δραστηριότητα των αφυδρογονασών έχει χρησιμοποιηθεί επίσης για να αξιολογήσει το βαθμό αποκατάστασης υποβιβασμένων χωμάτων, διαδικασία κατά την οποία θεωρείται πολύ καλός δείκτης, ακόμη και σε εδάφη που έχουν μολυνθεί από έκχυση πετρελαίου (Margesin, 2000).

Η ικανότητα ανοργανοποίησης του αζώτου αναφέρεται στην ικανότητα του εδάφους να μετασχηματίζει τις οργανικές ενώσεις του αζώτου σε αμμώνιο ή νιτρικό άλας υπό τις βέλτιστες συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια μιας δεδομένης χρονικής περιόδου. Ο παραπάνω ορισμός χρησιμοποιείται για να αξιολογήσει την επιρροή της εδαφικής διαχείρισης στην ποιότητα του εδάφους. Εντούτοις, οι σημαντικές εποχιακές διαφοροποιήσεις περιορίζουν την αξία της ως δείκτη εδαφικής ποιότητας (Tscherko και Kandeler, 1999). Η ικανότητα ανοργανοποίησης του αζώτου αυξάνεται με την βοσκή (Banerjee, 2000) και με το συμβατικό όργωμα (Kandeler, 1999), αν και στην τελευταία περίπτωση η αύξηση οφείλεται κυρίως στη μίξη των οργανικών υπολειμμάτων με το επιφανειακό χώμα. Ο Pankhurst (1995) επέκρινε τη χρήση της ικανότητας ανοργανοποίησης αζώτου ως δείκτη εδαφικής ποιότητας επειδή επηρεάζεται σε πολύ μικρό βαθμό από την διαχείριση του εδάφους και τροποποιείται με την προσθήκη πολύ μεγάλων ποσοτήτων κοπρανώδους υλικού στο χώμα.

Μεταξύ των υδρολυτικών ενζύμων η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη παράμετρος για τον υπολογισμό των αλλαγών στη ποιότητα του εδάφους λόγω είτε της διαχείρισης είτε της παρουσίας μολυσματικών παραγόντων, είναι η δραστηριότητα της όξινης φωσφομονοεστεράσης. Είναι ένας άριστος δείκτης της ποιότητας και της ποσότητας της οργανικής ουσίας στο χώμα (Jordan, 1995, Mullen, 1998 Bergstrom, 2000) και μπορεί η τιμή της να φτάσει σε πολύ υψηλά επίπεδα στα καλλιεργήσιμα εδάφη αρκεί η ποσότητα της οργανικής ουσίας να παραμένει σταθερή. Αν η ποσότητα της οργανικής ουσίας σε υποβιβασμένα χώματα αυξάνεται κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης, αυξάνεται και το επίπεδο της ενζυμικής αυτής δραστηριότητας (Gil-Sotres., 1992; Garcıa, 1997; Vance και Entry, 2000). Επιπλέον, σε εδάφη που υφίστανται δασικές πυρκαγιές, η δραστηριότητα της φωσφομονοεστεράσης επηρεάζεται σαφώς από την ένταση της πυρκαγιάς (Staddon, 1998) και αυξάνεται μετά από την πυρκαγιά παράλληλα με την αποκατάσταση του εδάφους (Saa, 1993). Διαφορετικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι αυτή η ενζυμική δραστηριότητα αυξάνεται συνεπεία της οργανικής λίπανσης (Pascual, 1999; Chakrabarti, 2000) και μειώνεται όταν χρησιμοποιούνται λιπάσματα φωσφορικού άλατος (Clarholm, 1993, Olander και Vitousek, 2000). Τέλος έχει αποδειχτεί ότι η δραστηριότητα της φωσφομονοεστεράσης μειώνεται σημαντικά από την παρουσία μολύβδου (Marzadori, 1996) και άλλων βαρέων μετάλλων (Kandeler, 1996), ενώ η παρουσία φυτοφαρμάκων στο έδαφος την μειώνει μόνο προσωρινά (Schäffer, 1993).

Όσον αφορά τα ένζυμα που περιλαμβάνονται στον κύκλο του άνθρακα, η β-γλυκοσιδάση χρησιμοποιείται ευρύτατα στην αξιολόγηση της ποιότητας του εδάφους, κυρίως σε χώματα που υποβάλλονται σε διαφορετικές πρακτικές διαχείρισης. Η δραστηριότητα της β-γλυκοσιδάσης εμφανίζεται σημαντικά χαμηλότερη σε καλλιεργήσιμα εδάφη απ' ό,τι σε εδάφη δασικών περιοχών και λιβαδιών (Bandick και Dick, 1999, Saviozzi, 2001). Οι παραπάνω παρατηρήσεις θα μπορούσαν να οδηγήσουν στο συμπέρασμα ότι η β-γλυκοσιδάση είναι ένας άριστος δείκτης της ποιότητας του εδάφους, καθώς επηρεάζεται δυσμενώς από ορισμένες γεωργικές πρακτικές. Εντούτοις, άλλες γεωργικές πρακτικές, όπως η προσθήκη οργανικών λιπασμάτων, μπορούν να αυξήσουν τη δραστηριότητα αυτού του ενζύμου (Bandick και Dick, 1999 Pascual, 1999) μειώνοντας έτσι την αξία της ως δείκτη της εδαφικής ποιότητας.

Η ουρεάση, το ένζυμο που καταλύει την υδρόλυση της ουρίας, χρησιμοποιείται, επίσης, ευρέως στην αξιολόγηση των αλλαγών στην εδαφική ποιότητα λόγω της διαχείρισης του εδάφους. Η δραστηριότητά της αυξάνεται με την προσθήκη οργανικών λιπασμάτων (Pascual, 1999; Chakrabarti., 2000) και κοπρανώδους υλικού στο χώμα (Kandeler και Eder, 1993) και μειώνεται συνεπεία του οργώματος (Saviozzi, 2001). Θεωρώντας ότι αυτές δύο πρακτικές πραγματοποιούνται συνήθως ταυτόχρονα στα καλλιεργήσιμα εδάφη, είναι σαφές ότι η χρήση της ουρεάσης ως δείκτη της εδαφικής ποιότητας έχει περιορισμένη αξία.

Η χρήση μεμονωμένων ιδιοτήτων ως δεικτών της ποιότητας του εδάφους αφήνει άλυτα πολλά προβλήματα, επιβεβαιώνοντας αυτό που έχει ήδη υποδειχθεί από τους Skujins το 1978, και Nannipieri το 1994. Αυτοί οι επιστήμονες (και πολλοί άλλοι) θεώρησαν λανθασμένη την υπόθεση ότι μία και μόνο ενζυμική δραστηριότητα, που απεικονίζει τα ένζυμα που καταλύουν μια συγκεκριμένη αντίδραση στο χώμα, μπορεί να ληφθεί ως δείκτης πιο σύνθετων λειτουργιών όπως είναι η συνολική μικροβιακή δραστηριότητα, η εδαφική γονιμότητα ή η ποιότητα του εδάφους, οι οποίες εξαρτώνται από πολλές αντιδράσεις και παραμέτρους. Αλλά ακόμη και αν είναι αποδεκτό ότι μία και μόνο παράμετρος έχει την ικανότητα να αντανακλά τη γενική συμπεριφορά του εδάφους, για να θεωρηθεί καλός δείκτης πρέπει να ικανοποιεί ένα σύνολο απαιτήσεων. Σύμφωνα με Dalal (1998), ένας καλός δείκτης πρέπει:

(α) να έχει την ικανότητα να μετρά μια ή περισσότερες λειτουργίες του εδάφους

(β) να είναι αρκετά ευαίσθητος ώστε να αντανακλά τις αλλαγές λόγω διαταραχής, αποκατάστασης ή διαχείρισης του εδάφους

(γ) να παρέχει τις τιμές αναφοράς, τις κρίσιμες τιμές ή τα κατώτατα όρια,

(δ) να ερμηνεύεται εύκολα και

(ε) να παρέχει τη δυνατότητα της εύκολης και ανέξοδης μελέτης του.

Καμία από τις προαναφερθείσες βιοχημικές ιδιότητες δεν ικανοποιεί όλες αυτές τις προϋποθέσεις, ειδικά όσον αφορά την ύπαρξη των τιμών αναφοράς. Το πρώτο μειονέκτημα που περιορίζει σημαντικά τη χρήση των μεμονωμένων βιοχημικών παραμέτρων, ως δείκτες της ποιότητας του εδάφους, είναι ότι ακόμη και στα υψηλής ποιότητας εδάφη εμφανίζεται υψηλός βαθμός μεταβλητότητας λόγω του κλίματος, της εποχής, της γεωγραφικής θέσης και των εδαφογενετικών παραγόντων (πίνακας 1.1). Είναι επίσης πολύ δύσκολο να συγκριθούν οι τιμές που λαμβάνονται σε ένα πείραμα με εκείνες από κάποιο άλλο, επειδή λαμβάνονται γενικά με διαφορετικά πρωτόκολλα (ειδικά στην περίπτωση των ενζυμικών δραστηριοτήτων), είτε επειδή δεν υπάρχει καμία τυποποιημένη μέθοδος είτε λόγω των εδαφικών δειγμάτων που έχουν υποβληθεί προγενέστερα σε διαφορετικές επεξεργασίες (συλλογή δειγμάτων, αποθήκευση δειγμάτων, κ.λ.π.) πριν από την ανάλυσή τους. Προκειμένου να μετριαστούν οι συνέπειες από την απουσία τιμών αναφοράς μερικοί επιστήμονες χρησιμοποιούν τα ποσοστά του εύρους στα οποία κυμαίνονται οι τιμές (Kandeler, 1996) ως κατάλληλο όργανο για την αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας. Εντούτοις, αυτό απαιτεί ένα μεγάλο σύνολο συνδυασμένων στοιχείων, πράγμα που είναι δύσκολο να επιτευχθεί.

Γενικά οι μεμονωμένες βιοχημικές παράμετροι παρουσιάζουν ακανόνιστη συμπεριφορά, ανικανότητα να διακρίνουν την επίδραση ενός ρύπου σε σχέση με οποιαδήποτε υποβάθμιση έχει υποστεί το χώμα πριν από τη μόλυνσή του με το ρύπο αυτό και ανικανότητα να διακρίνουν τους μολυσματικούς παράγοντες ανάλογα με την έκταση της υποβάθμισης που αυτοί προκαλούν. Όλοι αυτοί οι λόγοι σε συνδυασμό με όσα αναφέρθηκαν παραπάνω οδήγησαν τους Trasar-Cepeda (2000) να θεωρήσουν ότι οι μεμονωμένες ενζυμικές δραστηριότητες (και οι βιοχημικές ιδιότητες γενικά) έχουν σοβαρά μειονεκτήματα ως δείκτες της ποιότητας του εδάφους.

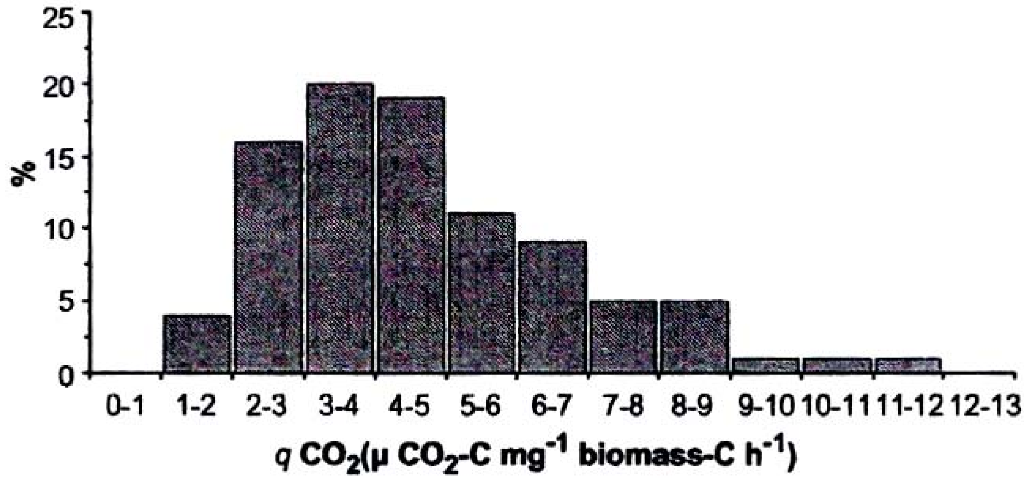
Biomass C (mg kg^{-1})	250–1468
Dehydrogenase activity (μmol INTF g^{-1} h^{-1})	0.10–0.34
N mineralisation capacity (mg kg^{-1})	1.4–70.0
Phosphomonoesterase activity (μmol PNP g^{-1} h^{-1})	2.33–15.76
β-glucosidase activity (μmol PNP g^{-1} h^{-1})	0.67–4.58
Urease activity (μmol NH_3 g^{-1} h^{-1})	3.17–49.78

Πίνακας 1.1 .Μεταβλητότητα των τιμών των βιοχημικών ιδιοτήτων σε εδάφη στη Γαλικία (N.W. Ισπανία): εύρος και εποχιακή μεταβλητότητα (Gil-Sotres, 2005).

Απλοί δείκτες

Ο Dalal το 1998 επεσήμανε ότι τα μειονεκτήματα που παρουσιάστηκαν από τη χρήση μεμονωμένων βιοχημικών παραμέτρων θα μπορούσαν να αποφευχθούν με τη χρήση απλών δεικτών, δηλ. σχέσεων μεταξύ δύο βιοχημικών παραμέτρων. Η αναλογία μεταξύ των τιμών δύο παραμέτρων αντιπροσωπεύει έναν συνδυασμό δύο διαφορετικών μετρήσεων με ένα ενιαίο κριτήριο. Εντούτοις, και παρά την απλότητά τους, αυτοί οι δείκτες δεν έχουν υιοθετηθεί γενικά για την αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας. Μεταξύ των ευρύτατα χρησιμοποιούμενων απλών δεικτών ξεχωριστή θέση καταλαμβάνουν το μεταβολικό πηλίκο ($qCO2$), το πηλίκο του ποσοστού θανάτων (qD) και η αναλογία μεταξύ των βιοχημικών ιδιοτήτων και της συνολικής περιεκτικότητας του εδάφους σε Cκαι N ή της περιεκτικότητας σε C-βιομάζα (Kandeler και Eder, 1993, Landi, 2000).

Το $qCO2$ είναι ίσως το δημοφιλέστερο μεταξύ των απλών δεικτών. Αντιπροσωπεύει την ανοργανοποιημένη ποσότητα υποστρώματος ανά μονάδα μικροβιακής βιομάζας άνθρακα και ανά μονάδα χρόνου, και χρησιμοποιήθηκε αρχικά από τους Anderson και Domsch το 1985. Γενικά, σε ένα υποβαθμισμένο οικοσύστημα η τιμή του $qCO2$ αυξάνεται σε σχέση με ένα σταθερό οικοσύστημα (Dalal, 1998, Haynes, 1999). Εντούτοις, η σημασία αυτής της αύξησης δεν είναι ξεκάθαρη δεδομένου ότι μπορεί να οφείλεται σε μείωση της χρήσης του υποστρώματος από τη μικροχλωρίδα, σε απόκριση της συμπεριφοράς της μικροχλωρίδας στις δυσμενείς συνθήκες (μονοκαλλιέργεια, υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων, κ.λπ.) ή σε αλλαγή της αναλογίας βακτηρίων / μυκήτων δεδομένου ότι έχουν διαφορετικές στρατηγικές χρήσης του άνθρακα (Dilly και Munch, 1998). Η χρήση του πηλίκου $qCO2$ έχει επικριθεί επίσης επειδή εμφανίζεται αμετάβλητο κατά τη διατάραξη ή την ανάπτυξη του οικοσυστήματος (Wardle και Ghani, 1995). Σε σχέση με την αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας, το $qCO2$ έχει θεωρηθεί άριστος δείκτης διαταραχών που προκύπτουν από τη μόλυνση του εδάφους με βαρέα μέταλλα (Brookes, 1995 Filip, 2002) καθώς βρέθηκαν πολύ υψηλές τιμές $qCO2$ σε χώματα που μολύνονταν επί μεγάλο χρονικό διάστημα (Brookes, 1986). Αντίθετα όμως, πολλοί ερευνητές απέδειξαν ότι τα πολύ παραγωγικά χώματα παρουσιάζουν παρόμοιες τιμές $qCO2$ με μολυσμένα χώματα (Valsecchi, 1995 Sparling, 1997). Επιπλέον, οι τιμές που έχουν προταθεί ως ενδεικτικές ενός σταθερού οικοσυστήματος δεν φαίνονται να έχουν καθολική σημασία (σχήμα 1.2). Επομένως, η παράμετρος αυτή μπορεί να έχει μικρή αξία για την αξιολόγηση της ποιότητας του εδάφους. Οι ίδιες παρατηρήσεις μπορούν να εφαρμοστούν στο πηλίκο ποσοστού θανάτων qD και στο πηλίκο απωλειών άνθρακα βασισμένο στη μικροβιακή απώλεια άνθρακα που καθορίζεται σε εβδομαδιαία βάση.



Σχήμα 1.2. Ποσοστό εμφάνισης τιμών του πηλίκου qCO2 επί του συνόλου των τιμών του qCO2 σε 80 καλλιεργημένα εδάφη δάσους βελανιδιάς (Gil-Sotres, 2005).

Ειδικές δραστηριότητες ένζυμων έχουν χρησιμοποιηθεί για να συγκρίνουν και να καθορίσουν τις τιμές των ενζυμικών δραστηριοτήτων σε εδάφη με διαφορετικό περιεχόμενο σε οργανική ουσία (Barriuso, 1988) και θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως απλοί δείκτες της ποιότητας του εδάφους. Η έννοια της ειδικής ενζυμικής δραστηριότητας προέρχεται από την κλασική βιοχημεία στην οποία οι τιμές της δραστηριότητας των ενζύμων εκφράζονται συνήθως ως προς την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Είναι ένας τρόπος κανονικοποίησης των αναλυτικών αποτελεσμάτων των ενζύμων, αν και η χρήση αυτής της έννοιας στην εδαφική βιοχημεία αναφέρεται στις τιμές της ενζυμικής δραστηριότητας που εκφράζονται ανά μονάδα άνθρακα ή συνολικού αζώτου. Ο Kandeler το 1999 χρησιμοποίησε επιτυχώς αυτόν τον τύπο έκφρασης για να μελετήσει την επιρροή των οργανικών λιπασμάτων και της χρήσης του εδάφους στις δραστηριότητες των ενζύμων στα μόρια του. Εντούτοις, οι Trasar και Cepeda το 2000, τόσο σε πειράματα που διεξήχθησαν σε πεδία όσο και σε πειράματα στο εργαστήριο, απέδειξαν ακανόνιστη συμπεριφορά στις τιμές της αφυδρογονάσης, της ουρεάσης, της β-γλυκοσιδάσης και της φωσφομονοεστεράσης όταν οι παράμετροι αυτές χρησιμοποιήθηκαν για να αξιολογήσουν την ποιότητα των μολυσμένων χωμάτων, επισημαίνοντας ότι η χρήση των συγκεκριμένων δραστηριοτήτων παρουσιάζει επίσης μειονεκτήματα.

Σύμφωνα με άλλους ερευνητές, οι τιμές για τη μικροβιακή δραστηριότητα μπορούν να ληφθούν με τον υπολογισμό της αναλογίας της δραστηριότητας των ενζύμων του εδάφους ως προς τη μικροβιακή βιομάζα. Μια αυξημένη αναλογία μπορεί να αποδεικνύει αυξημένη παραγωγή ενζύμων και απελευθέρωση τους από τους μικροοργανισμούς ή μια ενισχυμένη απελευθέρωση ενζύμων που ακινητοποιούνται στον άργιλο ή στα χουμικά κολλοειδή στο εδαφικό διάλυμα (Kandeler και Eder, 1993). Οι αναλογίες αυξάνονται για τα ένζυμα του κύκλου αζώτου στην περίπτωση που τα χώματα λαμβάνουν υψηλές ποσότητες κοπρανώδους υλικού κατά τη διάρκεια μεγάλων χρονικών περιόδων. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην πρόκληση υψηλών επίπεδων παραγωγής ενζύμων από τη μικροβιακή βιομάζα λόγω της εφαρμογής των κοπράνων (Kandeler και Eder, 1993). Η διαδικασία αυτή έχει χρησιμοποιηθεί επίσης σε εργαστηριακές επωάσεις για τη μελέτη της επιρροής της εφαρμογής καδμίου σε ορισμένες βιοχημικές και μικροβιολογικές παραμέτρους. Τα αποτελέσματα απέδειξαν ότι το μέταλλο αυτό μειώνει τις τιμές της αφυδρογονάσης και της φωσφομονοεστεράσης ανά μονάδα βιομάζας (Landi, 2000). Εντούτοις, η πενιχρή χρήση αυτής της μεθόδου έχει ως αποτέλεσμα την έλλειψη στοιχείων με τα οποία να επιβεβαιώνεται ότι η αναλογία μεταξύ της δραστηριότητας των ένζυμων και της μικροβιακής βιομάζας είναι χρήσιμη για τον καθορισμό της ποιότητας του εδάφους.

Εν περιλήψει, η χρήση των απλών δεικτών για την αξιολόγηση της ποιότητας του εδάφους εμφανίζει τα ίδια μειονεκτήματα με τη χρήση των μεμονωμένων βιοχημικών παραμέτρων: έλλειψη τιμών αναφοράς, έλλειψη όμοιας συμπεριφοράς της ίδιας αναλογίας σε πειράματα διαφορετικών ερευνητών και έλλειψη αντικειμενικών κριτηρίων για το συσχετισμό μιας παραλλαγής του δείκτη με τη διαδικασία του εδάφους που την προκαλεί. Με άλλα λόγια, θα πρέπει να γίνει δεκτό αυτό που τόνισαν οι Sojka και Upchurch το 1999, ότι η αναζήτηση ενός απλού, προσιτού και εύκολα εφαρμόσιμου δείκτη της ποιότητας του εδάφους είναι ανέφικτη.

Σύνθετοι δείκτες

Μια άλλη επιλογή για την αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας είναι η χρήση σύνθετων δεικτών που υπολογίζονται με συνδυασμό διαφορετικών βιοχημικών παραμέτρων του εδάφους. Η προσπάθεια για τον υπολογισμό των σύνθετων αυτών δεικτών ξεκίνησε αρχικά στη δεκαετία του '80. Από τους πρώτους σύνθετους δείκτες που ανακαλύφθηκαν ήταν ο δείκτης του Stefanic το 1984. Ο δείκτης αυτός αποτελεί έναν βιολογικό δείκτη γονιμότητας και χρησιμοποιεί μια μαθηματική έκφραση των τιμών και των δραστηριοτήτων της αφυδρογονάσης και της καταλάσης. Ένας ακόμη δείκτης που ανακαλύφθηκε το 1984 είναι ο δείκτης του BECK, ή αλλιώς αριθμός δραστηριότητας των ενζύμων, που περιλαμβάνει την αφυδρογονάση, την καταλάση, τη φωσφατάση, την πρωτεάση και τη β- γλυκοσιδάση. Μερικές από αυτές τις εκφράσεις αναδιατυπώθηκαν κατά τη διάρκεια της επόμενης δεκαετίας (Stefanic, 1994). Αυτές οι εκφράσεις είναι ουσιαστικά πολυωνυμικοί τύποι στους οποίους οι τιμές της δραστηριότητας των ενζύμων πολλαπλασιάζονται με εμπειρικούς παράγοντες. Το μειονέκτημα τους είναι η έλλειψη μιας σταθερής και αντικειμενικής τιμής αναφοράς.

Το 1994 έγινε μια διαφορετική προσέγγιση από τον Sinsabaugh, που ερεύνησε τη διαδικασία υποβάθμισης των φυτικών υπολειμμάτων του εδάφους, λαμβάνοντας υπ΄ όψιν έναν μεγάλο αριθμό ενζύμων που συμμετείχαν στη διαδικασία. Ένα σημαντικό πρόβλημα σε αυτή την έρευνα ήταν ότι οποιοδήποτε από αυτά τα ένζυμα δημιουργεί ένα βραχυκύκλωμα στη διαδικασία αποσύνθεσης, με αποτέλεσμα να εμφανίζονται απώλειες στην λειτουργία του εδάφους, και επομένως, στην ποιότητα του. Οι ερευνητές που προώθησαν αυτήν την ιδέα θεώρησαν έξι ένζυμα ως θεμελιώδη στο χαρακτηρισμό της γενικής βιοχημικής κατάστασης του χώματος: τη b-1-4-γλυκοσιδάση, τη b-1-4-endoglucanase ή endocellulase, τη b-1-4-exoglucanase ή exocellulase, τη b-xylosidase, τη phenol-oxidase και την peroxidase. Με τη χρήση της μεθόδου ανάλυσης PCA (Principal Component Analysis) ο Sinsabaugh ανακάλυψε έναν παράγοντα, τον οποίο ονόμασε lignocellulosic, και ο οποίος όταν ενσωματώνεται στη διαδικασία αποσύνθεσης των απορριμμάτων, συσχετίζεται άμεσα με το ποσοστό της απώλειας βάρους των φυτικών υπολειμμάτων κατά τη διάρκεια του χρόνου. Η χρήση σύνθετων δεικτών θεωρήθηκε από τον Nannipieri (2002) ως η καλύτερη λύση μεταξύ εκείνων που χρησιμοποιούν τις βιοχημικές ιδιότητες ως δείκτες της ποιότητας του εδάφους λόγω της ακριβούς επιλογής των ενζυμικών δραστηριοτήτων του. Ένα μειονέκτημα που παρουσιάζεται σε αυτήν την προσέγγιση είναι ότι εξετάζει μόνο τα ένζυμα του κύκλου του άνθρακα, και αγνοεί τα ένζυμα από τους κύκλους των υπόλοιπων στοιχείων (N, P και S) Συνεπώς, αποτελεί έναν καλό δείκτη της ικανότητας του εδάφους για την αποσύνθεση του lignocellulosic υλικού, αλλά όχι της συνολικής ικανότητας του χώματος στην διάσπαση όλων των οργανικών ενώσεων.

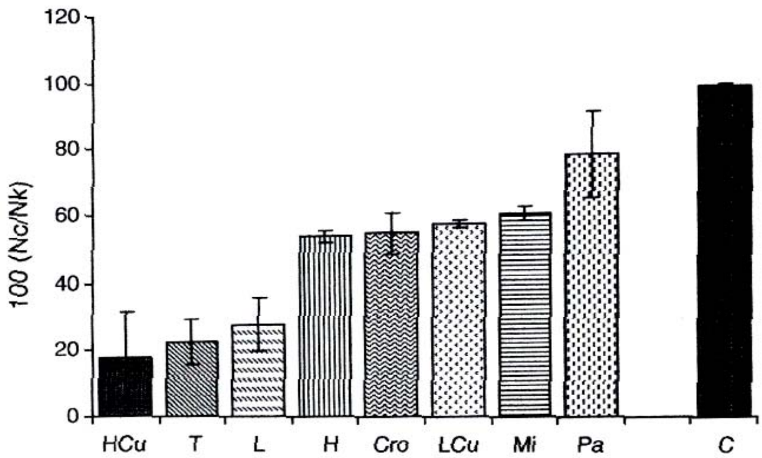
Μια παρόμοια τεχνική χρησιμοποιήθηκε από τους Monreal και Bergstrom το 2000, οι οποίοι μέσω της μεθόδου PCA ανακάλυψαν έναν παράγοντα αποσύνθεσης που είχε την ικανότητα να εξηγήσει κατά 96% τις διαφοροποιήσεις στην ενζυμική δραστηριότητα του εδάφους εξαιτίας της καλλιέργειας και του οργώματος, Όπως ανακάλυψαν, οι διαφοροποιήσεις οφείλονται κυρίως στη δραστηριότητα των ενζύμων β-γλυκοσιδάση, αφυδρογονάση και λ- γλουταμινάση. Εντούτοις, και με στόχο την απλούστευση της διαδικασίας, ο Fioretto το 2001 προτίμησε να εξετάσει μόνο τη δραστηριότητα της α-αμυλάσης και της β-αμυλάσης μεταξύ όλων των ενζύμων που εμπλέκονται στη διαδικασία αποσύνθεσης του εδάφους.

Η αναζήτηση ενός παράγοντα αποσύνθεσης, βασισμένου στη δραστηριότητα των διαφορετικών ενζύμων, θα μπορούσε να θεωρηθεί ως μία καλή επιλογή. Δυστυχώς, δεν είναι διαθέσιμο κανένα στοιχείο για να αξιολογήσει την απόκριση αυτών των παραγόντων αποσύνθεσης στην παρουσία μολυσματικών παραγόντων ή οποιωνδήποτε άλλων που οδηγούν στην υποβάθμιση του εδάφους, το οποίο σημαίνει ότι δεν είναι δυνατό να κριθεί η αξία αυτής της προσέγγισης με οποιοδήποτε βαθμό βεβαιότητας.

Οι Trasar-Cepeda το 1998 απέδειξαν ότι σε τοπικά εδάφη που βρίσκονται στο αποκορύφωμα της βλάστησης τους χωρίς ανθρώπινη παρέμβαση, το βιοχημικό ισοζύγιο, που είναι χαρακτηριστικό ενός ώριμου σταθερού οικοσυστήματος, μπορεί να εκφραστεί από μαθηματική άποψη ως συνδυασμός διάφορων μικροβιολογικών και βιοχημικών παραμέτρων:

$$\begin{aligned}
&TotalN = 0.38*10^{-3} MicrobialBiomassC \\
&+1.40*10^{-3} MineralizedN \\
&+13.60*10^{-3} Phosphomonoesterase \\
&+8.90*10^{-3} \beta - glucosidase + 1.60*10^{-3} Urase
\end{aligned}$$

Λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι αυτή η εξίσωση λήφθηκε χρησιμοποιώντας εδάφη στο αποκορύφωμα της καλλιέργειας τους, και όντας στατιστικά αποδεκτή (R^2=0,98, P<0.001), οι Trasar και Cepeda (1998) πρότειναν ότι οποιαδήποτε διαταραχή ή πίεση στο έδαφος θα τροποποιήσει αυτήν την σχέση κατά τέτοιο τρόπο ώστε το συνολικό άζωτο που υπολογίζεται από αυτήν την εξίσωση (Nc) να είναι χαμηλότερο ή υψηλότερο από τη συνολική περιεκτικότητα σε άζωτο που μετριέται με τη μέθοδο Kjeldhal (Nk). Επομένως, η αναλογία Nc/Nk θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ποσοτικά ως δείκτης του βαθμού υποβάθμισης ή διαταραχής του εδάφους. Οι ίδιοι ερευνητές υιοθέτησαν αυτήν την προσέγγιση για να αξιολογήσουν τη μείωση της ποιότητας στα χώματα που επηρεάζονται από τη διαχείριση, από τη μόλυνση με οργανικά απόβλητα αποχέτευσης και από βαρέα μέταλλα. Παρατήρησαν ότι αυτή η σχέση διαφοροποιούνταν μεταξύ χωμάτων υπό πίεση (δηλ. χωμάτων με περισσότερη βιοχημική δραστηριότητα από ότι αναμενόταν βάσει του συνολικού περιεχομένου τους σε N, για παράδειγμα εδάφη που δέχονται λίπανση με λιπάσματα ή με προϊόντα που υποκινούν τη μικροβιακή δραστηριότητα) και εκείνων που υποβαθμίζονται πραγματικά. Επιπλέον, με αυτήν την προσέγγιση είναι δυνατό να γίνει διάκριση των συνεπειών που οφείλονται σε οποιαδήποτε προγενέστερη προσθήκη ρύπων, και επίσης διάκριση μεταξύ των διαφορετικών ρύπων βάση των διαφορετικών βαθμών υποβάθμισης που μπορούν να προκαλέσουν στο έδαφος (σχήμα 1.3). Παρά αυτά τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα, αυτή η εξίσωση έχει χρησιμοποιηθεί μόνο για εδάφη σε μια ορισμένη γεωγραφική περιοχή, γεγονός που καθιστά δύσκολο να γνωρίζουμε εάν η εφαρμογή της είναι γενικότερη. Επιπλέον, ως μειονέκτημα αυτής της μεθόδου, ο Nannipieri (2002) θεώρησε αυτήν την εξίσωση πολύ εμπειρική και τους λόγους για τους οποίους χρησιμοποιούνται βιοχημικές και μικροβιολογικές παράμετροι ιδιαίτερα ασαφείς.



Σχήμα 1.3. Τιμές 100 (Ncl/Nk) σε καλλιεργημένα εδάφη (Cro), εδάφη λιβαδιού (Pa), ορυχείων (Mi), εδάφη που μολύνονται με υψηλές και χαμηλές δόσεις χαλκού (HCu και LCu, αντίστοιχα), με απόβλητα αποχέτευσης οδόστρωσης (L), με απόβλητα βυρσοδεψίων (T), με υπολείμματα diesel (H) και εδάφη στο αποκορύφωμα της βλάστησης (C). (Gil-Sotres, 2005)

Οι επιστήμονες Dilly και Blume το 1998 ανέφεραν ότι η χρήση δεικτών που συνδυάζουν δεδομένα από έναν μικρό αριθμό βιοχημικών παραμέτρων θα μπορούσε να καλύψει τα σημαντικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα σε ένα εδαφικό οικοσύστημα. Για αυτόν τον λόγο, θεώρησαν ότι είναι καλύτερο να επιλεχτεί ένα σύνολο 10 βασικών βιοχημικών ιδιοτήτων σχετικών με:

(α) το περιεχόμενο σε βιομάζα (βιομάζα C που μετρήθηκε με τη μέθοδο fumigation-extraction)

(β) τη γενική μικροβιακή δραστηριότητα (βασική αναπνοή, δραστηριότητα αφυδρογονασών) και

(γ) την ειδική μικροβιακή δραστηριότητα (β-γλυκοσιδάση, πρωτεάση, και φωσφατάση).

Μια άλλη μέθοδος στη χρήση ενός συνόλου βιοχημικών παραμέτρων που αυτήν την περίοδο είναι πολύ διαδεδομένη περιλαμβάνει στατιστικές τεχνικές (παραμετρικές και μη παραμετρικές). Αυτή η μέθοδος αναφέρθηκε αρχικά από τους Larson και Pierce το 1991 όταν περιέγραψαν (ακόμα κι αν δεν έκαναν τις συγκεκριμένες διατυπώσεις) μαθηματικές εξισώσεις που περιλαμβάνουν ελάχιστα σύνολα στοιχείων και εφάρμοσαν στατιστικές έννοιες για την αξιολόγηση της ποιότητας του εδάφους. Όσον αφορά τη χρήση των στατιστικών τεχνικών που χρησιμοποιούν αποκλειστικά τις βιολογικές και βιοχημικές ιδιότητες του εδάφους, οι ακόλουθες προσεγγίσεις είναι άξιες λόγου.

Ο Bentham το 1992 χρησιμοποίησε τη μέθοδο PCA προκειμένου να αξιολογήσει το βαθμό αποκατάστασης εδαφών ορυχείων. Η ανάλυση, βασισμένη στη μέθοδο PCA, κάνει διάκριση μεταξύ διαφορετικών βιότοπων, βασισμένη στη συγκέντρωση τριών διαφορετικών βιοχημικών δεικτών (δραστηριότητα αφυδρογονασών, ATP και περιεκτικότητα σε ergosterol). Η ταξινόμηση των βιότοπων βασισμένη σε μια τρισδιάστατη ρύθμιση των βιοχημικών ιδιοτήτων του εδάφους θα μπορούσε να εφαρμοστεί προκειμένου να ελεγχθεί η δυνατότητα και η πρόοδος αποκατάστασής των χωμάτων. Το 1993 χρησιμοποιήθηκαν, εναλλακτικά, από τον Smith, πολλαπλοί-μεταβλητοί δείκτες (multiple-variable indicator kriging, MVIK), οι οποίοι ενσωματώνουν τις διαφορετικές ιδιότητες του εδάφους σε μία ενιαία, ως κοινό δείκτη με στόχο την πρόβλεψη της πιθανότητας μια περιοχή να ικανοποιεί συγκεκριμένα ποιοτικά πρότυπα. Παρόμοιες προσεγγίσεις υιοθετήθηκαν επίσης από τον Yakovchenko το 1996, ο οποίος χρησιμοποίησε τις παραμέτρους που συνάγονται από τη σχέση μεταξύ του ποσού του N που λαμβάνεται από τη συγκομιδή, και του ανοργανοποιημένου αζώτου (μικροβιακή αναπνοή συν καθαρό ανοργανοποιημένο N) κατά τη διάρκεια της εποχής ανάπτυξης των καλλιεργειών. Ο Halvorson το 1996 συνδύασε έξι μεταβλητές, μετατρέποντας τις σε μια ενιαία μεταβλητή (MVIT). Η μεταβλητή αυτή όταν εξετάζεται σύμφωνα με τα ποιοτικά κριτήρια του εδάφους, παρέχει τη δυνατότητα δημιουργίας χαρτών που παρουσιάζουν την πιθανότητα ενός χώματος να είναι υψηλής ή χαμηλής ποιότητας. Οι Wander και Bollero το 1999, χρησιμοποιώντας επίσης προηγμένες στατιστικές τεχνικές, κατέδειξαν ότι η χρήση των πρακτικών μη-οργώματος βελτιώνει τη βιολογική και φυσική κατάσταση του χώματος, και ότι ένα νέο βήμα στην αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας θα μπορούσε να είναι ο καθορισμός της βιολογικής και περιβαλλοντικής σχέσης ανάμεσα στην ποιότητα του εδάφους και στις διαδικασίες που αυτό υφίσταται σε περιφερειακό επίπεδο. Οι ερευνητές αυτοί επισήμαναν ότι μόνο με την ανάπτυξη αποδοτικών και συνεπών στρατηγικών είναι δυνατόν ο προσδιορισμός της ποιότητας του εδάφους να έχει πρακτική σημασία στους αγρότες και τους υπεύθυνους για τη λήψη αποφάσεων.

Εν ολίγοις, η χρήση σύνθετων εκφράσεων στις οποίες περιλαμβάνονται διάφορες βιοχημικές παράμετροι εμφανίζεται να είναι μια ελπιδοφόρα μέθοδος. Ο συνυπολογισμός διαφορετικών βιοχημικών ιδιοτήτων καθιστά καλύτερη την απεικόνιση της πολυπλοκότητας του εδαφικού συστήματος, και οι σύνθετες εκφράσεις φαίνονται επίσης να είναι καταλληλότερες για τον καθορισμό της εδαφικής ποιότητας, τουλάχιστον για τις συνθήκες για τις οποίες έχουν σχεδιαστεί. Το κύριο μειονέκτημα των σύνθετων δεικτών είναι ότι δεν έχουν εξεταστεί σε τοποθεσίες ή κάτω από άλλες συνθήκες εκτός εκείνων για τους οποίες σχεδιάστηκαν, και λόγω αυτού αυτή τη στιγμή δεν υπάρχει κανένας τρόπος να διαπιστωθεί αν είναι ευρέως έγκυρες. Το γεγονός αυτό μας υποδεικνύει ότι, για να ανακαλυφθεί μια γενική έκφραση για την αξιολόγηση της ποιότητας του εδάφους, είναι απαραίτητο να εκτελεσθεί μια έντονη και συντονισμένη εργασία σε διεθνές επίπεδο.

1.3 Αξιολόγηση της ποιότητας του εδάφους στα κράτη της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Οι συζητήσεις για τη "εδαφική ποιότητα" και τον καθορισμό της προέρχονται κυρίως από την πολιτική προστασίας του εδάφους της Ολλανδίας, ο κεντρικός στόχος της οποίας είναι η συντήρηση της "υψηλής ποιότητας του εδάφους". Οι συζητήσεις αυτές, προέκυψαν από τα ολλανδικά προβλήματα με τα μολυσμένα χώματα και τον καθαρισμό τους, και την ανάγκη να καθοριστούν τα πρότυπα που πρέπει να επιτευχθούν με τη διαδικασία καθαρισμού.

Άλλες χώρες δεν έχουν ασχοληθεί τόσο πολύ με τον καθορισμό της ποιότητας του εδάφους και τον καθορισμό των προτύπων και των τιμών αναφοράς. Στη Γερμανία, παραδείγματος χάριν, το Massnahmen zum Bodenschutz δεν περιέχει κατάλογο τιμών αναφοράς και προτύπων όσον αφορά την ποιότητα του εδάφους. Ο λόγος είναι ότι υπάρχουν επιστημονικές όπως επίσης και νομικές δυσκολίες στον καθορισμό των προτύπων της εδαφικής ποιότητας. Επιπλέον, ο καθορισμός των προτύπων της ποιότητας του εδάφους που διαφοροποιούνται ανάλογα με τον τύπο του θα απαιτούσε έναν επίσημο χάρτη κατάλληλης κλίμακας που θα κάλυπτε οποιοδήποτε τομέα ανησυχίας. Τέτοιου είδους χάρτες δεν είναι ακόμα διαθέσιμοι. Αυτή τη στιγμή τα μόνα πρότυπα και όρια που έχουν καθοριστεί στη Γερμανία είναι εκείνα που αναφέρονται στην υπηρεσία Klarschlammverordnung (υπηρεσία λυμάτων), όπου τίθενται τα όρια για επτά βαρέα μέταλλα.

Στη Γαλλία ο όρος "ποιότητα του εδάφους" χρησιμοποιείται υπό μια πολύ ευρεία έννοια, που καλύπτει τόσο τα φαινόμενα της φυσικής, χημικής, και βιολογικής υποβάθμισης του όσο και τα προβλήματα της τοξικότητας, των βαρέων μετάλλων, και των φυτοφαρμάκων. Στη Δανία δεν καθορίζεται κανένα πραγματικό πρότυπο εδαφικής ποιότητας, αν και ο νόμος προστασίας του περιβάλλοντος επιτρέπει στον Υπουργό να προχωρήσει στον καθορισμό τους. Παρόλα αυτά δεν έχει γίνει καμία προσπάθεια ώστε να καθοριστούν τα "καλής ποιότητας" εδάφη, νερά και αέρας. Στο Ηνωμένο Βασίλειο η έννοια της εδαφικής ποιότητας είναι αρκετά ευρεία, και συσχετίζεται με τη βαθμολόγηση του εδάφους στο πλαίσιο του συστήματος ταξινόμησης γεωργικών εδαφών MAFF.

Στην Ολλανδία, έχει προταθεί ότι οι τιμές αναφοράς για μια "υψηλή εδαφική ποιότητα" πρέπει να είναι τέτοιες ώστε το έδαφος να μην έχει κανενός είδους αρνητική συνέπεια για τα ανθρώπινα όντα ή ζώα με χρήση του, να μπορεί να λειτουργήσει στους φυσικούς κύκλους χωρίς περιορισμό, και να μη μολύνει άλλα μέρη του περιβάλλοντος. Για τα βαρέα μέταλλα και τις οργανικές χημικές ουσίες, ο Vegter υπέθεσε την ύπαρξη μιας γραμμικής σχέσης μεταξύ του ποσού ενός βαρέως μετάλλου και της περιεκτικότητας του εδάφους σε άργιλο και οργανική ουσία, και υπολόγισε μια τιμή αναφοράς για ένα "μέσο χώμα". Σε ένα έγγραφο συζήτησης που κυκλοφόρησε από το ολλανδικό Υπουργείο Φυσικού Προγραμματισμού και Περιβάλλοντος το μέγιστο εύρος των τιμών αναφοράς για μια δεδομένη ουσία προτάθηκε ως προσωρινή τιμή αναφοράς για την "υψηλή ποιότητα του εδάφους". Εντούτοις, ο Lexmond (1986) θεώρησε την προσέγγιση του Vegter ακατάλληλη και υπολόγισε νέες "μέσες τιμές". Οι τιμές αυτές μετατράπηκαν στη συνέχεια σε "τιμές αναφοράς της εδαφικής ποιότητας". Η διαδικασία αυτή οδήγησε στην παραγωγή τύπων που επέτρεψε στις τιμές αναφοράς να διαφοροποιηθούν για συγκεκριμένα χώματα με διαφορετικό περιεχόμενο αργίλου και οργανικής ουσίας αν και ο Lexmond (1986) διαφώνησε με την πρακτική αυτή.

Οι ολλανδικές τιμές αναφοράς για την ποιότητα του εδάφους δεν έχουν υπολογιστεί μέχρι τώρα βάση των οικο-τοξικολογικών στοιχείων. Ο οικολογικός κίνδυνος ύπαρξης μιας χημικής ουσίας στο περιβάλλον μπορεί να οριστεί ως η πιθανότητα έκθεσης ενός τυχαίου είδους μιας μεγάλης κοινότητας σε συγκεντρώσεις χημικού μεγαλύτερές από το επίπεδο που δεν το επηρεάζουν. Ο κίνδυνος μπορεί να εκτιμηθεί μόνο εφόσον είναι γνωστά τόσο τα επίπεδα συγκέντρωσης της ουσίας στο περιβάλλον όσο και τα επίπεδα μη επίδρασης της ουσίας αυτής. Αντιθέτως, μπορεί να υπολογιστεί μια τιμή στο περιβάλλον ("συμβουλευτική τιμή") έτσι ώστε ο κίνδυνος να μην υπερβαίνει ένα ορισμένο κατώτατο όριο. Ο Van Straalen (1990) παρήγαγε τέτοιους τύπους χρησιμοποιώντας ένα κατώτατο όριο κινδύνου 5% (στο οποίο συμπεριλαμβάνεται ένα περιθώριο αβεβαιότητας για να επιτρέψει την δημιουργία λαθών). Χρησιμοποιώντας εδαφικά στοιχεία, οι συμβουλευτικές τιμές υπολογίστηκαν για τις μέγιστες συγκεντρώσεις του καδμίου, του μολύβδου, του λιντανίου και της ατραζίνης σε ένα "καθαρό" έδαφος. Εκτός από το μόλυβδο, η μεγαλύτερη διαφορά μεταξύ των συμβουλευτικών τιμών και των τιμών αναφοράς από το ολλανδικό υπουργείο περιβάλλοντος ήταν για το κάδμιο (0,16 και 0.8/ μg/g, αντίστοιχα). Η συμβουλευτική τιμή του μολύβδου ήταν μεγαλύτερη από την τιμή αναφοράς (112 και 85 μg/g αντίστοιχα), γεγονός που υποδεικνύει ότι ο μόλυβδος στο χώμα δεν είναι τόσο μεγάλο πρόβλημα για τους εδαφικούς οργανισμούς όταν οι συγκεντρώσεις του είναι συγκρατημένα υψηλότερες από κάποια επίπεδα.

Η φυσική μεταβλητότητα μεταξύ και μέσα στα εδάφη και οι παραλλαγές στον αντίκτυπο που προκαλεί μια δεδομένη πίεση στις εδαφικές διαδικασίες και λειτουργίες σημαίνουν ότι δεν υπάρχει μόνο μια παράμετρος που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να καθορίσει την "εδαφική ποιότητα" ή τις "δυσμενείς αλλαγές". Αντίθετα για τον καθορισμό αυτό θα απαιτούταν μια σειρά παραμέτρων αναφοράς. Αλλά ακόμη και αν δίνονταν μια τέτοια σειρά δεν υπάρχει μόνο ένα σύνολο τιμών αναφοράς για εκείνες τις παραμέτρους που να μπορεί να καθορίσει "την ποιότητα" .

Η βρετανική άποψη είναι ότι υπάρχουν και θεωρητικές και πρακτικές αντιρρήσεις στις ολλανδικές μεθόδους για τα πρότυπα εδαφικής ποιότητας, ακόμα κι αν ήταν δυνατό να συμφωνηθεί γιατί απαιτούνται τα πρότυπα αυτά και πώς πρέπει να χρησιμοποιηθούν. Οι θεωρητικές (επιστημονικές) αντιρρήσεις είναι: (ι) οι τιμές είναι υπολογισμένες με βάση τις συγκεντρώσεις "μέσου υποβάθρου". Οι τοπικές συγκεντρώσεις υποβάθρου που βρίσκονται στα διαφορετικά μέρη της Βρετανίας ποικίλλουν εμφανώς και δεν μπορεί να επιλεχτεί ούτε μια αξία "μέσου υποβάθρου" (ΙΙ) υπάρχουν αβεβαιότητες όσον αφορά την επάρκεια και την αντιπροσωπευτικότητα των δειγμάτων από τα οποία προσδιορίστηκαν οι τιμές "μέσου υποβάθρου" και (ΙΙΙ) υπάρχει αβεβαιότητα στο συσχετισμό των περιοχών που επιλέγονται για να καθορίσουν τις μέσες τιμές υποβάθρου με εκείνους που βρίσκονται σε άλλες περιοχές (π.χ. περιοχές που περιλαμβάνονται στα προγράμματα καθαρισμού ή τα εγκαταλελειμμένα σχέδια αποκατάστασης εδάφους). Οι κύριες αντιρρήσεις στα πλαίσια της βρετανικής πολιτικής είναι: (ι) εάν, πολλές περιοχές που βρίσκονται ήδη σε βιομηχανική ή αστική χρήση, κρίνονται ενάντια στις συγκεντρώσεις "μέσου υποβάθρου", θα εμφανιστούν "να μολύνονται" όταν στην πραγματικότητα η μόλυνση δεν παρουσιάζει κανέναν κίνδυνο για την παρούσα χρήση τους και (ΙΙ) οι τιμές δεν λαμβάνουν υπόψη ούτε τις παρούσες ούτε τις μελλοντικές χρήσεις εδάφους, αν και η πραγματική σημασία της εδαφικής μόλυνσης εξαρτάται εμφανώς από τη χρήση.

Από την άποψη αυτή, είναι εφικτό, στις περισσότερες περιπτώσεις να υπάρχουν αξιολογήσεις της εδαφικής ποιότητας που περιλαμβάνουν εκτιμήσεις της τωρινής ή μελλοντικής χρήσης του εδάφους, π.χ. διάφορες ταξινομήσεις της καταλληλότητας του εδάφους για συγκεκριμένες συγκομιδές ή της ικανότητας του εδάφους να υποστηρίξει την γεωργική χρήση. Οι αξιολογήσεις αυτές περιλαμβάνουν τη σύγκριση των πραγματικών ιδιοτήτων του εδάφους με τις απαραίτητες τιμές για μια σειρά χρήσεών του. Αν και ακόμα η αξιολόγηση αυτή δεν έχει ενσωματωθεί τυπικά στις πολιτικές των κρατών, η βρετανική άποψη είναι ότι το έδαφος πρέπει μόνο να είναι κατάλληλο για άμεση χρήση. Όταν η χρήση του εδάφους αλλάζει την κατάσταση του μπορεί να περιορίσει και την επιλογή της μελλοντικής του χρήσης. Όταν συμβαίνει αυτό, τότε στη συνέχεια μπορούν να πραγματοποιηθούν τα κατάλληλα διορθωτικά μέτρα μέσα στο πλαίσιο των προτάσεων αποκατάστασης εδάφους ή της ανάπτυξης περιοχών. Εντούτοις, τα διορθωτικά μέτρα μπορούν να είναι πάρα πολύ ακριβά ή αδύνατα στην πραγματοποίηση τους, για παράδειγμα εάν το χώμα μολύνεται από βαρέα μέταλλα. Οι δυνατότητες επομένως τέτοιων εδαφών είναι περιορισμένη.

Ο Blum (1989) ανέφερε την ανάγκη να δοθεί προτεραιότητα στη διεθνή τυποποίηση των μεθόδων για την αξιολόγηση της εδαφικής ποιότητας, στην επέκταση του υπάρχοντος χάρτη 1:1.000.000 της Ευρώπης και στα 27 κράτη μέλη του Ευρωπαϊκού Συμβουλίου, και στην προετοιμασία των εδαφικών χαρτών σε μεγαλύτερη κλίμακα (Howard, 1993).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2:ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε με σκοπό τη μελέτη και των καθορισμό της ποιότητας εδαφών με βάση κάποιες συγκεκριμένες και ευρέως αποδεκτές παραμέτρους.

Το έδαφος είναι το στήριγμα ολόκληρης της βιόσφαιρας. Λόγω των διαφόρων δραστηριοτήτων των εδαφικών οργανισμών, οι μόνιμες μετατροπές του πραγματοποιούνται στο έδαφος μεταξύ της ανάπτυξης και της αποσύνθεσης, της ζωής και του θανάτου. Κατά συνέπεια, κατά έναν βιολογικό και βιοχημικό τρόπο, το έδαφος αντιπροσωπεύει το σημαντικότερο σύνθετο μέσο διασύνδεσης για τη ολική ανταλλαγή υλικών και ενέργειας στο περιβάλλον. Μόνο ένα υγιές, δηλαδή βιολογικά ενεργό έδαφος, επιτρέπει την ικανοποιητική παραγωγή τροφίμων και χλωρίδας για τον αυξανόμενο ανθρώπινο πληθυσμό. Για δεκαετίες τα χώματα υπόκεινται όλο και περισσότερο στη ρύπανση και άλλες δυσμενείς παρενέργειες των διαφορετικών ανθρώπινων δραστηριοτήτων που έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στους εδαφικούς οργανισμούς. Η εδαφική ποιότητα γίνεται κατανοητή ως η αξία των συνθετικών δομών και των φυσικών λειτουργιών του εδάφους σε σχέση με την χρήση του και τις περιβαλλοντικές συνθήκες στην περιοχή. Η ποιότητα του εδάφους ασκεί επίδραση (1) στην εδαφική παραγωγικότητα (2) στην ποιότητα και ασφάλεια των τροφίμων (3) στην υγεία του ανθρώπου και των ζώων (4) στην ποιότητα του περιβάλλοντος. Για όλους τους παραπάνω λόγους είναι πολύ σημαντική η ύπαρξη μιας μεθόδου για τον καθορισμό της ποιότητας του εδάφους.

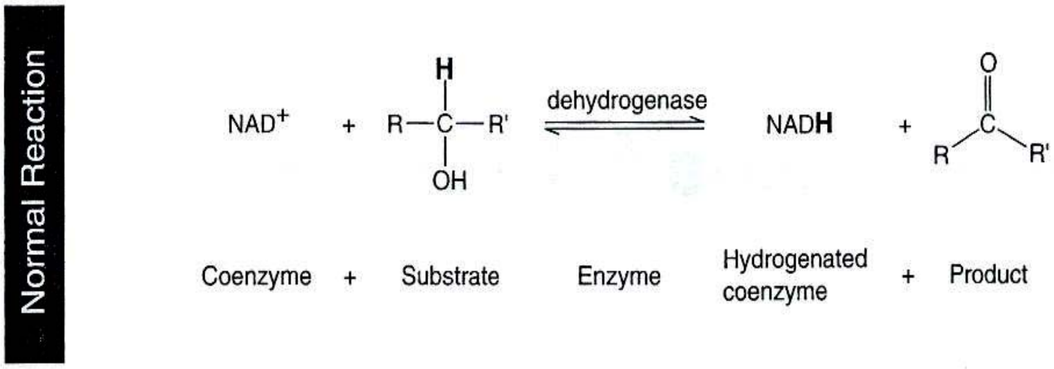
Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ποιότητα των εδαφών με τη χρήση των παραμέτρων της αφυδρογονάσης, των υδρογονανθράκων και της συγκέντρωσης σε βιομάζα N και C. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης αποτελεί ένδειξη του μεταβολισμού του μικροβιακού πληθυσμού του εδάφους. Οι υδρογονάνθρακες του εδάφους αποτελούν το 5 έως 25% του οργανικού του υλικού και άρα αποτελούν το κύριο συστατικό της οργανικής ουσίας (OM) και σημαντικό δείκτη για το βαθμό επηρεασμού του εδάφους από τη διαχείρισή του. Ακόμα κι αν ο μακροπρόθεσμος ρόλος τους στην εδαφική φυσική βελτίωση είναι ακόμα αμφισβητούμενος, είναι μια σημαντική πηγή ενέργειας για την μικροβιακή του δραστηριότητα. Τέλος η βιομάζα C και N αντιπροσωπεύει το ζωντανό τμήμα της οργανικής ουσίας του εδάφους και συμμετέχει σε πολλές σημαντικές διαδικασίες του εδάφους όπως για παράδειγμα στη μεταφορά θρεπτικών ουσιών, στις μετατροπές του C, N, P και S, στην υποβάθμιση των ξενοβιοτικών οργανικών ενώσεων, στην ακινητοποίηση των βαρέων μετάλλων και στο σχηματισμό της δομής του εδάφους. Για όλους τους λόγους που προαναφέρθηκαν οι παράμετροι αφυδρογονάση, υδρογονάνθρακες και βιομάζα N και C αποτελούν πολύ σημαντικούς δείκτες της ποιότητας του εδάφους και της μεταβολής της όταν αυτό υπόκειται σε ανθρώπινη διαχείριση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3:ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΕΔΑΦΟΥΣ ΠΟΥ ΜΕΛΕΤΗΘΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΕΡΓΑΣΙΑ

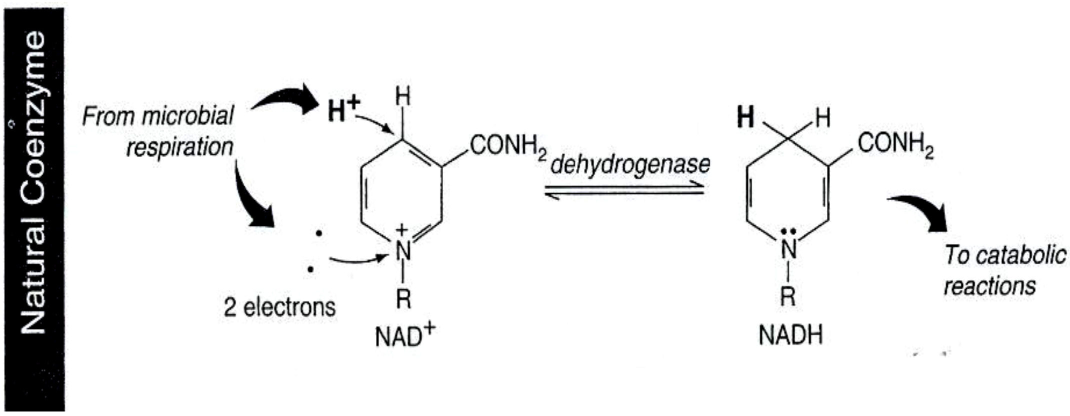
3.1 Αφυδρογονάση

Ένας βασικός παράγοντας για τον καθορισμό της μικροβιακής δραστηριότητας και της βιομάζας στα εδάφη είναι το ένζυμο που ονομάζεται αφυδρογονάση.

Οι αφυδρογονάσες είναι ένζυμα που υπάρχουν σε όλους τους ζώντες οργανισμούς. Η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης αποτελεί ένδειξη του μεταβολισμού του μικροβιακού πληθυσμού και άρα της οξειδωτικής μικροβιακής δραστηριότητας στα εδάφη. Οι αφυδρογονάσες που υπάρχουν στο εσωτερικό των κυττάρων ανήκουν στην κατηγορία των οξειδοαναγωγών. Καταλύουν την οξείδωση των οργανικών ενώσεων διαχωρίζοντας δύο άτομα υδρογόνου και μεταφέροντας ζεύγη ηλεκτρονίων. Ένα παράδειγμα μεταφοράς ηλεκτρονίου με τη συμμετοχή της αφυδρογονάσης παρουσιάζεται στα σχήματα 3.1 και 3.2. Στις καταβολικές αντιδράσεις, δηλαδή στις αντιδράσεις μετατροπής περίπλοκων και υψηλής ενέργειας ενώσεων σε απλούστερες ενώσεις, οι αφυδρογονάσες καταλύουν τη μεταφορά ζεύγους ηλεκτρονίων από το υπόστρωμα σε νικοτιναμίδια αδενίνια νουκλεοτίδια (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD+) με σκοπό το σχηματισμό NADH. Το NADH, στη συνέχεια, μεταφέρει το ζεύγος ηλεκτρονίων σε άλλες ενώσεις, αποτελώντας το διάμεσο για τη μεταφορά αυτή. Στις αναβολικές αντιδράσεις, το ρόλο του NADH εκτελεί το φωσφορικό νικοτιναμίδιο αδενίνιο νουκλεοτίδιο (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP+) το οποίο με την παρουσία της αφυδρογονάσης ενώνει δύο άτομα υδρογόνου για την εξισορρόπηση του φορτίου. Έτσι μέσω της αφυδρογονάσης το άτομο του υδρογόνου λαμβάνει μέρος στο σύστημα ενζύμων όλων των μικροοργανισμών (ένζυμα του αναπνευστικού μεταβολισμού, κιτρικός κύκλος, μεταβολισμός του αζώτου) χρήζοντάς την έναν πολύ σημαντικό δείκτη των μικροβιολογικών συστημάτων αναγωγής και της οξειδωτικής μικροβιακής δραστηριότητας στα εδάφη.

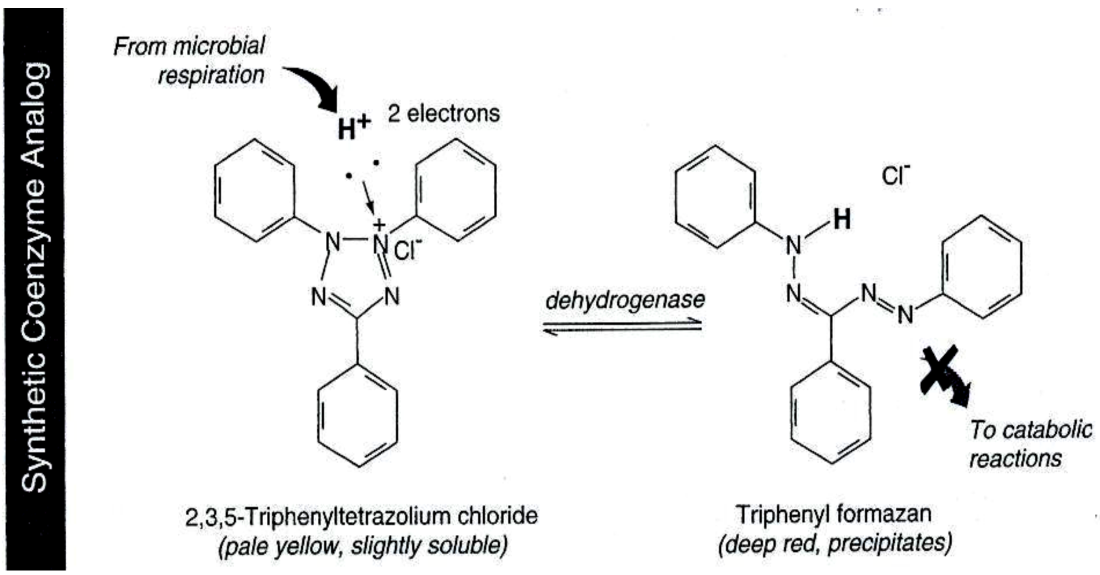


Σχήμα 3.1. Το NAD+ ανάγεται σε NADH μέσω της μεταφοράς δύο ηλεκτρονίων και δύο ιόντων υδρογόνου από πολυάριθμες ενώσεις με την παρουσία της αφυδρογονάσης (από τα δύο ιόντα υδρογόνου μόνο το ένα συμμετέχει στην αντίδραση)



Σχήμα 3.2. Αναπαράσταση της χημικής μετατροπής την οποία υφίσταται το NAD+ κατά την αναγωγή του σε NADH. Στη συνέχεια το NADH λαμβάνει μέρος στην αναγωγή άλλων ενώσεων.

Για τη μέτρηση της αφυδρογονάσης χρησιμοποιούνται διαλυτά tetrazolium άλατα όπως το 2,3,5 triphenyltetazolium chloride (TTC) ή το iodonitrotetrazolium chloride (INT) στα οποία μεταφέρεται το διασπασμένο από την αφυδρογονάση υδρογόνο. Από τη διαδικασία αυτή σε αναερόβιες συνθήκες προκύπτει η μετατροπή του TTC σε 2,3,5 triphenyl formazan, όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 3.3, με την μεταφορά ηλεκτρονίων μέσω της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης. Το αποτέλεσμα είναι το υποκίτρινο διάλυμα του TTC να μετατρέπεται σε μία αδιάλυτη κόκκινη χρωστική ουσία (TPF). Με την φωτομέτρηση του δείγματος διαπιστώνεται η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης και κατά συνέπεια μετράται η ποσότητα του ενζύμου.



Σχήμα 3.3. Το 2,3,5 triphenyltetazolium chloride (TTC) δέχεται ένα ιόν υδρογόνου H+ και δύο ηλεκτρόνια με παρόμοιο τρόπο όπως και το NAD+. Το αποτέλεσμα της αναγωγής είναι η μετατροπή του TTC σε triphenyl formazan. Αντίθετα όμως με το NADH, το triphenyl formazan δε συμμετέχει σε περαιτέρω αντιδράσεις. Ο σχηματισμός του triphenyl formazan καταστρέφει το σύστημα στο οποίο πραγματοποιείται αλλά επιτρέπει τη μέτρηση της μεταβολικής δραστηριότητας λόγω του κόκκινου του χρώματος.

3.2 Υδρογονάνθρακες

Οι υδρογονάνθρακες αποτελούν μια ομάδα φυσικών μακρομορίων που έχει λάβει ιδιαίτερη προσοχή κατά τις τελευταίες δύο δεκαετίες καθώς είναι σημαντικοί παράγοντες της σταθερότητας του εδάφους. Οι υδρογονάνθρακες αντιπροσωπεύουν περίπου το ένα τέταρτο της εδαφικής οργανικής ουσίας, ένα μεγάλο μέρος της οποίας προέρχεται από πολυσακχαρίτες στις ρίζες της χλωρίδας του εδάφους. Το ποσό των υδρογονανθράκων του εδάφους, που είναι παρόντες στην μακροοργανική ουσία ή είναι διαχωρισμένοι ως ένα "μικρό κλάσμα" μέσω διαδικασιών επίπλευσης ή πυκνότητας, είναι ουσιαστικό στα όξινα και αμμώδη χώματα και λιγότερο ουσιαστικό στα ουδέτερα έως αλκαλικά και λασπώδη χώματα. Οι υδρογονάνθρακες που είναι παρόντες στο εδαφικό περιβάλλον αποτελούν μια πηγή άνθρακα και ενέργειας για τη μικροβιακή δραστηριότητα που συμμετέχει στη διατήρηση του εδάφους. Η ένωση μεταξύ των σακχάρων και των συστατικών του χώματος θεωρείται ότι περιλαμβάνει τη συμμετοχή υδρογόνου και ομοιοπολικών δεσμών (Parson και Tinsley, 1961).

Για την εξαγωγή των υδρογονανθράκων χρησιμοποιούνται πολλά μέσα εξαγωγής συμπεριλαμβανομένου του νερού, ανόργανων οξέων, οργανικών αντιδραστηρίων, αλκαλίων και συνδυασμού όλων των ανωτέρω (Swincer, 1968). Εντούτοις, η αποδοτικότητα αυτών των μεθόδων στην εξαγωγή και τον προσδιορισμό των υδρογονανθράκων έχει λάβει μικρή προσοχή λόγω κυρίως των προβλημάτων που συνδέονται με τη μέθοδο ανίχνευσης τους. Προβλήματα που συνδέονται με την ποσοτική εξαγωγή των εδαφικών υδρογονανθράκων έχουν επισημανθεί από πολλούς ερευνητές (Ivarson και Sowden ,1962, Swincer, 1968, Oades, 1972).

Πολλαπλές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση των εδαφικών υδρογονανθράκων όπως η χρωματομετρική μέθοδος (colorimetric assay, Brink, 1960; Dubois, 1956), η αέρια χρωματογραφία (gas chromatography, Cheshire, 1979; Cheshire και Mundie, 1990) και η υγρή χρωματογραφία (liquid chromatography, Angers, 1988 Martens και Frankenberger, 1990). Η πολυπλοκότητα της ανίχνευσης των υδρογονανθράκων οφείλεται στη χημική τους φύση. Τα σάκχαρα είναι μη πτητικά, δεν απορροφούν τη UV ακτινοβολία εκτός από τα πολύ χαμηλά μήκη κύματος (< 210nm) και διαμορφώνουν χρωματικό διάλυμα μόνο μετά από την επεξεργασία τους με πυκνό θειικό οξύ (H_2SO_4) και φαινόλη (Dubois, 1956).

Οι πρόσφατες πρόοδοι στην ιονική μέθοδο χρωματογραφίας και ανίχνευσης (παλόμενη αμπερομετρική ανίχνευση, pulsed amperometric detection) επέτρεψαν το γρήγορο, ευαίσθητο και ιδιαίτερα εκλεκτικό προσδιορισμό των υδρογονανθράκων (Hughes και Johnson, 1981). Οι Martens και Frankenberger (1990, 1991) ανέφεραν ότι η παλόμενη αμπερομετρική ανίχνευση που συνδυάστηκε με τη χρωματογραφία ανταλλαγής ανιόντων αποτελούν ένα καλό συνδυασμό για τον προσδιορισμό των εδαφικών υδρογονανθράκων.

Η χρωματομετρικές μέθοδοι (colorimetric assays) για τον προσδιορισμό των σακχάρων είναι ιδιαίτερα δημοφιλείς επειδή είναι απλές, γρήγορες και δεν απαιτούν την πολύπλοκη χρήση οργάνων εκτός από τη σπεκτροφωτομέτρηση. Εντούτοις, οι χρωματομετρικές μέθοδοι δεν αποκαλύπτουν τη σύσταση των υδρογονανθράκων που είναι παρόντες στο χώμα και είναι επιρρεπείς σε παρεμβάσεις από τα ανόργανα ιόντα του εδάφους. Πρώτος ο McGrath (1973) ανέφερε ότι οι ενώσεις σιδήρου θα μπορούσαν να παρεμποδίσουν την phenol-sulfuric acid ανάλυση των σακχάρων. Ο Doutre (1978), αργότερα, διαπίστωσε ότι οι δύο χρησιμοποιούμενες χρωματομετρικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό των σακχάρων (phenolsulfuric acid και anthrone-sulfuric acid) υπόκειντο στις παρεμβάσεις αυτές και έδιναν ανακριβή αποτελέσματα σε σύγκριση με τις αέριες χρωματογραφικές αναλύσεις (gas chromatographic). Με την αφαίρεση των παρεμβάσεων με τη βοήθεια ρητινών, η phenol-sulfuric acid ανάλυση δίνει συγκρίσιμα αποτελέσματα με εκείνα που λαμβάνονται από την αέρια χρωματογραφία για τη συνολική περιεκτικότητα σε υδρογονάνθρακες (Doutre, 1978). Αντίθετα όσον αφορά την anthrone-sulfuric acid μέθοδο αποδείχτηκε ότι υπάρχουν σοβαρά προβλήματα ακόμα και όταν τα εδαφικά δείγματα επεξεργάζονται με ρητίνες για την αφαίρεση των παρεμβάσεων.

Συμπερασματικά, οι μελέτες που πραγματοποιούνται για τους εδαφικούς υδρογονάνθρακες που καθορίζονται είτε με την anthrone-sulfuric acid είτε με phenol-sulfuric acid μέθοδο πρέπει να περιλαμβάνουν είτε αναλύσεις αέριας χρωματογραφίας (gas chromatography) είτε HPLC (high performance anion-exchange chromatography) αναλύσεις για επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων. Παρόλα αυτά η phenol-sulfuric acid μέθοδος αποτελεί μια βιώσιμη επιλογή για τον προσδιορισμό της συνολικής περιεκτικότητας σε εδαφικούς υδρογονάνθρακες εφόσον τα δείγματα υποβάλλονται σε επεξεργασία ρητινών για την αφαίρεση των ενώσεων που παρεμβαίνουν αρνητικά στις μετρήσεις.

3.3 Μικροβιακή βιομάζα C και N

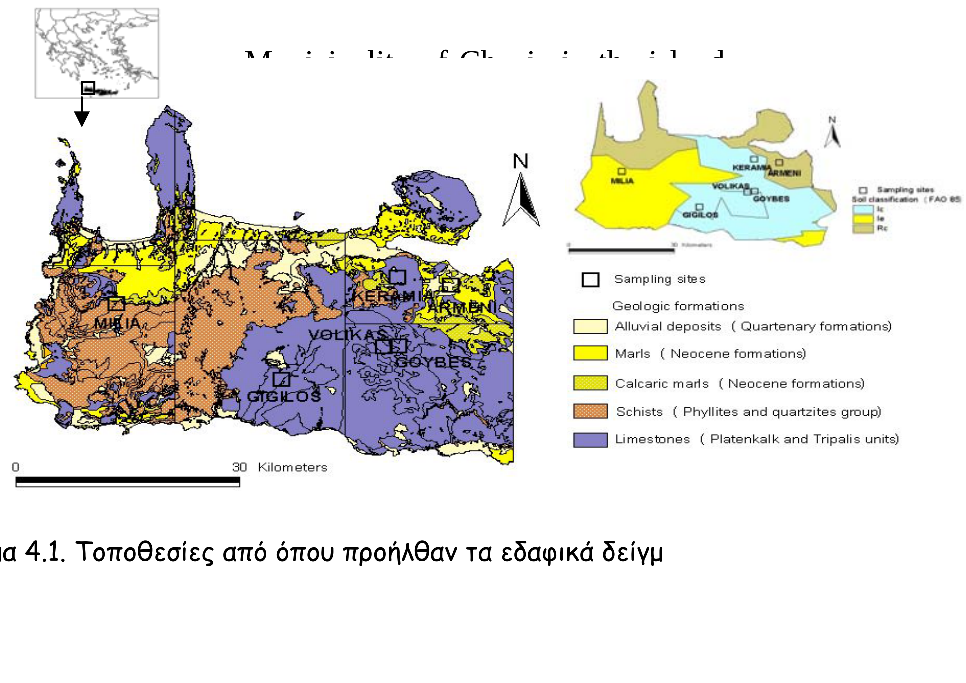
Η μικροβιακή βιομάζα είναι ένας πολύ σημαντικός δείκτης της εδαφικής γονιμότητας και η μέτρησή της είναι ουσιαστική για τις εδαφικές οικολογικές μελέτες. Τα τελευταία χρόνια έχει υπάρξει μια συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση για τις ακριβείς μετρήσεις της εδαφικής μικροβιακής βιομάζας. Οποιαδήποτε έρευνα σε σχέση με την δραστηριότητα των στοιχείων του εδάφους απαιτεί τη γνώση των στοιχείων που αποθηκεύονται στη μικροβιακή βιομάζα. Οι ακριβείς μετρήσεις της βιομάζας είναι ουσιαστικές εάν το έδαφος πρέπει να ελεγχθεί για διάφορους λόγους όπως παραδείγματος χάριν, στον εδαφικό έλεγχο ή για την μέτρηση του ποσοστού φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται. Διάφορες μέθοδοι για την εδαφική μικροβιακή βιομάζα έχουν αναπτυχθεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών. Η βάση για όλες αυτές τις μεθόδους είναι η CHCl3 fumrgation-incubation μέθοδος (FI) των Jenkinson και Powlson (1976). Η μέθοδος αυτή στηρίχτηκε στην υπόθεση ότι η εξάχνωση του εδάφους (fumigation) προκαλεί το θάνατο των μικροβίων αλλά δεν επηρεάζει τη νεκρή οργανική ουσία του. Εντούτοις, η αρχική μέθοδος έχει περιορισμένη εφαρμογή στα εδάφη με χαμηλό ποσοστό υγρασίας, με pH μεγαλύτερο από 4,8 και χωρίς πρόσφατη προσθήκη εύκολα διαλυτών υλικών (Martens, 1985 Jenkinson, 1988). Η χρήση των μεθόδων substrate induced respiration (SIR) (Anderson και Domsch, 1978) και CHCl3 fumigation-extraction (FE) (Vance, 1987) επηρεάζεται λιγότερο από τις εδαφικές συνθήκες γεγονός που αποτελεί τον κύριο λόγο για τον οποίο αυτές οι δύο μέθοδοι χρησιμοποιούνται ευρύτερα. Οι μέθοδοι FI, SIR και FE είναι τα ακριβέστερα εδαφικά βιολογικά εργαλεία διαθέσιμα προς το παρόν για τη μέτρηση της εδαφικής μικροβιακής βιομάζας. Εντούτοις, κάθε μια από τις τρεις μεθόδους είναι κάθε άλλο παρά ιδανική. Αμφιβολίες και αβεβαιότητες εκφράζονται ακόμα για τη χρήση τους και υπάρχει συνεπώς μια απαίτηση για περαιτέρω βελτίωση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4:ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 Δειγματοληψία

Τα δείγματα εδάφους, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τις αναλύσεις της παρούσας διπλωματικής εργασίας προήλθαν από βοσκότοπους στις περιοχές Βόλικας, Γκίγκιλος. Γούβες και Αρμένοι του νομού Χανίων. Η συλλογή των δειγμάτων από την περιοχή Βόλικας πραγματοποιήθηκε στις 21 Μαρτίου 2007, από την περιοχή Γκίγκιλος στις 5 Μαΐου 2007, από την περιοχή Γούβες στις 10 Ιουνίου 2007 και από την περιοχή Αρμένοι κατά τον Ιανουάριο του 2008.

Το χαρακτηριστικό και κοινό γνώρισμα των δειγμάτων που μελετήθηκαν είναι ότι υπόκεινται σε ανθρώπινη διαχείριση (βοσκή κοπαδιών) για μεγάλο χρονικό διάστημα. Αποτελούν δηλαδή εδαφικά δείγματα σε άσχημη κατάσταση όσον αφορά την ποιότητα τους. Τα δείγματα που μελετήθηκαν είναι 11 και εμφανίζονται με τους κωδικούς A, B, C, D, E, F, H, I, J, K. Χαρακτηριστικά γνωρίσματα των εδαφικών δειγμάτων παρουσιάζονται στον πίνακα 4.1.



Σχήμα 4.1. Τοποθεσίες από όπου προήλθαν τα εδαφικά δείγμ

ΔΕΙΓΜΑ	ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ	ΥΨΟΜΕΤΡΟ	ΓΕΩΛΟΓΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΕΙΔΙΚΟ ΒΑΡΟΣ	ΑΜΜΟΣ	ΑΡΓΙΛΛΟΣ	ΙΛΥΣ	pH
	m			Kg/m^3				
A	Βόλικας	1500	Ασβεστόλιθοι και δολομίτες της σειράς Plattenkalk	888	57,0	4,9	38,1	7,16
B	Βόλικας	1500	Ασβεστόλιθοι και δολομίτες της σειράς Plattenkalk	934	52,0	10,9	37,1	6,61
C	Γκίγκιλος	1944	Ασβεστόλιθοι της σειράς Τρυπολίου	1074	63,0	15,0	22,0	6,63
D	Αρμένοι	300	Ασβεστιτικές μάργες	944	34,9	28,8	36,4	6,95
E	Γούβες	1250	Ασβεστόλιθοι της σειράς Τρυπολίου	968	42,5	22,7	34,8	7,39
F	Βόλικας	950	Ασβεστιτικές μάργες	1030	22,1	54,2	23,7	7,84
G	Γκίγκιλος	1960	Ασβεστόλιθοι της σειράς Τρυπολίου και Plattenkalk	962	44,9	14,8	40,4	6,3
H	Δεν υπάρχουν πληροφορίες							
I	Δεν υπάρχουν πληροφορίες							
J	Δεν υπάρχουν πληροφορίες							
K	Βόλικας	1450	Ασβεστόλιθοι και δολομίτες της σειράς Plattenkalk	920	31,0	33,0	36,0	7,48

Πίνακας 4.1. Χαρακτηριστικά γνωρίσματα των δειγμάτων που μελετήθηκαν

4.1.1 Προετοιμασία

Πριν την έναρξη του πειράματος τα δείγματα διατηρούνταν στο ψυγείο σε αεροστεγείς σακούλες. Για την προετοιμασία των πειραμάτων τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φούρνο ξήρανσης στους 40°C για 24 ώρες για την απομάκρυνση της υγρασίας. Μετά την ξήρανση τα δείγματα κοσκινίστηκαν με κόσκινο των 2 χιλιοστών και τοποθετήθηκαν σε αλουμινένια κουτιά τα οποία επικαλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο.

4.2 Προσδιορισμός της ποιότητας του εδάφους με χρήση βιοχημικών δεικτών

Στο εργαστήριο «Υδρογεωχημικής Μηχανικής και Αποκατάστασης Εδαφών» μετρήθηκαν οι ακόλουθοι δείκτες εδαφικής ποιότητας:

- Δραστηριότητα αφυδρογονάσης (συγκέντρωση TPF)
- Περιεκτικότητα σε υδρογονάνθρακες (συγκέντρωση γλυκόζης)
- Βιομάζα N (συγκέντρωση TKN)
- Βιομάζα C

4.2.1 Πείραμα μέτρησης αφυδρογονάσης

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε για τη μέτρηση της αφυδρογονάσης παρουσιάστηκε αρχικά από τον Chu το 2000. Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται 2 gr του εδαφικού δείγματος στα οποία προστίθενται 2,5 ml διαλύματος TTC συγκέντρωσης 1%. Στη συνέχεια το δείγμα τοποθετείται σε κλίβανο στους 37 °C για 24 ώρες. Στο δείγμα προστίθενται 10 ml μεθανόλης και το διάλυμα ομογενοποιείται μέσω ολιγόλεπτης ανάδευσης και φιλτράρεται με φίλτρο γυαλιού ώστε να απομακρυνθεί το χώμα. Το κόκκινο διάλυμα που προκύπτει τοποθετείται σε σωλήνα και προστίθεται μεθανόλη μέχρι το διάλυμα να φτάσει τον όγκο των 100 ml. Στο τελικό δείγμα πραγματοποιείται φωτομέτρηση στα 485 nm χρησιμοποιώντας ως τυφλό δείγμα τη μεθανόλη με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης TPF που παρουσιάζεται στο Παράρτημα Α.

4.2.2 Πείραμα μέτρησης υδρογονανθράκων

Η μέτρηση των υδρογονανθράκων στα εδαφολογικά δείγματα στηρίχτηκε στη phenol-sulfuric acid μέθοδο του Dubois (1956). Η μέθοδος στηρίζεται στην υδρόλυση των υδρογονανθράκων που προκαλείται με προσθήκη διαλύματος H_2SO_4. Η προσθήκη διαλύματος φαινόλης- θειικού οξέος δημιουργεί πορτοκαλόχρωμο διάλυμα, η χρωματική ένταση του οποίου αντιστοιχεί στην συγκέντρωση υδρογονανθράκων.

Αρχικά επιλέχτηκαν δύο επαναλήψεις κάθε δείγματος, μάζας ενός γραμμαρίου η κάθε μία. Στη μία επανάληψη προστέθηκαν 10 ml διαλύματος H_2SO_4 συγκέντρωσης 0,25 M και στη δεύτερη προστέθηκαν 10 ml διαλύματος H_2SO_4 συγκέντρωσης 1 M. Τα δείγματα ανακινήθηκαν για 16 ώρες. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε προσθήκη 1 ml διαλύματος EDTA συγκέντρωσης 0,1 M. Έγινε ρύθμιση του ph των δειγμάτων (ph μεταξύ 3,5 και 4,5) με προσθήκη διαλύματος βάσης. Πραγματοποιήθηκε φυγοκέντριση των δειγμάτων στις 3500 στροφές για 15 λεπτά. Από το υπερκείμενο υγρό που προέκυψε από τη φυγοκέντριση επιλέχθηκαν 10 ml τα οποία και φιλτραρίστηκαν σε φίλτρο διαμέτρου πόρων 0,2 μm. Για την απομάκρυνση των ανιόντων και των κατιόντων που υπάρχουν σε κάθε δείγμα, το υγρό περάστηκε μέσω 2 gr ρητίνης κατιόντων και έπειτα μέσω 2 gr ρητίνης ανιόντων. Από το διάλυμα που προέκυψε από τη διέλευση μέσω των ρητινών επιλέχτηκαν 2 ml στα οποία προστέθηκαν 2 ml φαινόλης και 10 ml πυκνού θειικού οξέος. Η μέτρηση της συγκέντρωσης υδρογονανθράκων πραγματοποιήθηκε με φωτομέτρηση στα 485 nm με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης γλυκόζης που παρουσιάζεται στο Παράρτημα Α.

4.2.3 Πείραμα μέτρησης βιομάζας N και C

Στην παρούσα εργασία η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στηρίχτηκε στη μέθοδο των Vance και Brookes. Η βασική διαφορά εντοπίζεται στη μάζα που λήφθηκε από κάθε έδαφος για τη μελέτη του καθώς δεν υπήρχε απεριόριστη ποσότητα δειγμάτων.

Αρχικά υπολογίστηκε το ποσοστό υγρασίας των δειγμάτων από την σχέση $\theta_c = (m-d)/d$ όπου θc η υγρασία, m η μάζα πριν την ξήρανση και d η μάζα του δείγματος μετά την ξήρανση. Ο σκοπός της διαδικασίας αυτής ήταν ότι τα δείγματα έπρεπε να προσαρμοστούν σε ποσοστό υγρασίας 40%. Για το λόγο αυτό προστέθηκε σε κάθε δείγμα η απαιτούμενη ποσότητα απιονισμένου νερού.

Από κάθε εδαφικό δείγμα πήραμε έξι επαναλήψεις των 10 gr. Τρεις από αυτές τις επαναλήψεις χρησιμεύουν ως non fumigated δείγματα και τρεις ως fumigated. Στις τρεις non fumigated επαναλήψεις προστέθηκαν απευθείας 40 ml K_2SO_4 (η απαιτούμενη αναλογία μάζας χώματος και K_2SO_4 είναι 1:4). Στη συνέχεια τα δείγματα ανακινήθηκαν για 30 λεπτά και ακολούθησε φιλτράρισμα τους με τη χρήση αντλίας και φίλτρων Whatman no 42.

Οι υπόλοιπες τρεις επαναλήψεις κάθε δείγματος τοποθετήθηκαν σε desiccator (ξηραντήρας) μαζί με ένα ελαφρώς βρεγμένο πανί για τη διατήρηση της υγρασίας και γυάλινο δοχείο ζέσεως που περιείχε 25 ml χλωροφορμίου. Με τη χρήση αντλίας αφαιρέθηκε ο αέρας από το desiccator και δημιουργήθηκαν συνθήκες κενού μέχρι το χλωροφόρμιο να βράσει για 2 λεπτά. Στη συνέχεια το desiccator τοποθετήθηκε σε ντουλάπι για 24 περίπου ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών αφαιρέθηκε το δοχείο ζέσεως με το χλωροφόρμιο και ο αέρας από το desiccator εκκενώθηκε 2-3 φορές με τη βοήθεια αντλίας ώστε να απομακρυνθεί κάθε ίχνος του χλωροφορμίου. Στις επαναλήψεις προστέθηκαν 40 ml K_2SO_4 και τα δείγματα ανακινήθηκαν για 30 λεπτά. Τέλος φιλτραρίστηκαν για την απομάκρυνση των στερεών με τη χρήση αντλίας και φίλτρου Whatman no 42.

Για τη μέτρηση της βιομάζας Ν ακολουθήθηκε η μέθοδος Kjeldhal. Η διαδικασία αφορά τη χώνευση των υγρών δειγμάτων για τη μέτρηση TKN από την οποία με τις κατάλληλες εξισώσεις προκύπτει η βιομάζα Ν.

Στην αρχή της μεθόδου τοποθετούμε στο Digesdahl digestion flask την κατάλληλη ποσότητα από κάθε επανάληψη που καθορίζεται από τον παρακάτω πίνακα

Αναμενόμενη συγκέντρωση αζώτου (mg/l)	Ποσότητα δείγματος (ml) για χώνευση (B)	Όγκος Ανάλυσης* (ml) που θα ληφθεί μετά τη χώνευση για ανάλυση TKN (C)	Αραίωση του όγκου ανάλυσης σε 25ml
0,5 – 28	40	10	
2 – 112	20	5	
11 – 560	10	2	
45 – 2.250	5	1	
425 – 22.500	1	0,5	

*** Πρόκειται για ενδεικτικές τιμές**

Πίνακας 4.2. Όγκοι ανάλυσης στη μέθοδο Kjeldhal

Στη συνέχεια προστίθενται στο δείγμα 5 ml πυκνού θειικού οξέος

(H_2SO_4) και 6 με 10 boiling chips. Η θερμοκρασία της συσκευής βρασμού ρυθμίζεται στους 400 °C περίπου. Όταν η συσκευή φτάσει στην επιθυμητή θερμοκρασία τοποθετούμε πάνω της το δείγμα. Ο βρασμός συνεχίζεται μέχρι να φτάσει στο σημείο βρασμού το πυκνό θειικό οξύ. Το σημείο αυτό γίνεται αντιληπτό με οπτική παρατήρηση καθώς όταν εξατμίζεται το θειικό οξύ το μπουκάλι γεμίζει με πυκνό ατμό λευκού χρώματος. Εξάλλου το σημείο ζέσεως του θειικού οξέως είναι 338 °C ενώ του νερού οι 100 °C, οπότε αρχικά παρατηρείται η εξάτμιση του νερού που περιέχει το δείγμα. Όταν ξεκινά η εξάτμιση του θειικού οξέως, το δείγμα αφήνεται να βράσει για τέσσερα λεπτά και στην συνέχεια προστίθενται σε αυτό 10 ml διαλύματος 50% H_2O_2 ή 18 ml διαλύματος 30% H_2O_2. Ο λόγος για τον οποίο προστίθεται H_2O_2 είναι ο αποχρωματισμός του δείγματος. Σε περίπτωση που το δείγμα δεν αποχρωματίζεται προστίθενται άλλα 5 ml H_2O_2. Αφού έχει γίνει αυτή η προσθήκη το δείγμα αφήνεται να βράσει για άλλο 1 λεπτό ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια H_2O_2. Μετά το πέρας του ενός λεπτού το δείγμα απομακρύνεται από την εστία και αφήνεται να κρυώσει αφού το flask έχει σφραγιστεί. Όταν το δείγμα είναι πλέον κρύο προστίθεται σε αυτό απιονισμένο νερό μέχρι ο όγκος του να φτάσει τα 100 ml. Σε περίπτωση που στο δείγμα εξακολουθούν να υπάρχουν στερεά γίνεται φιλτράρισμα του για ακόμη μία φορά. Έπειτα από αυτή τη διαδικασία τα δείγματα μπορούν να διατηρηθούν σφραγισμένα στο ψυγείο για δύο έως τρεις μέρες.

Για τον καθορισμό της βιομάζας Ν γίνεται φωτομέτρηση των δειγμάτων. Ο όγκος κάθε δείγματος που θα φωτομετρηθεί καθορίζεται και πάλι από τον πίνακα 4.2 ανάλογα με τον όγκο που τοποθετήθηκε για βρασμό στο Digesdahl digestion flask και την αναμενόμενη συγκέντρωση αζώτου.

Πριν την φωτομέτρηση προστίθενται στο δείγμα τα κατάλληλα αντιδραστήρια. Σε ένα εσμυρισμένο κύλινδρο των 25 ml τοποθετείται η κατάλληλη ποσότητα του δείγματος (πίνακας 4.2). Σε έναν άλλο εσμυρισμένο κύλινδρο τοποθετείται η ίδια ποσότητα υπερκάθαρου νερού που θα χρησιμεύσει ως τυφλό δείγμα για τη φωτομέτρηση. Σε κάθε έναν από τους κυλίνδρους προστίθεται μια σταγόνα TKN indicator και τα δείγματα αναμειγνύονται. Στη συνέχεια προστίθενται σταγόνες KOH συγκέντρωσης 8N μέχρι τα δείγματα να αποκτήσουν ελαφρύ μπλε χρωματισμό. Για τη σταθεροποίηση του μπλε χρώματος προστίθενται σταγόνες KOH συγκέντρωσης 1N. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη υπερκάθαρου νερού μέχρι τα δείγματα να φτάσουν τον όγκο των 20 ml και τοποθετούνται σε αυτά τρεις σταγόνες Mineral Stabilizer και τρεις σταγόνες Polivinyl Alcohol Dispersing Agent. Τέλος στα δείγματα προστίθεται υπερκάθαρο νερό μέχρι ο όγκος να φτάσει τα 25 ml καθώς και μία σταγόνα αντιδραστηρίου Nessler και τα δείγματα αφήνονται να αντιδράσουν για 2 λεπτά. Έπειτα από τη διαδικασία αυτή γίνεται φωτομέτρηση του δείγματος σε μήκος κύματος λ=460 nm αφού μηδενίζεται το φωτόμετρο με το δείγμα του υπερκάθαρου νερού. Η συγκέντρωση βιομάζας Ν υπολογίζεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης TKN που παρουσιάζεται στο παράρτημα Α.

Για τη μέτρηση της βιομάζας C πραγματοποιείται επιπλέον φιλτράρισμα των δειγμάτων ώστε να απομακρυνθούν πλήρως τα στερεά. Στη συνέχεια το pH των δειγμάτων προσαρμόζεται με προσθήκη διαλύματος HCL σε όξινες τιμές (pH < 3). Περίπου 5 ml κάθε δείγματος τοποθετούνται σε γυάλινο δοχείο και οδηγούνται στο μηχάνημα μέτρησης άνθρακα. Η συσκευή μέτρησης ολικού άνθρακα παρέχει αποτελέσματα τα οποία τοποθετούνται σε κατάλληλες εξισώσεις (παράρτημα Α) ανάλογα με την συγκέντρωση άνθρακα που αναμένεται από το δείγμα. Η διαδικασία που ακολουθείται από τη συσκευή είναι καύση του δείγματος και μέτρηση των προϊόντων της.

4.2.4 Πείραμα Hot Water Extraction

Μέχρι στιγμής στα πειράματα που διενεργήθηκαν, οποιαδήποτε διαδικασία εφαρμόζονταν για τη μέτρηση κάποιου από τους δείκτες, εφαρμόζονταν απευθείας στο εδαφικό δείγμα. Με τη μέθοδο Hot Water Extraction η διαδικασία εφαρμόζεται σε διάλυμα που προκύπτει από την προεπεξεργασία του εδαφικού δείγματος με νερό.

Για τη μέθοδο Hot Water Extraction λαμβάνονται 4 gr του εδαφικού δείγματος στα οποία προστίθενται 20 ml νερού. Το διάλυμα που προκύπτει μπαίνει σε κλίβανο με θερμοκρασία 70 °C για 18 ώρες. Μετά το πέρας των 18 ωρών το διάλυμα ανακινείται για 30 λεπτά. Στη συνέχεια αφήνεται σε κατάσταση ηρεμίας για 30 λεπτά ακόμα. Μετά το πέρας αυτού του διαστήματος το διάλυμα ανακινείται στις 13000 στροφές για 10 λεπτά. Τέλος φιλτράρεται με φίλτρο Whatman no 42 διαμέτρου πόρων 45μm ώστε να απομακρυνθεί το χώμα από το υγρό. Στο υγρό που προκύπτει από την προεπεξεργασία του δείγματος εδάφους πραγματοποιείται κανονικά η κατάλληλη διαδικασία για τη μέτρηση οποιασδήποτε παραμέτρου (αφυδρογονάση, υδρογονάνθρακες, βιομάζα C και N).

Για τη μέτρηση της αφυδρογονάσης χρησιμοποιήθηκαν 2 ml από το διάλυμα που προέκυψε από την μέθοδο HWE στα δείγματα C, D και E αντί 2 gr χώματος και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε κανονικά η διαδικασία όπως την περιέγραψε ο Chu.

Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης σε υδρογονάνθρακες με τη μέθοδο HWE χρησιμοποιήθηκαν τα δείγματα F, B και J. Μετά την εφαρμογή της μεθόδου HWE στα δείγματα αυτά, από το διάλυμα που προέκυψε επιλέχτηκαν 10 ml για κάθε δείγμα. Σε αυτά δεν έγινε προσθήκη 10 ml διαλύματος H_2SO_4 συγκέντρωσης 0,25 M και 1 M όπως έγινε στην περίπτωση του χώματος ούτε κυκλική ανακίνηση 16 ωρών. Αντίθετα έγινε απευθείας προσθήκη 1 ml διαλύματος EDTA συγκέντρωσης 0,1 M. Στη συνέχεια η διαδικασία συνεχίστηκε όπως περιγράφεται παραπάνω, δηλαδή έγινε ρύθμιση του pH γύρω στο 4, διήθηση του υγρού μέσω ρητινών, επιλογή 2 ml από το διάλυμα και προθήκη 2 ml φαινόλης και 10 ml θειικού οξέος. Τελικά πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση των δειγμάτων στα 485 nm.

Για τη μέτρηση της βιομάζας N χρησιμοποιήθηκαν 10 ml διαλύματος που προέκυψε από τη μέθοδο HWE για κάθε επανάληψη των δειγμάτων A, G, I και H. Η επιλογή των δειγμάτων δεν ήταν τυχαία καθώς επιλέχτηκαν δείγματα τα οποία στην μέτρηση βιομάζας N με χώμα παρουσίασαν συγκέντρωση σε βιομάζα. Επιλέχτηκαν 2 επαναλήψεις των 10 ml για κάθε δείγμα, ώστε η μία να αποτελέσει το fumigated δείγμα και η άλλη το non fumigated. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η διαδικασία των Vance και Brookes. Το μόνο βήμα που παραλείφθηκε ήταν το φιλτράρισμα των δειγμάτων με φίλτρο Whatman καθώς τα δείγματα είναι διαλύματα νερού και όχι χώματος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στο κεφάλαιο 5 παρουσιάζονται τα τελικά αποτελέσματα των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν και τα συμπεράσματα που προέκυψαν από αυτά. Οι αναλυτικές μετρήσεις των πειραμάτων παρουσιάζονται στο Παράρτημα Δ.

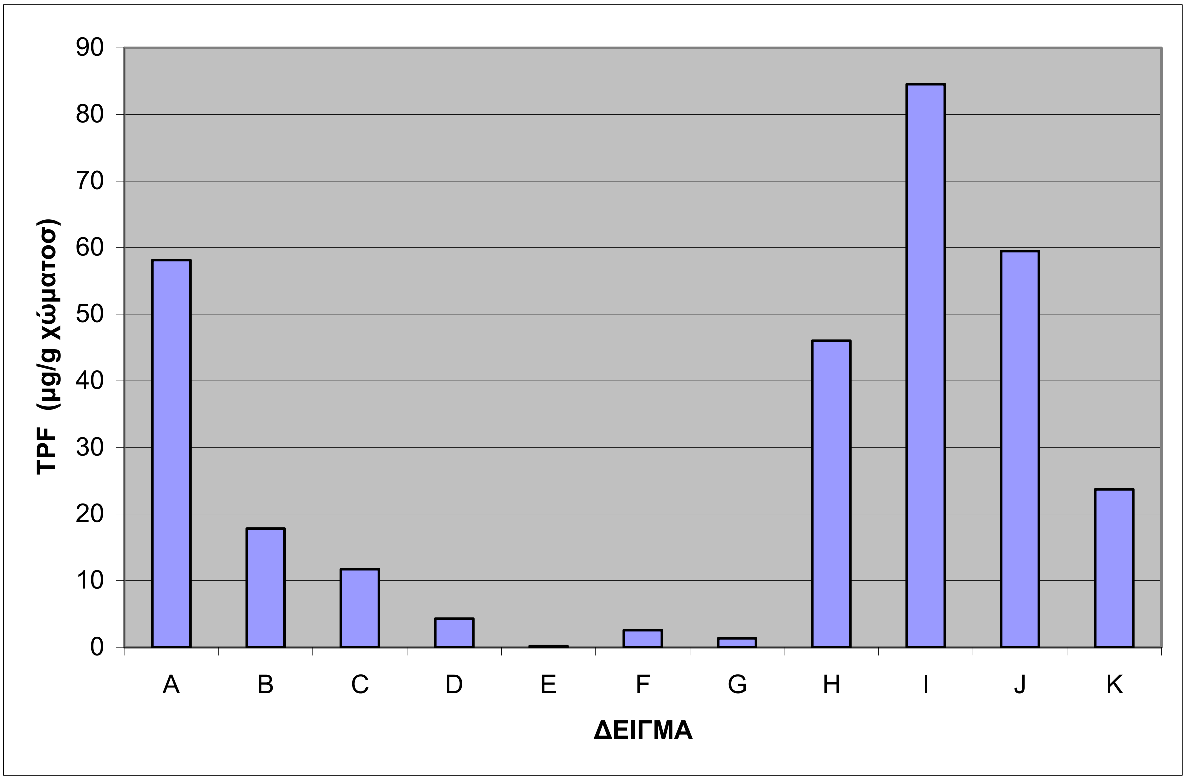
5.1 Πείραμα μέτρησης αφυδρογονάσης

Η συγκέντρωση σε TPF που προέκυψε στα εδαφικά δείγματα παρουσιάζεται στον πίνακα 5.1

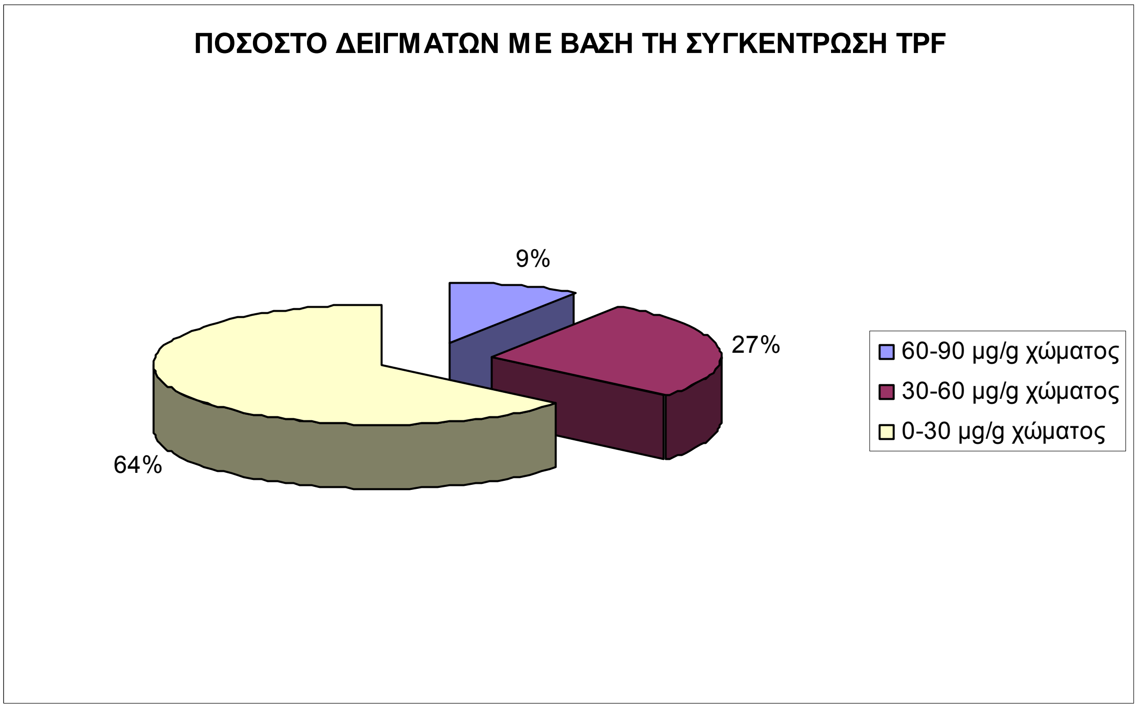
ΔΕΙΓΜΑ	TPF (μg/g χώματος)
A	58,15
B	17,83
C	11,73
D	4,32
E	0,17
F	2,57
G	1,33
H	46,01
I	84,52
J	59,48
K	23,71

Πίνακας 5.1. Τελικά αποτελέσματα πειράματος μέτρησης αφυδρογονάσης

Η συγκέντρωση όλων των εδαφικών δειγμάτων σε TPF παρουσιάζεται στο σχήμα 5.1



Σχήμα 5.1. Συγκέντρωση κάθε δείγματος σε TPF σε μg/g χώματος



Σχήμα 5.2 Ποσοστιαία διακύμανση συγκέντρωσης αφυδρογονάσης

Από τους δύο παραπάνω πίνακες είναι φανερό ότι το δείγμα που έχει την υψηλότερη συγκέντρωση σε TPF και άρα τη μεγαλύτερη δραστηριότητα αφυδρογονασών είναι το I (84,52 μg/g) ενώ ακολουθούν με αρκετά μεγάλη διαφορά τα A και J (58,15 και 59,48 μg/g αντίστοιχα). Αντίθετα στα δείγματα G και E η περιεκτικότητα σε TPF είναι πάρα πολύ μικρή (1,33 και 0,17 μg/g αντίστοιχα), γεγονός που φανερώνει και την πολύ μικρή περιεκτικότητα τους σε αφυδρογονάση.

Ένα στα έντεκα δείγματα παρουσιάζει συγκέντρωση σε TPF μεγαλύτερη των 60 μg/g χώματος (δείγμα I), ενώ το 27% των δειγμάτων παρουσιάζει συγκέντρωση μεταξύ των 30 και 60 μg/g χώματος (δείγματα A, H και J). Εφτά δείγματα (το 64% των δειγμάτων) παρουσιάζουν συγκέντρωση TPF μεταξύ των 30 και 60 μg/g χώματος (σχήμα 5.2). Ένα δείγμα παρουσιάζει συγκέντρωση μεταξύ των 20 και 30 μg/g χώματος (δείγμα K), δύο δείγματα εμφανίζουν συγκεντρώσεις μεταξύ των 10 και 20 μg/g χώματος (δείγματα B και C) και τέσσερα δείγματα (δείγματα D, E, F και G) εμφανίζουν συγκεντρώσεις μεταξύ των 0 και 10 μg/g χώματος.

Γενικά παρατηρείται μεγάλη ανομοιομορφία στις συγκεντρώσεις TPF που μετρήθηκαν μεταξύ των δειγμάτων. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στην κακή κατάσταση των εδαφών λόγω της πολύχρονης και κακής διαχείρισης τους (κυρίως στα δείγματα που η συγκέντρωση εμφανίζεται πολύ χαμηλή), είτε στη μειωμένη ευαισθησία της μεθόδου.

Πολλοί ερευνητές (Benefield, 1977, Trevors, 1984, Groffiths, 1989, W. von Merci και F. Schinner, 1991) υποστηρίζουν ότι η χρήση του INT δίνει πολύ καλύτερα αποτελέσματα για τη μέτρηση της αφυδρογονάσης σε σχέση με το TTC. Οι χρήση του TTC απαιτεί αναεροβικές συνθήκες που είναι δύσκολο να επιτευχθούν. Το O_2 που εισάγεται στα δείγματα και συχνά θεωρείται αμελητέο οδηγεί σε μείωση της ευαισθησίας της μεθόδου.

Υποστηρίζουν ότι στην πραγματικότητα μόνο ένα ποσοστό της τάξης του 4-5% του διαχωρισμένου από την αφυδρογονάση υδρογόνου καταγράφεται μέσω της μείωσης του TTC. Για τη μειωμένη αποτελεσματικότητα της μεθόδου με το TTC ευθύνονται κυρίως οι παρακάτω παράγοντες:

1) Η τοξικότητα του TTC εμποδίζει την μετατροπή του σε formazan. Εξαιτίας της τοξικότητας του TTC είναι απαραίτητη η προσαρμογή της συγκέντρωσης που προστίθεται σε κάθε εδαφικό δείγμα, για τη μέτρηση της αφυδρογονάσης, ανάλογα με τη σύσταση και την ικανότητα απορρόφησης του δείγματος.
2) Ένα μικρό μόνο μέρος του διαχωρισμένου Η απορροφάται από το TTC καθώς το περισσότερο απορροφάται από άλλους υποδοχείς Η που δρουν ανταγωνιστικά προς εκείνο. Για να γίνει η πρόσληψη Η από το TTC πρέπει όλοι οι άλλοι υποδοχείς να έχουν εξασθενήσει.
3) Ένα κύτταρο μπορεί να δεχθεί μία ορισμένη ποσότητα TTC και άρα η μετατροπή του σε triphenylformazan είναι περιορισμένη. Αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι η δημιουργία triphenylformazan προκαλεί τον θάνατο του κυττάρου.
4) Το TTC απορροφάται από τους διαφορετικούς μικροοργανισμούς με διαφορετικούς ρυθμούς απορρόφησης.
5) Η αντίδραση του TTC πραγματοποιείται με αργούς ρυθμούς, επιβάλλοντας μεγάλα χρονικά διαστήματα επώασης των εδαφικών δειγμάτων.
6) Η αντίδραση του TTC παρεμποδίζεται από την παρουσία του O_2. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα δεν επιτυγχάνουν πλήρως αναερόβιες συνθήκες.

Πολλοί ερευνητές κατέδειξαν την καλύτερη εφαρμογή του INT στον καθορισμό της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης στα εδάφη. Ο Benefield

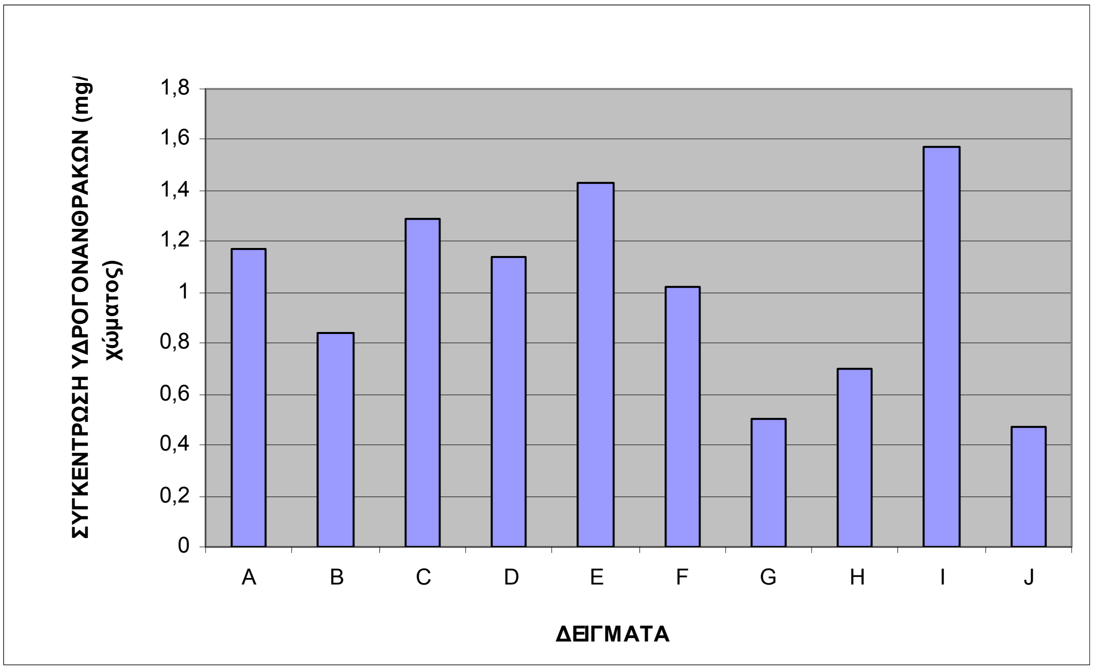
(1977), ο Trevors (1984) και ο Groffiths (1989) χρησιμοποίησαν επίσης INT και παρατήρησαν ότι η μετατροπή του σε INTF δίνει ακριβέστερα αποτελέσματα ως προς τη μέτρηση της αφυδρογονάσης καθώς το O_2 δεν εμπλέκεται στην μετατροπή αυτή. Επίσης παρατήρησαν ότι δημιουργείται περισσότερο formazan από το INT σε σχέση με το TTC τόσο σε αεροβικές όσο και σε αναεροβικές συνθήκες. Επιπλέον αφού το O_2 δεν επηρεάζει το INT η εφαρμογή αναεροβικών συνθηκών δεν είναι απαραίτητη.

5.2 Πείραμα μέτρησης υδρογονανθράκων

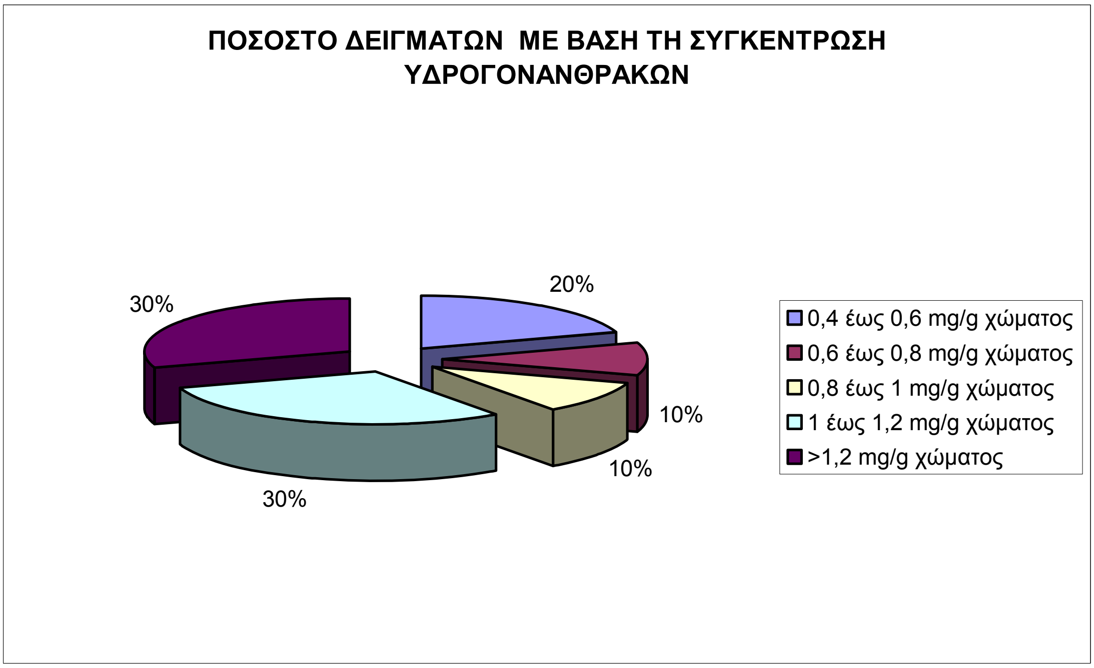
Από τη μέτρηση της συγκέντρωσης υδρογονανθράκων στα εδαφικά δείγματα εξήχθησαν τα παρακάτω αποτελέσματα. Η επιλογή των τελικών συγκεντρώσεων υδρογονανθράκων στα δείγματα παρουσιάζεται στο παράρτημα Γ.

ΔΕΙΓΜΑ	ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ (mg/g χώματος)
A	1,17
B	0,84
C	1,29
D	1,14
E	1,43
F	1,02
G	0,50
H	0,70
I	1,57
J	0,47
K	ΔΕΝ ΜΕΤΡΗΘΗΚΕ

Πίνακας 5.2. Τελικά αποτελέσματα πειράματος μέτρησης υδρογονανθράκων



Σχήμα 5.3. Συγκέντρωση κάθε δείγματος σε υδρογονάνθρακες σε mg/g χώματος



Σχήμα 5.4. Ποσοστιαία διακύμανση συγκέντρωσης υδρογονανθράκων

Από το σχήμα 5.3 είναι φανερό ότι το δείγμα I παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε υδρογονάνθρακες. Αντίθετα τη μικρότερη συγκέντρωση εμφανίζει το δείγμα J. Το 20% των δειγμάτων εμφανίζει συγκέντρωση υδρογονανθράκων από 0,4 έως 0,6 mg/g χώματος (δείγματα G, J), το 10% των δειγμάτων εμφανίζει συγκέντρωση από 0,6 έως 0,8 mg/g χώματος (δείγμα H), το 10% των δειγμάτων παρουσιάζει συγκέντρωση από 0,8 έως 1 mg/g (δείγμα B), το 30% των δειγμάτων εμφανίζει συγκέντρωση από 1 έως 1.2 mg/g χώματος (δείγματα A, D, F) και το 30% των δειγμάτων εμφανίζει συγκέντρωση μεγαλύτερη των 1.2 mg/g χώματος (δείγματα C, E, I)

Γενικά στη συγκέντρωση υδρογονανθράκων δεν εμφανίζονται μεγάλες αποκλίσεις μεταξύ των δειγμάτων. Όλα τα δείγματα εμφανίζουν ικανοποιητική συγκέντρωση υδρογονανθράκων χωρίς την ύπαρξη ακραίων τιμών, δηλαδή πολύ μεγάλων ή σχεδόν μηδενικών συγκεντρώσεων.

Με βάση όλα τα παραπάνω η συγκέντρωση υδρογονανθράκων κρίνεται ως ικανοποιητικός δείκτης για τον καθορισμό της ποιότητας των εδαφών από τα οποία προήλθαν τα εδαφικά δείγματα (αν χρησιμοποιηθεί μεμονωμένα). Γενικά η μικρή περιεκτικότητα ενός δείγματος σε υδρογονάνθρακες υποδηλώνει παρουσία μεγάλης ποσότητας μικροοργανισμών που διέσπασαν τους υδρογονάνθρακες με αποτέλεσμα την παραγωγή ανόργανων ιόντων. Για αυτό η συγκέντρωση υδρογονανθράκων ως δείκτης της εδαφικής ποιότητας θα πρέπει να μελετάται παράλληλα με τη μικροβιακή βιομάζα για την εξαγωγή ενός ασφαλούς συμπεράσματος ως προς την ποιότητα ενός εδάφους.

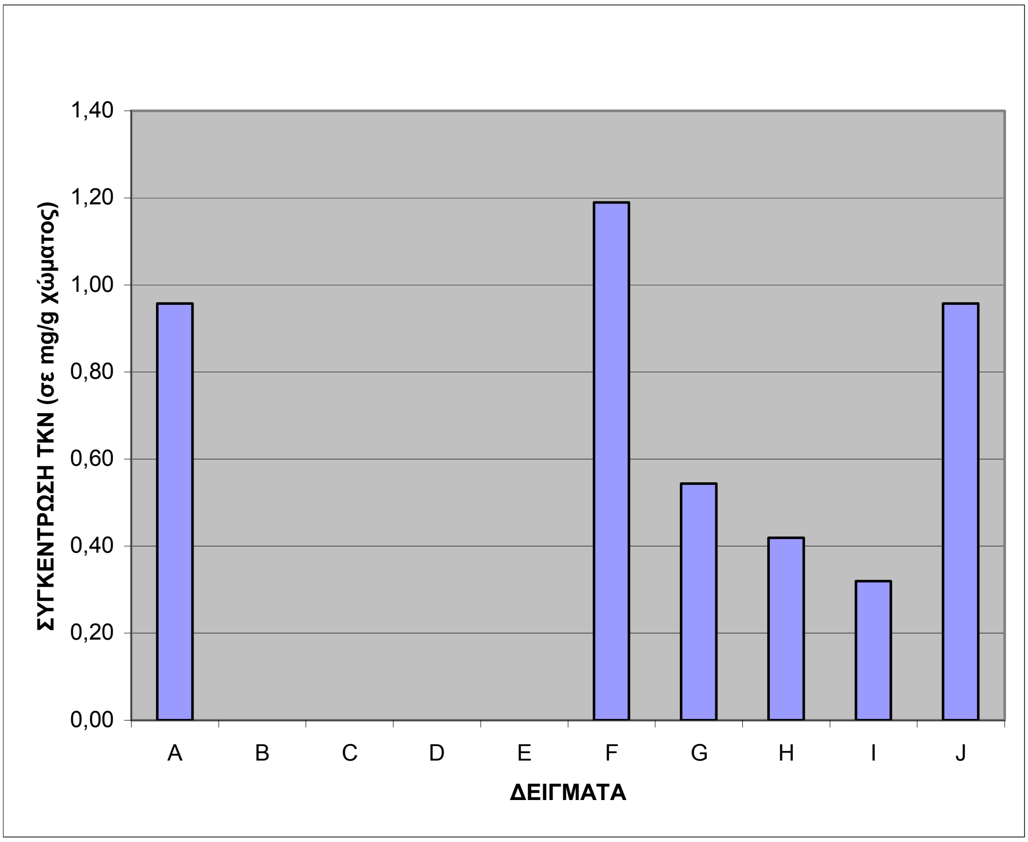
5.3 Πείραμα μέτρησης μικροβιακής βιομάζας

5.3.1 Πείραμα μέτρησης βιομάζας N

Η μικροβιακή βιομάζα N προκύπτει από την εξίσωση $B_N = E_N / K_N$ όπου E_N = η συγκέντρωση TKN στα fumigated δείγματα - συγκέντρωση TKN στα non fumigated και K_N μία σταθερά όπου K_N= 0,45. Από την παραπάνω εξίσωση προκύπτει ο πίνακας

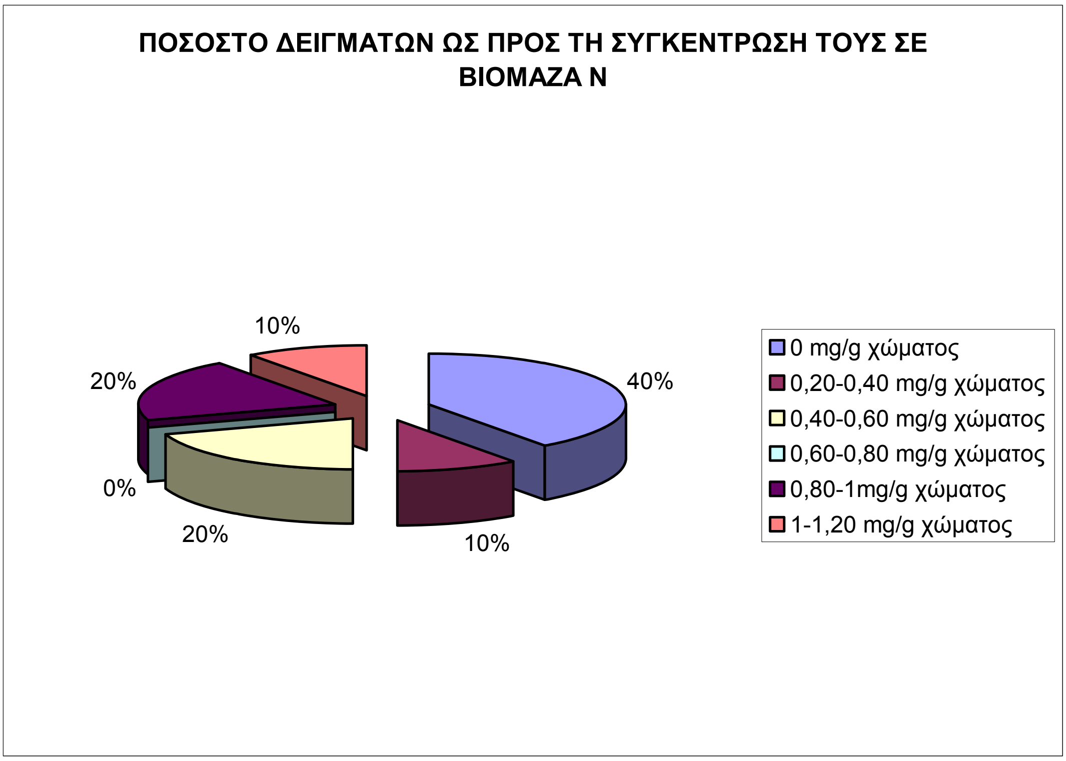
ΔΕΙΓΜΑ	ΒΙΟΜΑΖΑ Ν (mg/g χώματος)
A	0,96
B	0,00
C	0,00
D	0,00
E	0,00
F	1,19
G	0,54
H	0,42
I	0,32
J	0,96
K	ΔΕΝ ΜΕΤΡΗΘΗΚΕ

Πίνακας 5.3. Τελικά αποτελέσματα πειράματος μέτρησης βιομάζας Ν



Σχήμα 5.5. Συγκέντρωση κάθε δείγματος σε βιομάζα Ν σε mg/g χώματος

Όπως φαίνεται από το σχήμα 5.5 το δείγμα F παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε βιομάζα N. Αντίθετα τα δείγματα B, C, D και E παρουσιάζουν μηδενική συγκέντρωση (το δείγμα K δεν μετρήθηκε καθώς είχε εξαντληθεί).



Σχήμα 5.6. Ποσοστιαία διακύμανση συγκέντρωσης βιομάζας N

Το 10 % των δειγμάτων παρουσίασε συγκέντρωση από 1 έως 1.2 mg/g χώματος (δείγμα F), το 20 % των δειγμάτων παρουσίασε συγκέντρωση από 0,8 έως 1 mg/g χώματος (δείγματα A, J), το 20 % των δειγμάτων παρουσίασε συγκέντρωση από 0,4 έως 0,6 mg/g χώματος (δείγματα G, H), το 10 % των δειγμάτων παρουσίασε συγκέντρωση από 0,2 έως 0,4 mg/g χώματος (δείγμα I) και το 40 % των δειγμάτων παρουσίασε μηδενική συγκέντρωση σε βιομάζα N.

Γενικά εμφανίζεται μεγάλη ανομοιομορφία στις συγκεντρώσεις βιομάζας N μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Το γεγονός αυτό οφείλεται και στην κακή διαχείριση των εδαφών από τα οποία προέκυψαν τα δείγματα αλλά και στην μέθοδο μέτρησης της βιομάζας Ν που χρησιμοποιήθηκε.

Η μέθοδος μέτρησης βιομάζας Ν που χρησιμοποιήθηκε είναι περίπλοκη μέθοδος που εμπεριέχει πολλά βήματα και απαιτεί την πλήρη συγκέντρωση του ερευνητή. Σε τέτοιου είδους μεθόδους είναι εύκολο να πραγματοποιηθούν λάθη που οφείλονται είτε στον ανθρώπινο παράγοντα είτε σε προβλήματα και μειονεκτήματα των πολλαπλών συσκευών και αντιδραστηρίων που χρησιμοποιούνται.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι στα δείγματα Β, C, D και Ε η ακριβής συγκέντρωση βιομάζας Ν που υπολογίστηκε ήταν αρνητική. Φυσικά δεν ήταν δυνατή η ύπαρξη αρνητικής συγκέντρωσης και εξαιτίας της κακής κατάστασης των εδαφών υποτέθηκε ότι η συγκέντρωση σε βιομάζα ήταν μηδενική. Ο υπολογισμός αρνητικής συγκέντρωσης βιομάζας Ν καταδεικνύει ακόμα πιο έντονα τα μειονεκτήματα της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε.

Γενικά, με βάση τη συγκέντρωση βιομάζας Ν ως μεμονωμένο δείκτη ποιότητας του εδάφους, τα δείγματα Β, C, D και Ε που παρουσίασαν μηδενική συγκέντρωση χαρακτηρίζονται ως τα εδάφη με τη χειρότερη ποιότητα μεταξύ των δειγμάτων, ενώ το δείγμα F που παρουσίασε τη μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι το έδαφος με την καλύτερη ποιότητα και μάλιστα με μεγάλη απόκλιση.

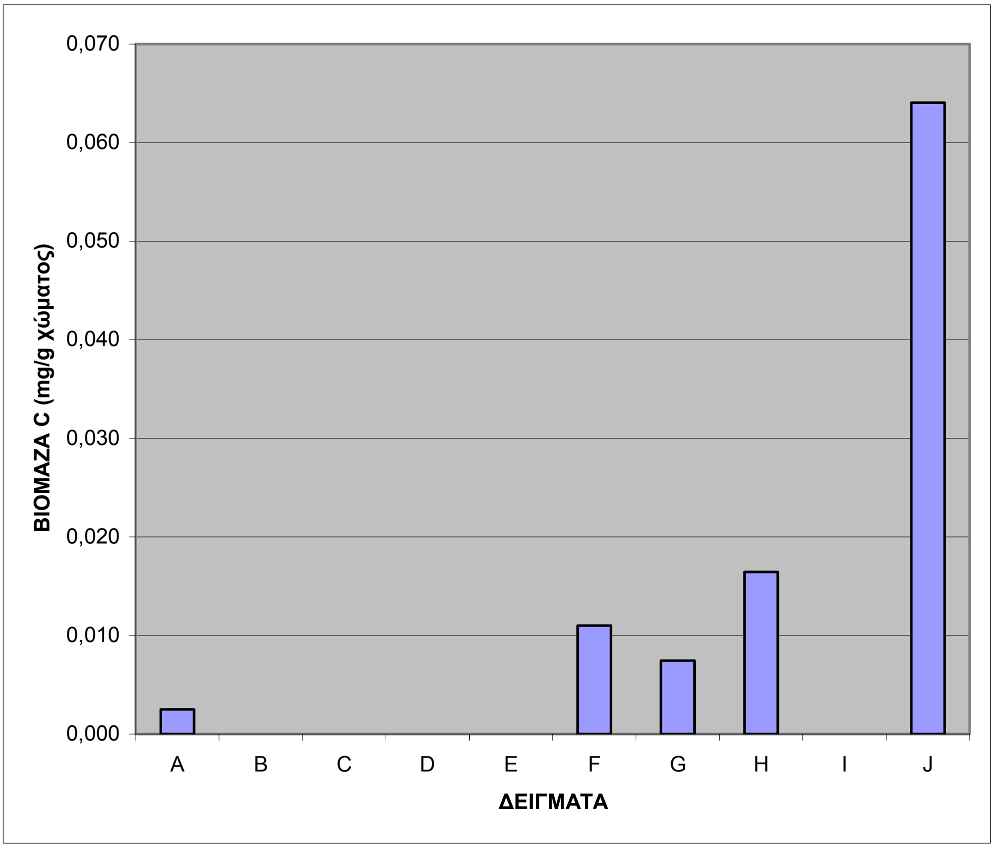
5.3.2 Πείραμα μέτρησης βιομάζας C

Η μικροβιακή βιομάζα C υπολογίστηκε από τον τύπο $B_C = E_C / K_C$ όπου Ec= συγκέντρωση σε άνθρακα στα fumigated δείγματα – συγκέντρωση σε άνθρακα στα non fumigated δείγματα και Kc μία σταθερά όπου Kc= 0,45

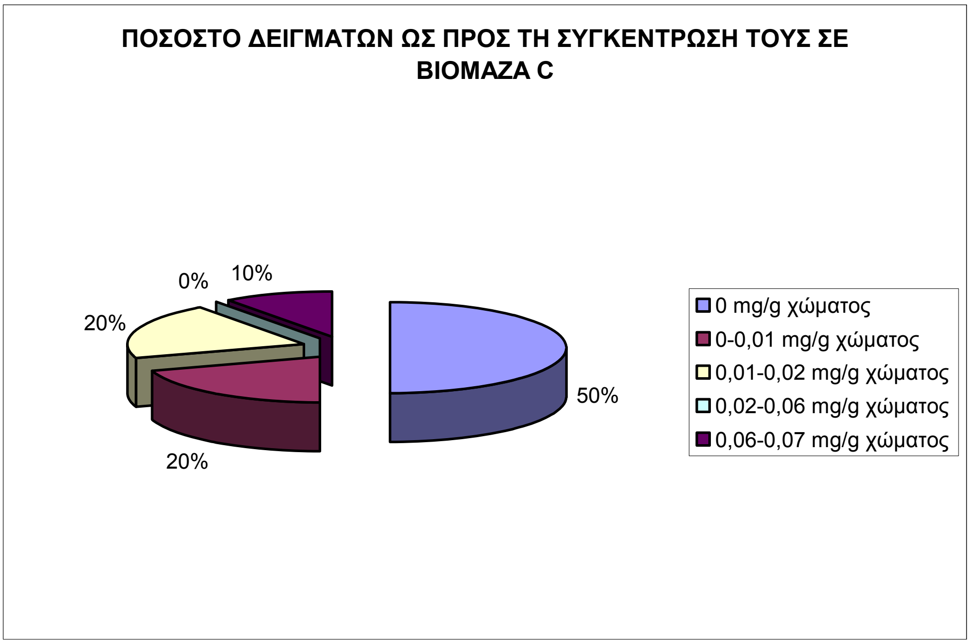
(Vance, 1987). Η βιομάζα άνθρακα κάθε δείγματος φαίνεται στον πίνακα 5.4.

ΔΕΙΓΜΑ	ΒΙΟΜΑΖΑ C (mg/g χώματος)
A	0,002
B	0
C	0
D	0
E	0
F	0,011
G	0,007
H	0,016
I	0
J	0,064
K	ΔΕΝ ΜΕΤΡΗΘΗΚΕ

Πίνακας 5.4. Τελικά αποτελέσματα πειράματος μέτρησης βιομάζας C



Σχήμα 5.7. Συγκέντρωση κάθε δείγματος σε βιομάζα C σε mg/g χώματος



Σχήμα 5.8. Ποσοστιαία διακύμανση συγκέντρωσης βιομάζας C

Από τα παραπάνω σχήματα είναι φανερό ότι το δείγμα J παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε βιομάζα C και μάλιστα η διαφορά από τα υπόλοιπα δείγματα είναι πολύ μεγάλη. Τα δείγματα B, C, D, E και I παρουσιάζουν μηδενική συγκέντρωση βιομάζας C.

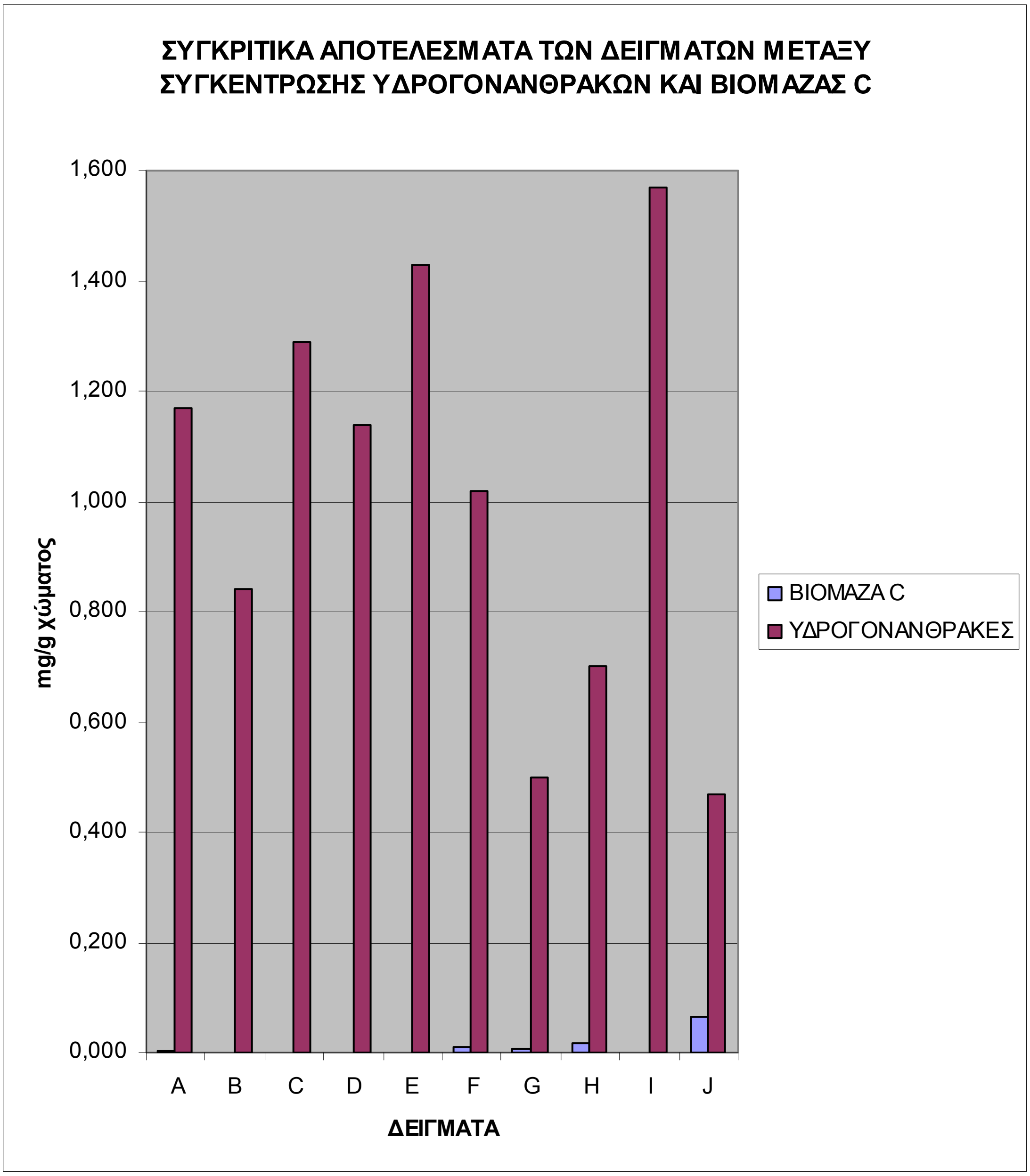
Το 10 % των δειγμάτων παρουσίασε συγκέντρωση βιομάζας C από 0,06 έως 0,07 mg/g χώματος, το 20 % των δειγμάτων παρουσίασε συγκέντρωση από 0.01 έως 0,02 mg/g χώματος, το 20 % των δειγμάτων παρουσίασε συγκέντρωση από 0 έως 0,01 mg/g χώματος και το 50 % των δειγμάτων παρουσίασε μηδενική συγκέντρωση βιομάζας C (σχήμα 5.8).

Όπως και στην περίπτωση της βιομάζας N έτσι και στη μέτρηση της βιομάζας C υπολογίστηκαν ακραίες τιμές συγκεντρώσεων μεταξύ των δειγμάτων (μεγάλο ποσοστό μηδενικών συγκεντρώσεων). Οι λόγοι για τους οποίους παρατηρείται το γεγονός αυτό είναι οι ίδιοι που αναφέρθηκαν στο πείραμα μέτρησης βιομάζας N, δηλαδή κακή κατάσταση των εδαφών που μελετήθηκαν λόγω πολύχρονης και κακής διαχείρισης και πολυπλοκότητα της μεθόδου μέτρησης.

Και στην περίπτωση της βιομάζας C στα δείγματα B, C, D, E και I η ακριβής συγκέντρωση βιομάζας C που υπολογίστηκε ήταν αρνητική. Καθώς δεν είναι δυνατή η ύπαρξη αρνητικής τιμής συγκέντρωσης και εξαιτίας της πολύχρονης και κακής διαχείρισης των εδαφών υποτέθηκε ότι η συγκέντρωση σε βιομάζα ήταν μηδενική.

Γενικά, με βάση τη συγκέντρωση βιομάζας C ως δείκτη ποιότητας του εδάφους, το δείγμα J που παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση χαρακτηρίζεται ως το έδαφος με την καλύτερη ποιότητα ενώ τα δείγματα B, C, D, E και I που παρουσίασαν μηδενική συγκέντρωση χαρακτηρίζονται ως τα εδάφη με τη χειρότερη ποιότητα μεταξύ των δειγμάτων.

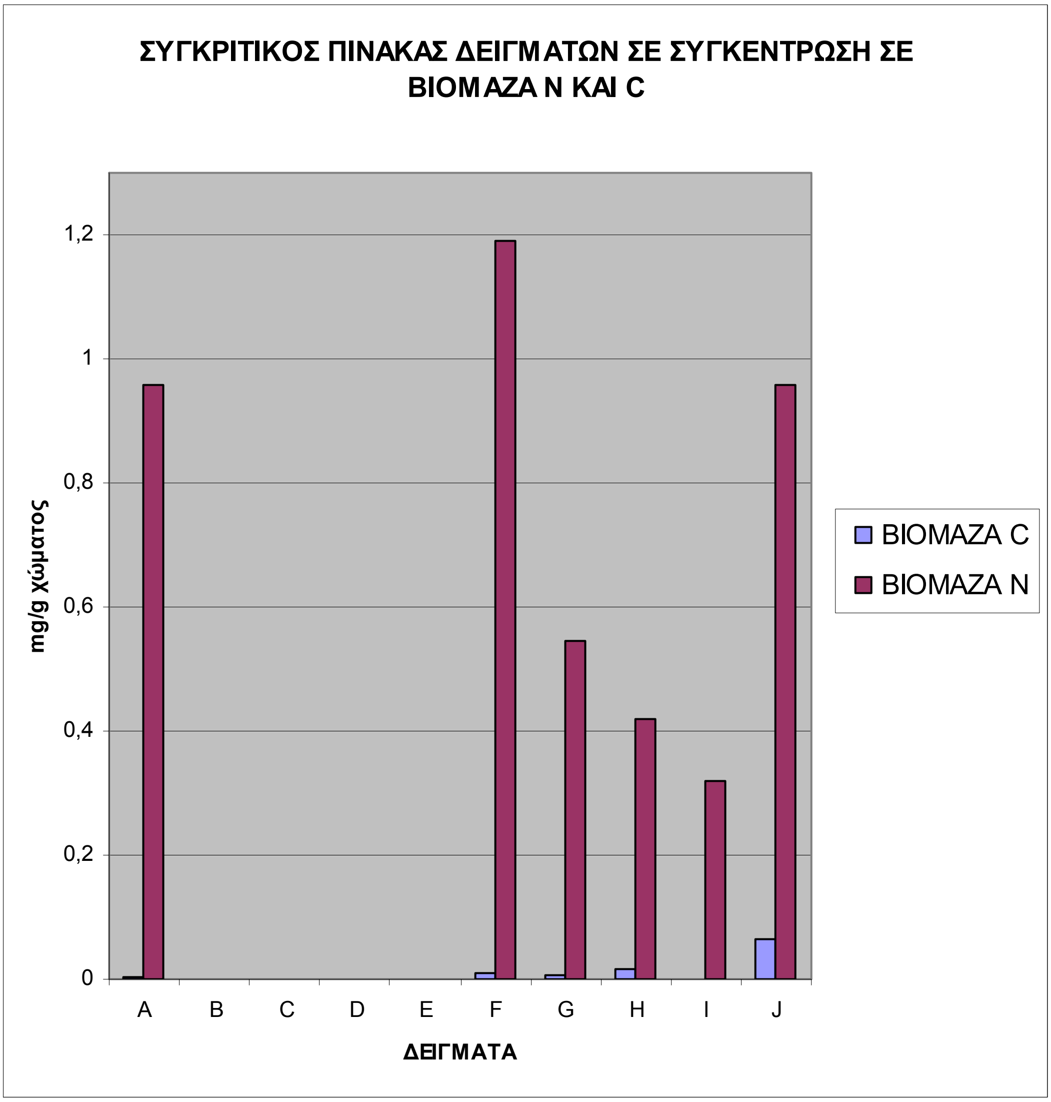
Η συγκέντρωση βιομάζας C στα δείγματα πρέπει να παρουσιάζει αντίθετη σχέση με τη συγκέντρωση υδρογονανθράκων. Όσο περισσότεροι μικροοργανισμοί υπάρχουν τόσο λιγότεροι θα πρέπει να είναι οι υδρογονάνθρακες καθώς αποικοδομούνται από τους μικροοργανισμούς παράγοντας ανόργανα ιόντα. Αντίθετα μεγάλη συγκέντρωση υδρογονανθράκων μπορεί να υποδηλώνει παρουσία ανενεργών μικροοργανισμών στο χώμα ή και πλήρη απουσία τους. Σε αυτή την περίπτωση οι υδρογονάνθρακες λειτουργούν ως ρύποι υποβαθμίζοντας το έδαφος. Είναι φανερό από το σχήμα 5.9 ότι υπάρχει η αρνητική αυτή σχέση μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Τα δείγματα I, C, D και E που παρουσιάζουν μηδενική συγκέντρωση σε βιομάζα C εμφανίζουν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε υδρογονάνθρακες. Αλλά και τα δείγματα H και J που εμφανίζουν υψηλή συγκέντρωση σε βιομάζα C εμφανίζουν από τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων μεταξύ των δειγμάτων. Η χρήση δηλαδή του συνδυασμού των δεικτών συγκέντρωσης υδρογονανθράκων και βιομάζας C από την πρώτη αυτή προσέγγιση παρέχει ικανοποιητικά αποτελέσματα για την ποιότητα των εδαφικών δειγμάτων που μελετήθηκαν.



Σχήμα 5.9. Συγκριτικός πίνακας των δειγμάτων για βιομάζα C και υδρογονάνθρακες

5.3.3 Μικροβιακή βιομάζα C και N

Όπως φαίνεται από τον συγκριτικό πίνακα των δειγμάτων για τη βιομάζα C και N (σχήμα 5.10), τα δείγματα που εμφάνισαν συγκέντρωση βιομάζας N εμφάνισαν και συγκέντρωση βιομάζας C γεγονός που κρίνεται ως θετικό για την μελέτη των αποτελεσμάτων του πειράματος. Μοναδική εξαίρεση το δείγμα I το οποίο δεν παρουσίασε βιομάζα C ενώ είχε περιεκτικότητα σε βιομάζα N. Τα δείγματα B, C, D και E τα οποία δεν είχαν βιομάζα N δεν εμφάνισαν ούτε βιομάζα C.



Σχήμα 5.10. Συγκριτικός πίνακας των δειγμάτων για βιομάζα C και N

Το F ήταν το δείγμα που παρουσίασε τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε βιομάζα N, δεν παρουσίασε όμως και τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε βιομάζα C. Αντίθετα το δείγμα J ήταν αυτό που είχε τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε βιομάζα C. Το δείγμα Α αν και παρουσίασε σχετικά υψηλή συγκέντρωση βιομάζας Ν είχε τη χαμηλότερη συγκέντρωση σε βιομάζα C που προσέγγιζε τη μηδενική.

Σύμφωνα με τους Holt και Banerjee (1998) η μικροβιακή βιομάζα C αυξάνεται με την αύξηση της έντασης της βοσκής καθώς το κοπρανώδες υλικό που προέρχεται από τα ζώα λειτουργεί ως τροφή για τους μικροοργανισμούς του εδάφους. Αντίθετα, στα δείγματα που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία και τα οποία προέρχονται από βοσκότοπους, η συγκέντρωση σε μικροβιακή βιομάζα C ήταν πολύ χαμηλή σε σχέση με τη συγκέντρωση που παρουσίασαν σε βιομάζα Ν αλλά και γενικότερα, γεγονός που αποδεικνύει την καταστροφική και πολύχρονη διαχείριση των εδαφών αυτών.

5.3.4 Αναλογία C : N

Από τη διαίρεση της συγκέντρωσης βιομάζας C με τη συγκέντρωση βιομάζας Ν κάθε δείγματος προκύπτει η αναλογία C:N.

ΔΕΙΓΜΑ	C:N RATIO
A	0,003
B	0,000
C	0,000
D	0,000
E	0,000
F	0,009
G	0,014
H	0,039
I	0,000
J	0,067

Πίνακας 5.5. Αναλογία C:N στα δείγματα

Γενικά, η αναλογία C:N εμφανίζει τιμή μεταξύ 3-5 όταν στο έδαφος κυριαρχούν τα βακτήρια, και 4-15 όταν υπάρχουν περισσότεροι μύκητες (Paul και Clark 1989). Όπως είναι φανερό από τον πίνακα 5.5 η αναλογία C:N στα δείγματα της παρούσας μελέτης είναι πολύ μικρή. Τη μεγαλύτερη αναλογία παρουσιάζει το δείγμα J με τιμή 0.067 ενώ τα δείγματα B, C, D, E, I παρουσιάζουν μηδενική αναλογία λόγω της έλλειψης συγκέντρωσης μικροβιακής βιομάζας C και N. Οι τιμές αυτές φανερώνουν πλήρη έλλειψη μυκήτων στο έδαφος που αποτελούν τους κύριους αποικοδομητές της οργανικής ουσίας του. Η σχεδόν μηδενική αναλογία C:N στα εδάφη αποδεικνύει ακόμη μία φορά την κακή ποιότητα τους.

5.4 Σύγκριση μεταξύ των δεικτών

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ	ΥΔΡΟΓΟΝΑΘΡΑΚΕΣ	ΒΙΟΜΑΖΑ Ν	ΒΙΟΜΑΖΑ C
A	√	√	√	√
B	√	√	X	X
C	√	√	X	X
D	√	√	X	X
E	√	√	X	X
F	√	√	√	√
G	√	√	√	√
H	√	√	√	√
I	√	√	√	X
J	√	√	√	√
K	√	ΔΕΝ ΜΕΤΡΗΘΗΚΕ	ΔΕΝ ΜΕΤΡΗΘΗΚΕ	ΔΕΝ ΜΕΤΡΗΘΗΚΕ

Πίνακας 5.6 √= ύπαρξη συγκέντρωσης δείκτη, x= μηδενική συγκέντρωση δείκτη

Όπως είναι εμφανές από τον πίνακα 5.6 οι δείκτες που μετρήθηκαν δεν παρουσίασαν συγκέντρωση σε όλα τα δείγματα. Η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης και η συγκέντρωση σε υδρογονάνθρακες καθορίστηκαν σε όλα δείγματα. Αντίθετα η μικροβιακή βιομάζα N και C παρουσίασε μηδενική συγκέντρωση σε μεγάλο ποσοστό των δειγμάτων. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, κρίνεται θετικό το γεγονός ότι στα περισσότερα δείγματα στα οποία η μέτρηση της βιομάζας N ήταν μηδενική το ίδιο συνέβαινε και με τη βιομάζα C (δείγματα B, C, D και E). Η παρατήρηση αυτή υποδεικνύει ότι οι μηδενικές συγκεντρώσεις των βιομαζών οφείλονται στην κακή ποιότητα των εδαφών και στην έλλειψη μικροοργανισμών και όχι σε ενδεχόμενο λάθος της μεθοδολογίας.

	DEHYDROGENASE	HC	BIOMASS N	BIOMASS C
DEHYDROGENASE	1	0,093	0,290	0,338
HC	0,093	1	-0,377	-0,642
BIOMASS N	0,290	-0,377	1	0,527
BIOMASS C	0,338	-0,642	0,527	1

Πίνακας 5.7. Συντελεστής συσχέτισης μεταξύ των δεικτών

Ο πίνακας 5.7 φανερώνει τη συσχέτιση των δεικτών μεταξύ τους με υπολογισμό του συντελεστή Pearson (r). Όσο πιο κοντά στη μονάδα εμφανίζεται ο συντελεστής Pearson τόσο μεγαλύτερη συσχέτιση υπάρχει μεταξύ των δεικτών. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία κρίνεται ότι όταν ο συντελεστής Pearson έχει τιμή μεγαλύτερη του 0,6 τότε υπάρχει καλή συσχέτιση μεταξύ των εξεταζόμενων παραμέτρων.

Γενικά αναμένεται θετική συσχέτιση μεταξύ των δεικτών αφυδρογονάση- βιομάζα N- βιομάζα C ($r>0,6$), δηλαδή όσο αυξάνεται η τιμή ενός δείκτη σε κάποιο δείγμα να αυξάνεται και η τιμή του άλλου. Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson μεταξύ της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης και των συγκεντρώσεων βιομάζας N και C εμφανίζει τιμές r=0.29 και r=0,338 αντίστοιχα, δηλαδή μικρότερες τιμές από τις αποδεκτές γεγονός που υποδηλώνει την απουσία συσχέτισης μεταξύ της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης και της μικροβιακής βιομάζας. Ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ των συγκεντρώσεων βιομάζας N και C έχει τιμή r=0,527, τιμή που υποδηλώνει και πάλι απουσία συσχέτισης καθώς δεν ξεπερνά την τιμή 0,6.

Αντίθετα αναμένεται αρνητική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης υδρογονανθράκων και των υπολοίπων δεικτών καθώς όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η ύπαρξη υδρογονανθράκων στο έδαφος υποδηλώνει την απουσία μικροοργανισμών. Σύμφωνα με τον πίνακα 5.7 ο συντελεστής Pearson μεταξύ της συγκέντρωσης των υδρογονανθράκων και της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης εμφανίζει τιμή r=0,093. Η τιμή αυτή υποδηλώνει μη συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών παραμέτρων. Μεταξύ των δεικτών υδρογονάνθρακες και βιομάζα N η συσχέτιση είναι r=-0,377. Η τιμή αυτή φανερώνει αρνητική συσχέτιση αλλά σε πολύ μικρό βαθμό ώστε να θεωρείται μη αποδεκτή. Αντίθετα μεταξύ των δεικτών υδρογονάνθρακες και βιομάζα C ο συντελεστής Pearson εμφανίζει τιμή r=-0,642, τιμή που υποδηλώνει σχετικά καλή αρνητική συσχέτιση.

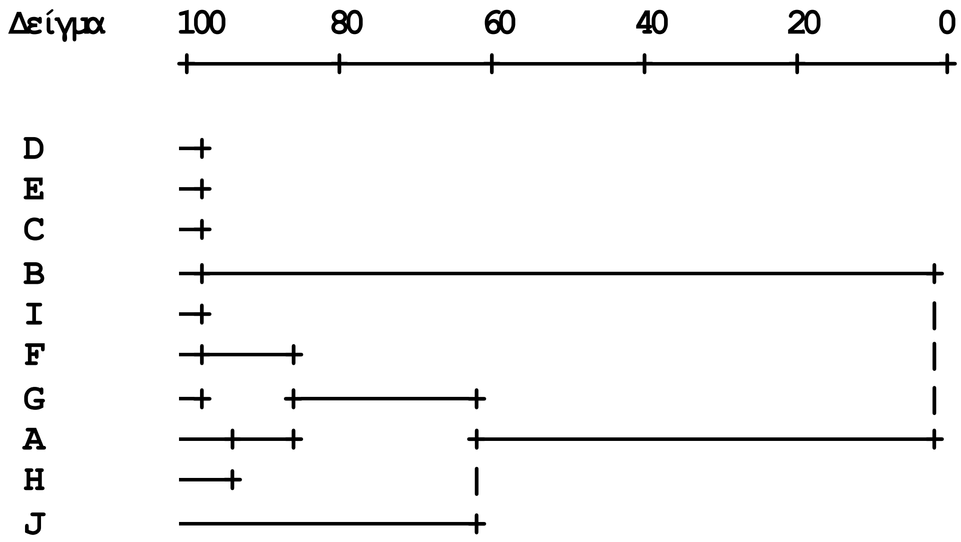
Η μικρή συσχέτιση που υπολογίστηκε μεταξύ των δεικτών υποδηλώνει ότι δε θα ήταν δυνατή η εξαγωγή ενός ασφαλούς συμπεράσματος για την ποιότητα των εδαφών με χρήση και των τεσσάρων παραμέτρων ή με συνδυασμό μερικών εξ αυτών. Η μοναδική περίπτωση που θα παρείχε σχετικά ασφαλή συμπεράσματα είναι ο συνδυασμός των δεικτών υδρογονάνθρακες – βιομάζα C. Και στην περίπτωση αυτή όμως ο συσχετισμός (r=-0.642) δεν είναι άριστος.

Στο σχήμα 5.11 φαίνεται από τις αναλύσεις που έγιναν και από τις τιμές των παραμέτρων το ποσοστό ομοιότητας μεταξύ των δειγμάτων ανάλογα με τις μετρήσεις των τεσσάρων δεικτών. Από το δενδρόγραμμα είναι φανερό ότι τα δείγματα D, E, C, B και I παρουσιάζουν μεγάλη ομοιότητα μεταξύ τους (σχεδόν 100%). Παρόμοιο ποσοστό ομοιότητας εμφανίζουν και τα δείγματα F και G. Τα δείγματα A και H παρουσιάζουν επίσης μεγάλη ομοιότητα μεταξύ τους που προσεγγίζει το 92%. Τα δείγματα A και H παρουσιάζουν ομοιότητα σε ποσοστό περίπου 82% σε σχέση με τα F και G με βάση τις παραμέτρους που ελέγχθηκαν. Το δείγμα J παρουσιάζει ομοιότητα σε ποσοστό 60% με τα δείγματα F, G, A και H ενώ αντίθετα δεν έχει καμιά ομοιότητα με τα υπόλοιπα δείγματα (0%) καθώς οι τιμές των παραμέτρων του διέφεραν πολύ από αυτές των υπολοίπων δειγμάτων.

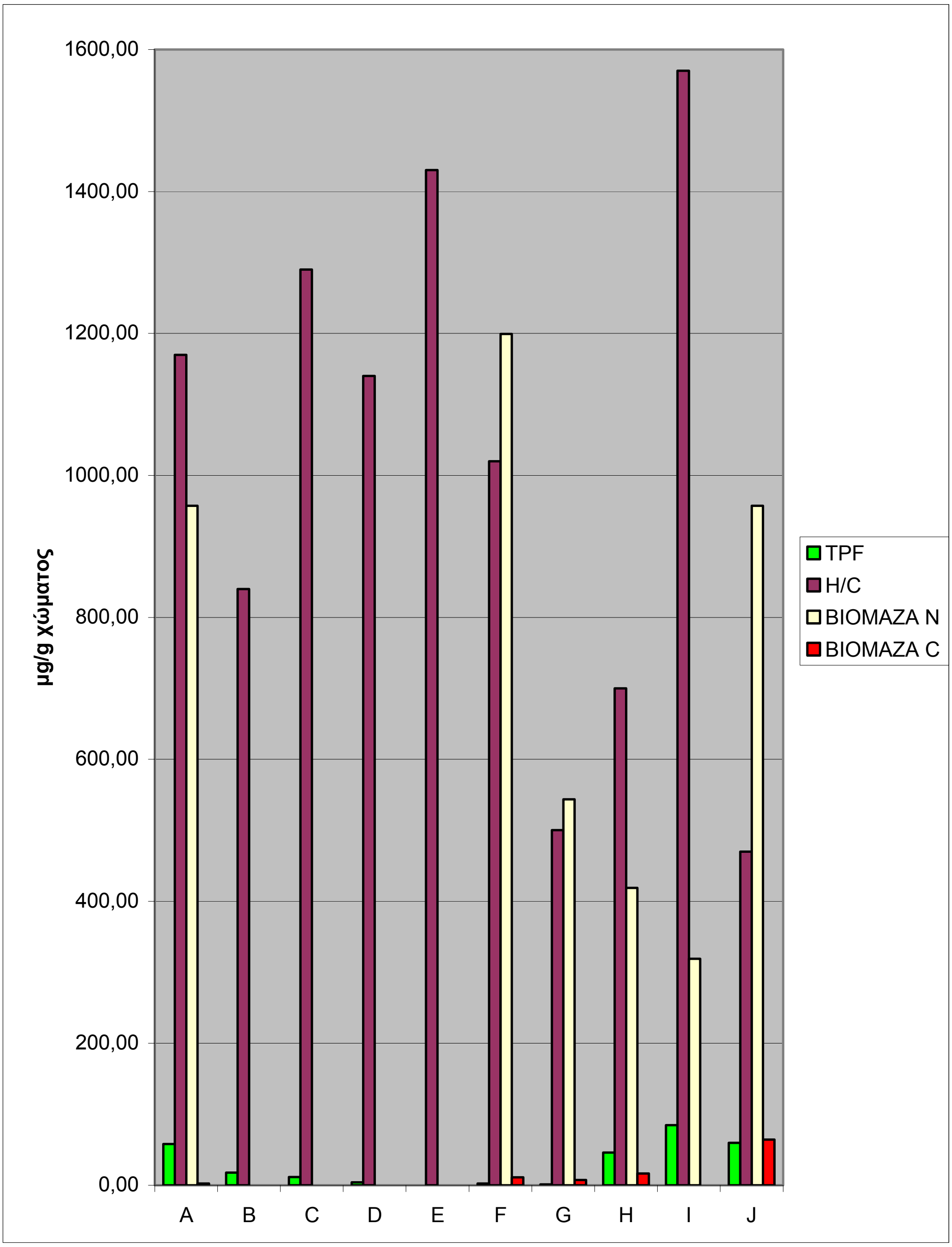
H I E R A R C H I C A L   C L U S T E R   A N A L Y S I S

Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)

Rescaled Distance Cluster Combine %



Σχήμα 5.11 Δενδρόγραμμα που παρουσιάζει το ποσοστό ομοιότητας μεταξύ των δειγμάτων



Σχήμα 5.12. Συγκριτικός πίνακας των δειγμάτων για όλους τους δείκτες

Από το σχήμα 5.12 γίνεται εμφανής η ανομοιομορφία που παρουσιάζουν οι δείκτες που μετρήθηκαν μεταξύ των εδαφών. Για παράδειγμα το δείγμα I παρουσιάζει τη μεγαλύτερη δραστηριότητα αφυδρογονάσης και συγκέντρωση υδρογονανθράκων αλλά μία από τις μικρότερες συγκεντρώσεις σε βιομάζα N και μηδενική συγκέντρωση σε βιομάζα C. Δηλαδή από την άποψη της αφυδρογονάσης, ως δείκτης ποιότητας του εδάφους, το δείγμα I αποτελεί το ποιοτικότερο δείγμα αλλά από την άποψη της μικροβιακής βιομάζας το αποτέλεσμα είναι το ακριβώς αντίθετο. Επίσης παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση υδρογονανθράκων και τη μεγαλύτερη δραστηριότητα αφυδρογονασών γεγονός που αναιρεί την αρνητική συσχέτιση που θα έπρεπε να υπάρχει μεταξύ των δεικτών υδρογονάνθρακες και αφυδρογονάση. Το δείγμα F παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση σε βιομάζα N αλλά πολύ χαμηλή συγκέντρωση αφυδρογονάσης. Και σε αυτή την περίπτωση ο χαρακτηρισμός της ποιοτικής κατάστασης του δείγματος αυτού είναι αμφιλεγόμενος. Όλα τα παραπάνω ενισχύουν το συμπέρασμα της έλλειψης συσχέτισης μεταξύ των τεσσάρων δεικτών που εξήχθη από την εκτέλεση των συγκεκριμένων πειραμάτων και από τον υπολογισμό των συντελεστών συσχέτισης.

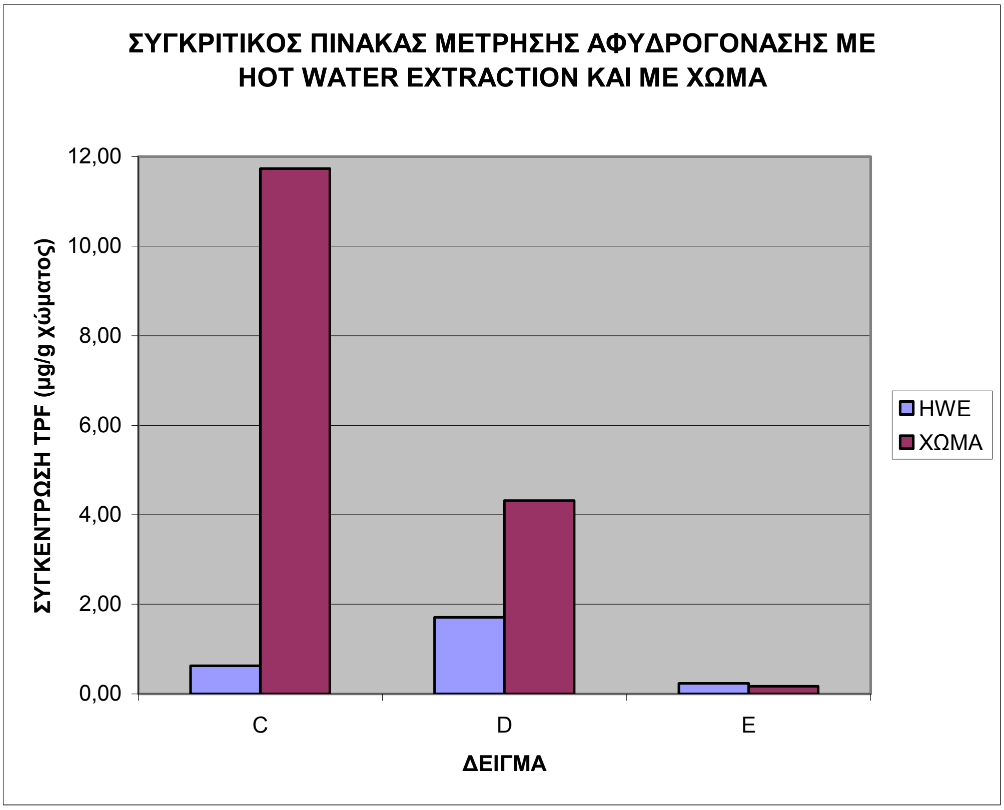
Γενικά είναι φανερό ότι οι δείκτες αφυδρογονάση, υδρογονάνθρακες και μικροβιακή βιομάζα δεν ακολουθούν κάποια σχέση μεταξύ τους στα δείγματα που μελετήθηκαν κάνοντας δύσκολο τον καθορισμό των ποιοτικών και μη εδαφών. Ο συνδυασμός μερικών από τις παραμέτρους μεταξύ τους, συγκεκριμένα ο συνδυασμός της συγκέντρωσης υδρογονανθράκων και της βιομάζας C παρουσίασε αρκετά καλή συσχέτιση ώστε να μπορεί να εξαχθεί κάποιο συμπέρασμα, όμως η χρήση μιας ή δύο βιοχημικών ιδιοτήτων δεν είναι επαρκής για να καταδείξει την πολυπλοκότητα της λειτουργίας ενός εδαφικού συστήματος και ως αποτέλεσμα να κρίνει την ποιότητα του.

5.5 Πείραμα Hot Water Extraction

5.5.1 Πείραμα μέτρησης αφυδρογονάσης με Hot Water Extraction

ΔΕΙΓΜΑ	TPF (μg/g χώματος)
C	0,63
D	1,71
E	0,24

Πίνακας 5.8. Συγκέντρωση TPF στα δείγματα με τη μέθοδο HWE.



Σχήμα 5.13. Σύγκριση των συγκεντρώσεων TPF των δειγμάτων όπως προέκυψαν με τη χρήση της μεθόδου HWE και χωρίς

Όπως είναι εμφανές από το σχήμα 5.13 οι συγκεντρώσεις TPF που προέκυψαν από τη μέθοδο Hot Water Extraction διαφέρουν κατά πολύ από τις συγκεντρώσεις που προέκυψαν από τη χρήση χώματος. Για την ακρίβεια στο δείγμα C η συγκέντρωση με HWE είναι πολύ μικρότερη από τη συγκέντρωση που προέκυψε με χώμα. Το ίδιο φαινόμενο αλλά σε μικρότερο βαθμό παρατηρείται και στο δείγμα D. Το δείγμα C εμφανίζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε TPF, μεταξύ των τριών δειγμάτων με χρήση χώματος αντίθετα με αυτό που συμβαίνει στη μέθοδο HWE όπου τη μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφανίζει το δείγμα D. Το δείγμα E είναι το μοναδικό που παρουσιάζει παρόμοιες συγκεντρώσεις TPF και με τις δύο μεθόδους.

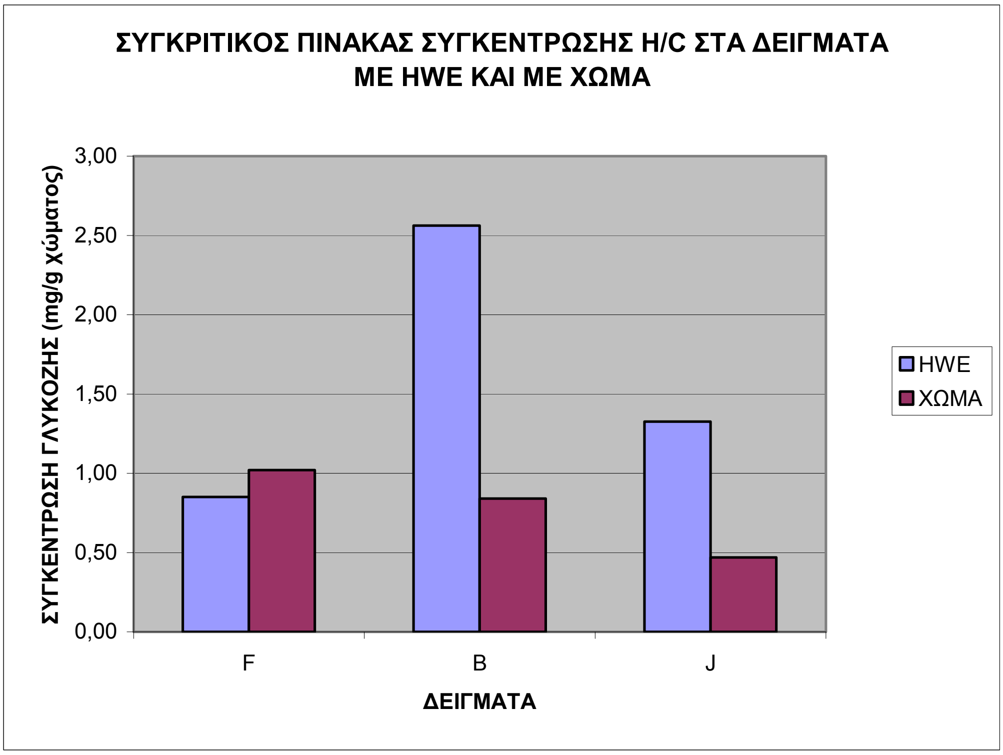
Η τιμή του συντελεστή συσχέτιση Pearson του γινομένου των ροπών προέκυψε $r < 0,50$. Για να θεωρηθεί αποδεκτή η απόκλιση μεταξύ των τιμών των δύο πειραμάτων ο συντελεστής θα έπρεπε να έχει τιμή κοντά στο 1 από την οποία και απέχει κατά πολύ.

Από το πρώτο αυτό πείραμα η μέθοδος HWE δεν παρουσιάζεται ως επιτυχημένη ως προς την εξαγωγή αποτελεσμάτων.

5.5.2 Πείραμα μέτρησης υδρογονανθράκων με Hot Water Extraction

ΔΕΙΓΜΑ	ΓΛΥΚΟΖΗ ΜΕ HWE (mg/g χώματος)
F	0,85
B	2,56
J	1,33

Πίνακας 5.9. Συγκέντρωση υδρογονανθράκων στα δείγματα με τη μέθοδο HWE



Σχήμα 5.14. Σύγκριση των συγκεντρώσεων υδρογονανθράκων των δειγμάτων όπως προέκυψαν με τη χρήση της μεθόδου HWE και με χώμα

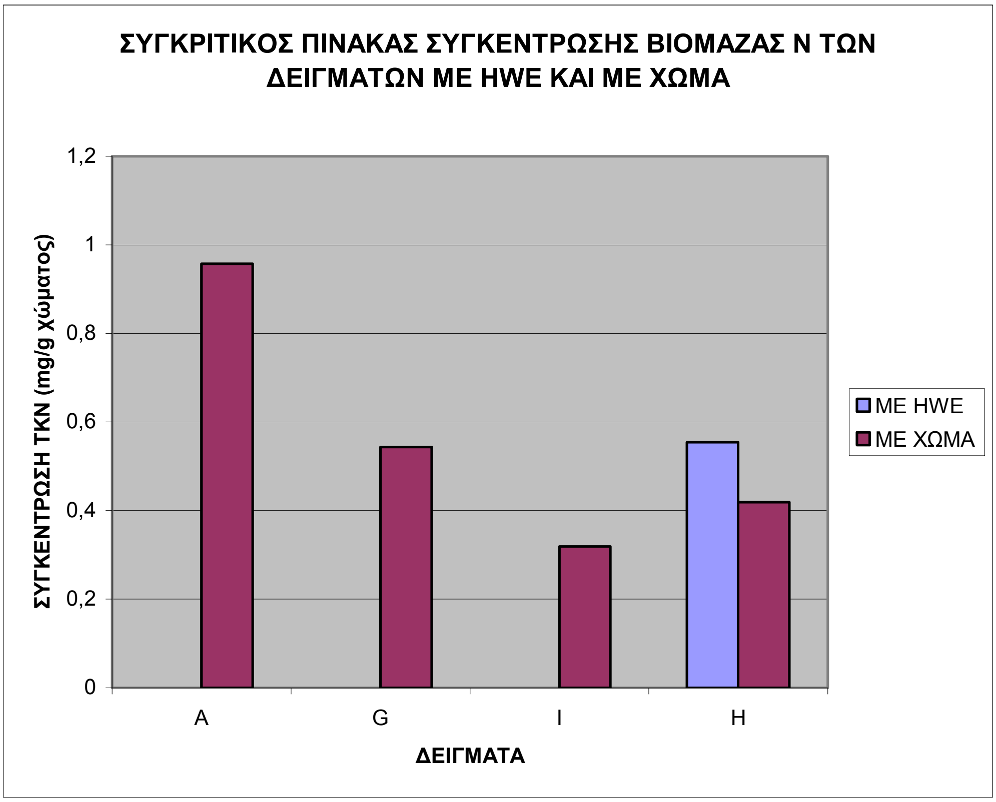
Ούτε στην περίπτωση της μέτρησης υδρογονανθράκων η μέθοδος Hot Water Extraction κρίνεται ικανοποιητική. Το δείγμα F που παρουσιάζει κανονικά τη μεγαλύτερη συγκέντρωση υδρογονανθράκων, με χρήση της μεθόδου HWE εμφανίζει τη μικρότερη συγκέντρωση αν και οι τιμές δεν εμφανίζουν πολύ μεγάλη απόκλιση. Αντίθετα στην περίπτωση του δείγματος B η τιμή της συγκέντρωσης υδρογονανθράκων εμφανίζεται μεγαλύτερη με χρήση της μεθόδου HWE σε σχέση με τη χρήση χώματος με πολύ μεγάλη απόκλιση. Στο δείγμα J η συγκέντρωση υδρογονανθράκων με τη μέθοδο HWE είναι περίπου τριπλάσια από την συγκέντρωση που μετρήθηκε με χώμα. Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson προέκυψε r<< 0,5, τιμή που φανερώνει την έλλειψη συσχέτισης μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων.

Από όλα τα παραπάνω εξάγεται το συμπέρασμα ότι η μέθοδος HWE δεν παρουσιάζεται ως επιτυχημένη ως προς την εξαγωγή αποτελεσμάτων ούτε και στη μέτρηση της συγκέντρωσης των υδρογονανθράκων.

5.5.3 Πείραμα μέτρησης βιομάζας N με Hot Water Extraction

ΔΕΙΓΜΑ	ΒΙΟΜΑΖΑ N (mg/g χώματος) ΜΕ HWE
A	0
G	0
I	0
H	0,55

Πίνακας 5.10. Συγκέντρωση βιομάζας N στα δείγματα με τη μέθοδο HWE



Σχήμα 5.15. Σύγκριση των συγκεντρώσεων βιομάζας N των δειγμάτων όπως προέκυψαν με τη χρήση της μεθόδου HWE και με χώμα

Από το σχήμα 5.15 είναι εμφανές ότι οι δύο μέθοδοι έδωσαν τελείως διαφορετικά αποτελέσματα (συντελεστής Pearson, r<<0,5). Με τη μέθοδο HWE τα τρία από τα τέσσερα δείγματα που μελετήθηκαν παρουσίασαν μηδενική συγκέντρωση βιομάζας N, με μοναδική εξαίρεση το δείγμα H. Το δείγμα A μάλιστα που παρουσίασε τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε βιομάζα N σε σχέση με τα υπόλοιπα τρία με τη μέθοδο χώματος, παρουσίασε μηδενική συγκέντρωση με τη μέθοδο HWE. Αλλά και στην περίπτωση του δείγματος H τα αποτελέσματα είχαν αρκετά μεγάλη απόκλιση μεταξύ τους. Συνεπώς, ούτε στην περίπτωση της βιομάζας N η μέθοδος Hot Water Extraction κρίνεται ως ικανοποιητική εναλλακτική μέθοδος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι βιοχημικές ιδιότητες του χώματος έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για να αξιολογήσουν την εδαφική ποιότητα, τόσο μεμονωμένα όσο και συνδυαστικά ως απλοί και πιο σύνθετοι δείκτες, γεγονός που τονίζει την αναγνώριση της αξίας τους από την επιστημονική κοινότητα. Εντούτοις, μέχρι τώρα, τα δημοσιευμένα αποτελέσματα αλλά και τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας δείχνουν ότι οι βιοχημικές ιδιότητες δεν μπορούν ακόμα να θεωρηθούν ως αποδοτικά διαγνωστικά εργαλεία. Όπως έχει τονιστεί στην παρούσα εργασία, ούτε οι μεμονωμένες ιδιότητες ούτε οι δείκτες που λαμβάνονται με συνδυασμό αυτών δεν μπορούν να θεωρηθούν γενικής χρήσης καθώς εκείνες οι ιδιότητες ή οι δείκτες που εμφανίζονται να ισχύουν σε ορισμένες καταστάσεις είναι τελείως αναποτελεσματικοί σε άλλες.

Υπάρχουν διάφοροι λόγοι που μπορούν να εξηγήσουν την ανικανότητα των βιοχημικών ιδιοτήτων στον ποσοτικό καθορισμό της ποιότητας του εδάφους. Η έλλειψη τυποποιημένων μεθόδων ανάλυσης αποδεκτών από όλα τα εργαστήρια είναι ένα θεμελιώδες πρόβλημα για την ερμηνεία των τιμών τους. Διαφορές στη συλλογή, αποθήκευση και προγενέστερη επεξεργασία των δειγμάτων, καθώς και διαφορές στα πρωτόκολλα για τον καθορισμό των ενζυμικών δραστηριοτήτων (στις οποίες η θερμοκρασία, η συγκέντρωση υποστρωμάτων, ο χρόνος επώασης, κ.λ.π. είναι κρίσιμοι) καθιστά σχεδόν αδύνατη τη σύγκριση στοιχείων που λαμβάνονται από διαφορετικά εργαστήρια ή σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Επιπλέον, πρέπει να λάβουμε υπόψη τον υψηλό βαθμό μεταβλητότητας μεταξύ των βιοχημικών ιδιοτήτων, εποχιακά αλλά και σχετικά με τους εδαφικούς παράγοντες, καθώς επίσης και την έλλειψη τιμών αναφοράς ή βάσεων δεδομένων για τα υψηλής ποιότητας χώματα που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την πραγματοποίηση των συγκρίσεων. Όλο αυτό οδηγεί σε αντιφατικά συμπεράσματα κατά την περιγραφή των επιρροών ενός μολυσματικού παράγοντα ή ενός δεδομένου τύπου διαχείρισης του εδάφους στην εδαφική ποιότητα.

Τα μεθοδολογικά προβλήματα, σε συνδυασμό με την πολυπλοκότητα ενός δυναμικού εδαφικού συστήματος σημαίνουν ότι με την έως σήμερα διαθέσιμη γνώση, καμία εκτίμηση της εδαφικής ποιότητας, που χρησιμοποιεί τους απλούς δείκτες ή τις αναλογίες τους, δεν μπορεί να θεωρηθεί αξιόπιστη. Όπως επισήμαναν οι Sojka και Upchurch (1999), η χρήση μιας ή δύο βιοχημικών ιδιοτήτων δεν είναι επαρκής για να καταδείξει την πολυπλοκότητα της λειτουργίας του εδαφικού συστήματος. Οι προσπάθειες χρήσης των βιοχημικών ιδιοτήτων ως δείκτες της εδαφικής ποιότητας πρέπει να στραφούν στην αναζήτηση σύνθετων εκφράσεων που είναι σε θέση να απεικονίσουν την πολυπλοκότητα του εδάφους ακριβέστερα. Ακόμα όμως και οι σύνθετες εκφράσεις είναι απαραίτητο να εξεταστούν σε πολλές περιοχές και καταστάσεις προκειμένου να ελεγχθεί εάν ισχύουν παγκοσμίως. Για παράδειγμα, στην παρούσα εργασία ο συνδυασμός των βιοχημικών ιδιοτήτων αφυδρογονάση, υδρογονάνθρακες και μικροβιακή βιομάζα δεν απέδωσε για τα συγκεκριμένα εδάφη και φυσικά η χρήση τους μεμονωμένα θα οδηγούσε σε αντιφατικά αποτελέσματα.

Εκτός από τις ανωτέρω εκτιμήσεις, πρέπει να ληφθεί υπόψη η παρούσα κίνηση για διατύπωση και κατάθεση νόμων που καθιστούν δυνατό τον καθορισμό της μόλυνσης ενός εδάφους καθώς επίσης και τον υπολογισμό του βαθμού αποκατάστασης ενός προηγουμένως υποβιβασμένου χώματος. Στην ιδιαίτερη περίπτωση της Ευρωπαϊκής Ένωσης, αυτοί οι νόμοι θα πρέπει να υιοθετηθούν σε όλες τις χώρες που την αποτελούν με τους διαφορετικούς τύπους χρήσης του εδάφους και τα πολύ διαφορετικά γεωγραφικά και κλιματολογικά εδάφη. Εντούτοις, αυτή τη στιγμή δεν υπάρχει καμία επίσημη μεθοδολογία για τον υπολογισμό του επιπέδου της εδαφικής ποιότητας. Οι τωρινοί νόμοι συστήνουν μόνο τη χρήση απλών μετρήσεων (π.χ. εδαφική αναπνοή, βλάστηση ρίζας και επιμήκυνση) η γενική εφαρμογή των οποίων υπό τους διαφορετικούς όρους που επικρατούν στην Ευρώπη είναι αναξιόπιστη. Αυτό το νομοθετικό ενδιαφέρον για την εδαφική προστασία πρέπει να προκαλέσει μια συντονισμένη προσπάθεια για εύρεση μιας κοινής μεθοδολογίας για την εκτίμηση της εδαφικής ποιότητας, στην οποία οι βιολογικές και βιοχημικές εδαφικές ιδιότητες θα διαδραματίζουν έναν πολύ σημαντικό ρόλο λόγω της υψηλής ευαισθησίας τους. Αυτό υπονοεί την τυποποίηση των μεθόδων και την δημιουργία βάσεων δεδομένων βιολογικών και βιοχημικών ιδιοτήτων του εδάφους. Δυστυχώς, αυτοί οι στόχοι είναι μη ελκυστικοί για την πλειοψηφία των ερευνητικών ομάδων, δεδομένου ότι απαιτούν μια τεράστια αναλυτική προσπάθεια και είναι προς το παρόν ακατάλληλοι για χρηματοδότηση καθώς αποτελούν μέρος της βασικής έρευνας. Εντούτοις, η επίτευξη αυτών των βασικών στόχων είναι τόσο σημαντική ώστε μόνο εφόσον πραγματοποιηθούν θα είναι δυνατή η αναζήτηση των καθολικά εφαρμόσιμων δεικτών για την αξιολόγηση της ποιότητας του εδάφους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Amelung W., Cheshire M.V., Guggenberger G., 1996: «Determination of neutral and acidic sugars in soil by capillary gas liquid chromatography after trifluoroacetic acid hydrolysis»
2. Anderson T.H., Domsch K.H., 1985: «Determination of ecophysiological maintenance requirements of soil micro-organisms in a dormant state»
3. Angers D.A., Nadeau P., Mehuys G.R., 1988: «Determination of carbohydrate composition of soil hydrolysates by high-performance liquid chromatography»
4. Bandick A.K., Dick R.P., 1999: «Field management effects on soil enzyme activities»
5. Banerjee M.R., Burton D.L., McCaughey W.P., Grant C.A., 2000: «Influence of pasture management on soil biological quality»
6. Bardgett R.D., James L., Leemans D.K., 1995: «Microbial biomass and activity in a grassland soil amended with different application rates of silage effluent—a laboratory study»
7. Barriuso E., Perez-Mateos M., Gonzalez-Carcedo S., 1988: «Actividad ureasica especıfica del suelo»
8. Beck T., 1984: «Methods and applications of soil microbiological analyses at the Landsensanstalt fu¨r Bodenkultur und Pfanzenban (LBB) in Munich for the determination of some aspects of soil fertility»
9. Beck T., Joergensen R.G., Kandeler E., Makeschin F., Nuss E., Oberholzer H.R., Scheu S., 1997: «An inter-laboratory comparison of ten different ways of measuring soil microbial biomass C»
10. Bending G., Turner M., Rayns F., Marx M., Wood M., 2004: «Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes»
11. Benefield C.B., Howard P.J.A. Howard, D.M., 1977: «The estimation of dehydrogenase activity in soil»

12. Bentham H., Harris J.A., Birch P., Short K.C., 1992: «Habitat classification and soil restoration assessment using analysis of soil microbiological and physicochemical characteristics»

13. Bergstrom D.W., Monreal C.M., King D.J., 1998: «Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices»

14. Bergstrom D.W., Monreal C.M., Tomlin A.D., Miller J.J., 2000: «Interpretation of soil enzyme activities in a comparison of tillage practices along a topographic and textural gradient»

15. Brink R., Dubach P., Lynch D., 1959: «Measurement of carbohydrates in soil hydrolyzates with anthrone»

16. Brookes P.C., 1995: «The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals»

17. Brookes P.C., Heijnen C.E., McGrath S.P., Vance E.D., 1986: «Soil microbial biomass estimates in soils contaminated with metals»

18. Burton J., Chen C., Xu Z., Ghadiri H., 2007: «Soluble organic nitrogen pools in adjacent native and plantation forests, of subtropical Australia»

19. Casida L., 1977: «Microbial Metabolic Activity in Soil as Measured by Dehydrogenase Determinations»

20. Casida L., Klein D., Santoro T., 1964: «Soil dehydrogenase activity»

21. Chakrabarti K., Sarkar B., Chakraborty A., Banik P., Bagchi D.K., 2000: «Organic recycling for soil quality conservation in a sub-tropical plateau region»

22. Chander K., Brookes P.C., 1993. «Residual effects of zinc, copper and nickel in sewage sludge on microbial biomass in a sandy loam»

23. Cheshire M. V., 1979: «Nature and Origin of Carbohydrares in Soils»

24. Cheshire M. V., Mundie C. M., Shepherd H., 1969: «The origin of soil polysaccharide: transformations of sugars during the decomposition in soil of plant material labelled with 14C»

25. Clarholm M., 1993: «Microbial biomass P, labile P, and acid phosphatase activity in the humus layer of a spruce forest, after repeated additions of fertilizers»

26. Dalal R.C., 1998: «Soil microbial biomass—what do the numbers really mean?»

27. Dilly O., Blume H.P., 1998: «Indicators to assess sustainable land use with reference to soil microbiology»

28. Dilly O., Munch J.C., 1998: «Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils»

29. Domsch K.H., 1984: «Effects of pesticides and heavy metals on biological processes in soil»

30. Doran J.W., Parkin T.B., 1994: «Defining Soil Quality for a Sustainable Environment»

31. Doutre D.A., Hay G.W., Hood A., Vanloon G.W., 1978: «Spectrophotometric methods to determine carbohydrates in soil»

32. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F., 1956: «Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances»

33. Filip Z., 2002: «International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters»

34. Fioretto A., Papa S., Sorrentino G., Fuggi A., 2001: «Decomposition of Cistus incanus leaf litter in a Mediterranean maquis ecosystem: mass loss, microbial enzyme activities and nutrient changes»

35. Friedel J.K., Molter K., Fischer W.R., 1993: «Comparison and improvement of methods for determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and iodonitrotetrazolium chloride»

36. Garcıa C., Roldan A., Hernandez T., 1997: «Changes in microbial activity after abandonment of cultivation in a semiarid Mediterranean environment»

37. Gerchakov, S.M., Hatcher, P.G., 1972: «Improved technique for analysis of carbohydrates in sediments»

38. Gil-Sotres F., Trasar-Cepeda C., Ciardi C., Ceccanti B., Leiros M.C., 1992: «Biochemical measures of biological activity in very young mine soils»

39. Gil-Sotres F., Trasar-Cepeda C., Leiros M.C., Seoane S., 2005: «Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties».

40. Gong P., 1996: «Dehydrogenase activity in soil: A comparison between the TTC and INT assay under their optimum conditions»

41. Halvorson J.J., Smith J.L., Papendick R.I., 1996: «Integration of multiple soil parameters to evaluate soil quality: a field example»

42. Haynes R.J., 1999: «Size and activity of the soil microbial biomass under grass and arable management»

43. Herb S.F. 1968: «Gas-liquid chromatography of lipids, carbohydrates and amino acids»

44. Hofman J., Bezchlebova J., Dusek L., Dolezal L., Holoubek I., Andel P., Ansorgova A., Maly S., 2003: «Novel approach to monitoring of the soil biological quality»

45. Holt J.A., 1997: «Grazing pressure and soil carbon, microbial biomass and enzyme activities in semi-arid Northeastern Australia»

46. Howard P.J.A., 1993: «Soil protection and soil quality assessment in the EC»

47. Ivarson K.C., Sowden F.J., 1962: «Methods for analysis of carbohydrate material in soil. I. Colourimetric determination of uronic acids, hexoses and pentoses»

48. Jenkinson D.S., Powlson D.S., 1976: « The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method of measuring soil biomass»

49. Johnson R., Pregitzer K., 2007: «Concentration of sugars, phenolic acids, and amino acids in forest soils exposed to elevated atmospheric CO2 and O3»

50. Jordan D., Kremer R.J., Bergfield W.A., Kim K.Y., Cacnio V.N., 1995: «Evaluation of microbial methods as indicators of soil quality in historical agricultural fields»

51. Kandeler E., Eder G., 1993: «Effect of cattle slurry in grassland on microbial biomass and on activities of various enzymes»

52. Kandeler E., Kampichler C., Horak O., 1996: «Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities»

53. Kandeler E., Stemmer M., Klimanek E.M., 1999: «Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fractions to long-term soil management»

54. Karlen D.L., Mausbach M.J., Doran J.W., Cline R.G., Harris R.F., Schuman G.E., 1997: «Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation»

55. Ladd J.N., Amato M., Li-Kai Z., Schultz J.E., 1994: «Differential effects of rotation, plant residue and nitrogen fertiliser on microbial biomass and organic matter in an Australian Alfisol»

56. Landi L., Renella G., Moreno J.L., Falchini L., Nannipieri P., 2000: «Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-:D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio underlaboratory conditions»

57. Langer U., Gunther T., 2001: «Effects of alkaline dust deposits from phosphate fertilizer production on microbial biomass and enzyme activities in grassland soils»
58. Larson W.E., Pierce F.J., 1991: «Conservation and enhancement of soil quality»
59. Li X., Li F., Singh B., Rengel Z., Zhan Z., 2006: «Soil management changes organic carbon pools in alpine pastureland soils»
60. Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F., 2000: «Monitoring of bioremediation by soil biological activities»
61. Martens R., 1985: «Limitations in the application of the fumigation technique for biomass estimations in amended soils»
62. Martens D.A., Frankenberger W.T., 1992: «Soil saccharide extraction and detection»
63. Marzadori C., Ciavatta D., Montecchio D., Gessa C., 1996: «Effects of lead pollution on different soil enzyme activities»
64. Meyer A., Fischer H., Kuzyakov Y., Fischer K., 2008: «Improved RP-HPLC and anion-exchange chromatography methods for the determination of amino acids and carbohydrates in soil solutions»
65. Monreal C.M., Bergstrom D.W., 2000: «Soil enzymatic factors expressing the influence of land use, tillage system and texture on soil biochemical quality»
66. Mullen M.D., Melhorn C.G., Tyler D.D., Duck B.N., 1998: «Biological and biochemical soil properties in no-till corn with different cover crops»
67. Nannipieri P., 1994: «The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution»
68. Nannipieri P., Kandeler E., Ruggiero P., 2002: «Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil»
69. Nortcliff S., 2002: «Standardisation of soil quality attributes»
70. Oades J. M., 1984: «Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management»
71. Olander L.P., Vitousek P.M., 2000: «Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability»
72. Pankhurst C.E., Hawke B.G., McDonald H.J., Kirby C.A., Buckerfield J.C., Michelsen P., O'Brien K.A., Gupta V.V.S.R., Doube B.M., 1995: «Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health»

73. Pascual J.A., Garcıa C., Hernandez T., 1999: «Lasting microbiological and biochemical effects of the addition of municipal solid waste to an arid soil»
74. Peterson, J., Henderson, S., 2004: «Use of Accelerated Solvent Extraction (ASE®) for Cleaning and Elution of XAD Resin
75. Picccolo A., Zena A. Conte P., 1996: «A comparison of acid hydrolyses for the determination of carbohydrate content in soils»
76. Saa´ A., Trasar-Cepeda M.C., Gil-Sotres,F., Carballas T., 1993: «Changes in soil phosphorus and phosphatase activity immediately following forest fires»
77. Saha S., Brewer C., 1993: «Determination of the concentrations of oligosaccharides, complex type carbohydrates, and glycoproteins using the phenol-sulfuric acid method»
78. Saviozzi A., Levi-Minzi R., Cardelli R., Riffaldi R., 2001: «A comparison of soil quality in adjacent cultivated, forest and native grassland soils»
79. Schaffer A., 1993: «Pesticide effects on enzyme activities in the soil Ecosystem»
80. Singh H., Singh K.P., 1993: «Effect of residue placement and chemical fertilizer on soil microbial biomass under tropical dry cultivation»
81. Sinsabaugh R.L., Moorhead D.L., Linkins A.E., 1994: «The enzymatic basis of plant litter decomposition: emergence of an ecological process»
82. Skujins J., 1978: «History of abiotic soil enzyme research, in: Burns»
83. Smith J.L., Halvorson J.J., Papendick R.I., 1993: «Using multiple-variable indicator kriging for evaluating soil quality»
84. Sojka R.E., Upchurch D.R., 1999: «Reservations regarding the soil quality Concept»
85. Spaccini R., Zena A., Igwe C.A., Mbagwu J.S.C., Piccolo A., 2001: «Carbohydrates in water-stable aggregates and particle size fractions of forested and cultivated soils in two contrasting tropical ecosystems»
86. Sparling G.P., 1997: «Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health»
87. Staddon W.J., Duchesne L.C., Trevors J.T., 1998: «Acid phosphatase, alkaline phosphatase and arylsulphatase activities in soils from a jack pine (Pinus banksiana Lamb.) ecosystem after clear-cutting, prescribed burning, and scarification»

88. Stefanic G., 1994: «Biological definition, quantifying method and agricultural interpretation of soil fertility»
89. Stefanic G., Eliade G., Chinorgeanu I., 1984: «Researches concerning a biological index of soil fertility »
90. Swincer G.D., Oades J.M. Greenland D.J., 1968: «Studies on soil polysaccharides. I. The isolation of polysaccharides from soil»
91. Trasar-Cepeda C., Leiros M.C., Seoane S., Gil-Sotres F., 2000: «Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution»
92. Trevors J. T., 1984: «Dehydrogenase activity in soil: A comparison between the TTC and INT assay»
93. Tscherko D., Kandeler E., 1999: «Classification and monitoring of soil microbial biomass, N-mineralization and enzyme activities to indicate environmental changes»
94. Valsecchi G., Gigliotti C., Farini A., 1995: «Microbial biomass, activity and organic matter accumulation in soil contaminated with heavy metal»
95. Van Straalen N.M., 1990: «New methodologies for estimating the ecological risk of chemicals in the environment»
96. Vance N.C., Entry J.A., 2000: «Soil properties important to the restoration of a Shasta red fir barrens in the Siskiyou Mountains»
97. Vance E., Brookes P., Jenkinson D,. 1987: «An extraction method for measuring soil microbial biomass C»
98. Vanlauwe B., Nwoke O.C., Sanginga N., Merckx R., 1999: «Evaluation of methods for measuring microbial biomass C and N and relationships between microbial biomass and soil organic matter particle size classes in West-African soils»
99. Vegter J.J.: «Soil quality criteria, present situation in the Netherlands and future developments»
100. Visser S., Parkinson D., 1992: «Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms»
101. Von Mersi W., Schinner F., 1990: «An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodonitrotetrazolium chloride»
102. Voos G., Groffman P.M., 1997: «Relationships between microbial biomass and dissipation of 2,4-D and dicamba in soil»

103. Wander M.M., Bollero G.A., 1999: «Soil quality assessment of tillage impacts in Illinois»

104. Wardle D.A., Ghani A., 1995: «A critique of the microbial quotient (qCO2) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development»

105. Witt C., Gaunt J., Galicia C., Ottow J., Neue H. U., 1999: «A rapid chloroform fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon and nitrogen in flooded rice soils»

106. Yakovchenko V.I., Sikora L.J., Rauffman D.D., 1996: «A biologically based indicator of soil quality»

107. Κουτρουμπίνας Ε., 2009: Διπλωματική εργασία, «Αντιδράσεις αζώτου και φωσφόρου σε ιζήματα της λεκάνης απορροής του ποταμού Ευρώτα: Κάθετη κατανομή».

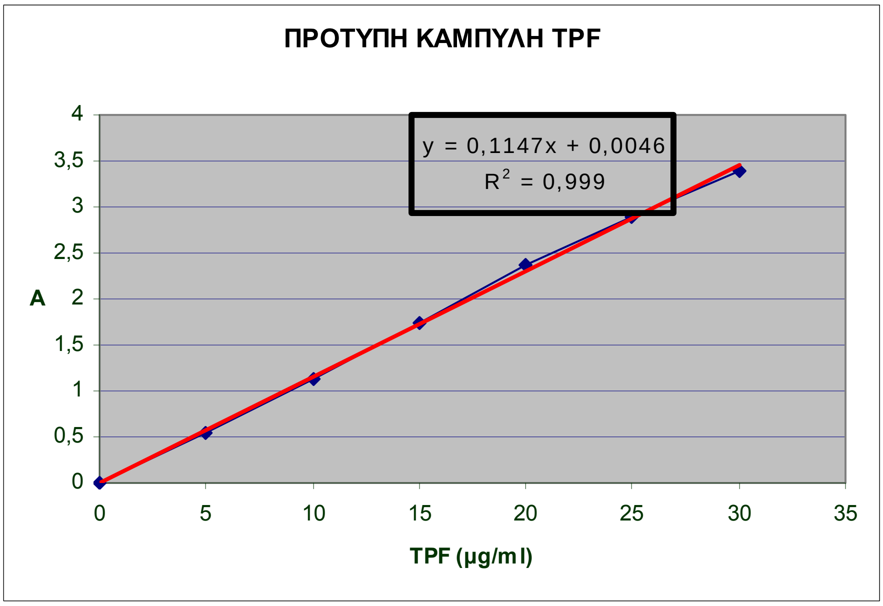
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α: ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΚΑΜΠΥΛΕΣ

Στο παράρτημα Α παρατίθενται οι πρότυπες καμπύλες και οι εξισώσεις στις οποίες βασίστηκαν τα αποτελέσματα όλων των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν.

Στο πείραμα μέτρησης της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη καμπύλη TPF. Στο εργαστήριο δημιουργήθηκε μια νέα πρότυπη καμπύλη TPF χρησιμοποιώντας διαλύματα με συγκεντρώσεις ίδιες με αυτές που παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ TPF(μg/ml)	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ 1	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ 2	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΝ
0			0
5	0,555	0,551	0,553
10	1,136	1,139	1,1375
15	1,746	1,75	1,748
20	2,357	2,361	2,359
25	2,897	2,901	2,899
30	3,379	3,388	3,3835

Πίνακας Α.1. Αποτελέσματα φωτομέτρησης των 6 διαλυμάτων TPF.

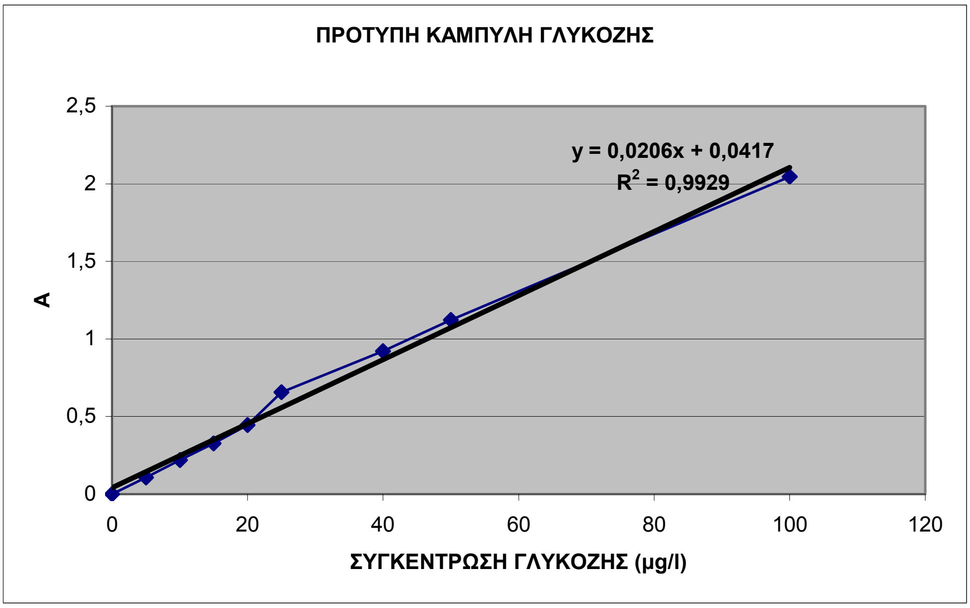


Σχήμα Α.1. Πρότυπη καμπύλη TPF και εξίσωση. y είναι η τιμή της απορρόφησης και x η συγκέντρωση του διαλύματος σε TPF σε μg/ml

Στο πείραμα μέτρησης των υδρογονανθράκων χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη καμπύλη γλυκόζης η οποία δημιουργήθηκε από τη φωτομέτρηση διαλυμάτων που περιείχαν 2 ml φαινόλης, 10 ml H_2SO_4 και 2 ml διαλύματος γλυκόζης με τις συγκεντρώσεις που φαίνονται στον πίνακα Α.2.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ (μg/l)	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ 1	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ 2	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΝ
0	0	0	0
5	0,124	0,091	0,1075
10	0,198	0,243	0,2205
15	0,293	0,359	0,326
20	0,403	0,489	0,446
25	0,688	0,626	0,657
40	0,853	0,99	0,9215
50	1,05	1,194	1,122
100	1,955	2,137	2,046

Πίνακας Α.2. Απορρόφηση διαλυμάτων γλυκόζης, H_2SO_4 και φαινόλης για την πρότυπη καμπύλη γλυκόζης



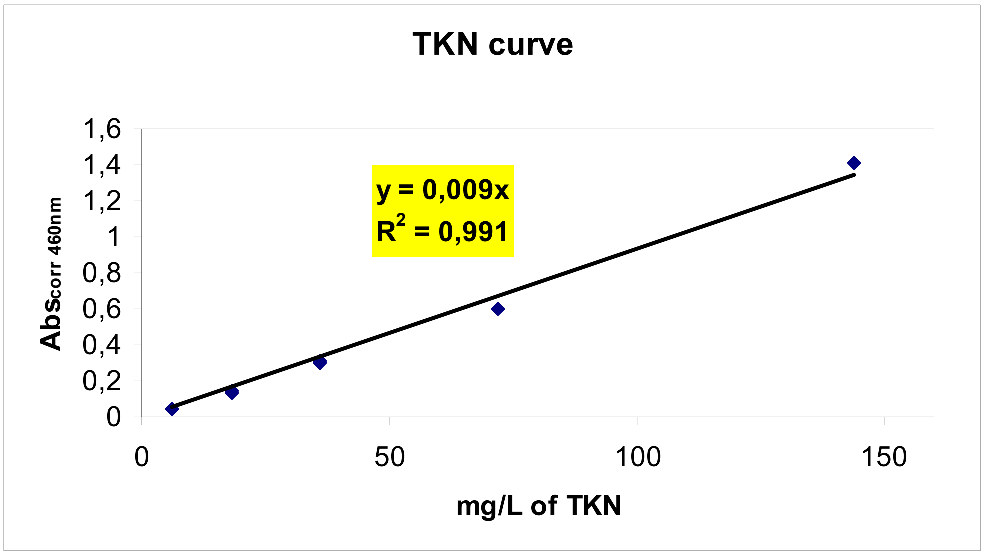
Σχήμα Α.2. Πρότυπη καμπύλη γλυκόζης και εξίσωση. y είναι η τιμή της απορρόφησης και x η συγκέντρωση του διαλύματος σε γλυκόζη σε μg/ml

Για τον υπολογισμό της βιομάζας Ν οι τιμές των δειγμάτων που προέκυψαν από τη φωτομέτρηση τοποθετήθηκαν στην εξίσωση που προέκυψε από την πρότυπη καμπύλη TKN. Η καμπύλη του TKN προέκυψε από πρότυπο διάλυμα NH3 (αμμωνίας), με κατάλληλες αραιώσεις. Τα διαλύματα αυτά ακολούθησαν τη διαδικασία του φασματοφωτομέτρου σε μήκος κύματος λ= 460 nm. Σύμφωνα με το manual του οργάνου, 1,5ppm N-NH3 = 6ppm TKN

mg/L N-NH_3	mg of TKN /L	Abs $_{460\ nm}$
1,5	6	0,047
1,5	6	0,048
4,5	18	0,131
4,5	18	0,140
9	36	0,309
9	36	0,298
18	72	0,605
36	144	1,410

Πίνακας Α.3. Τιμές της φωτομέτρησης των διαλυμάτων N-NH_3 για εξαγωγή της πρότυπης καμπύλης TKN

Η πρότυπη καμπύλη που προέκυψε από τις μετρήσεις αυτές φαίνεται στο σχήμα Α.3



Σχήμα Α.3. Πρότυπη καμπύλη TKN

Για τη μέτρηση της βιομάζας C για κάθε αποτέλεσμα που προέκυψε από τη μέτρηση των δειγμάτων επιλέχτηκε μία καμπύλη ανάλογα με τη συγκέντρωση σε ολικό άνθρακα που αναμέναμε. Οι καμπύλες αυτές είναι τέσσερις και τοποθετώντας την τιμή που προέκυψε από τη συσκευή μέτρησης άνθρακα υπολογίζεται η συγκέντρωση σε βιομάζα C του δείγματος σε mg/l. Οι καμπύλες αυτές είναι:

1.) $y = 0.0189x - 46.248$ για εύρος συγκεντρώσεων 100-240 mg/L

2.) $y = 0.0033x - 8.7287$ για εύρος συγκεντρώσεων 40-100 mg/L

3.) $y = 0.001x - 0.4059$ για εύρος συγκεντρώσεων 10-40 mg/L

4.) $y = 0.0003x - 0.7352$ για εύρος συγκεντρώσεων 1-10 mg/L

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β: ΟΡΓΑΝΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

Σε αυτό το δεύτερο παράρτημα παρατίθενται τα όργανα, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στο εργαστήριο για τη διεξαγωγή των πειραμάτων:

B.1 Πεχάμετρο

Οι μετρήσεις της ενεργού οξύτητας (pH), πραγματοποιήθηκαν με φορητό πεχάμετρο της εταιρείας Orion, μοντέλο 250A.

Εικόνα Β.1 Φορητό pH/mV/ORP/Temperature Meter, Orion, model 250A

Β.2 Αναδευτήρας

Η ανάδευση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε αναδευτήρα της εταιρείας Labnet, μοντέλο Shaker Orbit 1000.

Εικόνα Β.2 Αναδευτήρας, Labnet, model Shaker Orbit 1000

Β.3 Ζυγαριά

Για την μέτρηση όλων των ποσοτήτων εδάφους και αντιδραστηρίων χρησιμοποιήθηκε ψηφιακή ζυγαριά ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων της εταιρείας Kern, μοντέλο ABJ 220-4M.

Εικόνα Β.3 Ψηφιακή ζυγαριά ακριβείας, Kern, model ABJ 220-4M

Β.4 Nanopure

Στο πείραμα μέτρησης βιομάζας Ν χρησιμοποιήθηκε nanopure (υπερκάθαρο νερό), το οποίο παράγεται από μηχάνημα της εταιρείας Barnstead, μοντέλο Easypure II.

Εικόνα Β.4 Μηχάνημα παραγωγής nanopure, Barnstead, model Easypure II

Β.5 Συσκευή χώνευσης δειγμάτων (TKN)

Οι χωνεύσεις των δειγμάτων (TKN) πραγματοποιήθηκαν με συσκευή της εταιρείας Hach, μοντέλο Digesdahl Digestion Apparatus.

Εικόνα Β.5 Συσκευή χώνευσης δειγμάτων (TKN), Hach, model Digesdahl Digestion Apparatus

Β.6 Συσκευή μέτρησης C

Στο πείραμα μέτρησης βιομάζας C χρησιμοποιήθηκε το μηχάνημα μέτρησης της εταιρείας Shimadzu

Εικόνα Β.6 Μηχάνημα μέτρησης DOC, Total Organic Analyzer – 5050A της εταιρείας Shimadzu

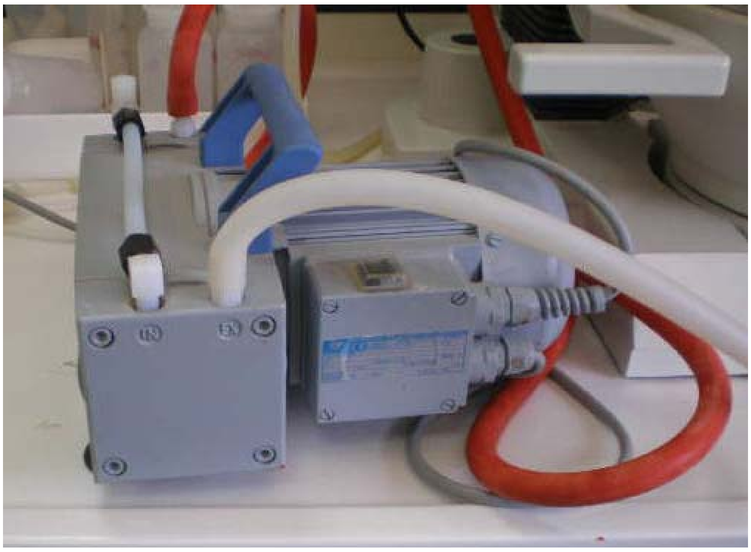
Β.7 Φασματοφωτόμετρο

Η ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση φασματοφωτομέτρου της εταιρείας Hach, μοντέλο DR/2010.

Εικόνα Β.7. Φασματοφωτόμετρο, Hach, model DR/2010

B.8 Αντλία διήθησης

Η διήθηση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με αντλία της εταιρείας ABM, Marktredwitz, μοντέλο MZ2C.



Εικόνα Β.8 Αντλία διήθησης, ABM, Marktredwitz, model MZ2C

B.9 Συσκευή φυγοκέντρισης

Για τη φυγοκέντριση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Heraeus Labofuge 400 της εταιρίας Thermo

Εικόνα Β.9 Συσκευή φυγοκέντρισης Heraeus Labofuge 400

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ: ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΙΜΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ

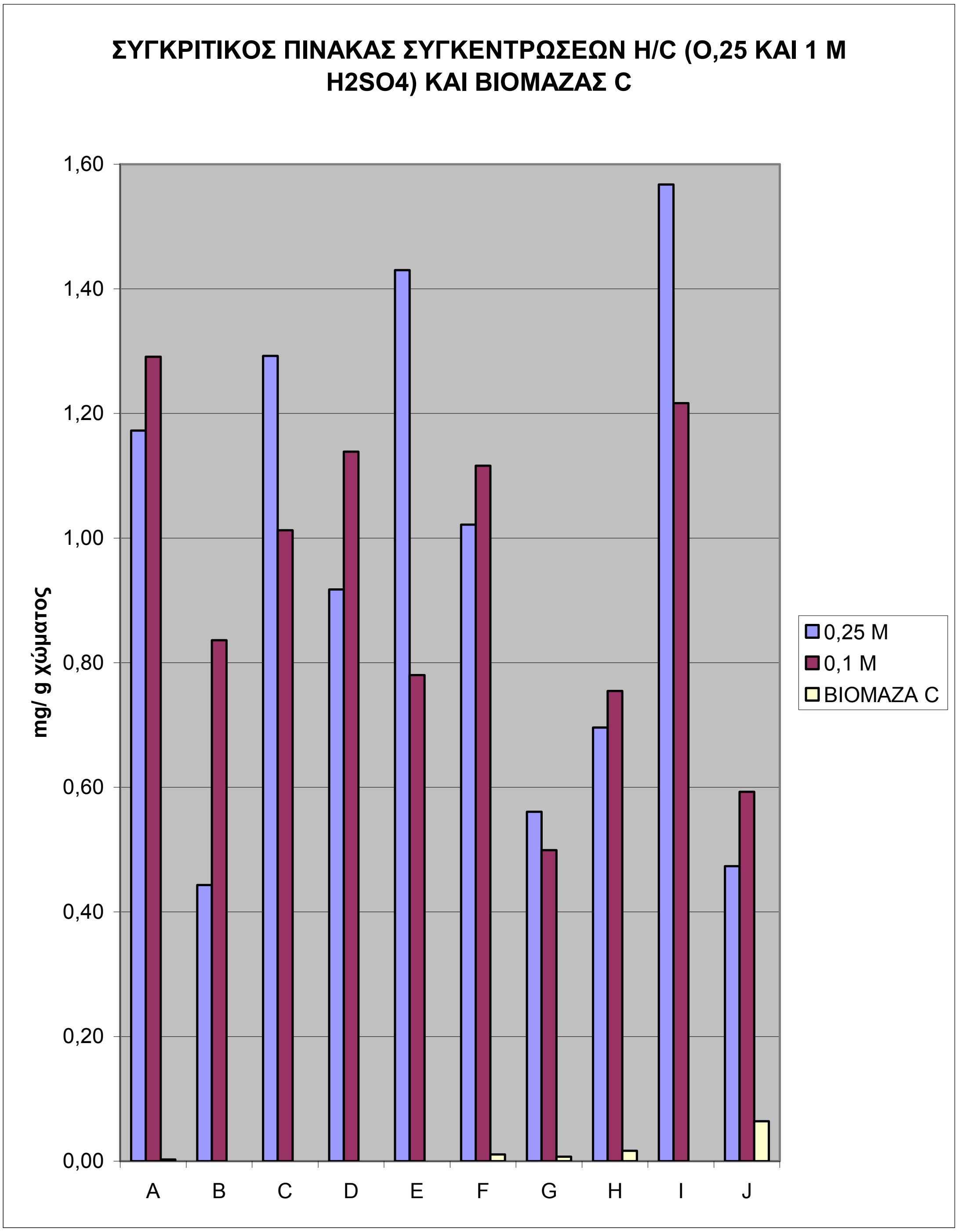
Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των υδρογονανθράκων επιλέχτηκε η μέθοδος κατά την οποία προστίθενται σε κάθε εδαφικό δείγμα διαλύματα H_2SO_4 διαφορετικών συγκεντρώσεων. Στην παρούσα εργασία προστέθηκαν διαλύματα συγκέντρωσης 0,25 και 1 Μ. Από την προσθήκη των δύο διαλυμάτων προέκυψαν στα δείγματα οι συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων που παρουσιάζονται στον πίνακα Γ.1

ΔΕΙΓΜΑ	ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ (mg/g χώματος)	
	0,25 M	**1M**
A	1,17	1,29
B	0,44	0,84
C	1,29	1,01
D	0,92	1,14
E	1,43	0,78
F	1,02	1,12
G	0,56	0,50
H	0,70	0,75
I	1,57	1,22
J	0,47	0,59

Πίνακας Γ.1. Συγκέντρωση γλυκόζης με προσθήκη διαλυμάτων H_2SO_4 με συγκεντρώσεις 0,25M και 1 M

Για την συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων υδρογονανθράκων που προέκυψαν με την προσθήκη των δύο διαλυμάτων H_2SO_4 διαφορετικής συγκέντρωσης υπολογίστηκε ο συντελεστής Pearson. Η τιμή του ($r<0,6$) υποδηλώνει ότι δεν υπάρχει συσχέτιση και επομένως πρέπει να επιλεγεί μία εκ των δύο τιμών για κάθε εδαφικό δείγμα.

Για την επιλογή της τιμής που θα αποτελέσει την τελική συγκέντρωση υδρογονανθράκων των δειγμάτων θα πρέπει να ληφθεί υπ΄ όψιν η αντίστροφη σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης υδρογονανθράκων και συγκέντρωσης της βιομάζας C στα δείγματα.



Σχήμα Γ.1 Συγκέντρωση υδρογονανθράκων με προσθήκη των διαφορετικών διαλυμάτων και συγκέντρωση βιομάζας C

Για την επιλογή της κατάλληλης τιμής συγκέντρωσης υδρογονανθράκων, στα δείγματα που παρουσίασαν μηδενική βιομάζα C επιλέχτηκε ως συγκέντρωση υδρογονανθράκων η μεγαλύτερη τιμή μεταξύ των τιμών που προέκυψαν από τη μέτρηση με προσθήκη διαλυμάτων H_2SO_4 συγκέντρωσης 1 M και 0,25 M. Αντίθετα, στα δείγματα που παρουσίασαν μη μηδενική συγκέντρωση βιομάζας C, επιλέχτηκε ως συγκέντρωση υδρογονανθράκων η μικρότερη τιμή μεταξύ των τιμών που προέκυψαν από τη μέτρηση με προσθήκη διαλυμάτων H_2SO_4 συγκέντρωσης 1 M και 0,25 M. Οι τελικές συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων στα δείγματα φαίνονται στον πίνακα Γ.2.

ΔΕΙΓΜΑ	ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ (mg/g χώματος)
A	1,17
B	0,84
C	1,29
D	1,14
E	1,43
F	1,02
G	0,50
H	0,70
I	1,57
J	0,47
K	ΔΕΝ ΜΕΤΡΗΘΗΚΕ

Πίνακας Γ.2. Τελικά αποτελέσματα πειράματος μέτρησης υδρογονανθράκων

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ: ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Στο τέταρτο και τελευταίο παράρτημα παρατίθενται οι αναλυτικοί πίνακες των αποτελεσμάτων όλων των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν.

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ 1	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ 2	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	TPF (μg/ml)	TPF (μg/g χώματος)
A	0,14	0,14	0,14	1,16	58,15
B	0,05	0,04	0,05	0,36	17,83
C	0,04	0,02	0,03	0,23	11,73
D	0,02	0,01	0,01	0,09	4,32
E	0,00	0,01	0,01	0,00	0,17
F	0,01	0,01	0,01	0,05	2,57
G	0,01	0,01	0,01	0,03	1,33
H	0,12	0,11	0,11	0,92	46,01
I	0,17	0,23	0,20	1,69	84,52
J	0,15	0,13	0,14	1,19	59,48
K	-	0,06	0,06	0,47	23,71

Πίνακας Δ.1. Αποτελέσματα πειράματος αφυδρογονάσης

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ		H/C (μg/ml)		H/C (mg/g χώματος)		H/C (mg/g χώματος)
	0,25 M	1M	0,25 M	1M	0,25 M	1M	
A	1,77	1,94	83,75	92,20	1,17	1,29	1,17
B	0,69	1,27	31,67	59,72	0,44	0,84	0,84
C	1,94	1,53	92,30	72,34	1,29	1,01	1,29
D	1,39	1,72	65,55	81,33	0,92	1,14	1,14
E	2,15	1,19	102,15	55,74	1,43	0,78	1,43
F	1,55	1,68	72,98	79,72	1,02	1,12	1,02
G	0,87	0,78	40,06	35,65	0,56	0,50	0,50
H	1,07	1,15	49,72	53,90	0,70	0,75	0,70
I	2,35	1,83	111,96	86,91	1,57	1,22	1,57
J	0,74	0,91	33,80	42,34	0,47	0,59	0,47

Πίνακας Δ.2. Αποτελέσματα πειράματος υδρογονανθράκων

C		E	
FUMIGATED	NON FUMIGATED	FUMIGATED	NON FUMIGATED
0,279	0,348	0,144	0,168
0,3	0,372	0,156	0,17
0.291	0,36	0,165	0,169
0.298	0.374	0.165	0.188
A		**J**	
FUMIGATED	NON FUMIGATED	FUMIGATED	NON FUMIGATED
0,327	0,34	0,335	0,328
0,347	0,382	ΑΚΥΡΟ	ΑΚΥΡΟ
0,333	0,397	0,429	0,376
0.427	0.448	0.303	0.344
0,385			
I		**B**	
FUMIGATED	NON FUMIGATED	FUMIGATED	NON FUMIGATED
0,32	0,242	0,168	0,255
0,295	0,283	0,209	0,244
0,232	0,268	0.216	0,237
F		**G**	
FUMIGATED	NON FUMIGATED	FUMIGATED	NON FUMIGATED
0,377	0.706	0,232	0.144
0,366	0.628	0,123	0.136
0,782	0.64	0,006	0.153
0.525		0.175	
H			
FUMIGATED	NON FUMIGATED		
0.718	0.644		
0.699	0.702		
0.64	0.584		

Πίνακας Δ.2. Αποτελέσματα φωτομέτρησης για τον καθορισμό της βιομάζας Ν

ΔΕΙΓΜΑ	**A**		**TKN** (mg/l)		**TKN (mg/g χώματος)**		**EN**	**BN**
	FUMIGATED	NON FUMIGATED	FUMIGATED	NON FUMIGATED	FUMIGATED	NON FUMIGATED		
A	45,43	39,68	851,73	744,02	3,41	2,98	0,43	0,96
J	40,64	34,89	761,97	654,26	3,05	2,62	0,43	0,96
I	30,04	28,12	563,16	527,26	2,25	2,11	0,14	0,32
F	83,19	79,60	3119,68	2985,00	12,48	11,94	0,54	1,19
G	18,62	15,35	349,07	287,90	1,40	1,15	0,24	0,54
H	18,84	16,33	353,31	306,18	1,41	1,22	0,19	0,42

Πίνακας Δ.3. Αποτελέσματα πειράματος βιομάζας N

ΔΕΙΓΜΑ			Μέτρηση 1	Μέτρηση 2	Μέτρηση 3	Calibration Curve	Μέσος όρος	CV	Συγκέντρωση (mg/l)	Συγκέντρωση (μέσοι όροι)
E	non fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	25636	26048	26046	2 (TC)	25910,0	0,9	76,77	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	27468	28052		2 (TC)	27760,0	1,5	82,88	79,8
	fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	25825	26049	25899	2 (TC)	25924,3	0,4	76,82	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	21666	23335	22397	2 (TC)	22466,0	3,7	65,41	71,1
J	non fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	26456	31184	29327	2 (TC)	28989,0	8,2	86,94	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	32036	32849	32988	2 (TC)	32624,3	1,6	98,93	92,9
	fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	32625	33546		2 (TC)	33085,5	2,0	100,45	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	32071	33716		2 (TC)	32893,5	3,5	99,82	100,1
F	non fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	10001	9639	11022	2 (TC)	10220,7	7,0	25,00	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	10465	9916	9594	2 (TC)	9991,7	4,4	24,24	24,6
	fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	12892	12175	12665	2 (TC)	12577,3	2,9	32,78	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	8622	8431	8100	2 (TC)	8384,3	3,2	18,94	25,9
H	non fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	34948	35409	36027	2 (TC)	35461,3	1,5	108,29	108,3
	fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	40574	38979	39334	2 (TC)	39629,0	2,1	122,05	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	32623	32273	32344	2 (TC)	32413,3	0,6	98,24	110,1
A	non fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	10178	8611	9960	1 (TC)	9583,0	8,9	134,8707	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	9775	8267	8599	1 (TC)	8880,3	8,9	121,5903	128,2
	fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	9444	9529	9911	1 (TC)	9628,0	2,6	135,7212	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	9047	8717	8831	1 (TC)	8865,0	1,9	121,3005	128,5

C	non fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	35067	32686	34350	2 (TC)	34034,3	3,6	103,5846	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	7544	7640	8215	1 (TC)	7799,7	4,7	101,1657	102,4
	fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1		6015	5574	1 (TC)	5794,5	5,4	63,26805	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	32244	31876	32495	2 (TC)	32205,0	1,0	97,5478	80,4
G	non fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	19579	18414	18747	2 (TC)	18913,3	3,2	53,6853	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	16943	17225	17199	2 (TC)	17122,3	0,9	47,775	50,7
	fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	19859	19450	19516	2 (TC)	19608,3	1,1	55,9788	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	17061	17077	16664	2 (TC)	16934,0	1,4	47,1535	51,6
I	non fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	26394	26558	26641	2 (TC)	26531,0	0,5	78,8236	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	29490	29030	29817	2 (TC)	29445,7	1,3	88,442	83,6
	fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	27856	25644	28263	2 (TC)	27254,3	5,2	81,2106	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	25023	24100	24691	2 (TC)	24604,7	1,9	72,4667	76,8
B	non fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	26859	26059	26377	2 (TC)	26431,7	1,5	78,4958	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	21482	21640	21556	2 (TC)	21559,3	0,4	62,4171	70,5
	fumigated	ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 1	25377			2 (TC)	25377,0		75,0154	
		ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ 2	20392	20690	18626	2 (TC)	19902,7	5,6	56,9501	66,0

Πίνακας Δ..4. Αποτελέσματα πειράματος βιομάζας C

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (μg/ml)	TPF ΜΕ HWE (μg/g χώματος)
C	0,011	0,06	0,63
D	0,022	0,15	1,71
E	0,007	0,02	0,24

Πίνακας Δ.5. Αποτελέσματα πειράματος αφυδρογονάσης με HWE

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (μg/ml)	H/C ΜΕ HWE (mg/g χώματος)
F	0,492	21,86	0,85
B	1,399	65,89	2,56
J	0,744	34,09	1,33

Πίνακας Δ.6. Αποτελέσματα πειράματος υδρογονανθράκων με HWE

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ		TKN (mg/l)		*EN* *(mg/l)*	*BN* *(mg/l)*	***BN*** **ΜΕ HWE** *(mg/g χωματος)*
	fumigated	non fumigated	fumigated	non fumigated			
A	0,017	0,022	33,91	43,88	0	0	0
G	0,003	0,006	5,98	11,97	0	0	0
I	0,029	0,029	57,85	57,85	0	0	0
H	0,02	0,008	9,97	3,99	5,98	11,08	0,55

Πίνακας Δ.7. Αποτελέσματα πειράματος βιομάζας N με HWE