



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΦΥΤΡΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΣΠΟΡΩΝ, ΤΡΙΩΝ
ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΥΠΕΡΣΥΣΣΩΡΕΥΤΩΝ Ni, ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΣΤΗΝ
ΑΓΡΟΕΞΟΡΥΞΗ**

Άννα-Μαρία Κουρνιανού
Ελπίδα-Μαρία Κωσταρά
Φωτεινή Τζεμπελίκου

Επιβλέπων καθηγητής: Δημήτριος Κύρκας

ΕΔΙΠ Α

Κωστακιοί Άρτα, Σεπτέμβριος 2021

SEED GERMINATION PROPERTIES OF FREE NICKEL
HYPERACCUMULATOR WITH POTENTIAL FOR Ni AGROMINING

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή

Κωστακιοί Άρτας, 24 Σεπτεμβρίου 2021

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγητής

Κύρκας Δημήτριος,

2. Μέλος επιτροπής

Μάντζος Νικόλαος,

3. Μέλος επιτροπής

Πατακιούτας Γεώργιος,

© Κουρνιανού, Άννα-Μαρία, 2021.

Κωσταρά, Ελπίδα-Μαρία, 2021.

Τζεμπελίκου, Φωτεινή, 2021.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία είναι εξ ολοκλήρου αποτέλεσμα δικής μου ερευνητικής εργασίας, δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) για τη συγγραφή της περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία.

Κουρνιανού, Άννα-Μαρία

Κωσταρά, Ελπίδα-Μαρία

Τζεμπελίκου, Φωτεινή

Υπογραφές

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστούμε θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μας κύριο Δημήτριο Κύρκα καθώς επίσης και τον κύριο Νικόλαο Μάντζο για την βοήθεια, τις συμβουλές και τις απαραίτητες οδηγίες ώστε να ολοκληρώσουμε πλήρως την παρούσα εργασία. Πάνω απ' όλα όμως τους ευχαριστούμε για την απόλυτη εμπιστοσύνη που έδειξαν στο πρόσωπό μας. Τέλος, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε η μία την άλλη για την άψογη συνεργασία μας, την υπομονή και την προσήλωση που δείξαμε όλο αυτόν τον καιρό.

Με εκτίμηση,
Άννα-Μαρία Κουρνιανού
Ελπίδα-Μαρία Κωσταρά
Φωτεινή Τζεμπελίκου

ΑΦΙΕΡΩΜΕΝΗ

Δικαιωματικά στις οικογένειές μας που αποτελούν πάντα το στήριγμά μας καθώς και στους φίλους που ήταν δίπλα μας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο και σκοπός της παρούσας πειραματικής πτυχιακής εργασίας αποτελεί η διερεύνηση της βλαστικότητας και της φυτρωτικής ικανότητας των σπερμάτων τριών αυτοφυών φυτικών ειδών της περιοχής της Πίνδου. Τα φυτά είναι υπερσυσσωρευτές μετάλλων και συγκεκριμένα του νικελίου, με προοπτική την χρήση τους στην αγροεξόρυξη (Agromine).

Η εργασία χωρίζεται σε δύο βασικά μέρη. Στο πρώτο μέρος συγκεντρώνονται πληροφορίες γύρω από τα σερπεντινικά εδάφη, όπως είναι τα γεωλογικά στοιχεία αλλά και η οικολογία τους. Επιπλέον, παρουσιάζονται τα φυτά υπερσυσσωρευτές που αποτελούν το κεντρικό ενδιαφέρον της εργασίας, καθώς επίσης και οι μηχανισμοί συσσώρευσης αυτών. Τέλος γίνεται αναφορά στην εφαρμογή της αγροεξόρυξης αλλά και στην περιγραφή δημιουργίας του σπόρου.

Στο δεύτερο μέρος της πτυχιακής εργασίας, δίνεται η αναλυτική περιγραφή της πειραματικής διαδικασίας που ακολουθήθηκε, σε συνδυασμό με την συλλογή υλικού που αφορά τα τρία αυτοφυή φυτά *Centaurea thracica*, *Bornmuellera tymphaea* και *Bornmuellera emarginata* με γεωγραφικές αναφορές και χαρακτηριστικά γνωρίσματα αυτών. Στο τέλος παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα των πειραμάτων και τα συμπεράσματα.

Λέξεις κλειδιά: νικέλιο, φυτά υπερσυσσωρευτές, σερπεντινικά εδάφη, αγροεξόρυξη, βλάστηση σπόρων

ABSTRACT

The study was aimed to investigate the germination of three native plant seeds of the Pindos region that act as metal super accumulators, namely nickel, with a view to their use in agro-mining. The study is divided into two main parts. The first part gathers information about serpentine soils, such as geological data and their ecology. In addition, the super-accumulative plants are analyzed, which are the main interest of the work, as well as the mechanisms of their accumulation. The reference to the agromining, but also to the description of the creation of the seed was considered remarkable. In the second part of the study, all the above are completed with the detailed description of the experimental process followed in combination with the material collection concerning the three native plants; *Centaurea thracica*, *Bornmuellera tymphaea* and *Bornmuellera emarginata* with their geographical references and features.

Keywords: *nickel, supercharged plants, serpentine soils, agromining*

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	8
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ	12
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	13
1.ΓΕΩΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΣΕΡΠΕΝΤΙΝΙΚΩΝ ΕΔΑΦΩΝ	14
1.1Ορισμός σερπεντινικών εδαφών	14
1.2 Ισορροπία ασβεστίου/μαγνησίου στα σερπεντινικά εδάφη	15
1.3 Ανάπτυξη φυτών στα σερπεντινικά εδάφη	15
1.4 Γεωλογικό υπόβαθρο	16
1.5 Βιοδιαθεσιμότητα Ni και φυτοτοξικότητα στα σερπεντινικά εδάφη	18
1.6 Προβληματισμοί γύρω από τα σερπεντινικά εδάφη	20
2. ΦΥΤΑ- ΥΠΕΡΣΥΣΣΩΡΕΥΤΕΣ	23
2.1 Ιστορικά και ορισμός υπερσυσσώρευσης	23
2.2 Φυτά- υπερσυσσωρευτές Ni	23
3.ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ	26
3.1 Κύρια βήματα της υπερσυσσώρευσης μετάλλων	27
3.2 Κίνηση του μετάλλου στο φυτό	28
3.3 Μηχανισμοί συσσώρευσης νικελίου	31
3.4 Φυτοεξυγίανση: Φυτοεξόρυξη- Φυτοδιήθηση-Φυτοσταθεροποίηση	32
4. AGROMINE	37
4.1 Life Agromine	38
5. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ	40
5.1 Αναπαραγωγή του σπόρου	40
	9

5.2 Ανατομία- Μορφολογία του σπόρου	41
5.3 Η βλάστηση των σπόρων	42
5.4 Βλαστικότητα σπόρων	43
5.5 Καθαρότητα σπόρου	43
5.6 Ζωτικότητα σπόρου	44
5.7 Λήθαργος σπόρων	44
5.8 ISTA- Διεθνής Ένωση δοκιμών των σπόρων	45
6. ΦΥΤΑ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΣΤΗΝ ΑΓΡΟΕΞΟΡΥΞΗ	46
7. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	54
7.1.1 Συλλογές σπόρων	54
7.1.2 Επεξεργασία σπόρων	55
7.1.2.1 Αποξήρανση	55
7.1.2.2 Καθαρισμός των σπόρων	56
7.1.2.3 Αποθήκευση	57
7.2 Όργανα – Υλικά – Αντιδραστήρια.	58
7.2.1 Υλικά – Σκεύη	58
7.2.2 Όργανα	58
7.2.3 Αντιδραστήρια	58
7.3 Διαδικασία πειράματος.	59
7.3.1 Αποστείρωση υλικών	59
7.3.2 Η απολύμανση του φυτικού υλικού	59
7.3.3 Παρασκευή συγκεντρώσεων Ni	62
7.3.4 Τοποθέτηση σπόρων στα τρυβλία	62
7.3.5 Σχέδιο του πειράματος	64
7.3.6 Στατιστική επεξεργασία	67
8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	68
9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ	78
10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	80
11. ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ/ ΣΥΝΔΕΣΕΙΣ	85

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Συγκεντρώσεις μετάλλων στα υπέργεια τμήματα υπερσυσσωρευτών.....σελ. 24	24
Πίνακας 2: Φυτά υπερσυσσωρευτές με την εκτιμώμενη βιομάζα και τη συγκέντρωση των μετάλλων.....σελ. 25	25
Πίνακας 3: Ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος, για κάθε επανάληψη, που όλα τα τρυβλία έχουν σπόρους που έχουν βλαστήσει και ημέρες όπου έχει επιτευχθεί το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας.....σελ. 70	70
Πίνακας 4: Ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος, για κάθε επανάληψη, που όλα τα τρυβλία έχουν σπόρους που έχουν βλαστήσει και ημέρες όπου έχει επιτευχθεί το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας.....σελ. 73	73
Πίνακας 5: Ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος, για κάθε επανάληψη, που όλα τα τρυβλία έχουν σπόρους που έχουν βλαστήσει και ημέρες όπου έχει επιτευχθεί το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας.....σελ. 76	76
Πίνακας 6: Μήκη υποκοτυλίου 20 μέρες μετά την βλάστηση.....σελ. 77	77

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση των μεταφορέων και των συμπλόκων που σχηματίζονται σε ένα επιδερμικό και σε ένα κύτταρο του μεσόφυλλου. 29	29
Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση πρόσληψης και μετακίνησης των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα του φυτού..... 34	34
Εικόνα 3: Σχηματική διαδικασία απομάκρυνσης μετάλλων από το νερό..... 35	35
Εικόνα 4: Διαδικασία φυτοσταθεροποίησης η οποία αποσκοπεί στον περιορισμό των βαρέων μετάλλων στο έδαφος..... 36	36
Εικόνα 5: Διαδικασία της αγροεξόρυξης. Πηγή: LIFE Agromine,» 2020 37	37
Εικόνα 6: Σχηματική απεικόνιση σπόρου μπιζελιού (δικότυλου) και καλαμποκιού (μονοκότυλου). 42	42
Εικόνα 7: Σχηματική εικόνα του φυτού <i>Centaurea thracica</i> που απεικονίζει τα άνθη, το βλαστό και τα φύλλα του φυτού..... 48	48
Εικόνα 8: Άνθη του φυτού <i>Centaurea thracica</i> 48	48
Εικόνα 9: Καρπός από το φυτό <i>Bornmuellera tymphaea</i> 50	50
Εικόνα 10: Άνθη του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> 51	51
Εικόνα 11: Αποξηραμένοι καρποί από το φυτό <i>Bornmuellera emarginata</i> 52	52
Εικόνα 12: Άνθη από το φυτό <i>Bornmuellera emarginata</i> 52	52
Εικόνα 13: Περιοχή συλλογής του φυτού <i>Centaurea thracica</i> 54	54
Εικόνα 14: Περιοχή συλλογής των φυτών <i>Bornmuellera tymphaea</i> και <i>Bornmuellera emarginata</i> 55	55
Εικόνα 15: Καθαρισμένοι και αποξηραμένοι σπόροι του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> 56	56
Εικόνα 16: Καθαρισμένοι και αποξηραμένοι σπόροι του φυτού <i>Bornmuellera emarginata</i> 57	57
Εικόνα 17: Ξηραντήρας που χρησιμοποιήθηκε για τον περιορισμό της υγρασίας 57	57
Εικόνα 18: Κλίβανος υγρής αποστείρωσης 59	59
Εικόνα 19: Απολύμανση φυτικού υλικού σε μαγνητικό αναδευτήρα..... 60	60
Εικόνα 20: Διαδικασία απολύμανσης των σπόρων με ανάδευση..... 60	60
Εικόνα 21: Απολυμασμένοι σπόροι του φυτού <i>Bornmuellera emarginata</i> 61	61
Εικόνα 22: Απολυμασμένοι σπόροι του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> 61	61
Εικόνα 23: Τοποθέτηση απολυμασμένων σπόρων στα τρυβλία 62	62
Εικόνα 24: Τρυβλία Petri που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή του πειράματος 63	63
Εικόνα 25: Εικόνα στην οποία απεικονίζεται ο θάλαμος στον οποίο τοποθετούνταν οι σπόροι. 63	63
Εικόνα 26: Διάγραμμα στο οποίο απεικονίζονται στην πρώτη στήλη τα τρία φυτά, στην δεύτερη οι δύο διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας, στην τρίτη οι συγκεντρώσεις Ni και στην τέταρτη οι συνθήκες βλάστησης 64	64
Εικόνα 27: Αρχική τοποθέτηση των σπόρων στα τρυβλία 65	65
Εικόνα 28: Οι σπόροι του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> κατά την πρώτη μέτρηση 5 ^η - 6 ^η μέρα μετά την σπορά..... 65	65

Εικόνα 29: Οι σπόροι του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> κατά την πρώτη μέτρηση 9 ^η – 10 ^η μέρα μετά την σπορά.....	65
Εικόνα 30: Οι σπόροι του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> κατά την πρώτη μέτρηση 12 ^η – 15 ^η μέρα μετά την σπορά.....	66
Εικόνα 31: Οι σπόροι του φυτού <i>Bornmuellera emarginata</i> κατά την πρώτη μέτρηση 19 ^η -20 ^η μέρα μετά την σπορά.....	66
Εικόνα 32: Οι βλαστημένοι σπόροι του φυτού <i>Centaurea thracica</i> στο τέλος του πειράματος.....	66
Εικόνα 33: Μέτρηση του μήκους της ρίζας.....	67
Εικόνα 34: Μέτρηση του μήκους της ρίζας.....	67

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 1 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Centaurea thracica</i> στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C.....	σελ. 68
Γράφημα 2 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Centaurea thracica</i> στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C.....	σελ. 69
Γράφημα 3 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Centaurea thracica</i> στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C.....	σελ. 69
Γράφημα 4 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Centaurea thracica</i> στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C.....	σελ. 70
Γράφημα 5 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C.....	σελ. 71
Γράφημα 6 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C.....	σελ. 72
Γράφημα 7 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C.....	σελ. 72
Γράφημα 8 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Bornmuellera tymphaea</i> στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C.....	σελ. 74
Γράφημα 9 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Bornmuellera emarginata</i> στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C.....	σελ. 74
Γράφημα 10 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Bornmuellera emarginata</i> στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C.....	σελ. 75
Γράφημα 11 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Bornmuellera emarginata</i> στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C.....	σελ. 75
Γράφημα 12 Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού <i>Bornmuellera emarginata</i> στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C.....	σελ. 81

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα θέμα, το οποίο απασχολεί πολύ τα τελευταία χρόνια τον επιστημονικό μας κλάδο, τον κλάδο της Γεωπονίας, είναι τα «μεταλλόφυτα» γνωστά και ως φυτά υπερσυσσωρευτές. Με τον όρο « υπερσυσσωρευτές » καλούνται τα φυτικά είδη εκείνα που έχουν την ικανότητα να προσλαμβάνουν και να συγκεντρώνουν ιδιαίτερα υψηλές ποσότητες μετάλλων στα υπέργεια τμήματά τους.

Πριν από κάποια χρόνια, ξεκίνησε το επιστημονικό ενδιαφέρον και μελέτες γι' αυτά τα φυτά, πολλά από τα οποία απαντώνται ως αυτοφυή είδη στην Ελλάδα. Επιπλέον, βρέθηκε πως στη χώρα μας υπάρχουν εκτάσεις σερπεντινικών εδαφών, κατάλληλες για καλλιέργεια τέτοιων ειδών. Με αυτά τα στοιχεία λοιπόν και έχοντας προχωρήσει οι έρευνες, βρεθήκαμε απέναντι στην αναζήτηση εφαρμογής της αγροεξόρυξης (Agromining) η οποία θα συμβάλλει σημαντικά στην αποκατάσταση των εδαφών, στην προστασία του περιβάλλοντος και στην αύξηση του εισοδήματος των αγροτών. Ως αγροεξόρυξη νικελίου ονομάζεται η καλλιέργεια φυτών υπερσυσσωρευτών του μετάλλου με σκοπό την παραγωγή νικελίου από το έδαφος.

Στην παρούσα εργασία λοιπόν το κύριο θέμα βασίζεται στα φυτά υπερσυσσωρευτές νικελίου (Ni) καθώς το νικέλιο έχει μεγάλη ζήτηση. Συγκεκριμένα διερευνήθηκαν οι κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης, η εποχή σποράς και η συγκέντρωση του νικελίου στο υπόστρωμα των σπόρων τριών αυτοφυών ειδών της Πίνδου υπερσυσσωρευτών νικελίου. Η εργασία παρουσιάζει τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας, η οποία στοχεύει στην ορθή και έγκυρη καλλιέργεια των συγκεκριμένων φυτικών ειδών.

1.ΓΕΩΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΣΕΡΠΕΝΤΙΝΙΚΩΝ ΕΔΑΦΩΝ

1.1Ορισμός σερπεντινικών εδαφών

Τα σερπεντινικά εδάφη, αποτελούνται από μια απροσδιόριστα καθορισμένη σειρά υποστρωμάτων που προέκυψαν από την αποσάθρωση πετρωμάτων τα οποία χαρακτηρίζονταν από υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου και μαγνησίου. Η βασική ορυκτή σύνθεση των σερπεντινικών εδαφών οφείλεται στο ένυδρο πυριτικό άλας του μαγνησίου ($Mg_3Si_2O_5(OH)_4$), παραγόμενο από την αποσάθρωση ολιβινών και πυροξένων. Οξείδιο του σιδήρου και χρώμιο είναι τα πιο συνηθισμένα επιπρόσθετα υλικά που συμβάλλουν στη δημιουργία αυτών των εδαφών. Ο όρος ‘σερπεντινικά’ χρησιμοποιείται συχνά για να περιγράψει εδάφη αυτού του τύπου, αλλά αυτή η χρήση οδηγεί πολλές φορές σε μια έλλειψη ακρίβειας για τον ορισμό της ορυκτής σύνθεσης τους (Arianoutsou et al. 1993).

Τα σερπεντινικά εδάφη μπορούν γενικά να διακριθούν από το γκριζοπράσινο ή κοκκινωπό χρώμα τους, το πολύ λεπτό μαλακό υπόστρωμα τους και τη θαμνώδη ή περιορισμένης ανάπτυξης βλάστηση, με φυτά που έχουν μικρά δερματώδη φύλλα. Η βλάστηση που αναπτύσσεται σε αυτά παρουσιάζει συχνά ιδιαίτερα χαρακτηριστικά (Freitas et al. 2004).

Τα σερπεντινικά εδάφη πολύ συχνά περιέχουν μια ποικιλία από στοιχεία πέρα από το μαγνήσιο και το πυρίτιο. Μέταλλα, όπως το νικέλιο, το κοβάλτιο και το χρώμιο υπάρχουν σε αυτά τα εδάφη σε υψηλές συγκεντρώσεις. Αυτή η συσσώρευση των παραπάνω στοιχείων προκύπτει από την ιονοανταλλαγή του νικελίου, του κοβαλτίου και του σιδήρου με το μαγνήσιο που υπάρχει στους κρυστάλλους του ένυδρου πυριτικού άλατος του μαγνησίου (Arianoutsou et al., 1993).

Παρόλο που όλα τα σερπεντινικά εδάφη προέρχονται από την αποσάθρωση άλλων εδαφών, η διαδικασία της αποσάθρωσης και του εδαφικού σχηματισμού καθορίζεται από το κλίμα, το τοπογραφικό ανάγλυφο της περιοχής καθώς και από τη βιολογική δραστηριότητα. Ως αποτέλεσμα, είναι πολύ δύσκολο να γίνουν γενικεύσεις όσον αφορά τη περιεκτικότητα τους σε θρεπτικά (Arianoutsou et al. 1993). Περιέχουν πάντως συχνά ένα μικρό σχετικά αριθμό μικροθρεπτικών και σε αντίθεση με άλλα όξινα πυριτικά εδάφη, το pH τους ποικίλει από βασικό έως και υπερβασικό (pH 5,5-8) (Stevanovic et al. 2003).

1.2 Ισορροπία ασβεστίου/μαγνησίου στα σερπεντινικά εδάφη

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα σερπεντινικά εδάφη χαρακτηρίζονται από υψηλές συγκεντρώσεις μαγνησίου. Οι απόλυτες και σχετικές συγκεντρώσεις ασβεστίου (χαμηλές συγκεντρώσεις) και μαγνησίου στα σερπεντινικά εδάφη, ενδεχόμενα συνεισφέρουν στον καθορισμό της γονιμότητας τους. Παρόλο που είναι γνωστό ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις μαγνησίου στους φυτικούς ιστούς περιορίζουν την ανάπτυξη των φυτών, τα ενδημικά των σερπεντινικών εδαφών είναι εξαιρετικά ανθεκτικά σ' αυτές, σε σχέση με τα μη-σερπεντινικά συγγενή τους είδη. Οι χαμηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου ενδεχόμενα αποτελούν έναν επιπρόσθετο παράγοντα της μειωμένης γονιμότητας τους. Η επίδραση αυτή αποδίδεται λιγότερο στην ανεπάρκεια του στοιχείου, και περισσότερο στα αυξημένα επίπεδα τοξικότητας του νικελίου και άλλων βαρέων μετάλλων, όταν οι συγκεντρώσεις του ασβεστίου στους ιστούς των φύλλων είναι χαμηλές. Παρόλο που η φύση της διαδικασίας του μεταβολισμού του ασβεστίου στα ενδημικά φυτά των σερπεντινικών εδαφών δεν είναι πλήρως γνωστή, αναμφίβολα η λίπανση με ασβέστιο μπορεί να αυξήσει τη γονιμότητα τους. Τα ενδημικά φυτά των σερπεντινικών εδαφών είναι πιο ανθεκτικά στην ισορροπία Ca/Mg στους ιστούς τους. Στα φυτά που δεν φύονται σε σερπεντινικά εδάφη, υποστηρίζεται πως αναλογία Ca/Mg μικρότερη από 1.0, ενδεχόμενα είναι επιβλαβής για την ανάπτυξη τους (Arianoutsou et al. 1993).

1.3 Ανάπτυξη φυτών στα σερπεντινικά εδάφη

Τα σερπεντινικά εδάφη χαρακτηρίζονται από χαμηλή διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων (N, P, K) και αυξημένα επίπεδα βαρέων μετάλλων, όπως το νικέλιο (Ni), το κοβάλτιο (Co) και το χρώμιο (Cr) (Proctor and Woodell, 1975).

Τα περισσότερα φυτά δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε αυτά τα εδάφη εξαιτίας της τοξικότητας τους, καθώς και της δυσμενούς, για την ανάπτυξη των φυτών, αναλογίας ασβεστίου και μαγνησίου. Επίσης, η ανάπτυξη των φυτών σ' αυτά τα εδάφη περιορίζεται λόγω των φυσικών χαρακτηριστικών τους. Τα σερπεντινικά εδάφη είναι κυρίως επιφανειακά και βραχώδη, με μικρή ικανότητα αποθήκευσης νερού, γεγονός που μειώνει το διαθέσιμο, για την ανάπτυξή τους, χώρο κυρίως όσον αφορά τα ριζικά συστήματά τους. Επιπλέον, το σκούρο χρώμα τους αυξάνει αρκετά την επιφανειακή θερμοκρασία (Arianoutsou et al. 1993).

Παρά τους περιορισμούς αυτούς, πολλά είδη φυτών έχουν αναπτύξει τη δυνατότητα να εκμεταλλεύονται το βασικό pH, την έλλειψη ασβεστίου, την παρουσία μετάλλων καθώς και τις δυσμενείς φυσικές ιδιότητες των εδαφών αυτών και να αναπτύσσονται σ' αυτά. Συνεπώς, τα σερπεντινικά εδάφη υποστηρίζουν πλούσια σε είδη οικοσυστήματα, τα οποία απαρτίζονται από είδη χλωρίδας, πανίδας και μικροοργανισμών που έχουν εξειδικευτεί στο να ανθίστανται ή να αποφεύγουν τις τοξικές επιδράσεις των μετάλλων (Whiting et al. 2004). Αυτός είναι και ο κύριος λόγος που η χλωρίδα των εδαφών αυτών διαφέρει σημαντικά από αυτή που εντοπίζεται σε ασβεστολιθικά ή πυριτικά υποστρώματα, χαρακτηριζόμενη ως ταξινομικά και φυτογεωγραφικά διακριτή (Stevanovic et al. 2003).

Οι περιορισμοί αυτοί τα καθιστούν ένα αφιλόξενο περιβάλλον για τα φυτά, που τα οδηγούν σε διάφορες στρατηγικές προσαρμογής, όπως για παράδειγμα η υπερσυσσώρευση μετάλλων που έχει ως σκοπό τη λιγότερο δαπανηρή μεταβολικά άμυνα (Proctor and Woodell, 1975).

1.4 Γεωλογικό υπόβαθρο

Το περιβάλλον των σερπεντινικών εδαφών είναι ιδιαιτέρως πιεστικό για την ανάπτυξη των φυτών. Οι περιορισμοί είναι πολλοί και συχνά συναντώνται είδη που έχουν αναπτύξει ιδιαίτερες προσαρμογές, καθορίζοντας έτσι τα χαρακτηριστικά της σερπεντινικής βλάστησης (Proctor and Woodell, 1975).

Τα κυριότερα χαρακτηριστικά των σερπεντινικών εδαφών που επηρεάζουν δυσμενώς την ανάπτυξη των φυτών είναι (Kazakou et al. 2008):

- η χαμηλή αναλογία ασβεστίου προς μαγνήσιο (Ca/Mg).
- η περιορισμένη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών, όπως άζωτο (N), φώσφορος (P) και κάλιο (K).
- οι αυξημένες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων, όπως ο σίδηρος (Fe), το νικέλιο (Ni), το κοβάλτιο (Co), το χρώμιο (Cr), και το μαγγάνιο (Mn).

Εκτός από τα χημικά χαρακτηριστικά των σερπεντινικών εδαφών, η ανάπτυξη των φυτών περιορίζεται και από τα φυσικά χαρακτηριστικά των εδαφών αυτών, όπως ότι είναι πετρώδη, με υψηλό βαθμό διάβρωσης, χαμηλά ποσοστά υγρασίας και αυξημένες θερμοκρασίες. Λόγω των χαρακτηριστικών αυτών, τα συγκεκριμένα εδάφη εμφανίζουν μικρή παραγωγικότητα, μεγάλο βαθμό ενδημισμού και διαφορετικούς τύπους βλάστησης συγκριτικά με τις γειτονικές περιοχές (Baker et al. 2000). Εξαιτίας των παραπάνω

χαρακτηριστικών, τα φυτά προκειμένου να μπορέσουν να επιβιώσουν έχουν αναπτύξει διάφορες προσαρμογές. Έτσι, τα σερπεντινικά είδη αναπτύσσονται και λαμβάνουν θρεπτικά στοιχεία με χαμηλό ρυθμό, έχουν ευέλικτη μορφή, αποθηκεύουν θρεπτικές ουσίες για να τις χρησιμοποιήσουν σε περίπτωση έλλειψής τους, επενδύουν σε άμυνες κατά των φυτοφάγων οργανισμών και σε ανάπτυξη μυκόρριζων, έχουν επιλεκτικότητα (δηλαδή μπορούν να προσλάβουν Ca όταν υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση Mg). Επιπλέον, αναπτύσσουν ισχυρό ριζικό σύστημα για να προσλαμβάνουν ευκολότερα το νερό και τα θρεπτικά στοιχεία (Proctor and Woodell, 1975).

Η χρήση των μεταλλόφυτων ενδείκνυται σε περιπτώσεις ρυπασμένων εδαφών με βαρέα μέταλλα, για την επανασταθεροποίηση (phytostabilization) του εδάφους και την απόκτηση κάποιας φυτοκάλυψης ή για την φυτό-εξαγωγή του μετάλλου (phytoextraction) μέσω των φυτών-υπερσυσσωρευτών. Επίσης, χρησιμοποιούνται και για την φυτό-εξόρυξη (phytomining) εμπορικά αξιοποιήσιμων μετάλλων.

Η βλάστηση που διαμορφώνεται στα σερπεντινικά εδάφη είναι ιδιαίτερη. Διακρίνεται από σπάνια είδη και μεγάλο βαθμό ενδημισμού, προσελκύοντας το ενδιαφέρον των οικολόγων, οι οποίοι τα χαρακτηρίζουν «οικολογικά νησιά» (Arianoutsou et al, 1993). Τα οικοσυστήματα των σερπεντινικών εδαφών περιλαμβάνουν δύο κατηγορίες φυτών:

- Τα φυτά με ανοχή σε σερπεντινικά εδάφη (serpentine tolerant plants ή serpentine facultative plants), τα οποία μπορούν να επιβιώσουν σε αυτά τα εδάφη αλλά αναπτύσσονται καλύτερα αλλού.
- Τα σερπεντινικά ενδημικά είδη (serpentinicolous ή serpentine endemics ή serpentine obligate plants) τα οποία αναπτύσσονται αποκλειστικά σε σερπεντινικά εδάφη και δεν βρίσκονται πουθενά αλλού.

Αναφορικά με τον ενδημισμό των σερπεντινικών οικοσυστημάτων που έχει προσελκύσει έντονο ενδιαφέρον, υπάρχουν διάφορες προσεγγίσεις, όπως αναφέρουν οι Kazakou et al. 2008. Υπάρχουν δύο τύποι σερπεντινικών ενδημικών ειδών:

- Τα «εξαντλημένα» είδη (depleted species), τα οποία είχαν ευρύτερη εξάπλωση στο παρελθόν και τώρα έχουν περιοριστεί σε σερπεντινικά εδάφη (Stebbins 1942).
- Τα «νησιωτικά» είδη (insular species), τα οποία προήλθαν από λιγοστά άτομα ενός πληθυσμού που ήταν ήδη προσαρμοσμένα σ' έναν άλλο τύπο εδάφους και τα οποία βρέθηκαν απομονωμένα σε σερπεντινικό έδαφος (Stebbins 1942).

Για τον τρόπο που αναπτύσσεται ο σερπεντινικός ενδημισμός, ο Kruckeberg 1984 υποστήριξε πως η ικανότητα επιβίωσης ενός είδους στο σερπεντινικό περιβάλλον εξαρτάται από το βαθμό προσαρμογής του σε αυτό. Σε περιοχές όπου παρατηρούνται εναλλαγές σερπεντινικών με άλλου τύπου εδάφη, ένα είδος που αναπτύσσεται σε μη σερπεντινικό έδαφος μπορεί να εξαπλωθεί και στο γειτονικό σερπεντινικό έδαφος. Κάποια άτομα του πληθυσμού αυτού που ενδεχομένως διαθέτουν χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν να επιβιώσουν στο σερπεντινικό έδαφος θα αποδειχθούν και τα πιο επιτυχημένα. Από αυτά, στην πορεία του χρόνου και με τη δράση της φυσικής επιλογής μπορεί να δημιουργηθεί ένας σερπεντινικός πληθυσμός διαφοροποιημένος από τον γειτονικό μη σερπεντινικό. Αυτοί οι δύο πληθυσμοί του είδους, ο σερπεντινικός και ο μη σερπεντινικός, χαρακτηρίζονται ως διαφορετικοί οικότυποι. Εάν ο μη σερπεντινικός οικότυπος αποδειχθεί μη ανταγωνιστικός και τελικά εξαφανιστεί τότε παραμένει ο σερπεντινικός και το είδος χαρακτηρίζεται ως «εξαντλημένο σερπεντινικό ενδημικό». Ο Kruckeberg 1984 ισχυρίστηκε, επίσης, ότι αν σπέρματα από τον πληθυσμό ενός είδους που αναπτύσσεται σε σερπεντινικό έδαφος μεταφερθούν τυχαία σε σερπεντινικό έδαφος άλλης περιοχής μπορεί να δημιουργηθεί ένας νέος διαφορετικός οικότυπος, ο οποίος να εξελιχθεί σε ένα «νησιωτικό σερπεντινικό ενδημικό είδος».

1.5 Βιοδιαθεσιμότητα Ni και φυτοτοξικότητα στα σερπεντινικά εδάφη

Προκειμένου να αναλυθεί η έννοια της βιοδιαθεσιμότητας (bioavailability), χρειάζεται να προηγηθεί η ερμηνεία της βιοαποικοδόμησης (biodegradation) και της βιοαποκατάστασης (bioremediation). Γίνεται λόγος για βιοαποικοδόμηση όταν ένα μόριο απλοποιείται μερικώς ή καταστρέφεται ολικώς από ρυπαντές μέσα από σύνθετες αντιδράσεις και με τη συμβολή φυτών και μικροοργανισμών. Όταν η βιοαποικοδόμηση γίνεται σκόπιμα, τότε γίνεται λόγος για βιοαποκατάσταση. Η φυσιολογική δυναμική των φυτών και των μικροοργανισμών χρησιμοποιείται από τις τεχνικές της βιοαποκατάστασης προκειμένου η συγκέντρωση των περιβαλλοντικών ρύπων να ελαττωθεί ή να εξαιρεθεί και να φτάσει στα επιτρεπτά επίπεδα (EPA, Report on Bioavailability of Chemical Wastes With Respect to the Potential for Soil Bioremediation). Οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιούνται εφαρμόζονται είτε απευθείας στην επιβαρυσμένη περιοχή είτε κατόπιν της απομάκρυνσής της από το πεδίο (Reeves et al. 1999).

Στο πλαίσιο αυτό, έχουν δοθεί οι ακόλουθοι ορισμοί για την βιοδιαθεσιμότητα. Σύμφωνα με τον Alexander (1999), «Η διαθεσιμότητα πολλών χημικών ουσιών επηρεάζεται από

διάφορες διεργασίες. Σε κάποιες από αυτές, το μίγμα είναι ευδιάκριτο και μπορεί να απομακρυνθεί άμεσα με συμβατικές μεθόδους εξαγωγής. Η απόδειξη της μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας αυτών των μιγμάτων είναι η παρατηρούμενη μείωση του ρυθμού βιοαποικοδόμησης. Σε άλλες διεργασίες, το μίγμα μπορεί να απομακρυνθεί μόνο με τεχνικές έντονης εξαγωγής. Η απόδειξη μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας ενός τέτοιου μίγματος είναι η παρατηρούμενη μείωση του ρυθμού βιοαποικοδόμησης με το χρόνο ή η σχεδόν ολοκληρωτική αντίσταση του μορίου στην καταστροφή που προκαλούν τα μικρόβια».

Επιπλέον, επισημαίνει ότι «Κάποιες φορές θεωρείται συνώνυμος της τοξικότητας για ένα ή παραπάνω είδη, κάποιες φορές ισοδύναμος με τη βιοαποικοδόμηση από μικροοργανισμούς και κάποιες άλλες συνώνυμος της λήψης ή της αφομοίωσης. Ένα μίγμα μπορεί να αφομοιωθεί και, αν και τοξικό, να μην προκαλέσει ζημιά διότι δεν μεταφέρθηκε σε ιστό, κύτταρο ή ενδοκυτταρική περιοχή όπου η τοξικότητα μπορεί να εκδηλωθεί. Κάποια χημική ουσία μπορεί να προσληφθεί από μικροβιακά κύτταρα αλλά και σε αυτήν την περίπτωση να μην βιοαποικοδομείται λόγω έλλειψης των απαραίτητων καταβολικών ενζύμων. Ωστόσο, οι όροι 'λήψη' και 'αφομοίωση' προσεγγίζουν καλύτερα τη βιοδιαθεσιμότητα. Λόγω της μικρής έρευνας πάνω στο θέμα ο όρος βιοδιαθεσιμότητα μπορεί να χρησιμοποιείται εμπειρέχοντας και τις έννοιες της τοξικότητας και της βιοαποικοδόμησης». Οι Scow and Johnson (1997) υποστηρίζουν ότι «Ο όρος βιοδιαθεσιμότητα προσδιορίζει την κατάσταση του χημικού κλάσματος που είναι διαθέσιμο για λήψη ή/και μεταφορά από ζώντες οργανισμούς. Αν και σχετίζεται αρχικά με την οικοτοξικότητα, και συχνά αναφέρεται σε οργανικούς και χημικούς ρυπαντές, ο όρος βιοδιαθεσιμότητα σχετίζεται και με φυσικά οργανικά συστατικά. Ωστόσο, το «πρόβλημα» της βιοδιαθεσιμότητας υπάρχει για τους μικροοργανισμούς πολύ περισσότερο διάστημα από ότι έχει υπάρξει η παρουσία ξеноβιοτικών χημικών στο περιβάλλον. Η απορρόφηση, η μη διαλυτότητα και άλλες σχετικές διεργασίες ελέγχουν τη βιοδιαθεσιμότητα πολλών ρυπαντών στους μικροοργανισμούς στο έδαφος και τα ιζήματα».

Όσον αφορά την βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων, είναι αρκετά δύσκολο να απομακρυνθούν από το περιβάλλον. Λόγω της φύσης τους (ανόργανες ουσίες) δε μπορούν να εφαρμοστούν οι τεχνικές της βιοαποκατάστασης. Ακόμα και αν αλλάξει η χημική τους φύση με τις διαδικασίες της αναγωγής ή της οξειδωσης, η αρχική τους φύση δεν αλλάζει.

Οι παράγοντες που επιδρούν στην βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων είναι η μορφή τους και η συνολική τους συγκέντρωση, το pH και η ορυκτολογία του εδάφους, η θερμοκρασία, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και το συνολικό οργανικό περιεχόμενο. Η βιοδιαθεσιμότητα είναι ακόμη πιο δύσκολο να εκτιμηθεί λόγω του αλληλοσυσχετισμού και

των εποχιακών διακυμάνσεων των παραγόντων αυτών (Reeves et al. 1999). Η συγκέντρωση του νικελίου (Ni) στο έδαφος είναι περίπου 50 mg/kg εδάφους. Στα εδάφη που καλλιεργούνται συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 3-1000 mg /kg. Στα σερπεντινικά εδάφη η ποσότητα του Ni είναι πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με άλλα εδάφη, πάνω από 20 έως 40 φορές (Kabata-Pendias, 2001). Σε αυτή την περίπτωση, εμφανίζεται συχνά τοξικότητα Ni. Η τοξικότητα των σερπεντινικών εδαφών εντείνεται και από την παρουσία υψηλών ποσοτήτων Cr, Fe και Mg και πολύ χαμηλών Ca. Καθώς η ικανότητα του εδάφους να δεσμεύει τα μέταλλα ενισχύεται με την προσθήκη οργανικής ουσίας και αύξησης του pH, χρησιμοποιούνται συχνά πρακτικές όπως η ασβέστωση, για να εξυγιανθούν εδάφη μολυσμένα με Ni (Reeves et al. 1999).

Η διαθεσιμότητα του Ni επηρεάζεται ιδιαίτερα από την προέλευση και το pH του εδάφους. Όταν η τιμή του pH μειώνεται η διαθεσιμότητα του Ni αυξάνεται. Επίσης, από το pH επηρεάζεται και η πρόσληψή του Ni από τα φυτά, ενώ όταν το pH μεταβάλλεται μπορεί να μειωθεί η προσρόφηση του Ni από το έδαφος με συνεπακόλουθη αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του. Ειδικότερα, η απορρόφηση του νικελίου από τα φυτά είναι ευκολότερη όταν βρίσκεται στην ιονική μορφή Ni²⁺.

Η κινητοποίηση ή η ακινητοποίηση των μετάλλων εξαρτάται από τη φύση της οργανικής ουσίας του εδάφους, η οποία δεσμεύει το Ni και έτσι μειώνεται η διαθεσιμότητά του στα φυτά και η εμφάνιση συμπτωμάτων τοξικότητας. Τα συμπτώματα αυτά εκδηλώνονται όταν τα επίπεδα νικελίου ξεπερνούν τα 10 ppm στα ευαίσθητα φυτά και τα 50 ppm στα ανθεκτικά. Εξαιρούνται βέβαια, τα φυτά που δρουν ως υπερσυσσωρευτές νικελίου μιας και οι συγκεντρώσεις Ni σε αυτά είναι ήδη υψηλές. Ως συνέπεια της φυτοτοξικότητας από Ni, τα φύλλα του φυτού κιτρινίζουν και νεκρώνουν, καθώς αλληλεπιδρούν το Ni με το Fe (7) (Kabata-Pendias, 2001).

1.6 Προβληματισμοί γύρω από τα σερπεντινικά εδάφη

Αρκετοί προβληματισμοί εγείρονται σχετικά με την επίδραση των σερπεντινικών εδαφών στην ανθρώπινη υγεία. Η πιθανή εμφάνιση αυξημένων συγκεντρώσεων μετάλλων στον νερό ή στο έδαφος μπορεί να οδηγήσουν σε υψηλές συγκεντρώσεις στις καλλιέργειες, δημιουργώντας εύλογες ανησυχίες για την ανθρώπινη υγεία. Σύμφωνα με τους Fernandez et al. 1999, αναφέρθηκαν αυξημένα επίπεδα Cr και Ni σε καλλιεργούμενα φυτά σε

σερπεντινικά εδάφη στην Ισπανία. Αυτά τα υψηλά επίπεδα τροποποιήθηκαν με την προσθήκη οργανικής ουσίας στα εδάφη.

Αν και υπάρχει ανησυχία, τα μέχρι τώρα στοιχεία ότι πρόκειται για απειλή για την υγεία είναι ελάχιστα. Οι Miranda et al. 2009 εξέτασαν τις συγκεντρώσεις μετάλλων σε ιστούς βοοειδών που εκτρέφονταν σε σερπεντινικούς λειμώνες της Ισπανία και εντόπισαν επίπεδα Ni και Cu που ενδεχομένως να επηρέασαν την υγεία των ζώων, αλλά δεν ήταν αρκετά υψηλά για να απειλήσουν την ανθρώπινη υγεία. Η συγκέντρωση των μετάλλων σε φυτικούς ιστούς και στην συνέχεια στα τρόφιμα μπορεί να είναι μεγαλύτερη σε περιοχές που υπάρχουν υπερσυσσωρευτές μετάλλων. Το 2003 διεξήχθη μια πρωτοποριακή μελέτη που έδειξε αυξημένα επίπεδα Ni σε τρόφιμα που προήλθαν από ένα φυτό υπερσυσσώρευσης νικελίου. Επίσης, οι Meindl και Ashman 2013 δείχνουν ότι το νέκταρ με υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων (όπως μπορεί να συμβεί σ' ένα φυτό υπερσυσσωρευτή) μπορεί να επηρεάσει τις κινήσεις των μελισσών και να επηρεάσει την αναπαραγωγή των φυτών. Ορισμένες σερπεντινικές περιοχές συνδέονται με μορφές αμιάντου, οι οποίες έχουν συνδεθεί με καρκίνους του πνεύμονα που προκαλούνται από εισπνοή σωματιδίων στον αέρα. Είναι ενδιαφέρον ότι οργανισμοί που είναι εγγενείς σε σερπεντινικά σημεία μπορεί να αποκαταστήσουν προβλήματα ρύπανσης από αμιάντο. Το 2009, αναφέρθηκε ότι ορισμένοι σπάνιοι μύκητες στις ιταλικές οφιοειδείς περιοχές καταστρέφουν τις ίνες αμιάντου. Η αποκατάσταση των διαταραγμένων σερπεντινικών περιοχών μπορεί επίσης, να μειώσει τις ίνες αμιάντου στον αέρα. Όπως αποδείχθηκε, το 2009, επιτεύχθηκε μείωση κατά 50 % των αερομεταφερόμενων ινών από περιοχές που είχαν κάλυψη από φυτά 15-40% (Meindl και Ashman, 2013). Τέλος, οι σερπεντινικές περιοχές μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην επίλυση της κλιματικής αλλαγής παγκοσμίως. Μια πρόσφατη μελέτη (Power, et al. 2013) παρουσιάζει πώς θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ο σερπεντινίτης για να μειώσει το διοξείδιο του άνθρακα, ένα σημαντικό αέριο θερμοκηπίου. Η τεχνολογία αυτή εκμεταλλεύεται το γεγονός ότι η διαδικασία της σερπεντινίωσης περιλαμβάνει την παραγωγή ανθρακικών ορυκτών κατά την υδροθερμική μεταβολή του σερπεντινίτη. Η απομόνωση του άνθρακα θα μπορούσε να γίνει με εξόρυξη του ορυκτού και χρήση του σε χημικούς αντιδραστήρες ή με έγχυση διαλυμάτων που περιέχουν διοξείδιο του άνθρακα σε υπόγειους σερπεντινικούς σχηματισμούς. Αν και αυτό μπορεί να βοηθήσει στην αντιμετώπιση του προβλήματος της ρύπανσης του διοξειδίου του άνθρακα στον πλανήτη, οι πιθανές αρνητικές επιπτώσεις αυτής της τεχνολογίας στη βιοποικιλότητα των σερπεντινικών περιοχών είναι σημαντικές (Power, et al. 2013).

Οι ιδιαιτερότητες των σερπεντινικών εδαφών συμβάλλουν στη διαμόρφωση μιας γλωρίδας με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και προσαρμογές, η οποία μπορεί να αξιοποιηθεί αναλόγως δίνοντας λύση σε σύγχρονα προβλήματα που σχετίζονται με το περιβάλλον. Υπάρχει ωστόσο, περιθώριο περαιτέρω διερεύνησης και βελτιστοποίησης των γνώσεων γύρω από τα εδάφη αυτά.

2. ΦΥΤΑ- ΥΠΕΡΣΥΣΣΩΡΕΥΤΕΣ

2.1 Ιστορικά και ορισμός υπερσυσσώρευσης

Τα φυτικά είδη τα οποία αναπτύσσονται σε εδάφη που έχουν φυσικά αυξημένα επίπεδα βαρέων μετάλλων χαρακτηρίζονται ως μεταλλόφυτα. Δεδομένου ότι τα υψηλά επίπεδα ορισμένων βαρέων μετάλλων συχνά συνδέονται με σερπεντινικά εδάφη, πολλά μεταλλόφυτα βρίσκονται σε αυτά τα εδάφη.

Ο όρος «υπερσυσσώρευση» εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το 1976 (Jaffre et al. 1976) σε μια μελέτη σχετικά με τις συγκεντρώσεις Ni στο δενδρώδες είδος της Νέας Καληδονίας *Sebertia acuminata* (Sapotaceae) που σήμερα ταξινομείται ως *Pycnandra acuminata*. Στη συζήτηση για τις συγκεντρώσεις Ni σε είδη των γενών *Homalium* (Salicaceae) και *Hybanthus* (Violaceae) από διάφορα μέρη του κόσμου, οι Brooks et al. (1977) χρησιμοποίησαν τον όρο για να υποδείξουν ένα καθορισμένο όριο συγκέντρωσης (1000 mgg⁻¹) για το Ni. Μια παρόμοια έννοια χρησιμοποιήθηκε νωρίτερα από τους Jaffre και Schmid (1974), οι οποίοι αναφέρθηκαν σε ορισμένα φυτά πλούσια σε Ni από τα υπερβασικά εδάφη της Νέας Καληδονίας ως «υπερνικελιοφόρα», δηλ. «ακραίοι φορείς νικελίου».

Η υπερσυσσώρευση είναι η διεργασία απορρόφησης, μετακίνησης και συσσώρευσης στο εσωτερικό ορισμένων φυτών ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων. Φυτά που έχουν τέτοιες ικανότητες συσσώρευσης μετάλλων ονομάζονται υπερσυσσωρευτές (hyperaccumulators) και έχουν την δυνατότητα να συσσωρεύουν στην φυτική τους μάζα 50-100 φορές υψηλότερες συγκεντρώσεις συγκεκριμένων μετάλλων από ότι τα καλλιεργούμενα φυτά. Μέχρι σήμερα έχουν προσδιοριστεί περισσότερα από 400 φυτικά είδη, που ανήκουν σε τουλάχιστον 45 οικογένειες φυτών, με ικανότητες συσσώρευσης βαρέων μετάλλων (έως και 5% του ξηρού τους βάρους) εκ των οποίων κάποια χρησιμοποιούνται ήδη σε προγράμματα φυτοεξυγίανσης.

2.2 Φυτά- υπερσυσσωρευτές Ni

Ο Reeves (1992), ήταν ο πρώτος που ανακάλυψε την υπερσυσσώρευση Ni στο *Alyssum bertoloni* στην Ιταλία (Minguzzi and Vergnano 1948; Reeves et al. 1999). Αν και τα φυτά με υψηλή περιεκτικότητα σε Ni ήταν αναγνωρισμένα για τουλάχιστον τέσσερις δεκαετίες (Brooks 1987; Boyd et al 1994), οι οικολογικές λειτουργίες της υπερσυσσώρευσης Ni σε

φυτικούς ιστούς δεν είχαν διερευνηθεί ευρέως. (Baker and Walker 1990: Boyd et al 1994). Πλέον είναι γνωστό ότι η στοιχειακή συγκέντρωση των χημικών στοιχείων στους φυτικούς ιστούς μπορεί να ποικίλει ευρέως μεταξύ των φυτικών ειδών (Reeves and Baker 2000: Martens and boyd 2002). Το εύρος των συγκεντρώσεων των χημικών στοιχείων που ξεπερνούν τα «κανονικά» επίπεδα τιμών μπορούν να ταξινομηθούν είτε ως συσσώρευση (ασυνήθιστα αυξημένη συγκέντρωση) είτε ως υπερσυσσώρευση (εξαιρετικά αυξημένα επίπεδα). Για το Ni, οι Reeves and Baker (2000: Martens and Boyd 2002) ορίζουν το φυσιολογικό εύρος των φυτικών συγκεντρώσεων για το μαγνήσιο και τον ψευδάργυρο είναι πάνω από 10.000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (ppm) (1% ξηρού βάρους), για το νικέλιο, το κοβάλτιο, το χαλκό, το χρώμιο και το μόλυβδο πάνω από 1.000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (0,1% ξηρού βάρους) ενώ για το κάδμιο και το αρσενικό είναι 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (0,01% ξηρού βάρους).

Πίνακας 1. Συγκεντρώσεις μετάλλων στα υπέργεια τμήματα υπερσυσσωρευτών

<u>Μέταλλα</u>	<u>Συγκέντρωση (mg/kg^{-1} ξ.β.)</u>
Zn, Mn	10.000
Co, Cu, Ni, As, Se	1.000
Cd	100

Τα ‘μεταλλόφυτα’ είναι χαρακτηριστικά φυτά των περιοχών εξόρυξης μεταλλευμάτων και γενικότερα φυτά που εντοπίζονται σε εδάφη με υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων. Στον εξελικτικό χρόνο, τα φυτά αυτά ανέπτυξαν μηχανισμούς ανοχής έναντι της τοξικότητας των μετάλλων. Η δυνατότητα επιβίωσης των φυτών σε τέτοιου είδους περιβάλλοντα είναι αποτέλεσμα δεκάδων, εκατοντάδων ή και εκατομμυρίων ετών ισχυρών επιλεκτικών πιέσεων, όπου τα εδάφη πλούσια σε μέταλλα ασκούσαν σε αυτά. Αυτό οδήγησε τα φυτά να αναπτύξουν βιολογικούς μηχανισμούς που να μπορούν να αποθηκεύουν και να αποτοξινώνουν τα μέταλλα στους ιστούς τους. Οι βιολογικοί αυτοί μηχανισμοί διαφέρουν από είδος σε είδος. Η πλειοψηφία των φυτών έχει τη δυνατότητα να εμποδίζει την αποθήκευση των μετάλλων στις ρίζες τους και να τα συγκρατεί στο υπέργειο τμήμα τους, δηλαδή στα φύλλα και στο βλαστό. Υπάρχουν ορισμένα είδη μεταλλόφυτων που χαρακτηρίζονται ως υπερσυσσωρευτές, αφού μπορούν και αποθηκεύουν στους βλαστούς τους συγκεντρώσεις πάνω από 2% του ξηρού τους βάρους. Γενικά, ως υπερσυσσωρευτές ορίζονται τα φυτά που στο υπέργειο τμήμα τους περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων. Οι υπερσυσσωρευτές Ni είναι ταξινομικώς ποικίλοι και εμφανίζονται σε

τουλάχιστον 22 οικογένειες φυτών, αν και σχεδόν οι μισές βρίσκονται στην οικογένεια Brassicaceae (ειδικά στο γένος *Alyssum* και *Thlaspi*).

Πίνακας 2: Φυτά υπερσυσσωρευτές με την εκτιμώμενη βιομάζα και τη συγκέντρωση των μετάλλων. Πηγή: (Van der Ent et al 2018)

Element	Species	Concentration	Biomass	Reference
		$\mu\text{g g}^{-1}$	t ha^{-1}	
Au	<i>Brassica juncea</i>	57	5	Anderson et al. (2005)
Cd	<i>Noccaea caerulescens</i> 'Ganges'	3000	4	Reeves et al. (2001)
Co	<i>Haumaniastrum robertii</i>	10,200	4	Brooks et al. (1977)
Cu	<i>Haumaniastrum katangense</i>	8356	5	Brooks et al. (1977)
Pb	<i>Thlaspi rotundifolium</i>	8200	4	Reeves and Brooks (1983)
Mn	<i>Macadamia neurophylla</i>	55,000	30	Jaffré (1979)
Ni	<i>Alyssum bertolonii</i>	13,400	9	Minguzzi and Vergnano (1948)
	<i>Berkheya coddii</i>	17,000	18	Morrey et al. (1992)
Se	<i>Astragalus pattersoni</i>	6000	5	Cannon (1960)
Tl	<i>Iberis intermedia</i>	3070	8	Leblanc et al. (1999)
U	<i>Atriplex confertifolia</i>	100	10	
Zn	<i>Noccaea caerulescens</i>	10,000		

3.ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ

Η διερεύνηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην υπερσυσσώρευση των μετάλλων συχνά έχει οδηγήσει στην παρατήρηση ακραίων προσαρμογών που αφορούν τους μηχανισμούς ομοιόστασης στα φυτά και στον εντοπισμό των βασικών παραγόντων που επηρεάζουν την κατανομή των μεταλλικών στοιχείων και την ανθεκτικότητα στους φυτικούς ιστούς. Η μελέτη των φυτών υπερσυσσωρευτών επιτρέπει επίσης, την εξέταση των μηχανισμών που διέπουν την εξέλιξη αυτού του εξαιρετικά προσαρμοστικού χαρακτηριστικού (Shahzad et al, 2010). Ενώ τα είδη υπερσυσσωρευτές συσσωρεύουν ένα συγκεκριμένο μέταλλο όταν αναπτύσσονται στο φυσικό τους περιβάλλον, ορισμένα είδη έχουν την ικανότητα να συσσωρεύουν διάφορα μέταλλα όταν καλλιεργούνται *ex situ*. Αυτό είναι καλά τεκμηριωμένο για το είδος υπερσυσσωρευτή νικελίου *Noccaea caerulescens* που ανήκει στην οικογένεια *Brassicaceae*. Το είδος αυτό συσσωρεύει εκτός του Ni, Zn και Cd (Peer et al 2003). Αυτή η ικανότητα ανεκτικότητας και συσσώρευσης αρκετών μετάλλων πιθανόν να αντικατοπτρίζουν το μικρό βαθμό εξειδίκευσης των μηχανισμών που εμπλέκονται στη μεταφορά μετάλλων. Πολλά μέταλλα που συσσωρεύονται από είδη φυτών υπερσυσσωρευτών (π.χ. Zn, Ni, Mn) είναι απαραίτητα θρεπτικά συστατικά αλλά καθίστανται τοξικά σε υψηλές συγκεντρώσεις για τα περισσότερα φυτά. Επομένως, όλα τα φυτικά είδη έχουν αναπτύξει μηχανισμούς ρύθμισης της ομοιόστασης των βασικών μετάλλων ανάλογα με τις ανάγκες τους και τη διαθεσιμότητα μετάλλων στα εδάφη (Thomine and Vert 2013).

Οι τρέχουσες γνώσεις υποδεικνύουν ότι οι μοριακοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην υπερσυσσώρευση των μετάλλων προέρχονται ουσιαστικά από τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην μεταλλική ομοιόσταση. Από επιστημονική άποψη, το φαινόμενο της υπερσυσσώρευσης των μετάλλων στα φυτά είναι εξαιρετικού ενδιαφέροντος και η κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται σε αυτό το χαρακτηριστικό μπορεί να προσφέρει εργαλεία για την παραγωγή μετάλλων με μικρότερο αντίκτυπο στο περιβάλλον στο εγγύς μέλλον.

3.1 Κύρια βήματα της υπερσυσσώρευσης μετάλλων

Όταν εκτίθενται σε περίσσεια μετάλλων, τα περισσότερα φυτικά είδη υιοθετούν μια αποκαλούμενη στρατηγική αποκλεισμού για να εμποδίσουν την συσσώρευση μετάλλων σε φωτοσυνθετικά ενεργούς φυτικούς ιστούς. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί περιορίζοντας την απορρόφηση μετάλλων από τις ρίζες, αυξάνοντας τη μετακίνηση των μετάλλων από τους ιστούς των ριζών και αυξάνοντας την αποθήκευση μετάλλων στα τοιχώματα και στα χυμοτόπια των κυττάρων των ριζών. Αντιθέτως, η επίτευξη της ικανότητας υπερσυσσώρευσης μετάλλων απαιτεί τροποποιήσεις σε συγκεκριμένους κόμβους του δικτύου μεταλλικής ομοιόστασης για να εξασφαλιστεί ότι η ροή των μετάλλων στο φυτό κατευθύνεται προς τους ιστούς των βλαστών (Kramer, 2010). Σε επίπεδο φυσιολογίας, αυτές οι αλλαγές περιλαμβάνουν ορισμένα ή όλα τα ακόλουθα βήματα:

1. Ενισχυμένη κινητοποίηση του μετάλλου και πρόσληψη του από τις ρίζες.
2. Μια αποτελεσματική ακτινωτή μεταφορά μετάλλων προς τα αγγεία των ριζών, που περιλαμβάνει τη μείωση της αποθήκευσης μετάλλων στα χυμοτόπια των κυττάρων της ρίζας.
3. Αυξημένη μεταφορά του μετάλλου από τη ρίζα στο βλαστό μέσω του ξυλώματος. Αυτό συμβάλλει στην ανάπτυξη της ανθεκτικότητας και επομένως και στην αποτοξίνωση, επιτρέποντας την αποθήκευσή του μετάλλου στους ιστούς του βλαστού.
4. Έναν αποτελεσματικό μηχανισμό για την κατανομή των μετάλλων στους βλαστούς και μια μεγάλη χωρητικότητα αποθήκευσης στα χυμοτόπια. Αποφόρτιση του ξυλώματος μέσω ενός μηχανισμού και κατανομή του μετάλλου στο βλαστός σε συνδυασμό με μία αύξηση της αποθήκευσης στα χυμοτόπια.

Οι διεργασίες που συμβαίνουν στη ρίζα και στο βλαστό διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της ικανότητας υπερσυσσώρευσης του μετάλλου και της ανθεκτικότητας. Οι διεργασίες που γίνονται στη ρίζα είναι υπεύθυνες κυρίως για την υπερσυσσώρευση ενώ αυτές που γίνονται στο βλαστό για την ανθεκτικότητα (Guimaraes et al., 2009). Η διαδικασία συσσώρευσης των μετάλλων στα φυτά, περιλαμβάνει αρχικά την πρόσληψή τους από το έδαφος, μέσω του ριζικού συστήματος. Στην περίπτωση του *T. caerulescens*, εξειδικευμένες πρωτεΐνες στο ριζικό σύστημα του φυτού συμβάλλουν σημαντικά στην ικανότητά του πρόσληψης και συσσώρευσης Zn (Zinc transporter). Το ίδιο ισχύει και για την πρόσληψη και συσσώρευση Cd (Iron regulated transporter). Στη συνέχεια, τα

προσληφθέντα μέταλλα μεταφέρονται στο υπέργειο τμήμα του φυτού και αποθηκεύονται στα κύτταρά του. Στο ξύλωμα του φυτού *Alyssum lesbiacum*, παράγεται ιστιδίνη και με το σχηματισμό συμπλόκων με Ni τα μέταλλα μεταφέρονται με ταχύτατους ρυθμούς από το ριζικό σύστημα του φυτού στο υπέργειο τμήμα του. Κατά την αποθήκευση των μετάλλων στα φυτά, τα μέταλλα αποθηκεύονται σε οργανίδια των φυτικών κυττάρων (compartmentation). Αλλιώς, η αποθήκευσή τους γίνεται με συμπλοκοποίηση (complexation). Στα φυτά συσσωρευτές παράγονται μεγάλες ποσότητες φυτικών οργανικών ενώσεων, στις οποίες αποδόθηκε αρχικά η λειτουργία τους αυτή. Η δημιουργία συμπλόκου που γίνεται με τις φυτικές αυτές ενώσεις και τα μέταλλα, έχει ως αποτέλεσμα να προσλαμβάνονται και να μεταφέρονται ευκολότερα στα φυτά (Cosio et al. 2005).

Η πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά υπερσυσσωρευτές εξαρτάται από τους παρακάτω παράγοντες:

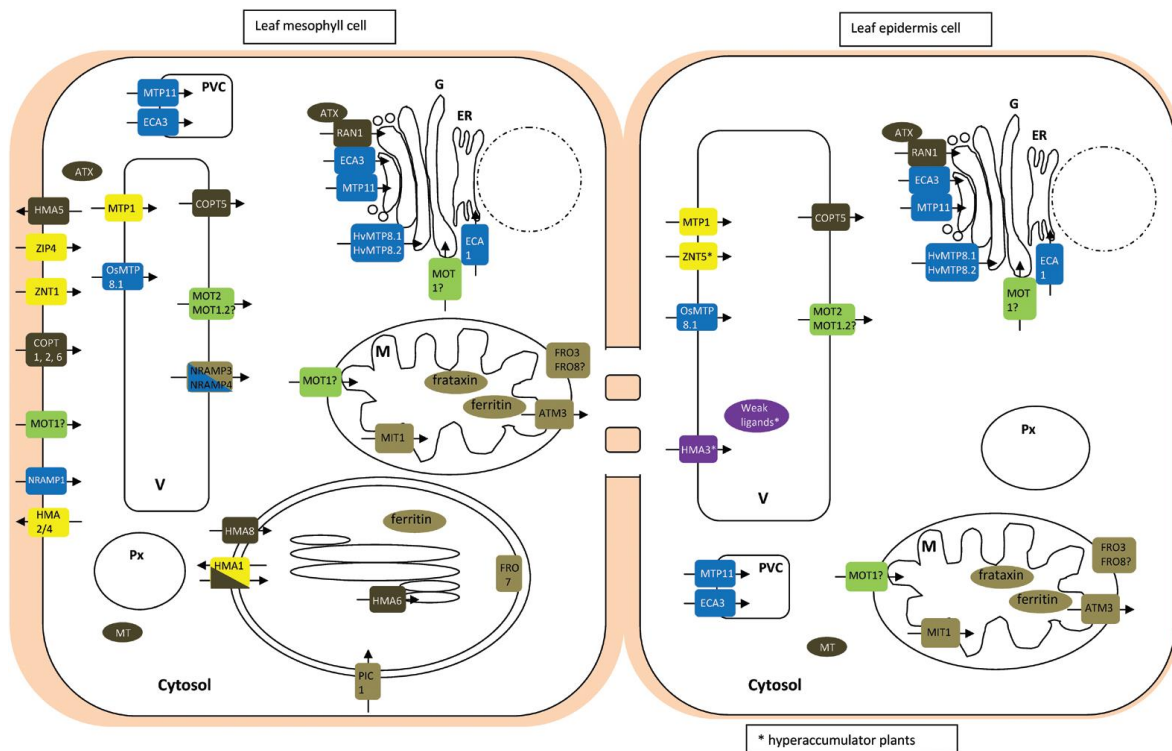
1. Τύπος και συγκέντρωση του μετάλλου.
2. Τύπος και είδος του φυτού.
3. Ηλικία του φυτού.
4. Ρυθμός και συνθήκες ανάπτυξης.
5. Τύπος του εδάφους, καθώς φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά του, όπως περιεκτικότητα σε οργανική ουσία και pH.

3.2 Κίνηση του μετάλλου στο φυτό

Όταν τα ριζικά τριχίδια του ριζικού συστήματος προσλάβουν τα ανόργανα άλατα που έχουν διαλυθεί στο νερό του εδάφους, ακολουθεί η πορεία τους μέσω των αγγείων του ξυλώματος προς τον κεντρικό κύλινδρο της ρίζας. Αφού εισχωρήσουν στα αγγεία, ανεβαίνουν προς το υπέργειο τμήμα του φυτού. Η διαδρομή αυτή, μπορεί να ακολουθήσει δύο οδούς. Από τη μια οδό, μέσω των καναλιών των τοιχωμάτων των κυττάρων και των μεσοκυττάρων χώρων, που ονομάζεται αποπλάστης, το νερό και τα άλατα μεταφέρονται σε πιο μεγάλες ποσότητες και με πιο γοργούς ρυθμούς. Ακολουθώντας την άλλη οδό, τα άλατα και το νερό κινούνται πιο αργά από το ένα κύτταρο στο άλλο μέσω του συμπλάστη, δηλαδή μέσα από τις πλασμοδέσμες και το πρωτόπλασμα (Kramer, 2010). Διαπερνώντας τον πρωτογενή φλοιό μέσω του αποπλάστη, το νερό και τα άλατα φτάνουν στην ενδοδερμίδα. Στο σημείο αυτό, η κίνησή τους προς τον κεντρικό κύλινδρο εμποδίζεται από

την ταινία Caspary ή από τη λιπόφιλη σουβερίνη που βρίσκονται στα ενδοδερμικά κύτταρα. Προκειμένου λοιπόν, να συνεχίσουν την πορεία τους προς τα αγγεία, κινούνται αναγκαστικά μέσω του συμπλάστη (Van der Ent et al., 2013).

Αν και η συσσώρευση των βαρέων μετάλλων στο φυτό, γίνεται στον βλαστό και τα φύλλα, ο ρόλος του ριζικού συστήματος είναι πρωταρχικός ώστε να μεταφερθούν τα μέταλλα από τις ρίζες στο υπέργειο τμήμα του. Σε πειράματα που έγιναν στο *Alyssum bertolonii*, παρατηρήθηκε σε όλη τη διάρκεια σταθερότητα του ανακτημένου νικελίου στη βιομάζα του φυτού και στο νερό. Μετά τη συσσώρευση νικελίου στις ρίζες του, όταν τοποθετήθηκε σε υδατικό μέσο τα αρχικά επίπεδα νικελίου ήταν 20 ppm. Την πρώτη ώρα, οι συγκεντρώσεις του νικελίου στη βιομάζα αυξήθηκαν ραγδαία και έπειτα, συνεχίστηκαν με πιο αργούς ρυθμούς. Στο διάλυμα, σημειώθηκε σημαντική μείωση της συσσώρευσης νικελίου το πρώτο δίωρο και συνεχίστηκε με βραδύτερους ρυθμούς στην συνέχεια (Nedelkoska and Doran, 2000).



Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση των μεταφορέων και των συμπλόκων που σχηματίζονται σε ένα επιδερμικό και σε ένα κύτταρο του μεσόφυλλου.

(Τα ορθογώνια σχήματα δείχνουν τους μεταφορείς στις μεμβράνες ενώ τα ωοειδή αυτά των συμπλόκων. Τα χρώματα αντιπροσωπεύουν τα δεσμευμένα μεταφερόμενα μεταλλικά ιόντα ως εξής: σκούρο γκρι: Cu, καφέ: Fe, μπλε: Mn, πράσινο: Mo, πορτοκαλί: Ni, κίτρινο: Zn, βιολετί: ευρύ φάσμα υποστρώματος, λευκό: έμμεση εμπλοκή στη μεταφορά μετάλλων. Η κατεύθυνση των βελών υποδηλώνει την κατεύθυνση μεταφοράς στο κύτταρο και τα κυτταρικά οργανίδια. V: χυμοτόπιο, PVC: προ-χυμοτοπικό διαμέρισμα, M: μιτοχόνδριο G: σύμπλεγμα Golgi, ER: ενδοπλασματικό δίκτυο, N: πυρήνας, Px: υπεροξειδίσωμα. Τα ερωτηματικά δείχνουν υποθετικό ή αντιφατικό εντοπισμό. Οι μεταφορείς ταυτοποιήθηκαν στο *Arabidopsis thaliana* (Andresen et al, 2018).

Η συγκέντρωση των μετάλλων είναι δυνατή σε συγκεκριμένα σημεία του κυτταρικού και υπο-κυτταρικού επιπέδου του υπέργειου φυτικού τμήματος. Μπορούν να αποθηκευτούν εκεί, διότι η παρουσία τους δεν εμποδίζει τη φυσιολογική λειτουργία των φυτικών κυττάρων και επιπλέον, δεν σημειώνεται λειτουργία μηχανισμών που διασπών τα μεταλλικά σύμπλοκα. Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές έρευνες ώστε να προσδιοριστούν αυτές οι κυτταρικές περιοχές αποθήκευσης των μετάλλων και να κατανοηθούν οι μηχανισμοί που επιτρέπουν στα φυτά να λειτουργούν ως υπερσυσσωρευτές μετάλλων (Bidwell et al, 2004).

Σύμφωνα με τα πορίσματα αυτών των ερευνών, φαίνεται πως σε κυτταρικό επίπεδο οι πιο σημαντικές περιοχές όπου συγκεντρώνονται τα μέταλλα είναι ο επιδερμικός ιστός του βλαστού και οι επιφανειακές δομές του (π.χ. τριχώματα). Στο υπο-κυτταρικό επίπεδο όμως, η εικόνα είναι πιο συγκεχυμένη. Τα συσσωρευμένα μέταλλα βρίσκονται σε μεγαλύτερο βαθμό στον αποπλάστη και τα υπόλοιπα, στα χυμοτόπια των επιδερμικών κυττάρων. Σε φυτά του ίδιου γένους, το *Thlaspi goesginense* και το *Thlaspi arrense*, τα χυμοτόπια που απομονώθηκαν είχαν διαφορετική εικόνα. Στο πρώτο, που λειτουργεί ως υπερσυσσωρευτής νικελίου, τα χυμοτόπια ήταν εμπλουτισμένα με Ni, ενώ στο άλλο, το οποίο δεν έχει ανθεκτικότητα στα μέταλλα, όχι. Επίσης, σε άλλα πειράματα που έγιναν με τη χρήση ακτίνων X σε τρία φυτά υπερσυσσωρευτές νικελίου, τα μεγαλύτερα ποσοστά συσσώρευσης του μετάλλου εντοπίστηκαν στα χυμοτόπια των επιδερμικών κυττάρων του υπέργειου φυτικού τμήματος (Bidwell et al, 2004).

Η κατανομή των μετάλλων στους ιστούς των βλαστών είναι συγκεκριμένη τόσο για το είδος όσο και για το μέταλλο που εξετάζεται. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, τα μέταλλα (Zn, Cd, Ni ή Se) συσσωρεύονται στη βάση των τριχωμάτων και στα χυμοτόπια των επιδερμικών κυττάρων. Αντίθετα, τα κύτταρα του μεσόφυλλου, που είναι η κύρια θέση της φωτοσύνθεσης, συσσωρεύουν χαμηλότερες ποσότητες μετάλλων (Cosio et al, 2005).

Στα χυμοτόπια των επιδερμικών κυττάρων, τα μέταλλα μπορούν να φτάσουν σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις. Υπάρχουν, ωστόσο, εξαιρέσεις. Για παράδειγμα, τα Zn και Cd αποθηκεύονται στα χυμοτόπια κυττάρων του μεσόφυλλου τόσο στους Zn- όσο και στους Cd-υπερσυσσωρευτές *A. halleri* και *Sedum alfredii*. Στον υπερσυσσωρευτή *Sedum plumbizincola*, το Zn συσσωρεύεται κυρίως στα επιδερμικά κύτταρα των φύλλων, αλλά και σε μεγάλες ποσότητες σε κύτταρα του μεσόφυλλου νεαρών φύλλων (Cao et al., 2014). Σε αυτό το είδος, το Cd αποθηκεύεται κυρίως στα κυτταρικά τοιχώματα στα φύλλα. Συσσώρευση Mn σε κύτταρα του μεσόφυλλου παρατηρείται επίσης σε αρκετούς υπερσυσσωρευτές Mn (Peng et al., 2017).

3.3 Μηχανισμοί συσσώρευσης νικελίου

Το νικέλιο θεωρείται σήμερα ως ένα από τα απαραίτητα μικροθρεπτικά στοιχεία για τα φυτά αλλά είναι ελάχιστα γνωστό στους καλλιεργητές. Το Ni είναι δομικό στοιχείο ορισμένων ενζύμων, μεταξύ αυτών της ουρεάσης που είναι πολύ σημαντική για το μεταβολισμό του αζώτου στα φυτά. Με τη βοήθεια της ουρεάσης τα φυτά μετατρέπουν την ουρία σε αμμωνιακό ιόν και το χρησιμοποιούν ως πηγή αζώτου. Σήμερα, πάνω από 400 είδη υπερσυσσωρευτών νικελίου (Ni) έχουν αναγνωριστεί παγκοσμίως. Τα είδη αυτά είναι διάσπαρτα σε περισσότερες από 40 οικογένειες φυτών, κυρίως δικοτυλήδων (Kramer, 2010).

Παρά τη μεγάλη ποικιλομορφία και το ενδιαφέρον για την κατανόηση των υποκείμενων μηχανισμών, καθώς μπορούν να συμβάλλουν στη βελτίωση της φυτοεξόρυξης του Ni, μόνο ένας περιορισμένος αριθμός μελετών έχει επικεντρωθεί στους μοριακούς μηχανισμούς της υπερσυσσώρευσης του Ni. Το Ni είναι ένα βασικό ιχνοστοιχείο για τα φυτά επειδή απαιτείται για τη δραστηριότητα της ουρεάσης (Polacco et al., 2013). Τα φυτά έχουν επομένως αναπτύξει μηχανισμούς για τη ρύθμιση της ομοιόστασης Ni και της υπερσυσσώρευσης Ni που πιθανόν να προέρχονται από αυτούς τους μηχανισμούς. Είναι ενδιαφέρον ότι στους υπερσυσσωρευτές Ni του γένους *Alyssum* αποδείχθηκε ότι η επεξεργασία Mn μειώνει τη συσσώρευση Ni, υποδηλώνοντας ότι σε ορισμένα είδη η υπερσυσσώρευση του Ni μπορεί επίσης να χρησιμοποιήσει μηχανισμούς που εμπλεκονται στην ομοιόσταση του Mn (Morrissey et al. 2009). Η αποτελεσματική πρόσληψη Ni από τις ρίζες των υπερσυσσωρευτών απαιτεί εισαγωγείς διασθενούς μετάλλου (π.χ. ZIP, NRAMP) ή μεταφορείς που είναι ικανοί να φέρουν συζευγμένες μορφές Ni. Στην πρόσληψη Ni από τους υπερσυσσωρευτές μπορεί να εμπλέκονται διάφοροι μεταφορείς. Πράγματι, αρκετά μέλη των οικογενειών ZIP και NRAMP του είδους *Noccaea* έχουν συνδεθεί με τη μεταφορά ή συσσώρευση Ni, αλλά θα απαιτηθούν περαιτέρω μελέτες για να υποστηριχθεί η εμπλοκή τους σε μια αποτελεσματική πρόσληψη Ni.

Η μεγάλη απόσταση που διανύει το Ni κατά τη μεταφορά του από τις ρίζες στους βλαστούς απαιτεί διάφορα βήματα, που περιλαμβάνουν μεταφορείς μετάλλων και χηλικούς παράγοντες που είναι ικανοί να δεσμεύουν το Ni σε διαφορετικά περιβάλλοντα pH. Στους υπερσυσσωρευτές, ένα μεγάλο μέρος του Ni βρίσκεται ως σύμπλοκο με καρβοξυλικά οξέα όπως το κιτρικό και το μηλικό. Αυτά τα σύμπλοκα οργανικών οξέων είναι σταθερά σε όξινα διαμερίσματα, όπως τα χυμοτόπια και το ξυλόλιο (Vert et al., 2002). Στους περισσότερους

υπερσυσσωρευτές που έχουν μελετηθεί, το Ni αποθηκεύεται στα χυμοτόπια των επιδερμικών κυττάρων των φύλλων.

Πολλές από τις ενδείξεις δείχνουν ότι οι μεταφορείς (FPN) / (IREG) διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στη δέσμευση του Ni στα χυμοτόπια (Halimaa et al., 2014). Το τελικό βήμα για τη συσσώρευση του Ni είναι η απομόνωσή του μακριά από οποιεσδήποτε κυτταρικές διεργασίες που θα μπορούσε να διαταράξει. Η απόσπαση συνήθως συμβαίνει στο χυμοτόπιο του φυτού, όπου το μέταλλο πρέπει να μεταφερθεί μέσω του τονοπλάστη. Μπορεί επίσης, να παραμείνει στο κυτταρικό τοίχωμα αντί να διασχίσει την κυτταροπλασματική μεμβράνη στο κύτταρο, καθώς οι θέσεις αρνητικού φορτίου στα κυτταρικά τοιχώματα μπορούν να αλληλεπιδράσουν με πολυσθενή κατιόντα.

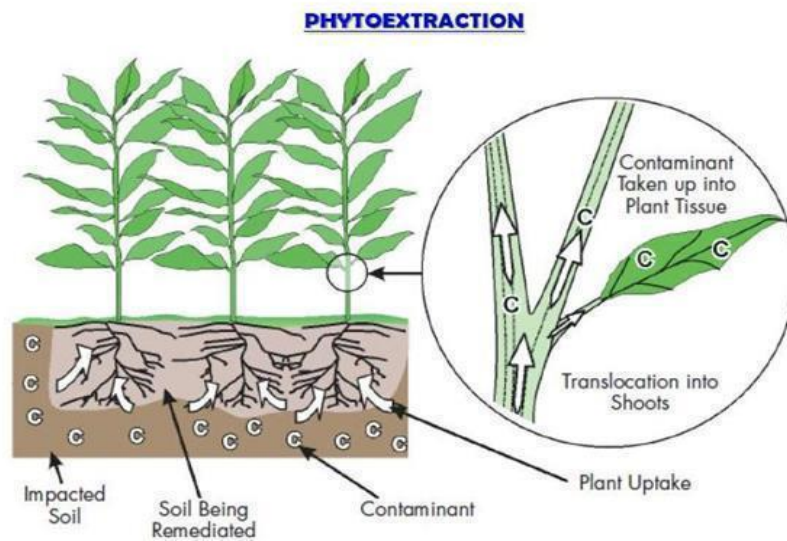
3.4 Φυτοεξυγίανση: Φυτοεξόρυξη- Φυτοδιήθηση-Φυτοσταθεροποίηση

Τα τελευταία χρόνια, η διατήρηση της βιοποικιλότητας αποτελεί σημαντικό στόχο για τη βιομηχανία μεταλλευμάτων. Η φυτοεξυγίανση περιλαμβάνει ένα σύνολο τεχνολογιών που χρησιμοποιούν φυτά για να μειώσουν, να απομακρύνουν ή να ακινητοποιήσουν περιβαλλοντικές τοξίνες, κυρίως αυτές ανθρωπογενούς προέλευσης, με στόχο την αποκατάσταση της περιοχής. Μέχρι σήμερα, οι προσπάθειες φυτοεξυγίανσης έχουν επικεντρωθεί στη χρήση φυτών για την επιτάχυνση της αποικοδόμησης των οργανικών μολυσματικών ουσιών ή για την απομάκρυνση επικίνδυνων βαρέων μετάλλων από το έδαφος ή το νερό. Η φυτοαποκατάσταση μολυσμένων περιοχών έχει απήχηση επειδή είναι σχετικά φθηνή και αισθητικά ευχάριστη για το κοινό σε σύγκριση με εναλλακτικές στρατηγικές αποκατάστασης που περιλαμβάνουν εκσκαφή/αφαίρεση ή χημική επιτόπια σταθεροποίηση/μετατροπή. Η ανθεκτικότητα των μεταλλόφυτων στις υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων, καθιστά τη χρήση τους ενδεδειγμένη ώστε να αποκατασταθούν τα μολυσμένα εδάφη, τόσο από οικονομική όσο και από περιβαλλοντική και κοινωνική άποψη (Whiting et al, 2004). Τα φυτά υπερσυσσωρευτές μετάλλων χρησιμοποιούνται σε βασικές τεχνολογίες που εφαρμόζονται για τη φυτοεπανόρθωση των εδαφών αυτών, όπως είναι η φυτοεξόρυξη (phytomining), η φυτοδιήθηση (phytofiltration) και η φυτοδέσμευση (phytostabilization).

Φυτοεξόρυξη

Τα ενδημικά φυτά των σερπεντινικών εδαφών, εκτός από την ενδεδειγμένη χρήση τους για την αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών, συμβάλλουν σημαντικά στο να αναπτυχθούν περιβαλλοντικές τεχνολογίες, όπως η φυτοεξαγωγή, η οποία περιλαμβάνει την πρόσληψη και μετακίνηση των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα των φυτών (Wong, 2003). Για τη διαδικασία αυτή, μπορούν να χρησιμοποιηθούν περίπου 300 είδη φυτών ως υπερσυσσωρευτές νικελίου, 26 για το κοβάλτιο, 24 για το χαλκό, 16 για τον ψευδάργυρο και 11 για το μαγγάνιο (Anderson et al, 1999). Οι πρώτες απόπειρες φυτοεξόρυξης έγιναν στην Καλιφόρνια την δεκαετία του 1990, με την καλλιέργεια του υπερσυσσωρευτή νικελίου *Streptanthus polygaloides*. Από τα πειράματα αυτά διαπιστώθηκε ότι από κάθε εκτάριο που καλλιεργούνταν με μέτρια λίπανση μπορούσαν να παραχθούν 100 κιλά Ni. Ανάλογες τεχνικές εφαρμόστηκαν και στην Ιταλία, με τη χρήση του *Alyssum bertolinii*, του πρώτου διαπιστωμένου υπερσυσσωρευτή νικελίου. Στην περίπτωση αυτή το Ni που παράχθηκε έφτασε τα 72 κιλά/εκτάριο, ενώ στη Νότια Αφρική με τη χρήση του *Berkheya coddii*, παράχθηκαν 100 κιλά ανά εκτάριο (Anderson et al. 1999). Επίσης, διαπιστώθηκε πως αλλάζοντας τη λίπανση αυξάνεται η παραγωγή νικελίου. Η εμφάνιση του νικελίου παρατηρείται σε εδάφη με τυπικές συγκεντρώσεις (1-200 ppm), ενώ στα σερπεντινικά εδάφη οι συγκεντρώσεις του φτάνουν μέχρι 7000 ppm. Τα επίπεδα αυτά αυξάνονται σημαντικά εξαιτίας διαφόρων ανθρωπογενών δραστηριοτήτων, όπως η χρήση λιπασμάτων και η επεξεργασία λυμάτων. (Nedelkoska and Doran, 2001).

Η τεχνική της φυτοεξόρυξης λοιπόν, χρησιμοποιείται στην περίπτωση του νικελίου για να παραχθεί βιο-μετάλλευμα. Εφαρμόζεται όμως και για να μειωθούν οι συγκεντρώσεις του μολύβδου στο έδαφος και στο νερό. Τα επίπεδα μολύβδου στο περιβάλλον αυξάνονται από τα βιομηχανικά και αστικά απόβλητα, από μεταλλευτικές δραστηριότητες, τη χρήση βενζίνης, εκρηκτικών υλών κ.α. Οι συνέπειες τη ρύπανσης αυτής είναι πολύ σοβαρές καθώς αυξάνεται η τοξικότητα στα φυτά και στα ζώα, προκαλείται απώλεια βλάστησης και υποβαθμίζεται ποιοτικά ο υδροφόρος ορίζοντας. Προκειμένου να μειωθούν οι συγκεντρώσεις μολύβδου στο έδαφος, χρησιμοποιούνται φυτά που δρουν ως υπερσυσσωρευτές μολύβδου, όπως το *Thlaspi rotundi folium* ή άλλα παραγωγικά φυτά, όπως τα μπιζέλια και το καλαμπόκι (Huang et al, 1997).



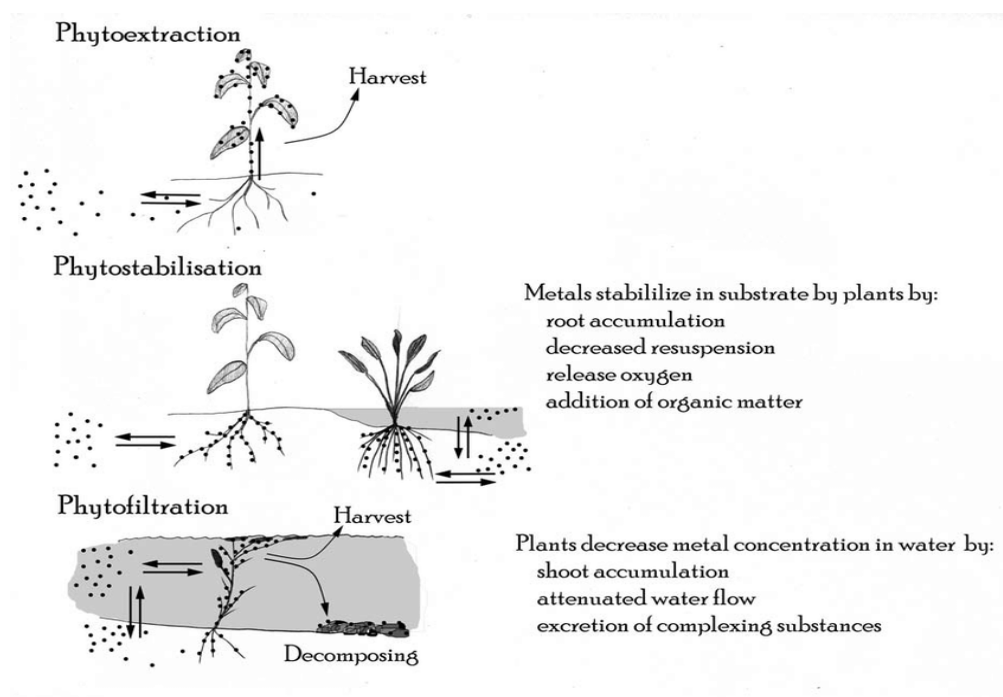
Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση της πρόσληψης και μετακίνησης των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα του φυτού.

Φυτοδιήθηση

Μια ακόμη διαδικασία όπου χρησιμοποιούνται τα μεταλλόφυτα είναι για την απομάκρυνση των μετάλλων από το νερό. Τα μέταλλα απομακρύνονται από τα φυτά ή από οργανισμούς του ριζικού τους συστήματος. Τα φυτά εκείνα που διαπιστώθηκε πως έχουν τη πιο μεγάλη δυνατότητα μείωσης των συγκεντρώσεων μετάλλων στο νερό είναι τα υδροχαρή, όπως ορισμένες ποικιλίες του ηλιάνθου (*Brassica juncea*) (Wong, 2003). Η τεχνική της φυτοδιήθησης εφαρμόστηκε στην Κίνα ώστε να απομακρυνθούν βαρέα μέταλλα από υγρά απόβλητα προερχόμενα από ορυχεία της περιοχής. Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στα απόβλητα αυτά ήταν ιδιαίτερα υψηλές (μόλυβδος 1,6 mg/l, ψευδάργυρος 1,9 mg/l, ολικά στερεά 4635 mg/l, χημικά απαιτούμενου οξυγόνου 14,5 mg/l). Κατά τη διαδικασία χρησιμοποιήθηκε το είδος *Typha latifolia*, μια δεξαμενή επεξεργασίας και μια σταθεροποίησης. Αφού τα απόβλητα επεξεργάστηκαν, η μείωση των επιπέδων του μολύβδου έφτασε το 95% και του ψευδαργύρου το 80%. Επίσης, έχει διαπιστωθεί εργαστηριακά η δυνατότητα του είδους *Medicago sativa* από την Αφρική συγκράτησης ιόντων καδμίου, ψευδάργυρου, μολύβδου και χρωμίου από το νερό. (Lan et al, 1992).

Μια εφαρμογή που βρίσκει η μέθοδος αυτή, είναι όταν πρόκειται να κατασκευαστούν τεχνητοί υδροβιότοποι με την καλλιέργεια υδροχαρών φυτών (*Eichhornia crassipes*, *Lemna minor*, *Azolla pinnata*). Η ιδιότητα των φυτών αυτών παροχής διαλυτού οξυγόνου στο ριζικό σύστημά τους, συμβάλλει στη δημιουργία ευνοϊκών συνθηκών για την δραστηριότητα των

μικροοργανισμών. Άλλο ένα χαρακτηριστικό των υδροχαρών φυτών, είναι η δυνατότητα απορρόφησης και αποθήκευσης διαφόρων μετάλλων (χαλκό, μόλυβδο, κάδμιο) είτε μέσα είτε έξω από τα κύτταρά τους. Έχει διαπιστωθεί πως η υδροπονική καλλιέργεια φυτών ηλίανθου (*Helianthus annuus*) σε διάλυμα με 300 mg L⁻¹ μόλυβδου, μείωσε της συγκέντρωσης του μετάλλου στο 1 mg L⁻¹ μέσα σε διάστημα λίγες ώρες, ενσωματώνοντας ο συγχρόνως στην ριζική μάζα σε ποσοστό 10% ξηρού βάρους.



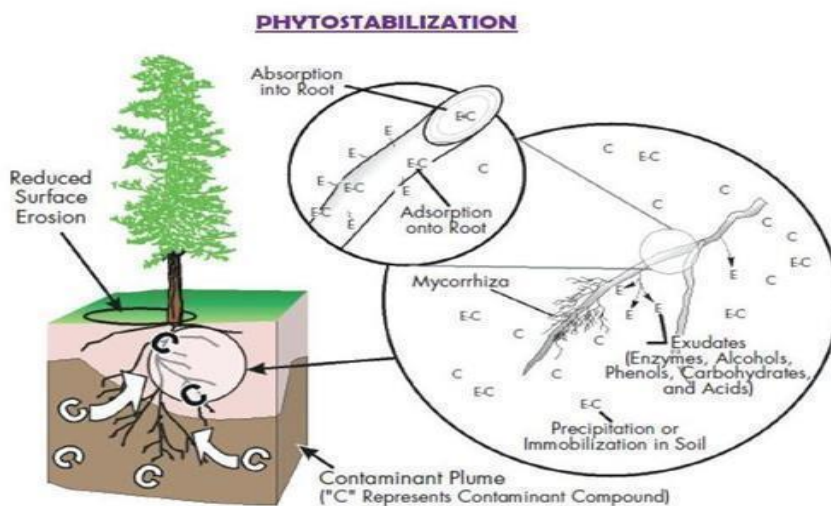
Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας απομάκρυνσης μετάλλων από το νερό.

Φυτοσταθεροποίηση

Ενώ, όπως προαναφέρθηκε, η χρήση της φυτοεξαγωγής αποσκοπεί στην απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων από το έδαφος, με τη φυτοσταθεροποίηση επιδιώκεται ο περιορισμός της διαθεσιμότητάς τους στο έδαφος ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος που μπορεί να προκαλέσει η παρουσία τους. Τα μέταλλα δηλαδή, δεν απομακρύνονται πλήρως από το έδαφος αλλά μετατρέπονται σε μορφές με λιγότερη τοξικότητα. Έτσι λοιπόν, η σπουδαιότητα των μεταλλοφυτών έγκειται μεταξύ άλλων και στη συμβολή τους στο να αποκατασταθούν και να επαναβλαστήσουν ρυπασμένες περιοχές. Τέτοιες περιοχές, όπου η διαδικασία της φυτοσταθεροποίησης εφαρμόστηκε επιτυχώς είναι οι εγκαταλελειμμένες περιοχές εξόρυξης μετάλλων, οι οποίες αποτελούν σοβαρές πηγές ρύπανσης προκαλώντας

κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία. Χρησιμοποιώντας φυτά που είναι ανθεκτικά στα μέταλλα επιτυγχάνεται η ακινητοποίηση τους. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται φυτοδέσμευση ή φυτοσταθεροποίηση. Τα βαρέα μέταλλα συσσωρεύονται από τις ρίζες των φυτών και απορροφούνται πάνω από αυτές ή συγκρατούνται στη ριζόσφαιρα. Έτσι, περιορίζεται η κινητικότητα και η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων ώστε να μην εισέλθουν στην τροφική αλυσίδα (Wong, 2003). Ειδικότερα, οι διαλυτές και τοξικές μορφές των μετάλλων μετατρέπονται σε αδιάλυτες και μη τοξικές. Διάφορες ουσίες που εκκρίνονται από τη ριζόσφαιρα του φυτού έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία αδιάλυτων συμπλόκων με τα μέταλλα, ενώ οι μικροοργανισμοί του ριζικού συστήματος που ενεργοποιούνται μετατρέπουν χημικά και αδρανοποιούν τα μέταλλα.

Για την επιτυχία της φυτοσταθεροποίησης είναι πολύ σημαντικό να επιλεγούν τα κατάλληλα φυτά συσσωρευτές, όπως και οι επεμβάσεις που πρόκειται να γίνουν για την τροποποίηση των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων των ρυπασμένων εδαφών. Για παράδειγμα, συνδυάζοντας τη χρήση μεταλλοφυτών και ψυχανθών είναι πιθανό να αυξηθεί η γονιμότητα του εδάφους (Freitas et al, 2003). Επιπρόσθετα, τα βελτιωτικά εδάφους, όπως το φωσφορικό ασβέστιο ή ο ζεόλιθος, μπορούν να συμβάλλουν στο να σταθεροποιηθούν τα μέταλλα στο έδαφος.



Εικόνα 4: Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας της φυτοσταθεροποίησης η οποία αποσκοπεί στον περιορισμό των βαρέων μετάλλων στο έδαφος

4. AGROMINE

Το Agromine (αγροεξόρυξη) είναι μία τεχνική που βασίζεται στην καλλιέργεια φυτών που χαρακτηρίζονται ως συσσωρευτές μετάλλων. Τα φυτά αυτά συσσωρεύουν ιχνοστοιχεία (loid) από εδάφη ή υποστρώματα πλούσια σε μέταλλα και από εδάφη επιβαρυσμένα από άλλες δραστηριότητες. Η συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων γίνεται στους βλαστούς των φυτών. Στο τέλος της περιόδου ανάπτυξης συγκομίζονται και καίγονται για να παράγουν μέταλλο-εμπλουτισμένη τέφρα ή βιομετάλλευμα. Θεωρείται μια εμπορικά βιώσιμη τεχνική στην περίπτωση στοιχείων υψηλής αξίας όπως Ni, Co ή Au (Chaney et al, 2018). (Frontiers in Environmental Science June 2018 Volume 6 Article 44).



Εικόνα 5: Η διαδικασία της αγροεξόρυξης. Πηγή: LIFE Agromine,» 2020

Η τεχνική αυτή αποσκοπεί στη δημιουργία μιας ολοκληρωμένης αλυσίδας διαχείρισης εδαφών και αποβλήτων πλούσιων σε μέταλλα. Είναι μία οικολογικά αποδεκτή εναλλακτική

μέθοδο εξόρυξης, που θα μπορούσε να προσφέρει λύση απέναντι στις κλασικές πυρο-υδρομεταλλουργικές μεθόδους, καθώς και την παροχή βιομάζας για την τοπική παραγωγή ενέργειας αλλά και τη βιομηχανία. Η agromine αντιπροσωπεύει μια εναλλακτική λύση για τους αγρότες που έχουν σερπεντινικά εδάφη, δίνοντας τους την ευκαιρία να ασχοληθούν με μια ιδιαίτερα κερδοφόρα καλλιέργεια. Η γεωργική δραστηριότητα σε αυτές τις περιοχές είναι δύσκολη λόγω των ιδιαίτερων περιορισμών αυτών των εδαφών (χαμηλή γονιμότητα, που σχετίζεται με την τοξικότητα του νικελίου) και τα εισοδήματα των αγροτών είναι πολύ χαμηλά.

Η Ελλάδα είναι κατάλληλη για την ανάπτυξη του Ni agromining γιατί διαθέτει μεγάλο αριθμό σερπεντινικών υποστρωμάτων όπως επίσης και πλούσια χλωρίδα με σημαντικό αριθμό φυτικών ειδών υπερσυσσωρευτών του Ni.

Το agromining αποδείχθηκε αποτελεσματικό στη δεκαετία του 2000 και έγινε πραγματική ευκαιρία αγοράς το 2007 (Chaney et al, 2007 Tang et al, 2012 Bani et al, 2015). Η ευρωπαϊκή εταιρική σχέση καινοτομίας (EIP) ταξινόμησε το νικέλιο Ni ως πρώτη ύλη με υψηλή οικονομική σημασία το οποίο ανακτήθηκε με επιτυχία από βιο-μεταλλεύματα σε καθαρή μορφή, ως ανόργανο άλας (ANSH, αμμώνιο εξαένυδρο θειικό νικέλιο) ή ως οικοκαταλύτες (Simonnot et al, 2018).

4.1 Life Agromine

Το έργο LIFE Agromine αφορά στη διερεύνηση καλλιεργειών φυτών υπερσυσσωρευτών του νικελίου σε εδάφη πλούσια σ' αυτό το μέταλλο για την οικολογική σύνθεση καθαρών ενώσεων νικελίου. Τέτοια εδάφη βρίσκονται στους σερπεντινικούς σχηματισμούς, οι οποίοι εντοπίζονται σε αρκετές περιοχές των Γρεβενών, αλλά και στην ευρύτερη περιοχή της Πίνδου. Τα φυτικά είδη που εξετάζονται είναι: *Bornmuellera tymphaea*, *Leptoplax emarginata*, και *Odontarrhena chalcidica* όλα αυτοφυή είδη στην περιοχή της οροσειράς της Πίνδου και το πρώτο είναι ελληνικό ενδημικό είδος.

Το έργο αυτό έχει σκοπό τη δημιουργία αγρό-οικοσυστημάτων σε πιλοτική κλίμακα που μπορεί να οδηγήσουν στην αποδοτικότερη διαχείριση των εδαφικών πόρων αυτού του τύπου και να προσφέρουν μια νέα, ολοκληρωμένη μορφή γεωργίας – Ni agromining (αγροεξόρυξη νικελίου) – που θα μπορούσε να ωφελήσει τις τοπικές κοινωνίες με τη δημιουργία βιώσιμης ανάπτυξης της υπαίθρου. Ενδεικτικά οφέλη που μπορούν να προκύψουν στην τοπική

κοινωνία είναι η περιβαλλοντική αναβάθμιση με βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους και η παραγωγή βιομάζας για θέρμανση ή/και συμπαραγωγή θερμότητας/ενέργεια.

Το έργο LIFE Agromine (LIFE 15 ENV/FR/000512) (2016-2020) υλοποιείται σε 5 χώρες της Ευρώπης (Γαλλία, Ισπανία, Αυστρία, Ελλάδα, Αλβανία) και συμμετέχουν 3 εταιρίες και 6 ερευνητικά ιδρύματα. Το έργο περιλαμβάνεται στο πρόγραμμα LIFE, το οποίο αποτελεί το χρηματοδοτικό εργαλείο της Ευρωπαϊκής Ένωσης για έργα που σχετίζονται με το περιβάλλον, τη διατήρηση της φύσης και την κλιματική αλλαγή σε όλη την Ευρώπη. Λόγω της θεματολογίας του LIFE, πολλά από τα έργα σχετίζονται με τον αγροτικό τομέα και συνδέονται με τις προτεραιότητες της Κοινής Αγροτικής Πολιτικής (ΚΑΠ).

Στην Ελλάδα το έργο υλοποιείται σ' έναν αγρό 3 στρεμμάτων σε σερπεντινικό υπόβαθρο (μέση τιμή ολικής εδαφικής συγκέντρωσης νικελίου 2347 mg kg⁻¹) στην περιοχή του οικισμού Κουτσούφλιανη, σε μικρή απόσταση από το χωριό Παναγία (Δήμος Καλαμπάκας, Νομός Τρικάλων), στα όρια Θεσσαλίας, Ηπείρου και Μακεδονίας. Τα φυτικά είδη που καλλιεργούνται είναι: *Odontarrhena chalcidica*, *Bornmuellera tymphaea* και *Bornmuellera emarginata*, τα οποία είναι είδη της ελληνικής χλωρίδας, υπερσυσσωρευτές του νικελίου.

5. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ

Ο σπόρος είναι η αρχή και το τέλος του βιολογικού κύκλου των περισσότερων φυτών. Ένας σπόρος είναι ένα εμβρυικό φυτό, το οποίο προστατεύεται από ένα εξωτερικό περίβλημα. Ο σχηματισμός του σπόρου αποτελεί μέρος της διαδικασίας αναπαραγωγής των σπερματοφύτων, συμπεριλαμβανομένων των γυμνόσπερμων και αγγειόσπερμων φυτών (Bradford και Bewley, 2002).

Οι σπόροι αποτέλεσαν εξέλιξη στην αναπαραγωγή και την επιτυχή εξάπλωση των γυμνόσπερμων και αγγειόσπερμων φυτών, σε σχέση με τους πιο πρωτόγονους φυτικούς οργανισμούς. Τα σπορόφυτα πλέον είναι κυρίαρχα στις βιολογικές θέσεις της ξηράς (Yang, κ.ά., 2007).

Οι σπόροι αποτελούν προϊόν του ώριμου ωαρίου, έπειτα από την διαδικασία της γονιμοποίησης από την γύρη. Το έμβρυο αναπτύσσεται από τον ζυγώτη, ενώ το ενδοσπέρμιο του σπόρου, από τα διάφορα μέρη της σπερματικής βλάστης. Συχνά βέβαια, αυτό που για λόγους ευκολίας ονομάζουμε σπόρος ή σπέρμα, αποτελείται και από άλλους ιστούς, όπως το περικάρπιο και τότε βέβαια, έχουμε στην πραγματικότητα να κάνουμε με καρπούς, όπως για παράδειγμα είναι η καρύωση των Αγρωστωδών ή το αχάινιο των σύνθετων. (Έικ.5)

5.1 Αναπαραγωγή του σπόρου

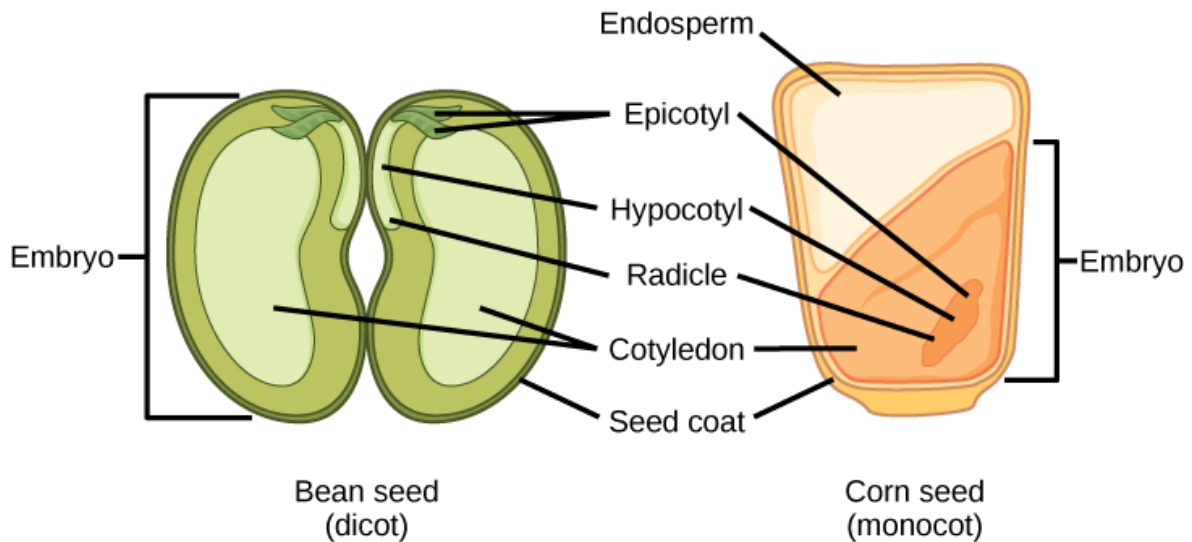
Ο τρόπος σχηματισμού των σπόρων διακρίνεται στα γυμνόσπερμα δηλαδή με σπόρους γυμνούς και στα αγγειόσπερμα με σπόρους κλειστούς μέσα σε καρπούς. Στα πρώτα δεν αναπτύσσεται καμία ειδική δομή που να περικλείει τους σπόρους ενώ στα αγγειόσπερμα οι σπόροι παράγονται εντός σκληρής ή σαρκώδους δομής, που ονομάζεται καρπός. Ο καρπός αποτελεί τη διαφοροποίηση των ιστών της ωοθήκης του άνθους μετά τη γονιμοποίησή του, και περικλείει τους σπόρους προκειμένου να εξασφαλιστεί η υγιής ανάπτυξή τους. Ορισμένοι καρποί έχουν στρώματα τόσο από σκληρούς, όσο και από σαρκώδεις ιστούς. (Σαρλής, 2001).

Στα αγγειόσπερμα, η διαδικασία ανάπτυξης του σπόρου ξεκινάει με το φαινόμενο της διπλής γονιμοποίησης. Η γονιμοποίηση περιλαμβάνει την σύντηξη δύο αρσενικών γαμετών με το ωοκύτταρο, σχηματίζοντας το ενδοσπέρμιο και το ζυγώτη. Αμέσως μετά την 10 γονιμοποίηση, ο ζυγώτης είναι ως επί το πλείστον αδρανής, αλλά το ενδοσπέρμιο διαιρείται γρήγορα, για να σχηματίσει τον ιστό του ενδοσπερμίου.

5.2 Ανατομία- Μορφολογία του σπόρου

Κάθε σπόρος αποτελείται από το έμβρυο, το οποίο αναπτύσσεται σε νεαρό φυτό κατά τη διάρκεια της βλάστησης, και από κάποιον αποταμιευτικό ιστό. Αυτά περιβάλλονται εξωτερικά από έναν προστατευτικό ιστό, το σπερματικό περίβλημα (testa). Συχνά, αυτό που για λόγους ευκολίας ονομάζουμε σπόρος ή σπέρμα, αποτελείται και από άλλους ιστούς, όπως το περικάρπιο, και τότε βέβαια έχουμε στην πραγματικότητα να κάνουμε με καρπούς, όπως για παράδειγμα είναι η καρύωση των Αγρωστωδών. Όλες οι ουσιώδεις δομές ενός νεαρού φυτού προέρχονται από ιστούς που διαφοροποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του εμβρύου στο σπέρμα. Ο βαθμός της διαφοροποίησης του εμβρύου κατά το στάδιο της συγκομιδής των σπόρων ποικίλει ανάλογα με το φυτικό είδος.

Ένα καλοσηματισμένο έμβρυο αποτελείται γενικά από έναν άξονα, ο οποίος είναι συνδεδεμένος με μία (μονοκότυλα φυτά), δύο (δικότυλα) ή περισσότερες (κωνοφόρα) κοτυληδόνες. Ο άξονας καταλήγει στο ένα άκρο του στο βλαστίδιο, που αποτελεί τον εμβρυϊκό βλαστό, και μπορεί να περιβάλλεται ήδη από καταβολές φύλλων σε έντονα διαφοροποιημένα έμβρυα. Το αντίθετο άκρο του άξονα σχηματίζει το ριζίδιο, δηλαδή την εμβρυϊκή ρίζα. Τη στιγμή κατά την οποία το έμβρυο είναι πλήρως ανεπτυγμένο, το ενδοσπέρμιο είτε έχει μετασηματιστεί σε αποθηκευτικό ιστό και τέτοια σπέρματα καλούνται ενδοσπερμικά, είτε έχει αποικοδομηθεί και οι θρεπτικές ουσίες βρίσκονται αποθηκευμένες στις κοτυληδόνες, με τα σπέρματα αυτά να καλούνται μη-ενδοσπερμικά. Σε ορισμένα σπέρματα οι θρεπτικές ουσίες βρίσκονται αποθηκευμένες στο περικάρπιο. Τα σπερματικά περιβλήματα τέλος, προστατεύουν το έμβρυο και τον αποταμιευτικό ιστό από τραυματισμούς και διαρροή των θρεπτικών συστατικών, κατά τη διάρκεια των πρώτων ωρών της ενυδάτωσης των σπόρων (Bradford, 1995).



Εικόνα 6: Σχηματική απεικόνιση σπόρου μπιζελιού (δικότυλου) και καλαμποκιού (μονοκότυλου).

(Το δικότυλο (αριστερά) έχει δύο κοτυληδόνες. Το μονοκότυλο, όπως το καλαμπόκι (δεξιά), έχει μια κοτυληδόνα, που ονομάζεται *scutellum*. Αυτό παρέχει την τροφή στο αναπτυσσόμενο έμβρυο. Τόσο τα έμβρυα ενός μονοκότυλου φυτού όσο και ττου δικότυλου έχουν από ένα ενδοσπέρμιο που σχηματίζει τα φύλλα, ένα υποκοτύλιο που σχηματίζει το στέλεχος και ένα ριζίδιο που σχηματίζει τη ρίζα. Ο εμβρυϊκός άξονας περιλαμβάνει τα πάντα μεταξύ του δακτυλίου και του ριζώματος, εκτός από τις κοτυληδόνες.)

5.3 Η βλάστηση των σπόρων

Σε ευνοϊκές συνθήκες για το έμβρυο, αυτό θα μεγιστοποιήσει το βλασθητικό του δυναμικό και θα εντατικοποιήσει τις μεταβολικές διεργασίες. Καθοριστικό βήμα είναι η διάσπαση της στεγανότητας του περισπερμίου και η ενυδάτωση του σπόρου. Γίνεται επομένως κατανοητό πως το ίδιο το περισπέρμιο, ως ρυθμιστής της ενυδάτωσης του σπόρου, μπορεί να αποτελέσει σοβαρό εμπόδιο στη βλαστικότητα των σπόρων. Στην ευνοϊκή πάντως περίπτωση, η ενυδάτωση των εμβρυακών ιστών γίνεται βάσει κάποιων δυνάμεων που αναπτύσσονται στην επιφάνεια των κυττάρων. Ουσιαστικά υπάρχει ηλεκτροχημικό δυναμικό που έλκει το νερό στα κυτταρικά τοιχώματα, τις πρωτεΐνες και τα άλλα υδρόφιλα μόρια, με άμεση συνέπεια τη διόγκωση των κυττάρων και μεγαλύτερο αυξητικό δυναμικό. Αυτό το δυναμικό πλέον μπορεί να διασπάσει το περισπέρμιο και να επιτρέψει τη βλάστηση του φυταρίου. Στη συνέχεια εντείνεται η αναπνοή (όπως και όλος ο μεταβολισμός συνολικά), ενεργοποιούνται υδρολυτικά ένζυμα και τα κύτταρα αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται.

5.4 Βλαστικότητα σπόρων

Βλαστικότητα είναι η εκατοστιαία αναλογία των σπόρων που είναι σε θέση να βλαστάνουν και να δώσουν φυτώρια όταν βρεθούν σε ευνοϊκές συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την βλαστικότητα των σπόρων είναι:

- Συνθήκες (κλίμα, έδαφος, θρεπτική κατάσταση, κλ.π.)
- Τυχόν προσβολές από ασθένειες ή έντομα μετά την συλλογή του
- Εσωτερική υγρασία των σπόρων αμέσως μετά την ξήρανση του.
- Ηλικία σπόρου

Η βλαστικότητα προσδιορίζεται από:

- Ειδικοί θάλαμοι (ή τρυβλία) επώασης
- Υπόστρωμα βλάστησης (απορροφητικό χαρτί ή άμμος)
- Τοποθέτηση σπόρων στο θάλαμο επώασης
- Τοποθέτηση τρυβλίων επώασης σε θάλαμο σταθερών συνθηκών περιβάλλοντος.

5.5 Καθαρότητα σπόρου

Η καθαρότητα του σπόρου εκφράζεται ως εκατοστιαία αναλογία (%) καθαρού σπόρου στο σύνολο μιας ποσότητας σπόρου. Για τον προσδιορισμό της καθαρότητας του σπόρου λαμβάνεται ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα και εξετάζεται η ύπαρξη ξένων υλών (π.χ. σπόροι ζιζανίων , αδρανείς ύλες κ.α.).

Το δείγμα οποίο χωρίζεται στις εξής κατηγορίες:

1. Καθαρός σπόρος του ζητούμενου καλλωπιστικού φυτού.
2. Σπόροι άλλων ειδών και ποικιλιών καλλιεργούμενων φυτών.
3. Σπόροι ζιζανίων.
4. Αδρανείς ύλες (πέτρες, χώμα, περιβλήματα σπόρων, σπασμένοι σπόροι, ξυλάκια, υπολείμματα της ταξιανθίας, κλπ.).

Εκτός από το ποσοστό του καθαρού σπόρου, ενδιαφέρει πολύ και το ποσοστό των σπόρων ζιζανίων, για το οποίο υπάρχουν αυστηρά ανώτατα όρια ανοχής.

5.6 Ζωτικότητα σπόρου

Ορισμένοι σπόροι βλαστάνουν μεν, αλλά δίνουν φυτά καχεκτικά και αδύναμα, τα οποία δεν αναπτύσσονται ικανοποιητικά και δεν δίνουν καλή παραγωγή. Κατά την δοκιμή βλαστικότητας, οι σπόροι αυτοί συνυπολογίζονται σε εκείνους που φύτρωσαν. Ο σπόρος που δίνει πολλά τέτοια φυτά δεν θεωρείται καλής ποιότητας, αλλά αυτό δεν μπορεί να εκφραστεί μέσω της βλαστικότητας του. Γι' αυτό το λόγο παράλληλα με την βλαστικότητα έχει εισαχθεί και η έννοια της ζωτικότητας του σπόρου, η οποία εκφράζει το ποσοστό των σπόρων που βλαστάνουν και δίνουν φυτάρια υγιή και εύρωστα.

5.7 Λήθαργος σπόρων

Λήθαργος σπόρων (seed dormancy) παρουσιάζεται όταν κάποιοι σπόροι δεν βλαστάνουν παρά την ύπαρξη ευνοϊκών συνθηκών και επάρκειας νερού και οξυγόνου. Οι σπόροι ορισμένων φυτών δεν είναι σε θέση να φυτρώσουν για κάποιο χρονικό διάστημα μετά το σχηματισμό και τη μορφολογική τους ωρίμανση, ακόμη και αν τεθούν σε συνθήκες που είναι ιδανικές για φύτρωμα, μολονότι βιολογικά είναι ενεργοί. Ο λήθαργος είναι η φυσιολογική κατάσταση στη διάρκεια της οποίας μερικοί σπόροι δε φυτρώνουν ή δεν βλαστάνουν, αντίστοιχα, ακόμα και αν βρεθούν κάτω από ευνοϊκές συνθήκες. Ο λήθαργος είναι ο σπουδαιότερος μηχανισμός επιβίωσης και διαίωσισης των φυτών, επειδή δεν επιτρέπει σε όλους τους σπόρους να φυτρώσουν ή να βλαστήσουν ταυτόχρονα, με αποτέλεσμα η αντιμετώπισή τους να μη μπορεί να γίνει με μία μόνο μηχανική κατεργασία του εδάφους. Ο λήθαργος των σπόρων των φυτών μπορεί να είναι ενδογενής ή προκαλούμενος. Ο ενδογενής λήθαργος κατά κανόνα ελέγχεται από ορμονικούς παράγοντες και ισορροπίες που εδράζονται στο έμβρυο ή στο ενδοσπέρμιο. Αποτέλεσμα του ληθάργου που οφείλεται σε ενδογενείς παράγοντες είναι ότι οι σπόροι δεν βλαστάνουν για ένα χρονικό διάστημα μετά τη συγκομιδή τους. Ο ενδογενής λήθαργος, που ελέγχεται γενετικά, μπορεί να οφείλεται α) στα σκληρά και αδιαπέρατα τοιχώματα των σπόρων, β) στην παρουσία ενδογενών ουσιών που αναστέλλουν το φύτρωμα ή στην έλλειψη ουσιών που το προάγουν και γ) σε υπανάπτυκτα έμβρυα. Ο δεύτερος (προκαλούμενος λήθαργος) προκαλείται από μη ευνοϊκές συνθήκες του περιβάλλοντος. Ο ενδογενής λήθαργος κατά κανόνα ελέγχεται από ορμονικούς παράγοντες και ισορροπίες που εδράζονται στο έμβρυο ή στο ενδοσπέρμιο. Αποτέλεσμα του ληθάργου που οφείλεται σε ενδογενείς παράγοντες είναι ότι οι σπόροι δεν βλαστάνουν για ένα χρονικό διάστημα μετά τη συγκομιδή τους. Ο ενδογενής λήθαργος

αίρεται όταν κάποιος άλλος ενδογενής μηχανισμός (π.χ. αυτοελεγχόμενη βαθμιαία αποδόμηση της ορμόνης που παρεμποδίζει το φύτρωμα) ή εξωτερικός παράγοντας (π.χ. έκθεση σε χαμηλές ή υψηλές θερμοκρασίες για κάποιο χρονικό διάστημα) μεταβάλλει τις ορμονικές ισορροπίες μέσα στον σπόρο ή εξουδετερώνει τον ενδογενή παράγοντα που προκαλεί το λήθαργο.

5.8 ISTA- Διεθνής Ένωση δοκιμών των σπόρων

Η Διεθνής Ένωση Δοκιμών Σπόρων (ISTA) καταρτίζει διεθνώς συμφωνημένους κανόνες για τη δειγματοληψία και τη δοκιμή σπόρων, πιστοποιεί εργαστήρια, παρέχει διεθνή πιστοποιητικά ανάλυσης σπόρων, προάγει την έρευνα, διαδίδει γνώσεις στην επιστήμη και την τεχνολογία των σπόρων και παρέχει εκπαίδευση. Αυτό επιταχύνει την παγκόσμια τυποποίηση της αξιολόγησης της ποιότητας των σπόρων, διευκολύνει την εμπορία σπόρων σε εθνικό και διεθνές επίπεδο και συμβάλλει επίσης στην επισιτιστική ασφάλεια.

6. ΦΥΤΑ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΣΤΗΝ ΑΓΡΟΕΞΟΡΥΞΗ

Τα φυτά υπερσυσσωρευτές μπορούν να επιλεγούν και να φυτευτούν σε μία περιοχή ανάλογα με τον τύπο των μετάλλων που είναι παρόντα και τις συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή. Τα κατάλληλα φυτικά είδη για να χρησιμοποιηθούν για φυτοεξόρυξη και κατ' επέκταση στην αγροεξόρυξη πρέπει να διαθέτουν τα εξής χαρακτηριστικά:

- να είναι ανθεκτικά σε υψηλά επίπεδα συγκεντρώσεων μετάλλων,
- να συσσωρεύουν μεγάλα ποσά μετάλλων στους υπέργειους ιστούς,
- να συσσωρεύουν πολλά μέταλλα,
- να αναπτύσσουν εκτεταμένο ριζικό σύστημα,
- να έχουν ταχύ ρυθμό αύξησης,
- να παρουσιάζουν μεγάλη παραγωγή βιομάζας,
- να μπορούν εύκολα να θεριστούν με τις συμβατικές γεωργικές μεθόδους,
- να έχουν μικρές θρεπτικές απαιτήσεις,
- να είναι ανθεκτικά στις ασθένειες και στα παράσιτα,
- να είναι ανθεκτικά σε διάφορες περιβαλλοντικές καταπονήσεις, όπως ξηρασία και παγετό
- να μην αποτελούν τροφή για τα φυτοφάγα ζώα.

Η ανάπτυξη της καλλιέργειας αυτών των φυτών όμως απαιτεί σε πρώτο στάδιο την παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού και την δημιουργία μητρικών φυτειών. Με βάση τα παραπάνω χαρακτηριστικά και την μέχρι τώρα έρευνα, τρία είναι τα είδη που θα μπορούσαν να καλλιεργηθούν και γεννάται η ανάγκη για μελέτη της βλαστικότητας των σπόρων τους.

6.1.1 *Centaurea thracica*

Το γένος *Centaurea* ανήκει στην οικογένεια Asteraceae και περιλαμβάνει περίπου 600 είδη ποωδών φυτών που μοιάζουν με γαϊδουράγκαθα. Τα μέλη του γένους βρίσκονται μόνο βόρεια του ισημερινού, κυρίως στο ανατολικό ημισφαίριο. Η Μέση Ανατολή και οι γύρω περιοχές είναι ιδιαίτερα πλούσιες σε είδη. Στις δυτικές Ηνωμένες Πολιτείες, τα 'κίτρινα αστέρια' είναι διεισδυτικά είδη. Γύρω στο 1850, οι σπόροι από το φυτό είχαν φτάσει στην πολιτεία της Καλιφόρνια. Κενταύριες συναντάμε σε όλη την Ευρώπη αλλά συγκεκριμένα

στη χώρα μας καλλιεργούνται 70 από τα 500 περίπου είδη. Τα είδη αυτά βρέθηκαν κοντά στην Καρδίτσα, στη Καλαμπάκα και στα Γρεβενά σε μικρούς πληθυσμούς.

Βοτανική ταξινόμηση

Βασίλειο: Plantae

Υποοικογένεια: Carduoideae

Κλάση: Cardueae

Υποκλάση: Centaureinae

Οικογένεια: Asteraceae

Γένος: *Centaurea* L.

Είδος: *thracica*

Κοινή Ονομασία: Κενταύρια η θρακική

Συνώνυμα: *Centaurea fraasii* Sch.Bip. ex Nyman - *Centaurea monacantha* Boiss. - *Centaurea prostrata* Nyman - *Centaurea thracica* (Janka) Janka ex Gugler - *Serratula thracica* Janka

Βοτανική περιγραφή

Οι κενταύριες είναι φυτά ανθεκτικά στο χειμώνα, ποώδη, πολυετή, τα οποία είναι ενδημικά σε πολλές χώρες της Ευρώπης, της βόρειας Αμερικής και πολλών άλλων περιοχών. Είναι πολυετές, θαμνώδες, ριζοματώδες, αειθαλές φυτό που καλλιεργείται και για καλλωπιστικούς σκοπούς. Ο βλαστός είναι ενιαίος ή διακλαδιζόμενος με ύψους 20 - 90 εκατοστά. Τα φύλλα της βάσης σχηματίζουν ρόδακα είναι τραχιά 10-15 εκατοστά, λογχοειδή, με έντονες εγκολπώσεις σχεδόν περοσχιδή. Τα φύλλα του βλαστού είναι μικρότερα ακέραια, κατ' εναλλαγή περίβλαστα. Τα άνθη σε ταξιανθία κεφάλιο, εμφανίζονται μεμονωμένα στην κορυφή μονού βλαστού ή με δύο διακλαδώσεις έως 3 εκατοστά. Τα βράκτια της ταξιανθίας είναι ασπιδοειδή και καταλήγουν σε ακίδα. Ανθίζει από Ιούνιο έως Αύγουστο. Ο καρπός είναι αχάινιο 4-6 χιλιοστά και ο πάππος 8-10 χιλιοστά (Εικ.7, 8).



Εικόνα 7: Σχηματική εικόνα του φυτού *Centaurea thracica* που απεικονίζει τα άνθη, τον βλαστό και τα φύλλα του φυτού.



Εικόνα 8: Ταξιανθία του φυτού *Centaurea thracica*

Περιβαλλοντικές συνθήκες

Θερμοκρασία: Η κενταύρια είναι ανθεκτική στις υψηλές θερμοκρασίες. Σε περιοχές με δριμύ χειμώνα καλό είναι να προστατεύεται καθώς δεν αντέχει σε θερμοκρασίες μικρότερες των -5°C . Ιδανικά καλύτερα να αποφεύγονται θερμοκρασίες κάτω του 1°C . Προτιμά θέσεις απευθείας στον ήλιο. Οι καλύτεροι μήνες για την άνθηση είναι ο Ιούλιος και ο Σεπτέμβριος.

Έδαφος: Αναπτύσσεται ακόμα και σε φτωχά εδάφη αρκεί να έχουν καλή αποστράγγιση. Ανέχεται και ασβεστούχα εδάφη.

Πότισμα: Δεν έχει μεγάλες ανάγκες σε νερό. Ποτίζουμε όταν το έδαφος του είναι τελείως στεγνό. Είναι ανθεκτικό στην ξηρασία.

Κλάδεμα: Την κενταύρια την κλαδεύουμε μετά την περίοδο ανθοφορίας για διατήρηση του σχήματος και καλλωπισμό του φυτού με αφαίρεση των ξερών ή ασθενικών τμημάτων.

Πολλαπλασιασμός: Γίνεται με σπόρο ή με διαίρεση την Άνοιξη και το Φθινόπωρο.

Βιότοπος

Απαντάται πάνω σε σερπεντινικά πετρώματα, σε βράχια, ξέφωτα δασών, λιβάδια και άκρες δρόμων, Θέσεις με ανθρωπογενή επιβάρυνση, σε μεσαία υψόμετρα από 300 έως 1000 μέτρα.

6.1.2 *Bornmuellera tymphaea*

Το γένος της *Bornmuellera tymphaea*, εκπροσωπείται στην Ελλάδα από 4 ενδιαφέρουσες κατηγορίες ένα είδος, δύο υποείδη και ένα υβρίδιο, όλα ενδημικά μιας περιορισμένης περιοχής στη βορειοδυτική Ελλάδα, εκτός της *Bornmuellera baldaccii* subsp. *baldaccii*, η εξάπλωση της οποίας φτάνει μέχρι την Αλβανία και όλα φυόμενα πάνω στα σερπεντινικά πετρώματα της περιοχής αυτής, που σημαίνει ότι ανέχονται τις υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων, όπως νικελίου, συσσωρεύοντας τα στους ιστούς τους. Συμπεριλαμβάνεται στον παγκόσμιο κατάλογο ειδών που χρήζουν προστασίας του ΟΗΕ και τα Άλλα Σημαντικά Είδη Φυτών που καταχωρήθηκαν για το δίκτυο “ΦΥΣΗ 2000”.

Βοτανική ταξινόμηση

Βασίλειο: Plantae

Φύλο: Tracheophyta

Τάξη: Brassicales

Οικογένεια: Brassicaceae

Γένος: *Bornmuellera*

Είδος: *tymphaea*

Κοινή Ονομασία: Μπορνμουελέρα της Τύμφης

Συνώνυμα: *Vesicaria tymphaea* Hausskn. - *Alyssum tymphaeum* - *Ptilotrichum tymphaeum* (Hausskn.) Halácsy

Βοτανική περιγραφή

Η *Bornmuellera tymphaea* είναι πολυετής πόα, μικρός σφαιροειδής θάμνος με συμπαγή κόμη ύψους 40 εκατοστά. Το πρώτο χρόνο σχηματίζει ρόδακα και τον δεύτερο ανθοφόρα στελέχη. Οι βλαστοί που έρχονται σε επαφή με το έδαφος ριζοβολούν και σχηματίζουν παραφυάδες. Τα φύλλα είναι σκούρα πράσινα, σπατουλοειδή, δερματώδη, με ελαφρά οδοντωτή περίμετρο. Τα άνθη είναι λευκά και σχηματίζουν ταξιανθία βότρυ (Εικ.10). Τα πέταλα είναι 4 και εμφανίζονται ζευγαρωτά. Ανθίζει από το Απρίλιο μέχρι τις αρχές του Ιουλίου. Ο καρπός είναι κέρας με 2 σπόρους (Εικ. 9).

Βιότοπος

Η *Bornmuellera tymphaea* είναι ενδημική μιας μικρής περιοχής της Πίνδου, ενώ απαντά και στο όρος Βούρινος, πάντα πάνω σε σερπεντινικά υποστρώματα. Φύεται σε βράχια, σταθεροποιημένες σάρες, λιβάδια και άκρες δρόμων, συχνά άφθονη σε διαταραγμένα εδάφη, σε υψόμετρα από 700 έως 2200 μ.



Εικόνα 9: Καρπός από το φυτό *Bornmuellera tymphaea*



Εικόνα 10: Άνθη του φυτού *Bornmuellera tymphaea*

6.1.3 *Bornmuellera emarginata*

Βοτανική ταξινόμηση

Βασίλειο: Plantae

Φύλο: Tracheophyta

Τάξη: Brassicales

Οικογένεια: Brassicaceae

Γένος: *Bornmuellera*

Είδος: *emarginata*

Κοινή ονομασία: Βορμουελέρα η Περιθωριακή, Λεπτόπλαξ

Συνώνυμα: *Alyssum emarginatum* (Boiss.) Rouy nom. illeg. (Art. 53), non Zahl ex Vis., nom. illeg. - *Koniga emarginata* (Boiss.) Nyman - *Leptoplax emarginata* (Boiss.) O. E. Schulz - *Peltaria emarginata* (Boiss.) Hausskn. Heterotypic synonyms: *Ptilotrichum emarginatum* Boiss.



Εικόνα 11: Αποξηραμένοι καρποί από το φυτό *Bornmuellera emarginata*



Εικόνα 12: Άνθη από το φυτό *Bornmuellera emarginata*

Βοτανική περιγραφή

Η *Bornmuellera emarginata* είναι πολυετής πόα που μπορεί να ξεπεράσει το ένα μέτρο σε ύψος. Το πρώτο χρόνο σχηματίζει ρόδακα και τον δεύτερο ανθοφόρα στελέχη. Τα φύλλα είναι σκούρα πράσινα, σπατουλοειδή, δερματώδη, με ελαφρά οδοντωτή περίμετρο. Τα άνθη

είναι λευκά και σχηματίζουν ταξιανθία βότρυ (Εικ.12). Τα πέταλα είναι 4 και εμφανίζονται ζευγαρωτά. Ανθίζει από το Απρίλιο μέχρι τις αρχές Ιουλίου. Ο καρπός είναι κέρας με 2 σπόρους (Έικ.11).

Περιβαλλοντικές συνθήκες

Έδαφος: Οι συνθήκες του εδάφους πρέπει να είναι καλά στραγγιζόμενες και η περιοχή καλλιέργειας του φυτού να είναι ηλιόλουστη.

Βιότοπος:

Απαντάται πάνω σε σερπεντινικά πετρώματα, σε βράχια, θαμνότοπους, ξέφωτα δασών, λιβάδια και άκρες δρόμων, θέσεις με ανθρωπογενή επιβάρυνση, σε μεγάλα υψόμετρα από 300 έως 2100 μέτρα.

7. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η βλαστική ικανότητα τριών ειδών σπερμάτων αυτοφυών φυτών της περιοχής της Πίνδου που είναι υπερσυσσωρευτές νικελίου, με σκοπό την χρήση τους στην αγροεξόρυξη. Διερευνήθηκε η θερμοκρασία αποθήκευσης των σπόρων, σε συνδυασμό με την επίδραση του φωτός και τις συγκεντρώσεις του νικελίου στο υπόστρωμα. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Παραγωγικής Γεωργίας και Φυτοϋγείας του τμήματος Γεωπονίας από τον Σεπτέμβριο του 2019 έως τον Ιούνιο του 2020.

7.1.1 Συλλογές σπόρων

Centaurea thracica

ΤΟΠΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ: Τρυγόνα Δήμου Καλαμπάκας

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΣΥΛΛΟΓΗΣ: 16/7/2019

ΚΩΔΙΚΟΣ ΦΥΤΟΥ: Ct/ MD19,0



Εικόνα 13: Περιοχή συλλογής του φυτού *Centaurea thracica*

Bornmuellera tymphaea

ΤΟΠΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ: Πεύκη Δήμου Καλαμπάκας

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΣΥΛΛΟΓΗΣ: 1/7/2019

ΚΩΔΙΚΟΣ ΦΥΤΟΥ: Bt/ MD19,2

Bornmuellera emarginata

ΤΟΠΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ: Πεύκη Δήμου Καλαμπάκας

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΣΥΛΛΟΓΗΣ: 16/7/2019

ΚΩΔΙΚΟΣ ΦΥΤΟΥ: Le/ MD19,6



Εικόνα 14: Περιοχή συλλογής των φυτών *Bornmuellera tymphaea* και *Bornmuellera emarginata*

7.1.2 Επεξεργασία σπόρων

7.1.2.1 Αποξήρανση

Οι ταξικαρπίες μαζί με τους σπόρους, μετά την συλλογή τους, τοποθετήθηκαν πάνω στους πάγκους του εργαστηρίου σε συνθήκες που είχαν 20 με 22°C με σκοπό να αποξηραθούν

πριν τον καθαρισμό τους. Στην συνέχεια, οι σπόροι συσκευάστηκαν σε πλαστικές σακούλες και αναγράφηκε ο κωδικός χωριστά για κάθε είδος.

7.1.2.2 Καθαρισμός των σπόρων

Ο καθαρισμός των σπόρων είναι η πρώτη διαδικασία που πραγματοποιείται καθώς πρέπει να επιλεγθούν οι σπόροι που είναι υγιείς και να απομακρυνθούν όλα τα μέρη του καρπού. Η όλη διαδικασία θέλει χρόνο, καθώς οι σπόροι και των τριών φυτών είναι μικρού μεγέθους και χρειαζόταν μεγάλη προσοχή στην αφαίρεση τους από το περίβλημα. Πριν από τον καθαρισμό χρησιμοποιήθηκαν εργαστηριακά γάντια, εργαστηριακές ρόμπες και όλοι οι πάγκοι περάστηκαν με χλωρίνη για την αποφυγή μολύνσεων.

Centaurea thracica: Ο καθαρισμός των σπόρων έγινε με τον καθαρισμό τους από την ταξικαρπία και την αφαίρεση του πάππου.

Bornmuellera tymphaea* και την *Bornmuellera emarginata:: χρησιμοποιήθηκε κόσκινο για την διευκόλυνση του διαχωρισμού του σπόρου από τον καρπό λόγω του μικρού μεγέθους όπως και εργαστηριακές τσιμπίδες.



Εικόνα 15: Καθαρισμένοι και αποξηραμένοι σπόροι του φυτού *Bornmuellera tymphaea*



Εικόνα 16: Καθαρισμένοι και αποξηραμένοι σπόροι του φυτού *Borhmuellera emarginata*

7.1.2.3 Αποθήκευση

Μετά τον καθαρισμό τους και την τοποθέτησή τους σε πλαστικά σακουλάκια μιας χρήσης, η αποθήκευση των σπόρων έγινε σε ειδικούς ξηραντήρες, οι οποίοι διαθέτουν silica gel για την απορρόφηση της υγρασίας. Χρησιμοποιήθηκαν δύο ξηραντήρες, για δύο διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης των σπόρων, σε ψύξη (4°C) και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (20-22°C).



Εικόνα 17: Ξηραντήρας που χρησιμοποιήθηκε για τον περιορισμό της υγρασίας

7.2 Όργανα – Υλικά – Αντιδραστήρια.

7.2.1 Υλικά – Σκεύη

- Ποτήρια ζέσεως των 100,250,500 και 100 mL.
- Γυάλινες ογκομετρικές φιάλες των 50,100,1000 mL.
- Κωνικές φιάλες 250 και 500 mL.
- Γυάλινα τρυβλία Petri με διάμετρο 9 cm.
- Διηθητικό χαρτί
- Μεταλλικές σπάτουλες και τσιμπίδες διαφόρων μεγεθών.
- Υδροβολέας
- Μεταλλικό σουρωτήρι.
- Ακρορύγχια αυτόματων πιπετών μεταβλητού όγκου (Hirschmann, Γερμάνια).
- Βαθμονομημένα σιφόνια των 1, 2, 5 και 10 mL.
- Πουάρ πιπετών 3 εξόδων.
- Ταμπελάκια.
- Μαρκαδόρος ανεξίτηλος.

7.2.2 Όργανα

- Θάλαμος ελεγχόμενων συνθηκών (προβλαστήριο) Ermaks Βιοκλιματικός θάλαμος KB 8400 FL.
- Κλίβανος υγρής αποστείρωσης Prestige Medical Κλίβανος Αυτόκαυστος.
- Μαγνητικός αναδευτήρας με δυνατότητα θέρμανσης.
- Ζυγός ακριβείας.
- Στερεοσκόπιο

7.2.3 Αντιδραστήρια

- Απιονισμένο νερό.
- Αραιωμένη χλωρίνη 80:20 %.
- Χλωριούχο νικέλιο (εξαένυδρο άλας) σε μορφή σκόνης ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Aldrich Nickel(II) chloride hexahydrate, Product Number : 654507
- Μυκητοκτόνα.

7.3 Διαδικασία πειράματος.

7.3.1 Αποστείρωση υλικών

Η αποστείρωση των υλικών πραγματοποιούνταν σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης στους 120 °C για 30 λεπτά. Στη συνέχεια τα υλικά μεταφέρθηκαν στον πάγκο εργασίας με την χρήση γαντιών για προστασία από την θερμότητα. (Εικ.18)



Εικόνα 18: Κλίβανος υγρής αποστείρωσης

7.3.2 Η απολύμανση του φυτικού υλικού

Η απολύμανση των σπερμάτων πραγματοποιούνταν σε ποτήρι ζέσεως των 500 ml με την προσθήκη 100 ml υδατικού διαλύματος υποχλωριώδους νατρίου 10% και την ήπια ανάδευση τους σε μαγνητικό αναδευτήρα. (Εικ.19)



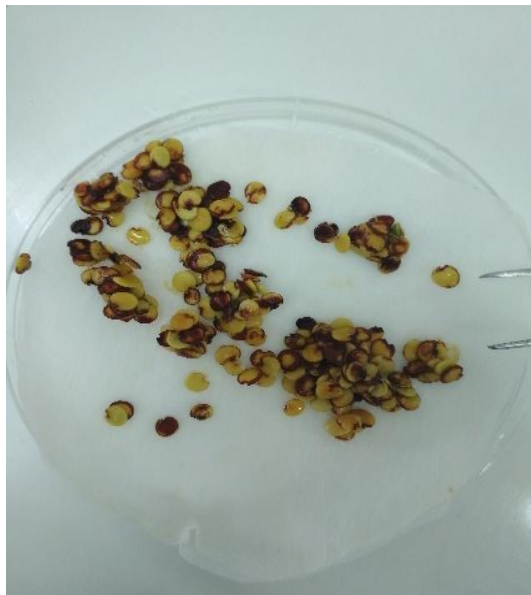
Εικόνα 19: Απολύμανση φυτικού υλικού σε μαγνητικό αναδευτήρα.



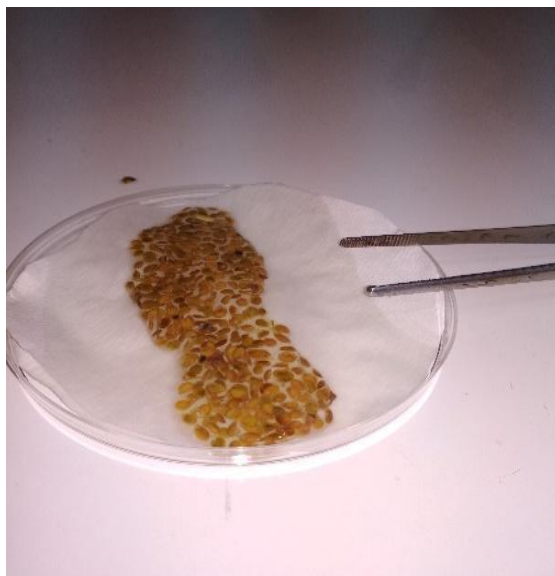
Εικόνα 20: Διαδικασία απολύμανσης των σπόρων με ανάδευση

Στη συνέχεια τα σπέρματα αφού ξεπλένονταν με άφθονο απιονισμένο νερό τοποθετούνταν ξανά σε ποτήρι ζέσεως που αναδεύονταν σε απιονισμένο νερό για 5 λεπτά (2 φορές), έτσι ώστε να απομακρυνθεί πλήρως το υποχλωριώδες νάτριο. Η απολύμανση των σπόρων έγινε ξεχωριστά, ακολουθώντας όμοια διαδικασία, υπολογίζοντας ωστόσο διαφορετικό χρόνο. Αρχικά ζυγίστηκαν οι υπό μελέτη σπόροι (περίπου 360) (4,78 gr περίπου οι 400 σπόροι) και τοποθετήθηκαν σε κωνική φιάλη η οποία περιείχε NaClO 10%. Η ανάδευση πραγματοποιήθηκε με την χρήση του μαγνητικού αναδευτήρα ρυθμισμένος σε ήπια ανάδευση. Οι χρόνοι ανάδευσης για το κάθε ένα στοιχείο ήταν 15 λεπτά για την *Centaurea thracica*, 13 λεπτά για την *Bornmuellera tymphaea* και 13 λεπτά για την *Bornmuellera emarginata (leptoplax)*. Ακολούθησε η στράγγιση των σπόρων με σουρωτήρι πριν να τοποθετηθούν στα τρυβλία.

Οι σπόροι της *Centaurea thracica*, κατά την βλάστηση, είχαν προσβληθεί από το μύκητα *Fusarium* (φουζάριο) με χαρακτηριστική ροδοκόκκινη επάνθηση και από *Alternaria* (αλτερνάρια) με το χαρακτηριστικό της μαύρης επάνθησης. Έτσι, στην δεύτερη επανάληψη δοκιμάστηκε απολύμανση και με μυκητοκτόνα χωρίς αποτέλεσμα. Έγινε εμβάπτιση των σπόρων για 2 λεπτά σε διάλυμα το οποίο αποτελούνταν από Previcur energy 5L propanocarb 53% της εταιρείας BAYER σε μορφή υγρού σε συνδυασμό με Keras 70 WG της FARMA-CHEM σε μορφή σκόνης.



Εικόνα 21: Απολυμασμένοι σπόροι του φυτού *Bornmuellera emarginata*



Εικόνα 22: Απολυμασμένοι σπόροι του φυτού *Bornmuellera tymphaea*

7.3.3 Παρασκευή συγκεντρώσεων Ni

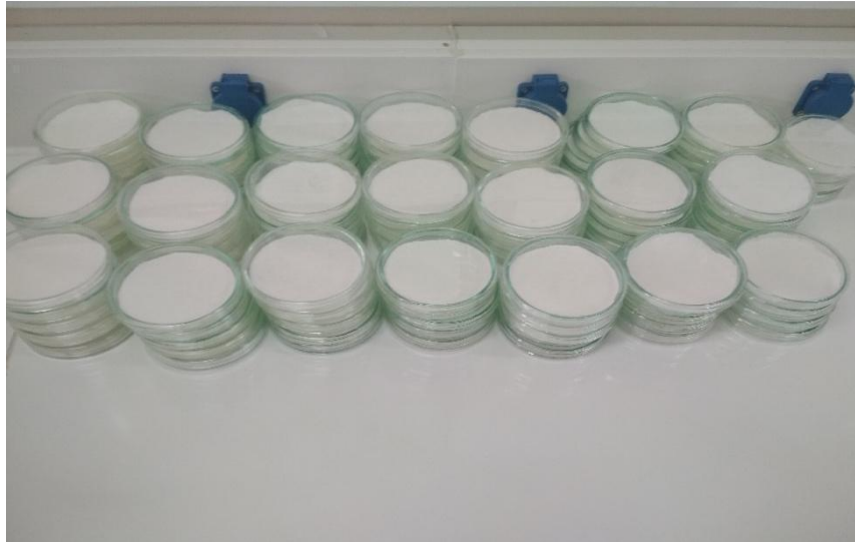
Η παρασκευή των διαλυμάτων έγινε στο χώρο του Εργαστηρίου χημείας. Για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις Ni, χρησιμοποιήθηκε το χλωριούχο νικέλιο (εξαένυδρο άλας), σε μορφή σκόνης ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Σε μία ογκομετρική φιάλη προσθέσαμε απιονισμένο νερό και στην συνέχεια ζυγίσαμε και προσθέσαμε το χλωριούχο νικέλιο. Τέλος, το μείγμα ανακινήθηκε και συμπληρώθηκε η απαραίτητη ποσότητα νερού. Από το αρχικό διάλυμα εφαρμόζοντας τον τύπο της αραιώσης έγιναν οι παρακάτω αραιώσεις NiCl: 8 mM, και 4 mM.

7.3.4 Τοποθέτηση σπόρων στα τρυβλία

Χρησιμοποιήθηκαν για το πείραμα 108 γυάλινα τρυβλία Petri με διάμετρο 9 cm. Πιο συγκεκριμένα, χρειάστηκαν 36 τρυβλία για το κάθε φυτό και δύο φύλλα διηθητικού χαρτιού στο μέγεθος του κάθε τρυβλίου ως υπόστρωμα. Χρησιμοποιώντας ανοξειδωτή τσιμπίδα, τοποθετήθηκαν είκοσι σπόροι σε κάθε τρυβλίο με τον κατάλληλο αναγραφόμενο κωδικό (C1, B1, L1), εκ των οποίων το πρώτο σύμβολο δείχνει το αρχικό γράμμα κάθε φυτού (*Centaurea thracica*, *Bornmuellera tymphaea*, *Bornmuellera emarginata* και ο δεύτερος δηλώνει την μεταχείριση. Προστέθηκε το ανάλογο διάλυμα σε δοσολογία 2 ml με την χρήση πιπέτας (12 τρυβλία/ 2ml NiCl 0 mM, 12 τρυβλία/ 2ml NiCl 4mM, 12 τρυβλία/ 2 ml NiCl 8 mM) και σφραγίστηκε το καθένα με parafilm.



Εικόνα 23: Τοποθέτηση απολυμασμένων σπόρων στα τρυβλία



Εικόνα 24: Τρυβλία Petri που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή του πειράματος

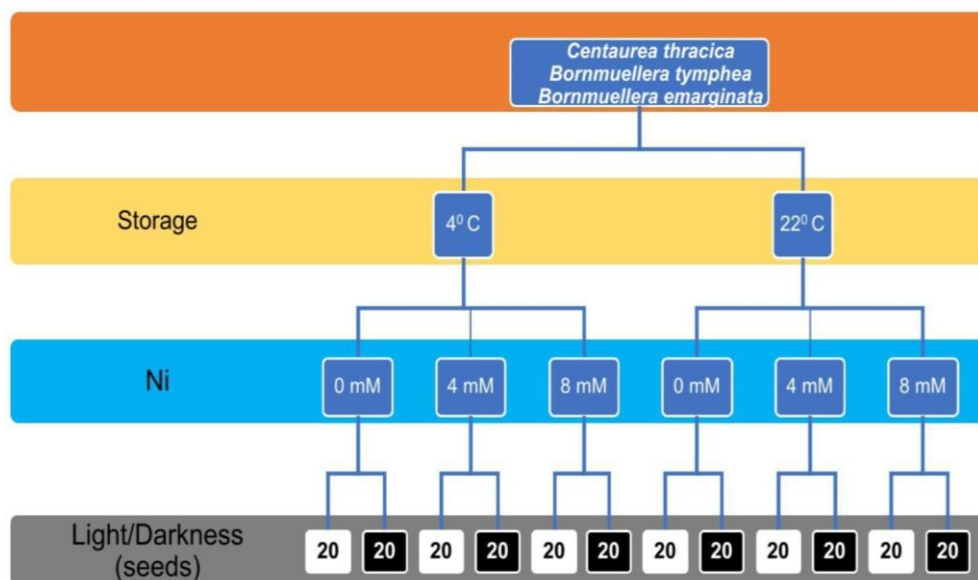
Τα τρυβλία Petri που περιέχουν τους σπόρους, μεταφέρονται και τοποθετούνται σε προβλαστήριο. Η επώαση των σπόρων έγινε στο θάλαμο με ελεγχόμενη θερμοκρασία στους 22°C (Εικ.25). Η φωτοπερίοδος ήταν 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι.



Εικόνα 25: Εικόνα στην οποία απεικονίζεται ο θάλαμος στον οποίο τοποθετούνταν οι σπόροι.

Στα τρυβλία τοποθετήθηκαν και οι σπόροι προς επώαση υπό συνθήκες σκότους καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο.

7.3.5 Σχέδιο του πειράματος



Εικόνα 26: Διάγραμμα στο οποίο απεικονίζονται στην πρώτη στήλη τα τρία φυτά, στην δεύτερη οι δύο διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας, στην τρίτη οι συγκεντρώσεις Ni και στην τέταρτη οι συνθήκες βλάστησης

Κάθε σπόρος μετά τον καθαρισμό αποθηκεύτηκε στον ξηραντήρα σε δύο διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας: Στους 4°C και στους 22°C.

Για κάθε διαφορετική συνθήκη αποθήκευσης δοκιμάστηκαν τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις νικελίου: 0 mM (νερό), 4 mM, 8 mM. Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε δύο διαφορετικές συνθήκες βλάστησης: φως & σκοτάδι.

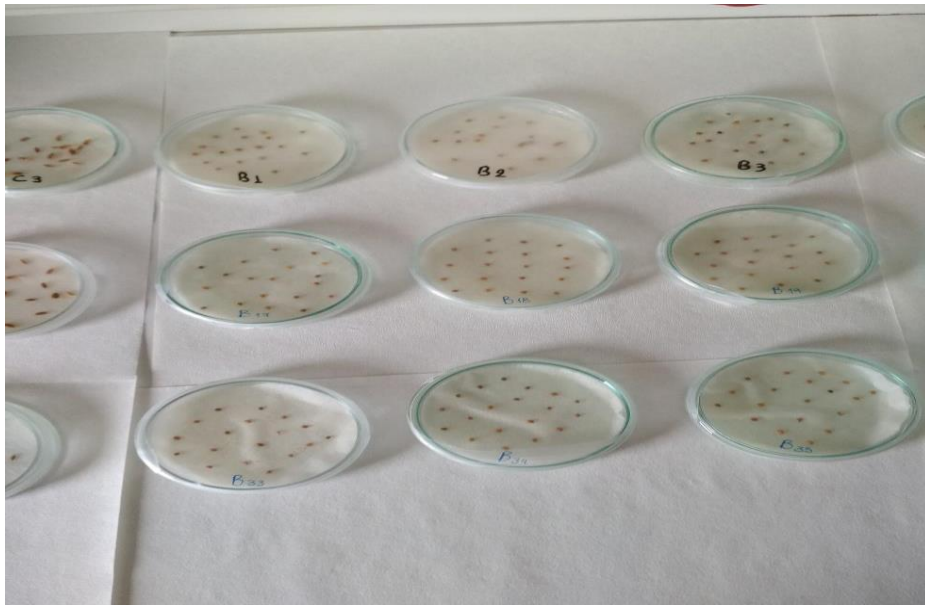
Μετρήσεις

Ο αριθμός των σπόρων που βλάσταναν μετρήθηκε 5 φορές κατά την διάρκεια του πειράματος, με την συνολική διάρκεια να είναι 25 ημέρες.

Οι μετρήσεις γίνονταν περίπου ανά 5 ημέρες ενώ την 3^η φορά αφαιρούνταν τα parafilm και προστίθεντο 2 mL H₂O ανά τρυβλίο Petri. Στην συνέχεια γινόταν τοποθέτηση καινούργιας ταινίας parafilm και κλείσιμο των τρυβλίων. Τα τρυβλία επανατοποθετούνταν στις αρχικές

τους θέσεις (Εικ.36). Οι σπόροι θεωρείτε πως είχαν βλαστήσει όταν το μήκος του ριζιδίου ήταν μεγαλύτερο από 1mm.

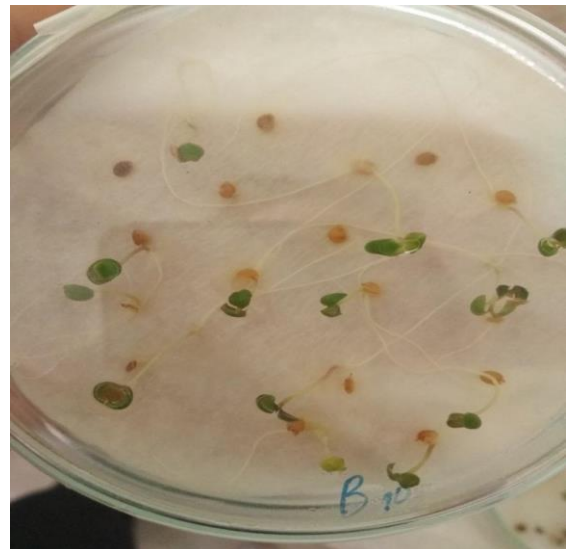
Το κάθε πείραμα και οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν 6 φορές, για τους μήνες Σεπτέμβριο, Νοέμβριο, Δεκέμβριο, Ιανουάριο, Φεβρουάριο και Ιούνιο.



Εικόνα 27: Αρχική τοποθέτηση των σπόρων στα τρυβλία



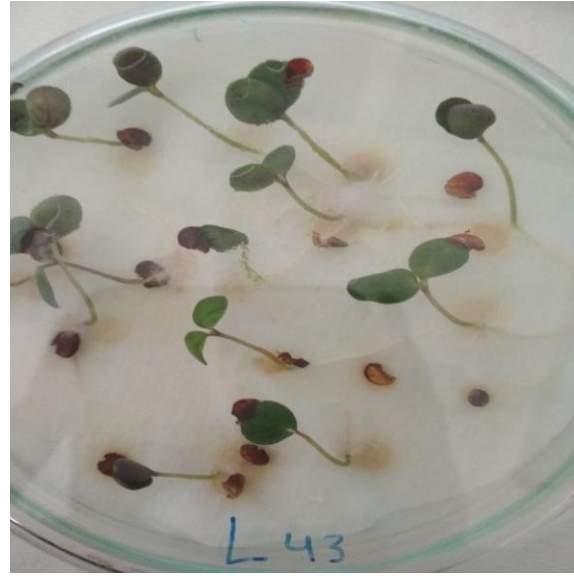
Εικόνα 28: Οι σπόροι του φυτού *Bornmuellera tymphaea* κατά την πρώτη μέτρηση 5^η- 6^η μέρα μετά την σπορά.



Εικόνα 29: Οι σπόροι του φυτού *Bornmuellera tymphaea* κατά την πρώτη μέτρηση 9^η – 10^η μέρα μετά την σπορά.



Εικόνα 30: Οι σπόροι του φυτού *Bornmuellera tymphaea* κατά την πρώτη μέτρηση 12^η – 15^η μέρα μετά την σπορά.



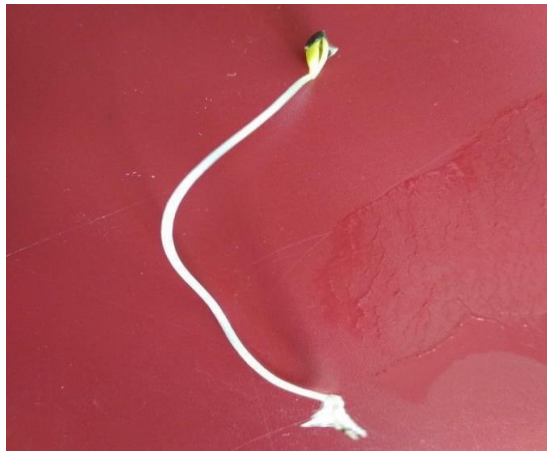
Εικόνα 31: Οι σπόροι του φυτού *Bornmuellera emarginata* κατά την πρώτη μέτρηση 19^η -20^η μέρα μετά την σπορά.



Εικόνα 32: Οι βλαστημένοι σπόροι του φυτού *Centaurea thracica* στο τέλος του πειράματος.

Διαδικασία μέτρησης μήκους:

Το μήκος της ρίζας και του υποκοτυλίου μετρήθηκε χρησιμοποιώντας στερεοσκόπιο. Για τα τρυβλία που ήταν στο σκοτάδι, μετά το τέλος της κάθε μέτρησης, τυλίγονταν πάλι με αλουμινόχαρτο και επανατοποθετούνταν στις αρχικές τους θέσεις.



Εικόνα 33: Μέτρηση του μήκους της ρίζας



Εικόνα 34: Μέτρηση του μήκους της ρίζας

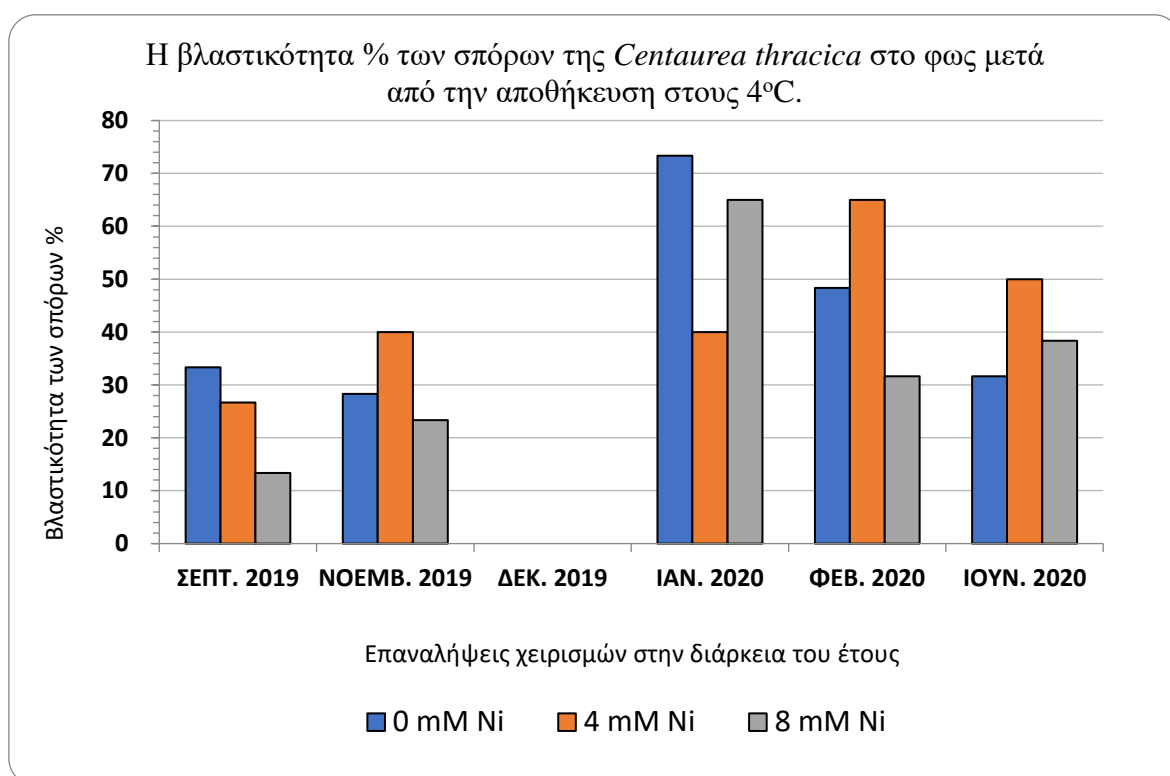
7.3.6 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και οι γραφικές παραστάσεις έγιναν με το πρόγραμμα Microsoft Excel.

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

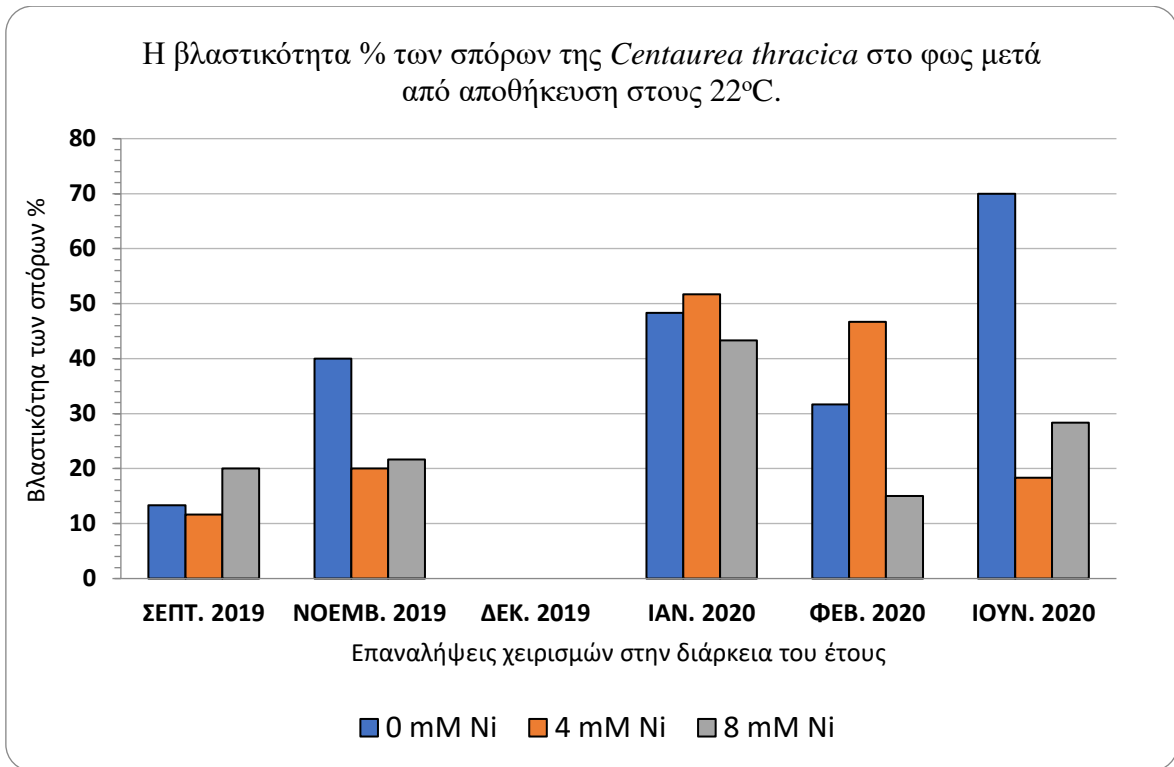
8.1 *Centaurea thracica*

Στα παρακάτω γραφήματα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την βλαστικότητα των σπόρων του φυτικού είδους *Centaurea thracica* ανά μεταχείριση στην διάρκεια του πειράματος. Στον κάθετο άξονα y φαίνεται η βλαστικότητα των σπόρων σε ποσοστό επί της εκατό (%) ενώ στον οριζόντιο άξονα x οι επαναλήψεις των χειρισμών κατά διάρκεια του έτους.

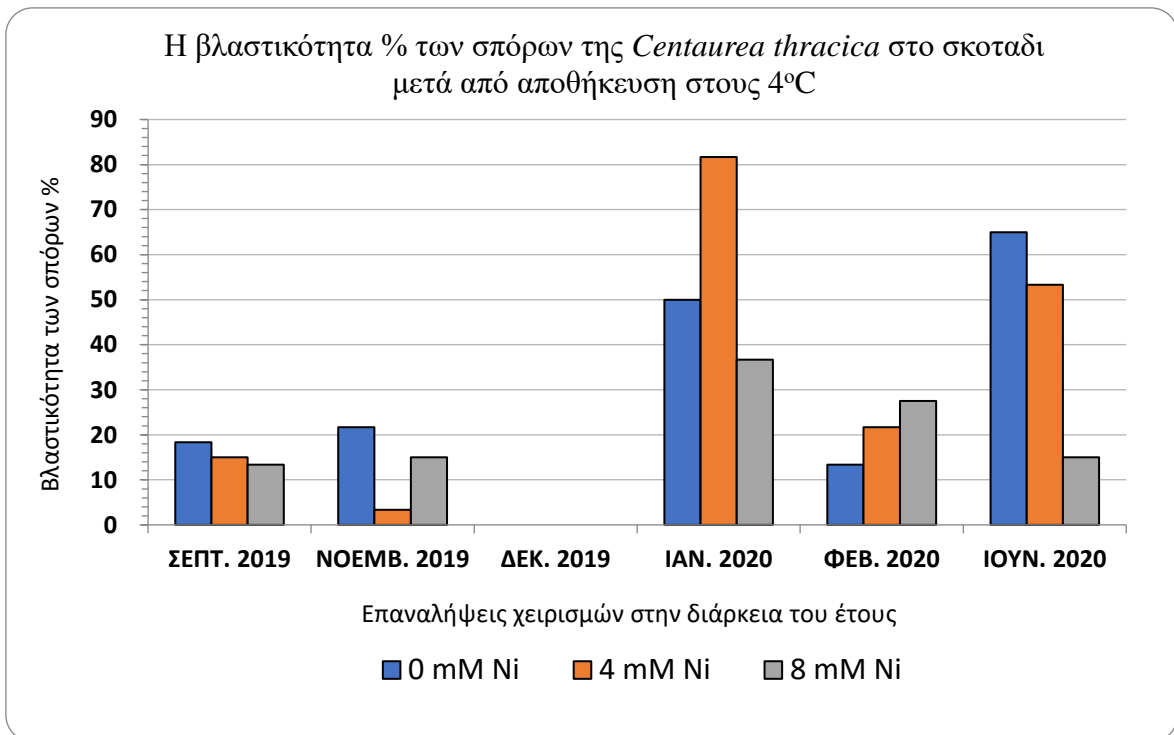


Γράφημα 1. Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Centaurea thracica* στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους.

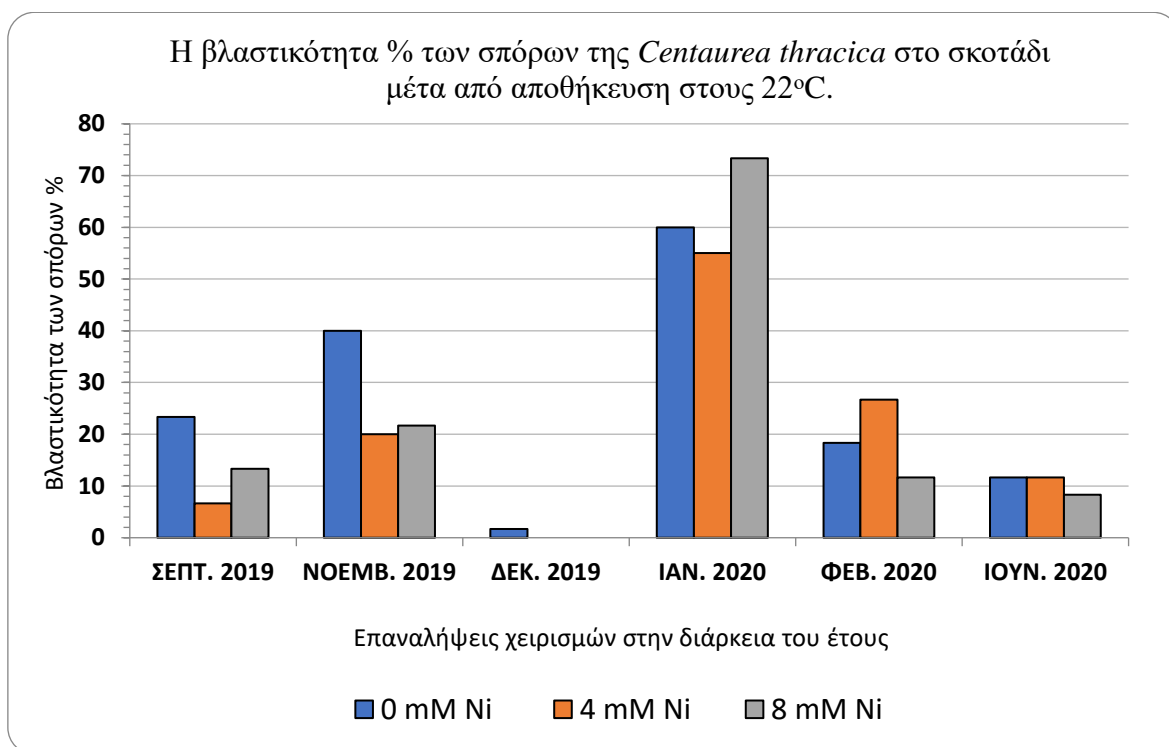
Στις δυο πρώτες επαναλήψεις και σε όλες τις μεταχειρίσεις η βλαστικότητα είναι κάτω από 50% ενώ στην τρίτη, τον μήνα Δεκέμβριο, είναι μηδενική λόγω κυρίως της εφαρμογής μυκητοκτόνων για αντιμετώπιση των μολύνσεων. Τον Ιανουάριο οι σπόροι παρουσιάζουν την μεγαλύτερη βλαστικότητα καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος. Φεβρουάριο και Ιούνιο παρατηρείται εκ νέου μείωση στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων, με τις μεταχειρίσεις στο φως να έχουν μια πιο θετική αντίδραση.



Γράφημα 2: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Centaurea thracica* στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους.



Γράφημα 3: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Centaurea thracica* στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους..



Γράφημα 4: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Centaurea thracica* στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους..

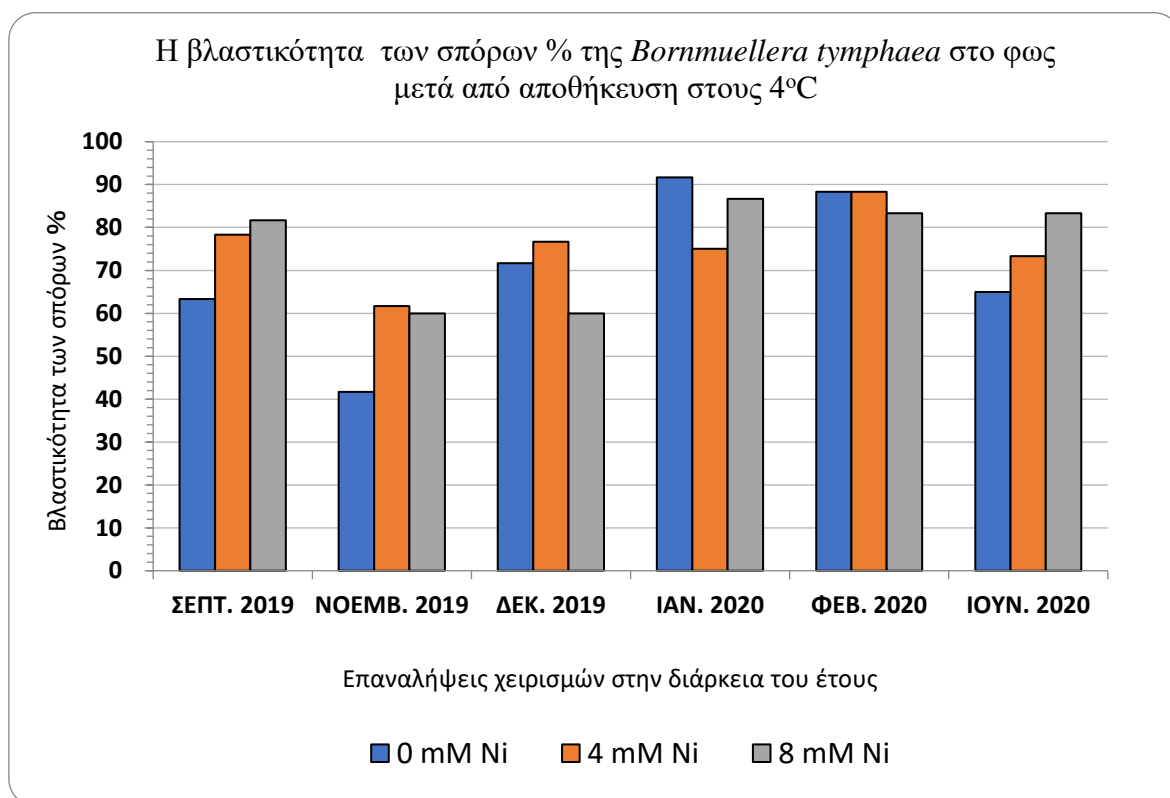
Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3) παρουσιάζονται οι μέρες που χρειάζεται για να ξεκινήσουν την βλάστηση οι σπόροι σε όλα τα τρυβλία και οι μέρες μετά την έναρξη του πειράματος όπου έχει επιτευχθεί το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας.

Πίνακας 3: Ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος, για κάθε επανάληψη, που όλα τα τρυβλία έχουν σπόρους που έχουν βλαστήσει και ημέρες όπου έχει επιτευχθεί το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας.

Μήνας	Μέρες που σε όλα τα τρυβλία έχουν βλαστημένους σπόρους	Μέρες με το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας
Σεπτέμβριος 2019	6 ^η ημέρα	10 ^η ημέρα
Νοέμβριος 2019	10 ^η ημέρα	15 ^η ημέρα
Δεκέμβριος 2019	-	-
Ιανουάριος 2020	5 ^η ημέρα	8 ^η ημέρα
Φεβρουάριος 2020	5 ^η ημέρα	12 ^η ημέρα
Ιούνιος 2020	5 ^η ημέρα	14 ^η ημέρα

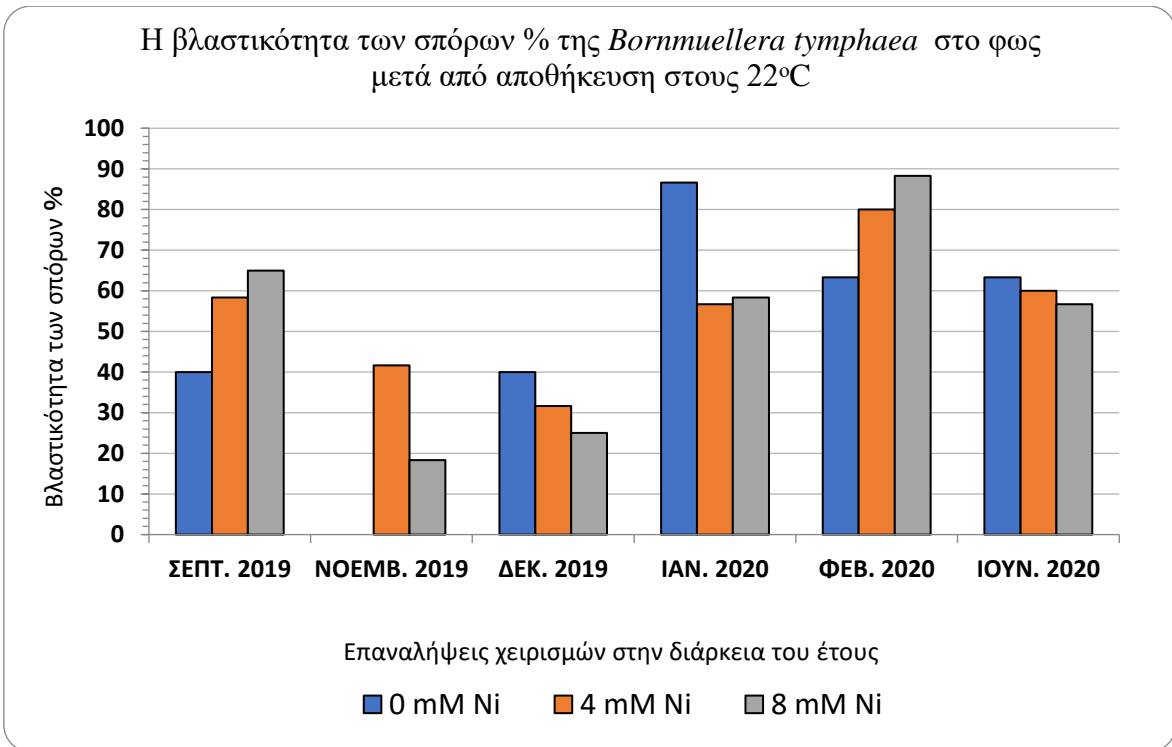
8.2 *Bornmuellera tymphaea*

Στα παρακάτω γραφήματα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την βλαστικότητα των σπόρων του φυτικού είδους *Bornmuellera tymphaea* ανά μεταχείριση στην διάρκεια του πειράματος. Στον κάθετο άξονα y φαίνεται η βλαστικότητα των σπόρων σε ποσοστό επί της εκατό (%) ενώ στον οριζόντιο άξονα x οι επαναλήψεις χειρισμών κατά διάρκεια του έτους.

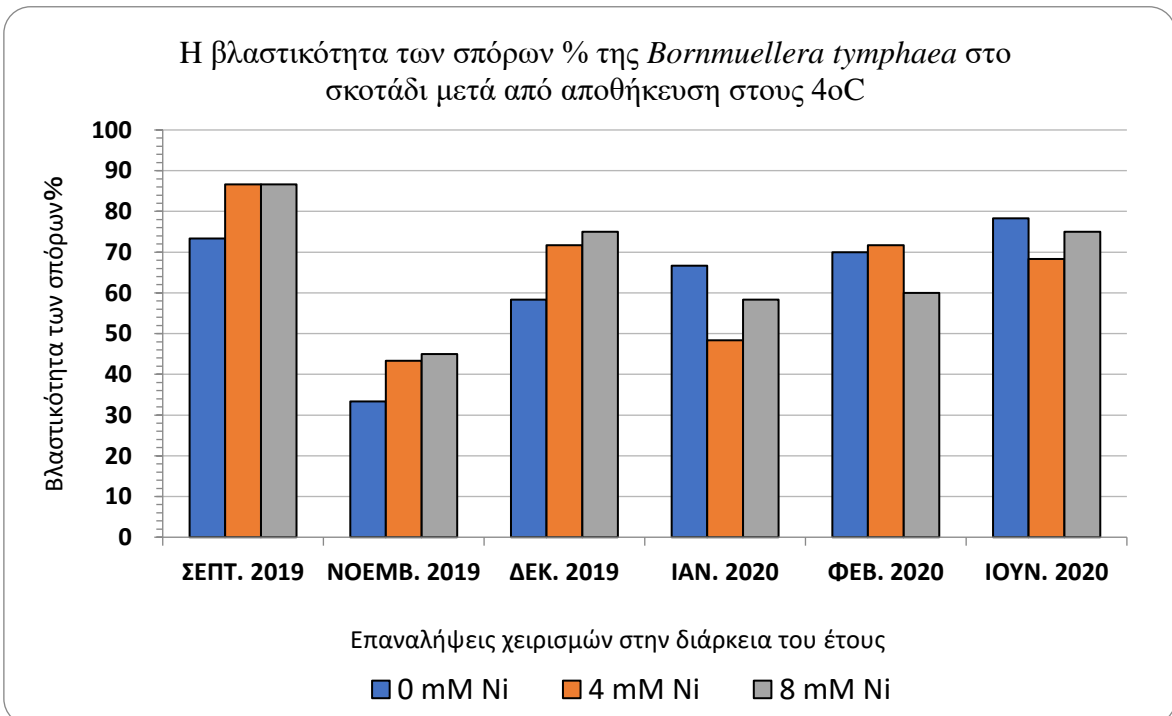


Γράφημα 5: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Bornmuellera tymphaea* στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους .

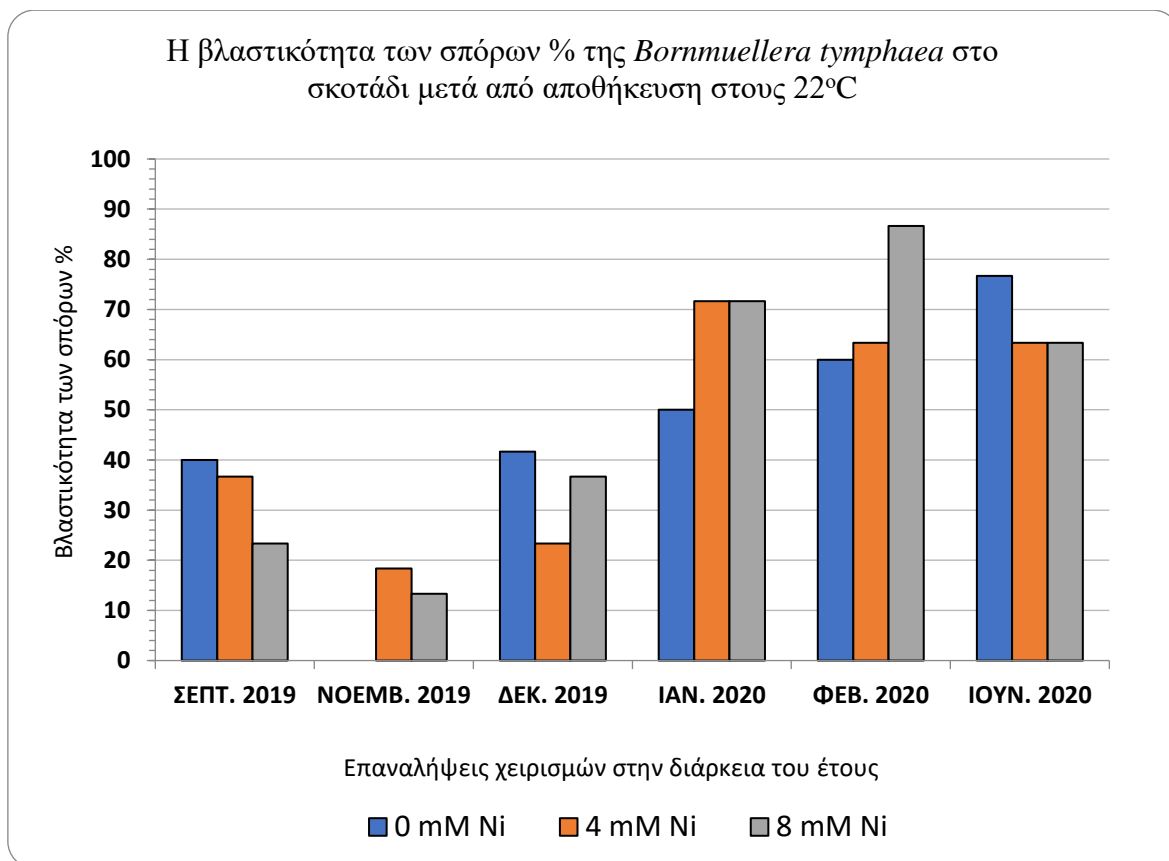
Για την *B. tymphaea* η βλαστικότητα είναι μεγαλύτερη από αυτή της *C. Tracica* με τα ποσοστά να παραμένουν υψηλά σε όλη την διάρκεια του πειράματος κυρίως για την μεταχείριση στο φως μετά από αποθήκευση στους 4°C (Γράφημα 5). Οι συγκεντρώσεις του Ni φαίνεται πως δεν επηρεάζουν την βλαστικότητα (Γράφημα 5, 6, 7, και 8). Ο Νοέμβριος κυρίως αλλά και ο Δεκέμβριος έχουν τα μικρότερα ποσοστά σε σχέση με τους άλλους μήνες ανεξάρτητα την μεταχείριση (Γράφημα 5, 6, 7, και 8).



Γράφημα 6: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Bornmuellera tymphaea* στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους.



Γράφημα 7: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Bornmuellera tymphaea* στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους.



Γράφημα 8: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Bornmuellera tymphaea* στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους.

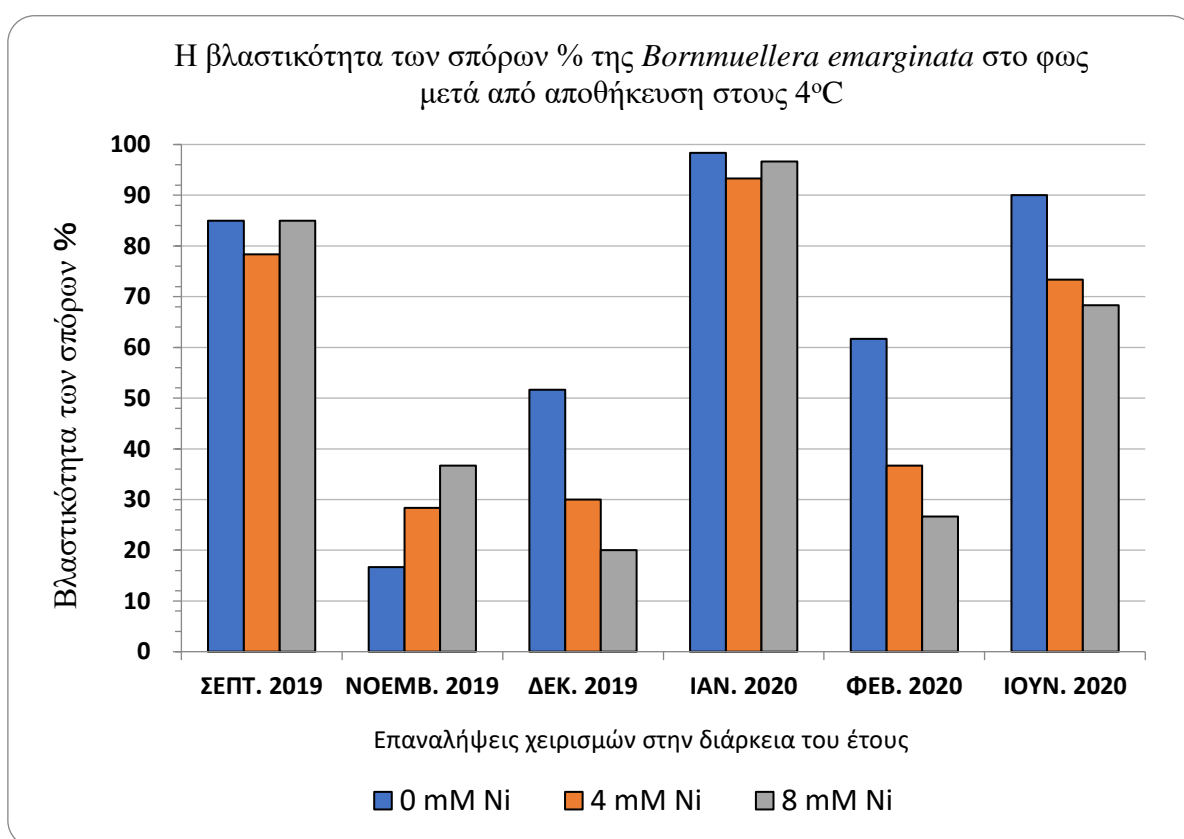
Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4) παρουσιάζονται οι μέρες που χρειάζεται για να ξεκινήσουν την βλάστηση οι σπόροι σε όλα τα τρυβλία και οι μέρες μετά την έναρξη του πειράματος όπου έχει επιτευχθεί το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας.

Πίνακας 4: Ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος, για κάθε επανάληψη, που όλα τα τρυβλία έχουν σπόρους που έχουν βλαστήσει και ημέρες όπου έχει επιτευχθεί το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας.

Μήνας	Μέρες που σε όλα τα τρυβλία έχουν βλαστημένους σπόρους	Μέρες με το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας
Σεπτέμβριος 2019	6 ^η ημέρα	10 ^η ημέρα
Νοέμβριος 2019	10 ^η ημέρα	15 ^η ημέρα
Δεκέμβριος 2019	5 ^η ημέρα	8 ^η ημέρα
Ιανουάριος 2020	5 ^η ημέρα	8 ^η ημέρα
Φεβρουάριος 2020	5 ^η ημέρα	12 ^η ημέρα
Ιούνιος 2020	5 ^η ημέρα	10 ^η ημέρα

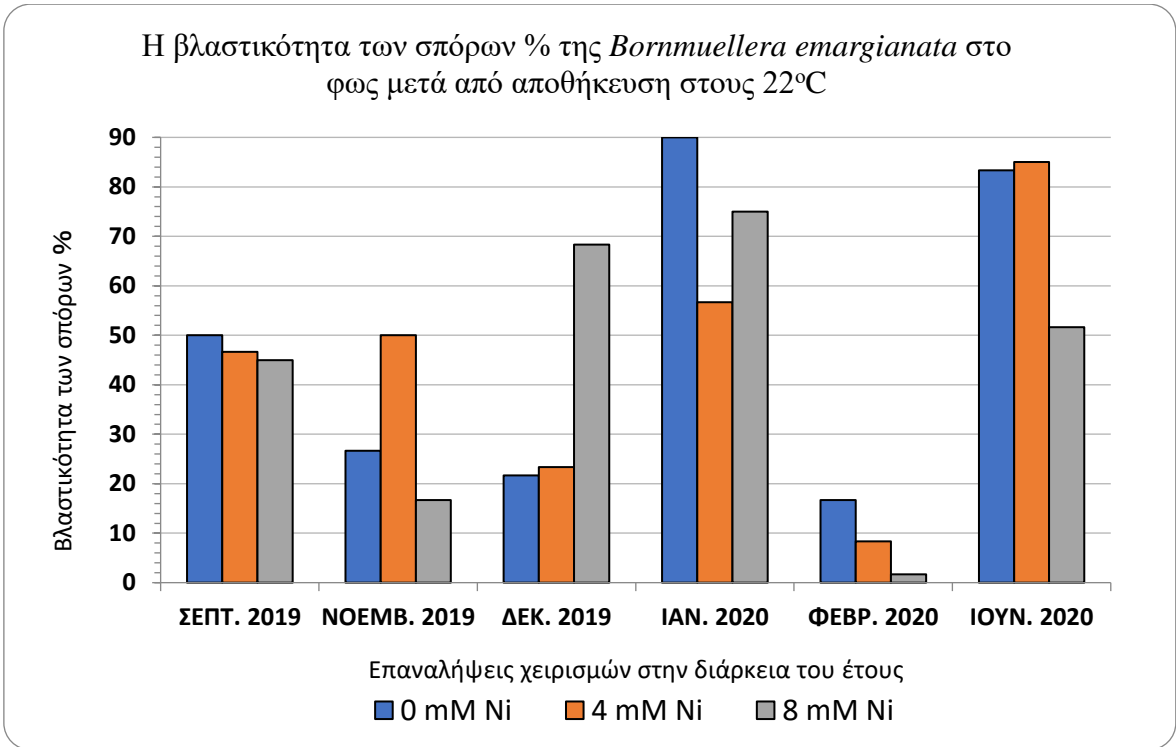
8.3 *Bornmuellera emarginata*

Στα παρακάτω γραφήματα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την βλαστικότητα των σπόρων του φυτικού είδους *Bornmuellera emarginata* ανά μεταχείριση στην διάρκεια του πειράματος. Στον κάθετο άξονα y φαίνεται η βλαστικότητα των σπόρων σε ποσοστό επί της εκατό (%) ενώ στον οριζόντιο άξονα x οι επαναλήψεις χειρισμών κατά διάρκεια του έτους.

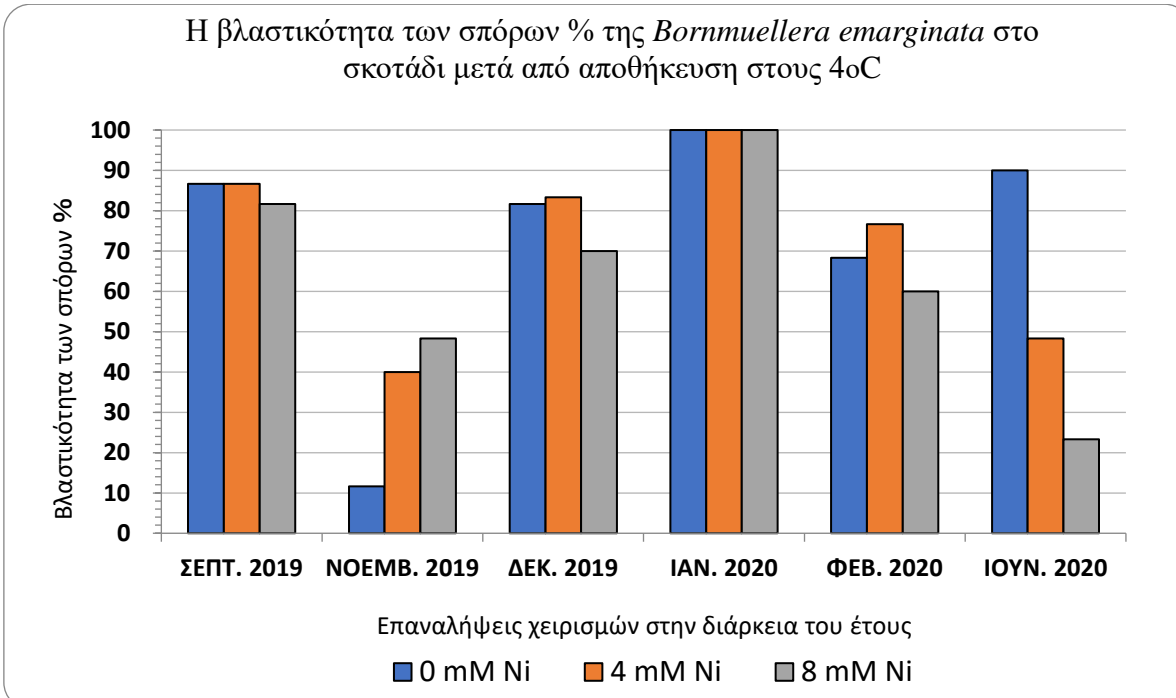


Γράφημα 9: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Bornmuellera emarginata* στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους.

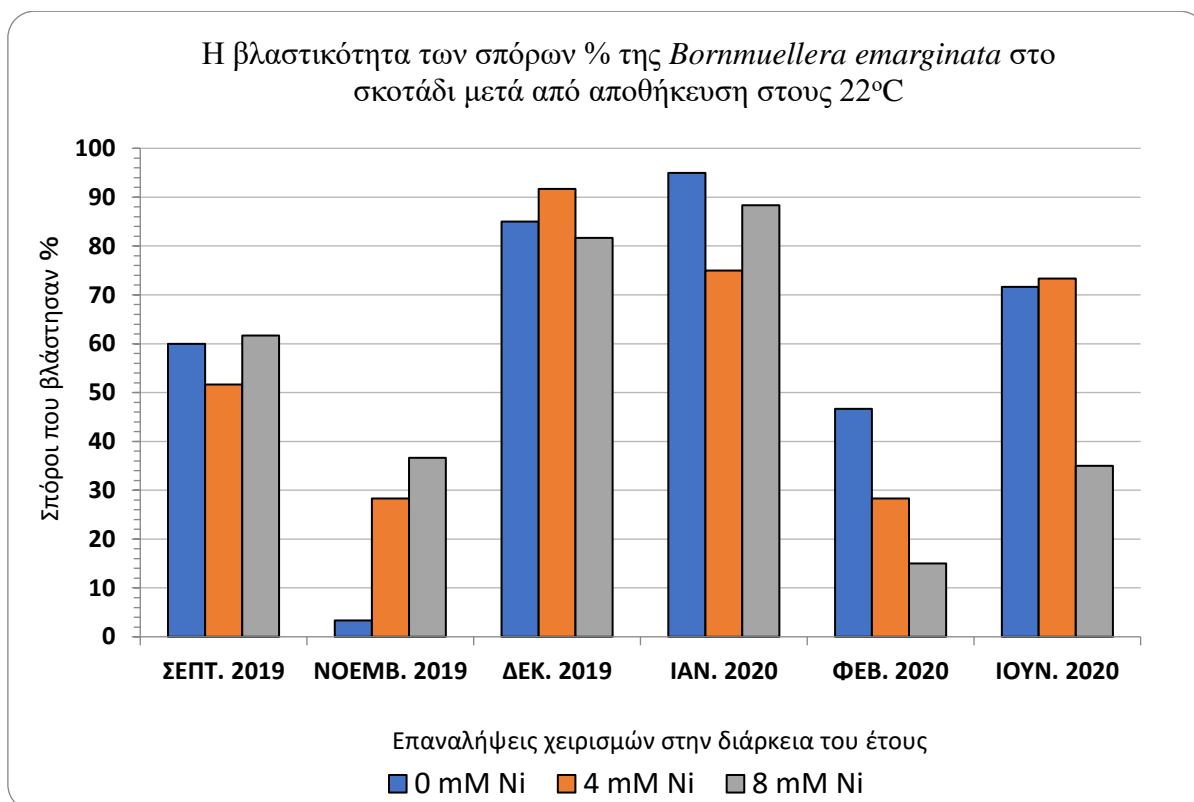
Για την *B. emarginata* η βλαστικότητα είναι μεγαλύτερη από αυτή της *C. Thracica* με τα ποσοστά να παραμένουν υψηλά κυρίως για τον Ιανουάριο. Στην μεταχείριση όπου οι σπόροι είχαν αποθηκευτεί στους 4°C και βλάστησαν στο σκοτάδι, τον Ιανουάριο το ποσοστό βλάστησης ήταν 100% (Γράφημα 11). Οι συγκεντρώσεις του Ni φαίνεται πως δεν επηρεάζουν την βλαστικότητα (Γράφημα 9, 10, 11, και 12). Ο Νοέμβριος κυρίως αλλά και ο Φεβρουάριος έχουν τα μικρότερα ποσοστά σε σχέση με τους άλλους μήνες ανεξάρτητα την μεταχείριση (Γράφημα 9, 10, 11, και 12).



Γράφημα 10: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Bornmuellera emarginata* στο φως σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους.



Γράφημα 11 : Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Bornmuellera emarginata* στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 4°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους.



Γράφημα 12: Η βλαστικότητα % των σπόρων του φυτού *Bornmuellera emarginata* στο σκοτάδι σε θερμοκρασία αποθήκευσης στους 22°C. Στον άξονα y απεικονίζεται η βλαστικότητα των σπόρων % και στον x οι επαναλήψεις των χειρισμών στην διάρκεια του έτους.

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 5) παρουσιάζονται οι μέρες που χρειάζεται για να ξεκινήσουν την βλάστηση οι σπόροι σε όλα τα τρυβλία και οι μέρες μετά την έναρξη του πειράματος όπου έχει επιτευχθεί το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας.

Πίνακας 5: Ημέρα μέτρησης μετά την έναρξη του πειράματος που τα περισσότερα τρυβλία περιέχουν σπόρους που έχουν βλαστήσει.

Μήνας	Μέρες που σε όλα τα τρυβλία έχουν βλαστημένους σπόρους	Μέρες με το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας
Σεπτέμβριος 2019	6 ^η μέρα	10 ^η μέρα
Νοέμβριος 2019	10 ^η μέρα	15 ^η μέρα
Δεκέμβριος 2019	8 ^η μέρα	8 ^η μέρα
Ιανουάριος 2020	5 ^η μέρα	10 ^η μέρα
Φεβρουάριος 2020	8 ^η μέρα	16 ^η μέρα
Ιούνιος 2020	5 ^η μέρα	5 ^η μέρα

8.4 Μέτρηση του μήκους του υποκοτύλιου

Οι μέσοι όροι των μετρήσεων του μήκους του υποκοτύλιου των σπόρων παρουσιάζονται στον πίνακα 9. Το μήκος μετρήθηκε ενδεικτικά στην μεταχείριση με το νερό στο υπόστρωμα και για τους σπόρους που είχαν αποθηκευτεί στους 4°C.

Πίνακας 6: Μήκη υποκοτύλιου 20 μέρες μετά τη βλάστηση.

Φυτικό είδος	ΦΩΣ	ΣΚΟΤΑΔΙ
<i>Centaurea thracica</i>	0.4 cm	3,5 cm
<i>Bornmuellera tymphaea</i>	1,5 cm	2,4 cm
<i>Bornmuellera emarginata</i>	1,1 cm	5,5 cm

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Για την *Centaurea thracica* από τα αποτελέσματα φαίνεται πως τον Δεκέμβριο του 2019 η βλαστικότητα είναι μηδενική λόγω της μόλυνσης των σπόρων με μύκητες και της δυσκολίας απολύμανσής τους. Όσο αφορά τις συνθήκες αποθήκευσης των σπόρων λίγο καλύτερη επίδραση έχει η αποθήκευση των σπόρων σε θερμοκρασία ψύξης (4 °C) παρά σε θερμοκρασία εργαστηρίου (20-22 °C). Επίσης δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών στο φως και το σκοτάδι.

Συγκεντρώσεις Ni: Δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των συγκεντρώσεων του Ni, αν και στις περισσότερες των περιπτώσεων υπάρχει θετική απόδοση με Ni 4 και 0 mM.

Καλύτερη εποχή για σπορά: είναι ο Ιανουάριος ώστε τα φυτά να είναι έτοιμα για μεταφύτευση στον αγρό την Άνοιξη.

Επιπλέον είναι χαρακτηριστικό το μήκος στο σκοτάδι που είναι μεγαλύτερο όπως από αυτό στο φως. Οι τρεις συγκεντρώσεις Ni που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα φαίνεται πως δεν προκαλούν αναστολή της βλάστησης του σπόρου. Ακόμη και η μεγαλύτερη συγκέντρωση δεν δημιούργησε φαινόμενα τοξικότητας.

Διαπιστώθηκε επίσης, σε αντίθεση με τα άλλα δύο φυτά, πως δεν υπάρχει μεγάλο ποσοστό βλαστικότητας το πρώτο χρονικό διάστημα από την συλλογή τους. Το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης επιτυγχάνεται τις πρώτες δεκαπέντε μέρες ή και νωρίτερα. Ακόμη φαίνεται πως υπάρχει λήθαργος και οι σπόροι δεν μπορούν να βλαστήσουν σε σύντομο χρονικό διάστημα από την συλλογή τους.

Για την *Bornmuellera tymphaea* από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι υπάρχει μικρή αύξηση στην βλάστηση σε συνθήκες φωτός ενώ όσο αφορά τις συνθήκες αποθήκευσης θετική επίδραση έχει η αποθήκευση των σπόρων στους 4°C.

Συγκεντρώσεις Ni: Δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των συγκεντρώσεων του Ni, αν και στις περισσότερες των περιπτώσεων υπάρχει θετική απόδοση με 4 mM και 0 mM. Πιθανότατα και εδώ οι συγκεντρώσεις του Ni να είναι μικρές για να προκαλέσουν φαινόμενα τοξικότητας.

Καλύτερη εποχή για σπορά: είναι ο Ιανουάριος και ο Φεβρουάριος ώστε τα φυτά να είναι έτοιμα για μεταφύτευση στον αγρό την Άνοιξη.

Επιπλέον είναι χαρακτηριστικό το μήκος στο σκοτάδι που είναι μεγαλύτερο από αυτό στο φως. Οι τρεις συγκεντρώσεις Ni που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα φαίνεται πως δεν

προκαλούν αναστολή της βλάστησης του σπόρου. Ακόμη και η μεγαλύτερη συγκέντρωση δεν δημιούργησε φαινόμενα τοξικότητας και παραμορφώσεις στο υποκοτύλιο.

Διαπιστώθηκε επίσης, πως υπάρχει μεγάλο ποσοστό βλαστικότητας το πρώτο χρονικό διάστημα από την συλλογή των σπόρων και το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης επιτυγχάνεται τις πρώτες δεκαπέντε μέρες ή και νωρίτερα. Ακόμη δεν υπάρχει λήθαργος και οι σπόροι μπορούν να βλαστήσουν σε σύντομο χρονικό διάστημα από την συλλογή τους. Το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης επιτυγχάνεται τις πρώτες δεκαπέντε μέρες ή και νωρίτερα.

Για την *Bornmuellera emarginata* από τα αποτελέσματα προκύπτει δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών στο φως και το σκοτάδι και οι σπόροι βλαστάνουν ανεξάρτητα χωρίς να επηρεάζονται. Θετική επιδραση στην βλάστηση και εδώ φαίνεται πως έχει η αποθήκευση των σπόρων στους 4°C.

Συγκεντρώσεις Ni: Δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των συγκεντρώσεων του Ni, αν και στις περισσότερες των περιπτώσεων υπάρχει θετική απόδοση με 8 mM και 0 mM. Οι τρεις συγκεντρώσεις Ni που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα φαίνεται πως δεν προκαλούν αναστολή της βλάστησης του σπόρου.

Καλύτερη εποχή για σπορά: ο Ιανουάριος ώστε τα φυτά να είναι έτοιμα για μεταφύτευση στον αγρό την Άνοιξη.

Επιπλέον είναι χαρακτηριστικό το μήκος στο σκοτάδι που είναι πολύ μεγαλύτερο από αυτό στο φως σε σχέση και με τα άλλα φυτά. Ακόμη και η μεγαλύτερη συγκέντρωση δεν δημιούργησε φαινόμενα τοξικότητας. Τέλος, υπάρχει μεγάλο ποσοστό βλαστικότητας το πρώτο χρονικό διάστημα από την συλλογή των σπόρων. Το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης επιτυγχάνεται τις πρώτες δεκαέξι μέρες ή και νωρίτερα.

10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alexander, M. (1999). Sequestration and bioavailability of organic compounds. American Academy of environmental engineers, Annapolis.
- Anderson, C.W.N., Brooks, R.R., Chiarucci, A., LaCoste, C.J., Leblanc, M., Robinson, B.H., Simcock, R. and Stewart, R.B. (1999). Phytomining for nickel, thallium and gold. *Journal of Geochemical Exploration*, 67.
- Arianoutsou, M., Philip, W., Rundel and Wade Barry L. (1993). Serpentine Endemics as Biological Indicators of Soil Elemental Concentrations. *Plant as biomonitors*. VCH Publishers Weinheim.
- Baker, A.J.M. (2000). *Revegetation of asbestos mine wastes*. Princeton Architectural Press, New York.
- Bradford KJ (1995). Water relations in seed germination. In J Kigel, G Galili, eds, *Seed Development and Germination*, Marcel Dekker, Inc., New York, NY, 351-396.
- Bradford KJ, Bewley JD (2002). Seeds: biology, technology and role in agriculture. In MJ Chrispeels and DE Sadava, *Plants, Genes and Crop Biotechnology*, 2nd Edition. Jones and Bartlett, Boston, MA, 210-239.
- Bidwell, S.D., Crawford, S.A., Woodrow, I.E., Sommer-Knudsen, J. and Marshall, A.T. (2004). Sub-cellular localization of Ni in the hyperaccumulator, *Hybanthus floribundus* (Lidney) F. Muell, *Plant Cell and Environment*, 27.
- Brooks, R.R. (1987). *Serpentine and its Vegetation: A Multidisciplinary Approach*, Portland, Discorides Press.
- Boyd, Robert S., Shaw, J. J., & Martens, S. N. (1994). Nickel Hyperaccumulation Defends *Streptanthus polygaloides* (Brassicaceae) Against Pathogens. *American Journal of Botany*, 81(3), 294–300.
- Cao, D., Zhang, H., Wang, Y., Zheng, L. (2014). Accumulation and distribution characteristics of zinc and cadmium in the hyperaccumulator plant *Sedum plumbizincicola*. *Bull Environ Contam Toxicol* 93.
- Cosio, C., DeSantis, L., Frey, B., Diallo, S., Keller, C. (2005). Distribution of cadmium in leaves of *Thlaspi caerulescens*. *J Exp Bot* 56
- Freitas, H., Prasad, M.N.V. and Pratas J. (2003). Plant community tolerant to trace elements growing on the degraded soils of Sao Domingos mine in the south east of Portugal: environmental implications. *Environmental International*, 30.

- Freitas, H., Prasad, M.N.V. and Pratas J. (2004). Analysis of serpentinophytes from north-east Portugal for trace metal accumulation-relevance to the management of mine environment. *Chemosphere*, 54.
- Fernández, S., Silvia S. and A. Merino. (1999). Plant heavy metal concentrations and soil biological properties in agricultural serpentine soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 30.
- Guimaraes, M.D., Gustin, J.L., Salt, D.E. (2009). Reciprocal grafting separates the roles of the root and shoot in zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *New Phytol* 184.
- Halimaa, P., Blande, D., Aarts, M.G., Tuomainen, M., Tervahauta, A., Karenlampi, S. (2014). Comparative transcriptome analysis of the metal hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. *Front Plant Sci*.
- Huang, W.J., Chen, J., Berti, R.W. and Cunningham, S.D. (1997). Phytoremediation of Lead-Contaminated Soils: Role of Synthetic Chelates in Lead Phytoextraction, *Environ. Sci. Technol.*, 31.
- Jaffre, T., Schmid, M. (1974). Accumulation du nickel par une Rubiacee de Nouvelle Calédonie, *Psychotria douarrei* (G. Beauvisage). *Da "niker. Compt Rend Acad Sci Paris Se "r D*.
- Kabata-Pendias, A. 2001. *Trace Elements in Soils and Plants*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton. *Trace Elements in Soils*.
- Kazakou, E., Dimitrakopoulos, P., Baker, A. and Reeves, R. (2008). Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: From species to ecosystem level. *Biological reviews* 83.
- Kramer, U. (2010). Metal hyperaccumulation in plants. *Annu Rev Plant Biol* 61.
- Kruckerberg, A.R. (1984). *California serpentines flora, vegetation, geology, soils and management problems*. University of California Press, Berkley.
- Lan, C.Y., Chen, G., Li, L. and Wong, M.H. (1992). Use of cattails in treating wastewater from Pb/Zn mine. *Environmental Management*, 16.
- Miranda, M.J.L., Benedito, I., Blanco-Penedo, C., López-Lamas, A.M., and M. López-Alonso. (2009). Metal accumulation in cattle raised in a serpentine-soil area: Relationship between metal concentrations in soil, forage and animal tissues. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 23.
- Meindl, G.A. and Tia-Lynn, A. (2013). The effects of aluminum and nickel in nectar on the foraging behavior of bumblebees. *Environmental Pollution* 177.

- Morrissey, J., Baxter, I.R., Lee, J., Li, L., Lahner, B., Grotz, N., Kaplan, J., Salt, D.E., Gueriot, M.L. (2009). The ferroportin metal efflux proteins function in iron and cobalt homeostasis in Arabidopsis. *Plant Cell* 21.
- Nedelkoska, T.V. and Doran, P.M. (2000). Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potential for phytoremediation and phytomining. *Minerals Engineering*, 5.
- Nedelkoska, T.V. and Doran, P.M. (2001). Hyperaccumulation of Nickel by hairy roots of Alyssum species: Comparison with whole Regenerated Plants. *Biotechnol. Prog.*,17.
- Peer, W.A., Mamoudian, M., Lahner, B., Reeves, R.D., Murphy, A.S., Salt, D.E. (2003). Identifying model metal hyperaccumulating plants: germplasm analysis of 20 Brassicaceae accessions from a wide geographical area. *New Phytol* 159.
- Shahzad, Z., Gosti, F., Frerot, H., Lacombe, E., Roosens, N., Saumitou-Laprade, P., Berthomieu, P.. (2010). The five AhMTP1 zinc transporters undergo different evolutionary fates towards adaptive evolution to zinc tolerance in Arabidopsis halleri. *PLoS Genet* 6.
- Peng, J.S., Wang, Y.J., Ding, G., Ma, H.L., Zhang, Y.J., Gong, J.M. (2017). A pivotal role of cell wall in Cd accumulation in the Crassulaceae hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*. *Mol Plant*.
- Polacco, J.C, Mazzafera, P., Tezotto, T. (2013). Opinion: nickel and urease in plants: still many knowledge gaps. *Plant Sci*.
- Power, I.M., Siobhan A.W, and Gregory M.D. (2013). Serpentinite carbonation for CO₂ sequestration. *Elements* 9.
- Proctor J., and Woodell, S.R.D. (1975). The ecology of serpentines soils. *Advances in Ecological research* 9.
- Reeves, R.D., Baker, A.J.M., Borhidi, A. and Berazain, R. (1999). Nickel Hyperaccumulation in the serpentine flora of Cuba. *Annals of Botany*, 83.
- Stevanovic, V., Tan, K., Iatrou, G. (2003). Distribution of the endemic Balkan Flora on serpentine I 309 obligate serpentine endemics. *Plant Syst Evol* 242.
- Scow, K.M. and Johnson, C.R. (1997). Effect of sorption on biodegradation of soil pollutants. *Adv. Agron.* 58.
- Whiting, S.N., Reeves, R.D., Richards, D., Johnson, M.S., Cooke, J.A., Malaisse, F., Paton, A., Smith, J.A.C., Angle, J.S., Chaney, R.L., Ginocchio, R., Jaffre, T., Johns, R., McIntyre, T., Purvis, O.W., Salt, D.E., Schat, H.,

- Zhao, F.J. and Baker, A.J.M. (2004). Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. *Restoration Ecology*, 12.
- Thomine, S., Vert, G. (2013). Iron transport in plants: better be safe than sorry. *Curr Opin Plant Biol* 16.
 - Van der Ent A, Baker, A.J.M., Reeves, R.D., Pollard, A.J., Schat (2013). Hyperaccumulators of metal and metalloids/trace elements: facts and fiction. *Plant Soil*.
 - Van der Ent A, G. Echevarria, A. J. Baker και J. L. Morel, *Agromining: Farming for Metals*, Springer, 2018.
 - Vert, G., Grotz, N., Dedaldechamp, F., Gaymard, F., Guerinot, M.L., Briat, J.F., Curie, C. (2002). IRT1, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell* 14.
 - Whiting, S.N., Reeves, R.D., Richards, D., Johnson, M.S., Cooke, J.A., Malaisse, F., Paton, A., Smith, J.A.C., Angle, J.S., Chaney, R.L., Ginocchio, R., Jaffre, T., Johns, R., McIntyre, T., Purvis, O.W., Salt, D.E., Schat, H., Zhao, F.J. and Baker, A.J.M. (2004). Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. *Restoration Ecology*, 12.
 - Wong, M.H. (2003). Ecological restoration of mine degraded soils with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50.
 - Yang, P., Li, X., Wang, X., Chen, H., Chen, F., & Shen, S. (2007). Proteomic analysis of rice (*Oryza sativa*) seeds during germination. *Proteomics*, 7(18), 3358-3368.
 - Σαρλής Γ.Π. (2001). Συστηματική Βοτανική – Εφαρμογές Κορμοφύτων. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα
 - *Frontiers in Environmental Science* June 2018 Volume 6 Article 44
 - Elisa Andresen, Edgar Peiter, Hendrik Küpper, Trace metal metabolism in plants, *Journal of Experimental Botany*, Volume 69, Issue 5, 20 February 2018, Pages 909–954, <https://doi.org/10.1093/jxb/erx465>
 - M. Konstantinou, Kyrkas, D., Karras, G., Patakioutas, G., Tsirogiannis, I., Tognacchini, A., Puschenreiter, M., Benizri, E., Simonnot, M.O., Morel, J.L., and G. Echevarria (2018). First field trials for nickel agromining by *Alyssum murale*, *Bornmuellera tymphaea* and *Leptoplax emarginata* in Northern Greece. 15th International Phytotechnology Conference, Oct 1-5, Novi Sad, Serbia.

- D. Kyrkas, G. Echevarria, E. Benizri, N. Mantzos, G. Patakioutas, P. S. Kidd, J. L. Morel, M. O. Simonnot, P. Dimitrakopoulos, M. Konstantinou (2019). Hyperaccumulators, native in Northern Pindus (Greece) used as “Metal Crops” for nickel recovery. XVI OPTIMA Meeting, Agricultural University of Athens, Greece 2 - 5 October.
- Kidd, P.S., Bani, A., Benizri, E., Gonnelli, C., Hazotte, C., Kissler, J., Konstantinou, M., et al. (2018) Developing Sustainable Agromining Systems in Agricultural Ultramafic Soils for Nickel Recovery, in *Front. Environ. Sci.* DOI: 10.3389/fenvs.2018.00044.
- Van der Ent, A., Baker, A. J., Reeves, R. D., Chaney, R. L., Anderson, C. W., Meech, J. A., et al. (2015). Agromining: farming for metals in the future? *Environ. Sci. Technol.* 49, 4773–4780. doi: 10.1021/es506031u.
- Pavlova, D., Vila D., Vila K., Bani, A., Xhaferri B., (2018). Effect of nickel on seed germination of *Alyssum* species with potential for phytomining in Albania. *Fresenius Environmental Bulletin*, Vol. 27 –No. 3, p: 1345-1352.
- Bani, A., Pavlova D., Rodriguez-Garrido, B. Kidd, P.S., Konstantinou M., Kyrkas D., Morel, J.L., Prieto-Fernandez, A., Puschenreiter, M., and Echevarria, G., 2020. Element case studies in the Temperate/Mediterranean regions of Europe: Nickel. In book: *Agromining: Farming for Metals: Extracting Unconventional Resources Using Plants* Edition: second Publisher: SpringerNature.
- Adamidis G.C., Aloupi M., Mastoras P., Papadaki M.-I., Dimitrakopoulos P.G. (2017). Is annual or perennial harvesting more efficient in Ni phytoextraction? *Plant and Soil*, 418: 205-218.
- Ranal, M.A., Santana, D.G., Ferreira, W.R. and Mendes-Rodrigues, C., (2009) Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. *Rev. Bras. Bot.* 32, 1-8.
- «LIFE Agromine,» 2020. [Ηλεκτρονικό]. Available: www.life-agromine.com.
- M. Lasat, «Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms,» *Journal of Environmental Quality* 31, pp. 109-124, 2002.
- W. Ernst, «Phytoextraction of mine wastes - options and impossibilities,» *Chem, Erde - Geochem.* 65 51, pp. 30-41, 2005.

- C. Nascimento και B. Xing, «Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation» *Scientia Agricola* 63, pp. 299-312, 2006.
- C. Garbisu και I. Alkorta, «Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment,» *Bioresour. Technol.* 77, pp. 224-236, 2001.
- S. Clemens, M. Palmgren και U. Kramer, «A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation,» *Trends Plant Science* 7, pp. 310-315, 2002.
- M. Kirkham, «Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments,» *Geoderma* 137, pp. 18-33, 2006.
- Γ. Μπλάνας, Φυτοεξυγίανση με το αλόφυτο *Limonium cornarianum* ρυπασμένων εδαφών με κάδμιο (Cd), Χανιά: Πολυτεχνείο Κρήτης, Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, 2013.

11. ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ/ ΣΥΝΔΕΣΕΙΣ

- http://archive.eclass.uth.gr/eclass/modules/document/file.php/SEYC105/%CE%A0%CE%B1%CF%81%CE%B1%CE%B4%CF%8C%CF%83%CE%B5%CE%B9%CF%82%20%CE%BC%CE%B1%CE%B8%CE%B7%CE%BC%CE%AC%CF%84%CF%89%CE%BD/Lecture%207_EVALUATION.pdf
- <https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/j.1537-2197.1994.tb15446.x>
- <https://hellanicus.lib.aegean.gr/bitstream/handle/11610/14890/file0.PDF?%20sequence=2&isAllowed=y>
- <https://pomologyinstitute.gr/wp-content/uploads/2018/11/2015-%CE%9F-%CF%81%CF%8C%CE%BB%CE%BF%CF%82-%CF%84%CE%BF%CF%85-%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CE%B5%CE%BB%CE%AF%CE%BF%CF%85-%CF%83%CF%84%CE%B1-%CF%86%CF%85%CF%84%CE%AC.pdf>

- <https://en.wikipedia.org/wiki/Centaurea>
- <http://phytologio.blogspot.com/2017/10/centaurea-thracica-janka-hayek.html>
- https://species.wikimedia.org/wiki/Centaurea_thracica
- <http://phytologio.blogspot.com/2017/10/centaurea-thracica-janka-hayek.html>
- <http://phytologio.blogspot.com/2017/10/centaurea-thracica-janka-hayek.html>
- <https://www.gbif.org/species/5377140>
- <https://www.greekflora.gr/el/flowers/1579/Leptoplax-emarginata>
- <https://botany.cz/cs/peltaria-emarginata/>
- http://portal.cybertaxonomy.org/flora-greece/cdm_dataportal/taxon/66b7906b-e8b4-4f02-a075-f5a9efbbe212#status
- <https://www.gbif.org/species/3047125>
- <http://plant-hunters.blogspot.com/2013/10/bornmuellera.html>
- <https://botany.cz/cs/peltaria-emarginata/>
- <https://www.greekflora.gr/el/flowers/1579/Leptoplax-emarginata>
- <http://phytologio.blogspot.com/2021/04/bornmuellera-emarginata-boiss-resetnik.html>
- <https://www.greece-is.com/wp-content/uploads/2020/06/Centaurea-Thracica.jpg>
- <https://www.gbif.org/occurrence/2595656587>
- https://www.google.gr/search?q=peltaria+emarginata&sxsrf=ALeKk02SnpRd2ooD=-WFrUnuMOJrUb3yeUw:1621074965719&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwiGiPHrsvwAhWahP0HHYVAChoQ_AUoAXoECAIQAw&biw=1920&bih=969
- <https://knowhowtogmo.files.wordpress.com/2011/01/yc2.jpg>
- <https://knowhowtogmo.wordpress.com/2011/01/31/phytostabilization/>
- https://www.google.com/search?q=%CE%B1%CE%BD%CE%B1%CF%84%CE%BF%CE%BC%CE%B9%CE%B1+%CF%83%CF%80%CE%BF%CF%81%CE%BF%CF%85&tbm=isch&source=iu&ictx=1&fir=s80FXDUNyBxKgM%252ChQDVBGDsIsinIM%252C_&vet=1&usg=AI4_bjY55IShNeR5P8BsmZaeg9ITQ&sa=X&ved=2ahUKEwiG1s_RjbXuAhUVxBQKHZEcAt0Q9QF6BAGMEAE&biw=1366&bih=
- <https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/development-seeds-and-fruit/>

- <https://academic.oup.com/jxb/article/69/5/909/4855954>
- <https://www.ippc.int/en/external-cooperation/organizations-page-in-ippc/internationalseedtestingassociation/>