



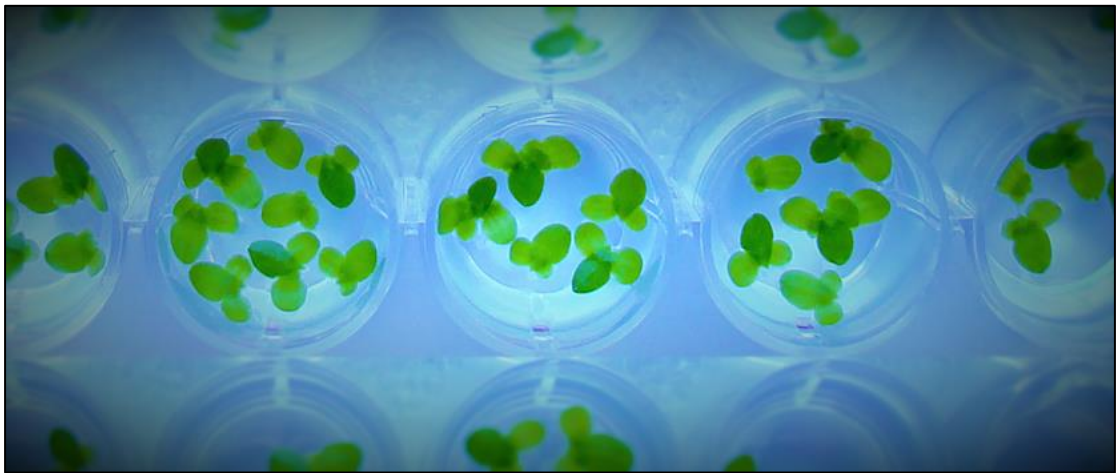
**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

**ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ**

**ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ  
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ**

**Διπλωματική Εργασία**

**Τριτογενής επεξεργασία υγρών αποβλήτων με χρήση του  
υδροχαρούς φυτού *Lemna minor***



**Γουδέλη Ιωάννα**

**Επιβλέπων καθηγητής : Α. Βλυσίδης**

**Αθήνα, Φεβρουάριος 2017**

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Α. Βλυσίδα για την ανάθεση του θέματος της διπλωματικής εργασίας και την καθοδήγηση κατά τη διάρκεια της εκπόνησής της, τον υποψήφιο διδάκτορα Γ. Λάμπρου για την πολύτιμη βοήθειά του στο εργαστηριακό τμήμα της εργασίας καθώς και όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την συνεργασία τους.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την στήριξη καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη .....	5
Σκοπός εργασίας .....	5
<b>1. Θεωρητικό Μέρος.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Επεξεργασία Υγρών Αποβλήτων .....</b>	<b>6</b>
1.1.1 Χαρακτηριστικά Υγρών Βιομηχανικών Αποβλήτων.....	6
1.1.2 Προεπεξεργασία .....	7
1.1.3 Πρωτογενής επεξεργασία .....	8
1.1.4 Δευτερογενής επεξεργασία .....	9
1.1.5 Τριτογενής επεξεργασία .....	10
<b>1.2 Φυτοεξυγίανση .....</b>	<b>12</b>
1.2.1 Ορισμός .....	12
1.2.2 Ευρέως χρησιμοποιούμενα φυτά .....	13
1.2.3 Τεχνικές – Παραδείγματα .....	14
<b>1.3 Ριζοδιήθηση .....</b>	<b>16</b>
1.3.1 Θεωρητικό υπόβαθρο .....	16
1.3.2 Μικροοργανισμοί της ριζόσφαιρας .....	19
<b>1.4 Οικογένεια Lemnaceae .....</b>	<b>23</b>
1.4.1 Χαρακτηριστικά .....	23
1.4.2 Περιβαλλοντικές απαιτήσεις .....	28
1.4.3 Εφαρμογές .....	35
1.4.4 Lemna minor – Χαρακτηριστικά .....	37
1.4.5 Οργανισμοί που προσβάλλουν τα φυτά L. minor .....	41
<b>1.5 Απόβλητα .....</b>	<b>46</b>
1.5.1 Απόβλητα Ελαιοτριβείου .....	46
1.5.2 Στραγγίσματα ΧΥΤΑ .....	47
<b>2. Πειραματική ανάπτυξη</b>	
2.1 Πειραματική Μεθοδολογία .....	49
2.2 Πειραματική διαδικασία .....	50
2.2.1 Ανάπτυξη L. minor σε απόβλητο βιομηχανίας τροφίμων ....	51
2.2.2 Ανάπτυξη L. minor σε αντιδραστήρα συνεχούς ροής .....	56

2.2.3 Ανάπτυξη <i>L. minor</i> σε compost tea .....	59
2.2.4 Ανάπτυξη <i>L. minor</i> σε διάφορα γεωργικά υποστρώματα ....	59
2.2.5 Εκτίμηση αποτοξικοποίησης στραγγισμάτων ΧΥΤΑ .....	68
2.2.6 Επίδραση Fe και Mg στην ανάπτυξη <i>L. minor</i> .....	70
2.2.7 Επίδραση αναλογίας Redfield στην ανάπτυξη <i>L. minor</i> .....	82
3. Συμπεράσματα .....	99
4. Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα .....	100
Βιβλιογραφία .....	101
Παράρτημα 1 : Μέθοδοι Ανάλυσης .....	105
Παράρτημα 2 : Φωτογραφίες .....	109

## Περίληψη

Κατά την παρούσα διπλωματική εργασία, μελετήθηκε η τριτογενής επεξεργασία υγρών αποβλήτων με την χρήση του φυτού *Lemna minor*. Σημεία έρευνας ήταν οι ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης και ο ρυθμός πολλαπλασιασμού του συγκεκριμένου φυτού σε διάφορα υποστρώματα. Το υδροχαρές φυτό *Lemna minor*, καθώς και τα συγγενικά σε αυτό είδη της οικογένειας Lemnaceae με την ευρέως διαδεδομένη ονομασία duckweeds, έχουν χρησιμοποιηθεί στην τριτογενή επεξεργασία υγρών αποβλήτων λόγω της ικανότητας υψηλής απορρόφησης αμμωνιακών και φωσφορικών ιόντων από το υδάτινο περιβάλλον. Αξιολογήθηκε η χρήση τους στην βιολογική επεξεργασία υγρών αποβλήτων βιομηχανίας τροφίμων καθώς και σε αποτοξικοποιημένα στραγγίσματα ΧΥΤΑ (Χώρος Υγειονομικής Ταφής Απορριμμάτων). Εξετάσθηκε επίσης η ανάπτυξη του *Lemna minor* σε διάφορα μέσα ανάπτυξης όπως compost tea, γεωργικά υποστρώματα, διάλυμα αμμωνιακών ιόντων καθώς επίσης και παρασκευασμένα στο εργαστήριο διαλύματα με προσθήκη αμμωνιακού αζώτου, φωσφορικών ιόντων, σιδήρου και μαγνησίου. Διεξήχθησαν συνολικά επτά πειράματα, κατά τα οποία μελετήθηκε ο ρυθμός ανάπτυξής του, η απορρόφηση των πηγών αζώτου και φωσφόρου από το φυτό, η επίδραση του στα επίπεδα COD (χημικώς απαιτούμενο οξυγόνο) των υποστρωμάτων, η επιρροή της συγκέντρωσης σιδήρου και μαγνησίου στην ανάπτυξη του φυτού καθώς και η επίδραση της αναλογίας Redfield (αναλογία αζώτου – φωσφόρου). Κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων το φυτό έδειξε ικανότητα υψηλής απορρόφησης των ιόντων αμμωνίου ενώ η απορρόφηση ιόντων φωσφόρου ήταν περιορισμένη. Η βέλτιστη ανάπτυξη φυτών παρατηρήθηκε σε συγκέντρωση ιόντων σιδήρου ίση με 18 mg/l ενώ κατά την μελέτη διαφόρων αναλογιών Redfield, ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης παρατηρήθηκε για λόγο αζώτου - φωσφόρου ίσο με 6. Όσον αφορά το ρυθμό ανάπτυξης, το φυτό απαιτεί ένα χρόνο προσαρμογής στο νέο περιβάλλον, ενώ ταυτόχρονα υπάρχουν πολλές παράμετροι οι οποίες μπορούν να δράσουν ως παράγοντες περιορισμού της ανάπτυξης του, όπως έλλειψη θρεπτικών συστατικών, μη ανεκτά επίπεδα pH και αγωγιμότητας, η αναλογία αζώτου φωσφόρου στο μέσο ανάπτυξης, έλλειψη σιδήρου, μαγνησίου και άλλων ιχνοστοιχείων, ανταγωνιστική δράση άλλων οργανισμών όπως άλγη, θερμοκρασία περιβάλλοντος.

## Σκοπός εργασίας

Οι διάφορες βιομηχανικές δραστηριότητες, η εντατικοποίηση της γεωργικής και κτηνοτροφικής παραγωγής καθώς και η ανθρώπινη δραστηριότητα (αστικά λύματα, ΧΥΤΑ) αποτελούν τους κύριους λόγους παραγωγής υγρών αποβλήτων. Τα απόβλητα αυτά περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις ρυπαντών οι οποίοι μπορεί να καταστήσουν την απόθεση των αποβλήτων στο περιβάλλον καταστροφική. Για το λόγο αυτό, η επεξεργασία των αποβλήτων κρίνεται απαραίτητη. Η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων αποσκοπεί στην παραγωγή ενός τελικού προϊόντος του οποίου οι παράμετροι συνάδουν με τις προδιαγραφές που τίθενται στους κανόνες που αφορούν

τη διάθεση αποβλήτων στο περιβάλλον. Οι προδιαγραφές αναφέρονται συνήθως σε συγκεντρώσεις ρυπαντών που υπάρχουν στο απόβλητο. Μερικοί από τους κύριους ρυπαντές που αφορούν στα υγρά απόβλητα αποτελούν το αμμωνιακό άζωτο, το νιτρικό άζωτο, ο φώσφορος, διάφορα μέταλλα (σίδηρο, μαγνήσιο, βαρέα μέταλλα), το ποσόστο COD (χημικώς απαιτούμενο οξυγόνο) καθώς και η ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η απόδοση της τριτογενούς επεξεργασίας υγρών αποβλήτων μέσω της ανάπτυξης του υδροχαρούς φυτού *Lemna minor* στο προς επεξεργασία απόβλητο με σκοπό την αποτοξικοποίηση του πριν τη διάθεση του στο περιβάλλον ώστε να συνάδει με τις απαιτήσεις της νομοθεσίας. Φυτά που ανήκουν στην κατηγορία duckweed (όπως το είδος *L. minor*) έχουν χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων λόγω των προσοδοφόρων χαρακτηριστικών τους τα οποία περιλαμβάνουν υψηλό ρυθμό αναπαραγωγής και διπλασιασμού του πλήθους του, υψηλό ποσοστό περιεχόμενης πρωτεΐνης, ανεκτικότητα σε ποικίλες συνθήκες, ευρεία γεωγραφική κατανομή τους και εύκολη διαδικασία συγκομιδής τους.

## **1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **1.1 Επεξεργασία υγρών αποβλήτων**

#### **1.1.1 Χαρακτηριστικά Υγρών Βιομηχανικών Αποβλήτων**

Τα υγρά απόβλητα που απορρίπτονται από χώρους βιομηχανικής δραστηριότητας ονομάζονται βιομηχανικά απόβλητα. Αποτελούνται κυρίως από οργανικές ουσίες, όπως υδατάνθρακες, λίπη και πρωτεΐνες, ανόργανες ουσίες, και διάφορα στερεά σε κολλοειδή μορφή, μικροοργανισμούς, μέταλλα ιχνοστοιχεία και άλλα συστατικά. Πρόκειται για ουσίες οι οποίες ρυπαίνουν το περιβάλλον στο οποίο εναποτίθενται, κάτι που καθιστά απαραίτητη την πρότερη επεξεργασία τους.

Τα ολικά στερεά που περιέχονται στα απόβλητα μπορούν να διαχωριστούν σε κολλοειδή και δυνάμενα να καθιζάνουν. Ανόργανα στερεά χαρακτηρίζονται τα στερεά που παραμένουν στο απόβλητο μετά από θέρμανση στους 550 °C για μια ώρα.

Άλλα φυσικά χαρακτηριστικά αποτελούν οι οσμές, οι οποίες οφείλονται σε δύσσομες ουσίες που περιέχονται στο απόβλητο ή και σε ενώσεις που σχηματίζονται τόσο κατά την επεξεργασία του, ή πριν λόγω των πτητικών ενώσεων που οφείλονται στις αναερόβιες βιολογικές συνθήκες, το χρώμα που αποτρέπει την φυσιολογική απορρόφηση της ηλιακής ακτινοβολίας και η θολερότητα η οποία υποδηλώνει την ύπαρξη αιωρούμενων στερεών στο διάλυμα.

Στα χημικά χαρακτηριστικά συγκαταλέγεται η οργανική ύλη. Ενώσεις οργανικού άνθρακα και αζώτου αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος της οργανικής ύλης που περιέχεται στα υγρά βιομηχανικά απόβλητα. Οι οργανικές ενώσεις είναι κυρίως ουσίες όπως λίπη και έλαια, απορρυπαντικά, φαινολικές ενώσεις και πτητικές οργανικές ενώσεις.

Η συνολική περιεκτικότητα των αποβλήτων σε οργανική ύλη εκτιμάται με τις παραμέτρους TOC, BOD, COD και αποτελούν ενδείξεις για το είδος της επεξεργασίας στην οποία θα πρέπει να υποβληθεί το απόβλητο.

COD: Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο ονομάζεται η απαιτούμενη ποσότητα οξυγόνου κατά τη χημική οξείδωση οργανικής ύλης σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό.

TOC: Το σύνολο το άνθρακα εξαιρουμένων των οργανικών αλάτων ονομάζεται ολικός οργανικός άνθρακας (TOC). Μέρος του αποτελεί ο βιοαποικοδομήσιμος άνθρακας ο οποίος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θρεπτικό μέσο για την ανάπτυξη μικροοργανισμών.

BOD: Πρόκειται για το βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο, καταναλισκόμενο από αερόβιους μικροοργανισμούς κατά τη βιο οξείδωση ενός λίτρου αποβλήτου σε θερμοκρασία 20 °C.

Όσον αφορά τα υπόλοιπα χημικά χαρακτηριστικά, τα λίπη αποτελούν μια δύσκολα βιοαποικοδομήσιμη κατηγορία ρύπων και θα πρέπει να επεξεργαστούν κατάλληλα ώστε να απορριφθούν με ασφάλεια στο περιβάλλον. Οι απορρυπαντικές ουσίες αποτελούνται από τασιενεργές ενώσεις οι οποίες έχουν την ιδιότητα να αλλοιώνουν την κυτταρική μεμβράνη των μικροοργανισμών. Επίσης, οι φαινολικές ενώσεις είναι άκρως τοξικές για τους μικροοργανισμούς, γεγονός που καθιστά αργή την βιοαποικοδομησιμότητα τους.

Η ανόργανη ύλη αποτελείται κυρίως από το περιεχόμενο ολικό άζωτο, φώσφορο, βαρέα μέταλλα και άλλα συστατικά όπως κυανιούχες ενώσεις, νιτρώδη, θειούχα και θειικά ιόντα. Ενώ ένα ποσοστό τους αποτελεί μέρος οργανικών ενώσεων, μπορούν να ανοργανοποιηθούν μέσω επεξεργασίας.

Οι αζωτούχες ενώσεις επηρεάζουν σημαντικά την ανάπτυξη των φυτικών και ζωικών οργανισμών. Οι κύριες μορφές στις οποίες συναντάται είναι αέριο άζωτο, αμμωνία, νιτρώδη και νιτρικά ιόντα. Η συνολική ποσότητα αζώτου, εξαιρουμένων των μορφών  $NO_2$  και  $NO_3$  περιλαμβάνονται στο ολικό άζωτο κατά Kjeldahl.

Ο φώσφορος αποτελεί απαραίτητο συστατικό για την ανάπτυξη των φυτών καθώς χρησιμοποιείται κυρίως για τη σύνθεση ενώσεων οι οποίες αποσκοπούν στην αποθήκευση ενέργειας (TPA, πολυφωσφορικές ενώσεις). Στα υγρά απόβλητα, ο φώσφορος βρίσκεται σε μορφή ανόργανων φωσφορικών ενώσεων και σε οργανικά μόρια (οργανικός φώσφορος), ενώ αποτελεί και συστατικό απορρυπαντικών ουσιών και λιπασμάτων.

Μέταλλα όπως ο υδράργυρος, το κάδμιο, ο μόλυβδος και ο κασσίτερος χαρακτηρίζονται ως βαρέα μέταλλα. Έχουν την ιδιότητα να εισέρχονται και να συσσωρεύονται στα κύτταρα των ζωντανών οργανισμών. Είναι επιτακτικό να απομακρύνονται από τα βιομηχανικά απόβλητα πριν τη διάθεσή τους στο περιβάλλον αλλά και πριν τη βιολογική οξείδωση λόγω των μηχανισμών μεθυλίωσης και αποβολής μετάλλων από το εσωτερικό των βακτηρίων, καθώς από τη συγκεκριμένη διεργασία προκύπτουν άκρως τοξικά προϊόντα. (56)

Για την εναπόθεση αποβλήτων στο περιβάλλον, απαιτείται η προηγούμενη επεξεργασία τους μέσα από στάδια εξυγίανσης ώστε το τελικό απόβλητο να είναι σύμφωνα με το πλαίσιο κανόνων που πρέπει να ακολουθούνται όσον αφορά την προστασία του περιβάλλοντος. Τα στάδια εξυγίανσης μπορεί να διαφέρουν ή και να παραληφθούν για κάποια υγρά απόβλητα καθώς αυτά διαφέρουν στη σύσταση, την τοξικότητα και την επικινδυνότητα τους. (28)

### **1.1.2 Προεπεξεργασία**

Ο σκοπός της προεπεξεργασίας των υγρών αποβλήτων είναι η προετοιμασία του, κυρίως από υδραυλικής πλευράς για τις επόμενες φάσεις επεξεργασίας. Οι διεργασίες αποσκοπούν

στην απομάκρυνση των ευμεγεθών στερεών, τον διαχωρισμό και απομάκρυνση των φάσεων (λίπη, έλαια) (29), την ομοιογενή διασπορά των ουσιών στον όγκο του υγρού, την διάλυση των σωματιδίων στην υγρή φάση, καθώς και τον αερισμό που πιθανόν απαιτείται λόγω βιολογικών δραστηριοτήτων. Οι προδιαγραφές απόρριψης καθορίζουν η τιμή του pH των απορριφθέντων αποβλήτων να είναι μεταξύ των τιμών 6 και 9 για την αποφυγή υποβάθμισης του περιβάλλοντος. Για το σκοπό αυτό, τα απόβλητα που εισέρχονται σε μια δεξαμενή εξισορρόπησης ροής στην οποία, ανάλογα με την τιμή του pH, τη σύσταση των αποβλήτων, και τον όγκο παροχής, προστίθενται χημικά εξουδετέρωσης ( $\text{NaOH}$ ,  $\text{Ca(OH)}_2$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ). (28)

### 1.1.3 Πρωτογενής επεξεργασία

Στο πρώτο στάδιο επεξεργασίας εφαρμόζονται φυσικές και φυσικοχημικές διεργασίες με σκοπό τον διαχωρισμό των αιωρούμενων οργανικών και ανόργανων στερεών στον όγκο του υγρού. Περιλαμβάνει διεργασίες όπως η κροκίδωση, η καθίζηση των στερεών και ο ελαιοδιαχωρισμός.

#### Κροκίδωση

Συνήθως στα υγρά απόβλητα βρίσκονται διάσπαρτα αρνητικά φορτισμένα κολλοειδή σωματίδια λόγω του ομώνυμου φορτίου. Η διεργασία της κροκίδωσης, με την προσθήκη κατάλληλων ηλεκτρολυτών, προκαλεί τη χημική αποσταθεροποίηση των συγκεκριμένων σωματιδίων, μειώνοντας το φορτίο τους και κατ' επέκταση τις ηλεκτροστατικές απωστικές δυνάμεις. Ως αποτέλεσμα, μεταξύ των κολλοειδών σωματιδίων, υπερισχύουν οι δυνάμεις London – Van der Waals, προκαλώντας την προσέγγιση μεταξύ τους και το σχηματισμό συσσωματωμάτων με συνεπακόλουθο την καθίζησή τους. (28) Αδιάστατες ουσίες ή αντίθετα φορτισμένα ιόντα παίζουν το αποσταθεροποιητικό ρόλο στα διαλύματα κολλοειδών. Τα στάδια κροκίδωσης είναι η αρχική επαφή του κροκιδωτικού με το απόβλητο υπό ταχεία ανάμιξη, και σε δεύτερο στάδιο η συσσωμάτωση και καθίζηση υπό βραδεία ανάδευση(29). Οι μορφές δράσης τους είναι οι εξής:

Συμπύεση διπλοστοιβάδας

Ρόφηση και εξουδετέρωση φορτίου

Παγίδευση σε ίζημα

Διασωματιδιακή ζεύξη

Τα χημικά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αυτό το σκοπό περιλαμβάνουν οξείδια και υδροξείδια ( $\text{CaO}$ ,  $\text{Ca(OH)}_2$ ), άλατα (θειικό αργύλιο, χλωριούχος σίδηρος)(29), ανόργανα και οργανικά (πολυηλεκτρολύτες). Η επιλογή του κροκιδωτικού χημικού, της ποσότητας καθώς και της τιμής pH προσδιορίζονται σε πειράματα μικρής κλίμακας, με δοκιμές διαφόρων συνθηκών κροκίδωσης και καταβύθισης.

Η κροκίδωση επίσης χρησιμοποιείται και κατόπιν του σταδίου δευτεροβάθμιας βιολογικής επεξεργασίας όσον αφορά τα παραπροϊόντα αστικών λυμάτων(28). Η βιομάζα που προκύπτει με μορφή υδαρούς βιολογικής λάσπης υπόκειται σε τεχνικές βιοκροκίδωσης με σκοπό την απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών (29).



## Εξάμμωση

Πρόκειται για τη διαδικασία καθίζησης ανόργανων σωματιδίων στα υγρά απόβλητα. Κόκκοι άμμου και άλλα ανόργανα σωματίδια (π.χ. σωματίδια αργίλου), διαμέτρου μεταξύ 200 μm έως μερικών χιλιοστών. Η ταχύτητα καθίζησής τους (καθίζηση τύπου Ι- διακεκριμένων σωματιδίων) κυμαίνεται σε μεγαλύτερα επίπεδα σε σχέση με την αντίστοιχη των οργανικών στερεών. Η απομάκρυνση της άμμου ενός αποβλήτου είναι απαραίτητη για την αποφυγή εναπόθεσής της στον πυθμένα αγωγών.

## Ελαιοδιαχωρισμός

Τα υγρά απόβλητα πολλές φορές περιέχουν διάφορα είδη ελαίων, βρώσιμα ή πετρελαιοειδή (βενζίνη, αργό πετρέλαιο), τα οποία αναφέρονται ως «λίπη και έλαια». Σύμφωνα με τη μορφή διασποράς του ελαίου στο απόβλητο, εξαρτάται και ο βαθμός ευκολίας απομάκρυνσής του. Οι μορφές διασποράς είναι σε μορφή ελεύθερου ελαίου (το οποίο ανεβαίνει εύκολα στην επιφάνεια), γαλακτοματοποιημένο λάδι σε κολλοειδή μορφή (μέγεθος 0,001-1 μm) και σε διαλυτοποιημένη μορφή. Ο διαχωρισμός του από το απόβλητο μπορεί να επιτευχθεί με τους εξής τρόπους: επίπλευση με αέρα (χρησιμοποιούμενη κυρίως για διαχωρισμό γαλακτόματος), υπερδιήθηση και διαχωρισμό λόγω βαρύτητας (βασισμένος στην διαφορά πυκνότητας μεταξύ ελαίων νερού και ελαιωδών ουσιών) (28).

## Πρωτοβάθμια καθίζηση

Πρόκειται για μια κατεργασία με σκοπό την καθίζηση και απομάκρυνση των αιωρούμενων οργανικών στερεών με διαστάσεις 0,01 έως 0,1 mm. Η διαδικασία προκαλεί μείωση του ρυπαντικού φορτίου στα επιτρεπτά όρια είτε για εναπόθεσή στο περιβάλλον είτε ως προεργασία για το επόμενο στάδιο επεξεργασίας.(28)

### **1.1.4 Δευτερογενής επεξεργασία**

Η δευτερογενή επεξεργασία υγρών αποβλήτων αποσκοπεί στην αποδόμηση των διαλυμένων οργανικών ενώσεων που περιέχονται στο απόβλητο. Ο σχεδιασμός των αντιδραστήρων δευτερογενής επεξεργασίας ακολουθεί τους κανόνες διεργασιών απορρύπανσης που συμβαίνουν από τους μικροοργανισμούς στο φυσικό περιβάλλον αλλά σε πολύ πιο εντατικό βαθμό ώστε το ρυπαντικό φορτίο του συστήματος να μειωθεί με ταχύτερο ρυθμό. Λόγω της βιολογικής φύσης των διεργασιών μετατροπής ρύπων σε αδρανή προϊόντα, η επεξεργασία αυτή αναφέρεται και ως βιολογικός καθαρισμός. (28)

Οι εγκαταστάσεις βιολογικού καθαρισμού υποστηρίζουν ένα μικτό οικοσύστημα μικροοργανισμών που περιλαμβάνει βακτήρια, πρωτόζωα, άλγη και μύκητες. Τα βακτήρια είναι μονοκύτταροι οργανισμοί που έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν τα οργανικά συστατικά του απόβλητου εντός του κυττάρου τους παράγοντας διοξείδιο του άνθρακα, νερό και νέα κύτταρα βακτηρίων (πολλαπλασιασμός). Μπορούν να αναπτυχθούν και στο σκοτάδι, αναπαράγονται μονογονικά με διχοτόμηση και ο χρόνος διπλασιασμού τους διαρκεί 20-30 λεπτά. Αποτελούν τον πιο βασικό μικροοργανισμό των βιολογικών καθαρισμών.

Τα πρωτόζωα είναι μονοκύτταροι οργανισμοί που αναπαράγονται μονογονικά ή αμφιγονικά και τρέφονται ολοζωικά, σαπροζωικά ή ολοφυτικά. Είναι κυρίως ετερότροφοι, χημοσυνθετικοί, αερόβιοι οργανισμοί και χρησιμοποιούν νεκρά και ζωντανά βακτήρια για διατροφή με αποτέλεσμα να έχουν σημαντικό ρόλο στη των αποβλήτων. Ακόμα, στους

βιολογικούς καθαρισμούς αναπτύσσονται φύκη (άλγη) τα οποία είναι συνήθως φωτοσυνθετικοί αυτότροφοι οργανισμοί και παίζουν σημαντικό ρόλο στις λίμνες οξειδωσης, καθώς εκτός της απορρόφησης ρύπων, συμβάλλουν και στον εφοδιασμό του νερού με οξυγόνο μέσω της φωτοσύνθεσης (50). Τέλος, οι μύκητες είναι κυρίως πολυκύτταροι οργανισμοί, με δυνατότητα ανάπτυξης στο σκοτάδι. Η βιολογία τους είναι κατάλληλη για τη διάσπαση κυτταρίνης και υδατανθράκων όμως η παρουσία τους στους βιολογικούς καθαρισμούς δεν ενδείκνυται καθώς παρεμποδίζουν την καθίζηση της βιομάζας.

Η εγκατάσταση και λειτουργία του βιολογικού καθαρισμού βασίζεται σε παραμέτρους όπως:

- Η σύσταση του αποβλήτου καθώς αποτελεί την πηγή τροφής των μικροοργανισμών
- Η θερμοκρασία λειτουργίας ορίζει το είδος των μικροοργανισμών που θα χρησιμοποιηθούν (ψυχρόφιλοι, μεσόφιλοι, θερμόφιλοι)
- Το pH
- Ο χρόνος παραμονής των μικροοργανισμών στον αντιδραστήρα θα ορίσει και τη διάρκεια κύκλου ζωής τους
- Ο λόγος τροφής προς τη μάζα των μικροοργανισμών

Οι παράμετροι διαφέρουν σε κάθε εγκατάσταση ακόμα και αν είναι κατασκευασμένες για την ίδια επεξεργασία, και προσεγγίζονται βιβλιογραφικά ή πειραματικά. Ακόμα και στην ίδια εγκατάσταση, πολλές φορές αλλάζουν οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη διεργασία (εποχιακές διαφοροποιήσεις, βροχόπτωση, κλπ).

Οι μικτές καλλιέργειες έχουν την ικανότητα να αφομοιώνουν ένα ευρύ φάσμα ρύπων, όμως λόγω της εξάρτησής του ρυθμού απορρύπανσης από τον κύκλο ζωής ζωντανών οργανισμών, η επανάκαμψη των μικροβιακών πληθυσμών μετά από τυχόν καταστροφή μεγάλου πλήθους είναι μια χρονοβόρα διαδικασία, ενώ μέχρι την αποκατάσταση του αριθμού τους στα λειτουργικά επίπεδα, τα προϊόντα του αντιδραστήρα θα είναι εκτός προδιαγραφών. Επίσης, σε περίπτωση μεταβολής των παραμέτρων εισόδου, η ισορροπία του συστήματος θα μετακινηθεί σε διαφορετικό σημείο.

Για τις μικτές καλλιέργειες ισχύει ότι

- Μπορούν να μεταβολίσουν σύνθετα υποστρώματα.
- Η αύξηση του χρόνου παραμονής και η αύξηση της βιομάζας συνεπάγεται μετακίνηση του φάσματος διάσπασης προς τις δύσκολα διασπώμενες οργανικές ουσίες.
- Οι ουσίες που δρουν ως υπόστρωμα καθορίζουν και τα είδη των μικροοργανισμών του αντιδραστήρα.
- Λόγω του βιομεταβολισμού, συσσωρεύεται αδρανής βιομάζα (νεκρά κύτταρα).
- Η κινητική εξαρτάται από το βαθμό καθαρισμού. (28)

### **1.1.5 Τριτογενής επεξεργασία**

Η τριτογενής επεξεργασία αποβλήτων αποτελεί την περαιτέρω επεξεργασία των ρύπων ώστε οι προδιαγραφές του τελικού προϊόντος να είναι σύμφωνες με τους κανόνες που επιβάλλονται από το νόμο για την σωστή διαχείριση και διάθεση αποβλήτων στο περιβάλλον(29). Περιλαμβάνει την επεξεργασία οργανικών ουσιών, ρύπων που μπορεί να

μην επηρεαστούν από τα προγενέστερα στάδια επεξεργασίας (π.χ. μέταλλα) και την απενεργοποίηση των παθογόνων οργανισμών.

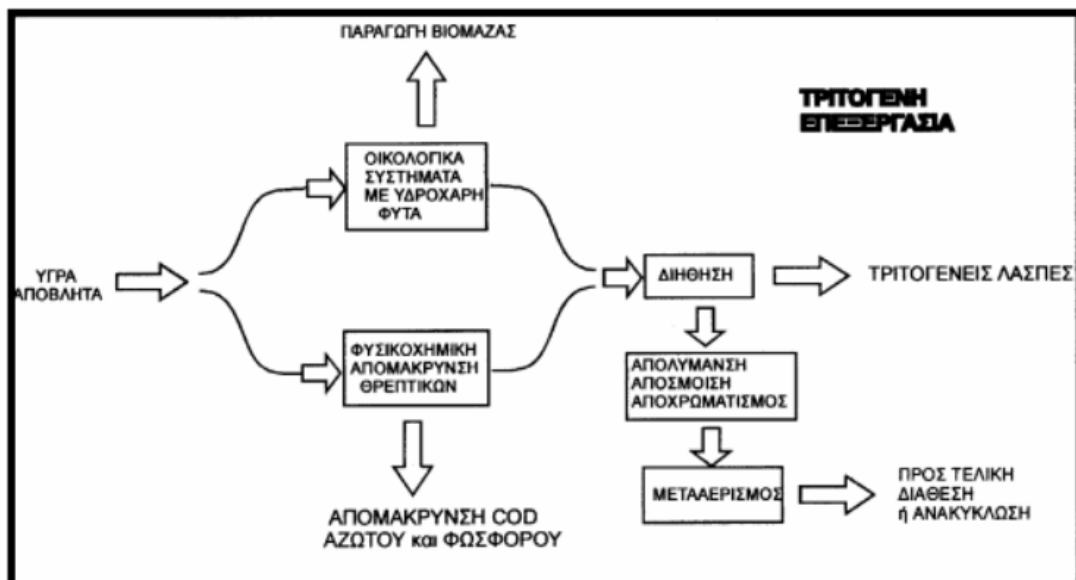
Κυρίως χρησιμοποιείται η απολύμανση για την καταστροφή παθογόνων μικροοργανισμών, όπως βακτήρια και ιοί. Αυτό μπορεί να γίνει είτε με διάφορα χημικά αποστείρωσης (χλώριο, βρώμιο, όζον), είτε με φυσικά μέσα (υψηλή θερμοκρασία, ηλιακό φως) είτε με ακτινοβολία (ακτίνες γ).

Η ιοντοεναλλαγή αποτελεί μια ακόμα μέθοδο τριτογενούς επεξεργασίας. Κατά την ιοντοεναλλαγή, τα ιόντα που βρίσκονται στο διάλυμα προσροφούνται σε πορώδη σωματίδια ιοντοεναλλάκτη, ο οποίος κατασκευάζεται συνήθως από πολυμερική ρυτίνη και περιέχει ένα διαφορετικό ιόν. Τα στάδια ιοντοεναλλαγής αποτελούνται από

1. Τη διάχυση των ιόντων του ρευστού στο οριακό στρώμα
2. Τη διάχυση στους πόρους του ιοντοεναλλάκτη
3. Την αντίδραση αντιμετάθεσης μεταξύ των ιόντων στον ιοντοεναλλάκτη
4. Τη διάχυση των ιόντων του ιοντοεναλλάκτη στους πόρους του και
5. Την απελευθέρωση των ιόντων του ιοντοεναλλάκτη από το οριακό στρώμα

Το στάδιο που ελέγχει την αντίδραση είναι συνήθως η διάχυση του ιόντος στο στερεό. Η αντίδραση είναι συνήθως αμφίδρομη και εκτελείται μέχρι ένα σημείο ισορροπίας.

Τέλος η αντίστροφη ώσμωση είναι ακόμα μια μέθοδος τριτογενούς επεξεργασία κατά την οποία μόρια διαλύτη κινούνται διαμέσου ημιπερατής μεμβράνης που υπάρχει ανάμεσα σε δύο διαλύματα, από το πυκνότερο διάλυμα προς το αραιότερο, υπό την άσκηση στο πυκνό διάλυμα πίεσης μεγαλύτερης της ωσμωτικής. Χρησιμοποιείται για την αφαλάτωση νερού, συγκρατώντας ιόντα και μόρια πάνω στη μεμβράνη. (28)



Τριτογενής επεξεργασία υγρών αποβλήτων(29)

## 1.2 ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ

### 1.2.1 Ορισμός:

Ο όρος φυτοεξυγίανση αναφέρεται σε κάθε σύστημα επεξεργασίας και διαδικασία in situ (επι τόπου) ή ex situ εξυγίανσης ρυπασμένων περιοχών, εδαφών, ιζημάτων, νερού και υδρόβιων συστημάτων με τη χρήση φυτών με σκοπό την απορρύπανση. Η φυτοεξυγίανση βρίσκει εφαρμογή σε περιοχές που έχουν ρυπανθεί με οργανικά φορτία, μεγάλες ποσότητες θρεπτικών συστατικών, μέταλλα και άλλου είδους ρυπαντές. Χρησιμοποιείται ήδη σε πολλές εφαρμογές, πλήρους κλίμακας και πιλοτικές. Θεωρείται ότι η συγκεκριμένη τεχνολογία είναι η κατάλληλη για περιπτώσεις όπου οι συμβατικές μέθοδοι εξυγίανσης δεν είναι οικονομικά αποδοτικές ή και εύκολα εφαρμόσιμες και για περιοχές όπου η συγκέντρωση των ρύπων είναι χαμηλή και απαιτεί μακροχρόνια επεξεργασία. Η φυτοεξυγίανση περιλαμβάνει αρκετές τεχνικές οι οποίες μπορούν να εφαρμοστούν ανάλογα με το αν τηρούν τα κριτήρια και τους περιοριστικούς παράγοντες για την αποδοχή τους. Μερικοί παράγοντες είναι το χρονοδιάγραμμα εφαρμογής, το είδος της ρύπανσης, η ενδεχόμενη μόλυνση της βλάστησης και της τροφικής αλυσίδας, καθώς και η διατήρηση της περιβαλλοντικής ισορροπίας της περιοχής όπου θα εφαρμοστεί. Πολλά φυτά έχουν αποδειχθεί ανθεκτικά σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης χημικών χωρίς τοξικές επιδράσεις, και ικανά πολλές φορές να μετασχηματίζουν διάφορες χημικές ουσίες σε λιγότερο τοξικούς μεταβολίτες. Στη ριζόσφαιρα των φυτών συμβαίνουν διάφορες διεργασίες, όπως αποδόμηση οργανικών ενώσεων και αποδέσμευση εκκρινμάτων και ενζύμων. Ακόμα συμβάλλουν στην αύξηση του ενεργού άνθρακα στο έδαφος. (1)

Όσον αφορά τα μέταλλα, τα φυτά εμφανίζουν αυξημένες δυνατότητες απορρόφησης τους μέσω διαφόρων μηχανισμών όπως η ριζοδιήθηση, η φυτοεκχύλιση κ.α, ενώ μελέτες έχουν αποδείξει και την απόδοση της φυτοεξυγίανσης σε απόβλητα που περιέχουν υδρογονάνθρακες (BTEX, αρωματικοί υδρογονάνθρακες, αλειφατικές ενώσεις, κλπ) φυτοφάρμακα, ραδιονουκλεοτίδια και θρεπτικά συστατικά.

Επιφανειακά και υπόγεια νερά συχνά μολύνονται με επικίνδυνες χημικές ενώσεις ως συνέπεια διαφόρων φυσικών και ανθρωπογενών ιδιοτήτων. Η ρύπανση μπορεί να περιλαμβάνει τόσο ανόργανες ενώσεις (βαρέα μέταλλα, ραδιενεργές ουσίες, άζωτο, φώσφορο, κλπ.) όσο και οργανικές (καύσιμα, διαλύτες, εκρηκτικές ύλες, εντομοκτόνα, χημικά και πετροχημικά συστατικά, κλπ.). Οι οργανικοί ρύποι προκύπτουν κυρίως από ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Τέτοιου είδους ουσίες απελευθερώνονται στο περιβάλλον λόγω διαρροών, γεωργικών εργασιών, στρατιωτικών και βιομηχανικών δραστηριοτήτων. Οι ανόργανοι ρύποι απελευθερώνονται σε μεγάλες ποσότητες από το φλοιό της γης στα επιφανειακά στρώματα, στο υδάτινο περιβάλλον και την ατμόσφαιρα μέσω της ανθρώπινης δραστηριότητας όπως μεταλλουργία, βιομηχανία, γεωργία κλπ. Τα βαρέα μέταλλα και τα θρεπτικά συστατικά όπως το άζωτο και το φώσφορο ανήκουν στους ανόργανους ρύπους και αποτελούν ένα παγκόσμιο ζήτημα μείζονος σημασίας.(1)

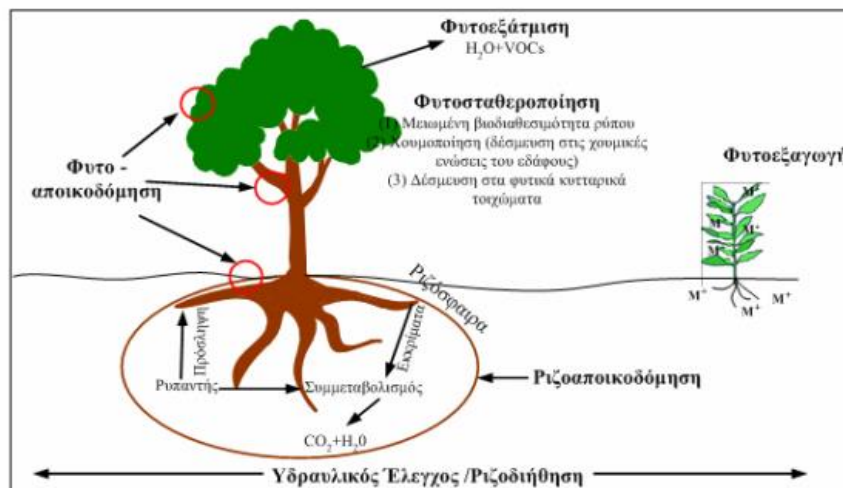
Η απελευθέρωση βαρέων μετάλλων στο περιβάλλον αποτελεί σημαντική απειλή για τις βιομηχανοποιημένες περιοχές. Τις τελευταίες δεκαετίες, η εντατικοποίηση της βιομηχανικής δραστηριότητας έχει προκαλέσει την απελευθέρωση 22.000 τόνων καδμίου, 939.000 τόνων χαλκού, 783.000 τόνων μολύβδου και 1.350.000 τόνων ψευδαργύρου παγκοσμίως. Λόγω της υψηλής διαλυτότητάς τους στο υδάτινο περιβάλλον, τα βαρέα μέταλλα απορροφώνται από ζωντανούς οργανισμούς και καταλήγουν στην τροφική αλυσίδα. Έκθεση σε υψηλά επίπεδα αυτών των μετάλλων έχουν συνδεθεί με κυτταροτοξικές, μεταλλαξογόνες και καρκινογόνες

επιδράσεις τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα. Κατά συνέπεια, η εξάλειψή τους από μολυσμένα νερά έχει αποτελέσει ένα σημαντικό θέμα ερευνών. (33)

Διάφορες τεχνολογίες έχουν αναπτυχθεί πρόσφατα όσον αφορά την επεξεργασία μολυσμένων νερών με βαρέα μέταλλα. Η χημική κατακρήμνιση, πήξη-κροκίδωση, επίπλευση, η ιοντική ανταλλαγή και η φίλτραση μέσω μεμβρανών είναι τεχνικές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων από τα μολυσμένα λύματα. Ωστόσο υπάρχουν περιορισμοί στην εφαρμογή τους κυρίως οικονομικοί κατά την επεξεργασία μεγάλων όγκων νερού με χαμηλή συγκέντρωση βαρέων μετάλλων. Επίσης, ένα μεγάλο μειονέκτημα των συμβατικών τεχνολογιών απορρύπανσης είναι η παραγωγή ιλύος, καθώς συχνά είναι φορέας τοξικών ουσιών ενώ οι τρόποι διάθεσης της στο περιβάλλον είναι περιορισμένοι (45).

Λόγω των προαναφερθέντων περιορισμών, η βιολογική επεξεργασία των μετάλλων, και ιδιαίτερα η φυτοεξυγίανση φαίνεται ως μια καλή εναλλακτική λύση. Η φυτοεξυγίανση αποτελεί ένα σύνολο τεχνικών απορρύπανσης οι οποίες καθορίζονται από τη χρήση φυτών λόγω των μηχανισμών ανάπτυξής τους και τις ιδιότητες των μικροβίων που φέρουν ως προς την απομάκρυνση, υποβάθμιση ή ακινητοποίηση περιβαλλοντικών ρύπων από έδαφος και νερό καθώς και την αποκατάσταση των μολυσμένων περιοχών σε μια σχετικά καθαρή, μη τοξική κατάσταση. Ένα πλήθος μολυσμένων ειδών νερού μπορούν να επεξεργαστούν με τεχνικές φυτοεξυγίανσης, συμπεριλαμβανομένων των αποβλήτων από υπόνομους, αστικών λυμάτων, γεωργικών απορροών, βιομηχανικών αποβλήτων, κλπ.

Η φυτοεξυγίανση περιλαμβάνει διάφορες πολλά υποσχόμενες, αποδοτικές και φιλικές προς το περιβάλλον τεχνικές. (1)



Σχήμα 2: Απεικόνιση των κύριων μηχανισμών της Φυτοεξυγίανσης

(34)

### 1.2.2 Ευρέως Χρησιμοποιούμενα φυτά

Η απομάκρυνση ρύπων με τη χρήση φυτών απαιτεί διαδικασίες αποικοδόμησης, μεταβολισμού, αφομοίωσης και αποτοξίνωσης των ρύπων από το περιβάλλον. Τα φυτά που χρησιμοποιούνται στην φυτοεξυγίανση εκτελούν διεργασίες που περιλαμβάνουν την τροποποίηση των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων του μολυσμένου μέσου (π.χ.

διαφοροποίηση ποσοστού υγρασίας, μεταβολή pH), τη χρήση ριζικών εκκρίσεων και την αύξηση του οργανικού άνθρακα, τη βελτίωση του αερισμού στη ριζική ζώνη, την επιβράδυνση και παρεμπόδιση μετακίνησης χημικών ουσιών, κ.α. Τα χαρακτηριστικά των φυτών που αξιοποιούνται, εξαρτώνται από το είδος του προς απομάκρυνση ρύπου, τη διεργασία φυτοεξυγίανσης που θα ακολουθηθεί καθώς και το μέσο στο οποίο βρίσκεται ο ρύπος. Για την in-situ φυτοεξυγίανση η πιο συνήθης προσέγγιση είναι οι ρίζες του φυτού να έρχονται σε επαφή με τους ρύπους. Για παράδειγμα, η απομάκρυνση μολυσμένου νερού από τα έδαφος, μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση δέντρων τα οποία έχουν την δυνατότητα να απορροφούν μεγάλες ποσότητες νερού (ιτιά). Αν απαιτείται απομάκρυνση των ρύπων από το πεδίο μόλυνσης, θα πρέπει η συγκομιδή των φυτών να είναι μια εύκολη διαδικασία. Επίσης, η αγωγή ορισμένων ενζύμων παραγόμενων από φυτά μπορεί να θεωρηθεί διεργασία φυτοεξυγίανσης. Η εξαγωγή ενζύμων φαίνεται να αποτελεί μια αργή διαδικασία υψηλού κόστους, ωστόσο ορισμένα φυτά εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες ενζύμων υπό συνθήκες στρες (*Artemisia dracunculata* var *sativa*). (46)

Φυτοεξυγίανση - Φυτά με Απορρυπαντικές Ιδιότητες		
Φυτό	Ρύποι	Εφαρμογές
Ηλιάνθος ( <i>Helianthus annuus</i> )	Cs Sr U νιτρικά ιόντα	Ριζοδιήθηση σε λίμνη μολυσμένη με πηρυνικά απόβλητα (Ουκρανία - Τσερνομπίλ) Ριζοδιήθηση ενεργειακών αποβλήτων (Ashtabula, OH) Ριζοδιήθηση σε στραγγίσματα απορρυμάτων
Brassica (συνάπι)	Pb Se U νιτρικά ιόντα	Φυτοεκχύλιση Pb σε αγρό (Trenton, NJ) Φυτοεξάτμιση αποβλήτων διυλιστηρίων (San Francisco, CA) Ριζοδιήθηση σε στραγγίσματα απορρυμάτων
Λεύκα ( <i>Populus ssp.</i> )	Pb Zn Cd As TCE PCA BTEX TRH PCP PAH	Φυτοσταθεροποίηση σε χυτήρια και άγονα χωράφια και απόβλητα μεταλλείων Φυτομετασχηματισμός υπογείων νερών Φυτομετασχηματισμός πετροχημικών αποβλήτων Φυτομετασχηματισμός αποβλήτων συντηρητικών ξύλου

Φυτά που χρησιμοποιούνται συχνά κατά την εφαρμογή φυτοεξυγίανσης(1)

### 1.2.3 Παραδείγματα – τεχνικές φυτοεξυγίανσης

Η φυτοεξυγίανση έχει εφαρμοστεί επιτυχώς κατά την απορρύπανση μολύβδου, στην απομάκρυνση ραδιενεργών στοιχείων από μολυσμένα νερά στο Τσερνομπίλ, κατά την απομάκρυνση TNT από το έδαφος, στην απορρύπανση υδάτων από θρεπτικές ουσίες και φυτοφάρμακα, καθώς και για την απορρύπανση απορροών αγροτικών περιοχών.

Οι τεχνικές που συμπεριλαμβάνει, διακρίνονται ανάλογα με τον μηχανισμό απορρύπανσης. Έτσι, οι τεχνικές φυτοεξυγίανσης είναι:

### Φυτοσχηματισμός:

Πρόκειται για την πρόσληψη ρύπων και θρεπτικών συστατικών από το έδαφος και τα υπόγεια νερά και στη συνέχεια το μετασχηματισμό τους από τα φυτά. Είναι σημαντικό η νέα μορφή των ρύπων να προκύπτει λιγότερο τοξική από την αρχική μορφή. Οι απορροφημένες ουσίες συσσωρεύονται στους ιστούς των φυτών μέσω λιγνινοποίησης (δεσμεύονται ομοιοπολικά με τη λιγνίνη του φυτού), εξατμίζονται (φυτοεξάτμιση), μεταβολίζονται ή μετατρέπονται σε ανόργανες ουσίες. Ο φυτοσχηματισμός βρίσκει εφαρμογή σε απορρύπανση από θρεπτικά συστατικά (αμμωνία, νιτρικά και φωσφορικά ιόντα), αρωματικές ενώσεις, πετρελαιοκηλίδες, χλωριωμένα αλειφατικά, ζιζανιοκτόνα και απόβλητα εκρηκτικών ενώ τα φυτά που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν τα φρεατόφυτα (τιά, λεύκα), πώδη φυτά, τριφύλλι, άλφα άλφα και άλλα. (1)

### Ριζοσφαιρική βιοεξυγίανση:

Η ριζοσφαιρική βιοεξυγίανση, κατά τη οποία χρησιμοποιούνται τόσο το ριζικό μέρος του φυτού όσο και οι μικροοργανισμοί που φυσιολογικά αναπτύσσονται στη ριζική ζώνη, είναι μια μέθοδος κατά την οποία τα φυτά παράγουν εκκρίματα υψηλού μοριακού βάρους (πρωτεΐνες, ένζυμα) τα οποία αποδομούν οργανικές ενώσεις ενώ ταυτόχρονα διεγείρουν τους βακτηριακούς πληθυσμούς ώστε να παραχθούν νέα είδη ικανά να αποδομούν απόβλητα. Ταυτόχρονα οι μικροβιακοί πληθυσμοί λειτουργούν σαν διασπαστές ρύπων ενώ παράγουν την ανάπτυξη των φυτών. (20)

### Φυτοσταθεροποίηση:

Η τεχνική βασίζεται στην συγκράτηση των ρύπων και τοξικών ουσιών στο έδαφος το οποίο βρίσκονται χρησιμοποιώντας φυτά των οποίων τα ριζικά συστήματα ακινητοποιούν το έδαφος στη ριζική περιοχή, και προσροφούν τις ουσίες στις ρίζες ενώ εμποδίζουν τη μεταφορά τους μέσω του ανέμου, της διάβρωσης και της αποστράγγισης. Αποτελεί μια κατάλληλη μέθοδο για την σταθεροποίηση βαρέων μετάλλων. Ένας σημαντικός περιοριστικός παράγοντας της φυτοσταθεροποίησης η παραμονή των ρύπων στο έδαφος για μεγάλο χρονικό διάστημα κάτι που απαιτεί μακροχρόνια συντήρηση ώστε να αποτραπεί η μελλοντική διαρροή τους στο περιβάλλον. (9)

### Φυτοεκχύλιση:

Πρόκειται για μια μέθοδο μεταφοράς και συσώρευσης των ρύπων στα υπέργεια τμήματα των φυτών ή τη ρίζα. Για την εφαρμογή της φυτοεκχύλισης, κρίσιμα δεδομένα είναι ο λόγος συσώρευσης των ρύπων στους ιστούς του φυτού καθώς και η παραγωγικότητα του. Απαιτείται τα φυτά να έχουν γρήγορο κύκλο ανάπτυξης με εύκολη διαδικασία συγκομιδής. Η φυτοεκχύλιση ενδείκνυται για την απορρύπανση περιοχών από μέταλλα (μόλυβδο, κάδμιο), ραδιονουκλεοτίδια αλλά και μικτά απόβλητα. (1)

### Ριζοδιήθηση:

Υπάρχουν πολλές διεργασίες που συντελούνται στις ρίζες των φυτών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μηχανισμοί απορρύπανσης. Μέσω των ριζών τους, τα φυτά μπορούν να προσροφήσουν ουσίες οι οποίες στη συνέχεια συσσωρεύονται στους ιστούς του φυτού η κατακρημνίζονται. Η ριζοδιήθηση μπορεί να εφαρμοστεί σε επιφανειακά αλλά και υπόγεια νερά εκμεταλλευόμενη το χαρακτηριστικό των ριζών να απορροφά μεγάλες ποσότητες μετάλλων από το νερό. Η συγκεκριμένη τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί σε μολυσμένες από ραδιενεργά κατάλοιπα περιοχές όπως το Τσερνομπίλ στην Ουκρανία. (1)

## 1.3 ΡΙΖΟΔΙΗΘΗΣΗ

### 1.3.1 Θεωρητικό υπόβαθρο

#### Φυτοδιήθηση/Ριζοδιήθηση

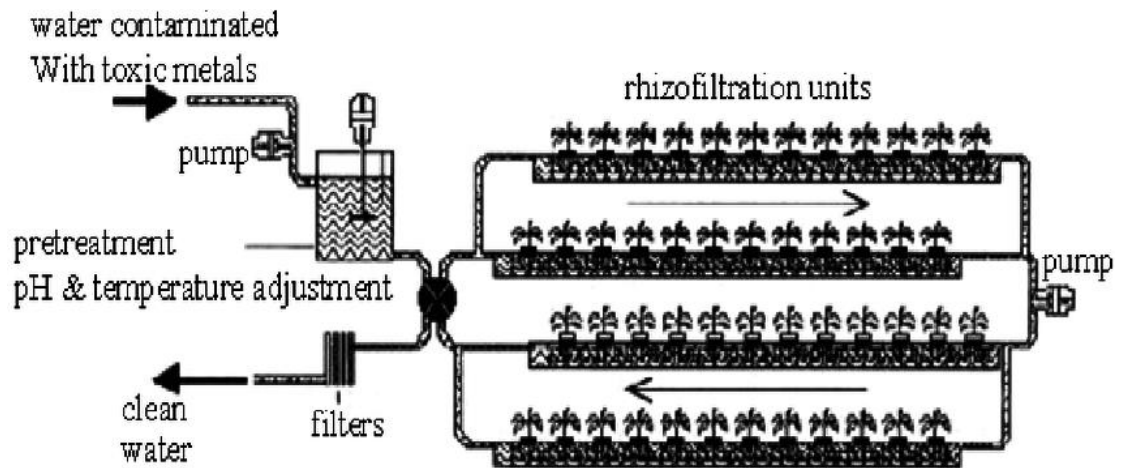
Η φυτοδιήθηση αποτελεί μια στοχευμένη τεχνική φυτοεξυγίανσης, και αφορά τη χρήση φυτών για την απομάκρυνση ρύπων από το υδάτινο περιβάλλον. Μπορεί να διαχωριστεί σε τρεις υποκατηγορίες οι οποίες περιλαμβάνουν

- 1) Ριζοδιήθηση
- 2) Κατασκευή υδροβιότοπων
- 3) Βιο-προσροφητικά συστήματα

Κατά την διαδικασία της ριζοδιήθησης, χρησιμοποιούνται φυτά με ανεπτυγμένες ρίζες με σκοπό την απορρόφηση, συγκέντρωση και κατακρήμνιση ρύπων από μολυσμένα λύματα όπως βαρέα μέταλλα, ραδιενεργές ουσίες και θρεπτικά συστατικά. Το φυτό ροφά και συγκεντρώνει τους ρύπους που υπάρχουν στα υγρά απόβλητα μέσω του ριζικού συστήματος στα μέρη που μπορούν να συλληθούν και να απομακρυνθούν ώστε να ακολουθήσει η περαιτέρω επεξεργασία τους. Κατά την απορρόφηση των ρύπων στους ιστούς μπορεί να προκύψει και η εξάτμιση τους από τα φυτά. Καθώς ο ιστός του φυτού κορέννυται με τις προς απομάκρυνση ουσίες, αυτό συλλέγεται και απομακρύνεται από σημείο. Για τη ριζοδιήθηση είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται φυτά των οποίων οι ρίζες έχουν μεγαλύτερη, ινώδη επιφάνεια. Οι ρίζες πολλών φυτών, όπως η κράμβη, ο ηλίανθος, και διάφορα είδη χαμηλής βλάστησης έχει αποδειχθεί ότι απομακρύνουν αποτελεσματικά τοξικά μέταλλα από υδατικά διαλύματα. Οι ηλίανθοι (*Helianthus annuus L.*) είναι μια από τις ευρέως χρησιμοποιούμενες καλλιέργειες για περιβαλλοντική απορρύπανση. Έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό στην πρόσληψη καδμίου και μολύβδου. Το τελευταίο συγκεντρώνεται στα φύλλα και το μίσχο εντός των αγγειακών δεσμίδων. Ποσότητες μολύβδου έχουν ανιχνευθεί επίσης στους ιστούς των ριζών, από το επιδερμικό επίπεδο μέχρι τον κεντρικό άξονα.

Τα είδη κράμβης (*Brassica*) έχουν την ικανότητα να εκμαιεύουν ουσίες από το έδαφος. Το είδος *Brassica juncea*, συγκεκριμένα, μελετάται για την μεγάλη του βιομάζα και τον ταχύ κύκλο ανάπτυξής του. Έχει ικανότητα αυξημένης απορρόφησης και συγκέντρωσης μολύβδου ο οποίος περιορίζεται κυρίως στις ρίζες του. Μπορεί επίσης να απομακρύνει υδράργυρο από μολυσμένα διαλύματα. (2)





(35) Σύστημα ριζοδιήθησης συνεχούς ροής

### Τεχνητοί υδροβιότοποι

Οι τεχνητοί υδροβιότοποι είναι συστήματα που έχουν σχεδιαστεί με σκοπό την επεξεργασία αποβλήτων, χρησιμοποιώντας πολλές διεργασίες οι οποίες συμβαίνουν σε φυσικούς υδροβιότοπους, παρόλο που ο σχεδιασμός καθιστά ελεγχόμενο το τεχνητό περιβάλλον. Οι φυσικές διεργασίες συμπεριλαμβάνουν τη βλάστηση σε υδροβιότοπους και τη μικροβιακή συγκέντρωση. Οι τεχνητοί υδροβιότοποι έχουν χρησιμοποιηθεί για την εκκαθάριση αστικών, βιομηχανικών και γεωργικών λυμάτων. Επίσης εφαρμόζονται για την απομάκρυνση θρεπτικών συστατικών από μολυσμένα ύδατα πριν εκφορτιστούν στο περιβάλλον.

Η κατασκευή τεχνητών υδροβιότοπων αποτελεί μια διαδικασία υψηλής απόδοσης. Τα έξοδα λειτουργίας και συντήρησης είναι χαμηλά και χρειάζεται περιοδική και όχι συνεχής συντήρηση. Οι τεχνητοί υδροβιότοποι μπορούν να λειτουργούν με ανακυκλούμενη ροή νερού. Επίσης προσφέρουν ένα περιβάλλον ανάπτυξης για πολλά είδη οργανισμών. Σε αναπτυσσόμενες χώρες αυτού του είδους οι υδροβιότοποι μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για οικονομικά οφέλη και μπορούν να συμβάλουν στη διατήρηση φυσικών συστημάτων επεξεργασίας. Η παραγωγή φυτικής βιομάζας μπορεί να συνεισφέρει οικονομικά στις κοινότητες της περιοχής, καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοκαυσίμων, ως ζωτροφή, compost, ακόμα και στην παραγωγή χαρτιού.

Οι μηχανισμοί απορρύπανσης σε ένα τέτοιο σύστημα είναι αρκετοί και συνήθως συναφείς. (2)

<b>Μηχανισμοί Απορρύπανσης Τεχνητών Υδροβιότοπων</b>		
<b>Μηχανισμοί</b>	<b>Διαδικασία</b>	<b>Είδος Ρύπου</b>
Καθίζηση αιωρούμενων σωματιδίων	Φυσική	Οργανική ύλη
Φίλτραση και χημική κατακρύμνιση μέσω επαφής του νερού με το υπόστρωμα	Φυσικοχημική	Μέταλλα
Προσρόφηση και ιοντική ανταλλαγή στις επιφάνειες του φυτού, του υποστρώματος, του ιζήματος και των ρύπων	Φυσικοχημική	Μέταλλα
Άμεση πρόσληψη από φυτά και μικροοργανισμούς. Μικροβιακή απομάκρυνση μετάλλων	Βιολογική	Μέταλλα
Αποικοδόμηση και μετατροπή των ρύπων από μικροοργανισμούς και φυτά	Βιολογική	Οργανικά
Προσρόφηση και μετατροπή των θρεπτικών συστατικών από μικροοργανισμούς και φυτά	Βιολογική	Άζωτο Φώσφορο
Θήρευση και θανάτωση παθογόνων	Βιολογική	Παθογόνα

Συνήθεις μηχανισμοί απορρύπανσης τεχνητών υδροβιότοπων (2)

#### **Λίμνες με ελεύθερα επιπλέοντα μακρόφυτα:**

Αποτελούνται από μία ή περισσότερες κοιλότητες στις οποίες τα φυτά επιπλέουν στην επιφάνεια, ενώ απαλλάσσουν τον όγκο του νερού από θρεπτικά συστατικά και μέταλλα. Η απομάκρυνση των μετάλλων οφείλεται κυρίως στην πρόσληψή τους από τα φυτά. Η προσρόφηση στις ρίζες ή στο επιφανειακό φυτό, η μετατόπιση και η ενδοκυτταρική συσσώρευση περιγράφονται ως οι βασικοί μηχανισμοί απομάκρυνσης ρύπων. (2)

#### **Τεχνητοί υδροβιότοποι επιφανειακής ροής:**

Αυτού του είδους οι υδροβιότοποι αποτελούνται από ένα ρηχό κολπίσκο (ή μια σειρά από κοιλότητες) οι οποίοι περιέχουν περίπου 20-30 εκατοστά υπόστρωμα και βάθος νερού μικρότερο των 40 εκατοστών. Συνήθως αναδύεται πυκνή βλάστηση που καλύπτει περισσότερο από το 50% της επιφάνειας. Μπορούν να συνυπάρχουν διάφορα είδη φυτών, φυτά με ρίζες στο υπόστρωμα και επιπλέοντα φύλλα, βυθισμένα μακρόφυτα, επιπλέοντα φυτά, κλπ. Σε τροπικές περιοχές η απορρύπανση υδροβιότοπων αποτελούνται από υδρόβια φυτά, ενώ σε εύκρατες περιοχές επικρατούν τα αναδυόμενα. (2)

Πλεονεκτήματα των υδροβιότοπων ελεύθερης επιφανειακής ροής αποτελούν το χαμηλό αρχικό κόστος κατασκευής και κόστος λειτουργίας, ενώ η διαδικασία συντήρησης τέτοιων συστημάτων είναι σχετικά απλή. Ένας σημαντικός περιοριστικός παράγοντας είναι το μεγάλο μέγεθος της έκτασης που απαιτεί η κατασκευή ενός τέτοιου υδροβιότοπου. (2)

Φυτά επιφάνειας που χρησιμοποιούνται σε Τεχνητούς Υδροβιότοπους	
Φυτό	Στοιχεία προς Απομάκρυνση
Azolla	Μέταλλα σε χαμηλές συγκεντρώσεις
A. Californiana	Υδράργυρος, Χρώμιο
A. Pinnata	Υδράργυρος, Κάδμιο
A. filiculoides	Μόλυβδος

Φυτά που χρησιμοποιούνται ευρέως σε τεχνητούς υδροβιότοπους(2)

### Τεχνητοί υδροβιότοποι υπόγειας ροής:

Οι υπόγειοι υδροβιότοποι αποτελούνται από τάφρους, κανάλια και κοιλάτρες με μη στάσιμο νερό το οποίο υποστηρίζει την αναδύομενη βλάστηση. Υπάρχουν δύο ειδών τεχνητοί υδροβιότοποι υπόγειας ροής: οριζόντιας ροής και κάθετης ροής. Στην πρώτη περίπτωση, το νερό διασχίζει το έδαφος με κατεύθυνση παράλληλη στην επιφάνεια και έρχεται σε επαφή με ένα δίκτυο αερόβιων, ανοξικών και αναερόβιων ζωνών. Στην περίπτωση της κάθετης ροής, η επιφάνεια του υδροβιότοπου πλημμυρίζει με νερό περιοδικά και στη συνέχεια σταδιακά διυλίζεται και συλλέγεται σε δίκτυο αποχέτευσης στη βάση. (2)

### Σύστημα βιο-προσρόφησης (bioadsorbent-based systems)

Η βιο-προσρόφηση είναι μια ιδιότητα των οργανισμών κατά την οποία απομακρύνονται ουσίες από διαλύματα βιολογικής ύλης. Τέτοιες ουσίες μπορεί να είναι είτε οργανικές, είτε ανόργανες, σε αέρια μορφή, διαλυμένες σε ένα μέσο ή σε αδιάλυτη μορφή. Η βιο-προσρόφηση είναι μια πολλά υποσχόμενη βιοτεχνολογία όσον αφορά την απομάκρυνση μετάλλων από λύματα. Τα κύρια πλεονεκτήματά της είναι το χαμηλό κόστος, η ικανότητα προσρόφησης και δέσμευσης μετάλλων, η υψηλή αποδοτικότητα, η διαθεσιμότητα της βιομάζας καθώς και το γεγονός ότι είναι μια διεργασία φιλική προς το περιβάλλον. (3)

### 1.3.2 Μικροοργανισμοί της ριζόσφαιρας

Ο όρος ριζόσφαιρα ενός φυτού αναφέρεται στο κοντινό περιβάλλον γύρω από το ριζικό σύστημα, όπου οι ρίζες απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες μεταβολιτών από τις ίνες και τα τριχίδια τους. Αυτού το είδους οι μεταβολίτες δρουν ως χημικά σήματα για τα κινητικά βακτήρια ώστε να μετακινηθούν προς την επιφάνεια του ριζικού συστήματος, καθώς ένα τέτοιου είδους περιβάλλον αποτελεί ιδανικό τόπο αποικίας για ένα μέρος των μικροβίων της ριζόσφαιρας. Τέτοιου είδους βακτήρια αναφέρονται ως ριζοβακτήρια ανάπτυξης φυτών και εκπληρώνουν σημαντικές λειτουργίες για την ανάπτυξη και την υγεία των φυτών. (47)

Η ριζόσφαιρα αποτελείται από τρία στοιχεία. Το περιβάλλον (έδαφος) το οποίο επηρεάζεται από τις ρίζες λόγω απελευθέρωσης ουσιών σε αυτό και, η επιφάνεια των ριζών και τέλος το ίδιο το ριζικό σύστημα λόγω της ύπαρξης ενδοφυτικών μικροοργανισμών που δημιουργούν αποικίες στους ενδότερους φυτικούς ιστούς. Σε ένα τέτοιο σύστημα,

δημιουργείται ένα δυναμικό περιβάλλον στο οποίο οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται και αλληλεπιδρούν. (47)

Η δημιουργία του συστήματος έχει ως αφετηρία την έκκριση οργανικών ενώσεων από τις ρίζες στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας. Οι οργανικές ενώσεις καταβάλλονται από μικρόβια και στη συνέχεια απομακρύνονται από τις ρίζες. Η σύνθεση των ριζικών εκκρίσεων αποτελείται από νερό, ευδιάλυτα σάκχαρα, οργανικά οξέα και αμινοξέα, ενώ περιέχουν σε μικρότερη συγκέντρωση ορμόνες, βιταμίνες, φαινολικές ενώσεις και φωσφορικούς εστέρες. Η απελευθέρωση αυτών των ενώσεων μικρού μοριακού βάρους είναι μια παθητική διαδικασία η οποία συμβαίνει λόγω του δυναμικού διαφοράς συγκέντρωσης μεταξύ του κυτταροπλάσματος των κυττάρων της ρίζας και το εξωτερικό περιβάλλον. Ο βαθμός διαπερατότητας της μεμβράνης καθορίζει το είδος διάχυσης μέσω των λιπιδικών διπλοστοιβάδων. Αυτό βασίζεται στη κατάσταση των κυττάρων στις ρίζες του φυτού και την πολικότητα των ενώσεων. Παράλληλα, η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών και η θερμοκρασία του περιβάλλοντος μπορούν να επηρεάσουν την αποδοτικότητα της διαδικασίας έκκρισης υποβάλλοντας την ακεραιότητα της μεμβράνης, ενώ η χημική σύνθεση καθυστερών των εκκρίσεων καθορίζεται από παράγοντες όπως η οξύτητα του περιβάλλοντος, το είδος και η θερμοκρασία του μέσου καλλιέργειας, η ένταση του φωτός, η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών και η παρουσία μικροοργανισμών. (47)

Φαίνεται πως το στάδιο ανάπτυξης του φυτού επηρεάζει και το είδος των εκκρίσεων του προς το περιβάλλον. Για παράδειγμα, κατά την στάδιο ανάπτυξης 6- φύλλων, παρατηρείται η αυξημένη ύπαρξη καρβοξυλικών ενώσεων. Το άζωτο είναι ένα πολύ σημαντικό θρεπτικό συστατικό για την ανάπτυξη του φυτού και συνήθως απορροφάται στη μορφή αμμωνιακών ( $\text{NH}_4^+$ ) ή νιτρικών ( $\text{NO}_3^-$ ) ιόντων. Κατά την ωρίμανση του φυτού, η ριζο-εναπόθεση αζώτου υπολογίζεται περίπου στο 20% της ολικής ποσότητας αζώτου που περιέχεται στο φυτό. Οι ριζικές εκκρίσεις βασίζονται επίσης και στην διαθεσιμότητα ιχνοστοιχείων στο περιβάλλον. Χαμηλές συγκεντρώσεις θρεπτικών, όπως κάλλιο, νάτριο και μαγνήσιο διεγείρουν την δραστηριότητα κύριων ενζύμων της γλυκολυτικής οδού, (συγκεκριμένα τις φωσφοφρουκτοκινάση και πυρουβική κινάση) τα οποία ρυθμίζουν τη διαδικασία γλυκόλυσης στα κύτταρα του φυτού. Ακόμα, ξεχωριστά μικροθρεπτικά συστατικά είναι απαραίτητα συστατικά σημαντικών ενζύμων, τα οποία ρυθμίζουν όλες τις βιολογικές διαδικασίες στα φυτά. (47)

Η μικροχλωρίδα της ριζόσφαιρας αποτελείται από βακτήρια, μύκητες, νηματοειδή, πρωτόζωα, άλγη ενώ παρατηρείται και η ύπαρξη μικροαρθρόποδων. Ο αριθμός των μικροβιακών ειδών τα οποία αποικούν στο έδαφος κυμαίνεται από χιλιάδες έως εκατομμύρια. Συνήθως οι πιο κοινοί πληθυσμοί στη ριζόσφαιρα των περισσότερων φυτών, αποτελούνται από τα πρωτεοβακτήρια και τα ακτινοβακτήρια. Στους παραπάνω πληθυσμούς συγκαταλέγονται ωφέλιμα για τα φυτά είδη αλλά και παθογόνοι οργανισμοί. Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν το είδος των μικροοργανισμών που θα αναπτυχθούν είναι κυρίως το είδος των φυτών, η φάση ανάπτυξης του φυτού και το είδος του εδάφους, ενώ η επίδραση των καιρικών συνθηκών στο είδος των αναπτυσσόμενων οργανισμών δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά. (47)

Σύμφωνα με έρευνες, το πλήθος των μικροοργανισμών που αποικεί στη ριζόσφαιρα είναι κατά πολύ μεγαλύτερο σε σχέση με τον αριθμό που αποικεί σε μη φυτεμένο περιβάλλον. Η συγκέντρωση βακτηρίων ανά γραμμάριο εδάφους ριζοσφαιρικού περιβάλλοντος μπορεί να φτάσει και συγκεντρώσεις κυττάρων  $10^{12}$ . (47)

Η επίδραση των εκκρίσεων επηρεάζεται από την απόσταση στην οποία διαχέεται στο περιβάλλον. Οι βακτηριακές αποικίες δεν διανέμονται ομοιόμορφα στη στις ρίζες και εξαρτώνται από το είδος της ριζικής ζώνης. Η σύνθεση των αποικιών μπορεί να διακριθεί από το μοριακό τους αποτύπωμα σε κάθε ζώνη, για παράδειγμα στις άκρες των ριζών, στα επιμήκη σημεία της ρίζας, αναδυόμενα σημεία, κ.α (4). Τα βακτήρια ωφελούνται από τις απελευθερώσεις θρεπτικών συστατικών από τις νεοσχηματισμένες ρίζες και οι διακυμάνσεις του βακτηριακού πληθυσμού εξηγείται από τον θάνατο και τη λύση των βακτηριακών κυττάρων κατά την αρχική εξάντληση των θρεπτικών, τα οποία διαχέουν μια νέα ποσότητα θρεπτικών συστατικών που απορροφάται από τα βακτήρια που προσωρινά περνάνε σε ανάπτυξη του πληθυσμού τους.

Η ποικιλία και ο αριθμός των μικροοργανισμών εξαρτώνται από το είδος, την ποιότητα και την ποσότητα των εκκρίσεων αλλά και από το είδος των μικροβιακών αλληλεπιδράσεων εντός της ριζόσφαιρας. Οι ίδιοι οι οργανισμοί εμπλέκονται σε ένα δίκτυο τροφικής αλυσίδας, άλλοι ως τροφή και άλλοι ως θηρευτές. Επίσης ανταγωνίζονται μεταξύ τους όσον αφορά την πρόσληψη θρεπτικών, νερού και χώρων αποίκησης αναπτύσσοντας διάφορου είδους συνδέσμους με το φυτό. Η διαρκής αυτή διαδικασία οδηγεί σε μια συνεχή εξέλιξη των μικροοργανισμών στην προσπάθειά τους να προσαρμοστούν καλύτερα στις συνθήκες του περιβάλλοντός τους. (5).

Οι οργανισμοί που βρίσκονται στη ριζόσφαιρα παίζουν σημαντικό ρόλο σε μικροβιακές διαδικασίες που συμβαίνουν, συμπεριλαμβανομένων και της παθογένεσης, της ανάπτυξης του φυτού, της παραγωγής αντιβιοτικών και το φυτο-αποικισμό. Ανάλογα με την επίδραση που έχουν στο φυτό, οι αλληλεπιδράσεις που έχουν στο φυτό μπορεί να θεωρηθούν ωφέλιμες, ουδέτερες ή επιβλαβείς.

Οι ωφέλιμες αλληλεπιδράσεις μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις κατηγορίες.

#### α) Αλληλεπιδράσεις υπεύθυνες για την θρέψη

Για παράδειγμα, μικροοργανισμοί που αυξάνουν την παροχή ανόργανων θρεπτικών συστατικών στο φυτό. Συνήθως οι αλληλεπιδράσεις αυτών των μικροοργανισμών δεν γίνεται άμεσα τόσο με το φυτό όσο με το έδαφος και άλλους βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες (νερό, χώμα, και λοιπά)

Το σημαντικότερο παράδειγμα είναι τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια τα οποία ζουν συμβιωτικά στις ρίζες διαφόρων φυτών (ψυχανθή). Ενώ δεσμεύουν άζωτο από την ατμόσφαιρα για την παραγωγή αμινοξέων, τα ίδια μεταβολίζουν τους υδατάνθρακες των εκκριμάτων των ριζών. Αυτού του είδους η βιολίπανση θεωρείται ότι αποτελεί περίπου το 65% της παροχής αζώτου παγκοσμίως. Ποσότητες φωσφόρου, θρεπτικού συστατικού απαραίτητου για την ανάπτυξη των φυτών, απελευθερώνονται από οργανικές ενώσεις μέσω βακτηριακών δραστηριοτήτων. Το βακτήριο *Azospirillum* είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ριζικού συστήματος και αύξηση δραστηριοτήτων σχετιζόμενων με πρόσληψη φωσφόρου και άλλων στοιχείων. (47)

#### β) Μικροοργανισμοί οι οποίοι εμποδίζουν την ανάπτυξη και τις δραστηριότητες των παθογόνων οργανισμών (biocontrol agents)

Υπάρχουν βακτήρια σχετιζόμενα με φυτά, τα οποία μπορούν να περιορίσουν την δραστηριότητα παθογόνων μικροοργανισμών όχι μόνο μέσω του μικροβιακού

ανταγωνισμού αλλά και ενεργοποιώντας μηχανισμούς άμυνας στο φυτό (Induced systemic resistance, ISR) (6) σηματοδοτώντας ουσίες όπως σαλικυλικό οξύ, αιθυλένιο και ιασμονικό οξύ. Οι αμυντικοί μηχανισμοί των φυτών εκφράζονται όταν βρισκονται κάτω από συνθήκες στρες. Τέτοιες συνθήκες μπορεί να είναι βιοτικής ή αβιοτικής προέλευσης όπως έκθεση σε ακραίες καιρικές συνθήκες (ζέστη, πάγος), προσβολή από παθογόνους οργανισμούς, επαφή με χημικές ενώσεις (φυσικές ή συνθετικές) (7). Η αναγνώριση του στρεσογόνου παράγοντα από το φυτό ενεργοποιεί μια αλληλουχία μοριακών σημάτων και μεταγραφή γονιδίων, τα οποία συντελούν στην παραγωγή αμυντικών μορίων του φυτού. Τα αμυντικά αυτά μόρια αποτελούνται από φυτοαλεξίνες, αντι-παθογόνες πρωτεΐνες (χιτινάσες, β-1,3-γλουκανάσες), και λιγνίνη για την ενίσχυση του κυτταρικού τοιχώματος.

γ) Μικροοργανισμοί που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών. Για παράδειγμα, με την παραγωγή φυτο-ορμονών.

Άλλοι οργανισμοί των οποίων η επίδραση θεωρείται ουδέτερη (αλλά εμμέσως επηρεάζουν τα φυτά), συμπεριλαμβάνουν σαπροφυτικούς οργανισμούς οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για διάφορες εδαφικές διεργασίες, όπως η αποσύνθεση οργανικής ύλης, και η ορυκτοποίηση οργανικών υπολειμμάτων. (47)

Πίνακας ωφέλιμων μικροοργανισμών (plant growth promoting rhizobacteria PGPR)

<b>Ωφέλιμοι Μικροοργανισμοί PGPR</b>	
<b>Βακτήρια</b>	<b>Μήκυτες</b>
Azospirillum	Ampelomyces
Bacillus	Coniothyrium
Pseudomonas	Trichoderma
Rhizobium	
Serratium	
Stenotrophomonas	
Streptomyces	

Μικροοργανισμοί που διαβιούν στις ρίζες των φυτών, και συμβάλουν στην ανάπτυξη τους (47)

Οι μικροοργανισμοί επιδρούν στα φυτά μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς με αποτέλεσμα την ανάπτυξη και προστασία του φυτού.

Για την αποίκηση των μικροοργανισμών, απαιτείται ένα κύτταρο να μπορέσει να προσκολληθεί σε επιφάνειες και στη συνέχεια να πολλαπλασιαστεί. Γι' αυτό απαιτείται η αναγνώριση των σημάτων των ριζών από τους οργανισμούς. Τα PGPR πλησιάζουν την επιφάνεια της ρίζας μέσω ενεργής κινητικότητας υποβοηθούμενης από μαστίγια και καθοδηγούνται από χημοτακτικές αντιδράσεις (8). Αυτό υποδεικνύει ότι ο ανταγωνισμός των οργανισμών PGPR βασίζεται είτε στις ικανότητες τους να προσαρμόζονται σε συγκεκριμένα περιβάλλοντα είτε στις ικανότητες να προσαρμόζονται σε αλλαγές συνθηκών ή ειδών φυτού. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο πληθυσμός των συγκεκριμένων οργανισμών μειώνεται από αρχικές τιμές  $10^7$  έως  $10^9$  σε  $10^5$  με  $10^6$ . Ακόμα και αυτή η ποσότητα όμως είναι αρκετή ώστε να παρέχει ωφέλιμη επίδραση.

## 1.4 Οικογένεια Lemnaceae

### 1.4.1 Χαρακτηριστικά

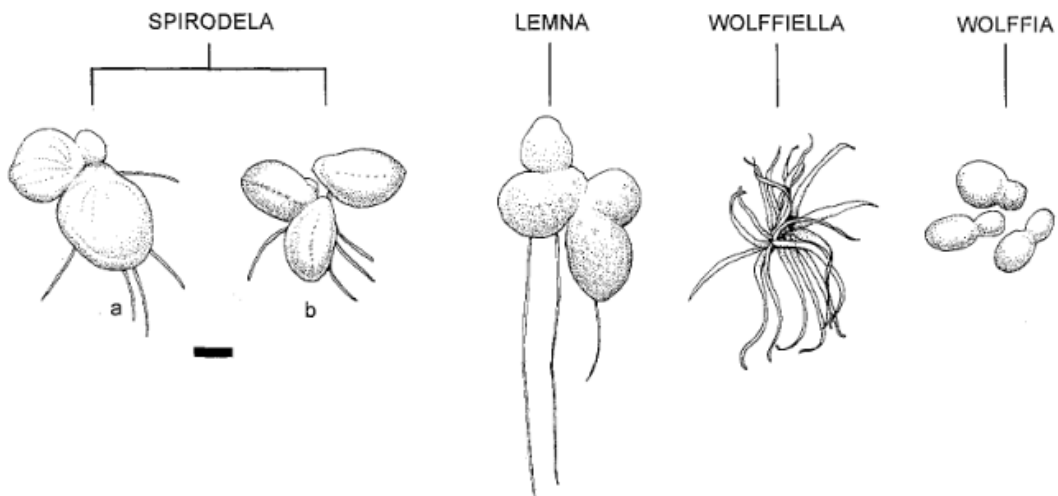
#### Επιπλέοντα υδρόβια μακρόφυτα- Duckweed

Τα duckweed είναι μικρά επιπλέοντα υδρόβια φυτά με παρουσία σχεδόν σε όλο τον κόσμο. Πρόκειται για μονοκοτυλήδονα φυτά που ανήκουν στην οικογένεια *Lemnaceae* (η ονομασία της οποίας προέρχεται από την ελληνική λέξη 'λίμνη') και κατηγοριοποιούνται ως ανώτερα φυτά ή μακρόφυτα, αν και συχνά παρερμηνεύονται ως άλγη και κάποιιοι τα ταξινομούν ως μέλη της οικογένειας *Araceae*. Τα φύλλα τους έχουν ωσειδές σχήμα και διάμετρο μερικών χιλιοστών έως δύο εκατοστών, ενώ το μήκος των ριζών τους επηρεάζεται από τη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών (16).

Τα duckweed αποτελούν αντλίες θρεπτικών συστατικών, μειώνουν την επίδραση του ευτροφισμού και παρέχουν οξυγόνο από την φωτοσυνθετική τους δραστηριότητα. Συχνά εμφανίζονται ως ένα πυκνό στρώμα σε στάσιμα ελαφρώς υφάλμυρα νερά με υψηλή συγκέντρωση σε θρεπτικά συστατικά. Η υπο-οικογένεια *Wolffia* έχει φύλλα μικρότερου μεγέθους, διαμέτρου έως περίπου 2 χιλιοστών. Το μέγεθος φύλλου των *Lemna* κυμαίνεται από 2 έως 8 χιλιοστά, ενώ τα φυτά της υπο-οικογένειας *Spirodela* έχουν το μεγαλύτερο φύλλο διαμέτρου έως και 2 εκατοστών (16).

#### Ταξινόμηση

Τα duckweed αποτελούνται από τέσσερα γένη: *Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia* και *Wolffiella*. Έως τώρα, έχουν ταυτοποιηθεί 37 είδη που ανήκουν στα τέσσερα γένη, από διάφορα μέρη του κόσμου. Ταξινομικά, η οικογένεια είναι περίπλοκη λόγω κλωνικών χαρακτηριστικών. Το πιο ευρέως διαδεδομένο είδος ανήκει στα τρία γένη *Lemna*, *Spirodela* και *Wolffia*. Αρκετά συχνά, τα επιπλέοντα στρώματα των duckweed αποτελούνται από περισσότερα του ενός είδους, για παράδειγμα, συνδιασμός *Lemna* και *Wolffia*. (18)



Απεικονήσεις στελεχών της οικογένειας Lemnaceae: (a. *Spirodela polyrhiza*, b. *Spirodela punctate*, c. *Lemna japonica*, d. *Wolffiella gladiata*, e. *Wolffia Australiana* (36)

Τα *Lemna* είναι το ευρύτερο γένος της οικογένειας *Lemnaceae*. Τα *Lemna* είναι μεταξύ των πιο πολύπλοκων ομάδων μέσα σε μια οικογένεια. Ο Landolt (1986) υπέθεσε ότι τα είδη *Lemna disperna* και *Lemna gibba* σχετίζονται ως είδη πρόγονος-παράγωγο και το είδος που προηγείται διαφοροποιήθηκε από το αυτό που ακολούθησε. Η συρρίκνωση κάποιων δομών όπως το μέγεθος του φύλλου, ο αριθμός των νευρώνων και των ωαρίων στο *Lemna disperna*, σε συνδυασμό με την περιορισμένη γεωγραφική κατανομή, υποστηρίζουν την υπόθεση ότι προήλθε από το είδος *Lemna gibba* ή από ένα κοινό πρόγονο. Το είδος *Lemna disperna* έχει αριθμό χρωμοσωμάτων ίσο με 40, ενώ στο *Lemna gibba* έχουν βρεθεί 40,50,70 και 80. Σύμφωνα με τις αλλοενζυμικές μελέτες τα δύο είδη συνδέονται ως πρόγονος και παράγωγο. Η μορφολογία της *Lemna disperna* και τα δεδομένα της αλλοενζυμικής έρευνας υποδεικνύουν πως το είδος αυτό προήλθε με διασκορπισμό του *Lemna gibba* ή από ένα κοινό πρόγονο των δύο ειδών. (11)

<b>Lemna</b>	<b>Spirodela</b>	<b>Wolffia</b>	<b>Wolffiella</b>
L. gibba	S. biperforata	W. arrhiza	W. caudate W.
L. disperna	S. intermedia	W. australiana W.	denticulata
L. japonica	S. oligorrhiza	columbiana W.	W. lingulata
L. minima	S. polyrrhiza	microscopia	W. oblonga
L. minor	S. punctata	W. neglecta	W. rotunda
L. minuscula			
L. paucicostata			
L. perpusilla			
L. polyrrhiza			
L. turionifera			
L. triscula			
L. valdiviana			

Ταξινόμηση ειδών duckweed

(11)

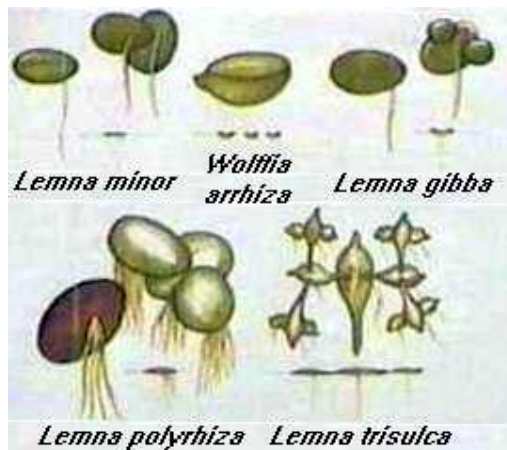
### **Μορφολογικές διαφοροποιήσεις Lemnaceae**

Ο διαχωρισμός των ειδών της οικογένειας Lemnaceae και η κατανομή των διαφορών ειδών δεν είναι σαφής σε αρκετά σημεία, παρά τον μεγάλο όγκο εκθέσεων και πληροφοριών που υπάρχουν για τα συγκεκριμένα φυτά. Αυτή η δυσχέρεια κατηγοριοποίησης μπορεί να οφείλετε σε διάφορους παράγοντες, όπως :

- 1) Όλα τα βλαστικά και αναπαραγωγικά όργανα των φυτών της οικογένειας Lemnaceae είναι συρρικνωμένα και οι μορφολογικές διαφοροποιήσεις τους εντός της οικογένειας περιορισμένες σε μικρά, συχνά δυσδιάκριτα χαρακτηριστικά.



- 2) Τα περισσότερα από τα διαγνωστικά χαρακτηριστικά είναι υποκείμενα σε μετασηματισμούς λόγω εξωτερικών παραγόντων (θερμοκρασία, ένταση φωτός, το είδος και η συγκέντρωση των θρεπτικών συστατικών στο νερό, κλπ.). Για παράδειγμα, μερικά πολύ έντονα τροποποιούμενα χαρακτηριστικά είναι το μέγεθος και σχήμα των φύλλων, η προβολή του, το μήκος των ριζών, το μέγεθος των διάκενων αέρα, το χρώμα και διάφορες χρωματικές αποχρώσεις του φύλλου. Συμπεραίνεται πως τα περισσότερα χαρακτηριστικά των στενά συγγενών ειδών ταυτίζονται, και μια σύγκριση μεταξύ των ειδών είναι συχνά δυνατή μόνο όταν τα είδη αναπτύσσονται σε ίδιες συνθήκες.
- 3) Καθώς ο βλαστικός (αγενής) πολλαπλασιασμός είναι ο πιο διαδομένος στα περισσότερα είδη, τα φυτά που παρουσιάζονται σε μια περιοχή είναι συνήθως αντίγραφα ενός αρχικού φυτού. Γι' αυτό το λόγο, είναι δύσκολο να προσδιοριστεί το γενικό εύρος διακύμανσης ενός συγκεκριμένου είδους. Μορφολογικά χαρακτηριστικά που διαφέρουν ανάμεσα σε δύο κλώνους συχνά υπερτιμούνται, ενώ τέτοιου είδους διαφορές συχνά ανταποκρίνονται σε ενδο-ατομικές διακυμάνσεις άλλων ανθοφόρων φυτών.
- 4) Υβρίδια της οικογένειας Lemnaceae θεωρούνται εξαίρεση, μολονότι, η ύπαρξη υβριδίων μπορεί να οδηγήσει σε σταθεροποίηση τους μέσω βλαστικής αναπαραγωγής και με τον τρόπο αυτό να ενσωματωθούν μερικώς ανάμεσα σε άλλα είδη.(17)

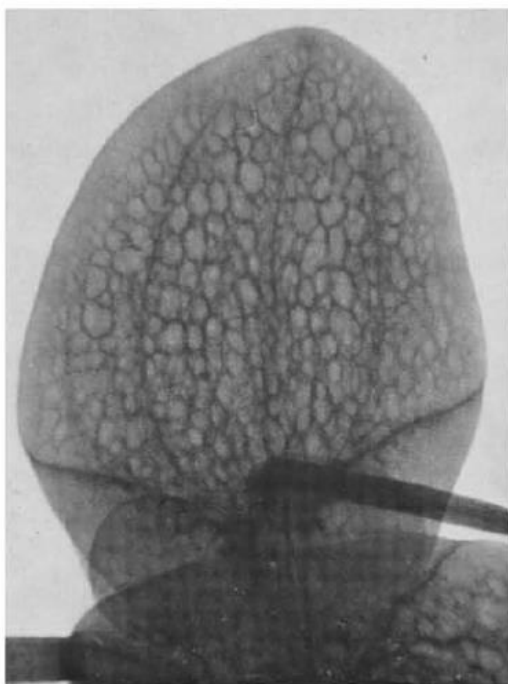


Σχέδια διαφόρων ειδών Lemnaceae(43)

Πρόκειται για μόνωικα, σπανίως δίοικα, μικρού εως μεσαίου μεγέθους υδρόβια φυτά, επιπλέοντα στην επιφάνεια του νερού ή πλέοντα ακριβώς κάτω από αυτή, με ένα μικρό μόνο μέρος του φύλλου εκτεθειμένο στον αέρα, ή εντελώς βυθισμένο με εξαίρεση το άνθος κατά την περίοδο άνθησης. Τα φύλλα είτε μονήρη είτε συνδεδεμένα σε μικρές ομάδες, συμμετρικά ή μη, επίπεδα ή διογκωμένα, με κυμαινόμενα σχήμα, νεφροειδές, κυκλικό ελλειπτικό, λογχοειδές, ευθύ, σφαιρικό, πράσινο με ή χωρίς κόκκινη ή καφέ χρωστική. Ρίζες πολλαπλές, μία, ή καμία. Με ένα ή δύο βλαστικές πτυχές. Όταν υπάρχει μία βλαστική πτυχή, υπάρχει μια ανθοδόχη όπου μέσα σε αυτή δημιουργείται ένα εκτεθειμένο άνθος. Όταν υπάρχουν δύο βλαστικές πτυχές, μία από αυτές παράγει άνθος περιτυλιγμένο από σέπαλα.(18)

Τα duckweed έχουν προσαρμοστεί σε ένα ευρύ φάσμα γεωγραφικών και κλιματικών ζωνών και έχουν κατανεμηθεί σχεδόν σε όλο τον κόσμο, με εξαίρεση τις περιοχές όπου η θερμοκρασία διατηρείται κάτω από τους 0°C για κάποιο διάστημα. Τα περισσότερα είδη μπορούν να εντοπιστούν σε μετριοπαθή κλίματα των τροπικών και εύκρατων ζωνών. Σε ερήμους και πολύ υγρές περιοχές, η παρουσία των duckweed είναι σπάνια. Για παράδειγμα, τα *Lemna ssp.*, σπανίως εμφανίζονται σε περιοχές με υψηλή ή πολύ χαμηλή βροχόπτωση και δεν βρίσκονται στην Γροιλανδία και τις Αλεούτιες νήσους. Αν και πολλά είδη μπορούν να επιζήσουν σε ακραίες θερμοκρασίες, γενικά μεγαλώνουν γρηγορότερα υπό θερμές συνθήκες με ηλιοφάνεια. Τα περισσότερα είδη παρουσιάζουν περισσότερη γονιμότητα στους τροπικούς. Πολλοί μικροκλιματικοί παράγοντες, όπως για παράδειγμα η ένταση του φωτός, αλατότητα, η διακύμανση στη θερμοκρασία, μπορούν να επηρεάσουν την διαμοίραση των ειδών Lemnaceae. Τα πτηνά και οι πλημύρες συχνά διασκορπίζουν τα duckweed σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. (11)

Τα duckweed αναπτύσσονται με ταχύς ρυθμούς μέχρι να δημιουργήσουν ένα στρώμα φυτών στην επιφάνεια. Όταν το στρώμα αυτό είναι πυκνό, οι συνθήκες στο νερό είναι ανοξικές με αποτέλεσμα να είναι δυσχερής η διαβίωση ψαριών και άλλων ζώων σε τέτοιο περιβάλλον. Επίσης, το στρώμα αυτό εμποδίζει το ηλιακό φως να εισέλθει στο νερό με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η ανάπτυξη χλωρίδας (19).



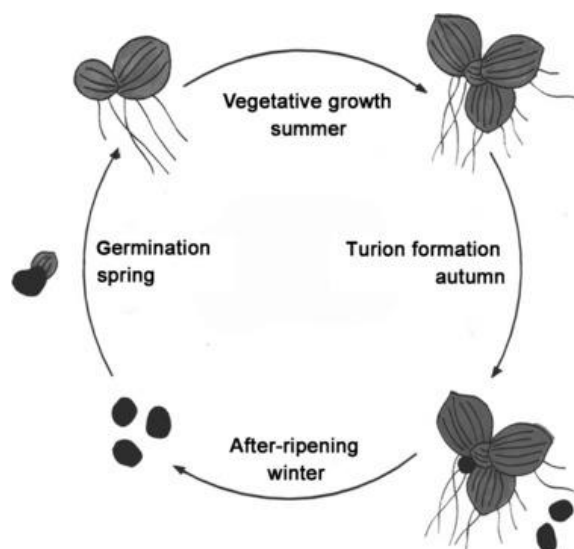
νεύρωση φύλλου *Lemna minor* (17)

### **Αναπαραγωγή**

Ένα φυτό duckweed αποτελείται από ένα φύλλο με μία ή περισσότερες ρίζες. Τα περισσότερα είδη duckweed πολλαπλασιάζονται κυρίως μέσω βλαστικού πολλαπλασιασμού με σχηματισμό των παραγόμενων φύλλων από δύο θυλάκια σε κάθε πλευρά του στενού μέρους του φύλλου. Τα νεοσχηματιζόμενα φύλλα παραμένουν συνδεδεμένα στο αρχικό φύλλο κατά τη διάρκεια της φάσης ανάπτυξης και γι'αυτό το φυτό εμφανίζεται να

αποτελείται από αρκετά φύλλα. Τα είδη του γένους *Spirodela* έχουν τα μεγαλύτερα φύλλα, τα οποία μπορεί να έχουν μέγεθος ακόμα και 20 χιλιοστών, ενώ τα είδη *Wolffia* έχουν διάμετρο 2 χιλιοστών ή και λιγότερο. Τα είδη *Lemna* έχουν μεσαίο μέγεθος, περίπου 6-8 χιλιοστά. Ένα συγκεκριμένο φύλλο μπορεί να παράγει μέχρι και 20 θυγατρικά φύλλα κατά τη διάρκεια της ζωής του, η οποία διαρκεί από 10 ημέρες έως αρκετές εβδομάδες. Το θυγατρικό φύλλο επαναλαμβάνει τον κύκλο του μητρικού φύλλου. Μερικά από τα είδη duckweed, ωστόσο, αναπαράγονται μέσω μονογενών και μόνοικων ανθών και σπόρων. Για παράδειγμα, το *L. raucicostata* ανθίζει και παράγει σπόρους. Ωστόσο, τα άνθη είναι πολύ μικρά και σπάνια σε πολλά είδη. Το ίδιο φυτό φέρει αρσενικά και θηλυκά άνθη. Η εξάνθηση αποτελείται γενικά από δύο αρσενικά και ένα θηλυκό άνθος, αλλά στα *Wolffia*, υπάρχει ένα αρσενικό και ένα θηλυκό. Τα λουλούδια είναι εκτεθειμένο ή περιβάλλεται από μια σπάθη. Το φρούτο είναι ένα θυλάκιο και οι σπόροι είναι λείοι ή με ραβδώσεις. Η βλαστική αναπαραγωγή είναι πολύ γρήγορη και συνήθως από τον σχηματισμό των μπουμπουκιών των νέων φύλλων από τα αναπαραγωγικά θυλάκια. (11)

Πολλά είδη duckweed επιβιώνουν σε χαμηλές θερμοκρασίες σχηματίζοντας ένα ειδικό αμυλώδες φύλλο (*Turion*). Σε κρύες συνθήκες, το φύλλο σχηματίζεται και βυθίζεται στον πυθμένα της λίμνης όπου παραμένει αδρανές μέχρι τη στιγμή που θα έρθει και πάλι σε επαφή με θερμό νερό, οπότε και θα συνεχιστεί η κανονική ανάπτυξη. Αρκετά είδη επιζούν σε χαμηλές θερμοκρασίες χωρίς να σχηματίζουν το αμυλώδες φύλλο. Κατά τη διάρκεια της χειμερινής εποχής, τα φύλλα μειώνονται σημαντικά αλλά παραμένουν στην επιφάνεια. Ενίοτε, αμυλώδη φύλλα θα σχηματίζονται αλλά τα φυτά θα συνεχίσουν να αναπαράγονται βλαστικά. Αυτά τα φυτά πιθανώς είναι πιθανώς τα πιο ωφέλημα σε ένα σύστημα αναπαραγωγής, καθώς πρακτικά εξασφαλίζουν τον εμπλουτισμό του συνόλου. Τέλος τα *L. gibba*, *L. valdiviana*, *L. minor*, *L. trisulca* και *L. minuscula* είναι πέντε είδη duckweed που συχνά εμφανίζουν ανάπτυξη σε κρύες συνθήκες. (11)



Κύκλος του duckweed *Spirodela polyrhiza*. Αν και το συγκεκριμένο φυτό ανήκει στα αγγειόσπερμα, η άνθηση δεν έχει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό του. Διαμορφώνουν έναν αμυλώδη σχηματισμό (*turion*) ο οποίος τους διασφαλίζει την επιβίωση κατά τους χειμερινούς μήνες ενώ βλαστάνουν και αναπτύσσονται όταν διαμορφωθούν οι κατάλληλες συνθήκες. (37)

#### 1.4.2 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ

Ένα φάσμα περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως η θερμοκρασία του νερού, η τιμή του pH και η συγκέντρωση των θρεπτικών συστατικών, ορίζουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των duckweed. Άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των πληθυσμών duckweed είναι η ύπαρξη τοξινών στο νερό, ο πληθυσμός και η υπερανάπτυξη της αποικίας και ο ανταγωνισμός με άλλα παρόντα φυτά για την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και φωτός. Ωστόσο, ο ρυθμός ανάπτυξης των duckweed ωφελείται από οργανικούς ρύπους καθώς και τα ανόργανα θρεπτικά συστατικά. Η επίδραση διαφόρων παραγόντων αναφέρεται παρακάτω. (11)

##### Θερμοκρασία

Η ανεκτικότητα στη θερμοκρασία καθώς και η ιδανική τιμή εξαρτώνται από το είδος του duckweed. Η ιδανικές τιμές για τη μέγιστη ανάπτυξη κυμαίνονται από 17,5 έως 30 °C για τα περισσότερα είδη. Παρόλο που κάποια είδη μπορούν να ανέχονται θερμοκρασίες σχεδόν ψύξης, ο ρυθμός ανάπτυξης ελαττώνεται σε χαμηλή θερμοκρασία. Κάτω από τους 17 °C κάποια duckweed εμφανίζουν ελάττωση του ρυθμού ανάπτυξης τους (38). Τα περισσότερα είδη φαίνονται να νεκρώνουν εφόσον η θερμοκρασία του νερού ανέβει πάνω από τους 35°C. Η επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη επηρεάζεται από την ένταση του φωτός. Για παράδειγμα, καθώς το φως αυξάνεται, ο ρυθμός ανάπτυξης αυξάνεται από τους 10 έως τους 30°C. (11)

##### pH

Τα duckweed γενικά θεωρείται πως έχουν ένα ευρύ φάσμα ανεκτικότητας όσον αφορά την τιμή pH του περιβάλλοντός στο οποίο αναπτύσσονται. Μπορούν να ανταπεξέλθουν σε τιμές pH από 5 έως 9, αν και κάποιοι υποστηρίζουν πως αυτό το φάσμα διευρύνεται από το 3 έως το 10. Ωστόσο, η ανεκτικότητα στο pH περιορίζεται από τις διαφορές των ειδών. Ο Stephenson παρατήρησε ότι τα duckweed παρουσιάζουν τη μέγιστη ανάπτυξη σε μέσο με pH 5-7. Γενικά, τα duckweed αναπτύσσονται καλύτερα σε pH από 6,5 έως 7,5. Ο διπλασιασμός της βιομάζας από 2 έως 4 ημέρες έχει πραγματοποιηθεί σε επίπεδα pH 7 έως 8 (38). Η αμμωνία (NH<sub>4</sub>) αποτελεί την συνήθη προτεινόμενη πηγή αζώτου για τα duckweed. Το αλκαλικό pH μεταφέρει την ισορροπία αμμωνίου (NH<sub>4</sub>)-αμμωνίας(NH<sub>3</sub>) προς τη μη ιοντισμένη κατάσταση έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση της αμμωνίας, η οποία είναι τοξική για τα duckweed σε υψηλές συγκεντρώσεις (100 mg NH<sub>3</sub>/L). (11)

Οι Islam και Paul (1977) παρατήρησαν ότι το *W. Arrhizal* αναπτύσσεται σε φάσμα pH από 5 έως 10, όμως το βέλτιστο pH παρατηρήθηκε στις τιμές 7-8. Στο Μπανγκλαντες, το *S. polyrrhiza* έχει αναφερθεί πως αναπτύσσεται ταχύτερα σε τιμές pH από 6,5-7,5. Το φάσμα του pH για τη βέλτιστη ανάπτυξη του *S. polyrrhiza* αναφέρθηκε στην Ινδία πως ήταν 6,8-8,5. Οι Khondker, Islam και Makhnun (1994) προσδιόρισαν το εύρος του pH από 6,9 έως 7,8 πως είναι κατάλληλο για την ανάπτυξη του *L. perpusilla*. Παρομοίως, οι Van der Does και Klink (1991) παρατήρησαν πως σε τιμή pH 7,36 αναπτύσσεται στην Ολλανδία το είδος *L. perpusilla*. Μια σύνοψη των τιμών pH ανάλογα με την επίδραση τους στα duckweed παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Εύρος τιμών pH για διάφορα είδη Lemnaceae			
Είδος duckweed	Min	Max	Εύρος βέλτιστης ανάπτυξης
L. minor	5	9	6.5 - 7.5
L. gibba	7.4	9.8	8.2
L. perpusilla	3.2		6.9 - 7.8
S. polyrrhiza	3.7		6.5 - 8.5
S. punctata			7
W. arrhiza	3.5	10	5 - 7.8
W. australiana			5
W. columbiana			6.4 - 7
L. turionifera	7.1	9.8	7.7
L. obscura	6.6	7.9	7.2

(41,11,17)

### Αγωγιμότητα

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα φαίνεται πως επηρεάζει τον ρυθμό ανάπτυξης των διαφόρων ειδών duckweed. Για παράδειγμα, φαίνεται πως τα είδη L. gibba και L. minor αναπτύσσονται σε στάσιμα νερά με αγωγιμότητα που κυμαίνεται στα 400 έως 500  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Για τα είδη L. perpusilla και S. polyrrhiza, η βέλτιστη αγωγιμότητα κυμαίνεται από 650 έως 1000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Έχει παρατηρηθεί άλλωστε η εξαφάνιση του είδους S. polyrrhiza στα τέλη Μαΐου από λίμνες στις οποίες υπήρχε απότομη πτώση της τιμής της αγωγιμότητας. Γενικά έχει παρατηρηθεί ότι η ανάπτυξη Lemnaceae μπορεί να επηρεάσει την αγωγιμότητα του μέσου και το pH (19).

Παρακάτω παρατίθεται πίνακας με τις βέλτιστες τιμές αγωγιμότητας για διάφορα είδη της οικογένειας Lemnaceae.

Εύρος τιμών αγωγιμότητας - καλλιέργεια duckweed	
Είδος duckweed	αγωγιμότητα ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )
L. gibba	400 – 500
L. minor	400 – 500
L. perpusilla	200 – 1090
S. polyrrhiza	650 – 1000

(11)

### Άζωτο

Το άζωτο αποτελεί το πιο σημαντικό στοιχείο για την ανάπτυξη ενός φυτού καθώς οι πρωτεΐνες, τα αμινοξέα, τα νουκλεϊκά οξέα και άλλα σημαντικά βιομόρια περιέχουν άζωτο. Τα φυτά απορροφούν άζωτο σε μορφή αμμωνιακών, νιτρικών και νιτρικών ιόντων (42). Το

περιεχόμενο ακατέργαστης πρωτεΐνης των duckweed φαίνεται να αυξάνεται μέχρι μια ανώτατη τιμή περίπου 40% (επί ξηρής βάσης) με τιμή συγκέντρωσης της αμμωνίας στο διάλυμα από 7 έως 12 mg N/L. Σύμφωνα με μελέτες, το TKN (άζωτο κατά Kjeldahl) του νερού δεν πρέπει να υπολείπεται της συγκέντρωσης 20 έως 30 mg/l για την διατήρηση της βέλτιστης παραγωγής και του υψηλού ποσοστού περιεχόμενης πρωτεΐνης.

Τα duckweed απορροφούν άζωτο κυρίως με τη μορφή αμμωνίας ( $NH_4$ ), ακόμα και με την ύπαρξη νιτρικών ( $NO_3$ ) σε υψηλή συγκέντρωση. Έχει αποδειχθεί ότι τα επιδεικνύουν υψηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης όταν η πηγή αζώτου βρίσκεται σε μορφή αμμωνίας. Σε υδρόβια συστήματα πλούσια σε οργανικά συστατικά, το άζωτο τείνει να συγκεντρώνεται στη μορφή αμμωνιακών και όχι τόσο σε μορφή νιτρικών ιόντων όταν το pH δεν ξεπερνά την τιμή 9. Σε λίμνες όπου απορρίπτονται οργανικά ζωικά κατάλοιπα, το pH σπάνια ξεπερνά την τιμή 8, ιδίως όταν υπάρχει κάλυψη της επιφάνειας του νερού, με συνέπεια να εμποδίζεται η ανάπτυξη του φυτοπλαγκτόν. Τα φυτά της οικογένειας Lemnaceae είναι γενικά ανεκτικά σε υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών ιόντων (σε μορφή  $NH_4$ ) άλλα όχι τόσο σε μορφή  $NH_3$ . Η ουρία είναι ένα είδος κατάλληλης λίπανσης καθώς μετατρέπεται ταχύτατα σε αμμωνία υπό συνθήκες συνθήκες. Σύμφωνα με εργαστηριακές έρευνες, τα duckweed μπορούν να ανεχτούν στοιχειακό άζωτο συγκέντρωσης έως 375 mg/l (11).

## Φώσφορος

Μετά το άζωτο, ο φώσφορος είναι το δεύτερο σημαντικότερο στοιχείο. Αποτελεί τμήμα πολλών φωσφορυλιωμένων ενώσεων που εμπλέκονται σε σημαντικές μεταβολικές διαδικασίες (42). Είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη των φυτών και είναι ένας σημαντικός περιοριστικός παράγοντας ως θρεπτικό συστατικό, αν και η συγκέντρωση που απαιτείται για την βέλτιστη ανάπτυξη είναι γενικά χαμηλή. Η ταχεία ανάπτυξη των duckweed σε ύδατα εμπλουτισμένα σε θρεπτικά συστατικά είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος για την ελάττωση της συγκέντρωσης του φωσφόρου και του καλίου. Σε συγκεντρώσεις φωσφορικών ιόντων  $PO_4$  από 4 έως 8 mg/l θεωρείται ότι η πρόσληψη φωσφόρου από τα duckweed είναι κορεσμένη. Η ανάπτυξη τους δεν επηρεάζεται έντονα από τη συγκέντρωση του καλίου ή του φωσφόρου όταν τα φυτά φτάσουν σε ένα επαρκές επίπεδο, ενώ ρυθμός ανάπτυξης τους θεωρείται εύλογος σε συγκεντρώσεις φωσφόρου από 6 έως 154 mg/l. (11) Η απουσία της απαιτούμενης ποσότητας φωσφόρου κατά την ανάπτυξη των φυτών μπορεί να προκαλέσει μεταβολή της μορφής της ρίζας (για την αποτελεσματικότερη απορρόφηση συστατικών), συνένωση των ριζών με μυκόρριζα (είδος μύκητα που καθιστά το φυτό πιο ανθεκτικό), και αύξηση των τριχιδίων στη ρίζα. (42) Η διαθεσιμότητα του φωσφόρου στα φυτά ελέγχεται από φυσικές και χημικές ισορροπίες και βιολογικές διεργασίες οι οποίες περιλαμβάνουν την ρόφηση/εκρόφηση, την κατακρήμνιση/διάλυση καθώς και την ορυκτοποίηση. (61) Τα φυτά μπορούν να απορροφήσουν τον φώσφορο, όταν αυτός βρίσκεται σε μορφή ορθοφωσφορικών ιόντων. Σε σειρά πειραμάτων καλλιέργειας υδρόβιων φυτών, παρατηρήθηκε ότι η διαθεσιμότητα του φωσφόρου μειώθηκε κατά την αύξηση του pH του μέσου ανάπτυξης. Αυτό φαίνεται να συμβαίνει λόγω της πρόσδεσης του φωσφόρου με κατιόντα στο διάλυμα, δημιουργώντας δυσδιάλυτα μόρια. Για την καλλιέργεια υδρόβιων και υδροχαρών φυτών η πρόσληψη φωσφόρου βελτιστοποιείται όταν το pH κυμαίνεται μεταξύ 5.5 και 7.2. (62)

## Κάλιο

Το κάλιο είναι απαραίτητο για την εκτέλεση διαδικασιών όπως η κυτταρική έκταση, η κίνηση των φύλλων, το άνοιγμα των στομάτων, η μεταβολική ομοιοστασία και άλλα. Η έλλειψη καλίου εμφανίζεται πρώτα στα γηραιότερα φύλλα. (42) Ταχέως αναπτυσσόμενα duckweed μπορούν να αντήσουν μεγάλες ποσότητες καλίου, όμως η ανάγκη απαιτήσεις των φυτών της οικογένειας Lemnaceae είναι χαμηλές όταν ικανοποιούνται οι απαιτήσεις στα υπόλοιπα θρεπτικά συστατικά. (43)

## Λόγος αζώτου-φωσφόρου (Αναλογία Redfield)

Εμπειρικά, η αναλογία αζώτου – φωσφόρου αποτελεί έναν δείκτη σχετικά με τους παράγοντες περιορισμού κατά την ανάπτυξη των φυτών. Σύμφωνα με αναφορές επί της λίπανσης υγρότοπων, προέκυψαν οι παρακάτω συσχετισμοί ανάμεσα σε άζωτο και φώσφορο. Για αναλογία αζώτου προς φώσφορο μικρότερη του 14 (N:P <14) το άζωτο αποτελούσε τον μοναδικό παράγοντα περιορισμού ανάπτυξης των φυτών. Για αναλογία μεγαλύτερη του 16, ως παράγοντας περιορισμού λειτουργούσε το φώσφορο. Στην περίπτωση αναλογίας περίπου 15, και τα δύο θρεπτικά συστατικά είχαν ρόλο παράγοντα περιορισμού. (52)

Συνηθίζεται να χαρακτηρίζονται οι λίμνες ανάλογα με το λόγο N:P ολιγοτροφικές (N:P >16) και ευτροφικές (N:P <16) (23)

Σε άλλη αναφορά, σχετικά με την ανάπτυξη του φυτού *Ficus insipida*, η βέλτιστη ανάπτυξη της ξηρής μάζας του φυτού επετεύχθη με τιμή της αναλογίας αζώτου φωσφόρου ίση με 11. (53)

Παράγοντες περιορισμού μπορεί να αποτελέσουν και το ποσοστό σιδήρου, η ένταση του φωτός ενώ και η αναλογία άνθρακα – αζώτου – φωσφόρου έχει παρατηρηθεί πως καθορίζει την ανάπτυξη των φυτών. (39)

Φαίνεται πως ο λόγος αζώτου προς φώσφορο έχει σημαντική επίπτωση στην ανάπτυξη ενός φυτού ενώ το κάθε φυτό έχει συγκεκριμένη βέλτιστη αναλογία ανάπτυξης.

Έχει παρατηρηθεί η ανάπτυξη αζωτοποιητικών μικροοργανισμών (N-fixing bacteria) σε περιβάλλοντα στα οποία ο λόγος αζώτου – φωσφόρου είναι χαμηλότερος του 16. (42)

## Μαγνήσιο (Mg)

Το μαγνήσιο ως συστατικό της χλωροφύλλης, είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη των φυτών. Επίσης έχει ενεργοποιεί πολλά ένζυμα υπεύθυνα για διαδικασίες όπως η αναπνοή, η φωτοσύνθεση και η βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων (DNA, RNA). (42)

Το μαγνήσιο παίζει σημαντικό ρόλο στην μεταφορά του φωσφόρου στο εσωτερικό του φυτού. Έχει παρατηρηθεί αύξηση της παραγωγής φυτών με την προσθήκη μαγνησίου ενώ έχει αναφερθεί και αύξηση της απορρόφησης φωσφόρου. (44)

## Σίδηρος (Fe)

Ο σίδηρος, σε αντίθεση με το μαγνήσιο, δεν είναι συστατικό της χλωροφύλλης. Είναι όμως απαραίτητο για τη δράση των ενζύμων τα οποία καταλύουν τη σύνθεσή τους. Είναι επίσης συστατικό βιομορίων, όπως η φερρεδοξίνη και τα κυτοχρώματα, και λειτουργούν ως μεταφορείς ηλεκτρονίων σε σημαντικές οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που συμβαίνουν στα φυτά (φωτοσύνθεση, αναπνοή, κ.α.). (42)

Σε σειρά πειραμάτων ανάπτυξης καλλιεργειών duckweed, ο εμπλουτισμός του μέσου ανάπτυξης με σίδηρο είχε σαν αποτέλεσμα την σημαντική βελτίωση του βαθμού μικροβιακής διαδοχής. Κατά τη διαδικασία της μικροβιακής διαδοχής, οι μικροβιακές αποικίες που σχηματίζονται και αλληλεπιδρούν με το φυτό και το περιβάλλον, προκαλούν αλλαγές οι οποίες επηρεάζουν την πορεία ανάπτυξης του μικροβιακού πληθυσμού καθαυτού. (57)

Μεγάλη ποσότητα σιδήρου προκαλεί καταστροφή στη δομή των μεμβρανών, στο DNA και τις πρωτεΐνες.

Το *L. minor* φαίνεται πως έχει την ικανότητα να απορροφά βαρέα μέταλλα (Fe, Cu, Zn) από υδάτινα οικοσυστήματα με γραμμική απόδοση σε σχέση με την περίοδο επώασης τους σε ποσοστό που μπορεί να ξεπεράσει ακόμα και το 90% της αρχικής ποσότητας τους. (42)

Κατά την παραγωγή μεθανίου σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου, παρατηρήθηκε πως η προσθήκη duckweed εμπλουτισμένων με σίδηρο προκάλεσε επιτάχυνση της παραγωγής μεθανίου. (57)

## Θείο (S)

Το θείο είναι απαραίτητο συστατικό για την ανάπτυξη όλων των οργανισμών. Ο σημαντικότερος ρόλος του είναι στη σύνθεση αμινοξέων (κυστεΐνη, μεθειονίνη). Είναι επίσης παρόν σε πολλούς ενζυμικούς συμπαραγόντες (θειαμίνη, βιοτίνη, κ.α.). Στα φυτά, εκτός από τη συμμετοχή του σε πρωτεΐνες, αποτελεί και μέσο αντίδρασης σε στρεσογόνους παράγοντες. Οι ιδιότητα χηλίωσης μετάλλων του θείου περιορίζουν την επίδραση των βαρέων μετάλλων ενώ λειτουργεί και ως άμυνα εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών.

Τα ανόργανα θειικά άλατα αποτελούν λιγότερο από το 5% του ολικού θείου που υπάρχει στο έδαφος, ενώ το μεγαλύτερο μέρος του βρίσκεται σε οργανικά μόρια τα οποία δεν είναι άμεσα διαθέσιμα για αφομοίωση από τα φυτά. Η μετατροπή τους σε ανόργανη μορφή καταλύεται από μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο έδαφος.

Ο περιορισμός θειικών αλάτων προκαλεί χλώρωση των φύλλων, μείωση της απόδοσης της παραγωγής και χαμηλής ποιότητας προϊόντα. (58)

Τα φυτά έχουν ρόλο κλειδί στον κύκλο του θείου καθώς αποτελούν πρωτογενείς παραγωγούς οργανικών ενώσεων που περιέχουν θείο. Η διαδικασία της φωτοσύνθεσης συνδυάζεται με την αναγωγή θειικών αλάτων ενώ αφομοιώνονται σε κυστεΐνη και μεταβολίζονται περαιτέρω σε μεθειονίνη, γλουταθειόνη και άλλες ενώσεις. Τα φυτά έχουν την ικανότητα να αφομοιώνουν ανόργανο θειικό άλας το οποίο ανάγεται σε σουλφίδιο και στη συνέχεια αφομοιώνεται σε κυστεΐνη. (59)



## Παραγωγή

Ο ρυθμός ανάπτυξης των duckweed έχει ως κύριες παραμέτρους την διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών στο σύστημα, τη θερμοκρασία, την ένταση του φωτός και το βαθμό συνωστισμού των φυτών. Ο μεγαλύτερος βαθμός ανάπτυξης των Lemnaceae κάτω από τις βέλτιστες εργαστηριακές συνθήκες έχει καταγραφεί σε 0,66 ανάπτυξη ανά ημέρα, το οποίο αντιστοιχεί σε διπλασιασμό ενός πληθυσμού φυτών μέσα σε περίπου 16 ώρες. Τα duckweed γενικά μπορούν να διπλασιάσουν τη μάζα τους σε 16 ώρες ως 2 ημέρες όταν αναπτύσσονται όταν η συγκέντρωση των διαθέσιμων θρεπτικών, η ένταση του ηλιακού φωτός και η θερμοκρασία του νερού βρίσκονται εντός των ευνοϊκών τιμών. Το κάθε φυτό μπορεί να παράγει από 10 μέχρι 20 νέα φυτά κατά τη διάρκεια του κύκλου του, το οποίο διαρκεί από 10 ημέρες έως μερικές εβδομάδες. Τα παραγόμενα φυτά επαναλαμβάνουν ένα νέο κύκλο παρόμοιο με αυτό του μητρικού φυτού. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα μια εκθετική ανάπτυξη η οποία μπορεί να διακοπεί μόνο όταν προκληθεί συνωστισμός των φυτών ή όταν το σύστημα εξαντλήσει τα θρεπτικά συστατικά. (11)

Όσον αφορά την παραγόμενη ξηρή μάζα κατά την ανάπτυξη του φυτού, έχει παρατηρηθεί διαφοροποίηση μεταξύ ανάπτυξης σε φυσικό περιβάλλον και τεχνητές δεξαμενές ανάπτυξης. Συγκεκριμένα, στο φυσικό περιβάλλον, ο ρυθμός παραγωγής ξηρής μάζας είναι σαφώς μικρότερος (3,14 – 3,54 g/m<sup>2</sup>/day) σε σχέση με τον αντίστοιχο ρυθμό των δεξαμενών επεξεργασίας (7,1 g/m<sup>2</sup>/day). Όταν οι φυσικές λίμνες είναι εμπλουτισμένες με θρεπτικά συστατικά, φαίνεται ο ρυθμός παραγωγής να προσεγγίζουν το ρυθμό εξωτερικών δεξαμενών εμπλουτισμένων με λίπασμα (κοπριά βοοειδών) (15 g/m<sup>2</sup>/day). Γενικά, κάτω από διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες, ο ρυθμός παραγωγής μάζας των duckweed κυμαίνεται από 9 έως 38 τόνους ξηρής μάζας ανά εκτάριο το χρόνο. Αυτή η ευρεία διαφοροποίηση παραγωγής μπορεί να οφείλεται στις διαφορές ανάμεσα στα είδη της οικογένειας Lemnaceae, σε κλιματικούς παράγοντες, την διαφοροποίηση και παροχή θρεπτικών συστατικών αλλά και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. (11)

## Καλλιέργεια duckweed

Η καλλιέργεια των duckweed είναι μια συνεχής διαδικασία που απαιτεί εντατική προσοχή και διαχείριση ώστε να επιτευχθεί η βέλτιστη παραγωγή. Καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου είναι απαραίτητη η καθημερινή παρακολούθηση της ανάπτυξης και η συχνή συγκομιδή μέρους των φυτών. Τα duckweed μπορούν να αναπτυχθούν σε νερό οποιουδήποτε βάθους, ακόμη και ενός εκατοστού. Γενικά προτιμάται να κυμαίνεται από 20 έως 50 εκατοστά ώστε να μην εμποδίζεται η ανάπτυξη του φυτού αλλά και η συγκομιδή του. Τα duckweed τείνουν να συσσωρεύονται σε περιπτώσεις ανατάραξης του νερού, όπως είναι ο σχηματισμός κυμάτων ή ο δυνατός άνεμος. Κάτι τέτοιο έχει ως αποτέλεσμα, το ηλιακό φως να περνά στη στήλη του νερού και να προκαλεί ανάπτυξη του φυτοπλαγκτόν και διαφόρων μορφών άλγης, ενώ ταυτόχρονα, τα παγιδευμένα σε χαμηλότερα στρώματα duckweed δεν εκτίθενται στο φως με αποτέλεσμα να νεκρώνουν. Όταν τα φυτά δεν έρχονται σε επαφή με νερό, επίσης αφυδατώνονται και νεκρώνουν. Για την αποφυγή των παραπάνω περιπτώσεων προτιμώνται δεξαμενές μικρού βάθους με σχήμα επίμηκες και κάθετα τοιχώματα. Η απόσταση της επιφάνειας του νερού πρέπει να απέχει από το υψηλότερο σημείο του τείχους της δεξαμενής, ώστε να μην υπάρχει κίνδυνος υπερχειλίσης σε περίπτωση βροχής. Ο

διαχωρισμός των δεξαμενών σε μικρότερα τμήματα με τη χρήση διαχωριστικών από bamboo μπορεί επίσης να περιορίσει την επιρροή από τον άνεμο. Το σύστημα τροφοδοσίας για των δεξαμενών είναι προτιμότερο να αποτελείται από αυλάκια καθώς οι σωλήνες τείνουν να φράσσονται. Οι τιμές της θερμοκρασίας του νερού, του pH και της συγκέντρωσης των θρεπτικών πρέπει να ελέγχονται και να ρυθμίζονται καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας ώστε ο ρυθμός ανάπτυξης να παραμένει σε ένα εύλογο επίπεδο. (11)

Η μεταφορά φυτών *Lemna minor* L. σε συνθήκες δυσμενούς ανάπτυξης ή στρεσογόνο περιβάλλον έχει παρατηρηθεί πως προκαλεί μείωση του ρυθμού ανάπτυξης αλλά και του ποσοστού πρωτεΐνης ανά φυτό. (60) Για το λόγο αυτό είναι σημαντική η κατασκευή περιβάλλοντος ομαλής μετάβασης στις κατάλληλες συνθήκες ανάπτυξης.

Για την λίπανση ενός συστήματος ανάπτυξης duckweed, έχει παρατηρηθεί πως τα βιοδιασπώμενα οργανικά απόβλητα όπως κοπριά ζώων, οργανικά οικιακά απορρίμματα, απορρίμματα σφαγείων, κλπ. Συνήθως, η πηγή αζώτου αποτελεί περιοριστικό παράγοντα ενός συστήματος ανάπτυξης duckweed λόγω της υψηλής απαίτησης των φυτών. Η ουρία αποτελεί ένα κατάλληλο λίπασμα, καθώς περιέχει άζωτο σε μεγάλο ποσοστό.

Τα φυτά duckweed απορροφούν θρεπτικά συστατικά από όλη την επιφάνεια που έρχεται σε επαφή με το νερό, από τις ρίζες αλλά και την κατώτερη επιφάνεια των φύλλων. Αυτό υποδεικνύεται μέσα από πειράματα όπου σε ένα μέρος φυτών, το κάτω μέρος του φύλλου επικαλύφθηκε με λανολίνη, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η επαφή του με το νερό. Σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου, τα επικαλυμμένα με λανολίνη φυτά αναπτύσσονταν αρκετά πιο αργά(10).

Σπορά – ποσοστό φυτών για την εκκίνηση της καλλιέργειας

Είναι σημαντικό η σπορά να ξεκινά με κάλυψη μεγάλου ποσοστού της επιφάνειας του νερού ώστε να εμποδιστεί η ανάπτυξη άλγης. Συνιστάται αρχική χρήση 60 kg/100 m<sup>2</sup> για τα είδη που ανήκουν στα γένη *Spirodela* και *Wolffia*, ενώ για τα είδη *Lemna* συνιστάται χρήση αρχικής ποσότητας ίση με 40 kg/100m<sup>2</sup>. Με αυτές τις αρχικές ποσότητες πλήρης προβλέπεται κάλυψη της επιφάνειας μετά από 3 ημέρες. (11)

Η παραγωγικότητα των duckweed αυξάνεται καθώς αυξάνεται και η πυκνότητα των φυτών, μέχρι ένα ορισμένο όριο το οποίο σηματοδοτεί και την παύση της παραγωγής, διατηρώντας την πυκνότητα σταθερή σε αυτό το σημείο. Για το λόγο αυτό είναι σημαντική η διατήρηση της πυκνότητας σε επίπεδα που αποδίδουν καλή παραγωγικότητα σε συνδυασμό με την κάλυψη της επιφάνειας του συστήματος ώστε να μην εισχωρεί ηλιακό φως στη στήλη του νερού, με αποτέλεσμα την αποτροπή ανάπτυξης άλγης και φυτοπλαγκτόν. Το φυτοπλαγκτόν προκαλεί ασφυξία στις ρίζες των duckweed, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο ρυθμός ανάπτυξης τους και τελικά τα φυτά να πεθαίνουν. Η ανάπτυξη της άλγης, από την άλλη, απορροφά ταχύτατα θρεπτικά συστατικά από το νερό κάτι που αποτελεί παράγοντα επιβράδυνσης της ανάπτυξης των duckweed. Προτείνεται η απομάκρυνση περίπου του 25% της ποσότητας duckweed κάθε φορά που η επιφάνεια καλύπτεται (περίπου κάθε 1-3 ημέρες). (11)

## Χημική σύνθεση

Κάθε φυτό duckweed απορροφά τα θρεπτικά συστατικά δια μέσω των ριζών και των κατώτερων επιφανειών των φύλλων, αφομοιώνοντας μόρια, όπως υδατάνθρακες και αμινοξέα. Ολόκληρο το φυτό αποτελείται από μεταβολικά ενεργούς ιστούς. Το φυτό κατά τη φωτοσύνθεση συνθέτει πρωτεΐνη και νουκλεϊκά οξέα καθιστώντας υψηλή τη διατροφική του αξία. Το θρεπτικό περιεχόμενο των duckweed φαίνεται πως βασίζεται στην συγκέντρωση ανόργανων συστατικών στο μέσο όπου αναπτύσσονται καθώς η καλλιέργεια σε νερό με χαμηλή συγκέντρωση θρεπτικών συστατικών καταλήγει σε σχηματισμό φυτών με χαμηλό θρεπτικό περιεχόμενο και υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες (11-17%) εν αντιθέσει με την καλλιέργεια σε νερό με υψηλή συγκέντρωση σε θρεπτικά συστατικά (7-10%). Το γενικά χαμηλό ποσοστό περιεχόμενων ινών στα duckweed οφείλεται στο γεγονός ότι αντίθετα με άλλα φυτά, δεν χρειάζεται να υποστηρίξει κάποια υψηλή κατασκευή κατά την ανάπτυξή του. Το ποσοστό περιεχόμενης στάχτης είναι επίσης χαμηλό (12-18%). (11)

Τα duckweed έχουν την τάση να συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες ανόργανων συστατικών στους ιστούς τους. Γενικά σε λύματα με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις θρεπτικών συστατικών αναπτύσσονται φυτά με μεγαλύτερο ποσοστό συστατικών στους ιστούς, έως ένα ανώτατο ποσοστό που δεν έχει διευκρινιστεί. Έχει παρατηρηθεί όμως πως για φυτά που περιέχουν επίπεδα πρωτεΐνης πάνω από 30%, απαιτείται συγκέντρωση αζώτου (κατά Kjeldahl) 20-30 mg/l, και ανάλογα με την διαθεσιμότητα αζώτου, το ποσοστό πρωτεΐνης στους ιστούς κυμαίνεται από 7 έως 45% ανά ξηρή μάζα. Το ποσοστό υγρασίας που περιέχουν κυμαίνεται από 90 έως 95% και δεν φαίνεται να επηρεάζεται από το μέσο στο οποίο αναπτύσσονται. Το ποσοστό αμύλου μπορεί να ανέλθει και πάνω από 40%, κάτι που τα καθιστά κατάλληλα για παραγωγή βιο αιθανόλης(21). Τα λιπίδια καταλαμβάνουν περίπου 1,8-7% και επίσης επηρεάζονται από τα ποσοστά θρεπτικών συστατικών στο μέσο. Σε αντίθεση με το ποσοστό στάχτης το οποίο φαίνεται να παραμένει ανεπηρέαστο από την περιεκτικότητα του μέσου. Η θρεπτική αξία των duckweed μπορεί να συγκριθεί με αυτή του φυτού άλφα-άλφα όσον αφορά τα ποσοστά περιεχόμενης λυσίνης και αργινίνης, δύο αμινοξέων που καθορίζουν την ποιότητα των ζωοτροφών. Είναι επίσης πλούσια σε λευκίνη, θρεονίνη, βαλίνη, ισολευκίνη και φαινυλαλανίνη ενώ έχουν μικρή περιεκτικότητα σε μεθειονίνη και τυροσίνη. Οι καλλιέργειές duckweed περιέχουν υψηλά ποσοστά ιχνοστοιχείων και χρωστικών. Ιδιαίτερα υψηλά είναι τα ποσοστά της β-καροτίνης και ξανθοφύλλης. Το ασβέστιο αποθηκεύεται στα κενοτόπια ως κρύσταλλοι οξαλικού ασβεστίου το οποίο σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να αποβεί τοξικό. (11)

### 1.4.3 Εφαρμογές

#### Επεξεργασία λυμάτων με duckweed

Στη φύση τα φυτά της οικογένειας Lemnaceae δρουν σαν βιοφίλτρα απορρόφησης φωσφόρου και αζώτου. Σε λίμνες που επιδρούν duckweed, τα επίπεδα αζώτου και φωσφόρου ελαττώνονται σε ανεκτά περιβαλλοντικά επίπεδα. Επίσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως μέσο απομάκρυνσης μολυσματικών ουσιών από λύματα. Η ιδιότητα τους αυτή βρίσκει εφαρμογή σε πολλά συστήματα διαχείρισης λυμάτων, όπως σε καθαρισμό οικιακών λυμάτων με απόδοση απομάκρυνσης του αζώτου κατά kjeldahl (σε μορφή αμμωνίου) έως και 74% και κατά 77% απομάκρυνση ολικού φωσφόρου (15). Η επεξεργασία οικιακών λυμάτων σε λίμνες με duckweed είναι πολύ αποδοτικές σε μικρές αστικές περιοχές

και συνίστανται λόγω και χαμηλού κόστους (16). Επίσης χρησιμοποιούνται στη δευτεροβάθμια επεξεργασία υγρών αποβλήτων, σε λίμνες σταθεροποίησης αποβλήτων και συστήματα αναπαραγωγής ψαριών. Η κεντρική ιδέα αυτού του είδους επεξεργασίας αποβλήτων είναι η καλλιέργεια duckweed χρησιμοποιώντας το προς κατεργασία απόβλητο. Τα συγκεκριμένα φυτά έχουν μεγάλη ικανότητα απορρόφησης ανόργανων συστατικών, υψηλή ανεκτικότητα σε οργανικό φορτίο αλλά και μεγάλες συγκεντρώσεις μικροθρεπτικών συστατικών. Εφόσον απορροφήσουν μεγάλο ποσοστό των προς απομάκρυνση συστατικών στα λύματα, στη συνέχεια, τα συστατικά αυτά απομακρύνονται δια παντός από το σύστημα, απομακρύνοντας μέρος των φυτών (συγκομιδή). Εκτός από τα συστατικά που απορροφούν, κατά την ανάπτυξη τους τα duckweed, λόγω της κάλυψης της επιφάνειας του συστήματος, προκαλούν επίσης και μείωση του BOD και των αιωρούμενων στερεών. Έχει αναφερθεί επίσης πως σε σχέση με άλλα υδρόβια φυτά, η οικογένεια των Lemnaceae έχει την ικανότητα να αφομοιώνει τις μεγαλύτερες ποσότητες των μακροστοιχείων N, P, K, Ca και Mg. Εκτός από τον καθαρισμό των λυμάτων, το γεγονός ότι η συγκεκριμένη διαδικασία παράγει και ένα παραπροϊόν με πλούσια σε πρωτεΐνη βιομάζα την καθιστά συμφέρουσα σε σχέση με άλλες. (11)

<b>Ξηρό βάρος duckweed από καθημερινή συγκομιδή καλλιέργειας σε επιφάνεια 25 τα.μ. με λύματα βοοειδών ως θρεπτικό μέσο</b>			
<b>Διάρκεια</b>	<b>Βάρος duckweed (kg/τ.μ.)</b>	<b>Ολικό άζωτο (Kjeldahl) (g/τ.μ.)</b>	<b>Φώσφορος (g/τ.μ.)</b>
Δεκέμβρης - Φλεβάρης	0,195	11,5	2,9
Μάρτιος - Μάιος	0,576	34,2	8,5
Ιούνιος - Αύγουστος	1,02	60,2	15,1
Σεπτέμβρης – Νοέμβρης	0,54	31,9	8
<b>Σύνολο (kg/ha)</b>	<b>23210</b>	<b>1378</b>	<b>345</b>

(11)

Ανάλογα με τη σύσταση των λυμάτων, η καλλιέργεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ζωοτροφή, συμπλήρωμα διατροφής με υψηλής περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και ανόργανα συστατικά, ή ως λίπασμα. Λόγω της ιδιότητας των φυτών να απορροφούν τοξίνες, βαρέα μέταλλα και εντομοκτόνα, είναι σημαντικό να εξετάζεται η τοξικότητα της εκάστοτε καλλιέργειας. Λόγω της ικανότητάς τους να αυξάνουν το ποσοστό αμύλου στους ιστούς τους (>40%) όταν καλλιεργούνται σε μέσα πτωχά σε θρεπτικά συστατικά, τα φυτά είναι κατάλληλα και για παραγωγή βιοαιθανόλης. Επίσης, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε φλαβονοειδή, χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή ιατρική (21).

### **Χρήση ως τροφή**

Λόγω της θρεπτικής αξίας των duckweed, έχει μελετηθεί αρκετά η δυνατότητα χρήσης του ως ζωοτροφή. Χρησιμοποιούνται αρκετά συχνά ως μέρος της διατροφής πτηνών (πάπιες)

σε ιχθυοκαλλιέργειες, στη αρχική του ακατέργαστη μορφή αλλά και ως συστατικό σε άλλη μορφή τροφής (pellet).

Έχουν διεκπεραιωθεί εργαστηριακές μελέτες όσον αφορά τη χρήση των duckweed ως τροφή σε ιχθυοκαλλιέργειες για διάφορα είδη ψαριών όπως διάφορα είδη κυπρίνων, ψάρια βυθού και κιχλίδες. Η διατροφή με duckweed φαίνεται να έχει θετική επίδραση στην ανάπτυξη των ψαριών καθώς το τελικό βάρος τους προκύπτει μεγαλύτερο ακόμα και κατά 3 φορές σε σχέση με άλλες ευρέως χρησιμοποιούμενες τροφές.

Το ποσοστό θρεπτικών που απορροφάται από τα ζώα μέσω του πεπτικού συστήματος είναι περίπου 50%. Τα εναπομείναντα θρεπτικά συστατικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως λίπανση για καλλιέργειες duckweed. (11)

Το φυτό *Lemna minor* μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν ένα γρήγορο, οικονομικά προσιτό και εύκολα αναπαραγωγίμο φυτικό σύστημα για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ξενιστών και παθογόνων οργανισμών. Αποτελεί μια εναλλακτική επιλογή για τη μελέτη τοξικών παραγόντων και μπορεί δυνητικά να χρησιμοποιηθεί σε ευρείας κλίμακας ελέγχου για την ανακάλυψη αντιμικροβιακών χημικών. (32) Έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη τοξικότητας που παρουσιάζουν τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα Linuron και Monolinuron τα οποία χρησιμοποιούνται για την προστασία των φυτών και της γεωργικής παραγωγής από διάφορα παράσιτα και ασθένειες (30,31), ενώ φαίνεται πιθανή η χρήση του για την παραγωγή μεθανόλης, αιθανόλης και βιοαερίου, ιδίως φυτών με περιεχόμενα υψηλά ποσοστά αμύλου. (63)

#### 1.4.4 *Lemna minor* – Χαρακτηριστικά και βιολογία

*Lemna minor* L.

Μικρά υδρόβια φυτά, επιπλέοντα στην επιφάνεια, ή ορισμένες φορές πλήρως βυθισμένα όπου αναδύονται κατά την περίοδο άνθησης. Τα φύλλα τους είναι ή απομονωμένα ή συνδεδεμένα σε ομάδες των 2 έως 10 (ή και ακόμα περισσότερα), συμμετρικά, κυκλικά, ελλειπτικά, επιμήκη, ωοειδή ή λογχοειδή, επίπεδα η ελαφρώς διογκωμένα, συνήθως φέρουν μια διάμεση σειρά από θηλώματα στην ραχιαία πλευρά, με ή χωρίς κύτταρα κόκκινης χρωστικής στο εξωτερικό στρώμα κυττάρων, ραφίδες στο παρέγχυμα, στόματα στη ραχιαία πλευρά των επιπλέοντων φυτών, αλλά απόντα στα βυθισμένα φυτά, με πλήρη όρια σπανίως οδοντοτά. Ο μίσχος είναι υαλώδης και δυσδιάκριτος ή πράσινος και έντονος, συνδεδεμένος στην άκρη. Φέρει μία ρίζα, ελαφρώς αγγειοποιημένη, με ή χωρίς ευδιάκριτο έλυτρο ρίζας. Η ρίζα είναι ευθεία ή καμπύλη, αμβλύα, με προεξοχή, ή οξεία. Η σχισμή της βλαστικής κοιλότητας συμπίπτει με τα όρια του φύλλου, σπανίως στο κοιλιακό ή ραχιαίο όριο. Μπορεί να προηγηθεί η ωρίμανση του στήμονα ή του ύπερου κατά την άνθηση. Ο ύπερος με ένα ορθότροπο ή αμφίτροπο κύτταρο με δύο ως τέσσερα ωάρια. Με συμμετρικά η ασύμμετρα προϊόντα. Ο σπόρος φέρει νευρώσεις κατά μήκος, ενώ σπανίως είναι λείος. (17)

Χαρακτηριστικά του είδους *Lemna minor* προσομοιάζουν σε άλλα είδη του γένους *Lemna*. Το συγκεκριμένο είδος είναι ένα υδροχαρές φυτό με επιπλέοντα φύλλα στην επιφάνεια νερού, ορισμένες φορές με κύτταρα που περιέχουν κόκκινη χρωστική στην επάνω ή κάτω επιφάνεια του φύλλου, κυρτό ή επίπεδο και περιέχει τρεις έως πέντε νευρώσεις. Οι ρίζες φτάνουν μέχρι και τα 15 εκατοστά, με αμβλεία καλύπτρα. Ο αριθμός των σπόρων κυμαίνεται από 1 έως 6. (17)

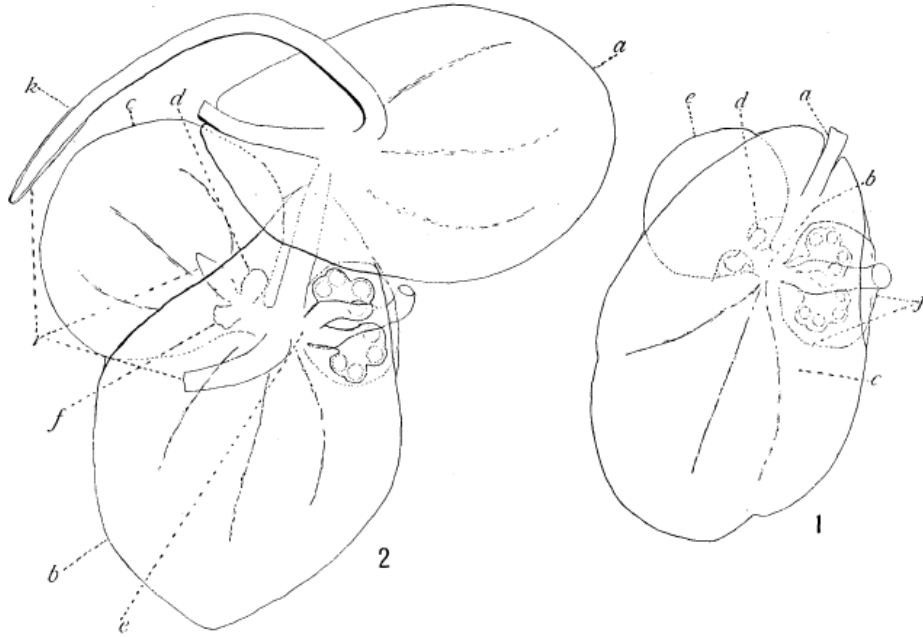
Επίσης το είδος *Lemna minor* ξεχωρίζει από τα περισσότερα είδη της οικογένειας Lemnaceae στα παρακάτω χαρακτηριστικά. Πολλές φορές φέρει διαφορετικούς χρωματισμούς στην κάτω επιφάνεια του φύλλου, γενικά μπορεί να περιέχει περισσότερες από τρεις νευρώσεις στο φύλλο, κυρτό σχηματισμό των φύλλων, ρίζες οι οποίες μπορεί να αναπτυχθούν σε μήκος ακόμα και μεγαλύτερο των 3 εκατοστών, μπορεί να περιέχουν περισσότερους από ένα σπόρο και έχουν ρίζες με αμβλείς άκρες.

### **Σχήμα και μέγεθος φύλλων**

Τόσο το σχήμα όσο και το μέγεθος των φύλλων επηρεάζονται έντονα από εξωτερικούς παράγοντες και συνθήκες, επομένως δεν έχουν σημαντική διαγνωστική αξία. Ασυμμετρία μπορεί να προκύψει σε διαφορετικές συνθήκες ακόμα και σε ίδιους κλώνους φυτού, σε διαφορετικές συνθήκες. Η αναλογία μήκους/πλάτους πολλών στελεχών *Lemna minor* είναι μεγαλύτερη από αυτή των ειδών *Lemna gibba* τα οποία προσομοιάζουν με τα πρώτα, όμως αυτό το χαρακτηριστικό δεν είναι πολύ χρήσιμο για την ταυτοποίηση των φυτών καθώς παρουσιάζει μεγάλη μεταβλητότητα. Τα φύλλα με αναλογία μεγαλύτερη από 2/3 συνήθως ανήκουν στο είδος *L. minor*. Το μέγεθος του φύλλου υπόκειται επίσης σε διαφοροποιήσεις. Επίσης, υπάρχουν εμφανείς γενετικές διαφοροποιήσεις μεταξύ διαφόρων στελεχών που προέρχονται από την ίδια περιοχή, όμως γενικά παρατηρείται πως το μέσο μέγεθος των φύλλων διαφοροποιείται από περιοχή σε περιοχή. Για παράδειγμα τα φυτά *L. minor* που βρίσκονται στην Αυστραλία έχουν κατά μέσο όρο μικρότερο μέγεθος από τα αντίστοιχα φυτά που βρίσκονται στην Ευρώπη. Επίσης μικρότερα σε μέγεθος φυτά συναντώνται σε περιοχές της Βόρειας Αμερικής, ιδιαίτερα στις δυτικές και νότιες περιοχές. (17)

### **Δομή της άνω επιφάνειας του φύλλου**

Η δομή της άνω επιφάνειας επίσης επηρεάζεται από εξωτερικούς παράγοντες. Περισσότερο ή λιγότερο ευδιάκριτες βλατίδες μπορεί να παρατηρηθούν σε όλα τα στελέχη. Ιδιαίτερα αξιοσημείωτες είναι οι προεξοχές στον κόμβο καθώς και στην κορυφή. Καθώς τα φύλλα μεγαλώνουν, αυτές οι προεξοχές εξαφανίζονται, ολικά ή μερικώς. Συνήθως είναι πιο ανεπτυγμένες σε μικρότερα σε μέγεθος φύλλα.

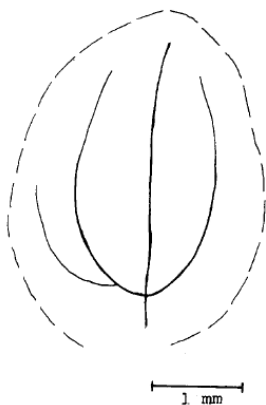


Σχέδιο 1: Ενήλικο φυτό. f: δεξιά του κύριου άξονα άνθος με σπάθη και καρπόφυλλο επεκτείνεται μέσω της θήκης (rouch opening). e: νεαρό φυτό, d: νεαρό λουλούδι, a: βασική άρθρωση κόμβου, b: κόμβος

Σχήμα 2: Τέσσερις γενιές φυτών, r: ρίζα, k: ριζικό κάλυπτρο(54)

### Νεύρωση των φύλλων

Το φυτό *Lemna minor* έχει σπάνια τέσσερις ή πέντε νευρώσεις όταν αναπτύσσεται σε ευνοϊκές συνθήκες. Τα περισσότερα στελέχη στο νότιο ημισφαίριο, αλλά και ένα μέρος στελεχών από τη Βόρεια Αμερική, αναπτύσσουν μόνο τρεις νευρώσεις υπό τις συνήθεις συνθήκες καλλιέργειας. Στελέχη από την Ευρώπη, την νοτιοανατολική Ασία και αρκετά μέρη της Βόρειας Αμερικής συχνά σχηματίζουν τέσσερις ή και πέντε νευρώσεις. Αξίζει να σημειωθεί ότι στα *L. minor* οι εξωτερικές νευρώσεις φαίνεται να συνδέονται με αυτές στο εσωτερικό.



*Lemna minor* s.l.

### Βασικές νευρώσεις φύλλου *Lemna minor* (17)

### **Χρωματισμός**

Όλα τα είδη είναι ικανά να σχηματίσουν ανθοκυανίνες στην άνω επιφάνεια του φύλλου υπό κατάλληλες συνθήκες (χαμηλές θερμοκρασίες και έλλειψη θρεπτικών συστατικών συνδυασμένα με έντονη φωτεινότητα). Ο χρωματισμός είναι διάχυτα κατανεμημένος σε όλη την επιφάνεια του φύλλου. Στα στελέχη *L. minor* που προέρχονται από την Ευρώπη, την Αφρική, την δυτική Ασία και τη Νέα Ζηλανδία αλλά και από ορισμένες περιοχές της Βόρειας Αμερικής, δεν παρατηρείται κόκκινη χρωστική στην κάτω επιφάνεια του φύλλου, αντίθετα με στελέχη της ανατολικής Ασίας και άλλες περιοχές των Η.Π.Α. Ο χρωματισμός των φύλλων του *L. minor* ξεκινά από τη φάση της ρίζας. (17)

### **Σχήμα και μέγεθος του άκρου της ρίζας**

Το σχήμα της ρίζας είναι ένα πολύ σημαντικό διαγνωστικό χαρακτηριστικό του φυτού *L. minor* σε σχέση με άλλα γένη που προσομοιάζουν με αυτό καθώς έχει αμβλεία άκρη συνήθως, με μερικές εξαιρέσεις, ακόμα και μετά από ξήρανση. Το μήκος του κάλυπτρου της ρίζας κυμαίνεται από 0,4 έως 1,1 χιλιοστά. (17)

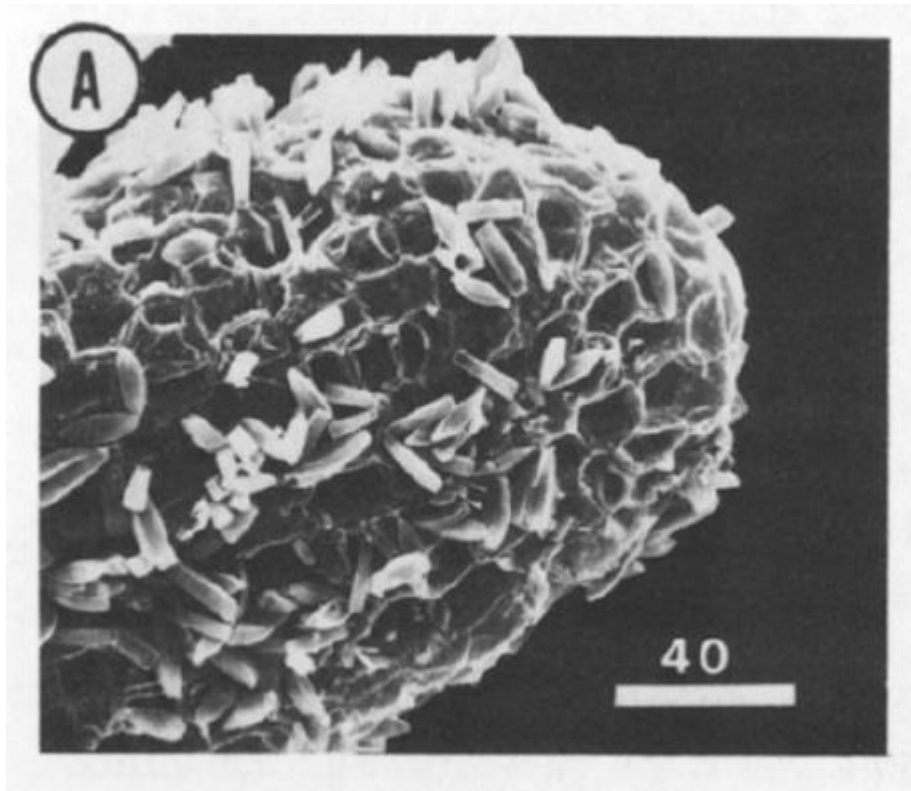
### **Σχηματισμός σπόρων (*turion*)**

Κάποια στελέχη *L. minor* σχηματίζουν σφαιροειδείς σπόρους οι οποίοι βυθίζονται στον πυθμένα. Κάτω από ακατάλληλες συνθήκες, σχηματίζονται μικρά φύλλα, με σύνθεση πλούσια σε άμυλο τα οποία διαφοροποιούνται από τα κανονικά φύλλα ως προς το μέγεθος και σπανίως βυθίζονται στον πυθμένα. Τα στελέχη που σχηματίζουν σπόρους προέρχονται από τις δυτικές και νότιες Ηνωμένες Πολιτείες, τον Καναδά και την Ανατολική Ασία. (17)

### **Μικροβιακός εποικισμός**

Σε παρατήρηση ριζών *Lemna* μέσω μικροσκοπίου, παρατηρήθηκε η ύπαρξη αποικιών μικροοργανισμών συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων, κυανοβακτηρίων, πράσινης άλγης, διατόμων και ενίοτε πρωτόζωων. Συχνά παρατηρήθηκε επίσης πως οι πιο πυκνά εποικισμένες περιοχές των ριζών αποτελούσαν τα κάλυπτρα των ριζών. (40)



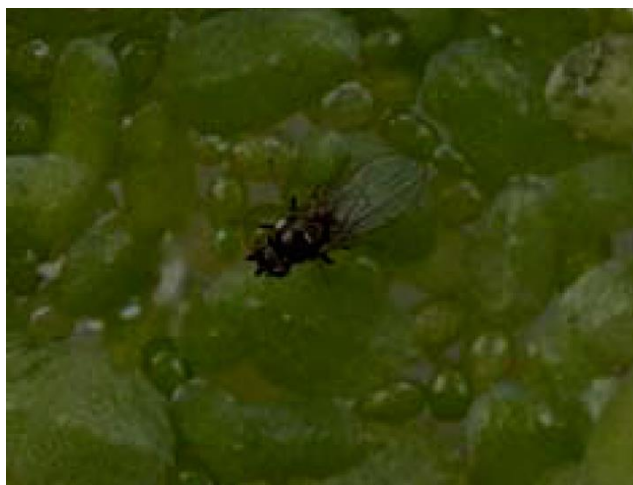


Παρατήρηση Αποικιών επίφυτων βακτηρίων σε ρίζα *Lemna minor* μέσω ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (40)

#### 1.4.5 ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΠΟΥ ΠΡΟΣΒΑΛΛΟΥΝ ΤΑ *L. MINOR*

Υπάρχουν αρκετοί οργανισμοί που προσβάλλουν τα υδροχαρή φυτά και επηρεάζουν σημαντικά την έκβαση των καλλιεργειών τους. Παρακάτω αναφέρονται μερικοί από τους πιο σημαντικούς και επιβλαβείς για την ανάπτυξη των φυτών οργανισμούς.

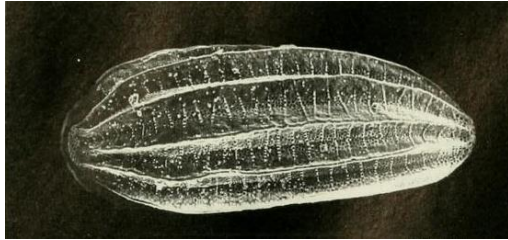
##### **Duckweed fly, *Lemnaphila scotlandae* Cresson**



Ενήλικο έντομο *Lemnaphila scotlandae* (48)

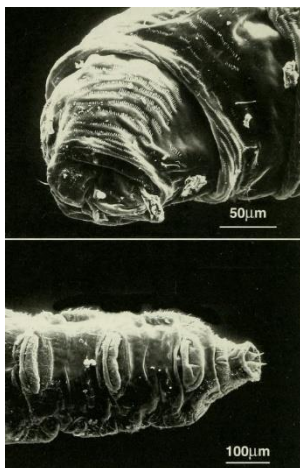
Το είδος *Lemnaphila scotlandae*, γνωστό και ως μύγα των duckweed αναπτύσσεται κυρίως στα φυτά duckweed και αποτελεί ένα από τα μικρότερα έντομα που προσβάλλουν υδροχαρή φυτά.

Τα ενήλικα έντομα έχουν μικρό μέγεθος (περίπου 1,2 mm). Περιγράφονται ως μικρά έντομα και προσομοιάζουν με μικρές μύγες, συνήθως μαύρου χρώματος με κίτρινα σημάδια στα πόδια. Τρέφονται από το φυτό αποξέοντας το ανώτερο μέρος της επιφάνειας του φύλλου χρησιμοποιώντας τους άκανθες που διαθέτουν στο στόμα τους, δημιουργώντας διακριτές παράλληλες κοιλότητες.



*Ραχιαία όψη αυγού (13)*

Τα αυγά είναι συνήθως κιτρινωπού χρώματος, μεγέθους περίπου 0,3 επί 0,08 mm, σχήματος ωσειδούς με παράλληλες ανυψωμένες ραβδώσεις κατά μήκος τους και συνήθως τοποθετούνται ξεχωριστά στις άκρες των φύλλων του φυτού. Η περίοδος επώασης διαρκεί περίπου 2 ημέρες, και η λευκή προνύμφη εισχωρεί στο μεσόφυλλο ιστό (ανάμεσα στις δυο επιφάνειες του φύλλου) και τρέφεται από αυτόν, διαχωρίζοντας τον με τα άγκιστρα που διαθέτει στο στόμα και καταναλώνοντας στη συνέχεια το διασπασμένο ιστό. Αφού καταναλώσει ολόκληρο το φύλλο, η προνύμφη μεταφέρεται σε ένα παρακείμενο φύλλο ώστε να συνεχίσει να τρέφεται. Η προνύμφη μπορεί επίσης να μεταφερθεί μέσω του νερού σε άλλα φύλλα duckweed τα οποία βρίσκονται σε απόσταση. Το στάδιο της προνύμφης αποτελείται από τρεις φάσεις και διαρκεί περίπου δέκα ημέρες.



*Προνύμφη τρίτου σταδίου (πάνω: κεφαλική όψη, κάτω: οπίσθια κοιλιακή όψη) (13)*

Η νύμφη έχει κεχριμπαρένιο χρώμα και μήκος περίπου 1,5 mm. Το στάδιο αυτό διαρκεί περίπου 4 ημέρες. Το ενήλικο έντομο εξέρχεται από τη νύμφη διαστέλλοντας μια ειδική κατασκευή που προσομοιάζει με κύστη η οποία διαρρηγνύει το κέλυφος της νύμφης. Το αναδυόμενο ενήλικο έντομο εξέρχεται από αυτό το άνοιγμα ανοίγοντας το δρόμο μέσα από τα εξωτερικά στρώματα του φύλλου. Σύντομα το έντομο αρχίζει να τρέφεται, αλλά η αναπαραγωγή του ξεκινά κατά τη δεύτερη μέρα. Παρόλο που τα συγκεκριμένα έντομα μπορούν να πετάξουν, συνήθως οι πτήσεις του περιορίζονται σε αποστάσεις μερικών εκατοστών. Τα ενήλικα έντομα ζουν περίπου 3 ημέρες. (48)

#### **Duckweed weevil, *Tanysphyrus lemnae* Paykull**



*Ενήλικο έντομο (48)*

Το duckweed weevil (φθείρα των duckweed) είναι ένα από τα πιο κοινά και διαδεδομένα φυτοφάγα παράσιτα που προσβάλλουν τα duckweed. Τα ηλυκά έντομα γενούν τα αυγά τους κατευθείαν μέσα στο φύλλο ανοίγοντας αρχικά μια τρύπα. Τα αυγά τοποθετούνται από το επάνω μέρος το φύλλου και γενικά πληρούν το χώρο ανάμεσα στην πάνω και κάτω επιφάνεια. Στη συνέχεια το θηλυκό κλείνει την τρύπα και τα αυγά εκκολάπτονται σε περίπου μία εβδομάδα παράγοντας μια διάφανη προνύμφη μήκους 0,5 mm. Η νεοεκολλαπτόμενη προνύμφη αρχίζει να τρέφεται άμεσα. Κάθε προνύμφη καταναλώνει το μεγαλύτερο μέρος του φύλλου μέσα σε 12 ώρες. Εάν στο αρχικό φύλλο συνδέονται και άλλα. Τότε η προνύμφη μεταφέρεται άμεσα στο επόμενο, διαφορετικά μπορεί να μετακινηθεί μέσω του νερού. Οι προνύμφες καταναλώνουν το πράσινο μέρος των φύλλων, αφήνοντας το μεγαλύτερο μέρος της επιδερμίδας του φυτού ακέραιη. Καθώς η προνύμφη αναπτύσσεται, προσλαμβάνει ένα ημιδιάφανο μπλεζ χρώμα με το μήκος της να φτάνει τα 3 mm.

Το στάδιο της προνύμφης λαμβάνει χώρα στην ακτογραμμή, εντός του εδάφους ή κάτω από τα φυτά duckweed.

Η περίοδος επώασης διαρκεί από 16 ως 20 ημέρες. Τα ενήλικα έντομα τρέφονται μασώντας την επιφάνεια των φύλλων, δημιουργώντας ορατές διατρήσεις κυκλικού σχήματος. (48)

### **Waterlily Aphid, *Rhopalosiphum nymphaeae* (Linnaeus)**

Εκτός από νούφαρα, οι αφίδες τρέφονται και με άλλα είδη φυτών. Το συγκεκριμένο έντομο είναι ευρέως κατανεμημένο και είναι γνωστή η ιδιότητα του να προσβάλλει υδροχαρή φυτά. Οι αφίδες απορροφούν τους χυμούς των φύλλων του φυτού, αλλά μπορεί και να προκαλέσει ζημιά στο φυτό μεταφέροντας ιούς. Το συγκεκριμένο έντομο μπορεί να επιφέρει μεγάλη καταστροφή σε υδρόβια συστήματα και είναι επίσης υπεύθυνο για τη μεταφορά τουλάχιστον πέντε ιών που προσβάλλουν φυτά.

Τα ενήλικα θηλυκά διαθέτουν φτερά και μπορούν να μετακινηθούν από υδρόβια συστήματα σε δέντρα κατά τα τέλη του φθινοπώρου για να γεννήσουν εκεί τα αυγά τους. Εκεί μπορούν να παραμείνουν κατά τη διάρκεια του χειμώνα ώστε οι μεταγενέστερες γενιές να τραφούν από τα δέντρα την άνοιξη. Από τα μέσα μέχρι τα τέλη του καλοκαιριού, οι αφίδες μεταφέρονται σε υδροχαρή φυτά.

Ενώ κατά τη διάρκεια της ζωής τους στα δέντρα, είναι ωτόκα, στο περιβάλλον των υδρόβιων φυτών εκκολάπτουν τα αυγά στο σώμα τους και γεννούν μικρά έντομα. Τα συγκεκριμένα θηλυκά δεν έχουν φτερά σε αντίθεση με αυτά που μεταναστεύουν στα καρποφόρα δέντρα. Η waterlily aphid μπορεί να περπατήσει επάνω στην επιφάνεια του νερού αλλά και κάτω από το νερό ώστε να τραφεί. Ειδικευμένα τριχίδια στο σώμα της παγιδεύουν φυσαλίδες αέρα όσο το έντομο βρίσκεται κάτω από την επιφάνεια του νερού.

Μετά τον εποικισμό σε υδρόβιο περιβάλλον, οι αφίδες αναπαράγονται με ταχείς ρυθμούς. Η περίοδος ανάπτυξης από την γέννηση μέχρι το στάδιο της ενηλικίωσης διαρκεί 7 έως 10 ημέρες, ανάλογα με τη θερμοκρασία (με τη βέλτιστη τιμή να κυμαίνεται από 21 έως 27 °C). Τα θηλυκά γεννούν μέχρι και 50 νύμφες με μέσο ρυθμό από δύο έως 4 νύμφες την ημέρα. Οι νύμφες συνήθως περνούν από πέντε στάδια κατά την ανάπτυξής τους. (48)



Εικόνα A : Ενήλικο θηλυκό έντομο μαζί με αφίδες του είδους *Rhopalosiphum nymphaeae* (48)

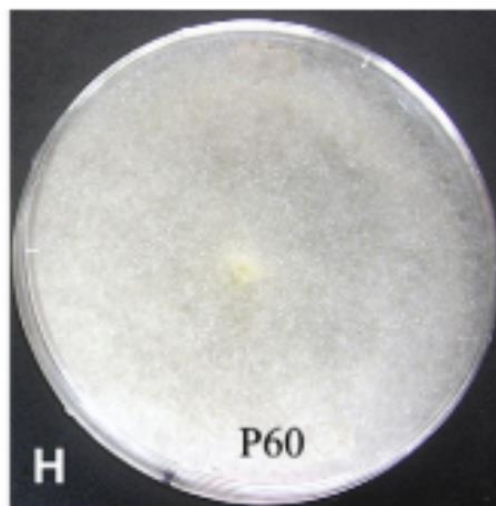
Εικόνα B : Αποικία αφίδων σε φυτό *Waterlettuce* (48)

## Μύκητες που εποικούν στα duckweed

Υπάρχουν αρκετές αναφορές όπου καταδεικνύουν μύκητες οι οποίοι προκαλούν μολύνσεις στα duckweed. Ο μύκητας *Pythium myriotylum* έχει αναγνωριστεί ως ο λόγος θανάτωσης πληθυσμών duckweed σε μέρη όπως οι λίμνες της Λουιζιάνα.

### *Pythium myriotylum*

Ο μύκητας *Pythium myriotylum* έχει την ιδιότητα να μολύνει μεγάλες ποσότητες φυτών duckweed. Ο συγκεκριμένος μύκητας φαίνεται να προσβάλλει τα φυτά που αναπτύσσονται σε εξωτερικές δεξαμενές αλλά και σε φυσικές συνθήκες σε λίμνες. Η ποσότητα των duckweed που θανατώθηκαν από τον μύκητα αυξήθηκε εκθετικά με αποτέλεσμα ολόκληρες δεξαμενές να νεκρώνουν σε περίοδο μερικών ημερών έως ενός μήνα. Από τα έξι είδη duckweed τα οποία ερευνήθηκαν σε εργαστήριο, τα είδη *Lemna gibba*, *Lemna minor* και *Spirodela polyrrhiza* αποτέλεσαν τα περισσότερο επιρρεπή σε μολύνσεις από μύκητες. Η βέλτιστη θερμοκρασία για μόλυνση και θανάτωση των duckweed παρουσιάστηκε στους 32 °C. (12)



Καλλιέργεια *Pythium myriotylum* (51)

Ο μύκητας *Pythium myriotylum* είναι ένα από τα πιο κοινά είδη *Pythium* που βρίσκονται σχεδόν σε όλο τον κόσμο καταλαμβάνοντας εδάφη σε περιοχές με υγρό κλίμα στο φυσικό περιβάλλον, σε αγροτικές περιοχές, υδάτινα οικοσυστήματα και συστήματα άρδευσης. Συχνά προξενούν τη σήψη των σπορόφυτων και των ριζών πολλών φυτών (14), συμπερασματικά, αυτό το είδος δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως σχετιζόμενο αποκλειστικά με τα duckweed.

Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, μυκήλια παράγουν κύστες με ζωοσπόρια ικανά να διασχίζουν υγρές επιφάνειες με σκοπό να προσβάλλουν νέα φυτά. Ο συγκεκριμένος μύκητας παράγει πηκτινολυτικά ένζυμα τα οποία προκαλούν τη διάλυση των κυτταρικών τοιχωμάτων του φυτού. Η διάλυση της πηκτίνης έχει σαν αποτέλεσμα την εικόνα μιας υδαρής σήψης του φυτού με σχηματισμό φυσαλίδων. Ο *Pythium* μπορεί να επιζήσει επ' αόριστον στο έδαφος ως σαπρόφυτο, τρεφόμενος με οργανική ύλη. Έχει επίσης την ικανότητα να σχηματίσει ωοσπόρια τα οποία είναι η βασική μορφή διαχείμασης. Τα μέσα διάδοσής του περιλαμβάνουν το νερό επιφανειακής απορροής, χρήση μολυσμένου γεωργικό εξοπλισμό, διεργασίες καλλιέργειας και φύτευση μολυσμένων φυτών. (49).

## 1.5 Απόβλητα

### 1.5.1 Απόβλητα ελαιοτριβείου

Μια από τις πιο διαδεδομένες γεωργικές δραστηριότητες στην Ελλάδα αποτελεί η καλλιέργεια ελαιόδεντρων. Η Ελλάδα είναι η τρίτη μεγαλύτερη ελαιοπαραγωγός χώρα στον κόσμο, μετά την Ιταλία και την Ισπανία. (24) Σε ολόκληρη τη χώρα υπάρχουν περισσότερα από 130 εκατομμύρια ελαιόδεντρα και περισσότερα από δύο χιλιάδες ελαιοτριβεία ενώ παράγονται από 300 έως 400 χιλιάδες τόνοι ελαιόλαδου. (22)

Το ελαιόλαδο διαχωρίζεται από την ελαιοζύμη μέσω φυγοκέντρησης. Μεγάλες ποσότητες νερού καταναλώνονται κατά την επεξεργασία του ελαιοκαρπου, παράγοντας σημαντικές ποσότητες υγρών αποβλήτων (κασιόγαρος) στα συστήματα επεξεργασίας τριών φάσεων. (24) Από το συγκεκριμένο είδος επεξεργασίας, ο όγκος αποβλήτων που προκύπτει ανέρχεται σε 800 έως 1000 λίτρα λυμάτων ανά τόνο επεξεργασμένων ελαιοκαρπων. (22)

Τα υγρά απόβλητα ή απόνερα αποτελούνται από τα φυτικά υγρά του ελαιοκαρπου και του προστιθέμενου νερού κατά τις διεργασίες άλεσης, μάλαξης και έκθλιψης του ελαιολάδου. Ο κασιόγαρος έχει πολύ υψηλό ρυπαντικό φορτίο. Ανάλογα με τη μέθοδο διαχωρισμού, που εφαρμόζεται για την εξαγωγή του ελαιολάδου, παράγονται υγρά απόβλητα διαφορετικών ποσοτήτων και διαφορετικής σύνθεσης. (24)

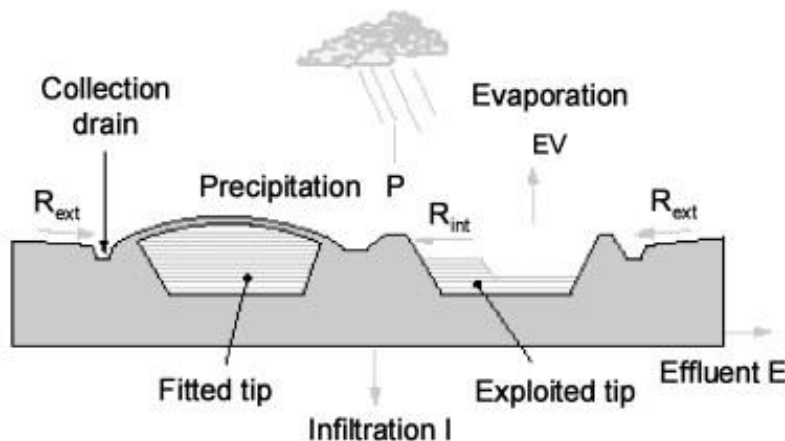
Χημική Σύσταση Υγρών Απόβλητων Ελαιοτριβείων		
Παράμετρος	Μέση τιμή	Κυμαινόμενες τιμές
Ξηρή Ουσία (%)	6.72	6.33 - 7.19
pH	4.84	4.2 - 5.17
EC (dS/m)	8.36	5.5 - 12
Οργανική ουσία (g/l)	55.80	46.5 - 62.1
TOC (g/l)	37.00	34.2 - 39.8
TN (g/l)	0.96	0.62 - 2.1
C/N	53.32	52.3 - 54.3
P2O5 (g/l)	0.57	0.31 - 0.7
K2O (g/l)	4.81	2.37 - 10.8
Na (g/l)	0.26	0.11 - 0.42
Ca (g/l)	0.35	0.2 - 0.64
Mg (mg/l)	121.25	44 - 220
Fe (mg/l)	81.7	18.3 - 120
Cu (mg/l)	3.15	1.5 - 6
Mn (mg/l)	5.15	1.1 - 12
Zn (mg/l)	6.13	2.4 - 12
Πυκνότητα (g/cm <sup>3</sup> )	1.04	1.02 - 1.048
Λίπη (g/l)	6.39	1.64 - 12.2
Φαινόλες (g/l)	4.98	0.98 - 10.7
Υδατάνθρακες (g/l)	7.16	1.4 - 16.1
COD (g/l)	124.67	67 - 178
BOD (g/l)	65.00	46 - 94

(55)

Στην Ελλάδα, οι διαδικασίες διαχείρισης αποβλήτων που ακολουθούνται είναι κυρίως οι δεξαμενές αποξήρανσης και η απλή διάθεση στο έδαφος. Οι δεξαμενές αποξήρανσης δεν είναι διαδεδομένες σε άλλες χώρες λόγω των περιβαλλοντικών επιπτώσεων και του αργού ρυθμού εξάτμισης των αποβλήτων. Τα υγρά απόβλητα ελαιολιπιδίων έχουν υψηλή συγκέντρωση σε πολυφαινόλες και άλλες ανόργανες ουσίες. Η διάθεση τους στο περιβάλλον χωρίς προηγούμενη επεξεργασία μπορεί να προκαλέσει σοβαρή υποβάθμιση του εδάφους. Κατόπιν επεξεργασίας, λόγω των θρεπτικών συστατικών και οργανικών ουσιών που περιέχουν, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην άρδευση ελαιόδενδρων και στη γενική βελτίωση γονιμότητας του εδάφους. (25)

### 1.5.2 Στραγγίσματα ΧΥΤΑ

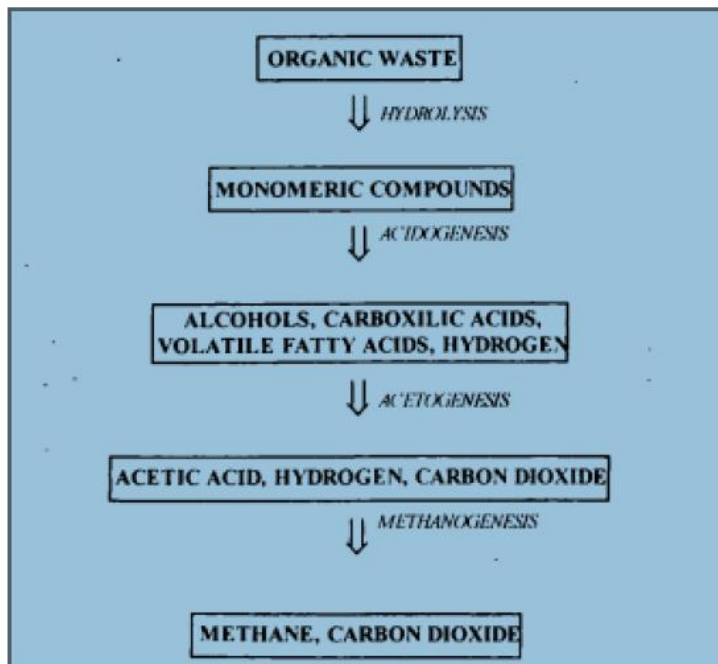
Τα στραγγίσματα από τους χώρους υγειονομικής ταφής απορριμμάτων αντιπροσωπεύουν το νερό το οποίο διηθείται διαμέσου των αποβλήτων και τα υγρά που παράγονται μέσα στο κύτταρο της χωματερής, και αποτελείται από ένα υγρό που περιέχει αιωρούμενα στερεά, διαλυτά συστατικά των αποβλήτων και τα προϊόντα αποικοδόμησης των αποβλήτων από διάφορους μικροοργανισμούς. Η σύσταση των στραγγισμάτων εξαρτάται από την ετερογένεια και τη σύσταση των αποβλήτων, από την ανάμειξη με βιομηχανικά ή επικίνδυνα απόβλητα, από το στάδιο βιοαποικοδόμησης στο οποίο φθάνουν τα απορρίματα, στην περιεχόμενη υγρασία και στις διαχειριστικές πρακτικές. Ακόμα, ο ρυθμός αποσύνθεσης των αποβλήτων εξαρτάται και από άλλες παραμέτρους, όπως είναι το pH, η θερμοκρασία, η ηλικία της χωματερής, οι αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες και τα είδη μικροοργανισμών που συναντώνται. Επιπλέον, με τα στραγγίσματα συνδέεται και μια δύσοσμη μυρωδιά, κυρίως λόγω της παρουσίας οργανικών οξέων.



#### Κύκλος νερού σε Χώρο Υγειονομικής Ταφής Απορριμμάτων (27)

Τα στραγγίσματα από χωματερές φαίνεται να περιέχουν μια μεγάλη ποικιλία τοξικών και μολυσματικών συστατικών κάτι που καθιστά την επεξεργασία τους απαραίτητη πριν αυτά απορριφθούν στο περιβάλλον. Η σύσταση τους μεταβάλλεται και εκτός από το είδος των απορριμμάτων από τα οποία προέρχονται, εξαρτώνται και από την ηλικία του ΧΥΤΑ αλλά και το στάδιο βιοαποικοδόμησης. Η κύρια παράμετρος όσον αφορά τα στραγγίσματα ΧΥΤΑ είναι

το περιεχόμενο ποσοστό οργανικών συστατικών. Στον όγκο των απορριμμάτων, προκαλείται υδρόλυση των οργανικών ουσιών, οι οποίες στη συνέχεια μετατρέπονται από τα υπάρχοντα βακτήρια σε λιπαρά οξέα και μεθάνιο μέχρι την επικράτηση αερόβιων συνθηκών.



Κύρια βήματα κατά τη διάρκεια της αναερόβιας φάσης αποσύνθεσης (26)



## 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Διεξήχθησαν 7 διαφορετικά πειράματα με συνολική διάρκεια 7 μηνών. Τα πειράματα αυτά είχαν ως σκοπό τον υπολογισμό του ρυθμού ανάπτυξης του φυτού *Lemna minor* και κατά πόσο διαφοροποιείται ο ρυθμός ανάπτυξής του σε διαφορετικά υποστρώματα.

Ο προσδιορισμός την ανάπτυξης του φυτού *L. minor* καθορίστηκε από τον αριθμό των φυτών που καταμετρούνταν κάθε φορά στα δοχεία όπου διεξήχθησαν τα πειράματα. Επίσης καταμετρήθηκαν οι τιμές συγκέντρωσης των κυριότερων θρεπτικών συστατικών (αμμωνιακά, νιτρικά, φωσφορικά), οι τιμές pH και αγωγιμότητας, τα επίπεδα COD, καθώς και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο καθώς και οι μεταβολές τους συναρτήσει του χρόνου.

### 2.1 Πειραματική Μεθοδολογία

#### Πειραματική διαδικασία

Κατά την εκτέλεση των πειραμάτων μελετήθηκαν οι συνθήκες ανάπτυξης του φυτού *Lemna minor*. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρες εντός των οποίων τοποθετήθηκαν νεαρά φυτά των οποίων γινόταν περιοδικά η καταγραφή του πληθυσμού και οι συνθήκες που επικρατούσαν στο περιβάλλον ανάπτυξης τους (pH, αγωγιμότητα, αμμωνία, νιτρικά, φωσφορικά, θερμοκρασία). Εκτελέστηκαν συνολικά επτά πειράματα, με διαφορετικό υπόστρωμα σε κάθε περίπτωση. Η λήψη των αρχικών φυτών έγινε από δεξαμενή όπου αναπτύσσονταν σε περιβάλλον με περιορισμένα θρεπτικά συστατικά. Στη συνέχεια γινόταν η μετάγγιση τους στον αντιδραστήρα και παρέμεναν εκεί για 4 ημέρες προκειμένου να προσαρμοστούν, πριν ξεκινήσει η καταμέτρηση του πληθυσμού. Το κάθε πείραμα συνεχιζόταν για όσο διάστημα παρατηρούσαμε ανάπτυξη του πληθυσμού.

Με τη λήξη του κάθε πειράματος γινόταν απολογισμός και σχεδιασμός του επόμενου.

Ερευνήθηκε η επίδραση ανάπτυξης του υδροχαρούς φυτού *Lemna minor* σε απόβλητο αναερόβιου αντιδραστήρα βιομηχανίας τροφίμων.

Ακολούθησαν πειράματα τα οποία αφορούσαν στην ανάπτυξη του φυτού *L. minor* σε αντιδραστήρα συνεχούς ροής, τροφοδοτούμενο με διάλυμα αμμωνιακού αζώτου, σε δοχεία με compost tea καθώς και σε διάφορα γεωργικά υποστρώματα.

Διερευνήθηκε ακόμα η ικανότητας του *L. minor* ως απορρυπαντή κατά την επεξεργασία αποτοξικοποιημένων στραγγισμάτων από χώρους υγειονομικής ταφής απορριμμάτων.

Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης ιόντων σιδήρου και μαγνησίου στο μέσο ανάπτυξης κατά τη διάρκεια του έκτου πειράματος καθώς και η επίδραση της αναλογίας Redfield.

## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

<b>Πείραμα 1:</b> <b>Ανάπτυξη φυτού L. minor σε απόβλητο βιομηχανίας τροφίμων</b>	<b>Πείραμα 2:</b> <b>Ανάπτυξη φυτού L. minor σε αντιδραστήρα συνεχούς ροής</b>
Συγκέντρωση αμμωνιακών ιόντων (NH <sub>4</sub> ) (mg/L) Συγκέντρωση φωσφορικών ιόντων (PO <sub>4</sub> ) (mg/L) Αγωγιμότητα (ms/cm) Ph θερμοκρασία (C)	Συγκέντρωση αμμωνιακών ιόντων (NH <sub>4</sub> ) (mg/L) Συγκέντρωση φωσφορικών ιόντων (PO <sub>4</sub> ) (mg/L) Συγκέντρωση νιτρικών ιόντων (NO <sub>3</sub> ) (mg/L) Αγωγιμότητα (ms/cm) pH COD θερμοκρασία (C)
<b>Πείραμα 4:</b> <b>Ανάπτυξη φυτού L. minor σε διάφορα είδη υποστρωμάτων (compost, φυτοχώματα)</b>	<b>Πείραμα 5:</b> <b>Ανάπτυξη φυτού L. minor σε αποτοξικοποιημένα στραγγίσματα από ΧΥΤΑ</b>
Συγκέντρωση αμμωνιακών ιόντων (NH <sub>4</sub> ) (mg/L) Συγκέντρωση φωσφορικών ιόντων (PO <sub>4</sub> ) (mg/L) Αγωγιμότητα (ms/cm) pH COD Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (Folin) Φωτισμός	Συγκέντρωση αμμωνιακών ιόντων (NH <sub>4</sub> ) (mg/L) Συγκέντρωση φωσφορικών ιόντων (PO <sub>4</sub> ) (mg/L) Αγωγιμότητα (ms/cm) pH
<b>Πείραμα 6:</b> <b>Επίδραση της συγκέντρωσης σιδήρου στην ανάπτυξη του φυτού L. minor</b>	<b>Πείραμα 7:</b> <b>Επίδρασης της αναλογίας Redfield (N:P) στην ανάπτυξη του φυτού L. minor</b>
Συγκέντρωση αμμωνιακών ιόντων (NH <sub>4</sub> ) (mg/L) Συγκέντρωση φωσφορικών ιόντων (PO <sub>4</sub> ) (mg/L) Αγωγιμότητα (ms/cm) pH	Συγκέντρωση αμμωνιακών ιόντων (NH <sub>4</sub> ) (mg/L) Συγκέντρωση φωσφορικών ιόντων (PO <sub>4</sub> ) (mg/L) Αγωγιμότητα (ms/cm) pH

### 2.2.1 ΠΕΙΡΑΜΑ 1

#### **Κατασκευή διάταξης δοχείων με προσθήκη αποβλήτου βιομηχανίας τροφίμων για την ανάπτυξη φυτών *Lemna minor***

Σε τέσσερα δοχεία, διαστάσεων 36\*29\*8 cm , προστέθηκαν 4 λίτρα νερού βρύσης καθώς και διαφορετικές ποσότητες αποβλήτου στο κάθε ένα. Συγκεκριμένα τοποθετήθηκαν 80, 160, 240 και 320 ml αποβλήτου στα δοχεία Α,Β,Γ και Δ αντίστοιχα. Στη συνέχεια τοποθετήθηκε ένας αριθμός φυτών *Lemna minor* (περίπου 35 φυτά σε κάθε δοχείο). Μετά από το πέρας μιας εβδομάδας, προστέθηκαν ξανά οι ίδιες ποσότητες αποβλήτου αντίστοιχα σε κάθε δοχείο. Το απόβλητο που χρησιμοποιήθηκε προήλθε από τον αναερόβιο αντιδραστήρα της εταιρίας TASTY. Ο αριθμός των φυτών, η ποσότητα των θρεπτικών συστατικών στο νερό των δοχείων καθώς και άλλες παράμετροι (pH, αγωγιμότητα, COD, θερμοκρασία, ένταση του φωτός) καταμετρούνταν σε τακτά χρονικά διαστήματα.

Ακολουθεί πίνακας με καταγεγραμμένες τις τιμές συγκέντρωσης αμμωνιακών και φωσφορικών ιόντων καθώς και ο αριθμός φυτών σε συνάρτηση με το χρόνο.

#### Δοχεία με απόβλητο

#### Καταγραφή αμμωνιακών, φωσφορικών ιόντων, αριθμού φυτών στα δοχεία, λόγου Redfield ( $NH_4^+ : PO_4^{3-}$ ) και μεταβολής πληθυσμού

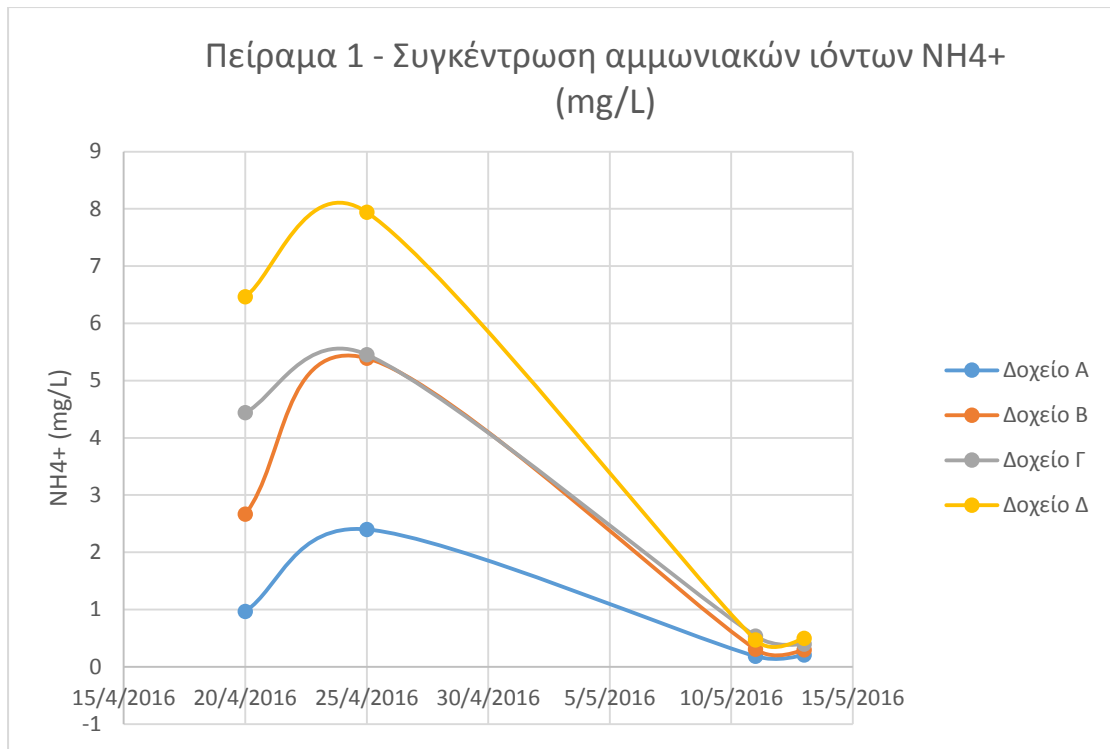
	Δοχείο Α				
	NH4	PO4	NH4:PO4	Αριθμός Φυτών	Δ% πληθυσμού
20/4/2016	0,96601	4,054803	24%	148	
25/4/2016	2,400408	4,093488	59%	152	3%
11/5/2016	0,184228	5,131528	4%	228	50%
13/5/2016	0,204623	8,651838	2%	199	-13%

	Δοχείο Β				
	NH4	PO4	NH4:PO4	Αριθμός Φυτών	Δ% πληθυσμού
20/4/2016	2,665534	4,093488	65%	142	
25/4/2016	5,39157	4,067698	133%	211	49%
11/5/2016	0,306594	5,196003	6%	259	23%
13/5/2016	0,292998	7,310767	4%	254	-2%

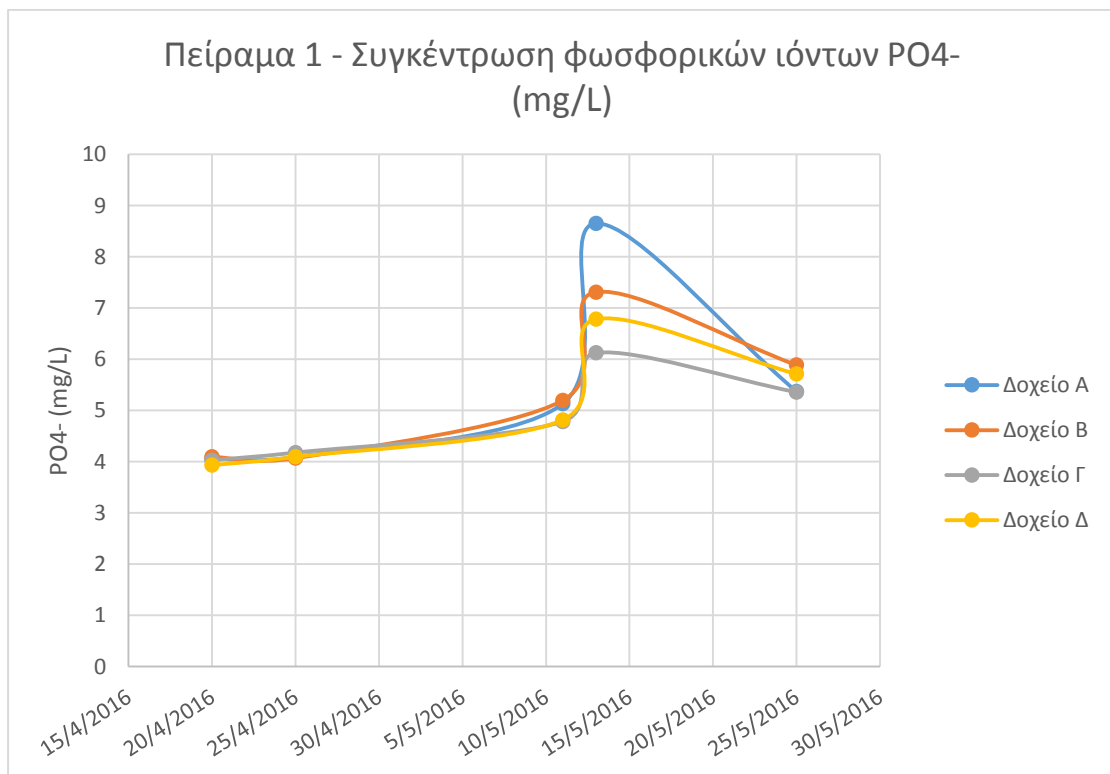
	Δοχείο Γ				
	NH4	PO4	NH4:PO4	Αριθμός Φυτών	Δ% πληθυσμού
20/4/2016	4,439837	4,029014	110%	164	
25/4/2016	5,453434	4,177305	131%	226	38%
11/5/2016	0,537729	4,783366	11%	280	24%
13/5/2016	0,394969	6,124436	6%	279	0%

	Δοχείο Δ				
	NH4	PO4	NH4:PO4	Αριθμός Φυτών	Δ% πληθυσμού
20/4/2016	6,46567	3,932302	164%	174	
25/4/2016	7,941536	4,093488	194%	217	25%
11/5/2016	0,469748	4,815603	10%	218	0%
13/5/2016	0,496941	6,782076	7%	207	-5%

Στα διαγράμματα που ακολουθούν, απεικονίζεται η διακύμανση των τιμών των αμμωνιακών ( $NH_4^+$ ) και των φωσφορικών ( $PO_4^{-3}$ ) ιόντων καθώς και ο αριθμός των φυτών συναρτήσει του χρόνου.



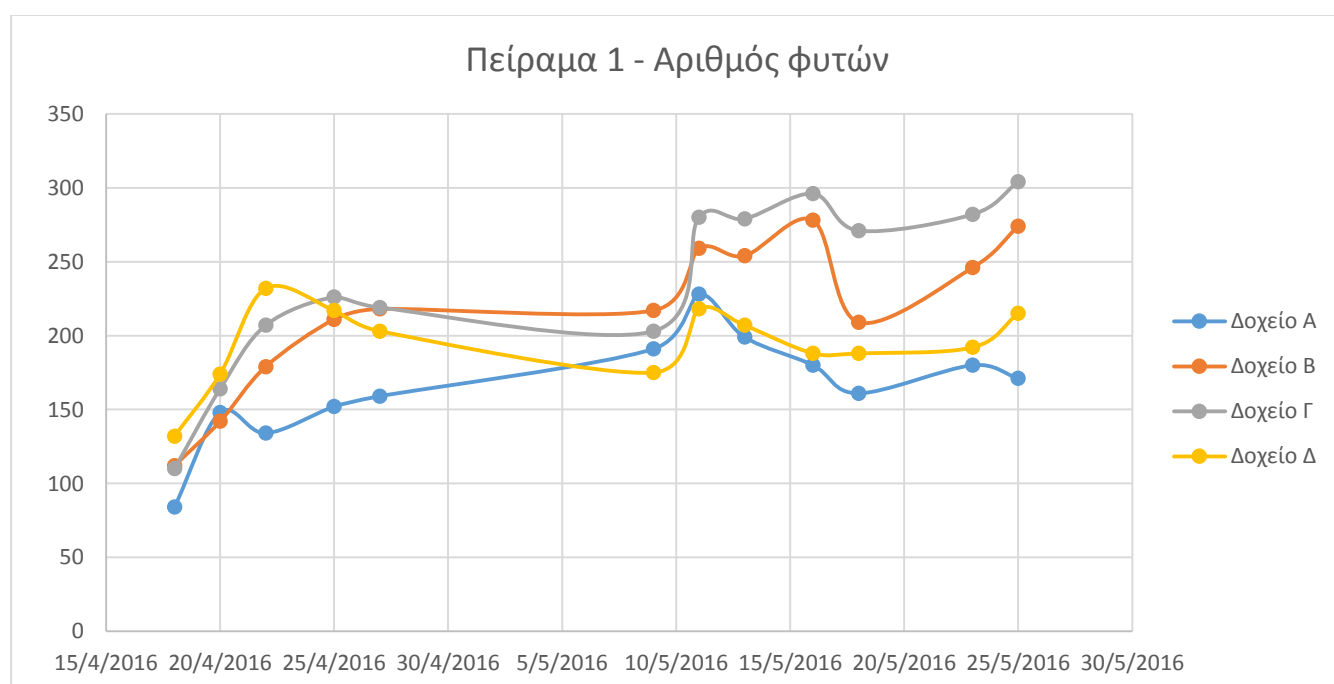
Η συγκέντρωση των αμμωνιακών ιόντων και στα τέσσερα διαλύματα φαίνεται πως αρχικά αυξάνεται (λόγω και της προσθήκης απόβλητου στα δοχεία μετά το πέρας μιας εβδομάδας) και στη συνέχεια μειώνεται συγκλίνοντας σε μια οριακή τιμή κοντά στο μηδέν.



Όσον αφορά τη συγκέντρωση των φωσφορικών ιόντων, αρχικά η τιμή τους παραμένει σχεδόν σταθερή μέχρι ένα σημείο όπου φαίνεται να υπάρχει απότομη αύξησή τους, και στη συνέχεια ακολουθεί καθοδική πορεία.

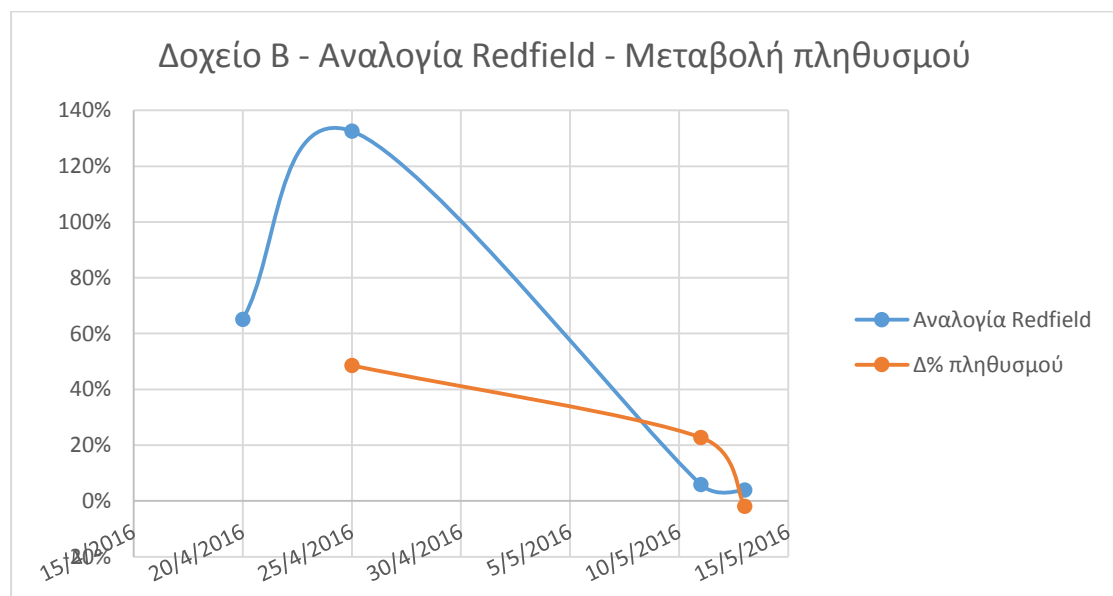
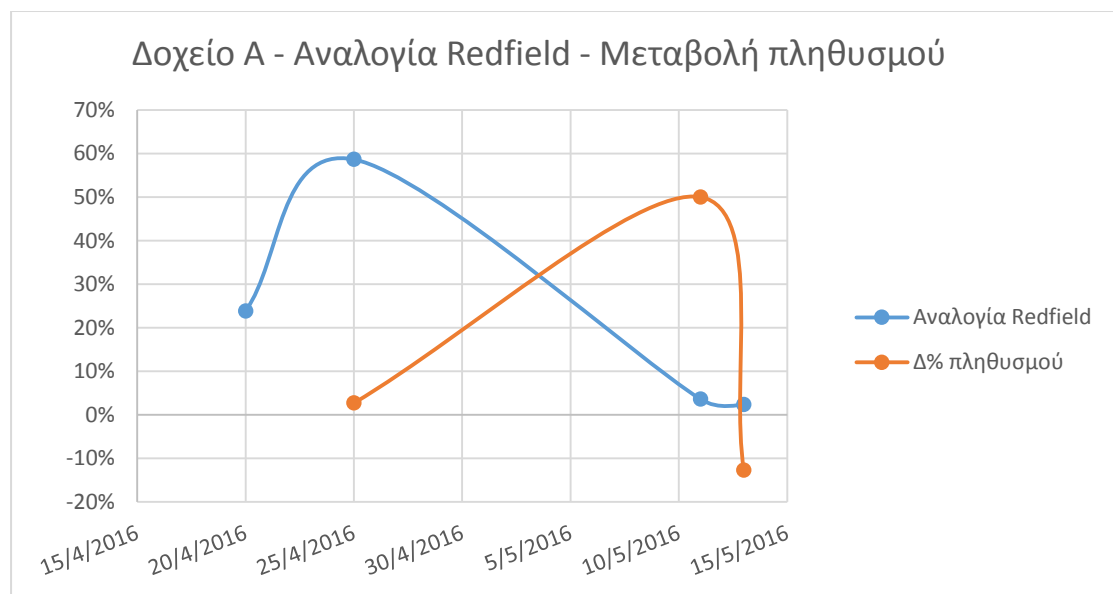
Στον παρακάτω πίνακα και διάγραμμα απεικονίζεται η διακύμανση του πλήθους των φυτών σε κάθε δοχείο συναρτήσει του χρόνου.

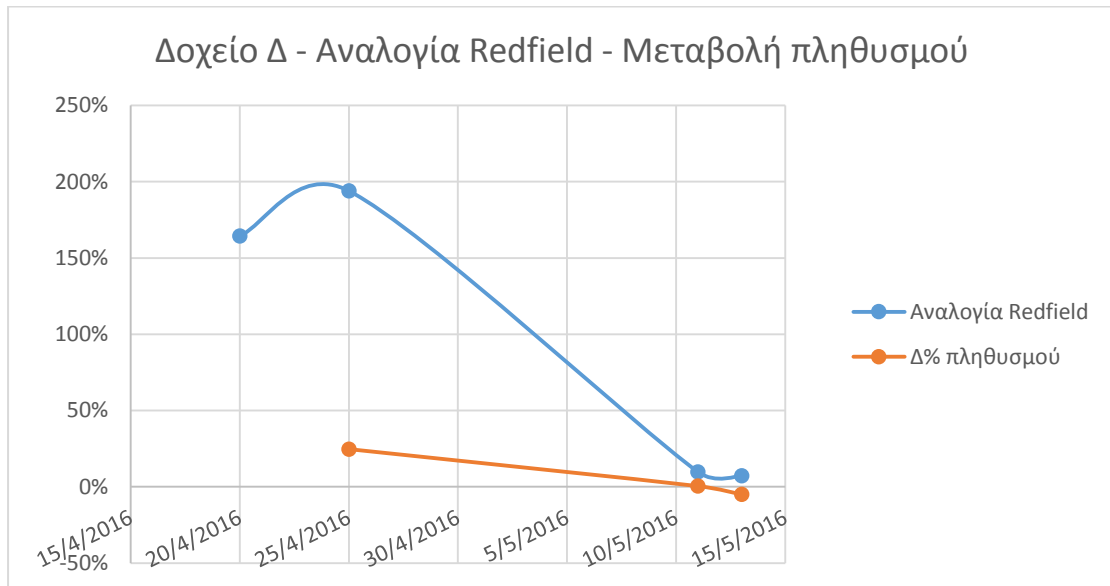
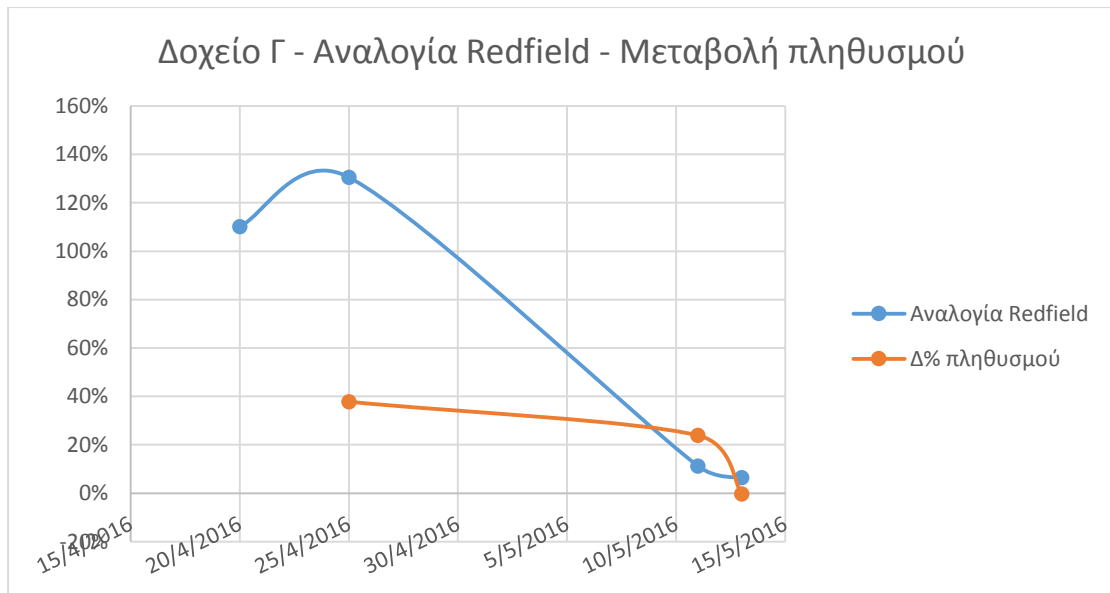
Αριθμός Φυτών				
	Δοχείο Α	Δοχείο Β	Δοχείο Γ	Δοχείο Δ
18/4/2016	84	112	110	132
20/4/2016	148	142	164	174
22/4/2016	134	179	207	232
25/4/2016	152	211	226	217
27/4/2016	159	218	219	203
9/5/2016	191	217	203	175
11/5/2016	228	259	280	218
13/5/2016	199	254	279	207
16/5/2016	180	278	296	188
18/5/2016	161	209	271	188
23/5/2016	180	246	282	192
25/5/2016	171	274	304	215



Το πλήθος των φυτών φαίνεται αρχικά να έχει μια απότομη αύξηση η οποία σταματά με την τιμή να παραμένει σχεδόν σταθερή για τα δοχεία Β και Γ. Στο δοχείο Α παρατηρείται αύξηση του πλήθους με επιβράδυνση όμως του ρυθμού, ενώ στο δοχείο Δ παρατηρείται ακόμα και πτώση του πληθυσμού. Στη συνέχεια ο πληθυσμός ακολουθεί και πάλι μια γρήγορη αύξηση και πτώση. Τελικά, φαίνεται πως τα δοχεία Α και Δ ο αριθμός σταθεροποιείται ενώ στα Β και Γ υπάρχει μια αυξητική τάση.

Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζεται η εξέλιξη της τιμής της αναλογίας Redfield σε κάθε δοχείο, καθώς και η ποσοστιαία μεταβολή του πληθυσμού.





Η μεταβολή πληθυσμού των φυτών στα δοχεία παρουσιάζει φθίνουσα πορεία καθώς η αναλογία Redfield μειώνεται.

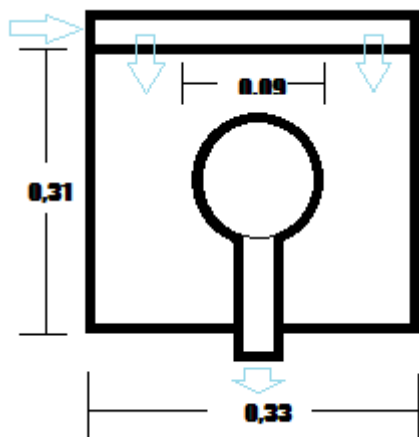
## **2.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑ 2**

### **Κατασκευή διάταξης - Αντιδραστήρας συνεχούς ροής**

Κατασκευάστηκε αντιδραστήρας συνεχούς ροής διαστάσεων επιφάνειας 0,33 επί 0,31 μέτρα μέσα στον οποίο τοποθετήθηκε ποσότητα φυτών Lemna minor και εισερχόταν αραιωμένο απόβλητο με σταθερή ροή. Μετά από μια εβδομάδα, το απόβλητο αντικαταστάθηκε με διάλυμα αμμωνιακών ιόντων. Ο σωλήνας εξόδου ήταν τοποθετημένος



με τέτοιο τρόπο ώστε να μην έρχεται σε επαφή με τα φυτά που βρίσκονταν στην επιφάνεια, έτσι δεν υπήρχε απώλεια φυτών με την εκροή του υγρού.

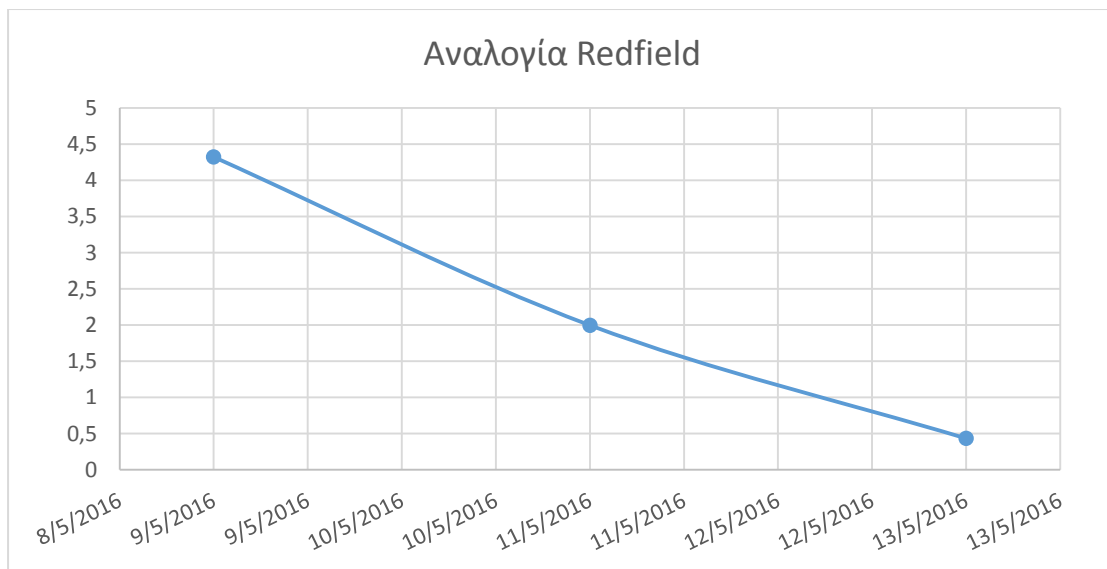
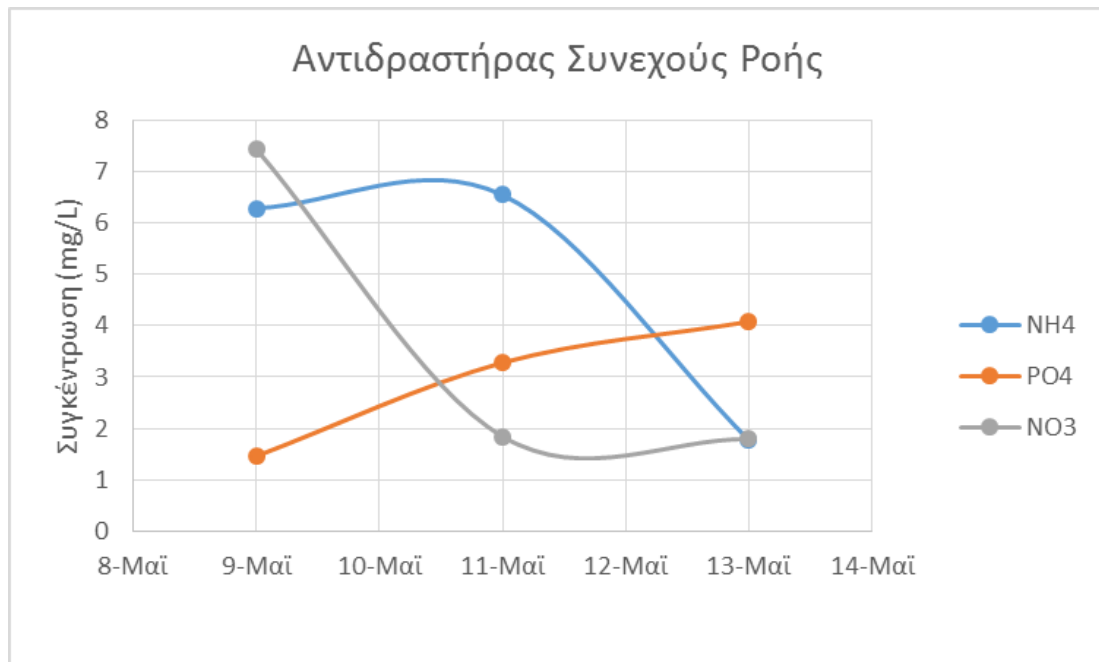


#### Αντιδραστήρας Συνεχούς Ροής

Παρατηρήθηκε η αλλαγή χρώματος του υγρού στο εσωτερικό του αντιδραστήρα καθώς αυτό απέκτησε πράσινη απόχρωση (εικόνες στο παράρτημα) που μπορεί να οφείλεται στον πολλαπλασιασμό άλγης. Για να αποφευχθεί αυτό, προτείνεται η αρχική κάλυψη της επιφάνειας του δοχείου κατά τουλάχιστον 50% με L. minor ώστε να ανακόπτεται το ηλιακό φως στην επιφάνεια του νερού και να εμποδίζεται η ανάπτυξη πράσινης άλγης και άλλου είδους μικροφυκών.

Παρατίθεται πίνακας με τις τιμές συγκέντρωσης (mg/L) αμμωνιακών, φωσφορικών και νιτρικών ιόντων του διαλύματος εντός του αντιδραστήρα.

Αντιδραστήρας συνεχούς ροής				
	NH4	PO4	NO3	NH4:PO4
9/5/2016	6,295717	1,45648	7,451	4,322556
11/5/2016	6,554045	3,281109	1841089	1,997509
13/5/2016	1,768185	4,080593	1,792801	0,433316



Ενώ η τιμή των αμμωνιακών και νιτρικών ιόντων μειώνεται με την πάροδο του χρόνου, σημειώθηκε άνοδος της τιμής συγκέντρωσης φωσφορικών ιόντων, παρόλο που σταμάτησε η προσθήκη πηγής φωσφόρου. Σε συνδυασμό με την υψηλή τιμή pH που παρατηρήθηκε στο διάλυμα, φαίνεται πως τα φυτά αδυνατούν να απορροφήσουν τον φώσφορο λόγω της υψηλής αλκαλικότητας.

### 2.2.3 Πείραμα 3

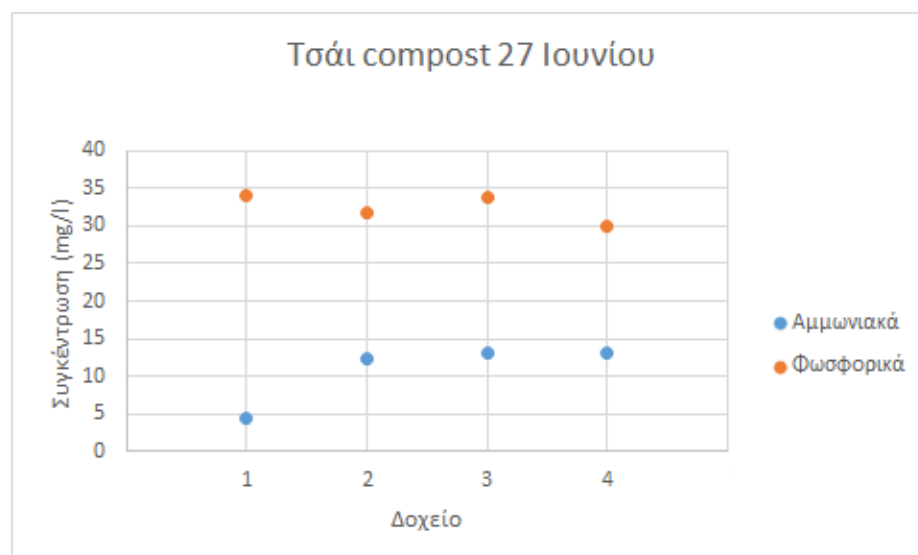
#### Ανάπτυξη Lemna minor σε τσάι compost

Μελετήθηκε η ανάπτυξη Lemna minor σε δοχεία τα οποία περιείχαν νερό και τσάι compost σε διάφορες συγκεντρώσεις.

Για να παρασκευαστεί το τσάι compost, αναμίχθηκαν 4 λίτρα compost και 30 ml μελάσα σε 20 λίτρα νερού βρύσης.

Χρησιμοποιήθηκαν 4 δοχεία διαστάσεων 36\*29\*8 cm για την κατασκευή της διάταξης μέσα στα οποία επιχειρήθηκε η ανάπτυξη των φυτών Lemna minor.

Compost tea				
27/6/2016				
Δοχείο	1	2	3	4
NH4	4,423077	12,30769	13,07692	13,07692
PO4	34,13926	31,88266	33,81689	29,94842



Η καλλιέργεια στα δοχεία που περιείχαν compost tea δεν ήταν επιτυχής καθώς τα φυτά δεν εμφάνισαν κάποια ανάπτυξη. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η προσθήκη μόνο αζώτου και φωσφόρου σε ένα υπόστρωμα δεν είναι ικανή να προσφέρει ένα περιβάλλον όπου τα φυτά L. minor μπορούν να αναπτυχθούν.

### 2.2.4 ΠΕΙΡΑΜΑ 4

#### Ανάπτυξη Lemna minor σε δοχεία με διάφορα είδη γεωργικών υποστρωμάτων (Compost A, Compost B, Φυτόχωμα A, Φυτόχωμα B)

Αρχικά παρατηρήθηκε ευνοϊκή ανάπτυξη του φυτού L. minor σε μεταλλικό δοχείο όπου είχε γίνει προσθήκη 40 γραμμαρίων compost. Γι' αυτό το λόγο, θεωρήθηκε εύλογη η προσπάθεια παρατήρησης της ανάπτυξης του φυτού σε διάφορων ειδών γεωργικά υποστρώματα.

Τα υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ένα νέο compost, και δύο φυτοχώματα, Blumenerde Αναγνώστου και Sejimui.

Τα φυτά αναπτύχθηκαν σε μεταλλικά δοχεία διαστάσεων. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα, λόγω εξάτμισης, το νερό των δοχείων αναπληρωνόταν με νερό βρύσης.

### **Compost 1**

Σε ένα μεταλλικό δοχείο προστέθηκαν 1,22 λίτρα νερό και 40 γραμμάρια compost ως υπόστρωμα για ανάπτυξη. Αρχικά τα φυτά που προστέθηκαν στο νερό αναπτύχθηκαν γρήγορα μέχρι την στιγμή κάλυψης της επιφάνειας του δοχείου. Τότε, ξεκίνησε η συσκομιδή των νεκρών φύλλων *Lemna minor* που περιέχονταν στο δοχείο.

Ο ρυθμός ανάπτυξης του φυτού φαίνεται να ελαττώθηκε και ο ρυθμός νέκρωσης των φύλλων αυξήθηκε. Αυτό φαίνεται και από το ποσοστό κάλυψης της επιφάνειας. (Εικόνες στο παράρτημα)

### **Νέα υποστρώματα**

Χρησιμοποιήθηκαν 3 νέα υποστρώματα (Compost B, φυτόχωμα A, φυτόχωμα B) για την ανάπτυξη φυτών *L. minor*. Σε 4 μεταλλικά δοχεία, προστέθηκε όγκος νερού ίσος με 1,22 L και ποσότητα υποστρώματος ίση με 50 g. Η καλλιέργεια τους ξεκίνησε την 1/7/2016. Σε κάθε δοχείο, προστέθηκαν αρχικά 100 φυτά *L. minor* τα οποία προήλθαν από το δοχείο **compost A**.

Η ανάπτυξη των φυτών *L. minor* ευνοούνται περισσότερο από την ύπαρξη αμμωνιακών ιόντων σε σχέση με τα νιτρικά στο νερό. Τα υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν περιέχουν άζωτο κυρίως σε μορφή νιτρικών ιόντων ( $NO_3^-$ ). Παρασκευάστηκε ένα ακόμα νέο διάλυμα 1,22 L με προσθήκη φυτοχώματος B 50 g σε διάλυμα νερού περιεκτικότητας σε  $NH_4^+$  50 mg/L.

Πίνακες μετρήσεων αμμωνιακών και φωσφορικών ιόντων, αριθμού φυτών και αναλογίας Redfield.

<b>Compost A</b>		
	<b>NH4</b>	<b>PO4</b>
<b>23/5/2016</b>	14,61538	67,34365
<b>17/6/2016</b>	17,21154	6,846551
<b>21/6/2016</b>	2,073419	102,3211
<b>24/6/2016</b>	14,32692	32,5274
<b>27/6/2016</b>	10,96154	36,39587363
<b>29/6/2016</b>	12,98076923	8,188265635

<b>1/7/2016</b>	13,26923077	5,770470664
<b>11/7/2016</b>	1,538461538	15,44165055
<b>13/7/2016</b>	6,307692308	8,568665377
<b>15/7/2016</b>	1,230455472	7,988394584
<b>18/7/2016</b>	0,482664854	9,600257898

<b>Compost A</b>	
	<b>Αριθμός Φυτών</b>
<b>11/5/2016</b>	257
<b>13/5/2016</b>	355
<b>16/5/20016</b>	435
<b>18/5/2016</b>	485
<b>23/5/2016</b>	496
<b>29/6/2016</b>	2612
<b>1/7/2016</b>	2481
<b>4/7/2016</b>	2361
<b>7/7/2016</b>	2634
<b>13/7/2016</b>	2940
<b>15/7/2016</b>	2869
<b>18/7/2016</b>	2941

<b>Compost A</b>			
	<b>NH4:PO4</b>	<b>Αριθμός Φυτών</b>	<b>Δ% πληθυσμού</b>
<b>29/6/2016</b>	158,5%	2612	
<b>1/7/2016</b>	230,0%	2481	-5,0%
<b>13/7/2016</b>	73,6%	2940	11,6%
<b>15/7/2016</b>	15,4%	2869	-2,4%
<b>18/7/2016</b>	5,0%	2941	2,5%

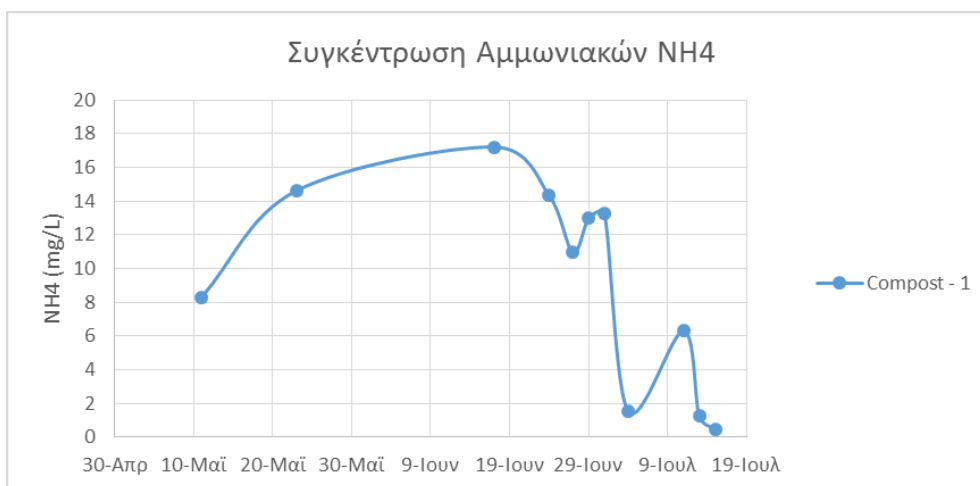
	<b>Compost B</b>				
	<b>NH4</b>	<b>PO4</b>	<b>NH4:PO4</b>	<b>Αριθμός Φυτών</b>	<b>Δ% πληθυσμού</b>
4/7/2016	3,653846	6,737589	54,2%	112	
11/7/2016	2,307692	30,91554	7,5%	148	8,8%
13/7/2016	7,416723	8,697614	85,3%	146	-1,4%
15/7/2016	3,67777	7,601547	48,4%	166	13,7%
18/7/2016	4,221618	9,471309	44,6%	186	12,0%

Φυτόχωμα Α					
	NH4	PO4	NH4:PO4	Αριθμός Φυτών	Δ% πληθυσμού
4/7/2016	4,807692	16,40877	29,3%	109	
11/7/2016	ίχνη	74,43585	0,0%	179	38,8%
13/7/2016	4,269231	12,88846	33,1%	208	16,2%
15/7/2016	3,192308	12,43714	25,7%	209	0,5%
18/7/2016	2,230769	12,24371	18,2%	226	8,1%

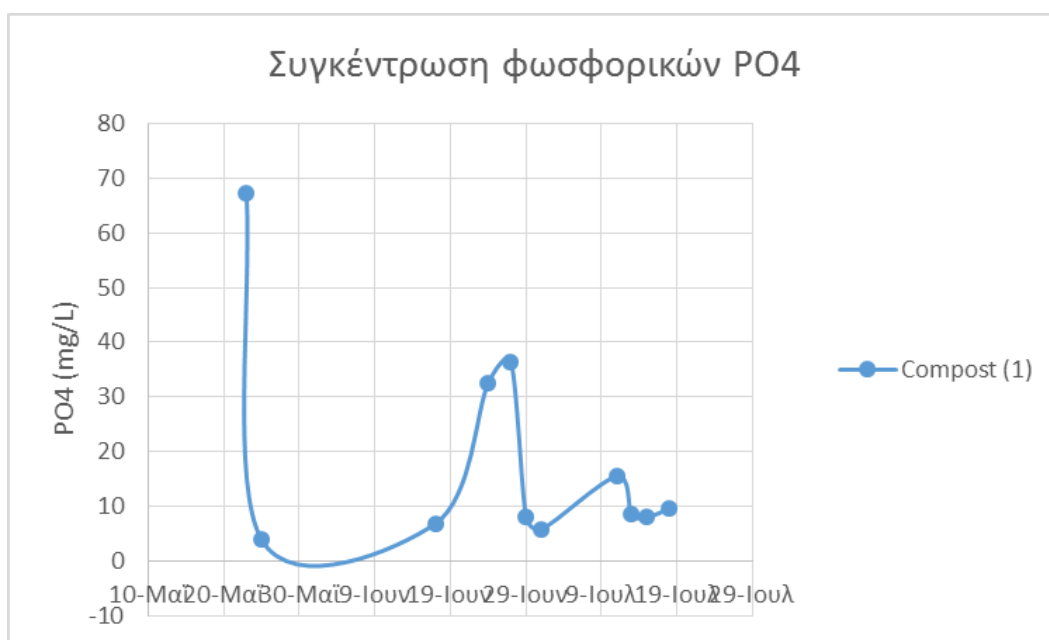
Φυτόχωμα Β					
	NH4	PO4	NH4:PO4	Αριθμός Φυτών	Δ% πληθυσμού
4/7/2016	ίχνη	17,69826		122	
11/7/2016	ίχνη	21,56673	0,0%	182	25,5%
13/7/2016	4,153846	13,92005	29,8%	209	14,8%
15/7/2016	3,423077	13,7911	24,8%	207	-1,0%
18/7/2016	3,230769	13,98453	23,1%	223	7,7%

Φυτόχωμα Β + NH4					
	NH4	PO4	NH4:PO4	Αριθμός Φυτών	Δ% πληθυσμού
13/7/2016	60,44188	15,08059	400,8%	138	
15/7/2016	57,45071	15,27402	376,1%	192	39,1%
18/7/2016	46,16587	14,50032	318,4%	187	-2,6%
1/8/2016	21,08	25,33	83,2%	231	23,5%

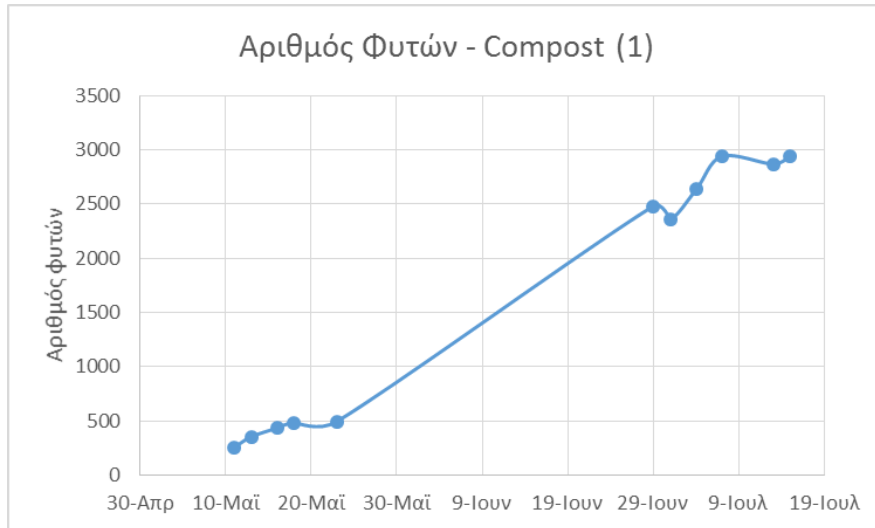
Η πορεία της συγκέντρωσης αμμωνιακών και φωσφορικών ιόντων στα διαλύματα παρουσιάζεται στα διαγράμματα που ακολουθούν.



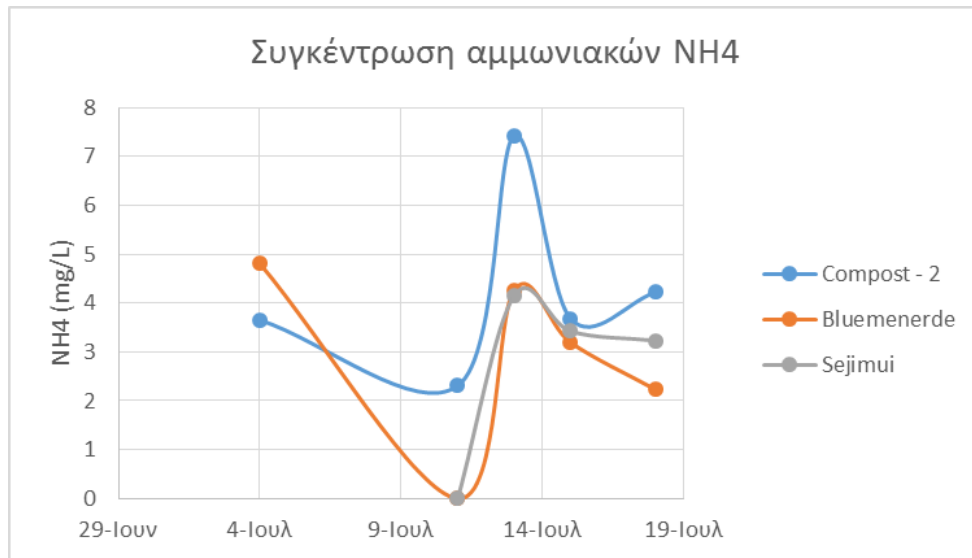
Στο αρχικό υπόστρωμα τύπου compost φαίνεται πως υπάρχουν αρκετές διακυμάνσεις στην συγκέντρωση των αμμωνιακών ιόντων. Η αρχική τιμή της αυξάνεται, λόγω πιθανώς της διάχυσης των αμμωνιακών ιόντων από το υπόστρωμα στο νερό. Στη συνέχεια η συγκέντρωση μειώνεται συγκλίνοντας στο μηδέν.



Η συγκέντρωση των φωσφορικών ακολουθεί μια ταλάντωση με συνεχώς μειούμενο πλάτος. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη νέκρωση και σήψη των φύλλων η οποία συνεπάγεται την απελευθέρωση θρεπτικών ουσιών συμπεριλαμβανομένου και του φωσφόρου. Τελικά, η συγκέντρωση φωσφορικών ιόντων φαίνεται να τείνει σε μια τιμή κοντά στα 10 mg/L, για το συγκεκριμένο υπόστρωμα Compost A.

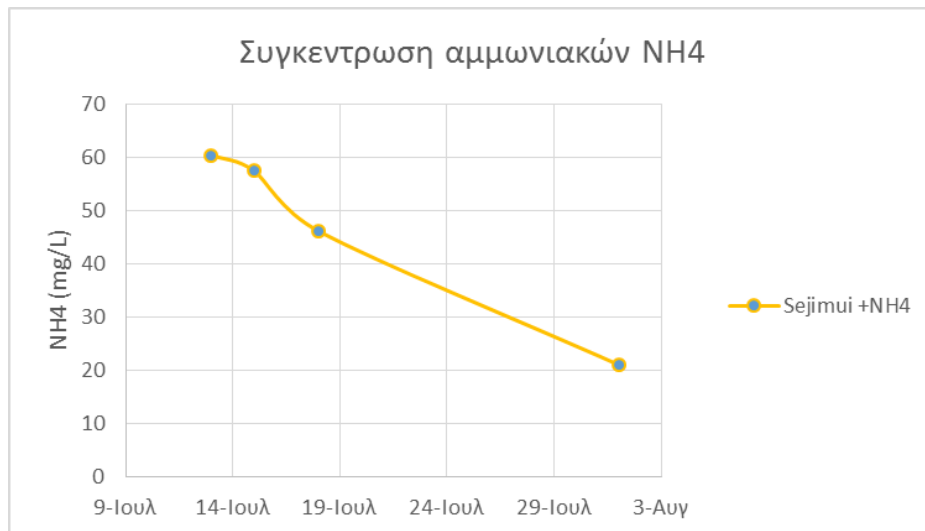


Ο αριθμός των φυτών αρχικά αυξάνεται με μικρό ρυθμό λόγω εγκλιματισμού στο νέο περιβάλλον. Στη συνέχεια αυξάνεται μέχρι την επίτευξη κάλυψης της επιφάνειας του δοχείου με ένα στρώμα φυτών. Στη συνέχεια ο ρυθμός παραγωγής νέων φυτών μειώνεται ξανά, πιθανώς λόγω εξάντλησης των θρεπτικών συστατικών.

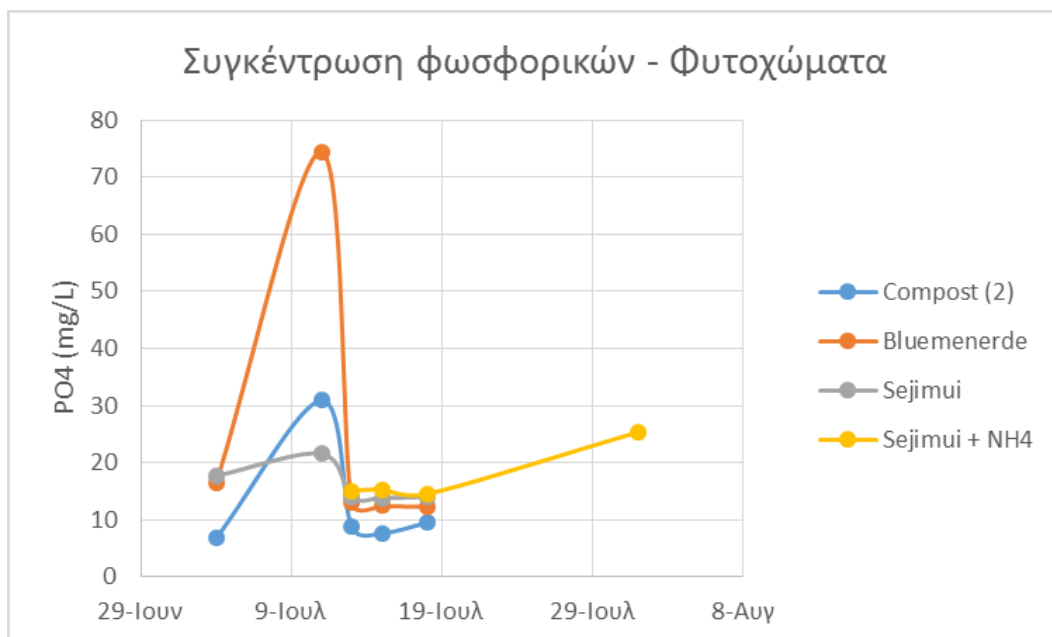


Και στα τρία διαλύματα φυτοχωμάτων, η αρχική συγκέντρωση αμμωνιακών μειώνεται. Ακολουθεί αύξηση η οποία μπορεί να οφείλεται στην απελευθέρωση θρεπτικών συστατικών από το φυτόχωμα. Στη συνέχεια και πάλι ακολουθεί μείωση.

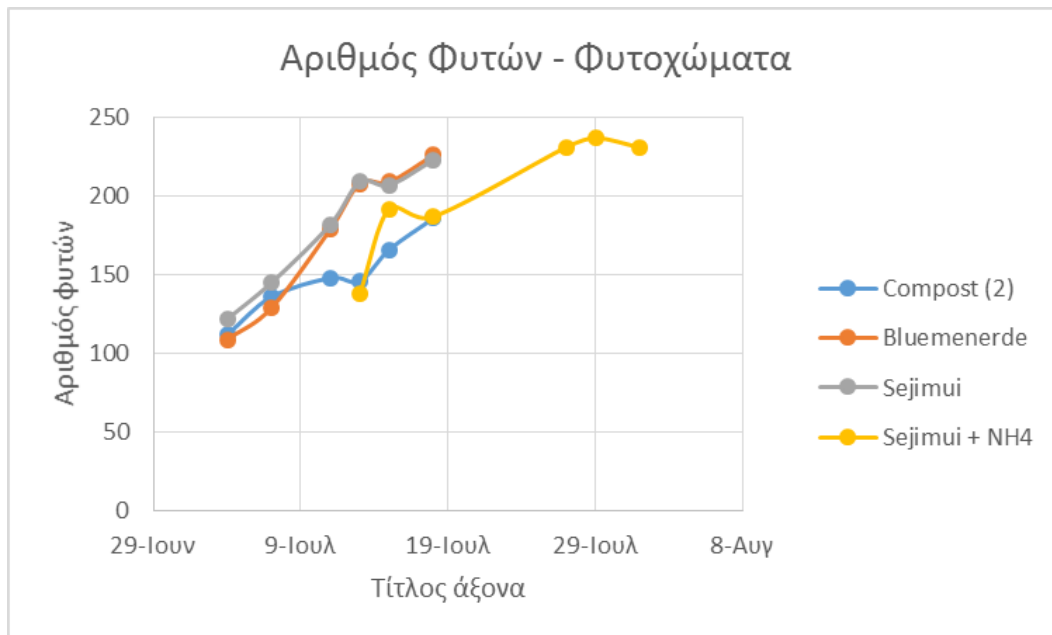




Η συγκέντρωση των αμμωνιακών είναι συνεχώς φθίνουσα στο διάλυμα με προσθήκη Sejimui + 50mg/L αμμωνιακών, αρχικά με μικρότερο ρυθμό καθώς τα φυτά βρίσκονται στο στάδιο του εγκλιματισμού.



Και τα τέσσερα φυτοχώματα εμφανίζουν αύξηση φωσφορικών ιόντων στο διάλυμα, πιθανώς λόγω διάχυσης των φωσφορικών του φυτοχώματος. Στη συνέχεια ακολουθεί μείωση της συγκέντρωσης και διατήρησης της τιμής σε ένα σταθερό επίπεδο (περίπου 8-15 mg/L). Το εμπλουτισμένο με αμμωνιακά φυτόχωμα, παρασκευάστηκε αργότερα και η αυξητική τάση που παρουσιάζει μπορεί να οφείλεται στη αρχική διάχυση φωσφορικών στο μέσο.



Και στα τέσσερα δοχεία διαλύματος με φυτόχωμα, ο αριθμός των φυτών αυξάνεται σχεδόν γραμμικά.

Η εκτίμηση του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου για το διάλυμα compost A πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο C.O.D. Παρατίθεται πίνακας με τα αποτελέσματα της μεθόδου.

Compost - 1	
Αραίωση	COD (mg O <sub>2</sub> /L) (*)
1:15	240
1:10	480
1:05	480

(\*) Για την τελική τιμή του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου έχει ληφθεί υπόψιν η αρχική αραίωση του δείγματος.

Πραγματοποιήθηκε εκτίμηση του φαινολικού περιεχομένου στα δοχεία που περιείχαν Compost (A και B), φυτόχωμα A και φυτόχωμα B. Το φαινολικό περιεχόμενο και στα τρία διαλύματα προέκυψε ίσο με το μηδέν.

Προσδιορισμός περιεχομένου αζώτου και φωσφόρου στο φυτό *Lemna minor*

Κατά την ανάπτυξη του φυτού *L. minor* στο υπόστρωμα compost 1, και καθώς τα φυτά δημιούργησαν μια στιβάδα στην επιφάνεια του δοχείου, ξεκίνησε η απομάκρυνση των νεκρών φυτών. Τα νεκρά φυτά καταμετρούνταν και τοποθετήθηκαν σε φούρνο στους 95 °C για τουλάχιστον 48 ώρες και στη συνέχεια σε ξηραντήρα. Ένα μέρος των ξηρών νεκρών

φυτών βάρους 0,1 g χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του περιεχόμενου ολικού αζώτου και φωσφόρου με τη μέθοδο Kjeldahl.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά την διαδικασία αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα

Σύνολο νεκρών φύλλων	1220
Συνολικό βάρος νεκρών ξηρών φύλλων (gr)	0,2679
Μέσο βάρος νεκρού ξηρού φύλλου (gr/φύλλο)	0,00022
Ποσοστό περιεχόμενου ολικού αζώτου (% κατά βάρος επί ξηρής βάσης)	2,4
Ποσοστό περιεχόμενου ολικού φωσφόρου (% κατά βάρος επί ξηρής βάσης)	0,37
Μέσο βάρος περιεχόμενου ολικού αζώτου ανά φύλλο (gr)	5,27E-06
Μέσο βάρος περιεχόμενου ολικού φωσφόρου ανά φύλλο (gr)	8,12E-07

### **2.2.5 ΠΕΙΡΑΜΑ 5**

**Εκτίμηση αποτοξικοποίησης στραγγισμάτων ΧΥΤΑ με τη χρήση τους ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη φυτών *Lemna minor***

Στραγγίσματα ΧΥΤΑ (2) αποτοξικοποιήθηκαν, και υποβλήθηκαν σε κροκίδωση. Συλλέχθηκε δείγμα από το υπερκείμενο διάλυμα, το οποίο αραιώθηκε 20 φορές μέχρι τελικό όγκο 1,22 L. Στη συνέχεια παρατηρήθηκε η ανάπτυξη του φυτού *L. minor* στο διάλυμα.



Στράγγισμα 1



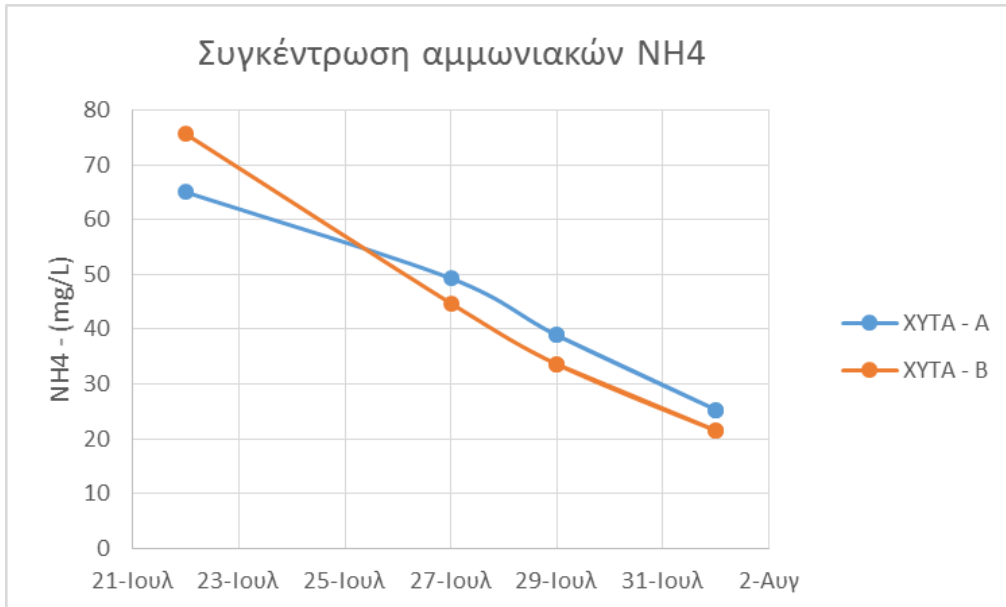
Στράγγισμα 2

Στραγγισμα ΧΥΤΑ – Α					
	NH4	PO4	Αριθμός φυτών	NH4:PO4	Δ% πληθυσμού
22/7/2016	65,06458	25,46099291	100	255,5%	
27/7/2016	49,293	2,959381044	16,65652284	9200,0%	-8,0%
29/7/2016	38,89191	16,627982 (*)	2,338943475	9900,0%	7,6%
1/8/2016	25,3	25,33	0,998815634	10800,0%	9,1%

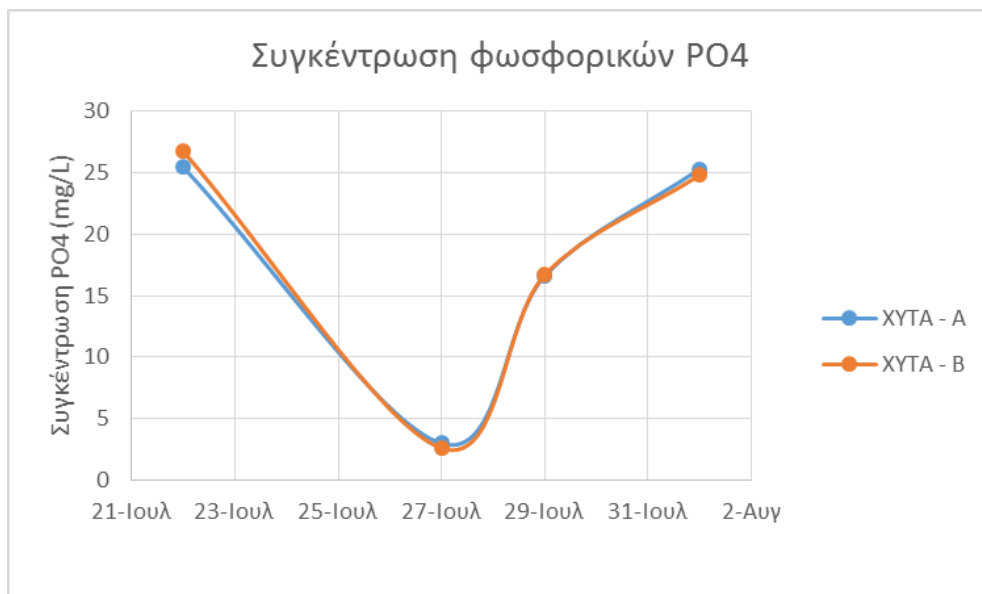
Στραγγισμα ΧΥΤΑ – Β					
	NH4	PO4	Αριθμός φυτών	NH4:PO4	Δ% πληθυσμού
22/7/2016	75,66961	26,75048356	100	282,9%	
27/7/2016	44,73827	2,572533849	17,39074232	8600,0%	-14,0%
29/7/2016	33,5894	16,692446 (*)	2,01225123	9500,0%	10,5%
1/8/2016	21,49	24,82	0,865834005	10300,0%	8,4%

(\*) Προσθήκη 250 ml  $KH_2PO_4$  συγκέντρωσης 20 mg/L στα διαλύματα.

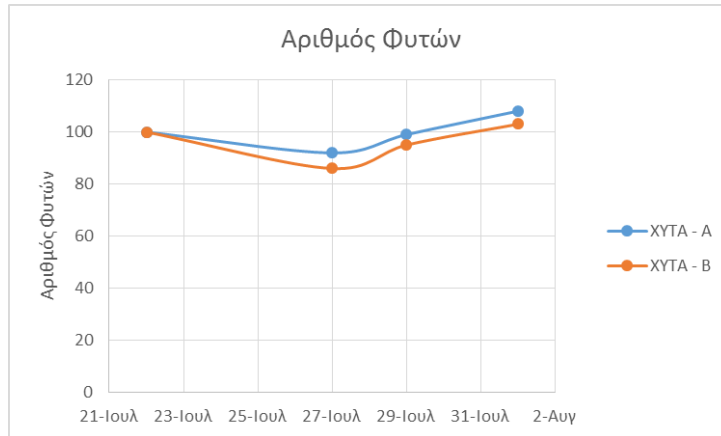
Τα δείγματα Β' και Γ' αναφέρονται στο αρχικό απόβλητο, πριν υποβληθεί σε αποτοξικοποίηση και κροκίδωση. Η πορεία των αμμωνιακών και φωσφορικών ιόντων απεικονίζεται στα παρακάτω διαγράμματα.



Η συγκέντρωση των αμμωνιακών ιόντων φαίνεται να μειώνεται σχεδόν γραμμικά.



Τα φωσφορικά ιόντα, μειώνονται με πολύ γρήγορο ρυθμό.



Ο αριθμός των φυτών αρχικά μειώνεται, κάτι που μπορεί να οφείλεται στην προσαρμογή του φυτού στο περιβάλλον. Στη συνέχεια αυξάνεται με πολύ αργό ρυθμό. Δεν μπορούμε να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα λόγω της μικρής διάρκειας παρατήρησης του συγκεκριμένου πειράματος.

## **2.2.6 ΠΕΙΡΑΜΑ 6**

### **Προσδιορισμός επιρροής επιπέδων σιδήρου και μαγνησίου στην ανάπτυξη φυτών *Lemna minor*.**

Κατασκευάστηκε διάταξη για τον προσδιορισμό του βαθμού επιρροής διαφορετικών συγκεντρώσεων σιδήρου στο υπόστρωμα ανάπτυξης φυτών. Η διάταξη αποτελείται από 10 δοχεία στα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη φυτών *Lemna minor*.

- Σε κάθε δοχείο προστέθηκε αρχικά 1 λίτρο αποβλήτου. (Το απόβλητο προήλθε από την βιομηχανία τροφίμων Tasty). Η μέση τιμή συγκέντρωσης των αμμωνιακών που υπολογίστηκε στο απόβλητο ήταν ίση με 1,56 mg/L ενώ η αντίστοιχη τιμή των φωσφορικών υπολογίστηκε ίση με 7,3 mg/L.
- Στη συνέχεια προστέθηκαν 5,5 mg μαγνησίου σε κάθε δοχείο 1 έως 9. Το δοχείο 10 χρησιμοποιήθηκε σαν τυφλό δείγμα.
- Προστέθηκε ποσότητα σιδήρου (Fe) με αυξανόμενη συγκέντρωση στα δοχεία από 1 έως 9. Συγκεκριμένα οι ποσότητες σε κάθε δοχείο ήταν

Δοχείο	Fe (mg/L)
A	2
B	4
Γ	6
Δ	8
Ε	10
ΣΤ	12
Z	14
H	16
Θ	18
I	0

Το διάλυμα σιδήρου παρασκευάστηκε προσθέτοντας  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  σε 100 ml απιονισμένου νερού. Το τελικό διάλυμα περιείχε 1 mg Fe/ml.

Κατά τη διάρκεια του πειράματος, παρατηρήθηκε πως το pH των διαλυμάτων αυξανόταν συνεχώς, με αποτέλεσμα να βρίσκεται σε αλκαλική περιοχή. Επιχειρήθηκε να διατηρηθεί σε τιμή μικρότερη του 6,8 με την προσθήκη πυκνού θεικού οξέος, καθ' όλη τη διάρκεια ανάπτυξης των φυτών ώστε να αποφευχθεί η κροκίδωση του περιεχόμενου στα διαλύματα σιδήρου.

Ακολουθούν πίνακες με τις τιμές των κύριων παραμέτρων στα διαλύματα ανάπτυξης.

Δοχείο Α							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσμού	Παρατήρηση
21/10/2016				61			Προσθήκη 2 ml διαλύματος FeSO4.H2O (1000 mg/L) Εγκατάσταση φυτών στα δοχεία
24/10/2016	0	6,72469375	0,0%	54	9	-11,5%	Προσθήκη 1 ml διαλύματος Mg (1000 mg/L) Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
26/10/2016	0,95921142	6,63378466	14,5%	68	11	25,9%	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
31/10/2016	1,19714480	5,98259188	20,0%	53	18	-22,1%	
2/11/2016	0,42895989	6,08575113	7,0%	59	16	11,3%	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)



Δοχείο Β							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσμού	Παρατήρηση
21/10/2016				53	0		Προσθήκη 4 ml διαλύματος FeSO4.H2O (1000 mg/L) Εγκατάσταση φυτών στα δοχεία
24/10/2016	0	5,950999355	0	53	21	0	Προσθήκη 2 ml διαλύματος Mg (1000 mg/L) Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
26/10/2016	1,35350102	6,362991618	0,212715	72	26	0,358490566	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
31/10/2016	1,550645819	5,776273372	0,268451	75	39	0,041666667	
2/11/2016	0,585316111	6,111540941	0,095772	95	29	0,266666667	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)

Δοχείο Γ							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσμού	Παρατήρηση
21/10/2016				103	0		Προσθήκη 6 ml διαλύματος FeSO4.H2O (1000 mg/L) Εγκατάσταση φυτών στα δοχεία
24/10/2016	0	6,060606061	0	127	32	0,233009709	Προσθήκη 3 ml διαλύματος Mg (1000 mg/L) Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
26/10/2016	1,163154317	6,066408769	0,191737	156	43	0,228346457	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
31/10/2016	2,726716519	6,169568021	0,441962	145	33	-0,070512821	
2/11/2016	2,753908906	8,039329465	0,342555	187	47	0,289655172	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)

Δοχείο Δ							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσμού	Παρατήρηση
21/10/2016				52	0		Προσθήκη 8 ml διαλύματος FeSO4.H2O (1000 mg/L) Εγκατάσταση φυτών στα δοχεία
24/10/2016	0	6,1379755	0	57	24	0,096153846	Προσθήκη 4 ml διαλύματος Mg (1000 mg/L) Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
26/10/2016	0,64649898	6,279174726	0,102959	78	22	0,368421053	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
31/10/2016	2,18966689	5,821405545	0,376141	85	31	0,08974359	
2/11/2016	2,5635622	6,001934236	0,427123	87	31	0,023529412	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)

Δοχείο Ε							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO 4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσ μού	Παρατήρηση
21/10/20 16				67	0		Προσθήκη 10 ml διαλύματος FeSO4.H2O (1000 mg/L) Εγκατάσταση φυτών στα δοχεία
24/10/20 16	0	5,306254 03	0	53	18	- 0,20895 5224	Προσθήκη 5 ml διαλύματος Mg (1000 mg/L) Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
26/10/20 16	0,8504 41876	5,866537 718	0,14496 487	66	23	0,24528 3019	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
31/10/20 16	0,6397 00884	5,473243 069	0,11687 785	89	23	0,34848 4848	
2/11/201 6	0,4017 67505	5,763378 466	0,06971 042	101	24	0,13483 1461	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)

Δοχείο ΣΤ							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσμού	Παρατήρηση
21/10/2016				86	0		Προσθήκη 12 ml διαλύματος FeSO4.H2O (1000 mg/L) Εγκατάσταση φυτών στα δοχεία
24/10/2016	0	5,377176015	0	75	24	-0,127906977	Προσθήκη 6 ml διαλύματος Mg (1000 mg/L) Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
26/10/2016	1,142760027	5,763378466	0,19828	105	24	0,4	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
31/10/2016	1,17675051	5,009026435	0,234926	100	29	-0,047619048	
2/11/2016	0,789259007	5,460348162	0,144544	98	30	-0,02	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)

Δοχείο Z							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσμού	Παρατήρηση
21/10/2016				87	0		Προσθήκη 14 ml διαλύματος FeSO4.H2O (1000 mg/L) Εγκατάσταση φυτών στα δοχεία
24/10/2016	0	5,931657	0	87	20	0	Προσθήκη 7 ml διαλύματος Mg (1000 mg/L) Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
26/10/2016	0,578518015	5,50548034	0,10508	112	19	0,287356322	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
31/10/2016	3,066621346	5,7311412	0,53508	141	32	0,258928571	
2/11/2016	2,454792658	5,09284333	0,482008	116	32	-0,177304965	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)

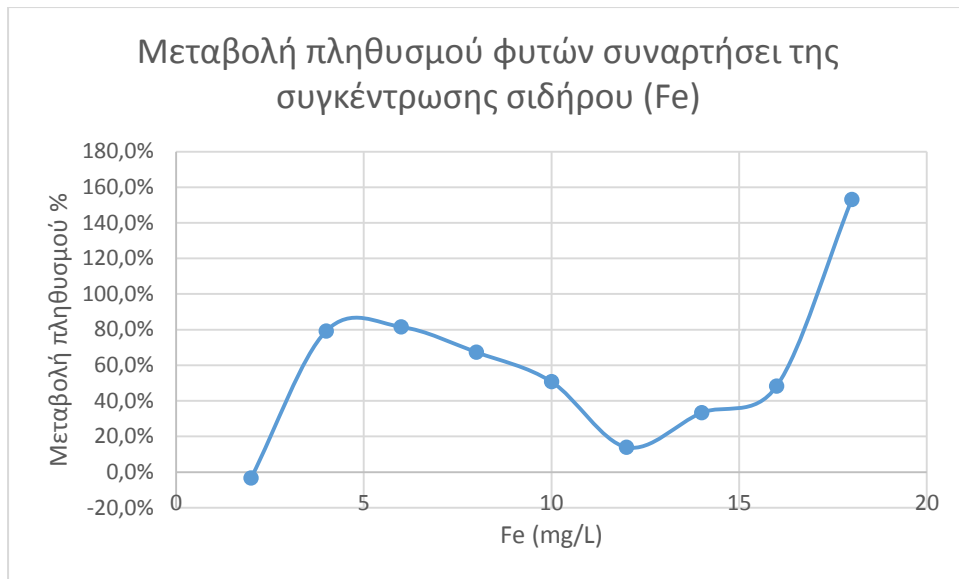
Δοχείο Η							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσμού	Παρατήρηση
21/10/2016				89	0		Προσθήκη 16 ml διαλύματος FeSO4.H2O (1000 mg/L) Εγκατάσταση φυτών στα δοχεία
24/10/2016	0	5,480335268	0	82	24	-0,078651685	Προσθήκη 8 ml διαλύματος Mg (1000 mg/L) Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
26/10/2016	0,836845683	5,756931012	0,145363	117	26	0,426829268	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
31/10/2016	2,821889871	5,918117344	0,476822	141	30	0,205128205	
2/11/2016	3,426920462	5,627981947	0,608908	132	35	-0,063829787	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)

Δοχείο Θ							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσμού	Παρατήρηση
21/10/2016				81	0		Προσθήκη 18 ml διαλύματος FeSO4.H2O (1000 mg/L) Εγκατάσταση φυτών στα δοχεία
24/10/2016	0,21	6,389426177	0,032867	131	43	0,617283951	Προσθήκη 9 ml διαλύματος Mg (1000 mg/L) Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
26/10/2016	0,972807614	5,737588652	0,16955	161	43	0,229007634	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)
31/10/2016	3,236573759	5,163765313	0,626786	180	45	0,118012422	
2/11/2016	3,732834806	5,299161831	0,70442	205	49	0,138888889	Προσθήκη 5 ml διαλύματος ουρίας (1000 mg/L)



Δοχείο Ι							
	NH4 (mg/L)	PO4 (mg/L)	NH4:PO4	Ζωντανά φυτά	Νεκρά φυτά	Δ% πληθυσμού	Παρατήρηση
21/10/2016				73	0		Στο συγκεκριμένο δοχείο δεν έγινε καμία προσθήκη σιδήρου (Fe), μαγνησίου (Mg) ή διαλύματος ουρίας.
24/10/2016	0	7,788523533	0	92	18	0,260273973	
26/10/2016	0	7,433268859	0	87	32	-0,054347826	
31/10/2016	0,211420802	6,298517086	0,033567	92	34	0,057471264	
2/11/2016	0,204622706	6,150225661	0,033271	110	38	0,195652174	

Συνολική μεταβολή πληθυσμού στα δοχεία	
Δοχείο	Δ% πληθυσμού
A	-3,3%
B	79,2%
Γ	81,6%
Δ	67,3%
E	50,7%
ΣΤ	14,0%
Z	33,3%
H	48,3%
Θ	153,1%
I	50,7%



Η μεγαλύτερη ανάπτυξη πληθυσμού συνολικά παρατηρήθηκε στο δοχείο Θ όπου η αρχική συγκέντρωση σιδήρου ήταν 18 mg/L (μέγιστη).

### **2.2.7 ΠΕΙΡΑΜΑ 7**

**Προσδιορισμός της επίδρασης του λόγου αζώτου/φωσφόρου (N/P) στην ανάπτυξη φυτών *Lemna minor*.**

Κατασκευάστηκε διάταξη 10 δοχείων για τον προσδιορισμό της επίδρασης του λόγου αζώτου/φωσφόρου στην ανάπτυξη των φυτών *Lemna minor*. Οι αναλογίες N/P που διερευνήθηκαν ήταν οι εξής:

<b>Δοχείο</b>	<b>Αναλογία Αζώτου/Φωσφόρου</b>
1	0,5/1
2	1/1
3	2/1
4	3/1
5	4/1
6	5/1
7	6/1
8	7/1
9	Πρότυπο διάλυμα
10	Τυφλό δείγμα

Σε κάθε δοχείο προστέθηκε:

- ποσότητα 1 λίτρου νερού βρύσης
- φωσφορικά ιόντα 5mg
- ποσότητα αμμωνιακών ιόντων η οποία κυμάνθηκε στα δοχεία 1 έως 8 από 2,5 mg αμμωνιακών έως και 35 mg
- ποσότητα σιδήρου ίση με 18 mg
- ποσότητα μαγνησίου 5 mg.

Δοχείο A					
	4/11/2016	7/11/2016	9/11/2016	11/11/2016	13/11/2016
NH <sub>4</sub> (mg/L)	0	0,04	0	0	
PO <sub>4</sub> (mg/L)	0	4,428755642	4,531914894	4,390070922	
Ζωντανά φυτά	60	75	92	86	96
Νεκρά φυτά	18	30	17	27	11
Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)	2,5	2,5	2,5	5	
Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)	5	0	0	0	
NH <sub>4</sub> που καταναλώθηκε (mg)	0	2,46	2,541672129	2,500115453	
Μέση κατανάλωση NH <sub>4</sub> ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)	0	0,01092735	0,013813435	0,014535555	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	0,000122244	0,000203741	0,000115453	0,000183366	
Ολικό NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	2,500122244	2,541672129	2,500115453	5,000183366	
PO <sub>4</sub> που καταναλώθηκε (mg)	0	0,571244358	- 0,103084515	0,141886323	

<b>Μέση κατανάλωση PO4 ανά φυτό (mg/TMX*ημέρα)</b>	0	0,007616591	- 0,001120484	0,001649841	
<b>PO4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)</b>	4,48421E-05	7,47368E-05	4,23509E-05	6,72632E-05	
<b>Ολικό PO4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)</b>	5,000044842	4,428830378	4,531957244	4,390138185	
<b>Παρατηρήσεις</b>	Προσθήκη 18 ml διαλύματος FeSO4.7H2O	Προσθήκη 4 ml διαλύματος Mg		Προσθήκη 5 ml διαλύματος FeSO4.7HO	

<b>Δοχείο Β</b>					
	<b>4/11/2016</b>	<b>7/11/2016</b>	<b>9/11/2016</b>	<b>11/11/2016</b>	<b>13/11/2016</b>
<b>NH4 (mg/L)</b>	0	0,259007478	0	0	
<b>PO4 (mg/L)</b>	0	4,067698259	4,712443585	4,016118633	
<b>Ζωντανά φυτά</b>	44	54	41	53	56
<b>Νεκρά φυτά</b>	19	28	28	31	15
<b>Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)</b>	5	5	5	10	
<b>Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)</b>	5	0	0	0	
<b>NH4 που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	4,741121558	5,259197636	4,72078839	
<b>Μέση κατανάλωση NH4 ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)</b>	0	0,029266182	0,064136557	0,04453574	

<b>NH4+ που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)</b>	0,000129036	0,000190158	0,000190158	0,000210532	
<b>Ολικό NH4+ που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)</b>	5,000129036	5,259197636	5,000190158	10,2796123	
<b>PO4 που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	0,932301741	- 0,644675571	0,696394706	
<b>Μέση κατανάλωση PO4 ανά φυτό (mg/TMX*ημέρα)</b>	0	0,017264847	- 0,015723794	0,013139523	
<b>PO4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)</b>	4,73333E-05	6,97544E-05	6,97544E-05	7,72281E-05	
<b>Ολικό PO4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)</b>	5,000047333	4,067768014	4,712513339	4,016195861	
<b>Παρατηρήσεις</b>	Προσθήκη 18 ml διαλύματος FeSO4.7H2O	Προσθήκη 4 ml διαλύματος Mg		Προσθήκη 5 ml διαλύματος FeSO4.7HO	

<b>Δοχείο Γ</b>					
	<b>4/11/2016</b>	<b>7/11/2016</b>	<b>9/11/2016</b>	<b>11/11/2016</b>	<b>13/11/2016</b>
<b>NH4 (mg/L)</b>	0	0,388171312	0,51053705	1,798	
<b>PO4 (mg/L)</b>	0	4,190199871	4,654416505	3,983881367	
<b>Ζωντανά φυτά</b>	144	142	180	163	167
<b>Νεκρά φυτά</b>	41	64	71	93	37
<b>Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)</b>	10	10	10	20	

Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)	5	0	0	0	
NH4 που καταναλώθηκε (mg)	0	9,612107133	9,878068909	8,713019236	
Μέση κατανάλωση NH4 ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)	0	0,022563632	0,02743908	0,026727053	
NH4+ που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	0,000278445	0,000434646	0,000482186	0,000631596	
Ολικό NH4+ που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	10,00027845	10,38860596	10,51101924	21,7986316	
PO4 που καταναλώθηκε (mg)	0	0,809800129	-0,4640572	0,670712016	
Μέση κατανάλωση PO4 ανά φυτό (mg/TMX*ημέρα)	0	0,005702818	-0,0025781	0,004114798	
PO4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	0,00010214	0,000159439	0,000176877	0,000231684	
Ολικό PO4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	5,00010214	4,19035931	4,654593383	3,984113051	
Παρατηρήσεις	Προσθήκη 18 ml διαλύματος FeSO4.7H2O	Προσθήκη 4 ml διαλύματος Mg		Προσθήκη 5 ml διαλύματος FeSO4.7HO	

<b>Δοχείο Δ</b>					
	<b>4/11/2016</b>	<b>7/11/2016</b>	<b>9/11/2016</b>	<b>11/11/2016</b>	<b>13/11/2016</b>
<b>NH4 (mg/L)</b>	0	0,3133922 5	0,60571040 1	2,26444595 5	
<b>PO4 (mg/L)</b>	0	4,1901998 7	4,47388781 4	4,15796260 5	
<b>Ζωντανά φυτά</b>	92	132	157	159	133
<b>Νεκρά φυτά</b>	40	53	49	52	35
<b>Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)</b>	15	15	15	30	
<b>Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)</b>	5	0	0	0	
<b>NH4 που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	14,686879 4	14,7080417 9	13,3415972 2	
<b>Μέση κατανάλωση NH4 ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)</b>	0	0,0370880 8	0,04684089 7	0,04195470 8	
<b>NH4+ που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)</b>	0,00027165 4	0,0003599 4	0,00033277 6	0,00035315	
<b>Ολικό NH4+ που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)</b>	15,0002716 5	15,313752 2	15,6060431 8	32,2647991 1	
<b>PO4 που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	1,1321727 9	- 0,60592857 1	0,31604728	

Μέση κατανάλωση ΡΟ4 ανά φυτό (mg/ΤΜΧ*ημέρα )	0	0,0085770 7	- 0,00385941 8	0,00198771 9	
ΡΟ4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	9,96491E-05	0,0001320 4	0,00012207	0,00012954 4	
Ολικό ΡΟ4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	5,00009964 9	3,8679592 4	4,47400988 4	4,15809214 9	
Παρατηρήσεις	Προσθήκη 18 ml διαλύματος FeSO4.7H2O	Προσθήκη 4 ml διαλύματος Mg		Προσθήκη 5 ml διαλύματος FeSO4.7HO	

Δοχείο Ε					
	4/11/2016	7/11/2016	9/11/2016	11/11/2016	13/11/2016
NH4 (mg/L)	0	0,4017675 1	0,94561522 8	2,70632223	
ΡΟ4 (mg/L)	0	4,0612508 1	4,66086395 9	4,04835589 9	
Ζωντανά φυτά	75	97	99	99	87
Νεκρά φυτά	25	32	36	42	16
Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)	20	20	20	40	
Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)	5	0	0	0	
NH4 που καταναλώθηκε (mg)	0	19,598402 3	19,4563696	18,2395374 9	



Μέση κατανάλωση NH4 ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)	0	0,0673484 6	0,09826449 3	0,09211887 6	
NH4+ που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	0,00016978	0,0002173 2	0,00024448 9	0,00028523 7	
Ολικό NH4+ που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	20,0001698	20,401984 8	20,9458597 2	42,7066074 7	
PO4 που καταναλώθηκε (mg)	0	0,9387491 9	-0,59953343	0,61259774 4	
Μέση κατανάλωση PO4 ανά φυτό (mg/TMX*ημέρα)	0	0,0096778 3	-0,00605589	0,00618785 6	
PO4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	6,2281E-05	7,9719E-05	8,96842E-05	0,00010463 2	
Ολικό PO4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	5,00006228	4,0613305 3	4,66095364 3	4,04846053 1	
Παρατηρήσεις	Προσθήκη 18 ml διαλύματος FeSO4.7H2O	Προσθήκη 4 ml διαλύματος Mg		Προσθήκη 5 ml διαλύματος FeSO4.7HO	

Δοχείο ΣΤ					
	4/11/2016	7/11/2016	9/11/2016	11/11/2016	13/11/2016
NH4 (mg/L)	0	0,49694085 7	1,7545887 2	1,3535010 2	
PO4 (mg/L)	0	3,77111540 9	4,7059961 3	4,3191489 4	

<b>Ζωντανά φυτά</b>	85	105	124	112	84
<b>Νεκρά φυτά</b>	37	47	35	34	9
<b>Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)</b>	25	25	25	50	
<b>Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)</b>	5	0	0	0	
<b>NH4 που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	24,5033104 2	23,742671 3	25,401325 4	
<b>Μέση κατανάλωση NH4 ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)</b>	0	0,07778828 7	0,0957365 8	0,1133987 7	
<b>NH4+ που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)</b>	0,00025128	0,00031919 4	0,0002377	0,0002309 1	
<b>Ολικό NH4+ που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)</b>	25,0002513	25,4972600 5	26,754826 4	51,353731 9	
<b>PO4 που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	1,22888459 1	-0,9347636	0,3869343 9	
<b>Μέση κατανάλωση PO4 ανά φυτό (mg/TMX*ημέρα )</b>	0	0,01170366 3	-0,0075384	0,0034547 7	
<b>PO4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)</b>	9,2175E-05	0,00011708 8	8,7193E-05	8,4702E-05	
<b>Ολικό PO4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)</b>	5,00009218	3,77123249 7	4,7060833 2	4,3192336 4	

Παρατηρήσεις	Προσθήκη 18 ml διαλύματος FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Προσθήκη 4 ml διαλύματος Mg		Προσθήκη 5 ml διαλύματο ς FeSO <sub>4</sub> .7HO	
--------------	--	--------------------------------------	--	--	--

Δοχείο Z					
	4/11/2016	7/11/2016	9/11/2016	11/11/2016	13/11/2016
NH <sub>4</sub> (mg/L)	0	0,62610469 1	1,0271923 9	2,93745751 2	
PO <sub>4</sub> (mg/L)	0	3,68085106 4	4,5512572 5	4,18375241 8	
Ζωντανά φυτά	58	88	114	102	89
Νεκρά φυτά	49	69	59	43	14
Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)	30	30	30	60	
Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)	5	0	0	0	
NH <sub>4</sub> που καταναλώθηκε (mg)	0	29,3742280 9	29,599380 9	28,0901355 6	
Μέση κατανάλωση NH <sub>4</sub> ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)	0	0,11126601 5	0,1298218 5	0,13769674 3	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	0,00033278	0,00046860 3	0,0004006 9	0,00029202 8	
Ολικό NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	30,0003328	30,6265732 9	31,027593 1	62,9377495 4	
PO <sub>4</sub> που καταναλώθηκε (mg)	0	1,31914893 6	- 0,8702342 9	0,36765181 8	

Μέση κατανάλωση ΡΟ4 ανά φυτό (mg/ΤΜΧ*ημέρα )	0	0,014990329	- 0,00763363	0,00360443	
ΡΟ4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	0,00012207	0,000171895	0,00014698	0,000107123	
Ολικό ΡΟ4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	5,00012207	3,681022959	4,55140424	4,183859541	
Παρατηρήσεις	Προσθήκη 18 ml διαλύματος FeSO4.7H2O	Προσθήκη 4 ml διαλύματος Mg		Προσθήκη 5 ml διαλύματος FeSO4.7HO	

Δοχείο Η					
	4/11/2016	7/11/2016	9/11/2016	11/11/2016	13/11/2016
NH4 (mg/L)	0	0,755268525	1,76818491	3,494901428	
ΡΟ4 (mg/L)	0	3,835589942	4,84139265	4,157962605	
Ζωντανά φυτά	97	149	160	153	148
Νεκρά φυτά	34	60	49	51	20
Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)	35	35	35	70	
Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)	5	0	0	0	
NH4 που καταναλώθηκε (mg)	0	34,24496238	33,9874911	33,27361626	

Μέση κατανάλωση NH4 ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)	0	0,07661065 4	0,1062109 1	0,10873730 8	
NH4+ που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	0,00023090 6	0,00040748 1	0,0003327 8	0,00034635 9	
Ολικό NH4+ που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	35,0002309 1	35,7556760 1	36,768517 7	73,4952477 9	
PO4 που καταναλώθηκε (mg)	0	1,16441005 8	- 1,0056532	0,68355211 5	
Μέση κατανάλωση PO4 ανά φυτό (mg/TMX*ημέρα )	0	0,00781483 3	- 0,0062853	0,00446766 1	
PO4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	8,47018E- 05	0,00014947 4	0,0001220 7	0,00012705 3	
Ολικό PO4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	5,00008470 2	3,83573941 6	4,8415147 2	4,15808965 7	
Παρατηρήσεις	Προσθήκη 18 ml διαλύματος FeSO4.7H2 O	Προσθήκη 4 ml διαλύματος Mg		Προσθήκη 5 ml διαλύματος FeSO4.7HO	

Δοχείο Θ					
	4/11/2016	7/11/2016	9/11/2016	11/11/2016	13/11/2016
NH4 (mg/L)	0	5,6363018 4	5,92182189	7,55336505 8	
PO4 (mg/L)	0	5,2604771 1	7,18181818 2	5,6344294	

<b>Ζωντανά φυτά</b>	186	177	146	168	
<b>Νεκρά φυτά</b>	54	64	72	52	
<b>Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)</b>	0	0	0	0	
<b>Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)</b>	0	0	0	0	
<b>NH4 που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	- 5,6359351	- 0,28508541	- 1,63105419	
<b>Μέση κατανάλωση NH4 ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)</b>	0	- 0,0106138	- 0,00097632	- 0,00485433	
<b>NH4+ που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)</b>	0,0003667 3	0,0004346 5	0,00048897 7	0,00035315	
<b>Ολικό NH4+ που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)</b>	0,0003667 3	5,6367364 8	5,92231086 7	7,55371820 8	
<b>PO4 που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	- 5,2604771	- 1,92118163	1,54756815	
<b>Μέση κατανάλωση PO4 ανά φυτό (mg/TMX*ημέρα)</b>	0	- 0,0297202	- 0,01315878	0,00921171 5	
<b>PO4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)</b>	0,0001345 3	0,0001594 4	0,00017936 8	0,00012954 4	
<b>Ολικό PO4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)</b>	0,0001345 3	5,2606365 5	7,18199755	5,63455894 4	

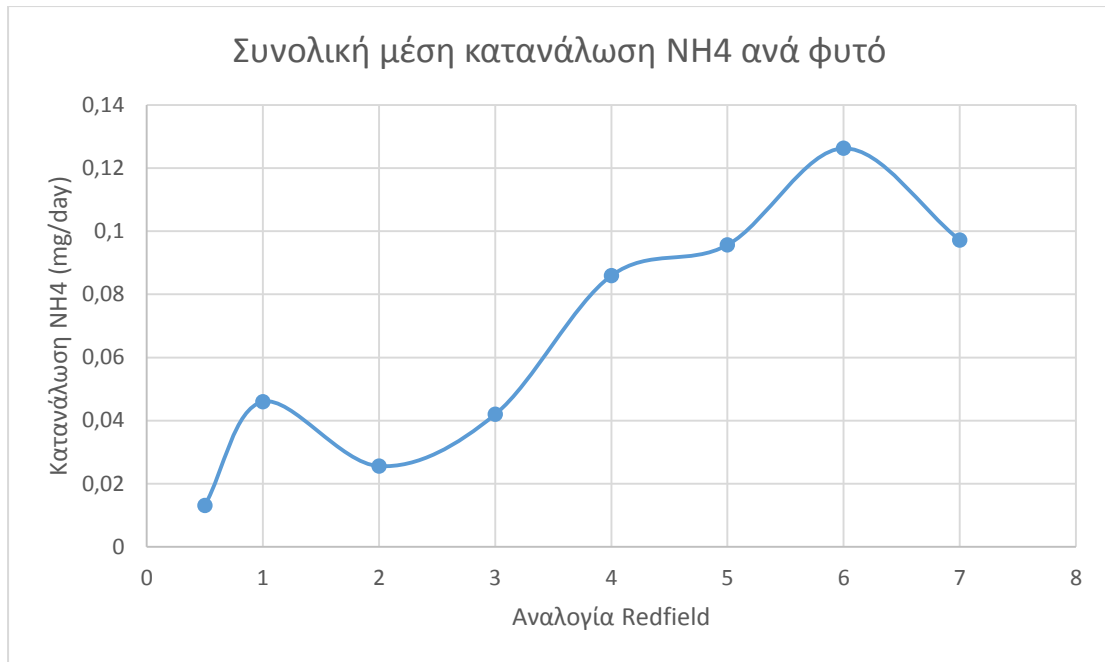
<b>Παρατηρήσεις</b>	Καμία προσθήκη ουρίας, φωσφόρου, σιδήρου και μαγνησίου στο συγκεκριμένο δοχείο
---------------------	--

<b>Δοχείο Ι</b>					
	<b>4/11/2016</b>	<b>7/11/2016</b>	<b>9/11/2016</b>	<b>11/11/2016</b>	<b>13/11/2016</b>
<b>NH<sub>4</sub> (mg/L)</b>	0	0,78925901	0	0,26580557	
<b>PO<sub>4</sub> (mg/L)</b>	0	7,86524823	7,4719536	7,3172147	
<b>Ζωντανά φυτά</b>	127	112	122	111	
<b>Νεκρά φυτά</b>	43	78	74	71	
<b>Προσθήκη διαλύματος ουρίας (ml/L)</b>	0	0	0	0	
<b>Προσθήκη διαλύματος φωσφορικών ιόντων (ml/L)</b>	0	0	0	0	
<b>NH<sub>4</sub> που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	- 0,78896698	0,7897887	- 0,26530301	
<b>Μέση κατανάλωση NH<sub>4</sub> ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρ)</b>	0	- 0,00234812	0,0032368	- 0,00119506	
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup> που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)</b>	0,00029203	0,00052973	0,0005026	0,00048219	
<b>Ολικό NH<sub>4</sub><sup>+</sup> που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)</b>	0,00029203	0,78978873	0,0005026	0,26628776	
<b>PO<sub>4</sub> που καταναλώθηκε (mg)</b>	0	- 7,86524823	0,393489	0,15492323	

Μέση κατανάλωση PO4 ανά φυτό (mg/TMX*ημέρα)	0	- 0,07022543	0,0032253	0,0013957	
PO4- που διαχέεται από νεκρά φυτά (ml/L)	0,00010712	0,00019432	0,0001844	0,00017688	
Ολικό PO4- που διαχέεται στο υπόστρωμα (ml/L)	0,00010712	7,86544254	7,4721379	7,31739158	
Παρατηρήσεις	Καμία προσθήκη ουρίας, φωσφόρου, σιδήρου και μαγνησίου στο συγκεκριμένο δοχείο				

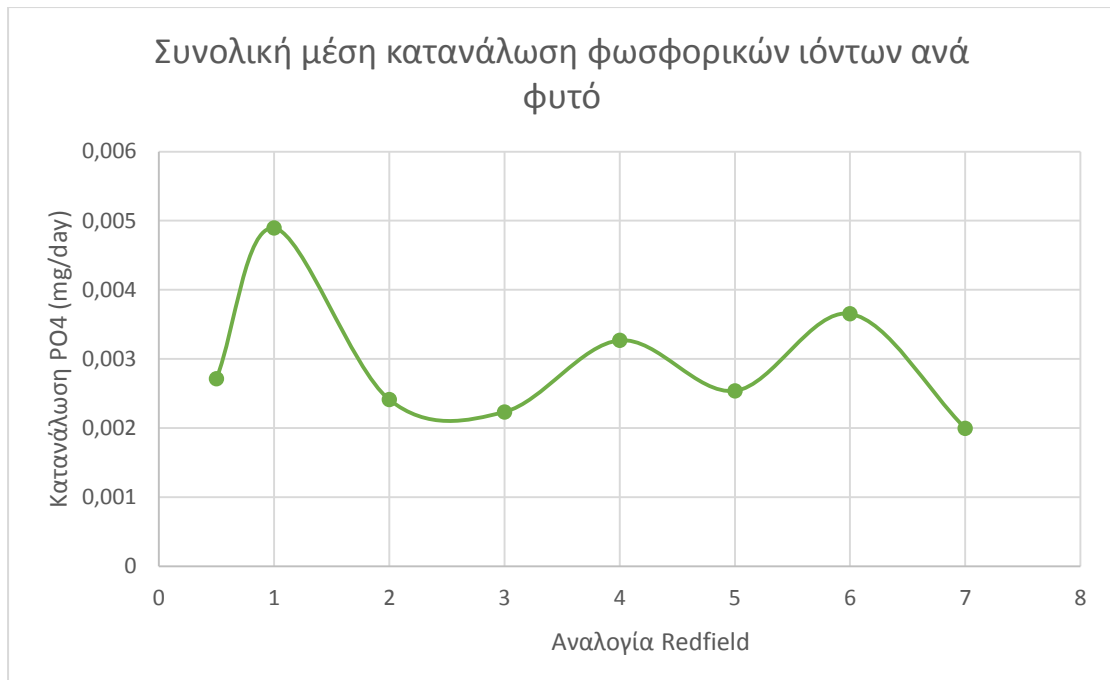
		7/11/2016	9/11/2016	11/11/2016		
Δοχείο	Λόγος Redfield	Μέση κατανάλωση NH4 ανα φύλλο (mg/TMX*ημέρα)	Μέση κατανάλωση NH4 ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρα)	Μέση κατανάλωση NH4 ανά φύλλο (mg/TMX*ημέρα)	Ολική μέση κατανάλωση NH4 ανά φυτό (mg/TMX*ημέρα)	Ολική μέση κατανάλωση NH4 ανά κιλό ξηρής μάζας φυτών (mg)
A	0,5	0,01092735	0,013813435	0,014535555	0,013092114	59509,60745
B	1	0,029266182	0,064136557	0,04453574	0,045979493	208997,6947
Γ	2	0,022563632	0,02743908	0,026727053	0,025576588	116257,2196
Δ	3	0,037088079	0,046840897	0,041954708	0,041961228	190732,856
E	4	0,067348461	0,098264493	0,092118876	0,08591061	390502,7736
ΣΤ	5	0,077788287	0,095736578	0,113398774	0,095641213	434732,7865
Z	6	0,111266015	0,129821846	0,137696743	0,126261535	573916,0675
H	7	0,076610654	0,10621091	0,108737308	0,097186291	441755,8664
Θ	0	- 0,010613814	- -0,00097632	- 0,004854328	- 0,005481487	- 24915,85089
I	0	- 0,002348116	- 0,003236839	- 0,001195059	- 0,000102112	- 464,1447945





Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων η μέση ανά τεμάχιο κατανάλωση αμμωνίας αυξάνεται σε σχέση με την αναλογία Redfield. Η μέγιστη κατανάλωση παρατηρήθηκε για αναλογία αζώτου – φωσφόρου ίση με 6.

Δοχείο	Λόγος Redfield	7/11/2016 Μέση κατανάλωση ΡΟ4 ανα φυτό (mg/ ΤΜΧ*ημέρα)	9/11/2016 Μέση κατανάλωση ΡΟ4 ανά φυτό (mg/ΤΜΧ*η μέρα)	11/11/2016 Μέση κατανάλωση ΡΟ4 ανά φυτό (mg/ΤΜΧ*η μέρα)	Ολική μέση κατανάλωση ΡΟ4 ανά φυτό (mg/ΤΜΧ*η μέρα)	Ολική μέση κατανάλωση ΡΟ4 ανά κιλό ξηρής μάζας φυτών (mg)
A	0,5	0,007616591	- 0,001120484	0,001649841	0,002715316	12342,34628
B	1	0,017264847	- 0,015723794	0,013139523	0,004893525	22243,29604
Γ	2	0,005702818	- 0,002578096	0,004114798	0,002413173	10968,96958
Δ	3	0,008577067	- 0,003859418	0,001987719	0,002235123	10159,64802
E	4	0,009677827	- 0,006055893	0,006187856	0,00326993	14863,31738
ΣΤ	5	0,011703663	- 0,007538416	0,003454771	0,002540006	11545,48134
Z	6	0,014990329	- 0,007633634	0,00360443	0,003653708	16607,76401
H	7	0,007814833	- 0,006285333	0,004467661	0,001999054	9086,607234
Θ	0	-0,02972021	- 0,013158778	0,009211715	0,011222424	-51011,01938
I	0	-0,070225431	- 0,003225319	0,001395705	0,021868135	-99400,61584



Η αναλογία Redfield δεν φαίνεται να προκαλεί κάποια τάση επιρροής όσον αφορά την απορρόφηση ιόντων φωσφόρου στο πείραμα που διεξήχθη.

### 3. Συμπεράσματα

Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων που προκύπτουν κατά την πειραματική διαδικασία, προκύπτουν κάποια συμπεράσματα σχετικά με τα χαρακτηριστικά, τη χρήση και τις παραμέτρους ανάπτυξης του υδροχαρούς φυτού *Lemna minor*.

Αναλυτικότερα, κατά την ανάπτυξη του φυτού σε απόβλητο βιομηχανίας τροφίμων, παρατηρήθηκε ότι ενώ παρουσίασε υψηλή ικανότητα απορρόφησης αμμωνιακών ιόντων, δεν διαπιστώθηκε το ίδιο για τα φωσφορικά ιόντα. Είναι πιθανή η συμβολή της υψηλής τιμής pH του διαλύματος σε αυτό το φαινόμενο καθώς δρα παρεμποδιστικά όταν η τιμή του βρίσκεται στην αλκαλική περιοχή και πιο συγκεκριμένα για τιμές μεγαλύτερες του 7.2. Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά τη διάρκεια όλων των πειραμάτων, το pH στα απόβλητα και μέσα ανάπτυξης είχε ανοδική τάση φτάνοντας σε τιμές μεγαλύτερες ακόμα και του 9.

Στη συνέχεια, κατά την ανάπτυξη του φυτού σε αντιδραστήρα συνεχούς ροής, παρατηρήθηκε έντονη παρουσία άλγης με ταυτόχρονη αναστολή της ανάπτυξης του φυτού. Λόγω της ανταγωνιστικής δράσης μεταξύ άλγης και μακρόφυτων είναι πιθανόν η ανάπτυξη της να έδρασε ως παράγοντας παρεμπόδισης στην ανάπτυξη του φυτού. Ως λύση προτείνεται η εξ αρχής κάλυψη μεγάλου μέρους της επιφάνειας του μέσου καλλιέργειας (>50%) ώστε να ανακόπτεται η πορεία του ηλιακού φωτός στα βαθύτερα στρώματα νερού και να αναστέλεται η ανάπτυξη άλγης.

Κατά την καλλιέργεια του φυτού σε compost, παρατηρήθηκε υψηλός ρυθμός ανάπτυξης του *L. minor* καθώς επίσης και μεγάλη απόδοση στην απορρόφηση αμμωνιακών και φωσφορικών ιόντων το οποίο επιβεβαιώνει τις ιδιότητές του ως κατάλληλο φυτό για την χρήση του σε τριτογενή επεξεργασία αποβλήτων. Επίσης υπολογίστηκε το μέσο βάρος των νεκρών ξηρών φύλλων *L. minor* ίσο με 0,00022 gr και το περιεχόμενο ποσοστό αζώτου (2,4%) και φωσφόρου (0,37%) σύμφωνα με τη μέθοδο Kjeldahl.

Κατά την ανάπτυξη *L. minor* σε αποτοξικοποιημένα στραγγίσματα ΧΥΤΑ έγινε εμφανής η ανάγκη προσαρμογής του φυτού καθώς αυτό μεταφέρθηκε από ένα ολιγοτροφικό περιβάλλον σε μέσο με υψηλή συγκέντρωση θρεπτικών συστατικών. Το φυτό απαιτεί ένα χρόνο προσαρμογής μερικών ημερών στις νέες συνθήκες πριν αρχίσει να αναπτύσσεται.

Ακολούθησε η πειραματική διερεύνηση της επίδρασης των συγκεντρώσεων ιόντων σιδήρου και μαγνησίου στον ρυθμό ανάπτυξης του φυτού *L. minor*. Ο σχετικά υψηλότερος ρυθμός ανάπτυξης παρατηρήθηκε για τις τιμές 18 mg/L σιδήρου και 9 mg/L μαγνησίου.

Τέλος, κατά την μελέτη επίδρασης του λόγου Redfield, ο βέλτιστος ρυθμός ανάπτυξης διαπιστώθηκε για αναλογία αζώτου – φωσφόρου ίση με 6.

#### 4. Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων που διεξήχθησαν, ενδιαφέροντα πεδία για περαιτέρω έρευνα θα αποτελούσαν :

- Η μελέτη τριτογενούς επεξεργασίας αποβλήτων σε αντιδραστήρα συνεχούς ροής με ταυτόχρονη ανάπτυξη *Lemna minor* σε συνδυασμό με άλλα φυτά με απορρυπαντικές ιδιότητες.
- Μελέτη αναγκαίου υδραυλικού χρόνου παραμονής αποβλήτου εντός δεξαμενής με *L. minor* για την μείωση των ρυπαντικών δεικτών και συσχετισμός με χαρακτηριστικά του αποβλήτου.
- Διερεύνηση χρήσης του φυτού *L. minor* ως ζωοτροφή, ως λίπασμα ή compost, ή ακόμα και για την παραγωγή βιοκαυσίμου.
- Περιοριστικοί παράγοντες οι οποίοι εμποδίζουν την ανάπτυξη του είδους *L. minor*.
- Μελέτη ανταγωνιστικής δράσης άλλων οργανισμών (άλγη, μικροφύκη, πλαγκτόν, βακτήρια, μύκητες) στο μέσο ανάπτυξης φυτών και τρόποι αντιμετώπισης τους.

## Βιβλιογραφία

- (1) Φώτης Ρήγας, *Εξυγίανση Ρυπασμένων Περιοχών*, 2006
- (2) Lawrence K. Wang, Yung-Tse Hung, Nazih K. Shamas, *Handbook of Advanced Industrial and Hazardous Wastes Treatment*, 2009
- (3) Singh, S.N., Tripathi, R.D., Eds, Springer, Berlin, Heidelberg, *The Role of Macrophytes in Nutrient Removal Using Constructed Wetlands in Environmental Bioremediation Technologies*, 2007
- (4) Yang C.-H. & Crowley D.E., *Rhizosphere Microbial Community Structure in Relation to Root Location and Plant Iron Nutritional Status*, 2000
- (5) Schloter M., Leubner M., Heulin T. & Hartmann A., *Ecology and evolution of bacterial microdiversity*, 2000
- (6) Shoda M., *Bacterial control of plant diseases*, 2000
- (7) Alabouvette C., Olivain C. & Steinberg C., *Biological control of plant diseases*, 2006
- (8) Pinton R., Veranini Z. & Nannipieri P., *The rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*, 2007
- (9) Adams N, Carroll D, Madalinski K, Rock S, Wilson T, Pivetz B, *Introduction to Phytoremediation – United States Protection Agency (USPA)*, 2000
- (10) Gorham, P.R., *Measurement of the response of Lemna to growth-promoting substances*, 1941
- (11) Mohammad R. Hasan, *Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture*, 2009
- (12) Rejmankova E., Blackwell M., Culley D., *Dynamics of Fungal Infection in Duckweeds (Lemnaceae)*, 1986
- (13) Mathis W. N., Edmiston J. M., *Proceedings of the entomological society of Washington*, 2000
- (14) van West, P., Appiah, A.A., Gow, N.A.R., *Advances in research on oomycete root pathogens. Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2003
- (15) Cheng, L. Landesman, B. A. Bergmann, J. J. Classen, J. W. Howard, Y. T. Yamamoto, *Nutrient Removal from Swine Lagoon Liquid by Lemna Minor 8627J*
- (16) J.M. Dalu, J. Ndamba, *Duckweed based wastewater stabilization ponds for wastewater treatment (a low cost technology for small urban areas in Zimbabwe)*, 2003
- (17) Landolt Elias, *Morphological Differentiation and Geographical Distribution of the Lemna Gibba – Lemna Minor Group*, 1975
- (18) C. den Hartog and F. van der Plas, *A synopsis of the Lemnaceae*, 1970
- (19) Steven M. Driever, Egbert H. van Nes \*, Rudi M.M. Roijackers, *Growth limitation of Lemna minor due to high plant density*, 2005

- (20) Karen Gerhardt, Xiao-Dong Huang, Bernard R. Glick, Bruce M. Greenberg, *Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges*, 2009
- (21) Y. Zhao<sup>1,2,3</sup>, Y. Fang<sup>1,2</sup>, Y. Jin<sup>1,2</sup>, J. Huang<sup>1,2</sup>, S. Bao<sup>1,2,3</sup>, T. Fu<sup>1,2</sup>, Z. He<sup>4</sup>, F. Wang<sup>5</sup>, M. Wang<sup>6</sup> & H. Zhao<sup>1,2</sup>, *Pilot-scale comparison of four duckweed strains from different genera for potential application in nutrient recovery from wastewater and valuable biomass production*, 2015
- (22) Γεωργακαράκος Κωνσταντίνος, *Επεξεργασία και Αξιοποίηση Υγρών Λυμάτων Ελαιουργείου*, 2013
- (23) Downing John A., McCauley Edward, *The nitrogen : phosphorus relationship in lakes*, 1992
- (24) Νασιούλα Χρυσοβαλάντου, *Αξιολόγηση Τριφασικής και Διφασικής Μεθόδου Ελαιοποίησης του Ελαιόκαρπου*, 2010
- (25) , Μαρία Κ. Ντούλα, *Ορθές Πρακτικές Διαχείρισης Αποβλήτων Ελαιοτριβείων*, 2010
- (26) Βιδάλη Ελένη, *Ποσοτική και ποιοτική εκτίμηση των στραγγισμάτων από τα απορρίμματα του Χ.Υ.Τ.Α. Άνω Λιοσίων*, 2011,
- (27) Renou S., Givaudan J. G., Poulain S., Dirassouyan F., Moulin P., *Landfill Leachate Treatment: Review and Opportunity*, 2007
- (28) , Ε. Γρηγοροπούλου, *Περιβαλλοντική Μηχανική*, 2007
- (29) Βλυσίδης Απόστολος, *Τεχνικές Επεξεργασίας Υγρών Αποβλήτων*, 2013
- (30) Ιατρού Ευαγγελία, *Μελέτη φωτοδιάσπασης φυτοφαρμάκων και εκτίμηση της συνδυασμένης τοξικότητας τους στη Lemna minor*, 2009
- (31) Θεοδωροπούλου Δαναη, Σαρχάνη Βασιλική, Αθ. Στασινάκης, *Εκτίμηση της τοξικής δράσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων Linuron και Monolinuron με την χρήση του φωτοσυνθετικού οργανισμού Lemna minor*, Μυτιλήνη 2010
- (32) Yong Zhang<sup>1</sup>, Yangbo Hu<sup>1,3</sup>, Baoyu Yang<sup>1</sup>, Fang Ma<sup>1,3</sup>, Pei Lu<sup>1,3</sup>, Lamei Li<sup>1,3</sup>, Chengsong Wan<sup>2</sup>, Simon Rayner<sup>1</sup>, Shiyun Chen<sup>1</sup>, *Duckweed (Lemna minor) as a Model Plant System for the Study of Human Microbial Pathogenesis*, 2010
- (33) Prabha Kumari Padmavathiamma, *Phytoremediation and Metal Speciation in Highway Soils*, 2010
- (34) Σιμόνη Τριανταφυλλίδου, *Μοντελοποίηση Μηχανισμού Φυτοεξυγίανσης Ρυπασμένου Εδάφους από το Εκρηκτικό TNT (2,4,6 – τρινιτροτολουόλιο)*, 2003
- (35) Dushenkov and Kapulnik , *Schematic representation of an aerated rhizofiltration system*, 2000
- (36) Donald H. Les, E. Landolt, D. J. Crawford, *Systematics of the Lemnaceae (duckweeds): inferences from micromolecular and morphological data*, 1997
- (37) K.J. Appenroth, L. Palharini, P. Ziegler, *Low-Molecular Weight Carbohydrates Modulate Dormancy and Are Required for Post-Germination Growth in Turions of Spirodela polyrhiza*, 2012

- (38) Dudley D. Culley Jr., Eliska Rejmánková, Jan Květ, J. B. Frye, *Production, Chemical Quality and Use of Duckweeds (Lemnaceae) in Aquaculture, Waste Management and Animal Feeds*, 1981
- (39) Lenton T.M., Klausmeyer C.A., Co-evolution of phytoplankton C:N:P stoichiometry and the deep ocean N:P ratio, 2006
- (40) Da. Zubeber, *Microbial Colonization of Some Duckweeds Lemnaceae: Examination by Scanning and Transmission Electron and Light Microscopy*, 1983
- (41) R A Leng, J H Stambolie and R Bell, *Duckweed - a potential high-protein feed resource for domestic animals and fish*, 1995
- (42) Β. Γαλάτης, Δ. Γανωτάκης, Κ. Γκανή-Σπυροπούλου, Γ. Καραμπουρνιώτης, Κ. Κοτζαμπάσης, Ελ.-Ι. Κωνσταντινίδου, Ι. Μανέτας, Κ. Α. Ρουμπελάκη-Αγγελάκη, *Φυσιολογία Φυτών, από το μόριο στο περιβάλλον*, 2011
- (43) Leng R. A., *Duckweed: A tiny aquatic plant with enormous potential for agriculture and environment*, 1999
- (44) Gonzalez-Ponce R., Lopez-de-Sa E. G., Plaza C., *Lettuce Response to Phosphorus Fertilization with Struvite Recovered from Municipal Wastewater*, 2009
- (45) Λέγος Στέφανος, *Μελέτη Τοξικότητας Ιλύος Μονάδων Επεξεργασίας Αστικών Υγρών αποβλήτων*, 2011
- (46) Sridhar Susarla, Victor F. Medina, Steven C. McCutcheon, *Phytoremediation: An Ecological Solution to Organic Chemical Contamination*, 1999
- (47) Venant Nihorimbere, Marc Ongena, Maité Smargiassi & Philippe Thonart, *Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health*, 2010
- (48) Center T., Dray A., Jubinsky G., Grodowitz M., *Insects and Other Arthropods that Feed on Aquatic and Wetland Plants*, 1999
- (49) Schroeder K., Martin F., Arthur W. A. M. de Cock, Spies C., Levesque A., Okubara P., Paulitz T., *Molecular Detection and Quantification of Pythium Species: Evolving Taxonomy, New Tools and Challenges*, 2013
- (50) Μ. Χατζάκης, *Αξιολόγηση συστημάτων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων μικρής και μεσαίας κλίμακας*, 2003
- (51) J.B. Mbarga, G. Martijn Ten Hoopen, J. Kuate, A. Adiobo, M.E.L. Ngonkeu, Z. Ambang, A. Akoa, P.R. Tondje, B.A.D. Begoude, *Trichoderma Asperellum: A Potential Biocontrol Agent for Pythium Myriotylum, Casual Agent of Cocoyam (Xanthosoma Sagittifolium) Root Rot Disease in Cameroon*, 2012
- (52) Craine J., Morrow C., Stock W., *Nutrient Concentration Ratios and Co-limitations in South African Grasslands*, 2008
- (53) Garrish V., *Nitrogen to Phosphorus Ratio of Plant Biomass Versus Soil Solution in a Tropical Pioneer Tree, Ficus insipida*, 2010
- (54) Caldwell O. W., *On the Life-History of Lemna minor*, 1899

- (55) Roig A., Cayuela M. L., Sanchez-Monedero M.A., An Overview on Mill Wastes and their Valorisation Methods, 2006
- (56) Βλυσίδης Απόστολος Γ., Μάη Σοφία Θ., Μπαραμπούτη Έλλη Μ. Π., *Βιομηχανική Ρύπανση*, 2015
- (57) Clark P.B., Hillman P.F., Enhancement of Anaerobic Digestion Using Duckweed (*Lemna minor*) Enriched with Iron, 1996
- (58) Kertesz Michael A., Fellows Emma, Schmalenberger Achim, *Rhizobacteria and Plant Sulfur Supply*, 2007
- (59) Leustek Thomas, Martin Melinda N., Bick Julie-Ann, Davies John P., *Pathways And Regulation Of Sulfur Metabolism Revealed Through Molecular And Genetics Studies*, 2000
- (60) Cooke Robert J., Oliver Jane, Davies David D., *Stress and Protein Turnover in Lemna minor*, 1979
- (61) : White Philip J., Hammond John P., *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions*, 2008
- (62) Cerozi Bda S., Fitzsimmons K., *The effect of pH on phosphorus availability and speciation in an aquaponics nutrient solution*, 2016
- (63) Cui W., Cheng J.J., *Growing duckweed for biofuel production: a review*, 2014



## Παράρτημα 1 : Μέθοδοι ανάλυσης

### Μέθοδος προσδιορισμού επιπέδων χημικά απαιτούμενου οξυγόνου COD

Το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο αποτελεί της ποσότητα οξυγόνου που απαιτείται για την οξείδωση ενός αποβλήτου. Για την πλήρη οξείδωση των οργανικών χρησιμοποιείται το διχρωμικό κάλλιο  $K_2Cr_2O_7$  το οποίο αποτελεί ένα ισχυρό οξειδωτικό αντιδραστήριο. Τα οργανικά συστατικά αντιδρούν ανάγοντας το διχρωμικό ιόν σε τρισθενές χρώμιο  $Cr^{+3}$ .

Η διαδικασία μέτρησης χημικά απαιτούμενου οξυγόνου που ακολουθήθηκε απαιτούσε λήψη δύο δειγμάτων για κάθε ανάλυση. Τα δείγματα αποτελούνται από 2,5 ml υγρού που τοποθετούνται σε σωλήνες με πώμα στο οποίο προστίθενται 1,5 ml αντιδραστήριο (διχρωμικό κάλλιο) και 3,5 ml θειικό οξύ. Ακολουθεί θέρμανση των δειγμάτων για δύο ώρες στους 148 °C. Στα δείγματα προστίθενται δύο σταγόνες δείκτη φερροΐνης και ακολουθεί τιτλοδότηση με διάλυμα FAS (σιδηρούχο θειικό αμμώνιο).

Το διάλυμα FAS παρασκευάζεται με την προσθήκη 39,2 γραμμαρίων  $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  και 20 ml θειικού οξέος σε διάλυμα απιονισμένου νερού τελικού όγκου ενός (1 l) λίτρου.

### Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC – FC)

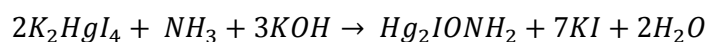
Η μέθοδος προσδιορισμού TPC είναι μια μέθοδος καθορισμού το ολικού φαινολικού περιεχομένου με χρήση του αντιδραστηρίου Folin (FC). Η μέθοδος βασίζεται στην μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ των φαινολικών ενώσεων και του μολυβδαινίου σε αλκαλικές συνθήκες με αποτέλεσμα τη δημιουργία σύμπλοκου μορίου μπλε χρώματος το οποίο επιτρέπει την εκτίμηση των επιπέδων φαινολικού περιεχομένου μέσω της φασματοφωτομετρίας σε συγκεκριμένο μήκος κύματος.

Τα βήματα της μεθόδου περιλαμβάνουν την πρόσληψη δείγματος ποσότητας ίσης με 50 μl. Προστίθενται 2,5 ml αντιδραστήριο Folin και 2 ml  $Na_2CO_3$ . Ακολουθεί φωτομέτρηση στα 765 νανόμετρα.

### Προσδιορισμός επιπέδων αμμωνιακού αζώτου $NH_4$ με τη μέθοδο Nessler

Η αμμωνία ( $NH_3$ ) αποτελεί ένα αέριο σε κανονικές συνθήκες, το οποίο βρίσκεται συχνά διαλυτοποιημένο στα φυσικά νερά και σε απόβλητα. Μπορεί να προέρχεται από οργανικές ενώσεις αζώτου, ενώ κατά την οξείδωσή της από βακτήρια, μετατρέπεται σε νιτρώδη και νιτρικά ιόντα.

Η μέτρηση των επιπέδων αμμωνίας με τη μέθοδο Nessler βασίζεται στην ακόλουθη αντίδραση



Η ουσία KI προσδίδει καφέ-κίτρινο χρώμα στο διάλυμα και είναι το χαρακτηριστικό στο οποίο βασίζεται η μέθοδος Nessler, κατά την οποία το τελικό διάλυμα αποκτά χρώμα κίτρινο έως πορτοκαλί. Το συγκεκριμένο χρώμα προκαλεί απορρόφηση ακτινοβολίας σε μια περιοχή από 400 έως 500 νανόμετρα.

Η μέθοδος βασίζεται στο μόνο Lambert-Beer, κατά τον οποίο η απορρόφηση ακτινοβολίας όταν αυτή διαπερνά ένα διάλυμα, είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του διαλύματος.

Μέσω συγκεκριμένου προγράμματος, κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς στην οποία βασίζονται τα αποτελέσματα της εκάστοτε τιμής απορρόφησης.

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται κατά τη μέθοδο Nessler αναφέρονται παρακάτω:

Αντιδραστήριο Nessler: Σε μικρή ποσότητα νερού, διαλύονται 100 gr  $HgI_2$  και 70 gr KI υπό αργή ανάδευση. Στη συνέχεια προστίθεται σε διάλυμα απιονισμένου νερού, όγκου 500 ml στο οποίο έχουν διαλυθεί 160 gr NaOH. Ακολουθεί αραιώση ως τελικό όγκο 1 λίτρο.

Διάλυμα Rochelle: Χρησιμοποιείται ώστε να εμποδίσει την κατακρήμνιση ασβεστίου ή μαγνησίου μετά την προσθήκη του αλκαλικού αντιδραστηρίου Nessler.

Διάλυμα  $ZnSO_4$ : Διάλυση 100 gr  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  σε ένα λίτρο νερού.

Αμμωνιακό διάλυμα στοκ: 3,819 g άνυδρου  $NH_4Cl$  αποξηραμένου στους  $100^\circ C$  διαλύονται σε 1 λίτρο απιονισμένου νερού.

Πρότυπο αμμωνιακό διάλυμα: 10 ml του αμμωνιακού διαλύματος στοκ αραιώνονται μέχρι τελικό όγκο 1 λίτρο.

#### **Διαδικασία:**

- ➔ Σε δείγμα όγκου 100 ml προστίθεται 1 ml  $ZnSO_4$  και αναμιγνύεται πλήρως. Προστίθεται διάλυμα NaOH 6N μέχρι τελικού pH 10,5.
- ➔ Το δείγμα αφήνεται για μερικά λεπτά (περίπου 10 min) ώστε να καταβυθιστεί το σχηματιζόμενο ίζημα και να προκύψει ένα άχρωμο υπερκείμενο υγρό. Ακολουθεί διήθηση ή φυγοκέντρηση.
- ➔ Λαμβάνονται 10 ml δείγματος και εξετάζεται ώστε να μην παρουσιάζει θολερότητα.
- ➔ Προστίθενται 0,05 ml διαλύματος Rochelle και ακολουθεί ανάδευση.
- ➔ Προστίθενται 0,2 ml αντιδραστηρίου Nessler. Ακολουθεί ανάδευση.
- ➔ Το διάλυμα αφήνεται να αναπτύξει το χρώμα του για ακριβώς 12 λεπτά. Μετά το πέρασ του χρόνου, προσδιορίζεται με φωτομέτρηση η απορρόφηση της ακτινοβολίας που διαπερνά το διάλυμα σε μήκος κύματος 415 nm.
- ➔ Από την τιμή της απορρόφησης εκτιμάται η συγκέντρωση της αμμωνίας στο διάλυμα.

#### **Άζωτο κατά Kjeldahl – Προσδιορισμός ολικού αζώτου**

Κατά με μέθοδο Kjeldahl προσδιορίζεται τόσο η αμμωνία όσο και το οργανικό άζωτο που εμπεριέχεται σε ένα δείγμα. Στο οργανικό άζωτο συμπεριλαμβάνονται οι πρωτεΐνες, τα νουκλεϊκά οξέα, η ουρία και άλλες ουσίες που περιέχουν άζωτο.

Χρησιμοποιήθηκε συσκευή χώνευσης της Hach και η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε αφορούσε στερεό δείγμα.

- ➔ Αρχικά 0,1 gr στερεού δείγματος μεταφέρονται σε φιάλη χώνευσης και αναμιγνύονται με 0,4 ml πυκνού θειικού οξέος.
- ➔ Η θερμοκρασία της συσκευής ρυθμίζεται στους 440°C και όταν η θερμοκρασία επιτευχθεί, ενεργοποιείται η αντλία αναρρόφησης.
- ➔ Τοποθετείται το βαρίδιο, η διαχωριστική στήλη και η χοάνη στο επάνω μέρος της φιάλης, και στη συνέχεια τοποθετείται πάνω στο θερμαντήρα της συσκευής Hach όπου αφήνεται να θερμανθεί.
- ➔ Όταν παρατηρηθεί λευκός ατμός στο εσωτερικό της φιάλης, χρονομετράται η διάρκεια του βρασμού για 4 λεπτά.
- ➔ Μετά το πέρας των τεσσάρων λεπτών, προστίθενται 10 ml υπεροξείδιο του υδρογόνου  $H_2O_2$  (20%). Το δείγμα θερμαίνεται ξανά μέχρι τη στιγμή που δεν παρατηρούνται ατμοί στο εσωτερικό της φιάλης ενώ το χρώμα του θα πρέπει να είναι άχρωμο και διαυγές.
- ➔ Η φιάλη αφήνεται να κρυώσει και ακολουθεί αραιώση του δείγματος έως τελικού όγκου 100 ml.
- ➔ Για την ανάλυση αζώτου, λαμβάνεται δείγμα 20 ml και το pH του ρυθμίζεται μεταξύ των τιμών 7-8 και ακολουθεί μέτρηση με τη μέθοδο Nessler.

### Προσδιορισμός συγκέντρωσης $PO_4^{-3}$ (ορθοφωσφορικών) – Μέθοδος $SnCl_2$

Κατά τη μέθοδο  $SnCl_2$ , σε ένα διάλυμα που περιέχονται ορθοφωσφορικά ιόντα, το μολυβδαινικό αμμώνιο μετατρέπεται σε μολυβδοφωσφορικό οξύ το οποίο στη συνέχεια ανάγεται μέσω του  $SnCl_2$  σε σύμπλοκο μολυβδαινίου. Το συγκεκριμένο σύμπλοκο παρουσιάζει έντονο μπλε χρώμα.

#### Αντιδραστήρια:

#### Διάλυμα μολυβδαινικού αμμωνίου:

Παρασκευάζεται διάλυμα Α με προσθήκη 25 gr  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$  σε 175 ml απιονισμένο νερό. Παρασκευάζεται διάλυμα Β με προσθήκη 280 ml πυκνού θειικού οξέος σε 400 ml απιονισμένου νερού. Τα διαλύματα Α και Β αναμιγνύονται και αραιώνονται ως τελικό όγκο 1 λίτρο.

#### Διάλυμα $SnCl_2$ :

Σε θερμαινόμενο υδατόλουτρο διαλύονται 2,5 gr  $SnCl_2 \cdot 2H_2O$  σε 100 ml γλυκερόλης.

#### Πρότυπο διάλυμα φωσφορικών:

Σε ένα λίτρο απιονισμένο νερό διαλύονται 219,5 gr άνυδρου  $KH_2PO_4$ .

#### Διαδικασία

Σε δείγμα όγκου 50 ml προστίθεται μια σταγόνα δείκτη φαινολοφθαλεΐνης. Αν το χρώμα του δείγματος προκύψει ροζ, το pH του δείγματος βρίσκεται στην αλκαλική περιοχή. Στο δείγμα προστίθεται  $H_2SO_4$  1N μέχρι το pH να γίνει όξινο. Λαμβάνονται 10 ml δείγματος από το προκύπτον και προστίθενται 0,4 ml μολυβδαινικού αμμωνίου και 0,05 ml διαλύματος  $SnCl_2$ .

Το δείγμα αναδεύεται για 10 λεπτά και στη συνέχεια φωτομετράται στα 705 nm.

### **Μέτρηση pH και αγωγιμότητας**

Για την εκτίμηση των τιμών pH και αγωγιμότητας, απαιτείται καλή διασπορά και ομογενοποίηση του μίγματος. Τα διαλύματα αναδεύονταν επαρκώς και οι τιμές pH και αγωγιμότητας λήφθηκαν με τη χρήση pH-μετρου και αγωγιμόμετρου.

Στον πίνακα που ακολουθεί, παρουσιάζεται η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε πείραμα.

## Παράρτημα 2 : Φωτογραφίες

### Φωτογραφίες πειραμάτων

Πείραμα 1 – Καλλιέργεια *L. minor* σε απόβλητο βιομηχανίας τροφίμων

#### Δοχείο A



**25/4/2016**



**27/4/2016**



**9/5/2016**



**11/5/2016**



**13/5/2016**



**16/5/2016**



**18/5/2016**



**23/5/2016**



**25/5/2016**

**Δοχείο Β**



**25/4/2016**



**27/4/2016**



**9/5/2016**



**11/5/2016**





**13/5/2016**



**16/5/2016**



**18/5/2016**



**23/5/2016**



**25/5/2016**

**Δοχείο Γ**



**25/4/2016**



**27/4/2016**



**9/5/2016**



**11/5/2016**



**13/5/2016**



**16/5/2016**



**18/5/2016**



**23/5/2016**



**25/6/2016**

**Δοχείο Δ**



**25/4/2016**



**27/4/2016**



**9/5/2016**



**11/5/2016**



**13/5/2016**



**16/5/2016**



**18/5/2016**



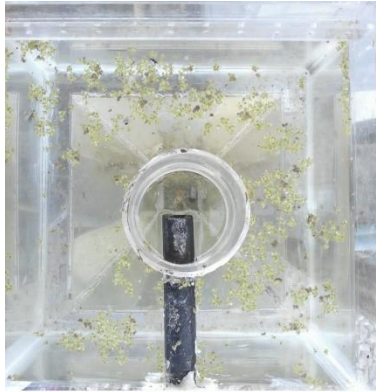
**23/5/2016**



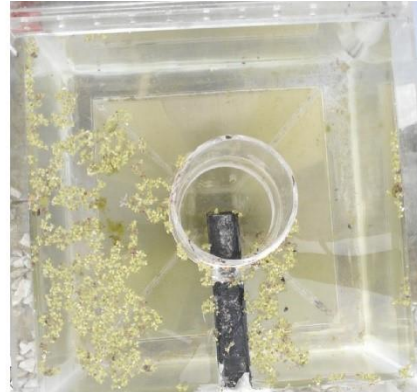
**25/5/2016**



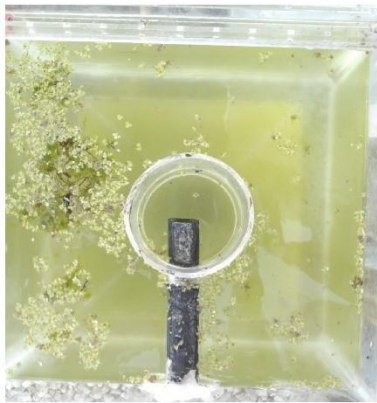
**Πείραμα 2 - Αντιδραστήρας συνεχούς ροής**



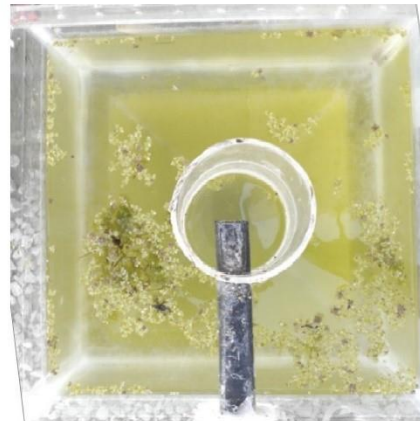
**9/5/2016**



**11/5/2016**



**13/5/2016**



**16/5/2016**

Πείραμα 4 – Καλλιέργεια *L. minor* σε γεωργικά φυτοχώματα

Compost A



**11/5/2016**



**13/5/2016**



**16/5/2016**



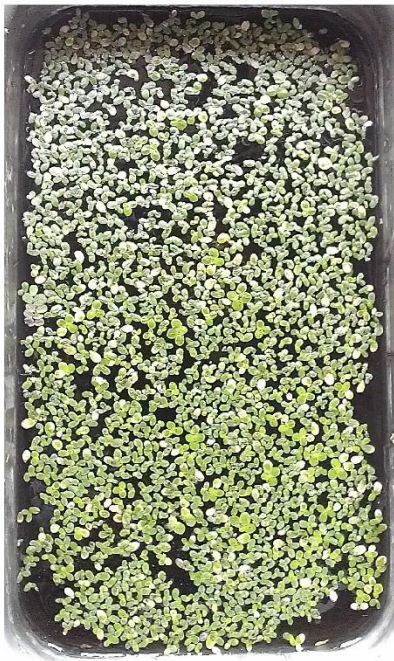
**18/5/2016**



**25/5/2016**



**21/6/2016**



**27/6/2016**



**29/6/2016**



**1/7/2016**



**4/7/2016**



**7/7/2016**



**11/7/2016**



**13/7/2016**



**15/7/2016**



**18/7/2016**



**20/7/2016**

**Compost B**



**1/7/2016**



**4/7/2016**



**7/7/2016**



**11/7/2016**



**13/7/2016**



**15/7/2016**



**18/7/2016**



**20/7/2016**

**Φυτόχωμα Α**



**1/7/2016**



**4/7/2016**



**7/7/2016**



**11/7/2016**





**13/7/2016**



**15/7/2016**



**18/7/2016**



**20/7/2016**

**Φυτόωμα Β**



**1/7/2016**



**4/7/2016**



**7/7/2016**



**11/7/2016**



**13/7/2016**



**15/7/2016**



**18/7/2016**



**20/7/2016**

**Φυτόχωμα Β + εμπλουτισμένο με αμμωνία**



**13/7/2016**



**15/7/2016**



**18/7/2016**



**20/7/2016**

Πείραμα 5 – Ανάπτυξη *L. minor* σε αποτοξικοποιημένα στραγγίσματα ΧΥΤΑ

Στράγγισμα Α



**27/7/2016**



**29/7/2016**



**1/8/2016**

**Στράγγισμα Β**



**21/7/2016**



**29/7/2016**



**1/8/2016**

Πείραμα 6 – Επιρροή επιπέδων σιδήρου και μαγνησίου στην ανάπτυξη *L. minor*

**Δοχείο Α**



**31/10/2016**



**2/11/2016**

**Δοχείο Β**



**31/10/2016**



**2/11/2016**

**Δοχείο Γ**



**31/10/2016**



**2/11/2016**

**Δοχείο Δ**



**31/10/2016**



**2/11/2016**



**Δοχείο Ε**



**31/10/2016**



**2/11/2016**

**Δοχείο ΣΤ**



**31/10/2016**



**2/11/2016**

**Δοχείο Z**



**31/10/2016**



**2/11/2016**

**Δοχείο Η**



**31/10/2016**



**2/11/2016**

**Δοχείο Θ**



**31/10/2016**

**Δοχείο Ι**



**31/10/2016**



**2/11/2016**

Πείραμα 7 – Επίδραση αναλογίας Redfield στην ανάπτυξη *L. minor*

Δοχείο Α



**7/11/2016**



**9/11/2016**



**11/11/2016**

**Δοχείο Β**



**7/11/2016**

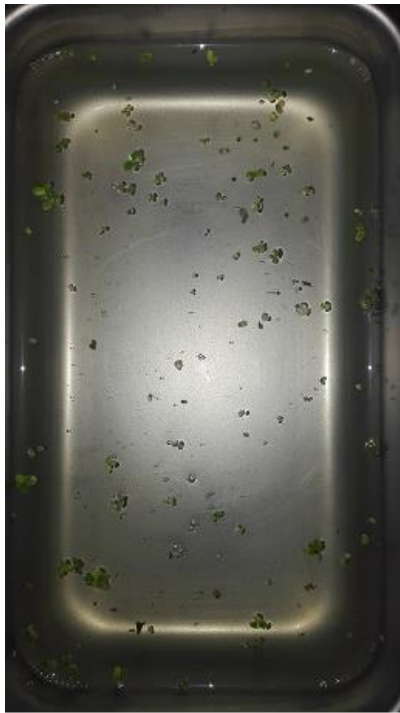


**9/11/2016**



**11/11/2016**

**Δοχείο Γ**



**7/11/2016**

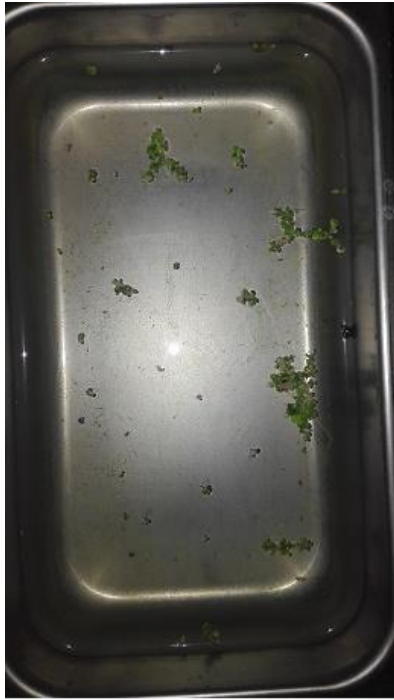


**9/11/2016**



**11/11/2016**

**Δοχείο Δ**



**7/11/2016**



**9/11/2016**



**11/11/2016**

**Δοχείο Ε**



**7/11/2016**



**9/11/2016**



**11/11/2016**



**Δοχείο ΣΤ**



**7/11/2016**



**9/11/2016**



**11/11/2016**

**Δοχείο Z**



**7/11/2016**



**9/11/2016**



**11/11/2016**

**Δοχείο Η**



**7/11/2016**



**9/11/2016**



**11/11/2016**

**Δοχείο Θ**



**7/11/2016**



**9/11/2016**



**11/11/2016**

**Δοχείο Ι**



**7/11/2016**



**9/11/2016**



**11/11/2016**

