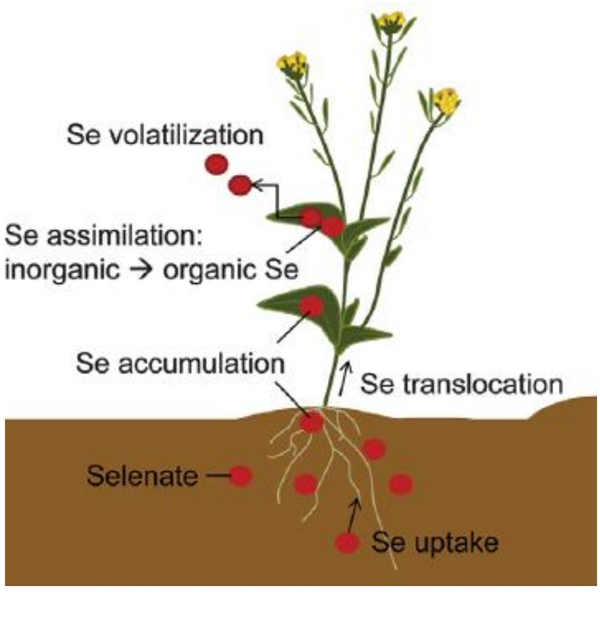
ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Έλεγχος Ποιότητας και Διαχείριση Περιβάλλοντος»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Το σελήνιο
-εφαρμογή της τεχνολογίας της φυτοεξυγίανσης

Περράκη Άρτεμις

Επιβλέπων: κ. Καλογεράκης Νίκος



-Χανιά, Οκτώβριος 2009-

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1 ΚΕΦΑΛΑΙΟ- ΤΟ ΣΕΛΗΝΙΟ

1.1 ΤΟ ΧΗΜΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ, ΡΟΛΟΣ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Το χημικό στοιχείο σελήνιο και οι φυσικές του ιδιότητες

Παίρνοντας το όνομά του από την αρχαία θεά της Σελήνης, το χημικό στοιχείο σελήνιο (σύμβολο κατά IUPAC: Se) είναι ένα από τα βασικά ιχνοστοιχεία για την ανθρώπινη υγεία.

Το σελήνιο (Se) είναι ένα αμέταλλο της 16ης ομάδας του περιοδικού πίνακα δηλαδή συγκαταλέγεται στο p-block με ατομικό αριθμό 34 και ατομικό βάρος 78,96 . Έχει θερμοκρασία τήξης 221 C° (494 K) και θερμοκρασία βρασμού 684,9 C° (958 K). Ως προς τις φυσικές του ιδιότητες, η πυκνότητα του είναι 4,8 g/cm^3 και ο γραμμομοριακός του όγκος 16,42 cm^3. Υπάρχει σε τέσσερις μορφές : τριγωνικό (Se3), μονοκλινές (Se8), ρομβοεδρικό (Se6) και άμορφο (a-Se).

Το σελήνιο (Se) ανήκει στην ομάδα των μεταλλοειδών και υπάρχει σε πέντε μορφές οξειδώσεως: -2, 0, +2, +4 και +6 (Combs, 2001). Η διαφοροποίηση της οξειδοαναγωγής του σεληνίου (Se) εξαρτάται από το δυναμικό οξειδοαναγωγής και το pH.

Ρόλος του σεληνίου

Σύμφωνα με τους Thomson και Robinson (1993) η ευεργετική δράση του σεληνίου για τον άνθρωπο έγκειται στο ότι αποτελεί συστατικό του ένζυμου *υπεροξειδάση της γλουταθειόνης*. Αυτό το ένζυμο αποτελεί ένα βασικό συντελεστή στην προστασία των κυτταρικών συστατικών από την επιβλαβή επίδραση των *υπεροξειδασών* (Haddadin *et al*,. 2001). Συγκεκριμένα, το σελήνιο φαίνεται να συμμετέχει στο αντιοξειδωτικό σύστημα της θρέψης. Προστατεύει τις μεμβράνες από την υπεροξείδωση των λιπιδίων, δηλαδή τη διαδικασία η οποία απελευθερώνει ελεύθερες ρίζες και οι οποίες μπορούν να αντιδράσουν με τα λιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης και να προκαλέσουν βλάβες στο κύτταρο.

Άλλοι φυσιολογικοί ρόλοι του σεληνίου για τον άνθρωπο είναι:

- Το σελήνιο με τη μορφή της σεληνοκυστεΐνης-ενός άλλου αντιοξειδωτικού- επιβραδύνει ή εμποδίζει τη βιοχημική διαδικασία της γήρανσης των ιστών, εννοώντας την απώλεια της ελαστικότητάς τους. Αυτή η διαδικασία προάγεται από τη βιταμίνη Ε. Μελέτες συνδέουν αυτό τον αντιοξειδωτικό ρόλο του σεληνίου με το καρδιαγγειακό σύστημα. Επιδημιολογικές έρευνες έδειξαν αυξημένο αριθμό καρδιακών προσβολών ή άλλα καρδιοαγγειακά προβλήματα σε περιοχές που παρουσίαζαν χαμηλές συγκεντρώσεις σεληνίου.

- Το σελήνιο είναι πιθανό να έχει αντικαρκινογόνο δράση, καθώς τα επίπεδα του σεληνίου στο αίμα ή στους ιστούς συσχετίζονται στενά με τον καρκίνο, περισσότερο από κάθε άλλη ουσία. Ικανοποιητικά επίπεδα σεληνίου συνδέονται με χαμηλό ποσοστό για καρκίνο και αντίστροφα. Έχει βρεθεί ότι τα ποσοστά θανάτου ασθενών που πάσχουν από καρκίνο των πνευμόνων, του παχέους εντέρου και του προστάτη, είναι χαμηλότερα σε ανθρώπους που έχουν υψηλή συγκέντρωση σεληνίου στο αίμα τους ή/και υψηλά επίπεδα πρόσληψης στη διατροφή τους. Αυτός ο προστατευτικός ρόλος του σεληνίου μπορεί να οφείλεται στο ρόλο του σαν αντιοξειδωτικό ή στο γεγονός ότι το σελήνιο εμποδίζει ή επιβραδύνει την ανάπτυξη των όγκων.
- Το σελήνιο επάγει την παραγωγή των αντισωμάτων, ως αντίδραση στα εμβόλια.
- Το σελήνιο μπορεί να προστατέψει τον οργανισμό από τις τοξικές επιδράσεις των βαρέων μετάλλων και άλλων ουσιών. Άνθρωποι που προσλαμβάνουν επαρκή ποσότητα σεληνίου φαίνεται να έχουν λιγότερα αρνητικά αποτελέσματα από το κάπνισμα, την κατανάλωση αλκοόλ, οξειδωμένων λιπών, καθώς επίσης και την μόλυνση με τοξικές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων, όπως είναι ο υδράργυρος (Hg) και το κάδμιο (Cd).
- Το σελήνιο συμμετέχει στην πρωτεϊνοσύνθεση, στην ανάπτυξη και στη γονιμότητα. Ειδικά έχει συσχετιστεί με την ανδρική γονιμότητα γιατί βελτιώνει την παραγωγή και κινητικότητα των σπερματοζωαρίων.
- Η πρόσληψη του σεληνίου ως συμπλήρωμα διατροφής μπορεί να βοηθήσει στη μείωση των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης.
- Μαζί με το ιώδιο, το σελήνιο έχει βασικό ρόλο στη διατήρηση και τη σωστή λειτουργία του θυρεοειδή αδένα. Όπως ήδη αναφέρθηκε, το σελήνιο συμμετέχει στην παραγωγή μία πιο ενεργής μορφής της ορμόνης του θυρεοειδή και επίσης ρυθμίζει το ρυθμό παραγωγής αυτής.
- Έρευνες έδειξαν ότι ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα έχουν μειωμένα επίπεδα σεληνίου στο αίμα τους.

- Η δυσαναρρόφηση τροφής που οφείλεται στον ιό του HIV (ή AIDS) μπορεί να προκαλέσει την απόπλυση σε μεγάλο βαθμό πολλών θρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένου και του σεληνίου. Η ανεπάρκεια σε σελήνιο συνδέεται με μειωμένο βαθμό ανοσοποίησης, αύξηση στην εξάπλωση της ασθένειας και υψηλό κίνδυνο θανάτου στον προσβεβλημένο πληθυσμό. Η ασθένεια του HIV καταστρέφει το ανοσοποιητικό σύστημα, οπότε και το οξειδωτικό στρες μπορεί να συμβάλλει στην παραπέρα καταστροφή των άνοσων κυττάρων. Πιστεύεται ότι το σελήνιο ως αντιοξειδωτικό, συμβάλλει στην προστασία των κυττάρων από το οξειδωτικό στρες και έτσι πιθανώς επιβραδύνει την πρόοδο της ασθένειας. Για το λόγο αυτό τα επίπεδα του σεληνίου μπορούν να προβλέψουν σημαντικά την επιβίωση των ατόμων που έχουν προσβληθεί με τον HIV. Για τους λόγους αυτούς το σελήνιο συνιστάται ως συμπλήρωμα σε άτομα θετικά στον HIV.
- Το σελήνιο μπορεί επίσης να παίξει ρόλο στην αντιμετώπιση ή τη θεραπεία παθήσεων όπως: η ακμή, η πολλαπλή σκλήρυνση, η αυχενική δυσπλασία, η ασθένεια του Parkinson, το άσθμα, οι πολύκυστικές ωοθήκες, ο καρκίνος του παχέος εντέρου, ο οισοφαγικός καρκίνος, ο καρκίνος του στομάχου, η ψωρίαση, το σύνδρομο αιφνίδιας παιδικής θνησιμότητας, η ασθένεια Kashin-Beck και η ασθένεια Keshan (Nyam News, 2005).

Έχει βρεθεί ότι η παρουσία του σεληνίου σε διάλυμα υδατοκαλλιέργειας μειώνει σε μεγάλο ποσοστό την πρόσληψη των φωσφορικών από τα φυτά κι έτσι δρα υπέρ της αυξήσεως. Η παραπάνω ευεργετική επίδραση του σεληνίου δεν διαπιστώνεται όταν οι τιμές του σεληνίου βρίσκονται σε φυσιολογικά, μη τοξικά επίπεδα.

Όσον αφορά το έδαφος, φαίνεται να υπάρχει ανταγωνισμός μεταξύ των θειικών (SO_4^{-2}) και σεληνικών (SeO_3^{-2}) ανιόντων. Έχει βρεθεί ακόμα, ότι τα φωσφορικά άλατα μπορεί να αυξήσουν τη διαθεσιμότητα του σεληνίου. Γενικά, τα φωσφορικά λιπάσματα μπορεί να έχει διαφορετική επίδραση στην πρόσληψη του σεληνίου από τα φυτά, οι οποία εξαρτάται από τη μορφή του σεληνίου στο έδαφος και τη χημική σύνθεση των φωσφορικών.

Τοξικότητα σεληνίου (Se)

Η τοξικότητα του σεληνίου οφείλεται στην αναγνώριση και αντικατάσταση του θείου (S) κάποιων πρωτεϊνών με το σελήνιο (Se). Στα ζώα η τοξικότητα του σεληνίου αποδίδεται κυρίως στη λήψη τροφών οι οποίες είναι πλούσιες σε σελήνιο (π.χ. *σεληνομεθειονίνη*). Η ανάλυση των αιτιών μιας διαταραχής της υγείας των αγροτικών ζώων γνωστής ως "*alkalis desease*" και η απόδοσή της σε τοξικότητα από τη βόσκηση φυτών με υψηλή περιεκτικότητα σεληνίου, οδήγησε αρχικά το 1930 στη μελέτη του στοιχείου ως θρεπτικό ιχνοστοιχείο για τα φυτά (Δροσόπουλος, 1992).

Η τοξικότητα του σεληνίου στα ζώα περιορίζεται κυρίως σε περιοχές που χαρακτηρίζονται ως σεληνικά εδάφη (*seleniferous soils*). Αυτές είναι περιοχές που παρουσιάζουν τυπική χλωρίδα φυτικών ειδών που μπορούν να αποταμιεύουν το σελήνιο στους ιστούς τους (πχ. περιοχή Great Plains στις ΗΠΑ και Καναδά και επαρχία Hubei της Κίνας)(Combs, 2001).

Τα όρια ανάμεσα σε μία επαρκή και μία τοξική πρόσληψη σεληνίου είναι αρκετά μικρά. Υπερβολική πρόσληψη σεληνίου στον άνθρωπο μπορεί να οδηγήσει με χρόνια τοξικότητα, τη *σελήνωση*. Αυτή ασθένεια μπορεί να προκύψει μετά από συνεχή κατανάλωση τροφών υψηλών σε σελήνιο, ή τροφών που αναπτύσσονται σε σεληνιούχα εδάφη. Σύμφωνα με την Αμερικάνικη Επιτροπή Τροφίμων και Θρέψης η τοξικότητα του σεληνίου μπορεί να προκύψει από επαναλαμβανόμενες προσλήψεις των 2.4-3.0 mg/ημέρα. Ως ένα ακραίο παράδειγμα, στην επαρχία Enshi στην Κίνα η μέση πρόσληψη σεληνίου των ~5.0 mg/ημέρα προκάλεσε σοβαρή απώλεια μαλλιών και νυχιών, δερματικά και νευρολογικά προβλήματα, μέχρι και θάνατο (Haddadin *et al.,* 2001). Άλλες έρευνες στην επαρχία Enshi έδειξαν ότι πρόσληψη σεληνίου της τάξης των 1,6 m, μπορούσε να διατηρήσει τα χαρακτηριστικά συμπτώματα της σελήνωσης (αλλοιώσεις στα νύχια των δαχτύλων). Μείωση της πρόσληψης του σεληνίου σε 126 μg/ημέρα βοήθησε πέντε ασθενείς να ανακάμψουν από αυτά τα συμπτώματα (Hawkesford *et al.,* 2001).

1.2 ΜΟΡΦΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΣΕΛΗΝΙΟΥ ΣΤΑ ΦΥΤΑ

Μορφές του σεληνίου (Se) στο έδαφος

Το σελήνιο υπάρχει στο έδαφος στις ακόλουθες μορφές:

- Αδιάλυτη μορφή του σεληνίου (Se^{--}).

Απαντά με σουλφίδια σε εδάφη ημίξηρων περιοχών.

- Μορφή (Se^{0})

Απαντάται σε μικρές ποσότητες σε μερικά εδάφη. Αποτελεί είτε μία ενδιάμεση μορφή οξειδώσεως του στοιχείου προς μία διαλυτή μορφή, είτε ένα προσωρινό συστατικό ουδέτερων και όξινων εδαφών κατά τη διάρκεια της αναγωγής των διαφόρων μορφών σεληνίουκάτω από όξινες συνθήκες.

- Σεληνιώδες ανιόν (SeO_3^{-2})

Αποτελεί ένα μεγάλο κλάσμα του σεληνίου σε όξινα εδάφη υπό μορφή σταθερών συμπλόκων με ένυδρα οξείδια του σιδήρου. Στη χαμηλή διαλυτότητα των συμπλόκων αυτών οφείλεται και το γεγονός της μη τοξικότητας του σεληνίου σε φυτά που αναπτύσσονται σε εδάφη πλούσια σε σελήνιο στη μορφή αυτή.

- Σεληνικό ανιόν (SeO_4^{-2}).

Απαντάται συχνά με σουλφίδια σε εδάφη ξηρών περιοχών. Αυτή η μορφή είναι σταθερή σε βασικό και οξειδωτικό περιβάλλον όπως αυτά που επικρατούν σε καλά αεριζόμενα σεληνικά εδάφη. Είναι η κύρια μορφή σεληνίου στο εδαφικό διάλυμα. Σε όξινα και ουδέτερα εδάφη απαντά σε περιορισμένες ποσότητες. Αποτελούν τις κύριες πηγές συσσώρευσης τοξικών ποσοτήτων στα φυτά που μεγαλώνουν σε εδάφη υψηλών συγκεντρώσεων επειδή είναι πολύ διαλυτά και πολύ εύκολα προσλαμβάνονται από το φυτό.

- Οργανικές μορφές σεληνίου

Αποτελούν το 40 % του ολικού σεληνίου του εδάφους και σχηματίζονται από σύμπλοκα του σεληνίου με τον χούμο του εδάφους. Διαλυτές μορφές του οργανικού σεληνίου απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια της σήψεως των σεληνόφιλων φυτών οι οποίες προσλαμβάνονται από άλλα φυτά. Οι οργανικές μορφές του σεληνίου πιστεύεται ότι είναι περισσότερο διαλυτές κάτω από βασικές εδαφικές συνθήκες.

Το σεληνικό (*selenate*) είναι η κυρίαρχη μορφή του στοιχείου σε αερόβιες συνθήκες και σε ουδέτερα με αλκαλικά εδάφη (pe+pH>15), ενώ το σεληνιώδες (*selenite*) και το στοιχειώδες σελήνιο (Se) κυριαρχούν σε αναερόβια περιβάλλοντα και σε καλά στραγγισμένα, μεταλλικά εδάφη, με pH από όξινο σε ουδέτερο (pe+pH<7,5). Το σελήνιο υπάρχει επίσης σε πτητικές μορφές. Το στοιχειώδες σελήνιο παρουσιάζει κάποιες παρόμοιες φυσικές και χημικές ιδιότητες με το θείο αν και σπάνια απαντάται στη φυσική του κατάσταση.

Βιοδιαθεσιμότητα του σεληνίου στα φυτά

Οι οξειδωμένες μορφές του σεληνίου, σεληνιώδες (*selenite*) και σεληνικό (*selenate*) είναι υψηλά διαλυτές στο νερό οπότε και βιοδιαθέσιμες για τα φυτά, αν και δυνητικά τοξικές. Το σεληνιώδες απορροφάται πιο εύκολα στην επιφάνεια του εδάφους από ότι το σεληνικό, ενώ η απορρόφηση και των δύο μειώνεται με την αύξηση του pH. Το σεληνικό μπορεί να απορροφηθεί ελαφρά μέσω ενός μη-εξειδικευμένου μηχανισμού που βασίζεται σε ηλεκτροστατικές δυνάμεις και γίνεται με παρόμοιο τρόπο με την απορρόφηση του θειικού άλατος. Ο μηχανισμός της απορρόφησης του σεληνιώδους παρουσιάζει κοινούς μηχανισμούς με την απορρόφηση του φωσφορικού άλατος. Το σεληνικό είναι πιο διαλυτό και έχει μεγαλύτερη κινητικότητα στο έδαφος από ότι το σεληνιώδες, αλλά ταυτόχρονα μπορεί να διηθηθεί πιο εύκολα. Γενικότερα, η βιοδιαθεσιμότητα του σεληνίου στα φυτά μειώνεται με τη μείωση του pH και με την αύξηση της περιεκτικότητας του εδάφους σε άργιλο, οξείδια/υδροξείδια του σιδήρου και οργανική ουσία (WHO, 1987).

Άλλες έρευνες έδειξαν ότι η άρδευση και η συμπίεση του εδάφους μείωσε τη συγκέντρωση του σεληνίου σε καρπούς σιταριού. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε μείωση του βιοδιαθέσιμου σεληνίου λόγω διήθησης, στην ύπαρξη ανταγωνισμού μεταξύ του θείου με το σεληνίου στο νερό άρδευσης ή λόγω φαινομένου διάλυσης στο έδαφος έπειτα από μία μεγάλη παραγωγή σιταριού (Hawkesford and Zhao, 2007).

Μορφές του Σεληνίου στους ιστούς

Στους ιστούς το σελήνιο βρίσκεται ως σεληνο-ανάλογα των θειούχων αμινοξέων. Άλλες μεταβολικά ενεργές μορφές του σεληνίου είναι τα σεληνοτρισουλφίδια και άλλες ασταθείς παρουσία οξέων ενώσεις του σεληνίου *(acid-labile selenium compounds).* Λειτουργικά φαίνεται να υπάρχουν τουλάχιστον δύο διακριτές οικογένειες ενζύμων που περιέχουν σελήνιο. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει τις *υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης* και τη *ρεδουκτάση της τη θειορεδοξίνης*. Αυτά είναι ένζυμα τα οποία συμβάλουν στον έλεγχο μεταβολιτών που περιέχουν υψηλά ενεργό οξυγόνο. Αυτοί οι μεταβολίτες σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι χρήσιμοι για τη διατήρηση της ανοσοποίησης, αλλά σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις είναι πολύ τοξικές για τα κύτταρα. Ο ρόλος του σεληνίου για τα κυτοπλασματικά ένζυμα, όπως είναι η *γλουταθειόνη της υπεροξειδάσης* (*glutathione peroxidase, GSHPx*) εντοπίστηκε αρχικά το 1973. Κατά τη διάρκεια καταπόνησης, προσβολή ή τραυματισμού των ιστών, τα σεληνοένζυμα προστατεύουν τους ιστούς στην αρνητική επίδραση του υπεροξειδίου του υδρογόνου ή των ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Αυτή η οικογένεια ενζύμων καταλύει την καταστροφή του υπεροξειδίου του υδρογόνου των υδρουπεροξειδίων των λιπιδίων σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση,

$$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$$
$$ROOH + 2GSH \rightarrow ROH + H_2O + GSSG$$

όπου το *GSH* είναι η *γλουταθειόνη* και το *GSSG* είναι η οξειδωμένη της μορφή. Τουλάχιστον τέσσερις μορφές *GSHPx* υπάρχουν και διαφέρουν τόσο στην διανομή τους στους ιστούς, όσο και στην ευαισθησία τους κατά την απομάκρυνση του σεληνίου. Τα *GSHPx* ένζυμα του ήπατος και του πλάσματος του αίματος χάνουν γρήγορα την ενεργότητά τους στην περίπτωση ανεπάρκειας του σεληνίου. Αντίθετα, μία μορφή GSHPx συνδέεται συγκεκριμένα με τις πλούσια σε φωσφολιπίδια μεμβράνες, οπότε και προστατεύεται ενάντια στην ανεπάρκεια του σεληνίου, ενώ θεωρείται ότι έχει και πιο ευρύ μεταβολικό ρόλο.

Το σεληνοένζυμο *ρεδουκτάση της θειορεδοξίνης* εμπλέκεται στην κατανομή των προϊόντων του οξειδωτικού μεταβολισμού. Περιέχει δύο ομάδες σεληνοκυστεΐνης ανά μόριο και είναι το κύριο συστατικό του οξειδοαναγωγικού συστήματος, με σημαντικό ρόλο στην άμυνα του οργανισμού. Ένας από αυτούς είναι να καθαρίζει τοπικά μεγάλες ή πιθανώς τοξικές συγκεντρώσεις του υπεροξειδίου και των υδροπεροξειδίων, οι οποίες θα μπορούσαν να προκαλέσουν κυτταρικό θάνατο ή ατροφία των ιστών.

Μία άλλη ομάδα από σεληνοπρωτεΐνες είναι οι *διιωδινάσες της ιωδιοθυρονίνης* (*iodothyronine deiodinases*), σημαντικές για την μετατροπή της θυροξίνης (*thyrocin*) *ή τετραιωδοθυρονίνη* (*tetraiodothyronine, T4*) στη φυσιολογικά ενεργή της μορφή *τρι-ιωδοθυρονίνη* (*tri-iodothyronine, T3*). Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται τρία μέλη αυτής της οικογένειας των ιωδοθυρονινών, τα οποία παρουσιάζουν διαφορές όσον αφορά τη διανομή του σεληνίου και την ευαισθησία τους στην έλλειψη του σεληνίου (FAO and WHO, 2004).

Protein	Selenocysteine residues	Tissue distribution
Cytosolic GSHPx	1	All, including thyroid
Phospholipid hydroperoxide GSHPx	1	All, including thyroid
Gastrointestinal GSHPx	1	Gastrointestinal tract
Extracellular GSHPx	1	Plasma, thyroid
Thioredoxin reductase	1 or 2	All, including thyroid
Iodothyronine-deiodinase (type 1)	1	Liver, kidneys, and thyroid
Iodothyronine-deiodinase (type 2)	1	Central nervous system, and pituitary
Iodothyronine-deiodinase (type 3)	1	Brown adipose tissue, central nervous system, and placenta
Selenoprotein P	10	Plasma
Selenoprotein W	1	Muscle
Sperm capsule selenoprotein	3	Sperm tail

GSHPx, glutathione peroxidase.

Πίνακας 1 : Επιλογή από ταυτοποιημένες σεληνοπρωτεΐνες και η κατανομή τους στους ιστούς (ΠΗΓΗ: FAO and WHO, 2004)

1.3 Επιπεδα του Σεληνιου Στην Τροφικη Αλυσιδα

Επίπεδα του σεληνίου στο έδαφος

Η κατανομή του σεληνίου στο έδαφος μεταβάλλεται ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή. Οι υψηλότερες από τις μέσες συγκεντρώσεις του σχετίζονται συχνά με τη βιομηχανική μόλυνση, πχ. καύση λιθάνθρακα ή τη χρήση λιπασμάτων, όπως αναφέρεται και σε επόμενη παράγραφο.

Το σελήνιο βρίσκεται σε φυσικά καύσιμα, σε σχιστόλιθους, σε αλκαλικά εδάφη και ως συστατικό σε πάνω από 40 ορυκτά. Είναι συστατικό διαφορετικών ορυκτολογικών συστατικών. Στα περισσότερα εδάφη η συγκέντρωση του σεληνίου κυμαίνεται από 0,1 έως 2 μg Se / kg (Combs, 2001). Η συγκέντρωση του σεληνίου σε πυριγενή πετρώματα είναι χαμηλή, συνήθως πολύ λιγότερη από 1 mg/kg και παρόμοια επίπεδα πιθανώς παρουσιάζονται σε μεταμορφωσιγενή πετρώματα. Ιζηματογενή πετρώματα, όπως είναι ο ψαμμίτης, ο ασβεστόλιθος, φωσφορίτης και σχιστόλιθοι μπορεί να περιέχουν από 1 μέχρι 100 mg/kg.

Η περιεκτικότητα του σεληνίου σε ένα έδαφος αντανακλά σε ένα βαθμό το μητρικό πέτρωμα από το οποίο σχηματίστηκε το έδαφος. Έτσι σε ξηρά και ημίξηρα εδάφη, τα εδάφη που έχουν υψηλή περιεκτικότητα σεληνίου έχουν συνήθως προκύψει από ιζηματογενή πετρώματα, όπως σχιστόλιθος ή το φυσικό ανθρακικό ασβέστιο. Αυτά τα εδάφη είναι αλκαλικά στην αντίδραση και ευνοούν το σχηματισμό σεληνικού, το οποίο είναι βιοδιαθέσιμο για τα φυτά.

Το σεληνικό εκπλύεται εύκολα από το επιφανειακό έδαφος αλλά με περιορισμένη βροχόπτωση επαναποτίθεται στην επιφάνεια του εδάφους όπου παραμένει διαθέσιμο για τα φυτά. Έτσι, η ανάλυση της επιφάνειας του εδάφους δεν θεωρείται ακόμα αξιόπιστη για τη μέτρηση της δυνατότητας ενός εδάφους να παράγει βλάστηση η οποία θα περιέχει τοξικά επίπεδα σεληνίου.

Γαιάνθρακας με ασυνήθιστα μεγάλη περιεκτικότητα σε σελήνιο (>8000mg/kg; μέσος όρος 300 mg/kg) ορίστηκε ως η μέγιστη (οριακή) πηγή σεληνίου στο περιβάλλον που βρέθηκε σε εδάφη στην σεληνιούχα περιοχή στην επαρχία Enshi, στην Κίνα, όπου και εμφανίστηκαν τα σοβαρά κρούσματα σελήνωσης. Σε αυτή την περίπτωση, το σελήνιο πέρασε από το γαιάνθρακα στο έδαφος λόγω αποσάθρωσης, μετεωρολογικών επιδράσεων, έκπλυσης και πιθανώς λόγω βιολογικής δράσης, κι έτσι πέρασε και στις καλλιέργειες και στην τροφική αλυσίδα. Οι λιπάνσεις με ασβέστη που χρησιμοποιούνταν παραδοσιακά στην περιοχή, συνέβαλλαν ακόμα στη μετατροπή του συσσωρεμένου στο έδαφος σεληνίου, σε πιο εύκολα διαθέσιμες μορφές για τα φυτά.

Ορισμένα εδάφη παράγουν καλλιέργειες οι οποίες παρουσιάζονται θρεπτικά ανεπαρκείς σε σελήνιο. Ο σχηματισμός αυτών των εδαφών οφείλεται μάλλον στο μητρικό πέτρωμα. αλλά και άλλοι παράγοντες όπως είναι η βροχόπτωση, το κλίμα, το pH και η σύνθεση του εδάφους συμβάλλουν σημαντικά. Εξαιτίας των πολλών αυτών παραγόντων που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα του σεληνίου, για την παραγωγή φυτών με υψηλή περιεκτικότητα σε σελήνιο, είναι απαραίτητη η όχι μόνο η ανάλυση των εδαφών αλλά και των φυτών που θα καλλιεργηθούν (WHO, 1987).

Επίπεδα του σεληνίου στα φυτά

Όλα τα φυτά απορροφούν το σελήνιο από το έδαφος, ενώ το ποσοστό της απορρόφησης εξαρτάται κυρίως από το είδος του φυτού, το στάδιο της ανάπτυξης και τη διαθεσιμότητα του σεληνίου στο έδαφος. Βιογεωχημικοί παράγοντες, όπως είναι το pH και η περιεκτικότητα σε σίδηρο επηρεάζουν τη διαθεσιμότητα του σεληνίου στο έδαφος.

Στα διάφορα είδη φυτών μπορεί να βρεθούν διαφορετικές συγκεντρώσεις σεληνίου, εκφράζοντας γενικά την περιεκτικότητα τους στις σεληνοπρωτεΐνες. Σε φυσιολογικές συνθήκες, η περιεκτικότητα του σεληνίου στα φυτά κυμαίνεται από 0.01 έως 1.0 mg/kg ξηράς ουσίας. Φυτά όμως τα οποία αναπτύσσονται σε εδάφη πλούσια σε σελήνιο περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες του στοιχείου αυτού. Ορισμένα φυτά, γνωστά και ως φυτά συσσωρευτές, μπορούν να προσλαμβάνουν ποσότητες σεληνίου, ικανές να προκαλέσουν τοξικότητα στα ζώα, καθώς το ποσοστό του σεληνίου στα ζώα αντανακλά το ποσό του σεληνίου που υπήρχε στην τροφή τους.

Ορισμένα είδη, όπως αυτά που ανήκουν στα είδη *Astragalus* και *Neptunia* συσσωρεύουν πολύ μεγαλύτερες ποσότητες σεληνίου, οι οποίες μπορεί να φτάσουν και τα 5000 mg/kg ξηράς ουσίας. Άλλα σεληνόφυτα φυτά αναφέρονται στα είδη *Machaeranthera, Haplopappus, Xylorrhiza* και *Stanleya* ή γενικότερα φυτά που ανήκουν στην οικογένεια Gramineae. Φυτά όπως τα *Cruciferae* (ή *Brassicaceae*) αλλά και κάποια άλλα (όπως τα κρεμμύδια) τα οποία απορροφούν μεγάλες ποσότητες θείου, απορροφούν μέτριες ποσότητες σεληνίου. Τα διάφορα είδη χόρτων και σιτηρά απορροφούν χαμηλές έως μέτριες ποσότητες σεληνίου (WHO, 1987).

Επίπεδα του σεληνίου στον άνθρωπο

Οι τιμές του σεληνίου που έχουν μετρηθεί στον άνθρωπο διαφέρουν ανά τον κόσμο και εξαρτώνται από τη γεωγραφική περιοχή, όπως παρουσιάζεται και στον Πίνακα 2. Σύμφωνα με έρευνα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας *(World Health Organization, WHO*), έχει καταγραφεί περιεκτικότητα σε σελήνιο σε φυσιολογικούς υγιείς ενήλικες με τιμές 3mg σε κατοίκους της Νέας Ζηλανδίας μέχρι και 14mg σε ορισμένους κατοίκους των ΗΠΑ. Αυτή η διακύμανση αντανακλά την μεγάλη επίδραση της περιεκτικότητας σε σελήνιο στο έδαφος, στα φυτά και στους ανθρώπινους ιστούς. Έχει βρεθεί ότι περίπου το 30% του σεληνίου περιέχεται στο ήπαρ, το 15 % στα νεφρά, το 30 % στους μύες και το 10 % στο πλάσμα του αίματος.

Country or area	Selenium intake (μg/day)[a]
Canada	98.0–224.0
China, Kaschin-Beck disease area	2.6–5.0
China, Keshan disease area	3.0–11.0
China, disease-free area	13.3 ± 3.1
China, seleniferous area	1338.0
Finland, before selenium fertilization	26.0
Finland, after selenium fertilization	56.0
France	47.0
Germany	38.0–48.0
India, conventional diets	48.0
India, vegan diets, low income	27.0
Italy	41.0
New Zealand, low-selenium area	11.0 ± 3.0
Slovakia	27.0 ± 8.0
Sweden, vegan diets	10.0
Sweden, south, conventional diets	40.0 ± 4.0
United Kingdom, 1974	60.0
United Kingdom, 1985	43.0
United Kingdom, 1994	32.0
United Kingdom, 1995	33.0
United States	80.0 ± 37.0
Males	90.0 ± 14.0
Females	74.0 ± 12.0
United States, seleniferous area	216.0
Venezuela	80.0–500.0

[a] Mean ± standard error or range.

Πίνακας 2 : Διαφορές στην πρόσληψη του σεληνίου ανά γεωγραφική περιοχή (FAO and WHO, 2004)

Επίπεδα Λήψης Σεληνίου

Οι περιβαλλοντικές συνθήκες καθώς και οι γεωργικές πρακτικές μπορεί να έχουν βαθιά επιρροή στο περιεχόμενο σε σελήνιο πολλών τροφών. Ο πίνακας 3 παρουσιάζει το περιεχόμενο σε σελήνιο των βασικών ομάδων τροφών και τη διακύμανση αυτών των συγκεντρώσεων σεληνίου, όπως παρουσιάζονται σε επιλεγμένες χώρες. Οι γεωγραφικές διαφορές στο περιεχόμενο και τη διαθεσιμότητα του σεληνίου από το έδαφος μέχρι τα φυτικά και τα ζωικά προϊόντα διατροφής έχουν σημαντική επίδραση όσον αφορά το επίπεδο του σεληνίου σε ολόκληρες κοινότητες. Για παράδειγμα, η κατανομή των ασθενειών που οφείλονται στην έλλειψη σεληνίου, Keshan και Kaschin-Beck, στην Κίνα, αντανακλά τη διανομή του σεληνίου στα εδάφη της Κίνας, όπου το σελήνιο τελικά βρίσκεται πολύ λίγο διαθέσιμο στο ρύζι, το καλαμπόκι, το κριθάρι ή στους βοσκοτόπους. Η παραγωγή σιτηρών με περιεχόμενο σε σελήνιο της τάξης των 3–7ng/g δεν είναι ασυνήθιστο (FAO and WHO, 2004).

Κατά μέσο όρο, τα συνολικά επίπεδα του σεληνίου στα εδάφη ποικίλουν από 0.1-2.0 mg/kg αλλά στις ΗΠΑ, οι τιμές μπορεί να φτάσουν 80 mg/kg με διαλυτά κλάσματα τόσο υψηλά όσο 19.0 mg/kg. Στη Μέση Ανατολή ανιχνεύτηκαν διαλυτά κλάσματα των 0.6 mg/kg και αναφέρθηκε ότι αυτά τα επίπεδα ήταν αρκετά για να προκαλέσουν δηλητηρίαση από σελήνιο σε μία περιοχή βοοειδών (Haddadin *et al.*, 2001). Οι Abuereish και Lahham (1987) βρήκαν διαλυτά κλάσματα των 0,12 mg/kg στην Κοιλάδα της Ιορδανίας.

Η E.P.A. (*U.S. Environmental Protection Agency*) υποδεικνύει ότι τα όρια του σεληνίου στο πόσιμο νερό είναι 0,050 mg / L ενώ σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας *(World Health Organisation, WHO*) τα αντίστοιχα όρια είναι 0,010 mg / L.

Μελέτες πρότειναν ότι τα όρια: περιεκτικότητα των σπόρων σε σελήνιο <10ng/g σελήνιο και περιεκτικότητα του εδάφους σε υδατοδιαλυτό σελήνιο <3ng/g, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για να ορίσουν τις περιοχές επαρκείς σε σελήνιο. Οι διακυμάνσεις στα επίπεδα του σεληνίου σε πολλές κοινότητες της Ευρώπης, εκφράζουν τα εγγενή χαμηλά επίπεδα του σεληνίου που υπάρχουν πραγματικά στο έδαφος και το βαθμό που έχει προστεθεί συμπληρωματικά σελήνιο στα σιτηρά, το γάλα και τα άλλα ζωικά προϊόντα λόγω των λιπάνσεων.

Σε ορισμένες περιοχές όπως είναι η Φιλανδία, η Νέα Ζηλανδία και το Ηνωμένο Βασίλειο που παρουσίασαν μόνιμη πτώση στα επίπεδα του σεληνίου, έγινε εισαγωγή σιτηρών από περιοχές που είχαν σχετικά υψηλά επίπεδα σεληνίου στο έδαφός τους. Αντίθετα, σπόροι με χαμηλή περιεκτικότητα σε σελήνιο επιλέχτηκαν και καλλιεργήθηκαν σε περιοχές της Κίνας, της Ινδίας και της Βενεζουέλας, ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος της σελήνωσης.

Όπως έχει αναφερθεί, το σελήνιο αποτελεί ένα βασικό θρεπτικό συστατικό της διατροφής του ανθρώπου και των ζώων, αν και υψηλές δόσεις σεληνίου μπορεί να προκαλέσουν τοξικότητα. Σύμφωνα με την Αμερικάνικη Επιτροπή Τροφίμων και Διατροφής, η ημερήσια λήψη της τάξης των 55-70 μg Se / ημέρα συνιστάται για τη φυσιολογική λειτουργία του σώματος. Έχει αναφερθεί ότι το σελήνιο εισάγεται στη διατροφή με τροφές όπως, το Βραζιλιάνικο φιστίκι (53 mg Se / kg) καθώς και το κρέας και το ψάρι, ενώ άλλες τροφές όπως τα εσπεριδοειδή εμφανίζονται να συσσωρεύουν χαμηλές συγκεντρώσεις σεληνίου της τάξης των 0,01 mg/kg. Οι παραπάνω αναφερόμενες τιμές θεωρούνται αποδεκτές για τον άνθρωπο. Ενδεικτικά, οι πίνακες 3 και 4 παρουσιάζουν τις διαφορές στη συγκέντρωση του σεληνίου μεταξύ διαφορετικών ομάδων τροφών (FAO and WHO, 2004).

Food group	India (43)	United States (33)	International compilation (8)
Cereals and cereal products	5–95	10–370	10–550
Meat, meat products, and eggs	40–120	100–810	10–360
Fish and marine	280–1080	400–1500	110–970
Fish and freshwater	—	—	180–680
Pulses	10–138	—	—
Dairy products	5–15	10–130	1–170
Fruits and vegetables	1–7	1–60	1–20

Πίνακας 3 : Τυπικές διακυμάνσεις στη συγκέντρωση του σεληνίου (ng/g νωπού βάρους) σε διαφορετικές ομάδες τροφών (ΠΗΓΗ: FAO and WHO, 2004)

- Fruits and fruit juices – 0.1 to 1.1 μg
- Fish and Shellfish – 12.6 to 80.4 μg
- Poultry – 21.7 to 70.9 μg
- Meat and Meat products (beef, lamb, veal, pork) – 8.0 to 148.8 μg
- Sausages and Luncheon meats – 11.3 to 58.0 μg
- Dairy products – 0.6 to 27.3 μg
- Eggs – 17.6 to 45.2 μg
- Fats and Oils – 0.2 to 2.1 μg
- Alcoholic and non alcoholic beverages (hot and cold) – 0.0 to 12.6 μg
- Baked products including breads, cookies, crackers, bagels, etc. – 1.0 to 48.0 μg
- Breakfast cereals – 3.5 to 123.1μg
- Cereals (for cooking) – 3.1 to 34.0μg
- Cereal grains and Pasta – 2.3 to 79.2 μg
- Legumes – 0.8 to 19.1 μg
- Nuts and Seeds – 4.0 to 2960.0μg
- Vegetables – 0.2 to 14.2 μg

Πίνακας 4 : Η περιεκτικότητα σε σελήνιο σε 100 γρ διαφορετικών τροφών (ΠΗΓΗ: Nyam News, 2005)

1.4 ΑΝΑΚΥΚΛΩΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

Μεταφορά και ανακύκλωση του σεληνίου του εδάφους

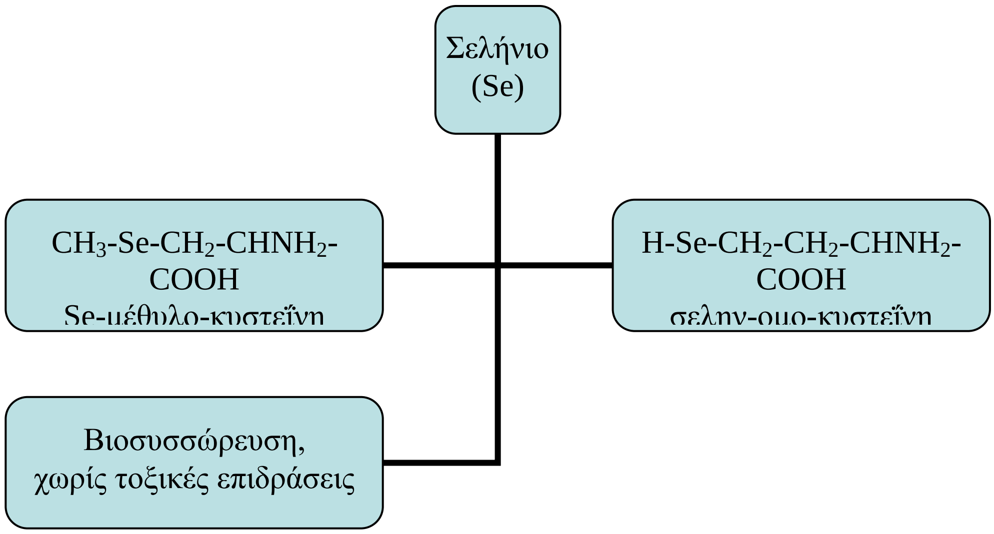
Η πρόσληψη του διαλυτού σεληνίου από τα φυτά επηρεάζει τόσο την κατανομή, όσο και τη διανομή του σεληνίου στο έδαφος. Η απομάκρυνση του διαλυτού σεληνίου από τη ζώνη της ρίζας και η κατανομή της στα υπέργεια μέρη του φυτού, θα φέρει το σελήνιο στην επιφάνεια, οπότε θα είναι και πιο διαθέσιμο για μεθυλίωση. Έχει βρεθεί, ότι τα αλόφυτα είδη, όπως είναι τα αλμυρίκια (*Distinchlis spicata L.*), προσλαμβάνουν το σελήνιο από το έδαφος και το εναποθέτουν στην επιφάνεια του φύλλου.

Στη συνέχεια, οι νεκροί φυτικοί ιστοί τόσο από τα αλόφυτα, όσο και στα μη αλόφυτα, μπορούν να ξανα-ενσωματωθούν στο έδαφος και να αποτελέσουν πηγή οργανικού άνθρακα για τους μικροοργανισμούς του εδάφους ή για την πρόσληψη των φυτών. Μελέτες έδειξαν ότι σε εδάφη που δεν είχαν καλλιεργηθεί, το ποσοστό του διαλυτού σεληνίου που μετρήθηκε ήταν διπλάσιο σε σχέση με αντίστοιχα καλλιεργημένα, αποδεικνύοντας με αυτό τον τρόπο ότι όντως τα φυτά μπορούν και προσλαμβάνουν και εξάγουν το σελήνιο από το έδαφος.

Το υδατοδιαλυτό σελήνιο μπορεί να εναποθεί κάθετα στο έδαφος, χωρίς να διηθηθεί στα υπόγεια νερά. Όπως έχει αναφερθεί, η πιο εξαγώγιμη μορφή του σεληνίου από το έδαφος είναι το σεληνικό. Σε εδάφη που είχαν καλλιεργηθεί με το *Distinchlis spicata*, παρατηρήθηκε ότι το ποσοστό του σεληνίου που απομακρυνόταν αυξανόταν με το χρόνο. Το πιο υψηλό ποσοστό υδατο-εξαγώγιμου σεληνίου (300-400 μg/l) βρέθηκε στη ζώνη της ρίζας (40 με 60 cm από την επιφάνεια του εδάφους). Σε απόσταση 1 m από την επιφάνεια του εδάφους, το ποσοστό του υδατο-εξαγώγιμου σεληνίου μειωνόταν αισθητά, σε λιγότερο από 100 μg/l. Το μέγιστο βάθος στο έδαφος που βρέθηκε κινητικότητα του υδατο-εξαγώγιμου σεληνίου ήταν τα 2 m. Αυτό έδειξε ότι τα φυτά μπορούν να συμβάλλουν στη διαδικασία της οξειδοαναγωγής του σεληνίου και μπορούν να μειώσουν την κίνηση του σεληνίου στο έδαφος. Γενικότερα, έρευνες έδειξαν ότι η ύπαρξη βλάστησης επηρεάζει τη ανακατανομή του σεληνίου στο έδαφος και τον όγκο και τη συγκέντρωση του σεληνίου που διηθείται στα υπόγεια νερά (Wu, 2007).

Μηχανισμός Προσαρμογής και Συσσώρευσης του σεληνίου στη Βιομάζα των Φυτών

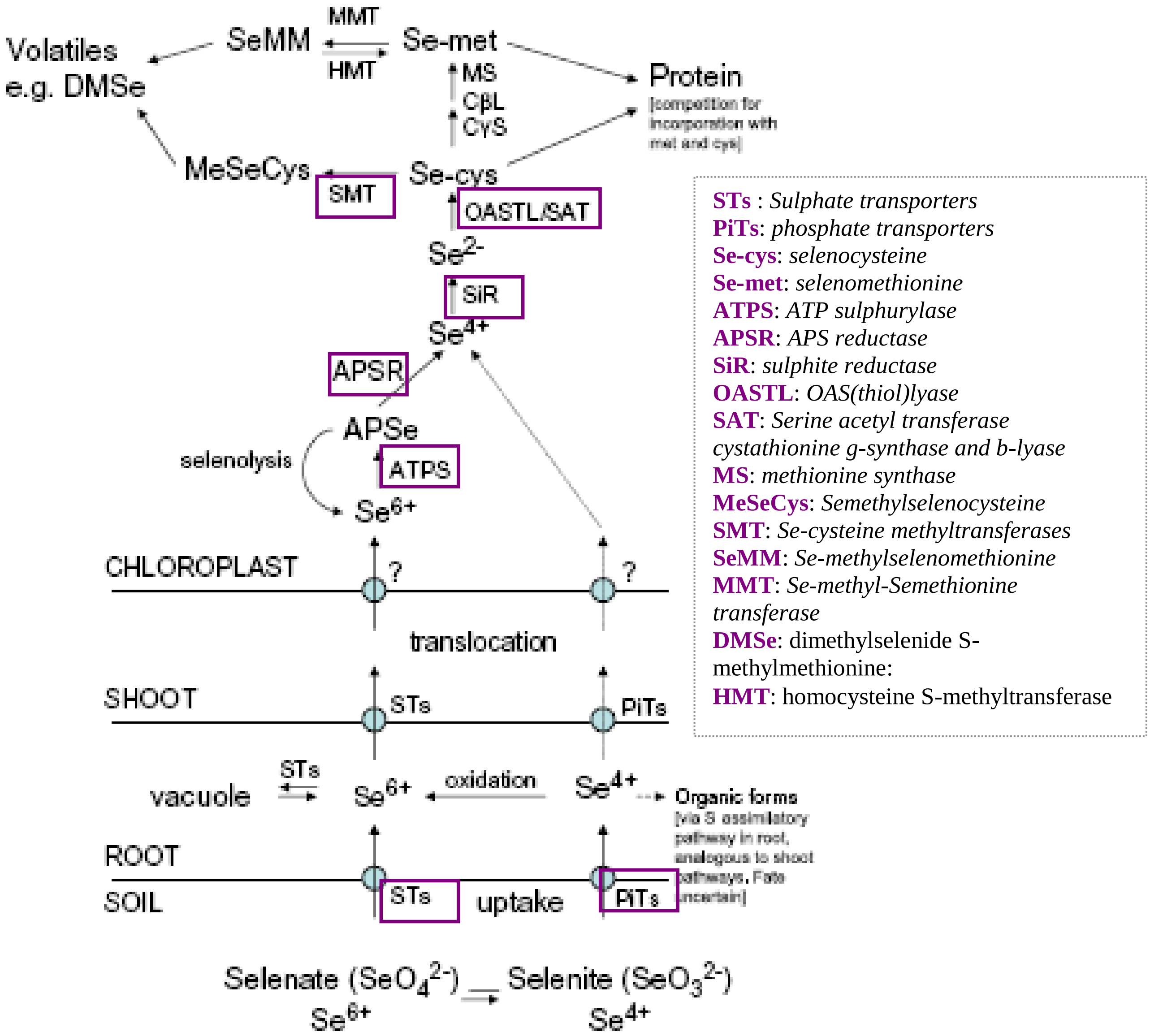
Ο μηχανισμός προσαρμογής του σεληνίου μελετήθηκε περισσότερο στα φυτά του γένους *Astragalus* επειδή είχε παρατηρηθεί ότι τα φυτά αυτά προσαρμόζονται σε υψηλές συγκεντρώσεις σεληνίου και μπορούν να συσσωρεύουν στη βιομάζα τους μέχρι και 5000 ppm σεληνίου. Η πρόσληψη, μεταφορά και αφομοίωση του σεληνίου ακολουθεί την ίδια μεταβολική οδό με τα θειικά και οδηγεί στον σχηματισμό συμπλόκων *σεληνίου-κυστεΐνης* και *σεληνίου-μεθειονίνης*, γνωστών και ως *σεληνοκυστεΐνης* και *σεληνομεθειονίνης*. Ενώ το σελήνιο παρουσιάζει παρόμοια δομή με το θείο (S), τα φυτά αυτά έχουν την ικανότητα να διαχωρίζουν το ανόργανο θείο από το σελήνιο καθώς αυτά εισέρχονται εντός του φυτού, όπου στη συνέχεια το μεν θείο θα χρησιμοποιηθεί στην πρωτεϊνοσύνθεση και το δε σελήνιο θα ενσωματωθεί στα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα (Se-μέθυλο-κυστεΐνη, σελην-ομο-κυστεΐνη) και θα βιοσυσσωρευτεί στο κυτταρόπλασμα ή στο χυμοτόπιο χωρίς να παρουσιάζει πλέον τοξικές επιδράσεις στο φυτό.



Σε φυτά τα οποία δεν συσσωρεύουν το σελήνιο, τα σεληνοαμινοξέα μετατρέπονται σε μη πρωτεϊνικά αμινοξέα, όπως τη *σεληνομεθυλοκυστεΐνη*. Ο αποκλεισμός των *σεληνοαμινοξέων* από την ενσωμάτωση τους σε πρωτεΐνες συνιστά ένα σύστημα φυσιολογικής αδρανοποίησης. Η διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης οδηγεί στη δημιουργία επιβλαβών προϊόντων για το φυτό με αποτέλεσμα το θάνατό του.

Μεταβολισμός του σεληνίου

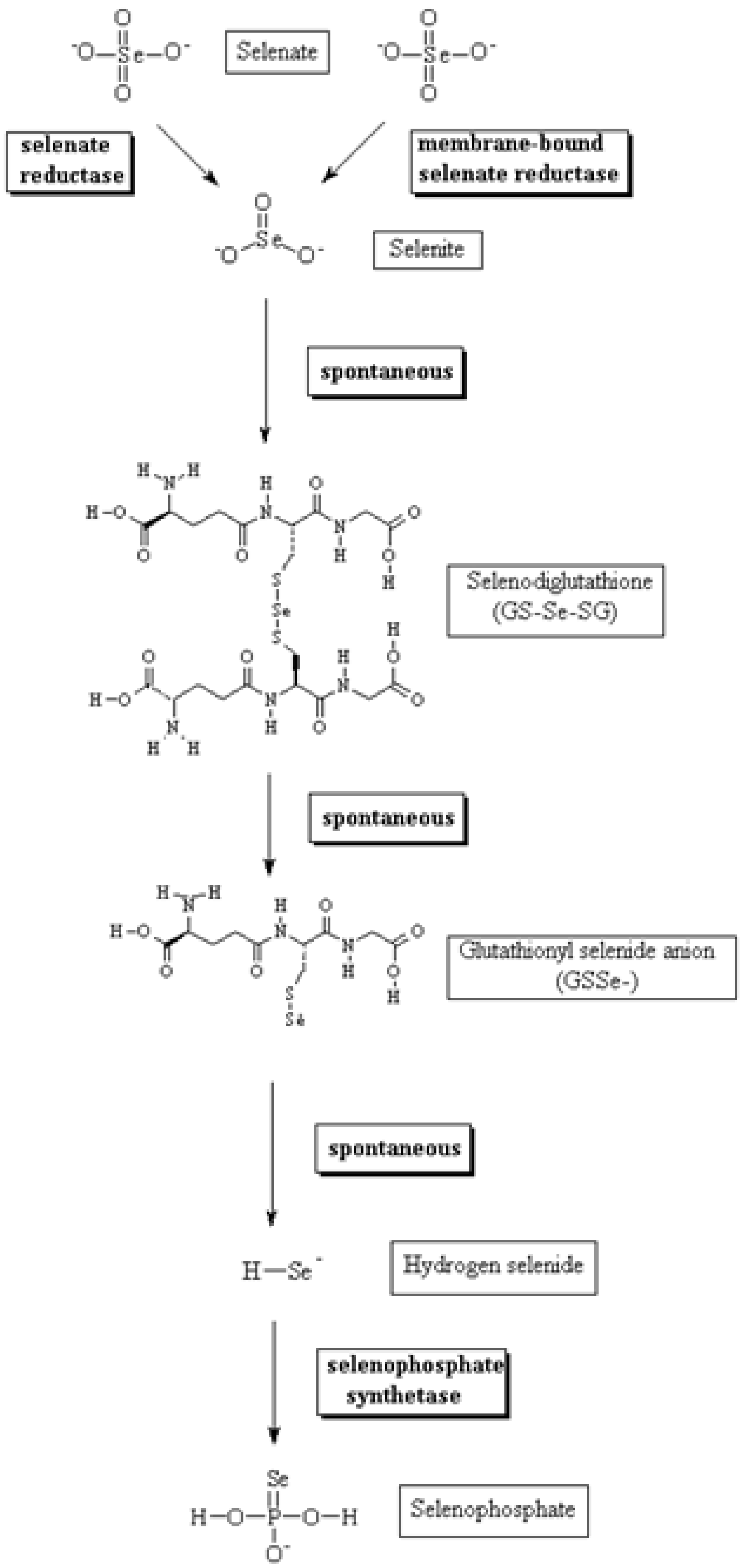
Η διαθεσιμότητα τόσο του σεληνικού όσο και του σεληνιώδους εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Η μετακίνηση του σεληνίου γίνεται μέσω των μεταφορέων του θείου (*sulfate transporters, STs)* και τους μεταφορείς των φωσφορικών (*phosphate transporters, PiTs)*. Γενικά η μετακίνηση του σεληνίου στο εσωτερικό του κυττάρου γίνεται σε μικρό βαθμό. Το σεληνικό μπορεί να απομονωθεί στα χυμοτόπια ή στους βλαστούς (*sequestration*). Το σεληνικό ή το σεληνιώδες ενώνεται με τη σεληνοκυστεΐνη (*Se-cys*) και τη σεληνομεθειονίνη (*Se-met*) μέσω του μεταβολικού μονοπατιού του θείου, με τη συμμετοχή των ενζύμων που παρουσιάζονται στην εικόνα 1.



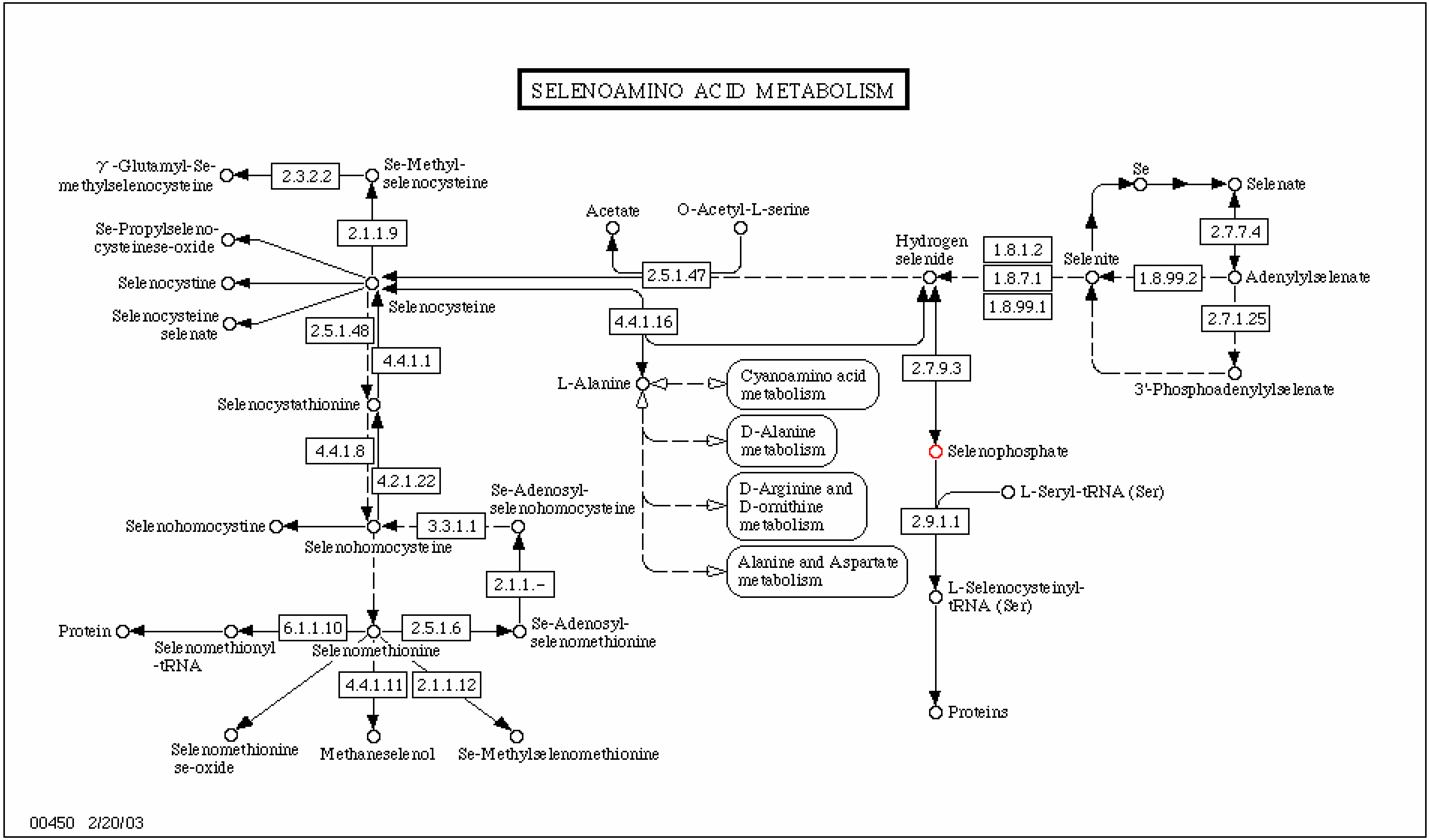
Εικόνα 1: Μονοπάτι πρόσληψης και αφομοίωσης του σεληνίου στα φυτά (ΠΗΓΗ: Hawkesford and Zhao, 2007)

Ακολουθεί η μεθυλίωση της *σεληνοκυστεΐνης* (*Se-cys*) σε σελήνο-*μεθυλοκυστεΐνη* (*Se-methylselenocysteine, MeSeCys*) με τη βοήθεια της *μεθυλοτρανσφεράσης της σεληνοκυστεΐνης* (*Se-cysteine methyltransferases, SMT*), καθώς και η μεθυλίωση της *σεληνομεθειονίνης (Se-met*) σε *μεθυλσεληνομεθειονίνη* (*Se-methyl-seleno-methionine* SeMM), αντίδραση η οποία καταλύεται από το ένζυμο τρανσφεράση της *Se-μεθυλσεληνομεθειονίνης* (*Se-methyl-Se-methionine transferase, MMT*). Από αυτά παράγονται οι εσωτερικά μετακινούμενες μορφές αυτών των ενώσεων, ενώ παράλληλα πρόδρομοι για περαιτέρω μεταβολισμό, όπως είναι η παραγωγή πτητικών ουσιών (διμέθυλοσεληνίδιο, *dimethylselenide, DMSe)*.

Τέλος, η θειο-μεθυλ-μεθειονίνη (*S-methylmethionine*): ομοκυστεΐνη της θειο-μεθυλοτρανσφεράσης (*homocysteine S-methyltransferase, HMT*) καταλύει τον ανασχηματισμό της σεληνομεθειονίνης. Η αφομοίωση γίνεται στους χλωροπλάστες, αλλά ο ακριβής φυσιολογικός ρόλος των μεταφορέων στους χλωροπλάστες δεν είναι γνωστός. Το ένζυμο *APSe* είναι ασταθές και μπορεί να διαχωριστεί χημικά μέσω μίας διαδικασίας η οποία είναι γνωστή ως *σεληνόλυση* (Combs, 2001; Hawkesford and Zhao, 2007). Στην εικόνα 2 παρουσιάζεται το μονοπάτι του σεληνικού οξέος, ενώ στην εικόνα 3 περιγράφεται αναλυτικά το μονοπάτι μεταβολισμού των σεληνοαμινοξέων.



Εικόνα 2: Μονοπάτι σεληνικού οξέος (ΠΗΓΗ: http://umbbd.msi.umn.edu/sel/sel_map.html)



Εικόνα 3: Μεταβολισμός των σεληνοαμινοξέων (ΠΗΓΗ: http://umbbd.msi.umn.edu/sel/sel_map.html**)**

2 ΚΕΦΑΛΑΙΟ- ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΦΥΤΟ-ΕΔΑΦΟΣ ΣΤΗ ΡΥΠΑΝΣΗ

2.1 Η ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΤΩΝ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΑΠΟ ΤΑ ΦΥΤΑ

Εισαγωγή

Οι φυτικοί οργανισμοί για την ομαλή τους αύξηση και ανάπτυξη χρειάζονται ένα σχετικά περιορισμένο αριθμό θρεπτικών στοιχείων όπως είναι τα μέταλλα Zn, Mg, Mn, Cu, Fe τα οποία αντλούν κυρίως από το έδαφος. Ωστόσο, το έδαφος περιέχει ένα πλήθος μη απαραίτητων στοιχείων, όπως είναι τα Ni, Cb, Se και Pb, τα οποία παρά την υψηλή εκλεκτικότητα της περατότητας των μεμβρανών των φυτικών κυττάρων είναι δυνατόν να προσλαμβάνονται σε πολύ μικρές ποσότητες στους φυτικούς ιστούς. Πολλά από τα στοιχεία αυτά, κυρίως μέταλλα και μεταλλοειδή όπως το κάδμιο (Cb), το αρσενικό (As) και το σελήνιο (Se) μπορεί να γίνουν εξαιρετικά τοξικά εάν η συγκέντρωσή τους υπερβεί ορισμένα –χαμηλά-συνήθως όρια. Τα βαρέα μέταλλα έχουν την ικανότητα να συσσωρεύονται στους οργανισμούς και να εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα. Συγκεκριμένα για το έδαφος, μπορούν να παραμείνουν σε υψηλές συγκεντρώσεις για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Η παρουσία τους στο έδαφος και στα κύτταρα ευνοεί το σχηματισμό *τοξικών ανηγμένων ενδιάμεσων μορφών οξυγόνου* (*reactive oxygen species, ROS*). Οι ενεργές μορφές οξυγόνου προκαλούν μεταβολικές παρενέργειες όπως για παράδειγμα μπορεί να αντιδράσουν με το σίδηρο ή άλλα μέταλλα που περιέχουν πρωτεϊνικά μόρια και να παραχθούν δραστικότατες ελεύθερες ρίζες, κυρίως $OH^{\cdot}$ (*αντίδραση Fenton*).

Στο φυσικό περιβάλλον μπορούν να εντοπιστούν υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων λόγω φυσικών γεωχημικών διαδικασιών, όπως αναφέρθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο, αλλά αυτές εντοπίζονται συνήθως σε συγκεκριμένες περιοχές. Η εκτεταμένη συσσώρευση βαρέων μετάλλων στα εδάφη οφείλεται συνήθως στη βιομηχανική δραστηριότητα, η οποία μπορεί να αποδώσει κατακρημνίσματα αέριων ρύπων ή απόβλητα μεταλλείων και διαφόρων βιομηχανιών. Συγκεκριμένα όσον αφορά τις καλλιεργούμενες περιοχές, μια από τις πιο σημαντικές πηγές ρύπανσης αποτελεί η χρήση αγροχημικών. Αξίζει να αναφερθεί ότι το μεγαλύτερο μέρος της βιβλιογραφίας σχετικά με την απευθείας πρόσληψη οργανικών ουσιών από τα φυτά προέρχεται από μελέτες σχετικές με την πρόσληψη αγροχημικών και ζιζανιοκτόνων, καθώς η δράση αυτών βασίζεται στη δυνατότητά τους να προσλαμβάνονται από το φυτό στόχο.

Τα φυτά μπορούν να προσλάβουν οργανικές ουσίες από το έδαφος και το υπόγειο νερό σε υγρή, σε αέρια ή στερεή φάση. Η πρόσληψη οργανικών ουσιών από τα φυτά επηρεάζεται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της ένωσης (λιποφιλικότητα, υδρόφοβες και υδρόφιλες ενώσεις), από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (pH, υγρασία, περιεχόμενος οργανικός άνθρακας) και το είδος του φυτού (ριζική επιφάνεια, ρυθμός διαπνοής).

Διακρίνονται τέσσερις κατηγορίες φυτών ανάλογά με την αντίδρασή τους στην παρουσία μετάλλων ή μεταλλοειδών, όπως περιγράφεται ακόλουθα:

- Φυτά-Υπερσυσσωρευτές: Συσσωρεύουν μέταλλα 100 φορές υψηλότερα σε επίπεδα σε σχέση με τα επίπεδα που παρατηρούνται τυπικά στα φυτά.
- Φυτά-Συσσωρευτές: Μπορούν να συσσωρεύουν ενεργά μέταλλα στους ιστούς τους.
- Φυτά-Δείκτες: Η περίσσεια συσσώρευσης των μετάλλων αντανακλά αυξημένη συσσώρευση μετάλλων στη ριζόσφαιρα.
- Φυτά που εμποδίζουν την πρόσληψη των μετάλλων ή τη μεταφορά στους ιστούς τους.

Η συσσώρευση των μετάλλων είναι μία ενεργοβόρα διαδικασία. Εξελικτικά, αυτή η ιδιότητα των φυτών δικαιολογείται ως ένας μηχανισμός άμυνας των φυτών-υπερσυσσωρευτών για να αποφεύγουν τα αρπακτικά και τα παράσιτα, δημιουργώντας τοξικές συνθήκες στα φύλλα και στους ιστούς τους.

Διαδικασία πρόσληψης βαρέων μετάλλων από τα φυτά (από τη ρίζα στα φύλλα)

Η απορρόφηση ενός μετάλλου ή μεταλλοειδούς που μολύνει το εδαφικό διάλυμα από τις ρίζες εξαρτάται από τη βιοδιαθεσιμότητα του μετάλλου. Τα ανόργανα υλικά στο έδαφος προσροφούνται από το ακραίο τμήμα της ρίζας των φυτών που χαρακτηρίζεται από την περιοχή της *καλύπτρας* και η οποία αποτελεί την περιοχή αντίληψης των περιβαλλοντικών ερεθισμάτων, βοηθάει στη διεισδυτικότητα της ρίζας (Αϊβαλάκης, Καραμπουρνιώτης, Φασσέας, 2005).

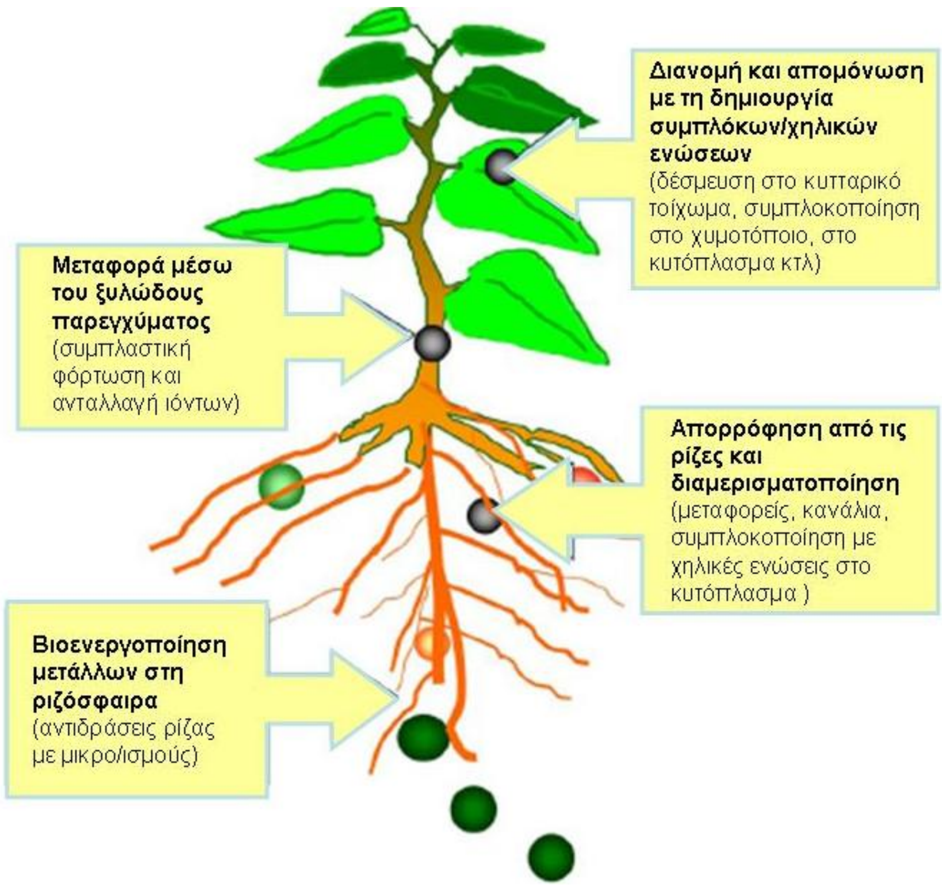
Στη συνέχεια, ένα ποσοστό του μετάλλου θα μεταφερθεί στα κύτταρα της ρίζας όπου ένα ποσοστό θα δεσμευτεί στα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος. Η διαδρομή που μπορεί να ακολουθήσει ένα ιόν μέσα στο φυτό μπορεί να είναι συμπλασμική ή αποπλασμική. *Συμπλασμική* είναι η οδός μέσω του κυτοπλάσματος των κυττάρων και *αποπλασμική* μέσω των κυτταρικών τοιχωμάτων και των μεσοκυττάριων χώρων (Αϊβαλάκης, Καραμπουρνιώτης, Φασσέας, 2005). Τα μέταλλα που δεν θα δεσμευτούν στην περιοχή της ρίζας θα διανύσουν μεγάλη απόσταση προς το υπέργειο τμήμα του φυτού, κινούμενα συνήθως μέσω του αποπλάστη (Eapen and D'Souza, 2005).

Οι μοριακοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην υπερσυσσώρευση των βαρέων μετάλλων στα ανώτερα φυτά δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστοί. Οι φυσιολογικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην πρόσληψη ενός ιόντος από το φυτό αποτελεί ένα σύνθετο φαινόμενο το οποίο χαρακτηρίζεται τα ακόλουθα βασικά στάδια, όπως παρουσιάζονται στην εικόνα 4:

α. τη μεταφορά των μετάλλων μέσα από την πλασματική μεμβράνη των κυττάρων της ρίζας.

β. τη φόρτωση του ξυλώδους παρεγχύματος και η μεταφορά των στοιχείων

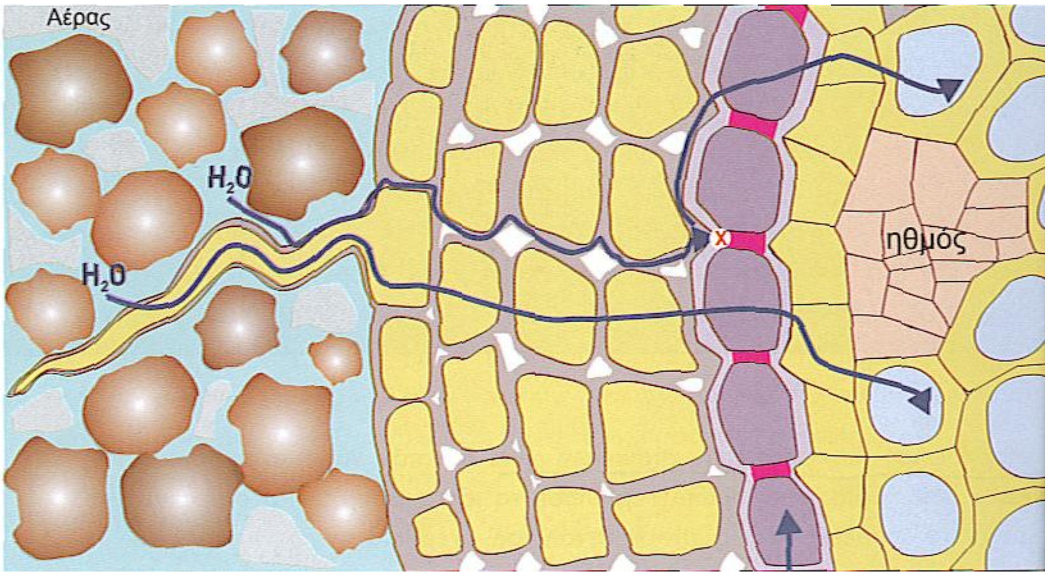
γ. την αποτοξικοποίηση και η απομόνωση των μετάλλων σε επίπεδο κυττάρου



Εικόνα 4: Η διαδρομή που μπορεί να ακολουθήσει ένα μέταλλο για τη συσσώρευση στα φυτά (ΠΗΓΗ: Yang et al., 2005)

Μετά την πρόσληψή τους από τη ρίζα, τα μέταλλα και τα μεταλλοειδή μπορούν να κινηθούν αποπλασμικά μέσω των κυτταρικών τοιχωμάτων του φλοιώδους παρεγχύματος (και καμιά φορά και συμπλασμικά). Ωστόσο, στην περιοχή της ενδοδερμίδας η αποφέλλωση των κυττάρων προσβάλλει ισχυρή αντίσταση, οπότε τα ιόντα αναγκάζονται να διέλθουν συμπλασμικά. Ακολουθούν πιθανά τη συμπλασμική οδό μέχρι τα αγγεία του ξύλου από όπου και εισάγονται στη μαζική ροή του νερού προς το υπέργειο μέρος μέσω του *διαπνευστικού ρεύματος* (Εικόνα 5) (Eapen and D’Souza, 2005).

Η μετακίνηση των συστατικών διαμέσων των μεμβρανών γίνεται με δαπάνη ενέργειας. Αυτή η κίνηση πραγματοποιείται είτε με αντλίες που βρίσκονται στις μεμβρανικές πρωτεΐνες με τη συμβολή της δράσης μιας ATPάσης είτε με τα κανάλια ιόντων, τις πρωτεΐνες διευκολυνόμενης μεταφοράς (ή φορείς) ή τέλος με συμμεταφορά ή αντιμεταφορά ιόντων (Eapen and D’Souza, 2005).



Εικόνα 5: Η πορεία των ιόντων από το εδαφικό διάλυμα στα αγγεία του ξύλου (ΠΗΓΗ: Αϊβαλάκης, Καραμπουρνιώτης, Φασσέας, 2005)

Όταν τα μέταλλα έχουν πια μεταφερθεί στο υπέργειου τμήμα του φυτού, μπορούν να εναποτεθούν και αποθηκευθούν σε περιοχές του κυττάρου όπως είναι το χυμοτόπιο ή το κυτόπλασμα. Έτσι το μέταλλο απομονώνεται και δεν μπορεί να έχει επίδραση στις ζωτικές λειτουργίες του κυττάρου. Έτσι, οι μεταφορείς των μετάλλων καθώς και οι πρωτεΐνες που τα δεσμεύουν μπορούν και ορίζουν την αδρανοποίησή-συμπλοκοποίησή των μετάλλων (*sequestration*). Το αδρανοποιημένο πλέον μέταλλο που βρίσκεται στα κύτταρα των βλαστών ή των φύλλων μπορεί επίσης να βρεθεί στον αποπλάστη ή σε συγκεκριμένα κύτταρα, όπως είναι τα επιδερμικά, των κυττάρων του μεσόφυλλου ή τα τριχίδια (Eapen and D’Souza, 2005).

Στρατηγικές άμυνας που ακολουθούνται από τα φυτά για να αντιμετωπίσουν την υψηλή συγκέντρωση μετάλλων

Τα φυτά έχουν αναπτύξει συγκεκριμένους μηχανισμούς άμυνας για την αντιμετώπιση της υψηλής συγκέντρωσης μετάλλων. Οι τοξικές συνθήκες οι οποίες δημιουργούνται λόγω η υψηλή συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στο εδαφικό περιβάλλον αντιμετωπίζονται κυρίως μέσω δύο στρατηγικών, της αποφυγής και της ανθεκτικότητας

I. Στρατηγική της Αποφυγής

Ορισμένα φυτά διαθέτουν κατάλληλους αμυντικούς μηχανισμούς μέσω των οποίων αποκλείουν τα βαρέα μέταλλα στο εξωτερικό περιβάλλουν. Τα τοξικά μεταλλικά ιόντα είτε δεσμεύονται και εξουδετερώνονται στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας από χηλικές ενώσεις τις οποίες απεκκρίνουν τα ριζικά κύτταρα (κυρίως οργανικά οξέα, όπως μηλικό οξύ) είτε αποκλείονται στο εξωτερικό περιβάλλον λόγω της υψηλής εκλεκτικότητας που παρουσιάζουν οι μεμβράνες των κυττάρων της ρίζας. Σε ορισμένα είδη υπάρχει η δυνατότητα καθήλωσης των μεταλλικών ιόντων στα κυτταρικά τοιχώματα των κυττάρων της ρίζας (κυρίως στις καρβοξυλικές ομάδες των συστατικών της πηκτίνης) πριν αυτά εισέλθουν στο κυτόπλασμα που παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία.

II. Στρατηγική της Ανθεκτικότητας

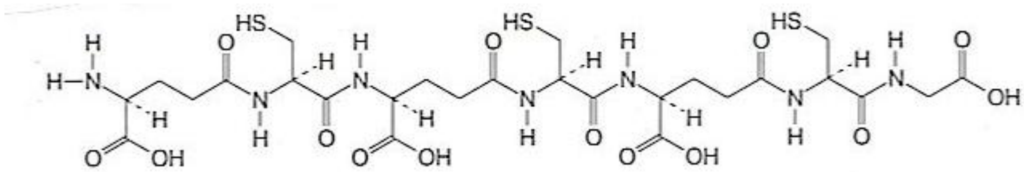
Ορισμένα φυτά, τα οποία χαρακτηρίζονται ως *συσσωρευτές μετάλλων* ή *μεταλλόφυτα*, έχουν τη δυνατότητα να αντιδρούν στην τοξικότητα των μετάλλων στο περιβάλλον τους με τη συσσώρευσή αυτών στους ιστούς τους. Χαρακτηριστικοί αντιπρόσωποι του είδους είναι είδη του γένους *Astragalus, Silene, Agrostis, Minuartia*. Πολλά είδη χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη διαφορετικών οικότυπων με διαφορετική ανθεκτικότητα ως προς ένα μέταλλο. Για παράδειγμα, το είδος *Pteris vittata* έχουν θεωρηθεί υπερσυσσωρευτής του αρσενικού (As) ενώ φαίνεται ακόμα ότι συσσωρεύει και το σελήνιο (Se) σε υψηλές συγκεντρώσεις (Srivastava *et al.*, 2005). Η λειτουργία του μηχανισμού ανθεκτικότητας καθορίζεται γενετικά, αλλά μπορεί να διαφοροποιηθεί και μέσω του εγκλιματισμού. Ουσιαστικά στηρίζεται στις δύο παρακάτω παραλλαγές:

- Δέσμευση των μετάλλων ή μεταλλοειδών με τη μορφή χηλικών συμπλόκων με οργανικά μόρια χαμηλού μοριακού βάρους όπως οργανικά οξέα (*μηλικό, μαλονικό, οξικό* ή *κιτρικό οξύ*), φαινολικές ενώσεις ή αμινοξέα τα οποία περιέχουν θείο (*κυστεϊνη* ή *μεθειονίνη*). Η έκκριση των οργανικών οξέων μπορεί επίσης να διευκολύνει τελικά την πρόσληψη των μετάλλων αφού σημειώνεται μείωση του εδαφικού pH οπότε και τα μεταλλικά κατιόντα γίνονται βιοδιαθέσιμα. (Eapen and D’Souza, 2005)

- Δέσμευση των μετάλλων ή των μεταλλοειδών με τη μορφή χηλικών ενώσεων από τις φυτοχελατίνες (*phytoxelatines*). Οι ενώσεις αυτές στη συνέχεια αδρανοποιούνται στο κυτταρικό τοίχωμα.

Οι φυτοχελατίνες είναι πεπτίδια πλούσια σε θείο και τα οποία παρουσιάζουν το γενικό τύπο (γ-γλουταμινικό-κυστεΐνη) n-γλυκίνη με n= 2-8 (Εικόνα 6). Η δομή τους διαφέρει από τις συνήθεις πρωτεΐνες στο δεσμό μεταξύ των γ-γλυταμινικού και της κυστεΐνης, οπότε και φαίνεται να ακολουθούν συγκεκριμένη βιοσυνθετική οδό και ότι έχουν σαν πρόδρομο μόριο τη γλουταθειόνη (*GSH,γ-γλουταμινικό-κυστεΐνη-γλυκίνη*), τον πλέον διαδομένο φορέα σουλφυδρυλομάδων στους φυτικούς ιστούς. Η γλουταθειόνη λαμβάνει μέρος σε μία σειρά μεταβολικές διαδικασίες μέσω της αναγωγής-οξείδωσης του θείου (ανηγμένη μορφή –SH και οξειδωμένη μορφή:-S-S) παίζοντας ακόμα ρόλο αποθήκευσης θείου και αποτοξίνωσης ελευθέρων ριζών οξυγόνου.

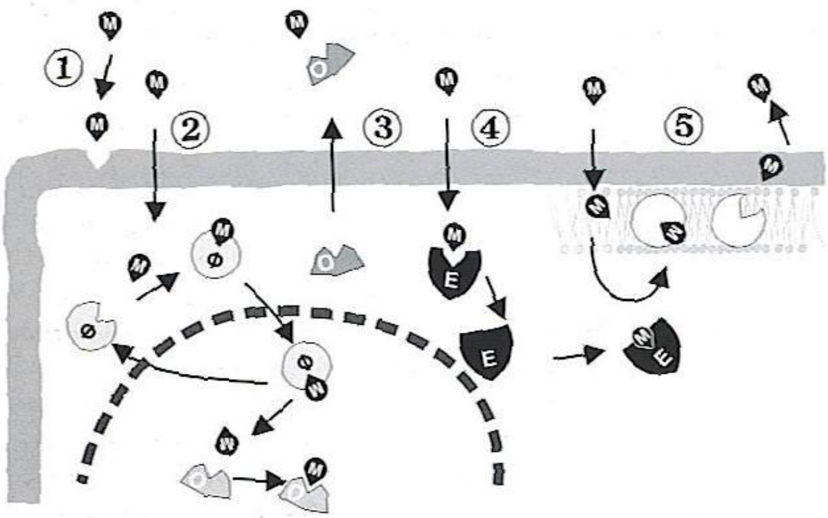
Η συνθετάση της φυτοχελατίνης (υπεύθυνο γονίδιο *Cad 1*) δραστηριοποιείται από ορισμένα βαρέα μέταλλα, δηλαδή σημαντικές ποσότητες φυτοχελατινών ανιχνεύονται στους φυτικούς ιστούς μόνο παρουσία βαρέων μετάλλων ή μεταλλοειδών. Παρόλο που ο συγκεκριμένος μηχανισμός αποτοξικοποίησης δεν είναι πλήρως γνωστός, φαίνεται ότι οι ενώσεις αυτές δεσμεύουν τα μέταλλα στο κυτόπλασμα και στη συνέχεια το μεταφέρουν στο χυμοτόπιο, όπου λόγω του όξινου pH τα απελευθερώνουν επιτρέποντας στο πεπτίδιο να επιστρέψει εκ νέου στο κυτόπλασμα. Τα ελεύθερα μεταλλικά ιόντα στο χυμοτόπιο δεσμεύονται ταχέως από τα υπάρχοντα οργανικά οξέα.



Εικόνα 6: Η δομή μίας φυτοχελατίνης, της (γ-γλουταμυλκυστεϊνύλ)-3-γλυκίνης

Ανάλογο ρόλο με τις φυτοχελατίνες παίζουν οι μεταλλομεθειονίνες, δηλαδή πεπτίδια πλούσια σε μεθειονίνη (Εικόνα 7).

- Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρείται ενεργός μεταφορά των ιόντων ορισμένων μετάλλων ή μεταλλοειδών από το κυτόπλασμα προς την περιοχή του αποπλάστη.



Εικόνα 7: Πιθανοί μηχανισμοί αποφυγής ή ανθεκτικότητας στα βαρέα μέταλλα

(1) : καθήλωση μεταλλικών ιόντων στο κυτταρικό τοίχωμα με τη μορφή πηκτινών
(2) : είσοδος και δέσμευση μεταλλικών ιόντων υπό μορφή χηλικών συμπλόκων
(*Φ=φυτοχελατίνη, Ο=οργανικό οξύ)*
(3) : απέκκριση οργανικών οξέων και δημιουργία χηλικών συμπλόκων στη ριζόσφαιρα
(4) : σύνδεση ανθεκτικών ενζυμικών μορίων (*E*)
(5) : ενεργός μεταφορά στον αποπλάστη

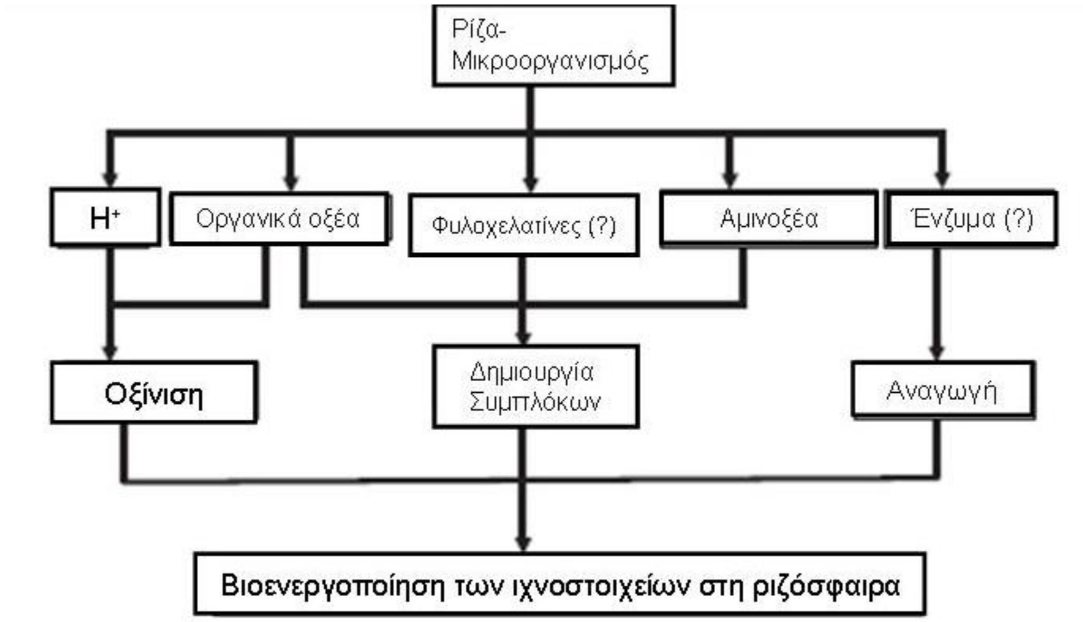
2.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΡΙΖΟΣΦΑΙΡΑΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΤΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΑΠΟ ΤΑ ΦΥΤΑ

Το εδαφικό περιβάλλον το οποίο βρίσκεται σε επαφή ή γειτνίαση με τη ρίζα ορίζεται ως *ριζόσφαιρα*. Χαρακτηρίζεται από μικροοργανισμούς (μύκητες, βακτήρια), νηματώδεις, έντομα και ανόργανα και οργανικά συστατικά, ορισμένα από τα οποία παράγονται από τις ίδιες τις ρίζες. Οι μικροοργανισμοί επωφελούνται από τις ριζικές εκκρίσεις (σάκχαρα, αμινοξέα, οργανικά οξέα) και μέσω της μεταβολικής τους δραστηριότητας συμβάλλουν στις διαδικασίες αποδόμησης.

Οι μικροοργανισμοί της ριζόσφαιρας έχουν σημαντική συμβολή στην αύξηση της παραγωγικότητας των φυτών. Ο μικροβιακός πληθυσμός της ριζόσφαιρας διαφέρει από τον αντίστοιχο πληθυσμό που αναπτύσσεται μακριά από αυτή τόσο ποιοτικά (είδος μικροοργανισμού), όσο και ποσοτικά (πυκνότητα το πληθυσμού).

Η πυκνότητα του μικροβιακού πληθυσμού στη ριζόσφαιρα εκφράζεται με το λόγο των μικροοργανισμών ανά γραμμάριο εδάφους της ριζόσφαιρας (R), προς τον αντίστοιχο αριθμό ανά γραμμάριο εδάφους μακριά από τις ρίζες (S). Ο λόγος αυτός αναφέρεται ως R/S (Rhizosphere/Soil), έχει τιμές 10-70 αλλά έχουν παρατηρηθεί και τιμές που φτάνουν τα 150-200

Τα περισσότερα βαρέα μέταλλα έχουν χαμηλή κινητικότητα στο έδαφος και δεν απορροφούνται εύκολα από τις ρίζες των φυτών. Όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 8, οι ρίζες των φυτών αλληλεπιδρούν με τους μικροοργανισμούς του εδάφους και μπορούν να βελτιώσουν τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στη ριζόσφαιρα με την έκκριση πρωτονίων, οργανικών οξέων, φυτοχελατίνων, αμινοξέων και ενζύμων. Η έκκριση των πρωτονίων από τις ρίζες θα δημιουργήσει όξινο περιβάλλον στη ρίζα και θα αυξήσει τη διάλυση των μετάλλων. Έχει δειχτεί ότι το pH στη ριζόσφαιρα σε υπερσσυσωρευτές του χαλκού όπως το είδος *Elsholtzia splendens* είναι πολύ χαμηλότερο. Η έκκριση των πρωτονίων από τις ρίζες γίνεται μέσω του ενζύμου H^+-ATPάση ή μέσω αντλίες H^+ (Yang *et al.*, 2005).



Εικόνα 8: Διαδικασίες οι οποίες πιθανώς εμπλέκονται στην κινητοποίηση των μετάλλων στο έδαφος λόγω αντιδράσεων της ρίζας με μικροοργανισμούς (ΠΗΓΗ: Yang et al., 2005).

Συμβίωση ορίζεται ο στενός και διαρκής σύνδεσμος μεταξύ δύο οργανισμών, από τον οποίο προκύπτει αμοιβαίο όφελος. Η συμβιωτική σχέση των μυκορριζών αφορά τη συμβιωτική σχέση ενός ανώτερου φυτού με ένα μύκητα. Μία μυκορριζική ρίζα αποτελείται από τρία συστατικά: την ίδια τη ρίζα, τις εσωτερικές δομές του μύκητα (υφή, arbuscules και vesicles) και την εξωτερική υφή.

Οι μυκορριζικές ρίζες (*μυκόρριζες*) είναι τα συνήθη απορροφητικά όργανα νερού και θρεπτικών των φυτών, ενώ μη μυκορριζικές ρίζες δεν είναι συνήθεις. Έχει αποδειχτεί ότι οι μυκόρριζες είναι πολύ πιο αποτελεσματικές κατά την απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων από ότι οι μη προσβεβλημένες ρίζες, επειδή η μυκορριζική υφή εξέρχεται από τη ζώνη της ρίζας. Μπορούν έτσι να απορροφήσουν συστατικά τα οποία δεν είναι διαθέσιμα για τις ρίζες και να τα μεταφέρουν στα φυτά. Υπό φυσιολογικές συνθήκες τα φυτά εξαρτούνται από τις μυκόρριζές τους για τη φυσιολογική πρόσληψη του φωσφόρου (P), του ψευδαργύρου (Zn) και του χαλκού (Cu). Εάν για οποιοδήποτε λόγο μυκορριζικοί μύκητες δεν υπάρχουν στο έδαφος, οι ρίζες των φυτών δεν μπορούν να προσβληθούν και συνεπώς η πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών μειώνεται και τα φυτά μπορεί να αναπτυχθούν ανεπαρκώς (Smith).

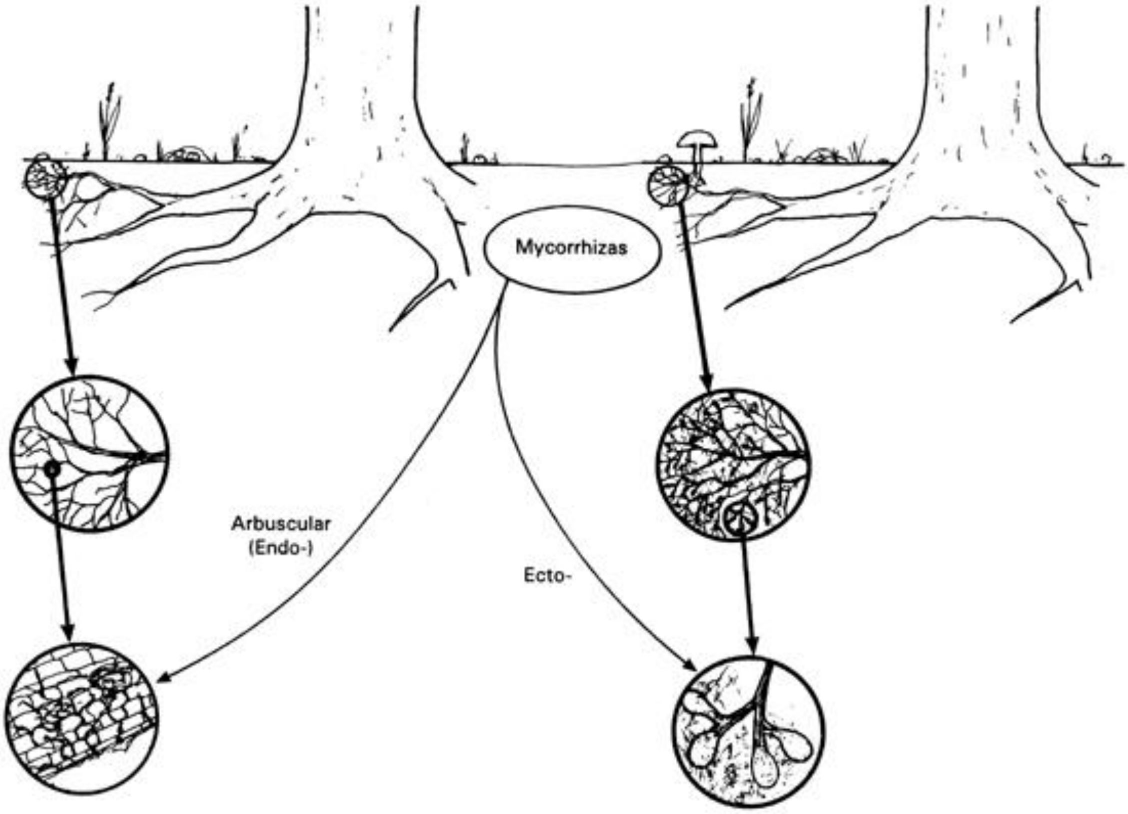
Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία υπάρχουν δύο μορφές μυκορριζών, όπως παρουσιάζονται και στην Εικόνα 9:

- Τις εκτομυκόρριζες ή εξώτροφες μυκόρριζες (*arbuscular*)

Ο μύκητας αναπτύσσεται σε στενή σχέση με τη ρίζα αλλά εκτός του φυτικού σώματος. Οι υφές του μύκητα περιβάλλουν τα ριζίδια του φυτού σχηματίζοντας εξωτερικό δίκτυο και εισέρχονται μεταξύ των κυττάρων του φλοιού. Υφές, επίσης προεκτείνονται προς το έδαφος και προσκολλώνται στα εδαφικά συσσωματώματα.

- Τις ενδομυκόρριζες ή ενδότροφες μυκόρριζες (vesicular-arbuscular)

Ο μύκητας αναπτύσσεται τόσο εκτός όσο και εντός του φυτικού σώματος. Είναι ο συνηθέστερος τύπος μυκόρριζας (αποτελεί το 75% των περιπτώσεων). Οι υφές του μύκητα εισέρχονται και αναπτύσσονται στο φλοιώδες παρέγχυμα της ρίζας. Από αυτές τις διακυτταρικές υφές αναπτύσσονται δύο σημαντικές δομές: (α) ανεξέλεγκτες διακλαδώσεις *abuscules*, οι οποίες αναπτύσσονται ανάμεσα στα κύτταρα και πιθανώς εμπλέκονται στην μεταφορά θρεπτικών ανάμεσα στο φυτό και τον μύκητα και (β) ωοειδή κυστίδια τα οποία είναι αποθηκευτικές δομές. Οι υφές εξελίσσονται (αναπτύσσονται, φύονται) από τη ρίζα στο έδαφος.



Εικόνα 9: Είδη μυκόρριζας (ενδο- και εκτομκόρριζα) (Πηγή: FAO)

Μία άλλη μορφή συμβίωσης αποτελεί ο σχηματισμός φυματίων στις ρίζες των φυτών της οικογένειας των ψυχανθών. Οφείλεται στην αλληλεπίδραση αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων της ριζόσφαιρας με το φλοιώδες παρέγχυμα της ρίζας και επιτυγχάνεται η απευθείας δέσμευση και αναγωγή του αέριου αζώτου.

3 ΚΕΦΑΛΑΙΟ- Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

3.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

Εισαγωγή

Ο όρος *Φυτοαποκατάσταση ή φυτοεξυγίανση (Phytoremediation)* αναφέρεται σε κάθε σύστημα ή διαδικασία στην οποία χρησιμοποιούνται φυτά για την in situ ή ex situ αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών, υλικών καθιζήσεως (*sediments*) και υδάτων (επιφανειακών ή υπογείων), μέσω της απομάκρυνσης, διάσπασης και σταθεροποίησης των ρυπαντών (Cunningham *et al.*, 1996; Schnoor *et al.*, 1995)

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

Η τεχνολογία αυτή βασίζεται στην αρχή ότι οι ρίζες των φυτών διεισδύουν στον τρισδιάστατο όγκο του μολυσμένου εδάφους και μέσω του αγγειακού συστήματος των φυτών, το υδατικό διάλυμα μεταφέρεται από το έδαφος στην ατμόσφαιρα. Όλα τα φυτά αναπτύσσονται και κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης τους προκαλούν τη μαζική μεταφορά νερού καθώς και διαλυμάτων μέσω του εδάφους στους ιστούς τους. Εάν κάποιο διάλυμα το οποίο περιέχει και μέταλλα βρίσκεται στο έδαφος τότε εγγυημένα αυτό θα μεταφερθεί και στο φυτό. Η σχετική ροή της μάζας στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών διαφέρει από φυτό σε φυτό.

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

Ιστορική εξέλιξη της τεχνολογίας της φυτοεξυγίανσης

Το πρώτο σύστημα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων που βασίστηκε στη χρήση φυτών λειτούργησε στη Γερμανία στις αρχές του 17^{ου} αιώνα. Στη συνέχεια, στα τέλη του 19ου αιώνα, ο Baumann (1885) αναγνώρισε φυτά τα οποία μπορούσαν να συσσωρεύουν μεγάλες συγκεντρώσεις ψευδαργύρου (Zn). Το 1935 ο Byers τεκμηρίωσε τη συσσώρευση του σεληνίου στο *Astragalus spp*. Μία δεκαετία αργότερα, οι Minguzzi και Vergano (1948) αναγνώρισαν φυτά τα οποία μπορούσαν να συσσωρεύουν μέχρι και 1 % νικέλιο (Ni) στους βλαστούς τους. Έπειτα από την αναγνώριση αυτών καθώς και άλλων ειδών υπερσυσσωρευτών, πολλές έρευνες βασίστηκαν στη μελέτη της φυσιολογίας και της βιοχημείας της διαδικασίας της υπερσυσσώρευσης των μετάλλων στα φυτά (Lasat, 2002).

Από τις αρχές της δεκαετίας του 80 ξεκίνησε να μελετάται –τουλάχιστον σε εργαστηριακή κλίμακα- αυτή η εξαιρετική ικανότητα ορισμένων μελών του φυτικού βασιλείου να βοηθούν στην αργή αλλά σταθερή αποκατάσταση του περιβάλλοντος από ένα μεγάλο φάσμα τοξικών και επικίνδυνων ρυπαντών. Από τότε μέχρι σήμερα έχει επιτευχθεί σημαντική ανάπτυξη στην εφαρμογή διαφόρων τεχνικών για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων με τη χρήση φυτών. Οι τεχνικές αυτές περιλαμβάνουν τη χρήση υδρόβιων και υδροχαρών φυτών για τη δημιουργία τεχνητών υγροβιότοπων (*Constructed Wetlands*), δεξαμενών επεξεργασίας (*Stabilization Ponds*) και γενικότερα φυσικών συστημάτων επεξεργασίας που μπορούν να απομακρύνουν ρυπαντές-ιχνοστοιχεία που βρίσκονται σε μεγάλο όγκο υγρών αποβλήτων. Διακρίνεται ακόμα ένας έμμεσος ρόλος των φυτών σε αυτές τις τεχνολογίες με τον εμπλουτισμό της ριζόσφαιρας με άνθρακα και άλλα θρεπτικά συστατικά, απαραίτητα για μικροοργανισμούς του εδάφους που έχουν την ικανότητα να προσλαμβάνουν και να αποτοξικοποιούν τους ρύπους.

3.2 ΟΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

Οι μηχανισμοί που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης γενικά μπορούν να διακριθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες: (α) στη Φυτοαπορρύπανση (*Phytodecontamination*), η οποία περιλαμβάνει μηχανισμούς με τη βοήθεια των οποίων, η συγκέντρωση του ρυπαντή στο έδαφος, το νερό και την ατμόσφαιρα μειώνεται σε αποδεκτά επίπεδα και (β) στη Φυτοσταθεροποίηση (*Phytostabilization*), η οποία περιλαμβάνει μηχανισμούς οι οποίοι έχουν ως στόχο την ακινητοποίηση και απομόνωση του ρυπαντή, ώστε να επιβαρύνεται η κινητικότητα και η βιοδιαθεσιμότητά του από το έδαφος στο υπόγειο νερό ή στην ατμόσφαιρα (Cunningham *et al.*, 1996).

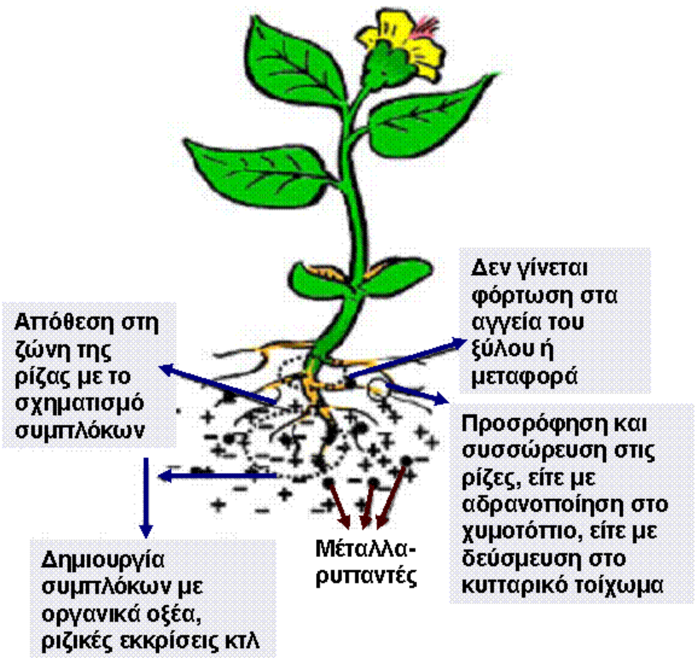
Ειδικότερα, σύμφωνα με την Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος των Η.Π.Α. (Ε.Ρ.Α) οι βασικότεροι μηχανισμοί που διέπουν την τεχνολογία της Φυτοεξυγίανσης διακρίνονται στις κατηγορίες:

- *Φυτοσταθεροποίηση* (*Phytostabilization*)

Ορίζεται ως ο μηχανισμός κατά τον οποίο ορισμένα φυτικά είδη μπορούν και αδρανοποιούν τους ρυπαντές στο έδαφος μέσω προσρόφησης και συσσώρευσής τους στις ρίζες ή μέσω καθίζησής τους στη ζώνη της ρίζας και τη φυσική σταθεροποίησή τους στο έδαφος. Η διαφορά της φυτοσταθεροποίησης σε σχέση με τους άλλους μηχανισμούς, είναι ότι δεν γίνεται απομάκρυνση του μετάλλου από την περιοχή, αλλά μείωση της επικινδυνότητά του για το περιβάλλον με τη σταθεροποίησή του.Βασίζεται στην ικανότητα των φυτών να εκκρίνουν ουσίες μέσω των ριζών τους οι οποίες ευνοούν μηχανισμούς όπως είναι η *χουμοποίηση* (*humification*), δηλαδή η δέσμευση του ρυπαντή στα χουμικά συστατικά του εδάφους, η λιγνιτοποίηση *(lignification)*, δηλαδή η δέσμευση στα κυτταρικά τοιχώματα των ριζών και η απομόνωση-συμπλοκοποίηση στα εδαφικά σωματίδια (*soil sequestration*).

Ο μηχανισμός αυτός παρεμποδίζει την κινητικότητα των ρυπαντών και τη μεταφορά τους στα υπόγεια νερά ή στον αέρα. Η σωστή επιλογή της βλάστησης είναι καθοριστικός παράγοντας για το σχεδιασμό ενός τέτοιου συστήματος φυτοεξυγίανσης. Για το λόγο αυτό, απαιτείται να γίνονται πρώτα φυσικές και χημικές αναλύσεις, βιοδοκιμές και πειράματα στο πεδίο. Σε ένα τέτοιο σύστημα συνιστάται η χρήση φυτών που είναι ανθεκτικά στα μέταλλα, έτσι ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος επιμόλυνσης των ρύπων με τον αέρα, με τη διήθηση στο έδαφος, ή τη μόλυνση των υπόγειων υδάτων. Τα φυτά που προτείνονται για το σχεδιασμό ενός συστήματος φυτοεξυγίανσης πρέπει να διαθέτουν τα εξής χαρακτηριστικά: ανθεκτικότητα σε υψηλές του μετάλλου, υψηλή παραγωγή βιομάζας ρίζας, ικανότητα να ακινητοποιούν το ρύπο μέσω πρόσληψης, καθίζησης ή αναγωγής, ικανότητα να διατηρήσουν το ρύπο στις ρίζες και να μην μεταφερθεί στους ιστούς.

Έχει βρεθεί ότι η φυτοσταθεροποίηση είναι πιο αποτελεσματική σε λεπτόκοκκα εδάφη, πλούσια σε οργανική ουσία. Επίσης, χρησιμοποιείται κυρίως σε περιπτώσεις που η μόλυνση είναι τόσο μεγάλη ώστε δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν άλλοι μηχανισμοί φυτοεξυγίανσης. Η φυτοσταθεροποίηση ενισχύεται με την αλλαγή των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του εδάφους με τη προσθήκη ανιόντων, όπως του φωσφορικού, το οποίο συμβάλλει στην προσρόφηση του μετάλλου. Επίσης, για τη βελτίωση των συνθηκών του εδάφους για τη φυτοσταθεροποίηση καθώς και τη διευκόλυνση της επαναβλάστησης, συνιστάται η προσθήκη οργανικής ουσίας ή κομπόστ και ασβέστη για να αυξηθεί το pH του εδάφους.



Εικόνα 10: Απεικόνιση του μηχανισμού της φυτοσταθεροποίησης (ΠΗΓΗ: Padmavathiamma and Li, 2007)

- *Φυτοδιήθηση (phytofiltration)*

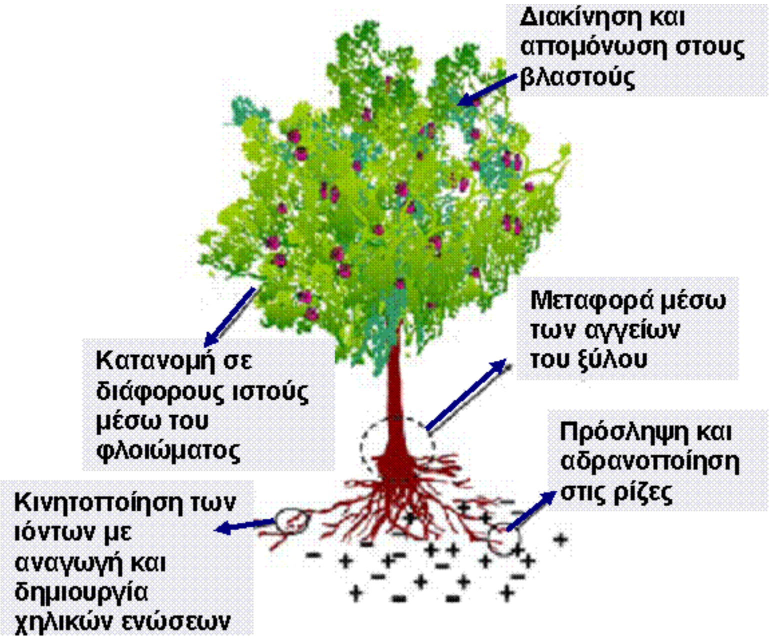
Ορίζεται ως ο μηχανισμός κατά των οποίο το ριζικό σύστημα των φυτών - *ριζοδιήθηση (rhizofiltration)* ή τα νεαρά αρτίβλαστα *βλαστοδιήθηση (blastofiltration)* μπορούν και απορροφούν ή κατακρατούν ρύπους, κυρίως μέταλλα, τα οποία βρίσκονται γύρω από τη ζώνη επίδρασής του σε διαλυμένη μορφή. Η κινητικότητα του διαλυμένου ρύπου εμποδίζεται, και στη συνέχεια με διάφορες βιοτικές και αβιοτικές διεργασίες, ο ρύπος ακινητοποιείται και συσσωρεύεται πάνω ή μέσα στη ρίζα του φυτού. Η βιορρόφηση μπορεί να γίνει με διάφορες διαδικασίες, όπως είναι: η χημειορρόφηση, η δημιουργία συμπλόκων, η ιοντοανταλλαγή, η μικροκαθίζηση και η προσρόφηση στην επιφάνεια.

Στη ριζοδιήθηση χρησιμοποιούνται χερσαία φυτά και όχι υδοχαρή, καθώς τα χερσαία φυτά διαθέτουν πολύ μεγαλύτερο και θυσσανώδες ριζικό σύστημα, το οποίο μαζί με τα ριζικά τριχίδια μπορεί να καλύψει μεγαλύτερη επιφάνεια. Τα φυτά μπορούν να αναπτυχθούν σε υδροπονική καλλιέργεια και στη συνέχεια να μεταφυτευτούν σε λεκάνες μολυσμένες με μέταλλα, όπου τελικά τα μέταλλα θα συσσωρευτούν στις ρίζες ή στους βλαστούς των φυτών. Συνήθως ενδείκνυται για εδάφη που είναι ελαφρώς ρυπασμένα.

- *Φυτοεξαγωγή (phytoextraction) ή φυτοσυσσώρευση (phytoaccumulation).*

Ορίζεται ως ο μηχανισμός πρόσληψης ρυπαντών από το ριζικό σύστημα των φυτών και μεταφοράς τους στο φυτικό ιστό. Χρησιμοποιείται ιδιαίτερα για τον καθαρισμό εδαφών μολυσμένων με βαρέα μέταλλα. Το σημαντικότερο πλεονέκτημα αυτού του μηχανισμού φυτοεξυγίανσης είναι ότι ο ρύπος απομακρύνεται μόνιμα από το έδαφος, ενώ υπάρχει η δυνατότητα ανακύκλωσης του ρύπου από τη φυτική βιομάζα.Όπως παρουσιάζεται στην εικόνα 5, τα μέταλλα μεταφέρονται από το υπέδαφος στο υπέργειο τμήμα του φυτού, το οποίο στη συνέχεια θα αποτελέσει και τη συγκομισθείσα βιομάζα -πλούσια στο στοιχείο και που θα πρέπει να απομακρυνθεί από το πεδίο.

Η τεχνολογία αυτή αφορά τα φυτά-υπερσσυσσωρευτές τα οποία μπορούν να απορροφούν μεγάλες ποσότητες από βαρέα μέταλλα, όπως αναλύεται σε επόμενο κεφάλαιο. Η χρήση των φυτών-υπερσυσσωρευτών έχει το μειονέκτημα ότι τα φυτά αυτά έχουν αργό ρυθμό ανάπτυξης, επιφανειακό ριζικό σύστημα και μικρή παραγωγή βιομάζας. Η φυτοεξαγωγή εφαρμόζεται κυρίως σε περιοχές με μικρό έως μεσαίο βαθμό μόλυνσης, καθώς η ανάπτυξη των φυτών περιορίζεται σε βαριά μολυσμένα εδάφη.

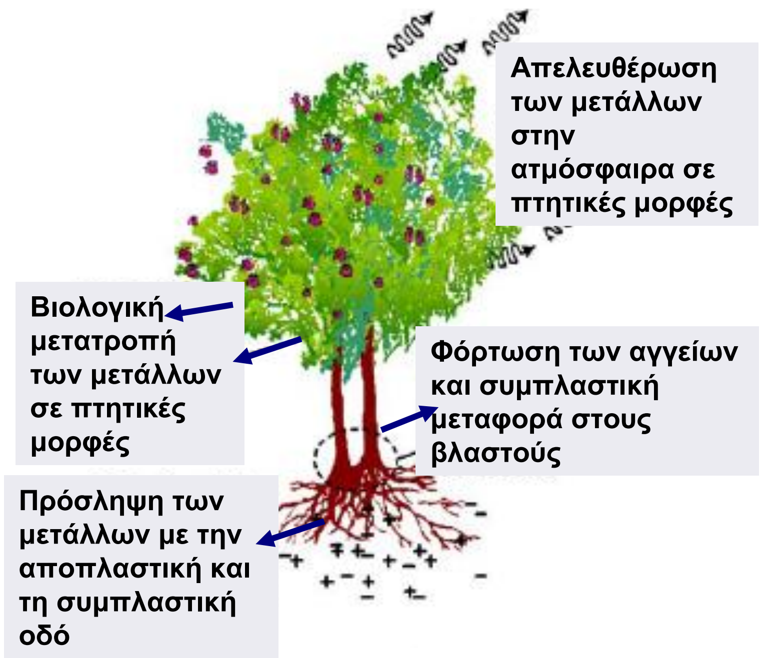


Εικόνα 11: Απεικόνιση του μηχανισμού της φυτοεξαγωγής (ΠΗΓΗ: Padmavathiamma and Li, 2007)

- *Φυτοεξάτμιση (phytovolatilisation)*

Ορίζεται ο μηχανισμός κατά τον οποίο, ο ρύπος προσλαμβάνεται από το φυτό, μεταφέρεται στο υπέργειο τμήμα του φυτού και στη συνέχεια μέσω διεργασιών του μεταβολισμού του φυτού μετετρέπεται και απελευθερώνεται στην ατμόσφαιρα σε πτητική μορφή, όπως περιγράφεται στην εικόνα 12. Οι ρύποι εκλύονται στην ατμόσφαιρα είτε στην αρχικοί τους μορφή είτε σε τροποποιημένη, συνήθως λιγότερο τοξική. Στη συνέχεια μπορούν να υποστούν στην ατμόσφαιρα επιπλέον μεταβολές με φυσικές διεργασίες (πχ. φωτοδιάσπαση).

Το μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι ο ρύπος που απομακρύνεται μέσω της εξάτμισης στην ατμόσφαιρα μπορεί να μεταναστεύσει και να συσσωρευτεί σε άλλες περιοχές, οπότε και να δημιουργήσει ξανά πρόβλημα. Για το λόγο αυτό, η τεχνολογία αυτή θα πρέπει να αποφεύγεται να εφαρμόζεται σε πληθυσμιακά κέντρα, ή σε περιοχές όπου οι μετεωρολογικές συνθήκες συντεθούν στη γρήγορη εναπόθεση των πτητικών ενώσεων, οπότε και την ανακύκλωσή τους.



Εικόνα 12: Απεικόνιση του μηχανισμού της φυτοεξάτμισης (ΠΗΓΗ: Padmavathiamma and Li, 2007)

Plant species	Metal	Content (mg kg^{-1})
T. caerulescens	Zn	39,600 (shoots)
T. caerulescens	Cd	1,800
Ipomea alpine	Cu	12,300
Sebertia acuminate	Ni	25% by wt. dried sap
Haumaniastrum robertii	Co	10,200
A. racemosus	Se	14,900
P. vittata	As	27,000
Berkheya coddii	Ni	5,500
Iberis intermedia	Ti	3,070

Πίνακας 6: Παραδείγματα φυτών υπερσυσσωρευτών και η δυνατότητά τους για βιοσυσσώρευση μετάλλων (ΠΗΓΗ: Padmavathiamma and Li, 2007)

Σήμερα, η τεχνολογία της Φυτοαποκατάστασης έχει εφαρμοστεί για τον καθαρισμό οργανικών ρυπαντών -όπως είναι υδρογονάνθρακες πετρελαίου, οργανικοί διαλύτες, φυτοφάρμακα και εντομοκτόνα και πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες-, όσο και ανόργανων ρυπαντών -όπως είναι τα βαρέα μέταλλα και τα μεταλλοειδή. Γενικότερα, η επέκταση της επιστημονικής γνώσης σχετικά με τον μεταβολισμό των επικίνδυνων ρυπαντών και ιδιαίτερα των οργανικών ενώσεων, η εύρεση νέων φυτικών ειδών που έχουν τη δυνατότητα να παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε διαφορετικούς ρυπαντές και η χρησιμοποίηση της γενετικής μηχανικής στη δημιουργία νέων μεταβολικών δυνατοτήτων για τα ήδη χρησιμοποιούμενα φυτά ευνοούν την εφαρμογή της φυτοαποκατάστασης σε ευρεία κλίμακα. Η τεχνολογίας της φυτοεξυγίανσης κατατάσσεται διαφορετικά ανάλογα με τους ρυπαντές στόχους, σε (α) Φυτοεξυγίανση Οργανικών ρυπαντών και (β)

Φυτοεξυγίανση Ανόργανων ρυπαντών (Ζαμπετάκης *et al*., 2005). Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται οι διαφορετικοί μηχανισμοί της φυτοεξυγίανσης και το είδος των ρυπαντών για το οποίο χρησιμοποιούνται.

Διαδικασία	Μηχανισμός	Ρυπαντής
Φυτοδιήθηση (*Phytofiltration*)	Συσσώρευση στη ριζόσφαιρα	Οργανικοί, ανόργανοι
Φυτοσταθεροποίηση (*Phytostabilisation*)	Δημιουργία συμπλόκων	Ανόργανοι
Φυτοεξαγωγή (*Phytoextraction*)	Υπερ-συσσώρευση	Ανόργανοι
Φυτοεξάτμιση *(Phytovolatilisation)*	Εξάτμιση μέσω των φύλλων	Οργανικοί, ανόργανοι

Πίνακας 7: Οι διαφορετικοί μηχανισμοί φυτοεξυγίανση (ΠΗΓΗ: Padmavathiamma and Li, 2007)

Οι υποσχόμενες μέθοδοι της γενετικής μηχανικής επέτρεψαν τη δημιουργία φυτών με βελτιωμένες δυνατότητες για φυτοεξαγωγή ή φυτοεξάτμιση. Έχει δεχτεί, ότι τα φυτά ή/και οι μικροοργανισμοί που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα και ικανότητες συσσώρευσης και απορρύπανσης μετάλλων και μεταλλοειδών διαθέτουν μοναδικά γονίδια τα οποία θα μπορούσαν να μεταφερθούν σε άλλα φυτικά είδη για την ενίσχυση της διεργασίας της φυτοεξυγίανσης. Βελτιωμένες αναλυτικές τεχνικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αποσαφηνίσουν τους μηχανισμούς που χαρακτηρίζουν τη διαδικασία της απορρύπανσης (LeDuc and Terry, 2005).

3.3 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΒΕΛΤΙΣΤΗ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ ΕΔΑΦΩΝ

Για το σωστό σχεδιασμό ενός συστήματος φυτοεξυγίανσης διάφορες παράμετροι πρέπει να ληφθούν υπόψη, όπως είναι: το είδος του ρυπαντή, οι συνθήκες που επικρατούν στο προς απορρύπανση πεδίο, το ποσοστό αποτοξικοποίησης ή μείωσης της συγκέντρωσης του ρύπου που απαιτείται και το είδος των φυτών που θα χρησιμοποιηθούν. Επίσης, οι παράμετροι αυτοί καθορίζονται ανάλογα με το μηχανισμό φυτοεξυγίανσης που θα χρησιμοποιηθεί. Για παράδειγμα, ο σχεδιασμός ενός συστήματος που χρησιμοποιεί το μηχανισμό της ριζοδιήθησης διαφέρει από ένα σύστημα που χρησιμοποιεί το μηχανισμό της φυτοεξαγωγής.

Η επιλογή του κατάλληλου φυτού αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την επιτυχία και τη μέγιστη περιβαλλοντική αποκατάσταση της ρύπανσης. Πιο συγκεκριμένα, τα υποψήφια, φυτά για το σχεδιασμό ενός συστήματος φυτοεξυγίανσης θα πρέπει να διαθέτουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- ικανότητα να συσσωρεύουν τα μέταλλα στα υπέργεια μέρη του φυτού, ώστε να είναι πιο εύκολη η μετέπειτα επεξεργασία του ρύπου. Δύο παράγοντες έχουν οριστεί για την εκτίμηση της ικανότητας των φυτών να συσσωρεύουν μέταλλα: ο *Bioconcentration Factor (BF)* = συγκέντρωση των μετάλλων στο ριζικό σύστημα του φυτού / συγκέντρωση των μετάλλων στο έδαφος και ο *Translocation Factor (TF)* = συγκέντρωση των μετάλλων στο υπέργειο τμήμα / συγκέντρωση μετάλλων στη ρίζα του φυτού.
- ανθεκτικότητα σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλου
- γρήγορη και καλή ανάπτυξη
- μεγάλη βιομάζα, ώστε να είναι δυνατή η συσσώρευση όσο το δυνατό μεγαλύτερης συγκέντρωσης μετάλλου
- μεγάλο και έντονα διακλαδιζόμενο ριζικό σύστημα ώστε το φυτό να έχει εύκολη πρόσβαση στο ρύπο κατά την *in situ* εφαρμογή της φυτοαποκατάστασης
- ευκολία στη συγκομιδή
- συμβατότητα του φυτού με τις φυσικές συνθήκες που επικρατούν στο πεδίο (προτιμώνται τοπικά φυτά και η διατήρηση του φυσικού περιβάλλοντος)

Επιπρόσθετα, η γενικότερη επιτυχία της φυτοεξυγίανσης μπορεί να εξαρτηθεί και από άλλους παράγοντες όπως είναι:

- ο βαθμός της ρύπανσης του εδάφους
- τα φυσικά χαρακτηριστικά του εδάφους και της υφιστάμενης ρύπανσης
- η βιοδιαθεσιμότητα του μετάλλου για την πρόσληψή του από το φυτό
- η αλληλεπίδραση μεταξύ φυτού-εδάφους-μετάλλου εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και από τις καλλιεργητικές τεχνικές που εφαρμόζονται στα φυτά

- οι αγρονομικές πρακτικές που εφαρμόζονται, όπως είναι η προσθήκη λιπασμάτων στο έδαφος σε σχέση με τη διαφυλλική λίπανση, η οξίνιση του εδάφους, η προσθήκη συνθετικών χηλικών ενώσεων, οι αποστάσεις φύτευσης και η εναλλαγή των καλλιεργειών μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της φυτοεξυγίανσης.

Μία ακόμα σημαντική παράμετρος που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη είναι η τοποθεσία που θα εγκατασταθεί το σύστημα της φυτοεξυγίανσης. Τα φυτά και ολόκληρη η περιοχή θα πρέπει να καλύπτεται και να φυλάσσεται από τα ζώα και τα πτηνά ώστε να αποφευχθεί η μεταφορά του συσσωρευμένου στα φυτά μετάλλου στην τροφική αλυσίδα μέσω των ζώων (Eapen and D'Souza, 2005). Παρόλα αυτά υπάρχουν φυτά, όπως είναι οι πτέριδες (*fern*) τα οποία δεν τρώγονται από τα άγρια ζώα επειδή είναι πικρά και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βλάστηση σε σύστημα φυτοεξυγίανσης (Srivastava *et al*., 2005).

Τέλος, ένα σημαντικό ζήτημα σε αυτή την τεχνολογία αποτελεί η διάθεση και η περαιτέρω μεταχείριση της βιομάζας (συνήθως κλαδιά και φύλλα, ή ριζικό σύστημα) που θα συγκομισθεί και η οποία περιέχει τους επικίνδυνους ρύπους σε υψηλές συγκεντρώσεις.

3.4 Η ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΔΕΝΔΡΩΔΩΝ ΕΙΔΩΝ ΣΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΚΑΙ Η ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΕ ΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

Περιοριστικοί παράγοντες στην εκμετάλλευση των φυτών για την απορρύπανση του εδάφους, αποτελούν η απόδοση των φυτών σε βιομάζα και τα επίπεδα συσσώρευσης του μετάλλου που επιτυγχάνονται. Για παράδειγμα, το είδος *Thlaspi caerulescens* είναι ένας γνωστός υπερσυσσωρευτής ψευδαργύρου (Zn), αλλά η χρήση και εφαρμογή αυτής του της ιδιότητας του στο πεδίο είναι περιορισμένη καθ' ότι τα φυτά είναι πολύ μικρά σε βιομάζα και χαμηλής ανάπτυξης. Σε ένα πρόγραμμα φυτοεξυγίανσης τα ιδανικά φυτά που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν θα ήταν φυτά με μεγάλη βιομάζα και υψηλές αποδόσεις, τα οποία θα μπορούσαν τόσο να είναι ανθεκτικά όσο και να συσσωρεύουν το ρυπαντή του ενδιαφέροντος. Τα υποψήφια φυτικά είδη που φαίνονται να πληρούν αυτές τις προϋποθέσεις είναι τα δενδρώδη.

Σύμφωνα με τις πρώτες μελέτες, δεν θεωρούνταν πιθανό ότι τα δέντρα μπορούν να προσαρμοστούν σε υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων του εδάφους, καθώς εξετάζοντας την ιστορία της εξέλιξης των ειδών, δεν έχουν δημιουργηθεί παρά μόνο ελάχιστοι οικότυποι δενδρωδών ειδών που είναι ανθεκτικοί σε τοξικές συγκεντρώσεις μετάλλων. Επίσης, δεδομένου του μεγάλου χρόνου αναπαραγωγής τους, είναι δύσκολη η επιλογή των ανθεκτικών γενοτύπων. Χαρακτηριστικά, στα μεταλλοφόρα εδάφη της Ευρώπης σπανίως συναντώνται δενδρώδη ή ξυλώδη είδη. Παρόλα αυτά, το γεγονός ότι δεν έχουν αναφερθεί συμπτώματα τοξικότητας σε δέντρα δείχνει ότι οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας που διαθέτουν, τους επιτρέπουν να αντέχουν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλων από ότι τις γεωργικές καλλιέργειες.

Οι μηχανισμοί αντοχής που χρησιμοποιούν τα δέντρα είναι η απομόνωση των μετάλλων στις ρίζες ή η πρόσληψη τους στα φύλλα αλλά σε χαμηλότερα ποσοστά. Η συμπεριφορά και η κινητικότητα των βαρέων μετάλλων στα δέντρα διαφέρει ανάλογα με το μέταλλο. Για παράδειγμα ο μόλυβδος (Pb), το χρώμιο (Cr) και ο χαλκός (Cu) τείνουν να συσσωρεύονται και να απομονώνονται στις ρίζες, ενώ άλλα στοιχεία, όπως είναι το κάδμιο (Cd), το νικέλιο (Ni) και ο ψευδάργυρος (Zn) μπορούν και μεταφέρονται πιο εύκολα στα εναέρια μέρη του δέντρου. Σημειώνουμε ακόμα, ότι η συσσώρευση των μετάλλων στα φύλλα των δενδρωδών διαφοροποιείται ανάλογα με την εποχή. Μέχρι σήμερα, δεν έχουν προσδιοριστεί ένας ή περισσότεροι φυσιολογικοί μηχανισμοί με γενετική βάση που να ορίζουν το μηχανισμό αντοχής των δέντρων στις τοξικές συγκεντρώσεις μετάλλων. Έχει δειχτεί ότι ο εγκλιματισμός των δέντρων στο εδαφικό τους περιβάλλον έχει μεγάλη σημασία για την επιβίωση των δέντρων στις ακραίες συνθήκες μόλυνσης. Επιπρόσθετα, η αντοχή των δένδρων στα μέταλλα ενισχύεται με τη δράση των μυκορριζικών μυκήτων.

Η χρήση φυτών τα οποία δεν είναι κατ’ ουσίαν υπερσυσσωρευτές βαρέων μετάλλων, όπως είναι τα δέντρα, θα μπορούσε να αποτελέσει μία εναλλακτική μέθοδο για τη βελτίωση της φυτοεξυγίανσης, υπό την προϋπόθεση ότι η καλλιέργεια αυτών των ειδών συνδυαζόταν με την εφαρμογή των κατάλληλων τεχνικών του εδάφους, οι οποίες θα μπορούσαν να αυξήσουν τη κινητικότητα του μετάλλου στο έδαφος, οπότε και την πρόσληψή τους από τις ρίζες. Για παράδειγμα, έχει δειχτεί ότι το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (*EDTA*) είναι η πιο αποτελεσματική χηλική ένωση για τη μεταφορά του μολύνδου (Pb) από τις ρίζες στους βλαστούς, χωρίς να χρειάζεται να μεσολαβήσει η απομόνωση-αδρανοποίησή του στοιχείου στο κυτταρικό τοίχωμα. Το μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι το *EDTA* που προστίθεται στο έδαφος μπορεί να διευκολύνει την κινητικότητα και άλλων μετάλλων, με κίνδυνο την έκπλυσή τους στα υπόγεια ή τα επιφανειακά νερά.

Τα τελευταία χρόνια γίνονται μελέτες για τη χρησιμοποίηση δέντρων στην φυτοεξυγίανση του εδάφους. Το κύριο χαρακτηριστικό που κάνει τα δέντρα κατάλληλα για φυτοεξυγίανση είναι η μεγάλη τους βιομάζα τόσο πάνω όσο και κάτω από το έδαφος. Με τις ρίζες τους, τα δέντρα μπορούν να επιτύχουν φυσική σταθεροποίηση και αποκατάσταση του ρυπασμένου εδάφους. Ιδιαίτερα σημειώνουμε ότι τα δέντρα διαθέτουν το πιο μεγάλο ριζικό σύστημα απ' όλα τα φυτά, το οποίο μπορεί να διαπεράσει μέχρι και αρκετά μέτρα τα στρώματα του εδάφους, πολύ βαθύτερα από τα ποώδη φυτά. Παράλληλα, με τη συσσώρευση των μετάλλων στα φύλλα μειώνεται ο κίνδυνος απωλειών από το έδαφος λόγω του ανέμου ή της διάβρωσης του εδάφους. Στη συνέχεια, με την πτώση των φύλλων προστίθεται ένα σημαντικό ποσοστό οργανικής ουσίας στην επιφάνεια του εδάφους, η οποία μαζί επίσης με τις ριζικές εκκρίσεις ή τις νεκρές ρίζες, συντελεί στην ανακύκλωση των στοιχείων, στη βελτίωση των ιδιοτήτων του εδάφους και στη συγκράτηση του νερού. Τα δέντρα μπορούν να παράγουν υψηλή βιομάζα και για ορισμένα είδη, όπως είναι η ιτιά (Salix), παρουσιάζει ενδιαφέρον η εκμετάλλευση της μεγάλης τους γενετική ποικιλότητας και η εφαρμογή προγραμμάτων γενετικής βελτίωσης.

Τα δένδρα ενδείκνυνται ως μία χαμηλού κόστους, αειφόρα και οικολογικά ορθή λύση φυτοεξυγίανσης εδαφών μολυσμένων με βαρέα μέταλλα, ειδικά για τις περιπτώσεις όπου δεν υπάρχει πίεση χρόνου για την εφαρμογή του συστήματος φυτοεξυγίανσης, ή όπου η εφαρμογή άλλων μεθόδων δεν έχει οικονομικό συμφέρον. Ένα βασικό πλεονέκτημα στην επιλογή των δέντρων ως είδος βλάστησης είναι ότι πολλά δέντρα δεν έχουν ιδιαίτερες απαιτήσεις στην ποιότητα του εδάφους που καλλιεργούνται. Αυτό σημαίνει ότι σε περιοχές όπου η γονιμότητα και η δομή του εδάφους είναι χαμηλή, η εγκατάσταση δέντρων αποτελεί μία χαμηλού κόστους λύση.

Σύγχρονες μελέτες για τη φυτοεξυγίανση εδαφών, υπέδειξαν τη χρήση δενδρωδών ειδών όπως πχ, τα είδη Salix (ιτιά), Betula (σημύδα), Populus (λεύκα), Alnus (κλήθρα) και Acer (συκομουριά). Από αυτά τα είδη, το πιο μεγάλο ενδιαφέρον ως προτεινόμενο είδος για φυτοεξυγίανση φαίνεται να παρουσιάζει η ιτιά, λόγω της γρήγορης ανάπτυξής της και της μεγάλης απόδοσής της σε βιομάζα (περίπου 10-15 ξηροί τον/εκτάριο/έτος). Η βιομάζα αυτή μπορεί να συλλέγεται ανά τακτά χρονικά διαστήματα με κορμοτομή, ενώ στη συνέχεια, τα ξύλα καίγονται και παράγεται ανανεώσιμη βιοενέργεια. Επίσης, οι ιτιές έχουν αποτελεσματικό ριζικό σύστημα και καλή πρόσληψη των συστατικών και υψηλό βαθμό εξατμισοδιαπνοής. Στη Σουηδία και στο Ηνωμένο Βασίλειο έχουν εφαρμοστεί ανάλογα προγράμματα που έδωσαν τη δυνατότητα παραγωγής κλώνων ιτιάς που διαθέτουν τα απαραίτητα χαρακτηριστικά για φυτοεξυγίανση, δηλαδή μεγάλη παραγωγή βιομάζας και υψηλή πρόσληψη μετάλλων και αντοχή (Pulfford and Watson, 2003).

3.5 ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΗΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΠΟΥ ΣΥΛΛΕΓΕΤΑΙ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

Η φυτοεξαγωγή απαιτεί το επαναλαμβανόμενο κόψιμο των φυτών στο μολυσμένο έδαφος, μέχρι να πέσει η τοξική συγκέντρωση του μετάλλου στο έδαφος να πέσει σε φυσιολογικά επίπεδα. Τα φυτά πρέπει να απομακρύνονται από το πεδίο για να μην επαναμολυνθεί μέσω της ανακύκλωσης του μετάλλου. Αυτό οδηγεί στη συσσώρευσης τεράστιων ποσοτήτων επικίνδυνης βιομάζας, η οποία πρέπει να αποθηκευτεί ή να διατεθεί κατάλληλα ώστε να μειωθεί ο περιβαλλοντικός κίνδυνος. Μετά από τη συγκομιδή, ο όγκος των αποβλήτων μπορεί να μειωθεί με θερμικές, μικροβιακές ή χημικές μεθόδους. Οι μέθοδοι διάθεσης των μολυσμένων φυτών που μπορούν να εφαρμοστούν είναι:

- Διάθεση σε Χώρους Υγειονομικής Ταφής Επικίνδυνων Αποβλήτων (*landfilling*)
- πρωτοβάθμια καθίζηση σε βιολογικό καθαρισμό (*surface impoundments*)
- έγχυση σε βαθειά φρέατα (*deep well injection*)
- απόρριψη στον ωκεανό (*ocean dumping*)
- ελεγχόμενη καύση (*controlled incineration*)
- ο όγκος των αποβλήτων μπορεί να μειωθεί με θερμικές, μικροβιακές ή χημικές μεθόδους.
- Κομποστοποίηση και συμπίεση

Αν και η κομποστοποίηση μειώνει σημαντικά τον όγκο της βιομάζας που συλλέγεται, μετά από την φυτοεξαγωγή των ρύπων, πριν από τη διάθεσή της μολυσμένης με μέταλλα βιομάζας πρέπει να γίνεται και άλλη μεταχείριση.

Στην περίπτωση της συμπίεσης του εδάφους, θα πρέπει να δίνεται προσοχή και να συλλέγονται ακόμα τα στραγγίσματα.

Ένας συμβατικός και υποσχόμενος τρόπος συλλογής της βιομάζας που παράγεται με τη φυτοεξυγίανση είναι μέσω μεθόδους θερμο-χημικής μετατροπής, όπως είναι η καύση, η αεριοποίηση και η πυρόλυση.

Η φυτοεξαγωγή θα μπορούσε να γίνει μία επικερδής διαδικασία, εφόσον η παραγωγή της βιομάζας μπορούσε να χρησιμοποιηθεί εμπορικά ως πηγή ενέργειας, και η εναπομείνουσα στάχτη να χρησιμοποιηθεί σαν μετάλλευμα. Η φυτοεξόρυξη (*phytomining*) είναι μία προσοδοφόρος διαδικασία, η οποία σχετίζεται με την εξαγωγή διαλυτών μετάλλων που παράγονται από την καύση της φυτικής βιομάζας, γνωστή και ως βιο-μετάλλευμα. Για μερικά μέταλλα όπως Ni, Zn Cu κ.α., η αξία του ανακυκλωμένου μετάλλου, θα μπορούσε να αποτελέσει κίνητρο για τη χρήση της φυτοεξυγίανσης ως τεχνολογία απορρύπανσης (Padmavathiamma *et al.,* 2007).

4 ΚΕΦΑΛΑΙΟ-ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΣΤΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΣΕΛΗΝΙΟ

4.1 Η ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

Παράγοντες που μπορει να επηρεάζουν την αποτελεσματικοτητα τησ Φυτοεξυγιανσησ του σεληνιου

Όσον αφορά συγκεκριμένα τη φυτοεξυγίανση του σεληνίου, έχει βρεθεί ότι το ποσοστό αυτό είναι μεγαλύτερο όταν γίνεται υπό ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκηπίου και από τις συνθήκες του πεδίου. Συνοψίζοντας πρέπει να σημειώσουμε ότι όταν η μεταχείριση γίνεται στο πεδίο θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ένας μεγάλος αριθμός φυσικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως είναι:

- η μεταβλητότητα και οι διαφορετικές μορφές του σεληνίου στο έδαφος
- τα υψηλά ποσοστά αλάτων, όπως είναι τα ιόντα τα θειικά ιόντα (SO_4^{2-}) δρουν με ανταγωνιστικό τρόπο και επηρεάζουν την πρόσληψη του σεληνίου,
- οι κλιματικές συνθήκες
- οι ζημίες στην φυτική παραγωγή που μπορεί να προκληθούν από ζώα, από εχθρούς των καλλιεργειών και έντομα ή από ασθένειες
- οι γεωργικές πρακτικές (πχ. καλλιεργητικές συνθήκες, η πυκνότητα φύτευσης, ο έλεγχος των ζιζανίων, και ο προγραμματισμός της συγκομιδής ή του κλαδεμάτος)
- οι χρήσεις και η οικονομική αξία του φυτικού υλικού που συλλέγεται
- η αποδοχή από την κοινή γνώμη αυτής της εναλλακτικής καλλιέργειας

Η πρόσληψη του σεληνίου εξαρτάται επίσης από το υπόστρωμα στο οποίο καλλιεργούνται τα φυτά. Η συγκέντρωση του σεληνίου στα μέρη του φυτού εξαρτάται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες (Banuelos, 2001).

Διάθεση της επικίνδυνης βιομάζας που συλλέχθηκε μετά από φυτοεξυγίανση εδαφών μολυσμένα με σελήνιο

Αρχικά, η φυτοεξυγίανση είχε προταθεί ως μία μέθοδος η οποία θα μπορούσε να μειώσει τη συγκέντρωση του σεληνίου σε μία γεωργική εκμετάλλευση. Τα ίδια τα φυτικά είδη όμως που χρησιμοποιούνται για τη φυτοεξυγίανση, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως μία μορφή εναλλακτικής καλλιέργειας, η οποία θα μπορούσε να αποτελέσει πηγή εσόδων για τον παραγωγό ως μία πηγή σεληνίου. Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην εισαγωγή, το σελήνιο είναι ένα συστατικό του ενζύμου περοξειδάση της γλουταθειόνης, ενός αντιοξειδωτικού απαραίτητο για τη διατροφή των ζώων. Οι κτηνοτρόφοι χρησιμοποιούν διάφορες τεχνικές για να καλύψουν τις ανάγκες των ζώων τους σε σελήνιο, όπως είναι με απευθείας ένεση στα ζώα, ή ως συμπλήρωμα διατροφής. Φυτά *κράμβης (Brassica napus, canola)* που έχουν καλλιεργηθεί για τη φυτοεξυγίανση του σεληνίου, μπορούν στη συνέχεια να κοπούν και να χρησιμοποιηθούν ως πηγή συμπληρωματικού σεληνίου. Σε περιοχές που παρουσιάζουν έλλειψη σεληνίου, αυτό το εμπλουτισμένο σε σελήνιο φυτικό υλικό μπορεί να αναμιχθεί με τη ζωοτροφή και στη συνέχεια να δοθεί στα αγροτικά ζώα ως τροφή. Γενικότερα, έχει βρεθεί ότι στις ΗΠΑ υπάρχουν περισσότερα προβλήματα λόγω της έλλειψης σεληνίου, απ' ότι λόγω τοξικότητας του σεληνίου στα ζώα (Banuelos, 2001).

Η απορρόφηση του σεληνίου από τα ζώα που ταΐζονται με φυτικό υλικό *κράμβης* -εμπλουτισμένο σε σελήνιο, εξαρτάται από το βιολογικό είδος του ζώου, τη διάρκεια της βόσκησης, τη σύσταση της διατροφής (πχ. σεληνοαμινοξέα) και το μικροβιακό πληθυσμό στο στομάχι των μηρυκαστικών ζώων. Οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορούν να ενισχύσουν τη βιοδιαθεσιμότητα του σεληνίου, ενσωματώνοντας το στα σεληνοαμινοξέα των βακτηριακών πρωτεϊνών. Έχει βρεθεί ότι η απορρόφηση και η διατήρηση των σεληνοαμινοξέων, σεληνομεθειονίνη, είναι μεγαλύτερη από ότι στην περίπτωση του ανόργανου σεληνίου. Οι Banuelos and Mayland (2000) έδειξαν ότι η σεληνομεθειονίνη είναι το κυρίαρχο σεληνοαμινοξύ που βρίσκεται στα ζώα που τρέφονται με τα φυτά *κράμβης,* ενώ διάφορες έρευνες επικεντρώνονται στις μορφές τους σεληνίου που μπορούν να απορροφηθούν πιο εύκολα από τα ζώα.

Διάφορες τεχνικές εφαρμόζονται εισαγωγής του σεληνίου στη διατροφή των ζώων ως συμπλήρωμα. Παρόλα αυτά, δεν είναι ξεκάθαρο εάν με αυτό τον τρόπο επιβαρύνεται το περιβάλλον με σεληνιακά παράγωγα από τη κοπριά των ζώων. Οι μικροοργανισμοί του στομάχου των μηρυκαστικών μπορεί να μετατρέψουν το σελήνιο σε μη-βιοδιαθέσιμες μορφές κι έτσι το σελήνιο που δεν απορροφάται από τα όργανα του ζώου με την πρόσληψη τροφής (πχ. με τα φυτά *κράμβης*) εκκρίνεται. Γενικά, η διαλυτότητα ή διαθεσιμότητα του σεληνίου που βρίσκεται στα περιττώματα των μηρυκαστικών είναι μικρότερη από ότι στην αρχική τροφή και όχι ιδιαίτερα διαθέσιμη για την πρόσληψη από τα φυτά.

Άλλη δυνατότητα διάθεσης για το πλούσιο σε σελήνιο φυτικό υλικό είναι η χρήση του για την παραγωγή προϊόντων χαρτιού. Επίσης, ενδιαφέρον παρουσιάζει η παραγωγή ενεργειακών φυτών με τη χρήση του σεληνίου ως καύσιμο. Αυτή η περίπτωση μπορεί να εφαρμοστεί εφόσον οι συγκεντρώσεις του φυτικού υλικού στα άλλα τοξικά ιχνοστοιχεία (Cd, As κτλ.) υπερβαίνουν τις συγκεντρώσεις που θεωρούνται περιβαλλοντικά ασφαλείς για την κατανάλωση από τα ζώα (Banuelos, 2001).

4.2 ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

Η ριζόσφαιρα είναι μία περιοχή με αυξημένη μικροβιακή δραστηριότητα, η οποία μπορεί να προάγει τη συσσώρευση, το μετασχηματισμό, την αποικοδόμηση ή/και τη βιομεθυλίωση των ιχνοστοιχείων ή και συγκεκριμένα του σεληνίου. Τα φυτά και οι μικροοργανισμοί μπορούν να ενσωματώσουν ιόντα ανόργανου σεληνίου στους ιστούς τους, ανάγοντάς το μέχρι το επίπεδο του σεληνιώδους και στη συνέχεια με την ενσωμάτωση αυτού σε πρωτεΐνες (http://umbbd.msi.umn.edu/sel/sel_map.htm).

Το 1962 ο Hall αναγνώρισε την ικανότητα των μικροοργανισμών να ανάγουν τις οξειδωμένες μορφές του σεληνίου. Ένα εύρος μικροοργανισμών που περιλαμβάνει αερόβια και αναερόβια βακτήρια και μύκητες μπορεί να μετατρέπει τόσο το σεληνικό όσο και το σεληνιώδες σε στοιχειώδες σελήνιο. Η στοιχειώδες μορφή του σεληνίου είναι αδιάλυτη, και για το λόγο αυτό η μετατροπή αυτή πιθανώς ενδείκνυται να εφαρμοστεί σε τεχνολογίες εξυγίανσης μολυσμένων νερών. Σε αυτήν την περίπτωση, το στοιχείο θα μπορεί να απομακρυνθεί με ιζηματοποίηση (*sedimentation*) ή με φιλτράρισμα (*filtration*). Η μετατροπή βασίζεται σε μία φυσιολογική διαδικασία που λαμβάνει χώρα στα ιζήματα, αλλά το ποσοστό απόδοσης της διαδικασίας δείχνει ότι θα μπορούσε να εξελιχθεί πιθανά σε μία χρήσιμη τεχνολογία. Χαρακτηριστικά, τα αποτελέσματα μίας έρευνας έδειξαν ότι η συγκέντρωση του σεληνίου μειώθηκε κατά 95 % όταν διηθήθηκε σε στήλη εδάφους, στην οποία είχαν εμβολιαστεί αποικίες βακτηρίων σε αναερόβιες συνθήκες.

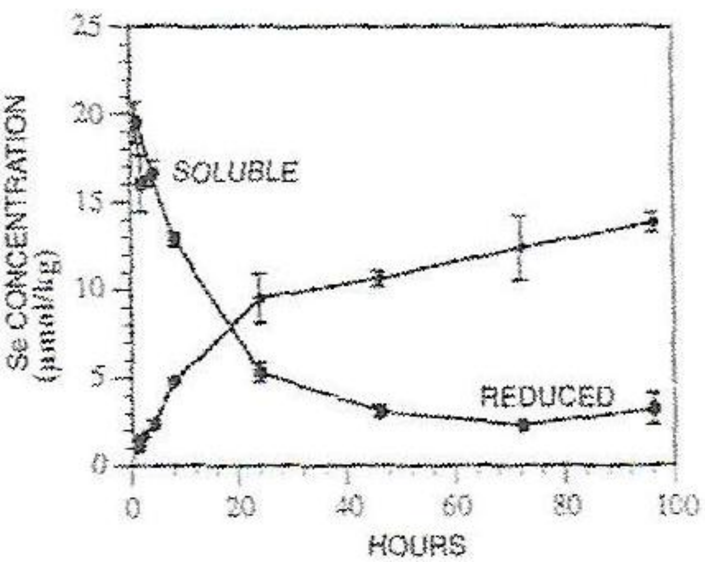
Μία άλλη ερευνητική εργασία ασχολήθηκε με την καλλιέργεια αλγών σε δεξαμενές με υγρά απόβλητα που περιείχαν νιτρικά, σεληνικό και σεληνιώδες. Στη συνέχεια η βιομάζα των αλγών και το μολυσμένο νερό εισήχθησαν σε μία δεύτερη δεξαμενή όπου σε συνθήκες ανιξίας, το οξειδωμένο σελήνιο μετατράπηκε σε στοιχειώδες. Στο τέλος του πειράματος, το σελήνιο και η νεκρή μικροβιακή μάζα μπορούσε να απομακρυνθεί ως λάσπη.

Έχει βρεθεί ότι αερόβια βακτήρια δρουν στον βιοχημικό κύκλο του σεληνικού. Αυτοί οι οργανισμοί πιθανώς να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθαρισμό μολυσμένων περιοχών από το σελήνιο. Μέχρι σήμερα, έχει χαρακτηριστεί μόνο η ρεδουκτάση του σεληνικού από το βακτήριο *Thauera selenatis*, το οποίο είναι ένα περιπλασμικό, τριμερές ένζυμο που περιέχει μολυβδαίνιο και το οποίο θεωρείται πολύ εξειδικευμένο από πλευράς υποστρώματος. Με τη βοήθεια αυτού του ενζύμου, το βακτήριο μπορεί να ανάγει 4 μόρια σεληνικού σε 4 μόρια σεληνιώδους (Stolz and Oremland, 1999) και να μετατρέπει στη συνέχεια τα ανιόντα σε στοιχειώδες σελήνιο. Αυτή η ιδιότητα των βακτηρίων, θα μπορούσε να εκμεταλλευτεί και να χρησιμοποιηθεί σε ένα σύστημα άντλησης και επεξεργασίας (*pump and treat system*), κατά το οποίο θα γίνεται άντληση του μολυσμένου με σελήνιο νερού και στη συνέχεια επεξεργασία του σε κατάλληλες μονάδες στην επιφάνεια (Alexander, 1999).

Όσον αφορά τη μεθυλίωση, οι πρώτες αναφορές στη βιβλιογραφία έδειξαν ότι μύκητες συμμετέχουν στη μετατροπή ανιόντων σεληνικού και σεληνιώδους σε διμέθυλο-σελήνιο: $Se(VI) \rightarrow CH_3SeCH_3$

$Se(IV) \rightarrow CH_3SCH_3$

Μεθυλίωση μπορεί να γίνει και από βακτήρια και άλγη και οδηγεί στην ελευθέρωση του στοιχείου στην ατμόσφαιρα.



Εικόνα 13: Μετατροπή διαλυτού σεληνίου σε ανοιγμένο σελήνιου (Πηγή: Zhand and Moore, 1997)

Έχουν αναγνωριστεί διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί στα βακτήρια, οι οποίοι μπορούν να επιδράσουν στη συσσώρευση του σεληνίου. Το μεγαλύτερο ποσοστό της έρευνας έχει γίνει στο φυτό *Indian mustard* (κοινώς σινάπι):

i) Οι αλληλεπιδράσεις φυτού και βακτηρίου μπορεί να διεγείρουν την παραγωγή ενώσεων οι οποίες ενισχύουν τη συσσώρευση των ιχνοστοιχείων στα φυτά.

ii) Τα βακτήρια που βρίσκονται στη ριζόσφαιρα φαίνεται ότι μπορούν να αυξήσουν την περιοχή της ρίζας και επομένως την προσρόφηση των ιχνοστοιχείων από αυτή.

iii) Τα βακτήρια μπορούν να μετατρέψουν τοξικά ιχνοστοιχεία σε μορφές που είναι πιο εύκολα αφομοιώσιμες από τις ρίζες.

Πιο σημαντικά, τα βακτήρια μπορεί να διεγείρουν τη μεταφορά πρωτεϊνών που βρίσκονται στην κυτοπλασματική μεμβράνη της ρίζας με θειικά οξέα, οπότε και κατ’ επέκταση του σεληνικού οξέος, αφού ακολουθούν το ίδιο μεταβολικό μονοπάτι (de Souza *et al.*, 1999).

4.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΑΤΜΙΣΗ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

Ένας πολύ σημαντικός τρόπος αύξησης της αποτελεσματικότητας της απομάκρυνσης του σεληνίου καθώς και μείωσης της οικοτοξικότητας του στους υγροβιότοπους είναι η ενίσχυση της εξάτμισής του με τα φυτά και τους μικροοργανισμούς. Εξαιτίας της χημικής του ομοιότητας με το θείο (S), τα φυτά και οι μικροοργανισμοί μπορούν να προσλαμβάνουν ανόργανες και οργανικές μορφές του σεληνίου και να το μεταβολίζουν σε πτητικές μορφές μέσω του μεταβολικού μονοπατιού αφομοίωσης του θείου. Η βιολογική εξάτμιση, έχει το πλεονέκτημα ότι εξάγει το σελήνιο από μία μολυσμένη περιοχή σε σχετικά μη-τοξικές μορφές, όπως είναι το δι-μεθυλ-σεληνίδιο, ***DMSe*** (*dimethylselenide*), το οποίο είναι 500–700 φορές λιγότερο τοξικό από το σεληνικό (SeO_4^{-2}) ή το σεληνιώδες (SeO_3^{-2}). Το εξατμιζόμενο σελήνιο μπορεί να επανατοποθετηθεί σε άλλες περιοχές, γεγονός που θα μπορούσε να έχει θετική επίδραση για τις περιοχές που είναι ανεπαρκής στο στοιχείο, λαμβάνοντας υπ’ όψη πάντοτε τις χαμηλές συγκεντρώσεις σε σελήνιο που απαιτούνται για τη θρέψη των ζώων.

Ο βαθμός της εξάτμισης του σεληνίου εξαρτάται από ένα αριθμό περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως είναι η σύνθεση της μικροβιακής κοινότητας, η επιλογή των μακρόφυτων, η διαφοροποίηση του σεληνίου σε άλλες μορφές, το είδος της οργανικής ουσίας και άλλους φυσικοχημικούς παράγοντες. Ο βαθμός της εξάτμισης του σεληνίου αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος. Οι υψηλές θερμοκρασίες όχι μόνο αυξάνουν την πίεση του εξατμιζόμενου *DMSe*, αλλά επίσης διεγείρουν τη μεταβολική δραστηριότητα των φυτών και των μικροοργανισμών. Επίσης, το ποσοστό της εξάτμισης του σεληνίου αλλάζει, ανάλογα με τη χημική μορφή του στοιχείου.

Όπως περιγράφεται και στην Εικόνα 1, η μετατροπή του σεληνίου από τις ανόργανες μορφές στο πτητικό *DMSe*, επιβραδύνεται από διάφορα ενζυματικά στάδια. Τα ένζυμα αυτά μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με το είδος του φυτού ή και των μικροβίων που συμμετέχουν στη διαδικασία πρόσληψης του στοιχείου.. Για παράδειγμα, έρευνα έδειξε ότι οι μικροοργανισμοί που ζουν στη ριζόσφαιρα του *Polypogon monspeliensis* μεταβόλισαν αποτελεσματικά το 77 % του σεληνίου που βρισκόταν σε οργανικές μορφές. Σημειώνουμε ακόμα ότι η εξάτμιση του σεληνίου μπορεί να ενισχυθεί με τη διαχείριση των υδρολογικών συνθηκών, την κριτική επιλογή των φυτικών ειδών, με τη διαφοροποίηση της διαθεσιμότητας του άνθρακα ώστε να προάγεται η δραστηριότητα των μικροοργανισμών ή με την καλλιέργεια συγχρόνως μικροβίων και μικροάλγων. Η γενετική διαχείριση των φυτών, αλγών ή μικροοργανισμών, μπορεί να αυξήσει την απόδοσή τους σε πτητικό σελήνιο 9LeDuc and Terry, 2005).

5 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ- ΟΙ ΤΕΧΝΗΤΟΙ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΙ

5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟΥΣ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥΣ

Υγροβιότοποι-ορισμοί

Η λέξη υγρότοπος ή υγροβιότοπος είναι νεολογισμός που δημιουργήθηκε για να αποδώσει την αγγλική λέξη *wetland*. Ως επιστημονικός όρος η λέξη υποδηλώνει συλλογικά κάθε τόπο που καλύπτεται μόνιμα ή εποχιακά με ρηχά νερά ή που δεν καλύπτεται ποτέ από νερά αλλά έχει υπόστρωμα (έδαφος, άμμο, χαλίκια κλπ) υγρό για μεγάλο διάστημα του έτους. Σύμφωνα με τον επίσημο ορισμό της σύμβασης Ραμσάρ «οι υγροβιότοποι είναι φυσικές ή τεχνητές περιοχές αποτελούμενες από έλη με ξυλώδη βλάστηση, από μη αποκλειστικώς ομβροδίαιτα έλη με τυρφώδες υπόστρωμα, από τυρφώδης γαίες ή από νερό. Οι περιοχές αυτές κατακλύζονται μονίμως ή προσωρινά με νερό, το οποίο είναι στάσιμο ή ρέον, γλυκό, υφάλμυρο ή αλμυρό. Σ’αυτές περιλαμβάνονται και αυτές που καλύπτονται με θαλασσινό νερό το βάθος του οποίου κατά τη ρηχία δεν υπερβαίνει τα 6 μέτρα». Υπάρχουν δύο είδη υγροβιότοπων: οι παράκτιοι ή παλιρροιακοί (tidal) και οι εσωτερικοί-εγχώριοι ή μη παλιρροιακοί (non-tidal) υγροβιότοποι.

Η υδρολογία της περιοχής, στην οποία εντάσσεται ο υγροβιότοπος, καθορίζει τους σχηματισμούς του εδάφους, τον τύπο της βλάστησης και το είδος των οργανισμών που ζουν μέσα και πάνω στο έδαφος. Η φυτική βλάστηση η οποία αναπτύσσενται στους υγροβιότοπους χαρακτηρίζεται συνήθως από είδη κύπερης, καλάμια νερών, είδη βούρλων και είδη αφράτου και ψαθιού.

Οι τεχνητοί υγροβιότοποι αποτελούν μία εναλλακτική αποδοτική μέθοδο επεξεργασίας υγρών αποβλήτων. Η EPA (U.S. Environmental Protection Agency) έδωσε τον ακόλουθο ορισμό για τον υγροβιότοπο (wetland) (1999): “*A technology designed to employ ecological processes found in natural wetland ecosystems. These systems utilise wetland plants, soils and associated microorganisms to remove contaminants from wastewater*.”

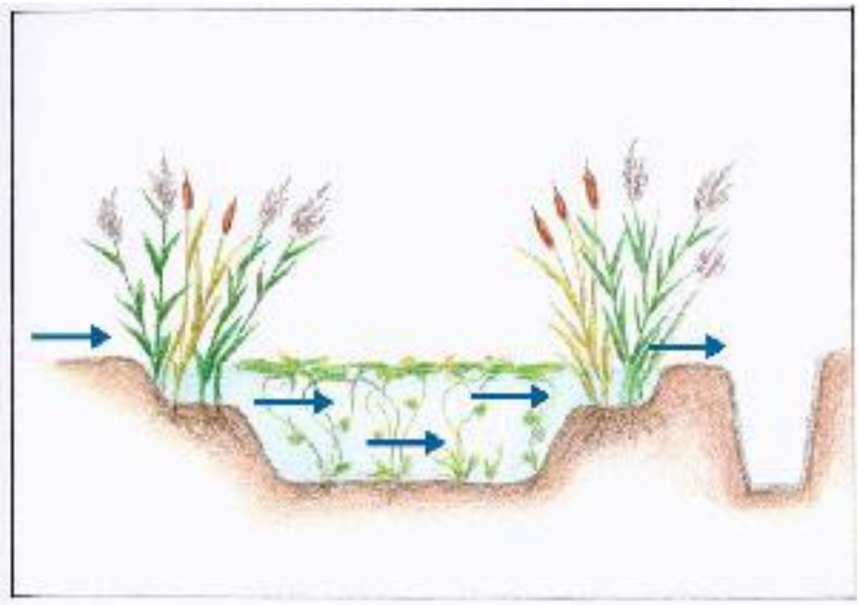
Τεχνητοί Υγροβιότοποι

Οι τεχνητοί υγροβιότοποι έχουν χρησιμοποιηθεί στην Ευρώπη και στις ΗΠΑ ως χαμηλού κόστους μεταχείριση για την απομάκρυνση ρυπαντών που βρίσκονται σε υγρά απόβλητα. Αποτελούν ένα σύνθετο οικοσύστημα από φυτά, μικροοργανισμούς και ιζήματα τα οποία δρουν μαζί σαν ένα γεωχημικό φίλτρο, απομακρύνοντας αποτελεσματικά τους διαλυμένους ρυπαντές από ένα μεγάλο όγκο υγρών αποβλήτων. Το περιβάλλον ανοξίας (έλλειψης οξυγόνου) και η παραγωγή οργανικής ουσίας στους υγροβιότοπους, προωθεί βιολογικές και χημικές διεργασίες οι οποίες θα μετατρέψουν τους ρυπαντές σε αδρανείς ή λιγότερο τοξικές μορφές (LeDuc and Terry, 2005).

Έχουν αναπτυχθεί δύο τύποι συστημάτων τεχνητών υγροβιότοπων για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων:

(α) υγροβιότοποι ελεύθερης επιφάνειας (*Free Water Surface: FWS*)

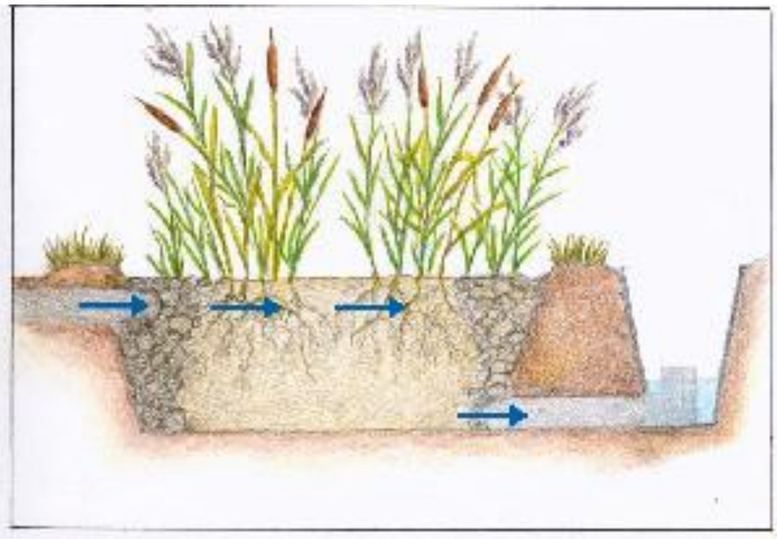
Είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο σύστημα στην Αμερική. Αποτελούνται συνήθως από παράλληλες λεκάνες, κανάλια ή τάφρους με αδιαπέρατους πυθμένες, με αναφυόμενη φυτική βλάστηση. Το βάθος νερού κυμαίνεται στα 0,1-0,5 m, ενώ το βάθος της βλάστησης είναι 10-45 cm (Crites and tchobanoglous, 1998). Στον πυθμένα τοποθετείται μεμβράνη για την προφύλαξη από τα στραγγίσματα. Συνήθως, σε ένα τέτοιο σύστημα χρησιμοποιούνται προεπεξεργασμένα υγρά απόβλητα. Κατά την επεξεργασία του ρύπου, η εφαρμοζόμενη εκροή, ρέει με μικρή ταχύτητα διαμέσου των στελεχών και ριζών της υφιστάμενης φυτικής βλάστησης (πλημμυρισμένα φυτά). Το απόβλητο εισάγεται στην αρχή της κάθε λεκάνης για συγκεκριμένο και καθορισμένο χρόνο. Η εισροή του υγρού υποβοηθείται με ελεγχόμενες αντλίες, σωληνώσεις και φράγματα. Επίσης για τη διευκόλυνση της ροής δημιουργείται κλίση 0,4-0,5 %. Στην εκροή υπάρχει πάντοτε ένας θάλαμος ελέγχου. Τα μέχρι σήμερα ερευνητικά αποτελέσματα έχουν δείξει ότι απαιτούνται 0,2-5 χρόνια για να αναπτυχθεί η βλάστηση (Crites and Tchobanoglous, 1998).



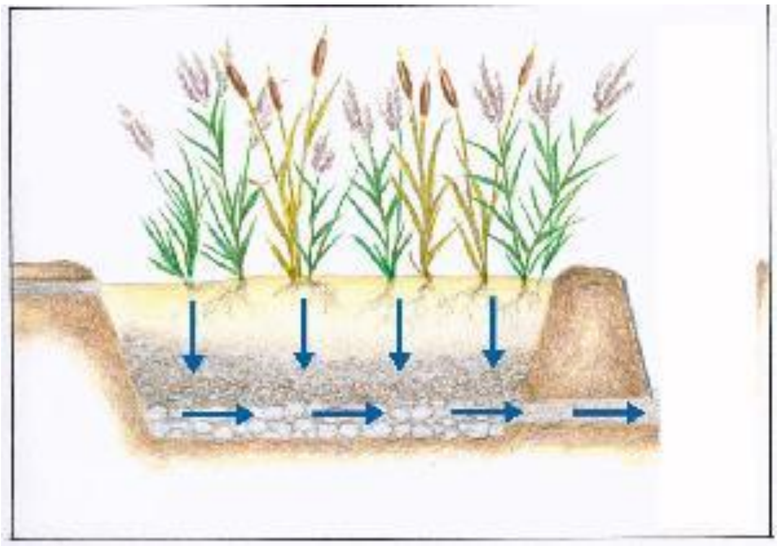
Εικόνα 14: Τυπική διατομή συστήματος FWS (Azaizeh et al., 2006)

(β) υγροβιότοποι υποεπιφανειακής ροής (*Subsurface Systems: SFS*).

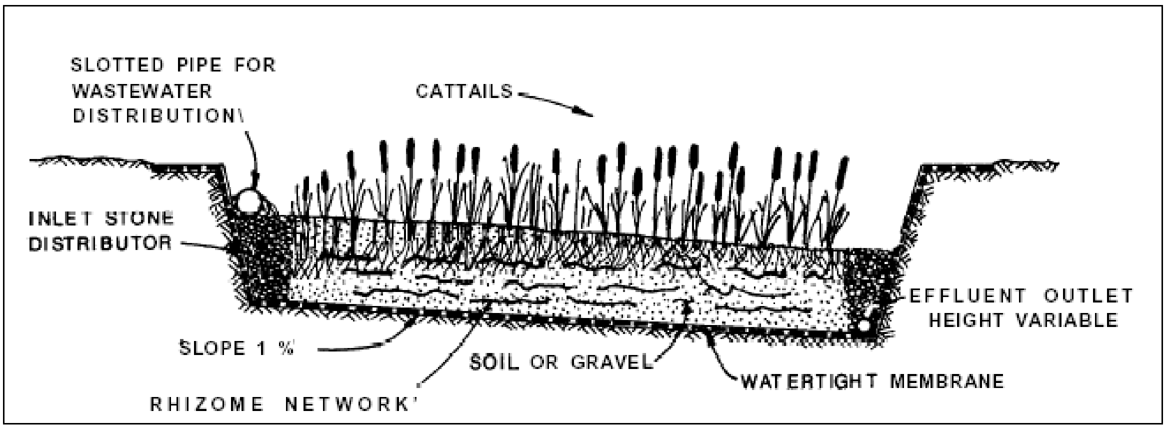
Αναπτύσσονται μέσα σε κανάλια ή τάφρους με σχετικά στεγανούς πυθμένες, που περιέχουν άμμο ή άλλα εδαφικά μέσα υποστήριξης της αναφυόμενης φυτικής βλάστησης (κυρίως *gravel sand, αμμοχάλικο*). Σε αυτή την περίπτωση, η επεξεργασία των αποβλήτων γίνεται καθώς αυτά ρέουν ανάμεσα στους πόρους του μέσου. Συνήθως η σχεδίαση ενός τέτοιου συστήματος αποσκοπεί στην επίτευξη δευτεροβάθμιας ή προωθημένης επεξεργασίας. Χωρίζονται σε τεχνητούς υγροβιότοπους υποεπιφανειακής οριζόντιας ή κάθετης ροής, όπως παρουσιάζεται στις εικόνες 15 και 16. Έχουν χαρακτηριστεί ακόμα ως *rock-reed filters, microbial rock plant filters, vegetated submered beds, marsh beds, tube beds* και *hydrobotanical beds* (Dialynas, 2002). Έχουν πιο υψηλό κόστος σε σχέση με τα συστήματα FWS εξαιτίας του αμμοχάλικου (*gravel*) που χρησιμοποιείται ως μέσο. Για τη διευκόλυνση της ροής δημιουργείται 1 %.



Εικόνα 15: Τυπική διατομή συστήματος SSF οριζόντιας ροής (Azaizeh et al., 2006)



Εικόνα 16: Τυπική διατομή συστήματος SSF κάθετης ροής(Azaizeh et al., 2006)



Εικόνα 17: Τυπική διατομή συστήματος SSF (Azaizeh et al., 2006)

Συγκρίσεις της λειτουργίας συστημάτων επιφανειακής ροής (SF) με συστήματα υποεπιφανειακή ροής (SSF), έδειξαν ότι οι υγροβιότοποι SSF συντηρούνται γενικά υπό αερόβιες συνθήκες, ενώ οι SF υγροβιότοποι μπορεί να έχουν σημαντική έκπλυση του οξυγόνου από την επιφάνεια του νερού στα υλικά καθιζήσεως.

Η Γερμανική Οργάνωση για το Νερό, τα Λύματα και τα Απόβλητα (*German Association for Water, Wastewater and Waste - ATV*) συνέταξε την οδηγία 262, η οποία περιγράφει τη διαστασιολόγηση, την κατασκευή και λειτουργία των υγροβιοτόπων για τέσσερις έως χίλιους κατοίκους (www.tu-berlin.de). Ο σχεδιασμός για τεχνητούς υγροβιοτόπους βασίστηκε σε τοπικές πληθυσμιακές πυκνότητες, αλλά θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατά προσέγγιση και σε άλλες περιπτώσεις. Σύμφωνα με αυτή την οδηγία, για το σχεδιασμό τεχνητού υγροβιότοπου κατακόρυφης ροής προτείνεται να έχει:

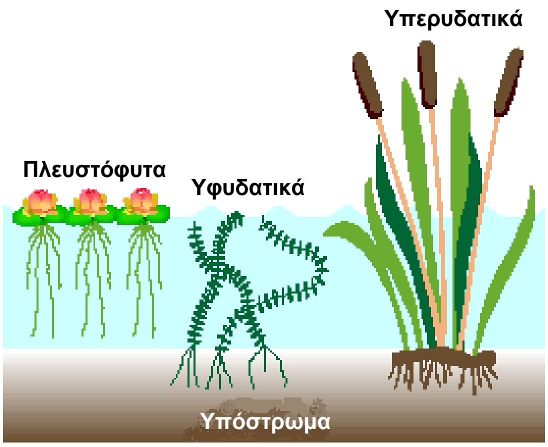
- Επιφάνεια $\geq 2{,}5$ m^2/κάτοικο
- Βάθος $\geq 0{,}8$ m
- Μέγιστη υδραυλική φόρτιση ≥ 60 mm/d (=l/(m2*d)

5.2 Βλαστηση των Υγροβιοτοπων

Η βλάστηση του υγροβιότοπου αποτελεί το βασικό υπόστρωμα ανάπτυξης των βακτηρίων, συντελεί στο φιλτράρισμα και την προσρόφηση του ρυπαντή, μεταφέρει οξυγόνο στην μάζα νερού και περιορίζει την ανάπτυξη αλγών, εξαιτίας της σκίασης. Σε ένα υγροβιότοπο αναγνωρίζονται φυτά τα οποία αντέχουν στις υπάρχουσες συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Γενικά δεν υπάρχει διαφοροποίηση στη βλάστηση που χρησιμοποιείται σε ένα υγροβιότοπο επιφανειακής και υποεπιφανειακής ροής (Dialynas, 2002). Σύμφωνα με την προσαρμογή τους στο υδατικό περιβάλλον αναφέρουμε τις δύο κατηγορίες φυτών που εμφανίζουν ανθεκτικότητα :

♦ Υδρόφυτα (*hydrophyte ή aquatic plant*)

Φυτά τα οποία κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους καλύπτονται μερικώς ή ολικώς από νερό (Εικόνα 17). Διαθέτουν κατάλληλους μηχανισμούς διάχυσης του O_2 και CO_2 στο εσωτερικό των ιστών τους για την αντιμετώπιση των συνθηκών ανοξίας που δημιουργούνται λόγω της περίσσειας νερού που έχει ο υγροβιότοπος. Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι: φυτά ποταμών, λιμνών και θαλασσών.



Εικόνα 18: Είδη φυτών που συναντώνται σε τεχνητό υγροβιότοπο, ανάλογα με τη μερική ή την ολική κάλυψή τους με νερό

♦ Υγρόφυτα (*hygrophyte*)

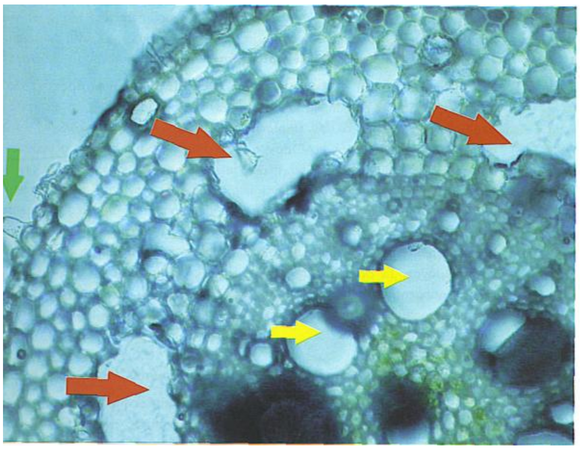
Αποικίζουν περιβάλλοντα των οποίων η ατμόσφαιρα είναι πλούσια σε υδρατμούς και η διαθεσιμότητα του νερού του εδάφους είναι υψηλή. Διαθέτουν μηχανισμούς ελέγχου των απωλειών νερού και οργανωμένο ριζικό σύστημα. Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι: πτέριδες (*fern species*).

Τα φυτά που διαβιούν στους υγροβιότοπους αναπτύσσουν συγκεκριμένες στρατηγικές για την αντιμετώπιση της έλλειψης οξυγόνου. Οι ρίζες των περισσότερων υδρόφυτων αναπτύσσονται κοντά στην επιφάνεια του εδάφους προς αποφυγή των βαθύτερων ανοξικών στρωμάτων ενώ κάποια από αυτά αναπτύσσουν επιφανειακές ή επακτές ρίζες.

Επιπρόσθετη στρατηγική προσαρμογής των φυτών στα κορεσμένα με νερό εδάφη είναι η ανάδυση των εκπτυσσόμενων φύλλων στην επιφάνεια του νερού και έκθεσή τους στον αέρα. Για τα φυτά του είδους *Potamogeton pectinatus* η ανάδυση γίνεται λόγω επιμήκυνσης των κυττάρων του μίσχου, η οποία προκαλείται λόγω οξίνισης του υγρού περιβάλλοντος από το CO_2 το οποίο παράγεται μέσω της αναπνοής. Σε άλλα είδη, η επιμήκυνση αυτή των κυττάρων των φύλλων μπορεί να επιτευχθεί με τη συσσώρευση ενδογενούς αιθυλενίου.

Τα περισσότερα υδρόφυτα διαθέτουν ή δημιουργούν ένα σύστημα αεραγωγών οι οποίοι επικοινωνούν μεταξύ τους με επιμήκεις συνδέσεις, το *αερέγχυμα* (Εικόνα

19) για να διακινείται το οξυγόνο από τους βλαστούς στην ρίζα. Στα φυτά υγροβιότοπων η μεταφορά του οξυγόνου μέσω του μηχανισμού του αερεγχύματος υπερβαίνει τις ανάγκες της αναπνοής των οργάνων τους τα οποία βρίσκονται υπό καθεστώς ανοξίας με αποτέλεσμα να μπορούν να οξυγονώνουν και το υπόστρωμα στο οποίο βρίσκονται οι ρίζες (μέσω διάχυσης του οξυγόνου προς το εξωτερικό περιβάλλον). Ο μηχανισμός αυτός θα αποτελέσει τελικά ένα πρόσθετο *μηχανισμό οξείδωσης τοξικών ουσιών* οι οποίες έχουν συσσωρευτεί και τη μετατροπή τους σε αδρανείς μορφές (Αϊβαλάκης, Καραμπουρνιώτης, Φασσέας, 2005).



Εικόνα 19: Σχηματισμός αερεγχύματος σε ρίζα καλαμποκιού για την αντιμετώπιση της ανοξίας (Πηγή: Αϊβαλάκης, Καραμπουρνιώτης, Φασσέας, 2005)

Όσον αφορά τη φύτευση της βλάστησης, αυτή γίνεται είτε με σπόρο είτε με μεταφύτευση. Είναι πιθανό να απαιτείται περιοδική συγκομιδή για να διατηρείται η υδραυλική αγωγιμότητα και να προωθείται η ανάπτυξη (Dialynas, 2002).

Τα φυσιολογικά-βιοχημικά χαρακτηριστικά τα οποία καθορίζουν την επιβίωση στις συνθήκες αυτές αφορούν τον έλεγχο του κυτοπλασματικού pH, τη συνεχή παροχή γλυκόζης μέσω της γλυκολυτικής οδού και της αναερόβιας ζύμωσης της και την αποθήκευση επαρκών αποθεμάτων άνθρακα και ενέργειας.

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι φυτά υγροβιότοπων -όπως είναι η ιτιά (Salix), *Leersia hexandra* και *Juncus effsus, Typha latifolia και Phragmites australis*-συσσωρεύουν διάφορα βαρέα μέταλλα στους ιστούς τους. Όπως περιγράφηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο, κάποια από αυτά τα είδη απομονώνουν το περισσότερο από το φορτίο τους σε μέταλλα σε υπόγειους ιστούς, ενώ άλλα αναδιανέμουν ένα μεγάλο ποσοστό των μετάλλων στους υπέργειους ιστούς και ειδικά στα φύλλα. Η διανομή των μετάλλων μέσα στους ιστούς των φυτών αποτελεί επίσης ένα κρίσιμο σημείο ελέγχου της αποτελεσματικότητας του συστήματος της φυτοεξυγίανσης που εφαρμόζεται. Γενικά, τα φυτά των υγροβιότοπων δεν χαρακτηρίζονται ως υπερσυσσωρευτές.

5.3 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΦΑΙΡΕΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΕ ΤΕΧΝΗΤΟΥΣ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥΣ

Σε σύγκριση με τα συμβατικά συστήματα επεξεργασίας οι τεχνητοί υγροβιότοποι έχουν χαμηλό κόστος κατασκευής, συντήρησης και διαχείρισης και μπορούν να απομακρύνουν αποτελεσματικά ρύπους όπως είναι τα βαρέα μέταλλα και τα μεταλλοειδή. Επίσης έχουν μεγάλη δυνατότητα εφαρμογής στις αναπτυσσόμενες χώρες και ιδιαίτερα σε μικρές αγροτικές κοινότητες.

Οι υγροβιότοποι λειτουργούν ως δεξαμενές για τους μολυσματικούς παράγοντες όπως τα μέταλλά και τα μεταλλοειδή οι οποίοι θα απομακρυνθούν με την ανάπτυξη των υδρόφυτων ή των υγρόφυτων. Αυτή η προσέγγιση αποτελεί γενικά μία αρχή *βιασταθεροποίησης (biostabilisation),* όπου τα φυτά χρησιμοποιούνται για να αδρανοποιήσουν τα μέταλλα και να τα αποθηκεύσουν υπόγεια στις ρίζες και στα ριζώματα.

Όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, αυτό το σύστημα διαφέρει με το μηχανισμό της *φυτοεξαγωγής* (*phytoextraction*) κατά τον οποίο χρησιμοποιούνται υπερσυσσωρευτές για τη μετακίνηση των μετάλλων από το έδαφος ή από το ρυπασμένο νερό, οι οποίοι θα συσσωρεύσουν τα μέταλλα στο υπέργειο τμήμα του φυτού. Η φυτική βιομάζα, θα πρέπει στη συνέχεια να συλλεχθεί και να επεξεργαστεί ώστε να παρεμποδιστεί η επαναμόλυνση της περιοχής οπότε και η επανασυσσώρευση των μετάλλων όταν τα φυτά αποσυντεθούν. Ο βαθμός της εξαγωγής των μετάλλων από τους ιστούς της ρίζας στο υπέργειο και τα εναέρια μέρη των φυτών των υγροβιότοπων εξαρτάται από το φυτικό είδος, το μέταλλο, ενώ επιπλέον από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Γενικότερα, οι μηχανισμοί αφαίρεσης των μετάλλων σε υγροβιοτόπους περιλαμβάνουν συνήθως την προσρόφηση στα ιζήματα του πυθμένα.

Γενικότερα, οι μηχανισμοί αφαίρεσης των μετάλλων σε υγροβιοτόπους περιλαμβάνουν συνήθως την προσρόφηση στα ιζήματα του πυθμένα. Τα ποσοστά αφαίρεσης μετάλλων από τεχνητούς υγροβιοτόπους όλων των τύπων είναι πολύ υψηλά και πλησιάζουν το 100%. Το ποσοστό αυτό παρατηρείται και μακροπρόθεσμα κατά τη διάρκεια ζωής του υγροβιοτόπου. Το μειονέκτημα της χρήσης των τεχνητών υγροβιότοπων για την απομάκρυνση μετάλλων είναι η συνεχής συσσώρευση τους μέσα στον υγροβιότοπο. Αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και αφορά κυρίως τα βιομηχανικά λύματα που έχουν υψηλές περιεκτικότητες μετάλλων και όχι τόσο τα οικιακά λύματα, όπου οι συγκεντρώσεις είναι χαμηλότερες (Reed et al., 1995).

6 ΚΕΦΑΛΑΙΟ- ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ ΣΕ ΤΕΧΝΗΤΟΥΣ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥΣ

6.1 ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ (SE) ΣΕ ΤΕΧΝΗΤΟΥ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥΣ

Η απομόνωση και καλλιέργεια μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας σε τεχνητούς υγροβιότοπους επιφανειακής ή υποεπιφανειακής ροής, έδωσε θετικά αποτελέσματα όσον αφορά τη βιοεξυγίανση του σεληνίου. Όσον αφορά την εξαγωγή του σεληνίου από μεγάλο όγκο υγρών αποβλήτων σε ένα τεχνητό υγροβιότοπο, ενδιαφέρον παρουσιάζει η βιοεξάτμιση του σεληνίου (*βιομεθυλίωση, biomethylation*) από τα φυτά. Τα ερευνητικά αποτελέσματα δείχνουν ότι μέσω αυτής της διεργασίας γίνεται ελαχιστοποίηση της εισόδου του σεληνίου στην τροφική αλυσίδα. Αυτό συμβαίνει γιατί το μεγαλύτερο μέρος της εξάτμισης λαμβάνει χώρα στην περιοχή της ρίζας, οπότε και το μεγαλύτερο μέρος από το πτητικό σελήνιο διαφεύγει κατευθείαν στην ατμόσφαιρα (Azaizeh *et al.,* 2006). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα επίπεδα της εξάτμισης του σεληνίου, τόσο σε υγροβιότοπο ελευθέρας ροής, όσο και σε τεχνητό υγροβιότοπο εξαρτώνται από τα είδη των φυτών αλλά και την εποχή κατά την οποία γίνεται η συλλογή (αλλάζει η βλαστική ανάπτυξη του φυτού) (LeDuc and Terry, 2005).

Το σύστημα των τεχνητών υγροβιότοπων φαίνεται να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην απομάκρυνση του σεληνίου από μολυσμένα με σεληνιώδες (*selenite*) υγρά απόβλητα από διϋλιστήρια πετρελαίου. Συγκεκριμένα έχει δειχτεί ότι το 89 % του εισερχόμενου σεληνίου μπορεί να αφαιρεθεί με τη μορφή του σεληνιώδες. Σε αυτήν την περίπτωση, η βιολογική εξάτμιση συμβάλλει στο 10-30 % του σεληνίου που απομακρύνεται. Το μεγαλύτερο ποσοστό του σεληνίου αφαιρείται με την απομόνωσή του στα ιζήματα και στους ιστούς των φυτών. Όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, η ριζόσφαιρα είναι μία περιοχή με αυξημένη μικροβιακή δραστηριότητα, η οποία μπορεί να προάγει τη συσσώρευση, το μετασχηματισμό, την αποικοδόμηση και τη βιομεθυλίωση του σεληνίου και άλλων ιχνοστοιχείων. (Azaizeh *et al.,* 2006).

6.2 ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΤΕΧΝΗΤΟΥ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥ ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΣΕΛΗΝΙΟΥ (SE)

Η επιλογή των κατάλληλων φυτών σε ένα τεχνητό υγροβιότοπο βασίζεται στη μελέτη της ικανότητας των διαφόρων υδρόφυτων φυτών να αφαιρούν και να συσσωρεύουν τα μέταλλα στα διάφορα μέρη του φυτού,.

Ένα σημαντικό κριτήριο όσον αφορά την επιλογή της βλάστησης είναι τα φυτά να αποτελούν χαρακτηριστικά δείγματα της τοπικής χλωρίδας. Αυτή η επιλογή έχει οικονομικό όφελος, καθώς ένα ιθαγενές είδος μπορεί να καλλιεργηθεί με μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας σε σχέση με ένα άλλο που μεταφέρεται από μια άλλη περιοχή. Επίσης, η εισαγωγή νέου φυτικού είδους σε μια περιοχή ενέχει τον κίνδυνο της πιθανής παρασιτικής επέκτασης του είδους και την αλλοίωση του περιβάλλοντος βιότοπου.

Έχει βρεθεί ακόμα ότι το ποσοστό επιτυχίας της φυτοεξυγίανσης είναι μεγαλύτερο σε περιοχές με πυκνή βλάστηση σε σχέση με αυτές που έχουν αραιή βλάστηση. Επίσης, τα φυτικά είδη σε ένα υγροβιότοπο που μπορούν και διατηρούνται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους έχουν καλύτερες αποδόσεις από αυτά που πεθαίνουν κάτω από το νερό με την έναρξη των χαμηλών θερμοκρασιών. Για αυτούς τους λόγους, σε ένα τεχνητό υγροβιότοπο συνιστώνται περισσότερο τα υπερυδατικά είδη και συγκεκριμένα τα γρήγορα αναδυόμενα φυτά (Εικόνα 18). Αυτά τα φυτικά είδη διαθέτουν υψηλή ποσότητα λιγνίνης και μπορούν να προσαρμοστούν καλύτερα στα μεταβαλλόμενα βάθη του νερού. Τα φυτά που χρησιμοποιούνται σε τεχνητούς υγροβιοτόπους μπορεί να είναι δενδρώδη, θαμνώδη ή ποώδη. Τα φυτά που επιλέγονται πρέπει να αντέχουν στη συνεχή κατάκλιση με νερό και γι' αυτό συνήθως εντοπίζονται και και στους φυσικούς υγροβιοτόπους. Συνήθως, φυτά της οικογένειας Typha, Scirpus και Phragmites τηρούν αυτές τις προϋποθέσεις, όπως παρουσιάζονται και στις παρακάτω εικόνες.

Συγκεκριμένα όσον αφορά τη βιοεξυγίανση του σεληνίου, όπως αναφέρεται και σε προηγούμενο κεφάλαιο, τα πρώτα φυτά που θεωρήθηκαν ως βιοσυσσωρευτές του σεληνίου και θα μπορούσαν να συμμετέχουν σε ένα σύστημα βιοεξυγίανσης είναι το είδος *Astragalus bisculatus*.

Ο El-Shafey (2007) μελέτησε την απορρόφηση του σεληνίου σε υδατικό διάλυμα, χρησιμοποιώντας για απορροφητικό ανθρακικό μέσο τροποποιημένα περιβλήματα ρυζιού (rice *husks*) και έδειξε ότι η απορρόφηση του σεληνίου ήταν μεγαλύτερη σε όξινο pH, ενώ μειωνόταν καθώς το pH αυξανόταν. Επίσης, οι Zhao *et al.* (2007) έδειξαν ότι η πρόσληψη και συσσώρευση του σεληνίου από τα φυτά επηρεάζεται από τις φυσικές συνθήκες του εδάφους, όπως είναι η υγρασία και ο βαθμός συμπίεσης.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία τα παρακάτω φυτικά είδη ενδείκνυνται να χρησιμοποιηθούν σε ένα σύστημα υγροβιότοπου για την φυτοοεξυγίανση του σεληνίου:

- *Fern species ή είδη φτέρης:*

Είναι διάφορα φυτά που ανήκουν στην κλάση Πτεριδικά (Filicinae) και η εξάπλωσή τους ποικίλλει από τις παραθαλάσσιες ως τις ορεινές περιοχές. Η φτέρη έχει γνήσιες ρίζες, βλαστό και φύλλα, όμως δε σχηματίζει άνθη, καρπούς και σπέρματα, γι' αυτό και χαρακτηρίζεται ως κρυπτόγαμο φυτό. Ο πολλαπλασιασμός γίνεται με σπόρια, τα οποία σχηματίζονται σε σποριάγγεια στην πίσω επιφάνεια των φυλλαρίων του σύνθετου φύλλου της. Τα σπόρια αυτά διασκορπίζονται με τον άνεμο και βλασταίνουν εφόσον βρεθούν σε ιδανικές συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας. Ωστόσο, είναι δυνατό να πολλαπλασιαστεί και με κομμάτια των ριζωμάτων της.

- *Stanleya pinnata:*

Πολυετές είδος της οικογένειας Brassicaceae, το οποίο μπορεί να προσαρμοστεί και να καλλιεργηθεί σε ξηρές και άγονες συνθήκες.

- *Astragalus bisulcatus:*

Το γένος Astragalus περιλαμβάνει περίπου 2.000 είδη βοτάνων και μικρών θάμνων και ανήκει στην οικογένεια των ψυχανθών, Fabaceae, subfamily Faboideae. Το γένος είναι εγγενές σε εύκρατες περιοχές του Βόρειου Ημισφαιρίου. Αντιπροσωπευτικό δείγμα υπερσυσσωρευτή σεληνίου και προτεινόμενο είδος για τεχνητό υγροβιότοπο είναι το είδος *Astragalus bisulcatus.*

- *Polygonon monspeliensis:*

Υπερυδατικό φυτό που ανήκει στην οικογένεια των αγρωστωδών, Poaceae (Graminae)

- *Scirpus spp. ή σήφη ή σκίρπος (bulrush):*

Πολυετή φυτά, αναπτύσσονται σε συστάδες. Βρίσκονται παντού και αναπτύσσονται σε ποικίλες συνθήκες, σε γλυκό, υφάλμυρο και αλμυρό περιβάλλον. Η εξάπλωσή τους γίνεται σε χαμηλότερους ρυθμούς από ότι το κοινό καλάμι. Προτεινόμενο είδος για υγροβιότοπο: *Scirpus robustrus*

- *Juncus spp ή βούρλο (rush):*

Είναι ανθεκτικά σε συνθήκες αλατότητας και σε ποικίλες συνθήκες περιβάλλοντος και ποιότητας νερού. Είναι εύκολο να πολλαπλασιαστούν και παράγουν μεγάλη βιομάζα. Συνήθως χρησιμοποιούνται περιφερειακά στους υγροβιοτόπους.


- *Carex spp. ή σπαθόχορτο:*

Ανήκει στην οικογένεια Cyperaceae. Είναι από τα κυρίαρχα είδη που συναντώνται σε ένα υγροβιότοπο. Συνήθως χρησιμοποιούνται περιφερειακά σε υγροβιοτόπους.



- *Potamogeton pectinatus:*

Πλήρως υφυδατικό φυτό που αναπτύσσεται σε υφάλμυρα νερά. Δεν παρουσιάζει ποτέ αναδυόμενα ή επιφανειακά φύλλα ή άνθη.



- *Typha spp. ή ψάθα (cattail)*:

Φυτά με επιμήκη φύλλα και κυλινδρικά καφέ άνθη. Είναι πολύ ανθεκτικά και μπορούν να αναπτυχθούν υπό ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες. Εξαπλώνονται πολύ εύκολα και παράγουν πολύ μεγάλη βιομάζα. Είναι φυτά ιδανικά για τη σχεδίαση τεχνητού υγροβιοτόπου. Προτεινόμενο είδος για υγροβιότοπο: *Typha latifolia*.



- *Phragmites spp ή κοινό καλάμι (common reed):*

Είναι το είδος που χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον στην Ευρώπη. Αναδυόμενα, ετήσια φυτά με πολυετές ρίζωμα. Είδη που χρησιμοποιούνται στους υγροβιοτόπους: *Phragmites australis*, *Phragmites communis*.


6.3 ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΕΧΝΗΤΩΝ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΩΝ ΣΤΗ ΚΡΗΤΗ

Το ενδιαφέρον για την κατασκευή τεχνητών υγροβιότοπων στην Ελλάδα ξεκίνησε το 1990. Επίσημα, ο πρώτος τεχνητός υγροβιότοπος στην Ελλάδα έγινε στη Θεσσαλονίκη στα μέσα της δεκαετίας του ’90, κοντά στο ποτάμι «Γαλικός».

Όσον αφορά την Κρήτη, αναφέρουμε την περίπτωση της Πόμπιας, μία μικρή κοινότητα στην Μεσσαρά όπου λειτουργεί ένας τεχνητός υγροβιότοπος ελεύθερης επιφάνειας (*free water surface system, FWS*), για τη διαχείριση των αποβλήτων της τοπικής κοινότητας (πληθυσμός 1200 κάτοικοι). Το πρόγραμμα ολοκληρώθηκε τον Αύγουστο του 1999 και από τότε λειτουργεί κανονικά, Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 20, η αίσθηση που δίνει στον επισκέπτη αυτό το σύστημα τεχνητού υγροβιότοπου είναι ότι πρόκειται για ένα φυσικό έλος και βιότοπο πουλιών και αγρίων ζώων. Το νερό που εκρέει μετά από τη μεταχείριση, θα χρησιμοποιηθεί για την άρδευση των ελαιώνων της περιοχής.

Εικόνα 20: Λεκάνη τεχνητού υγροβιότοπου με σύστημα FWS στην Κρήτη

Στη λεκάνη της Μεσογείου έχει δειχτεί ότι τα φυτικά είδη *Phragmites australis* ή κοινό καλάμι και *Typha latifolia* ή ψάθα είναι αποτελεσματικά για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων με μεθόδους φυτοαποκατάστασης. Ειδικότερα για το μικρόκλιμα της Κρήτης, τα δύο αυτά είδη προτείνονται για το σχεδιασμό ενός συστήματος φυτοεξυγίανσης καθώς αποτελούν ήδη τμήμα της χλωρίδας της περιοχής, οπότε και υπάρχει μεγαλύτερη ευκολία στην καλλιέργειά τους, ενώ συνάμα δεν διαταράσσεται η περιβαλλοντική ισορροπία (Dialynas, 2002).

7 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

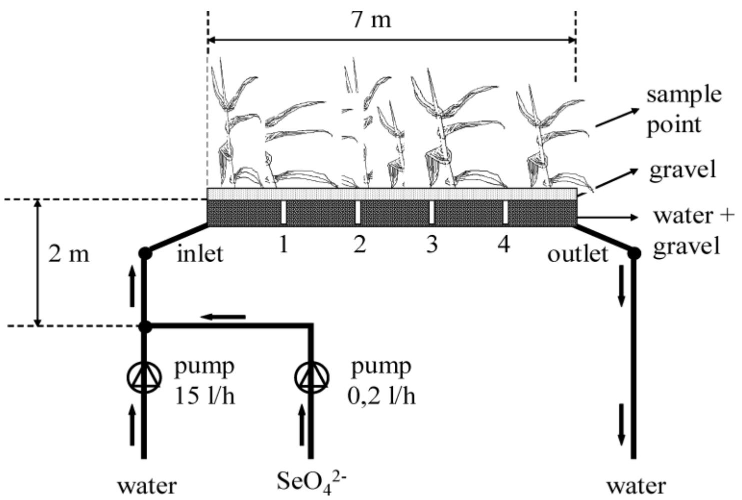
7.1 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΣΕΛΗΝΙΟΥ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΕΧΝΗΤΟΥ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥ SSF

7.1.1 Φυτική κάλυψη: *Phragmites australis* και *Typha latifolia*

Οι Azaizeh *et al*. (2006) μελέτησαν την ικανότητα των φυτών *Phragmites australis* (κοινό καλάμι) και *Typha latifolia* (ψάθα) για φυτοαποκατάσταση του σεληνίου σε τεχνητό υγροβιότοπο με σύστημα υποεπιφανειακή ροής (*SSF*).

Για της ανάγκες του πειράματος δημιουργήθηκε ένα εξωτερικό σύστημα υπεπιφανειακής ροής για κάθε είδος και ένα χωρίς φυτά το οποίο αποτελούσε το μάρτυρα. Κάθε κλίνη *SSF* τροφοδοτούνταν συνεχώς με σελήνιο σε συγκέντρωση 100 μg Se/L μέσω μίας αντλίας που βρισκόταν στο σημείο εισροής του συστήματος SSF (Εικόνα 21). Στη συνέχεια συλλέχθηκαν δείγματα νερού από όλες τις κλίνες μετά από 1, 3, 6, 9 και 12 εβδομάδες μεταχείρισης. Η δειγματοληψία γινόταν από τα σημεία εισροής και εκροής και από 4 συγκεκριμένα σημεία δειγματοληψίας που είχαν οριστεί. Επίσης, ορίστηκε θερμοκρασία, τιμές pH και οξυγόνο κατάλληλα για την ανάπτυξη αυτών των φυτών για περισσότερο από 3 μήνες πειραμάτων.

Τα είδη, *Phragmites* και *Typha*, παρουσιάζουν διαφορετική φυσιολογία (διαφορετική διάμετρος βλαστού και σχήμα φύλλου) και αυτό είχε ως αποτέλεσμα να αποκτήσουν διαφορετική πυκνότητα φυτείας στο σύστημα SSF. Οι *Phragmites* είχαν 4 φορές υψηλότερη πυκνότητα απ’ ότι τα *Typha* (195 και 45 m^{-2} αντίστοιχα).



Εικόνα 21: Περιγραφή του συστήματος SSF, όπου παρουσιάζεται η καλλιεργητική τεχνική, τα σημεία της δειγματοληψίας και η μηχανή τροφοδοσία με σελήνιο

Η διατήρηση του οξυγόνου στις αναπνευστικές περιοχές της ρίζας των δύο υδρόφυτων του πειράματος εξαρτάται από την ανάπτυξη των ηθμαγγειώδων δεσμίδων (αεριζόμενοι χώροι που δρουν ως μεταφορείς οξυγόνου από τον φωτοσυνθετικό ιστό των βλαστών στα υπόγεια όργανα) στο βλαστό, στις ρίζες και στα ριζώματα. Οι αερόβιες λειτουργίες διατηρούν φυσιολογική την απορροφητική λειτουργία της ρίζας για την πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών. Θεωρείται ότι στα φυτά των υγροβιότοπων μία εξωτερική αερόβια μικροζώνη δημιουργείται γύρω από την περιοχή των αναπτυσσόμενων ριζών.

Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν ότι το οξυγόνο ήταν διαθέσιμο σε διάφορες συγκεντρώσεις ανάλογα με την καλλιεργούμενη κλίνη του συστήματος SSF και ακόμα ότι η κατανάλωση του οξυγόνου διαφοροποιούνταν στη ζώνη της ρίζας ανάμεσα στα διαφορετικά τμήματα της κλίνης, κυρίως εξαιτίας της μικροβιακής δραστηριότητας.

Όπως ήταν αναμενόμενο η απομάκρυνση του σεληνίου στο σύστημα SSF διέφερε ανάμεσα στα δύο καλλιεργούμενα είδη. Τα φυτά *Phragmites* ήταν πιο αποτελεσματικά στην απομάκρυνση του σεληνίου απ' ότι τα φυτά *Typha*. Ακόμα και έπειτα από μία εβδομάδα συνεχούς συμπλήρωσης 100 μg Se / L, το δείγμα νερού έδειξε ότι η συγκέντρωση του σεληνίου βρισκόταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης στα δείγματα που συλλέχθηκαν την κλίνη με τους *Phragmites*, γεγονός που εξηγείται στο ότι οι περισσότεροι από τους ιστούς του φυτού συμμετείχαν στη βιοσυσσώρευση του σεληνίου.

Οι μεγάλη διαφορά που σημειώθηκε στην πυκνότητα των φυτών, συνεπώς στις ρίζες και στα ριζώματα για την πρόσληψη του σεληνίου μπορεί να είναι ένας από τους λόγους για την ολοκληρωτική απομάκρυνση του σεληνίου από την κλίνη των *Phragmites* σε σχέση με αυτή των *Typha*. Επιπρόσθετα, , η πιο πυκνή διάταξη των *Phragmites* μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι αυτό το φυτικό είδος αναπτύσσει καλύτερους αερεγμυματικούς ιστούς, οπότε και ευνοείται η μεταφορά των αερίων στην ατμόσφαιρα μέσω του ενδοκυτταρικού συστήματος ηθμαγγειωδών δεσμίδων ευνοείται και γενικότερα η ανάπτυξη.

Στη συνέχεια, οι Azaizeh *et al* (2006) έδειξαν ότι οι *Phragmites* συσσωρεύουν σημαντικά περισσότερο σελήνιο στα κλαδιά και στα ριζώματα σε σχέση με το *Typha*. Τα δε *Typha* συγκεντρώνουν σημαντικά περισσότερο σελήνιο στις λεπτές ρίζες.

Επιπλέον, στην κλίνη των *Typha* βρέθηκαν υψηλά επίπεδα σεληνίου σε λεπτά οργανικά υλικά. Θεωρείται ότι το ποσοστό του σεληνίου το οποίο δεν συγκεντρώνεται στους ιστούς του φυτού, δεν εντοπίζεται στα οργανικά υλικά και δεν δεσμεύεται στο έδαφος πιθανά βιομεθυλιώθηκε και εξατμίστηκε στην ατμόσφαιρα από τους μικροοργανισμούς της ριζόσφαιρας.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα της έρευνας φαίνεται ότι οι *Phragmites* και οι *Typha* όταν καλλιεργούνται σε συστήματα *SSF* εφαρμόζουν διαφορετικές στρατηγικές για την αντίσταση τους στα μέταλλα. Οι *Phragmites* αποτοξινώνουν το σελήνιο με διαδικασίες φυτοεξαγωγής και φυτοσταθεροποίησης σε αντίθεση με τα φυτά *Typha* τα οποία με διαδικασίες φυτοσταθεροποίησης αδρανοποιούν και αποθηκεύουν το σελήνιο υπόγεια, στις λεπτές ρίζες. Υπάρχουν όμως και μελέτες οι οποίες υποδεικνύουν ότι και το *Phragmites australis* συσσωρεύει τα μέταλλα κυρίως στις ρίζες και τα ριζώματα, ενώ μεταφέρει μικρότερα ποσοστά στο υπέργειο μέρος του.

Συνοψίζοντας, όσον αφορά τα φυτά *Phragmites australis* και *Typha latifolia,* καταλήγουμε στις ακόλουθες προτάσεις:

- ✓ είναι συνιστώμενα είδη για την απορρύπανση του εδάφους από το σελήνιο σε ένα σύστημα τεχνητού υγροβιότοπου υποεπιφανειακής ροής.
- ✓ η αντοχή των υδρόφυτων στα μέταλλα φαίνεται να εξαρτάται από την ικανότητά τους για εξαγωγή των μετάλλων (οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στα κλαδιά ήταν συνήθως σε χαμηλά επίπεδα)
- ✓ στο φυτό *Phragmites australis* εντοπίστηκαν υψηλές συγκεντρώσεις σεληνίου στα κλαδιά, γεγονός που υποδεικνύει ότι είναι πιθανό να διαθέτει ένα διαφορετικό εσωτερικό μηχανισμό αποτοξίνωσης του σεληνίου.

7.1.2 Φυτική κάλυψη: είδη φτέρης

Οι Srivastava *et al* (2005) μελέτησαν τη δυνατότητα έντεκα ειδών φτέρης (*fern)* για φυτοαποκατάσταση, έχοντας ως στόχο τον προσδιορισμό της κατανομής του σεληνίου μέσα στα φυτά, τη σύγκριση της συσσώρευσης του σεληνίου στη μορφή του σεληνικού και του σεληνιώδους και την αξιολόγηση της συσσώρευσης του σεληνίου ανάμεσα σε πτέριδες του γένους *Pteris* και όχι. Για τις ανάγκες του πειράματος εξετάστηκαν τα ακόλουθα φυτικά είδη *πτέριδων*: *Pteris vittata, Pteris ensiformis, Pteris cretica, Dryoteris erythrosa, Didymochlaena truncatula, Adiantum* *hispidulum, Actiniopteris radiata, Davallia griffithiana* και *Cyrtomium fulcatum*. Τα φυτά αυτά καλλιεργήθηκαν σε υδροπονικό σύστημα για μία βδομάδα. Στο σύστημα συμπληρώθηκαν 20 mg/L Se σε δύο διαφορετικές οξειδωτικές μορφές: ως σεληνικό και ως σεληνιώδες.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η συγκέντρωση του σεληνίου στη ρίζα έφτασε τα 245-731 και 516-1082 mg / kg σεληνικού και σεληνιώδους αντίστοιχα. Τα αντίστοιχα αποτελέσματα στα φύλλα ήταν 135-745 και 74-1,028 mg / kg αντίστοιχα, χωρίς την εμφάνιση συμπτωμάτων τοξικότητας (Πίνακες 7, 8, 9).

Μόνο τρία από τα αρχικά είδη των πτέριδων μπόρεσαν να συσσωρεύσουν περισσότερο σελήνιο στα φύλλα από ότι στις ρίζες. Αυτά ήταν η *D. griffithiana* όταν μεταχειρίστηκε με σεληνικό, η *Pteris vittata* όταν μεταχειρίστηκε με σεληνιώδες και η *A.radiata* στην οποία η συσσώρευση του σεληνίου παρουσιάστηκε ανεξάρτητη από τη μορφή του σεληνίου. Από τα αποτελέσματα καταλήγουμε ότι οι πτέριδες προτείνονται να χρησιμοποιηθούν για βλάστηση σε συστήματα φυτοαποκατάστασης.

Fern species	Total frond boimass (g)	Total root boimass (g)	Total Se in a frond (mg)	Total Se in a root (mg
Davallia griffithiana	1.66 ± 0.24	1.01 ± 0.20	1.23	0.25
Actiniopteris radiata	2.98 ± 0.30	1.00 ± 0.21	1.88	0.32
Didmochlaena truncatula	3.38 ± 0.23	0.71 ± 0.12	1.97	0.52
Pteris quadriaurita	2.04 ± 0.36	0.50 ± 0.06	0.74	0.34
Pteris ensiformis	2.40 ± 0.22	0.65 ± .0.13	0.76	0.29
Cyrtomium fulcatum	7.76 ± 1.21	3.91 ± 0.07	2.39	1.24
Dryopteris erythrosora	3.98 ± 0.31	1.08 ± 0.41	1.16	0.42
Pteris dentata	2.93 ± 0.33	0.81 ± 0.20	0.77	0.45
Pteris vittata	3.46 ± 0.52	0.86 ± 0.30	0.91	0.25
Pteris cretica	5.89 ± 1.33	1.21 ± 0.11	1.16	0.37
Adiantum hispidulum	4.40 ± 1.26	0.58 ± 0.13	0.67	0.14

Πίνακας 8: Συσσώρευση του σεληνίου στα φύλλα και στους βλαστούς των διαφορετικών φυτικών ειδών μετά από μεταχείριση με σεληνικό (ΠΗΓΗ: Srivastava et al., 2005)

Fern species	Total frond boimass (g)	Total root boimass (g)	Total Se in a frond (mg)	Total Se in a root (mg
Pteris vittata	1.95 ± 0.63	0.43 ± 0.06	2.00	0.33
Actiniopteris radiata	3.45 ± 0.17	1.13 ± 0.13	2.45	0.58
Pteris dentata	2.63 ± 0.51	0.36 ± 0.06	1.49	0.22
Pteris cretica	2.68 ± 1.18	0.36 ± 0.05	1.00	0.34
Pteris quadriaurita	3.16 ± 0.29	0.41 ± 0.06	1.08	0.31
Adiantum hispidulum	2.93 ± 0.54	0.49 ± 0.09	0.97	0.33
Pteris ensiformis	3.85 ± 0.75	0.38 ± 0.03	0.98	0.03
Didmochlaena truncatula	4.81 ± 0.85	1.20 ± 0.23	1.21	0.67
Cyrtomium fulcatum	7.07 ± 0.17	1.31 ± 0.25	1.68	1.42
Davallia griffithiana	2.56 ± 0.46	0.55 ± 0.07	0.39	0.33
Dryopteris erythrosora	6.12 ± 0.56	1.75 ± 0.33	0.45	0.99

Πίνακας 9: Συσσώρευση του σεληνίου στα φύλλα και στους βλαστούς των διαφορετικών φυτικών ειδών μετά από μεταχείριση με σεληνιώδες (ΠΗΓΗ: Srivastava et al., 2005)

			Accumulation (mg/kg)	
Plant name	Treatment	Duration (week)	Roots	Shoots
Selenate				
Ferns	20 mg/L	1	245–730	153–745
Festuca arundinacea	4 mg/L	5	384	883
Brassica napus	40 mg/kg	19	25–103	288-470
Festuca arundinacea	40 mg/kg	19	NA	50
Brassica oleracea	5 mg/kg	7		377
Beta vulgaris	5 mg/kg	7		735
Brassica juncea	3 mg/L	1	177	150
Brassica juncea	3 mg/L	1	10	550
Brassica juncea	2 mg/L	9	197–470	501–1092
Brassica juncea	2 mg/kg	9	152–332	407–769
Selenite				
Ferns	20 mg/L	1	70–1081	73–1028
Festuca arundinacea	4 mg/L	5	433	142
Brassica oleracea	5 mg/kg	7		49
Beta vulgaris	5 mg/kg	7		29
Brassica juncea	3 mg/L	1	700	100

Πίνακας 10: Σύγκριση της συσσώρευσης σε σεληνιώδες και σεληνικό μεταξύ των διαφορετικών φυτικών ειδών (ΠΗΓΗ: Srivastava et al (2005)

7.2 ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΗ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

7.2.1 Κινητικότητα του σεληνίου στη ριζοσφαιρα και επίδραση της μυκόρριζας

Οι Munier-Lamy *et al.* (2007) προσπάθησαν να εκτιμήσουν την κινητικότητα του σεληνίου σε τέσσερα είδη φυτών: *lettuce* (μαρούλι), *ryegrass* (λόλιο), *maize* (καλαμπόκι), *radish (ραπανάκι)*. Ειδικά για το *ryegrass* δόθηκε έμφαση στη συμβολή των μυκορριζών στην κινητικότητα του σεληνίου στο σύστημα έδαφος-φυτό. Το πειραματικό μέρος έγινε σε έντονα αργιλλώδες έδαφος και για τη διεξαγωγή των αποτελεσμάτων εκτιμήθηκε η συσσώρευση του σεληνίου στη φυτική βιομάζα και η βιοδιαθεσιμότητα του σεληνίου στη ριζόσφαιρα και σε αφύτευτο έδαφος.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μεγαλύτερη συσσώρευση στη βιομάζα των φυτών έγινε στο *radish*, ενώ η μικρότερη στο *ryegrass*. Μάλιστα στο δεύτερο παρατηρήθηκε μειωμένη συγκέντρωση υδατο-αποσπώμενων (water-extracted) μορφών σεληνίου στη ριζόσφαιρα των φυτών. Η μείωση του διαθέσιμου κλάσματος σεληνίου και η αύξηση της συγκράτησης του στη στερεά φάση θα μπορούσε έστω και προσωρινά να μειώσει τη μεταφορά του σε άλλο τμήμα του εδάφους ή ακόμα στο υπόγειο νερό. Επίσης παρατηρήθηκε ότι οι μυκορριζικές αποικίες μείωναν την πρόσληψη του σεληνίου από το φυτό, αλλά δεν παρουσίασαν καμοία επίδραση στη μετακίνηση και διανομή του σεληνίου. Παρόλα αυτά απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τον ακριβή προσδιορισμό του ρόλου των μυκορριζών, καθώς η δράση τους φαίνεται να επηρεάζεται έντονα από διάφορες φυσικο-χημικές διαδικασίες.

7.2.2 Βακτήρια της ριζόσφαιρας συντελούν στη συσσώρευση του σεληνίου σε υδροχαρή φυτά

Οι de Souza *et al.* (1999) έδειξαν το ρόλο των βακτηρίων της ριζόσφαιρας στην ενίσχυση της βιοσυσσώρευσης του σεληνίου στα υδρόφυτα *Sciprus robustus* και *Polypogon nonspeliensis*. Το πειραματικό μέρος της έρευνας περιλάμβανε αρχικά την υδροπονική καλλιέργεια των φυτών και στη συνέχεια τον εμβολιασμό του διαλύματος με αποικίες βακτηρίων της ριζόσφαιρας. Στη συνέχεια, στο διάλυμα προστέθηκε αμπικιλλίνη (αντιβιοτικό το οποίο περιορίζει τη δράση των βακτηρίων αλλά έχει περιορισμένη επίδραση στη φυσιολογία του φυτού), κρατώντας κάποια φυτά-μάρτυρες χωρίς αντιβιοτικό. Κατόπιν, προστέθηκε στο μέσο καλλιέργειας Na_2SeO_4 και μετά από μέρες μετρήθηκε η συσσώρευση του σεληνίου μεταξύ των φυτών τα οποία είχαν υποστεί τη μεταχείριση με την αμπικιλλίνη και σε αυτά χωρίς μεταχείριση.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα φυτά μάρτυρες (τα βακτήρια της ριζόσφαιρας δεν είχαν σκοτωθεί) συσσώρευσαν 60 % περισσότερο σελήνιο απ' ότι τα φυτά με το αντιβιοτικό. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η διαφορά στη συσσώρευση του Σεληνίου εντοπίστηκε κυρίως στους ιστούς της ρίζας, ενώ στους βλαστούς δεν σημειώθηκε αξιόλογη διαφορά στη συγκέντρωση. Τέλος, οι συγγραφείς της μελέτης προτείνουν την ενίσχυση της φυτοαποκατάστασης του Σεληνίου σε τεχνητούς υγροβιότοπους με τη χρησιμοποίηση των βακτηρίων της ριζόσφαιρας

8 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΙΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΝΟΥΝ ΤΗ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

8.1 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΒΕΛΤΙΩΝΟΥΝ ΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΗΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

Οι βιοτεχνολογικές εφαρμογές των φυτών στην προστασία του περιβάλλοντος αναπτύσσονται τα τελευταία χρόνια και αποτελούν ένα από τους κύριους ερευνητικούς στόχους σε παγκόσμιο αλλά και ευρωπαϊκό επίπεδο. Πέρα από τα προφανή άμεσα περιβαλλοντικά οφέλη, η ανάπτυξη βιοτεχνολογικών μεθόδων για την εξυγίανση περιβαλλοντικά υποβαθμισμένων περιοχών μπορεί να συμβάλει και στην αύξηση της γεωργικής παραγωγής, καθώς μεγάλες εκτάσεις μολυσμένων περιοχών θα μπορούσαν να αποδοθούν με ασφάλεια στην καλλιέργεια.

Η φυτοεξυγίανση με τη χρήση συμβατικών καλλιεργούμενων φυτικών ειδών (αγρωστώδη, μηδική, ηλίανθος, καπνός κ.α.) έχει ήδη να επιδείξει ικανοποιητικά αποτελέσματα στις περιπτώσεις όπου απαιτείται απομάκρυνση ρυπαντών από μεγάλες εκτάσεις. Η χρησιμοποίηση των παραπάνω φυτικών ειδών περιορίζεται μόνο στις περιπτώσεις όπου η συγκέντρωση των οργανικών ή ανόργανων ρυπαντών βρίσκονται σε σχετικά χαμηλά επίπεδα. Επιπλέον η καθιερωμένες πρακτικές, οι οποίες περιλαμβάνουν την συγκομιδή και την ταφή των παραπάνω καλλιεργούμενων φυτών, έχουν περιορίσει την εφαρμογή της φυτοεξυγίανσης, κυρίως λόγω του μεγάλου χρονικού διαστήματος που απαιτείται για την ικανοποιητική μείωση των επιπέδων των ρυπαντών. Σε πολλές περιπτώσεις το απαιτούμενο χρονικό διάστημα μπορεί να περιλαμβάνει πολλές καλλιεργητικές περιόδους.

Οι απαντήσεις της βιοτεχνολογίας στα προβλήματα της τεχνολογίας της φυτοεξυγίανσης είναι πολύπλευρες και περιλαμβάνουν τόσο τη χρησιμοποίηση καταλληλότερων φυτικών ειδών (πολλές φορές σε συνεργασία με μικροοργανισμούς του εδάφους), όσο και την έρευνα με σκοπό την ανάπτυξη γενετικά τροποποιημένων φυτών με βελτιωμένες ικανότητες φυτοεξυγίανσης.

Οι πρώτες μελέτες της κλασσικής Γενετικής υποδείκνυαν ότι μόνο ένα με τρία γονίδια καθορίζουν την ανθεκτικότητα στα μέταλλα. Σήμερα, οι εξελίξεις στη Μοριακή Βιολογία και τη Γενετική υποδεικνύουν πολλά γονίδια που εμπλέκονται στην πρόσληψη των μετάλλων, στην μεταφορά και στη σταθεροποίηση και αδρανοποίησή τους (*sequestration*). Μία νέα στρατηγική που θα βελτιώσει την τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης θα μπορούσε να είναι η μεταφορά αυτών των γονιδίων από φυτά υπερσυσσωρευτές (ή και από άλλες πηγές) σε άλλα φυτά του ενδιαφέροντος και στη συνέχεια την καλλιέργεια αυτών των διαγονιδιακών φυτών. Έτσι για παράδειγμα, αυτά τα διαγονιδιακά αυτά φυτά που θα χρησιμοποιηθούν, μπορούν να υπερσυσσωρεύουν το συγκεκριμένο μέταλλο, ενώ παράλληλα να παράγουν μεγαλύτερη βιομάζα, να έχουν καλύτερο ριζικό σύστημα ή και να αναπτύσσονται σε μικρότερες καλλιεργητικές περιόδους.

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες για την ανάπτυξη γενετικά τροποποιημένων φυτών, με βελτιωμένες ιδιότητες ως προς την απομάκρυνση ρυπαντών από το έδαφος. Για το σκοπό αυτό, έχουν χρησιμοποιηθεί πολλές διαφορετικές προσεγγίσεις ως προς το είδος των επεμβάσεων και των γονιδίων που έχουν χρησιμοποιηθεί για την αύξηση της ικανότητας συσσώρευσης βαρέων μετάλλων. Σε αυτές περιλαμβάνονται:

1. Η γενετική τροποποίηση με την εισαγωγή βακτηριακών γονιδίων που συντελούν στην αναγωγή τοξικών ρυπαντών και την αποθήκευση τους σε λιγότερο τοξικές μορφές
2. Γενετική τροποποίηση με τη χρήση φυτικών γονιδίων που σχετίζονται με την ομοιόσταση των μετάλλων στους φυτικούς οργανισμούς.

Η τελευταία προσέγγιση αποτελεί και τη συνηθέστερη επιλογή για την αύξηση της ικανότητας απομάκρυνσης μετάλλων από το έδαφος και περιλαμβάνει επεμβάσεις για τηνεπαγωγή της ανθεκτικότητας ή της υπερσυσσώρευσης των βαρέων μετάλλων στα φυτά, εφαρμόζοντας γενετικούς χειρισμούς, όπως είναι:

- Η ρύθμιση της έκφρασης των μεταλλοθειονίνων, φυτοχελατίνων και χηλικών ενώσεων των μετάλλων
- Η ρύθμιση της έκφρασης των μεταφορέων των μετάλλων
- Η τροποποίηση των μεταβολικών μονοπατιών
- Η τροποποίηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην πρόσληψη των στοιχείων από το ριζικό σύστημα
- Η τροποποίηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην παραγωγή βιομάζας (Eapen and d’Souza, 2005)

3. Η αύξηση της ικανότητας δέσμευσης βαρέων μετάλλων διαφόρων φυτικών πρωτεϊνών, μέσω της προσθήκης επιπλέον θέσεων δέσμευσης για τα αντίστοιχα μέταλλα. Συγκεκριμένα, έχει δοκιμαστεί η προσθήκη σε μία φυτική πρωτεΐνη, επιπλέον αμινοξέων ιστιδίνης, τα οποία δημιουργούν μια επιπλέον θέση δέσμευσης μετάλλων. Η μέθοδος αυτή έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα ως προς την απομάκρυνση μετάλλων όπως το κάδμιο, το νικέλιο και ο ψευδάργυρος, ενώ δεν έχει εφαρμοστεί ακόμα για το σελήνιο. Σημαντικά πλεονεκτήματα της συγκεκριμένης προσέγγισης, αποτελεί το γεγονός ότι δεν στηρίζεται στην εισαγωγή σε φυτά, γονιδίων από άλλους οργανισμούς, αλλά βασίζεται στην τροποποίηση και την επανεισαγωγή ενδογενών γονιδίων.
4. Η καλλιέργεια διαγονιδιακών φυτών τα οποία μπορούν να υπερπαράγουν χηλικές ενώσεις μετάλλων για την βελτίωση της αφομοίωσής των από τα φυτά.

Ενδεικτικά, ο Πίνακας 11 παρουσιάζει ένα αριθμό γονιδίων που εισήχθησαν σε φυτά και βελτίωσαν την αντοχή, τη συσσώρευση ή και την εξάτμιση των μετάλλων. Αν και τα πρώτα ερευνητικά αποτελέσματα από την εφαρμογή των μεθόδων της βιοτεχνολογίας στην τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης παρουσιάζονται θετικά, απαιτείται να γίνει μία συνολική αποτίμηση των επιπτώσεων της εφαρμογής αυτών των μεθόδων ως προς την οικολογική ισορροπία.

Gene	Product	Source	Target	Maximum observed effect[a]
merA	Hg(II) reductase	Gram-negative bacteria	*Liriodendron tulipifera*	50 μmol l^{-1} $HgCl_2$; 500 mg $HgCl_2$ kg^{-1}
			Nicotiana tabacum	*V*: Hg-volatilization rate increase 10-fold
merA	Hg(II) reductase	Gram-negative bacteria	*Arabidopsis thaliana*	*T*: 10 μmol l^{-1} CH_3HgCl (>40-fold)
merB	Organomercurial lyase	Gram-negative bacteria	*A. thaliana*	*V*: Up to 59 pg Hg(0) mg^{-1} fresh biomass min^{-1}
APS1	ATP sulfurylase	*A. thaliana*	*B. juncea*	*A*: Two-fold increase in Se concentration
MT-I	MT	Mouse	*N. tabacum*	*T*: 200 μmol l^{-1} $CdCl_2$ (20-fold)
CUP1	MT	*Saccharomyces cerevisiae*	*B. oleracea*	*T*: 400 μmol l^{-1} $CdCl_2$ (approximately 16-fold)
gsh2	GSH synthase	*E. coli*	*B. juncea*	*A*: Cd concentrations 125%
gsh1	γ-Glu-Cys synthase	*E. coli*	*B. juncea*	*A*: Cd concentrations 190%
NtCBP4	Cation channel	*N. tabacum*	*N. tabacum*	*T*: 250 μmol l^{-1} $NiCl_2$ (2.5-fold), Pb-sensitive *A*: Pb concentrations 200%
ZAT1	Zn transporter	*A. thaliana*	*A. thaliana*	*T*: Slight increase
TaPCS1	PC	Wheat	*Nicotiana glauca* R. Graham	*A*: Pb concentrations 200%

Πίνακας 11: Βελτίωση της φυτοεξυγίανσης μετάλλων που προκλήθηκε με την εισαγωγή και έκφραση γονιδίων από άλλους οργανισμούς (ΠΗΓΗ: Yang *et al.*, 2005)

8.2 Η ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ ΜΕ ΤΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΤΩΝ

Όσον αφορά το σελήνιο, η ταυτοποίηση των υποψήφιων γονιδίων που παίζουν ρόλο στη μεταφορά και τη συσσώρευση του στα φυτά αποτελεί το πρώτο στάδιο της έρευνας. Στο πρώτο κεφάλαιο παρουσιάσαμε συνοπτικά το μεταβολικό μονοπάτι αφομοίωσης του σεληνίου από τα φυτά (Εικόνα 1). Η ρύθμιση της έκφρασης των ενζύμων που καταλύουν τα πιο σημαντικά-περιοριστικά στάδια, στο μονοπάτι αφομοίωσης του σεληνίου παρουσιάζεται ως μία ενδιαφέρουσα εφαρμογή της βιοτεχνολογίας.

Για παράδειγμα, όπως έχει ήδη αναφερθεί στο πρώτο κεφάλαιο, το θείο και το σελήνιο παρουσιάζουν παρόμοιες χημικές ιδιότητες και συνεπώς έχουν παρόμοια μεταβολικά μονοπάτια. Έχει βρεθεί ότι η αφομοίωση του θείου και του σεληνίου ενεργοποιείται από το ένζυμο η *θειολάση του ATP*, ***APS***, (*ATP sulfurylase, APS).* Το ένζυμο αυτό διευκολύνει την αναγωγή από σεληνικό οξύ σε σεληνιώδες, μέσω ενός ενδιάμεσου σταδίου, της φωσφορο-σεληνική αδενοσίνη (ADP-Se). Αυτό χαρακτηρίζεται ως κρίσιμο στάδιο στο μονοπάτι αφομοίωσης του σεληνίου. Οι Pilon-Smits *et al*. (1998) έδειξαν ότι μετασχηματισμένα φυτά *Indian mustard* (είδος σιναπιού) τα οποία υπερέκφρασαν το ένζυμο *APS*, παρουσίασαν 4 φορές μεγαλύτερη ενζυμική δραστηριότητα και συσσώρευσαν 3 φορές περισσότερο σελήνιο στους ιστούς τους από ότι τα αγρίου τύπου, μη μετασχηματισμένα φυτά. Αυτό σημαίνει, ότι όντως τα *APS* διαγονιδιακά φυτά παρουσίασαν βελτιωμένη ανθεκτικότητα στη συγκέντρωση του σεληνίου σε σχέση με τα αγρίου τύπου.

Ενδιαφέρον παρουσίασε το γεγονός ότι τα μετασχηματισμένα φυτά *Indian mustard* που υπερέκφραζαν την *APS*, δεν μπορούσαν να αυξήσουν τη φυτοεξάτμιση του σεληνίου σε σχέση με τα αγρίου τύπου. Αυτό το δεδομένο υποδεικνύει ότι πιθανώς υπάρχουν επιπλέον κρίσιμα στάδια που παρουσιάζονται στο μεταβολικό μονοπάτι αφομοίωσης του θείου/σεληνίου (S/Se), όπως αυτό παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.

Οι De Souza *et al.* (1998) έδειξαν ότι βαθμός της εξάτμισης του σεληνίου στα φυτά *Indian mustard* είναι παραμένει ο ίδιος όταν προέρχεται από τη σεληνοκυστεΐνη (*selenocysteine, SeCys*) και τον σεληνίτη, ενώ όταν παράγεται από τη σεληνομεθειονίνη (*selenomethionine, SeMet*) η φυτοεξάτμιση του σεληνίου γίνεται με πιο γρήγορο ρυθμό. Αυτά τα αποτελέσματα υπέδειξαν την εμπλοκή ενός κρίσιμου σταδίου στη σύνθεση της *SeMet* από την *SeCys*.

Για να ελεγχθεί αυτή η υπόθεση, δημιουργήθηκαν άλλα μετασχηματισμένα φυτά *Indian mustard* τα οποία υπερέκφρασαν αυτή τη φορά το ένζυμο συνθετάση της κυσταθειονίνης (*cystathioninec-synthase,* ***CGS)***. Τα μετασχηματισμένα με τη *CGS India mustard* φυτά παρουσίασαν αυξημένη αντοχή στο σεληνίτη, ενώ η εξάτμιση του σεληνίου ήταν δύο με τρεις φορές πιο γρήγορη από του αγρίου τύπου. Σε αυτήν την περίπτωση, το σελήνιο βρέθηκε να συσσωρεύεται λιγότερο στις ρίζες και στους βλαστούς (Eapen and d'Souza, 2005).

Στη συνέχεια, ο μετασχηματισμός των φυτών *Indian mustard* με τη βακτηριακή *ρεδουκτάση της γλουταθειόνης* (πρόδρομο μόριο των *φυτοχελατίνων*), έδειξε μεγαλύτερη αντοχή στα μετασχηματισμένα φυτά από ότι στα φυτά αγρίου τύπου

Μία άλλη ερευνητική εργασία έδειξε ότι η μεταφορά του γονιδίου μίας λυάσης της σεληνοκυστεΐνης (*Se-cys*) του ποντικιού στο φυτό *Arabidopsis thaliana*, προκάλεσε 1,5 φορά μεγαλύτερη συσσώρευση του σεληνίου στους βλαστούς από ότι στα φυτά αγρίου τύπου.

Ένα γονίδιο που εντοπίζεται στα φυτά-υπερσυσσωρευτές είναι η *μεθυλτρανσφεράση της σεληνοκυστεΐνης*, ***SMT*** (*selenocysteine methyltransferase*). Το γονίδιο αυτό κλωνοποιήθηκε από τον υπερσυσσωρευτή του σεληνίου, *Astragalus bisulcatus* σε φυτά *Arabidopsis thaliana* και *Indian mustard*. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1, η ***SMT*** μετατρέπει το αμινοξύ σεληνοκυστεΐνη (*SeCys*) στο μη-πρωτεϊνικό αμινοξύ μεθυλ-σεληνο-κυστεΐνη (*MetSeCys*). Με αυτό τον τρόπο, η αφομοίωση τουσεληνίου σε σεληνικά αμινοξέα εκτρέπεται, το σελήνιο δεν μπορεί να ενσωματωθεί στις πρωτεΐνες, οπότε και παρουσιάζονται αλλαγές στη δομή των ενζύμων, τη λειτουργία και τη δομή τους. Τα μετασχηματισμένα φυτά τα οποία υπερέκφρασαν τη *SMT* παρουσίασαν αυξημένη αντοχή στο σελήνιο -ειδικά στο σεληνιώδες- σε σχέση με τα αγρίου τύπου φυτά. Επίσης, παρήγαγαν 3 με 7 φορές περισσότερη βιομάζα και οι ρίζες τους είχαν 3 φορές μεγαλύτερο μήκος σε σχέση με τα αγρίου τύπου. Όσον αφορά την ανθεκτικότητά τους σε σελήνιο, τα μετασχηματισμένα *SMT* φυτά συσσώρευσαν μέχρι 4 φορές περισσότερο σελήνιο απ' ότι τα αγρίου τύπου. ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό ήταν της μορφής *MetSeCys*. Τέλος, τα *SMT* μετασχηματισμένα *Arabidopsis* και *Indian mustard* φυτά εξάτμισαν το σελήνιο δύο με τρεις φορές πιο γρήγορα όταν μεταχειρίστηκαν με *SeCys* και σεληνικό αντίστοιχα (Eapen and S.F. D'Souza, 2005).

8.3 ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ ΣΥΜΒΑΛΛΟΥΝ ΣΤΗ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

Συνήθως μία ρυπασμένη περιοχή από μέταλλα, περιέχει περισσότερο από ένα μίγμα μετάλλων. Μία βέλτιστη στρατηγική φυτοεξυγίανσης θα ήταν η χρήση φυτών με αυξημένη ικανότητα φυτοεξαγωγής για μία σειρά μετάλλων. Τέτοια φυτά θα χαρακτηρίζονται από μία ευρεία ικανότητα πρόσληψης και ανθεκτικότητας στα μέταλλα και θα χρησιμοποιούν ένα κοινό, γενικό μηχανισμό άμυνας. Έρευνες έδειξαν ότι μετασχηματισμένα φυτά *Indian mustard* ως προς την έκφραση του ενζύμου ***APS,*** είχαν την ικανότητα να αφαιρούν από το έδαφος και να συσσωρεύουν μέχρι και 12 μέταλλα, ανάμεσά τους και το σελήνιο, σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις απ' ότι τα αγρίου τύπου. Η μεγαλύτερη συσσώρευση των μετάλλων σημειώθηκε στους βλαστούς.

Τα μετασχηματισμένα φυτά *APS* Indian mustard μπορούσαν να αντέξουν περισσότερο σε υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων γιατί παρουσιάζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση γλουταθειόνης (***GSH***) απ'ότι τα αγρίου τύπου. Όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενο κεφάλαιο, η γλουταθείονη (c-Glu-Cys-Gly), ως μέρος του συστήματος εξαγωγής των ενεργών ριζών οξυγόνου (*active oxygen-scavenging system*), για την προστασία των φυτικών κυττάρων από την οξειδωτική καταπόνηση, παίζει σημαντικό ρόλο στην αποτοξικοποίηση των βαρέων μετάλλων δημιουργώντας σύμπλοκα με αυτά. Παράλληλα, η γλουταθειόνη αποτελεί άμεσο πρόδρομο των *φυτοχελατίνων, phytochelatins (PCs*), οι οποίες θα αποτοξικοποιήσουν και θα απομονώσουν τα ιόντα των μετάλλων στο χυμοτόπιο, όπως περιγράφηκε και στο κεφάλαιο 3.

9 ΣΥΝΟΨΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το σελήνιο είναι ένα μεταλλοειδές το οποίο σε φυσιολογικές τιμές είναι απαραίτητο για την ανθρώπινη υγεία. Όντας συστατικό του ένζυμου *υπεροξειδάση της γλουταθειόνης*, συμμετέχει στο αντιοξειδωτικό σύστημα της θρέψης και προστατεύει το κύτταρο από τη δράση των *υπεροξειδασών*. Επίσης, έχει βασικό ρόλο στη διατήρηση και τη σωστή λειτουργία του θυρεοειδή αδένα. Τα όρια ανάμεσα σε μία επαρκή και μία τοξική πρόσληψη σεληνίου είναι αρκετά μικρά. Σε συγκεντρώσεις πέρα κάποιου ορίου, το σελήνιο είναι τοξικό και κατά τη βιοσυσσώρευσή του στην τροφική αλυσίδα ενδέχεται να προκαλέσει σοβαρά προβλήματα για την ανθρώπινη υγεία, όπως είναι η χρόνια τοξικότητα που προκαλεί στον άνθρωπο η ασθένεια *σελήνωση,* ή η ασθένεια "*alkalis desease*" στα ζώα που αποδίδεται στη βόσκηση φυτών με υψηλή περιεκτικότητα σεληνίου. Η τοξικότητα του σεληνίου οφείλεται στην αναγνώριση και αντικατάσταση του θείου (S) κάποιων πρωτεϊνών με το σελήνιο.

Η φυτοεξυγίανση αποτελεί μία εναλλακτική μέθοδο επεξεργασίας υγρών αποβλήτων και απορρύπανσης του εδάφους από σελήνιο. Η ιδέα της χρησιμοποίησης των φυτών για την απομάκρυνση των μετάλλων από το έδαφος προήλθε από την ανακάλυψη διαφορετικών αγρίων φυτών, συχνά ενδημικών, τα οποία μπορούσαν να συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες μετάλλων στο φύλλωμά τους. Βασίζεται στην ικανότητα ορισμένων φυτών είτε να συσσωρεύουν το στοιχείο στους ιστούς τους στο υπέργειο τμήμα, είτε στην απομόνωση και αδρανοποίηση του στοιχείου στις ρίζες τους. Στη διαδικασία πρόσληψης του στοιχείου συμμετέχουν και μικροοργανισμοί του εδάφους οι οποίοι επηρεάζουν την κινητικότητα του στοιχείου στο έδαφος και συμβάλλουν στη μετατροπή του σε βιοδιαθέσιμες για τα φυτά μορφές. Διάφορες στρατηγικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση της αφαίρεσης των μετάλλων από το έδαφος, όπως είναι η ανάμιξη των μολυσμένων εδαφών με καθαρά εδάφη ή κομπόστ, η προσθήκη της οργανικής ουσίας ή η τροποποίηση του pH. Επίσης, η προσθήκη αντιδραστηρίων που σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα με τα μέταλλα, όπως είναι το EDTA, μπορεί να προκαλέσουν αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας, οπότε και της πρόσληψης των μετάλλων από τα φυτά.

Η φυτοεξάτμιση αποτελεί μία άλλη μορφή φυτοεξυγίανσης όπου το σελήνιο αφαιρείται από το έδαφος και απελευθερώνεται στην ατμόσφαιρα σε πτητική μορφή.

Η κατασκευή τεχνητών υγροβιότοπων για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων και την βιοαφαίρεση του σεληνίου με τη χρήση φυτών αποτελεί μία ενδιαφέρουσα εφαρμογή της φυτοεξυγίανσης. Ένα από τα πιο σημαντικά κριτήρια για την επιτυχία αυτής της μεθόδου είναι η επιλογή της βλάστησης. Γενικότερα, η τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης χαρακτηρίζεται από τα πλεονεκτήματα της εύκολης εγκατάστασης και συντήρησής του συστήματος και του χαμηλού κόστους. Η εξαγωγή των μετάλλων από το εδάφους γίνεται μόνο με την κατανάλωση ενέργειας από τον ήλιο από τα φυτά. Επίσης, με τη σωστή διαχείριση της συλλεχθείσας βιομάζας, μπορεί να παραχθεί επιπλέον ενέργεια ή ανακύκλωση του μετάλλου.

Στα μειονεκτήματα της μεθόδου αναφέρουμε τον κίνδυνο πρόσληψης του μετάλλου από τα ζώα με τη βρώση των φυτών-συσσωρευτών και στη συνέχεια της συσσώρευσής του στην τροφική αλυσίδα. Επιπλέον, σε περιπτώσεις που τα επίπεδα του μετάλλου ή ρύπου είναι πολύ υψηλά ακόμα και για τα ανθεκτικά φυτά, μειώνεται η επιτυχία της μεθόδου. Κρίσιμο σημείο στην εφαρμογή ενός προγράμματος φυτοεξυγίανσης αποτελεί η περαιτέρω διαχείριση και επεξεργασία της φυτικής βιομάζας που συλλέχθηκε (κλάδεμα, εκρίζωση, κορμοτομή) και στη συνέχεια η τελική διαχείριση του ρύπου που συσσωρεύτηκε στους φυτικούς ιστούς. Η κινητικότητα του μετάλλου στο έδαφος και ιδιαίτερα κοντά στο ριζικό σύστημα του φυτού, για να μπορέσει στη συνέχεια να απορροφηθεί ή γενικότερα η βιοδιαθεσιμότητά του αποτελεί έναν άλλο περιοριστικό παράγοντα.

Παρόλα αυτά, η τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης του σεληνίου βρίσκεται ακόμα σε πειραματικό στάδιο. Το μεγαλύτερο μέρος της μέχρι τώρα έρευνας έχει εστιαστεί στα αγγειόσπερμα φυτά. Αυτό το γεγονός περιορίζει ακόμα την επιτυχία της μεθόδου της φυτοεξυγίανσης, καθώς αυτά τα φυτά διαθέτουν μικρή βιομάζα, απροσδιόριστες απαιτήσεις ανάπτυξης και γενικότερα είναι δύσκολη η περαιτέρω επεξεργασία του συσσωρεμένου σεληνίου. Κρίνεται αναγκαία η εύρεση φυτών που μπορούν να παράγουν μεγαλύτερη βιομάζα και έχουν πιο εύκολη και γρήγορη ανάπτυξη.

Συνοψίζοντας, το ιδανικό φυτό για την εγκατάσταση σε ένα σύστημα φυτοεξυγίανσης θα πρέπει να πληρεί τις παρακάτω προϋποθέσεις:

- Να είναι ανθεκτικό σε υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλου

- Να συσσωρεύει τα μέταλλα σε μέρη που να μπορούν εύκολα στη συνέχεια να συλλεχθούν
- Να έχει γρήγορο ρυθμό ανάπτυξης
- Να έχει την δυνατότητα παραγωγής μεγάλης βιομάζας
- Να διαθέτει πλούσιο ριζικό σύστημα

Τα τελευταία χρόνια, έχει σημειωθεί μεγάλη πρόοδος στην έρευνα πάνω στους φυσιολογικούς μηχανισμούς που χρησιμοποιούν τα φυτά –υπερσυσσωρευτές των μετάλλων. Αναμφίβολα, η κατανόηση των φυσιολογικών και μοριακών μηχανισμών θα αλλάξει τη μέχρι τώρα αντίληψη για την απορρόφηση των μετάλλων και τη διατήρηση της ομοιόστασης στα φυτά. Με την ολοκλήρωση της χαρτογράφησης του γονιδιώματος του φυτού *Arabidopsis thaliana*, και των άλλων φυτών που θα ακολουθήσουν, το σύνολο των γονιδίων που εμπλέκονται στην ομοιόσταση και συσσώρευση των βαρέων μετάλλων θα ταυτοποιηθεί. Αυτή η γνώση θα επιτρέψει την εφαρμογή νέων στρατηγικών βελτίωση της φυτοεξυγίανσης, όπως είναι η δημιουργία διαγονιδιακών φυτών χρησιμοποιώντας τις μέθοδους της βιοτεχνολογίας και της γενετικής μηχανικής . Έτσι για παράδειγμα, το πρόβλημα των χαμηλής βιομάζας που διαθέτουν τα φυτά-υπερσυσσωρευτές που χρησιμοποιούνται τώρα, θα μπορούσε να ξεπεραστεί με τη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών του ενδιαφέροντος που θα φέρουν παράλληλα τα γονίδια της ανθεκτικότητας και της υπερσυσσώρευσης των μετάλλων. Σημειώνουμε βέβαια ότι η καλλιέργεια των διαγονιδιακών φυτών θα πρέπει να γίνεται με ελεγχόμενο τρόπο, ώστε να αποτραπεί η εισαγωγή νέων ειδών ή γενικότερα η διαταραχή της οικολογικής ισορροπίας.

Ένας από τους κύριους σκοπούς της τεχνολογίας της φυτοεξυγίανσης είναι η εφαρμογή της σε ευρεία κλίμακα ρύπων ταυτόχρονα και σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερης έκτασης ρυπασμένες περιοχές, όπως είναι για παράδειγμα οι γεωργικές περιοχές που έχουν μολυνθεί από τη βιομηχανία. Σε πρώτο στάδιο, τα νέα ερευνητικά προγράμματα, θα πρέπει να επικεντρωθούν στη μελέτη της φύσης και του τρόπου δράσης του κάθε ρυπογόνου παράγοντα, ενώ στη συνέχεια θα πρέπει να προσδιοριστούν οι διαφορετικές παράμετροι της τεχνολογίας της φυτοεξυγίανσης, όπως είναι οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα μεταξύ του εδάφους, των μετάλλων και των φυτών. Τέλος, για το σχεδιασμό και την επιτυχία της φυτοεξυγίανσης, ως μία βιώσιμη μέθοδο καθαρισμού του εδάφους, απαιτείται μία διεπιστημονική ερευνητική προσπάθεια, με τη συνεργασία βιολόγων, χημικών, μικροβιολόγων και μηχανικών περιβάλλοντος.

10 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- **Γ. Αϊβαλάκης, Γ. Καραμπουρνιώτης, Κ. Φασσέας** (2005). *Γενική Βοτανική.*
- **Ι. Δροσόπουλος** (1992). *Η Ανόργανη Διατροφή των Φυτών.*
- **Ζαμπετάκης Λεωνίδας** (2000). *Αποκατάσταση εδαφών διά της μεθόδου της φυτοεξυγίανσης, παρουσίαση μαθηματικού μοντέλου για την πρόσληψη ξενοβιοτικών ουσιών από φυτά.* Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης
- **Ζαμπετάκης Α. Λ. , Μανιος Β.Θ και Καρατζάς Γεώργιος (2005)** *Καινοτομικές Μέθοδοι Εξυγίανσης ρυπασμένων εδαφών και υπογεών υδάτων. Η τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης*. Heleco '05, ΤΕΕ, Αθήνα, 3-6 Φεβρουαρίου 2005/ 5η Διεθνής Έκθεση και Συνέδριο για την Τεχνολογία Περιβάλλοντος
- **Καλογεράκης Ν.** (2006). *Βιολογικές Μέθοδοι Εξυγίανσης Περιβάλλοντος (Τεχνική βιο-εξυγίανσης περιβάλλοντος), Bioremediation.*
- **Καραμπουρνιώτης** (2003). *Φυσιολογία Καταπονήσεων των Φυτών.*
- **Τζομπανόγλου Δέσποινα** (2001). *Η χρήση φυτών για την εξυγίανση εδαφών ρυπασμένων από βαρέα μέταλλα –Pb –As, μία σύνοψη.* Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης
- **Alexander Martin** (1999). *Biodegradation and Bioremediation.* Academic Press, London, 2nd Edition
- **Azaizeh Hassan, Salhami Nazir, Zita Sebesvari, Shardendu Shardendu and Hendrick Emons** (2006). *Phytoremediation of selenium using sub-surface-flow constructed wetland*. International Journal of Phytoremediation 8, 187-198
- **Baker Katherine and Herson Diane** (1994). *Bioremediation.*Mc Graw-Hill, Inc
- **Banuelos G.S** (2001). *The green technology of selenium phytoremediation.* BioFactors 14, 255-260
- **Banuelos G. S. and. Mayland H. F** (2000). *Absorption and Distribution of Selenium in Animals Consuming Canola Grown for Selenium Phytoremediation*. Ecotoxicology and Environmental Safety 46, 322-328, Environmental Research, Section B
- **Banuelos G.S., R. Mead and G.J. Hoffman** (1993). *Accumulation of selenium in wild mustard irrigated with agricultural effluent*. Agriculture, Ecosystems and Environment 43, 119-126
- **Combs Gerald F. Jr** (2001). *Review article, Selenium in Global Food Systems.* British Journal of Nutrition, 85, 517-547.

- **Crites Ron and Tchobanoglous George** (1998**)**. *Small and Decentralized Wastewater Management Systems.*
- **Cunningham, S.D., J.W. Huang, J. Chen, and W.R. Berti** (1996). *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*. 212; pp 87
- **de Souza M. P., Huang C. P. A., Chee N., Terry N.** (1999). *Rhizosphere bacteria enhance the accumulation of selenium and mercury in wetland plants.* Planta 209, 259-263
- **Dialynas Emmanuel** (2002). *Constructed Wetlands for the Mediterranean Region*. Submitted for the Master of Science, the University of Leeds
- **Eapen Suzan, D'Souza S. F.** (2005). *Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals*. Biotechnology Advances 23, 97-114.
- **E.I. El-Shafey** (2007). *Sortion of Cd(II) and Se(IV) from aqueous solution using modified rice husk.* Journal of Hazardous Material.
- **EPA.:** (www.**epa**.gov/)
- **F.A.O.:** www.fao.org
- **FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations) and WHO (World Health Organization)** (2004). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*.
- **Haddadin M.S.Y., Khattari S., Caretto Daniela, Robinson R.K.** (2001). *Potential Intake of Selenium by the inhabitants of different regions in Jordan*. Nutrition & Food Science, Vol.31, No.5, 230-233
- **Hawkesford Malcom J. and Zhao Fang-Jie** (2007). *Review, Strategies for increasing the selenium content of wheat,* Journal of Cereal Science.
- **Lasat Mitch M.** (2002). *Phytoextraction of toxic metals: A review of Biological Mechanisms.* Journal of Environmental Quality 31: 109-120.
- **LeDuc Danika and Terry Norman** (2005) *Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water.* Journal of industrial microbiology & biotechnology ;32(11-12):514-20
- **Munier-Lamy C., Deneux-Mustin S., Mustin C., Merlet D., Berthelin J., Leyval C.** (2007). *Selenium bioavailability and uptake as affected by four different plants in a loamy clay soil with particular attention to mycorrhizae inoculated ryegrass.* Journal of Environmental Radioactivity xx, 1-11
- **Nyam News** (2005). *Selenium, Nutrition and Health*. September Nos. 1&2

- **Pulford I.D. and Watson C.** (2003). *Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review*. Environment International 29, 529– 540
- **Prabha K. Padmavathiamma and Loretta Y. Li.** (2007). *Phytoremediation Technology: Hyper-accumulation metals in plants.* Water Air Soil Pollut (2007) 184:105–126
- **Reed, Sherwood C., Ronald W. Crites, and E. Joe Middlebrooks** (1995). *Natural Systems for Waste Management and Treatment*. 2nd Edition. McGraw Hill, Inc, USA.Inc, USA.
- **Schnoor, J. L., L.A. Licht, S.C. McCutcheon, N.L. Wolf, and L.H. Carreira** (1995) *Phytoremediation of organic and nutrient contaminants*. Environmental Science & Technology, 29(7): 318-323
- **Smith.** *Mycorrhiza in relation to Citrus Seedling Development*. Department of Agricultural Biochemistry, Waite Agricultural Research Institute, Glen Osmond, SA, 5064
- **Srivastava Mrittunjai, Ma Lena Q**. **and Cotruvo Joseph** (2005). *Uptake and distribution of selenium in different fern species*. International Journal of Phytoremediation 7 (1): 33-42
- **Stolz JF and Oremland RS.** (1999). *Bacterial respiration of arsenic and selenium.* FEMS Microbiol Rev, 23(5):615-27.
- **University of Minesota, Biocatalysis/Biodegradation Database** http://umbbd.msi.umn.edu/index.html
- **World Health Organisation (WHO)** (1987). *International Programme on Chamical Safety, Environmental Health Criteria 58: Selenium*.
- **Wu Lin** (2004). *Review of 15 years ofresearch on ecotoxicology and remediation of land contaminated by agricultural drainage sediment rich in selenium.* Ecotoxicology and Environmental Safety 57, 257-269.
- **Xiaoe Yang, Ying Feng, Zhenli He and Peter J. Stoffella** (2005). *Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation*. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 18, 339–353
- **Yoon J., Cao X., Zhou Q., Ma L.** (2006). *Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site*. Science of the Total Environment 368 (2006) 456–464

- **Zhao Fang-Jie, Lopez-Benito Javier, Gray Colin, Whalley Richard, Clark Lawrence and McGrath Steve** (2007). *Effects on soil compaction and irrigation on the concetrations of selenium and arsenic in wheat grains.* Science of Total Environment 372, 433-439
- **Zhang YiQiang and Moore Johnnie N.** (1997). *Interaction of selenate with a wetland sediment*. Applied Geochemistry, Vol. 12, pp. 685-691, 1997