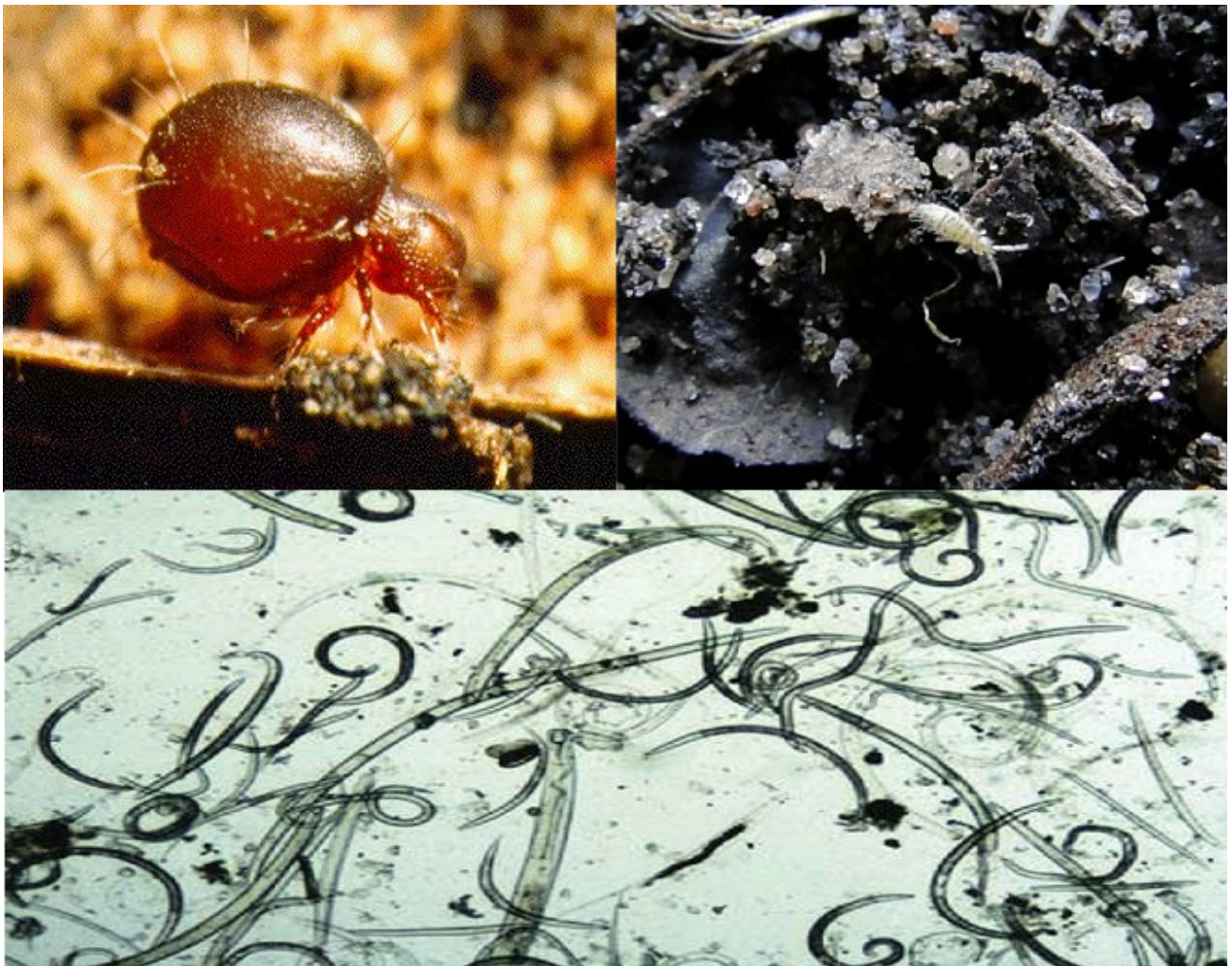


**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΤΩΣΕΩΝ ΤΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΕ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ**  
**ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ**

**Διδακτορική Διατριβή**  
**ΤΟΥ**  
**Λεωνίδα Π. Οικονόμου**



**ΑΘΗΝΑ 2012**



---

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΤΩΣΕΩΝ ΤΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΕ**  
**ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ**

**Διδακτορική Διατριβή**

**του**

**Λεωνίδα Π. Οικονόμου**

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή

Επιβλέπων Καθηγητής : Αράρης Γεράσιμος, Καθηγητής Γ.Π.Α.  
Μέλη : Εμμανουήλ Νικόλαος, Καθηγητής Γ.Π.Α.  
Ασημακόπουλος Ιωάννης, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Εξεταστική επιτροπή

Αράρης Γεράσιμος, Καθηγητής Γ.Π.Α.  
Εμμανουήλ Νικόλαος, Καθηγητής Γ.Π.Α.  
Ασημακόπουλος Ιωάννης, Καθηγητής Γ.Π.Α.  
Φαντινού Αργυρώ, Αναπλ. Καθηγήτρια Γ.Π.Α.  
Παπαδούλης Γεώργιος, Αναπλ. Καθηγητής Γ.Π.Α.  
Οιχαλιώτης Κωνσταντίνος, Επικ. Καθηγητής Γ.Π.Α.  
Σαϊτάνης Κωνσταντίνος, Επικ. Καθηγητής Γ.Π.Α.

**ΑΘΗΝΑ 2012**

“Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα” (Νόμος 5343/32, άρθρο 202, παρ. 2).

## Περιεχόμενα

<b>Πρόλογος – Ευχαριστίες.....</b>	<b>7</b>
<b>Περίληψη.....</b>	<b>9</b>
<b>Summary.....</b>	<b>13</b>
<b>Κεφάλαιο Ι. Γενική εισαγωγή .....</b>	<b>17</b>
<b>I.1. Έδαφος και οργανισμοί του εδάφους.....</b>	<b>19</b>
I.1.1. Έδαφος.....	19
I.1.2. Οι οργανισμοί του εδάφους και ο ρόλος τους.....	20
I.1.3. Οι κυριότεροι οργανισμοί του εδάφους.....	22
1.1.3.1. Βακτήρια.....	27
I.1.3.2. Μύκητες.....	28
I.1.3.3. Νηματώδεις.....	29
I.1.3.3.1. Tylenchida.....	38
I.1.3.3.2. Rhabditida.....	39
I.1.3.3.3. Dorylaimida.....	39
I.1.3.3.4. Mononchida.....	39
I.1.3.3.5. Triplonchida.....	40
I.1.3.3.6. Araeolaimida.....	40
I.1.3.4. Αθρόποδα.....	40
I.1.3.4.1. Ακάρεια.....	42
I.1.3.4.1.1. Oribatida.....	43
I.1.3.4.1.2. Mesostigmata.....	44
I.1.3.4.1.3. Prostigmata.....	45
I.1.3.4.2. Collembola.....	45
I.1.4. Μελέτη των οργανισμών του εδάφους.....	46
<b>I.2. Ρύπανση και οργανισμοί του εδάφους. ....</b>	<b>48</b>
I.2.1. Ρύπανση του εδάφους.....	48
I.2.2. Επιπτώσεις της ρύπανσης στους οργανισμούς του εδάφους.....	50
I.2.3. Μελέτη των επιπτώσεων των ρύπων σε οργανισμούς του εδάφους.....	50
I.2.3.1. Εργαστηριακές βιοδοκιμές.....	51
I.2.3.2. Πρότυπα οικοσυστήματα (μικρόκοσμοι – μεσόκοσμοι).....	52
I.2.3.3. Πειράματα και έρευνα πεδίου.....	54
<b>Κεφάλαιο ΙΙ. Βαρέα μέταλλα και οργανισμοί του εδάφους.....</b>	<b>55</b>
<b>ΙΙ.1. Βαρέα μέταλλα.....</b>	<b>57</b>

<b>II.2. Επίδραση του χαλκού και του καδμίου στην μικροπανίδα του εδάφους (ακάρεα, κολέμβολα, νηματώδεις), καθώς και στην μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους. ....</b>	<b>60</b>
II.2.1. Εισαγωγή.....	60
II.2.2. Υλικά και μέθοδοι.....	61
II.2.3. Αποτελέσματα.....	63
II.2.3.1. Χαλκός.....	63
II.2.3.1.1. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή. ....	63
II.2.3.1.2. Μικροαρθρόποδα.....	64
II.2.3.1.3. Νηματώδεις.....	65
II.2.3.1.1.1. Γένη νηματωδών.....	65
II.2.3.1.3.2. Τροφικές ομάδες νηματωδών.....	68
II.2.3.1.3.3. Δείκτες κοινότητας νηματωδών.....	69
II.2.3.1.3.4. Οικολογικοί δείκτες νηματωδών.....	72
II.2.3.2. Κάδμιο.....	73
II.2.3.2.1. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή.....	73
II.2.3.2.2. Μικροαρθρόποδα .....	74
II.2.3.2.3. Νηματώδεις.....	75
II.2.3.2.3.1. Ταχα νηματωδών.....	75
II.2.3.2.3.2. Τροφικές ομάδες νηματωδών.....	78
II.2.3.2.3.3. Δείκτες κοινότητας νηματωδών.....	79
II.2.3.2.3.4. Οικολογικοί δείκτες νηματωδών.....	82
II.2.4. Συζήτηση.....	83
<b>II.3. Επιπτώσεις της χρόνιας βιομηχανικής ρύπανσης στην περιοχή του Θριασίου Πεδίου, στην μικροπανίδα του εδάφους (ακάρεα, κολέμβολα, νηματώδεις), καθώς και στην μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους.....</b>	<b>89</b>
II.3.1. Εισαγωγή.....	89
II.3.2. Υλικά και μέθοδοι.....	90
II.3.3. Αποτελέσματα. ....	91
II.3.3.1. Χαρακτηριστικά εδαφών και συγκεντρώσεις μετάλλων.....	91
II.3.3.2. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή .....	92
II.3.3.3. Μικροαρθρόποδα.....	93
II.3.3.4. Νηματώδεις.....	94
II.3.3.4.1. Τάξεις – οικογένειες - γένη.....	94
II.3.3.4.2. Τροφικές ομάδες.....	100
II.3.3.4.3. Δείκτες κοινότητας νηματωδών.....	102
II.3.3.4.4. Οικολογικοί δείκτες νηματωδών.....	105
II.3.4. Συζήτηση.....	106

<b>II.4. Γενικά συμπεράσματα κεφαλαίου. ....</b>	<b>112</b>
<b>Κεφάλαιο III. ΥΑΕ και οργανισμοί του εδάφους.....</b>	<b>115</b>
<b>III.1. Υγρά απόβλητα ελαιουργείων.....</b>	<b>117</b>
III.1.1. Γενικά .....	117
III.1.2. Διαχείριση των ΥΑΕ.....	119
III.1.3. Εναπόθεση των ΥΑΕ στο έδαφος.....	121
<b>III.2. Επίδραση των υγρών αποβλήτων ελαιουργίας (ΥΑΕ) μικροπανίδα του εδάφους (ακάρεα, κολέμβολα, νηματώδεις) καθώς και στην μικροβιακή δραστηριότητα σε δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας.....</b>	<b>123</b>
III.2.1. Εισαγωγή.....	123
III.2.2. Υλικά και μέθοδοι.....	125
III.2.3. Αποτελέσματα.....	127
III.2.3.1. Χαρακτηριστικά ΥΑΕ .....	127
III.2.3.2. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή.....	127
III.2.3.3. Μικροαρθρόποδα.....	129
III.2.3.4. Νηματώδεις.....	131
III.2.3.4.1. Γένη νηματωδών.....	131
III.2.3.4.2. Τροφικές ομάδες.....	137
III.2.3.4.3. Δείκτες νηματωδοκοινότητας.....	141
III.2.3.4.4. Οικολογικοί δείκτες νηματωδών.....	147
III.2.4. Συζήτηση.....	151
<b>III.3. Επίδραση των υγρών αποβλήτων ελαιουργείων στην αναπαραγωγή καθώς και σε πιθανή συμπεριφορά αποφυγής του <i>Folsomia candida</i> (Collebola: Entomobryidae). ....</b>	<b>159</b>
III.3.1. Εισαγωγή.....	159
III.3.2. Υλικά και μέθοδοι.....	163
III.3.2.1. Χαρακτηριστικά ΥΑΕ.....	163
III.3.2.2. Εκτροφή <i>F. candida</i> .....	163
III.3.2.3. Πειράματα παρεμπόδισης αναπαραγωγής.....	165
III.3.2.3. Πειράματα αποφυγής.....	166
III.3.3. Αποτελέσματα.....	167
III.3.3.1. Χαρακτηριστικά ΥΑΕ.....	167
III.3.3.2. Παρεμπόδιση αναπαραγωγής.....	167
III.3.3.3. Αποφυγή.....	169
III.3.4. Συζήτηση.....	170
<b>III.4. Γενικά συμπεράσματα Κεφαλαίου.....</b>	<b>175</b>

<b>Παράρτημα Α. Γενική μεθοδολογία .....</b>	<b>179</b>
A.1. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματο αναπνοή .....	181
A.2. Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση μικροαρθροπόδων.....	183
A.3. Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση νηματωδών.....	184
<b>Παράρτημα Β. Φωτογραφίες.....</b>	<b>189</b>
<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>199</b>



## Πρόλογος – Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οικολογίας και Προστασίας του Περιβάλλοντος, του τμήματος Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και χρηματοδοτήθηκε με υποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών.

Αντικείμενο της διατριβής είναι η μελέτη των επιπτώσεων των ρύπων σε οργανισμούς του εδάφους. Οι ανθρώπινες κοινωνίες στην σύγχρονη βιομηχανική εποχή παράγουν ένα τεράστιο φορτίο ρύπων, σημαντικό ποσοστό των οποίων, καταλήγει στο έδαφος, υποβαθμίζοντας την ποιότητά του. Οι ρύποι που μελετήθηκαν ως προς τις επιπτώσεις τους στους οργανισμούς του εδάφους είναι τα βαρέα μέταλλα, και τα υγρά απόβλητα των ελαιουργείων. Τα βαρέα μέταλλα είναι ένα ιδιαίτερα σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα στην σύγχρονη εποχή, λόγω της απελευθέρωσης του στο περιβάλλον από αρκετές ανθρώπινες δραστηριότητες, της τοξικότητάς τους, καθώς και της εμμονής τους στο εδαφικό περιβάλλον. Τα υγρά απόβλητα των ελαιουργείων, η διαχείρισή τους και οι επιπτώσεις τους στο περιβάλλον είναι σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα σε χώρες με σημαντική παραγωγή ελαιολάδου όπως η Ελλάδα. Οι οργανισμοί του εδάφους είναι σημαντικός παράγοντας της λειτουργίας του εδάφους και η σωστή λειτουργία του εδαφικού οικοσυστήματος είναι άμεσα συνδεδεμένη με την ποιότητα και την υγεία του εδάφους. Η παρούσα διατριβή φιλοδοξεί, εκτός από τις επιπτώσεις των ρύπων στους οργανισμούς του εδάφους να εξετάσει και το ενδεχόμενο χρήσης τους ως δείκτες της υγείας και της ποιότητας του οικοσυστήματος.

Ολοκληρώνοντας την διατριβή μου, αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω μια σειρά από ανθρώπους που συνέβαλαν με τον ένα ή με τον άλλο τρόπο στην προσπάθεια αυτή.

Τον καθηγητή κ. Γ. Αράπη, για την τιμή που μου έκανε να με δεχθεί ως υποψήφιο διδάκτορα στο εργαστήριο Οικολογίας και Προστασίας του Περιβάλλοντος, την ανάθεση του θέματος, για την εποικοδομητική συνεργασία, καθώς και για την συμπαράσταση και κατανόηση που είχα σε όλα τα στάδια εκπόνησης της μελέτης αυτής. Τον καθηγητή κ. Νικόλαο Εμμανουήλ και τον τ. καθηγητή κ. Ι. Ασημακόπουλο για την συμμετοχή τους στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή. Τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Κ. Οιχαλιώτη, για την συμμετοχή του στην επταμελή εξεταστική επιτροπή, καθώς και την πολύτιμη βοήθειά του τόσο στον σχεδιασμό των πειραμάτων, όσο και την εκμάθηση των τεχνικών της μικροβιακής οικολογίας. Τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Γ. Παπαδούλη, την αναπληρώτρια καθηγήτρια κ. Α. Φαντινού, και τον επίκουρο καθηγητή κ. Κ. Σαϊτάνη για την συμμετοχή τους στην επταμελή εξεταστική επιτροπή.

Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω τον Δρα κ. Κ. Κολιοπάνο για τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέδωσε για τους νηματώδεις, που ήταν το κίνητρο να ασχοληθώ με τους

οργανισμούς αυτούς. Την Δρα Αντωνία Ρήγα-Καρανδινου, καθώς και τους συνάδελφους Δρα Μ. Φουντουλάκη, Δρα Ε. Καπαξίδη, Ε. Νικοπούλου, Δρα Σ. Αντωνάτο, Φ. Μυλωνά και Α. Μανδουλάκη για την εν γένει βοήθειά τους. Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Οικολογίας και Προστασίας του Περιβάλλοντος, καθώς και τους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές, για συνεισφορά τους την δημιουργία ενός εξαιρετικού κλίματος στον χώρο του εργαστηρίου, τόσο απαραίτητου για την ευχάριστη και αποδοτική εργασία μου.

Τέλος, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, τους γονείς μου Περικλή και Γεωργία, καθώς και την αδελφή μου Μαρία, που στάθηκαν δίπλα μου σε όλες τις επιλογές της ζωής μου, για την αμέριστη συμπαράσταση τους και σε αυτήν την προσπάθειά μου.

Λεωνίδας Π. Οικονόμου

Γεωπόνος MSc

## Περίληψη

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκαν οι επιπτώσεις της ρύπανσης από βαρέα μέταλλα καθώς και από υγρά απόβλητα ελαιουργείων (ΥΑΕ) σε οργανισμούς του εδάφους (νηματώδεις, μικροαρθρόποδα, μικροβιακή δραστηριότητα). Το ερευνητικό μέρος της διατριβής χωρίζεται σε δύο κεφάλαια.

Στο πρώτο κεφάλαιο διεξήχθησαν δυο μελέτες. Στην πρώτη μελέτη εξετάσθηκε σε εδαφικούς μεσόκοσμους, η επίδραση της προσθήκης χαλκού (σε δόσεις 100, 500 και 1000 mg/Kg) και καδμίου (σε δόσεις 20, 100 και 200 mg/Kg) σε οργανισμούς της εδαφικής πανίδας (νηματώδεις, ακάρεα, Collembola) καθώς και στην εδαφική μικροβιακή δραστηριότητα. Η προσθήκη χαλκού μείωσε τόσο την βασική όσο και την επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή, χωρίς όμως σαφή δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Επίσης οι πληθυσμοί των μικροαρθρόποδων μειώνονταν με την δόση του χαλκού, εκτός των Prostigmata των οποίων οι πληθυσμοί μειώθηκαν μόνο στις δυο υψηλότερες δόσεις. Η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς των περισσότερων γενών των νηματωδών, καθώς και τους πληθυσμούς όλων των τροφικών ομάδων στις δυο υψηλότερες δόσεις. Ακόμα στις δυο υψηλότερες δόσεις του χαλκού, μειώθηκε ο δείκτης ωριμότητας της νηματωδοκοινοότητας (MI), καθώς και ο ολικός δείκτης νηματωδοκοινοότητας (ΣΜΙ), ενώ ο ολικός δείκτης της νηματωδοκοινοότητας πλην ευκαιριακών νηματωδών (ΣΜΙ<sub>2-5</sub>), μειώθηκε μόνο στην υψηλότερη δόση του χαλκού. Οι δείκτες φυτοπαρασιτικής νηματωδοκοινοότητας (PPI), δομής (SI), οδού αποσύνθεσης (CI) και θεμελιώδους κατάστασης (BI) της νηματωδοκοινοότητας δεν επηρεάσθηκαν από την προσθήκη χαλκού, ενώ ο δείκτης εμπλουτισμού (EI) αυξήθηκε με την προσθήκη χαλκού. Η προσθήκη χαλκού στην δόση των 500mg/Kg αύξησε την τιμή του δείκτη ποικιλότητας του Shannon (H') και του δείκτη αφθονίας του Margalef (R1). Ο δείκτης ισομέρειας του Hill (E5) αυξήθηκε στην δόση των 1000mg/Kg ενώ στην δόση των 500mg/Kg μειώθηκε η τιμή του δείκτη κυριαρχίας του Simpson (λ). Η προσθήκη καδμίου μείωσε την βασική και την επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή. Οι πληθυσμοί των ακάρεων μειώνονταν με την δόση του καδμίου ενώ το κάδμιο μείωσε και τους πληθυσμούς των Collembola, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ των δόσεων. Αν και αρκετά γένη νηματωδών δεν επηρεάσθηκαν σημαντικά, οι πληθυσμοί όλων των τροφικών ομάδων μειώθηκαν στις δυο υψηλότερες δόσεις. Οι δείκτες ΣΜΙ, ΣΜΙ<sub>2-5</sub> και SI μειώθηκαν μόνο στην υψηλότερη δόση του καδμίου, ενώ αντίθετα οι δείκτες MI, EI, CI, BI καθώς και οι δείκτες H', λ, R1, E5 δεν επηρεάσθηκαν από την προσθήκη καδμίου.

Στην δεύτερη μελέτη εξετάσθηκε η επίδραση της ρύπανσης από χρόνιες βιομηχανικές δραστηριότητες στην περιοχή του Θριάσιου Πεδίου σε οργανισμούς του εδάφους. Διενεργήθηκαν δειγματοληψίες, κατά την διάρκεια ενός χρόνου, στην περιοχή του Θριάσιου Πεδίου σε περιοχή πλησίον της βιομηχανικής δραστηριότητας (περιοχή Α) καθώς

και σε περιοχή απομακρυσμένη από την βιομηχανική δραστηριότητα (περιοχή Β) προκειμένου να συγκριθούν οι κοινότητες μικροαρθρόποδων (ακάρεα και Collembola) και νηματωδών, καθώς και η μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους. Τόσο η βασική όσο και η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή βρέθηκαν υψηλότερες στην περιοχή Β σε όλες τις εποχές του χρόνου. Και οι δυο μετρήσεις είχαν χαμηλότερη τιμή τον χειμώνα ενώ υψηλότερη τιμή για την βασική αναπνοή βρέθηκε το φθινόπωρο, ενώ για την επαγόμενη δια υποστρώματος το καλοκαίρι. Στη περιοχή Β επίσης, βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί μικροαρθροπόδων, η διαφορά στους πληθυσμούς ήταν ιδιαίτερα μεγάλη στα Mesostigmata και στα Oribatida. Στην περιοχή Β βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί φυτοпараσιτικών, βακτηριοφάγων, παμφάγων και αρπακτικών νηματωδών ενώ οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων νηματωδών δεν διέφεραν μεταξύ των δυο περιοχών. Γενικά υψηλότεροι πληθυσμοί νηματωδών βρέθηκαν τον χειμώνα και την άνοιξη από ότι το καλοκαίρι και το φθινόπωρο. Οι δείκτες της νηματωδοκοινότητας MI, PPI και ΣMI δεν διέφεραν μεταξύ των δυο περιοχών ούτε μεταξύ των εποχών δειγματοληψίας, ενώ οι δείκτες ΣMI<sub>2-5</sub> SI, BI, CI και EI ήταν υψηλότεροι στην περιοχή Β. Οι δείκτες ΣMI<sub>2-5</sub> και SI είχαν χαμηλότερη τιμή το καλοκαίρι ενώ αντίθετα οι δείκτες BI και CI είχαν υψηλότερη τιμή το καλοκαίρι. Οι δείκτες H' και E5 ήταν υψηλότεροι στην περιοχή Β ενώ οι δείκτες λ και R1 ήταν υψηλότεροι στην περιοχή Α, ακόμη οι δείκτες H και R1 είχαν υψηλότερη τιμή την άνοιξη ο δείκτης λ το καλοκαίρι, και ο E5 τον χειμώνα.

Στο δεύτερο κεφάλαιο διεξήχθησαν επίσης δυο μελέτες. Στην πρώτη μελέτη, εξετάστηκαν οι επιπτώσεις των YAE στην μικροπανίδα του εδάφους (μικροαρθρόποδα, νηματώδεις), καθώς και στην εδαφική μικροβιακή δραστηριότητα σε δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (0, 50 και 100ml YAE ανά kg εδάφους σε εδαφική υγρασία στο 70% της υδατοϊκανότητας και 0, 50 και 200ml YAE ανά kg εδάφους σε εδαφική υγρασία στο 100% της υδατοϊκανότητας). Η προσθήκη YAE αύξησε την βασική αναπνοή με ρυθμό δοσοεξαρτώμενο καθώς και την επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή όχι όμως τόσο έντονα όσο την βασική. Οι πληθυσμοί των Collembola δεν επηρεάστηκαν από την προσθήκη YAE, ενώ στα ακάρεα οι πληθυσμοί των Oribatida μειώνονταν με την προσθήκη YAE, στα Mesostigmata μειώθηκε ο πληθυσμός τους μόνο στην υψηλότερη δόση, ενώ στα Prostigmata η προσθήκη YAE μείωσε τους πληθυσμούς μόνο στις δυο πρώτες ημερομηνίες εκτίμησης. Στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί των φυτοпараσιτικών και μυκητοφάγων νηματωδών μειώνονταν με την δόση των YAE, ενώ και οι πληθυσμοί των βακτηριοφάγων και παμφάγων νηματωδών ελαττώθηκαν με την προσθήκη των YAE χωρίς όμως διαφορές μεταξύ των δυο δόσεων. Ο δείκτης MI δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη YAE ενώ οι δείκτες ΣMI, PPI και ΣMI<sub>2-5</sub> είχαν μικρότερη τιμή στην δόση των 50ml/Kg από ότι στην δόση των 100ml/Kg και τον μάρτυρα. Ακόμα ο δείκτης BI γενικά αυξάνονταν με τον χρόνο, ο δείκτης CI δεν έδειξε κάποια σταθερή τάση, ο δείκτης EI δεν παρουσίασε αξιόλογες μεταβολές ενώ ο δείκτης SI δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη

ΥΑΕ. Η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε την τιμή του δείκτη R1 ενώ αύξησε την τιμή του δείκτη E5, ακόμα ο δείκτης H' είχε υψηλότερη τιμή στην δόση των 50ml/Kg. Στην υψηλότερη υγρασία οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις επίσης μειώνονταν με την δόση των ΥΑΕ, οι βακτηριοφάγοι και οι μυκητοφάγοι παρουσίασαν υψηλότερους πληθυσμούς στην δόση των 50ml/Kg και χαμηλότερη στον μάρτυρα ενώ οι παμφάγοι νηματώδεις δεν επηρεάστηκαν από την προσθήκη ΥΑΕ. Γενικά παρατηρήθηκε αύξηση των πληθυσμών των νηματωδών με τον χρόνο. Στην υψηλότερη υγρασία οι δείκτες MI, SMI, PPI και ΣΜΙ<sub>2-5</sub> γενικά μειώνονται με την δόση των ΥΑΕ. Ακόμα ο δείκτης ο δείκτης EI αυξήθηκε με την προσθήκη ΥΑΕ ενώ οι δείκτες BI, CI και SI μειώθηκαν. Στην υψηλότερη υγρασία η προσθήκη των ΥΑΕ αύξησε την τιμή των δεικτών H' και E5, μείωσε την τιμή του δείκτη λ, ενώ ο δείκτης R1 αυξήθηκε σε σχέση με τον μάρτυρα στην δόση των 50ml/Kg.

Στην δεύτερη μελέτη εξετάστηκε σε εργαστηριακές βιοδοκιμές η επίδραση δυο δειγμάτων ΥΑΕ στην αναπαραγωγή, καθώς και η ενδεχόμενη τάση αποφυγής, στο εδαφόβιο αρθρόποδο *Folsomia candida*. Δοκιμάστηκαν δυο δείγματα ΥΑΕ (α και β) με διαφορετικά χαρακτηριστικά. Στα δυο δείγματα ΥΑΕ εκτιμήθηκε η τιμή ER50 η οποία βρέθηκε 110 και 224 ml ΥΑΕ ανά Kg χώματος για τα δείγματα α και β αντίστοιχα. Στο δείγμα α όπου παρατηρήθηκε η υψηλότερη τοξικότητα, τα ΥΑΕ είχαν υψηλότερο οργανικό φορτίο, υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινόλες καθώς και χαμηλότερο pH σε σχέση με το δείγμα β, στα οποία χαρακτηριστικά πιθανόν να οφείλεται η διαφορετική τοξικότητα. Τα ΥΑΕ στις δόσεις που δοκιμάστηκαν (75, 150 και 300ml/Kg χώματος) προκάλεσαν σαφή τάση αποφυγής εκτός από το δείγμα β στην χαμηλότερη δόση. Και οι δυο δοκιμασίες (αναπαραγωγής και αποφυγής) διέκριναν διαφορές μεταξύ των δύο ΥΑΕ, οι οποίες φάνηκαν από τις αναλύσεις των ΥΑΕ, και μπορούν να χρησιμοποιούνται για την οικοτοξικολογική αξιολόγηση των ΥΑΕ.

Σαν γενικό συμπέρασμα της παρούσας διατριβής οι οργανισμοί του εδάφους μπορούν να αποτελέσουν σημαντικά εργαλεία στον έλεγχο της ποιότητας του, καθώς επηρεάζονται από τις διαταραχές. Κάποια ζωικά taxa, όπως οι παμφάγοι νηματώδεις και τα ακάρεια (ιδιαίτερα τα Oribatida) καθώς και παράμετροι της νηματωδοκοινότητας (όπως ο δείκτης SI καθώς και το γράφημα ανάλυσης της νηματωδοκοινότητας) φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι σε περιβαλλοντικές διαταραχές, και ενδεχομένως να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για τον έλεγχο της ποιότητας του περιβάλλοντος. Η μικροβιακή δραστηριότητα επίσης φαίνεται να επηρεάζεται από τις διαταραχές και μπορεί να αποτελέσει μια χρήσιμη παράμετρο στον έλεγχο της ποιότητας του περιβάλλοντος. Μελετώντας το εδαφικό οικοσύστημα μπορούμε να οδηγηθούμε σε συμπεράσματα για την υγεία και την ποιότητα του εδάφους, και ενδεχομένως να εντοπίσουμε επιζήμιες αλλαγές στο οικοσύστημα, και πιθανά προλαβαίνοντας περαιτέρω υποβάθμιση.



## Summary

In this thesis it was studied the effect of soil pollution by metals and olive oil mill wastewaters on soil organisms (nematodes, microarthropods, microbial activity). The experimental part of this thesis is divided into two sections.

In the first section, two studies were carried out. In the first study of this section, it was studied, in edaphic mesocosm trials, the effect of copper (at the dose rates of 100, 500 and 1000 mg/Kg soil) and cadmium (at the dose rates of 20, 100 and 200 mg/Kg) in soil organisms (nematodes, mites, springtails) and in soil microbial activity. Copper decreased both basal and substrate reduced respiration, without a clear dose response effect. Microarthropod numbers decreased with increasing dose of Cu, except than Prostigmata where population decreased only at the two higher doses. Nematode population of all trophic groups as well as most of the genera decreased at the two higher Cu doses. Nematode maturity index (MI), and total index ( $\Sigma$ MI) decreased at the two higher Cu doses, while the index  $SMI_{2-5}$  decreased only at the higher dose. Indexes of plant parasitic nematodes (PPI), structure (SI), channel (CI) and basal (BI) weren't affected by Cu addition, while Cu addition increased enrichment index (EI). Shannon index of diversity ( $H'$ ) and Margalef index of richness ( $R1$ ) increased at the dose rate of 500mg/Kg. index of evenness of Hill ( $E5$ ) increased at the higher dose, while Simpson index of dominance ( $\lambda$ ) decreased at the dose rate of 500mg/Kg. Cadmium decreased both basal and substrate reduced respiration. Mite populations were decreased with increasing Cd dose, while Cd addition decreased springtail populations, but without differences among doses. Even if some nematode genera weren't affected significantly, the population of all trophic groups decreased in the two higher Cd doses. The indexes MI, EI, CI and BI weren't affected significantly by Cd addition, while the indexes  $\Sigma$ MI,  $\Sigma$ MI<sub>2-5</sub> and SI decreased only in the two higher Cd doses. Finally indexes  $H'$ ,  $\lambda$ ,  $R1$  and  $E5$  weren't affected from Cd addition.

In the second study it was examined the effect of pollution due to industrial activities of the area of Thrasio Plain (Attica) in soil organisms. During a year period, soil samples were taken from two areas of Thrasio Plain, from an area near to industrial activities (area A) and from an area remote from the industrial activities (area B), in order to compare microarthropod (acari and springtails) and nematode community as well as microbial activity. Both basal and substrate induced respiration were higher in the area B throughout the season; both parameters displayed lower values in winter, while higher values found in autumn and summer for basal and substrate induced respiration respectively. Higher populations of microarthropods were found in the area B, that was more sound for Mesostigmata and Oribatida. In the area B were also found higher populations of plant parasitic, bacterivorous and omnivorous nematodes, while the

populations of fungivore nematodes didn't differ between the two areas. Generally, higher nematode populations were found on winter and spring than summer and autumn. The indexes of MI, plant PPI and  $\Sigma$ MI didn't differ neither between the two areas nor among the seasons. The indexes of  $\Sigma$ MI<sub>2-5</sub>, SI, BI, CI and EI were found higher in the area B. The indexes of  $\Sigma$ MI<sub>2-5</sub> and SI were higher on summer, while BI and CI were higher on summer. The indexes of H' E5 were found higher in the area B. Both indexes were found lower in summer, while H' and E5 had higher values on spring and winter respectively. The indexes of  $\lambda$  and R1 were found higher in the area A. The Index  $\lambda$  was found higher on summer and lower on spring, while the index R1 was found higher on spring and lower on winter.

In the second section, two studies were carried out. In the first study of this section, it was examined, in edaphic mesocosm trials, the effect of Olive Mill Wastewaters (OMW) in soil organisms (nematodes, mites, springtails) and in soil microbial activity, in two levels of soil moisture, (0, 50 and 100ml OMW per kg of soil at moisture at 70% of soil water holding capacity and 0, 50 and 200ml OMW per kg of soil at moisture at 100% of soil water holding capacity). OMW addition increased basal respiration with dose response effect; Substrate induced respiration increased also, but not so sound as basal respiration did. OMW addition didn't affected springtail population. The Oribatida populaton decreased with increasing OMW dose, while Mesostigmata population reduced only at the higher OMW dose. The addition of OMW decreased Prostigmata population only at the first two assessments. In the lower soil moisture, the populations of plant parasitic and fungivorous nematodes decreased with increasing OMW dose, while the population of bacterivorus and omnivorous nematodes increased with the addition of OMW, but without differences among the two doses. The index MI didn't affected by OMW, while the indexes of  $\Sigma$ MI, PPI and  $\Sigma$ MI<sub>2-5</sub> had lower value at the dose of 50ml/Kg than that of the dose of 100ml/Kg and control. The index BI increased with time except the dose of 100ml/Kg where at 60 days BI value decreased, the index CI didn't show a constant behavior, the index EI didn't show remarkable fluctuations, while the index of SI didn't affected by OMW. OMW decreased the value of index  $\lambda$ , while increased index E5; index H' had higher value at the dose of 50ml/Kg. In the higher moisture the populations of plant parasitic nematodes decreased also with increasing OMW dose, the bacterivorous and fungivorous nematodes showed higher populations at the dose rate of 50ml/Kg and lower at the control while omnivorous nematodes didn't affected by OMW addition. Generally nematode populations increased with time. The Indexes of MI, SMI, PPI and  $\Sigma$ MI<sub>2-5</sub> generally decreased with increasing dose of OMW. Also, the index BI decreased by OMW addition only at the 15 and 30 days, while the index EI increased and indexes of CI and SI decreased with OMW addition. OMW addition also increased the



value of indexes of H' and E5, decreased that of  $\lambda$ , while index R1 increased only at the dose rate of 50ml/Kg.

In the second study was estimated, in laboratory tests, the effect of two samples of OMW with different profile (a and b), on the reproduction and also the potential repellent action on the soil dwelling springtail *Folsomia candida*. The ER<sub>50</sub> value of the two samples was found 110 and 224 ml OMW per Kg of soil for the samples a and b respectively. The sample a, that was found more toxic, OMW had higher organic load and phenol content, and lower pH than sample b; that traits may be responsible for the differences in toxicity. Both OMW samples at tested doses (75, 150 and 300ml/Kg of soil) caused avoidance behavior of *F. candida*, except sample b at the lower dose rate. Both tests (reproduction and avoidance) showed differences between those two samples, that found also in analysis of OMW, so they can be useful tools for assessment of OMW toxicity.

In conclusion, soil organisms can be useful tools for the monitoring of soil quality, because they are affected by disturbance. Some animal taxa, like omnivorous nematodes and mites (especially Oribatida) as well as nematode community parameters (like SI index and the graphical of the nematode community analysis) seemed to be sensitive in environmental disturbances; therefore have a potential to be used as bioindicators of the soil quality. Microbial activity also seems to be affected by soil disturbance and could be also a useful bioindicator. The studies of the soil ecosystem can lead to useful conclusions on soil health and quality, and to detect hazardous changes in soil ecosystem, probably preventing further degradation.



---

## **Κεφάλαιο Ι. Γενική εισαγωγή**



## **I.1. Έδαφος και οργανισμοί του εδάφους**

### **I.1.1. Έδαφος**

Το έδαφος είναι μια περίπλοκης δομή, σχετικά λεπτή (συνήθως πάχους μικρότερου του 1m) ζώνη φυσικοχημικής καθώς και βιολογικής δραστηριότητας στην επιφάνεια της γης (Coleman 2001). Σύμφωνα με τον διεθνή οργανισμό τυποποίησης, ορίζεται ως το ανώτερο στρώμα του φλοιού της γης αποτελούμενο από τα στερεά σωματίδια, νερό, αέρα, οργανική ουσία και ζώντες οργανισμούς (ISO, 1996). Είναι το «δέρμα» της μη συμπαγούς ορυκτής και οργανικής ουσίας στην επιφάνεια της γης, ένα «ζωντανό» δυναμικό φυσικό στρώμα πολύ σημαντικό για την λειτουργία των χερσαίων οικοσυστημάτων (Doran & Parkin 1994), αλλά και από μόνο του ένα οικοσύστημα που αλληλεπιδρά με τα άλλα οικοσυστήματα. Από τον ορισμό φαίνεται ότι στην έννοια έδαφος δεν περιλαμβάνεται μόνο το ορυκτό κλάσμα του, αλλά και η οργανική ουσία που περιέχεται σε αυτό.

Η σύσταση του εδάφους ποικίλλει ευρέως, στο Σχήμα I.1. φαίνεται η σύσταση ενός τυπικού εδάφους, ενώ στο σχήμα I.2. φαίνεται παραστατικά μια μικρογραφία της δομής του εδάφους.

Η σωστή λειτουργία του εδάφους είναι σημαντική για τον πλανήτη, καθώς το έδαφος:

- Παρέχει ένα φυσικό, χημικό και βιολογικό υπόβαθρο για τους ζωντανούς οργανισμούς.
- Ρυθμίζει και επιμερίζει την ροή των υδάτων, αποθηκεύει και ανακυκλώνει θρεπτικά συστατικά και άλλα στοιχεία.
- Υποστηρίζει την βιολογική δραστηριότητα και ποικιλότητα για την φυτική και ζωική παραγωγή.
- Φιλτράρει, ρυθμίζει, αποδομεί, ακινητοποιεί και αποτοξικοποιεί οργανικά και ανόργανα υλικά.
- Παρέχει μηχανική υποστήριξη για τους ζωντανούς οργανισμούς και τις κατασκευές τους.
- Παρέχει ακατέργαστα υλικά.
- Υποστηρίζει την ανθρώπινη εγκατάσταση καθώς και την αποχέτευση των απορριμάτων τους.
- Προστατεύει και διατηρεί την πολιτιστική κληρονομιά.

Η καλή κατάσταση του εδάφους είναι ζωτικής σημασίας για την σωστή και εύρυθμη λειτουργία όλων των άλλων χερσαίων οικοσυστημάτων. Όμως πολλές από τις ανθρώπινες δραστηριότητες (σύγχρονη γεωργία, βιομηχανία, αποχέτευση και τεχνικά έργα) έχουν συμβάλει στην υποβάθμιση του εδάφους. Το έδαφος είναι ένας πρακτικά μη ανανεώσιμος πόρος (έχει υπολογισθεί ότι για την δημιουργία 1 εκατοστού επιφανειακού

εδάφους χρειάζονται 100-400 χρόνια). Οι κυριότερες απειλές για τα ευρωπαϊκά εδάφη όπως έχουν αναφερθεί από ομάδες εργασίας της Ευρωπαϊκής Κοινότητας είναι:

- Διάβρωση.
- Υποβάθμιση οργανικής ουσίας.
- Ρύπανση.
- Συμπύεση.
- Υποβάθμιση εδαφικής βιοποικιλότητας.
- Αλατότητα.
- Πλημμύρες και κατολισθήσεις.
- Κάλυψη από ανθρωπογενείς δραστηριότητες (οικισμοί, οδοποιία)

Για να έχουμε μια σωστή εδαφική λειτουργία πρέπει να διαφυλαχθεί η ποιότητα του εδάφους. Αλλά τι είναι η ποιότητα του εδάφους; Οι Doran & Parkin (1994) ορίζουν την ποιότητα του εδάφους σαν την ικανότητα ενός συγκεκριμένου είδους εδάφους να λειτουργεί σαν ζωντανό σύστημα εντός των πλαισίων που θέτουν το οικοσύστημα και η χρήση της γης έτσι ώστε να διατηρεί την φυτική και ζωική παραγωγή, να διατηρεί ή να βελτιώνει την ποιότητα του νερού και του αέρα και να υποστηρίζει την ανθρώπινη υγεία και εγκατάσταση.

Τα εδάφη διαφέρουν στην λειτουργία τους, έτσι η ποιότητα είναι χαρακτηριστική για κάθε είδος εδάφους. Δεν υπάρχουν απόλυτα κριτήρια της εδαφικής ποιότητας, και η ποιότητα του κάθε εδάφους θα πρέπει να καθορίζεται με βάση την φυσική ποικιλομορφία στις ιδιότητες του εδάφους (τύπος, χρήση και κλίμα) (Beck *et al.* 2005). Η εδαφική ποιότητα μπορεί να διακριθεί ως επίκτητη ποιότητα (ενδογενείς εδαφικές ιδιότητες που επηρεάζονται από τους παράγοντες και τις συνθήκες εδαφογένεσης όπως η ορυκτολογική και η μηχανική σύσταση) και ως δυναμική ποιότητα (αλλαγές εδαφικών ιδιοτήτων οφειλόμενες στην ανθρώπινη χρήση και διαχείριση). Η δυναμική ποιότητα είναι το μέρος της ποιότητας που επηρεάζεται από τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Η έννοια της εδαφικής ποιότητας είναι ένα εργαλείο για να αποτιμηθούν οι ανθρωπογενείς αλλαγές και να συνδεθούν οι υπάρχοντες ανησυχίες για τους πόρους με περιβαλλοντολογικά ισχυρές πρακτικές διαχείρισης (USDA, 2001).

### **I.1.2. Οι οργανισμοί του εδάφους και ο ρόλος τους**

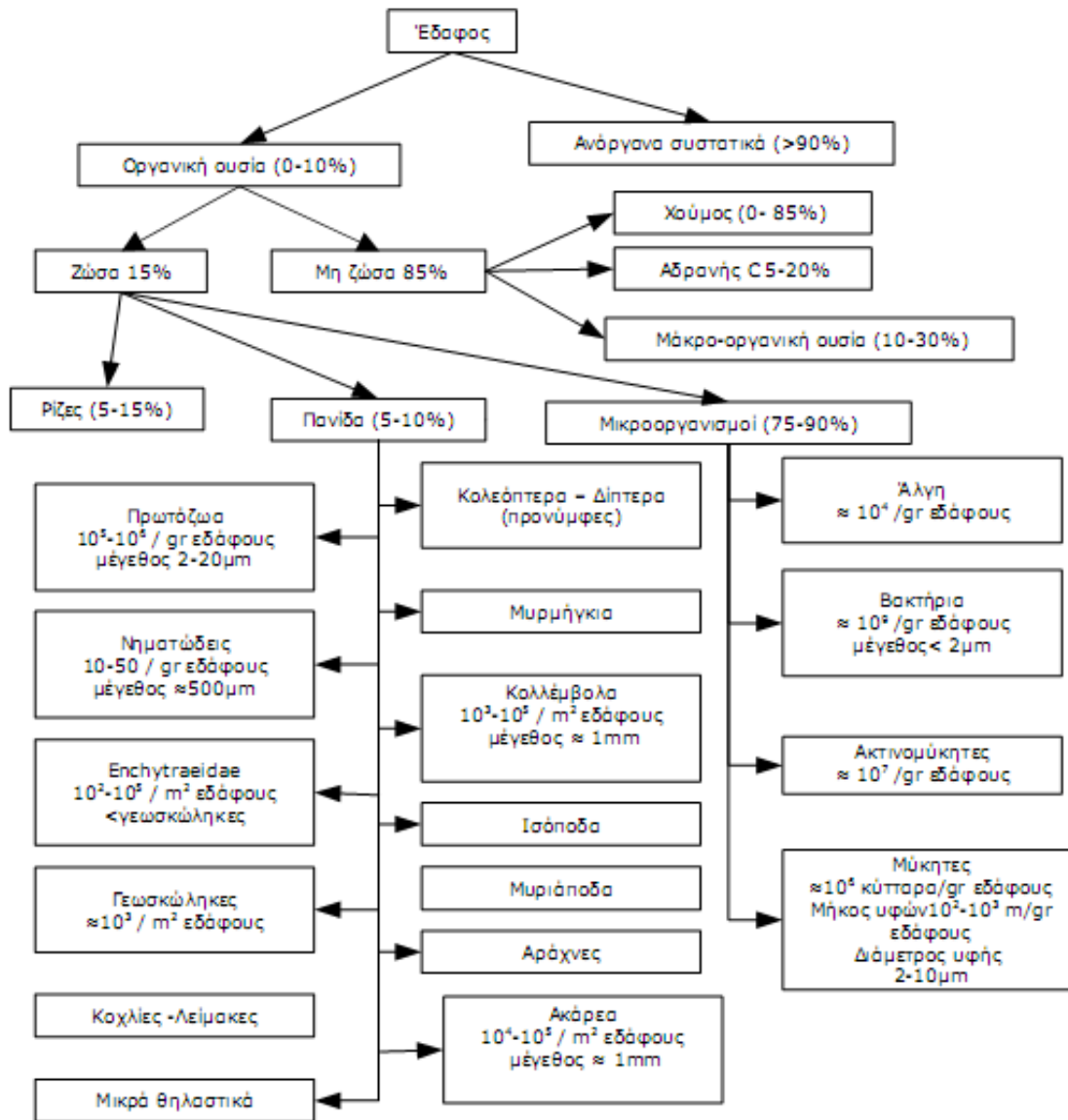
Οι οργανισμοί του εδάφους είναι από τα πιο σημαντικά συστατικά του. Το οικοσύστημα του εδάφους περιλαμβάνει από μικροσκοπικούς οργανισμούς όπως τα βακτήρια έως εύκολα ορατούς οργανισμούς όπως γεωσκώληκες, μεγάλα αρθρόποδα και τρωκτικά. Με την ποικιλομορφία και την περιπλοκότητα των ρόλων και των λειτουργιών που χαρακτηρίζουν το εδαφικό οικοσύστημα, η κοινότητα των εδαφόβιων οργανισμών παίζει σπουδαίο ρόλο στις εδαφικές διεργασίες. Οι πιο σημαντικές διεργασίες που επηρεάζονται

από οργανισμούς του εδάφους είναι (USDA 2004, Beck *et al.* 2005):

- Ανακύκλωση θρεπτικών στοιχείων. Σε ένα υγιές εδαφικό οικοσύστημα, οι εδαφόβιοι οργανισμοί ρυθμίζουν τη ροή και την αποθήκευση των θρεπτικών ουσιών με πολλούς τρόπους. Για παράδειγμα, αποσυνθέτουν τα φυτικά και ζωικά υπολείμματα, δεσμεύουν το ατμοσφαιρικό άζωτο, μετασχηματίζουν το άζωτο και άλλες θρεπτικές ουσίες μεταξύ των διάφορων οργανικών και ανόργανων μορφών, απελευθερώνουν διαθέσιμες στα φυτά μορφές θρεπτικών ουσιών, κινητοποιούν το φώσφορο, και σχηματίζουν μυκόρριζες (μύκητας-ρίζα) για θρεπτική ανταλλαγή. Ακόμη και τα εφαρμοζόμενα λιπάσματα μπορούν να διέλθουν μέσω των εδαφικών οργανισμών πριν χρησιμοποιηθούν από τα φυτά.
- Σταθερότητα του εδάφους από την διάβρωση. Οι εδαφόβιοι οργανισμοί έχουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση και τη σταθεροποίηση της εδαφολογικής δομής. Σε ένα υγιές εδαφολογικό οικοσύστημα, οι μυκηλιακές υφές και τα εκκρίματα από τα μικρόβια και τους γεωσκώληκες βοηθούν στο να συνενωθούν εδαφικά τεμαχίδια και να σχηματισθούν συσσωματώματα, έτσι ώστε το έδαφος να αποκτήσει δομή, που βελτιώνει τη διήθηση του ύδατος, και προστατεύει το έδαφος από τη διάβρωση και τη συμπίεση. Οι μακροπόροι που διαμορφώνονται από τους γεωσκώληκες και άλλους οργανισμούς που «σκάβουν», διευκολύνουν τη μετακίνηση του ύδατος στο χώμα. Η καλή εδαφολογική δομή ενισχύει την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος των φυτών, το οποίο βελτιώνει περαιτέρω το χώμα.
- Ποιότητα και ποσότητα νερού. Από τη βελτίωση ή την σταθεροποίηση της εδαφικής δομής, η δυναμική των εδαφόβιων οργανισμών μειώνει την απορροή και βελτιώνει την ικανότητα διήθησης και φιλτραρίσματος του νερού.
- Μείωση των επιπτώσεων της ρύπανσης. Σε ένα υγιές εδαφικό οικοσύστημα, οι εδαφόβιοι οργανισμοί μειώνουν τις επιδράσεις των ρύπων με διαδικασίες αποθήκευσης, αποτοξίνωσης και αποσύνθεσης. Τα βακτηρία όπως και άλλοι εδαφικοί μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο για την αποκατάσταση του μολυσμένου ύδατος και του χώματος. Επίσης αποδομούν ουσίες προερχόμενες από ανθρώπινες δραστηριότητες όπως φυτοπροστατευτικά προϊόντα, λύματα κ.α.
- Υγεία των φυτών. Ένας σχετικά μικρός αριθμός εδαφικών οργανισμών προκαλεί ασθένειες φυτών. Ένα υγιές εδαφικό οικοσύστημα αποτελείται από έναν περίπλοκο τροφικό ιστό που κρατά τους οργανισμούς των φυτοπαρασίτων υπό έλεγχο μέσω του ανταγωνισμού και της θήρευσης. Μερικοί εδαφικοί οργανισμοί απελευθερώνουν τις ενώσεις που ενισχύουν την αύξηση των φυτών ή μειώνουν την ευαισθησία τους σε ασθένειες. Τα φυτά μπορεί να απεκκρίνουν συγκεκριμένες ουσίες που προσελκύουν τους ευεργετικούς οργανισμούς ή αποκρούουν επιβλαβείς, ειδικά όταν είναι κάτω από την πίεση, όπως η βοσκή.
- Επίδραση στο εδαφικό pH. Λόγω νιτροποίησης και απονιτροποίησης, με αποτέλεσμα

την αλλαγή της κινητικότητας των βαρέων μετάλλων.

- Επίδραση στην κινητικότητα των βαρέων μετάλλων κάτω από διαφορετικές χημικές συνθήκες (πχ στον κύκλο του θείου, ιδιαίτερα σημαντική σε περιοχές με μεταβαλλόμενα επίπεδα υδροφόρου ορίζοντα).
- Τροφή άλλων οργανισμών. Αποτελούν θηράματα για πολλούς υπέργειους οργανισμούς.



**Σχήμα Ι.1.** Σύνθεση ενός τυπικού εδάφους (προσαρμογή από Pankhurst *et al.* 1997; Pankhurst 1997, Bloem *et al.* 2003)

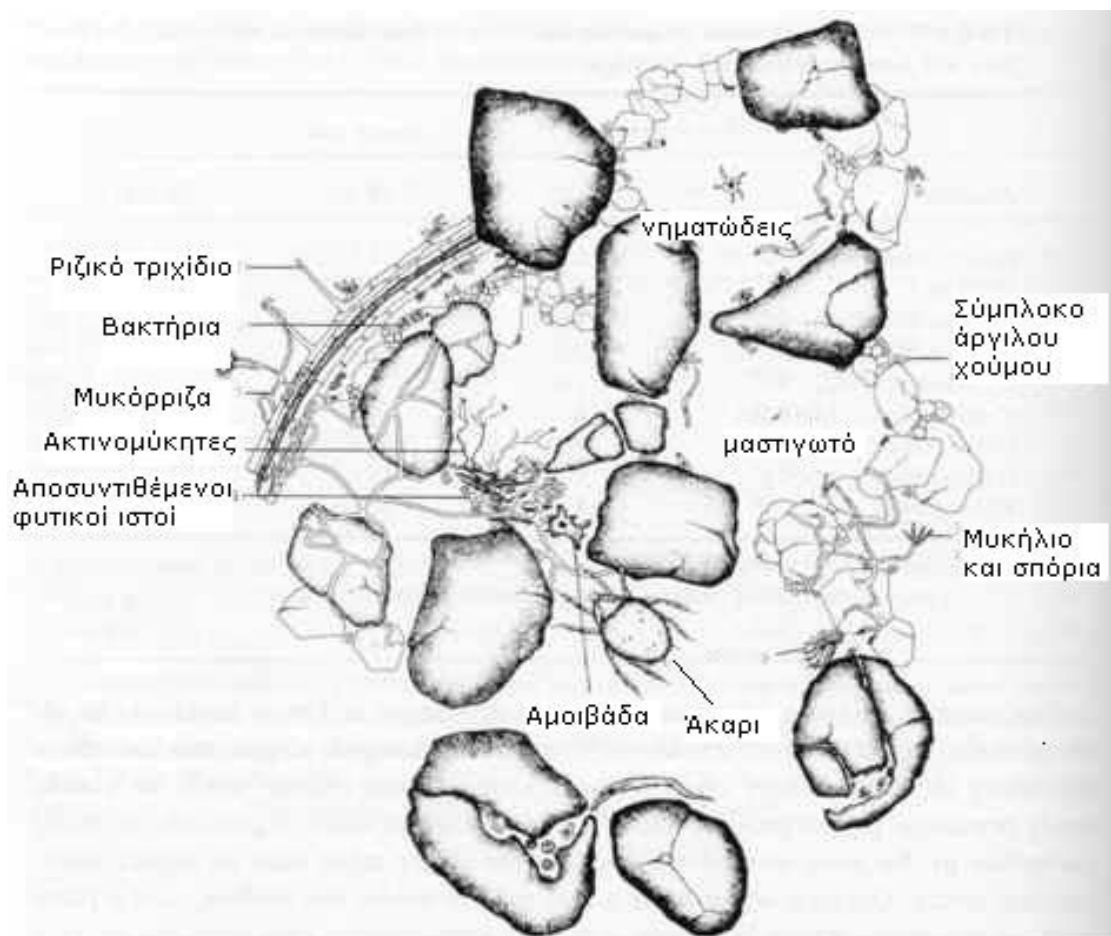
**Ι.1.3. Οι κυριότεροι οργανισμοί του εδάφους**

Στο έδαφος απαντώνται οργανισμοί από όλα τα βασίλεια, από μονοκύτταρους προκαρυωτικούς ως αρκετά εξελιγμένους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.



Πέρα από τη συστηματική κατάταξη των οργανισμών του εδάφους αυτοί μπορεί να ταξινομηθούν με βάση το μέγεθος τους, την λειτουργία τους στο εδαφικό οικοσύστημα, με βάση την διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου που βρίσκονται στο έδαφος, ακόμη και με τον ρόλο τους υπό το πρίσμα μιας ανθρωποκεντρικής ωφελιμιστικής προσέγγισης (SP-IPM 2004).

Η κατάταξη με βάση το μέγεθος είναι η πιο απλή και χρησιμοποιείται συχνά από τους ερευνητές. Έχει το μειονέκτημα ότι όλα τα είδη μια συστηματικής ομάδας δεν ανήκουν πάντα στην ίδια κλάση μεγέθους. Με βάση το μέγεθός τους οι οργανισμοί του εδάφους μπορούν να διακριθούν σε τρεις κύριες κατηγορίες:



**Σχήμα Ι.2.** Μικρογραφία της δομής του εδαφικού οικοσυστήματος (τροποποίηση από Ingham 2004)

- **Μακροοργανισμοί.** Οργανισμοί με μέγεθος πάνω από 2mm. Περιλαμβάνει σπονδυλωτούς οργανισμούς που αναζητούν τροφή ή καταφύγιο στο έδαφος (πχ αρουραίοι), καθώς και ασπόνδυλους οργανισμούς οι οποίοι ζουν στο επιφανειακό έδαφος όπως γεωσκώληκες αρθρόποδα (μυρμήγκια, τερμίτες, μυριάποδα, χιλιόποδα, ισόποδα, προνύμφες κολεοπτέρων, δίπτερων κ.α.).
- **Μεσοοργανισμοί.** Οργανισμοί με μέγεθος από 100μm έως 2mm. Εδώ κυρίως

ανήκουν μικρά αρθρόποδα (όπως ακάρεα, Collembola, δίπλουρα κ.α.) καθώς και οι μεγαλόσωμοι νηματώδεις. Τα είδη αυτά σε αντίθεση με την παραπάνω κατηγορία δεν έχουν πολλές ικανότητες διάνοιξης στοών και κινούνται στους υπάρχοντες χώρους του εδάφους

- **Μικροοργανισμοί.** Οργανισμοί με μέγεθος μικρότερο από από 100μm. Εδώ ανήκει η πλειοψηφία των οργανισμών του εδάφους και χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλομορφία τόσο σε συστηματικό επίπεδο όσο και σε λειτουργικό (βακτήρια, νηματώδεις, πρωτόζωα, τροχόζωα κ.λ.π.).

**Πίνακας Ι.1.** Τυπικοί αριθμοί οργανισμών του εδάφους σε υγιή οικοσυστήματα (τροποποίηση από Ingham *et al.* 2005).

	<b>Αγροτικά εδάφη</b>	<b>Επικλινή εδάφη</b>	<b>Δασικά εδάφη</b>
<b>Βακτήρια</b> (άτομα ανά gr εδάφους)	$10^8 - 10^9$	$10^8 - 10^9$	$10^8 - 10^9$
<b>Μύκητες</b> (μέτρα υφών ανά gr εδάφους)	Μερικά μέτρα.	$10 - 10^3$	$10^2 - 10^3$ σε φυλλόβολα δάση, έως $4 \times 10^4$ σε κωνοφόρα.
<b>Πρωτόζωα</b> (άτομα ανά gr εδάφους)	$10^3 - 10^4$ μαστιγωτά & αμοιβάδες, $10^2 - 10^3$ ciliates.	$10^3 - 10^4$ μαστιγωτά & αμοιβάδες, $10^2 - 10^3$ ciliates.	$10^4 - 10^5$ αμοιβάδες, λιγότερα μαστιγωτά.
<b>Νηματώδεις</b> (άτομα ανά gr εδάφους)	10-20 βακτηριοφάγοι, λίγοι μυκητοφάγοι και αρπακτικοί.	$10 - 10^3$	$10^3 - 10^4$ βακτηριοφάγοι, πολλοί αρπακτικοί
<b>Αρθρόποδα</b> (άτομα ανά m <sup>2</sup> )	$> 10^2$	$5 \times 10^2 - 2 \times 10^3$	$10^4 - 2,5 \times 10^4$ (πολύ περισσότερα είδη από τα αγροτικά εδάφη)
<b>Γεωσκώληκες</b> (άτομα ανά m <sup>2</sup> )	5-30 (περισσότεροι σε εδάφη πλούσια σε οργανική ουσία)	10-50 (ξηρικά ή ημιξηρικά εδάφη μπορεί να μην έχουν καθόλου)	10-50 σε φυλλοβόλα δάση. Πολύ λίγοι σε κωνοφόρα δάση.

Η κατάταξη των οργανισμών με βάση τον λειτουργικό τους ρόλο στο εδαφικό οικοσύστημα φαίνεται στον Πίνακα Ι.2.

Με κριτήριο τον χρόνο του βιολογικού κύκλου τους που περνούν στο έδαφος οι οργανισμοί του εδάφους μπορεί να διακριθούν σε (Bot & Benitez 2005):

- Μόνιμοι είναι οι οργανισμοί εδάφους, που περνούν όλη τη ζωή τους στο έδαφος. Τέτοιοι οργανισμοί είναι οι γεωσκώληκες τα ακάρεια και τα Collembola.
- Προσωρινοί, που περνούν κάποια στάδια του βιολογικού τους κύκλου στο έδαφος, όπως τα ατελή στάδια διαφόρων εντόμων.
- Περιστασιακοί, που συχνά εισέρχονται στο χώμα όπως κάποια έντομα.
- Μεταβατικά, στα οποία τα ενεργά στάδια του βιολογικού τους κύκλου είναι εκτός του εδάφους, ενώ κάποια ανενεργά στάδια βρίσκονται στο έδαφος (αυγά, πλαγγόνες, διαχειμάζουσες μορφές), όπως κάποια έντομα.

Τέλος με βάση μια ανθρωποκεντρική ωφελιμιστική προσέγγιση οι οργανισμοί του εδάφους μπορεί να διακριθούν σε:

- Παραγωγικοί οργανισμοί, δηλαδή τα ανώτερα φυτά, και τα μανιτάρια.
- Επιβλαβείς οργανισμοί, δηλαδή οργανισμοί που προκαλούν ασθένειες ή τρέφονται εις βάρος των φυτών όπως φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις, φυτοπαθογόνοι μύκητες και βακτήρια, ριζοφάγα έντομα και ζιζάνια.
- Ωφέλιμοι οργανισμοί, δηλαδή οργανισμοί που σχετίζονται με λειτουργίες ωφέλιμες προς την φυτική παραγωγή και τις εδαφικές λειτουργίες όπως ανακύκλωση θρεπτικών στοιχείων, αποδόμηση κ.α.

**Πίνακας Ι.2.** Λειτουργική ταξινόμηση εδαφικών οργανισμών και ο ρόλος τους στο εδαφικό οικοσύστημα (τροποποίηση από Ingham *et al.* 2005).

Τύποι Εδαφικών οργανισμών		Κύριες λειτουργίες
<b>Αυτότροφοι</b>	Φυτά Άλγη Βακτήρια	<b>Δέσμευση ενέργειας</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Χρήση ηλιακής/χημικής ενέργειας για την δέσμευση CO<sub>2</sub>.</li> <li>• Προσθήκη οργανικής ουσίας στο έδαφος (φυτικά υπολείμματα, νεκροί ιστοί και δευτερογενείς μεταβολίτες).</li> </ul>
<b>Αποσυνθεντές</b>	Βακτήρια Μύκητες	<b>Αποδόμηση Υπολειμμάτων</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ακίνητοποίηση θρεπτικών συστατικών στην βιομάζα τους.</li> <li>• Παράγωγή νέων ουσιών (κυτταρικά συστατικά, απεκκρίματα) που είναι πηγές ενέργειας για άλλους οργανισμούς.</li> <li>• Παράγωγή συστατικών που ενώνουν εδαφικά συσσωματώματα.</li> <li>• Ένωση εδαφικά συσσωματώματα με μυκηλιακές υφές.</li> <li>• Απονιτροποίηση και νιτροποίηση του αζώτου.</li> <li>• Ανταγωνισμός και/ή παρεμπόδιση παθογόνων οργανισμών των φυτών.</li> </ul>
<b>Συμβιωτικοί</b>	Βακτήρια Μύκητες	<b>Επιτάχυνση Φυτικής Ανάπτυξης</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Προστασία ριζών από παθογόνους οργανισμούς.</li> </ul>

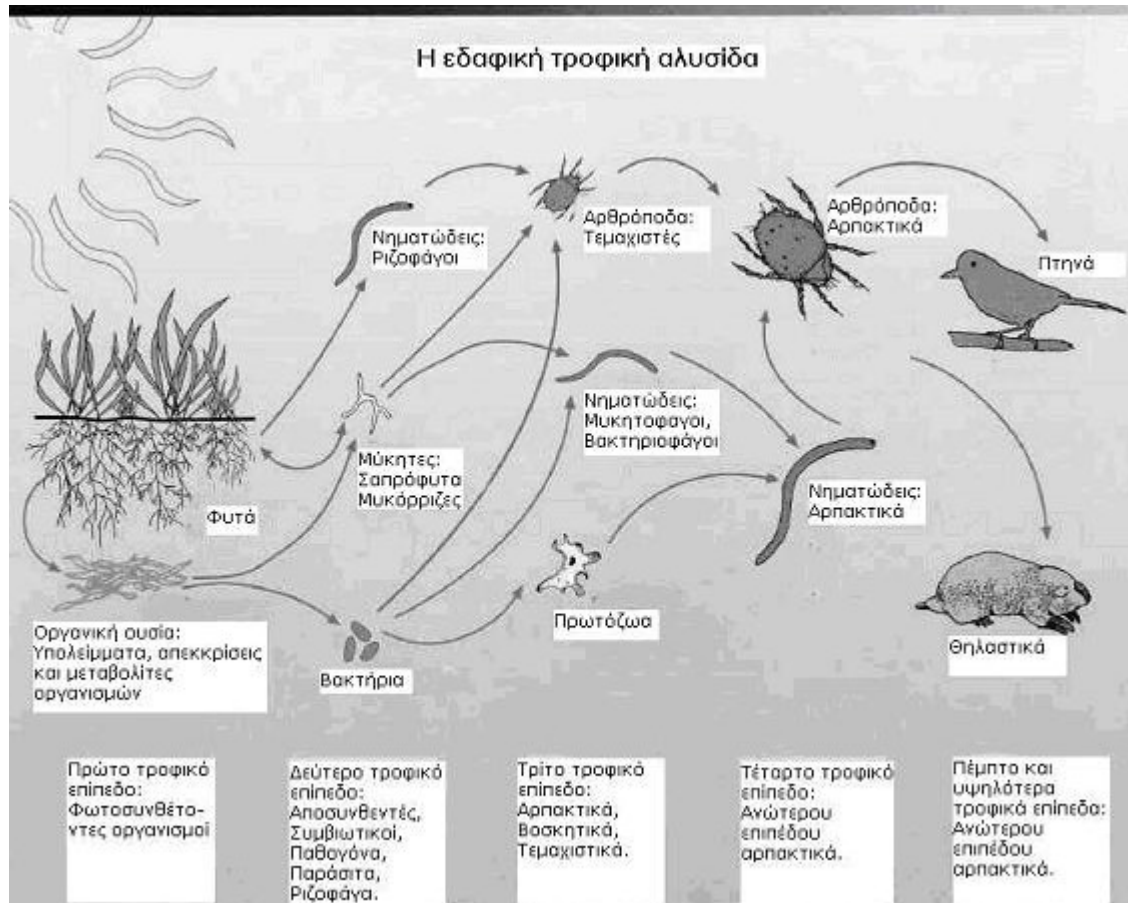
- Δέσμευση  $N_2$  (αζωτοδεσμευτικά βακτήρια).
- Μερικοί μύκητες κάνουν δεσμούς με ρίζες φυτών (μυκόρριζες) και εφοδιάζουν το φυτό με νερό και θρεπτικά στοιχεία ενώ παίρνουν από αυτό οργανικές ουσίες

<b>Παθογόνοι</b>	Βακτήρια	<b>Ανάπτυξη ασθενειών</b>
<b>Παράσιτικοί</b>	Μύκητες Νηματώδεις Αρθρόποδα	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Παρασιτισμός ριζών ή άλλων φυτικών μερών. δημιουργώντας ασθένειες.</li> <li>• Παρασιτισμός σε νηματώδεις έντομα ή μύκητες.</li> </ul>
<b>Ριζοφάγοι</b>	Νηματώδεις Αρθρόποδα	<b>Κατανάλωση ριζών</b>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Προκαλούν καταστροφή φυτών</li> </ul>
<b>Μυκητοφάγοι</b>	Πρωτόζωα	<b>Βόσκηση</b>
<b>Βακτηριοφάγοι</b>	Νηματώδεις Αρθρόποδα	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Απελευθέρωση φυτοδιαθέσιμου αζώτου (<math>NH_4^+</math>), ενώ καταναλώνουν βακτήρια.</li> <li>• Έλεγχος φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών</li> <li>• Έλεγχος και διέγερση των πληθυσμών των βακτηρίων.</li> </ul>
<b>Τεμαχιστές</b>	Γεωσκώληκες Αρθρόποδα	<b>Αποδόμηση υπολειμμάτων και βελτίωση εδαφικής δομής</b>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Τεμαχισμός εδαφικών υπολειμμάτων καθώς τρέφονται με βακτήρια και μύκητες.</li> <li>• Παροχή βιόθρεσης βακτηρίων (πεπτικός σωλήνας, αποχωρήματα).</li> <li>• Βελτιώνουν την εδαφική δομή καθώς ανοίγουν στοές στο χώμα.</li> </ul>
<b>Υψηλού</b>	Νηματώδεις	<b>Έλεγχος πληθυσμών</b>
<b>Επιπέδου</b>	Αρθρόποδα	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Έλεγχος των πληθυσμών των αρπακτικών κατώτερων τροφικών ομάδων.</li> </ul>
<b>Θηρευτές</b>	Θηλαστικά Πτηνά	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Βελτίωση της δομής του εδάφους καθώς διανοίγουν στοές και περνάει χώμα από τον πεπτικό τους σωλήνα.</li> <li>• Μεταφορά μικρότερων οργανισμών σε μεγάλες αποστάσεις.</li> </ul>

Οι κυριότεροι οργανισμοί του εδάφους με βάση την συστηματική τους κατάταξη είναι τα βακτήρια, οι μύκητες, τα πρωτόζωα, οι νηματώδεις, τα αρθρόποδα και οι γεωσκώληκες. Στις επόμενες παραγράφους θα γίνει εκτενέστερη αναφορά στα βακτήρια, τους μύκητες, στα μικροαρθρόποδα (ακάρεια και Collembola), καθώς και τους νηματώδεις, καθώς είναι οι οργανισμοί κυρίως με τους οποίους θα ασχοληθούμε στην παρούσα διατριβή.

### 1.1.3.1. Βακτήρια

Τα βακτήρια είναι μικροσκοπικοί (μεγέθους της τάξης του 1μm) μονοκύτταροι προκαρυωτικοί ετερότροφοι ή αυτότροφοι οργανισμοί. Είναι οι πρώτοι έμβιοι οργανισμοί που εξελίχθηκαν στην γη. Βακτήρια υπάρχουν και έχουν απομονωθεί από κάθε περιβάλλον στην γη.



**Σχήμα Ι.3.** Σχηματική αναπαράσταση του εδαφικού τροφικού ιστού, με διάκριση των τροφικών ομάδων (τροποποίηση από Ingham *et al.* 2005).

Τα βακτήρια είναι η πολυπληθέστερη ομάδα και σε άτομα και σε συνολική βιομάζα οργανισμών του εδάφους. Ανάλογα με τον λειτουργία τους στο εδαφικό στο εδαφικό οικοσύστημα μπορούν να διακριθούν σε (Ingham 2005):

- **Σαπροφυτικά.** Είναι η πιο μεγάλη ομάδα των βακτηρίων του εδάφους. Αποκτούν την ενέργεια που χρειάζονται για να ζήσουν οξειδώνοντας οργανικές ουσίες του εδάφους. Με αυτήν την διαδικασία διασπούν οργανικά συστατικά σε μορφές χρήσιμες για τους υπόλοιπους οργανισμούς του εδάφους. Επίσης κάποια από αυτά έχουν την δυνατότητα να διασπούν οργανικούς ρυπαντές του εδάφους, συμβάλλοντας έτσι στην απορρύπανση του.
- **Συμβιωτικά.** Τα βακτήρια αυτά σχηματίζουν «δεσμούς» με ανώτερα φυτά. Το πιο γνωστό παράδειγμα αυτής της κατηγορίας είναι τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια που

σχηματίζουν σχέσεις συμβίωσης με το ριζικό σύστημα ψυχανθών φυτών, σχηματίζοντας φυμάτια. Τα βακτήρια αυτά δεσμεύουν το άζωτο του αέρα και το μετασχηματίζουν σε νιτρική μορφή με την οποία τροφοδοτείται το φυτό. Σαν αντάλλαγμα παίρνουν από το φυτό οργανικές ουσίες.

- Παθογόνα. Αρκετά βακτήρια είναι παθογόνα φυτών ή άλλων οργανισμών του εδάφους. Παθογόνα βακτήρια περιλαμβάνονται στα γένη *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Bacillus* κ.α.
- Λιθότροφα ή χημειοαυτότροφα. Τα βακτήρια αυτά λαμβάνουν την ενέργεια που χρειάζονται για να ζήσουν οξειδώνοντας ανόργανες ουσίες, αντί για οργανικές. Μερικά από αυτά τα βακτήρια είναι σημαντικά στην ανακύκλωση του αζώτου και άλλων θρεπτικών στοιχείων καθώς και στην διάσπαση ρυπαντών

Αναπτύσσονται ιδιαίτερα εκεί όπου υπάρχει εύκολα αποδομήσιμο οργανικό υπόστρωμα, όπως νεαρά φυτικά υπολείμματα και οργανικά συστατικά που βρίσκονται κοντά στις λειτουργικές ρίζες. Τα βακτήρια συγκεντρώνονται ιδιαίτερα στην ριζόσφαιρα, καθώς τα φυτά φαίνεται να παράγουν τύπους ριζικών εκκριμάτων που ευνοούν την ανάπτυξη βακτηρίων.

Μια μεγάλη κατηγορία βακτηρίων του εδάφους είναι οι ακτινομύκητες. Καλούνται έτσι γιατί παραμένουν ενωμένα σχηματίζοντας νηματοειδείς κατασκευές που προσομοιάζουν με μυκηλιακές υφές. Σε αυτούς τους οργανισμούς οφείλεται η χαρακτηριστική οσμή που χαρακτηρίζει το έδαφος.

### **I.1.3.2. Μύκητες**

Είναι μικροσκοπικοί ετερότροφοι ευκαρυωτικοί οργανισμοί, το σώμα των οποίων αποτελείται συνήθως από υφές, που στο έδαφος αναπτύσσονται στα διάκενα που αφήνουν τα τεμαχίδια του εδάφους με τις ρίζες. Μια υφή μπορεί να έχει μήκος από λίγα κύτταρα έως αρκετά μέτρα. Υπάρχουν και μύκητες μονοκύτταροι που δεν σχηματίζουν υφές όπως οι ζύμες. Το σώμα του μύκητα καλείται θαλλός ενώ όταν αποτελείται από υφές ο θαλλός καλείται μυκήλιο.

Οι μύκητες επιτελούν σημαντικές λειτουργίες στο έδαφος που σχετίζονται με το δυναμικό του νερού και την ανακύκλωση των θρεπτικών στοιχείων. Μαζί με τα βακτήρια αποτελούν τους αποσυνθεντές του εδαφικού τροφικού ιστού. Μπορούν και διασπούν περίπλοκα οργανικά υλικά σε μορφές χρήσιμες για άλλους οργανισμούς. Οι μυκηλιακές υφές δένουν τα τεμαχίδια του εδάφους δημιουργώντας σταθερά συσσωματώματα υποβοηθώντας έτσι το φιλτράρισμα και την βελτίωση της υδατοϊκανότητας του χώματος.

Οι μύκητες του εδάφους ανάλογα με τον λειτουργικό τους ρόλο μπορεί να καταταγούν σε τρεις ομάδες:

- Σαπροφυτικοί, που μετατρέπουν νεκρό οργανικό υλικό σε μυκηλιακή βιομάζα,

διοξειδίο του άνθρακος και μικρά μόρια, όπως οργανικά οξέα. Οι μύκητες αυτοί γενικά χρησιμοποιούν πολύπλοκες οργανικές ενώσεις όπως η κυτταρίνη και η χιτίνη, και παίζουν σημαντικό ρόλο και στην διάσπαση κυκλικών ενώσεων άνθρακα κάποιων ρύπων. Κάποιοι που καλούνται «σακχαρομύκητες» χρησιμοποιούν τα ίδια απλά υποστρώματα με τα βακτήρια. Όπως τα σαπροφυτικά βακτήρια και οι μύκητες αυτοί παίζουν σπουδαίο ρόλο στην παρακράτηση θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος. Επιπλέον, πολλοί δευτερογενείς μεταβολίτες των μυκήτων είναι οργανικά οξέα, συμβάλλουν στην αύξηση και στην συγκέντρωση πλούσιας σε χουμικά οξέα οργανικής ουσίας που είναι ανθεκτική στην αποδόμηση και μπορεί να μείνει στο έδαφος για πολλά χρόνια.

- Συμβιωτικοί, όπως οι μυκόρριζες, που σχηματίζουν δεσμούς με τις ρίζες των φυτών. Από τα φυτά παίρνουν οργανικές ουσίες και σαν αντάλλαγμα διαλυτοποιούν τον φώσφορο και τροφοδοτούν με θρεπτικά συστατικά τα φυτά. Οι μυκόρριζες διακρίνονται σε εκτομυκόρριζες (αναπτύσσονται στα επιφανειακά στρώματα των ριζών και συνήθως σχετίζονται με δένδρα) και ενδομυκόρριζες (που αναπτύσσονται μεταξύ των κυττάρων των φυτικών ριζών και συνήθως σχετίζονται με ποώδη φυτά και θάμνους).
- Παθογόνα ή παράσιτα. Αρκετοί μύκητες του εδάφους είναι παθογόνα ριζών ή άλλων οργανισμών του εδάφους (έντομα, νηματώδεις ή και μύκητες) ή αρπακτικά νηματωδών.

### **I.1.3.3. Νηματώδεις**

Οι νηματώδεις του εδάφους είναι μικρόσωμοι σκωληκόμορφοι ζωικοί οργανισμοί, διαφανείς, μήκους συνήθως έως 1mm. Βρίσκονται σε αφθονία στο έδαφος. Στερούνται οφθαλμών, εξωτερικών σωματικών προεκτάσεων, αναπνευστικού και κυκλοφορικού συστήματος, ενώ έχουν καλά ανεπτυγμένο πεπτικό, απεκκριτικό, αναπαραγωγικό και νευρικό σύστημα. Είναι υδροχαρή ζώα και ζουν στα φιλμ του νερού που δημιουργούνται στις επιφάνειες και στους πόρους των εδαφικών σωματιδίων, απαιτούν δε να περιβάλλονται από νερό για την κίνηση και τις άλλες δραστηριότητές τους. Υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία νηματωδών στα εδάφη, οι οποίοι συναντώνται σε αρκετά τροφικά επίπεδα του εδαφικού τροφικού ιστού. Δεν είναι όμως ιδιαίτερα μελετημένοι εκτός από τα λίγα είδη που προσβάλλουν τα φυτά.

Η τυπική μορφολογία ενός φυτοπαρασιτικού νηματώδη δίνεται στο σχήμα I.4, ενώ τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του στόματός τους καθώς και του οισοφάγου τους, τα οποία δείχνουν και τις τροφικές τους συνήθειες δίνονται στα σχήματα I.5. και I.6. Οι νηματώδεις του εδάφους ανάλογα με τα ενδιαιτήματα που χρησιμοποιούν διακρίνονται σε:

- Βακτηριοφάγοι, που τρέφονται με βακτήρια, τα οποία καταπίνουν με την στοματική τους κοιλότητα (σχήμα Ι.5.1, Ι.5.2 και Ι.5.3)
- Μυκητοφάγοι, που τρέφονται με μύκητες διατρυπώντας με τα στοματικά τους μόρια που είναι τύπου σπιλέτου (σχήμα Ι.5.4) τις μυκηλιακές υφές και απομυζώντας το περιεχόμενό τους.
- Φυτοпараσιτικοί, που τρέφονται απομυζώντας φυτικά κύτταρα των ριζών ή και υπεργείων μερών των φυτών. Τα στοματικά τους μόρια είναι τύπου σπιλέτου (σχήμα Ι.5.4 και Ι.5.6).
- Αρπακτικοί, οι οποίοι τρέφονται με πρωτόζωα και άλλους νηματώδεις είτε διατρυπώντας τους και απομυζώντας τα σωματικά υγρά τους (στοματικά μόρια τύπου σπιλέτου - σχήμα Ι.5.4 και Ι.5.5) ή σχίζοντας την σάρκα τους και απομυζώντας τα εκκρεόμενα σωματικά υγρά ή καταπίνοντας ολόκληρο το θήραμα τους (στοματικά μόρια με δόντι - σχήματα Ι.5.8 και Ι.5.3)
- Παμφάγοι, οι οποίοι καταναλώνουν ποίκιλλα ενδαιτήματα ή χρησιμοποιούν διαφορετικό ενδαιτήμα σε κάθε στάδιο της ζωής τους. Παμφάγοι θεωρούνται κυρίως νηματώδεις της τάξεως των Dorylaimida (στοματικά μόρια Ι.5.5)

Ο λειτουργικός ρόλος των νηματωδών στο εδαφικό οικοσύστημα είναι (Ingham *et al.* 2005):

- Ανακύκλωση θρεπτικών στοιχείων. Όπως και τα πρωτόζωα και οι νηματώδεις είναι σημαντικοί για την ανοργανοποίηση ή την απελευθέρωση θρεπτικών συστατικών σε μορφές διαθέσιμες για τα φυτά. Όταν καταναλώνουν βακτήρια ή μύκητες (που περιέχουν μεγαλύτερη αναλογία αζώτου:άνθρακα από αυτήν που οι νηματώδεις χρειάζονται) οι νηματώδεις απελευθερώνουν αμμωνία, αυξάνοντας το διαθέσιμο άζωτο στο έδαφος.
- Βόσκηση. Σε χαμηλές πυκνότητες νηματωδών η κατανάλωση βακτηρίων φαίνεται ότι διεγείρει τον ρυθμό ανάπτυξης των πληθυσμών των βακτηρίων, οι φυτοпараσιτικοί διεγείρουν την ανάπτυξη των ριζών κ.λ.π. Σε υψηλές πληθυσμιακές πυκνότητες οι νηματώδεις θα μειώσουν τον αριθμό και την ευρωστία του θηράματος τους. Οι αρπακτικοί νηματώδεις μπορεί να ελέγξουν την υπερβολική αύξηση βακτηριοφάγων και μυκητοφάγων νηματωδών. Επίσης οι νηματώδεις μπορεί να επηρεάσουν την ισορροπία μεταξύ των βακτηρίων και των μυκήτων.
- Διασπορά μικροοργανισμών. Μεταφέροντας στο σώμα τους μικρόβια ή σπόρια μικροβίων στην επιφάνεια του σώματος τους ή στο πεπτικό τους σύστημα βοηθούν στην διασπορά τους.
- Πηγή τροφής. Αποτελούν πηγή τροφής για αρπακτικούς οργανισμούς ανωτέρου τροφικού επιπέδου.

Οι νηματώδεις συγκεντρώνονται στο έδαφος σε περιοχές που υπάρχει η τροφή τους



(ριζόσφαιρα, βακτήρια, μυκηλιακές υφές). Οι αρπακτικοί νηματώδεις συνήθως εμφανίζονται εκεί που υπάρχουν άλλοι νηματώδεις. Η αναλογία βακτηριοφάγων προς μυκητοφάγους νηματώδεις συνήθως αντικατοπτρίζει την αναλογία βακτηρίων προς μύκητες σε αυτήν την περιοχή. Συνήθως μη διαταραγμένα εδάφη περιέχουν αρκετούς αρπακτικούς νηματώδεις, ένδειξη ότι οι αρπακτικοί νηματώδεις είναι ευαίσθητοι σε μεγάλο εύρος διαταραχών. Λόγω του μεγέθους τους προτιμούν τα σχετικά ελαφρά εδάφη που έχουν αρκετό πορώδες για να μπορούν να κινηθούν.

Οι νηματώδεις μπορεί να είναι χρήσιμοι βιοδείκτες της ποιότητας του εδάφους λόγω του ότι (Bongers & Ferris 1999):

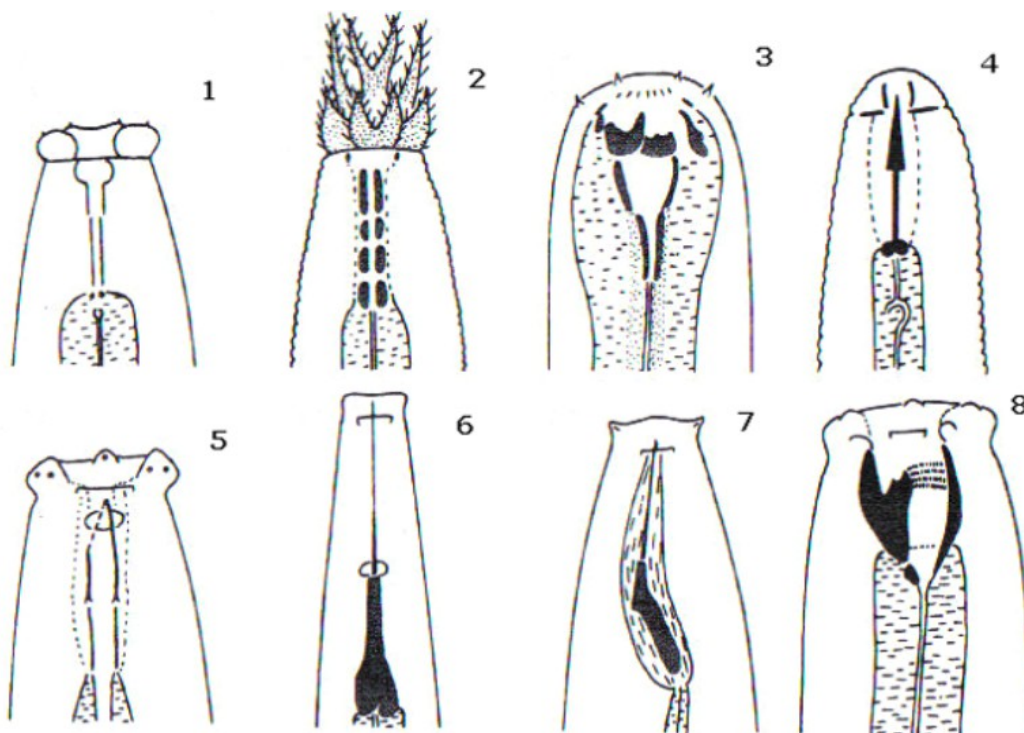
- Είναι από τα απλούστερα στην μορφολογία μετάζωα. Απαντώνται σε κάθε περιβάλλον που παρέχει πηγή οργανικού άνθρακα, σε κάθε εδαφικό τύπο, κάτω από όλες τις κλιματικές συνθήκες, και σε περιβάλλοντα από τα πιο παρθένα έως τα πιο μολυσμένα.
- Έρχονται σε επαφή με το νερό του εδάφους μέσα στο οποίο ζουν και η επιδερμίδα τους επιτρέπει άμεση επαφή με το μικρο περιβάλλον στο οποίο ζούνε.
- Δεν μετακινούνται γρήγορα και πολλά είδη επιβιώνουν υπό αντίξοες συνθήκες (αφυδάτωση, κατάψυξη ή έλλειψη οξυγόνου), ενώ άλλα είδη είναι ευαίσθητα σε δυσμενείς συνθήκες. Έτσι η πληθυσμιακή σύνθεση είναι ενδεικτική των επικρατώντων συνθηκών στο έδαφος.
- Έχουν θέσεις κλειδιά στον εδαφικό τροφικό ιστό. Τρέφονται και αποτελούν τροφή με τους περισσότερους ζωντανούς οργανισμούς του εδάφους και απαντώνται σε αρκετά τροφικά επίπεδα. Επίσης επηρεάζουν την βλάστηση.
- Διότι το σώμα τους είναι διαφανές, τα εσωτερικά και εξωτερικά τους μορφολογικά χαρακτηριστικά μπορεί εύκολα να μελετηθούν και να προσδιοριστούν χωρίς να απαιτούνται περίπλοκες διαδικασίες (μικροσκοπικές τομές, διαύγαση). Έτσι μπορούν να αναγνωρισθούν χωρίς βιοχημικές διαδικασίες.
- Υπάρχει σαφής συσχέτιση μεταξύ μορφολογίας και λειτουργικότητας. Είναι εύκολο να αποφανθούμε για την τροφική συμπεριφορά ενός νηματώδη, από την στοματική του κοιλότητα και τον φάρυγγα.
- Αντιδρούν γρήγορα σε καταστάσεις εμπλουτισμού και διατάραξης. Αυξανόμενη η βιολογική δραστηριότητα οδήγησε σε αλλαγές στην αναλογία των βακτηριοφάγων νηματωδών της κοινότητας.

Αρκετοί ερευνητές έχουν προτείνει προσεγγίσεις για την εκτίμηση της ποιότητας του εδάφους μετρώντας τον αριθμό των νηματωδών σε διαφορετικές οικογένειες ή τροφικά είδη (Bongers 1990, Yeates *et al.* 1993, Blair *et al.* 1996, Bongers & Ferris 1999, Ferris *et al.* 2001). Επιπλέον οι νηματώδεις λόγω του ότι οι πληθυσμοί τους είναι πιο σταθεροί στις διακυμάνσεις θερμοκρασίας και υγρασίας από άλλους οργανισμούς του εδάφους (π.χ. βακτήρια), αντιδρούν σε αλλαγές της κατάστασης του εδάφους με πιο προβλέψιμο τρόπο.

Οι Yeates *at al.* (1993) σε μια εκτενή συνθετική εργασία με ευρεία επισκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας, ταξινόμησαν τους νηματώδεις που απαντώνται στο έδαφος ανάλογα με τις τροφικές τους απαιτήσεις.

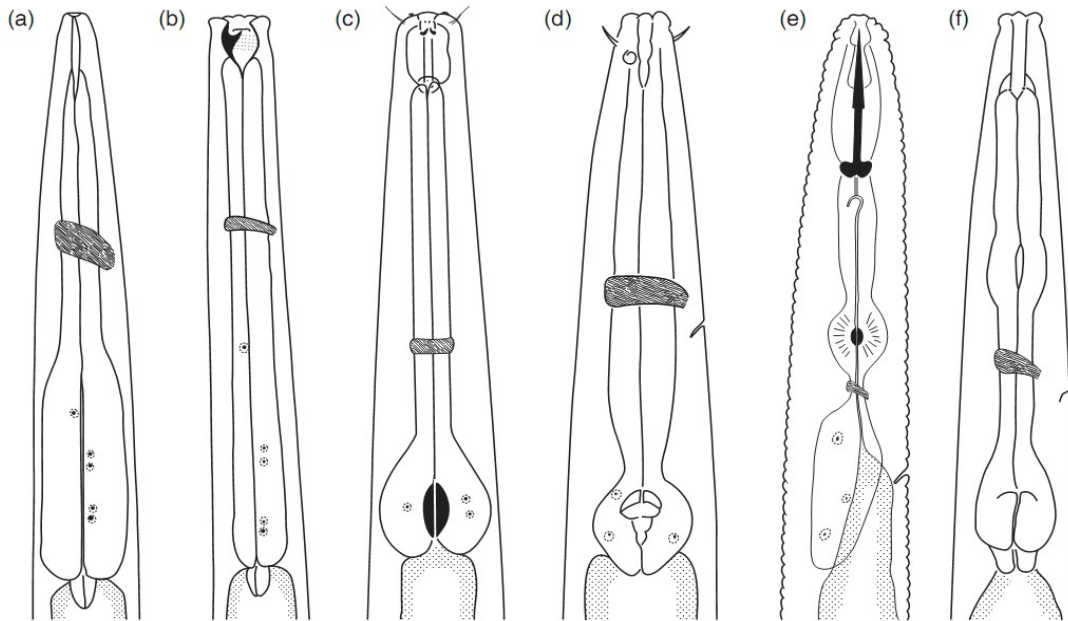


**Σχήμα Ι.4.** Μορφολογία ενός τυπικού φυτοпараσιτικού νηματώδη της τάξης των Tylenchida (προσαρμογή από Kleyhans 1999).



**Σχήμα Ι.5.** Κεφαλές διαφόρων τύπων εδαφόβιων νηματωδών: 1. *Rhabditis*, 2. *Acrobeles* (τάξη Rhabditida, βακτηριοφάγοι) 3. *Diplogaster* (βακτηριοφάγος, αρπακτικός) (τάξη Diplogasterida) 4. τάξη Tylenchida (φυτοпараσιτικοί, μυκητοφάγοι, αρπακτικοί) 5. *Dorylaimus* (τροφικές απαιτήσεις όχι πλήρως διασαφηνισμένες, παμφάγος) 6. *Xiphinema* (φυτοпараσιτικός) (τάξη Dorylaimida) 7. *Trichodorus* (φυτοпараσιτικός) (τάξη Triplonchida) και 8. *Mononchus* (αρπακτικός) (τάξη

Mononchida) (προσαρμογή από Yeates & Coleman 1982, Kleyhans 1999).



**Σχήμα 1.6.** Μορφή κεφαλής και οισοφάγου εδαφόβιων νηματώδων : A) Dorylaimida, B) Mononchida, C) Chromadorida, D) Araeolaimida, E) Tylenchida, F) Rhabditida, (προσαρμογή από Yeates *et al* 2009)

Ο Bongers (1990) ταξινόμησε τους εδαφόβιους νηματώδεις ανάλογα με τις βιολογικές τους παραμέτρους σε μια κλίμακα από 1 έως το 5. Οι νηματώδεις με τιμή 1 (colonizers - αποικιστικοί) χαρακτηρίζονται από σύντομο βιολογικό κύκλο, υψηλή γονιμότητα, υψηλή ικανότητα εποικισμού, έντονες πληθυσμιακές διακυμάνσεις, ανεκτικότητα στην διαταραχή του περιβάλλοντος τους σε συνθήκες ευτροφισμού. Συνήθως ζουν σε εφήμερα περιβάλλοντα. Γενικά είναι πιο κοντά στην r οικολογική στρατηγική. Οι νηματώδεις με τιμή 5 (persistent - έμμονοι) χαρακτηρίζονται από μακρύ βιολογικό κύκλο, χαμηλή γονιμότητα, χαμηλή ικανότητα εποικισμού, γενικά οι πληθυσμοί τους είναι σταθεροί στον χρόνο, και ευαισθησία στις διαταραχές του περιβάλλοντος. Οι νηματώδεις αυτοί είναι πιο κοντά στην K οικολογική στρατηγική. Οι νηματώδεις που παίρνουν ενδιάμεσες τιμές του δείκτη αντιστοιχούν σε ενδιάμεσες καταστάσεις (πίνακας I.3).

Επίσης ο ίδιος ερευνητής πρότεινε τον Δείκτη Ωριμότητας της Νηματωδοκοινότητας (Nematode Maturity Index - MI), ένα σταθμισμένο άθροισμα των συχνοτήτων των νηματωδών με σταθμά τις τιμές της κλίμακας 1-5 (αποικιστικό - έμμονο), ο οποίος υπολογίζεται με βάση τον παρακάτω τύπο:

$$MI = \frac{\sum f_i * v_i}{\sum f_i}$$

Όπου:

$f_i$ : η συχνότητα της οικογένειας  $i$  στο δείγμα.

ν<sub>i</sub>: η τιμή στην κλίμακα 1-5 (αποικιστικό – έμμοно) της οικογένειας *i* όπως προκύπτει από τον Πίνακα Ι.3.

**Πίνακας Ι.3.** Τιμές της κλίμακας αποικιστικών-έμμονων για τις οικογένειες των ελεύθερων διαβιούντων νηματωδών (εδαφόβιων και υδρόβιων) και τα κυριότερα χαρακτηριστικά τους (προσαρμογή από Bongers & Bongers 1998, Ferris *et al.* 2001):

Τιμή	Χαρακτηριστικά	Οικογένειες
1	Μικρός χρόνος γενεάς, μικρά ωά, υψηλή γονιμότητα, κυρίως βακτηριοφάγοι, τρεφόμενα συνεχώς σε σε εμπλουτισμένο μέσο, σχηματίζουν dauerlarvae όταν η έξαρση των μικροοργανισμών που αποτελούν τροφή τους υποχωρήσει	Alloionematidae, Bunonematidae, Diplogasteridae, Diplogasteroididae, Diploscapteridae, Myolaimidae, Neodiplogasteridae, Odontopharyngidae, Panagrolaimidae, Rhabditidae, Tylopharyngidae
2	Μεγαλύτερος χρόνος γενεάς και μικρότερη γονιμότητα από την ομάδα 1, πολύ ανθεκτικά σε αντίξοες συνθήκες, μπορεί να γίνουν κρυπτοβιωτικά. Τρέφονται λιγότερο ενστικτωδώς και συνεχίζουν να τρέφονται καθώς η πηγή της τροφής υποχωρεί. Κυρίως βακτηριοφάγοι και μυκητοφάγοι	Anguinidae, Aphelenchidae, Aphelenchoididae, Cephalobidae, Ecphyadophoridae, Heteroderidae, Hoplolaimidae, Hypodontolaimidae, Leptolaimidae, Microlaimidae, Monhysteridae, Neotylenchidae, Ostellidae, Paratylenchidae, Plectidae, Pratylenchidae, Psilenchidae, Tylenchidae, Tylodoridae, Xyalidae
3	Μεγαλύτερος χρόνος γενεάς, μεγαλύτερη ευαισθησία σε αντίξοες συνθήκες. Βακτηριοφάγοι, μυκητοφάγοι και παμφάγοι.	Achromadoridae, Aulolaimidae, Bastianiidae, Chromadoridae, Criconematidae, Cyatholaimidae, Desmodoridae, Diphtherophoridae, Diplopeltidae, Dolichodoridae, Ethmolaimidae, Halaphanolaimidae, Hemicycliophoridae, Linhomoeidae, Meloidogynidae, Odontolaimidae, Onchulidae, Prismatolaimidae, Rhabdolaimidae, Teratocephalidae, Tobrilidae, Tripylidae, Alaimidae
4	Μεγαλύτερος χρόνος γενεάς, μικρότερη γονιμότητα, μεγαλύτερη ευαισθησία σε αντίξοες συνθήκες. Εκτός των άλλων τροφικών τύπων εδώ ανήκουν και τα μικρότερα παμφάγα είδη.	Anatonchidae, Bathyodontidae, Choanolaimidae, Qudsianematidae, Ironidae, Leptonchidae, Mononchidae, Nordiidae, Qudsianematidae, Trichodoridae,
5	Μεγαλύτερος χρόνος γενεάς, μεγαλύτερο σωματικό μέγεθος, μικρότερη γονιμότητα, μεγαλύτερη ευαισθησία σε διαταραχές. Κυρίως αρπακτικά και παμφάγα	Actinolaimidae, Aporcelaimidae, Belondiridae, Chrysonematidae, Discolaimidae, Longidoridae, Nygolaimidae, Thornenematidae,

Στον υπολογισμό του δείκτη MI δεν χρησιμοποιούνται οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις καθώς η αφθονία τους και τα είδη εξαρτώνται από την φυτοκαλυψη – παρουσία φυτών ξενιστών τους. Για τα φυτοпараσιτικά είδη κατά αντίστοιχο τρόπο υπολογίζεται ο δείκτης ωριμότητας της φυτοпараσιτικής νηματωδοκοινότητας (PPI – Plant Parasitic Index). Ο Yeates (1994) πρότεινε τον ολικό δείκτη ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας (ΣMI) στον οποίο συμπεριλαμβάνονται και οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις. Οι Bongers *et al.* (1997) αναφέρουν όμως ότι η ενσωμάτωση των φυτοпараσιτικών νηματωδών στον δείκτη ωριμότητας μπορούν να κάνουν τον δείκτη λιγότερο ευαίσθητο σε περιβαλλοντικές αλλαγές καθώς ο δείκτης ωριμότητας για φυτοпараσιτικούς νηματώδεις έχει σε κάποιες περιπτώσεις αρνητική συσχέτιση με αυτόν της υπόλοιπης νηματωδοκοινότητας. Επίσης δύο ακόμα δείκτες που χρησιμοποιούνται για την μελέτη της νηματωδοκοινότητας, και υπολογίζονται κατά τον ίδιο τρόπο είναι ο MI<sub>2-5</sub> (Bongers & Korthals, 1996) για τους ελεύθερος διαβιούντες νηματώδεις (πλην φυτοпараσιτικών και νηματωδών με τιμή 1), καθώς και ο δείκτης ΣMI<sub>2-5</sub> (Neher & Campbell 1996) για τους ελεύθερος διαβιούντες νηματώδεις και τους φυτοпараσιτικούς (πλην νηματωδών με τιμή c-p το 1). Ο αποκλεισμός των νηματωδών που ανήκουν στην κλάση 1 από τον υπολογισμό των δεικτών αυτών σχετίζεται με το ότι οι νηματώδεις αυτοί θεωρείται ότι αναπτύσσουν ευκαιριακά μεγάλους πληθυσμούς αντιδρώντας ταχύτατα σε συνθήκες εμπλουτισμού του εδάφους, και μπορεί να υφίστανται έντονες πληθυσμιακές διακυμάνσεις σε σύντομο χρονικό διάστημα οι οποίες δεν αντανακλούν υποχρεωτικά μακρόχρονες αλλαγές στην οικολογική κατάσταση του εδάφους. Επίσης οι νηματώδεις αυτοί γενικά παρουσιάζουν έντονα ομαδοποιημένη κατανομή στον χώρο. Οι νηματώδεις με τιμές 2-5 έχουν πιο σταθερούς πληθυσμούς και μπορούν να παρέχουν πιο μακροπρόθεσμες πληροφορίες για τις περιβαλλοντικές συνθήκες στο έδαφος (Poronici 1992, Bongers *et al.* 1995)

Οι Ferris *et al.* 2001 σε μια προσπάθεια συνδυασμού των κλάσεων των νηματωδών σύμφωνα με την προαναφερθείσα κλίμακα των εμμόνων – αποικιστικών με τις τροφικές απαιτήσεις πρότειναν την ταξινόμηση των νηματωδών σε λειτουργικές ομάδες (functional guilds), ομάδες δηλαδή οι οποίες περιέχουν νηματώδεις με παρόμοιες τροφικές συνήθειες και λειτουργικό ρόλο στον εδαφικό τροφικό ιστό. Επιπλέον, σε μια προσπάθεια να βελτιωθεί η χρησιμότητα των νηματωδών ως δεικτών του περιβάλλοντος, στάθμισε τις ομάδες των νηματωδών ανάλογα με την κατάσταση του εδαφικού τροφικού ιστού που φανερώνει η ύπαρξη/αφθονία τους. Αυτό οδήγησε στην ανάπτυξη δεικτών του τροφικού ιστού όπως ο δείκτης εμπλουτισμού (Enrichment Index – EI) και ο δείκτης δομής (Structure Index – SI) της νηματωδοκοινότητας. Η ταξινόμηση αυτή σε λειτουργικές ομάδες παρουσιάζεται στο διάγραμμα I.1.

Οι τροφικοί ιστοί θεωρούνται εμπλουτισμένοι όταν λόγω μιας διαταραχής αυξάνεται η

διαθεσιμότητα κάποιων πόρων, πχ λόγω θνησιμότητας κάποιων οργανισμών, εναλλαγής ή ευνοϊκών μεταβολών στο περιβάλλον (Odum, 1985). Παρατηρείται αύξηση της μικροβιακής δραστηριότητας, ενώ αυξάνουν οι πληθυσμοί των αποικιστικών βακτηριοφάγων νηματωδών (κλάση 1 του MI). Για την ποσοτικοποίηση του εμπλουτισμού του εδαφικού τροφικού ιστού υπολογίζεται ο δείκτης εμπλουτισμού EI, ο οποίος εκφράζει αν ένα εδαφικό περιβάλλον είναι εμπλουτισμένο σε θρεπτικά στοιχεία (υψηλή τιμή EI) ή εξαντλημένο (χαμηλή τιμή EI).

Ο δείκτης δομής SI είναι χρήσιμο εργαλείο για την μελέτη της μεταβολή της δομής του εδαφικού τροφικού ιστού σε σχέση με μια διαταραχή ή κατά την διάρκεια της αποκατάστασης. Υψηλή τιμή SI σχετίζεται από την έντονη παρουσία των λειτουργικών ομάδων που χαρακτηρίζονται από μακροζωία, μεγάλο σωματικό μέγεθος και ευαισθησία στις διαταραχές (δηλαδή ομάδων που ανήκουν στις κλάσεις 3-5 της ταξινόμησης αποικιστικών - εμμόνων νηματωδών) και ότι ο εδαφικός τροφικός ιστός είναι δομημένος με ένα πλούσιο πλέγμα τροφικών σχέσεων, και είναι δείκτης σταθερότητας της νηματωδοκοινοότητας. Αντίθετα χαμηλή τιμή SI σημαίνει ότι ο τροφικός ιστός είναι υποβαθμισμένος με πιο απλές τροφικές σχέσεις (θεμελιώδης τροφικός ιστός), κατάσταση στην οποία η δομή του εδαφικού τροφικού ιστού έχει υποβαθμιστεί λόγω κάποιας διαταραχής (έλλειψη πόρων, αντίξοες συνθήκες περιβάλλοντος ή πρόσφατη ρύπανση). Οι επιβιώνοντες οργανισμοί σε αυτές τις συνθήκες είναι αυτοί που έχουν ικανότητα προσαρμογής (φυσιολογικά, ηθολογικά) στο νέο περιβάλλον και αντιπροσωπεύονται στις ομάδες της κλάσης 2 της ταξινόμησης έμμοων-εποικιστικών

Επιπλέον οι Ferris *et al.* 2001 πρότειναν επίσης και τον δείκτη οδού αποσύνθεσης (Channel Index – CI), που δείχνει τις κυρίαρχες οδούς αποσύνθεσης. Ο δείκτης αυτός είναι το σταθμισμένο ποσοστό των μυκητοφάγων νηματωδών σε σχέση με τους μυκητοφάγους και τους αποικιστικούς βακτηριοφάγους νηματώδεις. Υψηλότερη τιμή του δείκτη από μια περιοχή A σε σχέση με μια περιοχή B σημαίνει ότι στην περιοχή A το ποσοστό της αποσύνθεσης οφειλόμενο σε μύκητες είναι μεγαλύτερο από ότι στην περιοχή B. Επίσης ένας άλλος δείκτης που έχει προταθεί είναι ο δείκτης θεμελιώδους κατάστασης BI (Basal Index – BI). Υψηλή τιμή του δείκτη αυτού σημαίνει ότι ο εδαφικός τροφικός ιστός έχει περιορισμένη δομή λόγω έλλειψης θρεπτικών συστατικών, ρύπανσης ή άλλων αντίξοων περιβαλλοντικών συνθηκών (Ferris *et al.* 2001, Berkelmans *et al.* 2003).

Για τον υπολογισμό των παραπάνω δεικτών, υπολογίζουμε τις τιμές b, e και s που εκφράζουν την σταθμισμένη αφθονία των νηματωδών που σχετίζονται με συνθήκες περιβάλλοντος θεμελιώδεις (b), εμπλουτισμένες (e) και δομής (s), σύμφωνα με τους παρακάτω τύπους:

$$b = (B\Phi_2 + M\Phi_2) * W_2 \quad e = B\Phi_1 * W_1 + M\Phi_2 * W_2$$

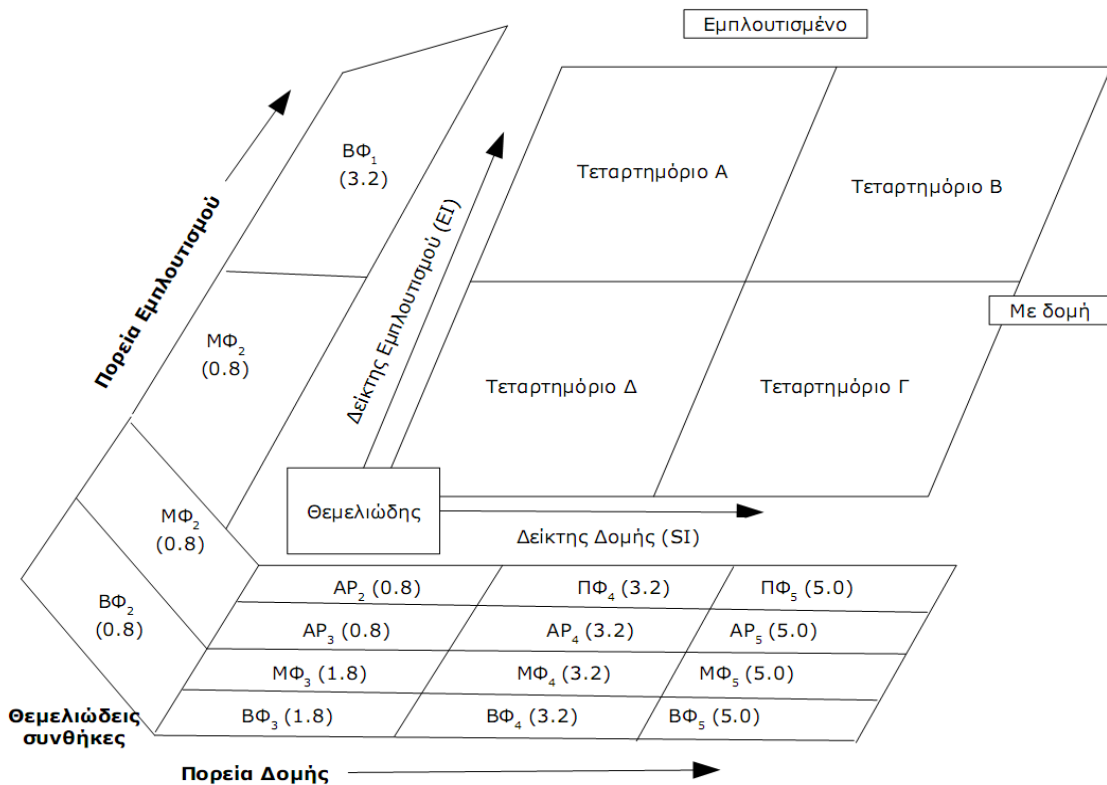
$$s = \sum_{i=3}^5 B\Phi_i * W_i + \sum_{i=3}^5 M\Phi_i * W_i + \sum_{i=3}^5 \Pi\Phi_i * W_i + \sum_{i=3}^5 AP_i * W_i$$

όπου:  $B\Phi_i$ ,  $M\Phi_i$ ,  $\Pi\Phi_i$  και  $AP_i$  είναι οι συχνότητα των βακτηριοφάγων (BΦ), μυκητοφάγων (MΦ), παμφάγων (ΠΦ) και αρπακτικών νηματωδών (AP) που ανήκουν στην κλάση  $i$  κατά Bongers (σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα) και  $W_i$  συντελεστές με τιμές,  $W_1=3.2$ ,  $W_2=0.8$ ,  $W_3=1.8$ ,  $W_4=3.2$  και  $W_5=5.0$  (όπως παρουσιάζονται και στο παραπάνω διάγραμμα).

Με βάση τα παραπάνω υπολογίζουμε τους δείκτες από τους παρακάτω τύπους:

$$EI=100*\left(\frac{e}{e+b}\right) \quad SI=100*\left(\frac{s}{s+b}\right) \quad CI=100*\left(\frac{M\Phi_2*W_2}{e}\right) \quad BI=100*\left(\frac{b}{b+e+s}\right)$$

Τοποθετώντας σε σύστημα οριζόντιων συντεταγμένων τις τιμές EI και SI προκύπτει ένα χρήσιμο εργαλείο για την χρήση της ανάλυσης της κοινότητας των νηματωδών ως δείκτη του εδαφικού τροφικού ιστού. (διάγραμμα I.1 και πίνακας I.4).



**Διάγραμμα I.1.** Λειτουργικοί τύποι εδαφικών νηματωδών με βάση τις τροφικές συνθήκες (τροφικός τύπος) και τα χαρακτηριστικά εκφρασμένα σύμφωνα με την κλίμακα (αποικιστικό-έμμονο) όπως προτείνεται από Bongers & Bongers (1998). Οι διάφορες λειτουργικές ομάδες σημειώνονται με βάση τις τροφικές συνθήκες [BΦ (βακτηριοφάγοι), MΦ (μυκητοφάγοι), ΠΦ (παμφάγοι) και AP (αρπακτικοί)] και με δείκτη [την τιμή 1-5 σύμφωνα με την κλίμακα αποικιστικό-έμμονο]. Στο διάγραμμα έχουν απεικονιστεί ομάδες - δείκτες της κατάστασης του εδαφικού τροφικού ιστού (θεμελιώδης, δομημένος, εμπλουτισμένος).

**Πίνακας Ι.4.** Κατάσταση του εδαφικού τροφικού ιστού και του περιβάλλοντος του όπως προκύπτει από την ανάλυση της νηματωδοκοινότητας και το διάγραμμα ΕΙ και ΣΙ (τα τεταρτημόρια αναφέρονται στο παραπάνω σχήμα)

	Τεταρτημόρια			
	A	B	Γ	Δ
Γενική κατάσταση νηματωδοκοινότητας	εμπλουτισμένη, αλλά χωρίς δομή	εμπλουτισμένη, με δομή	Περιορισμένων πορων αλλά με δομή	εξαντλημένοι πόροι με υποτυπώδη δομή
Διαταραχή	Υψηλό	Χαμηλή προς μέτρια	Μη διαταραγμένο	Έντονη διαταραχή
Εμπλουτισμός	N-Εμπλουτισμένο	N-Εμπλουτισμένο	Μέτριος	Εξαντλημένο
Δρόμοι αποσύνθεσης	Βακτήρια	Ισορροπημένο	Μύκητες	Μύκητες
Αναλογία C:N	Χαμηλή	Χαμηλή	Μέτρια προς υψηλή	Υψηλή
Κατάσταση τροφικού ιστού	Διαταραγμένη	Ώριμη	Δομημένη	Υποβαθμισμένη

Από τις τάξεις νηματωδών που απαντώνται στο έδαφος, οι σπουδαιότερες είναι αυτές των Tylenchida, Rhabditida, Dorylaimida, Mononchida, Triploncida και Araeolaimida. Παρακάτω θα δοθούν κάποια χαρακτηριστικά για αυτές τις τάξεις.

#### I.1.3.3.1. Tylenchida

Η τάξη των Tylenchida χωρίζεται στις υποτάξεις Tylenchina και Aphelenchina (κατά κάποιους ερευνητές αποτελούν ξεχωριστές τάξεις). Χαρακτηρίζονται από την παρουσία στην κεφαλή στιλέτου χαρακτηριζόμενο ως στοματοστιλέτο, στην βάση του οποίου υπάρχουν ευδιάκριτα σφαιρικά βασικά σωματίδια (σχήμα I.5.4). Ο οισοφάγος τους αποτελείται από 4 μέρη, το πρόσθιο (procorpus), έναν μυώδη μεσαίο βολβό με βαλβίδα (metacorpus), μια στενή περιοχή (isthmus) και τον βασικό βολβό ο οποίος ενώνεται με το έντερο χωρίς βαλβίδα και μπορεί να επικαλύπτει το έντερο η όχι (σχήμα I.6.E.). Στην επιδερμίδα τους παρατηρούνται εμφανείς δακτύλιοι. Στα Tylenchida ανήκει η πλειονότητα των φυτοпараσιτικών νηματωδών, ενώ κάποια είδη είναι μυκητοφάγα, ενώ για κάποια άλλα οι τροφικές τους απαιτήσεις δεν είναι πλήρως καθορισμένες.

Τα Aphelenchina ομοιάζουν με τα Tylenchina, με πιο ευκρινείς διαφορές ότι το στιλέτο τους είναι πιο λεπτό ενώ τα βασικά σωματίδια είναι αρκετά πιο λεπτότερα η λείπουν. Ακόμα ο βολβός (metacorpus) είναι πολύ μεγάλος και καλύπτει σχεδόν όλο το πλάτος του σωματός τους. Τα εδαφόβια Aphelenchina είναι κυρίως μυκητοφάγα ενώ υπάρχουν και κάποια αρπακτικά (*Seinura*).

Σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά του βιολογικού τους κύκλου τα Tylenchida ανήκουν στις βαθμίδες 2 και 3 της κλίμακας αποικιστικών-έμμωνων.



### **I.1.3.3.2. Rhabditida**

Τα στοματικά μόρια των νηματώδων της τάξης αυτής είναι κοιλότητα κυλινδρικής (σχήμα I.5.1 και I.5.2) η χοανοειδούς μορφής, με τα οποία καταπίνουν βακτήρια. Στα τείχη της στοματικής κοιλότητας διακρίνονται 5 η περισσότερα μέρη που καλούνται rhabdions. Ο οισοφάγος τους χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός στρογγυλού βασικού βολβού ο οποίος έχει μια εμφανή βαλβίδα. Επίσης μπορεί να έχουν και μεσαίο βολβό όπως στα Tylenchida. Τα Rhabditida του εδάφους τρέφονται από βακτήρια και αναπτύσσουν υψηλούς πληθυσμούς σε θέσεις που εμφανίζονται υψηλοί πληθυσμοί βακτηρίων. Παρουσιάζουν έντονες πληθυσμιακές διακυμάνσεις ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος (κλιματικές, αφθονία τροφής). Τα Rhabditida του εδάφους είναι νηματώδεις με σύντομο βιολογικό κύκλο και υψηλή γονιμότητα, και ανήκουν στην κλίμακα αποικιστικών-έμμενων στις βαθμίδες 1 (π.χ. Rhabditidae, Panagrolaimidae) και 2 (Cephalobidae). Κάποιοι νηματώδεις της τάξεως αυτής σε δυσμενείς συνθήκες περιβάλλοντος σχηματίζουν μια μορφή μειωμένης μεταβολικής δραστηριότητας η οποία καλείται "dauerlarva" και είναι στάδιο στο οποίο μπορεί να διατηρηθεί για αρκετό καιρό, έως ότου το περιβάλλον γίνει ευνοϊκό για την επαναδραστηριοποίηση του.

### **I.1.3.3.3. Dorylaimida**

Οι νηματώδεις της τάξεως αυτής χαρακτηρίζονται από την παρουσία κοίλου εσωτερικά σπιλέτου, χαρακτηριζόμενου ως οδοντοσπιλέτου, συνήθως κοντού σε μήκος (σχήμα I.5.5), ενώ αντίθετα στα φυτοпараσιτικά γένη της τάξεως αυτής (*Longidorus*, *Xiphinema*) το σπιλέτο είναι αρκετά επίμηκες (σχήμα I.5.6). Ο οισοφάγος είναι μυώδης και διακρίνεται σε δυο μέρη ένα πρόσθιο στενό και ένα οπίσθιο πιο διευρυμένο, ενώ ενώνεται με το έντερο μέσω μιας καλά ανεπτυγμένης βαλβίδας (σχήμα I.6.A). Έχουν συνήθως καλά ανεπτυγμένα χείλη ενώ στην επιδερμίδα τους συνήθως δεν παρατηρούνται εμφανείς (με το κοινό οπτικό μικροσκόπιο) δακτύλιοι.

Οι τροφικές απαιτήσεις των νηματώδων της τάξεως Dorylaimida δεν είναι πλήρως διασαφηνισμένες. Κάποιοι είναι φυτοпараσιτικοί (*Longidorus*, *Xiphinema*) τα οποία είναι επιπλέον φορείς σημαντικών φυτικών ιώσεων, κάποιοι άλλα θεωρούνται αρπακτικοί (πχ *Nyngolaimidae*) ενώ αρκετοί θεωρούνται παμφάγοι. Είναι από τους πιο μεγάλους νηματώδεις του εδάφους και χαρακτηρίζονται από μακρό βιολογικό κύκλο, χαμηλή γονιμότητα και ευαισθησία στην αλλαγή του περιβάλλοντός τους, και στην κλίμακα αποικιστικών-εμμένων νηματώδων ανήκουν στις βαθμίδες 4 και 5.

### **I.1.3.3.4. Mononchida**

Οι νηματώδεις της τάξεως αυτής χαρακτηρίζονται από την παρουσία οδόντος τοποθετημένου στα τοιχώματα της στοματικής τους κοιλότητας η οποία είναι έντονα χιτινισμένη, στην οποία μπορεί ακόμα να υπάρχουν σειρές από οδοντιδία (σχήμα I.5.8).

Ο οισοφάγος είναι μυώδης και έχει ενιαίο πάχος σε όλο το μήκος του και ενώνεται με το έντερο μέσω μιας καλά ανεπτυγμένης βαλβίδας (σχήμα I.6.B). Έχουν συνήθως καλά ανεπτυγμένα χείλη ενώ στην επιδερμίδα τους συνήθως δεν παρατηρούνται εμφανείς (με το κοινό οπτικό μικροσκόπιο) δακτύλιοι.

Οι νηματώδεις της τάξεως αυτής είναι αρπακτικοί, τρεφόμενοι από άλλους νηματώδεις ή άλλους ασπόνδυλους οργανισμούς, ενώ ο κανιβαλισμός είναι συνηθισμένο φαινόμενο. Τα ανήλικα στάδια μπορεί να είναι βακτηριοφάγα. Είναι, όπως και τα *Dorylaimida* από τους πιο μεγαλόσωμους νηματώδεις του εδάφους και χαρακτηρίζονται από μακρό βιολογικό κύκλο, χαμηλή γονιμότητα και ευαισθησία στην αλλαγή του περιβάλλοντός τους. Στην κλίμακα αποικιστικών-έμμονων νηματωδών ανήκουν στις βαθμίδες 4 και 5.

#### **I.1.3.3.5. Triplonchida**

Οι νηματώδεις της τάξεως αυτής (όπως και αυτοί της τάξης των *Mononchida*) παλιότερα κατατάσσονταν στην τάξη των *Dorylaimida*, σύμφωνα όμως με νεότερες επιστημονικές απόψεις ταξινομούνται σε ξεχωριστή τάξη. Τα στοματικά μόρια των *Triplonchida* του εδάφους είναι είτε στόμα με χιτινισμένες περιοχές όπου δεν είναι πλήρως διασαφηνισμένη η λειτουργία τους (πχ *Diphtherophora*), είτε σιλέτο συμπαγές (δεν έχει εσωτερικό αυλό) και κυρτό κατάλληλο για φυτοπαρασιτισμό (*Trichodorus* σχήμα I.5.7). Για την διατροφή τους τα φυτοπαρασιτικά είδη καταστρέφουν τα κύτταρα των ριζών του ξενιστή με το σιλέτο τους, ενώ σχηματίζουν ένα είδος σωλήνα για την αναρρόφηση του εκκρεόμενου φυτικού χυμού (Baldwin *et al.* 2004). Ο οισοφάγος διακρίνεται σε δυο μέρη ένα πρόσθιο στενό και ένα οπίσθιο πιο διευρυμένο.

Είναι φυτοφάγοι νηματώδεις, ενώ κάποιοι είναι και φορείς σημαντικών ιώσεων (*Trichodoridae*). Σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά του βιολογικού τους κύκλου τα *Triplonchida* ανήκουν στις βαθμίδες 3 (*Diphtherophoridae*) και 4 (*Trichodoridae*) της κλίμακας αποικιστικών-έμμονων.

#### **I.1.3.3.6. Araeolaimida**

Οι εδαφόβιοι νηματώδεις της τάξεως αυτής χαρακτηρίζονται από τα ευμεγέθη αμφίδια (αισθητήρια όργανα) σχήματος σπιδάλ, στην κεφαλή του νηματώδους. Το στόμα είναι χοανοειδούς μορφής ενώ ο οισοφάγος καταλήγει σε βολβό με βαλβίδα (σχήμα I.6.D). Τα περισσότερα είδη της τάξεως αυτής είναι υδρόβια, ενώ υπάρχουν και μερικά χερσαία Τρέφονται με βακτήρια. Σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά του βιολογικού τους κύκλου τα χερσαία *Araeolaimida* ανήκουν στις βαθμίδες 2 (*Plectidae*) και 3 (*Teratocephalidae*) της κλίμακας αποικιστικών-εμμόνων.

#### **I.1.3.4. Αθρόποδα**

Τα αρθρόποδα είναι άλλη μια μεγάλη ομάδα οργανισμών του εδάφους. Τα αρθρόποδα του εδάφους ποικίλλουν σε μέγεθος από 100μm έως μερικά εκατοστά. Τα αρθρόποδα του εδάφους ανάλογα με τον λειτουργικό τους ρόλο στο έδαφος μπορεί να διακριθούν σε (Ingham *et al.* 2005):

- Τεμαχιστές. Μασούν και τεμαχίζουν νεκρό φυτικό υλικό καθώς τρέφονται με βακτήρια και μύκητες στην επιφάνεια του φυτικού υλικού. Οι πιο κοινοί τεμαχιστές είναι τα χιλόποδα και τα ισόποδα όπως και οι τερμίτες, κάποια ακάρεα και δικτυόπτερα. Στα αγροτικά εδάφη οι τεμαχιστές μπορεί να γίνουν επιζήμιοι καθώς τρέφονται με ζωντανές ρίζες αν δεν υπάρχει αρκετό νεκρό φυτικό υλικό.
- Αρπακτικά. Τα αρπακτικά του εδάφους περιλαμβάνουν αράχνες, κολεότερα, σκορπιούς, ψευδοσκορπιούς, αράχνες, μυρμήγκια και ακάρεα. Μπορεί να είναι γενικό άρπαγες τρεφόμενοι με ποικίλους τύπους θηραμάτων ή μονοφάγοι ή ολιγοφάγοι περιοριζόμενοι μόνο σε ένα είδος θηράματος.
- Φυτοφάγα. Αρκετά φυτοφάγα έντομα όπως τζιτζίκια, και προνύμφες λεπιδόπτερων, κολεοπτέρων και δίπτερων, περνούν μέρος του βιολογικού τους κύκλου στο έδαφος.
- Μυκητοφάγα. Αρθρόποδα που τρέφονται με μύκητες (και σε κάποια έκταση με βακτήρια) είναι κυρίως τα Collembola και κάποια ακάρεα.

Οι δραστηριότητες των αρθροπόδων που είναι επωφελείς για το εδαφικό οικοσύστημα είναι (Moldenke *et al.* 2000):

- Τεμαχισμός οργανικού υλικού. Τα αρθρόποδα αυξάνουν την επιφάνεια του οργανικού υλικού που είναι διαθέσιμη για τους μικροοργανισμούς, τεμαχίζοντας και ανοίγοντας στοές σε νεκρό οργανικό υλικό.
- Διέγερση μικροβιακής δραστηριότητας. Καθώς καταναλώνουν βακτήρια και μύκητες διεγείρουν την ανάπτυξη των μυκόρριζων και άλλων μυκήτων, καθώς και την αποσύνθεση του οργανικού υλικού. Αν είναι σε μεγάλους πληθυσμούς συμβαίνει το αντίθετο, καθώς μειώνουν τους πληθυσμούς των βακτηρίων και των μυκήτων. Τα αρπακτικά αρθρόποδα ελέγχουν τους πληθυσμούς αυτών των νομευτικών αρθροπόδων.
- Ανοργανοποίηση θρεπτικών συστατικών. Ανοργανοποιούν και απεκκρίνουν ανόργανα θρεπτικά συστατικά για άλλους οργανισμούς.
- Δημιουργία εδαφικών συσσωματωμάτων. Προσλαμβάνοντας την τροφή τους καταπίνουν και τεμαχίδια εδάφους τα οποία διερχόμενα το πεπτικό τους σύστημα αναμειγνύονται με οργανικές ουσίες. Τα αποχωρήματα των οργανισμών αυτών, όντας μείγμα οργανικών και ανόργανων συστατικών, είναι πλούσια σε θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη βακτηρίων και μυκήτων. Σε πολλά εδάφη μικρής διαμέτρου εδαφικά συσσωματώματα είναι ουσιαστικά αποχωρήματα εντόμων.
- Μεταφορείς άλλων οργανισμών. Οργανισμοί όπως τα βακτήρια που δεν έχουν

ουσιαστικά την ικανότητα κίνησης σε σημαντικές αποστάσεις μετακινούνται με φορείς τα αρθρόποδα είτε προσκολλημένα στον εξωσκελετό τους είτε στον πεπτικό τους σωλήνα.

- Άνοιξη στοών στο έδαφος. Με την κίνηση τους τα αρθρόποδα ανοίγουν στοές στο έδαφος μεταβάλλοντας τις φυσικές ιδιότητες του εδάφους (πορώδες, διηθητικότητα, υδατοϊκανότητα, συσσωματώματα).

Η πλειονότητα των αρθροπόδων του εδάφους ζουν στα πρώτα 10cm του εδάφους. Συνήθως τα μεγαλύτερα σε μέγεθος αρθρόποδα είναι ενεργά στην επιφάνεια του εδάφους. Στα βαθύτερα στρώματα τα αρθρόποδα είναι συνήθως μικρά σε μέγεθος, άχρωμα και τυφλά, και κυρίως συγκεντρώνονται στην περιοχή της ριζόσφαιρας. Στα περισσότερα εδάφη η πλειονότητα των αρθροπόδων είναι ακάρεα και Collembola, αν και τα μερμήγκια και οι τερμίτες επικρατούν σε κάποια περιβάλλοντα (πχ ερημικά εδάφη). Οι πιο πλούσιες κοινότητες αρθροπόδων εμφανίζονται σε εδάφη που απουσιάζουν οι γεωσκώληκες (πχ κωνοφόρα δάση), ενώ σε εδάφη με αρκετούς γεωσκώληκες (πχ λιβάδια) υπάρχουν λιγότερα αρθρόποδα.

Τα μικροαρθρόποδα του εδάφους (ακάρεα και Collembola), τα οποία είναι αντικείμενο μελέτης της παρούσας διατριβής, επηρεάζουν σημαντικές εδαφικές λειτουργίες, όπως η αποδόμηση της οργανικής ουσίας, ανοργανοποίηση θρεπτικών στοιχείων και στην δημιουργία δομής του εδάφους. Τα περισσότερα είναι υποχρεωτικά εδαφόβιοι οργανισμοί, προσαρμοσμένα να ζουν σε εδαφικούς οικολογικούς θώκους. Γι' αυτό η κοινότητα των μικροαρθρόποδων επηρεάζεται από την κατάσταση στην οποία βρίσκεται το έδαφος, και μπορούν να θεωρηθούν ως βιοδείκτες της υγείας του εδάφους (Seasted 1984, Arroyo & Iturrondobeitia 2006).

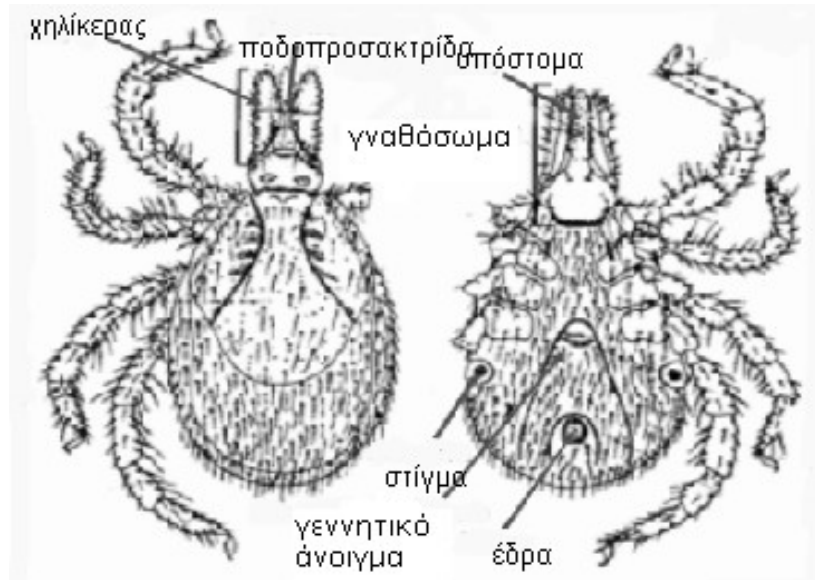
#### **I.1.3.4.1. Ακάρεα**

Τα ακάρεα είναι αρθρόποδα που ανήκουν στην κλάση Arachnidia (υπόκλαση Acarina) και είναι συγγενή με τις γνωστές αράχνες. Απαντώνται σε κάθε περιβάλλον της γης και σε χερσαίο (ερήμοι, τροπικά και εύκρατα δάση, πολικές περιοχές) τόσο στο έδαφος όσο και πάνω στα φυτά, όσο και σε υδρόβιο περιβάλλον. Σε αρκετούς τύπους εδαφών είναι τα πιο πολυάριθμα αρθρόποδα του εδάφους.

Το σώμα τους διακρίνεται σε δυο περιοχές την πρόσθια που καλείται γναθόσωμα και την οπίσθια που καλείται ιδιόσωμα. Στο γναθόσωμα υπάρχουν τα στοματικά μόρια καθώς και δυο ζεύγη αρθρωτών εξαρτημάτων τα οποία καλούνται ποδοπροσακτρίδες καθώς και δυο ζεύγη οργάνων που καλούνται χηλικέρατα, ποικίλης μορφολογίας και λειτουργικού ρόλου ανάμεσα στις διάφορες τάξεις και μορφές των ακαρέων. Στερούνται κεραιών. Στο ιδιόσωμα απαντώνται τέσσερα ζεύγη ποδών, καθώς και η έδρα και το γεννητικό άνοιγμα. Στερούνται πτερύγων (Σχήμα I.7).

Τα ακάρεα του εδάφους είναι μια αρκετά ποικιλόμορφη ομάδα οργανισμών, καθώς

απαντώνται σε 3 τροφικά επίπεδα (φυτοφάγα-ριζοφάγα, σαπροφάγα, αρπακτικά) και παρουσιάζουν διαφορετικές στρατηγικές διατροφής, αναπαραγωγής και εξάπλωσης. Πολλαπλασιάζονται αμφιμικτικώς ή παρθενογενετικώς.



**Σχήμα 1.7.** Γενική μορφολογία νωτιαίας (αριστερά) και κοιλικής (δεξιά) όψης ακάρεως.

Οι τάξεις των ακαρέων που απαντώνται στα εδάφη είναι τα Oribatida, τα Mesostigmata και τα Prostigmata. Δεδομένου της σπουδαιότητας των οργανισμών αυτών στο εδαφικό οικοσύστημα, καθώς και της ποικιλομορφίας που παρουσιάζει αυτή η ομάδα των οργανισμών θα αναφερθούμε ξεχωριστά σε κάθε μια από τις τρεις αυτές τάξεις.

#### **I.1.3.4.1.1. Oribatida**

Τα Oribatida διακρίνονται στις υποτάξεις Cryptostigmata και Astigmata (σύμφωνα με κάποιους ερευνητές αποτελούν διαφορετικές τάξεις).

Τα Cryptostigmata περιλαμβάνουν τον μεγαλύτερο αριθμό ακαρέων του εδάφους τόσο σε αριθμό ειδών όσο και σε πληθυσμούς που αναπτύσσουν, ιδιαίτερα σε μη διαταραγμένα εδάφη, καθώς η καλλιέργεια των εδαφών μειώνει τους πληθυσμούς τους (Loring *et al.* 1981, Ruf & Beck 2005).

Είναι ακάρεα με παχύ και σκληροποιημένο εξωσκελετό (cuticula), με χρωματισμό συνήθως σκουρόχρωμο, σε διάφορες αποχρώσεις του καστανού και του βαθέος κόκκινου. Το μήκος τους ποικίλλει από 150 έως 1500μm, αλλά συνήθως είναι από 300-700μm. Τα στοματικά τους μόρια είναι μασητικού τύπου, με τα οποία τεμαχίζουν την τροφή τους σε τεμάχια κατάλληλα για κατάποση. Κατά την διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου διέρχονται από έξι στάδια: ωό, ανενεργή prelarva, ενεργή larva, πρωτονύμφη, δυτερονύμφη, τριτονύμφη και ακμαίο. Μετακινούνται βραδέως. Τα ενδαιπήματα τους περιλαμβάνουν πολλά υλικά όπως ζωντανούς και νεκρούς τροφικούς ιστούς και μύκητες,

βρύα και λειχήνες. Κάποια είδη είναι ενδιάμεσοι ξενιστές πλατυελμίνθων, κάποια είδη είναι αρπακτικά ενώ δεν απαντώνται παρασιτικά είδη (Kranz 1978, Behan-Pelletier 1999,).

Ζουν για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα που στα εύκρατα κλίματα κυμαίνεται σύμφωνα με εκτιμήσεις από μερικούς μήνες έως και δύο χρόνια, ενώ σε ψυχρά κλίματα ο βιολογικός τους κύκλος μπορεί να διαρκέσει ακόμα και 7 χρόνια (Luxton 1981, Cannon & Block 1988). Ωτοκοούν καθ' όλη σχεδόν την διάρκεια της ενηλικίου ζωής των (Behan-Pelletier 1999). Είναι ακάρεα χαμηλού μεταβολικού ρυθμού βραδείας ανάπτυξης και μικρής γονιμότητας (Crossley 1977).

Ο ρόλος τους στο εδαφικό οικοσύστημα σχετίζεται με την αποσύνθεση της οργανικής ουσίας, την ανακύκλωση των θρεπτικών στοιχείων, καθώς και τον σχηματισμό του εδάφους. Είναι η πιο σημαντική ομάδα ακάρεων αυτής της τάξης που επηρεάζουν την εδαφική δομή και την αποσύνθεση, καθώς τεμαχίζουν το υπόστρωμα με το οποίο τρέφονται διευκολύνοντας την περαιτέρω αποδόμηση του, ενώ τα κόπρανα τους αποτελούν υπόστρωμα για την ανάπτυξη άλλων οργανισμών του εδάφους.

Τα Astigmata, απαντώνται πάνω στα φυτά, ως παράσιτα σε άλλους ζωϊκούς οργανισμούς, καθώς και σε αποθηκευμένα τρόφιμα και γεωργικά προϊόντα όντας τα πιο σημαντικά ακάρεα στο οικοσύστημα των αποθηκών ενώ κάποια είδη απαντώνται και στο έδαφος. Είναι γενικά λευκού ή υποκίτρινου χρώματος, ενώ το σώμα τους καλύπτεται συνήθως με μακρυές τρίχες. Τα στοματικά τους μόρια είναι μασητικού τύπου. Ευνοούνται από υγρά περιβάλλοντα, πλούσια σε οργανική ουσία. Διέρχονται από 5 προνομφικά στάδια: μια ανενεργή prelarva, μια ενεργή larva, πρωτονύμφη, τριτονύμφη και ακμαίο. Σε κάποια είδη παρατηρείται και ένα στάδιο ετερομορφικής δευτερονύμφης που καλείται υπόπους είναι ανενεργό στάδιο (Behan-Pelletier 1999). Παρουσιάζουν μικρό βιολογικό κύκλο και υψηλότερη γονιμότητα από τα Cryptostigmata. Πολλά είδη ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος (θερμοκρασία, υγρασία) μπορούν να συμπληρώσουν τον βιολογικό τους κύκλο σε 8 έως 24 ημέρες (Hughes 1976).

Τα ελευθέρως διαβιούντα ακάρεα της υπόταξης αυτής στο έδαφος τρέφονται με φυτικό υλικό, μύκητες και άλγη προτιμώντας τροφές με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, ενώ επίσης καταναλώνουν υγροποιημένα προϊόντα οργανικής ύλης εν αποσυνθέσει. Με τον τεμαχισμό των οργανικών υλικών δημιουργούν μεγαλύτερη επιφάνεια υποστρώματος προσβάσιμη σε άλλους οργανισμούς του εδάφους, διευκολύνοντας έτσι την διαδικασία της χουμοποίησης (Phillips 1990).

#### **I.1.3.4.1.2. Mesostigmata**

Τα ακάρεα της τάξης αυτής που απαντώνται στο έδαφος είναι κυρίως αρπακτικά, αν και υπάρχουν και κάποια μυκητοφάγα. Είναι σχετικά μεγαλόσωμα κινητικά ακάρεα (μήκους 200-2000μm) με μακρυά πόδια και σκληροποιημένες περιοχές (πλάκες) στην

στερνική χώρα. Στερούνται οφθαλμών, όμως έχουν αισθητήρια όργανα για το φως το οποίο και αποφεύγουν. Τρέφονται με άλλα ακάρεα, νηματώδεις, μικρούς γεωσκώληκες, ωά και νυμφικά στάδια εντόμων. Μερικά είδη παρουσιάζουν φαινόμενα κανιβαλισμού, τρεφόμενα με ατελή στάδια ή και αρσενικά του ίδιου είδους. Με τα χηλικέρατά τους διατρύπουν την τροφή τους και μυζούν τους «χυμούς» του θηράματος τους, δεν καταπίνουν την τροφή τους και δεν παράγουν στερεά κόπρανα όπως οι δυο προαναφερόμενες τάξεις ακάρεων, και έτσι δεν συμβάλλουν με αυτόν τον τρόπο στην δομή του εδάφους. Τα στάδια του βιολογικού τους κύκλου είναι: ωό, λάρβα (με 3 ζεύγη ποδών), πρωτονύμφη, δευτερονύμφη και ακμαίο. ( Kranz 1978, Koehler 1999, Ruf & Beck 2005).

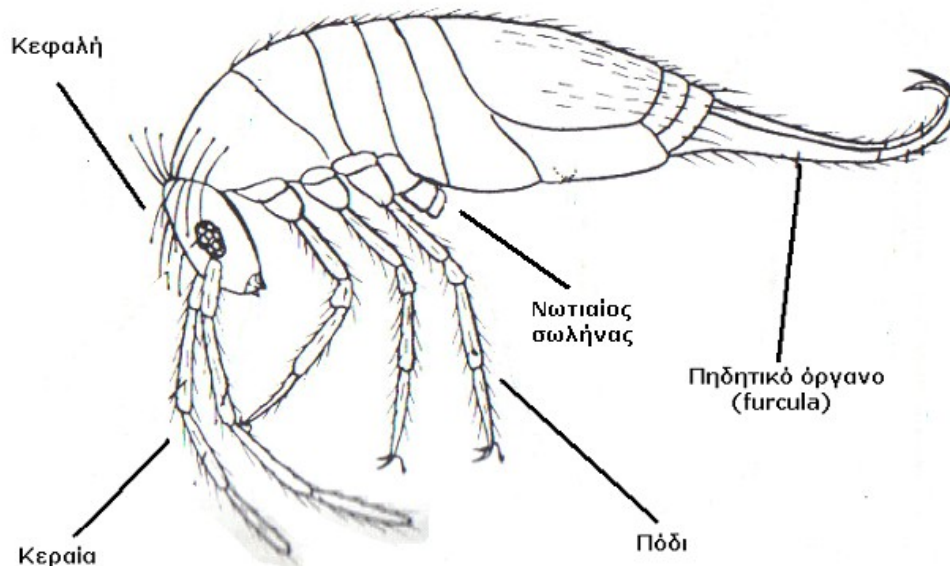
#### **I.1.3.4.1.3. Prostigmata**

Τα Prostigmata είναι η τάξη των ακαρέων με την μεγαλύτερη ποικιλομορφία, τόσο μορφολογικά όσο και λειτουργικά. Γι' αυτό δεν μπορούν να δοθούν κάποια γενικά μορφολογικά χαρακτηριστικά της τάξης αυτής. Ο προσδιορισμός της τάξης γίνεται συνήθως δια της εις άτοπον επαγωγής· δηλαδή στην έλλειψη μορφολογικών χαρακτηριστικών που θα το κατέτασσαν σε κάποια άλλη τάξη. Στην τάξη αυτή υπάγονται ακάρεα τόσο χερσαία όσο και υδρόβια (γλυκών και αλμυρών νερών) τα οποία είναι η φυτοφάγα (κάποια μάλιστα ιδιαίτερης οικονομικής σημασίας όπως το *Tetranychus urticae*), σαπροφάγα, αρπακτικά ή ακόμα και παράσιτα (Kranz 1978). Τα περισσότερα prostigmata που ζουν στο έδαφος είναι αρπακτικά, ενώ σε κάποιες οικογένειες απαντώνται και μυκητοφάγα είδη. Τα μυκητοφάγα είναι δυνατόν να παρουσιάσουν μεγάλες πληθυσμιακές εξάρσεις σε ευνοϊκές συνθήκες.

#### **I.1.3.4.2. Collembola**

Τα Collembola είναι γενικά μικρόσωμα (1-5mm) αρθρόποδα. Το σώμα τους αποτελείται από την κεφαλή, τον θώρακα (αποτελούμενο από 3 τμήματα) και την κοιλιά με 5 τμήματα. Η κεφαλή φέρει ζεύγος κεραιών (συνήθως με 4 άρθρα) και σε κάποια είδη δυο αισθητήρια όργανα στην βάση της κεραιάς, δυο σύνθετα μάτια (κάποια είδη στερούνται οφθαλμών) και τα στοματικά μόρια. Κάθε θωρακικό τμήμα φέρει ζεύγος ποδών. Στο νώτο του πρώτου κοιλιακού τμήματος διαθέτουν μια κατασκευή η οποία καλείται κοιλιακός σωλήνας (ventral tube) η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στο ισοζύγιο υγρών και ηλεκτρολυτών του ατόμου, ενώ χρησιμοποιείται και για την απορρόφηση υγρών καθώς και για την προσκόλληση σε λείες επιφάνειες. Τα θωρακικά και τα κοιλιακά τμήματα σε κάποια είδη δεν διακρίνονται ευκρινώς και έτσι δίνουν στο άτομο ένα σφαιρικό τμήμα. Χαρακτηριστικό μορφολογικό γνώρισμα των Collembola, αλλά όχι όλων είναι η παρουσία στο πίσω μέρος του σώματος τους ενός διχαλωτού εξαρτήματος (furcula) το οποίο χρησιμοποιούν για να εκτοξεύονται. Ανήκουν στα αμετάβολα αρθρόποδα, καθώς

η ανάπτυξή τους είναι άμεση και τα ατελή στάδια διαφέρουν από τα τέλεια μόνο στο σχήμα στον χρωματισμό και στην ύπαρξη του γεννητικού ανοίγματος. Υφίστανται εκδύσεις καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους, ακόμα και μετά την σεξουαλική τους ωρίμανση (Bellinger *et al.* 2006).



**Σχήμα Ι.8.** Μορφολογία ενός τυπικού αρθρόποδου της τάξης των Collembola (προσαρμογή από Scott 1961)

Είναι μικροαρθρόποδα που ζουν στην φυλλοστρωμνή ή στα ανώτερα 10-15cm του εδάφους. Είναι κυρίως σαπροφάγα τρεφόμενα με βακτήρια, μύκητες και άλγη που αναπτύσσονται σε αποδομούμενη οργανική ουσία του εδάφους. Είναι κυρίως ευκαιριακά είδη που αναπτύσσουν μεγάλους πληθυσμούς σε ευνοϊκές συνθήκες περιβάλλοντος, ενώ η κατανομή τους στον χώρο είναι συνήθως ομαδοποιημένη (Crossley & Coleman 1996).

#### **Ι.1.4. Μελέτη των οργανισμών του εδάφους**

Για την μελέτη των οργανισμών του εδάφους έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιούνται αρκετές τεχνικές. Οι μελέτη των οργανισμών του εδάφους συνίσταται είτε στην καταμέτρηση και ταξινόμηση των οργανισμών αυτών είτε στην μέτρηση βιοχημικών και φυσιολογικών παραμέτρων που σχετίζονται με την δραστηριότητα τους.

Η διαδικασία της καταμέτρησης αφορά κυρίως τους μεγαλύτερους οργανισμούς του εδάφους όπως τα αρθρόποδα, οι νηματώδεις και οι γεωσκώληκες, και λιγότερο μικρότερους οργανισμούς όπως πρωτόζωα, βακτήρια και μύκητες. Οι οργανισμοί αυτοί συλλέγονται με διάφορες τεχνικές (δειγματοληψίες χώματος, παγίδες), κατόπιν εξάγονται από το χώμα και στην συνέχεια κατατάσσονται και ταξινομούνται είτε κατά ταξινομική μονάδα (τάξη, οικογένεια, γένος, είδος) είτε κατά λειτουργική ομάδα (τροφικές απαιτήσεις, οικολογικός θώκος στο οικοσύστημα). Η ταξινόμηση κατά ταξινομική μονάδα είναι ιδιαίτερα επίπονη και απαιτεί έμπειρο προσωπικό με γνώσεις συστηματικής, ιδιαίτερα για να προσδιορισθούν κατώτερες συστηματικές μονάδες (γένος, είδος), επιπλέον κάποιοι



οργανισμοί χρειάζονται ειδικές μεταχειρίσεις προκειμένου να προσδιορισθούν (πχ διαύγαση, προσήλωση, εξαγωγή και δημιουργία μικροσκοπικών παρασκευασμάτων συγκεκριμένων οργάνων). Η καταμέτρηση μπορεί να είναι:

- Άμεση καταμέτρηση. Γίνεται με γυμνό μάτι, στερεοσκόπιο ή και μικροσκόπιο. Με την βοήθεια αραιώσεων και αιματοκυτόμετρου μπορούν να μετρηθούν και μικροί σε μέγεθος οργανισμοί όπως πρωτόζωα και βακτήρια.
- Έμμεση καταμέτρηση. Για τους μικρότερους οργανισμούς χρησιμοποιούνται και έμμεσες τεχνικές καταμέτρησης (πχ αριθμός βακτηριακών ή μυκητιακών αποικιών που προκύπτουν από μια ποσότητα χύματος).

Εκτός της καταμέτρησης μπορεί να γίνει και μέτρηση κυτταρικών συστατικών από τα οποία μπορούν να γίνουν έμμεσα εκτιμήσεις για την μικροβιακή βιομάζα ή για κάποια χαρακτηριστικά της κοινότητας των εδαφικών οργανισμών. Τέτοιες μετρήσεις είναι:

- Μέτρηση άνθρακα, αζώτου ή φωσφόρου της ζώσας βιομάζας. Με την μέτρηση συστατικών των ζωντανών κυττάρων μπορεί να γίνει εκτίμηση της συνολικής βιομάζας των οργανισμών.
- Μέτρηση ATP. Με την μέτρηση του κυτταρικού αυτού συστατικού γίνεται εκτίμηση της δραστηριότητας της ζωντανής βιομάζας του εδάφους.
- Μέτρηση ενζύμων. Με την μέτρηση ενζύμων σε ζωντανά κύτταρα ή στο έδαφος, εκτιμάται η βιολογική δραστηριότητα.
- Μέτρηση φωσφορολιπιδίων και άλλων λιπιδίων. Αποτελούν χαρακτηριστικό γνώρισμα της σύνθεσης της κοινότητας και ποσοτικοποιούν ομάδες οργανισμών όπως οι μύκητες και οι ακτινομύκητες.
- Μέτρηση εργοστερόλης. Η εργοστερόλη είναι παρούσα στα κυτταρικά τοιχώματα κάποιων μυκήτων και η μέτρησή της μας δίνει πληροφορίες για την παρουσία και την ποσότητα των μυκήτων αυτών.
- Μέτρηση DNA και RNA. Αποτελούν επίσης χαρακτηριστικό γνώρισμα της σύνθεσης της κοινότητας και μπορούν να ανιχνεύσουν την παρουσία ορισμένων ειδών ή ομάδων.

Για κάποιους οργανισμούς του εδάφους είναι χρήσιμες οι μετρήσεις της δραστηριότητας. Οι μετρήσεις αυτές αφορούν μετρήσεις υποπροϊόντων, ή την μείωση υλικών που είναι ενδείξεις δράσης κάποιας ή κάποιων λειτουργικών ομάδων οργανισμών του εδάφους. Τέτοιες μετρήσεις μπορεί να είναι:

- Ρυθμός αναπνοής. Προσδιορίζεται με την μέτρηση του διοξειδίου του άνθρακα που εκλύεται από το έδαφος. Είναι μέτρο της καταβολικής δραστηριότητας των οργανισμών του εδάφους, χωρίς όμως να είναι δυνατή η διάκριση των οργανισμών και η συνεισφορά τους στην συνολική καταβολική δραστηριότητα.
- Ρυθμός νιτροποίησης. Μέτρηση της δραστηριότητας των οργανισμών που

μετατρέπουν το αμμωνιακό άζωτο σε νιτρικό.

- Ρυθμός αποσύνθεσης. Μέτρηση της μείωσης οργανικού υπολείμματος στο έδαφος με την χρήση τυποποιημένων λωρίδων οργανικού υλικού.

## **I.2. Ρύπανση και οργανισμοί του εδάφους.**

### **I.2.1. Ρύπανση του εδάφους**

Στην σύγχρονη βιομηχανική εποχή η ρύπανση του περιβάλλοντος είναι ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα του πλανήτη. Οι δραστηριότητες του ανθρώπου παράγουν ένα τεράστιο φορτίο ρύπων και αποβλήτων που κατακλύζουν τον πλανήτη. Η ρύπανση του εδάφους, του νερού και του αέρα είναι από τα σημαντικότερα προβλήματα που αντιμετωπίζει η ανθρωπότητα σήμερα.

Στην κοινή γνώμη η ρύπανση του εδάφους είναι ήσσονος σημασίας σε σχέση με την ρύπανση του νερού και του αέρα. Ο αέρας και το νερό θεωρούνται πιο σημαντικά από τους ανθρώπους από ότι το έδαφος, διότι χρησιμοποιούνται πιο άμεσα στην καθημερινή τους ζωή (το νερό πίνεται και ο αέρας εισπνέεται). Το έδαφος από την άλλη μεριά μόνο έμμεσα επηρεάζει τον άνθρωπο ως υπόστρωμα για την παραγωγή της τροφής του. Από νομικής απόψεως επίσης το έδαφος δεν ανήκει καθ' ολοκληρίαν στην κοινωνία όπως ο αέρας και τα περισσότερα υδάτινα σώματα, αλλά ένα μέρος του στους γαιοκτήμονες που αποτελεί περιουσιακό τους στοιχείο και έχουν τα δικά τους συμφέροντα στην γη τους. Κατά συνέπεια, η οικολογική ταξινόμηση και αξιολόγηση των επίγειων περιοχών τόσο σε θεωρητικές προσεγγίσεις, όσο επίσης και στην πρακτική έρευνα καθώς και η πρόοδος στην οικοτοξικολογία των εδαφικών οργανισμών, υστερεί σαφώς σε σχέση με τη λιμνολογία και τις συναφείς επιστήμες όπως υδρόβια οικοτοξικολογία σε όλα τα επίπεδα από τις εργαστηριακές δοκιμές έως μεθόδους καταγραφής (Beck *et al.* 2005).

Ένα ιδιαίτερα μεγάλο μεγάλο εύρος ρύπων καταλήγει στο έδαφος από άμεση απόθεση, ατμοσφαιρικές κατακρημνίσεις, διάθεση αποβλήτων και βιομηχανικές εκροές. Αυτά τα χημικά μπορεί να είναι πτητικά, να έχουν μικρή τοξικότητα και μικρές επιδράσεις στο οικοσύστημα ή αντίθετα να είναι ευρέως φάσματος βιοκτόνα, σταθερά στο περιβάλλον και με ενδεχόμενο κίνδυνο βιοσυσσώρευσης στους οργανισμούς και στις τροφικές αλυσίδες. Μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις γενικές κατηγορίες ανάλογα με την πηγή τους (Edwards *et al.* 2002):

- Λιπάσματα και φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Οι επιπτώσεις από τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα (εντομοκτόνα, νηματωδοκτόνα, ακαρεοκτόνα, κοχλιοκτόνα, μυκητοκτόνα, ζιζανιοκτόνα) καθώς και τα ανόργανα λιπάσματα στο εδαφικό οικοσύστημα έχουν μελετηθεί αρκετά. Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα ποικίλλουν από έντονα πτητικές ουσίες όπως τα υποκαπνιστικά νηματωδοκτόνα που διατηρούνται για λίγες ημέρες στο οικοσύστημα, έως τα οργανοχλωριωμένα

εντομοκτόνα (τα τελευταία χρόνια έχει απαγορευτεί η χρήση τους στις περισσότερες χώρες) που παραμένουν ενεργά για δεκαετίες. Από άποψη τοξικότητας ποικίλλουν από ευρέως φάσματος τοξικές ουσίες όπως τα υποκαπνιστικά απολυμαντικά εδάφους έως υψηλής εξειδίκευσης χημικά που επηρεάζουν έναν περιορισμένο αριθμό ασπονδύλων και μικροοργανισμών. Μεταξύ αυτών των δυο ακραίων καταστάσεων υπάρχουν πολλά βιοκτόνα που καταστρέφουν τις εδαφικές τροφικές αλυσίδες ή επηρεάζουν δυναμικές εδαφικές διαδικασίες όπως την αποδόμηση της οργανικής ουσίας. Αυτό είναι πολύ σημαντικό για κάποια βιοκτόνα, ιδιαίτερα τα οργανοχλωριωμένα, που βιοσυσσωρεύονται από το χώμα στα σώματα των εδαφόβιων ασπόνδυλων (γεωσκώληκες, κοχλίες και μεγαλύτερα αρθρόποδα), και μπορεί στην συνέχεια να ευρεθούν στην υπέργεια τροφική αλυσίδα (βιολογική μεγέθυνση).

- Βιομηχανικές εκπομπές. Πολλοί ρύποι βιομηχανικής προέλευσης ρυπαίνουν την γη πλησίον των βιομηχανικών εγκαταστάσεων, μεταφέρονται σε άλλα συστήματα μέσω της απόθεσης τους στα υδατικά συστήματα ή σαν αέριες εκπομπές που μπορούν να μεταφερθούν σε σημαντικές αποστάσεις. Στους βιομηχανικούς ρύπους περιλαμβάνονται βαρέα μέταλλα από εξατμίσεις αυτοκινήτων και καμινάδες εργοστασίων καθώς και χυτήρια, τα οποία μπορεί να μεταφερθούν σε σημαντικές αποστάσεις, ανόργανες αέριες εκπομπές όπως οξείδια του αζώτου, όξινα θειούχα συστατικά όπως διοξείδιο του θείου καθώς και πτητικές οργανικές ουσίες. Αυτά οδηγούν σε όξινες αποθέσεις που μπορεί να έχουν σοβαρές επιδράσεις σε φυσικά δάση και σχετιζόμενα εδαφικά οικοσυστήματα (Kuperman *et al.* 1998). Μια άλλη ομάδα χημικών που παράγονται από πολλές βιομηχανικές δραστηριότητες είναι τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs). Αυτά είναι ευρέως φάσματος βιοκτόνα και βιοσυσσωρεύονται στους εδαφόβιους οργανισμούς με παρόμοιο τρόπο αυτόν των οργανοχλωριωμένων. Έλαια όπως το πετρέλαιο και λιπαρά μπορούν να μολύνουν εδαφικά συστήματα με πολλούς τρόπους, μπορούν να παραμείνουν στα εδάφη για σημαντικές περιόδους και να έχουν σημαντικές επιδράσεις στους οργανισμούς και στις φυσικοχημικές λειτουργίες του εδάφους.
- Αστικά και βιομηχανικά απόβλητα. Παράγονται σε μεγάλες ποσότητες και αν και τα περισσότερα αποθηκεύονται σε ειδικούς χώρους διάθεσης απορριμμάτων (χωματερές), μερικά φθάνουν σε εδάφη. Ένα από τα κύρια συστατικά των αστικών αποβλήτων είναι τα στερεά των υπονόμων, που μπορεί να είναι ισχυρά μολυσμένα με βαρέα μέταλλα και παρασιτοκτόνα. Στις αναπτυγμένες χώρες, η απόθεση αυτών σε καλλιεργήσιμη γη ελέγχεται αυστηρά έτσι ώστε να αποφευχθεί μόλυνση με βαρέα μέταλλα (Bogomolov *et al.* 1996). Εν τούτοις σε πολλές τροπικές χώρες η διάθεση της λυματολάσσης ή "night soil" αν δεν είναι οργανωμένη, μπορεί να προκαλέσει σοβαρή ρύπανση.

### **I.2.2. Επιπτώσεις της ρύπανσης στους οργανισμούς του εδάφους**

Το έδαφος μαζί με τον υδροφόρο ορίζοντα είναι οι δυο σπουδαιότερες «αποθήκες» ρύπων, με αποτέλεσμα οι εδαφόβιοι και οι υδρόβιοι οργανισμοί να επηρεάζονται από την ρύπανση του περιβάλλοντος.

Αν και τα φυσικά οικοσυστήματα πλήττονται περιοδικά από φυσικές καταστροφές (όπως πλημμύρες, πυρκαγιές, σεισμούς, καύσωνες κλπ), συνήθως ανακάμπτουν από τέτοιες καταστάσεις στο πλαίσιο της οικολογικής διαδοχής. Σε αντίθεση οι ρύποι μένουν για μεγάλο διάστημα στο οικοσύστημα και έχουν μακροχρόνιες επιδράσεις, έτσι ώστε η ανάνηψη να είναι πολύ αργή και περιορισμένη.

Οι οικολογικές επιδράσεις των χημικών στο έδαφος αφορούν επιπτώσεις σε διάφορα επίπεδα όπως (Edwards 2002):

- Οργανισμού, στον βιολογικό του κύκλο (ρυθμός αύξησης, αναπαραγωγή, θνησιμότητα).
- Κοινότητας (εδαφική τροφική αλυσίδα, βιοποικιλότητα).
- Οικοσυστήματος (πρωτογενής και δευτερογενής παραγωγικότητα, οργανική ουσία και ανακύκλωση στοιχείων).
- Περιοχής (αλλαγές στην εκτατική ετερογένεια, μεταφορά εδάφους και θρεπτικών συστατικών, υδρολογική μεταφορά συστατικών).

Δεν έχουν όλοι οι ρύποι τις ίδιες μακροχρόνιες επιδράσεις στους εδαφόβιους οργανισμούς καθώς εξαρτώνται από (Edwards 2002):

- Την ολική τοξικότητα.
- Την εμμονή.
- Την ικανότητα του συστήματος να λειτουργήσει παρά την ενδεχόμενη ζημιά σε μια ομάδα ευαίσθητων οργανισμών.
- Το ενδεχόμενο ανάπτυξης ανθεκτικότητας.
- Την σταθερότητα του οικοσυστήματος.
- Την δυνατότητα του οικοσυστήματος να διαθέτει εναλλακτικούς οργανισμούς για τις βασικές διαδικασίες.
- Την ικανότητα αποκατάστασης.

### **I.2.3. Μελέτη των επιπτώσεων των ρύπων σε οργανισμούς του εδάφους**

Η επιστήμη της περιβαλλοντολογικής τοξικολογίας ή οικοτοξικολογίας που μελετάει τις οικολογικές επιδράσεις των περιβαλλοντικών ρύπων, έχει αναπτυχθεί ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της προηγούμενης εικοσαετίας, λόγω του έντονου ενδιαφέροντος που έχει δημιουργήσει η υποβάθμιση του περιβάλλοντος.

Εντούτοις, μεγαλύτερη πρόοδος έχει επιτευχθεί στα υδρόβια οικοσυστήματα και όχι στα εδαφικά, πιθανώς λόγω της μεγαλύτερης πολυπλοκότητας των εδαφικών συστημάτων και της λιγότερης ευαισθητοποίησης της κοινής γνώμης για τη ρύπανση του εδάφους σε σχέση με τον αέρα και τα ύδατα. Γι' αυτό άλλωστε έχουν αναπτυχθεί περισσότερες μέθοδοι για την εκτίμηση των επιπτώσεων της ρύπανσης στους υδρόβιους οργανισμούς.

Αρκετές μεθοδολογίες έχουν αναπτυχθεί για την μελέτη της επίδρασης των ρύπων στα έδαφος. Πολλές από αυτές αναπτύχθηκαν για την ανάγκη του έλεγχου και της έγκρισης φυτοφαρμάκων.

Εδώ θα πρέπει να σημειωθεί μια σημαντική διαφορά μεταξύ των μελετών σε μικροοργανισμούς και ζωικούς οργανισμούς. Όταν χρησιμοποιούμε τους εδαφικούς οργανισμούς για την εκτίμηση της βιολογικής δραστηριότητας και για την δημιουργία δεικτών πρέπει να έχουμε υπ' όψιν ότι στους μικροοργανισμούς μετράμε συνήθως την δραστηριότητά τους (αναπνοή, ενζυμική δράση), ενώ αντίθετα στους ζωικούς οργανισμούς αυτό που μετράται είναι οι πληθυσμοί καθώς και η σύσταση της κοινότητας (είδη ή αν είναι δύσκολο να προσδιορισθούν ανώτερες ταξινομικές μονάδες όπως γένη και οικογένειες) (Beck *et al.* 2005).

#### **I.2.3.1. Εργαστηριακές βιοδοκιμές**

Λίγες εργαστηριακές βιοδοκιμές για την μελέτη των οργανισμών του εδάφους έχουν αναπτυχθεί έως σήμερα. Αν και οι δοκιμασίες αυτές είναι χρήσιμες ως ομοιόμορφο μοντέλο δοκιμής τοξικότητας, και παρέχουν χρήσιμες πρωτογενείς πληροφορίες για την επίδραση μιας ουσίας σε ένα οργανισμό, έχουν δεχθεί κριτική για την έλλειψη ρεαλισμού και για το γεγονός ότι τα αποτελέσματα δεν μπορούν να γενικευθούν στο περιβάλλον (Sheppard 1977). Επιπλέον το εδαφικό οικοσύστημα είναι τόσο πολύπλοκο, που η τοξικότητα σε ένα είδος δεν μπορεί να αντιπροσωπεύσει το πλήθος και εύρος των επιδράσεων που ένας ρύπος μπορεί να έχει στο οικοσύστημα (Edwards 2002).

Οι εργαστηριακές βιοδοκιμές τοξικότητας είναι χρήσιμες για την εκτίμηση της τοξικότητας ρύπων στους οργανισμούς του εδάφους, έχοντας τα πλεονεκτήματα ότι είναι εύκολο να διεξαχθούν, με μικρό σχετικά κόστος, και δίνουν αποτελέσματα επαναλήψιμα με υψηλή στατιστική δύναμη. Αλλά το εδαφικό οικοσύστημα είναι αρκετά πολύπλοκο, και τα αποτελέσματα από τις βιολογικές δοκιμές δεν μπορούν να αναπαραστήσουν όλες τις άμεσες και έμμεσες επιδράσεις που μπορεί να έχει μια ξενονοβιοτική ουσία σε έναν οργανισμό. Επιπλέον κάποιες τεχνητές συνθήκες διεξαγωγής του πειράματος (όπως διεξαγωγή σε τεχνητό χώμα, ρύποι που χρησιμοποιούνται κυρίως σε πλήρως υδατοδιαλυτή μορφή, χρησιμοποίηση μόνο συγκεκριμένων οργανισμών με βασικό κριτήριο την ευκολία χειρισμού τους) δημιουργούν δυσκολίες στην γενίκευση των αποτελεσμάτων τέτοιων πειραμάτων στην φύση (Sheppard 1977, Murray *et al.* 2000, Edwards 2002).

Παρά τα μειονεκτήματα αυτά μερικές τέτοιες εργαστηριακές βιοδοκιμές έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιούνται εκτενώς για την μελέτη των επιπτώσεων των ρύπων και κατ' επέκτασιν για τον έλεγχο της ποιότητας του περιβάλλοντος τόσο σε υδρόβιους οργανισμούς, όσο και σε οργανισμούς του εδάφους.

### **I.2.3.2. Πρότυπα οικοσυστήματα (μικρόκοσμοι – μεσόκοσμοι)**

Σαν εναλλακτική μέθοδος έχει προταθεί η χρήση εργαστηριακών μικρόκοσμων για να γεφυρωθεί το κενό μεταξύ των εργαστηριακών βιοδοκιμών και της έρευνας πεδίου. Στους μικρόκοσμους υπάρχει η δυνατότητα ελέγχου του περιβάλλοντος. Οι μικρόκοσμοι έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετά σε εδαφοοικολογικές έρευνες λόγω της ευκολίας, της ταχύτητας, της στατιστικής δύναμης (Kandeler 1999). Ενσωματώνουν έως έναν βαθμό την πολυπλοκότητα του οικοσυστήματος, και έχουν μικρότερο κόστος από τα πειράματα πεδίου γι αυτό έχουν χρησιμοποιηθεί από πολλούς ερευνητές (Parmelee *et al.* 1993, Bogomolov *et al.* 1996, Korthals *et al.* 1998 & 2000,).

Τα πειράματα που χρησιμοποιούν εργαστηριακούς μικρόκοσμους ή μεσόκοσμους, δίνουν πιο ρεαλιστικές προσεγγίσεις για την μελέτη των επιπτώσεων των ρύπων σε ασπόνδυλους οργανισμούς του εδάφους, σε σχέση με τις εργαστηριακές βιοδοκιμές. (Gillet *et al.* 1989, Bogomolov *et al.* 1996, Parmelee *et al.* 1996). Επιπλέον αρκετοί εδαφόβιοι οργανισμοί δεν είναι εύκολο να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και έτσι δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε εργαστηριακές βιοδοκιμές. Ένα άλλο πλεονέκτημα είναι ότι τα πειράματα σε μεσόκοσμους ή μικρόκοσμους, δίνουν επίσης πληροφορίες για τις ενδεχόμενες έμμεσες επιδράσεις ενός ρύπου σε κάποιο οργανισμό (όπως επίδραση στην διαθεσιμότητα της τροφής, στον ανταγωνισμό, θήρευση, αμοιβαιότητα ή/και άλλους αβιοτικούς παράγοντες) που επηρεάζονται από την ρύπανση (Clements, 1994).

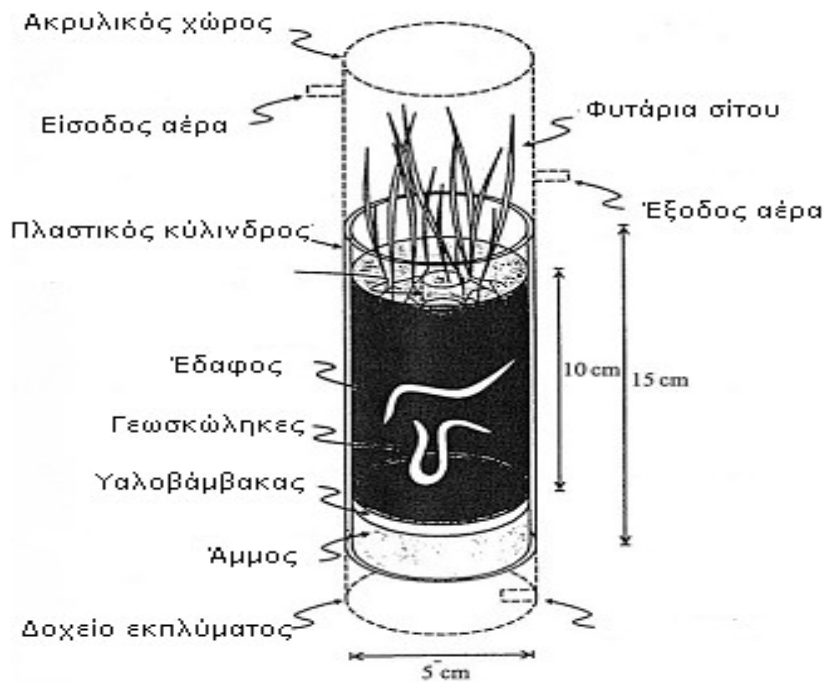
Οι τύποι εδαφικών προτύπων οικοσυστημάτων που χρησιμοποιούνται είναι κυρίως των εξής μορφών (Edwards *et al.* 1996 & 1998):

- Ένας μικρός εδαφικός μικρόκοσμος με κοσκινισμένο χώμα, με ένα φυτό και ενδεχομένως προσθήκη εδαφικών οργανισμών και με αρκετές επαναλήψεις (Σχήμα I.8.).
- Αδιατάρακτα τεμάχια εδάφους με την υπάρχουσα βλάστηση και οργανισμούς σε μια προσπάθεια καλύτερης προσομοίωσης του εδαφικού οικοσυστήματος. Αυτά τα συστήματα μπορεί να είναι τοποθετημένα στην ύπαιθρο ή σε ελεγχόμενες συνθήκες και να μελετώνται με ειδικές διατάξεις και άλλα φαινόμενα όπως κινητικότητα, έκπλυσης ρυπαντών κ.α.) (Edwards 2002). Τέτοια συστήματα καλούνται από ορισμένους ερευνητές ως μεσόκοσμοι. Είναι μια ενδιάμεση κατάσταση μεταξύ των εργαστηριακών πρότυπων οικοσυστημάτων και των πειραμάτων πεδίου.

Πιο συγκεκριμένα οι μεσόκοσμοι είναι αδιατάρακτα τεμάχια εδάφους που έχουν τα

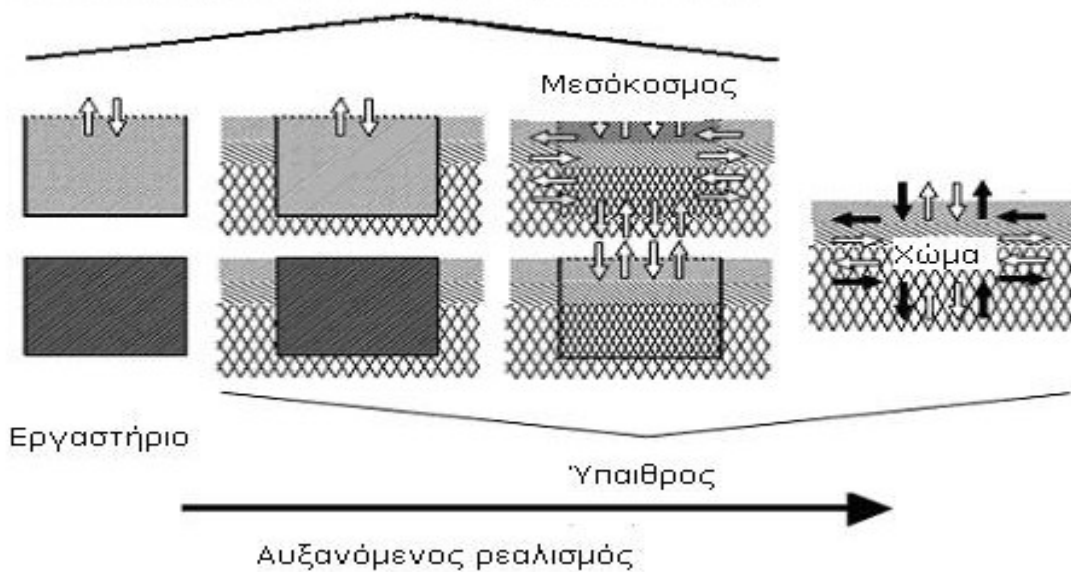
παρακάτω χαρακτηριστικά (Kamrichler 1999):

- Διατηρούν τις βιολογικές και μορφολογικές ιδιότητες του αρχικού εδάφους.
- Τοποθετούνται σε χωράφι και έτσι δέχονται τις ίδιες κλιματολογικές συνθήκες.
- Είναι μερικά απομονωμένοι καθώς είναι ανοικτοί ως ένα βαθμό στο περιβάλλον.
- Επιτρέπουν για μια ευρύτερη χρονικά διάρκειας πειράματα από τους μικρόκοσμους.



**Σχήμα Ι.8.** Εδαφικός μικρόκοσμος τύπου Κρατικού Πανεπιστημίου του Ohio (προσαρμογή από Burrows & Edwards 2002).

Μικρόκοσμοι (πρότυπα εδαφικά οικοσυστήματα)



**Σχήμα Ι.9.** Μικρόκοσμοι, μεσόκοσμοι και μακρόκοσμοι (“πραγματικός κόσμος”). Τα λευκά βέλη δείχνουν ανταλλαγή υλικού (αέρια, νερό, θρεπτικά συστατικά), ενώ τα γκριζα και μαύρα βέλη δείχνουν ελεγχόμενη και ανεμπόδιστη κίνηση εδαφόβιων ζώων αντίστοιχα. Η ανώτερη και η κατώτερη σειρά των μικροκόσμων αντιπροσωπεύει διαφορετικό βαθμό διαπερατότητας. Οι μεσόκοσμοι είναι ενδιάμεση κατάσταση: διατηρούν τα εδαφικά χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος (συμβολίζονται διαφορετικά για τους εδαφικούς ορίζοντες) επιτρέπουν ανταλλαγή υλικών με το περιβάλλον, και την ελεγχόμενη κίνηση των ζώων του εδάφους (προσαρμογή από Kampichler *et al.* 2001).

### **Ι.2.3.3. Πειράματα και έρευνα πεδίου**

Τα πειράματα πεδίου παρέχουν τις πιο ρεαλιστικές εκτιμήσεις για τις επιπτώσεις των ρύπων στους οργανισμούς του εδάφους, καθώς η έκθεση των οργανισμών και οι αλληλεπιδράσεις είναι πιο ρεαλιστικές. Απαιτούν όμως για να πραγματοποιηθούν, μεγαλύτερο κόπο και έξοδα. Επιπλέον έχουν το μειονέκτημα ότι προκαλούν μόλυνση του περιβάλλοντος. Για να μπορεί να δώσει ένα πείραμα πεδίου αξιόπιστα συμπεράσματα πρέπει να πληρούνται οι παρακάτω προϋποθέσεις:

- Να είναι σαφώς καθορισμένες και δικαιολογημένες οι επεμβάσεις.
- Η ενσωμάτωση του ρύπου στο έδαφος να γίνει με ρεαλιστικό τρόπο.
- Να εξασφαλισθεί ομοιομορφία και ακρίβεια στην ενσωμάτωση του ρύπου.
- Να υπάρχει ομοιομορφία στα πειραματικά τεμάχια.

Τέτοια πειράματα συνήθως είναι απαραίτητα μόνο αν μετά από πειραματισμό με μικρόκοσμους ή με δοκιμασίες τοξικότητας έχουμε παρατηρήσει αρνητική επίδραση ενός ρύπου, έτσι ώστε να μπορούν να γενικευθούν τα συμπεράσματα των επιπτώσεων (Edwards 2002).



---

## **Κεφάλαιο ΙΙ. Βαρέα μέταλλα και οργανισμοί του εδάφους**



## II.1. Βαρέα μέταλλα

Για τον όρο "βαρέα μέταλλα" έχουν δοθεί διάφοροι ορισμοί, που σχετίζονται με το ειδικό βάρος, τον ατομικό αριθμό, το ατομικό βάρος, τις χημικές ή τις τοξικολογικές ιδιότητες των στοιχείων αυτών. Αν και υπάρχουν σοβαρές ενστάσεις στην επιστημονική κοινότητα για το κατά πόσο αυτός ο όρος είναι σαφής και δόκιμος επιστημονικά, εντούτοις έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως τις τελευταίες δεκαετίες τόσο σε οικοτοξικολογικές και περιβαλλοντολογικές δημοσιεύσεις και μελέτες, όσο και σε περιβαλλοντική νομοθεσία ή κανονισμούς, χαρακτηρίζοντας γενικά μέταλλα και μεταλλοειδή στοιχεία τα οποία έχουν σχετικά υψηλό ατομικό βάρος και σχετίζονται με την ρύπανση του περιβάλλοντος και την τοξικότητά τους σε έμβια όντα (Dufus 2002, Bhat & Khan 2011).

Τα βαρέα μέταλλα απαντώνται σε μικρές συγκεντρώσεις στη φύση και αποτελούν μόλις το 1% των πετρωμάτων του φλοιού της γης (Alloway 1995). Μπορούν δε, να απελευθερωθούν στην βιόσφαιρα μέσω διαφόρων διαδικασιών όπως για παράδειγμα (Reichmann 2002, Nicholson *et al.* 2003, Muckel 2004):

- Φυσικές διαδικασίες όπως διαδικασίες εδαφογένεσης, διάβρωση - αποσάθρωση πετρωμάτων, αερομεταφερόμενη σκόνη, εκρήξεις ηφαιστείων και πυρκαγιές δασών.
- Γεωργικές δραστηριότητες όπως η χρήση αγροχημικών (λιπάσματα και φυτοπροστατευτικά προϊόντα), εναπόθεση λυματολάσσης και ζωικών αποβλήτων ως λιπάσματα.
- Εκπομπές από καύση ορυκτών καυσίμων σε μονάδες παραγωγής ενέργειας, βιομηχανίες, οχήματα.
- Μεταλλουργικές εργασίες, όπως εξόρυξη, χύτευση καθώς και δευτερογενείς δραστηριότητες όπως ανακύκλωση χρησιμοποιημένων μετάλλων, επιμετάλλωση κ.α.
- Απόθεση βιομηχανικών και αστικών αποβλήτων όπως βαφές, μπαταρίες-συσσωρευτές, βιομηχανική λάσπη, λυματολάσπη, οικιακά στερεά απόβλητα.

Εκτός από την περίπτωση των φυσικών διεργασιών, οι υπόλοιπες διαδικασίες σχετίζονται με ανθρώπινες δραστηριότητες. Η κινητικότητα των βαρέων μετάλλων στην βιόσφαιρα, εξ' αιτίας ανθρωπίνων δραστηριοτήτων αποτελεί στην σύγχρονη εποχή μια πολύ σημαντική παράμετρο στον βιογεωχημικό κύκλο των στοιχείων αυτών. Ενώ η διασπορά των μετάλλων στην φύση κατά την προβιομηχανική εποχή σχετιζόταν κατά κύριο λόγο με τις φυσιολογικές διαδικασίες εδαφογένεσης, και αρκετά λιγότερο με ανθρώπινες δραστηριότητες, τις τελευταίες δεκαετίες σχετίζεται σε πολύ σημαντικό βαθμό με τις ανθρώπινες δραστηριότητες της σύγχρονης βιομηχανικής εποχής (Esser *et al.* 1996). Για πολλά μέταλλα μάλιστα (όπως για παράδειγμα ο ψευδάργυρος, ο μόλυβδος, ο χαλκός, το νικέλιο και το κάδμιο), οι ανθρώπινες δραστηριότητες απελευθερώνουν πολύ

μεγαλύτερες ποσότητες στην βιόσφαιρα από ότι οι φυσικές διαδικασίες (Nriagu & Pacyna 1989, Bilos *et al.* 2001). Το γεγονός αυτό προκαλεί ανησυχίες για την τύχη και συμπεριφορά τους στο περιβάλλον, και την ενδεχομένως επιζήμια δράση τους στα οικοσυστήματα.

Το έδαφος έχει γίνει μια "δεξαμενή" στοιχείων αυτών, καθώς οι ρυθμοί εναπόθεσης είναι μεγαλύτεροι από αυτούς της απομάκρυνσης (Nicholson *et al.* 2003). Οι κύριες πηγές εισροής μετάλλων στο εδαφικό περιβάλλον είναι (Chang *et al.* 1994, Nicholson *et al.* 2003,):

- Οι ατμοσφαιρικές εκπομπές. Τα μέταλλα ως αερολύματα, δεσμευμένα στην σκόνη, παρασύρονται από την πηγή εκπομπής τους (πχ καμινάδες, ορυχεία) και εναποτίθενται στο έδαφος, είτε μέσω ξηρής πτώσης είτε παρασυρόμενα από τα κατακρημνίσματα.
- Τα λιπάσματα και τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα, κάποια από τα οποία περιέχουν μέταλλα (πχ χαλκούχα μυκητοκτόνα, φωσφορικά λιπάσματα).
- Η εναπόθεση στο έδαφος αποβλήτων και λυματολάσσης.

Οι κυριότερες μορφές με τις οποίες τα μέταλλα απαντώνται στο έδαφος είναι οι εξής (Daghan 2004):

- Ελεύθερα μεταλλικά ιόντα ή διαλυτά σύμπλοκα στο εδαφοδιάλυμα.
- Μεταλλικά ιόντα σε ανταλλάξιμες θέσεις ή προσροφημένα σε ανόργανα εδαφικά συστατικά.
- Μέταλλα δεσμευμένα σε οργανική ουσία.
- Δεσμευμένα ή αδιάλυτα σύμπλοκα ιδιαίτερα με την μορφή οξειδίων, σουλφιδίων, ανθρακικών αλάτων και υδροξειδίων.
- Μέταλλα ισχυρά δεσμευμένα στην δομή πυριτικών ορυκτών.

Η ρύπανση των εδαφών με βαρέα μέταλλα από ανθρωπογενείς δραστηριότητες γενικά οδηγεί σε υψηλότερη συγκέντρωση μετάλλων των 4 πρώτων κατηγοριών, ενώ η κατηγορία 5 είναι ενδεικτική των ενδογενών συγκεντρώσεων των μετάλλων.

Αρκετά από τα μέταλλα, θεωρούνται απαραίτητα ή ωφέλιμα για τους έμβιους οργανισμούς, όντας βασικά συστατικά των ζωντανών κυττάρων, τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο σε κυτταρικές λειτουργίες, κυρίως ενζυμικής φύσεως. Όταν όμως οι συγκεντρώσεις τους υπερβούν ένα όριο μπορούν να γίνουν τοξικά. Αρκετά όμως μέταλλα δεν είναι γνωστό να είναι επωφελή για τους ζωντανούς οργανισμούς, ενώ αρκετά είναι γνωστό ότι είναι επικίνδυνα (Brady & Weil, 1999). Τα μέταλλα, ανάλογα με την χρησιμότητά τους στους έμβιους οργανισμούς, μπορεί να ταξινομηθούν σε (Karustka *et al.* 2003):

- Απαραίτητα. Τα μέταλλα αυτά είναι απαραίτητα για την επιβίωση και την φυσιολογική λειτουργία τουλάχιστον κάποιων έμβιων οργανισμών (πχ κάλιο, ασβέστιο, σίδηρος, ψευδάργυρος, μαγνήσιο). Ανάλογα με την ποσότητα στην που χρειάζονται χαρακτηρίζονται ως μακροστοιχεία ή μικροστοιχεία.
- Ωφέλιμα. Φαίνεται ότι κάποιοι οργανισμοί επωφελούνται από την ύπαρξη τους, χωρίς όμως να έχει τεκμηριωθεί ότι τα στοιχεία αυτά είναι απαραίτητα για την επιβίωση τους (πχ σελήνιο, βανάδιο).
- Μη απαραίτητα. Δεν είναι γνωστή κάποια χρήσιμη λειτουργία τους ενώ αν υπερβούν κάποια συγκέντρωση μπορούν να γίνουν τοξικά (πχ κάδμιο, υδράργυρος, αρσενικό, μόλυβδος).

Τα μέταλλα και των τριών προαναφερθέντων κατηγοριών, αν υπερβούν κάποια συγκέντρωση μπορούν να γίνουν τοξικά. Αρκετά από τα μέταλλα είναι συστατικά πολλών ενζύμων που παίρνουν μέρος στο μεταβολισμό των φυτών και των ζώων και καταλήγουν, με την τροφική αλυσίδα, έως τον άνθρωπο, στον οποίο, όταν οι συγκεντρώσεις τους βρίσκονται σε τοξικά επίπεδα, προκαλούν χρόνιες ή οξείες βλάβες. Οι συνήθεις στόχοι των μετάλλων στο κυτταρικό επίπεδο είναι οι πρωτεΐνες και τα ένζυμα. Η τοξική επίδραση των μετάλλων μπορεί να σχετίζεται και με αλληλεπιδράσεις με άλλα βιομόρια (πχ φωσφορολιπίδια, νουκλεϊκά οξέα), καθώς και με αντικατάσταση βασικών στοιχείων σε σημαντικά βιομόρια (Rout & Das, 2003).

Τα αυξημένα επίπεδα βαρέων μετάλλων στο έδαφος σαν αποτέλεσμα των δραστηριοτήτων του ανθρώπου είναι μια από τις πιο σοβαρές ανησυχίες για το εδαφικό περιβάλλον, λόγω των δυσμενών επιδράσεων στην ποιότητα του εδάφους, όπως τοξικότητα στους εδαφικούς οργανισμούς, μεταφορά στον άνθρωπο διαμέσου των φυτών και των νομευτικών ζώων (Nriagu & Pacyna 1989, Martinez & Motto 1999, Nicholson *et al.* 2003, Chen *et al.* 2005). Θεωρούνται από τους πιο επικίνδυνους ρύπους στο περιβάλλον και λόγω της υψηλής τους τοξικότητας κάποιων από αυτά, και κυρίως λόγω της εμμονής τους στο περιβάλλον, καθώς δεν διασπώνται στο περιβάλλον σε αντίθεση με τους οργανικούς ρύπους, με αποτέλεσμα να εμφανίζονται φαινόμενα βιοσυσσώρευσης στην τροφική αλυσίδα (Alkorta 2004, Campbell *et al.* 2006). Τα μέταλλα και τα μεταλλοειδή στοιχεία αποτελούν πολύ σημαντικό ποσοστό των ρύπων που απελευθερώνονται στον αέρα, το έδαφος και τα νερά, και συνεπώς αποτελούν σημαντικές παραμέτρους της ποιότητας τους. Για αυτό τον λόγο παγκοσμίως θεσπίζονται όρια για τον έλεγχο των ποσοτήτων που απελευθερώνονται στον αέρα ή εισέρχονται στο έδαφος και τα νερά (Farmaki & Thomaidis, 2008).

## **II.2. Επίδραση του χαλκού και του καδμίου στην μικροπανίδα του εδάφους (ακάρεια, κολέμβολα, νηματώδεις), καθώς και στην μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους.**

### **II.2.1. Εισαγωγή**

Η ρύπανση με βαρέα μέταλλα μπορεί να διαταράξει το εδαφικό οικοσύστημα. Αν και αρκετά από τα μέταλλα είναι βασικά συστατικά των ζωντανών κυττάρων, παίζοντας σημαντικό ρόλο στις κυτταρικές λειτουργίες, όταν βρεθούν σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να γίνουν ιδιαίτερα τοξικά. Ο χαλκός και το κάδμιο είναι δυο πολύ σημαντικά μέταλλα, όσον αφορά την ρύπανση του εδάφους.

Ο χαλκός από βιολογική άποψη είναι ένα στοιχειώδες ιχνοστοιχείο απαραίτητο από όλους σχεδόν τους ζωντανούς οργανισμούς σε μικρές ποσότητες για την εκτέλεση βασικών λειτουργιών των κυττάρων τους και κατ' επέκταση για την συμπλήρωση του βιολογικού τους κύκλου. Σε υψηλές συγκεντρώσεις όμως γίνεται τοξικό. Η ρύπανση του εδάφους με χαλκό, μπορεί να γίνει μέσω αρκετών ανθρωπογενών δραστηριοτήτων, όπως για παράδειγμα από εναπόθεση αποβλήτων ορυχείων, καύση ορυκτών καυσίμων, λειτουργία χυτηρίων καθώς και από εφαρμογή στο έδαφος φυτοφαρμάκων που περιέχουν χαλκό (όπως τα χαλκούχα μυκητοκτόνα). Επίσης μπορεί να ευρίσκεται σε ζωοτροφές με αποτέλεσμα να εξαπλώνεται μέσω των ζωικών αποβλήτων και της κοπριάς (Merrington 2001). Τα υψηλότερα επίπεδα χαλκού σε γεωργική γη βρίσκονται σε καλλιεργούμενα εδάφη στα οποία λόγω καλλιέργειας ή κλιματικών συνθηκών ευνοούν εξάρσεις μυκήτων και υπάρχει ιστορικό εκτεταμένης χρήσης μυκητοκτόνων με βάση τον χαλκό (Brun *et al.* 1998).

Το κάδμιο βρίσκεται ιδιαίτερα συχνά στο ανθρώπινο περιβάλλον και θεωρείται από τους πιο επικίνδυνους ρύπους μεταξύ των βαρέων μετάλλων (Robards & Worsfold 1991, Liao *et al.* 2005). Δεν θεωρείται απαραίτητο στοιχείο για τη βιολογική λειτουργία των οργανισμών, ενώ είναι πολύ τοξικό για τα φυτά, τα ζώα και τον άνθρωπο (Das & Samantaray 1997). Η ρύπανση του περιβάλλοντος με κάδμιο έχει αυξηθεί κατά πολύ τις τελευταίες δεκαετίες, λόγω αυξημένης χρησιμοποίησης του από τη βιομηχανία. Οι κύριες χρήσεις του είναι στις μπαταρίες Ni-Cd, σαν προστατευτικό επίχρισμα του χάλυβα, σε διάφορα κράματα μετάλλων, στις βαφές και τα σπιλωτικά, σαν σταθεροποιητικό σε πλαστικά, στα φωτοβολταϊκά κύτταρα, στους πυρηνικούς αντιδραστήρες κ.α. (Alloway, 1995). Εναπόθεση καδμίου στο έδαφος μπορεί επίσης να γίνει μέσω αρκετών ανθρωπογενών δραστηριοτήτων όπως καύση ορυκτών καυσίμων, χρησιμοποίηση φωσφορικών λιπασμάτων (όπου υπάρχουν ίχνη καδμίου), απόθεση στο έδαφος λυματολάσσης ή απορριμμάτων που περιέχουν κάδμιο (πχ μπαταρίες). Μπορεί εύκολα να μετακινηθεί και να συσσωρευθεί από το έδαφος σε φυτικά μέρη μέσω απορρόφησης από

την ρίζα και έτσι να περάσει στην τροφική αλυσίδα επηρεάζοντας την υγεία του ανθρώπου (Adriano 1986, Oliver 1997).

Οι οργανισμοί του εδάφους είναι σημαντικοί για την σωστή λειτουργία του. Οι νηματώδεις είναι σημαντικοί παράγοντες του εδαφικού οικοσυστήματος και αρκετοί ερευνητές έχουν προτείνει και χρησιμοποιήσει τους νηματώδεις για τον έλεγχο της ποιότητας του εδάφους (για παράδειγμα Bongers 1990, Yeates *et al.* 1993, Blair *et al.* 1996, Bongers & Ferris 1999, Ferris *et al.* 2001, Neher 2001). Τα μικροαρθρόποδα επηρεάζουν σημαντικές εδαφικές λειτουργίες ενώ επηρεάζονται από την κατάσταση στην οποία βρίσκεται το έδαφος, και έτσι μπορούν να θεωρηθούν ως βιοδείκτες της υγείας του εδάφους (Seasted 1984, Arroyo & Iturrondobeitia 2006). Οι μικροοργανισμοί αποτελούν το μεγαλύτερο κλάσμα της ζώσας οργανικής ουσίας. Η μικροβιακή δραστηριότητα σχετίζεται με την αποσύνθεση της οργανικής ουσίας, την ανοργανοποίηση και την κινητικότητα των ξενοβιοτικών ουσιών, αποτελώντας έτσι μια σημαντική παράγραφο του βιογεωχημικού τους κύκλου (Schloten *et al.* 2003), και η ποσοτικοποίηση της είναι σημαντική για την κατανόηση και την εκτίμηση της εδαφικής λειτουργίας.

Οι εργαστηριακές βιοδοκιμές αν και χρήσιμες για την μελέτη της τοξικότητας ξενοβιοτικών ουσιών σε οργανισμούς του εδάφους, δεν μπορούν να απεικονίσουν την πολυπλοκότητα του εδαφικού οικοσυστήματος, καθώς και όλες της έμμεσες ή άμεσες επιδράσεις ενός ρύπου έναν οργανισμό. Επιπλέον οι τεχνητές συνθήκες διεξαγωγής του πειράματος δημιουργούν δυσκολίες στην γενίκευση των αποτελεσμάτων τέτοιων πειραμάτων στην φύση (Sheppard 1977, Murray *et al.* 2000, Edwards 2002). Τα πειράματα που χρησιμοποιούν μικρόκοσμους ή μεσόκοσμους, στα οποία μελετώνται παραπάνω από μια κατηγορία οργανισμών δίνουν πιο ρεαλιστικές προσεγγίσεις για την μελέτη των επιπτώσεων των ρύπων σε ασπόνδυλους οργανισμούς του εδάφους σε σχέση με τις εργαστηριακές βιοδοκιμές, καθώς αυξάνεται ο ρεαλισμός (Gillet *et al.* 1989, Clements 1994, Bogomolov *et al.* 1996, Parmelee *et al.* 1996).

Στην παρούσα μελέτη εξετάζεται η επίδραση του χαλκού και του καδμίου στους νηματώδεις, τα μικροαρθρόποδα (ακάρεα και Collembola), καθώς και την μικροβιακή δραστηριότητα, μετά από μακράς διάρκειας έκθεση, σε εδαφικούς μεσόκοσμους.

### **II.2.2. Υλικά και μέθοδοι**

Τα πειράματα διεξήχθησαν σε πλαστικά δοχεία (γλάστρες) με χώμα, χωρητικότητας 3L. Το χώμα που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από πειραματικό αγρό του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Το έδαφος που χρησιμοποιήθηκε ήταν ιλυοπηλώδες όπως προσδιορίστηκε με την μέθοδο του Βουγιούκου, με pH=6.4 (1:2 H<sub>2</sub>O), ενώ η οργανική του ουσία προσδιορίστηκε σε 2.8% με την μέθοδο των Walkley - Black.

Στις γλάστρες προστέθηκε χαλκός σε συγκεντρώσεις 100, 500 και 1000mg/kg ξηρού

βάρους εδάφους, και κάδμιο σε συγκεντρώσεις 20, 100 και 200mg/kg ξηρού βάρους εδάφους, ενώ χρησιμοποιήθηκε και μάρτυρας (γλάστρες χωρίς προσθήκη μετάλλου). Για κάθε επέμβαση χρησιμοποιήθηκαν 6 γλάστρες. Τα μέταλλα προστέθηκαν στο χώμα ποτίζοντας κάθε γλάστρα με υδατικό διάλυμα θειικού άλατος του μετάλλου. Οι γλάστρες τοποθετήθηκαν σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο με μέση θερμοκρασία 15-25°C, και ποτίζονταν μέχρι περίπου το 60-70% της υδατοϊκανότητας. Σε 45 και 90 ημέρες μετά την πρόσθεση των μετάλλων, από κάθε γλάστρα συλλέχθηκε χώμα με την βοήθεια δειγματολήπτη, το οποίο και χρησιμοποιήθηκε για τις βιολογικές αναλύσεις.

Η μικροβιακή δραστηριότητα εκτιμήθηκε με την μέτρηση της βασικής αναπνοής (Basal Respiration). Η μικροβιακή βιομάζα εκτιμήθηκε με την μέθοδο της επαγόμενης δια υποστρώματος αναπνοής (Substrate Induced Respiration). Τα μικροαρθρόποδα συλλέχθηκαν από το χώμα με την μέθοδο Berlese-Tullgren, καταμετρήθηκαν τα Collembola και τα ακάρεα τα οποία διαχωρίστηκαν σε επίπεδο τάξεως, με την βοήθεια στερεοσκοπίου. Οι νηματώδεις εξάχθηκαν από το χώμα με την μέθοδο των Whitehead & Hemming (1965), καταμετρήθηκαν, και έγιναν μικροσκοπικά παρασκευάσματα για περίπου 150 άτομα, τα οποία ταξινομήθηκαν σε επίπεδο γένους ή οικογένειας, με την βοήθεια μικροσκοπίου μεγέθυνσης 400X, ταξινομήθηκαν σε τροφικούς τύπους (Yeates *et al.* 1993) ενώ υπολογίσθηκαν και οι ακόλουθοι δείκτες της νηματωδοκοινοότητας: δείκτες ωριμότητας (MI, ΣMI, ΣMI<sub>2-5</sub>, PPI), θεμελιώδους κατάστασης (BI), οδού αποσύνθεσης (CI), εμπλουτισμού (EI) και δομής (SI). Ακόμα υπολογίσθηκαν για τους νηματώδεις και οι οικολογικοί δείκτες αφθονίας του Margalef (R1), ποικιλότητας του Shannon (H'), κυριαρχίας του Simpson (λ), και ισομέρειας του Hill (E5). Η ακριβής μεθοδολογία των βιολογικών αναλύσεων περιγράφεται στο παράρτημα Α.

Τα πειραματικά δεδομένα αναλύθηκαν με την μέθοδο της διπαραγοντικής ανάλυσης της διασποράς (2-way ANOVA) για τους παράγοντες δόση μετάλλου και ημερομηνία εκτίμησης. Αν οι αναλύσεις έδειχναν σημαντική αλληλεπίδραση, γίνονταν συγκρίσεις των απλών κύριων επιδράσεων του κάθε παράγοντα στα επίπεδα του άλλου παράγοντα, ενώ αν οι αναλύσεις έδειχναν μη σημαντική αλληλεπίδραση, ή εάν η αλληλεπίδραση ήταν μεν σημαντική αλλά είχε αρκετά μικρότερη συνεισφορά στην συνολική παραλλακτικότητα από ότι η απλές κύριες επιδράσεις και μπορούσε να θεωρηθεί αμελητέα, γίνονταν συγκρίσεις μεταξύ των περιθωριακών μέσων. Οι συγκρίσεις των μέσων (περιθωριακών ή απλών κύριων επιδράσεων) έγιναν με την δοκιμασία του Tukey (HSD test) σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0.05$ . Τα αποτελέσματα καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων παρουσιάζονται σε διαγράμματα. Μέσοι που δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σημειώνονται με το ίδιο γράμμα. Με κεφαλαία γράμματα σημειώνονται οι συγκρίσεις των μέσων μεταξύ των δόσεων των μετάλλων (είτε αφορούν απλές κύριες επιδράσεις είτε περιφερειακούς μέσους), ενώ αντίστοιχα με μικρά γράμματα σημειώνονται οι συγκρίσεις μεταξύ των ημερομηνιών εκτίμησης. Στις συγκρίσεις των περιθωριακών μέσων έχουν



χρησιμοποιηθεί γράμματα με κανονική γραφή ενώ στις συγκρίσεις των απλών κύριων επιδράσεων έχουν χρησιμοποιηθεί πλάγια γράμματα (*italics*).

## II.2.3. Αποτελέσματα

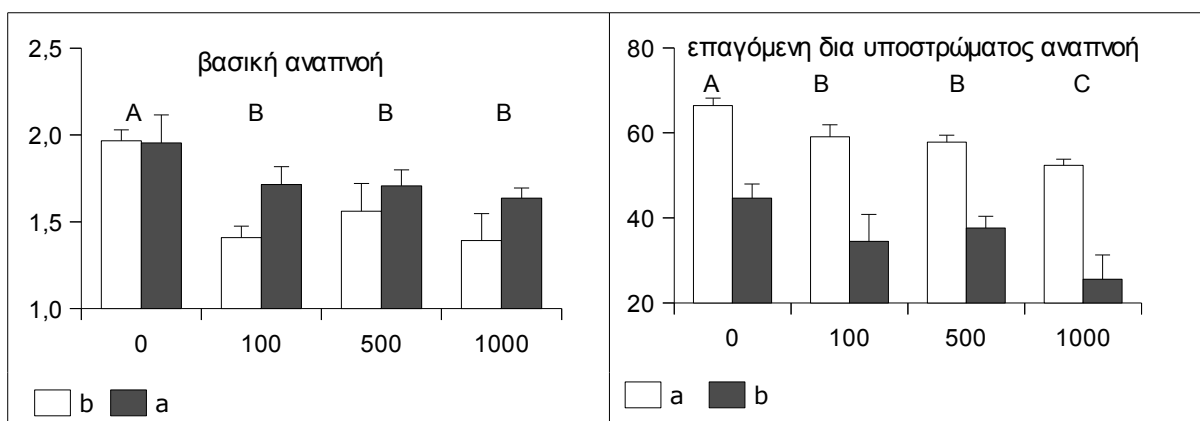
### II.2.3.1. Χαλκός

#### II.2.3.1.1. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή.

Η επίδραση της δόσης του χαλκού καθώς και του χρόνου στην βασική αναπνοή και την επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή παρουσιάζονται στον Πίνακα II.2.2. Στο Διάγραμμα II.2.1 παρουσιάζονται οι τιμές της βασικής και της επαγόμενης δια υποστρώματος αναπνοής για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας II.2.2.** Επίδραση της δόσης του χαλκού, του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στην βασική αναπνοή (BA) και στην επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή (EYA) (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3 & 40)	
	F	p	F	p	F	p
BA	6,1	0,002	4,37	0,043	0,73	0,541
EYA	6,85	0,001	81,08	0,000	0,32	0,812



**Διάγραμμα II.2.1.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) βασικής μικροβιακής αναπνοής και της επαγόμενης δια υποστρώματος μικροβιακής αναπνοής (σε mg CO<sub>2</sub> / χγρ χώματος / ώρα) στις δόσεις του χαλκού (σε mg/χγρ χώματος, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■).

Η βασική αναπνοή επηρεάστηκε σημαντικά από την συγκέντρωση του χαλκού, οριακά σημαντικά από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Η προσθήκη χαλκού μείωσε την τιμή της βασικής αναπνοής, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ των δόσεων, ενώ είχε στις υψηλότερη τιμή στις 90 ημέρες.

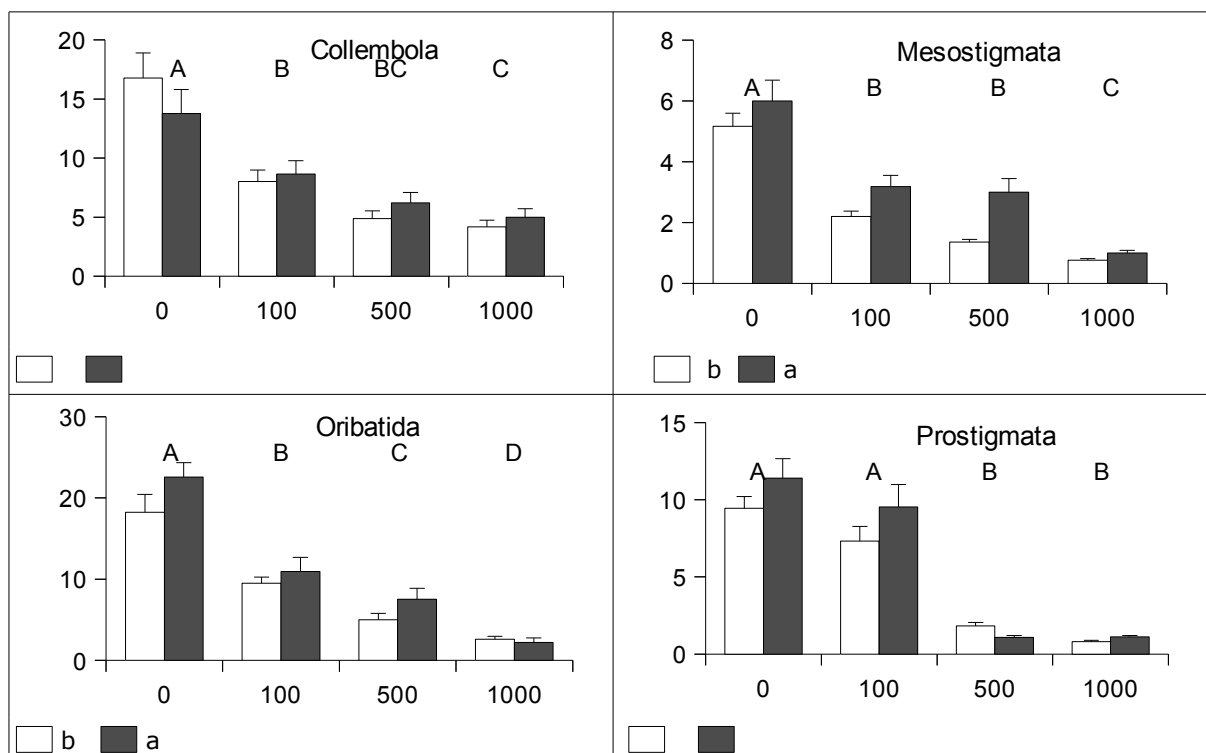
Η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή επηρεάστηκε σημαντικά από την συγκέντρωση του χαλκού, πολύ έντονα από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Η προσθήκη χαλκού μείωσε την τιμή της επαγόμενης δια υποστρώματος αναπνοής, με την δόση των 1000mg/Kg να έχει σημαντικά υψηλότερη από τις υπόλοιπες, ενώ στις 90 ημέρες η τιμή της μειώθηκε.

### ΙΙ.2.3.1.2. Μικροαρθρόποδα

Η επίδραση της δόσης του χαλκού καθώς και του χρόνου στους πληθυσμούς των μικροαρθρόποδων παρουσιάζονται στον Πίνακα ΙΙ.2.3. Στο Διάγραμμα ΙΙ.2.2 παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των μικροαρθροπόδων για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας ΙΙ.2.3.** Επίδραση της δόσης και του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των Collembola καθώς και των ακάρεων (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
Collembola	28,94	0,000	0,00	0,958	1,23	0,312
Prostigmata	179,41	0,000	0,84	0,366	3,17	0,034
Mesostigmata	91,04	0,000	21,41	0,000	2,74	0,056
Oribatida	66,96	0,000	4,38	0,043	1,08	0,368



**Διάγραμμα ΙΙ.2.2.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά 100 γρ χώματος), των Collembola καθώς και των 3 τάξεων των ακαρέων (Mesostigmata, Oribatida, Prostigmata, στις δόσεις του χαλκού (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■ ).

Οι πληθυσμοί των Collembola επηρεάστηκαν μόνο από την δόση του χαλκού. Υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στον μάρτυρα και χαμηλότεροι στις δόση των 500 και 1000mg/Kg, ενώ οι πληθυσμοί στην δόση των 100mg/Kg δεν διαφέρουν σημαντικά από αυτούς στην δόση των 500mg/Kg.

Οι πληθυσμοί των τάξεων των Mesostigmata και των Oribatida, επηρεάστηκαν και από την δόση του χαλκού και από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση. Η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς των Mesostigmata με την δόση των 1000mg/Kg να έχει σημαντικά υψηλότερη από τις υπόλοιπες. Οι πληθυσμοί της τάξης Oribatida βρέθηκαν να μειώνονται σημαντικά με την δόση.

Οι πληθυσμοί των ακαρέων της τάξης Prostigmata, επηρεάστηκαν μόνο από την δόση, καθώς στις δυο υψηλότερες δόσεις βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί από τον μάρτυρα και την δόση των 100mg/Kg.

### II.2.3.1.3. Νηματώδεις

#### II.2.3.1.1.1. Γένη νηματωδών

Τα γένη νηματωδών που ευρέθησαν παρουσιάζονται στον πίνακα III.2.4.

**Πίνακας II.2.4.** Γένη που ευρέθησαν στα πειράματα. Μέσα σε παρένθεση η λειτουργική ομάδα στην οποία ανήκει το τροφικό επίπεδο στο οποίο ανήκει [οι τροφικές απαιτήσεις κατά Yeates *et al.* 1993 (ΦΠ: φυτοπαρασιτικοί, ΒΦ: βακτηριοφάγοι, ΜΦ: μυκητοφάγοι και ΠΦ: παμφάγοι), και η τιμή της κλίμακας 1-5 έμμοнос-αποικιστικός κατά Bongers (1990)].

<b>Araeolaimida</b>	<b>Rhabditida</b>	<b>Tylenchida</b>
Plectidae	Cephalobidae	Aphelenchidae
<i>Plectus</i> (ΒΦ2)	<i>Acrobeles</i> (ΒΦ2)	<i>Aphelenchus</i> (ΜΦ2)
<i>Wilsonema</i> (ΒΦ2)	<i>Acrobelloides</i> (ΒΦ2)	Aphelenchoididae
Teratocephalidae	<i>Eucephalobus</i> (ΒΦ2)	<i>Aphelenchoides</i> (ΜΦ2)
<i>Teratocephalus</i> (ΒΦ3)	Panagrolaimidae	Anguinidae
	<i>Panagrolaimus</i> (ΒΦ1)	<i>Ditylenchus</i> (ΜΦ2)
<b>Dorylaimida</b>	Rhabditidae (ΒΦ1)	Belonolaimidae
Aporcelaimidae	Mesorhabditidae (ΒΦ1)	<i>Telotylenchus</i> (ΦΠ3)
<i>Aporcelaimus</i> (ΠΦ5)	<i>Mesorhabditis</i> (ΒΦ1)	<i>Tylenchorhynchus</i> (ΦΠ3)
Nordiidae		Hoplolaimidae
<i>Pungentus</i> (ΠΦ4)		<i>Helicotylenchus</i> (ΦΠ2)
Qudsianematidae (ΠΦ4)		Pratylenchidae
<i>Eudorylaimus</i> (ΠΦ4)		<i>Pratylenchoides</i> (ΦΠ2)
		<i>Pratylenchus</i> (ΦΠ2)
		Tylenchidae
		<i>Tylenchus</i> (ΜΦ- ΦΠ2)
		<i>Psilenchus</i> (ΜΦ-ΦΠ2)

Τα κυρίαρχο φυτοπαρασιτικό γένος ήταν το *Helicotylenchus*, ενώ βρέθηκαν σε σημαντικούς πληθυσμούς και τα γένη *Pratylenchus* και *Tylenchorhynchus*. Επίσης

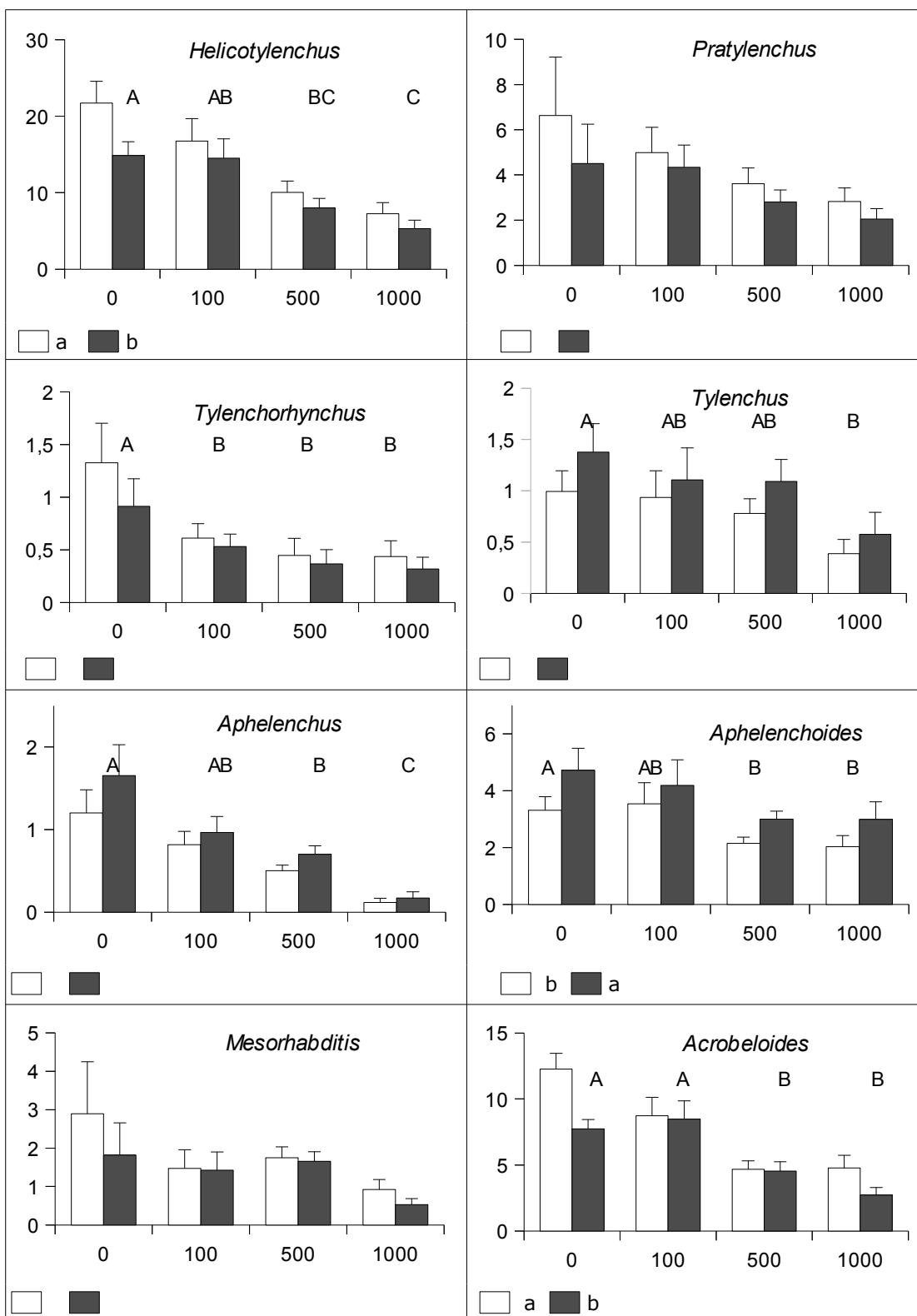
βρέθηκαν σε υπολογίσιμους αριθμούς άτομα του γένους *Tylenchus* τα οποία είναι φυτοпараσιτικά ή/και μυκητοφάγα (οι τροφικές τους απαιτήσεις δεν είναι σαφώς καθορισμένες). Για τους βακτηριοφάγους νηματώδεις η μεγάλη πλειοψηφία άνηκε στην οικογένεια Cerhalobidae και στο γένος *Acrobelloides* που ήταν με διαφορά το πολυπληθέστερο (πάνω από 60% του συνολικού πληθυσμού των βακτηριοφάγων νηματωδών) ενώ σημαντικά λιγότεροι βακτηριοφάγοι νηματώδεις άνηκαν στις στην υπόταξη Rhabditina (κυρίως στο γένος *Mesorhabditis*), ενώ ακόμα λιγότεροι βακτηριοφάγοι νηματώδεις άνηκαν στην τάξη Araeolaimida. Στην τάξη Dorylaimida βρέθηκαν παμφάγοι νηματώδεις (Qudsianematidae, Nordiidae) καθώς και λίγοι αρπακτικοί (Aporcelaimidae). Για τους μυκητοφάγους νηματώδεις η πλειονότητα ήταν των γενών *Aphelenchoides* και *Aphelenchus*. Τέλος τα πολυπληθέστερα γένη ήταν τα *Helicotylenchus* και *Acrobelloides*.

Η επίδραση της δόσης του χαλκού καθώς και του χρόνου στους πληθυσμούς των κυριότερων γενών των νηματωδών παρουσιάζονται στον Πίνακα ΙΙ.2.5. Στο Διάγραμμα ΙΙ.2.1 παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των νηματωδών αυτών για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

Οι πληθυσμοί του γένους *Helicotylenchus*, *Aphelenchoides* και *Acrobelloides* επηρεάστηκαν και από την δόση του χαλκού και από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς του γένους *Helicotylenchus* στις δυο υψηλότερες δόσεις, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ διαδοχικών δόσεων. Στο γένος *Aphelenchoides* η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς μόνο στις δυο υψηλότερες δόσεις, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ των δόσεων. Στο γένος *Acrobelloides* η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς μόνο στις δυο υψηλότερες δόσεις. Στα γένη *Helicotylenchus* και *Acrobelloides* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 45 ημέρες ενώ για το γένος *Aphelenchoides* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 90 ημέρες.

**Πίνακας ΙΙ.2.3.** Επίδραση της δόσης του χαλκού καθώς και του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των παρακάτω γενών των νηματωδών (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
<i>Helicotylenchus</i>	14,99	0,000	5,14	0,029	0,69	0,566
<i>Pratylenchus</i>	2,15	0,109	1,81	0,186	0,06	0,979
<i>Tylenhorhynchus</i>	5,91	0,002	1,49	0,229	0,32	0,811
<i>Tylenchus</i>	3,51	0,024	2,69	0,109	0,1	0,960
<i>Aphelenchus</i>	20,37	0,000	2,47	0,124	0,2	0,894
<i>Aphelenchoides</i>	3,68	0,020	5,27	0,027	0,14	0,934
<i>Acrobelloides</i>	18,48	0,000	6,1	0,018	2,11	0,114
<i>Mesorhabditis</i>	2,47	0,076	0,78	0,381	0,18	0,913



**Διάγραμμα II.2.3.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά γραμμάριο χώματος), των κυριώτερων γενών των νηματωδών, στις δόσεις του χαλκού (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■ ).

Οι πληθυσμοί των γενών *Tylenchorhynchus*, *Tylenchus*, *Aphelenchus* επηρεάστηκαν μόνο από την δόση του χαλκού. Η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς του γένους

*Tylenchorhynchus*, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ των δόσεων. Η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς του γένους *Tylenchus*, μόνο στην υψηλότερη δόση, ενώ οι ενδιάμεσες δόσεις δεν διέφεραν ούτε από τον μάρτυρα ούτε από την υψηλότερη δόση. Στο γένος *Aphelenchus* η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς στις δυο υψηλότερες δόσεις, ενώ οι ενδιάμεσες δόσεις δεν διέφεραν μεταξύ τους.

Τέλος οι πληθυσμοί των γενών *Pratylenchus* και *Mesorhabditis* δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται ούτε από την δόση του χαλκού ούτε από τον χρόνο.

### II.2.3.1.3.2. Τροφικές ομάδες νηματωδών

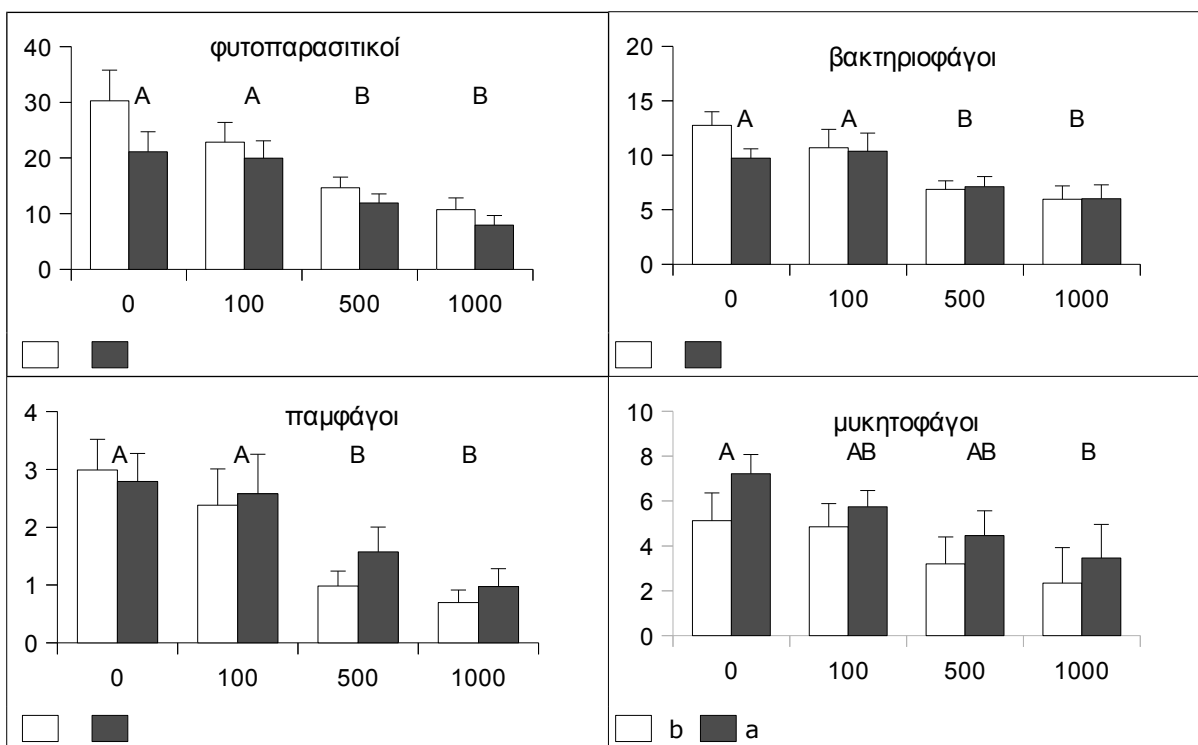
Η επίδραση της δόσης του χαλκού καθώς και του χρόνου στους πληθυσμούς των τροφικών ομάδων των νηματωδών παρουσιάζονται στον Πίνακα II.2.6. Στο Διάγραμμα II.2.4 παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των τροφικών ομάδων για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων. Αρπακτικοί νηματώδεις βρέθηκαν ελάχιστοι και δεν παρουσιάζονται στα αποτελέσματα.

Οι πληθυσμοί των φυτοπαρασιτικών, των βακτηριοφάγων καθώς και των παμφάγων νηματωδών επηρεάστηκαν έντονα από τον χαλκό, ενώ δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται από τον χρόνο. Και για τα τρία αυτά τροφικά επίπεδα στις δόσεις των 500 και 1000mg/Kg βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί από τον μάρτυρα και την δόση των 100mg/Kg.

Οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων νηματωδών επηρεάστηκαν και από τον χαλκό και από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς των μυκητοφάγων νηματωδών μόνο στην υψηλότερη δόση, ενώ οι ενδιάμεσες δόσεις δεν διέφεραν ούτε από τον μάρτυρα ούτε από την υψηλότερη δόση. Επίσης στις 90 ημέρες οι μυκητοφάγοι νηματώδεις βρέθηκαν σε υψηλότερους πληθυσμούς

**Πίνακας II.2.6.** Επίδραση της δόσης και του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των διαφόρων τροφικών ομάδων των νηματωδών (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3 & 40)	
	F	p	F	p	F	p
Φυτοπαρασιτικοί	11,14	0,000	3,84	0,057	0,51	0,678
Παμφάγοι	8,58	0,000	0,43	0,516	0,24	0,870
Βακτηριοφάγοι	8,49	0,000	0,74	0,395	0,74	0,536
Μυκητοφάγοι	10,95	0,000	8,34	0,006	0,2	0,896



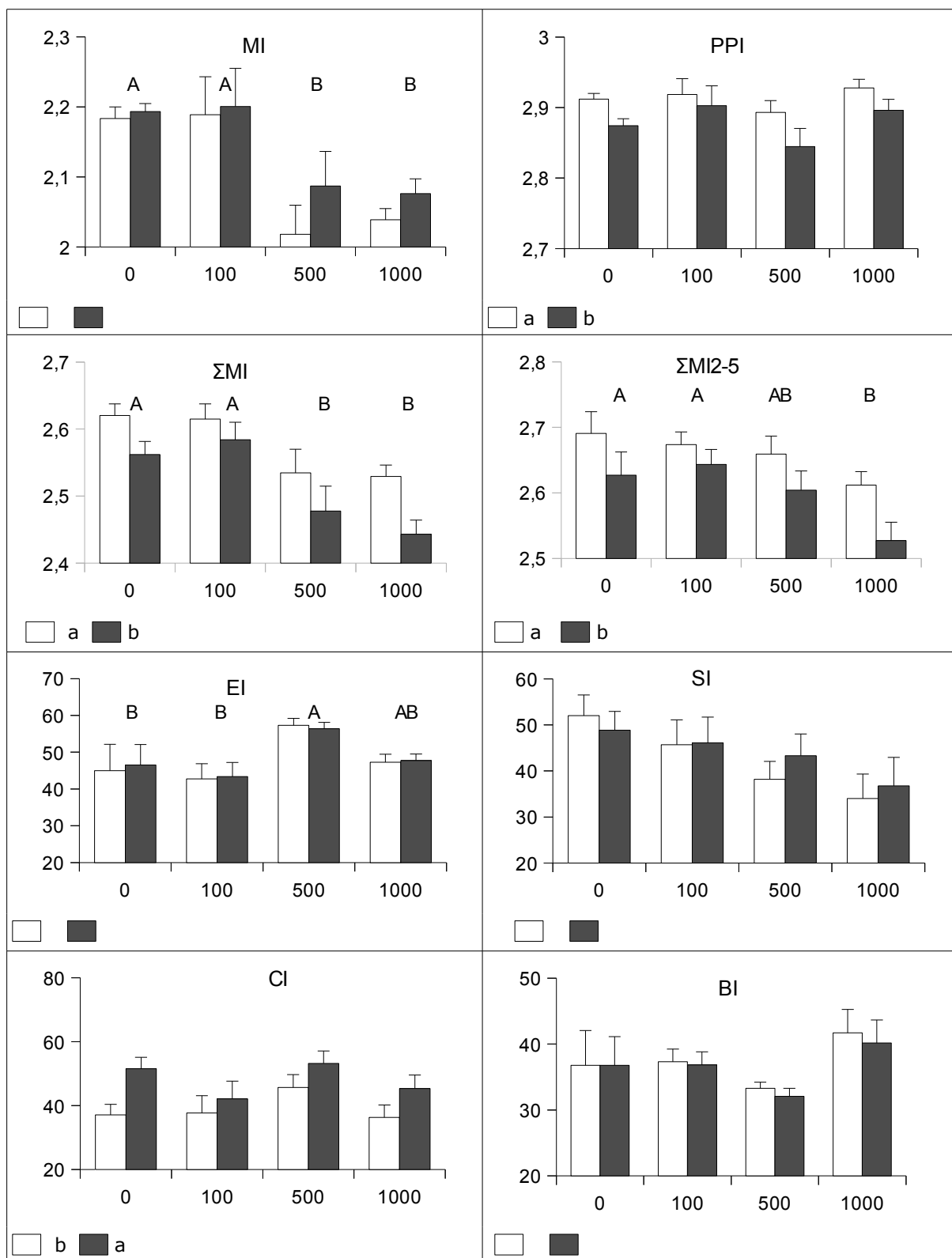
**Διάγραμμα II.2.4.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά γραμμάριο χρώματος) των διαφόρων τροφικών ομάδων, στις δόσεις του χαλκού (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■).

### II.2.3.1.3.3. Δείκτες κοινότητας νηματωδών

Η επίδραση της δόσης του χαλκού καθώς και του χρόνου στους δείκτες της κοινότητας των νηματωδών παρουσιάζονται στον Πίνακα II.2.7. Στο Διάγραμμα II.2.5 παρουσιάζονται οι τιμές των δεικτών για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας II.2.7.** Επίδραση της δόσης και του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους δείκτες της νηματωδοκοινότητας (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3 & 40)		Χρόνος (BE 1 & 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
MI	8,88	0,000	1,45	0,235	0,27	0,843
PPI	2,32	0,090	6,43	0,015	0,27	0,849
ΣMI	10,21	0,000	10,27	0,003	0,39	0,759
ΣMI <sub>2-5</sub>	4,68	0,007	9,01	0,005	0,33	0,801
BI	2,23	0,099	0,13	0,720	0,02	0,995
EI	4,48	0,008	0,03	0,873	0,03	0,992
SI	2,58	0,067	0,21	0,650	0,18	0,909
CI	2,02	0,126	8,48	0,006	0,47	0,704



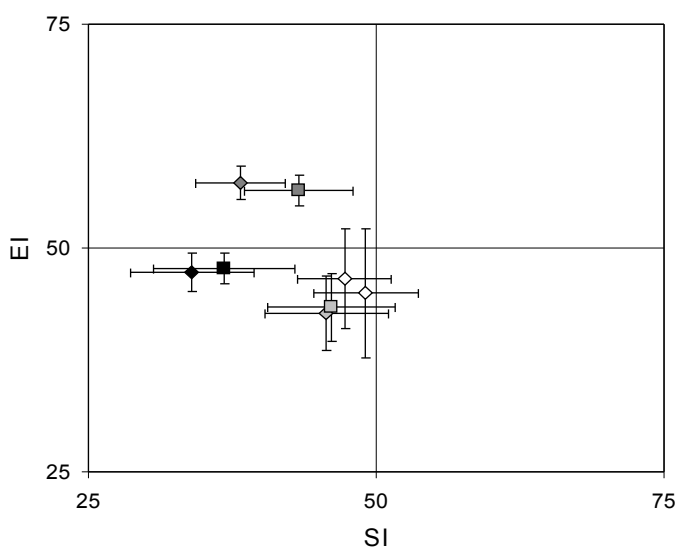
**Διάγραμμα II.2.5.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των δεικτών MI, PPI, ΣMI, BI, EI, SI και CI στις δόσεις του χαλκού (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■).

Ο δείκτης ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας (MI) επηρεάστηκε μόνο από την δόση του χαλκού καθώς η προσθήκη χαλκού μείωσε την τιμή του στις δυο στις υψηλότερες



δόσεις. Ο δείκτης φυτοπαρασιτικής νηματωδοκοινότητας (PPI) επηρεάστηκε μόνο από τον χρόνο, καθώς στις 45 ημέρες είχε μεγαλύτερη τιμή. Ο ολικός δείκτης νηματωδοκοινότητας ΣΜΙ επηρεάστηκε και από την δόση του χαλκού και από τον χρόνο, καθώς η προσθήκη χαλκού μείωσε την τιμή του στις δυο στις υψηλότερες δόσεις, ενώ στις 45 ημέρες είχε υψηλότερη τιμή. Ο δείκτης ΣΜΙ<sub>2-5</sub> επηρεάστηκε και από την δόση και από τον χρόνο, καθώς η προσθήκη χαλκού μείωσε την τιμή του δείκτη μόνο στην υψηλότερη δόση, ενώ οι ενδιάμεσες δόσεις δεν διέφεραν ούτε από τον μάρτυρα, ενώ στις 45 ημέρες είχε υψηλότερη τιμή. Ο δείκτης εμπλουτισμού ΕΙ επηρεάστηκε μόνο από την δόση του χαλκού, καθώς είχε υψηλότερη τιμή στις δόσεις των 1000mg/Kg και 500mg/Kg ενώ η δόση των 1000mg/Kg δεν διέφερε από τις άλλες επεμβάσεις. Ο δείκτης οδού αποσύνθεσης CΙ επηρεάστηκε μόνο από τον χρόνο, καθώς στις 90 ημέρες είχε υψηλότερη τιμή.

Τέλος οι δείκτες θεμελιώδους κατάστασης ΒΙ και δομής SΙ δεν επηρεάστηκαν ούτε από τον χαλκό ούτε από τον χρόνο.



**Διάγραμμα ΙΙ.2.6.** Γραφική ανάλυση νηματωδοκοινότητας. Τιμές των ζευγών των δεικτών δομής SΙ και εμπλουτισμού ΕΙ ( $\pm$  τυπικά σφάλματα του μέσου) σε οριζόντιο σύστημα συντεταγμένων (επεξηγήσεις, λευκό: μάρτυρας, ανοικτό γκρι: 100mg/Kg, σκούρο γκρι: 500mg/Kg, μαύρο : 1000mg/Kg, ρόμβος: 45 ημέρες και τετράγωνο: 90 ημέρες)

Στο Διάγραμμα ΙΙ.2.6. βλέπουμε την απεικόνιση σε οριζόντιο σύστημα συντεταγμένων τιμές των ζευγών SΙ και ΕΙ. Η δομή της κοινότητας φαίνεται να μειώνεται με την δόση, ενώ στην δόση των 500mg/Kg η κοινότητα φαίνεται πιο εμπλουτισμένη. Επίσης μεταξύ των ημερομηνιών εκτίμησης δεν διακρίνονται σημαντικές διαφορές. Η πλειοψηφία των σημείων (εκτός αυτών που αντιστοιχούν στην δόση των 500mg/Kg) βρίσκεται στο τεταρτημόριο Δ που χαρακτηρίζει νηματωδοκοινότητα με υποτυπώδη δομή

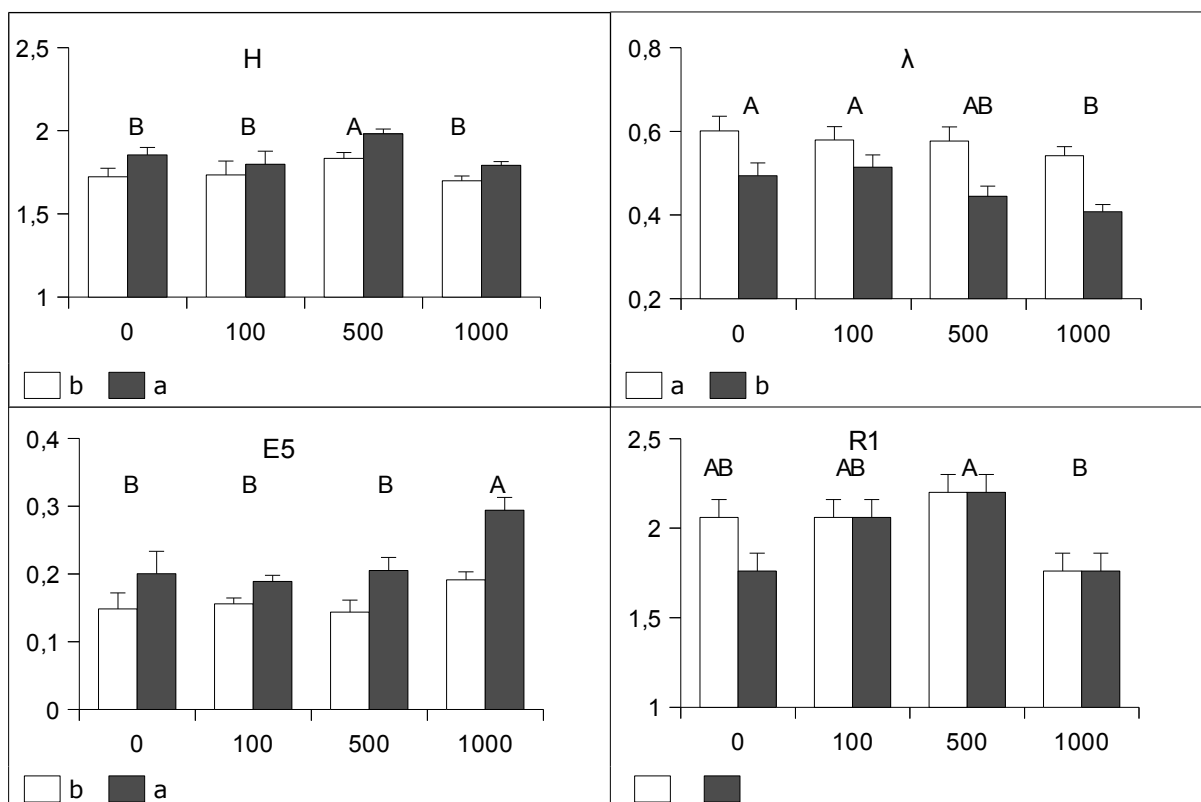
και εξαντλημένους πόρους. Η δομή φαίνεται να μειώνεται με την δόση του χαλκού.

#### ΙΙ.2.3.1.3.4. Οικολογικοί δείκτες νηματώδων

Η επίδραση της δόσης του χαλκού καθώς και του χρόνου στους οικολογικούς δείκτες των νηματώδων παρουσιάζονται στον Πίνακα ΙΙ.2.8. Στο Διάγραμμα ΙΙ.2.7 παρουσιάζονται οι τιμές των δεικτών αυτών, για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας ΙΙ.2.8.** Επίδραση της δόσης του χαλκού, του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους οικολογικούς δείκτες της νηματωδοκοινότητας (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
H'	4,07	0,013	9,20	0,004	0,29	0,835
λ	3,27	0,031	30,19	0,000	0,63	0,602
E5	6,34	0,001	20,71	0,000	1,16	0,337
R1	4,6	0,007	0,35	0,560	0,03	0,991



**Διάγραμμα ΙΙ.2.7.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των τιμών των οικολογικών δεικτών H', λ, E5, Margalef στις δόσεις του χαλκού (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■ ).

Οι δείκτες βιοποικιλότητας του Shannon H', κυριαρχίας του Simpson λ και ισομέρειας του Hill E5 επηρεάστηκαν και από την δόση του χαλκού και από τον χρόνο ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Ο δείκτης H' είχε

υψηλότερη τιμή στην δόση των 500mg/Kg, ενώ οι άλλες επεμβάσεις δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Ο δείκτης E5 είχε υψηλότερη τιμή στην δόση των 1000mg/Kg, ενώ οι άλλες επεμβάσεις δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Η προσθήκη χαλκού μείωσε σημαντικά την τιμή του δείκτη λ μόνο στην υψηλότερη δόση. Τέλος, οι δείκτες Η' και E5 είχαν υψηλότερη τιμή στις 90 ημέρες ενώ ο δείκτης λ στις 45. Ο δείκτης αφθονίας του Margalef επηρεάστηκε μόνο από την δόση του χαλκού. καθώς στην δόση των 500mg/Kg είχε υψηλότερη τιμή από την δόση των 1000mg/Kg.

### II.2.3.2. Κάδμιο

#### II.2.3.2.1. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή

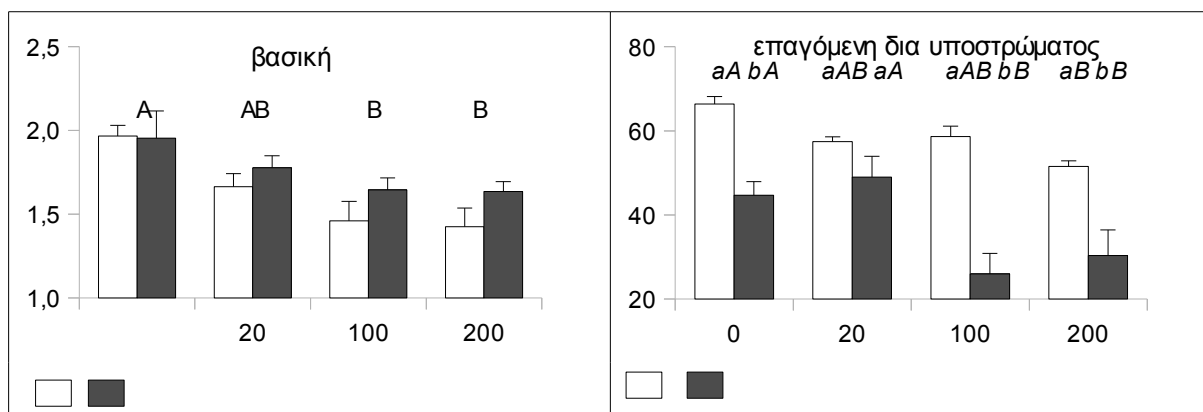
Η επίδραση της δόσης του καδμίου καθώς και του χρόνου στην βασική αναπνοή και την επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή παρουσιάζονται στον Πίνακα II.2.9. Στο Διάγραμμα II.2.8 παρουσιάζονται οι τιμές της βασικής και της επαγόμενης δια υποστρώματος αναπνοής για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

Η βασική αναπνοή επηρεάστηκε μόνο από την δόση καθώς η προσθήκη καδμίου μείωσε την τιμή της στις δυο στις υψηλότερες δόσεις, ενώ δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δόσεων.

Η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή επηρεάστηκε σημαντικά από την συγκέντρωση του χαλκού, πολύ έντονα από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Εκτός της δόσης των 20mg/Kg η τιμή της επαγόμενης δια υποστρώματος αναπνοής ήταν υψηλότερη στις 45 ημέρες. Για την επίδραση της δόσης στους δυο χρόνους, στις 45 ημέρες η προσθήκη καδμίου μείωσε σημαντικά την επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή μόνο στην υψηλότερη δόση, ενώ στις 90 ημέρες μειώθηκε στις δυο υψηλότερες δόσεις.

**Πίνακας II.2.9.** Επίδραση της δόσης του χαλκού, του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στην βασική αναπνοή (BA) και στην επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή (EYA). (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
BA	8,32	0,000	3,22	0,079	0,52	0,668
EYA	8,17	0,000	65,01	0,000	3,63	0,019



**Διάγραμμα II.2.8.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) βασικής μικροβιακής αναπνοής και της επαγόμενης δια υποστρώματος μικροβιακής αναπνοής (σε mg CO<sub>2</sub> / χγρ χώματος / ώρα) στις δόσεις του καδμίου (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■).

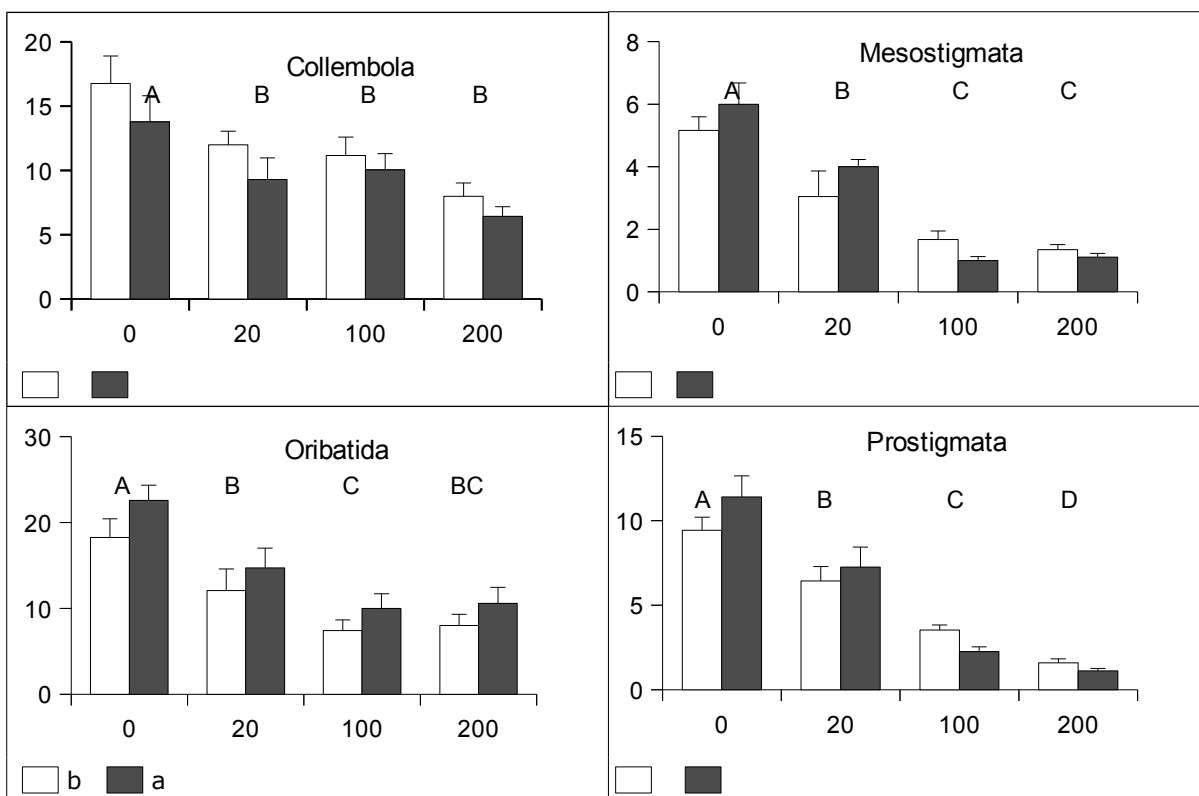
### II.2.3.2.2. Μικροαρθρόποδα

Η επίδραση της δόσης του καδμίου καθώς και του χρόνου στους πληθυσμούς των μικροαρθρόποδων παρουσιάζονται στον Πίνακα II.2.10. Στο Διάγραμμα II.2.9 παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των μικροαρθροπόδων για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας II.2.10.** Επίδραση της δόσης και του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των διαφόρων τροφικών ομάδων των νηματωδών (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
Collembola	9,75	0,000	3,93	0,054	0,18	0,912
Prostigmata	97,79	0,000	1,13	0,294	4047,33	0,000
Mesostigmata	65,21	0,000	0,01	0,941	1289,27	0,000
Oribatida	16	0,000	5	0,031	0,10	0,958

Οι πληθυσμοί τόσο των Collembola όσο και των τριών τάξεων των ακαρέων επηρεάστηκαν από το κάδμιο, ενώ μόνο οι πληθυσμοί των Oribatida επηρεάστηκαν από τον χρόνο. Η προσθήκη καδμίου μείωσε τους πληθυσμούς των Collembola χωρίς όμως διαφορές μεταξύ των δόσεων. Στα Prostigmata οι πληθυσμοί βρέθηκαν να μειώνονται σημαντικά με την δόση, ενώ στα Mesostigmata υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στον μάρτυρα και χαμηλότεροι στις δυο υψηλότερες δόσεις. Τέλος, η προσθήκη καδμίου μείωσε τους πληθυσμούς των Oribatida, με την δόση των 100mg/Kg να έχει σημαντικά χαμηλότερους πληθυσμούς από αυτούς στην δόση των 20mg/Kg, ακόμα υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 90 ημέρες.



**Διάγραμμα II.2.9.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά 100 γρ χώματος), των Collembola καθώς και των 3 τάξεων των ακαρέων (Mesostigmata, Oribatida, Prostigmata, στις δόσεις του καδμίου (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■).

### II.2.3.2.3. Νηματώδεις

#### II.2.3.2.3.1. Ταχα νηματωδών

Τα γένη νηματωδών που ευρέθησαν παρουσιάζονται στον πίνακα Πίνακα II.2.11.

Το κυρίαρχο φυτοпараσιτικό γένος ήταν το *Helicotylenchus*, ενώ βρέθηκαν σε σημαντικούς πληθυσμούς και τα γένη *Pratylenchus* και *Tylenchorhynchus*. Επίσης βρέθηκαν σε υπολογίσιμους αριθμούς άτομα του γένους *Tylenchus* τα οποία είναι φυτοпараσιτικά ή/και μυκητοφάγα. Για τους βακτηριοφάγους νηματώδεις η μεγάλη πλειοψηφία άνηκε στην οικογένεια Cephalobidae και στο γένος *Acrobeloides* που ήταν με διαφορά το πολυπληθέστερο (πάνω από 50% του συνολικού πληθυσμού των βακτηριοφάγων νηματωδών) ενώ σημαντικά λιγότεροι βακτηριοφάγοι νηματώδεις άνηκαν στην υπόταξη Rhabditina (κυρίως στο γένος *Mesorhabditis*), ενώ ακόμα λιγότεροι βακτηριοφάγοι νηματώδεις άνηκαν στην τάξη Araeolaimida. Η πλειονότητα των παμφάγων νηματωδών άνηκε στην οικογένεια Dorylaimidae. Για τους μυκητοφάγους νηματώδεις η πλειονότητα ήταν των γενών *Aphelenchoides* και *Aphelenchus*. Τέλος το πολυπληθέστερο γένος ήταν το *Helicotylenchus*.

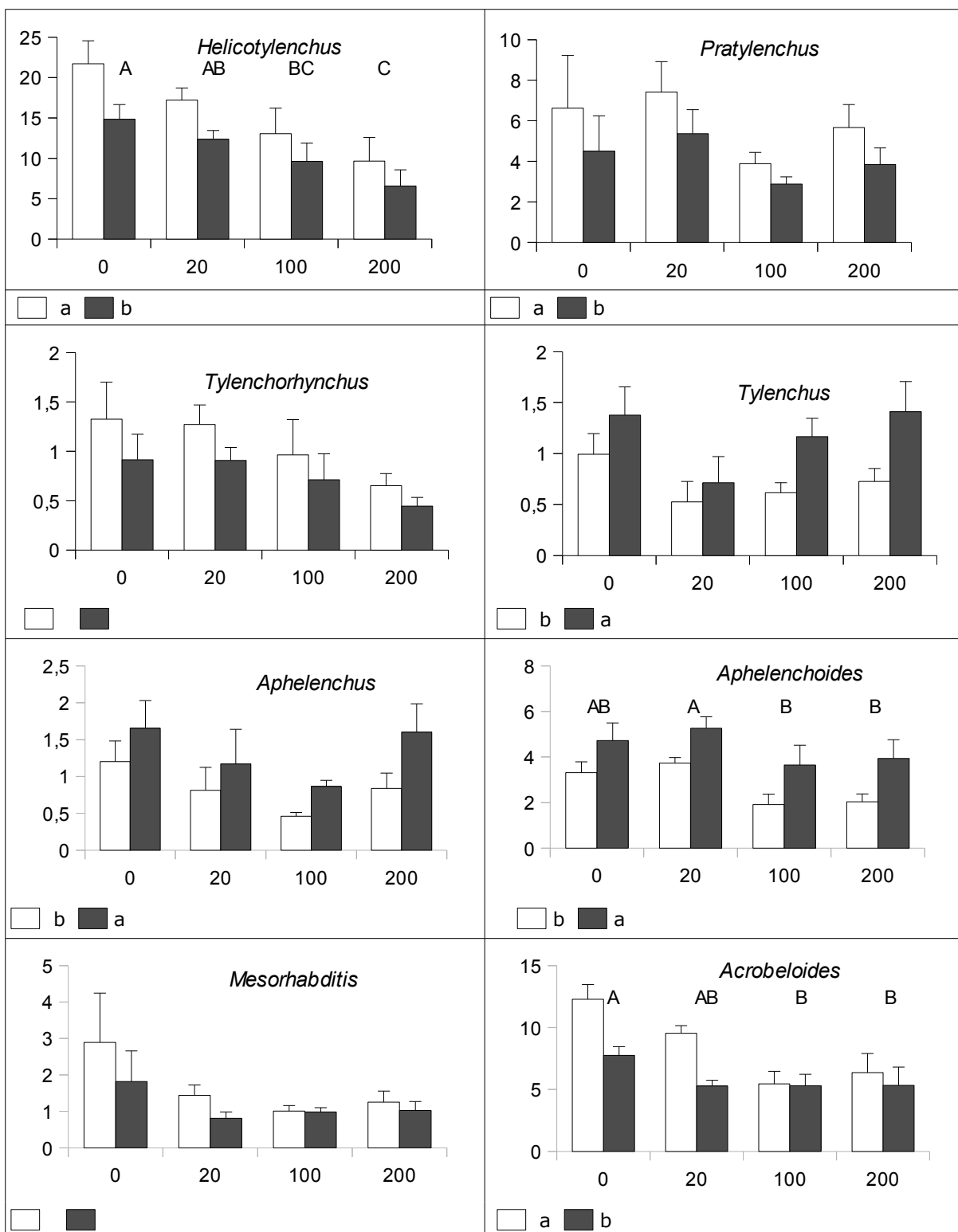
**Πίνακας II.2.11.** Γένη που ευρέθησαν στα πειράματα. Μέσα σε παρένθεση η λειτουργική ομάδα στην οποία ανήκει το τροφικό επίπεδο στο οποίο ανήκει [οι τροφικές απαιτήσεις κατά Yeates *et al.* 1993 (ΦΠ: φυτοπαρασιτικοί, ΒΦ: βακτηριοφάγοι, ΜΦ: μυκητοφάγοι και ΠΦ: παμφάγοι), και η τιμή της κλίμακας 1-5 έμμενος-αποικιστικός κατά Bongers (1990)].

<b>Araeolaimida</b>	<b>Rhabditida</b>	<b>Tylenchida</b>
Plectidae	Cephalobidae	Aphelenchidae
<i>Plectus</i> (ΒΦ2)	<i>Acrobeles</i> (ΒΦ2)	<i>Aphelenchus</i> (ΜΦ2)
<i>Wilsonema</i> (ΒΦ2)	<i>Acrobelloides</i> (ΒΦ2)	Aphelenchoididae
Teratocephalidae	<i>Eucephalobus</i> (ΒΦ2)	<i>Aphelenchoides</i> (ΜΦ2)
<i>Teratocephalus</i> (ΒΦ2)	Panagrolaimidae	Anguinidae
	<i>Panagrolaimus</i> (ΒΦ1)	<i>Ditylenchus</i> (ΜΦ2)
<b>Dorylaimida</b>	Rhabditidae (ΒΦ1)	Belonolaimidae
Aporcelaimidae	Mesorhabditidae (ΒΦ1)	<i>Telotylenchus</i> (ΦΠ3)
<i>Aporcelaimus</i> (ΠΦ5)	<i>Mesorhabditis</i> (ΒΦ1)	<i>Tylenchorhynchus</i> (ΦΠ3)
Nordiidae		Hoplolaimidae
<i>Pungentus</i> (ΠΦ4)		<i>Helicotylenchus</i> (ΦΠ2)
Qudsianematidae (ΠΦ4)		Pratylenchidae
<i>Eudorylamimus</i> (ΠΦ4)		<i>Pratylenchoides</i> (ΦΠ2)
		<i>Pratylenchus</i> (ΦΠ2)
		Tylenchidae
		<i>Tylenchus</i> (ΜΦ- ΦΠ2)

Η επίδραση της δόσης του καδμίου καθώς και του χρόνου στα κυριώτερα γένη των νηματωδών, παρουσιάζονται στον Πίνακα II.2.12 Στο Διάγραμμα II.2.10 παρουσιάζονται οι τιμές των δεικτών αυτών για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων. πληθυσμοί του γένους *Pratylenchus*, *Tylenchus* και *Aphelenchus* επηρεάστηκαν μόνο από τον χρόνο καθώς στο γένος *Pratylenchus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 45 ημέρες ενώ στα γένη *Tylenchus* και *Aphelenchus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 90 ημέρες. Τέλος οι πληθυσμοί των γενών *Mesorhabditis* και *Tylenchorhynchus* δεν επηρεάστηκαν ούτε από την δόση του καδμίου ούτε από τον χρόνο.

**Πίνακας II.2.12.** Επίδραση της δόσης και του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των παρακάτω γενών των νηματωδών (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
<i>Helicotylenchus</i>	7,24	0,000	7,85	0,007	0,28	0,843
<i>Pratylenchus</i>	2,29	0,091	4,62	0,037	588,6	0,000
<i>Tylenchorhynchus</i>	2,34	0,086	3,15	0,082	0,08	0,973
<i>Tylenchus</i>	2,61	0,062	8,82	0,005	0,5	0,687
<i>Aphelenchus</i>	2,34	0,086	5,33	0,025	0,18	0,907
<i>Aphelenchoides</i>	3,73	0,017	14,98	0,000	0,07	0,977
<i>Acrobelloides</i>	7,83	0,000	11,13	0,002	2,21	0,099
<i>Mesorhabditis</i>	1,13	0,348	1,65	0,205	170,81	0,000



**Διάγραμμα II.2.10.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά γραμμάριο), των διαφόρων τροφικών ομάδων (ΦΠ: φυτοπαρασιτικοί, ΠΦ: παμφάγοι, ΒΦ: βακτηριοφάγοι και ΜΦ: μυκητοφάγοι), στις δόσεις του καδμίου (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■).

Οι πληθυσμοί των γενών *Helicotylenchus*, *Aphelenchoides* και *Acrobeloides* επηρεάστηκαν και από την δόση του καδμίου και από τον χρόνο ενώ δεν βρέθηκε

σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Οι πληθυσμοί του γένους *Helicotylenchus* μειώνονταν με την δόση του καδμίου, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ διαδοχικών δόσεων. Στο γένος *Aphelenchoides* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 20mg/Kg και στον μάρτυρα, ενώ οι πληθυσμοί στον μάρτυρα δεν διέφεραν σημαντικά από αυτούς στις δόσεις του καδμίου. Στο γένος *Acrobelloides* στον μάρτυρα βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί από ότι στις δυο μεγαλύτερες δόσεις ενώ δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δόσεων. Τέλος, στα γένη *Helicotylenchus* και *Acrobelloides* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 45 ημέρες ενώ στο γένος *Aphelenchoides* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 90 ημέρες.

### II.2.3.2.3.2. Τροφικές ομάδες νηματωδών

Η επίδραση της δόσης του καδμίου καθώς και του χρόνου στις τροφικές ομάδες των νηματωδών παρουσιάζονται στον Πίνακα II.2.13. Στο Διάγραμμα II.2.11 παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των τροφικών ομάδων για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων. Αρπακτικοί νηματώδεις βρέθηκαν ελάχιστοι και δεν παρουσιάζονται στα αποτελέσματα.

Οι πληθυσμοί τόσο των φυτοπαρασιτικών, βακτηριοφάγων και μυκητοφάγων νηματωδών επηρεάστηκαν και από το κάδμιο και από τον χρόνο ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Η προσθήκη καδμίου μείωσε τους πληθυσμούς των φυτοπαρασιτικών και βακτηριοφάγων νηματωδών στις δυο υψηλότερες δόσεις, ενώ δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δόσεων. Η προσθήκη καδμίου μείωσε τους πληθυσμούς των μυκητοφάγων νηματωδών, στις δυο υψηλότερες δόσεις, με την δόση των 100mg/Kg να έχει σημαντικά χαμηλότερους πληθυσμούς από αυτούς στην δόση των 20mg/Kg. Ακόμα υψηλότεροι πληθυσμοί φυτοπαρασιτικών και βακτηριοφάγων νηματωδών βρέθηκαν στις 90 ημέρες, ενώ μυκητοφάγων στις 45 μέρες.

Τέλος οι πληθυσμοί των παμφάγων νηματωδών επηρεάστηκαν μόνο από την δόση. καθώς οι πληθυσμοί τους μειώνονταν με την δόση, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ διαδοχικών δόσεων.

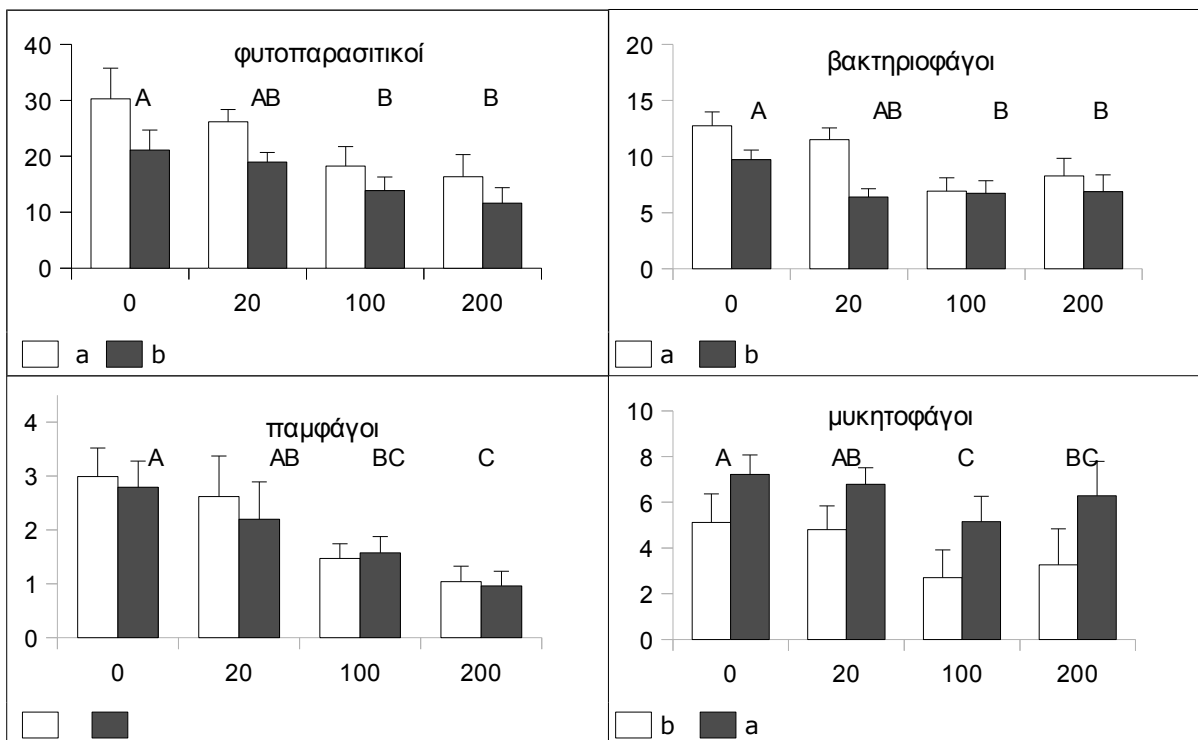
**Πίνακας II.2.13.** Επίδραση της δόσης και του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των διαφόρων τροφικών ομάδων των νηματωδών (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
Φυτοπαρασιτικοί	5,19	0,004	7,02	0,011	0,22	0,885
Παμφάγοι	6,22	0,001	0,18	0,670	0,1	0,957
Βακτηριοφάγοι	5,34	0,003	8,34	0,006	1,6	0,204
Μυκητοφάγοι	4,35	0,010	24,09	0,000	0,24	0,870

Τέλος οι πληθυσμοί των παμφάγων νηματωδών επηρεάστηκαν μόνο από την δόση.



καθώς οι πληθυσμοί τους μειώνονταν με την δόση, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ διαδοχικών δόσεων.



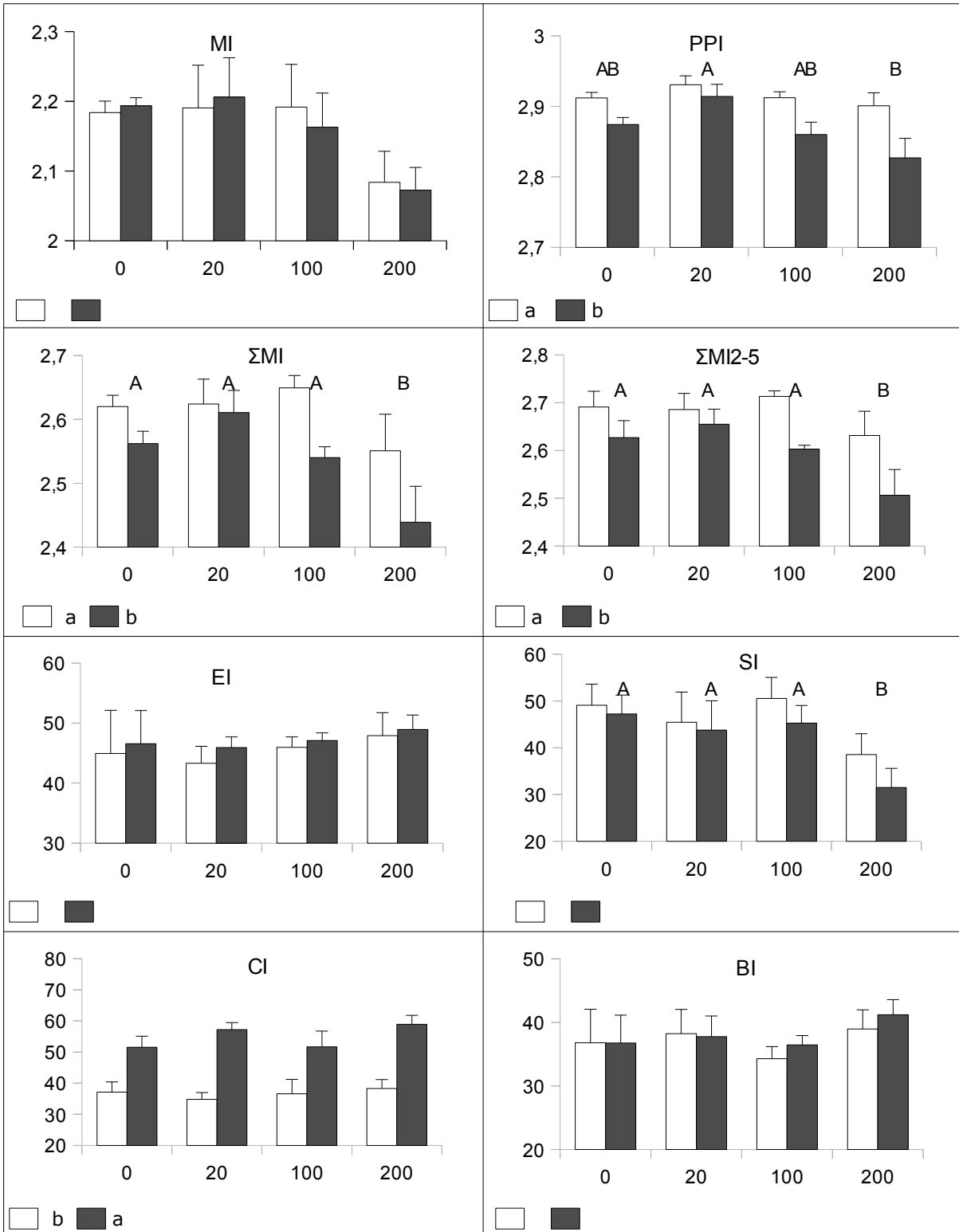
**Διάγραμμα II.2.11.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά γρ χώματος), των διαφόρων τροφικών ομάδων, στις δόσεις του καδμίου (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■).

### II.2.3.2.3.3. Δείκτες κοινότητας νηματωδών

Η επίδραση της δόσης του καδμίου καθώς και του χρόνου στους δείκτες νηματωδοκοινότητας των νηματωδών παρουσιάζονται στον Πίνακα II.2.14. Στο Διάγραμμα II.2.12 παρουσιάζονται οι τιμές των δεικτών αυτών για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας II.2.14.** Επίδραση της δόσης και του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους δείκτες της νηματωδοκοινότητας (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
MI	2,74	0,056	0,01	0,908	0,10	0,959
PPI	4,40	0,009	15,48	0,000	1,10	0,359
ΣMI	4,50	0,008	8,15	0,007	0,84	0,481
ΣMI <sub>2-5</sub>	3,52	0,024	10,79	0,002	0,74	0,533
BI	0,69	0,562	0,17	0,683	0,09	0,965
EI	0,35	0,791	0,34	0,562	0,02	0,997
SI	3,19	0,034	1,34	0,254	0,15	0,931
CI	0,71	0,552	53,93	0,000	0,65	0,588



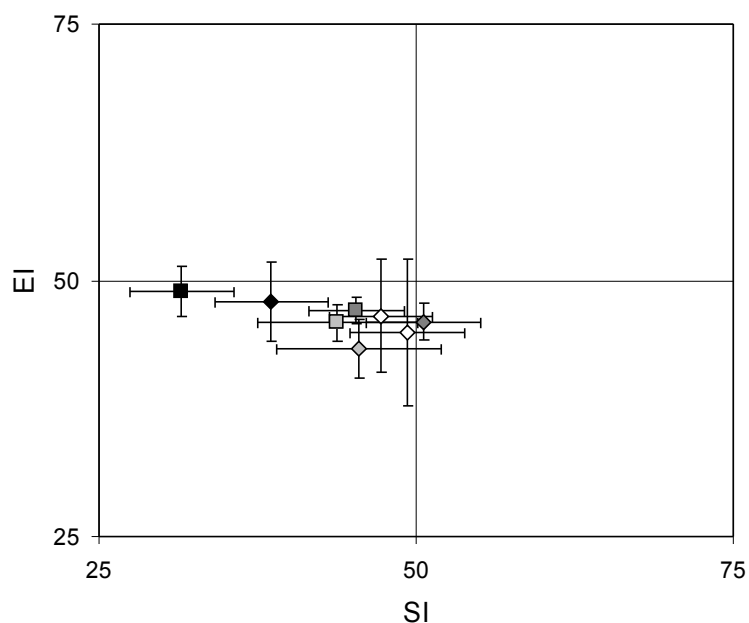
**Διάγραμμα II.2.12.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά γραμμάριο χώματος), των διαφόρων τροφικών ομάδων (ΦΠ: φυτοпараσιτικοί, ΠΦ: παμφάγοι, ΒΦ: βακτηριοφάγοι και ΜΦ: μυκητοφάγοι), στις δόσεις του καδμίου (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■ ).

Οι δείκτες φυτοπαρασιτικής νηματωδοκοινότητας (PPI), ολικός δείκτης ωριμότητας νηματωδοκοινότητας (ΣMI) και ο δείκτης ΣMI<sub>2-5</sub> επηρεάστηκαν και από το κάδμιο και από

τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης καδμίου και χρόνου. Η προσθήκη καδμίου μείωσε την τιμή των δεικτών ΣΜΙ και ΣΜΙ<sub>2-5</sub> μόνο στην υψηλότερη δόση, ενώ η τιμή του δείκτη ΡΡΙ στην δόση των 20mg/Kg ήταν υψηλότερη από αυτήν στην δόση των 200mg/Kg. Τέλος και οι τρεις αυτοί δείκτες είχαν υψηλότερη τιμή στις 45 ημέρες.

Ο δείκτης δομής (SI) επηρεάστηκε οριακά μόνο από το κάδμιο. Η προσθήκη καδμίου μείωσε την τιμή των δείκτη μόνο στην υψηλότερη δόση. Ο δείκτης ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας (MI), ο δείκτης εμπλουτισμού (EI), και ο δείκτης θεμελιώδους κατάστασης (BI) δεν επηρεάστηκαν σημαντικά ούτε από την δόση του καδμίου, ούτε από τον χρόνο.

Στο Διάγραμμα II.2.13 βλέπουμε την απεικόνιση σε οριζόντιο σύστημα συντεταγμένων τιμές των ζευγών SI και EI.



**Διάγραμμα II.2.13.** Γραφική ανάλυση νηματωδοκοινότητας. Τιμές των ζευγών των δεικτών δομής SI και εμπλουτισμού EI ( $\pm$  τυπικά σφάλματα του μέσου) σε οριζόντιο σύστημα συντεταγμένων (επεξηγήσεις, λευκό: μάρτυρας, ανοικτό γκρι: 20mg/Kg, σκούρο γκρι: 100mg/Kg, μαύρο : 200mg/Kg, ρόμβος: 45 ημέρες και τετράγωνο: 90 ημέρες).

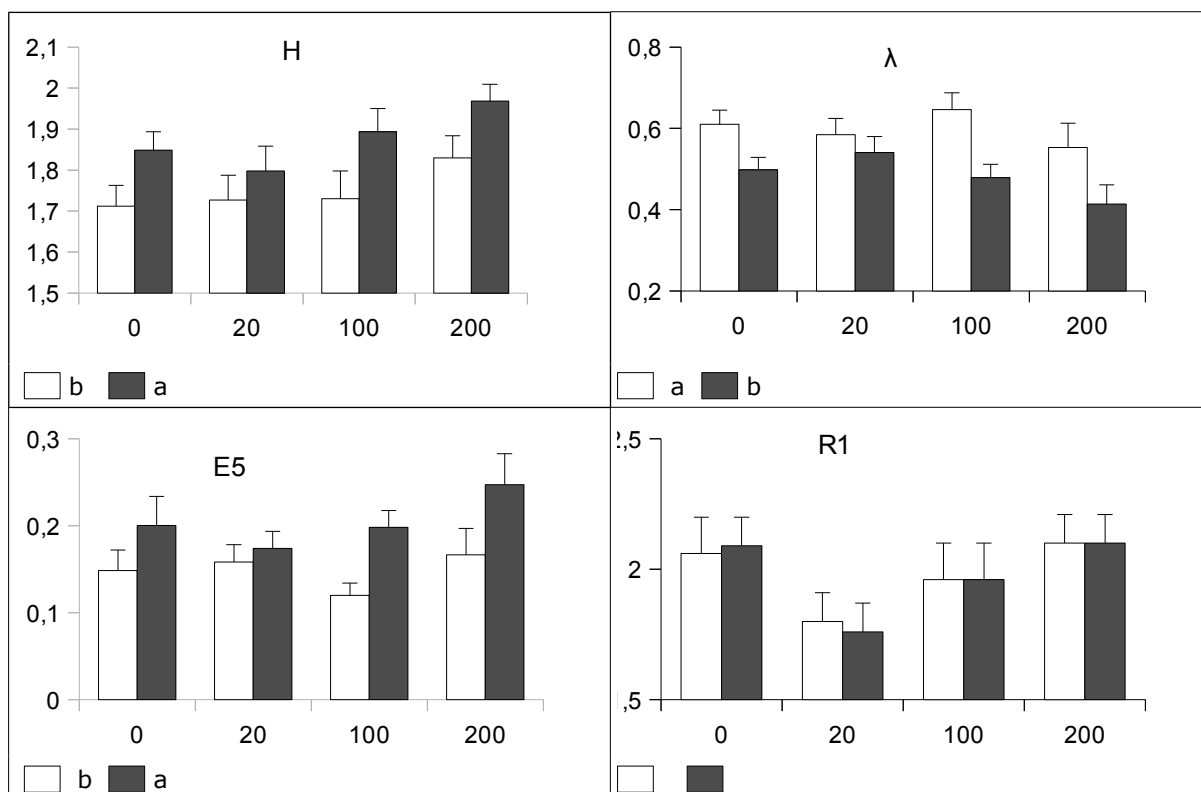
Όλα τα σημεία βρίσκονται στο τεταρτημόριο Δ που χαρακτηρίζει νηματωδοκοινότητα με εξαντλημένους πόρους και υποτυπώδη δομή. Τα σημεία του μάρτυρα καθώς και των δόσεων των 20 και 100mg/Kg βρίσκονται αρκετά κοντά, ενώ τα σημεία που αντιστοιχούν στις δόσεις των 200mg/Kg απέχουν εμφανώς από τα άλλα σημεία προς μια θέση πιο υποτυπώδους δομής.

**ΙΙ.2.3.2.3.4. Οικολογικοί δείκτες νηματοδών**

Η επίδραση της δόσης του καδμίου καθώς και του χρόνου στους οικολογικούς δείκτες των νηματοδών παρουσιάζονται στον Πίνακα ΙΙ.2.15. Στο Διάγραμμα ΙΙ.2.4 παρουσιάζονται οι τιμές των δεικτών αυτών για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας ΙΙ.2.15.** Επίδραση της δόσης του καδμίου, του χρόνου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους οικολογικούς δείκτες της νηματοδοκονότητας (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	Δόση (BE 3& 40)		Χρόνος (BE 3& 40)		ΔόσηxΧρόνος (BE 3& 40)	
	F	p	F	p	F	p
H'	2,42	0,080	10,67	0,002	0,26	0,855
λ	1,69	0,185	15,33	0,000	0,80	0,501
E5	1,37	0,266	9,86	0,003	0,71	0,554
R1	5,93	0,002	0,71	0,404	0,06	0,980



**Διάγραμμα ΙΙ.2.14.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των τιμών των οικολογικών δεικτών H', λ, E5, Margalef στις δόσεις του καδμίου (σε mg/Kg, άξονας X) και στους 2 χρόνους εκτίμησης (σε ημέρες 45 □ και 90 ■).

Οι δείκτες βιοποικιλότητας του Shannon (H'), κυριαρχίας του Simpson (λ) και του δείκτη ισομέρειας του Hill (E5) επηρεάστηκαν μόνο από τον χρόνο. Οι δείκτες H' και E5 είχαν υψηλότερη τιμή στις 90 ημέρες ενώ ο δείκτης λ είχε υψηλότερη τιμή στις 45 ημέρες. Ο δείκτης αφθονίας του Margalef (R1) δεν επηρεάστηκε ούτε από το κάδμιο ούτε

από τον χρόνο.

#### II.2.4. Συζήτηση

Τόσο η βασική όσο και η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή μειώθηκαν σημαντικά με την προσθήκη των μετάλλων, τόσο του χαλκού, όσο και του καδμίου.

Η προσθήκη χαλκού μείωσε την βασική αναπνοή χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ των 3 δόσεων, ενώ στις 90 ημέρες η τιμή της ήταν υψηλότερη από τις 45, και αυτό ήταν πιο έντονο στις 3 δόσεις του χαλκού καθώς στον μάρτυρα και στις δυο ημερομηνίες η βασική αναπνοή ήταν παρόμοια. Είναι μια ένδειξη ότι με την πάροδο του χρόνου η βασική αναπνοή ανακάμπτει. Η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή ήταν υψηλότερη στον μάρτυρα από τις δόσεις του χαλκού και χαμηλότερη στην δόση των 1000mg/Kg, ενώ οι δόσεις των 100 και 500mg/Kg δεν διέφεραν μεταξύ τους, διέφεραν όμως συγκρινόμενες με την υψηλότερη δόση και τον μάρτυρα. Επίσης στις 90 ημέρες η τιμή της επαγόμενης δια υποστρώματος μικροβιακής αναπνοής έπεσε σημαντικά σε όλες τις επεμβάσεις. Η αρνητική επίδραση του χαλκού στην βασική και την επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή έχει βρεθεί και από άλλες μελέτες, για παράδειγμα οι Broos *et al.* (2007) αναφέρουν ότι σε 12 εδάφη που ρυπάνθηκαν με χαλκό έλαβε τιμές  $EC_{50}$  για την επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή από 108 έως 2,155 mg/kg, ενώ οι Bogomolov *et al.* (1996) βρήκαν ότι η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή επηρεάζεται από χαμηλή δόση χαλκού της τάξης των 50mg/Kg. Ακόμα οι Liao *et al.* (2005) σε πείραμα για την μελέτη της τοξικότητας του χαλκού στην βασική μικροβιακή αναπνοή, βρήκαν ότι η  $ED_{50}$  της βασικής αναπνοής σε χώμα για διάστημα επώασης 10-60 μερών κυμάνθηκε σε 66-178mg/Kg εδάφους; οι τιμές  $ED_{50}$  αυξάνονταν με τον χρόνο, κάτι που δείχνει ότι πιθανόν να γίνεται επιλογή ανθεκτικών στελεχών.

Η προσθήκη καδμίου μείωσε την βασική αναπνοή στις δόσεις των 100 και 200mg/Kg. Επίσης η βασική αναπνοή φαίνεται στις 90 ημέρες να αυξάνεται σε σχέση με αυτήν στις 45 ημέρες, αν και αυτή η αύξηση δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική, ενώ στις 90 ημέρες οι διαφορές μεταξύ των δόσεων είναι λιγότερο έντονες. Η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή στις 45 ημέρες στον μάρτυρα ήταν υψηλότερη από την δόση των 200mg/Kg, ενώ στις 90 ημέρες στην δόση των 100 και 200mg/Kg η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή ήταν σημαντικά χαμηλότερη από ότι στον μάρτυρα και στην δόση των 20mg/Kg. Το κάδμιο έχει βρεθεί να επηρεάζει αρνητικά τόσο τις μεταβολικές διαδικασίες των μικροοργανισμών όσο και την ανάπτυξη τους (Liao *et al.* 2005, Moreno *et al.* 2009), ακόμα έχει βρεθεί να επηρεάζει την βασική μικροβιακή αναπνοή και σε δόσεις της τάξης των 12.5mg/Kg (Moreno *et al.* 2009).

Η αρνητική επίδραση των βαρέων μετάλλων στους μικροοργανισμούς του εδάφους έχει τεκμηριωθεί από αρκετές μελέτες. Τα βαρέα μέταλλα έχουν ευρεθεί να επηρεάζουν

αρνητικά την βασική μικροβιακή αναπνοή ( Rahapakscha *et al.* 2004, Shukurov *et al.* 2005 & 2006). Και για τα δυο μέταλλα η βασική αναπνοή αυξήθηκε στις 90 ημέρες σε σχέση με τις 45. Αυτό πιθανόν να οφείλεται και σε επιλογή ανθεκτικών τύπων μικροβίων με την πάροδο του χρόνου κάτι το οποίο έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές ( Spreir *et al.* 1995, Kandeler *et al.* 2000, Liao *et al.* 2005). Έχει αναφερθεί η ευαισθησία της κοινότητας των μικροβίων να μειώνεται με τον χρόνο ακόμα και για σχετικά σύντομες χρονικά περιόδους έκθεσης σε βαρέα μέταλλα της τάξεως των 40-60 ημερών (Liao *et al.* 2005)

Η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς των Collembola ενώ οι πληθυσμοί στην δόση των 1000mg/Kg βρέθηκαν να είναι σημαντικά χαμηλότεροι από αυτούς στην δόση των 100mg/Kg. Οι πληθυσμοί των Oribatida μειώνονταν με την δόση του χαλκού, ενώ στις 90 ημέρες βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί από ότι στις 45. Ο χαλκός μείωσε επίσης τους πληθυσμούς των Mesostigmata, ενώ στην δόση των 1000mg/Kg οι πληθυσμοί ήταν σημαντικά χαμηλότεροι από αυτούς στην δόση των 100 και 500mg/Kg, ακόμα στις 90 ημέρες βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί από ότι στις 45. Οι πληθυσμοί των Prostigmata μειώθηκαν πολύ έντονα στις δυο υψηλότερες δόσεις του χαλκού. Η μείωση των πληθυσμών είναι σε συμφωνία με την μελέτη των Scott-Fordsmann *et al.* (2008) οι οποίοι σε ένα πρότυπο οικοσύστημα αποτελούμενο από Collembola και Mesostigmata βρήκαν την κοινότητα να μειώθηκε από την χαμηλότερη δόση χαλκού που δοκιμάστηκε (312mg/Kg), και των Parmelee *et al.* (1993) οι όποιοι βρήκαν ότι οι πληθυσμοί των Oribatida και των Mesostigmata επηρεάστηκαν αρνητικά από δόσεις χαλκού των 100mg/L εδάφους. Αντίθετα οι Pedersen *et al.* (1999) σε συγκεντρώσεις χαλκού 300-1300mg/Kg βρήκαν υψηλότερη πυκνότητα μικροαρθροπόδων σε σχέση με μεγαλύτερες και μικρότερες δόσεις.

Το κάδμιο μείωσε τους πληθυσμούς των Collembola, ενώ μεταξύ των δόσεων του καδμίου δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές. Η προσθήκη καδμίου μείωσε σημαντικά τους πληθυσμούς των Oribatida, ενώ οι πληθυσμοί στις 90 ημέρες βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί από ότι στις 45. Το κάδμιο μείωσε επίσης τους πληθυσμούς των Mesostigmata, ενώ οι πληθυσμοί στις δόσεις των 100mg/Kg και 200mg/Kg ήταν σημαντικά χαμηλότεροι από την δόση των 20mg/Kg. Οι πληθυσμοί των Prostigmata μειώνονταν με την δόση του καδμίου. Δεν βρέθηκαν μελέτες για τις επιπτώσεις του καδμίου στα μικροαρθροπόδα του εδάφους. Παρ' όλα αυτά από αρκετές μελέτες τα βαρέα μέταλλα έχουν βρεθεί να επηρεάζουν αρνητικά τους πληθυσμούς των μικροαρθροπόδων (Parmelee *et al.* 1993, Haimi & Siira-Pietikainen 1996, Skuba & Kafel, 2004, Khalil *et al.* 2009).

Αρκετές μελέτες αναφέρουν ότι τα Collembola θεωρούνται πιο ανθεκτικά στην ρύπανση από βαρέα μέταλλα (Strojan 1978 Bengtsson & Rundgren 1988, Haimi & Siira-Pietikainen 1996), κάτι το οποίο στην παρούσα μελέτη επιβεβαιώθηκε μόνο για το κάδμιο, όχι για τον χαλκό. Η ρύπανση επηρεάζει τα ακάρεα όχι μόνο άμεσα ως τοξικότητα αλλά

μπορεί να έχει και έμμεσες επιδράσεις μέσω της επίδρασης στην ποσότητα και την ποιότητα της οργανικής ουσίας και της κοινότητας των μικροοργανισμών με τους οποίους αλληλεπιδρούν (Khalil *et al.* 2009).

Η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς των φυτοпараσιτικών, βακτηριοφάγων και παμφάγων νηματώδων μόνο στις δυο υψηλότερες δόσεις, ενώ οι μυκητοφάγοι βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι μόνο στην υψηλότερη δόση. Οι περισσότεροι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις άνηκαν στο γένος *Helicotylenchus* όπου οι πληθυσμοί μειώνονταν με την δόση του χαλκού χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ διαδοχικών δόσεων, ενώ άλλα δυο γένη φυτοпараσιτικών νηματώδων ου βρέθηκαν σε σημαντικούς πληθυσμούς τα γένη *Tylenchorhynchus* και *Pratylenchus* η προσθήκη χαλκού μείωσε ελαφρά τους πληθυσμούς χωρίς όμως σημαντικές διαφορές. Στο γένος *Acrobeloides* το οποίο ήταν και το πολυπληθέστερο των βακτηριοφάγων νηματώδων η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς στις δυο υψηλότερες δόσεις, ενώ στο γένος *Mesorhabditis* αν και η προσθήκη χαλκού μείωσε τους πληθυσμούς ιδιαίτερα στην υψηλότερη δόση η μείωση δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική κυρίως λόγω της μεγάλης παραλακτικότητας. Για τα βακτηριοφάγα γένη στο γένος *Aphelenchus* και *Aphelenhoides* η προσθήκη χαλκού μείωσε σημαντικά τους πληθυσμούς στις δυο υψηλότερες δόσεις, οι οποίες διέφεραν μεταξύ τους στο γένος *Aphelenchoides*. Τέλος στο γένος *Tylenchus* το οποίο οι τροφικές του απαιτήσεις δεν είναι πλήρως εξακριβωμένες, δηλαδή αν είναι μυκητοφάγο ή/και φυτοпараσιτικό (Yeates *et al.*, 1993), η προσθήκη χαλκού μείωσε σημαντικά τους πληθυσμούς μόνο στην υψηλότερη δόση.

Η αρνητική επίδραση του χαλκού στους πληθυσμούς των φυτοпараσιτικών, βακτηριοφάγων και παμφάγων νηματώδων εμφανίζεται από την δόση των 500mg/Kg ενώ οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων επηρεάστηκαν μόνο στην δόση των 1000mg/Kg. Όσον αφορά τα γένη οι αρνητικές επιπτώσεις του χαλκού στο γένος *Tylenchorhynchus* εμφανίσθηκαν από την δόση των 100mg/Kg, στα γένη *Helicotylenchus*, *Acrobeloides*, *Aphelenchus* και *Aphelenhoides* εμφανίζονται από την δόση των 500mg/Kg ενώ στο γένος *Tylenchus* μόνο στην υψηλότερη δόση των 1000mg/Kg ενώ τα γένη *Mesorhabditis*, *Tylenchorhynchus* και *Pratylenchus* δεν βρέθηκαν ευαίσθητα στις δόσεις του χαλκού που δοκιμάσθηκαν. Η ευαισθησία των νηματώδων δεν είναι ίδια ανάμεσα στα διάφορα γένη. Η αρνητική επίδραση του χαλκού στους νηματώδεις έχει βρεθεί από αρκετές μελέτες, αν και υπάρχουν διαφορές για την συγκέντρωση πάνω από την οποία εμφανίζονται αρνητικές επιδράσεις στην νηματωδοκοινότητα. Από αρκετές μελέτες φαίνεται ότι η προσθήκη χαλκού ακόμα και από τα 100mg/Kg φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά κάποιους νηματώδεις (Korthals *et al.* 1996a, Kammenga *et al.* 1994, Parmelee *et al.* 1993, Sanchez-Moreno & Navas 2007), αν και για κάποια αρπακτικά είδη έχουν αναφερθεί αντικρουόμενα αποτελέσματα (Yeates *et al.* 1994). Οι Parmelee *et al.* 1993 βρήκαν ότι οι αρπακτικοί και παμφάγοι νηματώδεις ήταν πιο ευαίσθητοι στην προσθήκη χαλκού από

άλλες ομάδες καθώς μειώνονταν από την δόση των 100mg/L εδάφους ενώ οι συνολικοί πληθυσμοί των νηματωδών μειώνονταν από την δόση των 200mg/L εδάφους. Αντίθετα οι Bogomolov *et al.* (1996) βρήκαν ότι η αφθονία των νηματωδών επηρεάστηκε από επίπεδα χαλκού των 800mg/Kg και πάνω. Οι τιμές αυτές που επηρεάζονται οι πληθυσμοί είναι αρκετά μεγαλύτερες από αυτές που έχουν ευρεθεί σε εργαστηριακές δοκιμές τοξικότητας. Για παράδειγμα οι Sanchez-Moreno *et al.* (2006) αναφέρουν ότι ο χαλκός σε εργαστηριακή βιοδοκιμή (έκθεση σε νερό ρυπασμένο με χαλκό με διάρκεια έκθεσης 2-7 ημέρες) βρέθηκε να είναι ιδιαίτερα τοξικός για τον βακτηριοφάγο νηματώδη *Cephalobus persegnis* και τον μυκητοφάγο *Aphelenchus avenae* με τιμές  $LC_{50}$  1.4-0.44mg/L και 0.96-0.40mg/L αντίστοιχα. Οι τιμές  $LC_{50}$  που λήφθηκαν από αυτές τις βιοδοκιμές είναι αρκετά μικρότερες από τις δόσεις στο έδαφος που βρέθηκαν να μειώνουν τους πληθυσμούς των νηματωδών τόσο στην παρούσα όσο και σε άλλες μελέτες, με αποτέλεσμα οι εργαστηριακές βιοδοκιμές να ελέγχονται για θέματα δυνατότητας γενίκευσης των συμπερασμάτων τους στην φύση.

Η προσθήκη καδμίου μείωσε τους πληθυσμούς των φυτοпараσιτικών, βακτηριοφάγων και παμφάγων νηματωδών μόνο στις δόσεις των 100 και 200mg/Kg, ενώ οι μυκητοφάγοι βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι από τον μάρτυρα στην δόση των 100mg/Kg. Στο γένος *Helicotylenchus* που ήταν το πολυπληθέστερο των φυτοпараσιτικών νηματωδών, οι πληθυσμοί μειώνονταν με την δόση χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ διαδοχικών δόσεων ενώ στα γένη *Tylenchorhynchus* και *Pratylenchus* οι πληθυσμοί δεν επηρεάστηκαν από την προσθήκη καδμίου. Οι πληθυσμοί στο γένος *Acrobeloides* που ήταν με διαφορά το πολυπληθέστερο των βακτηριοφάγων νηματωδών στις δυο υψηλότερες δόσεις βρέθηκαν χαμηλότεροι από τον μάρτυρα, ενώ στο γένος *Mesorhabditis* οι πληθυσμοί δεν επηρεάστηκαν ούτε από την προσθήκη καδμίου. Για τα βακτηριοφάγα γένη στο *Aphelenchoides* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 20mg/Kg και χαμηλότεροι στις δόσεις των 100mg/Kg και 200mg/Kg ενώ ο μάρτυρας δεν διέφερε σημαντικά από καμία από τις δόσεις του καδμίου, ενώ στα γένη *Aphelenchus* και *Tylenchus* οι πληθυσμοί δεν επηρεάστηκαν από το κάδμιο. Το κάδμιο μείωσε τους πληθυσμούς των φυτοпараσιτικών, βακτηριοφάγων και των παμφάγων νηματωδών μόνο στις δόσεις των 100 και 200mg/Kg, ενώ οι μυκητοφάγοι βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι από τον μάρτυρα στην δόση των 100mg/Kg. Για το κάδμιο στα γένη *Helicotylenchus* και *Acrobeloides* οι πληθυσμοί μειώθηκαν στις δόσεις των 100 και 200mg/Kg, ενώ για τα γένη *Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Tylenchus*, *Aphelenchus*, *Aphelenchoides* και *Mesorhabditis* οι πληθυσμοί τους δεν μειώθηκαν με την προσθήκη καδμίου στις δοκιμασθείσες δόσεις. Στις δόσεις αυτές η νηματωδοκοινότητα βρέθηκε πιο ανθεκτική από τον χαλκό. Οι Korthals *et al.* 1996a βρήκαν ότι η προσθήκη καδμίου έως την δόση των 160mg/Kg δεν είχε άμεση επίδραση στους νηματώδεις. Η ανθεκτικότητα των νηματωδών στο κάδμιο έχει βρεθεί και από άλλες μελέτες (Haight *et al.* 1982;



Kammenga et al. 1994). Εκτός των προαναφερθέντων, αρκετές άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η ρύπανση με βαρέα μέταλλα μειώνει την αφθονία των νηματωδών (για παράδειγμα Dechang et al. 2009, Georgieva et al. 2002, Nagy et al. 2004). Η ευαισθησία των νηματωδών στα χαλκό και στο κάδμιο ποικίλλει και δεν ταυτίζεται με την κατάταξή του στην κλίμακα έμμονων αποικιστικών, ούτε στην τροφική/λειτουργική ομάδα που ανήκουν, όπως φάνηκε στην παρούσα μελέτη, κάτι το οποίο έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (Korthals et al. 1994).

Η προσθήκη χαλκού μείωσε τιμή των δεικτών ωριμότητας MI και ΣMI στις δυο υψηλότερες δόσεις, ενώ του δείκτη ΣMI<sub>2-5</sub> μόνο στην υψηλότερη δόση, ενώ ο δείκτης PPI δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη χαλκού. Η προσθήκη καδμίου τιμή των δεικτών ΣMI, ΣMI<sub>2-5</sub> μειώθηκε μόνο στην υψηλότερη δόση, ενώ ο δείκτης MI αν και η τιμή του μειώθηκε με την προσθήκη χαλκού στην δόση των 200mg/Kg, η μείωση αυτή δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική. Ακόμα ο δείκτης PPI στην δόση των 20mg/Kg ήταν σημαντικά υψηλότερος από αυτήν των 200mg/Kg. Η ρύπανση με βαρέα μέταλλα έχει βρεθεί και από άλλες μελέτες να μειώνει τον δείκτη ωριμότητας καθώς και τους τροποποιημένους δείκτες ωριμότητας οι οποίοι είναι ευαίσθητοι στην ρύπανση με βαρέα μέταλλα αντανακλώντας κατά κάποιον τρόπο τον βαθμό διαταραχής της νηματωδοκοινοότητας (Georgieva et al. 2002, Liang et al. 2006, Shukurov et al. 2006, Sanchez-Moreno & Navas 2007, Pen-Muratov et al. 2008). Αντίθετα ο Nagy (1999) δεν βρήκε αρνητική επίδραση του μολύβδου και του ψευδαργύρου στο δείκτη MI σε δόσεις έως 270mg/Kg. Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις και κατά συνέπεια ο δείκτης PPI φαίνεται να επηρεάστηκαν λιγότερο από την προσθήκη των μετάλλων, παρόλα αυτά η ενσωμάτωση των φυτοπαρασιτικών νηματωδών δεν φαίνεται να μειώνει ιδιαίτερα την ευαισθησία των δεικτών ωριμότητας στην παρούσα μελέτη, κάτι το οποίο έχει βρεθεί από τους Sanchez-Moreno & Navas (2007).

Οι δείκτες οδού αποσύνθεσης CI, θεμελιώδους κατάστασης BI και εμπλουτισμού EI δεν επηρεάστηκαν από την προσθήκη χαλκού ούτε καδμίου. Η έλλειψη ευαισθησίας των δεικτών αυτών πιθανότατα οφείλεται στο ότι οι εδαφικές διεργασίες που σχετίζονται με αυτούς του δείκτες δεν επηρεάζονται ιδιαίτερα από τα βαρέα μέταλλα. Αυτό είναι σε συμφωνία με την μελέτη των Sanchez-Moreno & Navas (2007) οι οποίοι επίσης αναφέρουν ότι οι δείκτες EI, CI και BI δεν έδειξαν ιδιαίτερη ευαισθησία τα βαρέα μέταλλα. Ο δείκτης δομής (SI) φαίνεται να μειώνεται από την προσθήκη χαλκού, αν και αυτή μείωση δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική, ενώ ο δείκτης αυτός μειώθηκε στην ανώτερη δόση του καδμίου, και πάντως βρέθηκε λιγότερο ευαίσθητος, τουλάχιστον στον χαλκό, από ότι οι δείκτες ωριμότητας της νηματωδοκοινοότητας. Αντίθετα οι Sanchez-Moreno & Navas (2007) θεωρούν τον δείκτη SI ευαίσθητο για την μελέτη της επίδρασης των βαρέων μετάλλων στους νηματώδεις. Η μειωμένη ευαισθησία στην παρούσα μελέτη πιθανόν να οφείλεται στο ότι η δομή της νηματωδοκοινοότητας στο χώμα που

χρησιμοποιήθηκε ήταν μάλλον υποτυπώδης, και δεν υπήρχαν πολλά περιθώρια περαιτέρω μείωσης της.

Με βάση την γραφική ανάλυση της νηματωδοκοινότητας τα σημεία και για τον χαλκό και για το κάδμιο βρίσκονταν κυρίως στο τεταρτημόριο Δ που δείχνει κοινότητα μειωμένης δομής και μειωμένων πόρων. Παρ' όλα αυτά στον χαλκό οι 3 δόσεις και ο μάρτυρας είναι σε εμφανώς διαφορετικές περιοχές του διαγράμματος, διαχωρίζοντας τις επεμβάσεις αυτές. Επίσης για το κάδμιο τα σημεία της δόσης των 200mg/Kg είναι σε διαφορετική περιοχή από τα σημεία των υπόλοιπων δόσεων. Η γραφική ανάλυση της νηματωδοκοινότητας στην παρούσα μελέτη έδωσε πιο πολλές πληροφορίες για την κατάσταση του εδάφους, και διαχώρισε καλύτερα τις επεμβάσεις, από ότι με την χρήση των δεικτών SI και EI από μόνων τους, όπως έχει βρεθεί και από άλλες μελέτες (Ferris *et al.* 2001, Sanchez-Moreno & Navas 2007, Shao *et al.* 2008).

Η προσθήκη χαλκού αύξησε την τιμή των δεικτών ποικιλότητας του Shannon (H') και πλούτου του Margalef (R1) στην δόση των 500mg/Kg ενώ μείωσε την τιμή του δείκτη κυριαρχίας του Simpson (λ) στην δόση των 1000mg/Kg και αύξησε την τιμή του δείκτη ισομέρειας του Hill (E5) στην δόση των 1000mg/Kg. Η προσθήκη καδμίου δεν επηρέασε τους δείκτες H, λ και E5 και R1. Γενικά οι οικολογικοί δείκτες δεν βρέθηκαν ιδιαίτερα ευαίσθητοι στην τεχνητή ρύπανση με βαρέα μέταλλα στην παρούσα μελέτη, και αυτό σχετίζεται με το ότι ενώ παρατηρήθηκε μείωση των πληθυσμών, δεν παρατηρήθηκε ανάλογη μείωση ή εξαφάνιση των γενών στα δείγματα, με αποτέλεσμα σε κάποιες περιπτώσεις να έχουμε αύξηση των δεικτών αυτών με την προσθήκη μετάλλου. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τους Pen-Muratov *et al.* 2008 οι οποίοι επίσης δεν βρήκαν τους δείκτες αφθονίας του Margalef, ποικιλότητας του Shannon (H') και κυριαρχίας του Simpson να αντανakλούν την συγκέντρωση των μετάλλων. Αντίθετα οι Shao *et al.* 2008 βρήκαν ότι η ρύπανση με μόλυβδο μειώνει τον δείκτη ποικιλότητας του Shannon, και οι Sanchez-Moreno & Navas (2007) βρήκαν τον δείκτη αφθονίας του Margalef καθώς και τον δείκτη ποικιλότητας του Shannon (H') να είναι ευαίσθητοι τα βαρέα μέταλλα.

Σαν γενικό συμπέρασμα αρκετές από τις βιολογικές παραμέτρους που εκτιμήθηκαν βρέθηκαν να επηρεάζονται από τα βαρέα μέταλλα, όπως η βασική και η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή, οι πληθυσμοί των μικροαρθροπόδων, καθώς και οι πληθυσμοί και διάφοροι δείκτες των νηματωδών. Δεν επηρεάστηκαν όλοι οι οργανισμοί το ίδιο, ούτε όλες οι βιολογικές παράμετροι του εδαφικού οικοσυστήματος που μελετήθηκαν δεν παρουσίασαν την ίδια ευαισθησία στον χαλκό και στο κάδμιο. Μετρώντας την επίδραση της ρύπανσης σε πολλά τροφικά επίπεδα και οργανισμούς ταυτόχρονα, σε πρότυπα οικοσυστήματα, παίρνουμε περισσότερες πληροφορίες σε σχέση με την μελέτη ενός μόνο τροφικού επιπέδου ή ενός οργανισμού μόνο, επιτρέποντας την πιο αξιόπιστη γενίκευση των αποτελεσμάτων.

### **II.3. Επιπτώσεις της χρόνιας βιομηχανικής ρύπανσης στην περιοχή του Θριασίου Πεδίου, στην μικροπανίδα του εδάφους (ακάρεα, κολέμβολα, νηματώδεις), καθώς και στην μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους**

#### **II.3.1. Εισαγωγή**

Σε περιοχές έντονης βιομηχανικής δραστηριότητας, παρατηρούνται έντονα φαινόμενα ρύπανσης και κατά συνέπεια περιβαλλοντικής υποβάθμισης. Μια από τις πιο περιβαλλοντικά επιβαρυνόμενες περιοχές της Ελλάδας λόγω της έντονης βιομηχανικής δραστηριότητας, είναι το Θριάσιο Πεδίο στην νομαρχία της Δυτικής Αττικής.

Η περιοχή του Θριασίου Πεδίου περιλαμβάνει τους Καποδιστριακούς δήμους Ασπροπύργου, Ελευσίνας, Μαγούλας και Μάνδρας του Νομού Αττικής. Η περιοχή αυτή είναι η μεγαλύτερη βιομηχανική ζώνη Ελλάδας, έχοντας συγκεντρώσει περίπου το 40% της βιομηχανικής δραστηριότητας της χώρας. Στο Θριάσιο Πεδίο λειτουργούν μερικές από τις μεγαλύτερες βιομηχανίες της χώρας, όπως για παράδειγμα 2 διυλιστήρια πετρελαίου (ΕΛΔΑ, ΠΕΤΡΟΛΑ), 2 χαλυβουργεία (ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΧΑΛΥΒΟΥΡΓΙΑ, ΧΑΛΥΒΟΥΡΓΙΚΗ), 2 τσιμεντοβιομηχανίες (ΤΙΤΑΝ, ΧΑΛΥΨ) και 1 βιομηχανία πυρομαχικών (ΠΥΡΚΑΛ). Επιπλέον υπάρχουν εγκαταστάσεις αποθήκευσης και διακίνησης προϊόντων πετρελαίου, 3 μονάδες αναγέννησης ορυκτελαίων, μία χαρτοβιομηχανία, πολλές χημικές βιομηχανίες, βιομηχανίες και βιοτεχνίες πλαστικών-ελαστικών, λατομεία καθώς και άλλες πολλές μικρότερες μονάδες. Η περιοχή αυτή είναι γνωστό ότι αντιμετωπίζει έντονα προβλήματα ρύπανσης του περιβάλλοντος λόγω της συγκέντρωσης στην περιοχή αυτή βιομηχανιών καθώς και άλλων δραστηριοτήτων που προκαλούν ρύπανση (WWF Ελλάς 2008, Mantrakis *et al.* 2004, 2008). Οι βιομηχανίες της περιοχής έχουν ρυπάνει το έδαφος και την ατμόσφαιρα με βαρέα μέταλλα με αποτέλεσμα αυτό να παρουσιάζονται συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων μεγαλύτερες από αυτές που παρατηρούνται σε μη ρυπασμένες περιοχές (WWF Ελλάς 2008).

Η κινητοποίηση των μετάλλων στην βιόσφαιρα λόγω ανθρωπογενών δραστηριοτήτων, αποτελεί στον σύγχρονο κόσμο μια σημαντική παράμετρο στον βιο-γεωχημικό κύκλο των στοιχείων αυτών (Nriagu & Pacyna, 1988). Αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανές σε βιομηχανικές ή αστικές περιοχές όπου στάσιμες και κινητές πηγές αυτών των στοιχείων (βιομηχανική δραστηριότητα, εξατμίσεις αυτοκινήτων) απελευθερώνουν σημαντικές ποσότητες μετάλλων στην ατμόσφαιρα, στο έδαφος και τα υδάτινα οικοσυστήματα, οι οποίες πολύ συχνά υπερβαίνουν τους ρυθμούς απελευθέρωσης λόγω φυσικών διαδικασιών (Bilos *et al.* 2001).

Οι οργανισμοί του εδάφους είναι σημαντικοί για την σωστή λειτουργία του. Οι νηματώδεις είναι σημαντικοί παράγοντες του εδαφικού οικοσυστήματος και αρκετοί ερευνητές έχουν προτείνει και χρησιμοποιήσει τους νηματώδεις για τον έλεγχο της

ποιότητας του εδάφους (για παράδειγμα Bongers 1990, Yeates *et al.* 1993, Blair *et al.* 1996, Bongers & Ferris 1999, Ferris *et al.* 2001, Neher 2001). Τα μικροαρθρόποδα επηρεάζουν σημαντικές εδαφικές λειτουργίες ενώ επηρεάζονται από την κατάσταση στην οποία βρίσκεται το έδαφος, και έτσι μπορούν να θεωρηθούν ως βιοδείκτες της υγείας του εδάφους (Seasted 1984, Arroyo & Iturrondobeitia 2006). Οι μικροοργανισμοί αποτελούν το μεγαλύτερο κλάσμα της ζώσας οργανικής ουσίας. Η μικροβιακή δραστηριότητα σχετίζεται με την αποσύνθεση της οργανικής ουσίας, την ανοργανοποίηση και την κινητικότητα των ξενοβιοτικών ουσιών, αποτελώντας έτσι μια σημαντική παράγραφο του βιογεωχημικού τους κύκλου (Schloten *et al.* 2003), και η ποσοτικοποίηση της είναι σημαντική για την κατανόηση και την εκτίμηση της εδαφικής λειτουργίας.

Στην παρούσα μελέτη, εξετάζονται οι επιπτώσεις της χρόνιας βιομηχανικής δραστηριότητας στο εδαφικό οικοσύστημα, στους νηματώδεις, τα μικροαρθρόποδα (ακάρεα και Collembola), καθώς και την μικροβιακή δραστηριότητα.

### II.3.2. Υλικά και μέθοδοι

Για την εκτίμηση της χρόνιας βιομηχανικής ρύπανσης διεξήχθησαν δειγματοληψίες εδάφους στην περιοχή του Θριασίου Πεδίου της Αττικής.

Συγκεκριμένα ελήφθησαν δείγματα, από δυο περιοχές. Η πρώτη περιοχή δειγματοληψίας (περιοχή Α), ευρίσκονταν σε λοφίσκο, πλησίον της λίμνης Κουμουνδούρου ύψους περίπου 60m, η οποία λόγω της θέσης της καθώς και της γειτνίασης της με βιομηχανικές μονάδες καθώς και με τον οδικό άξονα Αθηνών – Κορίνθου, αναμένετο να δέχεται σημαντικές ποσότητες ρύπων λόγω ατμοσφαιρικών εκπομπών (συντεταγμένες Β: 38° 01' 40", Ε: 23° 36' 39"). Η δεύτερη περιοχή βρίσκεται εντός της πεδιάδας του Θριασίου πεδίου, απομακρυσμένη όμως από την κύρια βιομηχανική δραστηριότητα, στους πρόποδες της οροσειράς του Πατέρα (συντεταγμένες Β: 38° 06' 55", Ε: 23° 35' 00"). Και οι δυο περιοχές χαρακτηρίζονται από τυπική μακία βλάστηση, με χαμηλούς θάμνους, χαρακτηριστική των μεσογειακών οικοσυστημάτων. Αεροφωτογραφία της περιοχής με τις δυο θέσεις δειγματοληψίας παρουσιάζεται στο Παράρτημα Β της παρούσας διατριβής.

Οι δειγματοληψίες έγιναν το έτος 2003. Συγκεκριμένα από τις δυο περιοχές ελήφθησαν δείγματα και τις 4 εποχές του χρόνου, την άνοιξη (26/3/03), το καλοκαίρι (26/6/03), το φθινόπωρο (2/10/03) και τον χειμώνα (21/12/03). Από κάθε περιοχή ελήφθησαν με δειγματολήπτη χώματος 10 δείγματα σε βάθος 0-15cm (βάρους περίπου 600gr). Τα δείγματα μεταφέρονταν στο εργαστήριο για την διεξαγωγή βιολογικών αναλύσεων.

Η μικροβιακή δραστηριότητα εκτιμήθηκε με την μέτρηση της βασικής αναπνοής (Basal Respiration). Η μικροβιακή βιομάζα εκτιμήθηκε με την μέθοδο της επαγόμενης δια υποστρώματος αναπνοής (Substrate Induced Respiration). Τα μικροαρθρόποδα

συλλέχθηκαν από το χώμα με την μέθοδο Berlese-Tullgren, καταμετρήθηκαν τα Collembola και τα ακάρεα τα οποία διαχωρίστηκαν σε επίπεδο τάξεως, με την βοήθεια στερεοσκοπίου. Οι νηματώδεις εξάχθηκαν από το χώμα με την μέθοδο των Whitehead & Hemming (1965), καταμετρήθηκαν, και έγιναν μικροσκοπικά παρασκευάσματα για περίπου 150 άτομα, τα οποία ταξινομήθηκαν σε επίπεδο γένους ή οικογένειας, με την βοήθεια μικροσκοπίου μεγέθυνσης 400X, ταξινομήθηκαν σε τροφικούς τύπους (Yeates *et al.* 1993) ενώ υπολογίστηκαν και οι ακόλουθοι δείκτες της νηματωδοκονιότητας: δείκτες ωριμότητας (MI, ΣMI, ΣMI<sub>2-5</sub>, PPI), θεμελιώδους κατάστασης (BI), οδού αποσύνθεσης (CI), εμπλουτισμού (EI) και δομής (SI). Ακόμα υπολογίστηκαν για τους νηματώδεις και οι οικολογικοί δείκτες αφθονίας του Margalef (R1), ποικιλότητας του Shannon (H'), κυριαρχίας του Simpson ( $\lambda$ ), και ισομέρειας του Hill (E5). Η ακριβής μεθοδολογία των βιολογικών αναλύσεων περιγράφεται στο παράρτημα Α.

Σε δείγματα εδάφους προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις των μετάλλων. Τα μέταλλα εξάχθηκαν από το χώμα με υγρή πέψη με 3 μέρη HCL 1 μέρος HNO<sub>3</sub> και 6 μέρη HF, σε φιαλίδια Teflon, σε θερμοκρασία 130°C για 3 ώρες. Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων μετρήθηκαν με φασματομετρία ατομικής απορρόφησης.

Τα πειραματικά δεδομένα αναλύθηκαν με την μέθοδο της διπαραγοντικής ανάλυσης της διασποράς (2-way ANOVA) για τους παράγοντες περιοχή και εποχή. Αν οι αναλύσεις έδειχναν σημαντική αλληλεπίδραση, τότε γίνονταν συγκρίσεις των απλών κύριων επιδράσεων του κάθε παράγοντα στα επίπεδα του άλλου παράγοντα, ενώ αντίθετα αν οι αναλύσεις έδειχναν μη σημαντική αλληλεπίδραση, ή εάν η αλληλεπίδραση ήταν μεν σημαντική αλλά είχε αρκετά μικρότερη αλληλεπίδραση στην συνολική παραλλακτικότητα από ότι η απλές κύριες επιδράσεις και μπορούσε να θεωρηθεί αμελητέα, γίνονταν συγκρίσεις μεταξύ των περιθωριακών μέσων. Οι συγκρίσεις των μέσων (περιθωριακών ή απλών κύριων επιδράσεων) έγιναν με την δοκιμασία του Tukey (Tukey HSD test) σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0.05$ . Τα αποτελέσματα καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων παρουσιάζονται στα διαγράμματα. Μέσοι που δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σημειώνονται με το ίδιο γράμμα. Με κεφαλαία γράμματα σημειώνονται οι συγκρίσεις των μέσων μεταξύ των δόσεων των μετάλλων (είτε αφορούν απλές κύριες επιδράσεις είτε περιφερειακούς μέσους), ενώ αντίστοιχα με μικρά γράμματα σημειώνονται οι συγκρίσεις μεταξύ των ημερομηνιών εκτίμησης. Στις συγκρίσεις των περιθωριακών μέσων έχουν χρησιμοποιηθεί γράμματα με κανονική γραφή ενώ στις συγκρίσεις των απλών κύριων επιδράσεων έχουν χρησιμοποιηθεί πλάγια γράμματα (*italics*).

### **II.3.3. Αποτελέσματα.**

#### **II.3.3.1. Χαρακτηριστικά εδαφών και συγκεντρώσεις μετάλλων**

Στον πίνακα ΙΙ.3.1. Φαίνονται τα χαρακτηριστικά των δυο εδαφών καθώς και οι συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων. Τα δυο εδάφη είναι ελαφρώς αλκαλικά, ενώ το έδαφος στην περιοχή Β έχει λίγο υψηλότερη οργανική ουσία. Και στις δυο περιοχές βρέθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων. Η περιοχή Α έχει αρκετά υψηλότερη συγκέντρωση σε μόλυβδο, ψευδάργυρο και κάδμιο, ενώ για τα άλλα μέταλλα που μετρήθηκαν, οι διαφορές δεν είναι τόσο έντονες.

**Πίνακας ΙΙ.3.1.** Χαρακτηριστικά του εδάφους και συγκεντρώσεις μετάλλων (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα του μέσου)

	Περιοχή Α	Περιοχή Β
Τύπος εδάφους	αργιλοπηλώδες	αργιλώδες
PH (1:2 H <sub>2</sub> O)	7.6	7.4
Οργανική ουσία (%)	5.3%	6.4%
Μόλυβδος (ppm)	468±17	192±22
Νικέλιο (ppm)	285±38	149±20
Χρώμιο (ppm)	268±34	328±14
Μαγκάνιο (ppm)	229±24	348±15
Σίδηρος (%)	3.53±0.2	3.67±0.1
Ψευδάργυρος (ppm)	187±12	66±2
Κάδμιο (ppm)	62±14	8±0.2

### ΙΙ.3.3.2. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή

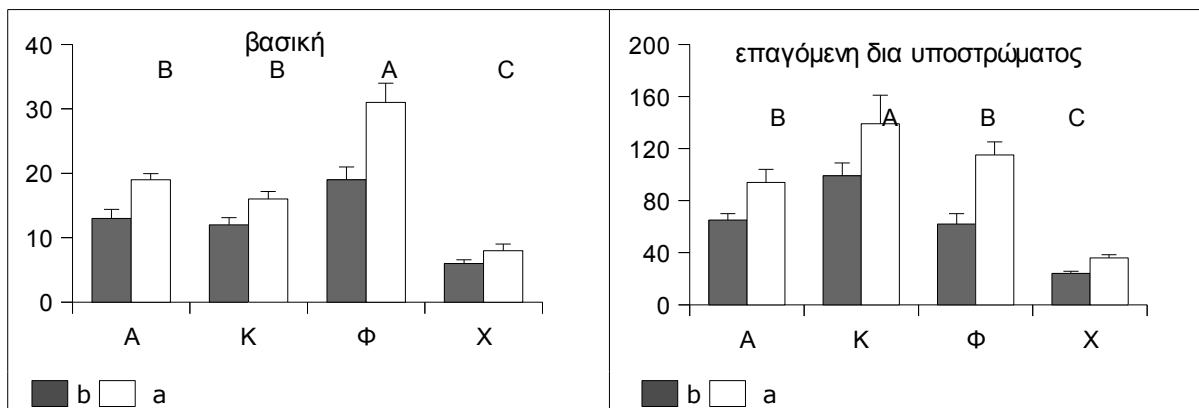
Η επίδραση της περιοχής δειγματοληψίας καθώς και της εποχής στην βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή παρουσιάζονται στον Πίνακα ΙΙ.3.2. Στο Διάγραμμα ΙΙ.3.1. δίνονται οι τιμές της βασικής και επαγόμενης δια υποστρώματος αναπνοής, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας ΙΙ.3.2.** Επίδραση της περιοχής, της εποχής καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στην βασική αναπνοή (BA) και στην επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή (EYA). (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	περιοχή (BE 1 & 72)		εποχή (BE 3 & 72)		περιοχήεποχή (BE 3 & 72)	
	F	p	F	p	F	p
BA	65,67	0,000	40,18	0,000	1,97	0,126
EYA	36,40	0,000	24,68	0,000	1,14	0,339

Τόσο η βασική μικροβιακή αναπνοή όσο και η επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή επηρεάστηκαν σημαντικά και από την περιοχή δειγματοληψίας και από την εποχή ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ εποχής και περιοχής. Και η βασική και η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή ήταν υψηλότερες στην περιοχή Β και αυτό παρατηρήθηκε όλες τις εποχές του χρόνου. Η βασική αναπνοή

βρέθηκε υψηλότερη το φθινόπωρο και χαμηλότερη τον χειμώνα ενώ ενδιαμέσες τιμές πήρε την άνοιξη και το καλοκαίρι. Η επαγόμενη δια υποστρώματος βρέθηκε υψηλότερη το καλοκαίρι και χαμηλότερη τον χειμώνα ενώ ενδιαμέσες τιμές πήρε την άνοιξη και το φθινόπωρο.



**Διάγραμμα II.3.1.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) βασικής μικροβιακής αναπνοής και της επαγόμενης δια υποστρώματος μικροβιακής αναπνοής (σε mg CO<sub>2</sub> / χγρ χώματος / ώρα) στις 4 εποχές [(άνοιξη (A), καλοκαίρι (K), φθινόπωρο (Φ) και χειμώνας (X)] της στις 2 δυο περιοχές (περιοχή A ■ και περιοχή B □).

### II.3.3.3. Μικροαρθρόποδα

Η επίδραση της περιοχής δειγματοληψίας καθώς και της εποχής στους πληθυσμούς των μικροαρθρόποδων παρουσιάζονται στον Πίνακα II.3.3. Στο Διάγραμμα II.3.2. δίνονται οι πληθυσμοί των μικροαρθροπόδων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

Οι πληθυσμοί των Collembola και των Oribatida επηρεάστηκαν και από την περιοχή και από τη εποχή δειγματοληψίας, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση. Και στις δυο αυτές τάξεις στην περιοχή A βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί από ότι στην περιοχή B. Στα Collembola υψηλότεροι πληθυσμοί παρατηρήθηκαν την άνοιξη και τον χειμώνα και χαμηλότεροι το καλοκαίρι και το φθινόπωρο. Στα Oribatida υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν την άνοιξη και το φθινόπωρο και χαμηλότεροι το καλοκαίρι.

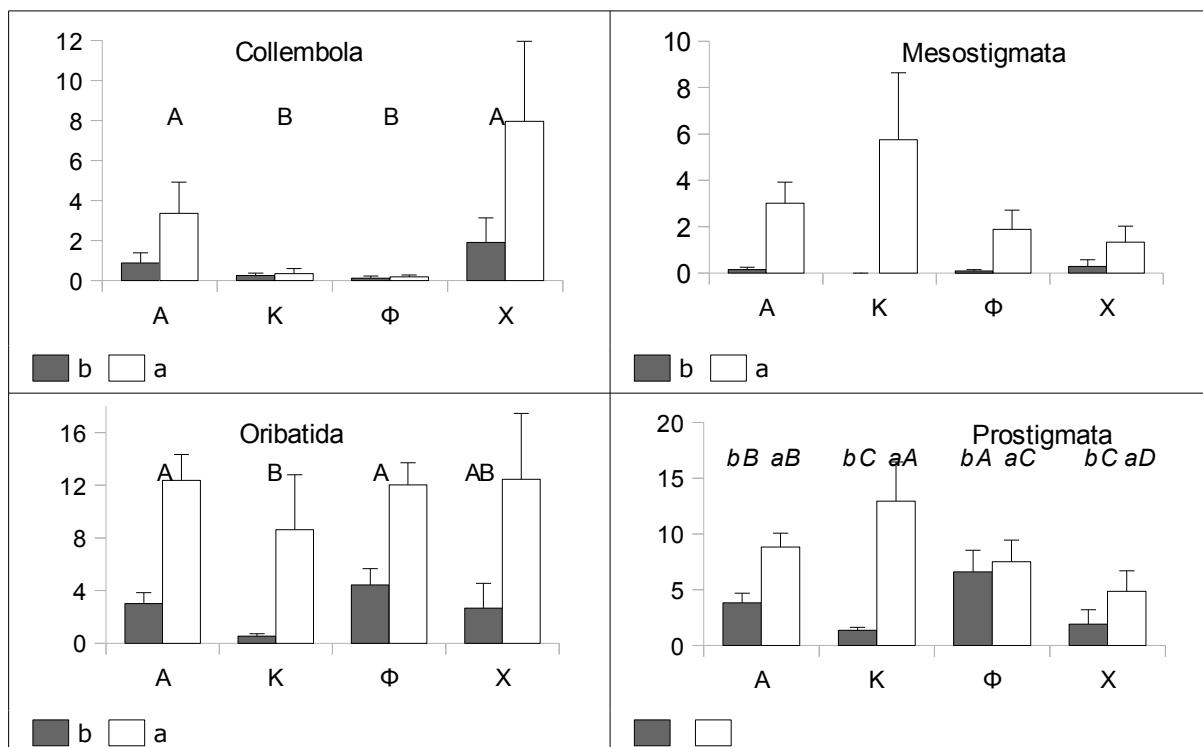
**Πίνακας II.3.3.** Επίδραση της περιοχής, της εποχής καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των των Collembola καθώς και των τάξεων των ακάρεων (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	εποχή (BE 3 & 72)		περιοχή (BE 1 & 72)		περιοχήεποχή (BE 3 & 72)	
	F	p	F	p	F	p
Collembola	8,85	0,000	6,96	0,010	2,04	0,116
Mesostigmata	1,42	0,243	39,45	0,000	2,14	0,103
Oribatida	6,25	0,001	52,41	0,000	0,14	0,933
Prostigmata	5,62	0,002	29,84	0,000	2,98	0,037

Στα Prostigmata σε όλες τις εποχές βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί στην περιοχή B.

Για την επίδραση της εποχής δειγματοληψίας στην περιοχή A βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί το φθινόπωρο και χαμηλότεροι το καλοκαίρι και τον χειμώνα, ενώ στην περιοχή B υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν το καλοκαίρι ακολουθούμενοι κατά φθίνουσα σειρά από την άνοιξη, το φθινόπωρο και τον χειμώνα.

Οι πληθυσμοί των Mesostigmata επηρεάστηκαν μόνο από την περιοχή, καθώς και εδώ υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην περιοχή B, ενώ στην περιοχή A οι πληθυσμοί ήταν ιδιαίτερα χαμηλοί, σχεδόν μηδενικοί.



**Διάγραμμα II.3.2.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά 100 γρ χώματος), των Collembola καθώς και των 3 τάξεων των ακαρέων (Mesostigmata, Oribatida, Prostigmata) στις 4 εποχές [(άνοιξη (A), καλοκαίρι (K), φθινόπωρο (Φ) και χειμώνας (X)] της στις 2 δυο περιοχές (περιοχή A ■ και περιοχή B □).

### II.3.3.4. Νηματώδεις

#### II.3.3.4.1. Τάξεις – οικογένειες - γένη

Τα γένη/οικογένειες που βρέθηκαν στην περιοχή A παρουσιάζονται στον Πίνακα II.3.4. ενώ αυτά της περιοχής B στον Πίνακα II.3.5.

Η ποιοτική σύνθεση της νηματωδοκοινότητας δεν διέφερε πολύ μεταξύ των δυο περιοχών δειγματοληψίας. Οι πλείστοι των νηματωδών άνηκαν στην τάξη των Tylenchida, ακολουθούμενοι από τις τάξεις των Rhabditida και Dorylaimida ενώ αρκετά μικρότεροι πληθυσμοί ήταν της τάξης των Araeolaimida. Σποραδικά και σε μικρούς πληθυσμούς σε κάποια δείγματα βρέθηκαν και πληθυσμοί των άλλων τάξεων. Στην τάξη των Tylenchida



τα κυριότερα γένη ήταν τα *Aphelenchus*, *Aphlenchoides*, *Tylenchus*, *Ditylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Helicotylenchus* και *Pratylenchus*. Στην τάξη των Rhabditida η πλειονότητα των νηματωδών (πάνω από 90%) άνηκε στην οικογένεια Cephalobidae και στα γένη *Acrobeloides* και *Acrobeles*. Στην τάξη των Dorylaimida τα κυριώτερα γένη ήταν τα *Eudorylaimus*, *Pungentus*, *Enchodelus* και *Aporcelaimus*. Τέλος στην τάξη των Araiolaimida τα κυριότερα γένη ήταν τα *Plectus*, *Teratocephalus* και *Wilsonema*. Οι πληθυσμοί των κυριότερων τάξεων και γενών παρουσιάζονται και αναλύονται παρακάτω.

**Πίνακας II.3.4.** Οικογένειες/γένη που ευρέθησαν στα δείγματα της περιοχής Α. Μέσα σε παρένθεση το τροφικό επίπεδο στο οποίο ανήκει (ΦΠ: φυτοпараσιτικοί, ΒΦ: βακτηριοφάγοι, ΜΦ: μυκητοφάγοι και ΠΦ: παμφάγοι και Α: αρπακτικοί), σύμφωνα με Yeates *et al.* (1993), και η τιμή τους σύμφωνα με την κλίμακα 1-5 (αποικιστικός – έμμονος).

<b>Dorylaimida</b>	<b>Tylenchida</b>	<b>Rhabditida</b>
Aporcelaimidae	Anguinidae	Cephalobidae
<i>Aporcelaimus</i> (ΑΡ-ΠΦ/5)	<i>Ditylenchus</i> (ΜΦ-ΦΠ/2)	<i>Acrobeles</i> (ΒΦ/2)
Alaimidae	Belonolaimidae	<i>Acrobeloides</i> (ΒΦ/2)
<i>Alaimus</i> (ΒΦ/4)	<i>Tylenchorhynchus</i> ΦΠ/2)	<i>Cephalobus</i> (ΒΦ/2)
Leptonchidae (ΜΦ/4)	Criconematidae	<i>Eucephalobus</i> (ΒΦ/2)
Nygolaimidae	<i>Macroposthonia</i> (ΦΠ/3)	Panagrolaimidae
<i>Nygolaimus</i> (ΑΡ/5)	Hoplolaimidae	<i>Panagrolaimus</i> (ΒΦ/1)
Qudsianematidae	<i>Helicotylenchus</i> (ΦΠ/3)	Rhabditidae
<i>Eudorylaimus</i> (ΠΦ/4)	Pratylenchidae	<i>Mesorhabditis</i> (ΒΦ/1)
<i>Discolaimus</i> (ΑΡ/4)	<i>Pratylenchus</i> (ΦΠ/3)	<b>Araeolaimida</b>
Nordiidae	<i>Pratylenchoides</i> (ΦΠ/3)	Plectidae
<i>Enchodelus</i> (ΠΦ/4)	Tylenchidae	<i>Plectus</i> (ΒΦ/2)
<i>Pungentus</i> (ΠΦ/4)	<i>Psilenchus</i> (ΦΠ-ΜΦ/2)	<i>Wilsonema</i> (ΒΦ/2)
Leptonchidae	<i>Tylenchus</i> (ΦΠ-ΜΦ/2)	Teratocephalidae
<i>Tylencholaimellus</i> (ΜΦ/4)	<i>Tetylenchus</i> (ΦΠ/2)	<i>Teratocephalus</i>
		(ΒΦ/3)
<b>Monhysterida</b>	Aphelenchidae	<b>Mononchida</b>
Monhysteridae	<i>Aphelenchus</i> (ΜΦ/2)	Mononchidae
<i>Monhystera</i> (ΒΦ/2)	<i>Seinura</i> (ΑΡ/2)	<i>Mononchus</i> (ΑΡ/4)
	Aphelenchoididae	
<b>Chromadorida</b>	<i>Aphelenchoides</i> (ΜΦ/2)	
Chromadoridae (ΒΦ/3)		

**Πίνακας II.3.5.** Οικογένειες/γένη που ευρέθησαν στα δείγματα της περιοχής Β. Μέσα σε παρένθεση το τροφικό επίπεδο στο οποίο ανήκει (ΦΠ: φυτοпараσιτικοί, ΒΦ: βακτηριοφάγοι, ΜΦ: μυκητοφάγοι και ΠΦ: παμφάγοι και ΑΡ: αρπακτικοί), σύμφωνα με Yeates *et al.* (1993), και η τιμή τους σύμφωνα με την κλίμακα 1-5 (αποικιστικός – έμμονος).

<b>Dorylaimida</b>	<b>Tylenchida</b>	<b>Rhabditida</b>
Aporcelaimidae	Anguinidae	Cephalobidae
<i>Aporcelaimus</i> (ΑΡ-ΠΦ/5)	<i>Ditylenchus</i> (ΜΦ-ΦΠ/2)	<i>Acrobeloides</i> (ΒΦ/2)
Alaimidae	Belonolaimidae	<i>Acrobeles</i> (ΒΦ/2)
<i>Alaimus</i> (ΒΦ/4)	<i>Tylenchorhynchus</i> (ΦΠ/2)	<i>Cephalobus</i> (ΒΦ/2)
Qudsianematidae (ΠΦ/4)	Hoplolaimidae	<i>Eucephalobus</i> (ΒΦ/2)
Belonidiridae (ΦΠ-ΜΦ/5)	<i>Helicotylenchus</i> (ΦΠ/3)	Cylindrocorpidae
Qudsianematidae	Pratylenchidae	<i>Cylindrocorpus</i> (ΒΦ/2)

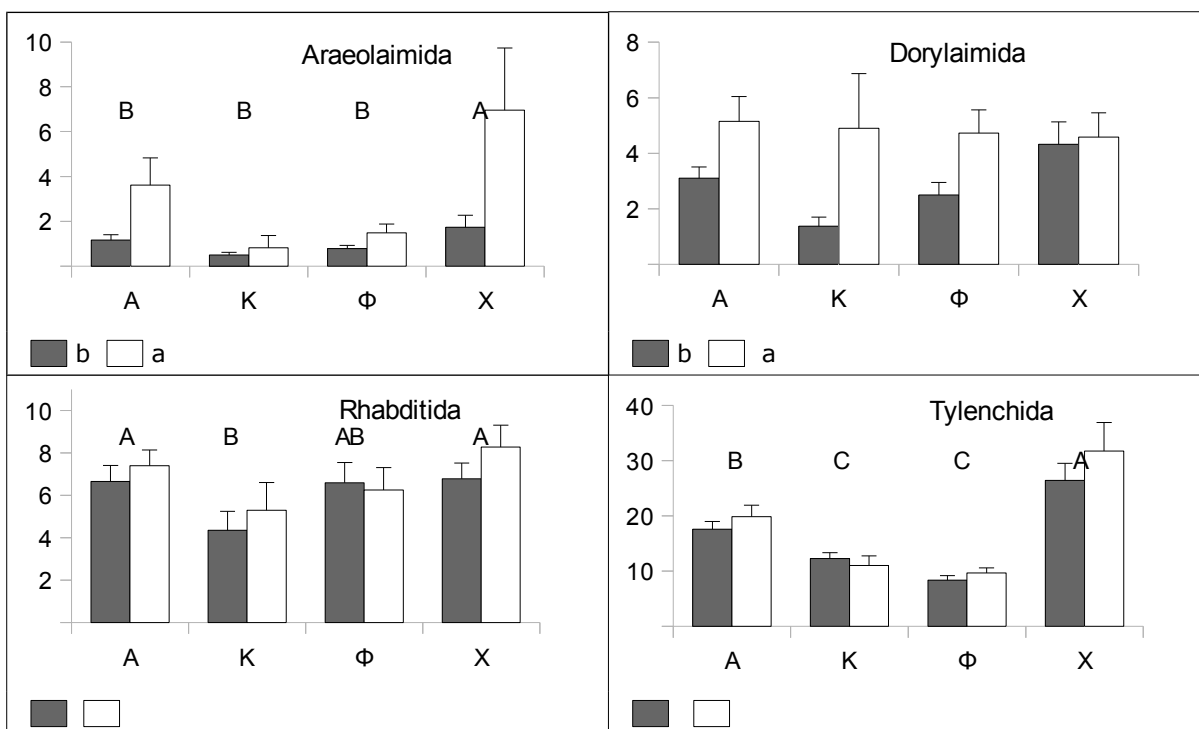
<i>Eudorylaimus</i> (ΠΦ/4)	<i>Pratylenchus</i> (ΦΠ/3)	Panagrolaimidae
<i>Discolaimus</i> (ΑΡ/4)	<i>Pratylenchoides</i> (ΦΠ/3)	<i>Panagrolaimus</i> (ΒΦ/1)
Nordiidae	Tylenchidae	Rhabditidae
<i>Enchodelus</i> (ΠΦ/4)	<i>Psilenchus</i> (ΦΠ-ΜΦ/2)	<i>Mesorhabditis</i> (ΒΦ/1)
<i>Pungentus</i> (ΠΦ/4)	<i>Tylenchus</i> (ΦΠ-ΜΦ/2)	
Leptonchidae	<i>Tetylenchus</i> (ΦΠ/2)	<b>Araeolaimida</b>
<i>Tylencholaimellus</i> (ΜΦ/4)	Aphelenchidae	Plectidae
Actinolaimidae	<i>Aphelenchus</i> (ΜΦ/2)	<i>Plectus</i> (ΒΦ/2)
<i>Actinolaimus</i> (ΑΡ-ΠΦ/5)	Aphelenchoididae	<i>Wilsonema</i> (ΒΦ/2)
	<i>Aphelenchoides</i> (ΜΦ/2)	Teratocephalidae
<b>Enoplida</b>		<i>Teratocephalus</i> (ΒΦ/3)
Tripyliidae	<b>Mononchida</b>	Leptolaimidae
<i>Tripyla</i> (ΑΡ/3)	Mononchidae	<i>Chronogaster</i> (ΒΦ/3)
	<i>Mononchus</i> (ΑΡ/4)	
<b>Chromadorida</b>		<b>Monhysterida</b>
Chromadoridae (ΒΦ/3)		Monhysteridae
		<i>Monhystera</i> (ΒΦ/2)

Η επίδραση της περιοχής δειγματοληψίας καθώς και της εποχής στους πληθυσμούς των κυριότερων τάξεων των νηματωδών παρουσιάζονται στον Πίνακα II.3.6. Στο Διάγραμμα II.3.3. δίνονται οι πληθυσμοί των κυριότερων τάξεων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας II.3.6.** Επίδραση της περιοχής, της εποχής και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των κυριότερων τάξεων των νηματωδών (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	εποχή (BE 3 & 72)		περιοχή (BE 3 & 72)		εποχήxπεριοχή (BE 3 & 72)	
	F	p	F	p	F	p
Araeolaimida	4,36	0,007	7,56	0,008	2	0,122
Dorylaimida	0,73	0,538	8,91	0,004	0,98	0,405
Rhabditida	3,03	0,035	1,13	0,291	0,33	0,803
Tylenchida	42,06	0,000	0,47	0,494	0,92	0,434

Οι πληθυσμοί της τάξης των Araeolaimida επηρεάστηκαν και από την περιοχή και από την εποχή ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ περιοχής και εποχής. Τον χειμώνα βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί σε σχέση με τις άλλες εποχές, ενώ στην περιοχή Β οι πληθυσμοί ήταν υψηλότεροι από την περιοχή Α. Οι πληθυσμοί της τάξης των Dorylaimida επηρεάστηκαν μόνο από την περιοχή καθώς στην περιοχή Β οι πληθυσμοί ήταν υψηλότεροι από την περιοχή Α. Τέλος οι πληθυσμοί στις τάξεις των Tylenchida και Rhabditida επηρεάστηκαν μόνο από την εποχή. Στα Tylenchida υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν τον χειμώνα και χαμηλότεροι το καλοκαίρι και το φθινόπωρο. Στα Rhabditida υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν την άνοιξη.



**Διάγραμμα II.3.3.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά γρ χώματος), των κυριότερων τάξεων των νηματωδών, τις 4 εποχές του χρόνου (περιοχή A ■ και περιοχή B □).

Η επίδραση της περιοχής δειγματοληψίας καθώς και της εποχής στους πληθυσμούς των κυριότερων γενών των νηματωδών παρουσιάζονται στον Πίνακα II.3.7. Στο Διάγραμμα II.3.4. δίνονται οι πληθυσμοί των κυριότερων γενών, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

Οι πληθυσμοί των γενών *Tylenchus*, *Pungentus* και *Plectus* βρέθηκαν να επηρεάζονται τόσο από την εποχή δειγματοληψίας όσο και από την περιοχή ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ περιοχής και εποχής. Και στα 3 αυτά γένη οι πληθυσμοί στην περιοχή B ήταν υψηλότεροι από αυτούς στην περιοχή A. Στο γένος *Tylenchus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν τον χειμώνα και χαμηλότεροι το καλοκαίρι και το φθινόπωρο. Στο γένος *Pungentus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν τον χειμώνα και την άνοιξη και χαμηλότεροι το φθινόπωρο, ενώ οι πληθυσμοί στο καλοκαίρι δεν διέφεραν από τις άλλες εποχές. Στο γένος *Plectus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν τον χειμώνα και χαμηλότεροι το καλοκαίρι.

Οι πληθυσμοί του γένους *Aphelenchus* βρέθηκαν να επηρεάζονται τόσο από την εποχή όσο και από την περιοχή δειγματοληψίας, ενώ βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ περιοχής και εποχής. Στην δειγματοληψία της άνοιξης και του καλοκαιριού βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί στην περιοχή A ενώ στις δειγματοληψίες του φθινοπώρου και του χειμώνα δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των 2 περιοχών. Ακόμα στην περιοχή A υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν το καλοκαίρι και χαμηλότεροι ο φθινόπωρο, ενώ στην

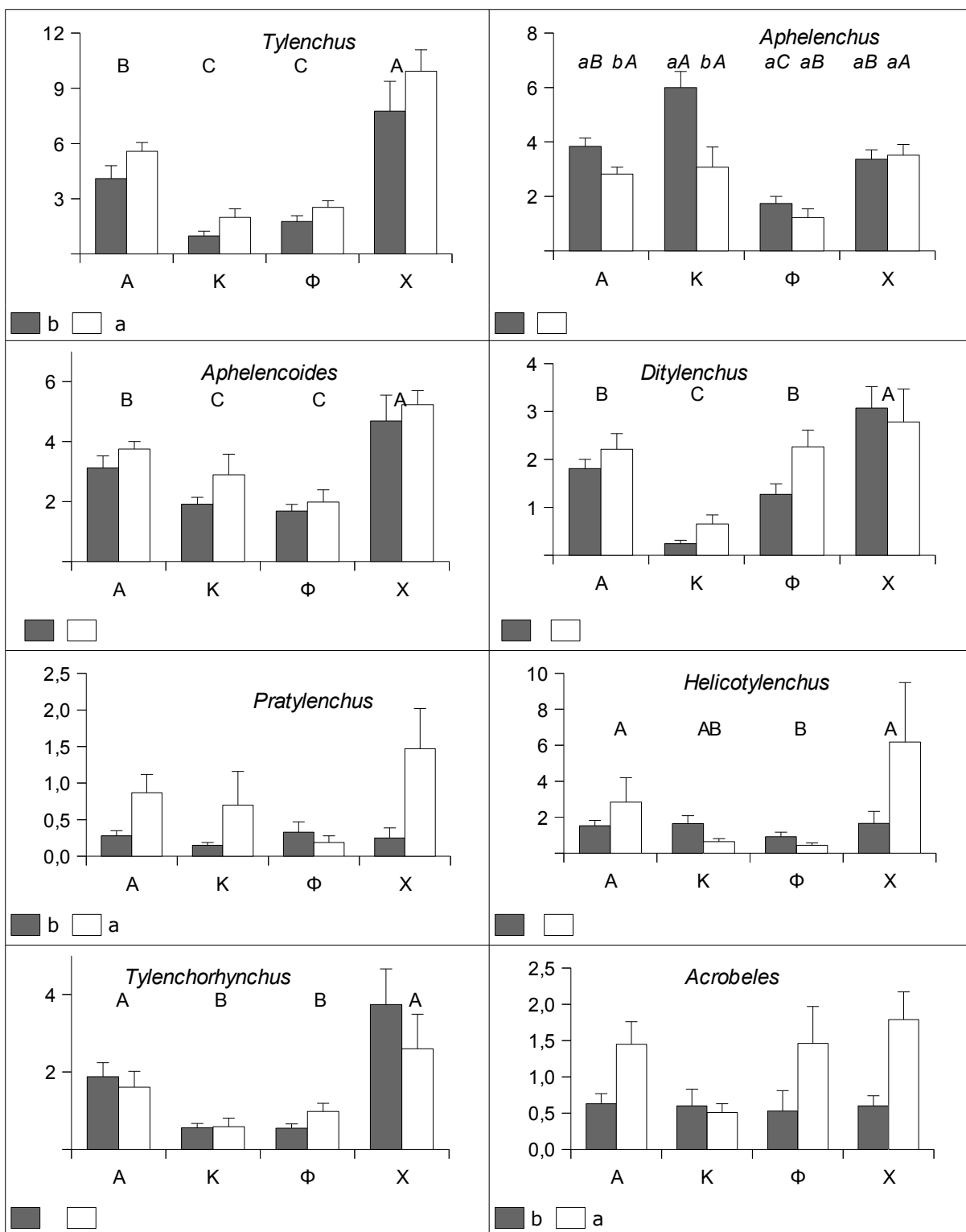
περιοχή Β το φθινόπωρο βρέθηκαν χαμηλότεροι πληθυσμοί από ότι στις άλλες εποχές δειγματοληψίας.

**Πίνακας II.3.7.** Επίδραση της περιοχής, της εποχής και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των κυριώτερων τάξεων των των νηματωδών (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

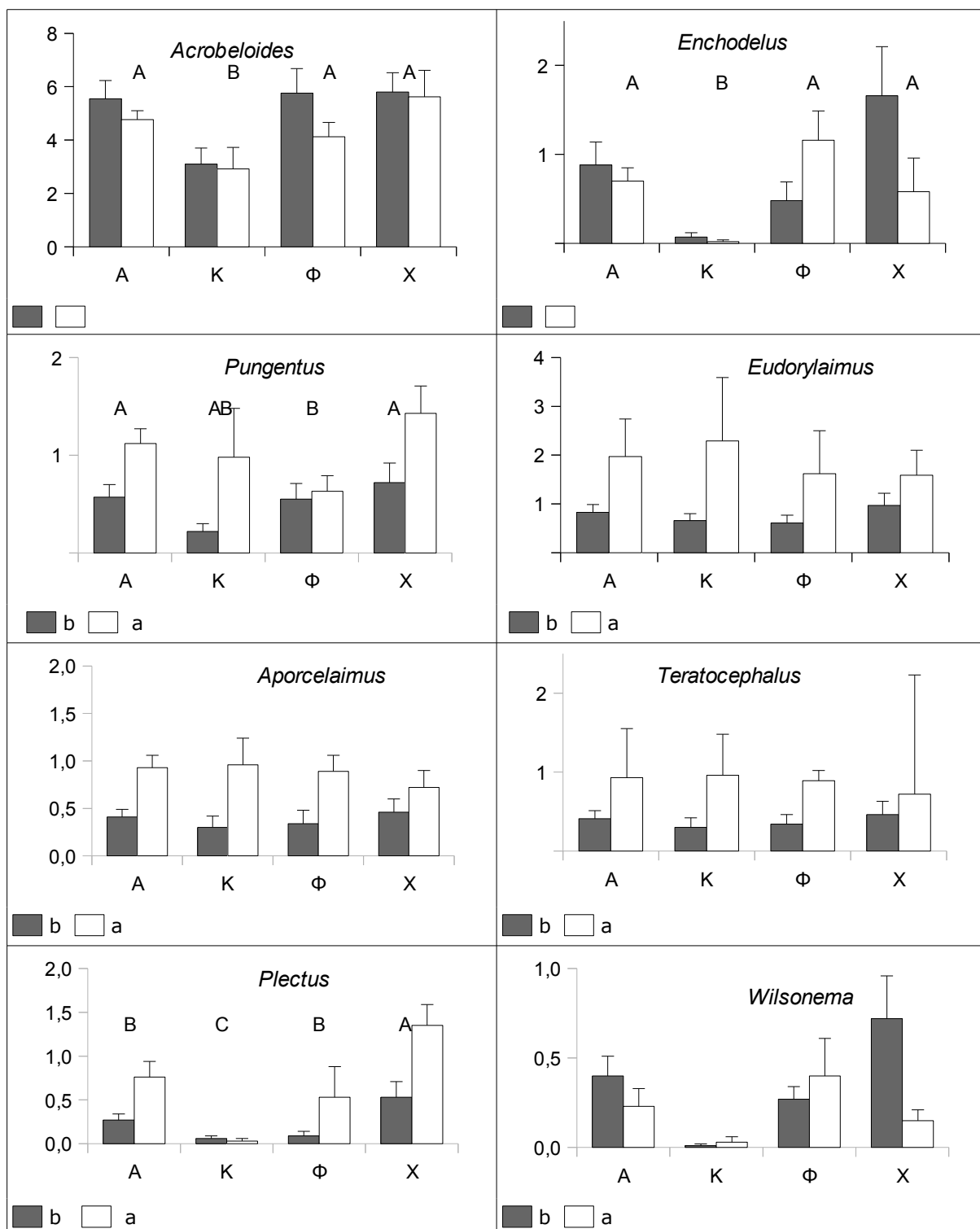
	εποχή (BE 3 & 72)		περιοχή (BE 1 & 72)		εποχήxπεριοχή (BE 3 & 72)	
	F	p	F	p	F	p
<i>Tylenchus</i>	46,53	0,000	12,28	0,001	0,07	0,973
<i>Aphelenchus</i>	17,24	0,000	12,58	0,001	4,68	0,005
<i>Aphelenchoides</i>	15,08	0,000	3,19	0,078	0,21	0,887
<i>Ditylenchus</i>	16,11	0,000	2,55	0,115	1,1	0,354
<i>Pratylenchus</i>	2,01	0,120	7,36	0,008	2,16	0,100
<i>Helicotylenchus</i>	2,92	0,040	0,05	0,830	1,91	0,135
<i>Tylenchorhynchus</i>	12,62	0,000	0,3	0,583	1,2	0,317
<i>Acrobelloides</i>	5,27	0,002	1,85	0,178	0,46	0,714
<i>Acrobeles</i>	1,77	0,160	11,88	0,001	1,8	0,155
<i>Aporcelaimus</i>	0,09	0,966	18,36	0,000	0,55	0,649
<i>Eudorylaimus</i>	0,48	0,697	6,21	0,015	0,03	0,994
<i>Pungentus</i>	3,36	0,023	9,88	0,002	0,77	0,513
<i>Enchodelus</i>	7,68	0,000	0,76	0,388	4,14	0,009
<i>Wilsonema</i>	5,58	0,002	3,51	0,065	2,73	0,050
<i>Teratocephalus</i>	2,33	0,081	7,16	0,009	2,12	0,105
<i>Plectus</i>	9,05	0,000	11,82	0,001	1,92	0,133

Οι πληθυσμοί των γενών *Pratylenchus*, *Acrobeles*, *Eudorylaimus*, *Aporcelaimus*, *Teratocephalus* και *Wilsonema* βρέθηκαν να επηρεάζονται μόνο από την περιοχή δειγματοληψίας. Και στα έξι αυτά γένη οι πληθυσμοί στην περιοχή Β ήταν υψηλότεροι από αυτούς στην περιοχή Α.

Οι πληθυσμοί των γενών *Aphelenchoides*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Acrobelloides* και *Enchodelus* βρέθηκαν να επηρεάζονται μόνο από την εποχή δειγματοληψίας. Στο γένος *Aphelenchoides* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν τον χειμώνα και χαμηλότεροι το καλοκαίρι και το φθινόπωρο. Στο γένος *Ditylenchus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν τον χειμώνα και χαμηλότεροι το καλοκαίρι. Στο γένος *Helicotylenchus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν τον χειμώνα και την άνοιξη και χαμηλότεροι το φθινόπωρο, ενώ οι πληθυσμοί στο καλοκαίρι δεν διέφεραν από τις άλλες εποχές. Στο γένος *Tylenchorhynchus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν τον χειμώνα και την άνοιξη και χαμηλότεροι το φθινόπωρο και το καλοκαίρι. Στα γένη *Acrobelloides* και *Enchodelus* οι πληθυσμοί το καλοκαίρι βρέθηκαν χαμηλότεροι από τις άλλες εποχές δειγματοληψίας



**Διάγραμμα II.3.4.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των κυριότερων γενών νηματωδών στις 4 εποχές [(άνοιξη (A), καλοκαίρι (K), φθινόπωρο (Φ) και χειμώνας (X)] της στις 2 δυο περιοχές (περιοχή A ■ και περιοχή B □).



**Διάγραμμα II.3.5.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των δεικτών MI, PPI, ΣΜΙ, ΒΙ, ΕΙ, ΣΙ και CΙ στις 4 εποχές [(άνοιξη (A), καλοκαίρι (K), φθινόπωρο (Φ) και χειμώνας (X)] της στις 2 δυο περιοχές (περιοχή A ■ και περιοχή B □).

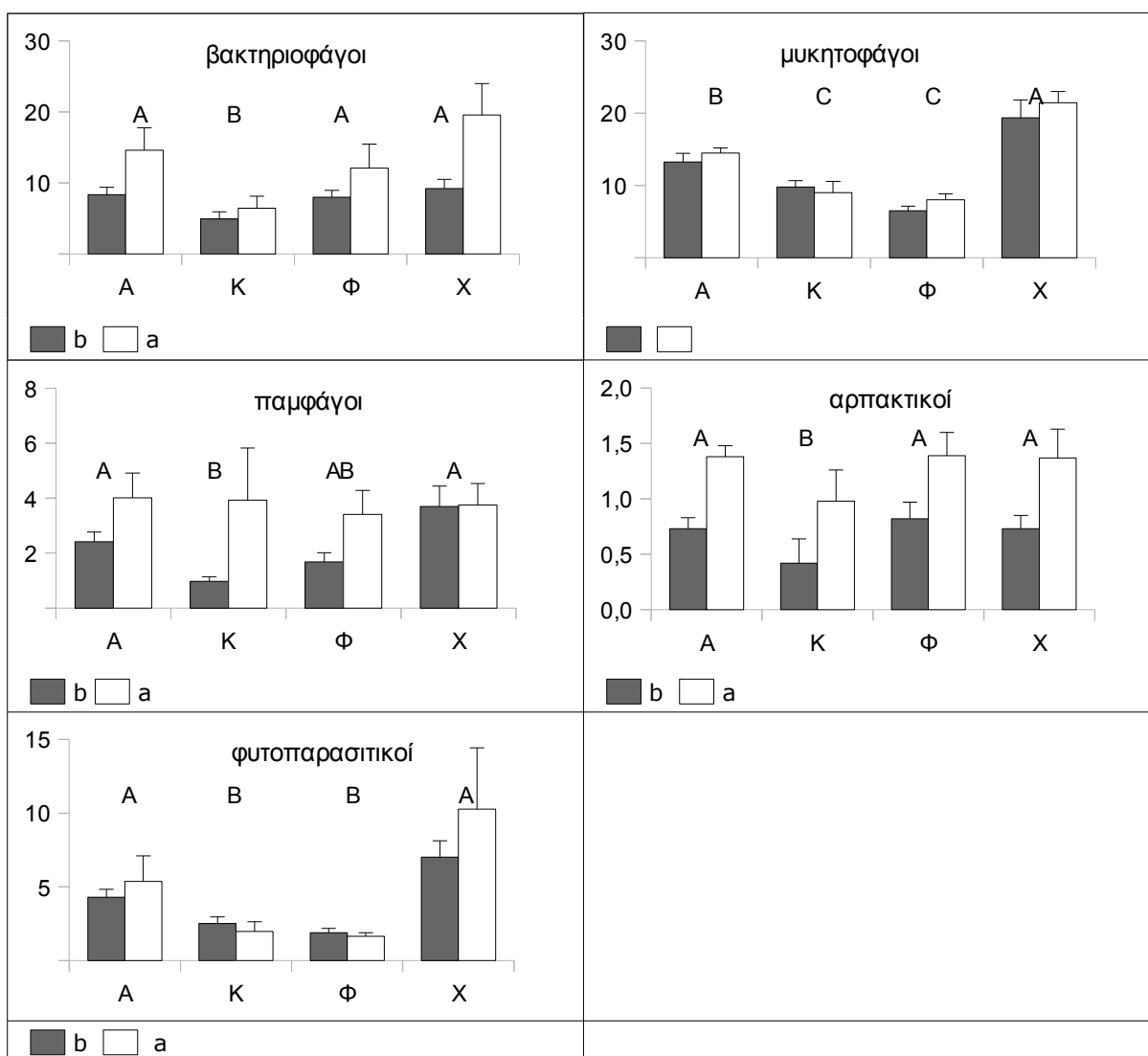
#### II.3.3.4.2. Τροφικές ομάδες

Η επίδραση της περιοχής δειγματοληψίας καθώς και της εποχής στους πληθυσμούς των τροφικών ομάδων των νηματωδών παρουσιάζονται στον Πίνακα II.3.8. Στο Διάγραμμα II.3.6. δίνονται οι πληθυσμοί των τροφικών ομάδων, καθώς και οι συγκρίσεις

των μέσων.

**Πίνακας II.3.8.** Επίδραση της περιοχής, της εποχής και της αλληλεπίδρασής τους στους πληθυσμούς των διαφόρων τροφικών ομάδων των νηματωδών (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς)

	εποχή (BE 3 & 72)		περιοχή (BE 3 & 72)		εποχήxπεριοχή (BE 3 & 72)	
	F	p	F	p	F	p
Φυτοпараσιτικοί	11,66	0,000	0,78	0,381	0,19	0,906
Παμφάγοι	5,02	0,003	8,29	0,005	1,02	0,390
Βακτηριοφάγοι	10,93	0,000	9,43	0,003	0,80	0,497
Αρπακτικοί	1,88	0,140	19,83	0,000	0,03	0,994
Μυκητοφάγοι	39,65	0,000	1,18	0,280	0,99	0,404



**Διάγραμμα II.3.6.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των πληθυσμών (σε άτομα ανά γρ χώματος), των διαφόρων τροφικών ομάδων, τις 4 εποχές του χρόνου (περιοχή A ■ και περιοχή B □).

Οι πληθυσμοί των βακτηριοφάγων, των παμφάγων, των αρπακτικών και των φυτοπαρασιτικών νηματωδών επηρεάστηκαν και από την περιοχή δειγματοληψίας και από την εποχή ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ εποχής και περιοχής. Οι πληθυσμοί και των τεσσάρων αυτών τροφικών ομάδων ήταν υψηλότεροι στην περιοχή Β. Οι πληθυσμοί των βακτηριοφάγων και των αρπακτικών νηματωδών ήταν χαμηλότεροι κατά την δειγματοληψία του καλοκαιριού από ότι στις άλλες εποχές. Οι πληθυσμοί των παμφάγων νηματωδών ήταν υψηλότεροι την άνοιξη και τον χειμώνα και χαμηλότεροι το καλοκαίρι, ενώ οι πληθυσμοί του φθινοπώρου δεν διέφεραν από τις άλλες εποχές. Τέλος, οι πληθυσμοί των φυτοπαρασιτικών νηματωδών ήταν χαμηλότεροι στις δειγματοληψίες του καλοκαιριού και του φθινοπώρου από ότι στις άλλες δυο εποχές.

Οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων νηματωδών επηρεάστηκαν μόνο από την εποχή δειγματοληψίας, καθώς υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν τον χειμώνα και χαμηλότεροι το καλοκαίρι και το φθινόπωρο.

#### II.3.3.4.3. Δείκτες κοινότητας νηματωδών

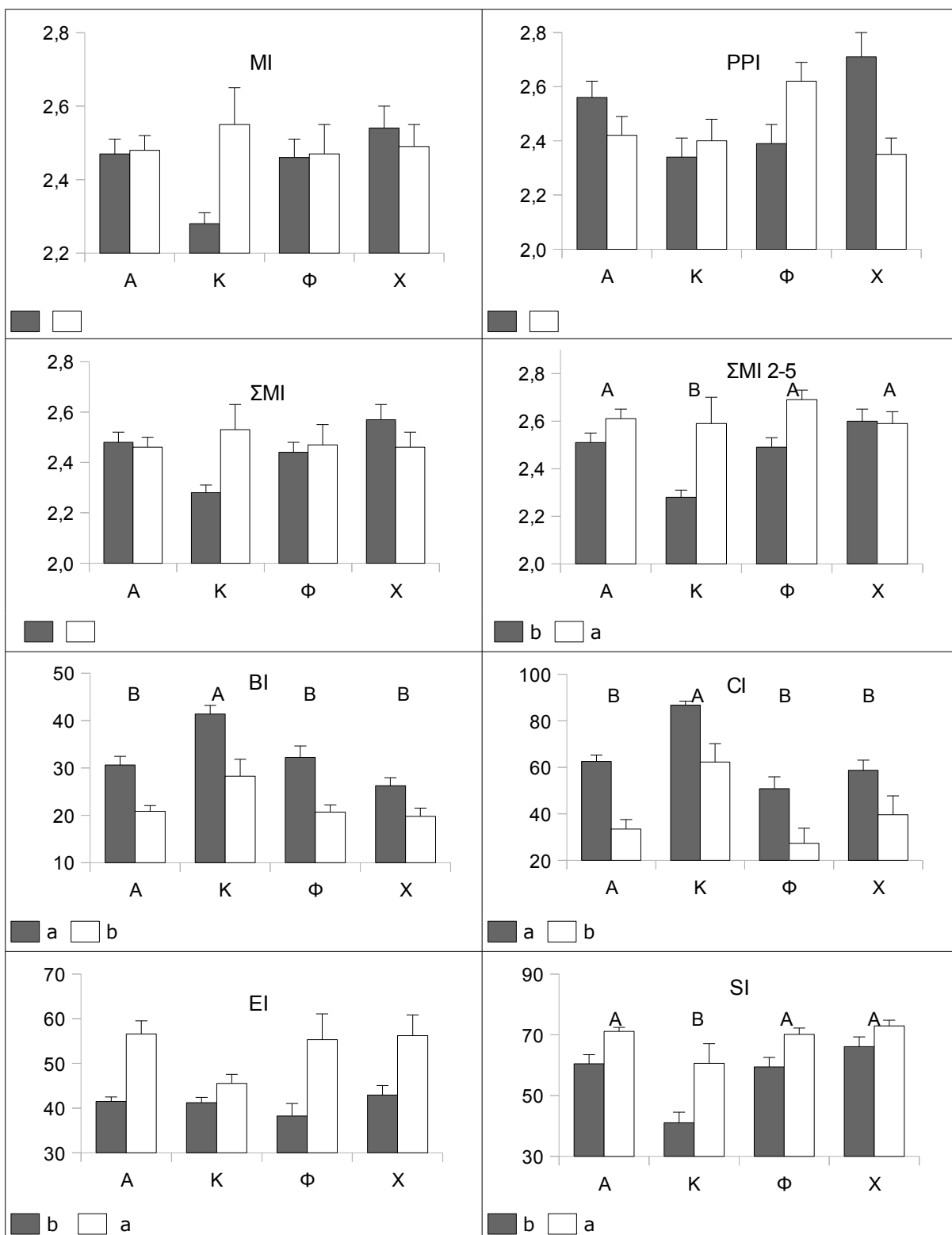
Η επίδραση της περιοχής δειγματοληψίας καθώς και της εποχής στους δείκτες της κοινότητας των νηματωδών παρουσιάζονται στον Πίνακα ΙΙ.3.9. Στο Διάγραμμα ΙΙ.3.7 δίνονται οι τιμές των δεικτών αυτών, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας ΙΙ.3.9.** Επίδραση της περιοχής, της εποχής και της αλληλεπίδρασής τους στις τιμές των δεικτών της νηματωδοκοινότητας (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς).

	εποχή (BE 3 & 72)		περιοχή (BE 1 & 72)		εποχήxπεριοχή (BE 3 & 72)	
	F	p	F	p	F	p
MI	0,90	0,444	2,01	0,160	2,55	0,062
PPI	2,08	0,111	0,87	0,354	5,93	0,001
ΣMI	1,14	0,341	0,86	0,356	3,56	0,020
ΣMI <sub>2-5</sub>	3,74	0,015	14,52	0,000	2,69	0,052
BI	11,92	0,000	48,04	0,000	0,94	0,43
EI	1,51	0,219	26,63	0,000	1,27	0,291
SI	11,59	0,000	24,60	0,000	1,26	0,294
CI	15,31	0,000	38,11	0,000	0,28	0,838

Οι δείκτες ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας (MI), φυτοπαρασιτικής νηματωδοκοινότητας (PPI), ολικός δείκτης νηματωδοκοινότητας (ΣMI) δεν επηρεάστηκαν ούτε από την περιοχή ούτε από την εποχή δειγματοληψίας. Ο δείκτης εμπλουτισμού (EI) επηρεάστηκε μόνο από την περιοχή, καθώς στην περιοχή Β είχε υψηλότερη τιμή από την περιοχή Α.



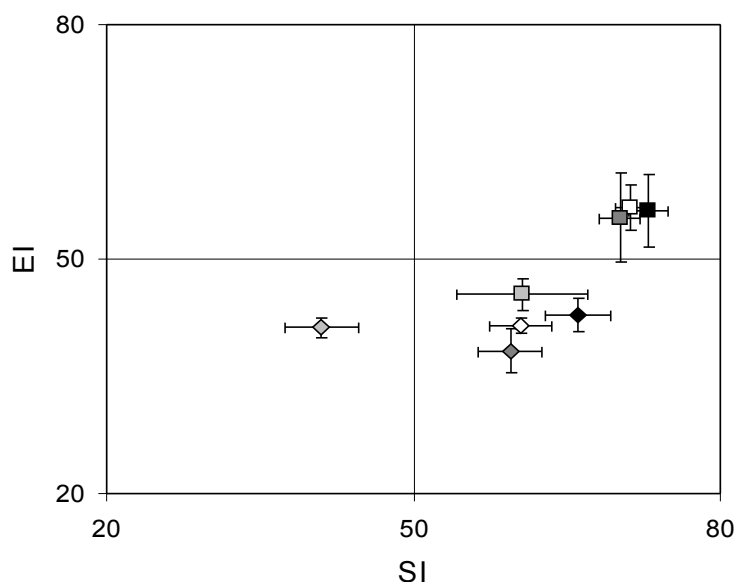


**Διάγραμμα ΙΙ.3.7.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των δεικτών MI, PPI, ΣMI, BI, EI, SI και CI στις 4 εποχές [(άνοιξη (A), καλοκαίρι (K), φθινόπωρο (Φ) και χειμώνας (X)] της στις 2 δυο περιοχές (περιοχή A ■ και περιοχή B □).

Οι δείκτες θεμελιώδους κατάστασης (BI), δομής (SI), οδού αποσύνθεσης (CI) καθώς και ΣMI<sub>2-5</sub> επηρεάστηκαν και από την εποχή και από την περιοχή ενώ δεν βρέθηκε

σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ περιοχής και εποχής. Οι δείκτες CI και BI βρέθηκαν να έχουν υψηλότερη τιμή στην περιοχή Β ενώ οι SI και ΣΜΙ<sub>2-5</sub> βρέθηκαν να έχουν υψηλότερη τιμή στην περιοχή Α. Για την επίδραση της εποχής, οι δείκτες BI και CI είχαν υψηλότερη τιμή στην δειγματοληψία του καλοκαιριού, ενώ οι τιμές των δεικτών στις άλλες εποχές δεν διέφεραν μεταξύ τους και για τους δυο αυτούς δείκτες. Αντίθετα οι δείκτες ΣΜΙ<sub>2-5</sub> και SI είχαν χαμηλότερη τιμή στην δειγματοληψία του καλοκαιριού ενώ οι τιμές των δεικτών αυτών στις άλλες εποχές δεν διέφεραν μεταξύ τους.

Στο Διάγραμμα ΙΙ.3.8 δίνονται σε οριζόντιο σύστημα συντεταγμένων οι τιμές των ζευγών των δεικτών δομής SI και εμπλουτισμού EI. Στην περιοχή Α ο πληθυσμός το καλοκαίρι βρίσκεται στο τέταρτο τεταρτημόριο ενώ τις άλλες εποχές δειγματοληψίας βρίσκεται στο τρίτο τεταρτημόριο σε πολύ κοντινές, σχεδόν ταυτόσημες θέσεις. Στην περιοχή Β ο πληθυσμός το καλοκαίρι βρίσκεται τέταρτο στο τεταρτημόριο ενώ τις άλλες εποχές δειγματοληψίας βρίσκεται στο τρίτο τεταρτημόριο σε πολύ κοντινές θέσεις. Σαν γενική εικόνα από το διάγραμμα φαίνεται ότι η νηματωδοκοινότητα τόσο στην περιοχή Α όσο και στην περιοχή Β έχει ικανοποιητική δομή· στην περιοχή Β η κοινότητα έχει λίγο καλύτερη δομή ενώ φαίνεται η νηματωδοκοινότητα να είναι σε καλύτερη θρεπτική κατάσταση. Και στις δυο περιοχές η νηματωδοκοινότητα στην δειγματοληψία του καλοκαιριού διαφέρει από τις άλλες εποχές δειγματοληψίας, παρουσιάζοντας, υποδεέστερη δομή, ενώ στην περιοχή Β φαίνεται να αντικατοπτρίζει κοινωνία νηματωδών πιο περιορισμένων πόρων.



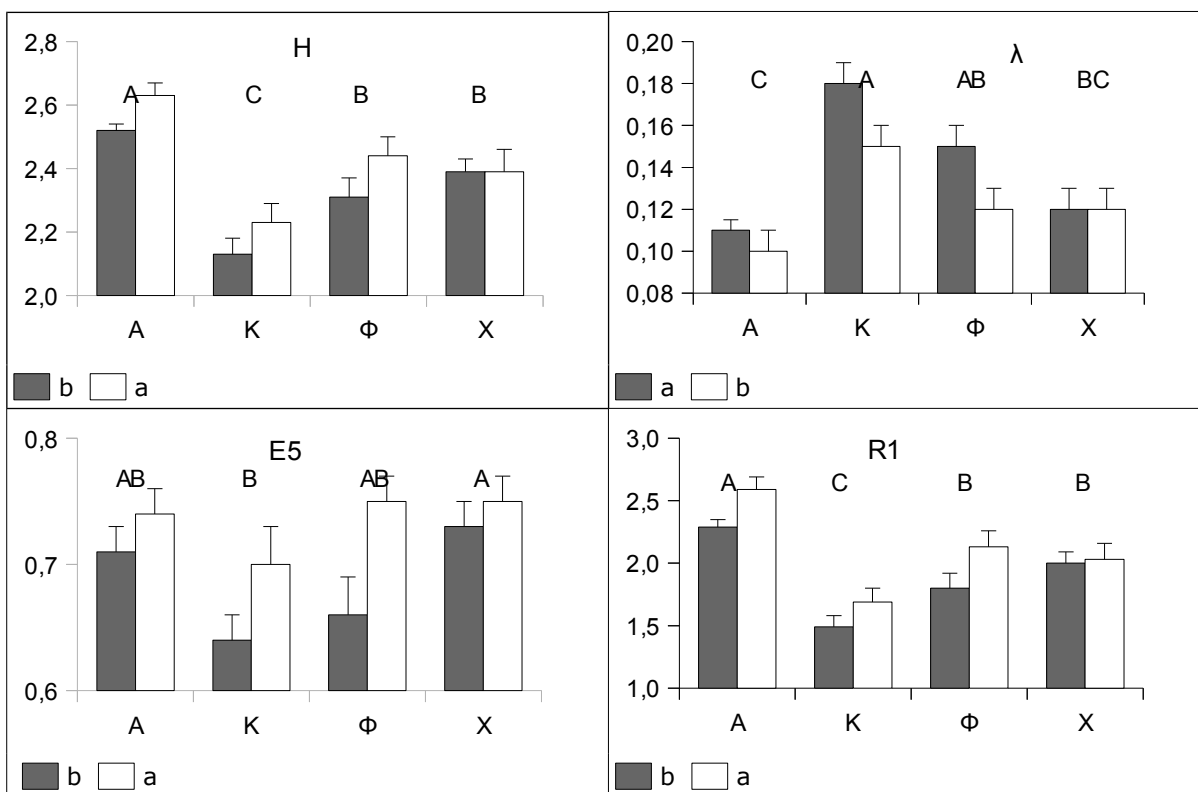
**Διάγραμμα ΙΙ.3.8.** Γραφική ανάλυση νηματωδοκοινότητας. Τιμές των ζευγών των δεικτών δομής SI και εμπλουτισμού EI ( $\pm$  τυπικά σφάλματα του μέσου) σε οριζόντιο σύστημα συντεταγμένων. Τα σημεία της περιοχής Α απεικονίζονται με ρόμβο, ενώ αυτά της περιοχής Β με τετράγωνο. Οι 4 εποχές δειγματοληψίας απεικονίζονται με διαφορετικά χρώματα (άνοιξη: λευκό, καλοκαίρι: ανοικτό γκρι, φθινόπωρο: σκούρο γκρι και χειμώνας: μαύρο).

**II.3.3.4.4. Οικολογικοί δείκτες νηματώδων**

Η επίδραση της περιοχής δειγματοληψίας καθώς και της εποχής στους οικολογικούς δείκτες των νηματώδων παρουσιάζονται στον Πίνακα II.3.10. Στο Διάγραμμα II.3.9. δίνονται οι τιμές των δεικτών αυτών, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας II.3.10.** Επίδραση της περιοχής, της εποχής και της αλληλεπίδρασής τους στις τιμές των οικολογικών δεικτών της νηματωδοκοινότητας (διπαραγοντική ανάλυση της διασποράς).

	εποχή (BE 3 & 72)		περιοχή (BE 3 & 72)		εποχήxπεριοχή (BE 3 & 72)	
	F	p	F	p	F	p
H	20,67	0,000	5,81	0,020	0,70	0,558
λ	13,80	0,000	7,66	0,007	1,23	0,304
E5	3,36	0,023	10,24	0,002	1,20	0,315
R1	21,41	0,000	7,03	0,010	0,72	0,544



**Διάγραμμα II.3.9.** Μέσοι όροι (+ τυπικό σφάλμα του μέσου) των τιμών των οικολογικών δεικτών H', λ, E5, Margalef τις 4 εποχές [(άνοιξη (A), καλοκαίρι (K), φθινόπωρο (Φ) και χειμώνας (X)] της στις 2 δυο περιοχές (περιοχή A ■ και περιοχή B □).

Και οι 4 δείκτες που μελετήθηκαν, ο δείκτης βιοποικιλότητας του Shannon (H'), ο δείκτης κυριαρχίας του Simpson (λ), ο δείκτης ισομέρειας του Hill (E5), καθώς και ο δείκτης αφθονίας του Margalef (R1) επηρεάστηκαν και από την εποχή και από την περιοχή ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ εποχής και περιοχής.

Οι δείκτες H', R1 και E5 είχαν υψηλότερη τιμή στην περιοχή B. Επίσης οι δείκτες H' και R1 είχαν υψηλότερη τιμή στην δειγματοληψία της άνοιξης και χαμηλότερη στην δειγματοληψία του καλοκαιριού, ενώ ο δείκτης E5 τον χειμώνα είχε μεγαλύτερη τιμή από ότι στο καλοκαίρι, ενώ η τιμή του δείκτη την άνοιξη και το φθινόπωρο δεν διέφερε από αυτήν στις δυο άλλες εποχές δειγματοληψίας. Ο δείκτης λ είχε υψηλότερη τιμή στην περιοχή A, ενώ παρουσίασε ψηλότερη τιμή το καλοκαίρι και το φθινόπωρο, και χαμηλότερη την άνοιξη και τον χειμώνα, ενώ η τιμή του δείκτη το καλοκαίρι δεν διέφερε από αυτήν το φθινόπωρο.

#### II.3.4. Συζήτηση

Και στις δυο περιοχές βρέθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων. Στην περιοχή A βρέθηκε αρκετά αρκετά υψηλότερη συγκέντρωση μόλυβδου και καδμίου, δυο μετάλλων που θεωρούνται ιδιαίτερα τοξικά καθώς και περιβαλλοντικά επιζήμια, ενώ για τα άλλα μέταλλα που μετρήθηκαν, οι διαφορές δεν είναι τόσο έντονες. Ακόμα οι άλλες ιδιότητες των εδαφών στις δυο θέσεις δειγματοληψίας δεν διέφεραν πολύ μεταξύ τους. Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων είναι πιθανά υπεύθυνες σε μεγάλο βαθμό, τόσο για τις διαφορές στην μικροβιακή δραστηριότητα, όσο και για τις αλλαγές στην κοινότητα των μικροαρθροπόδων και των νηματωδών, οι οποίοι έχουν χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτες της ποιότητας και της ρύπανσης του εδαφικού περιβάλλοντος.

Τόσο η βασική, όσο και η επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή ήταν υψηλότερες στην περιοχή A όλες τις εποχές του χρόνου. Η βασική αναπνοή βρέθηκε υψηλότερη το φθινόπωρο και χαμηλότερη τον χειμώνα ενώ ενδιάμεσες τιμές πήρε την άνοιξη και το καλοκαίρι. Η επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή βρέθηκε υψηλότερη το καλοκαίρι και χαμηλότερη τον χειμώνα ενώ ενδιάμεσες τιμές πήρε την άνοιξη και το φθινόπωρο. Η αρνητική επίδραση της ρύπανσης με βαρέα μέταλλα στους μικροοργανισμούς του εδάφους σε περιοχές έντονης βιομηχανικής δραστηριότητας, έχει βρεθεί και από άλλες μελέτες ( Liao & Xiao 2007, Yang *et al.* 2009, Zhang *et al.* 2010). Τα βαρέα μέταλλα έχουν βρεθεί να επηρεάζουν αρνητικά την βασική αναπνοή ( Raharakscha *et al.* 2004, Shukurov *et al.* 2005, Shukurov *et al.* 2006).

Οι πληθυσμοί και των τριών τάξεων των ακαρέων καθώς και των Collembola ήταν σημαντικά μικρότεροι στην περιοχή A από ότι στην περιοχή B, και αυτό ήταν πολύ έντονο στα Mesostigmata καθώς στην περιοχή A οι πληθυσμοί ήταν ιδιαίτερα χαμηλοί, και στα Oribatida. Τα Oribatida θεωρούνται μάλιστα από τους πιο ευαίσθητους οργανισμούς στην ρύπανση στα βαρέα μέταλλα από ότι τα άλλα ακάρεια. (Zaitsev *et al.* 2001, Migliorini *et al.* 2005, Khalil *et al.* 2009). Τα βαρέα μέταλλα έχουν βρεθεί να επηρεάζουν αρνητικά τους πληθυσμούς των μικροαρθροπόδων από αρκετούς συγγραφείς ( Parmelee *et al.* 1993, Haimi & Siira-Pietikainen 1996, Skuba & Kafel, 2004, Khalil *et al.* 2009). Αρκετές

μελέτες αναφέρουν ότι τα Collembola θεωρούνται πιο ανθεκτικά στην ρύπανση από ότι τα βαρέα βαρέα μέταλλα (Strojan 1978, Bengtsson & Rundgren 1988, Haimi & Siira-Pietikainen 1996, Syzek *et al.* 2006). Η ρύπανση επηρεάζει τα ακάρεα όχι μόνο άμεσα ως τοξικότητα αλλά μπορεί να έχει και έμμεσες επιδράσεις μέσω της επίδρασης στην ποσότητα και την ποιότητα της οργανικής ουσίας και της κοινότητας των μικροοργανισμών με τους οποίους αλληλεπιδρούν (Khalil *et al.* 2009). Σε γενικές γραμμές οι πληθυσμοί των μικροαρθροπόδων το καλοκαίρι ήταν χαμηλότεροι από τις άλλες εποχές του χρόνου. Αυτό πιθανότατα έχει σχέση με την υγρασία η οποία σε ξηροθερμικά κλίματα είναι ιδιαίτερα χαμηλή το καλοκαίρι και περιοριστικός παράγοντας για τους πληθυσμούς των μικρο αρθροπόδων.

Η πολυπληθέστερη τάξη νηματωδών και στις δυο περιοχές ήταν η Tylenchida πληθυσμοί της οποίας επηρεάστηκαν μόνο από την εποχή καθώς υψηλότεροι πληθυσμοί παρατηρήθηκαν τον χειμώνα και την άνοιξη. Στην τάξη των Tylenchida συμπεριλαμβάνεται το σύνολο σχεδόν των φυτοπαρασιτικών και των μυκητοφάγων νηματωδών που βρέθηκαν στην παρούσα εργασία. Τα κυρίαρχα φυτοπαρασιτικά γένη ήταν τα *Tylenchorhynchus* και *Helicotylenchus* οι πληθυσμοί των οποίων δεν διέφεραν μεταξύ των δυο περιοχών, ενώ στο γένος *Pratylenchus* οι πληθυσμοί στην περιοχή B ήταν υψηλότεροι από αυτούς στην περιοχή A. Για τα μυκητοφάγα γένη της υπόταξης των Aphelenchida, οι πληθυσμοί του *Aphelenchoides* δεν διέφεραν μεταξύ των δυο περιοχών ενώ στο γένος *Aphelenchus* γενικά οι πληθυσμοί ήταν μεγαλύτεροι στην περιοχή A. Τέλος για τα γένη *Tylenchus* και *Ditylenchus* των οποίων οι τροφικές απαιτήσεις δεν είναι πλήρως διασαφηνισμένες εάν είναι μυκητοφάγα ή/και φυτοπαρασιτικά, στο γένος *Tylenchus* βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί στην περιοχή B ενώ στο γένος *Ditylenchus* οι πληθυσμοί δεν διέφεραν μεταξύ των δυο περιοχών. Οι φυτοπαρασιτικοί καθώς και η μυκητοφάγοι νηματώδεις έχουν βρεθεί να είναι λιγότερο ευαίσθητοι στα μέταλλα και από άλλες μελέτες (Georgieva *et al.* 2002, Pen-Muratov *et al.* 2008). Ακόμα από αρκετές μελέτες αναφέρονται οι νηματώδεις των γενών *Aphelenchus*, *Aphelenchoides* και *Ditylenchus* ανθεκτικοί σε μέταλλα καθώς και σε άλλους ρύπους (Kothals *et al.* 1996a,b, Nagy *et al.* 2004, Pen-Muratov *et al.* 2010). Η φαινομενικά μικρότερη ευαισθησία των φυτοπαρασιτικών νηματωδών, πιθανόν να οφείλεται και σε μεγαλύτερη ευαισθησία σε ρύπους τόσο των ανταγωνιστών τους (πχ μυκόρριζες) όσο και των θηρευτών τους (πχ αρπακτικοί νηματώδεις) (Georgieva *et al.* 2002). Ο δείκτης φυτοπαρασιτικής νηματωδοκοινοότητας PPI δεν επηρεάστηκε ούτε από την περιοχή ούτε από την εποχή δειγματοληψίας.

Οι πληθυσμοί των βακτηριοφάγων νηματωδών ήταν υψηλότεροι στην περιοχή B, ενώ το καλοκαίρι βρέθηκαν χαμηλότεροι πληθυσμοί από ότι στις άλλες εποχές. Η πλειονότητα των βακτηριοφάγων νηματωδών άνηκε κυρίως στην τάξη των Rhabditida και λιγότερο στην τάξη των Atracheolaimida. Η δεύτερη πιο πολυπληθέστερη τάξη και στις δυο περιοχές

ήταν αυτή των Rhabditida για την οποία οι πληθυσμοί της επίσης δεν διέφεραν στις δυο περιοχές, ενώ οι πληθυσμοί της επηρεάστηκαν μόνο από την εποχή καθώς και εδώ υψηλότεροι πληθυσμοί παρατηρήθηκαν τον χειμώνα και την άνοιξη. Οι κυριότεροι εκπρόσωποι και στις δυο περιοχές των Rhabditida ήταν τα γένη *Acrobelloides* (κυρίως) και *Acrobeles* της οικογένειας των Cephalobidae. Στο γένος *Acrobelloides* το οποίο ήταν το πολυπληθέστερο των βακτηριοφάγων νηματωδών, οι πληθυσμοί στην περιοχή B ήταν υψηλότεροι από αυτούς στην περιοχή A ενώ για το γένος *Acrobeles* οι πληθυσμοί στις δυο περιοχές δεν διέφεραν. Στην τάξη των Araeolaimida υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην περιοχή B, ενώ οι πληθυσμοί της τάξεως αυτής ήταν υψηλότεροι στην δειγματοληψία του χειμώνα, και αυτό είναι πιο έντονο στην περιοχή B. Και στα τρία κυρίαρχα γένη των Araeolaimida δηλαδή τα *Plectus*, *Wilsonema* και *Teratocephalus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην περιοχή B.

Ο δείκτης οδού αποσύνθεσης CI είχε υψηλότερη τιμή στην περιοχή A ενώ και το καλοκαίρι είχε υψηλότερη τιμή από ότι στις άλλες εποχές δειγματοληψίας. Η υψηλότερη τιμή του δείκτη στην περιοχή A σχετίζεται με το γεγονός ότι ενώ οι βακτηριοφάγοι νηματώδεις στην περιοχή A ήταν σημαντικά λιγότεροι από αυτούς στην περιοχή B, οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων νηματωδών δεν διέφεραν μεταξύ των δυο περιοχών. Η υψηλότερη τιμή του δείκτη CI σε πιο ρυπασμένες περιοχές με βαρέα μέταλλα σε σχέση με λιγότερο ρυπασμένες έχει βρεθεί και από άλλους ερευνητές (Nagy *et al.* 2004, Sanchez-Moreno & Navas 2007) και μπορεί να σχετίζεται με αύξηση των πληθυσμών των μυκήτων και μείωση των πληθυσμών των βακτηρίων σε ρυπασμένες περιοχές (De Goede *et al.* 1993). Ο δείκτης εμπλουτισμού EI ήταν υψηλότερος στην περιοχή B ενώ δεν επηρεάστηκε από την εποχή. Αυτό μάλλον θα πρέπει να αποδοθεί στο γεγονός ότι στην περιοχή B η νηματωδοκοινότητα είχε περισσότερους πόρους για να χρησιμοποιήσει. Αυτό συμφωνεί με το γεγονός ότι στην περιοχή B και η οργανική ουσία και η μικροβιακή δραστηριότητα είχαν υψηλότερες τιμές από ότι στην περιοχή A.

Οι πληθυσμοί της τάξεως των Dorylaimida η οποία αντιπροσώπευε κυρίως τα αρπακτικά και τα παμφάγα είδη, ήταν υψηλότεροι στην περιοχή B. Στην τάξη των Dorylaimida συμπεριλαμβάνεται το σύνολο σχεδόν των παμφάγων και αρπακτικών νηματωδών που βρέθηκαν στην παρούσα εργασία. Οι πληθυσμοί των παμφάγων νηματωδών ήταν υψηλότεροι στην περιοχή B, ενώ τόσο αφορά την εποχή το καλοκαίρι βρέθηκαν χαμηλότεροι πληθυσμοί σε σχέση με τις άλλες εποχές δειγματοληψίας. Τα κυριότερα παμφάγα γένη ήταν τα *Pungentus*, *Eudorylaimus* και *Enchodelus*. Για το γένος *Pungentus* υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην περιοχή B, ενώ οι πληθυσμοί τον χειμώνα και την άνοιξη ήταν υψηλότεροι από αυτούς του φθινοπώρου. Στο γένος *Eudorylaimus* επίσης υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην περιοχή B, ενώ οι πληθυσμοί του δεν διέφεραν μεταξύ των δειγματοληψιών. Τέλος για γένος *Enchodelus* που παρουσίασε σχετικά έντονες πληθυσμιακές διακυμάνσεις μεταξύ των εποχών καθώς το

καλοκαίρι βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί από τις άλλες εποχές, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο περιοχών. Οι πληθυσμοί των αρπακτικών νηματωδών ήταν υψηλότεροι στην περιοχή B, ενώ τόσο αφορά την εποχή το καλοκαίρι βρέθηκαν χαμηλότεροι πληθυσμοί σε σχέση με τις άλλες εποχές δειγματοληψίας. Το κυριότερο αρπακτικό γένος ήταν το *Aporcelaimus* για το οποίο επίσης βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί στην περιοχή B, ενώ οι πληθυσμοί του δεν διέφεραν μεταξύ των δειγματοληψιών. Τα βαρέα μέταλλα έχουν βρεθεί να μειώνουν τους πληθυσμούς των νηματωδών της τάξης Dorylaimida και σε άλλες μελέτες (Georgieva *et al.* 2002, Shao *et al.* 2008, Pen-Muratov *et al.* 2008, Dechang *et al.* 2009). Οι νηματώδεις αυτοί των ανώτερων βαθμίδων της κλίμακας των αποικιστικών – έμμονων λόγω των βιολογικών χαρακτηριστικών τους (μεγάλο μέγεθος σώματος, μικρός ρυθμός αναπαραγωγής, μεγαλύτερος βιολογικός κύκλος) θεωρούνται ιδιαίτερα ευαίσθητοι σε περιβαλλοντικές διαταραχές (Bongers 1990, Neher *et al.* 1995, Bongers & Ferris 1999, Navas *et al.* 2010).

Οι δείκτες ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας MI και ΣMI δεν επηρεάστηκαν ούτε από την περιοχή ούτε από την εποχή δειγματοληψίας. Αντίθετα ο δείκτης ΣMI<sub>2-5</sub> είχε υψηλότερη τιμή στην περιοχή B, ενώ το καλοκαίρι είχε χαμηλότερη τιμή από τις άλλες εποχές δειγματοληψίας. Η ρύπανση με βαρέα μέταλλα έχει βρεθεί από αρκετές μελέτες να μειώνει τον δείκτη ωριμότητας καθώς και τους τροποποιημένους δείκτες ωριμότητας οι οποίοι θεωρούνται ευαίσθητοι στην ρύπανση με βαρέα μέταλλα, αντανακλώντας κατά κάποιον τρόπο τον βαθμό διαταραχής της νηματωδοκοινότητας (Georgieva *et al.* 2002, Liang *et al.* 2006, Sanchez-Moreno & Navas 2007, Shukurov *et al.* 2006, Pen-Muratov *et al.* 2008,). Αντίθετα ο Nagy (1999) δεν βρήκε αρνητική επίδραση του μολύβδου και του ψευδαργύρου στο δείκτη MI σε δόσεις έως 270mg/Kg. Στην παρούσα μελέτη επηρεάστηκε μόνο ο δείκτης ΣMI<sub>2-5</sub>, ο οποίος φάνηκε πιο ευαίσθητος από τους άλλους δυο δείκτες ωριμότητας. Σύμφωνα με τους (Georgieva *et al.* 2002) όταν αφαιρούνται οι αποικιστικοί νηματώδεις από τον υπολογισμό των δεικτών της ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας, αυξάνεται την ευαισθησία τους στην ανίχνευση των αρνητικών επιπτώσεων των βαρέων μετάλλων στους νηματώδεις. Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις και κατά συνέπεια ο δείκτης PPI φαίνεται να επηρεάστηκαν λιγότερο από την προσθήκη των μετάλλων, παρόλα αυτά η ενσωμάτωση των φυτοпараσιτικών νηματωδών δεν φαίνεται να μειώνει ιδιαίτερα την ευαισθησία των δεικτών ωριμότητας στην παρούσα μελέτη, κάτι το οποίο έχει βρεθεί από τους Sanchez-Moreno & Navas (2007). Η παράμετρος που αύξησε την ευαισθησία του δείκτη στην παρούσα μελέτη ήταν η αφαίρεση των αποικιστικών νηματωδών, παρόλο που οι πληθυσμοί των αποικιστικών νηματωδών βρέθηκαν σχετικά χαμηλοί.

Οι δείκτης θεμελιώδους κατάστασης (BI) είχε υψηλότερη τιμή στην περιοχή A ενώ ο δείκτης δομής (SI) είχε υψηλότερη τιμή στην περιοχή B. Αυτό σχετίζεται με το γεγονός

ότι στην περιοχή B βρέθηκε μεγαλύτερη σχετική αφθονίας των αρπακτικών και παμφάγων νηματώδων (της κλάσης 4 και 5 της κλίμακας εμμόνων-αποικιστικών). Η ευαισθησία του δείκτη SI για την μελέτη της ρύπανσης στους νηματώδεις, όπως και σε άλλες διαταραχές του εδαφικού οικοσυστήματος έχει αναφερθεί και από άλλες μελέτες (Hochberg 2003, Sanchez-Moreno & Navas 2007, Park *et al.* 2011). Για την επίδραση της εποχής ο δείκτης BI είχε υψηλότερη τιμή στην δειγματοληψία του καλοκαιριού, ενώ αντίθετα ο δείκτης SI είχε χαμηλότερη τιμή στην δειγματοληψία του καλοκαιριού, άτι που πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι το καλοκαίρι λόγω ξηροθερμικών συνθηκών μειώνονται οι πληθυσμοί της νηματώδοκοινότητας και κατά συνέπεια και η δομή της. Είναι γνωστό άλλωστε ότι οι νηματώδεις ευνοούνται από την υγρασία.

Από το διάγραμμα της γραφικής ανάλυσης της νηματώδοκοινότητας φαίνεται ότι η νηματώδοκοινότητα τόσο στην περιοχή A όσο και στην περιοχή B έχει ικανοποιητική δομή· στην περιοχή B η κοινότητα έχει λίγο καλύτερη δομή ενώ φαίνεται η νηματώδοκοινότητα να είναι σε καλύτερη θρεπτική κατάσταση. Η νηματώδοκοινότητα των δυο περιοχών διαχωρίζεται ευκρινώς στο διάγραμμα αυτό. Ακόμα, από το διάγραμμα αυτό η νηματώδοκοινότητα στην δειγματοληψία του καλοκαιριού, διαχωρίζεται σαφώς από τις αυτές των άλλων εποχών του χρόνου, και για τις δυο περιοχές δειγματοληψίας, οι οποίες βρίσκονται σχετικά κοντά μεταξύ τους, και από εδώ φαίνεται ότι η υγρασία είναι ένας σημαντικός παράγοντας της κατάστασης της νηματώδοκοινότητας. Το διάγραμμα αυτό είναι ένα χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο, το οποίο δίνει πιο πολλές πληροφορίες για την γενική κατάσταση της νηματώδοκοινότητας, από ότι οι τιμές των δεικτών SI και EI από μόνοι τους, κάτι το οποίο έχει αναφερθεί και από άλλους συγγραφείς ( Hochberg 2003, Sanchez-Moreno & Navas 2007, Shao *et al.* 2008).

Ο δείκτης ποικιλότητας του Shannon (H') και ο δείκτης του Margalef (R1) είχαν υψηλότερη τιμή στην περιοχή B ενώ επίσης είχαν υψηλότερη τιμή στην δειγματοληψία της άνοιξης και χαμηλότερη στην δειγματοληψία του καλοκαιριού. Ο δείκτης κυριαρχίας του Simpson ( $\lambda$ ) είχε υψηλότερη τιμή στην περιοχή A, ενώ είχε υψηλότερη τιμή το καλοκαίρι και το φθινόπωρο. Ο δείκτης ισομέρειας του Hill (E5) είχε υψηλότερη τιμή στην περιοχή B ενώ τον χειμώνα είχε μεγαλύτερη τιμή από ότι στο καλοκαίρι. Η μείωση της τιμής του δείκτη του Shannon καθώς και του Margalef λόγω ρύπανσης με βαρέα μέταλλα έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (Yeates *et al.* 1994, Sanchez-Moreno *et al.* 2007, Shao *et al.* 2008, Navas *et al.* 2010). Οι Pen-Muratov *et al.* (2008) αντίθετα, δεν βρήκαν τους δείκτες αφθονίας, ισομέρειας και πλούτου να επηρεάζονται από την ρύπανση με βαρέα μέταλλα.

Ανακεφαλαιώνοντας, οι περισσότερες από τις βιολογικές παραμέτρους που εκτιμήθηκαν βρέθηκαν να διαφέρουν μεταξύ των δυο περιοχών. Τόσο η μικροβιακή δραστηριότητα, όσο και τα μικροαρθρόποδα και οι κοινότητες των νηματώδων βρέθηκαν σε υψηλότερο επίπεδο στην λιγότερο ρυπασμένη περιοχή. Δεν επηρεάστηκαν όλοι οι



οργανισμοί το ίδιο, ούτε όλες οι βιολογικές παράμετροι του εδαφικού οικοσυστήματος που μελετήθηκαν δεν παρουσίασαν την ίδια ευαισθησία στην βιομηχανική ρύπανση. Αρκετά έντονη ήταν η διαφορά στους πληθυσμούς των μικροαρθροπόδων μεταξύ των δυο περιοχών, ιδιαίτερα στις τάξεις Mesostigmata και Oribatida των ακάρεων, των οποίων οι πληθυσμοί ήταν ιδιαίτερα χαμηλοί στην πιο ρυπασμένη περιοχή. Η νηματωδοκοινότητα δεν διαφοροποιήθηκε ιδιαίτερα μεταξύ των δυο περιοχών σε επίπεδο πληθυσμών νηματωδών· διαφοροποιήθηκε όμως σε επίπεδο δομής της νηματωδοκοινότητας όπως φάνηκε τόσο από τους δείκτες της νηματωδοκοινότητας, όσο και από τους οικολογικούς δείκτες ποικιλότητας.

#### II.4. Γενικά συμπεράσματα κεφαλαίου.

Οι περισσότερες από τις βιολογικές παραμέτρους που εκτιμήθηκαν βρέθηκαν να επηρεάζονται από τη ρύπανση με βαρέα μέταλλα. Δεν επηρεάστηκαν όλοι οι οργανισμοί κατά τον ίδιο τρόπο, ούτε όλες οι βιολογικές παράμετροι του εδαφικού οικοσυστήματος που μελετήθηκαν παρουσίασαν την ίδια ευαισθησία.

Στην μελέτη της επίδρασης της βιομηχανικής ρύπανσης στο Θριάσιο Πεδίο, στην περισσότερο ρυπασμένη περιοχή βρέθηκαν πολύ χαμηλότεροι πληθυσμοί μικροαρθροπόδων, ιδιαίτερα των τάξεων Mesostigmata και Oribatida. Για τους νηματώδεις, αν και οι πληθυσμοί τους δεν διέφεραν πολύ μεταξύ των δυο περιοχών δειγματοληψίας, η δομή της νηματωδοκοινότητας διέφερε εμφανώς, κάτι το οποίο εκφράστηκε ιδιαίτερα στους δείκτες ΣΜΙ<sub>2-5</sub>, SI καθώς και στους οικολογικούς δείκτες βιοποικιλότητας του Shannon και πλούτου του Margalef. Επίσης μειώθηκε η αναλογία των νηματωδών των ανώτερων βαθμίδων της κλίμακας εμμόνων αποικιστικών. Το διάγραμμα γραφικής ανάλυσης της νηματωδοκοινότητας διαχωρίζει σαφώς τις δυο περιοχές.

Στα πειράματα προσθήκης στο έδαφος χαλκού και καδμίου, και τα δυο μέταλλα μείωσαν τους πληθυσμούς των μικροαρθροπόδων, καθώς και την μικροβιακή δραστηριότητα. Η προσθήκη χαλκού στις υψηλότερες δόσεις μείωσε τους δείκτες ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας, ενώ ο δείκτης δομής (SI) μειώθηκε με την προσθήκη χαλκού, αν και αυτή η μείωση βρέθηκε οριακά μη σημαντική. Τα αποτελέσματα για την επίδραση του χαλκού στους οικολογικούς δείκτες είναι λίγο αντιφατικά καθώς αυξήθηκαν στις υψηλότερες δόσεις του χαλκού. Από το διάγραμμα ανάλυσης της νηματωδοκοινότητας οι δυο ανώτερες δόσεις του χαλκού φαίνεται να διαχωρίζονται από τις άλλες επεμβάσεις. Το κάδμιο στις δόσεις που εφαρμόστηκε είχε μικρότερη σχετικά επίδραση στην δομή της νηματωδοκοινότητας γι' αυτό οι περισσότεροι δείκτες της δε επηρεάστηκαν σημαντικά. Από το διάγραμμα ανάλυσης της νηματωδοκοινότητας μόνο η ανώτερη δόση του καδμίου φαίνεται να διαχωρίζεται από τις άλλες επεμβάσεις. Και σε αυτήν την μελέτη η γραφική ανάλυση της νηματωδοκοινότητας διαχωρίζει σαφώς τις δυο περιοχές.

Και στις δυο μελέτες, τα μέταλλα φαίνεται να επηρεάζουν την δομή της νηματωδοκοινότητας καθώς και τις σχετικές αναλογίες των λειτουργικών ομάδων των νηματωδών. Φαίνεται όμως ότι οι νηματώδεις, ακόμα και μέσα στην ίδια λειτουργική ομάδα, μπορεί να παρουσιάζουν διαφορετική ευαισθησία στα μέταλλα. Κάποια γένη που ταξινομούνται στην ίδια τροφική-λειτουργική ομάδα μπορεί να διαφέρουν στην ευαισθησία τους στα μέταλλα ενώ κάποια γένη με χαμηλότερη τιμή της κλίμακας έμμου-αποικιστικού μπορεί να παρουσιάζουν την ίδια ευαισθησία με γένη υψηλότερης κλίμακας, και αυτό είναι ένδειξη ότι η ευαισθησία στα μέταλλα δεν είναι ευθέως ανάλογη

της κλίμακας έμμεσων-αποικιστικών. Αυτό εξηγεί εν μέρει και το γεγονός ότι οι βρέθηκαν διαφορές στις δυο ενότητες σχετικά με τον τρόπο που επηρεάστηκαν από την ρύπανση οι δείκτες της νηματωδοκοινότητας. Ακόμα, λόγω της πολυπλοκότητας του εδαφικού οικοσυστήματος, μια ξενοβιοτική ουσία εκτός από άμεσες επιδράσεις (τοξικότητα), προκαλεί και έμμεσες επιδράσεις, καθώς η άμεση επίδραση μιας ξενοβιοτικής ουσίας σε κάποιο οργανισμό, επηρεάζει έμμεσα και άλλους οργανισμούς με τους οποίους αλληλεπιδρά ο οργανισμός αυτός (ανταγωνιστές, θηρευτές, λεία κλπ). Επίσης σημαντικό ρόλο παίζει και η βιοδιαθεσιμότητα. Δεν είναι πάντα εύκολο να καθορισθούν ποιες από τις μορφές με τις οποίες βρίσκεται μια ξενοβιοτική ουσία στο έδαφος είναι βιοδιαθέσιμες στους οργανισμούς του εδάφους, ούτε αναμένεται η βιοδιαθεσιμότητα να είναι η ίδια για όλους τους οργανισμούς του εδάφους, λόγω διαφορετικής βιοοικολογίας και λειτουργικού του ρόλου στο εδαφικό οικοσύστημα.

Όλα τα μικροαρθρόποδα που εξετάστηκαν, βρέθηκαν ευαίσθητα στην ρύπανση, και ιδίως τα Oribatida και τα Mesostigmata. Από τους δείκτες της νηματωδοκοινότητας που δοκιμάστηκαν, ο δείκτης δομής SI καθώς και το γράφημα της ανάλυσης της νηματωδοκοινότητας βρέθηκαν να είναι τα πιο χρήσιμα εργαλεία για την διάκριση μεταξύ ρυπασμένων και λιγότερο ρυπασμένων περιοχών, καθώς επηρεάστηκαν από την ρύπανση σε όλες τις μελέτες. Οι απόλυτοι αριθμοί των νηματωδών δεν είναι τόσο χρήσιμοι όσο οι δείκτες της νηματωδοκοινότητας.

Σαν γενικό συμπέρασμα η ρύπανση με μέταλλα, επηρεάζει τόσο μεμονωμένους οργανισμούς, όσο και το εδαφικό οικοσύστημα. Μελετώντας το εδαφικό οικοσύστημα μπορούμε να οδηγηθούμε σε συμπεράσματα για την υγεία και την ποιότητα του εδάφους, και ενδεχομένως να εντοπίσουμε επιζήμιες αλλαγές στο οικοσύστημα, και πιθανά προλαβαίνοντας περαιτέρω υποβάθμιση.



---

## **Κεφάλαιο ΙΙΙ. ΥΑΕ και οργανισμοί του εδάφους**



### III.1. Υγρά απόβλητα ελαιουργείων

#### III.1.1. Γενικά

Στην Ελλάδα, όπως και σε άλλες χώρες της λεκάνης της Μεσογείου, η καλλιέργεια της ελιάς είναι μια από τις σημαντικότερες γεωργικές δραστηριότητες, η οποία είναι έντονα συνυφασμένη με την οικονομική, διατροφική και εν γένει κοινωνική - πολιτιστική ταυτότητα των λαών της. Το ελαιόλαδο είναι βασικό συστατικό της κουζίνας της περιοχής, και η βάση της μεσογειακής διατροφής, το δαιτολόγιο της οποίας έχει γίνει παγκόσμια δημοφιλές διότι σύμφωνα με αξιόπιστες επιστημονικές μελέτες είναι ιδιαίτερα υγιεινό, και η τήρηση του του συμβάλλει στην μακροζωία πληθυσμών της Μεσογείου (πχ Κρήτη).

Μια από τις πιο παραδοσιακές και ακμάζουσες βιομηχανίες μεταποίησης γεωργικών προϊόντων στην περιοχή αυτή είναι η βιομηχανία επεξεργασίας του ελαιοκάρπου για την παραγωγή ελαιολάδου. Η διαδικασία εξαγωγής του ελαιολάδου περιλαμβάνει διάφορα στάδια, όπως η πλύση του καρπού με νερό, η άλεση, η μάλαξη (beating) και η εξαγωγή του ελαίου που αποτελεί το βασικό στάδιο της όλης διαδικασίας. Υπάρχουν δυο τεχνικές εξαγωγής του ελαίου (Roig *et al.* 2006):

- Η παραδοσιακή με την οποία το έλαιο εξάγεται με υδραυλική πίεση. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται με ελάχιστες παραλλαγές για πολλούς αιώνες. Μετά την εξαγωγή του ελαίου με την πίεση, παράγεται ένα στερεό υπόλειμμα και ένα γαλάκτωμα που περιέχει το έλαιο το οποίο διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα υγρά απόβλητα με καθίζηση (decantation).
- Η μέθοδος εξαγωγής του ελαίου με φυγοκέντριση, που είναι πιο σύγχρονη καθώς έχει αναπτυχθεί τις τελευταίες δεκαετίες. Χρησιμοποιούνται δύο συστήματα φυγοκέντρισης:
  - Η φυγοκέντριση τριπλής φάσεως, η οποία είναι και η πιο παλαιά. Οι αλεσμένες ελιές προωθούνται σε ένα τριφασικό φυγοκεντρικό διαχωριστήρα (decanter) από όπου ως τελικό προϊόν παράγεται ένα στερεό υπόλειμμα (ελαιοπυρήνας) και δυο υγρά (ελαιόλαδο και υγρά απόβλητα).
  - Η φυγοκέντρισης διπλής φάσεως η οποία χρησιμοποιεί λιγότερο νερό κατά την επεξεργασία, σε σχέση με την φυγοκέντριση διπλής φάσεως. Σε αυτήν την διαδικασία τα τελικά προϊόντα είναι το ελαιόλαδο και υγρός ελαιοπυρήνας (τα υγρά απόβλητα είναι αναμεμιγμένα με το στερεό υπόλειμμα).

Η πλειονότητα των ελαιουργείων είναι φυγοκεντρικού τύπου ο οποίος είναι και ο πιο σύγχρονος, αν και απαντώνται σποραδικά ελαιουργεία παλαιού τύπου (πιεστήρια). Η πλειονότητα των ελαιοτριβείων είναι τριπλής φάσεως αν και τα τελευταία χρόνια ο αριθμός των ελαιοτριβείων διπλής φάσεως αυξάνει. Στα ελαιοτριβεία τριπλής φάσεως, όπως και στα παραδοσιακά ελαιοτριβεία τα τελικά παράγωγα είναι (Ραίχας *et al.* 1999, Κυριτσάκης 2002):

- Ελαιόλαδο, το παραγόμενο ωφέλιμο προϊόν της διαδικασίας, που αντιστοιχεί περίπου στο 20-30% του βάρους του επεξεργαζόμενου ελαιοκάρπου.
- Στερεά υπολείμματα (ελαιοπυρήνας) που αντιστοιχεί περίπου στο 30% του βάρους του επεξεργαζόμενου ελαιοκάρπου. Επεξεργάζεται περαιτέρω για την εξαγωγή του πυρηνελαίου, και το υποπροϊόν αυτής της διαδικασίας το πυρηνόξυλο χρησιμοποιείται κυρίως ως καύσιμη ύλη.
- Υγρά απόβλητα ελαιουργείων (ΥΑΕ), που αντιστοιχούν περίπου στο 40-50% έως και το 140% του βάρους του επεξεργαζόμενου ελαιοκάρπου (ανάλογα και με το πόσο νερό έχει προστεθεί κατά τα στάδια επεξεργασίας του ελαιοκάρπου). Τα υγρά αυτά απόβλητα λέγονται κοινώς κασίγαρος, απόνερα, λιόζουμα κ.α.

Τα ΥΑΕ είναι μείγμα των μαλακών ιστών του ελαιοκάρπου, των υγρών και διαλελυμένων ουσιών που περιέχονται στον καρπό καθώς και του νερού που χρησιμοποιήθηκε στα διάφορα στάδια επεξεργασίας και πλύσης του ελαιοκάρπου. Είναι ένα σκουρόχρωμο θολό υγρό με έντονη δυσάρεστη οσμή, το οποίο περιέχει πλήθος διαλελυμένων και εναιωρούμενων ουσιών και σωματιδίων. Κατά την παραγωγή του όταν είναι φρέσκο έχει ελαφριά μυρωδιά ελαιολάδου, ενώ με τον καιρό, όταν επέλθει ζύμωση έχει μια πιο έντονη μυρωδιά ξινίλας. Η χημική σύσταση των ΥΑΕ ποικίλλει ευρέως και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η ποικιλία του ελαιοκάρπου, ο βαθμός ωρίμανσης κατά την επεξεργασία, οι εδαφοκλιματικές συνθήκες και κυρίως από την μέθοδο επεξεργασίας του ελαιοκάρπου (Cabrerá *et al.* 1996). Οι φυσικοχημικές ιδιότητες και η χημική σύσταση της οργανικής ουσίας των ΥΑΕ σε γενικές γραμμές κυμαίνονται στα όρια όπως παρουσιάζονται στους Πίνακες III.1.1 και III.1.2.

**Πίνακας III.1.1.** Γενικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των ΥΑΕ (από Fiestas 1986, Martínez *et al.* 1986).

ρΗ	4.5-6
Ηλεκτρική αγωγιμότητα (ds/m)	18-22
Βιολογική απαίτηση οξυγόνου BOD (g/l)	35-100
Χημική απαίτηση οξυγόνου COD (g/l)	40-195
Ολικά στερεά (%)	5.5-17.6
Υγρασία (%)	83-94
Οργανική ουσία (g/l)	40-165
Λιπίδια (g/l)	0.3-23
Πολυφαινόλες (g/l)	3-24
Τέφρα (g/l)	5-14
Άζωτο (g/l)	5-15
Φώσφορος (g/l)	0.3-1.1
Κάλιο (g/l)	2.7-7.2
Μαγνήσιο (g/l)	0.12-0.75
Ασβέστιο (g/l)	0.1-0.4
Νάτριο (g/l)	0.04-0.9



**Πίνακας III.1.2.** Σύσταση της οργανικής ουσίας των ΥΑΕ, ως ποσοστό επί της οργανικής ουσίας (από Fiestas 1986, Martinez Nieto & Garrido Hoyos 1994).

Πολυσακχαρίτες	13-53
Έλαια	1-14
Οργανικά οξέα	3-10
Πρωτεΐνες	8-16
Πολυφαινόλες	2-15
Πολυαλκοόλες	3-10

Πάνω από 50 φαινολικές ουσίες, καθώς και πολλές αλκοόλες, αλδεΐδες και άλλα χαμηλού μοριακού βάρους συστατικά έχουν βρεθεί στα ΥΑΕ (Saiz-Jimenez *et al.* 1987). Από αυτά τα συστατικά ιδιαίτερη σημασία έχουν οι πολυφαινόλες, καθώς σε αυτές φαίνεται ότι οφείλονται τρία πολύ σημαντικά χαρακτηριστικά των ΥΑΕ: το σκούρο χρώμα, η αντιβακτηριδιακή δράση και η φυτοτοξικότητα (Gonzalez *et al.* 1990). Τα ΥΑΕ αποτελεί ένα μεγάλης κλίμακας περιβαλλοντικό πρόβλημα, κυρίως εξ αιτίας της κακής μυρωδιάς από τις διαδικασίες ζύμωσης, και την πιθανότητα ρύπανσης των επιφανειακών νερών και των υπόγειων υδροφόρων στρωμάτων (Benitez *et al.* 1997).

### III.1.2. Διαχείριση των ΥΑΕ

Η διαχείριση και η απόθεση των τεράστιων ποσοτήτων ΥΑΕ που παράγονται είναι ένα σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα στις ελαιοκομικές περιοχές. Οι δυσκολίες στην διαχείριση των ΥΑΕ οφείλονται κυρίως στο πολύ υψηλό οργανικό φορτίο (διπλάσιο περίπου από αυτό των αστικών λυμάτων), στην φύση κάποιων συστατικών όπως π.χ. οι φαινόλες και στην εποχιακή παραγωγή του (η οποία συγκεντρώνεται σε 4-5 μήνες τον χρόνο, την περίοδο της ελαιοσυλλογής). Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του καθώς και η παρουσία δύσκολα αποδομούμενων συστατικών επιτείνουν τα προβλήματα διαχείρισης του. Ως περιβαλλοντικό πρόβλημα η διάθεση των ΥΑΕ υφίσταται από χρόνια στην περιοχή της Μεσογείου, αλλά τα τελευταία χρόνια το πρόβλημα έχει αναδειχθεί πιο έντονα εξ' αιτίας κυρίως του ότι (Rozzi & Malpei 1996):

- Η παραγωγή ελαιολάδου έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια.
- Τα ελαιουργεία πιο παλιά ήταν μικρές μονάδες με μικρή ποσότητα επεξεργασίας ελαιοκάρπου το καθένα, και διασκορπισμένα σε μεγαλύτερη έκταση. Αποχέτευαν τις μικρές σχετικά ποσότητες αποβλήτων στο έδαφος ή το υπέδαφος (κυρίως σε καρστικές περιοχές), και οι επιπτώσεις τους αφορούσαν περιοχές πλησίον του ελαιουργείου. Τώρα τα ελαιοτριβεία είναι συνήθως μεγάλες μονάδες που επεξεργάζονται μεγαλύτερες ποσότητες ελαιοκάρπου, ενώ συνδέονται με τα αστικά δίκτυα αποχέτευσης.
- Η ευαισθησία του κόσμου σε ζητήματα προστασίας του περιβάλλοντος και διαχείρισης αποβλήτων έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια.

Οι συνήθειες πρακτικές αποχέτευσης των ΥΑΕ είναι σε τάφρους εξάτμισης προκειμένου να συμπυκνωθεί, στον υδροφόρο ορίζοντα (ρέματα, θάλασσα), στο δίκτυο αποχέτευσης

και στο έδαφος. Σε όλες όμως αυτές τις πρακτικές υπάρχουν σοβαρά μειονεκτήματα.

Η αποχέτευση σε τάφρους έχει αρκετές αρνητικές επιδράσεις στις γειτονικές περιοχές, όπως η εκπομπή άσχημων οσμών από την ζύμωση, ο πολλαπλασιασμός και η εξάπλωση ενοχλητικών εντόμων, η διείσδυση σε κατώτερα εδαφικά στρώματα, καθώς και οι διαρροές. Το κυριότερο μειονέκτημα των τάφρων εξάτμισης είναι η ανεπαρκής ικανότητα μείωσης του όγκου του υλικού, καθώς τα μοντέρνα συστήματα φυγοκέντρωσης τριών φάσεων που είναι τα πιο διαδεδομένα έχουν σχεδόν διπλασιάσει την ποσότητα σε σχέση με τα παραδοσιακού τύπου ελαιοτριβεία (Cabreria *et al.* 1996).

Οι συνέπειες της διοχέτευσης των ΥΑΕ στα συστήματα αποχέτευσης είναι αρκετά σοβαρές, και συσχετίζονται αφενός με την οξύτητα των ΥΑΕ και αφετέρου με την περιεκτικότητα εναιωρούμενων στερεών. Λόγω της υψηλής συγκέντρωσης των οργανικών οξέων (κυρίως πτητικά λιπαρά οξέα), τα ΥΑΕ είναι ιδιαίτερα διαβρωτικά στους σωλήνες των δικτύων αποχέτευσης. Ακόμα και σχετικά μικρές ποσότητες έκχυσης αποβλήτων στους υπονόμους έχουν σημαντικές επιπτώσεις στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας αποβλήτων, καθώς η ρύπανση από 1m<sup>3</sup> ΥΑΕ αντιστοιχεί σε 100-200m<sup>3</sup> των αστικών λυμάτων. Αυτή η υπερφόρτωση μπορεί να έχει δραματικές επιπτώσεις, λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι σε μερικές περιοχές το ρυπογόνο φορτίο λόγω του ΥΑΕ κατά την ελαιοκομική περίοδο, μπορεί να είναι αρκετά υψηλότερο από το φορτίο των άλλων λυμάτων. Επιπλέον τα αιωρούμενα στερεά καθιζάνουν στους σωλήνες αποχέτευσης και δημιουργείται ίζημα, που παρεμποδίζει την ομαλή ροή των λυμάτων τα οποία επίσης καθιζάνουν. Το μείγμα των αστικών απόβλητων και των ΥΑΕ υφίσταται αναερόβια ζύμωση με αποτέλεσμα την δημιουργία άσχημων οσμών και την αύξηση της οξύτητας των αποβλήτων (Rozzi & Malpei 1996).

Η εναπόθεση στον υδροφόρο ορίζοντα είναι μια άλλη τακτική που εφαρμόζεται στην πράξη. Λόγω όμως του υψηλού οργανικού φορτίου που περιέχει είναι πιθανόν να εμφανισθούν συμπτώματα ευτροφισμού. Ακόμα τα ΥΑΕ έχουν βρεθεί να είναι τοξικά σε υδρόβιους οργανισμούς τόσο του γλυκού όσο και του αλμυρού νερού (Paixao *et al.* 1999, Paixao & Anselmo 2002, Fiorentino *et al.* 2003, Fiorentino *et al.* 2004). Επιπλέον, οι χηλικές ενώσεις των ΥΑΕ, μπορούν να συμβάλουν στην κράτηση μερικών τοξικών βαρέων μετάλλων σε διαλυτή μορφή, αποτελώντας έναν επιπλέον παράγοντα ρύπανσης των νερών. Για τα ΥΑΕ, μια ελάχιστη διάλυση στις 1:5000 απαιτείται για να απορριφθεί με ασφάλεια σε ρέματα. Επειδή η τελευταία ενέργεια δεν είναι πάντα δυνατή στις ημιξηρικές περιοχές της λεκάνης της Μεσογείου, η χρήση μιας οικονομικής και αποτελεσματικής επεξεργασίας για την μείωση της ρυπαντικής ικανότητας είναι ιδιαίτερα σημαντική (Rivas *et al.* 2001).

Για τον περιορισμό των περιβαλλοντικών επιπτώσεων δοκιμάζονται, τουλάχιστον σε ερευνητικό / πιλοτικό επίπεδο διάφορες μέθοδοι μεταχείρισης των ΥΑΕ (βιολογικές, φυσικοχημικές, φιλτράρισμα, εξάτμιση) προκειμένου να μειωθεί τόσο ο τελικός όγκος των ΥΑΕ, όσο και κάποια δυσμενή χαρακτηριστικά του (οξύτητα, οργανικό φορτίο κ.α.). Οι

διάφορες μεταχειρίσεις μειώνουν την τοξικότητα των ΥΑΕ, τόσο σε υδρόβιους οργανισμούς και χερσαίους μικροοργανισμούς, όσο και την φυτοτοξικότητα του όπως έχει ευρεθεί από αρκετές μελέτες (Yesilada *et al.* 1999, Casa *et al.* 2003, Fillidei *et al.* 2003, Davies *et al.* 2004, Cereti *et al.* 2004, D' Anibale *et al.* 2004, Fiorentino *et al.* 2004, Isidori *et al.* 2004, Komilis *et al.* 2005, Mekki *et al.* 2008).

Από τα ΥΑΕ εκτός μπορεί να προκύψουν και δυνατότητες αξιοποίησής του. Για παράδειγμα τα ΥΑΕ περιέχει ωφέλιμες ουσίες που πρέπει να ταυτοποιηθούν. Μερικές από αυτές διεγείρουν τα νιτροποιητικά βακτήρια, συμβάλλουν στην σταθερότητα των εδαφικών συσσωματωμάτων, παρεμποδίζουν εδαφογενή παθογόνα (*Pythium* spp., *Phytophthora* spp.) ή αποτελούν σημαντικές πρώτες ύλες για βιοτεχνολογικά προϊόντα. Η μεταχείριση των ΥΑΕ δεν πρέπει να λαμβάνει υπόψιν μόνο το περιβαλλοντικό κόστος, αλλά επίσης το ενδεχόμενο εκμετάλλευσης των ωφελίμων συστατικών. Υπάρχουν δυνατότητες εκμετάλλευσης των ΥΑΕ λίπασμα για τις καλλιέργειες, στην βιομηχανία τροφίμων, ως μέσου ανάπτυξης αλγών, ανάπτυξη βιοπολυμερών όπως πολυσακχαρίτες και βιοδιασπώμενα πλαστικά, για παραγωγή βιοενέργειας, στην φαρμακευτική βιομηχανία κ.α. (Ramos-Cormezana *et al.* 1995).

### III.1.3. Εναπόθεση των ΥΑΕ στο έδαφος

Η απόθεση στο έδαφος είναι το αρχαιότερο σύστημα για την διαχείριση των αποβλήτων, χρησιμοποιείται και για τα ΥΑΕ όπως και για άλλα απόβλητα που παράγει η σύγχρονη κοινωνία, και βασίζεται στην μεγάλη βιοαποδομητική ικανότητα των εδαφών. Μετά από ένα διάστημα βιοαποδόμησης το έδαφος εμπλουτίζεται με οργανική ουσία και θρεπτικά συστατικά. Τα απόβλητα για να διατεθούν στο έδαφος πρέπει να πληρούν τις παρακάτω ιδιότητες (Cabrerera *et al.* 1996):

- Να είναι εξ ολοκλήρου η εν μέρει βιοαποδομήσιμα.
- Οι ενδογενείς μικροοργανισμοί του εδάφους να μπορούν να επιβιώσουν και να λειτουργήσουν στις δόσεις του απόβλητου που πρόκειται να εναποτεθούν.
- Να μην προκαλούνται μακρόχρονες τοξικές επιδράσεις συσσωρευόμενων υλικών και προσροφόμενων ιόντων.
- Πρακτικός και λογικός ρυθμός εναπόθεσης που να μην προκαλεί ρύπανση του υπογείου υδροφόρου ορίζοντα από τοξικά συστατικά ούτε να επιτρέψουν είσοδό τους στην τροφική αλυσίδα ώστε ο τόπος απόθεσης να παραμείνει περιβαλλοντικά ασφαλής.
- Το κόστος της μεταχείρισης σε σχέση με τις άλλες εναλλακτικές μεθόδους μεταχείρισης του απόβλητου να είναι σε λογικά πλαίσια.
- Η εναπόθεση να αφήσει το έδαφος τουλάχιστον το ίδιο παραγωγικό με πριν.
- Οι περιοχές που θα αποτεθούν να συνδυάζουν τοπογραφικά, πεδολογικά, κλιματολογικά και υδρογεωλογικά χαρακτηριστικά συμβατά με την φύση το σχέδιο

και τον ρυθμό απόθεσης του απόβλητου.

Για να είναι η απόθεση στο έδαφος των ΥΑΕ αποδεκτή από περιβαλλοντολογικής απόψεως, απαιτείται ένα επίπεδο τεμάχιο γης κοντά στο ελαιουργείο όπου το έδαφος έχει ικανοποιητικό πορώδες, διαπερατότητα και υδραυλική αγωγιμότητα, επιτρέποντας την διήθηση, ώστε να μην έχουμε λίμνασμα και απορροή. Επίσης θα πρέπει να υπάρχει ένα αδιαπέραστο εδαφικό στρώμα πάνω από τον υδροφόρο ορίζοντα έτσι ώστε να αποφευχθεί η ρύπανση των υπογείων υδάτων. Επίσης πρέπει να υπάρχει χαμηλή βροχόπτωση και υψηλή εξάτμιση. Το χαμηλό κόστος των συστημάτων άρδευσης και της απαραίτητης γης επιτρέπει σε μικρά ή μεσαίου μεγέθους ελαιουργεία, να χρησιμοποιήσουν αυτήν την μέθοδο χωρίς βαρείες επενδύσεις (Cabreria *et al.* 1996).

Με την εναπόθεση των ΥΑΕ στο χώμα, προστίθενται στο έδαφος νερό και θρεπτικά στοιχεία. Οι δόσεις μπορεί να είναι έως 80m<sup>3</sup>/εκτάριο, όριο το οποίο έχει θεσπισθεί από την νομοθεσία χωρών της Μεσογείου (Ιταλία) καθώς πάνω από αυτό φαίνεται να υπάρχουν αρνητικές επιδράσεις. Οι περιορισμοί σε αυτήν την πρακτική έχουν σχέση με την φυτοτοξικότητα λόγω της περιεκτικότητας σε φαινόλες τανίνες και άλατα. Όταν εναποτίθενται στο έδαφος, τα ΥΑΕ το εμπλουτίζουν με θρεπτικά στοιχεία, αλλά έχουν βρεθεί και αρνητικές επιπτώσεις, όπως ο γρήγορος κορεσμός και η μόλυνση από φαινόλες, οι οποίες βιοδιασπώνται δύσκολα, ειδικά εκείνες που ακινητοποιούνται στα βαθιά στρώματα (Zenzari & Nezmeddine 2001). Μέτριες όμως δόσεις των ΥΑΕ φαίνεται να έχουν ευεργετικές επιδράσεις, αυξάνοντας την γονιμότητα και τους μικροβιακούς πληθυσμούς, ιδίως τα νιτροποιητικά βακτήρια, βελτιώνουν την σταθερότητα των συσσωματωμάτων και ως κάποιο βαθμό την απόδοση της καλλιέργειας (Cabreria *et al.* 1996).

Η προσθήκη ΥΑΕ στο έδαφος έχει βρεθεί να εμπλουτίζει το έδαφος με οργανική ουσία καθώς και θρεπτικά συστατικά, όπως άζωτο, φώσφορο και κάλιο (Zenzari & Nezmeddine 2001, Sierra *et al.* 2001, Piotrowska *et al.* 2006, Lopez-Pineiro *et al.* 2008, El Hadrami *et al.* 2004, Di Serio *et al.* 2008). Παράλληλα όμως αυξάνει και την ηλεκτρική αγωγιμότητα και την αλατότητα του εδάφους (Zenzari & Nezmeddine 2001, Sierra *et al.* 2001, Cabreria *et al.* 1996, El Hadrami *et al.* 2004). Επίσης εμπλουτίζουν το έδαφος και με φαινόλες ( Zenzari & Nezmeddine 2001, Sierra *et al.* 2001, Di Serio *et al.* 2008) οι οποίες έχουν αντιμικροβιακές και φυτοτοξικές ιδιότητες. Όσον αφορά την δομή του εδάφους οι Lopez-Pineiro *et al.* 2008 βρήκαν ότι προσθήκη ΥΑΕ βελτιώνει την σταθερότητα των εδαφικών συσσωματωμάτων ενισχύοντας την δομή του εδάφους. Οι Cox *et al.* 1997 έδειξαν ότι η προσθήκη ΥΑΕ επίσης επηρεάζει το πορώδες του εδάφους μειώνοντάς το, καθώς μειώνονται οι μεγάλοι πόροι (διαμέτρου >0.01μm) και αυξάνονται οι μικροί πόροι (διαμέτρου <0.01μm).

## **III.2. Επίδραση των υγρών αποβλήτων ελαιουργίας (ΥΑΕ) μικροπανίδα του εδάφους (ακάρεια, κολέμβολα, νηματώδεις) καθώς και στην μικροβιακή δραστηριότητα σε δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας**

### **III.2.1. Εισαγωγή**

Στις ελαιοκομικές περιοχές ένα από τα σημαντικά περιβαλλοντικά προβλήματα είναι και η διαχείριση των τεραστίων ποσοτήτων των ΥΑΕ που παράγονται κατά την διάρκεια της ελαιοκομικής περιόδου. Η διαχείριση των ΥΑΕ είναι αρκετά δυσχερής σε ελαιοκομικές περιοχές, λόγω του ότι παράγεται σε μεγάλες ποσότητες (περίπου 40-50% του βάρους του επεξεργαζόμενου ελαιοκάρπου) ενώ η συνολική παραγωγή του είναι συγκεντρωμένη σε 3-4 μήνες τον χρόνο, στις δυσμενείς ως προς την διαχείριση φυσικοχημικές του ιδιότητες, (υψηλό οργανικό του φορτίο, όξινο pH, φαινόλες), καθώς και στην φυτοτοξικότητά του η τοξικότητα του σε έμβιους οργανισμούς με αποτέλεσμα να είναι ένα ιδιαίτερα σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα για ελαιοκομικές περιοχές όπως η λεκάνη της Μεσογείου. Επιπλέον οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του και η παρουσία δύσκολα αποδομούμενων συστατικών επιτείνουν τα προβλήματα διαχείρισης του (Rozzi & Malpei 1996, Piotrowska *et al.* 2006). Η απόθεση των ΥΑΕ αποτελεί ένα μεγάλης κλίμακας περιβαλλοντικό πρόβλημα, κυρίως εξ αιτίας της έντονα δυσάρεστης οσμής που διαχέεται στην περιοχή απόθεσης από τις διαδικασίες ζύμωσης του, καθώς και την πιθανότητα ρύπανσης των επιφανειακών νερών και των υπόγειων υδροφόρων στρωμάτων (Benitez *et al.* 1997).

Οι συνήθεις πρακτικές διαχείρισης των ΥΑΕ είναι απόθεση σε τάφρους εξατμίσης προκειμένου να συμπυκνωθεί, στον υδροφόρο ορίζοντα (ρέματα, θάλασσα), στο δίκτυο αποχέτευσης και στο έδαφος. Η απόθεση στο έδαφος είναι το αρχαιότερο σύστημα για την διαχείριση των αποβλήτων, χρησιμοποιείται και για τα ΥΑΕ όπως και για άλλα απόβλητα που παράγει η σύγχρονη κοινωνία, και βασίζεται στην μεγάλη βιοαποδομητική ικανότητα των εδαφών. Μετά από ένα διάστημα βιοαποδόμησης το έδαφος εμπλουτίζεται με οργανική ουσία και θρεπτικά συστατικά. Τα ΥΑΕ περιέχουν εκτός από οργανικά συστατικά και σημαντικές ποσότητες θρεπτικών ουσιών και μπορεί να αποτελέσει μια σημαντική χαμηλού κόστους πηγή νερού για την περιοχή της Λεκάνης της Μεσογείου όπου χαρακτηρίζεται από ανεπάρκεια υδατίνων πόρων καθώς και από εδάφη κατά κανόνα όχι ιδιαίτερα πλούσια σε οργανική ουσία χρήση τέτοιων αποβλήτων για λίπανση και άρδευση μπορεί να είναι διπλά ωφέλιμη. Η εφαρμογή των ΥΑΕ στο έδαφος είτε σε ανεπεξέργαστη μορφή είτε μετά από κομποστοποίηση και η ενσωμάτωσή τους σε αποδεκτές ποσότητες μπορεί να αποτελέσει μια αποτελεσματική μέθοδο για εμπλουτισμό του εδάφους με θρεπτικά στοιχεία βελτίωση της γονιμότητας των εδαφών και κατά συνέπεια αύξηση της

παραγωγής όπως έχει φανεί από αρκετές μελέτες (Cabrera *et al.* 1996, Zenzari & Nezmeddine 2001, Sierra *et al.* 2001, Piotrowska *et al.* 2006, Lopez-Pineiro *et al.* 2008, El Hadrami *et al.* 2004, Di Serio *et al.* 2008, Aqueel & Hameed 2007). Σε χώρες της λεκάνης της Μεσογείου (Ιταλία) έχουν νομοθετικά καθοριστεί όρια απόθεσης στο έδαφος ΥΑΕ.

Ένα από τα ζητήματα που τίθενται κατά την εναπόθεση των ΥΑΕ στο έδαφος είναι και η επίδρασή του τόσο στις φυσικοχημικές ιδιότητες των εδαφών, όσο και στους οργανισμούς του εδάφους και το εδαφικό οικοσύστημα γενικότερα. Αν και υπάρχουν δεδομένα την επίδραση των ΥΑΕ στις φυσικοχημικές ιδιότητες των εδαφών (Zenzari & Nezmeddine 2001, Sierra *et al.* 2001, Piotrowska *et al.* 2006, Lopez-Pineiro *et al.* 2008, El Hadrami *et al.* 2004, Di Serio *et al.* 2008), για τις επιπτώσεις σε φυτά (D' Anibale *et al.* 2004, Casa *et al.* 2003, Cayuela *et al.* 2007, Montemurro *et al.* 2003) καθώς και στους μικροοργανισμούς του εδάφους (Di Serio *et al.* 2008, Karpouzas *et al.* 2010, Roussidou *et al.* 2010), δεν υπάρχουν δεδομένα για την επίδραση των ΥΑΕ στην πανίδα του εδάφους. Η τοξικολογική αξιολόγηση των υγρών αποβλήτων και οι τοξικές επιδράσεις στο περιβάλλον της απόθεσης είναι κρίσιμες για την σωστή διαχείριση των αποβλήτων καθώς και των σχεδίων παρακολούθησης (Petala *et al.* 2006). Αγροβιομηχανικά απόβλητα σε χώρες με υψηλή πρωτογενή παραγωγή όπως η Ελλάδα μπορούν να αποτελέσουν σημαντικά περιβαλλοντολογικά προβλήματα (Rouvalis *et al.* 2010).

Οι οργανισμοί του εδάφους είναι σημαντικοί για την σωστή λειτουργία του. Οι νηματώδεις είναι σημαντικοί παράγοντες του εδαφικού οικοσυστήματος και αρκετοί ερευνητές έχουν προτείνει και χρησιμοποιήσει τους νηματώδεις για τον έλεγχο της ποιότητας του εδάφους (για παράδειγμα Bongers 1990, Yeates *et al.* 1993, Blair *et al.* 1996, Bongers & Ferris 1999, Ferris *et al.* 2001, Neher 2001). Τα μικροαρθρόποδα επηρεάζουν σημαντικές εδαφικές λειτουργίες ενώ επηρεάζονται από την κατάσταση στην οποία βρίσκεται το έδαφος, και έτσι μπορούν να θεωρηθούν ως βιοδείκτες της υγείας του εδάφους (Seasted 1984, Arroyo & Iturrondobeitia 2006). Οι μικροοργανισμοί αποτελούν το μεγαλύτερο κλάσμα της ζώσας οργανικής ουσίας. Η μικροβιακή δραστηριότητα σχετίζεται με την αποσύνθεση της οργανικής ουσίας, την ανοργανοποίηση και την κινητικότητα των ξενοβιοτικών ουσιών, αποτελώντας έτσι μια σημαντική παράγραφο του βιογεωχημικού τους κύκλου (Schloten *et al.* 2003), και η ποσοτικοποίηση της είναι σημαντική για την κατανόηση και την εκτίμηση της εδαφικής λειτουργίας.

Οι εργαστηριακές βιοδοκιμές είναι χρήσιμες για την μελέτη της τοξικότητας ξενοβιοτικών ουσιών σε οργανισμούς του εδάφους. Το εδαφικό οικοσύστημα είναι όμως αρκετά πολύπλοκο και οι βιοδοκιμές αυτές δεν μπορούν να απεικονίσουν όλες της επιδράσεις ενός ρύπου οι οποίες άμεσα ή έμμεσα επιδρούν σε κάποιον οργανισμό. Επιπλέον οι τεχνητές συνθήκες διεξαγωγής του πειράματος δημιουργούν δυσκολίες στην γενίκευση των αποτελεσμάτων τέτοιων πειραμάτων στην φύση (Sheppard 1977, Murray

et al 2000, Edwards 2002). Τα πειράματα που χρησιμοποιούν μικρόκοσμους ή μεσόκοσμους, δίνουν πιο ρεαλιστικές προσεγγίσεις για την μελέτη των επιπτώσεων των ρύπων σε ασπόνδυλους οργανισμούς του εδάφους σε σχέση με τις εργαστηριακές βιοδοκιμές, καθώς αυξάνεται ο ρεαλισμός (Clements 1994, Bogomolov *et al.* 1996, Gillet *et al.* 1989, Parmelee *et al.* 1996).

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εξετασθούν οι επιπτώσεις των ΥΑΕ στα μικροαρθρόποδα του εδάφους (ακάρεα, Collembola) στους νηματώδεις του εδάφους καθώς και στην μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους, σε συνάρτηση και με την εδαφική υγρασία.

### III.2.2. Υλικά και μέθοδοι

Τα πειράματα διεξήχθησαν σε πλαστικά δοχεία (γλάστρες) με χώμα, χωρητικότητας 1.5L. Το χώμα που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από πειραματικό αγρό του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Το έδαφος που χρησιμοποιήθηκε ήταν ιλυοπηλώδες όπως προσδιορίστηκε με την μέθοδο του Βουγιούκου, με pH=6.4 (1:2 H<sub>2</sub>O), ενώ η οργανική του ουσία προσδιορίστηκε σε 2.8% με την μέθοδο των Walkley - Black.

Στις γλάστρες, προστέθηκαν ΥΑΕ σε δόσεις 0, 50 και 100ml ΥΑΕ ανά kg ξηρού βάρους χώματος σε εδαφική υγρασία στο 70% της υδατοϊκανότητας του εδάφους και 0, 50 και 200ml ΥΑΕ ανά kg ξηρού βάρους χώματος σε εδαφική υγρασία στο 100% της υδατοϊκανότητας του εδάφους. Τα ΥΑΕ προστέθηκαν στο χώμα ποτίζοντας τις γλάστρες με κατάλληλη ποσότητα ΥΑΕ ή/και νερού, έτσι ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή δόση στο επιθυμητό επίπεδο εδαφικής υγρασίας. Οι γλάστρες διατηρούνταν σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο. Ανά δυο ημέρες οι γλάστρες ποτίζονταν για να διατηρήσουν το επιθυμητό επίπεδο υγρασίας. Για να επιτευχθεί αυτό η κάθε γλάστρα ζυγίζονταν, και η απώλεια βάρους που είχε θεωρούνταν ότι οφείλονταν σε απώλεια υγρασίας η οποία συμπληρώνονταν με την ανάλογη ποσότητα νερού. Για κάθε επέμβαση χρησιμοποιήθηκαν 18 γλάστρες. Από κάθε επέμβαση 6 γλάστρες καταστρέφονταν σε 15, 30 και 60 ημέρες από την εγκατάσταση των πειραμάτων και το χώμα χρησιμοποιούνταν για τις βιολογικές αναλύσεις.

Χρησιμοποιήθηκαν ΥΑΕ από ελαιοτριβείο 3 φάσεων από την περιοχή της Μεγαλόπολης Αρκαδίας. Η ποικιλία από όπου προήλθαν τα ΥΑΕ είναι η "Μαστοειδής". Στο δείγμα των ΥΑΕ μετρήθηκε το pH, ενώ επίσης υπολογίσθηκαν οι ολικές φαινόλες με την μέθοδο Folin-Ciocalteu καθώς και η χημική απαίτηση οξυγόνου.

Η Χημική Απαίτηση Οξυγόνου (Chemical Oxygen Demand - COD), δηλαδή το οξυγόνο που απαιτείται για την πλήρη οξειδωση των περιεχόμενων οργανικών ουσιών, είναι μια πολύ σημαντική ιδιότητα των υγρών αποβλήτων. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή αυτή, τόσο πιο υψηλό είναι το οργανικό φορτίο των υγρών αποβλήτων και κατ' επέκτασιν

τόσο πιο δυσμενής είναι η διαχείριση τους. Η μεθοδολογία προσδιορισμού που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη είναι η 410.4 που προτείνεται από την υπηρεσία προστασίας του περιβάλλοντος των Η.Π.Α. (U.S.E.P.A. 1978, Jirka & Carter 1975). Οι οργανικές ουσίες του δείγματος των ΥΑΕ οξειδώθηκαν από το οξειδωτικό διχρωμικό κάλιο ( $K_2Cr_2O_7$ ) σε όξινο περιβάλλον, παρουσία θειικού οξέος ( $H_2SO_4$ ) και θειικού αργύρου ( $Ag_2SO_4$ ) ως καταλύτη. Στην συνέχεια το  $K_2Cr_2O_7$  που καταναλώθηκε, μετράται με φασματοφωτόμετρο, καθώς όταν το  $Cr_2O_7^{2-}$  ανάγεται σε  $Cr^{3+}$  και το διάλυμα μετατρέπεται από πορτοκαλόχρουν σε πρασινωπό, και μετράται με φασματοφωτόμετρο.

Οι φαινολικές ουσίες που υπάρχουν στα ΥΑΕ θεωρούνται ως οι κύρια υπεύθυνες για την τοξικότητά του. Για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Folin-Ciocalteu, σύμφωνα με την τεχνική που προτείνεται από τον Box (1983). Στο δείγμα των ΥΑΕ προστίθεται το αντιδραστήριο Folin - Ciocalteu {διάλυμα μολυβδοφωσφορικού οξέος  $[(MO_3)_{12} \cdot H_3PO_4]$  και φωσφοροβολφραμικού οξέος  $(3H_2O \cdot P_2O_5 \cdot 24WO_3 \cdot 59H_2O)$ }. Καθώς τα οξειδία των μετάλλων του αντιδραστηρίου ανάγονται από τις φαινολικές ουσίες του υπό εξέταση δείγματος, το διάλυμα μεταχρωματίζεται από πρασινωπό σε μπλε, και μετράται με φασματοφωτόμετρο.

Η μικροβιακή δραστηριότητα εκτιμήθηκε με την μέτρηση της βασικής αναπνοής (Basal Respiration). Η μικροβιακή βιομάζα εκτιμήθηκε με την μέθοδο της επαγόμενης δια υποστρώματος αναπνής (Substrate Induced Respiration). Τα μικροαρθρόποδα συλλέχθηκαν από το χώμα με την μέθοδο Berlese-Tullgren, καταμετρήθηκαν τα Collembola και τα ακάρεα τα οποία διαχωρίστηκαν σε επίπεδο τάξεως, με την βοήθεια στερεοσκοπίου. Οι νηματώδεις εξάχθηκαν από το χώμα με την μέθοδο των Whitehead & Hemming (1965), καταμετρήθηκαν, και έγιναν μικροσκοπικά παρασκευάσματα για περίπου 150 άτομα, τα οποία ταξινομήθηκαν σε επίπεδο γένους ή οικογένειας, με την βοήθεια μικροσκοπίου μεγέθυνσης 400X, ταξινομήθηκαν σε τροφικούς τύπους (Yeates *et al.* 1993) ενώ υπολογίσθηκαν και οι ακόλουθοι δείκτες της νηματωδοκοινότητας: δείκτες ωριμότητας (MI, ΣMI, ΣMI<sub>2-5</sub>, PPI), θεμελιώδους κατάστασης (BI), οδού αποσύνθεσης (CI), εμπλουτισμού (EI) και δομής (SI). Ακόμα υπολογίσθηκαν για τους νηματώδεις και οι οικολογικοί δείκτες αφθονίας του Margalef (R1), ποικιλότητας του Shannon (H'), κυριαρχίας του Simpson (λ), και ισομέρειας του Hill (E5). Η ακριβής μεθοδολογία των βιολογικών αναλύσεων περιγράφεται στο παράρτημα Α.

Τα πειραματικά δεδομένα αναλύθηκαν με την μέθοδο της διπαραγοντικής ανάλυσης της διασποράς (2-way ANOVA) για τους παράγοντες δόση ΥΑΕ και ημερομηνία εκτίμησης για κάθε επίπεδο υδατοϊκανότητας ξεχωριστά. Όταν οι αναλύσεις έδειξαν σημαντική αλληλεπίδραση, έγιναν συγκρίσεις των απλών κύριων επιδράσεων του κάθε παράγοντα στα επίπεδα του άλλου παράγοντα. Αν οι αναλύσεις έδειχναν μη σημαντική αλληλεπίδραση, ή εάν η αλληλεπίδραση ήταν μεν σημαντική αλλά είχε αρκετά μικρότερη αλληλεπίδραση στην συνολική παραλλακτικότητα από ότι η απλές κύριες επιδράσεις και



μπορούσε να θεωρηθεί αμελητέα, γίνονταν συγκρίσεις μεταξύ των περιθωριακών μέσων. Οι συγκρίσεις των μέσων (περιθωριακών ή απλών κύριων επιδράσεων) έγιναν με την δοκιμασία του Tukey (Tukey HSD test) σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0.05$ . Τα αποτελέσματα των συγκρίσεων των μέσων παρουσιάζονται στα διαγράμματα. Μέσοι που δεν διαφέρουν σημαντικά σημειώνονται με το ίδιο γράμμα. Στις συγκρίσεις των περιθωριακών μέσων έχουν χρησιμοποιηθεί γράμματα με κανονική γραφή ενώ στις συγκρίσεις των απλών κύριων επιδράσεων έχουν χρησιμοποιηθεί πλάγια γράμματα (*italics*). Με κεφαλαία γράμματα σημειώνονται οι συγκρίσεις μεταξύ των δόσεων των ΥΑΕ (είτε αφορούν απλές κύριες επιδράσεις είτε περιφερειακούς μέσους), ενώ αντίστοιχα με μικρά γράμματα σημειώνονται οι συγκρίσεις μεταξύ των ημερομηνιών εκτίμησης. Επίσης, για τη μελέτη της επίδρασης της υγρασίας, τα δεδομένα αναλύθηκαν και με τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς (3-way ANOVA) για τους παράγοντες δόση ΥΑΕ, εδαφική υγρασία και ημερομηνία εκτίμησης, εξαιρώντας τα δεδομένα των υψηλότερων δόσεων. Σε περίπτωση που δεν εκπληρώνονταν οι προϋποθέσεις της στατιστικής ανάλυσης (έλλειψη ομοιογένειας διασπορών) έγινε κατάλληλη μετατροπή των δεδομένων (στον φυσικό τους λογάριθμο ή στην τετραγωνική τους ρίζα).

### **III.2.3. Αποτελέσματα**

#### **III.2.3.1. Χαρακτηριστικά ΥΑΕ**

Το pH των ΥΑΕ βρέθηκε 4.6, οι ολικές φαινόλες 4.7g/L ενώ η χημική απαίτηση οξυγόνου 103g/L.

#### **III.2.3.2. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή**

Στους πίνακες (III.2.3 και III.2.4) παρουσιάζεται η στατιστική ανάλυση για την επίδραση της δόσης των ΥΑΕ, του χρόνου καθώς και της εδαφικής υγρασίας στην μικροβιακή αναπνοή (βασική και επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή) του εδάφους. Στο Διάγραμμα III.2.1 παρουσιάζονται οι τιμές της μικροβιακής αναπνοής για κάθε συνδυασμό παραγόντων.

Η βασική αναπνοή στην χαμηλότερη υγρασία αυξάνονταν σημαντικά με την δόση των ΥΑΕ, ενώ στις 30 ήμερες ήταν σημαντικά χαμηλότερη από τις 15 και 60 ημέρες. Στην υψηλότερη υγρασία επίσης αυξάνονταν σημαντικά με την δόση των ΥΑΕ, ενώ την υψηλότερη και χαμηλότερη τιμή της είχε στις 60 και 30 ημέρες αντίστοιχα.

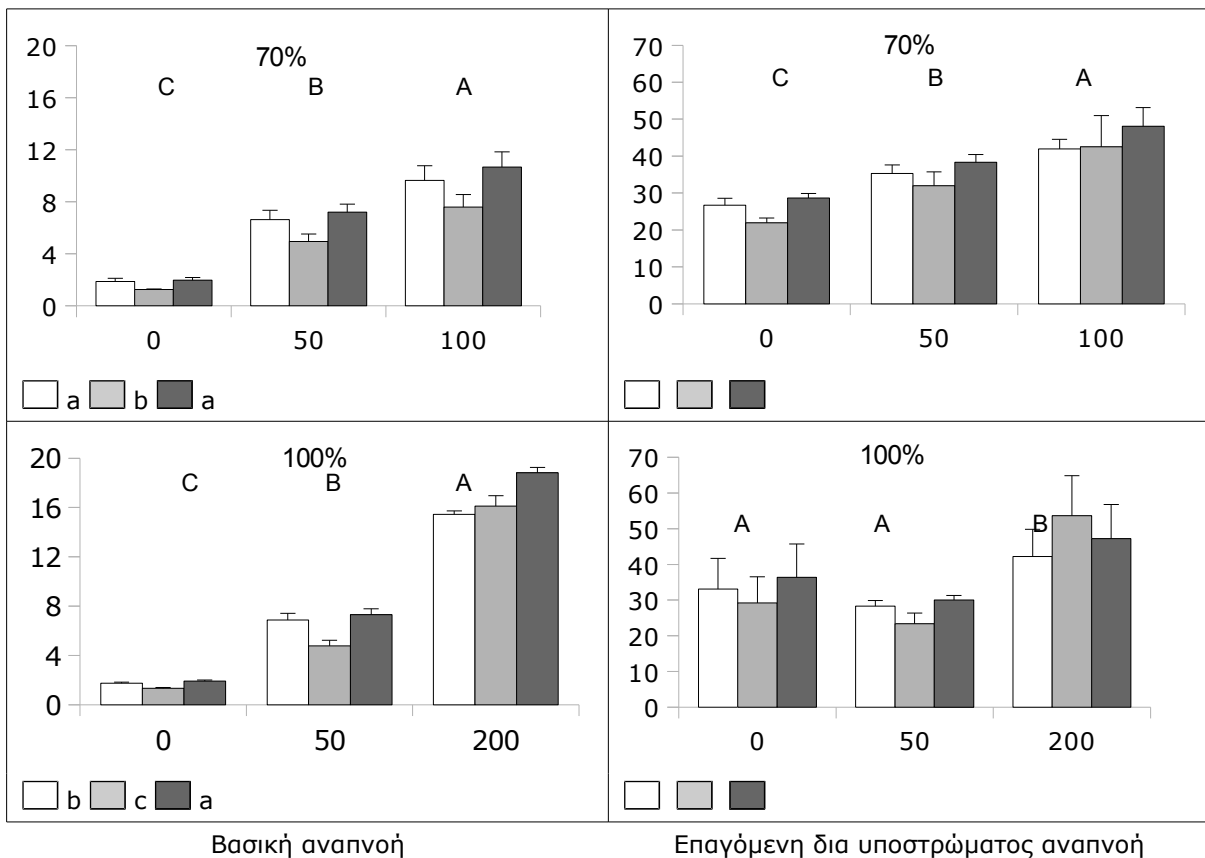
Η επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή στη χαμηλότερη υγρασία αυξάνονταν σημαντικά με την δόση των ΥΑΕ, ενώ στην υψηλότερη υγρασία η δόση των 200ml/Kg βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη από τις δόσεις των 0 και 50ml/Kg. Η επαγόμενη

δια υποστρώματος αναπνοή δεν επηρεάστηκε από τον χρόνο.

Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς (αφαιρώντας τις ανώτερες δόσεις) τόσο η βασική όσο και η επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται από την υγρασία.

**Πίνακας III.2.3.** Επίδραση της δόσης των ΥΑΕ καθώς και του χρόνου στην βασική μικροβιακή αναπνοή του εδάφους (Β.Α.) καθώς και στην επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή (Ε.Α.) στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (Διπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς).

Υγρασία	Παράγοντες	Βαθμοί ελευθερίας	Β.Α.		Ε.Α.	
			F	p	F	P
70%	δόση	2 & 45	125,30	0,000	18,04	0,000
	χρόνος	2 & 45	7,71	0,001	2,76	0,074
	δόσηΧχρόνος	4 & 45	0,22	0,923	0,09	0,984
100%	δόση	2 & 45	1085,30	0,000	5,71	0,006
	χρόνος	2 & 45	18,14	0,000	0,24	0,790
	δόσηΧχρόνος	4 & 45	3,91	0,008	0,43	0,778



**Διάγραμμα III.2.1.** Μέσοι όροι ( $\pm$  τυπικό σφάλμα) της βασικής μικροβιακής αναπνοής και της επαγόμενης δια υποστρώματος μικροβιακής αναπνοής (σε mg CO<sub>2</sub> / χγρ εδάφους / ώρα) σε σχέση με την δόση των ΥΑΕ (σε ml/Kg χώματος - άξονας X) στις τρεις ημερομηνίες εκτίμησης (σε ημέρες 0 , 30 και 60 ) και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας.

**Πίνακας III.2.4.** Επίδραση του χρόνου, της εδαφικής υγρασίας και της δόσης των ΥΑΕ (για τις δόσεις 0 και 50ml/Kg εδάφους στην βασική μικροβιακή αναπνοή του εδάφους (Α) καθώς και στην επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή (Β στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (Τριπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς).

Παράγοντες	Βαθμοί ελευθερίας	Β.Α.		Ε.Α.	
		F	p	F	p
δόση	1 & 60	525,82	0,000	1,321	0,255
χρόνος	2 & 60	19,56	0,000	2,951	0,060
υγρασία	1 & 60	0,004	0,950	0,283	0,597
δόσηΧχρόνος	2 & 60	2,05	0,137	0,002	0,998
δόσηΧυγρασία	1 & 60	0,057	0,811	7,451	0,008
χρόνοςΧυγρασία	2 & 60	0,006	0,994	0,002	0,998
δόσηΧχρόνοςΧυγρασία	2 & 60	0,186	0,831	0,052	0,949

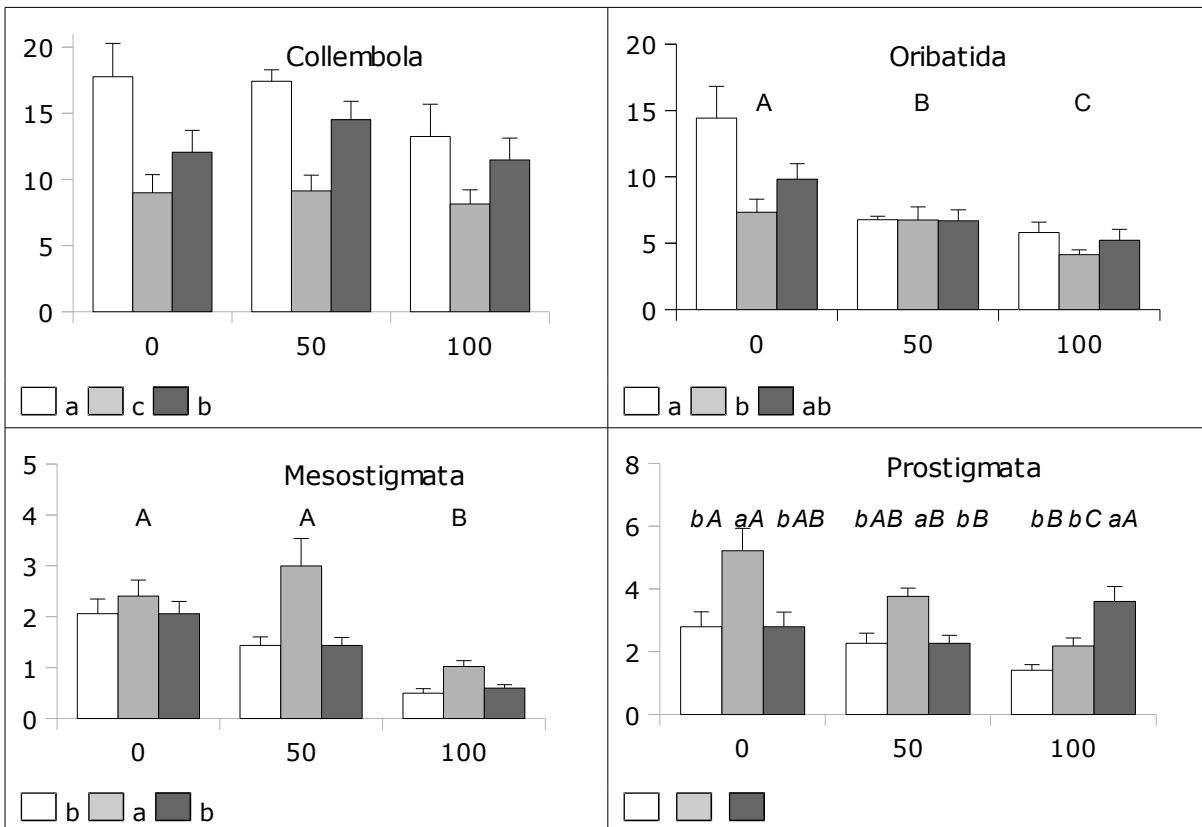
### III.2.3.3. Μικροαρθρόποδα

Οι πληθυσμοί των μικροαρθρόποδων στην υψηλότερη υγρασία ήταν ιδιαίτερα χαμηλοί, φαίνεται ότι η υψηλή σχετική υγρασία πιθανόν προκάλεσε ασφυκτικές συνθήκες δεν επέτρεψε την επιβίωση των μικροαρθρόποδων. Γι' αυτό παρουσιάζονται μόνο τα αποτελέσματα στην χαμηλότερη εδαφική υγρασία. Στον Πίνακα III.2.5. παρουσιάζεται η στατιστική ανάλυση για την επίδραση της δόσης των ΥΑΕ και του χρόνου στους πληθυσμούς των μικροαρθρόποδων (*Collembola* και τάξεις των ακαρέων). Στο Διάγραμμα III.2.2 παρουσιάζονται οι πληθυσμοί για κάθε συνδυασμό παραγόντων.

Οι πληθυσμοί των *Collembola* επηρεάστηκαν μόνο από τον χρόνο καθώς στις 30 ημέρες βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί από αυτούς στις 15 ημέρες. Οι πληθυσμοί των *Oribatida* και των *Mesostigmata* επηρεάστηκαν και από την δόση και από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση. Οι πληθυσμοί των *Oribatida* μειώνονταν με την δόση των ΥΑΕ, ενώ στις 15 ημέρες οι πληθυσμοί τους ήταν σημαντικά υψηλότεροι από τις 30 ημέρες. Στα *Oribatida* έχουν συμπεριληφθεί και τα *Astigmata* (οι πληθυσμοί τους ήταν ιδιαίτερα μικροί) και τα *Cryptostigmata*. Η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε τους πληθυσμούς των *Mesostigmata* μόνο στην δόση των 100ml/Kg, ενώ στις 30 ημέρες οι πληθυσμοί ήταν σημαντικά υψηλότεροι από τις άλλες δυο ημερομηνίες εκτίμησης. Εκείνο που προκαλεί εντύπωση είναι οι έντονα υψηλοί πληθυσμοί των ακαρέων αυτών στην δεύτερη εκτίμηση στην δόση των 50ml/Kg, εξ' αιτίας των οποίων η διαφορά στους πληθυσμούς μεταξύ του μάρτυρα και της δόσης αυτής δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική.

**Πίνακας III.2.5.** Επίδραση της δόσης των ΥΑΕ, του χρόνου και της αλληλεπίδρασης στα μικροαρθρόποδα του εδάφους (Διπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς).

	Δόση (BE 2, 45)		Χρόνος (BE 2, 45)		Δόση* Χρόνος (BE 4,45)	
	F	p	F	p	F	p
Collembola	2,15	0,128	14,86	0,000	0,58	0,676
Cryptostigmata	22,75	0,000	5,33	0,008	1,39	0,254
Mesostigmata	50,46	0,000	11,92	0,000	1,71	0,165
Prostigmata	6,8	0,003	10,94	0,000	6,27	0,000



**Διάγραμμα III.2.2.** Μέσοι όροι ( $\pm$  τυπικό σφάλμα) των πληθυσμών των μικροαρθροπόδων (σε άτομα ανά 100gr χώματος) σε σχέση με την δόση των ΥΑΕ (σε ml/Kg χώματος - άξονας X) στις τρεις ημερομηνίες εκτίμησης (σε ημέρες 0 , 30 και 60 ).

Οι πληθυσμοί των Prostigmata επηρεάστηκαν σημαντικά και από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση. Στις 15 ημέρες στον μάρτυρα βρέθηκαν σημαντικά υψηλότεροι πληθυσμοί από την δόση των 100ml/Kg, στις 30 ημέρες οι πληθυσμοί των μειώνονταν με την δόση των ΥΑΕ, ενώ στις 60 ημέρες στην δόση των 100ml/Kg βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί από την δόση των 50ml/Kg. Στον μάρτυρα, και στην δόση των 50ml/Kg υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 30 ημέρες, ενώ στην δόση των 100ml/Kg υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 60 ημέρες.

### III.2.3.4. Νηματώδεις

#### III.2.3.4.1. Γένη νηματωδών

Στα πειράματα του παρόντος κεφαλαίου τα γένη που ευρέθησαν παρουσιάζονται στον πίνακα III.2.6.

Τα κυρίαρχο φυτοпараσιτικό γένος ήταν το *Helicotylenchus*, ενώ βρέθηκαν σε σημαντικούς πληθυσμούς και τα γένη *Pratylenchus* και *Tylenchorhynchus*. Επίσης βρέθηκαν σε σημαντικούς αριθμούς άτομα του γένους *Tylenchus* τα οποία είναι φυτοпараσιτικά ή/και μυκητοφάγα (οι τροφικές τους απαιτήσεις δεν είναι σαφώς καθορισμένες). Οι μυκητοφάγοι νηματώδεις ήταν των γενών *Aphelenchoides* και *Aphelenchus*. Για τους βακτηριοφάγους νηματώδεις η μεγάλη πλειοψηφία άνηκε στην οικογένεια *Cephalobidae* και στο γένος *Acrobeloides* που ήταν με διαφορά το πολυπληθέστερο (πάνω από 50% του συνολικού πληθυσμού των βακτηριοφάγων νηματωδών) ενώ σημαντικά λιγότεροι βακτηριοφάγοι νηματώδεις άνηκαν στις στην υπόταξη *Rhabditina* (κυρίως στο γένος *Mesorhabditis*), ενώ ακόμα λιγότεροι βακτηριοφάγοι νηματώδεις άνηκαν στην τάξη *Araeolaimida*. Στην τάξη *Dorylaimida* βρέθηκαν παμφάγοι νηματώδεις (*Qudsianematidae*, *Nordiidae*) καθώς και λίγοι αρπακτικοί (*Aporcelaimidae*). Για τους μυκητοφάγους νηματώδεις η πλειονότητα ήταν των γενών *Aphelenchoides* και *Aphelenchus*. Τέλος τα πολυπληθέστερα γένη ήταν τα *Helicotylenchus* και *Acrobeloides*.

**Πίνακας III.2.6.** Γένη που ευρέθησαν στα πειράματα. Μέσα σε παρένθεση η λειτουργική ομάδα στην οποία ανήκει το τροφικό επίπεδο στο οποίο ανήκει [οι τροφικές απαιτήσεις κατά Yeates *et al.* 1993 (ΦΠ: φυτοпараσιτικοί, ΒΦ: βακτηριοφάγοι, ΜΦ: μυκητοφάγοι και ΠΦ: παμφάγοι), και η τιμή της κλίμακας 1-5 έμμοнос-αποικιστικός κατά Bongers (1990)].

<b>Araeolaimida</b>	<b>Rhabditida</b>	<b>Tylenchida</b>
Plectidae	Cephalobidae	Aphelenchidae
<i>Plectus</i> (ΒΦ2)	<i>Acrobeles</i> (ΒΦ2)	<i>Aphelenchus</i> (ΜΦ2)
<i>Wilsonema</i> (ΒΦ2)	<i>Acrobeloides</i> (ΒΦ2)	<i>Seinura</i> (Α2)
Teratocephalidae	<i>Eucephalobus</i> (ΒΦ2)	Aphelenchoididae
<i>Teratocephalus</i> (ΒΦ2)	Panagrolaimidae	<i>Aphelenchoides</i> (ΜΦ2)
	<i>Panagrolaimus</i> (ΒΦ1)	Anguinidae
<b>Dorylaimida</b>	Rhabditidae (ΒΦ1)	<i>Ditylenchus</i> (ΜΦ2)
Aporcelaimidae	Mesorhabditidae (ΒΦ1)	Belonolaimidae
<i>Aporcelaimus</i> (ΠΦ5)	<i>Mesorhabditis</i> (ΒΦ1)	<i>Telotylenchus</i> (ΦΠ3)
Nordiidae	Rhabditinae (ΒΦ1)	<i>Tylenchorhynchus</i> (ΦΠ3)
<i>Pungentus</i> (ΠΦ4)		Hoplolaimidae
Qudsianematidae (ΠΦ4)		<i>Helicotylenchus</i> (ΦΠ2)
<i>Eudorylaimus</i> (ΠΦ4)		Pratylenchidae
		<i>Pratylenchoides</i> (ΦΠ2)
		<i>Pratylenchus</i> (ΦΠ2)
		Tylenchidae
		<i>Tylenchus</i> (ΜΦ- ΦΠ2)
		<i>Psilenchus</i> (ΜΦ-ΦΠ2)

Η επίδραση της δόσης των ΥΑΕ, της ημερομηνίας εκτίμησης καθώς και της εδαφικής υγρασίας στους πληθυσμούς των κυριότερων γενών των νηματωδών παρουσιάζονται στους πίνακες III.2.7 και III.2.8. Στα Διάγραμμα III.2.3 και III.2.4 παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των νηματωδών για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας III.2.7.** Επίδραση της δόσης των ΥΑΕ, του χρόνου και της αλληλεπίδρασης στα κυριότερα γένη νηματωδών (Διπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς).

Κυρίαρχα γένη	Υγρασία	δόση		χρόνος		δόσηΧρόνος	
		BE (2, & 45)		BE (2 & 45)		BE (4 & 45)	
		F	p	F	p	F	p
<i>Helicotylenchus</i>	70%	87,47	0,000	77,9	0,000	3,94	0,008
	100%	214,95	0,000	30,29	0,000	4,68	0,003
<i>Pratylenchus</i>	70%	18,1	0,000	46,73	0,000	9,45	0,000
	100%	49,7	0,000	3,64	0,034	9,54	0,000
<i>Tylenhorhynchus</i>	70%	14,09	0,000	25,58	0,000	2,38	0,066
	100%	39,27	0,000	17	0,000	10,9	0,000
<i>Tylenchus</i>	70%	9,86	0,000	30,19	0,000	7,04	0,000
	100%	2,43	0,099	8,59	0,001	2,36	0,067
<i>Aphelenchus</i>	70%	55,91	0,000	52,62	0,000	20,05	0,000
	100%	99,88	0,000	139,1	0,000	40	0,000
<i>Aphelenchoides</i>	70%	92,52	0,000	234,75	0,000	5,87	0,001
	100%	59,31	0,000	199,43	0,000	13,93	0,000
<i>Acrobeloides</i>	70%	42,64	0,000	119,32	0,000	8,98	0,000
	100%	63,38	0,000	252,85	0,000	9,7	0,000
<i>Mesorhabditis</i>	70%	2,13	0,130	3,27	0,130	8,68	0,000
	100%	213,38	0,000	69,56	0,000	18,78	0,000

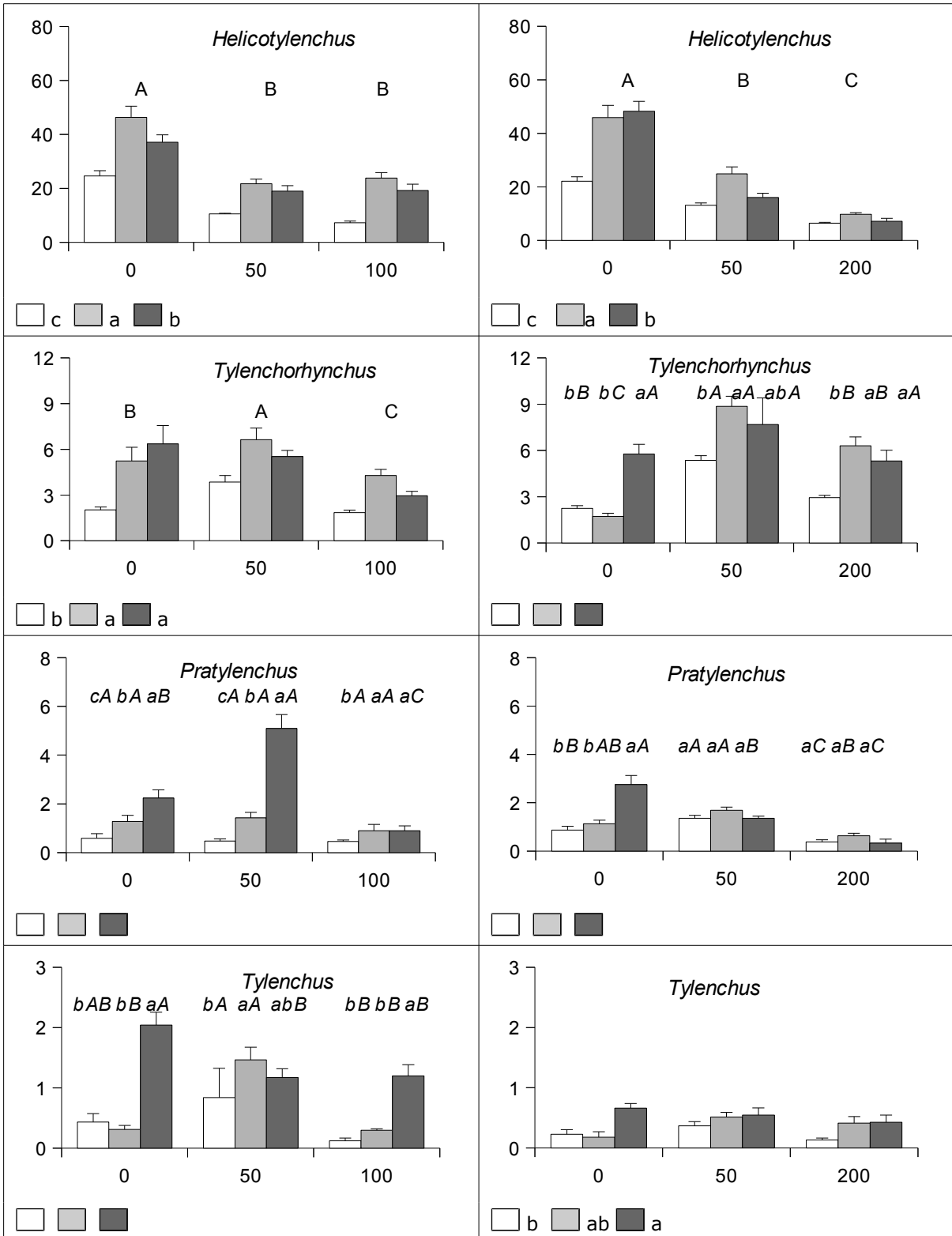
Οι πληθυσμοί του γένους *Pratylenchus* και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας επηρεάστηκαν τόσο από την δόση των ΥΑΕ όσο και από την ημερομηνία εκτίμησης, ενώ βρέθηκε και στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση. Στο χαμηλότερο επίπεδο υγρασίας, οι πληθυσμοί στον μάρτυρα και στην δόση των 50ml/Kg αυξάνονται με τον χρόνο ενώ στην δόση των 100ml στις 30 και 60 ημέρες οι πληθυσμοί δεν διέφεραν. Ακόμα στις 60 ημέρες οι πληθυσμοί ήταν υψηλότεροι στην δόση των 50ml/Kg και χαμηλότεροι στην δόση των 100ml/Kg, ενώ στις 15 και 30 μέρες οι πληθυσμοί δεν διαφέρουν μεταξύ των δόσεων. Στην υψηλότερη υγρασία, στον μάρτυρα, οι πληθυσμοί του γένους αυτού αυξάνονταν με τον χρόνο ενώ στις δυο δόσεις των ΥΑΕ δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των χρόνων εκτίμησης. Ακόμα στην δόση των 200ml/Kg βρέθηκαν γενικά χαμηλότεροι πληθυσμοί από ότι στην δόση των 50ml/Kg και στον μάρτυρα. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί του γένους αυτού δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται από την υγρασία.

**Πίνακας III.2.8.** Επίδραση του χρόνου, της εδαφικής υγρασίας και της δόσης των ΥΑΕ (για τις δόσεις 0 και 50ml/Kg εδάφους), καθώς και των αλληλεπιδράσεων στα κυριότερα γένη των νηματωδών (Τριπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς).

	B.E.		<i>Helicotyl- enchus</i>	<i>Pratyl- enchus</i>	<i>Tylenho- rhynchus</i>	<i>Tylen- chus</i>	<i>Aphele- nchus</i>	<i>Aphele- nchoides</i>	<i>Acrobe- loides</i>	<i>Meorh- abditis</i>
δόση	1 &	F	224,46	6,55	49,36	6	14,28	11,56	14,79	95,59
	60	p	0,000	0,013	0,000	0,017	0,000	0,001	0,000	0,000
χρόνος	2 &	F	62,91	62,41	21,7	19,48	79,36	257,59	170,17	16,76
	60	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
υγρασία	1 &	F	1,04	0,02	0	38,82	26,07	53,34	3,4	20,57
	60	p	0,311	0,900	0,971	0,000	0,000	0,000	0,070	0,000
δόση*	2 &	F	2,2	0,1	10,64	14,18	15,41	10,67	14,01	7,3
	60	p	0,120	0,903	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
δόση*	1 &	F	0,01	4,03	14,33	0,23	179,78	130,98	129,42	164,21
	60	p	0,924	0,049	0,000	0,631	0,000	0,000	0,000	0,000
χρόνος*	2 &	F	0	19,48	3,86	3,2	0,89	23,68	8,96	18,18
	60	p	0,999	0,000	0,027	0,048	0,415	0,000	0,000	0,000
δόση*	2 &	F	4,91	19,84	4,22	3,26	65,72	8,53	1,93	11,43
	60	p	0,011	0,000	0,019	0,045	0,000	0,001	0,154	0,000
υγρασία										

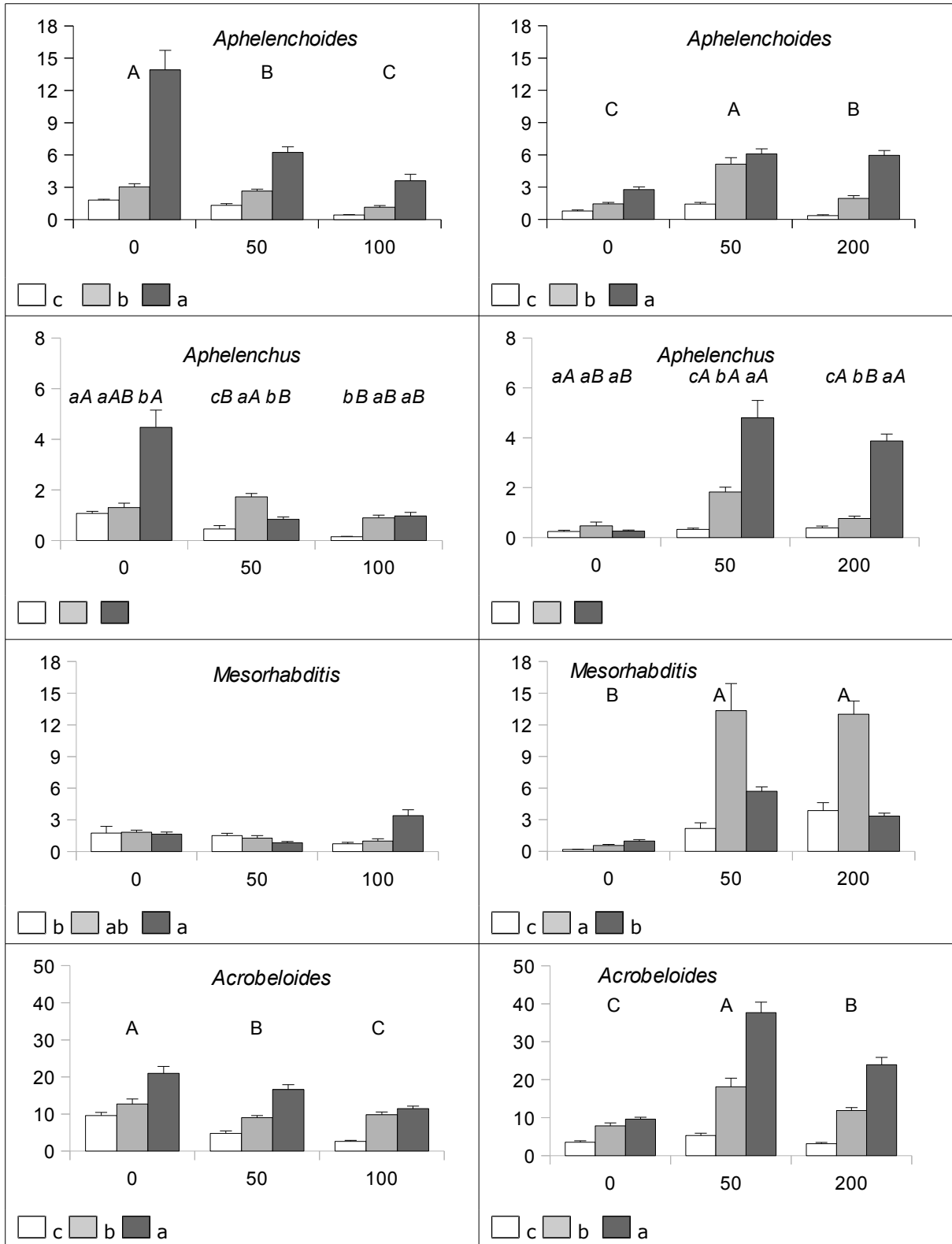
Οι πληθυσμοί του γένους *Helicotylenchus* και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας επηρεάστηκαν σημαντικά από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο, ενώ η αλληλεπίδραση αν και σημαντική, είχε αρκετά μικρότερη συνεισφορά στην συνολική παραλλακτικότητα και θεωρήθηκε αμελητέα. Η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε τους πληθυσμούς του γένους αυτού, ενώ στην υψηλότερη υγρασία στην δόση των 200ml/Kg βρέθηκαν σημαντικά μικρότεροι πληθυσμοί από την δόση των 50ml/Kg. Και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας στις 30 ημέρες οι πληθυσμοί του γένους αυτού ήταν υψηλότεροι στις 15 ημέρες και χαμηλότεροι στις 60 ημέρες. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί του γένους αυτού δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται από την υγρασία.

Για το γένος *Tylenchus* στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί επηρεάστηκαν και από την δόση των ΥΑΕ όσο και από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση. Στις 15 και 30 ημέρες υψηλότεροι πληθυσμοί παρατηρούνται στην δόση των 50ml/Kg ενώ στις 60 ημέρες υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στον μάρτυρα. Στην υψηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί του γένους αυτού επηρεάστηκαν μόνο από τον χρόνο, καθώς στις 60 ημέρες οι πληθυσμοί ήταν υψηλότεροι από ότι στις 15 ημέρες. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί του γένους αυτού βρέθηκαν να επηρεάζονται από την υγρασία, καθώς στην υψηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί του γένους αυτού ήταν υψηλότεροι.



**Διάγραμμα III.2.3.** Μέσοι όροι και τυπικό σφάλμα των πληθυσμών γενών των νηματωδών (σε άτομα ανά gr χώματος) για τις δόσεις των ΥΑΕ (σε ml/Kg χώματος - άξονας X) και τις ημερομηνίες εκτίμησης (σε ημέρες 15 , 30  και 60 ) και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (αριστερά 70% δεξιά 100%). Μέσοι που δεν σημειώνονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά (Tukey HSD,  $\alpha=0.05$ ).





**Διάγραμμα III.2.4.** Μέσοι όροι και τυπικό σφάλμα των πληθυσμών γενών των νηματωδών (σε άτομα ανα gr χώματος) για τις δόσεις των ΥΑΕ (σε ml/Kg χώματος - άξονας X) και τις ημερομηνίες εκτίμησης (σε ημέρες 15 , 30  και 60 ) και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (αριστερά 70% δεξιά 100%). Μέσοι που δεν σημειώνονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά (Tukey HSD,  $\alpha=0.05$ ).

Οι πληθυσμοί του γένους *Tylenorhynchus* στη χαμηλότερη υγρασία, επηρεάστηκαν σημαντικά από την δόση των ΥΑΕ και από την ημερομηνία εκτίμησης ενώ δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση. Υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 50ml/Kg και χαμηλότεροι στην δόση των 100ml/Kg, ενώ στις 15 ημέρες βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί από τις 30 και 60 ημέρες. Στην υψηλότερη υγρασία επηρεάστηκαν σημαντικά και από την δόση των ΥΑΕ και από την ημερομηνία εκτίμησης, ενώ βρέθηκε και σημαντική αλληλεπίδραση. Στις 15 και 30 ημέρες υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 50ml/Kg ενώ στις 60 ημέρες οι πληθυσμοί δεν διέφεραν μεταξύ των δόσεων. Στον μάρτυρα υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 60 ημέρες, στην δόση των 50ml/Kg υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 30 ημέρες και χαμηλότεροι στις 60, ενώ στην δόση των 200ml/Kg στις 15 ημέρες βρέθηκαν χαμηλότεροι πληθυσμοί από τις 30 και 60 μέρες. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί του γένους αυτού δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται από την υγρασία.

Στο γένος *Aphelenchoides* οι πληθυσμοί του και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας, επηρεάστηκαν σημαντικά από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο, ενώ η αλληλεπίδραση, αν και σημαντική είχε αρκετά μικρότερη συνεισφορά στην συνολική παραλλακτικότητα και θεωρήθηκε αμελητέα. Οι πληθυσμοί αυξάνονταν σημαντικά με τον χρόνο και στα δυο επίπεδα υγρασίας. Στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί μειώνονταν με την δόση, ενώ στην υψηλότερη υγρασία οι υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 50ml/Kg και οι χαμηλότεροι στον μάρτυρα. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί του γένους αυτού επηρεάστηκαν από την υγρασία, στο διάγραμμα φαίνονται υψηλότεροι πληθυσμοί του του γένους στον μάρτυρα στην χαμηλότερη υγρασία.

Στο γένος *Aphelenchus*, οι πληθυσμοί και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας επηρεάστηκαν σημαντικά τόσο από την δόση των ΥΑΕ όσο και από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση. Στην χαμηλότερη υγρασία, στις 15 και 60 ημέρες υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στον μάρτυρα, ενώ στις 30 ημέρες υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 50ml/Kg και χαμηλότεροι στην δόση των 200ml/Kg. Ακόμα στον μάρτυρα οι πληθυσμοί αυξάνονται με τον χρόνο, στην δόση των 50ml/Kg υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 30 ημέρες και στην δόση των 100ml/Kg χαμηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 15 ημέρες. Στην υψηλότερη υγρασία, οι πληθυσμοί του γένους αυτού αυξάνονταν με τον χρόνο στις δυο δόσεις των ΥΑΕ. Ακόμα, στις 30 ημέρες υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 50ml/Kg ενώ στις 60 ημέρες οι δυο δόσεις των ΥΑΕ είχαν σημαντικά ψηλότερους πληθυσμούς από τον μάρτυρα. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί του γένους αυτού επηρεάστηκαν από την υγρασία, χωρίς όμως κάποια σταθερή τάση.

Για το γένος *Mesorhabditis* οι πληθυσμοί στην χαμηλότερη υγρασία επηρεάστηκαν

μόνο από τον χρόνο καθώς στις 60 ημέρες βρέθηκαν σημαντικά υψηλότεροι πληθυσμοί από ότι στις 15. Στην υψηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί του γένους αυτού επηρεάστηκαν σημαντικά από την δόση των YAE και από τον χρόνο, ενώ η αλληλεπίδραση, αν και σημαντική είχε αρκετά μικρότερη συνεισφορά στην συνολική παραλλακτικότητα και θεωρήθηκε αμελητέα. Η προσθήκη YAE αύξησε έντονα τους πληθυσμούς των νηματωδών αυτού του γένους χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο δόσεων ενώ υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στις 30 και χαμηλότεροι στις 15 ημέρες. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί του γένους αυτού επηρεάστηκαν από την υγρασία, ενώ από το διάγραμμα φαίνονται πολύ υψηλότεροι πληθυσμοί του γένους στην δόση των 50ml/Kg στην υψηλότερη υγρασία σε σχέση με την χαμηλότερη.

Οι πληθυσμοί του γένους *Acrobelloides* και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας, επηρεάστηκε από την δόση των YAE και από τον χρόνο, ενώ η αλληλεπίδραση, αν και σημαντική είχε αρκετά μικρότερη συνεισφορά στην συνολική παραλλακτικότητα και θεωρήθηκε αμελητέα. Και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας οι πληθυσμοί αυξάνονταν με τον χρόνο. Στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί του γένους αυτού μειώνονταν σημαντικά με την δόση, ενώ στην υψηλότερη υγρασία, υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 50ml/kg και χαμηλότεροι στον μάρτυρα. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί του γένους αυτού δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται από την υγρασία.

#### **III.2.3.4.2. Τροφικές ομάδες**

Η επίδραση της δόσης των YAE, της ημερομηνίας εκτίμησης καθώς και της εδαφικής υγρασίας στους πληθυσμούς των τροφικών ομάδων των νηματωδών παρουσιάζονται στους πίνακες III.2.9 και III.2.10. Στο Διάγραμμα III.2.5 παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των νηματωδών των διαφόρων τροφικών ομάδων για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων. Οι αρπακτικοί νηματώδεις ήταν ελάχιστοι και δεν παρουσιάζονται στα αποτελέσματα.

Οι πληθυσμοί των φυτοπαρασιτικών νηματωδών και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας, επηρεάστηκαν έντονα από την δόση των YAE και από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου η οποία όμως είχε αρκετά μικρότερη επίδραση στην συνολική παραλλακτικότητα από ότι οι κύριες επιδράσεις και θεωρήθηκε αμελητέα. Οι πληθυσμοί των φυτοπαρασιτικών νηματωδών μειώνονταν με την δόση των YAE, ενώ στις 15 ημέρες βρέθηκαν λιγότεροι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις από ότι στις 30 και 60 ημέρες, και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί των φυτοπαρασιτικών νηματωδών δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται στατιστικώς σημαντικά από την εδαφική υγρασία.

Οι πληθυσμοί των βακτηριοφάγων νηματωδών και στα δυο επίπεδα εδαφικής

υγρασίας επηρεάστηκαν τόσο από την δόση όσο και από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Οι πληθυσμοί αυξάνονταν με τον χρόνο και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Στην χαμηλότερη υγρασία υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στον μάρτυρα, ενώ στην υψηλότερη υγρασία υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 50ml/Kg και χαμηλότεροι στον μάρτυρα. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί των βακτηριοφάγων νηματωδών δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται στατιστικώς σημαντικά από την υγρασία.

Οι πληθυσμοί των παμφάγων νηματωδών στην χαμηλότερη υγρασία επηρεάστηκαν και από την δόση και από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Στον μάρτυρα, βρέθηκαν υψηλότεροι πληθυσμοί παμφάγων νηματωδών, ενώ επίσης οι πληθυσμοί μειώνονταν με τον χρόνο. Στην υψηλότερη υγρασία δεν βρέθηκε σημαντική επίδραση της δόσης και του χρόνου. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς (αφαιρώντας τις ανώτερες δόσεις) οι πληθυσμοί των παμφάγων νηματωδών επηρεάστηκαν οριακά σημαντικά από την υγρασία, χωρίς όμως κάποια σταθερή τάση.

**Πίνακας III.2.9.** Επίδραση της δόσης των ΥΑΕ καθώς και του χρόνου στους πληθυσμούς των τροφικών ομάδων στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (Διπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς). Τα δεδομένα μετατράπηκαν στον φυσικό τους λογάριθμο προκειμένου να επιτευχθεί ομοιογένεια των διασπορών.

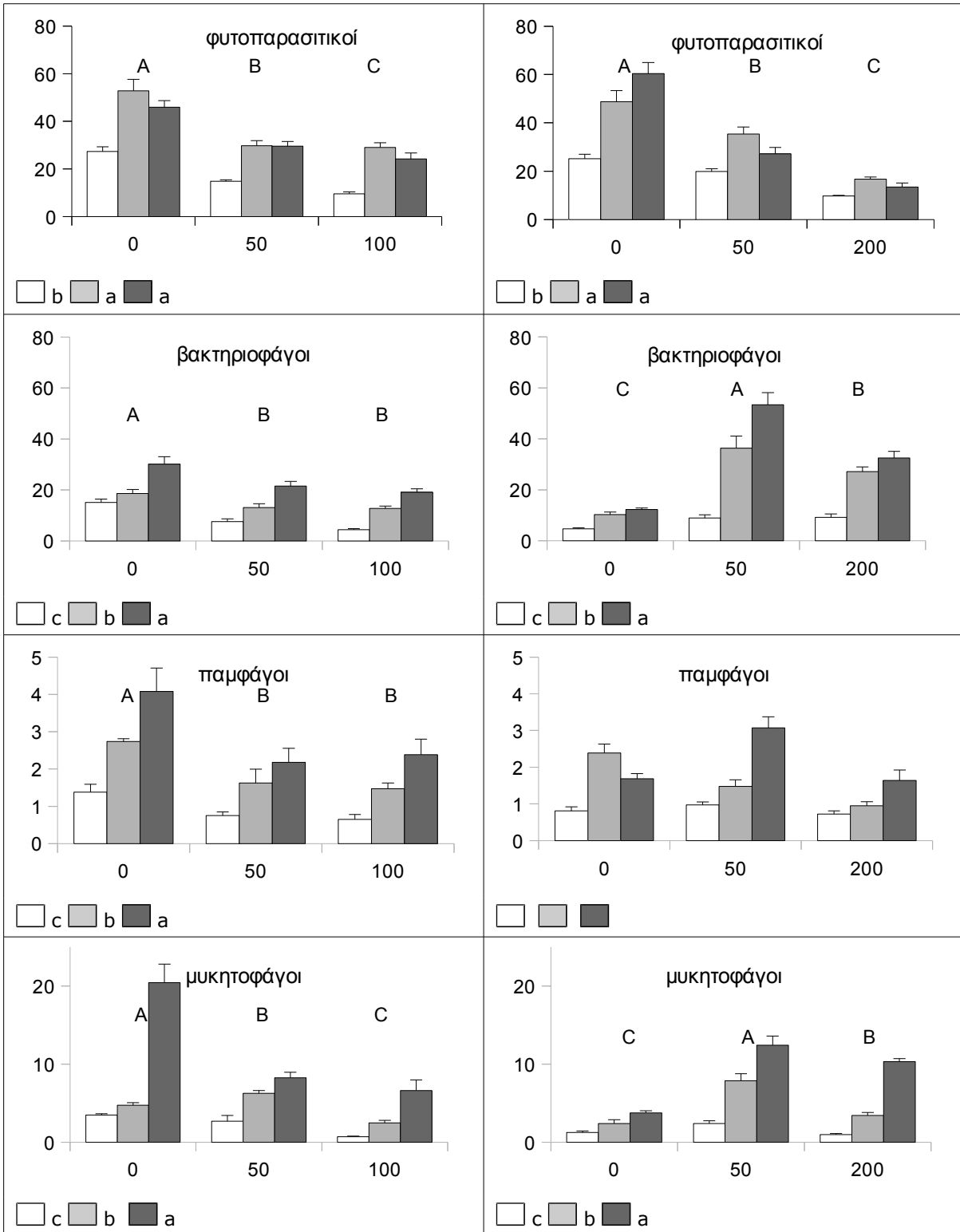
Τροφικές ομάδες νηματωδών	Υγρασία	δόση		χρόνος		δόση×χρόνος	
		BE (2,45)		BE (2,45)		BE (4,45)	
		F	p	F	p	F	p
Φυτοπαρασιτικοί	70%	82,16	0,000	103,99	0,000	3,45	0,015
	100%	163,14	0,000	45,73	0,000	4,96	0,002
Παμφάγοι	70%	16,87	0,000	37,92	0,000	0,24	0,9138
	100%	1,11	0,339	3,29	0,056	1,00	0,418
Βακτηριοφάγοι	70%	28,06	0,000	64,65	0,000	0,86	9,549
	100%	21,51	0,000	33,07	0,000	1,00	0,418
Μυκητοφάγοι	70%	59,91	0,000	138,74	0,000	8,05	0,000
	100%	63,74	0,000	168,37	0,000	9,74	0,000

Οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων νηματωδών και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας επηρεάστηκαν έντονα τόσο από την δόση όσο και από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση, η επίδρασή της όμως στην συνολική παραλλακτικότητα ήταν αρκετά μικρότερη από αυτήν των δυο παραγόντων και θεωρήθηκε αμελητέα. Οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων νηματωδών και στα δυο τροφικά επίπεδα αυξάνονταν με τον χρόνο. Στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί βρέθηκαν να μειώνονται με την δόση, ενώ στην υψηλότερη, οι υψηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δόση των 50ml/Kg και οι

χαμηλότεροι στον μάρτυρα. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων νηματωδών επηρεάστηκαν από την υγρασία, χωρίς όμως κάποια σταθερή τάση.

**Πίνακας ΙΙΙ.2.10.** Επίδραση του χρόνου (Χ), της εδαφικής υγρασίας (Υ) και της δόσης των ΥΑΕ (Δ) (για τις δόσεις 0 και 50ml/Kg εδάφους), καθώς και των αλληλεπιδράσεων στους πληθυσμούς των τροφικών ομάδων των νηματωδών (Τριπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς). Τα δεδομένα μετατράπηκαν στον φυσικό τους λογάριθμο προκειμένου να επιτευχθεί ομοιογένεια των διασπορών

	ΒΕ		Φυτοπα- ρασιτικοί	Παμφάγοι	Βακτηριο- φάγοι	Μυκητο- φάγοι
Δ	1,60	F	126,92	11,26	30,76	22,61
		p	0,000	0,001	0,000	0,000
Χ	2,60	F	88,2	55,73	135,21	154,56
		p	0,000	0,000	0,000	0,000
Υ	1,60	F	3,1	4,55	2,35	47,15
		p	0,083	0,037	0,130	0,000
Δ*Χ	2,60	F	2,24	4,28	10,42	10,59
		p	0,115	0,018	0,000	0,000
Δ*Υ	1,60	F	0,98	21,82	190,01	100,11
		p	0,326	0,000	0,000	0,000
Χ*Υ	2,60	F	0,18	0,48	13,55	3,88
		p	0,838	0,622	0,000	0,026
Δ*Χ*Υ	2,60	F	6,61	5,71	1,21	12,63
		p	0,003	0,005	0,305	0,000



**Διάγραμμα III.2.5.** Μέσοι όροι (σε άτομα ανά gr χώματος) και τυπικό σφάλμα του μέσου των πληθυσμών των τροφικών ομάδων των νηματωδών για τις δόσεις των ΥΑΕ (σε ml/Kg χώματος - άξονας X) και τις ημερομηνίες εκτίμησης (σε ημέρες 15 □, 30 ■ και 60 ■) και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (αριστερά 70% δεξιά 100%). Μέσοι που δεν σημειώνονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά (Tukey HSD,  $\alpha=0.05$ ).

**ΙΙΙ.2.3.4.3. Δείκτες νηματωδοκοινότητας**

Η επίδραση της δόσης των ΥΑΕ, της ημερομηνίας εκτίμησης καθώς και της εδαφικής υγρασίας στους δείκτες της νηματωδοκοινότητας: Δείκτη ωριμότητας (MI), ολικό δείκτη ωριμότητας (ΣMI), δείκτη ωριμότητας (ΣMI<sub>2-5</sub>), τον δείκτη φυτοπαρασιτικής νηματωδοκοινότητας (PPI), δείκτη θεμελιώδους κατάστασης BI, δείκτη οδού αποσύνθεσης CI, δείκτη ευτροφισμού EI καθώς και δείκτη δομής SI παρουσιάζονται στους πίνακες ΙΙΙ.2.11 και ΙΙΙ.2.12. Στα διάγραμμα ΙΙΙ.2.6 και ΙΙ.2.7 παρουσιάζονται οι τιμές των δεικτών αυτών για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας ΙΙΙ.2.11.** Επίδραση της δόσης των ΥΑΕ, του χρόνου και της αλληλεπίδρασης στους δείκτες της νηματωδοκοινότητας (Διπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς).

	Υγρασία	Δόση		Χρόνος		Δόση*Χρόνος	
		BE (2,45)		BE (2,45)		BE (4,45)	
		F	p	F	p	F	p
MI	70	0,35	0,706	3,54	0,037	4,47	0,004
	100	125,46	0,000	9,59	0,000	16,86	0,000
ΣMI	70	6,22	0,004	12,27	0,000	2,56	0,052
	100	402,76	0,000	23,1	0,000	11,33	0,000
PPI	70	29,49	0,000	1,00	0,376	3,39	0,017
	100	165,64	0,000	3,83	0,029	3,53	0,014
ΣMI <sub>2-5</sub>	70	12,2	0,000	16,4	0,000	2,47	0,058
	100	414,7	0,000	97,04	0,000	21,97	0,000
BI	70	6,45	0,003	21,18	0,000	4,45	0,004
	100	37,53	0,000	75,56	0,000	12,77	0,000
CI	70	25,09	0,000	54,28	0,000	11,07	0,000
	100	58,83	0,000	10,87	0,000	5,63	0,001
EI	70	3,39	0,043	25,55	0,000	8,78	0,000
	100	166,84	0,000	46,87	0,000	21,03	0,000
SI	70	3,0	0,060	3,12	0,054	1,2	0,324
	100	17,26	0,000	7,04	0,002	2,79	0,037

Ο δείκτης ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας MI στην χαμηλότερη υγρασία επηρεάστηκε μόνο από τον χρόνο, καθώς η τιμή του δείκτη ήταν υψηλότερη στις 60 ημέρες και χαμηλότερη στις 15 ημέρες. Αντίθετα στην υψηλότερη υγρασία η τιμή του δείκτη MI επηρεάστηκε έντονα από την δόση, λιγότερο έντονα αλλά στατιστικώς σημαντικά από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε και στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε την τιμή του δείκτη και στις 3 ημερομηνίες εκτίμησης, ενώ η επίδραση του χρόνου διέφερε σε κάθε δόση. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης MI δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την υγρασία.

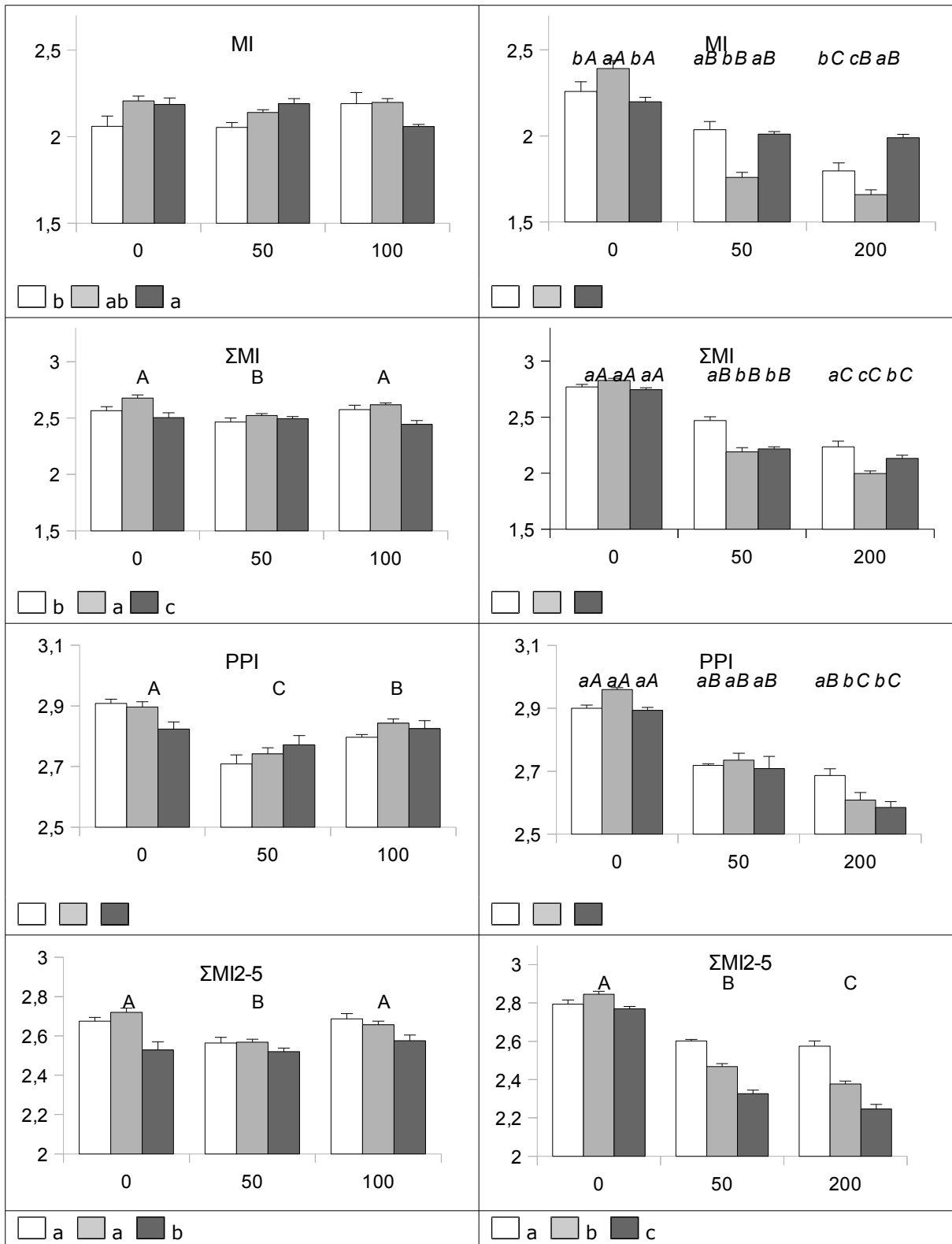
**Πίνακας III.2.12.** Επίδραση του χρόνου (X), της εδαφικής υγρασίας (Y) και της δόσης των ΥΑΕ (Δ) (για τις δόσεις 0 και 50ml/Kg εδάφους), καθώς και των αλληλεπιδράσεων στους δείκτες της νηματωδοκοινότητας (Τριπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς).

	BE		MI	ΣMI	ΣMI <sub>2-5</sub>	PPI	BI	CI	EI	SI
Δ	1,60	F	73,05	307,29	299,2	180,28	6,8	28,89	68,93	6,8
		p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,01	0,000	0,000	0,011
X	2,60	F	1,36	8,54	40,67	2,70	50,08	33,07	24,79	50,08
		p	0,265	0,001	0,000	0,076	0,000	0,000	0,000	0,000
Y	1,60	F	1,95	0,00	9,6	0,76	55,47	23,1	5,41	55,47
		p	0,168	0,960	0,003	0,385	0,000	0,000	0,023	0,000
Δ*X	2,60	F	14,53	12,24	7,13	3,76	4,69	0,00	14,15	4,69
		p	0,000	0,000	0,002	0,029	0,013	0,999	0,000	0,013
Δ*Y	1,60	F	56,2	147,98	99,42	6,19	18,35	28,66	71,54	18,35
		p	0,000	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000
X*Y	2,60	F	7,84	11,95	2,69	0,50	0,81	21,07	8,24	0,81
		p	0,001	0,000	0,076	0,608	0,449	0,000	0,001	0,449
Δ*X*Y	2,60	F	7,79	9,37	17,35	3,15	4,73	5,33	5,58	4,73
		p	0,001	0,000	0,000	0,050	0,01	0,007	0,006	0,012

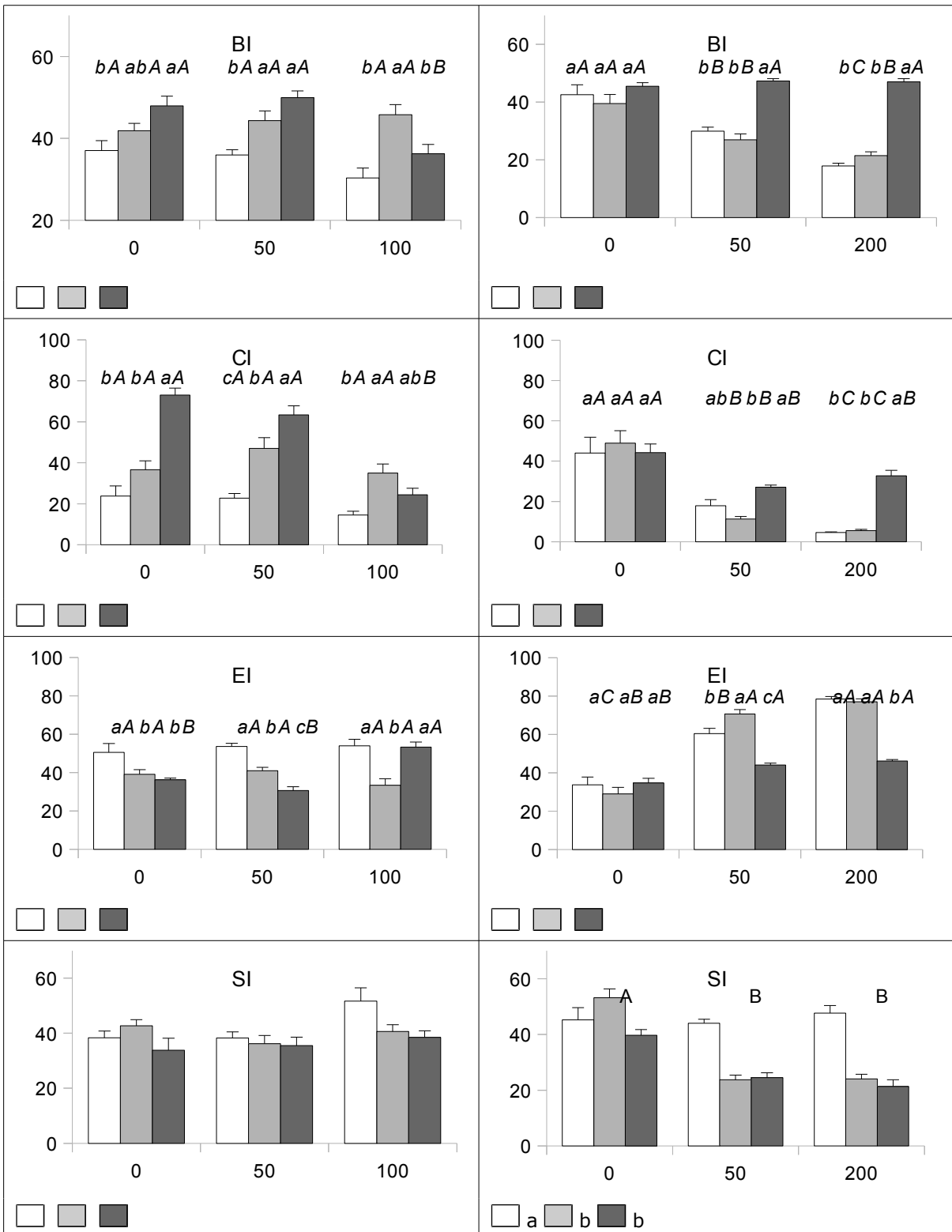
Ο ολικός δείκτης ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας ΣMI στην χαμηλότερη υγρασία επηρεάστηκε από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση. Υψηλότερη τιμή του δείκτη βρέθηκε στις 30 ημέρες και χαμηλότερη στις 60 ημέρες, ενώ η τιμή του δείκτη ήταν χαμηλότερη στην δόση των 50ml/Kg. Στην υψηλότερη υγρασία η τιμή του δείκτη επηρεάστηκε από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση. Η τιμή του δείκτη μειώνονταν με την δόση και στις 3 ημερομηνίες εκτίμησης, ενώ στις δύο δόσεις των ΥΑΕ η τιμή του δείκτη ήταν υψηλότερη στις 15 ημέρες. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης MI δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την υγρασία.

Ο δείκτης φυτοπαρασιτικής νηματωδοκοινότητας PPI στην χαμηλότερη υγρασία επηρεάστηκε μόνο από την δόση των ΥΑΕ, καθώς είχε την υψηλότερη τιμή στον μάρτυρα, και την χαμηλότερη στην δόση των 50ml/Kg. Στην χαμηλότερη υγρασία ο δείκτης επηρεάστηκε σημαντικά από την δόση των ΥΑΕ όσο και από τον χρόνο, ενώ υπήρξε και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Η προσθήκη των ΥΑΕ μείωσε την τιμή του δείκτη, ενώ στην δόση των 200ml/Kg υψηλότερη τιμή του δείκτη βρέθηκε στις 15 ημέρες. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης PPI δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την υγρασία.





**Διάγραμμα III.2.6.** Μέσοι όροι και τυπικό σφάλμα των δεικτών της νηματωδοκοινότητας MI , ΣMI, PPI και ΣMI25 για τις δόσεις των ΥΑΕ (σε ml/Kg χώματος - άξονας X) και τις ημερομηνίες εκτίμησης (σε ημέρες 15 □, 30 ■ και 60 ■) και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (αριστερά 70% δεξιά 100%). Μέσοι που δεν σημειώνονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά (Tukey HSD, α=0.05)



**Διάγραμμα III.2.7.** Μέσοι όροι και τυπικό σφάλμα των δεικτών της νηματώδοκοινότητας BI, CI, EI και SI, για τις δόσεις των ΥΑΕ (σε ml/Kg χώματος - άξονας X) και τις ημερομηνίες εκτίμησης (σε ημέρες 15 , 30 και 60 ) και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (αριστερά 70% δεξιά 100%). Μέσοι που δεν σημειώνονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά (Tukey HSD, α=0.05).

Ο δείκτης  $\Sigma MI_{2-5}$  και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας επηρεάστηκε σημαντικά από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου (υγρασία 70%) ή αυτή αν και σημαντική ήταν αρκετά μικρότερη από τις κύριες επιδράσεις (υγρασία 100%) και θεωρήθηκε αμελητέα. Στην χαμηλότερη εδαφική υγρασία ο δείκτης είχε χαμηλότερη τιμή στην δόση των 50ml/Kg σε σύγκριση με τις άλλες δόσεις ενώ η τιμή του μειώθηκε στις 60 ημέρες. Στην υψηλότερη εδαφική υγρασία ο δείκτης μειώνονταν και με την δόση των ΥΑΕ και με το χρόνο. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης  $\Sigma MI_{2-5}$  επηρεάστηκε και από την υγρασία, σε πολύ μικρότερο βαθμό όμως από τους άλλους δυο παράγοντες.

Ο δείκτης θεμελιώδους κατάστασης ΒΙ και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας επηρεάστηκε σημαντικά από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Στην χαμηλότερη υγρασία στον μάρτυρα και στην δόση των 50ml/Kg η τιμή του δείκτη αύξανε με τον χρόνο ενώ στην δόση των 200ml/Kg ο δείκτης είχε υψηλότερη τιμή στις 30 ημέρες. Ακόμα στις 60 ημέρες η τιμή του δείκτη στην δόση των 100ml/Kg βρέθηκε μικρότερη από τις δυο άλλες δόσεις. Στην υψηλότερη υγρασία, στις δόσεις των ΥΑΕ, ο δείκτης είχε υψηλότερη τιμή στις 60 ημέρες ενώ στον μάρτυρα η τιμή του δείκτη δεν μεταβλήθηκε με τον χρόνο. Η τιμή του δείκτη μειώνονταν με την δόση στις εκτιμήσεις των 15 και 30 ημερών, ενώ στις 60 ημέρες η τιμή δεν διέφερε μεταξύ των δόσεων. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης ΒΙ επηρεάστηκε από την υγρασία.

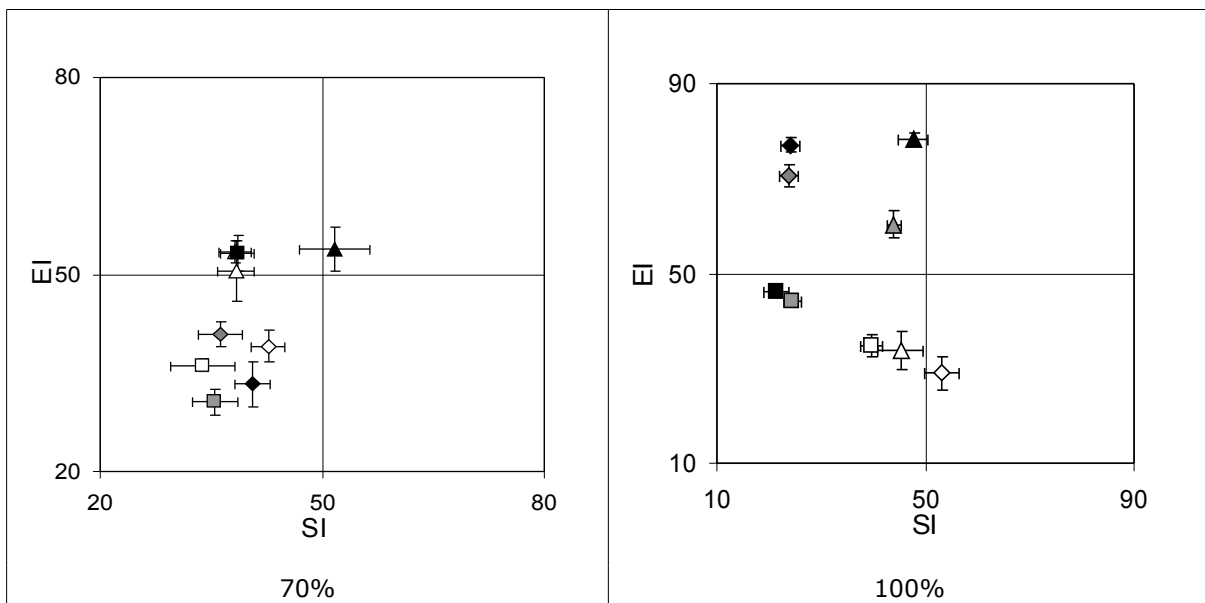
Ο δείκτης δομής SΙ στο χαμηλότερο επίπεδο υγρασίας, δεν επηρεάστηκε από την δόση και τον χρόνο, ενώ στην υψηλότερη υγρασία η τιμή του δείκτη SΙ επηρεάστηκε από την δόση και από τον χρόνο, ενώ η αλληλεπίδραση βρέθηκε οριακά σημαντική και θεωρήθηκε αμελητέα. Η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε την τιμή του δείκτη, ενώ στις 15 ημέρες η τιμή του δείκτη ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από ότι στις άλλες δυο ημερομηνίες εκτίμησης. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης SΙ της επηρεάστηκε από την υγρασία καθώς στο υψηλότερο επίπεδο υγρασίας είχαμε γενικά μικρότερη τιμή του δείκτη.

Ο δείκτης οδού αποσύνθεσης CΙ και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας επηρεάστηκε σημαντικά από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Στην χαμηλότερη υγρασία, στον μάρτυρα και στην δόση των 50ml/Kg η τιμή του CΙ αυξάνεται με τον χρόνο ενώ στην δόση των 100ml/Kg στις 30 ημέρες η τιμή του δείκτη είναι σημαντικά μεγαλύτερη από τις 15 ημέρες. Ακόμα, στις 60 ημέρες η τιμή του δείκτη στην δόση των 100ml/Kg είναι μικρότερη από τις δυο άλλες δόσεις. Στην υψηλότερη υγρασία η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε την τιμή του δείκτη και αυτό ήταν πολύ έντονο στις 15 και 30 ημέρες όπου η τιμή του δείκτη μειώνονταν με την δόση. Ακόμα, στις δόσεις των ΥΑΕ η τιμή του δείκτη ήταν υψηλότερη στις 60 ημέρες ενώ στον μάρτυρα δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των

δόσεων. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης CI από την υγρασία, καθώς η υψηλή υγρασία φαίνεται γενικά να μειώνει την τιμή του δείκτη.

Ο δείκτης εμπλουτισμού EI και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας επηρεάστηκε σημαντικά από την δόση των ΥΑΕ όσο και από τον χρόνο, ενώ υπήρξε και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Στην χαμηλότερη υγρασία, στον μάρτυρα και στην δόση των 50ml/Kg η τιμή του δείκτη μειώνεται με τον χρόνο, ενώ στην δόση των 100ml/Kg η τιμή του δείκτη στην 30 ημέρες είναι σημαντικά χαμηλότερη από ότι στις 15 και 60 ημέρες. Ακόμα στις 60 ημέρες η δόση των 100ml/Kg είχε σημαντικά μεγαλύτερη τιμή του δείκτη από τις άλλες δόσεις. Στην υψηλότερη υγρασία στον η τιμή του δείκτη στις δόσεις των ΥΑΕ η τιμή του δείκτη μειώνεται στις 60 ημέρες. Ακόμα, στις 15 ημέρες η τιμή του δείκτη αυξάνεται με την δόση, ενώ στις 30 και 60 μέρες οι δυο δόσεις των ΥΑΕ έχουν υψηλότερη τιμή από τον μάρτυρα χωρίς όμως να διαφέρουν μεταξύ τους, Από την τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ότι η τιμή του δείκτη επηρεάστηκε οριακά σημαντικά από την εδαφική υγρασία.

Στο Διάγραμμα III.2.8. δίνονται σε οριζόντιο σύστημα συντεταγμένων οι τιμές των ζευγών των δεικτών δομής SI και εμπλουτισμού EI.



**Διάγραμμα III.2.8.** Γραφική ανάλυση νηματωδοκοινότητας. Τιμές των ζευγών των δεικτών δομής SI και εμπλουτισμού EI ( $\pm$  τυπικά σφάλματα του μέσου) σε οριζόντιο σύστημα συντεταγμένων για τις δόσεις των ΥΑΕ (λευκό χρώμα - μάρτυρας, γκρι χρώμα - δόση 50 ml/Kg χρώματος, μαύρο χρώμα - δόση 100/200 ml/Kg χρώματος, και τις ημερομηνίες εκτίμησης ( τρίγωνο - 15 ημέρες, ρόμβος 30 ημέρες, τετράγωνο 60 ημέρες) στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας.

Στην χαμηλότερη υγρασία η πλειονότητα των σημείων είναι στο τέταρτο τεταρτημόριο που δείχνει ότι η νηματωδοκοινότητα ήταν τις περισσότερες περιπτώσεις σε κατάσταση υποτυπώδους δομής και εξαντλημένων πόρων. Στον μάρτυρα στις 15 ημέρες η νηματωδοκοινότητα βρίσκεται στο όριο μεταξύ πρώτου και τέταρτου τεταρτημρίου, στις

30 και 60 ημέρες βρίσκεται στο τέταρτο τεταρτημόριο, η δομή της κοινότητας στον μάρτυρα διατηρείται υποτυπώδης ενώ οι πόροι μειώνονται με τον χρόνο. Στην δόση των 50ml/Kg η δομή της νηματωδοκοινότητας διατηρείται παρόμοια αλλά μειώνεται ο δείκτης εμπλουτισμού με τον χρόνο με αποτέλεσμα στις 15 ημέρες η κοινότητα να βρίσκεται στο πρώτο τεταρτημόριο, στις 30 και 60 ημέρες να βρίσκεται στο τέταρτο. Στην δόση των 100ml/Kg στις 15 ημέρες η κοινότητα βρίσκεται οριακά στο δεύτερο τεταρτημόριο σε μια κατάσταση που θεωρείται οριακά καλής δομής και με ικανοποιητικούς πόρους, στις 30 ημέρες υποβαθμίζεται σε κατάσταση υποτυπώδους δομής με μέτριους πόρους, ενώ παραδόξως στις 60 ημέρες η δομή αν και παραμένει υποτυπώδη βρίσκεται σε κατάσταση εμπλουτισμού.

Στην υψηλότερη υγρασία στις δυο δόσεις των ΥΑΕ στις 15 και στις 30 ημέρες η νηματωδοκοινότητα ήταν σε εμπλουτισμένη κατάσταση αλλά με υποτυπώδη δομή. Η δομή της κοινότητας υποβαθμίστηκε από τις 15 έως της 30 ημέρες, καθώς ενώ στις 15 ημέρες ο δείκτης δομής ήταν οριακά κάτω από 50% στις 30 ημέρες μειώθηκε αρκετά, όμως η νηματωδοκοινότητα παρέμεινε σε εμπλουτισμένη κατάσταση. Στις 60 ημέρες η νηματωδοκοινότητα στις δυο δόσεις των ΥΑΕ βρέθηκε στο τέταρτο τεταρτημόριο, δηλαδή σε κατάσταση υποτυπώδους δομής με πόρους να τείνουν προς την εξάντληση. Στον μάρτυρα η νηματωδοκοινότητα κινήθηκε στα όρια τρίτου και τετάρτου τεταρτημόριου καθώς ήταν γενικά σε κατάσταση μικρότερου εμπλουτισμού, αλλά γενικά με τον χρόνο διατήρησε καλύτερη δομή.

#### **III.2.3.4.4. Οικολογικοί δείκτες νηματωδών**

Η επίδραση της δόσης των ΥΑΕ, της ημερομηνίας εκτίμησης καθώς και της εδαφικής υγρασίας στους δείκτες αφθονίας των ειδών του Margalef (R1), βιοποικιλότητας του Shannon (H'), κυριαρχίας του Simpson (λ) καθώς και του δείκτη ισομέρειας του Hill (E5) παρουσιάζονται στους πίνακες III.2.13 και III.2.14. Στο Διάγραμμα III.2.7 παρουσιάζονται οι τιμές των δεικτών αυτών για κάθε συνδυασμό παραγόντων, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

Ο δείκτης βιοποικιλότητας του Shannon (H') και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας επηρεάστηκε από τον χρόνο, και από την δόση των ΥΑΕ ενώ βρέθηκε και στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση. Στην χαμηλότερη υγρασία, στον μάρτυρα ο δείκτης είχε υψηλότερη τιμή στις 60 ημέρες και χαμηλότερη στις 15 ημέρες, και στην δόση των 100ml/Kg ο δείκτης είχε υψηλότερη τιμή στις 60 ημέρες. Ακόμα στις 30 ημέρες ο δείκτης είχε μεγαλύτερη τιμή στην δόση των 50ml/Kg. Στην υψηλότερη υγρασία στον μάρτυρα υψηλότερη τιμή του δείκτη έχουμε στις 60 ημέρες, στην δόση των 50ml/Kg ο δείκτης παίρνει χαμηλότερη τιμή στις 15 ημέρες, ενώ στην δόση των 200ml/Kg η τιμή του δείκτη στις 15 ημέρες είναι σημαντικά μεγαλύτερη από αυτήν στις 60 ημέρες. Ακόμα, στις 15

ημέρες η τιμή του δείκτη αυξάνει με την δόση, ενώ στις 30 και 60 ημέρες οι τιμές του στις δυο δόσεις των ΥΑΕ είναι σημαντικά υψηλότερες από τον μάρτυρα, χωρίς όμως να διαφέρουν μεταξύ τους. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης βρέθηκε να επηρεάζεται από την υγρασία, αλλά λόγω των αλληλεπιδράσεων ανωτέρου βαθμού δεν μπορεί να βγει κάποιο σαφές συμπέρασμα.

**Πίνακας III.2.13.** Επίδραση της δόσης των ΥΑΕ καθώς και του χρόνου των δεικτών: αφθονίας του Margalef (R1), ποικιλότητας του Shannon (H'), κυριαρχίας του Simpson (λ) καθώς και του δείκτη ισομέρειας του Hill (E5). (Διπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς).

	Υγρασία	δόση BE (2,45)		Χρόνος BE (2,45)		ΔόσηΧρόνος BE (4,45)	
		F	p	F	p	F	p
R1	70	3,89	0,028	11,93	0,028	0,96	0,438
	100	7,53	0,002	15,06	0,000	3,97	0,008
H'	70	6,51	0,003	16,71	0,000	3,33	0,018
	100	241,03	0,000	10,59	0,000	6,17	0,000
λ	70	0,44	0,645	0,67	0,516	1,89	0,128
	100	8,08	0,001	1,95	0,155	3,5	0,014
E5	70	13,04	0,000	26,57	0,000	2,40	0,064
	100	160,47	0,000	20,01	0,000	10,79	0,000

**Πίνακας III.2.14.** Επίδραση του χρόνου (X), της εδαφικής υγρασίας (Y) και της δόσης των ΥΑΕ (Δ) (για τις δόσεις 0 και 50ml/Kg εδάφους), στους δείκτες αφθονίας του Margalef (R1), βιοποικιλότητας του Shannon (H'), κυριαρχίας του Simpson (λ) καθώς και του δείκτη ισομέρειας του Hill (E5). (Τριπαραγοντική Ανάλυση της Διασποράς).

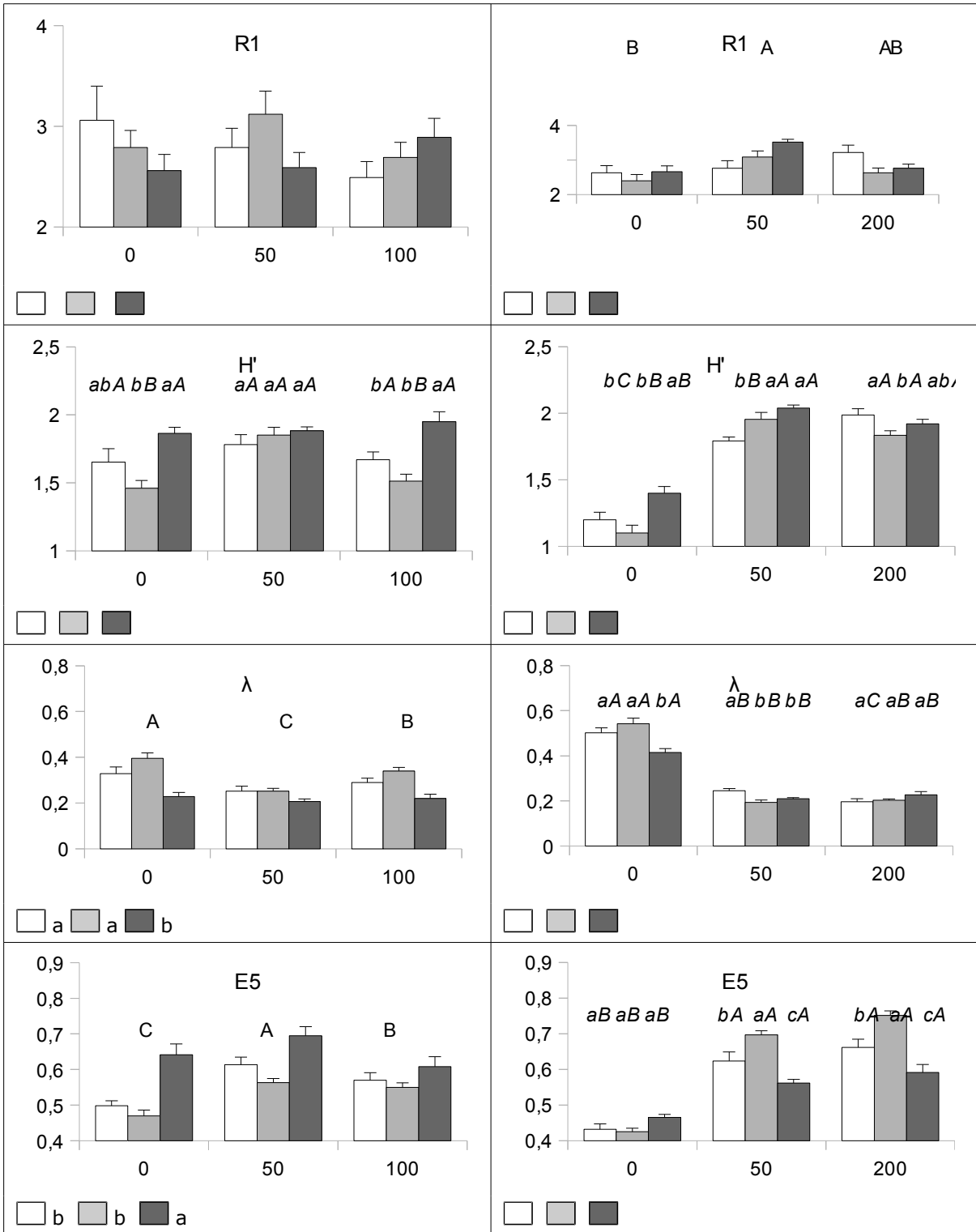
	BE		R1	H'	λ	E5
Δ	1 & 60	F	7,04	184,9	261,64	174,73
		p	0,010	0,000	0,000	0,000
X	2 & 60	F	0,05	16,8	21,01	10,64
		p	0,955	0,000	0,000	0,000
Y	1 & 60	F	0,04	27,16	46,85	20,05
		p	0,845	0,000	0,000	0,000
Δ*X	2 & 60	F	2,69	8,38	12,62	9,60
		p	0,076	0,001	0,000	0,000
Δ*Y	1 & 60	F	5,59	64,11	76,41	23,03
		p	0,022	0,000	0,000	0,000
X*Y	2 & 60	F	4,78	0,75	2,01	31,56
		p	0,021	0,476	0,143	0,001
Δ*X*Y	2 & 60	F	0,44	0,66	0,13	3,84
		p	0,643	0,522	0,878	0,027

Ο δείκτης κυριαρχίας του Simpson (λ) στην χαμηλότερη υγρασία επηρεάστηκε και

από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Ο δείκτης είχε την υψηλότερη τιμή στον μάρτυρα, και την χαμηλότερη στην δόση των 50ml/Kg, ενώ στις 60 ημέρες ο δείκτης είχε χαμηλότερη τιμή από τις 15 και 30 ημέρες. Στην υψηλότερη υγρασία ο δείκτης επηρεάστηκε έντονα από την δόση, οριακά από τον χρόνο, ενώ βρέθηκε και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε την τιμή του δείκτη, ενώ στον μάρτυρα ο δείκτης είχε χαμηλότερη τιμή στις 60 ημέρες και στην δόση των 50ml/Kg ο δείκτης είχε υψηλότερη τιμή στις 15 ημέρες. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης βρέθηκε να επηρεάζεται από την υγρασία καθώς στην υψηλότερη υγρασία, στον μάρτυρα η τιμή του δείκτη ήταν υψηλότερη.

Ο δείκτης ισομέρειας του Hill (E5) στην χαμηλότερη υγρασία επηρεάστηκε από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο ενώ δεν βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και χρόνου. Ο δείκτης είχε την υψηλότερη τιμή στην δόση των 50ml/Kg και την χαμηλότερη στον μάρτυρα, ενώ στις 60 ημέρες ο δείκτης είχε υψηλότερη τιμή από ότι στις 15 και 30 ημέρες. Στην υψηλότερη υγρασία ο δείκτης E5 επηρεάστηκε από τον χρόνο και από την δόση των ΥΑΕ ενώ βρέθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση. Η προσθήκη ΥΑΕ αύξησε την τιμή του δείκτη, ενώ στις δυο δόσεις των ΥΑΕ η τιμή του δείκτη ήταν υψηλότερη στις 30 ημέρες και χαμηλότερη στις 60 ημέρες, στον μάρτυρα δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των χρόνων εκτίμησης. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης βρέθηκε να επηρεάζεται από την υγρασία· στην χαμηλότερη υγρασία η τιμή στον μάρτυρα ήταν υψηλότερη, ενώ στην δόση των 50ml/Kg δεν φαίνεται κάποια σαφής τάση.

Ο δείκτης αφθονίας του Margalef (R1) στην χαμηλότερη υγρασία δεν επηρεάστηκε από την δόση των ΥΑΕ και από τον χρόνο, ενώ στην υψηλότερη υγρασία επηρεάστηκε μόνο από την δόση, καθώς στην δόση των 50ml/Kg είχε υψηλότερη τιμή από αυτήν στον μάρτυρα. Στην τριπαραγοντική ανάλυση της διασποράς ο δείκτης δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την υγρασία.



**Διάγραμμα III.2.7.** Μέσοι όροι και τυπικό σφάλμα του αριθμού των γενών N, των δεικτών ατούς δείκτες αφθονίας του Margalef (R1), βιοποικιλότητας του Shannon (H'), κυριαρχίας του Simpson (λ), καθώς και του δείκτη ισομέρειας του Hill (E5) για τις δόσεις των ΥΑΕ (σε ml/Kg χώματος - άξονας X) και τις ημερομηνίες εκτίμησης (σε ημέρες 15 , 30  και 60 ) και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας (αριστερά 70% δεξιά 100%). Μέσοι που δεν σημειώνονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά (Tukey HSD,  $\alpha=0.05$ ).



### III.2.4. Συζήτηση

Η βασική αναπνοή και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας αυξήθηκε σημαντικά με την προσθήκη ΥΑΕ, ενώ η υψηλότερη δόση των ΥΑΕ είχε σημαντικότερα υψηλότερη βασική μικροβιακή αναπνοή από ότι η χαμηλότερη. Οι τιμές της αναπνοής μεταξύ των δυο επιπέδων εδαφικής υγρασίας, και στον μάρτυρα και στην δόση των 50ml/Kg είναι παρόμοιες, ενώ η τιμή στην δόση των 200ml/Kg στην υψηλότερη υγρασία είναι υψηλότερη από αυτήν στην δόση των 100ml/Kg στην χαμηλότερη υγρασία. Οπότε, και με δεδομένο ότι η αναπνοή δεν επηρεάστηκε από την υγρασία, υπάρχει σοβαρή ένδειξη ότι η μικροβιακή δραστηριότητα αυξάνει με την προσθήκη των ΥΑΕ, τουλάχιστον σε αυτό το εύρος των δόσεων, με δόσοεξαρτώμενο ρυθμό. Αύξηση της βασικής αναπνοής στο έδαφος με την προσθήκη ΥΑΕ έχει βρεθεί και από άλλους ερευνητές ( Kotsou *et al.* 2004, Mekki *et al.* 2006, Piotrowska *et al.* 2006, Di Serio *et al.* 2008). Φαίνεται ότι η αύξηση του οργανικού άνθρακα και του αζώτου καθώς και άλλων θρεπτικών συστατικών στο έδαφος από την προσθήκη των ΥΑΕ οδηγεί σε αύξηση της μικροβιακής δραστηριότητας. Παρά την ενδεχόμενη τοξικότητα των ΥΑΕ σε κάποιους μικροοργανισμούς (Mekki *et al.* 2008), η σημαντική βελτίωση της θρεπτικής κατάστασης του εδάφους φαίνεται ότι οδηγεί σε θετικό ισοζύγιο όσον αφορά την εδαφική μικροβιακή δραστηριότητα, ενώ πέρα από την προσθήκη στο έδαφος θρεπτικών συστατικών το έδαφος εμπλουτίζεται και με μικροοργανισμούς που περιέχονται ήδη στα ΥΑΕ (Roussidou *et al.* 2010). Επίσης η υγρασία στα πειράματα αυτά δεν βρέθηκε να επηρεάζει την βασική μικροβιακή δραστηριότητα. Φαίνεται ότι και στο κατώτερο επίπεδο υγρασίας που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα αυτά, η υγρασία στο 70% της υδατοϊκανότητας δεν ήταν περιοριστικός παράγοντας για την μικροβιακή δραστηριότητα. Όσον αφορά την επίδραση του χρόνου στις 30 ημέρες οι τιμές της βασικής μικροβιακής δραστηριότητας βρέθηκαν να είναι μικρότερες από τις άλλες δυο ημερομηνίες εκτίμησης. Πιθανόν αυτό να σχετίζεται με τις χαμηλές θερμοκρασίες που επικράτησαν εκείνη την περίοδο και στις οποίες εκτέθηκαν οι γλάστρες. Η επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή στην χαμηλότερη υγρασία αυξήθηκε επίσης με την δόση στην χαμηλότερη υγρασία αλλά η αύξηση δεν ήταν τόσο έντονη όσο στην βασική αναπνοή. Αντίθετα στην υψηλότερη υγρασία μόνο στην υψηλότερη δόση αυξήθηκε η επαγόμενη δια υποστρώματος μικροβιακή αναπνοή σε σχέση με τον μάρτυρα. Η αντίδραση της επαγόμενης δια υποστρώματος μικροβιακής αναπνοής επηρεάστηκε αρκετά λιγότερο από την βασική μικροβιακή αναπνοή.

Στην υψηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί των μικροαρθροπόδων ήταν ιδιαίτερα χαμηλοί (τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται). Πιθανόν η πολύ υψηλή υγρασία δημιούργησε ασφυκτικές συνθήκες για την επιβίωση των μικροαρθροπόδων. Αν και γενικά τα μικροαρθρόποδα χρειάζονται στην εδαφική υγρασία, η μείωση των πληθυσμών των αρθροπόδων σε συνθήκες πολύ υψηλής υγρασίας έχει ευρεθεί και από άλλους ερευνητές (O' Lear & Blair 1999). Οι πληθυσμοί των Collembola δεν επηρεάστηκαν από την

προσθήκη ΥΑΕ, ενώ χαμηλότεροι πληθυσμοί βρέθηκαν στην δειγματοληψία των 30 ημερών.

Οι πληθυσμοί των Oribatida ελαττώθηκαν σημαντικά με την προσθήκη ΥΑΕ ενώ στην δόση των 100ml/Kg βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί από ότι στην δόση των 50ml/Kg. Τα ακάρεα αυτά είναι της κ οικολογικής επιλογής καθώς χαρακτηρίζονται γενικά από χαμηλό μεταβολικό ρυθμό, αργή ανάπτυξη και χαμηλή γονιμότητα, (Crossley, 1977, Behan-Pelletier, 1999), και αναμένεται είναι ευαίσθητα στις διαταραχές του περιβάλλοντός τους. Ενδεχομένως η μείωση των πληθυσμών τους να οφείλεται σε τοξικές επιδράσεις συστατικών των ΥΑΕ. Η επίδραση της προσθήκης εξωγενούς οργανικής ουσίας στα Oribatida δεν είναι σταθερή (Gergocs & Hyfnagel, 2009). Για παράδειγμα η προσθήκη λυματολάσπης έχει βρεθεί να μειώνει την ποικιλότητα και την αφθονία των Oribatida (Andres 1999, Arroyo & Iturrondobeitia 2006), ενώ η ότι η προσθήκη κοπριάς και compost αύξησε την ποικιλότητα και την αφθονία των Oribatida (Kitasawa & Kitazawa 1980, Bielska and Paszewska 1997, Minor & Norton 2004).

Στα Mesostigmata τα αποτελέσματα δεν είναι τόσο ξεκάθαρα. Για τα Mesostigmata οι πληθυσμοί τους φαίνεται να ελαττώνονται με την προσθήκη ΥΑΕ τόσο στις 15 όσο και στις 60 ημέρες, ενώ αυτό δεν επιβεβαιώθηκε στις 30 ημέρες κυρίως λόγω των ιδιαίτερα υψηλών πληθυσμών που βρέθηκαν στην δόση των 50ml/Kg στην ημερομηνία αυτή. Τα Mesostigmata σε άλλες μελέτες έχουν βρεθεί να ωφελούνται από την προσθήκη εξωγενούς οργανικής ουσίας όπως λυματολάσπη, compost, κοπριά, πουλερικών (Karg 1983, Koehler 1999, Minor & Norton, 2004).

Στα Prostigmata τα αποτελέσματα επίσης δεν είναι τόσο ξεκάθαρα. Για τα Prostigmata οι πληθυσμοί τους φαίνεται να ελαττώνονται με την προσθήκη ΥΑΕ τόσο στις 15 όσο και στις 30 ημέρες, ενώ αυτό δεν επιβεβαιώθηκε στις 60 ημέρες κυρίως λόγω των ιδιαίτερα υψηλών πληθυσμών που ανιχνεύθηκαν στην δόση των 50ml/Kg στην ημερομηνία αυτή. Εδώ θα πρέπει να αναφερθεί ότι μέσα στην τάξη των Prostigmata περιλαμβάνονται ακάρεα διαφόρων τροφικών απαιτήσεων και λειτουργικών ρόλων στο εδαφικό οικοσύστημα, και έτσι δεν αναμένεται να αντιδρούν με παρόμοιο τρόπο σε μια εξωτερική διαταραχή.

Οι πληθυσμοί των φυτοпараσιτικών νηματωδών μειώθηκαν με την δόση των ΥΑΕ και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Επίσης στις 15 ημέρες οι πληθυσμοί των νηματωδών βρέθηκαν χαμηλότεροι από ότι στις άλλες δυο ημερομηνίες εκτίμησης. Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις που βρέθηκαν άνηκαν εξ' ολοκλήρου στην τάξη των Tylenchida. Η πλειοψηφία των φυτοпараσιτικών νηματωδών άνηκε στο γένος *Helicotylenchus*, οι πληθυσμοί του οποίου μειώθηκαν σημαντικά με την προσθήκη ΥΑΕ και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Στο γένος *Pratylenchus* (οικ Pratylenchidae) φαίνεται ότι οι πληθυσμοί του επηρεάζονται αρνητικά μόνο από την ανώτερη δόση των ΥΑΕ και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Αντίθετα στο γένος *Tylenchorhynchus* (οικ Belonolaimidae).

υψηλότεροι πληθυσμοί παρατηρούνται στην δόση των 50ml/Kg και για τα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Το γένος αυτό φαίνεται να επηρεάζεται λιγότερο από την προσθήκη YAE στο έδαφος, και στις δόσεις των YAE φαίνεται να αυξάνεται η αναλογία του στο σύνολο των φυτοπαρασιτικών νηματωδών του εδάφους. Φαίνεται ότι τα διάφορα γένη φυτοπαρασιτικών νηματωδών δεν αντιδρούν με τον ίδιο τρόπο στην προσθήκη YAE, καθώς η ευαισθησία τους ποικίλλει, ως σύνολο όμως οι πληθυσμοί των φυτοπαρασιτικών νηματωδών μειώθηκαν. Ενδεχομένως αυτό να οφείλεται σε επίδραση τοξικών παραγόντων των YAE, ενώ από την παρουσία του YAE δεν φαίνεται κάποιο άμεσο όφελος για τους νηματώδεις αυτούς. Δεν υπάρχουν δεδομένα για την επίδραση των YAE στην κοινότητα των νηματωδών, έχουν όμως ευρεθεί ότι σε υψηλές δόσεις παρεμποδίζουν την εκκόλαψη των ωών του κομβονηματώδη *Meloidogyne icognita* (Cayela *et al.* 2008). Η προσθήκη όμως στο έδαφος στο έδαφος οργανικού υλικού είναι γνωστό από αρκετές μελέτες ότι μειώνει τους πληθυσμούς των φυτοπαρασιτικών νηματωδών (για παράδειγμα Clark *et al.*, 1998, Nahar *et al.* 2006, Qi & Hu 2007, Leroy *et al.*, 2009). Είναι άλλωστε γνωστή η πρακτική η προσθήκη οργανικής ουσίας στο έδαφος για την αντιμετώπιση προβλημάτων φυτοπαρασιτικών νηματωδών. Αν και δεν είναι πλήρως εξακριβωμένος ο μηχανισμός, φαίνεται ότι οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις μπορεί να επηρεασθούν από την προσθήκη οργανικής ύλης στο έδαφος είτε άμεσα από την παρουσία τοξικών για αυτούς ουσιών στο έδαφος από την αποδόμηση της, είτε έμμεσα από ανταγωνιστικούς οργανισμούς ή εχθρούς τους που θα ευνοηθούν από την παρουσία της οργανικής ουσίας (Treonis *et al.* 2010, Oka 2010). Ακόμα ο δείκτης ωριμότητας της φυτοπαρασιτικής νηματωδοκοινότητας PPI και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας μειώθηκε με την προσθήκη των YAE. Η χαμηλότερη τιμή του δείκτη PPI στην προσθήκη των YAE σχετίζεται με την αύξηση της συχνότητας του γένους *Tylenchorhynchus* στην νηματωδοκοινότητα, καθώς επηρεάσθηκε λιγότερο από την προσθήκη YAE.

Οι πληθυσμοί των βακτηριοφάγων νηματωδών βρέθηκαν να αυξάνονται με τον χρόνο και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Στην χαμηλότερη υγρασία η προσθήκη YAE μείωσε ελαφρά τους πληθυσμούς των βακτηριοφάγων νηματωδών. Αντίθετα στην υψηλότερη υγρασία οι δυο δόσεις των YAE είχαν σημαντικά υψηλότερους πληθυσμούς βακτηριοφάγων νηματωδών από τον μάρτυρα, ενώ στην δόση των 50ml/Kg βρέθηκαν σημαντικά υψηλότεροι πληθυσμοί από αυτούς στην δόση των 200ml/Kg. Το πολυπληθέστερο γένος των βακτηριοφάγων νηματωδών ήταν το *Acrobelloides*, ακολουθούμενο από το *Mesorhabdites*. Στο γένος *Acrobelloides* οι πληθυσμοί αυξάνονταν με τον χρόνο και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί του είδους μειώνονταν με την δόση, ενώ αντίθετα στο υψηλότερο οι δυο δόσεις των YAE είχαν υψηλότερους πληθυσμούς από τον μάρτυρα, ενώ στην δόση των 50ml/Kg οι πληθυσμοί βρέθηκαν να είναι υψηλότεροι από αυτούς στην δόση των 200ml/Kg. Πιθανόν στην δόση των 200ml/Kg να υπήρχαν σε υψηλό ποσοστό ουσίες των

ΥΑΕ τοξικές προς αυτούς τους νηματώδεις. Οι πληθυσμοί του γένους *Mesorhabditis* στην χαμηλότερη υγρασία δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται σημαντικά από την προσθήκη ΥΑΕ, αντίθετα στο υψηλότερο επίπεδο στις δυο δόσεις των ΥΑΕ οι πληθυσμοί του γένους αυτού αυξήθηκαν θεαματικά σε σχέση με τον μάρτυρα. Ενώ παρατηρείται εκτόξευση των πληθυσμών στις 30 ημέρες, στις 60 ημέρες οι πληθυσμοί μειώνονται σημαντικά, κάτι που φαίνεται να δείχνει ότι μειώνονται οι έντονες συνθήκες εμπλουτισμού που προκάλεσαν αυτήν την πληθυσμιακή έξαρση. Πρόκειται για έναν νηματώδη καθαρά της r οικολογικής στρατηγικής (της κλάσης 1 της κλίμακας των αποικιστικών – έμμωνων) ο οποίος παρουσιάζει έντονες πληθυσμιακές αυξομειώσεις αντιδρώντας άμεσα στην κατάσταση του υποστρώματος (εμπλουτισμένη ή όχι). Γενικά νηματώδεις της κλάσης 1 αντιδρούν άμεσα στην αύξηση των βακτηρίων και η αύξηση αυτή των νηματωδών αυτών είναι ένδειξη εμπλουτισμού (Ferris & Bongers 2006). Στην συγκεκριμένη μελέτη εκτός από την προσθήκη ΥΑΕ ήταν απαραίτητη και η υψηλή εδαφική υγρασία για την αύξηση των πληθυσμών του.

Οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων νηματωδών βρέθηκαν να αυξάνονται με τον χρόνο και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί των μυκητοφάγων νηματωδών μειώνονταν με την δόση. Αντίθετα στην υψηλότερη υγρασία οι δυο δόσεις των ΥΑΕ είχαν σημαντικά υψηλότερους πληθυσμούς μυκητοφάγων νηματωδών από τον μάρτυρα, ενώ στην δόση των 50ml/Kg βρέθηκαν σημαντικά υψηλότεροι πληθυσμοί από αυτούς στην δόση των 200ml/Kg. Το πολυπληθέστερο μυκητοφάγο γένος ήταν το *Aphelenchoides*, ενώ μικρότεροι πληθυσμοί ήταν του γένους *Aphelenchus*, και ακόμη μικρότεροι του γένους *Tylenchus*. Στο γένος *Aphelenchoides* οι πληθυσμοί μειώνονται με τον χρόνο και στα δυο επίπεδα εδαφικής υγρασίας. Στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί του γένους μειώνονταν και με την δόση των ΥΑΕ ενώ στην υψηλότερη οι δύο δόσεις των ΥΑΕ βρέθηκαν να έχουν σημαντικά υψηλότερους πληθυσμούς από τον μάρτυρα, ενώ στην δόση των 50ml/Kg βρέθηκαν σημαντικά υψηλότεροι πληθυσμοί από ότι στην δόση των 200ml/Kg. Ενδεχομένως στην υψηλή δόση των ΥΑΕ να προστίθενται σε υψηλή περιεκτικότητα στο έδαφος ουσίες οι οποίες επιδρούν αρνητικά στην επιβίωση του νηματώδη αυτού. Για το γένος *Aphelenchus* στην χαμηλότερη υγρασία η προσθήκη ΥΑΕ γενικά μειώνει τους πληθυσμούς του γένους αυτού. Αντίθετα στην υψηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί, μετά από την πρώτη ημερομηνία εκτίμησης, στις δυο δόσεις των ΥΑΕ είναι σημαντικά υψηλότεροι από αυτούς στον μάρτυρα και μάλιστα με τάση ανόδου σε σχέση με τον χρόνο ενώ στον μάρτυρα οι πληθυσμοί παρέμειναν χαμηλοί. Για το γένος *Tylenchus*, το οποίο οι τροφικές του απαιτήσεις δεν είναι πλήρως εξακριβωμένες, δηλαδή αν είναι μυκητοφάγο ή/και φυτοπαρασιτικό (Yeates *et al.*, 1993) στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί του γενικά του αυξάνονταν με τον χρόνο ενώ η επίδραση της προσθήκης ΥΑΕ δεν έχει κάποια σταθερή πορεία. Στην υψηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί παρέμειναν χαμηλοί και δεν

βρέθηκαν να επηρεάζονται από την προσθήκη ΥΑΕ, ενώ αυξάνονταν με τον χρόνο.

Γενικά οι βακτηριοφάγοι και μυκητοφάγοι νηματώδεις αυξάνονται με την προσθήκη οργανικής ουσίας πιθανότατα λόγω της αύξησης των πληθυσμών των βακτηρίων και των μυκήτων που παρέχουν τροφή σε αυτούς τους νηματώδεις, όπως έχει βρεθεί από αρκετές μελέτες (Bongers & Ferris, 1999; Ferris *et al.*, 1999; McSorley & Frederick 1999, Bullock *et al.* 2002, Forge *et al.* 2005, Nahar *et al.* 2006, Qi & Hu 2007, Leroy *et al.* 2009). Ακόμα στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση των νηματωδών της βαθμίδας 2 της κλίμακας έμμονων-εποικιστικών με τον χρόνο (*Aphelenhus*, *Aphelenchoides*, *Acrobeloides*), με πιο αργό ρυθμό και χρονικά μετά την αύξηση των νηματωδών της κλάσης 1 (*Rhabditidae*). Αυτή η διαδοχή στην σύνθεση της κοινότητας των βακτηριοφάγων και μυκητοφάγων νηματωδών από αυτούς της κλάσης 1 της κλίμακας των αποικιστικών-εμμόνων σε αυτούς της κλάσης 2 με την πάροδο του χρόνου μετά από προσθήκη οργανικής ουσίας έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (Ferris & Matute 2001, Leroy *et al.* 2009). Η υγρασία επίσης να είναι ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας για τους μυκητοφάγους και τους βακτηριοφάγους νηματώδεις, καθώς στην χαμηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί τους δεν βρέθηκαν να ανταποκρίνονται θετικά ή ανταποκρίνονται λιγότερο έντονα στην προσθήκη οργανικής ύλης μέσω των ΥΑΕ, παρόλο που και στην χαμηλότερη υγρασία η μικροβιακή δραστηριότητα επηρεάστηκε θετικά από την προσθήκη ΥΑΕ.

Ο δείκτης οδού αποσύνθεσης CI στο χαμηλότερο επίπεδο υγρασίας γενικά δεν επηρεάστηκε από την δόση εκτός από την τελευταία εκτίμηση στην οποία η δόση των 100ml/Kg είχε χαμηλότερη τιμή του δείκτη από τις δυο άλλες δόσεις, ενώ εκτός από την δόση των 100ml/Kg ο δείκτης αυξάνει με τον χρόνο. Στην υψηλότερη υγρασία, στον μάρτυρα παραμένει σταθερός στον χρόνο ενώ στις δυο δόσεις των ΥΑΕ στις δυο πρώτες ημερομηνίες εκτίμησης βρέθηκε χαμηλότερος από ότι στην τρίτη εκτίμηση, αλλά πάντα έχει χαμηλότερη τιμή από αυτήν στον μάρτυρα. Η προσθήκη ΥΑΕ, φαίνεται πως ενίσχυσε την πορεία αποσύνθεσης που οφείλεται στα βακτήρια σε σχέση με αυτό που οφείλεται στους μύκητες.

Ο δείκτης εμπλουτισμού EI στην χαμηλότερη υγρασία γενικά δεν παρουσίασε αξιόλογες μεταβολές καθώς επηρεάστηκε από την δόση μόνο στις 60 ημέρες καθώς στην δόση των 100ml/Kg είχε υψηλότερη τιμή από τις δυο προηγούμενες εκτιμήσεις, ενώ εκτός από την δόση των 100ml/Kg η δόση η τιμή του δείκτη μειώνονταν με τον χρόνο. Αντίθετα στην υψηλότερη υγρασία η τιμή του δείκτη στον μάρτυρα παρέμεινε σταθερή στον χρόνο ενώ στις δυο δόσεις των ΥΑΕ ο δείκτης είχε υψηλότερη τιμή από ότι στον μάρτυρα, ενώ στις δυο δόσεις των ΥΑΕ, στις 60 ημέρες η τιμή του δείκτη πέφτει. Η πτώση αυτή σχετίζεται με την πτώση των βακτηριοφάγων νηματωδών της οικογένειας *Rhabditidae*. Η προσθήκη στο έδαφος οργανικής ουσίας έχει βρεθεί να προκαλεί αύξηση του δείκτη εμπλουτισμού της νηματωδοκοινότητας EI και από άλλες μελέτες (Neher &

Olson, 1999; Ferris *et al.* 2001; Berkelmans *et al.* 2003, Leroy *et al.* 2009) λόγω της αυξημένης αφθονίας των αποικιστικών νηματωδών.

Οι πληθυσμοί των παμφάγων νηματωδών στην χαμηλότερη υγρασία βρέθηκαν να αυξάνονται με τον χρόνο, ενώ οι δυο δόσεις των ΥΑΕ είχαν σημαντικά χαμηλότερους πληθυσμούς από τον μάρτυρα. Στην υψηλότερη υγρασία οι πληθυσμοί των παμφάγων νηματωδών δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται από τα ΥΑΕ. Οι παμφάγοι νηματώδεις είναι της *k* οικολογικής επιλογής, και θεωρούνται ευαίσθητοι σε διαταραχές του οικοσυστήματος (Ferris *et al.* 2001). Παρόλο που η προσθήκη ΥΑΕ αναμένεται αύξησε τις τροφικές πηγές των νηματωδών αυτών (άλλοι νηματώδεις, βακτήρια, μύκητες, άλγη) οι νηματώδεις αυτοί δεν αυξήθηκαν ενδεχομένως λόγω συστατικών των ΥΑΕ που δεν ευνοούν την αφθονία τους.

Ο δείκτης ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας MI, στην χαμηλότερη υγρασία δεν επηρεάστηκε από την δόση των ΥΑΕ, ενώ στην υψηλότερη υγρασία, στις δυο δόσεις των ΥΑΕ ο δείκτης είχε σημαντικά χαμηλότερη τιμή από τον μάρτυρα. Ο ολικός δείκτης ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας ΣMI στην χαμηλότερη υγρασία στην δόση των 50ml/Kg είχε ελαφρώς χαμηλότερη τιμή, αν και στατιστικώς σημαντική από ότι δυο άλλες επεμβάσεις, ενώ στην υψηλότερη υγρασία, η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε την τιμή του. Η προσθήκη οργανικής ουσίας αυξάνει την συχνότητα νηματωδών των κατώτερων βαθμίδων της κλίμακας έμμονων-αποικιστικών με αποτέλεσμα την μείωση των δεικτών ωριμότητας. Ο ολικός δείκτης ωριμότητας ΣMI νηματωδοκοινότητας φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητος στην προσθήκη ΥΑΕ από ότι ο MI, αυτό ίσως να σχετίζεται με το ότι στην νηματωδοκοινότητα της παρούσας μελέτης η κυρίαρχη ομάδα σε πληθυσμό ήταν οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις. Ο δείκτης ΣMI<sub>2-5</sub> στην χαμηλότερη υγρασία είχε χαμηλότερη τιμή στην δόση των 50ml/Kg από τις άλλες δυο δόσεις ενώ στις 60 ημέρες είχε χαμηλότερη τιμή από ότι στις 15 και 30. Στην υψηλότερη εδαφική υγρασία ο δείκτης μειώνονταν και με την δόση των ΥΑΕ και με το χρόνο. Ο ΣMI<sub>2-5</sub> γενικά έδειξε παρόμοια τάση με τον ΣMI όσον αφορά την επίδραση της δόσης. Η προσθήκη στο έδαφος οργανικής ουσίας έχει βρεθεί να προκαλεί μείωση των δεικτών ωριμότητας MI και ΣMI και από άλλες μελέτες (Neher & Olson, 1999; Ferris *et al.* 2001; Berkelmans *et al.* 2003, Nahar *et al.* 2006, Qi & Hu 2007, Leroy *et al.* 2009, Hu & Qi 2010) λόγω συνθηκών που ευνοούν την αυξημένη αφθονία των αποικιστικών νηματωδών.

Ο δείκτης θεμελιώδους κατάστασης BI στην χαμηλότερη υγρασία γενικά δεν επηρεάστηκε από την δόση, εκτός από την τελευταία εκτίμηση στην οποία η δόση των 100ml/Kg είχε χαμηλότερη τιμή του δείκτη από τις δυο άλλες δόσεις, ενώ εκτός από την δόση των 100ml/Kg ο δείκτης αυξάνει με τον χρόνο. Στην υψηλότερη υγρασία, στον μάρτυρα παραμένει σταθερός στον χρόνο ενώ στις δυο δόσεις των ΥΑΕ στις δυο πρώτες ημερομηνίες εκτίμησης βρέθηκε χαμηλότερος από τον μάρτυρα, ενώ στις 60 ημέρες ανεβαίνει στην τιμή του μάρτυρα. Φαίνεται ότι στις 60 ημέρες οι εμπλουτισμός του

εδάφους από την οργανική ουσία αρχίζει να εξαντλείται, με αποτέλεσμα την μείωση των αποικιστικών νηματωδών και κατά συνέπεια της τιμής του δείκτη.

Ο δείκτης δομής SI στην χαμηλότερη υγρασία δεν επηρεάστηκε ούτε από την δόση των ΥΑΕ ούτε από τον χρόνο, ενώ στην υψηλότερη υγρασία η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε την τιμή του, ενώ ελαττώθηκε αρκετά μετά τις 15 ημέρες. Η μείωση αυτή της τιμής του δείκτη δομής είναι αποτέλεσμα της αύξησης των αποικιστικών βακτηριοφάγων και μυκητοφάγων νηματωδών, ενώ αντίθετα οι πληθυσμοί των παμφάγων νηματωδών των ανώτερων τροφικών ομάδων δεν είχαν ανάλογη ανταπόκριση, οδηγώντας έτσι την νηματωδοκοινότητα σε υποβάθμιση της δομής της. Ο δείκτης SI καθορίζεται κυρίως από τους πληθυσμούς των παμφάγων και αρπακτικών νηματωδών οι οποίοι θεωρούνται πιο ευαίσθητοι στις διαταραχές και χρειάζονται περισσότερο χρόνο για να αυξηθούν οι πληθυσμοί τους σε σχέση με τους πιο ταχείας ανάπτυξης βακτηριοφάγους και μυκητοφάγους νηματώδεις (Ferris *et al.* 2001).

Με βάση την γραφική ανάλυση της νηματωδοκοινότητας, στην χαμηλότερη υγρασία, τα σημεία των επεμβάσεων βρίσκονταν κυρίως στο τεταρτημόριο Δ που δείχνει κοινότητα μειωμένης δομής και μειωμένων πόρων. Στον μάρτυρα και στην δόση των 50ml/Kg οι πόροι μειώνονται με τον χρόνο, ενώ αντίθετα στην δόση των 100ml/Kg έχουμε ελαφρά μείωση της δομής με τον χρόνο, ενώ στις 30 μέρες έχουμε μια πτώση στον δείκτη εμπλουτισμού που δεν είναι εύκολο να εξηγηθεί. Αντίθετα στην υψηλότερη υγρασία η κατάσταση είναι πιο σαφής και η γραφική ανάλυση της νηματωδοκοινότητας να δίνει πιο καθαρές πληροφορίες. Τα σημεία του μάρτυρα, που διαχωρίζονται σαφώς από τα σημεία των δόσεων των ΥΑΕ, βρίσκονται στο όριο των τεταρτημορίων Γ και Δ που φανερώνουν κοινότητα περιορισμένων πόρων και με μέτρια δομή. Αντίθετα για τις δυο δόσεις των ΥΑΕ στις 15 ημέρες βρίσκονται σε κατάσταση εμπλουτισμού με μέτρια δομή, στις 30 ημέρες μειώνεται η δομή της κοινότητας ενώ στις 60 μέρες παρουσιάζεται εξάντληση των πόρων.

Ο δείκτης βιοποικιλότητας του Shannon (H') στην χαμηλότερη υγρασία φαίνεται γενικά να έχει υψηλότερες τιμές στην δόση των 50ml/Kg, ενώ στην υψηλότερη υγρασία η προσθήκη ΥΑΕ εμφανώς αύξησε την τιμή του δείκτη. Η αύξηση αυτή της βιοποικιλότητας στην υψηλότερη υγρασία συνδέεται με την μεγάλη αύξηση των αποικιστικών βακτηριοφάγων νηματωδών οι οποίοι ήταν σε χαμηλούς πληθυσμούς στον μάρτυρα ή και ανύπαρκτοι σε κάποια δείγματα, ενώ αντίθετα άλλοι νηματώδεις δεν είχαν έντονες μεταβολές στους πληθυσμούς τους. Η προσθήκη ΥΑΕ φαίνεται γενικά να μειώνει την τιμή του δείκτη κυριαρχίας του Simpson ( $\lambda$ ), και να αυξάνει την τιμή του δείκτη ισομέρειας του Hill (E5), και αυτό είναι πολύ πιο έντονο στην υψηλότερη υγρασία. Οι Bulluck *et al.* (2002) και Nahar *et al.* (2006) αναφέρουν μείωση των δεικτών βιοποικιλότητας, αφθονίας και ισομέρειας λόγω αύξησης αποικιστικών βακτηριοφάγων νηματωδών, μετά την προσθήκη ακατέργαστης κοπριάς χοίρων και αλόγων αντίστοιχα. Στην παρούσα μελέτη οι πληθυσμοί των αποικιστικών νηματωδών ήταν ιδιαίτερα χαμηλοί στον μάρτυρα,

και αυτό συνέβαλε στην αύξηση των δεικτών βιοποικιλότητας και ισομέρειας.

Σαν γενικό συμπέρασμα η προσθήκη στο έδαφος ΥΑΕ αύξησε την μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους, ενώ είχε γενικά αρνητικές επιδράσεις στους πληθυσμούς των μικροαρθρόποδων και των νηματωδών (πλην κάποιων εξαιρέσεων όπως οι αποικιστικοί νηματώδεις). Οι επιπτώσεις των ΥΑΕ στο εδαφικό οικοσύστημα φαίνεται να είναι συνισταμένη, αφενός του εμπλουτισμού του εδάφους με θρεπτικά στοιχεία και οργανική ουσία και αφετέρου της τοξικότητας κάποιων συστατικών του, ενώ η αντίδραση των οργανισμών του εδάφους στην προσθήκη ΥΑΕ ποικίλει ευρέως.



### **III.3. Επίδραση των υγρών αποβλήτων ελαιουργείων στην αναπαραγωγή καθώς και σε πιθανή συμπεριφορά αποφυγής του *Folsomia candida* (Collebola: Entomobryidae).**

#### **III.3.1. Εισαγωγή**

Ένα από τα σημαντικά περιβαλλοντικά προβλήματα σε ελαιοκομικές περιοχές είναι και η διαχείριση των ΥΑΕ για το οποίο έχει γίνει εκτενής αναφορά στην εισαγωγή του κεφαλαίου. Ένα από τα ζητήματα της διαχείρισής του μεταξύ των άλλων είναι και η υψηλή τοξικότητά του, που οφείλεται στο υψηλό οργανικό του φορτίο. Αν και υπάρχουν στοιχεία για την τοξικότητά του σε φυτά, υδρόβιους οργανισμούς και μικροοργανισμούς δεν υπάρχουν δεδομένα για την τοξικότητα των ΥΑΕ σε αρθρόποδα του εδάφους. Αγροτοβιομηχανικά απόβλητα σε χώρες με υψηλή πρωτογενή παραγωγή όπως η Ελλάδα μπορούν να αποτελέσουν σημαντικά περιβαλλοντολογικά προβλήματα. Η τοξικολογική αξιολόγηση των υγρών αποβλήτων και οι τοξικές επιδράσεις στο περιβάλλον της απόθεσης είναι κρίσιμες για την σωστή διαχείριση των αποβλήτων καθώς και των σχεδίων παρακολούθησης (Petala *et al.* 2006, Rouvalis *et al.* 2010).

Η τοξικολογική αξιολόγηση των υγρών αποβλήτων και οι τοξικές επιδράσεις στο περιβάλλον της απόθεσης είναι κρίσιμες για την σωστή διαχείριση των αποβλήτων καθώς και των σχεδίων παρακολούθησης, και οι οικοτοξικολογικές δοκιμασίες είναι χρήσιμες για την πρόβλεψη των επιπτώσεων της προσθήκης οργανικών αποβλήτων στο έδαφος και τον προσδιορισμό των ασφαλών δόσεων απόθεσης (Petala *et al.* 2006, Domene *et al.* 2008). Οι χημικές αναλύσεις από μόνες τους σε απόβλητα που περιέχουν τόσο μεγάλο αριθμό συστατικών δεν είναι από μόνες τους ικανές να προβλέψουν την τοξικότητα (Domene *et al.* 2007, 2008). Οι δοκιμές αυτές είναι γενικά απλές διαδικασίες που επιτρέπουν την ανίχνευση επιπτώσεων των ρύπων που δεν εντοπίζονται με χημική ανάλυση ή ακόμα και πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ ρύπων σε δόσεις χαμηλότερες από τις συνιστώμενες. Και μπορεί να είναι ένα συμπληρωματικό εργαλείο εκτίμησης των περιβαλλοντολογικών επιπτώσεων ενός ρύπου (Moreira *et al.* 2008).

Λίγες σχετικά οικοτοξικολογικές βιοδοκιμές έχουν αναπτυχθεί για την αξιολόγηση της τοξικότητας των αποβλήτων στο έδαφος. Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφοροι εδαφόβιοι ζωικοί οργανισμοί, όπως ο γεωσκώληκας *Eisenia fetida* (OECD 1984). Ακόμα, έχουν χρησιμοποιηθεί το ισόποδο *Porcelio scaber* (Fisher *et al.* 1994), τα ακάρεα *Hypoopsis aculeifer* (Lokke *et al.* 1994, Heckmann *et al.* 2005) και *Platynothrus peltifer* ((van Gestel & Doornekamp 1994). Κυρίως όμως έχουν χρησιμοποιηθεί Collebola.

Τα Collembola είναι σημαντικοί παράγοντες του εδαφικού οικοσυστήματος και είναι ευαίσθητα στις επιδράσεις της ρύπανσης του εδάφους (Fountain & Hopkin 2005) και χρησιμοποιούνται για πολλά χρόνια για οικοτοξικολογικές δοκιμές (Krogh, 2009). Υπάρχει

η δυνατότητα έκθεσης αυτών των οργανισμών σε ρύπους με διάφορους τρόπους (προσθήκη στο υπόστρωμα, στην τροφή) και να μελετηθεί η επίδραση τους σε βιολογικές παραμέτρους του εντόμου, στην συμπεριφορά του ή και βιοσυσσώρευση (Fountain & Hopkin, 2005). Τα Collembola που έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως για εργαστηριακές βιοδοκιμές τοξικότητας είναι το *Folsomia candida* και λιγότερο το *Folsomia fimetaria* της οικογένειας των Isotomidae. Εκτός αυτών έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλα κολέβουλα όπως για παράδειγμα τα *Protaphura armata* (Heckmann *et al.* 2006), *Heteromurus nitidus* (Idinger 2001), *Paronychiurus kimi* (Kang *et al.* 1998, Son *et al.* 2007), *Sinella coeca* (Menta *et al.* 2006), *Mesaphorura macrochaeta* (Niklasson *et al.*, 2000), *Onychiurus armatus* (Tranvik *et al.* 1993) *Onychiurus pseudogranulosus* (Sabatini *et al.* 1998), *Orchesella cincta* (van Straalen *et al.* 1987).

Η πιο ευρέως διαδεδομένη οικοτοξικολογική βιοδοκιμή για εδαφόβιους οργανισμούς είναι η παρεμπόδιση της αναπαραγωγής του *F. candida* (Collembola. οικ. Isotomidae). Για το *F. candida* έχει τυποποιηθεί πρωτόκολλο οικοτοξικολογικής δοκιμής από τον διεθνή οργανισμό τυποποίησης ISO (11267, 1998). Η αναπαραγωγή του αρθρόποδου αυτού είναι πιο ευαίσθητη βιολογική παράμετρος και δίνει πιο πολλές πληροφορίες από ότι η θνησιμότητα του (Krogh & Petersen 1995).

Για το *F. candida* έχει τυποποιηθεί πρωτόκολλο οικοτοξικολογικής δοκιμής από τον διεθνή οργανισμό τυποποίησης ISO (11267, 1998). Η δοκιμή αυτή συνίσταται στην μέτρηση της αναπαραγωγής του μετά από έκθεσή του σε εύρος συγκεντρώσεων της υπό δοκιμή ξενοβιοτικής ουσίας η οποία έχει αναμειχθεί σε τεχνητό έδαφος μέσα στο οποίο το *F. candida* δραστηριοποιείται. Η αναπαραγωγή του *F. candida* είναι πιο ευαίσθητη βιολογική παράμετρος και δίνει πιο πολλές πληροφορίες από ότι η θνησιμότητα του (Krogh & Petersen 1995). Η δοκιμή έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για οικοτοξικολογικές εργαστηριακές μελέτες παρεμπόδισης αναπαραγωγής με διάφορες ξενοβιοτικές ουσίες όπως βάρια μέταλλα (Van Straalen *et al.* 1989, Scott-Fordsmann *et al.* 1997 & 1999, Smit & v. Gestel 1998, Fountain & Hopkin 2001, Lock & Janssen 2002, Fountain & Hopkin 2004, Herbert *et al.* 2004, Smit *et al.* 2004), οργανικοί χημικοί ρυπαντές (Crommentuijn *et al.* 1995; Crouau *et al.* 1999, Herbert *et al.* 2004; Campiche *et al.* 2006, Idinger *et al.* 2006, Eom *et al.* 2007) ή και ρυπασμένα εδάφη καθώς και αποβλητα (Crouau *et al.* 2002, Fountain & Hopkin 2004, Smit & van Gestel 1996, Domene *et al.* 2007, 2008, 2010, Crouaou & Pinelli, 2008).

Το *F. candida*, είναι ένα κοσμοπολίτικο είδος. Στην φύση απαντάται σε ποικίλλα περιβάλλοντα όπως αγροοικοσυστήματα, εδάφη πλούσια σε οργανική ουσία, δάση, ακόμα και σε όχθες ρυακιών. Το μήκος του ώριμου ατόμου είναι 1.5-3mm. Το χρώμα του είναι λευκό η ωχρό κιτρινωπό. Στερείται οφθαλμών, ενώ διαθέτει πίσω από την κεραία ένα αισθητήριο όργανο. Χαρακτηριστικό του είδους είναι η παρουσία πολλών ανορθωμένων τριχών (πάνω από 16) στη νωτιαία περιοχή της βάσης του ηδητικού οργάνου (furcula).

Τα ωά είναι σφαιρικά, διαμέτρου 80-110μm, και εναποτίθενται σε σωρούς των 30-50 ωών (Hopkin 1997, Fountain & Hopkin, 2005).

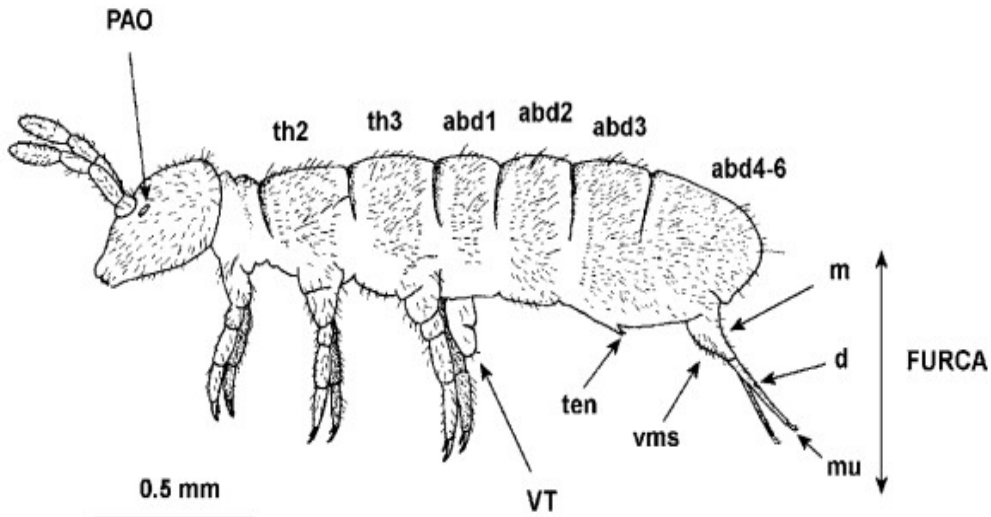
Ο πληθυσμός του αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από παρθενογενετικά θηλυκά άτομα. Τα άρρενα είναι σπάνια. Όπως όλα τα Collembola εκδύεται και μετά την σεξουαλική του ωρίμανση, μπορεί δε να φθάσει κατά την διάρκεια της ζωής του τις 45 εκδύσεις κατά τις οποίες διέρχεται από βραχεία αναπαραγωγικά στάδια (διάρκειας περίπου 1,5 ημέρα) και μακρά μη αναπαραγωγικά στάδια (διάρκειας περίπου 8.5 ημέρες). Στους 20°C μετά από 5 εκδύσεις και περίπου 21-24 ημέρες φθάνει στην σεξουαλική ωρίμανση. Τα ωά χρειάζονται περίπου 7-10 ημέρες για να εκκολαφθούν. Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι γύρω στους 21°C. Σε θερμοκρασίες άνω των 28°C τα ωά δεν εκκολάπτονται. Σε συνθήκες έντονου συνωστισμού παρατηρείται κανιβαλισμός. Αν και στερείται οφθαλμών, γεννάει περισσότερα ωά σε συνεχές σκότος, κάτι το οποίο σημαίνει ότι αντιδρά στην φωτοπερίοδο (Axelsen *et al.* 1997, Hopkin 1997, Wiles & Krogh 1998).

Το *F. candida* έχει χαρακτηριστικά που το καθιστούν ιδιαίτερα εύχρηστο και ελκυστικό ως πειραματικό υλικό τα οποία είναι (Hopkin 1997, Chenon *et al.* 2000, Addison 2002):

- Η υψηλή αναπαραγωγική ικανότητα.
- Η παρθενογένεση, καθώς δεν τίθενται ζητήματα αναλογίας φύλου και διαχωρισμού των φύλων στις μελέτες της αναπαραγωγής.
- Η ταχεία ανάπτυξη και ο σύντομος βιολογικός κύκλος.
- Η εύκολη εκτροφή του στο εργαστήριο (μπορεί να διατραφεί με κοινή μαγιά αρτοποιίας).
- Η ανεκτικότητα σε ευρύ φάσμα του pH που σε συνδυασμό με την απλή διατροφή με μαγιά επιτρέπουν την χρήση του για χρόνιες δοκιμές σε διάφορους τύπους χώματος ανεξάρτητα από την θεραπευτική τους κατάσταση ή την οργανική τους ουσία.

Ως κύρια μειονεκτήματα του *F. candida* ως πειραματικό υλικό θα μπορούσαν να θεωρηθούν (Hopkin 1997, Chenon *et al.* 2000, Addison 2002):

- Η παρθενογένεση, διότι οδηγεί γρήγορα σε ανάπτυξη/επιλογή κλώνων προσαρμοσμένων σε συνθήκες του εργαστηρίου/εκτροφής, ενώ υπάρχει και το ζήτημα το κατά πόσο ένα παρθενογενετικό είδος είναι αντιπροσωπευτικό των μικροarthropodων του εδάφους τα περισσότερα από τα οποία πολλαπλασιάζονται αμφιμικτικώς.
- Είναι λίγο πιο δύσκολο στον χειρισμό σε σχέση με είδη που στερούνται πηδητικού οργάνου (καθώς είναι πιο εύκολο να δραπετεύσει από το δοχείο πειραματισμού κατά το άνοιγμα του).
- Το *F. candida* δεν είναι πολύ διαδεδομένο στην φύση (απαντάται κυρίως σε περιβάλλοντα πλούσια σε οργανική ουσία όπως compost, κοπριά, φυτόχωμα).



**Σχήμα III.3.1.** Θηλυκό ακμαίο του *Folsomia candida*. PAO: αισθητήριο όργανο, th: θωρακικά τμήματα, abd: νωτιαία κοιλιακά τμήματα, ten: tenaculum, VT: κοιλιακό σωληνίδιο, Furca: πηδητικό όργανο (από Fountain & Hopkin, 2005)

Τα τελευταία χρόνια, για την οικολογική εκτίμηση της επικινδυνότητας, πέρα από την τοξικότητα (οξεία ή χρόνια) αναπτύσσεται μια τάση ενσωμάτωσης και στοιχείων συμπεριφοράς των ζώων (Heupel 2002; Greenslade & Vaughan 2003; Boitaud *et al.* 2006, Natal da Luz *et al.* 2004, 2008a, 2008b, 2009a, 2009b). Στην φύση, σε αντίθεση με τα φυτά που παραμένουν σταθερά σε μια θέση, τα ζώα έχουν την τάση να μετακινούνται προκειμένου να βρουν ευνοϊκές θέσεις που θα τους επιτρέψουν να διεξαγάγουν καλύτερα βασικές λειτουργίες του βιολογικού τους κύκλου όπως διατροφή, ανάπαυση, έκδυση, αναπαραγωγή κ.α. αντιδρώντας σε χημικά ερεθίσματα που δέχονται από το περιβάλλον τους (Bengtsson *et al.* 1991, Salmon & Ponge 2001). Ακόμα έχουν την δυνατότητα να αντιδρούν σε τέτοια ερεθίσματα αποφεύγοντας ρυπασμένο περιβάλλον ή τροφή (Fábian & Petersen 1994, Bakonyi *et al.* 2006, Martinez-Aldaya *et al.* 2006). Τόσο η συμπεριφορά προσέλκυσης όσο και η συμπεριφορά αποφυγής είναι χαρακτηριστικά που αυξάνουν την οικολογική προσαρμογή ενός είδους (Tranvik & Eijsackers, 1989).

Η διαδικασία της άμεσης αντίδρασης των οργανισμών είναι μια χρήσιμη και γρήγορη διαδικασία που μπορεί να συμπεριλαμβάνεται σε οικοτοξικολογικές δοκιμασίες που διεξάγονται για την εκτίμηση της τοξικότητας και των περιβαλλοντολογικών επιπτώσεων ενός ρύπου. Αν η τάση αποφυγής παρουσιάζεται σε δόση παρόμοια με αυτήν που εμφανίζεται τοξικότητα, σημαίνει ότι ο ρύπος θα εξοντώσει τους πληθυσμούς του υπό μελέτη οργανισμού, ενώ αν η τάση αποφυγής εμφανίζεται σε δόσεις μικρότερες από αυτές που παρουσιάζεται τοξικότητα ή αν δεν εκδηλώνεται τοξικότητα σημαίνει επίσης ότι ο

ρύπος θα στερήσει την παρουσία οργανισμού. Έτσι η αποφυγή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν εργαλείο ελέγχου άλλων περιβαλλοντικών κινδύνων εκτός της τοξικότητας (Martinez-Aldaya *et al.* 2006).

Οι δοκιμασίες αποφυγής φαίνεται να πλεονεκτούν σε σχέση με τις κλασικές οικοτοξικολογικές δοκιμές θνησιμότητας ή αναπαραγωγής καθώς είναι πιο απλές και πιο γρήγορες στην διεξαγωγή τους. Το κυριότερο μειονέκτημά τους είναι το ότι η απωθητικότητα δεν σχετίζεται απαραίτητα με την τοξικότητα, για παράδειγμα ουσίες τοξικές, δεν αποτελούν πάντοτε απωθητικούς παράγοντες, όπως τα άλατα καδμίου σε *Collembola* (Greenslade & Vaughan 2003), ενώ αντίθετα έχουν αναφερθεί και τροφές με ελκυστική δράση που όμως επιδρούν αρνητικά στην βιολογία των *Collembola* όπως για παράδειγμα φυλές βασιδιομύκητων στο *Onychiurus sinensis* (Sadaka *et al.* 1998). Παρ' όλα αυτά ουσίες που έχουν απωθητική δράση και ταυτόχρονα ευνοϊκή επίδραση στην βιολογία ενός είδους δεν είναι ακόμα γνωστές. Γι' αυτό τα πειράματα αποφυγής πρέπει να συνεκτιμώνται με τα πειράματα τοξικότητας για την καλύτερη εκτίμηση των οικολογικών συνεπειών της ρύπανσης (Martinez-Aldaya *et al.* 2006). Οι δοκιμασίες αποφυγής ως πιο απλές μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν προκαταρκτικές δοκιμασίες εκτίμησης των περιβαλλοντολογικών επιπτώσεων ενός ρύπου (Natal da Luz *et al.* 2004). Όταν βρεθεί συμπεριφορά αποφυγής θα πρέπει να γίνονται περαιτέρω δοκιμασίες (πχ αναπαραγωγής) (Natal da Luz *et al.* 2009a).

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να αξιολογηθεί η επικινδυνότητα και η τοξικότητα των ΥΑΕ με την χρήση της δοκιμασίας παρεμπόδισης αναπαραγωγής του *Folsomia candida* και με την ενδεχόμενη συμπεριφορά αποφυγής του.

### **III.3.2. Υλικά και μέθοδοι**

#### **III.3.2.1. Χαρακτηριστικά ΥΑΕ**

Στα πειράματα του παρόντος κεφαλαίου χρησιμοποιήθηκαν ΥΑΕ από δυο ελαιοτριβεία, από την περιοχή Λευκάδας (δείγμα Α) και από την περιοχή των Σερρών (δείγμα Β). Στα δείγματα των ΥΑΕ μετρήθηκε το pH, ενώ επίσης υπολογίσθηκαν οι ολικές φαινόλες με την μέθοδο Folin-Ciocalteu καθώς και η χημική απαίτηση οξυγόνου με την μέθοδο 410.4 της Υπηρεσίας Περιβαλλοντικής Προστασίας των ΗΠΑ.

#### **III.3.2.2. Εκτροφή *F. candida***

Τα *Collembola* που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα προέρχονται από εργαστηριακή εκτροφή. Η εκτροφή διατηρούνταν σε πλαστικά δοχεία διαφόρων διαστάσεων με υπόστρωμα απολυμασμένα τύρφη η οποία είχε υγρανθεί. Για τροφή των *Collembola* τόσο στις εκτροφές όσο και στα πειράματα χρησιμοποιούνταν ξηρή μαγιά αρτοποιίας. Ανά τακτά

χρονικά διαστήματα (2-3 φορές την εβδομάδα) η εκτροφή ελέγχονταν και συμπληρώνεται νερό ή τροφή αν χρειάζεται. Οι εκτροφές διατηρούνταν σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  και φωτοπερίοδου με διάρκεια φωτόφασης 16 ωρών. Όταν ο πληθυσμός της εκτροφής αυξάνονταν πολύ και υπήρξαν συνθήκες συνωστισμού η εκτροφή αραιώνονταν απομακρύνοντας τα πλεονάζοντα άτομα. Ανά 2 περίπου μήνες η εκτροφή ανανεώνονταν, άτομα της εκτροφής μεταφέρονταν σε καινούργιο δοχείο με νέο υπόστρωμα ενώ το παλιό υπόστρωμα απορρίπτονταν.

Στα πειράματα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται άτομα της ίδιας ηλικίας. Για να επιτευχθεί αυτό χρειάζεται να γίνει συγχρονισμός της εκτροφής. Ο συγχρονισμός γίνονταν σε κλειστά κυκλικά πλαστικά δοχεία διαμέτρου 7.5cm και ύψους 5cm. Στα δοχεία αυτά ο πυθμένας τους ήταν καλυμμένος με 0.5cm υποστρώματος γύψου-ενεργού άνθρακα. Για την παρασκευή του υποστρώματος αναμειγνύονται 10 μέρη γύψος (φυσικό, χωρίς πρόσθετα) : 10 μέρη νερό : 1 μέρος σκόνη ενεργού άνθρακα. Στην συνέχεια γεμίζεται με το μείγμα ο πυθμένας του δοχείου έως ύψους περίπου 0.5cm, και αφήνεται μια ημέρα για να στερεοποιηθεί. Το υπόστρωμα γύψου-ενεργού άνθρακα συγκρατεί ικανοποιητική υγρασία ενώ ο ενεργός άνθρακας απορροφά τα απεκκρίματα, συμβάλλοντας στην καλή υγιεινή και την καθαριότητα του περιβάλλοντος των εντόμων, ενώ επιπλέον λόγω του σκουρόχρωμου χρώματος του, τα Collembola (λευκά στο χρώμα) διακρίνονται πιο εύκολα. Στα δοχεία αυτά το υπόστρωμα υγραίνονταν με υδροβολέα σε ποσότητα έτσι ώστε το νερό που προστίθεται να απορροφάται χωρίς όμως να δημιουργείται φιλμ νερού πάνω στην επιφάνεια του υποστρώματος. Στην συνέχεια στα δοχεία αυτά τοποθετούνταν με την βοήθεια αναρροφητήρα γύρω στα 50 ενήλικα άτομα για να γεννήσουν. Μετά από δυο ημέρες τα άτομα αφαιρούνται προσεκτικά με την βοήθεια αναρροφητήρα. Τα αυγά στις συνθήκες αυτές εκτροφής (θερμοκρασία  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) εκκολάπτονται περίπου σε 10 ημέρες. Παρακολουθούνταν η εκτροφή καθημερινά και σημειώνονταν η ημερομηνία έναρξης της εκκόλαψης. Με δεδομένο ότι η εκκόλαψη των περισσότερων αυγών θα κάνει παρόμοιο χρόνο για όλα τα ωά, 12 ημέρες μετά την ημερομηνία έναρξης εκκόλαψης η πλειονότητα των ατόμων μέσα στο δοχείο αυτό θα είναι ηλικίας 10-12 ημερών, όσο προβλέπει και το πρωτόκολλο (ISO 11267, 1998).

Στην δοκιμασία αναπαραγωγής καθώς και στην δοκιμασία αποφυγής χρησιμοποιήθηκε τεχνητό χώμα σύμφωνα με την οδηγία OECD 207 (1984), αλλά με οργανική ουσία μειωμένη στο 5%. Για να παραχθεί το τεχνητό χώμα αναμειγνύονται τα παρακάτω υλικά στις αναφερόμενες αναλογίες (εκφρασμένες σε ξηρό βάρος):

- 5% Ξηρή τύρφη (κοσκινισμένη σε κόσκινο 2mm)
- 20% каоλίνη
- 74% χαλαζιακή άμμος
- 1 % ανθρακικό ασβέστιο ( $\text{CaCO}_3$ )

Η προσθήκη ανθρακικού ασβεστίου που γίνεται για να ρυθμιστεί το pH σε εύρος από 5-6 και εξαρτάται κυρίως από την ποιότητα της τύρφης. Η υγρασία του υποστρώματος όταν θα χρησιμοποιηθεί για τις δοκιμασίες πρέπει ρυθμίζεται στο 40-60% της υδατοϊκανότητας.

### III.3.2.3. Πειράματα παρεμπόδισης αναπαραγωγής

Τα πειράματα παρεμπόδισης αναπαραγωγής διεξήχθησαν σε κλειστά κυκλικά πλαστικά δοχεία διαμέτρου 7.5cm και ύψους 6cm. Ο πυθμένας κάθε δοχείου καλύφθηκε με 50gr τεχνητού χώματος. Δοκιμάστηκαν οι δόσεις ΥΑΕ όπως παρουσιάζονται στον πίνακα III.3.1:

**Πίνακας III.3.1.** Δόσεις ΥΑΕ που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα παρεμπόδισης αναπαραγωγής εκφρασμένες σε ml/50gr χώματος και σε ml/Kg χώματος.

Ανά 50gr χώματος		Δόση ΥΑΕ
ml ΥΑΕ	ml νερού	ανα Kg χώματος
15	0	300
12	3	240
9	6	180
6	9	120
3	12	60
0	15	0

Ο τελικός όγκος νερού/ΥΑΕ που προστέθηκε σε κάθε δοχείο ήταν 15ml (στα 50gr υποστρώματος), έτσι ώστε το υπόστρωμα να αποκτήσει υγρασία περίπου στο 60% της υδατοϊκανότητας. Σύμφωνα με το πρωτόκολλο ISO 11267 (1998) η υγρασία στο υπόστρωμα πρέπει να είναι ρυθμισμένη στο 40-60% της υδατοϊκανότητας του υποστρώματος. Για κάθε επέμβαση χρησιμοποιήθηκαν 5 δοχεία (επαναλήψεις). Σε κάθε δοχείο, στην συνέχεια τοποθετήθηκαν 10 άτομα *Folsomia candida* ηλικίας 10-12 ημερών. Τα δοχεία με τα Collembola διατηρήθηκαν για 28 ημέρες σε θερμοκρασία  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  και φωτοπερίοδο με διάρκεια φωτόφασης 16 ωρών. Δυο φορές την εβδομάδα τα δοχεία επιθεωρούνταν, ανοίγονταν το καπάκι για να ανανεωθεί ο αέρας, και να προστεθεί τροφή και νερό (αν χρειάζεται). Την 28<sup>η</sup> ημέρα, καταμετρήθηκε ο πληθυσμός των (οι απογόνους των αρχικών καθώς και τα αρχικά άτομα που επιβίωσαν – διακρίνονται διότι είναι εμφανώς πιο μεγάλα από τους απογόνους). Για την καταμέτρηση προστίθεται νερό στο δοχείο και γίνεται ανάδευση του υποστρώματος έτσι ώστε τα Collembola να επιπλεύσουν. Για να ξεχωρίζονται πιο εύκολα και να είναι πιο εύκολη η καταμέτρηση προστίθεται μια σταγόνα σινικής μελάνης. Στην συνέχεια λαμβάνονταν φωτογραφία με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή, από την οποία με την βοήθεια προγράμματος επεξεργασίας εικόνας γίνονταν καταμέτρηση των ατόμων.

Τα δεδομένα αναλύθηκαν με ανάλυση της διασποράς (ANOVA), και οι μέσοι διαχωρίστηκαν με την δοκιμασία της έντιμης σημαντικής διαφοράς του Tukey (Tukey Honest Significant Difference) σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0.05$ . Οι συγκρίσεις των μέσων παρουσιάζονται στα διαγράμματα.

Κατόπιν έγινε εκτίμηση της τιμής  $ER_{50}$  (Effect Reproduction 50), δηλαδή της δόσης των ΥΑΕ που προκαλεί μείωση της αναπαραγωγής στο 50%. Η εκτίμηση της δόσης  $ER_{50}$  έγινε με βάση την σιγμοειδή καμπύλη (λογιστικό πρότυπο) σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο (Stephenson *et al.* 2000, Krogh 2009):

$$Y = f(X) = \frac{M}{1 + \left(\frac{X}{ER_{50}}\right)^b}$$

όπου  $Y$  είναι ο πληθυσμός (απόγονοι),  $X$  η δόση και  $M$ ,  $b$  και  $ER_{50}$  οι παράμετροι της καμπύλης που εκτιμώνται με ανάλυση μη γραμμικής παλινδρόμησης. Η παράμετρος  $M$  εκφράζει την μέγιστη αναπαραγωγή του κολεμβόλου, ενώ η παράμετρος  $b$  την κλίση της ευθείας κοντά στην τιμή του  $ER_{50}$ .

### III.3.2.3. Πειράματα αποφυγής

Στα πειράματα αποφυγής διεξήχθησαν σε κλειστά κυκλικά πλαστικά δοχεία διαμέτρου 7.5cm και ύψους 5cm. Σε κάθε δοχείο τοποθετήθηκε ορθογώνιο παραλληλεπίπεδο τεμάχιο πλαστικοποιημένου χαρτονιού ύψους 0.5cm, πλάτους 2mm και μήκους 7.5cm, έτσι ώστε να διαχωρισθεί ο πυθμένας του σε δυο ίσους τομείς. Σε κάθε τομέα προστέθηκαν 20gr τεχνητού χώματος. Στον ένα τομέα κάθε δοχείου το τεχνητό χόμα υγράνθηκε με 6ml νερού. Ο άλλος τομέας υγράνθηκε με 6ml ΥΑΕ και νερού στις δόσεις που παρουσιάζονται στον πίνακα III.3.2.

**Πίνακας III.3.2.** Δόσεις ΥΑΕ που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα παρεμπόδισης αναπαραγωγής εκφρασμένες σε ml/20gr χώματος και σε ml/Kg χώματος.

Ανά 20gr χώματος		Δόση ΥΑΕ
ml ΥΑΕ	ml νερού	ml/Kg χώματος
6	0	300
3	3	150
1,5	4,5	75

Στην συνέχεια στα δοχεία τοποθετήθηκαν στο διαχωριστικό χαρτόνι 1 ενήλικο άτομο *F. candida*. Η θέση των κολεμβόλου, δηλαδή σε ποιο μέρος του δοχείου ήταν (σε αυτό με τα ΥΑΕ ή σε αυτό με το νερό) σημειώνονταν κάθε 20 λεπτά για 100 λεπτά (5 φορές). Το πρωτόκολλο αυτό έχει χρησιμοποιηθεί και από άλλους ερευνητές (Boitaud *et al.* 2006, Lors *et al.* 2006, Martinez Adaya *et al.* 2006) και έχει δώσει καλά αποτελέσματα. Κάθε άτομο και δοχείο χρησιμοποιούνταν μόνο μια φορά. Για κάθε δόση ΥΑΕ χρησιμοποιήθηκαν



20 επαναλήψεις. Τα δεδομένα συγκρίθηκαν με την απαραμετρική προσημική δοκιμασία (sign test). Στα διαγράμματα παρουσιάζεται το μέσο ποσοστό παρουσίας σε κάθε περιοχή.

### III.3.3. Αποτελέσματα

#### III.3.3.1. Χαρακτηριστικά ΥΑΕ

Τα χαρακτηριστικά των δυο δειγμάτων ΥΑΕ που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα III.3.3.

**Πίνακας III.3.3.** Χαρακτηριστικά των ΥΑΕ που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα.

	A	B
pH	4.6	6.0
COD (g/L)	70.2	46.4
Ολικές φαινόλες (g/L)	7.8	6.9

Τα ΥΑΕ του δείγματος Α έχουν υψηλότερη τιμή COD και ολικών φαινολών, ενώ είναι και πιο όξινα σε σχέση με τα ΥΑΕ του δείγματος Β.

#### III.3.3.2. Παρεμπόδιση αναπαραγωγής

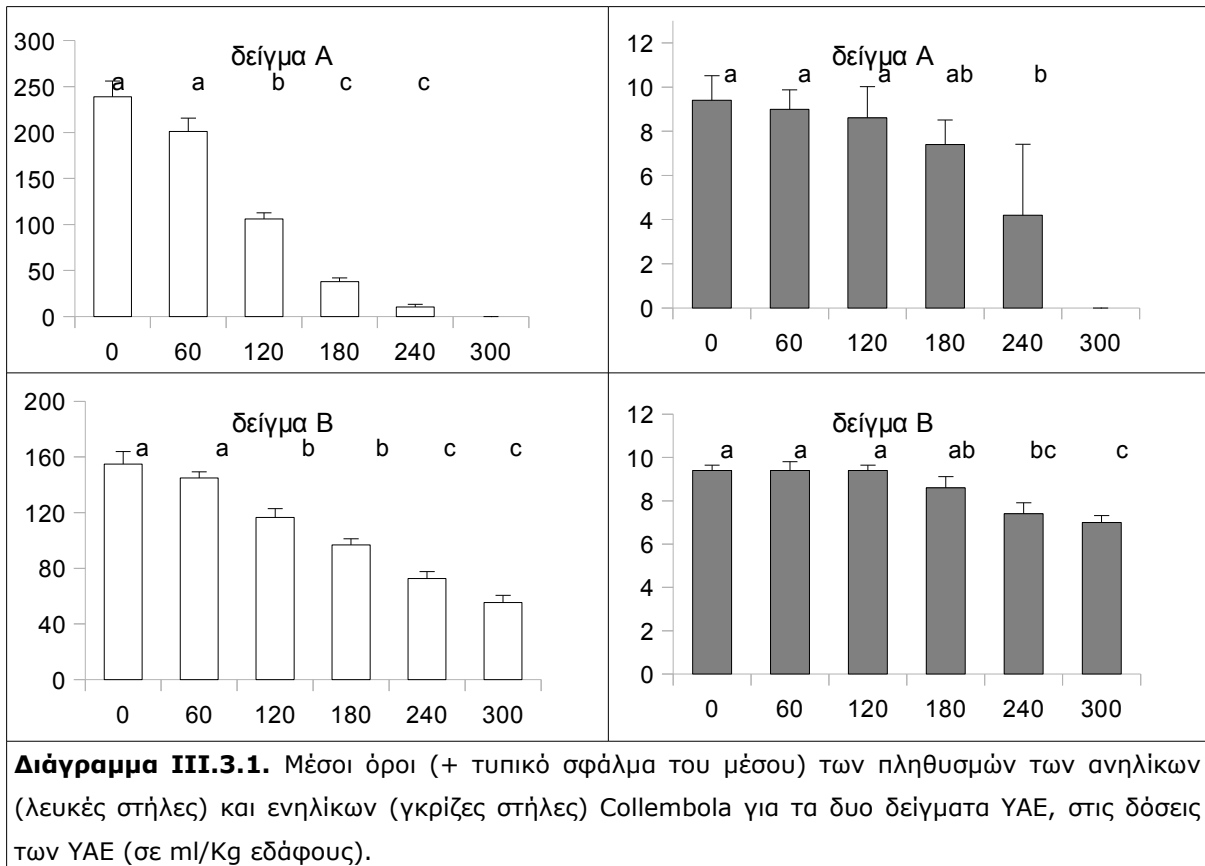
Η επίδραση της δόσης των ΥΑΕ στην αναπαραγωγή του *F. candida* καθώς και στην επιβίωση των ενηλίκων φαίνεται στον πίνακα III.3.4. Στο διάγραμμα III.3.1. δίνονται ο αριθμός των απογόνων και των ενηλίκων που επιβίωσαν για τα δυο δείγματα, καθώς και οι συγκρίσεις των μέσων.

**Πίνακας III.3.4.** Επίδραση της δόσης των ΥΑΕ στην αναπαραγωγή και στην επιβίωση των ενηλίκων (ανάλυση διασποράς).

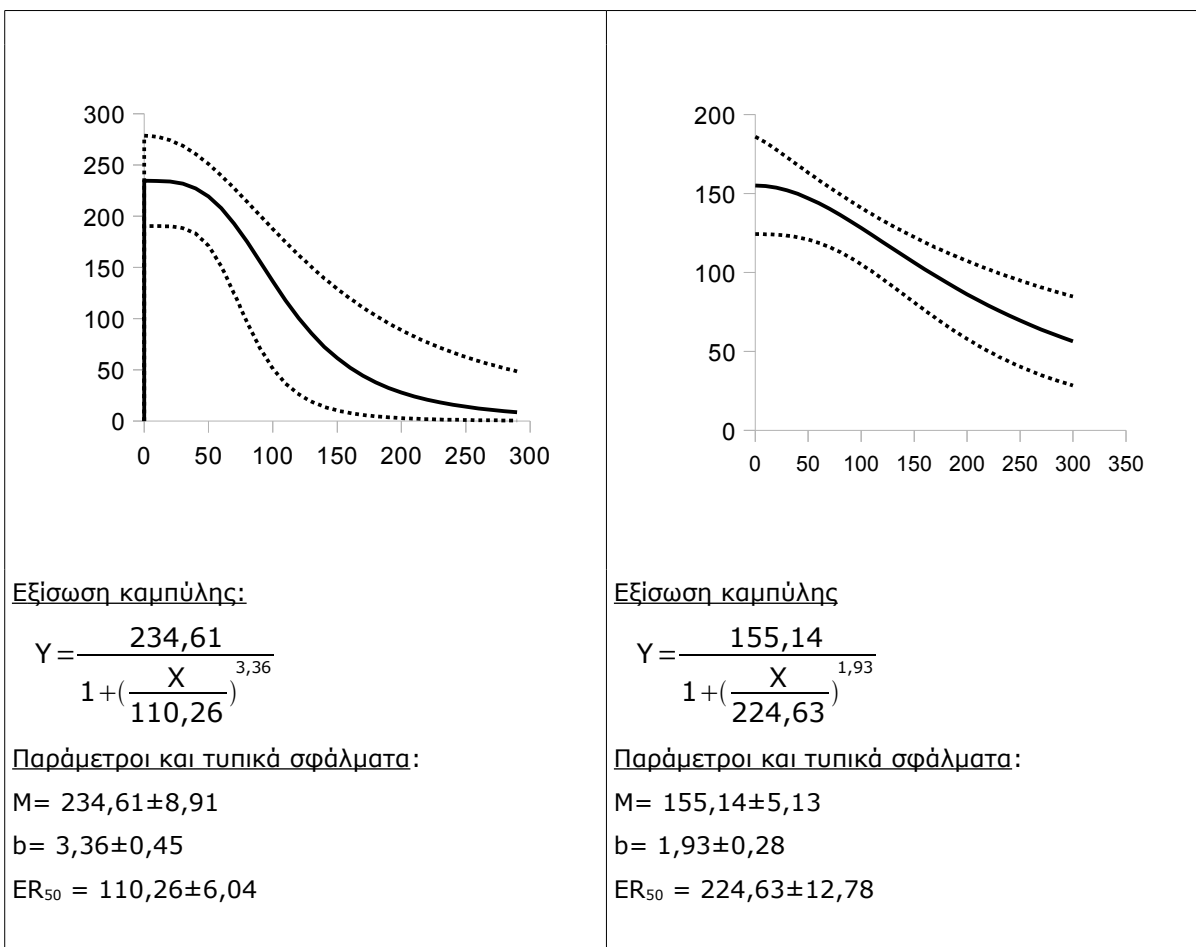
		BE	F	p
αναπαραγωγή	δείγμα Α	4 & 20	87,25	0,000
	δείγμα Β	5 & 24	44,45	0,000
επιβίωση ενηλίκων	δείγμα Α	4 & 20	10,97	0,000
	δείγμα Β	5 & 24	7,86	0,000

Στο δείγμα Α στην υψηλότερη δόση στο τέλος των 28 ημερών δεν βρέθηκαν ζωντανά άτομα. Οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν στην δόσεις από 0 έως 240g ΥΑΕ / Kg χώματος. Τόσο η αναπαραγωγή όσο και η επιβίωση των ενηλίκων επηρεάστηκαν από την δόση των ΥΑΕ. Η αναπαραγωγή μειώνονταν με την δόση, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και της δόσης των 60ml/Kg, καθώς και μεταξύ των δόσεων των 180ml/Kg και 240ml/Kg. Τέλος η επιβίωση των ενηλίκων μειώθηκε μόνο στην δόση των 240ml/Kg σε σχέση με τις δόσεις από 0 έως 120ml/Kg ενώ στην δόση των 180ml/Kg η επιβίωση δεν διέφερε σημαντικά από τις άλλες δόσεις.

Στο δείγμα Β στις δόσεις των 0 και 60ml/Kg βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη αναπαραγωγή σε σχέση με τις δόσεις των 120 και 180ml/Kg, ενώ οι υψηλότερες δόσεις των 240 και 300ml/Kg είχαν σημαντικά χαμηλότερη αναπαραγωγή από ότι οι μικρότερες δόσεις. Η επιβίωση των ενηλίκων, διέφερε από τον μάρτυρα μόνο στις δυο υψηλότερες δόσεις.



Οι καμπύλες της εξίσωσης της αναπαραγωγής σε σχέση με την δόση των ΥΑΕ, καθώς και οι τιμές των παραμέτρων με τα τυπικά σφάλματα δίνονται στο διάγραμμα ΙΙΙ.3.2. Στο δείγμα Α η τιμή της  $ER_{50}$  βρέθηκε 110,26ml/Kg εδάφους, ενώ στο δείγμα Β η τιμή του  $ER_{50}$  βρέθηκε 234ml/Kg εδάφους.



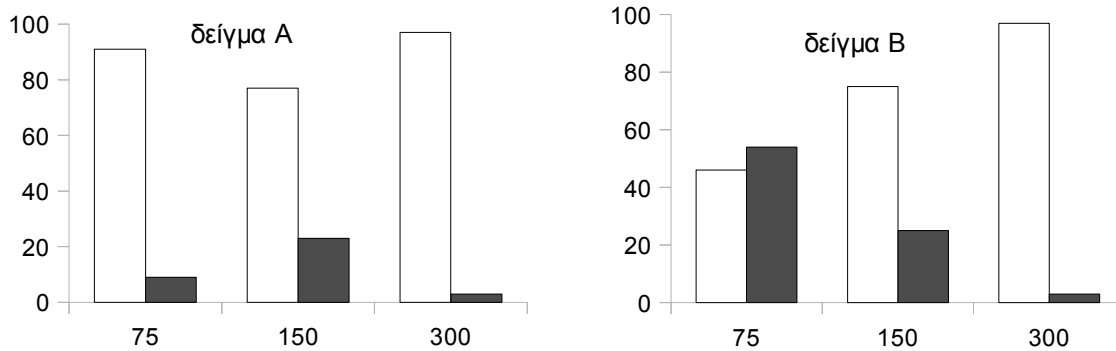
**Διάγραμμα III.3.2.** Καμπύλη της αναπαραγωγής σε σχέση με την δόση (συνεχόμενη γραμμή), μαζί με τις καμπύλες που ορίζουν το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (με διακεκομμένη γραμμή). Κάτω από τις καμπύλες αυτές δίνονται εξισώσεις της μη γραμμικής παλινδρόμησης καθώς και οι τιμές των παραμέτρων της εξίσωσης (± τυπικό σφάλμα).

### III.3.3.3. Αποφυγή

Η επίδραση φαίνεται στον πίνακα III.3.4. Στο διάγραμμα III.3.3 φαίνεται το ποσοστό παρουσίας των Collembola στην περιοχή με νερό και στην περιοχή των ΥΑΕ.

**Πίνακας III.3.4.** Επίδραση της δόσης του ΥΑΕ στο παραμονής σε κάθε περιοχή [προσημική δοκιμασία (sign test)].

ΥΑΕ	Δόση ml/Kg εδάφους	z	p
δείγμα A	75	4,47	0,000
	150	4,02	0,000
	300	4,47	0,000
δείγμα B	75	1,34	0,180
	150	4,02	0,000
	300	4,47	0,000



**Διάγραμμα III.3.3.** Ποσοστό παρουσίας σε κάθε περιοχή (□ - νερό, ■ - ΥΑΕ) των Collembola για τις δοκιμασθείσες δόσεις (σε ml/100g χώματος - άξονας x).

Στο δείγμα Α σε όλες τις δόσεις τα Collembola παρέμειναν σημαντικά περισσότερο στην περιοχή που δεν είχε γίνει προσθήκη ΥΑΕ. Στο δείγμα Β η προσθήκη ΥΑΕ στην δόση των 75ml/Kg δεν προκάλεσε τάση αποφυγής, ενώ αντίθετα στις δυο άλλες δόσεις τα Collembola παρέμειναν σημαντικά περισσότερο στην περιοχή που δεν είχε γίνει προσθήκη ΥΑΕ, και αυτό είναι πιο έντονο στην δόση των 300ml/100Kg.

### III.3.4. Συζήτηση

Τα ΥΑΕ και από τα δυο δείγματα βρέθηκαν να μειώνουν την αναπαραγωγή του *F. candida*, ενώ διαπιστώθηκαν διαφορές μεταξύ των δυο δειγμάτων στην τοξικότητα. Τα ΥΑΕ του δείγματος Α βρέθηκαν πιο τοξικά για την αναπαραγωγή του *F. candida* καθώς πέρα από την σημαντικά μικρότερη τιμή του  $ER_{50}$  η κλίση της καμπύλης είναι αρκετά πιο απότομη. Ακόμα στο δείγμα Α η ανώτερη δόση οδήγησε σε θανάτωση όλων των Collembola, ενώ αντίθετα οι δοκιμασθέντες δόσεις των ΥΑΕ του δείγματος Β ήταν αρκετά χαμηλότερες από αυτές που προκαλούν συμπτώματα οξείας τοξικότητας στους πληθυσμούς του *F. candida*. Το γεγονός ότι οι τιμές της αναπαραγωγής στον μάρτυρα διέφεραν στα δυο δείγματα ΥΑΕ, θα πρέπει να αποδοθεί στο ότι τα πειράματα δεν διεξήχθησαν την ίδια χρονική περίοδο. Αυτό έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (Crouaou *et al.* 2002) για πειράματα που διεξήχθησαν σε διαφορετικές περιόδους πιθανόν σχετίζεται με εποχιακή διακύμανση στην γονιμότητα του *F. candida*.

Δεν υπάρχουν παλαιότερα ερευνητικά δεδομένα για την τοξικότητα των ΥΑΕ στο *F. candida* ή σε άλλα αρθρόποδα του εδάφους. Για τον μόνο ζωικό οργανισμό του εδάφους που υπάρχουν δεδομένα είναι για τον κομβονηματώδη *Meloidogyne incognita*, όπου τα ΥΑΕ έχουν βρεθεί να παρεμποδίζουν την εκκόλαψη των ωών του (Cayuela *et al.* 2008). Για την τοξικότητα σε θερμόαιμους χερσαίους οργανισμούς οργανισμούς σε πειράματα με αρουραίους, σε δόση έως 2000mg/Kg σωματικού βάρους δεν παρουσιάστηκαν σημάδια τοξικότητας ή ανωμαλίες ή επιβράδυνση ανάπτυξης (Charistou *et al.* 2010).

Για την επίδραση άλλων οργανικών αποβλήτων που αποτίθενται στο έδαφος στο *F. candida*, οι Domene *et al.* (2007) δοκιμάζοντας λυματολάσπη με διάφορες επεξεργασίες (ξήρανση, αφυδάτωση, κομποστοποίηση) καθώς και ξηραμένα περιπτώματα χοίρων έδειξε ποικίλη ευαισθησία ανάλογα με το απόβλητο (τιμές  $EC_{50}$  από 5.3 έως 207 gr/Kg εδάφους), η δε τοξικότητα δεν συσχετίστηκε με φυσικοχημικές ιδιότητες των αποβλήτων, αλλά φάνηκε να επηρεάζεται με μεταχειρίσεις που οδηγούν στην σταθερότητα του υποστρώματος. Οι Natal da Luz *et al.* (2009a,b) δοκιμάζοντας την επίδραση τριών τύπων λυματολάσπης (αστικά απόβλητα, επεξεργασμένα στερεά απόβλητα ελαιουργείων, απόβλητα από εργοστάσιο επιμετάλλωσης), δεν βρήκαν τις δοκιμασθείσες λυματολάσπες να μειώνουν την αναπαραγωγή του, αντίθετα τα επεξεργασμένα απόβλητα ελαιουργείων βρέθηκαν να αυξάνουν την αναπαραγωγή του. Οι Moreira *et al.* (2008) δοκιμάζοντας την τοξικότητα έξι compost από διάφορα φυτικά υλικά (φύλλα αμπέλου, σπάδικες αραβοσίτου, γκαζόν και μειγμάτων τους) καθώς και λυματολάσπης σε δόσεις 6 και 12 ton/ha, στο *F. candida*, βρήκαν ότι κάποια compost στην υψηλότερη δόση μείωσαν την αναπαραγωγή του ενώ η λυματολάσπη αντίθετα στην χαμηλότερη δόση αύξησε την αναπαραγωγή του.

Αντίθετα με τους ζωικούς οργανισμούς του εδάφους υπάρχουν αρκετά δεδομένα για την φυτοτοξικότητα των YAE ή την επίδραση τους σε υδρόβιους οργανισμούς.

Τα YAE έχουν βρεθεί ιδιαίτερα φυτοτοξικά μειώνοντας την βλαστικότητα των σπόρων. Για παράδειγμα μειώνουν σημαντικά την βλαστικότητα σπόρων σιταριού έως αραιώση 1:8 ενώ χωρίς αραιώση παρεμποδίζουν πλήρως την βλάστηση του σπόρου (Casa *et al.* 2003). Η μείωση των ολικών φαινολών οδηγεί σε μείωση της φυτοτοξικότητας. Ακόμα Ben Sassi *et al.* (2003) βρήκαν ότι YAE παρεμπόδισαν πλήρως την βλάστηση σπόρων κριθαριού, ενώ για πλήρη βλάστηση χρειάστηκε αραιώση σε αναλογία 1:16. Επίσης έχει βρεθεί επίσης τοξικός στο υδρόφιλο φυτό *Lemna gibba* (Cayuela *et al.* 2007) σε εργαστηριακή βιοδοκιμή. Αντίθετα σε ανεπτυγμένα φυτά τα YAE δεν έχουν βρεθεί να είναι ιδιαίτερα τοξικά καθώς οι Rinaldi *et al.* (2003) βρήκαν ότι η προσθήκη YAE σε δόση έως 50m<sup>3</sup>/ha σε καλλιέργεια σκληρού σιταριού, στα νερά βλαστικά στάδια προκαλεί κάποια παροδικά συμπτώματα φυτοτοξικότητας (σποραδική νέκρωση στα φύλλα, καθυστέρηση αδελφώματος), παρόλα αυτά η καλλιέργεια ανακάμπτει και δεν υπάρχει αρνητική επίδραση στην ποσότητα και την ποιότητα της αναπαραγωγής.

Για την τοξικότητα των YAE σε οργανισμούς του γλυκού νερού έχουν γίνει αρκετές μελέτες. Ενδεικτικά για το καρκινοειδές *Daphnia magna* έχουν βρεθεί τιμές  $LC_{50}$  να κυμαίνονται από 1.15% έως 6.83% (Paixao *et al.* 1999), και με  $LC_{50}$  7.64±4.5% και 4.38±2.6% για έκθεση σε 24 και 48 ώρες αντίστοιχα (Rouvalis *et al.* 2010). Για το συγγενές του καρκινοειδές *Thamnocephalus platyurus* βρέθηκαν τιμές  $EC_{50}$  106 τοξικές μονάδες (TU) (Fiorentino *et al.* 2003), ενώ διάφοροι ερευνητές, για τον ίδιο οργανισμό σε διάφορα δείγματα YAE βρέθηκαν τιμές  $LC_{50}$  από 0.73% έως 12.54% (Paixao *et al.* 1999),

0.94±0.66% (Venieri *et al.* 2010), και 1.77±0.8% (Rouvalis *et al.* 2010). Στο ιχθύδιο του γλυκού νερού *Danio rerio* βρέθηκαν τιμές LC<sub>50</sub> 0.43±0.19% και 0.33±0.15% για έκθεση σε 24 και 48 ώρες αντίστοιχα (Venieri *et al.* 2010), ενώ οι Rouvalis *et al.* (2010) στο ίδιο ιχθύδιο βρήκαν τιμές LC<sub>50</sub> 1.99±1.1% και 1.52±0.8% για έκθεση σε 24 και 48 ώρες αντίστοιχα.

Επίσης τα ΥΑΕ έχουν βρεθεί τοξικά για θαλάσσιους οργανισμούς όπως το θαλάσσιο βακτήριο *Vibrio fisheri* με τιμές EC<sub>50</sub> να κυμαίνονται από 0.13% έως 1.24% (Paixao *et al.* 1999, Charistou *et al.* 2010), ενώ για το καρκινοειδές *Artemia franciscana* έχουν βρεθεί τιμές EC<sub>50</sub> σε αραιώση 5-10% (Charistou *et al.* 2010). Στο θαλάσσιο μύδι *Mytilus galloprovincialis* μετά έκθεση 5 μερών σε ΥΑΕ σε δοσολογία 0.01-0.1%, αν και δεν παρατηρήθηκε οξεία τοξικότητα, παρατηρήθηκε παρεμπόδιση της δράσης της ακετυλοχολινεστεράσης καθώς και βλάβες στο DNA στα κύτταρα της αιμολέμφου, ενώ εκτιμήθηκε χονδρικά η τιμή LC<sub>50</sub> σε 0.255% (Danellakis *et al.* 2010). Τέλος για το θαλάσσιο τροχόζωο *Brachionus calyciflorus* έχουν βρεθεί τιμές LC<sub>50</sub> 178 TU (Fiorentino *et al.* 2003).

Σαν γενική διαπίστωση από τις τιμές παρεμπόδισης της αναπαραγωγής της παρούσας μελέτης (110 & 224 ml/Kg εδάφους) και τις τιμές θνησιμότητας σε υδρόβιους οργανισμούς (θαλάσσιους και γλυκού νερού) που βρέθηκαν από την ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας φαίνεται ότι τα ΥΑΕ είναι αρκετά πιο τοξικά για τους υδρόβιους οργανισμούς και ενδεχομένως πιο επιζήμια για τα υγρά οικοσυστήματα από ότι στους χερσαίους οργανισμούς και τα χερσαία οικοσυστήματα. Αυτό ενισχύεται και από το γεγονός ότι οι δοκιμές στο *F. candida* δεν αφορούν οξεία τοξικότητα όπως στους περισσότερους από τους προαναφερθέντες οργανισμούς, αλλά παρεμπόδιση αναπαραγωγής ή οποία είναι πιο ευαίσθητη παράμετρος για το *F. candida* (Krogh & Peddersen, 1995). Οι δόσεις για οξεία τοξικότητα αναμένεται να είναι υψηλότερες από αυτές της παρεμπόδισης της αναπαραγωγής. Επίσης και στην προηγούμενη ενότητα της παρούσας διατριβής βρέθηκε ότι η προσθήκη ΥΑΕ στο έδαφος μείωσε τους πληθυσμούς κάποιων οργανισμών ενώ κάποιοι άλλοι επωφεληθήκαν από την παρουσία ΥΑΕ, για δε τα *Collembola* οι πληθυσμοί τους δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από την προσθήκη ΥΑΕ.

Επίσης, μεταξύ των δυο δειγμάτων ΥΑΕ το δείγμα Α είχε περίπου την μισή τιμή ER<sub>50</sub> από ότι το δείγμα Β. Αυτό πιθανόν να οφείλεται υψηλότερες τιμές COD και ολικών φαινόλων και ενδεχομένως και στο χαμηλότερο pH του δείγματος. Για τα συστατικά στα οποία οφείλεται κυρίως η τοξικότητα των ΥΑΕ έχουν διατυπωθεί διάφορες απόψεις, καθώς πέρα από την σύσταση των ΥΑΕ φαίνεται ότι επηρεάζεται και από την διαφορετική ευαισθησία που έχουν οι διάφοροι οργανισμοί στα συστατικά του. Οι φαινόλες θεωρούνται τα κύρια συστατικά στα οποία οφείλεται η φυτοτοξικότητα και οι αντιμικροβιακές δραστηριότητες των ΥΑΕ (Capasso *et al.* 1995, Alliotta *et al.* 2002, Fiorentino *et al.* 2003, Greco *et al.* 2003). Οι Paixao *et al.* (1999) αντίθετα δοκιμάζοντας διάφορα

δείγματα ΥΑΕ βρήκαν θετική συσχέτιση της τοξικότητας στα *T. platyurus* και *D. magna* με τους λογαρίθμους της συγκέντρωσης της χημικής απαίτησης οξυγόνου, του αζώτου, των ολικών στερεών καθώς και των λιγνινών και ταννίνων, ενώ δεν βρήκαν σημαντική συσχέτιση μεταξύ της τοξικότητας και του λογαρίθμου των ολικών φαινολών. Ακόμα οι ίδιοι ερευνητές δεν βρήκαν συσχέτιση μεταξύ των αναλύσεων των ΥΑΕ και της τοξικότητας στο *V. fischeri*. Οι Venieri *et al.* (2010) πειραματιζόμενοι στο *D. irio* και στο *T. platyurus* βρήκαν ότι η τοξικότητα φαίνεται να οφείλεται στο φαινολικό περιεχόμενο καθώς και στο χαμηλό pH των ΥΑΕ.

Η παρουσία ΥΑΕ προκάλεσε σαφή τάση αποφυγής του *F. candida* και για τα δυο δείγματα ΥΑΕ, εκτός από την χαμηλότερη δόση του δείγματος Β όπου τα Collembola δεν παρουσίασαν τάση αποφυγής της περιοχής με ΥΑΕ. Αυτό πιθανόν να έχει σχέση και με το γεγονός ότι το Β δείγμα των ΥΑΕ είχε ήταν σαφώς λιγότερο τοξικό από ότι η Α. Ακόμα δεν τεκμηριώνεται εξάρτηση της συμπεριφοράς αποφυγής από την δόση, καθώς στο δείγμα Β η παρουσία του *F. candida* στην δόση των 150ml/Kg ήταν υψηλότερη από ότι στις δυο άλλες δόσεις.

Δεν υπάρχουν παλαιότερα ερευνητικά δεδομένα για την συμπεριφορά αποφυγής του *F. candida* σε ΥΑΕ. Όσον αφορά άλλα οργανικά απόβλητα ή οργανικό υλικό οι Natal da Luz *et al.* (2009a,b) αξιολογώντας τρεις τύπους λυματολάσσης (αστικά απόβλητα, επεξεργασμένα απόβλητα ελαιουργείων, απόβλητα από εργοστάσιο επιμετάλλωσης), βρήκαν ότι μόνο η λυματολάσση από το εργοστάσιο επιμετάλλωσης στις υψηλότερες δόσεις οδήγησε σε συμπεριφορά αποφυγής το *F. candida*. Οι Moreira *et al.* (2008) δοκιμάζοντας την συμπεριφορά αποφυγής 6 compost από διάφορα φυτικά υλικά (φύλλα αμπέλου, σπάδικες αραβοσίτου, γκαζόν και μειγμάτων τους) καθώς και λυματολάσσης σε δόσεις 6 και 12 ton/ha, βρήκαν κάποια από αυτά τα υλικά να οδήγησαν σε συμπεριφορά προσέλκυσης, κανένα όμως σε συμπεριφορά αποφυγής. Το *F. candida* έχει βρεθεί να παρουσιάζει συμπεριφορά αποφυγής σε άλλες ξενοβιοτικές ουσίες όπως βαρέα μέταλλα (Natal da Luz *et al.* 2004), πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (Boitaud *et al.* 2006, Lors *et al.* 2006), υδρογονάνθρακες (Martinez-Aldaya *et al.* 2006), το ζιζανιοκτόνο phenmedipham (Heupel 2002) καθώς και αποφυγή διατροφής από φυτικά τεμάχια διαγονιδιακού (*B.t.*) αραβοσίτου (Bakonyi *et al.* 2006).

Η συμπεριφορά αποφυγής του αρθρόποδου αυτού στην δοκιμασία αποφυγής των ΥΑΕ όπως φάνηκε τόσο από την παρούσα μελέτη όσο και από άλλες μελέτες είναι μια απλή δοκιμασία που μπορεί να δώσει σε σύντομο χρονικό διάστημα πληροφορίες για την ενδεχόμενη επικινδυνότητα ξενοβιοτικών στο εδαφικό περιβάλλον. Λόγω της απλότητας της μεθόδου μπορεί κάλλιστα να αποτελέσει μια προκαταρκτική αξιολόγηση, και εάν έχουμε ενδείξεις αποφυγής αυτό να είναι ένδειξη για περαιτέρω αξιολόγηση της επικινδυνότητας.

Σαν γενικό συμπέρασμα τα ΥΑΕ αν και βρέθηκαν να επηρεάζουν αρνητικά την βιολογία του *F. candida*, θα μπορούσαν να χαρακτηρισθούν χαμηλής τοξικότητας για τον οργανισμό αυτό, ενώ ακόμα το *F. candida* παρουσίασε συμπεριφορά αποφυγής. Παρόλο όμως που η τοξικότητα είναι χαμηλή, είναι μετρήσιμη. Και οι δυο δοκιμασίες (αναπαραγωγής και αποφυγής) διέκριναν διαφορές μεταξύ των δύο ΥΑΕ, οι οποίες φάνηκαν από τις αναλύσεις των ΥΑΕ. Μπορούν δε να χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της τοξικότητας των ΥΑΕ και της αξιολόγησης της επικινδυνότητας της εναπόθεσης στο έδαφος, μαζί ενδεχομένως με άλλες οικοτοξικολογικές δοκιμές (για παράδειγμα τοξικότητα και αποφυγή σε γεωσκώληκες, παρεμπόδιση βλαστικότητας σπόρων) αποτελώντας μαζί ένα ολοκληρωμένο “πακέτο” μελετών.



### III.4. Γενικά συμπεράσματα Κεφαλαίου

Οι επιπτώσεις των ΥΑΕ στο εδαφικό οικοσύστημα φαίνεται να είναι συνισταμένη, αφενός του εμπλουτισμού του εδάφους με θρεπτικά στοιχεία και οργανική ουσία και αφετέρου της τοξικότητας κάποιων συστατικών του. Η επίδραση των ΥΑΕ επομένως στους πληθυσμούς κάποιου οργανισμού του εδάφους, φαίνεται σχετίζεται με την ικανότητα του να επωφεληθεί από την αύξηση της οργανικής ουσίας στο έδαφος, και αφετέρου με την ενδεχόμενη τοξική επίδραση που μπορεί να έχουν κάποια συστατικά του. Επίσης, εκτός από άμεσες υπάρχουν και έμμεσες επιδράσεις των ΥΑΕ σε κάποιους οργανισμούς του εδάφους, καθώς η άμεση επίδραση των ΥΑΕ σε κάποιο οργανισμό, επηρεάζει έμμεσα και άλλους οργανισμούς με τους οποίους αλληλεπιδρά ο οργανισμός αυτός (ανταγωνιστές, θηρευτές, λεία κλπ).

Η αντίδραση των οργανισμών του εδάφους στην προσθήκη ΥΑΕ βρέθηκε να ποικίλει ευρέως, εξαρτώμενη πιθανώς από τους προαναφερθέντες παράγοντες. Όπως φάνηκε από τις μελέτες του κεφαλαίου αυτού, τα ΥΑΕ προκάλεσαν μια εμφανή αλλαγή στην δομή του εδαφικού οικοσυστήματος, τουλάχιστον ως προς τους οργανισμούς που μελετήθηκαν.

Η προσθήκη στο έδαφος ΥΑΕ αύξησε την μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους, πιθανό λόγω της αύξησης του διαθέσιμου οργανικού υλικού στο έδαφος, καθώς και των βακτηριοφάγων και μυκητοφάγων νηματωδών, προφανώς λόγω της αύξησης των πληθυσμών των μυκήτων/βακτηρίων που αποτελούν ενδιαίτημα τους.

Για τα μικροαρθρόποδα, σε κάποιες ομάδες παρατηρήθηκε μείωση των πληθυσμών τους στις δοκιμασθείσες δόσεις (πχ. *Mesostigmata*, *Oribatida*). Από τους νηματώδεις ιδιαίτερα οι αποικιστικοί νηματώδεις αρχικά παρουσίασαν μια πολύ έντονη αύξηση των πληθυσμών τους. Καθώς όμως εξαντλείται το υπόστρωμα με την πάροδο του χρόνου φαίνεται ότι μειώνονται και οι πληθυσμοί των νηματωδών. Αντίθετα η προσθήκη ΥΑΕ μείωσε σημαντικά τους πληθυσμούς των φυτοφάγων νηματωδών, κάτι το οποίο έχει βρεθεί να γίνεται και με προσθήκη οργανικής ουσίας άλλου τύπου.

Η αλλαγή στην δομή της νηματωδοκοινότητας λόγω της προσθήκης ΥΑΕ αποτυπώνεται και στους δείκτες της νηματωδοκοινότητας. Τόσο η τιμή του δείκτη ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας MI όσο και του ολικού δείκτη ωριμότητας της νηματωδοκοινότητας ΣMI, και ο ΣMI<sub>2-5</sub> μειώθηκαν από την προθήκη ΥΑΕ. Επίσης η αλλαγή στην δομή της νηματωδοκοινότητας αποτυπώθηκε και στους οικολογικούς δείκτες, όχι όμως με τόσο σαφή τρόπο όσο οι δείκτες της νηματωδοκοινότητας που φάνηκαν να περιγράφουν καλύτερα τις αλλαγές στην νηματωδοκοινότητα.

Τα ΥΑΕ αν βρέθηκαν να επηρεάζουν αρνητικά την βιολογία του *F. candida*, θα μπορούσαν να χαρακτηρισθούν χαμηλής τοξικότητας για τον οργανισμό αυτό. Ακόμα το *F. candida* παρουσίασε σαφή συμπεριφορά αποφυγής προς έδαφος εμπλουτισμένο με

ΥΑΕ. Παρόλο όμως που η τοξικότητα των ΥΑΕ στο *F. candida* είναι χαμηλή, συγκρινόμενη με την τοξικότητα σε υδρόβιους οργανισμούς, η τοξικότητα αυτή είναι μετρήσιμη και οι δύο δοκιμασίες (αναπαραγωγής και αποφυγής) διέκριναν διαφορές μεταξύ των δύο ΥΑΕ, οι οποίες φάνηκαν από τις αναλύσεις των ΥΑΕ. Μπορούν δε να χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της τοξικότητας των ΥΑΕ και της αξιολόγησης της επικινδυνότητας της εναπόθεσης στο έδαφος, μαζί ενδεχομένως με άλλες οικοτοξικολογικές δοκιμές (για παράδειγμα τοξικότητα και αποφυγή σε γεωσκώληκες, παρεμπόδιση βλαστικότητας των σπόρων) αποτελώντας μαζί ένα ολοκληρωμένο “πακέτο” μελετών.

Στην παρούσα μελέτη, στις βιοδοκιμές με το *F. candida*, χρησιμοποιήθηκαν μόνο δυο δείγματα ΥΑΕ, και δεν ήταν δυνατό να προσδιοριστούν τα χαρακτηριστικά αυτά των ΥΑΕ στα οποία οφείλεται κυρίως η τοξικότητά του, καθώς και η συμπεριφορά αποφυγής του *F. candida*. Η περαιτέρω διεύρυνση του ζητήματος αυτού, με δοκιμή περισσότερων δειγμάτων ΥΑΕ με διαφορετικό προφίλ σε βιοδοκιμές τοξικότητας/αποφυγής και η προσπάθεια συσχέτισης των δεδομένων αυτών με τις φυσικοχημικές παραμέτρους των ΥΑΕ, θα μπορέσει να δώσει μια πιο πλήρη εικόνα για το τοξικολογικό προφίλ των ΥΑΕ στο *F. candida*, καθώς και για το ποια από τα τα συστατικά / ιδιότητές του επιδρούν κυρίως στην βιολογία του *F. candida*.

Η προσθήκη ΥΑΕ στο έδαφος μπορεί να είναι μια πρακτική που αφενός αποτελεί μια διέξοδο στην διαχείριση του υλικού αυτού, και αφετέρου εμπλουτίζει το έδαφος και με υγρασία και με οργανική ουσία και με θρεπτικά συστατικά. Στην Ιταλία έχει νομοθετικά τεθεί όριο στην ποσότητα των ΥΑΕ που μπορούν να προστεθούν στο έδαφος (80m<sup>3</sup> ανά εκτάριο). Δεδομένου μάλιστα ότι φαίνεται να είναι πολύ λιγότερο επιβλαβές για τους οργανισμούς του εδάφους από ότι για τους υδρόβιους οργανισμούς, η προσθήκη στο έδαφος φαίνεται να είναι πιο ασφαλής περιβαλλοντικά από την διοχέτευση στο αποχετευτικό δίκτυο και κατόπιν την παρουσία του στα ύδατα (αλμυρών και γλυκών νερών).

Για τον περιορισμό των περιβαλλοντικών επιπτώσεων δοκιμάζονται τουλάχιστον σε ερευνητικό / πιλοτικό επίπεδο διάφορες μέθοδοι επεξεργασίας των ΥΑΕ (βιολογικές, φυσικοχημικές, φιλτράρισμα, εξάτμιση) προκειμένου να μειωθεί τόσο ο τελικός όγκος των ΥΑΕ, όσο και κάποια δυσμενή χαρακτηριστικά του (οξύτητα, οργανικό φορτίο κ.α.). Κάποιες μέθοδοι μεταχείρισης, κυρίως βιολογικές έχουν ευρεθεί να μειώνουν την τοξικότητα των ΥΑΕ σε τόσο σε υδρόβιους οργανισμούς και χερσαίους μικροοργανισμούς, όσο και την φυτοτοξικότητα του όπως έχει ευρεθεί από αρκετές μελέτες. Πολύ πιθανόν, αυτές οι μέθοδοι επεξεργασίας να μειώνουν και την τοξικότητα των ΥΑΕ σε οργανισμούς του εδάφους, και αυτό είναι κάτι που θα πρέπει να είναι αντικείμενο περαιτέρω έρευνας.

Η γνώση των επιπτώσεων των ΥΑΕ στους οργανισμούς του εδάφους, εκτός της παρούσας διατριβής, είναι περιορισμένη και χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για τις

επιπτώσεις των ΥΑΕ (επεξεργασμένων ή μη) σε οργανισμούς του εδάφους, καθώς και στην επίδραση των μεθόδων επεξεργασίας του στους οργανισμούς του εδάφους.

Η ασφάλεια της εναπόθεσης των ΥΑΕ στο έδαφος μπορεί να βελτιωθεί με την επεξεργασία τους. Για την επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου επεξεργασίας, θα πρέπει να συνυπολογίζονται εκτός των οικονομοτεχνικών παραγόντων και οι επιπτώσεις των επεξεργασμένων ΥΑΕ τόσο στις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους όσο και στο εδαφικό οικοσύστημα. Σαν γενικό συμπέρασμα η εναπόθεση των ΥΑΕ στο έδαφος δεν φαίνεται να είναι ιδιαίτερα επιζήμια για το εδαφικό οικοσύστημα, και πιθανότατα να είναι πιο ασφαλής περιβαλλοντικά μέθοδος, από ότι η εναπόθεσή του σε υδάτινα οικοσυστήματα. Τα πορίσματα της παρούσας μελέτης μπορούν να φανούν χρήσιμα για στον σχεδιασμό της διαχείρισης των ΥΑΕ με τρόπο περιβαλλοντικά ασφαλή, και την ενδεχόμενη αξιοποίησή τους.



---

## **Παράρτημα Α. Γενική μεθοδολογία**



Στο παρόν παράρτημα αναπτύσσονται με λεπτομέρεια οι μέθοδοι και οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση μικροαρθρόποδων και νηματωδών του εδάφους καθώς και για την εκτίμηση της μικροβιακής δραστηριότητας.

### **A.1. Βασική και επαγόμενη δια υποστρώματο αναπνοή**

Για την εκτίμηση της μικροβιακής δραστηριότητας στο έδαφος μετρήθηκε η βασική αναπνοή (Basal Respiration) και η επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή (Substrate Induced Respiration).

#### Βασική αναπνοή

Με την μέθοδο αυτή μετράται το CO<sub>2</sub> που εκλύεται από το έδαφος, ο ρυθμός εκπομπής του οποίου είναι δείκτης μεταβολικής δραστηριότητας των ζωντανών οργανισμών του εδάφους. Η αρχή της μεθόδου συνίσταται στην παγίδευση του εκπεμπόμενου CO<sub>2</sub> ενός δείγματος χώματος από αλκαλικό διάλυμα NaOH (Anderson 1982). Το CO<sub>2</sub> είναι ανυδρίτης του οξέος H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> και αντιδρά έντονα με βάσεις σε αντίδραση εξουδετέρωσης:



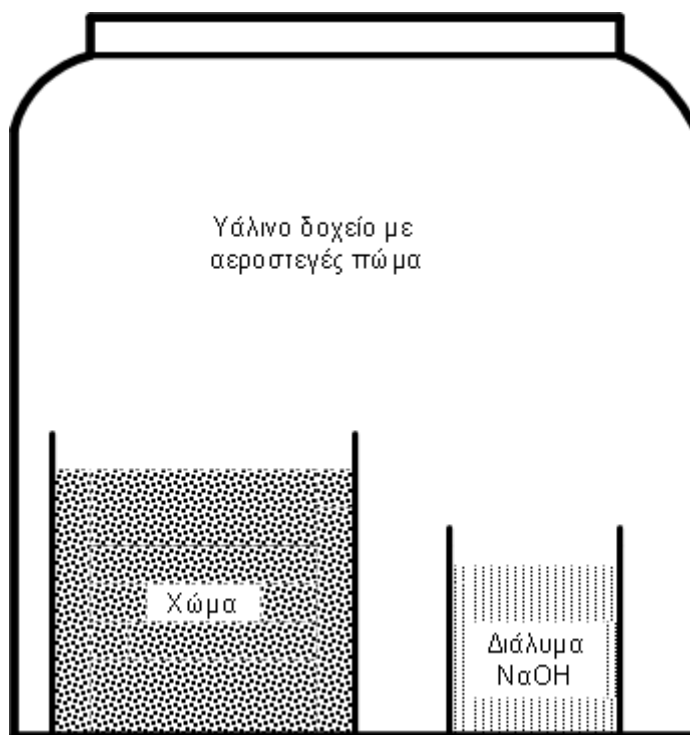
Το CO<sub>2</sub> που εκλύεται από το χώμα δεσμεύεται από το διάλυμα του NaOH εξουδετερώνοντας το. Το NaOH που δεν εξουδετερώθηκε από το CO<sub>2</sub> εξουδετερώνεται με διάλυμα HCl.

Η διάταξη που χρησιμοποιήθηκε φαίνεται στο σχήμα Α.1. Τοποθετούνται 50g χώματος από το προς εξέταση μείγμα σε υάλινο δοχείο των 100ml, 10ml διαλύματος NaOH 0.5N σε υάλινο δοχείο των 30ml και τοποθετούνται και τα δυο αυτά δοχεία μέσα σε υάλινο δοχείο του 1L, στο οποίο κλείνεται το πώμα και σφραγίζεται με Parafilm® αεροστεγώς. Χρησιμοποιείται και "τυφλό" δείγμα (η ίδια διάταξη χωρίς προσθήκη χώματος). Αφήνεται για 2 ημέρες (Σχήμα Α1).

Μετά από 48 ώρες ανοίγεται το μεγάλο βάζο και το διάλυμα τιτλοδοτείται. Για την τιτλοδότηση το διάλυμα NaOH αδειάζεται σε ποτήρι ζέσεως, προσθέτονται 5ml διαλύματος BaCl<sub>2</sub> 2N (έτσι ώστε να κατακρημνισθούν τα ανιόντα <sup>-</sup>CO<sub>3</sub>, ως δυσδιάλυτο άλας Ba<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) καθώς και 2-3 σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλεΐνης. Το διάλυμα παίρνει κόκκινο χρώμα. Το ποτήρι ζέσεως τοποθετείται σε ηλεκτρικό αναμείκτη. Τιτλοδοτούμε με διάλυμα HCl 0.1N έως το σημείο που το διάλυμα αποχρωματισθεί. Τα mg CO<sub>2</sub> που εκπέμπει το δείγμα χώματος ανά μονάδα χρόνου και βάρους υπολογίζονται από τον εξής τύπο:

$$\frac{(B-V)*N*E}{(dw*t)}$$

όπου B και V τα ml του διαλύματος HCl που καταναλώθηκαν από το "τυφλό" δείγμα και το υπό εξέταση δείγμα αντίστοιχα, N η κανονικότητα του διαλύματος του HCl, E=22 για CO<sub>2</sub> και 8 για C, dw το ξηρό βάρος του χώματος και t ο χρόνος.



**Σχήμα Α.1.** Σχηματική παράσταση διάταξης μέτρησης μικροβιακής αναπνοής

#### Επαγόμενη δια υποστρώματος αναπνοή

Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί του εδάφους βρίσκονται σε ληθαργική κατάσταση και ο ρυθμός αναπνοής τους είναι χαμηλός. Ο ρυθμός αναπνοής τους μπορεί να διεγερθεί αν τους προσφέρουμε ένα εύκολα αποδομήσιμο υπόστρωμα όπως για παράδειγμα η γλυκόζη. Τότε η αναπνοή φθάνει σε ένα μέγιστο και διατηρείται εκεί για τουλάχιστον 4 ώρες (Drobnic 1960). Οι Anderson & Domsch (1978) αναφέρουν ότι το μέγιστο αυτό της αναπνοής είναι ανάλογο της μικροβιακής βιομάζας του εδάφους. Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιείται το πρωτόκολλο που προτείνεται από τους Lin & Brookes (1999). Η γλυκόζη προστίθεται στο χώμα ως υδατικό διάλυμα ρυθμίζοντας την την υγρασία στο 100-120% της υδατοϊκανότητας. Με αυτήν την τεχνική εξασφαλίζεται αφενός ομοιόμορφη κατανομή της γλυκόζης στο χώμα, ενώ λόγω της περίσσειας υγρασίας ταυτόχρονα εξαλείφεται η παραλλακτικότητα των μετρήσεων λόγω διαφορών στην υγρασία του χώματος.

Η διάταξη που χρησιμοποιήθηκε είναι όμοια με αυτήν της βασικής μικροβιακής αναπνοής (σχήμα Α.1), με την διαφορά ότι στο χώμα (50g) προστίθενται 15ml διαλύματος γλυκόζης 5%. Αφήνεται για 6 ώρες. Κατόπιν γίνεται τιτλοδότηση του διαλύματος. Τα mg το CO<sub>2</sub> που εκλύει το δείγμα χώματος ανά μονάδα χρόνου και βάρους υπολογίζονται από τον εξής τύπο:

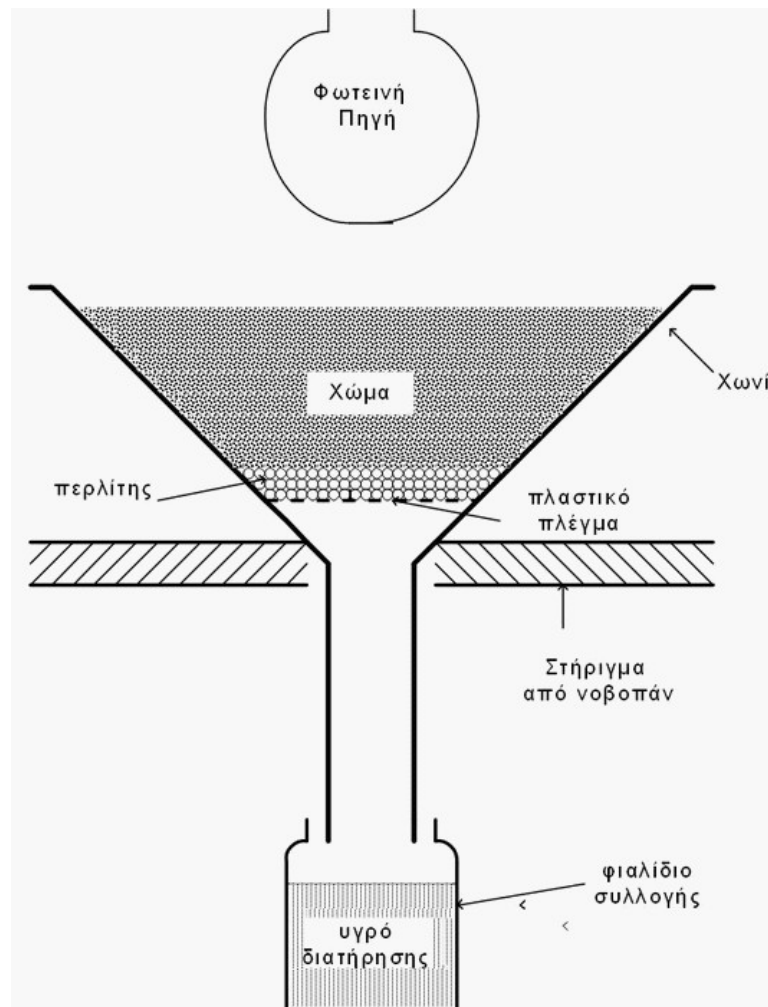


$$\frac{(B-V) \cdot N \cdot E}{dw}$$

όπου B και V τα ml του διαλύματος HCl που καταναλώθηκαν από τον μάρτυρα και το δείγμα αντίστοιχα, N η κανονικότητα του διαλύματος του HCl, E=22 για CO<sub>2</sub> και 8 για C, dw το ξηρό βάρος του χώματος.

### A.2. Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση μικροαρθροπόδων.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των μικροαρθροπόδων είναι η Berlese-Tullgren. Είναι μια ενεργητική μέθοδος εξαγωγής μικροαρθροπόδων, με την οποία συλλέγονται κινητές μορφές αρθροπόδων.



**Σχήμα Α.2.** Σχηματική παράσταση της μεθόδου Berlese-Tullgren

Η αρχή της έγκειται στην προοδευτική θέρμανση-ξηράνση του δείγματος του χώματος, και στον εξαναγκασμό κίνησης των μικροαρθροπόδων προς τα κάτω προκειμένου αυτά να αποφύγουν την αφυδάτωση, καθώς και στον αρνητικό φωτοτακτισμό που παρουσιάζουν αρκετά μικροαρθρόποδα. Η απόδοση της μεθόδου ποικίλει ανάλογα με την διάταξη, τον τύπο του εδάφους και τα μικροαρθρόποδα. Γενικά

στα πιο ταχέως κινούμενα μικροαρθρόποδα η απόδοση είναι μεγαλύτερη από τα βραδέως κινούμενα.

Η μεθοδολογία φαίνεται στο σχήμα Α.2. Το δείγμα χώματος τοποθετείται σε χωνί μέσα στο οποίο συγκρατείται από ένα πλέγμα και ένα στρώμα περλίτη κάτω από θερμική/φωτεινή πηγή. Η ένταση του φωτός περιοδικά αυξάνεται με την βοήθεια ροοστάτη έτσι ώστε το χώμα να θερμαίνεται σταδιακά. Δεν εφαρμόζεται άμεσα μεγάλη ένταση φωτός καθώς αρκετά μικροαρθρόποδα κινούνται βραδέως και μπορεί να πεθάνουν από αφυδάτωση πριν απομακρυνθούν. Τα μικροαρθρόποδα διατηρούνται σε υγρό διατήρησης (παράγεται από ανάμειξη αιθανόλης, απιονισμένου νερού και γλυκερίνης σε αναλογία κατά όγκο 7:2:1 αντίστοιχα).

Μετά από 7 ημέρες λαμβάνεται το φιαλίδιο με τα μικροαρθρόποδα, ενώ ζυγίζεται και το δείγμα χώματος. Το περιεχόμενο του κάθε φιαλιδίου αδειάζεται σε υάλινο τριβλίο, και παρατηρούνται τα μικροαρθρόποδα με την βοήθεια στερεοσκοπίου. Έγινε καταμέτρηση των *Collembola* καθώς και των τάξεων των ακαρέων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε άτομα ανά 100gr εδάφους.

### **A.3. Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση νηματωδών**

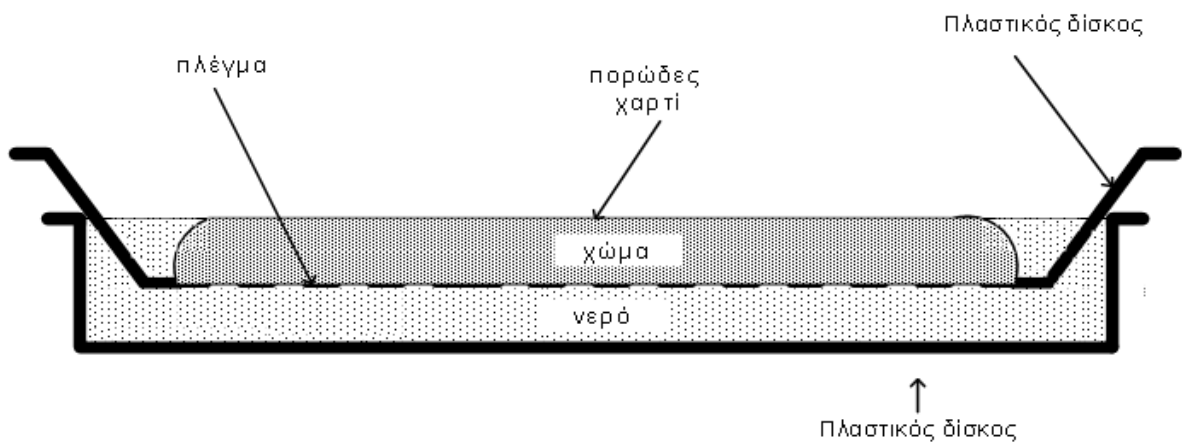
Η μέθοδος που εφαρμόστηκε για την εξαγωγή των νηματωδών από το χώμα είναι η μέθοδος των δίσκων Whitehead (Whitehead & Hemmings 1965), όπως φαίνεται στο σχήμα Α.3. Είναι μια ενεργητική μέθοδος εξαγωγής νηματωδών από το χώμα, που εξαγάγει μόνο ενεργούς ζωντανούς νηματώδεις. Η μέθοδος αυτή είναι ουσιαστικά μια τροποποίηση της τροποποιημένης μεθόδου των χωνιών Baermann, στην οποία το χωνί έχει αντικατασταθεί από αβαθή δίσκο (πιατάκι). Η διάταξη αυτή έχει το πλεονέκτημα ότι το χώμα στρώνεται σε λεπτή στοιβάδα, και έτσι οι νηματώδεις έχουν λιγότερη απόσταση να διανύσουν μέχρι να βγουν από το χώμα και να βρεθούν στο νερό. Με αυτόν τον τρόπο αυξάνεται το ποσοστό εξαγωγής των νηματωδών. Σε σχέση με τις παθητικές μεθόδους εξαγωγής νηματωδών (Steinhorst, επίπλευσης – φυγοκέντρησης) μειονεκτεί στην αποτελεσματικότητα, καθώς οι πολύ μεγάλωσωμοι και οι πιο βραδυκίνητοι νηματώδεις δεν εξαγονται τόσο αποτελεσματικά όσο με τις παθητικές. Πλεονεκτεί όμως στο ότι είναι πιο απλή και φθηνή μέθοδος, χρειάζεται λιγότερο εξοπλισμό, ενώ οι νηματώδεις που εξαγονται είναι σε καλύτερη κατάσταση καθώς «ταλαιπωρούνται» λιγότερο κατά την διαδικασία εξαγωγής, και είναι πιο εύκολη η ταυτοποίησή τους.

Η μεθοδολογία φαίνεται στο σχήμα Α.3. Τοποθετείται ένας δίσκος στον πυθμένα του οποίου έχει τοποθετηθεί πλέγμα, επάνω σε έναν άλλο μεγαλύτερο δίσκο. Πάνω στο πλέγμα στρώνεται ένα φύλλο πορώδους χαρτιού. Πάνω στο χαρτί τοποθετούνται 30g χώματος, στρώνονται σε λεπτή στοιβάδα και σκεπάζονται με τις άκρες του πορώδους χαρτιού. Γεμίζεται με νερό έως το επίπεδο της άνω επιφάνειας της λεπτής στοιβάδας χώματος και αφήνεται για 3 ημέρες.

Κατόπιν αφαιρείται ο δίσκος με το πλέγμα και το χώμα και αδειάζεται το νερό σε ογκομετρικό κύλινδρο. Αφήνεται εν ηρεμία για μια νύχτα έτσι ώστε να καθιζήσουν οι νηματώδεις, αφαιρείται το υπερκείμενο νερό με πιπέττα και κρατώνται 30ml. Το εναιώρημα με τους νηματώδεις αδειάζεται σε φιαλίδια των 30ml. Τα δείγματα τοποθετούνται στο ψυγείο όπου οι νηματώδεις μπορούν να διατηρηθούν ζωντανοί για λίγες ημέρες.

Για την καταμέτρηση των νηματωδών το φιαλίδιο με το εναιώρημα των νηματωδών ανακινείται καλά και με μια πιπέττα λαμβάνεται ποσότητα 2ml η οποία τοποθετείται σε τριβλίο Oostenbrink. Είναι ένα μικρό στρογγυλό τριβλίο ο πυθμένας του οποίου είναι χαραγμένος και διαιρεμένος έτσι ώστε να σχηματίζονται διακριτές περιοχές για να είναι εύκολη η καταμέτρηση των νηματωδών. Τα 2ml επανατοποθετούνται στο φιαλίδιο και επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία άλλες 2 φορές. Εκτιμάται ο αριθμός νηματωδών ανά gr

ξηρού βάρους χώματος με βάση τον τύπο  $(\frac{M1+M2+M3}{3}) * (\frac{V}{Vc}) * (\frac{1}{dw})$  , όπου: M1, M2 και M3 οι τρεις τιμές των καταμετρήσεων από το τριβλίο Oostenbrink, V και Vc τα συνολικά ml του φιαλιδίου και τα ml που καταμετρήθηκαν στο τριβλίο αντίστοιχα, και dw το ξηρό βάρος (σε gr) του χώματος που χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή.



**Σχήμα Α.3.** Σχεδιάγραμμα της διάταξης που χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των νηματωδών από το χώμα.

Στην συνέχεια οι νηματώδεις θανατώνονται και προσηλώνονται. Για την θανάτωση σε φιαλίδια που περιέχουν τους νηματώδεις, αφού διατηρηθούν σε ηρεμία για ικανό χρονικό διάστημα αφαιρείται το υπερκείμενο επιπλέον νερό και κρατώνται 10ml. Κατόπιν ανακινούνται τα φιαλίδια και λαμβάνονται με πιπέττα 4ml τα οποία τοποθετούνται σε δοκιμαστικό σωλήνα. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται 4ml ζέοντος νερού, προκειμένου να θανατωθούν οι νηματώδεις. Αφήνονται οι νηματώδεις να καθιζήσουν για 3 ώρες και κατόπιν αφαιρούνται 4ml του υπερκείμενου νερού.

Για την προσήλωση των νηματωδών στους δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται 4ml

διαλύματος TAF διπλής δύναμης (παράγεται από ανάμειξη αποιονισμένου νερού, φορμόλης 36% και τριαιθανολαμίνης σε αναλογία κατά όγκο 41:7:2 αντίστοιχα). Οι νηματώδεις διατηρούνται έτσι σε καλή κατάσταση για 6-8 μήνες. Το στόμιο των δοκιμαστικών σωλήνων καλύπτεται με πώμα και αποθηκεύονται στο ψυγείο.

Για την δημιουργία μικροσκοπικών παρασκευασμάτων, αφαιρούνται από τους δοκιμαστικούς σωλήνες τα υπερκείμενα 4ml, και από το παραμένον υγρό, κατόπιν ανάδευσης, λαμβάνονται σταγόνες και τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρους πλάκες. Από κάθε δείγμα αναγνωρίζονται περίπου 150 έως 200 νηματώδεις.

Οι νηματώδεις προσδιορίστηκαν σε επίπεδο γένους και εάν αυτό δεν ήταν εφικτό σε επίπεδο οικογένειας. Για τον προσδιορισμό των νηματωδών χρησιμοποιήθηκαν κατάλληλες κλείδες (Goodey 1963, Tarjan *et al.* 1977, Ferris 1999-2010). Οι νηματώδεις διαχωρίστηκαν σε τροφικά επίπεδα (φυτοπαρασιτικοί, μυκητοφάγοι, βακτηριοφάγοι, παμφάγοι, αρπακτικοί) σύμφωνα με Yeates *et al.* (1993). Επιπλέον υπολογίστηκαν και οι παρακάτω δείκτες των νηματωδών: Δείκτης Ωριμότητας Νηματωδοκοινότητας (Maturity Index – MI), ολικός δείκτης νηματωδοκοινοτητας (ΣΜΙ), ολικός δείκτης νηματωδοκοινοτητας πλην ευκαιριακών νηματωδών (ΣΜΙ<sub>2-5</sub>), δείκτης φυτοπαρασιτικής νηματωδοκοινοτητας (PPI), καθώς και οι δείκτες οδού αποσύνθεσης (Channel Index – CI), ευτροφισμού (Enrichment Index – EI), θεμελιώδους κατάστασης (Basal Index) και δομής (Structure Index – SI). Οι τύποι και η μεθοδολογία των υπολογισμών αυτών δόθηκαν στο κεφάλαιο της γενικής εισαγωγής.

Επιπλέον υπολογίστηκαν και οικολογικοί δείκτες της νηματωδοκοινοτητας (Heip & Engels 1973, Heip *et al.* 1998, Neher *et al.* 2006, Καρανδεινός 2007). Συγκεκριμένα υπολογίστηκαν οι ακόλουθοι δείκτες:

- Πλούτου του Margalef. Υπολογίζεται από τον τύπο  $R1 = \frac{S-1}{\ln(N)}$  όπου S ο συνολικός αριθμός ταξινομικών μονάδων (γένος) στο δείγμα και N ο αριθμός των ατόμων στο δείγμα. Εκφράζει τον πλούτο των ταξινομικών μονάδων. Όσο μεγαλύτερο είναι το μέγεθος του δείγματος από μια βιοκοινότητα, τόσο περισσότερες ταξινομικές μονάδες αναμένεται να έχουμε στο δείγμα μας, ο αριθμός του συνόλου των ταξινομικών μονάδων (S) δεν είναι ιδιαίτερα χρήσιμος καθώς εξαρτάται από το μέγεθος του δείγματος. Με την διαίρεση του S με μια συνάρτηση του μεγέθους του δείγματος, ο δείκτης πλούτου της κοινότητας γίνεται λιγότερο εξαρτημένος από το μέγεθος του δείγματος.
- Βιοποικιλότητας του Shannon. Υπολογίζεται από τον τύπο  $H' = -\sum p_i * \sum \ln(p_i)$  , όπου  $p_i$  είναι το ποσοστό της ταξινομικής μονάδας  $i$  στο δείγμα. Ο δείκτης ποικιλότητας του Shannon βασίζεται στη θεωρία της πληροφορίας. Μετρά τον βαθμό της αβεβαιότητας για την πρόβλεψη της ταξινομικής μονάδας στην οποία ανήκει ένα άτομο που επιλέγεται στην τύχη από ένα δείγμα. Όσο ο αριθμός των

ειδών αυξάνει (αφθονία) και τα άτομα κατανέμονται ισόποσα στις ταξινομικές μονάδες (ισομέρεια), τόσο η αβεβαιότητα αυξάνει και επομένως τόσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του δείκτη βιοποικιλότητας του δείγματος. Ο δείκτης παίρνει τιμές από 0 (όταν υπάρχει μόνο ένα είδος στο δείγμα) έως  $\ln(S)$ , όπου  $S$  είναι αριθμός των της ταξινομικών μονάδων (όταν όλες οι ταξινομικές μονάδες συμμετέχουν στο δείγμα με τον ίδιο αριθμό ατόμων).

- Κυριαρχίας του Simpson. Υπολογίζεται από τον τύπο  $\lambda = \sum (p_i)^2$ . Ο δείκτης κυριαρχίας του Simpson παίρνει τιμές από 0 μέχρι 1 και μετρά την πιθανότητα δυο τυχαία άτομα ενός δείγματος να ανήκουν στην ίδια ταξινομική μονάδα. Παίρνει την μέγιστη τιμή 1 όταν όλα τα άτομα ανήκουν στην ίδια ταξινομική μονάδα. Μεγάλη τιμή σημαίνει μικρή ποικιλότητα.
- Ισομέρειας του Hill. Υπολογίζεται από τον τύπο  $E5 = \frac{(1/\lambda) - 1}{e^5 - 1}$ . Η ισομέρεια εκφράζει το κατά πόσο οι ταξινομικές μονάδες κατανέμονται ισόποσα σε ένα δείγμα. Για την ισομέρεια ο δείκτης  $E5$  προτιμάται από άλλους δείκτες καθώς σε περίπτωση κυριαρχίας ενός είδους ο δείκτης τείνει στην τιμή 0, ενώ επιπλέον είναι ανεξάρτητος του αριθμού των ειδών στο δείγμα. Όταν όλες οι ταξινομικές μονάδες έχουν την ίδια συχνότητα στο δείγμα (μέγιστη ισομέρεια) τότε ο δείκτης αυτός παίρνει την τιμή 1.



---

## **Παράρτημα Β. Φωτογραφίες**







**Φωτογραφία Β.1.** Ακάρεα εδάφους της τάξεως των Oribatida (πηγές: [bugguide.net](http://bugguide.net) & [fcps.edu](http://fcps.edu)).



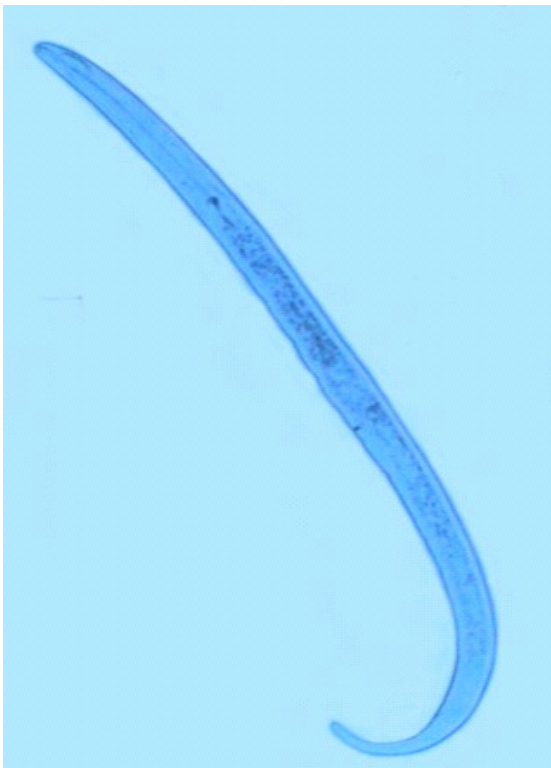
**Φωτογραφία Β.2.** Ακάρεα της τάξεως των Mesostigmata (αριστερά), και των Prostigmata (δεξιά) (πηγές: [ibacon.de](http://ibacon.de) & [itp.lucidcentral.org](http://itp.lucidcentral.org)).



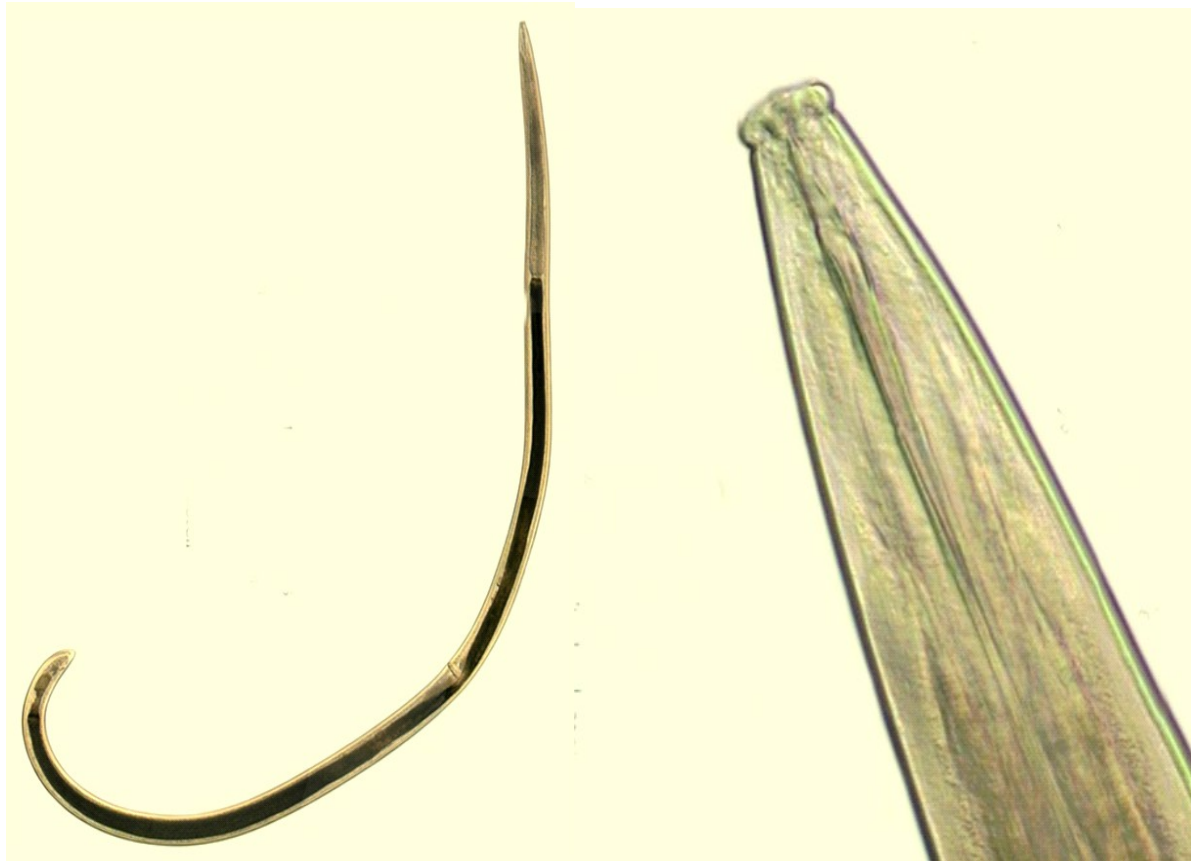
**Φωτογραφία Β.3.** Collembola εδάφους (πηγή: rpleepcontrol.com).



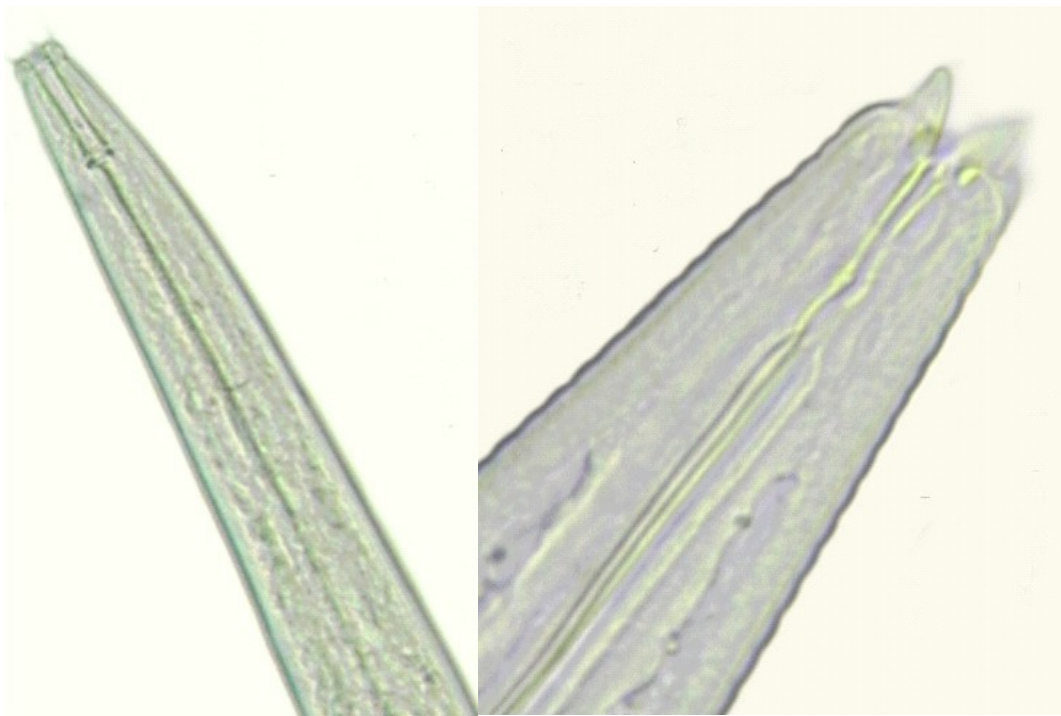
**Φωτογραφία Β.4.** Σώμα και κεφαλή νηματωδών της τάξεως των Tylenchida (πηγή nematode.unl.edu)



**Φωτογραφία Β.5.** Σώμα και κεφαλή νηματωδών της τάξεως των Araeolaimida (πηγή: nematode.unl.edu).



**Φωτογραφία Β.6.** Σώμα και κεφαλή νηματωδών της τάξεως των Dorylaimida (πηγή nematode.unl.edu).



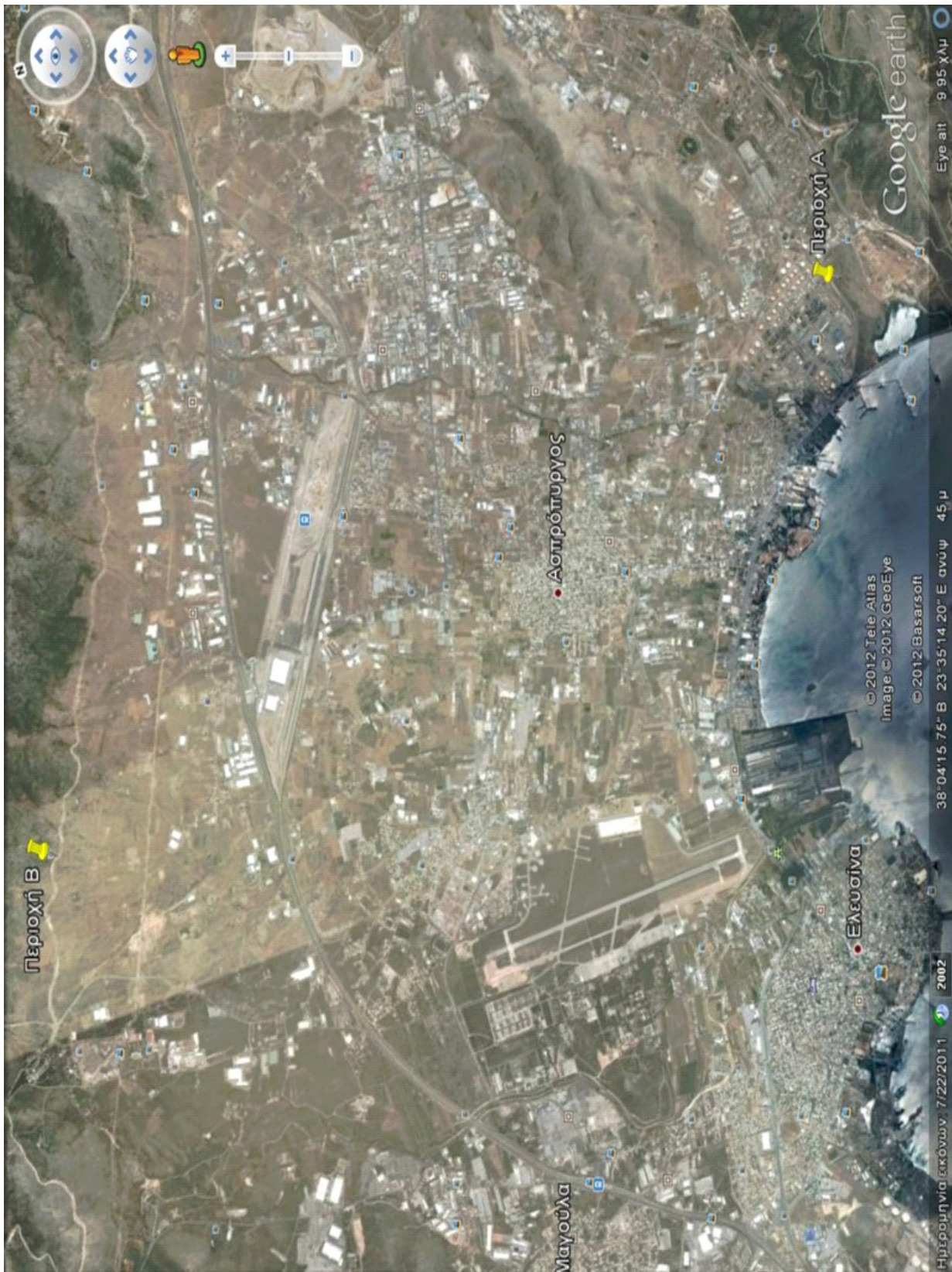
**Φωτογραφία Β.7.** Κεφαλές νηματωδών της τάξεως των Rhabditida, υπόταξη Rhabditina (αριστερά) και υπόταξη Cephalobina (δεξιά) (πηγή nematode.unl.edu).



**Φωτογραφία Β.8.** Διάταξη μεθοδολογίας δίσκων Whitehead για εξαγωγή νηματωδών εδάφους.



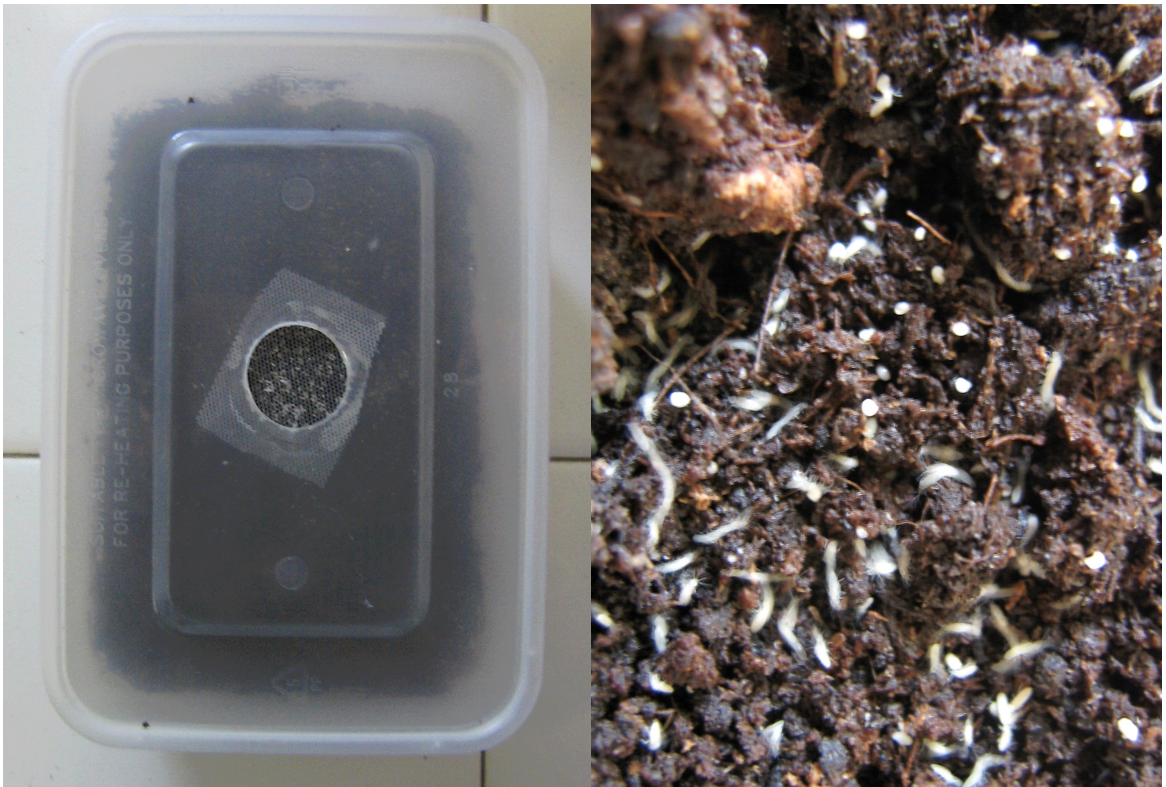
**Φωτογραφία Β.9.** Διάταξη μέτρησης βασικής αναπνοής.



**Φωτογραφία Β.10.** Αεροφωτογραφία της περιοχής του Θριασίου Πεδίου. Σημειώνονται οι δυο περιοχές δειγματοληψίας Α και Β (πηγή googlearth).



**Φωτογραφία Β.11.** Ακμαία, ανήλικα και ωά του *Folsomia candida*.



**Φωτογραφία Β.12.** Κουτί εκτροφής και εικόνα εκτροφής του *Folsomia candida*.



**Φωτογραφία Β.13.** Επιπλέοντα άτομα *Folsomia candida* μετά την προσθήκη νερού για την καταμέτρηση των πληθυσμών σε πείραμα αναπαραγωγής.



**Φωτογραφία Β.14.** Διάταξη για διεξαγωγή δοκιμασίας αποφυγής του *F. candida*.



---

## **Βιβλιογραφία**



- Addison. J. 2002. Derivation of Matrix Soil Standards for Salt under the British Columbia Contaminated Sites Regulation. Addendum C: Soil Invertebrate Toxicity Tests: Lessons and Recommendations. Report to the British Columbia Ministry of Water, Land and Air Protection, Ministry of Transportation and Highways, British Columbia Buildings Corporation, and the Canadian Association of Petroleum Producers. Royal Roads University. Victoria. 22pp. Available at: [www.env.gov.bc.ca/epd/remediation/requests.../rev\\_add\\_c.pdf](http://www.env.gov.bc.ca/epd/remediation/requests.../rev_add_c.pdf)
- Adriano, D.C., 1986. Trace Elements in the Terrestrial Environment. Springer, New York, p. 533.
- Aliotta, G., A. Fiorentino, A. Oliva, & F. Temussi. 2002. Olive oil mill wastewater: Isolation of polyphenols and their phytotoxicity in vitro. *Allelopathy Journal*, 9: 9-17.
- Alkorta, I., J. Hernandez-Allica, J.M. Becerril I. Amezaga, I. Albizu & C. Garbisu. 2004. 'Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic'. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 3: 71-90.
- Alloway B., 1995. Heavy Metals in Soils. Blackie Academic Professional, Chapman & Hall. Second Edition, p:155-164.
- Anderson, J.P.E. & K.H. Domsch. 1978. A physiological method for the quantitative assessment microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 10:215-221.
- Anderson, J.P.E. 1982. Soil respiration. In: Methods of soil analysis. Part II (Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, D.R., eds). 2nd edition. Madison, Wisconsin, USA: American Society of Agronomy and Soil Science Society of America. Pages 831-872.
- Andrés, P. 1999. Ecological risks of the use of sewage sludge as fertilizer in soil restoration: effects on the soil microarthropod populations. *Land Degradation and Development*, 10: 67-77.
- Annibale d. A., R. Casa, F. Pieruccetti, M. Ricci & R. Marabottini. 2004. *Lentinula edodes* removes phenols from olive-millwastewater: impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germinability. *Chemosphere*, 54: 887-894.
- Aqueel, A.M. & K.A. Hameed. 2007. Implementation of Olive Mill by Products in Agriculture. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(3): 380-385.
- Arroyo, J., J.C. Iturrondobeitia. 2006. Differences in the diversity of oribatid mite communities in forests and agrosystems lands. *European Journal of Soil Biology*, 42: 259-269.
- Axelsen, J.A., N. Holst, T. Hamers & P.H. Krogh. 1997. Simulations of the predator-prey interactions in a two species ecotoxicological test system. *Ecological Modelling*, 101:15-25.
- Bakonyi, G., F. Szira, I. Kiss, I. Villányi, A. Seres & Székacs. 2006. Preference tests with Collembolas on isogenic and Bt-maize. *European Journal of Soil Biology*, 42: S132-S135
- Beck, L., J. Rombke, A.M. Breure & Christian Mulder. 2005. Considerations for the use of soil ecological classification and assessment concepts in soil protection. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 62: 189-200.
- Behan-Pelletier, V. M. 1999. Oribatid mite biodiversity in agroecosystems: role for bioindication. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 74: 411-423.
- Bellinger, P.F., Christiansen, K.A. & Janssens, F. 1996-2006. Checklist of the Collembola of the World. <http://www.Collembola.org> (visited 15/2/2006).
- Ben Sassi, A., A. Boularbah, A. Jaouad, G. Walker, & A. Boussaid. 2006. A comparison of Olive oil Mill Wastewaters (OMW) from three different processes in Morocco. *Process Biochemistry*, 41: 74-78.
- Benedito, J., A. Mulet, G. Clemente & J.V. Garcia-Perez. 2004. Use of ultrasonics for the composition assessment of olive mill wastewater (alpechin). *Food Research International*. 37: 595-601.
- Bengtsson G & Rundgren. 1988. The Gusum case: A brass mill and the distribution of soil Collembola. *Canadian Journal of Zoology*, 66: 1518-1526.
- Bengtsson, G., K. Hedlund & S. Rundgren. 1991. Selective odor perception in the soil Collembola, *Onychiurus armatus*. *Journal of Chemical Ecology*, 17: 2113-2125.
- Bengtsson, J. 1999. Which species? What kind of diversity? Which ecosystem function? Some problems in studies of relations between biodiversity and ecosystem function. *Applied Soil Ecology*, 10: 191-199.
- Benitez, F.J., J. Beltran-Heredia, J. Torregrosa & J.L. Acero. 1997. Improvement of the anaerobic biodegradation of olive mill wastewaters by prior ozonation pretreatment. *Bioprocess Engineering*. 17: 169-175.
- Berkelmans, R., H. Ferris, M. Tenuta & A.H.C. v. Bruggen. 2003. Effects of long-term crop management on nematode trophic levels other

- than plant feeders disappear after 1 year of disruptive soil management. *Applied Soil Ecology*, 23: 223-235.
- Bhat, U.N. & A.B. Khan. 2011. Heavy metals: An ambiguous category of inorganic contaminants, nutrients and toxins. *Research Journal of Environmental Sciences*, 2011: 1-9.
- Bielska, I., & H. Paszewska 1997. The Oribatida (Acari, Oribatida) communities of meadows fertilized and non-fertilized with liquid manure. *Polish Ecological Studies*, 21: 277-292.
- Bilos, C. J.C. Colombo, C.N. Skorupka, M.J. Rodriguez Presa. 2001. Sources, distribution and variability of air-borne trace metals in La Plata City area, Argentina. *Environmental Pollution*, 111: 149-158.
- Bilos, C. J.C. Colombo, C.N. Skorupka, M.J. Rodriguez Presa. 2001. Sources, distribution and variability of air-borne trace metals in La Plata City area, Argentina. *Environmental Pollution*, 111: 149-158.
- Blair, J. M. et al. 1996. Soil invertebrates as indicators of soil quality. In: *Methods for Assessing Soil Quality*, SSSA Special Publication 49, pp. 273-291
- Bloem J., Schouten T., Didden W., Akkerhuis G.J., Keidel, H., Rutgers M. & Breure T., 2003. Measuring soil biodiversity: experiences, impediments and research needs. Proceedings "OECD Expert meeting on Soil erosion and soil biodiversity indicators", Rome, March 25-28, 2003.
- Bogomolov D.M., S.K. Chen, R.W. Parmelee, S. Subler and C.A. Edwards, 1996. An ecosystem approach to soil toxicity testing: a study of copper contamination in laboratory soil microcosms. *Applied Soil Ecology*, 4: 94-105.
- Boitaud, L., S. Salmon, C. Bourlette, J.-F. Ponge. 2006. Avoidance of low doses of naphthalene by Collembola. *Environmental Pollution*, 139: 451-454.
- Bongers, T. & H. Ferris, 1999. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology and Evolution*. 14(6): 224-228.
- Bongers, T. and G. Korthals. 1993. The Maturity Index, an instrument to monitor changes in the nematode community structure. In: *Summaries of the 45th International symposium on Crop Protection*. May 4, 1993, Gent, Belgium. p. 80.
- Bongers, T., 1990. The maturity index, an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83: 14-19.
- Bongers, T., H. v.d Meulen & G. Korthals. 1997. Inverse relationship between the nematode maturity index and plant parasitic index under enriched nutrient conditions. *Applied Soil Ecology*, 6: 195-199.
- Bot, A. & J. Benitez. 2005. The importance of soil organic matter: Key to drought-resistant soil and sustained food and production. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Rome. FAO Soils Bulletin 80. 78pp. Available at: <ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/sb80e.pdf>
- Box, J.D. 1983. Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Water Research*, 17: 511-525.
- Bride Mc, M.B., 1989. Reactions controlling heavy metal solubility in soils. *Advances in Soil Science*, 10: 1-56.
- Brooks P.C. & S.P. McGrath, 1984. Effects of metal toxicity on the size of soil microbial biomass. *Journal of Soil Science*, 35: 341-346.
- Broos, K., M. St. J. Warne, D.A. Heemsbergen, D. Stevens, M.B. Barnes, R.L. Correll & M.J. McLaughlin. 2007. Soil factors controlling the toxicity of copper and zinc to microbial processes in Australian soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(4): 583-590.
- Brun L.A., J. Maillet, J. Richarte, P. Herrmann & J.C. Remy. 1998. Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environmental Pollution*, 102:1 51-161.
- Bulluck III, L.R., K.R. Barker & J.B. Ristaino. 2002. Influences of organic and synthetic soil fertility amendments on nematode trophic groups and community dynamics under tomatoes. *Applied Soil Ecology*, 21: 233-250.
- Burrows, L. & C.A. Edwards. 2002. The use of integrated microcosms to predict the fate and effects of pesticides on soil ecosystems. *European Journal of Soil Biology*. 38: 245-249.
- Cabrera., F. R. Lopez, A. Martinez-Borditi, E. Dupuy de Lomeb & J.M. Murillo. 1996. Land treatment of olive oil mill wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1996: 215-225.
- Campbell, P.C.G., P.M. Chapman & B.A. Hale. 2006. Risk Assessment of Metals in the Environment. *Issues in Environmental Science and Technology*, 22: 102-131.
- Campiche, S., K. Becker-v.Slooten, C. Ridreau & J. Tarradellas. 2006. Effects of insect growth regulators on the nontarget soil arthropod *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 63 (2): 216-225.
- Cannon, R.S.C. & Block, W., 1988. Cold tolerance of microarthropods. *Biological Reviews*, 63: 23-77.

- Capasso, R., A. Evidente, L. Schivo, G. Orru, M.A. Marcialis & G. Cristinzio. 1995. Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. *Journal of Applied Bacteriology*, 79: 393-398.
- Caputo, A.C., F. Scacchia, P.M. Pelagagge. 2003. Disposal of by-products in olive oil industry: waste-to-energy solutions. *Applied Thermal Engineering*, 23: 197-214.
- Casa, R. A. D'Annibale, F. Pieruccetti, S.R. Stazi, G. Giovannozzi Sermanni & B. Lo Cascio. 2003. Reduction of the phenolic components in olive-mill wastewater by an enzymatic treatment and its impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germinability. *Chemosphere*, 50: 959-966.
- Cayuela, M.L., P. Millner, J. Slovin & A. Roig. 2007. Duckweed (*Lemna gibba*) growth inhibition bioassay for evaluating the toxicity of olive mill wastes before and during composting. *Chemosphere*, 68: 1985-1991.
- Cayuela, M.L., P. Millner, S.L.F. Meyer & A. Roig. 2008. Potential of olive mill waste and compost as biobased pesticides against weeds, fungi, and nematodes.
- Cereti, C.F., F. Rossini, D. Quarantino, N. Vassiliev, M. Fenice, 2004. Reuse of microbially treated olive mill wastewater as fertiliser for wheat (*Triticum durum* Desf.). *Bioresouce technology*, 91: 135-140.
- Chakchouk, M., M. Hamidi, J.N. Foussard, H. Debellefontaine. 1994. Complete treatment of olive mill wastewater by a wet air oxidation process coupled with a biological step. *Environmental Technology*. 15: 323-332.
- Charistou, A.K. Kyriakopoulou, P. Anastasiadou, N. Fokialakis, A.L. Skaltsounis & K. Machera. 2010. Acute toxicity of Olive Mill Wastewater on rats, *Vibrio fischeri* and *Artemia franciscana*. *Hellenic Plant Protection Journal*, 3: 17-24.
- Chen, T-B., Y.-M. Zheng, M. Lei, Z.-Ch. Huang, H.-T. Wu, H. Chen, K.-K. Fan, K. Yu, X. Wu, Q.-Z. Tian. 2005. Assessment of heavy metal pollution in surface soils of urban parks in Beijing, China. *Chemosphere*, 60: 542-551.
- Chenon, P., A. Rousset, and Y. Crouau. 2000. Genetic polymorphism in nine clones of a parthenogenetic Collembolan used in ecotoxicological testing. *Applied Soil Ecology*, 14: 103-110.
- Clark, M.S., H. Ferris, K. Klotsky, W.T. Lanini, A.H.C. v.Bruggen & F.G. Zalom. 1998. Agronomic, economic and environmental comparison of pest management in conventional and alternative tomato and corn systems in Northern California. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 68: 51-67.
- Clements, W.H., 1994. Assessing contaminant effects at higher levels of biological organization. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13: 357-359.
- Colarieti, M.L., G. Toscano & G. Greco Jr. 2006. Toxicity attenuation of olive mill wastewater in soil slurries. *Environmental Chemistry Letters*, 4: 115-118
- Coleman, D.C. 2001. Soil biota, soil systems and processes. In: *Encyclopedia of Biodiversity* vol 5. p. 305-314. Academic Press.
- Coleman, D.C., D.A. Crossley. 1996. Fundamentals of Soil Ecology. Academic Press, New York. 205 pp.
- Cox, L., R. Celis, M.C. Hermosin, A. Becker, J. Cornejo. 1997. Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 65: 151-161.
- Crommentuijn, T., J.A. Stab, A. Doornekamp & O. Estoppey. 1995. Comparative ecotoxicity of cadmium, chlorpyrifos and triphenyltin hydroxide for four clones of the parthenogenetic Collembolan *Folsomia candida* in an artificial soil. *Functional Ecology*, 9: 734-742.
- Crossley, D.A., 1977. The roles of terrestrial saprophagous arthropods in forest soils: current status of concepts. In: *The Role of Arthropods in Forest Ecosystems*, Mattson, W.J. (Ed.), Springer, Berlin/Heidelberg/New York, pp. 226-232.
- Crouau, Y. & E. Pinelli. 2008. Comparative ecotoxicity of three polluted industrial soils for the Collembola *Folsomia candida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 643-649.
- Crouau, Y., C. Gisclard & P. Perotti. 2002. The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) in bioassays of wastes. *Applied Soil Ecology*, 19: 65-70.
- Crouau, Y., P. Chenon, C. Gisclard. 1999. The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) for the bioassay of xenobiotic substances and soil pollutants. *Applied Soil Ecology*, 12: 103-111.
- D'Annibale, A., R. Casa, F. Pieruccetti, M. Ricci & R. Marabo. 2004. *Lentinula edodes* removes phenols from olive-mill wastewater: impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germinability. *Chemosphere*, 54: 887-894.
- Daghan, H. 2004. Phytoextraction of Heavy Metal from Contaminated Soils Using Genetically Modified Plants. MSc Thesis. Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der Rheinisch - Westfälischen Technischen Hochschule Aachen. 119pp

- Dalis, D., K. Anagnostidis, A. Lopez, I. Letsiou & L. Hartmann. 1996. Anaerobic digestion of total raw olive-oil-wastewater in a two-stage pilot-plant. *Bioresource Technology*, 57(3): 237-243.
- Dallinger, R., 1994. Invertebrate organisms as biological indicators of heavy metal pollution. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 48(1):27-32.
- Danellakis, D, I. Ntaikou, M. Kornaros & S. Dailianis. 2010 Olive oil mill wastewater toxicity in the marine environment: Alterations of stress indices in tissues of mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic toxicology*, 101(2): 358-366.
- Das, P. & P.H.T Samantaray. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution*, 98: 29-36.
- Davies, L.C., J.M. Novais & S. Martins-Dias. 2004. Influence of salts and phenolic compounds on olive mill wastewater detoxification using superabsorbent polymers. *Bioresource Technology*, 95(3): 259-268
- Dechang, H., Z. Xiaoke & T.V.V. Singh. 2009. Effects of heavy metal pollution of highway origin on soil nematode guilds in North Shenyang, China. *Journal of Environmental Sciences*, 21: 193-198.
- Serio Di, M.G. , B. Lanza, M.R. Mucciarella F. Russi, E. Iannucci, P. Marfisi, A. Madeo. 2008. Effects of olive mill wastewater spreading on the physico-chemical and microbiological characteristics of soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62: 403-407.
- Domene, X., J. Colón, M.V. Uras, R. Izquierdo, A. Àvila & J.M. Alcañiz. 2010. Role of soil properties in sewage sludge toxicity to soil Collembolans. *Soil Biology & Biochemistry*, 42: 1982-1990.
- Domene, X., J.M. Alcaniz, & P. Andres. 2007. Ecotoxicological assessment of organic wastes using the soil Collembolan *Folsomia candida*. *Applied Soil Ecology*, 35: 461-472.
- Domene, X., W. Ramirez, S. Mattana, J.M. Alcañiz, P. Andres. 2008. Ecological risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery. *Environmental Pollution*, 155: 227-236.
- Doran, J.D., & T.B. Parkin 1994. Defining and assessing soil quality. In: *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*, (J.D. Doran, D.C. Coleman, D.F. Bezdicsek and B.A. Steward Eds.), pp 3-21. Soil Science Society of America Special Publications, No 35, Maddison, WI. National Soil Survey Center, Lincoln, Nebraska
- Drobnik, J. 1960. Primary oxidation of organic matter in soil. I. the form of respiration with glucose as substrate. *Plant and Soil*. 12:199-211.
- Duarte, J.S., S.O. Pires, S.M. Paixão & M. Céu Sàágua. 2010. Olive mill wastewater bioremediation by *Bjerkandera paranensis*: a sustainability and technological evaluation. In: *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Conference of Iamaw*, June 17-19, 2010, Ismir, Turkey. Pp 79-85.
- Dufus, J. 2002. "Heavy metals" - a meaningless term? *Pure & Applied Chemistry*, 74(5): 793-807.
- Duruibe, J.O., M.O.C. Ogwuegbu, & J.N. Egwurugwu, J. N. 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, 2(5): 112-118.
- Edwards, C.A. 2002. Assessing the effects of environmental pollutants on soil organisms, communities, processes and ecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 38: 225-231.
- Edwards, C.A., T. Knacker, & A. Pokarzhevskii. 1998. The prediction of the fate and effects of pesticides in the environment using tiered laboratory soil microcosms. In: *Proceedings of the Brighton Pesticide Conference*, Pests and Diseases AC-1 (1998) 267-272.
- Edwards, C.A., T. Knacker, A.A. Pokarzhevskii, S. Subler & R. Parmelee, 1996. Use of soil microcosms in assessing the effect of pesticides on soil ecosystems. In: *Proceedings of the International Symposium on Environmental Behavior of Crop Protection Chemicals*, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1996, pp. 435-452.
- El Hadrami, A., M. Belaqziz, M. El Hassni, S. Hanifi, A. Abbad, R. Capasso, L. Gianfreda & I. El Hadrami. A. 2004. Physico-chemical Characterization and Effects of Olive Oil Mill Wastewaters Fertirrigation on the Growth of Some Mediterranean Crops. *Journal of Agronomy*, 3 (4): 247-254.
- Environment Canada, 2005. Guidance Document on Statistical Methods for Environmental Toxicity Tests (Including June 2007 Amendments). Environmental Protection Series, EPS 1/RM/46, p. 241. Available at: [www.etc-cte.ec.gc.ca/organization/bmd/bmd\\_publist\\_e.html](http://www.etc-cte.ec.gc.ca/organization/bmd/bmd_publist_e.html).
- Environment Canada, 2007. Biological test method: Test for measuring survival and reproduction of springtails exposed to contaminants in soil. Environment Canada, Ottawa, Ontario. Environmental Protection Series, EPS 1/RM/47, p. 146. Available at: [www.etc-](http://www.etc-)

- cte.ec.gc.ca/organization/bmd/bmd\_publist\_e.html.
- Eom, I.C., C. Rast, A.M. Veber, & P. Vasseur. 2007. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67: 190-205.
- Esser, K. 1996. Reference concentrations for heavy metals in mineral soils, oat, and orchard grass (*Dactylis glomerata*) from three agricultural regions in Norway. *Water, Air and Soil Pollution*. 89: 375-397.
- Fabian, M. & H. Petersen. 1994. Short-term effects of the insecticide dimethoate on activity and spatial distribution of a soil inhabiting Collembolan *Folsomia fimetaria* Linne (Collembola: Isotomidae). *Pedobiologia*, 38 289e-302.
- Farmaki, E.G., & N.T. Thomaidis. 2008. Current status of the metal pollution of environment in Greece - A review. *Global Nest*, 10(3): 366-375.
- Ferris, H. & M.M. Matute. 2003. Structural and functional succession in the nematode fauna of a soil food web. *Applied Soil Ecology*, 23: 93-110.
- Ferris, H., & T. Bongers, 2006. Nematodes as indicators of organic enrichment. *Journal of Nematology*, 38: 3-12.
- Ferris, H., T. Bongers & R.G.M. de Goede. 2001. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology*. 18: 13-29.
- Ferris, H.A. 1999-2010. THE "NEMATODE-PLANT EXPERT INFORMATION SYSTEM". A Virtual Encyclopedia on Soil and Plant Nematodes. Website: <http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/index.htm>.
- Fiestas, J.A. 1986. Vegetation water used as a fertilizer. In: *International Symposium on Olive By Products Valorization*. (FAO, editor) Sevilla, Spain. Pages 321-330.
- Fillidei, S., G. Masciandaro & B. Seccanti. 2003. Anaerobic digestion of olive mill effluents. Evaluation of wastewater organic load and phytotoxicity reduction. *Water, Air, and Soil Pollution*, 145: 79-94.
- Fiorentino, A., A. Gentili, M. Isidori, P. Monaco, A. Nardelli, A. Parrella, F. Temussi. 2003. Environmental Effects Caused by Olive Mill Wastewaters: Toxicity Comparison of Low-Molecular-Weight Phenol Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 1005-1009.
- Fiorentino, A., A. Gentili, M. Isidori, M. Lavorgna, A. Parrella, F. Temussi. 2004. Olive Oil Mill Wastewater Treatment Using a Chemical and Biological Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 5151-5154.
- Fisher, E., J. Majer, E. Hornung, S. Farka & A. Molnar. 1994. Sublethal toxicity test with the woodlouse *Porcellio scaber* (Latr., 1814) (Isopoda: Porcellionidae), In: Kula, H., Heimbach, U., Lükke, H., (Eds.), Progress Report 1994 of Secofase, Third Technical Report, Denmark, 139-158.
- Foissner, W. 1999. Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 74: 95-112.
- Forge, T.A., S. Bittman, & C.G. Kowalenko 2005. Impacts of sustained use of dairy manure slurry and fertilizers on populations of *Pratylenchus penetrans* under tall fescue. *Journal of Nematology*, 37: 207-213.
- Fountain, M.T. & S.P. Hopkin, 2005. *Folsomia candida* (Collembola): A standard soil arthropod. *Annual Review of Entomology*, 50:201-22
- Fountain, M.T. & S.P. Hopkin. S.P., 2004. Biodiversity of Collembola in urban soils and the use of *Folsomia candida* to assess soil "quality". *Ecotoxicology*, 13(6): 555-572.
- Fountain, M.T. & S.P. Hopkin. 2001. Continuous monitoring of *Folsomia candida* (Insecta: Collembola) in a metal exposure test. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48: 275-286.
- Fountain, M.T. & S.P. Hopkin. 2004. Biodiversity of Collembola in Urban Soils and the Use of *Folsomia candida* to Assess Soil 'Quality'. *Ecotoxicology*, 13: 555-572.
- Georgieva S.S., S.P. McGrath, D.J. Hooper & B.S. Chambers. 2002. Nematode communities under stress: the long-term effects of heavy metals in soil treated with sewage sludge. *Applied Soil Ecology*, 20: 27-42.
- Georgieva S.S., S.P. McGrath, D.J. Hooper, & B.S. Chambers, 2002. Nematode communities under stress: the long term effects of heavy metals in soil treated with sewage sludge. *Applied Soil Ecology* 20:27-42.
- Gercocs, V., & L. Hufnagel. 2009. Application of Oribatid mites as indicators. *Applied Ecology and Environmental Research*, 7(1): 79-98.
- Gestel van, C.A.M. & A. Doornekamp. 1994. Sublethal toxicity test with the oribatid mite *Platynothrus peltifer* (Koch, 1839)(Oribatid: Acari), In: Kula, H., Heimbach, U., Lükke, H., (Eds.), Progress Report 1994 of: Secofase, Third Technical Report, Denmark, 63-80.
- Giacomodi G., V. Brandani, G. Del Re. 1991. Evaporation of olive oil mill vegetation wastewater. In: *Proceedings of the Institution*

- of Chemical Engineer Symposium Series, vol. 1 (125), 1991, pp. 249–259.
- Gillet, G.W., 1989. Terrestrial microcosms and mesocosms in ecotoxicologic research. In: S.A. Levin *et al.* (eds), *Ecotoxicology: Problems and Approaches*. Springer, Berlin, pp. 280–313.
- Goede, De R.G.M., S.S. Georgieva, B.C. Verschoor & J. Kamerling. 1993. Changes in nematode community structure in a primary succession of blown-out areas in a drift sand landscape. *Fundamental and Applied Nematology*, 16: 501–513.
- Gonzalez, M.D., Moreno E., Quevedo-Sarmiento J. & Ramos-Cormenzana A. 1990. Studies on antibacterial activity of wastewaters from olive oil mills (alpechin): inhibitory activity of phenolic and fatty acids. *Chemosphere*. 20: 423–432.
- Goodey, J.B. 1963. Soil and Freshwater Nematodes. Methuen, London. 544 pp.
- Greco Jr., G., M.L. Colarieti, G. Toscano, G. Iamarino, M.A. Rao & L. Gianfreda. 2006. Mitigation of olive mill wastewater toxicity. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 54: 6776–6782.
- Greenslade, P. & G.T. Vaughan, 2003. A comparison of Collembolaspecies for toxicity testing of Australian soils. *Pedobiologia*, 47: 171–179.
- Haight, M., T. Mudry & J. Pasternak. 1982. Toxicity of seven heavy metals on *Panagrellus silusiae*: the efficacy of the free-living nematode as an in vivo toxicological bioassay. *Nematologica*, 28: 1–11.
- Haimi J., & A. Siira-Pietikainen. 1996. Decomposer animal communities in forest soil along heavy metal pollution gradient. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 354:672–675.
- Heckmann, L.-H., B.S. Griffiths, S. Caul, J. Thompson, M. Pusztai-Carey, W.J. Moar, M.N. Andersen & P.H. Krogh. 2006. Consequences for *Protaphorura armata* (Collembola: Onychiuridae) following exposure to genetically modified *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize and non-Bt maize. *Environmental Pollution*, 142: 212–216.
- Heip, C. & P. Engels. 1973. Comparing species diversity and evenness indices. *Journal of marine biological association*, 54: 559–563.
- Heip, C.H.R., P.M.J. Hermann & K. Soetaert. 1998. Indices of diversity and evenness. *Oceanis*, 24(4): 61–87.
- Herbert, L.N., C. Svendsen, P.K. Hankard & D.J. Spurgeon. 2004. Comparison of instantaneous rate of population increase and critical effect estimates in *Folsomia candida* exposed to four toxicants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57: 175–183.
- Heupel, K., 2002. Avoidance response of different Collembolan species to Betanul. *European Journal of Soil Biology*, 38: 273–276.
- Hill, M.O. 1973. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. *Ecology*, 54:427–432.
- Hohberg, K. 2003. Soil nematode fauna of afforested mine sites: genera distribution, trophic structure and functional guilds. *Applied Soil Ecology*, 22: 113–126
- Holdich, D.M., 1984. The cuticular surface of woodlice: a search for receptors. In: Sutton, S.L., Holdich, D.M. (Eds.), *The Biology of Terrestrial Isopods*. The Zoological Society of London. Clarendon Press, Oxford, pp. 9–48.
- Hopkin, S.P. 1997. Biology of the Springtails (Insecta:Collembola). Oxford, UK: Oxford University Press. 330 pp.
- Hu, C., & Y.C. Qi. 2010. Abundance and diversity of soil nematodes as influenced by different types of organic manure. *Helminthologia*, 47(1): 58– 66.
- Hughes, A.M. 1976. The mites of stored food and houses. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Technical Bulletin 9, Her Majesty's Stationary Office, London, 400 pp.
- Idinger, J., T. Coja, & S. Blumel. 2006. Effects of the benzoxazoid DIMBOA, selected degradation products, and structure-related pesticides on soil organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65 (1): 1–13.
- Ingham E.R., C.A. Edwards & A.R. Moldenke. 2005 Soil Biology Primer [online]. Available: [soils.usda.gov/sqi/concepts/soil\\_biology/index.html](http://soils.usda.gov/sqi/concepts/soil_biology/index.html) [accessed 25/10/2005].
- International Organisation for Standardisation (ISO), 1996. Soil Quality—Vocabulary, Part 1: Terms and Definitions Relating to the Protection and Pollution of Soil. ISO 11074-1.
- International Organisation for Standardisation (ISO). 1999. Soil quality—inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. Rep. No. ISO 11267:1999(E). Geneva: ISO. 16 pp.
- Isidori, M., M. Lavogna, A. Nardelli & A. Parella. 2004. Chemical and toxic evaluation of a biological treatment for olive-oil mill wastewater using commercial microbia formulations. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 64: 735–739.
- Jirka, A. M., & M. J. Carter. 1997. Micro-Semi-Automated Analysis of Surface and Wastewaters for Chemical Oxygen Demand. *Analytical Chemistry*, 47(8): 1397– 1402.



- Kammenga, J.E., v. Gestel, C.A.M. & J. Bakker, . 1994. Patterns of sensitivity to cadmium and pentachlorophenol among nematode species from different taxonomic and ecological groups. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 27: 88-94.
- Kampichler, C, A. Bruckner & E Candeler, 2001. Use of enclosed model ecosystems on soil ecology: a bias towards laboratory research. *Soil Biology and Biochemistry*. 33: 269-275.
- Kandeler, E., C. Kampichler, R.G. Joergensen & K. Molter. 1999. Effects of mesofauna in a spruce forest on soil microbial communities and N cycling in field mesocosms. *Soil Biology and Biochemistry*. 31: 1783-1792.
- Kandeler, E., D. Tscherko, K.D. Bruce, M. Stemmer, P.J. Hobbs, R.D. Bardgett, & W. Amelung. 2000. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. *Biology and Fertility of Soils* 32:390-400.
- Kang, S., W.I. Choi & M.I. Ryoo. 2001. Demography of *Paronychiurus kimi* (Lee) (Collembola: Onychiuridae) under the influence of glufosinate-ammonium on plaster charcoal substrate and in artificial soil. *Applied Soil Ecology*, 18: 39-45.
- Kapustka, L.A. W.H. Clements, L. Ziccardi, P.R. Paquin, M. Sprenger & D.Wall. 2003. Issue paper on the ecological effect of metals. Submitted to: U.S. Environmental Protection Agency Risk Assessment Forum 1200 Pennsylvania Avenue, NW. Available at: [www.epa.gov/raf/publications/pdfs/ECOEFFECT\\_S\\_AUG03.PDF](http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/ECOEFFECT_S_AUG03.PDF)
- Karg, W. 1983. Distribution and importance of predatory mites of the cohort Gamasina in relation to their effects on nematodes, *Pedobiologia*, 25: 419-432.
- Khalil, M.A., T.K.S. Janssens, M.P. Berg , N.M. van Straalen. 2009. Identification of metal-responsive oribatid mites in a comparative survey of polluted soils. *Pedobiologia*, 52: 207-221.
- Kitazawa, Y., & T. Kitazawa, 1980. Influence of application of a fungicide, and insecticide, and compost upon soil biota community. In: *Proceedings of the 7th International Soil Zoology Colloquium: Soil Biology as Related to Land Use Practices*, 29 July - 3 August 1979, Syracuse, New York. D.L. Dindal (Ed). Environmental Protection Agency, Washington, DC. pp. 94-98.
- Kleynhans, K.P.N. (ed). 1999. Collecting and Preserving Nematodes. ARC - Plant Protection Research Institute, Pretoria, South Africa. 54pp. Available at: [www.spc.int/pps/SAFRINET/nem-scr.pdf](http://www.spc.int/pps/SAFRINET/nem-scr.pdf)
- Koehler, H.H. 1999. Predatory mites (Gamasina, Mesostigmata). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 395-410.
- Komilis, D.P., E. Karatzas & C.P. Halvadakis. 2005. The effect of olive mill wastewater on seed germination after various pretreatment techniques. *Journal of Environmental Management* ,74: 339-348.
- Korthals G.W., I. Popovici, I. Iliev, T.M. Lexmond, 1998. Influence of perennial ryegrass on a copper and zinc affected terrestrial nematode community. *Applied Soil Ecology*, 10: 73-85.
- Korthals G.W., M. Bongers, A. Fokkema, T.A. Dueck, T. Lexmond, 2000. Joint toxicity of copper and zinc to a terrestrial nematode community in an acid sandy soil. *Ecotoxicology*, 9:219-228.
- Korthals, G. W., A., I. v.d. Ende, H.v. Megen, T. H. Lexmond, J. E. Kammenga & T. Bongers. 1996a. Short-term effects of cadmium, copper, nickel and zinc on soil nematodes from different feeding and life-history strategy groups. *Applied Soil Ecology*, 4: 107-117.
- Korthals, G. W., Popovici, I., Iliev, I., & T. M. Lexmond. 1998. Influence of perennial ryegrass on a copper and zinc affected terrestrial nematode community. *Applied Soil Ecology*. 10: 73-85.
- Korthals, G.W., A.D. Alexiev, T.M. Lexmond, J.E. Kammenga & T. Bongers. 1996b. Long-term effects of copper and pH on the nematode community in an agroecosystem. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 979-985.
- Kotsou, M., I. Mari, K. Lasaridi, I. Chatzipavlidis, C. Balis & A. Kyriacou. 2004. The effect of oliveoil mill wastewater (OMW) on soil microbial communities and suppressiveness against *Rhizoctonia solani*. *Applied Soil Ecology*, 26: 113-121.
- Krantz, G.W., 1978. A manual of acarology. 2nd ed., Oregon State University Book Stores Inc., Corvallis. 509 pp.
- Krogh, 2009. Toxicity testing with the Collembolans *Folsomia fimetaria* and *Folsomia candida* and the results of a ringtest. Environmental Project No. 1256 2009. Environmental Protection Agency. Danish Ministry of Environment. 66pp. Available at: [www2.mst.dk/udgiv/publications/2009/978.../978-87-7052-882-5.pdf](http://www2.mst.dk/udgiv/publications/2009/978.../978-87-7052-882-5.pdf)
- Krogh, P.H. & B. Petersen. 1995. Laboratory toxicity testing with Collembola, In: Lükke, H., (Ed.), *Effects of Pesticides on Meso- and Microfauna in Soil*, Danish Environmental Protection Agency, 39-58.

- Καρανδεινός, Μ.Γ. 2007. Ποσοτικές Οικολογικές Μέθοδοι. Από την θεωρία στην Πράξη. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης. Ηράκλειο. 658 σελ.
- Κυριτσάκης, Α. 2002. Το ελαιόλαδο, παραλαβή, ιδιότητες ποιοτικές κατηγορίες. Στο: *Αφιέρωμα-Ελαιοκομία 2002*. Εκδόσεις Αγρότυπος ΑΕ Αθήνα. σελ 142-148.
- Leroy, B.L., N. d. Sutter, H. Ferris, M. Moens & D. Reheul. 2009. Short-term nematode population dynamics as influenced by the quality of exogenous organic matter. *Nematology*, 11(1): 23-38.
- Liang, W., Q. Li, X. Zhang, S. Jiang & Y. Jiang, 2006. Effect of heavy metal on soil nematode community structure in Shenyang suburbs. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 1(1): 14-18.
- Liao, M. & X.M. Xiao. 2007. Effect of heavy metals on substrate utilization pattern, biomass, and activity of microbial communities in a reclaimed mining wasteland of red soil area. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66: 217-223.
- Liao, M., Y.-K. Luo, Zhao X.-M., Huang C.-Y.. 2005. Toxicity of cadmium to soil microbial biomass and its activity: Effect of incubation time on Cd ecological dose in a paddy soil. *Journal of Zhejiang University Science*, 68(5): 324-330.
- Lin, Q. & P.C. Brookes. 1999. An evaluation of substrate induced respiration. *Soil Biology and Biochemistry*. 31:1969-1983.
- Lin, Q. & P.C. Brookes. 1999. An evaluation of substrate induced respiration. *Soil Biology and Biochemistry*. 31:1969-1983.
- Lock, K. & C.R. Janssen. 2002. Ecotoxicity of chromium (III) to *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albidus*, and *Folsomia candida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51: 203-205.
- López-Piñeiro, A., A. Albarrán, J.M. Rato Nunes & C. Barreto. 2008. Short and medium-term effects of two-phase olive mill waste application on olive grove production and soil properties under semiarid mediterranean conditions. *Bioresource Technology*, 99: 7982-7987.
- Loring, S.J., Snider, R.J. and Robenson, L.S. 1981. The effects of three tillage practices on Collembola and Acarina populations. *Pedobiologia*, 22:172-184.
- Lors, C., M. Martinez-Aldaya, S. Salmon & J.-F. Ponge. 2006. Use of an avoidance test for the assessment of microbial degradation of PAHs. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 2199-2204.
- Luxton, M., 1981. Studies on the Oribatid mites of a Danish Beech wood soil IV. Developmental biology. *Pedobiologia*, 21: 312-340.
- Lokke, H., P.H. Krogh, P. Folker-Hansen & M. Holmstrup. 1994. Sublethal toxicity test with the gamasid mite *Hypoaspis aculeifer* Canestrini (Acar: Gamasida) preying on the Collembola *Folsomia fimetaria* Linne (Collembola: Isotomidae), In: Kula, H., Heimbach, U., Lükke, H., (Ed.), Progress Report 1994 of: Secofase, Third Technical Report, Denmark, 13-23.
- Mantzavinos, D, Hellenbrand R, Metcalfe IS, Livingston AG. 1996. Partial wet oxidation of p-coumaric acid: oxidation intermediates, reaction pathways and implications for wastewater treatment. *Water Research*, 30:2969-2976.
- Marques, A., L. Teixeira, S. Rodrigues, Anaerobic co-treatment of olive mill and piggery effluents, *Environmental Technology* 18 (1997) 265-274.
- Martinez-Aldaya, M., C. Lors, S. Salmon & J.-F. Ponge, 2006. Avoidance bio-assays may help to test the ecological significance of soil pollution. *Environmental Pollution*, 140(1): 173-180.
- Martinez, C.A. & H.L. Motto, 1999. Solubility of lead and copper added to mineral soils. *Environmental Pollution*, 107: 153-158.
- Martinez, N.L. & S.E.G. Hoyos. 1994. El alpechin, un problema medioambiental en vias de solution. *Quimica e Industria*. 41: 17-21.
- Martinez. J, Perez J, Moreno E & Ramos-Cornezana A. 1986. Incidencia del efecto antimicrobiano del alpechin en su posible aprovechamiento. *Grasas y Aceites*. 37: 215-223.
- Matthew, A.M. 2001. Phytoremediation of heavy metal contaminated soil.
- McSorley, R. & J.J. Frederick, J.J. 1999. Nematode population fluctuations during decomposition of specific organic amendments. *Journal of Nematology*, 31: 37-44.
- Mekki, A., A. Dhouib, D. Seki & S. Sayadi. 2006. Changes in microbial and soil properties following amendment with treated and untreated olive mill wastewater. *Microbiological Research*, 161: 93-101.
- Mekki, A., A. Dhouib, D. Seki & S. Sayadi. 2008. Assessment of toxicity of the untreated and treated olive mill wastewaters and soil irrigated by using microbiotests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69: 488-495.
- Menta, C., A. Maggiani & Z. Vattuone. 2006. Effects of Cd and Pb on the survival and juvenile production of *Sinella coeca* and *Folsomia candida*. *European Journal of Soil Biology* 42: 181-189.
- Merrington, 2001. The good, the bad and the ugly: copper and arsenic in soils. In: *Soil health: the foundation of sustainable agriculture*.

- Proceedings of a workshop on the importance of soil health in agriculture*. Wollongbar Agricultural Institute. June 20-21 2001. Lines-Kelly R (ed). pp 52-58. NSW Agriculture, Bruxner Highway Wollongbar 2477.
- Minor, M.A. & R.A. Norton. 2004. Effects of soil amendments on assemblages of soil mites (Acari: Oribatida, Mesostigmata) in short-rotation willow plantings in central New York. *Canadian Journal of Forest Research*, 34: 1417-1425.
- Moldenke, A., M. Pajutee & E. Ingham. 2000. The Functional Roles of Forest Soil Arthropods: The Soil Is a Lively Place. USDA Forest Service General Technical Report. PSW-GTR-178. pp. 7-22. Available at: [www.fs.fed.us/psw/publications/documents/gtr.../gtr-178-ch1.pdf](http://www.fs.fed.us/psw/publications/documents/gtr.../gtr-178-ch1.pdf)
- Molina-Alcaide, J., & A. Nefzaoui. 1996. Recycling of olive oil by-products: possibilities of utilization in animal nutrition. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1996: 227-235.
- Montemurro, F., G. Convertini & D. Ferri. 2003. Mill wastewater and olive pomace compost as amendments for rye-grass. *Agronomie*, 24: 481-486.
- Moreira, R., J.P. Sousa & C. Canhoto. 2008. Biological testing of a digested sewage sludge and derived composts. *Bioresource Technology*, 99: 8382-8389.
- Moreno, J.L., F. Bastida, M. Ros, T. Hernandez, & C. Garcia. 2009. Soil organic carbon buffers heavy metal contamination on semiarid soils: Effects of different metal threshold levels on soil microbial activity. *European Journal of Soil Biology*, 45: 220-228.
- Muckel, G. (ed). 2004. Understanding Soil Risks and Hazards: Using Soil Survey to Identify Areas With Risks and Hazards to Human Life and Property. United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service. Available at: 96pp. [ftp://ftp-fc.sc.egov.usda.gov/NSSC/Soil\\_Risks/risks\\_print\\_version.pdf](ftp://ftp-fc.sc.egov.usda.gov/NSSC/Soil_Risks/risks_print_version.pdf)
- Murray, P. E. Ge & . 2000. Evaluating trace metal contaminated sites: a field and laboratory investigation. *Environmental Pollution*. 137: 127-135.
- Nagy, P. 1999. Effect of an artificial metal pollution on nematode assemblage of a calcareous loamy chernozem soil. *Plant and Soil* 212: 35-43.
- Nagy, P., G. Bakonyi, T. Bongers, I. Kadar, M. Fabian & I. Kiss, 2004. Effects of microelements on soil nematode assemblages seven years after contaminating an agricultural field. *Science of the Total Environment*, 320: 131-143.
- Nahar, M.S., P.S. Grewal, S.A. Miller, D. Stinner, B.R. Stinner, M.D. Kleinhenz, A. Wszelaki & D. Doohan. 2006. Differential effects of raw and composted manure on nematode community, and its indicative value for soil microbial, physical and chemical properties. *Applied Soil Ecology*, 34 : 140-151.
- Natal-da-Luz, T., S. Tidona B. Jesus, P.V. Morais & J.P. Sousa. 2009b. The use of sewage sludge as soil amendment. The need for an ecotoxicological evaluation. *Journal of Soils and Sediments*, 9: 246-260
- Natal-da-luz, T., S. Tidona, C.A.M. van Gestel, P.V. Morais & J.P. Sousa. 2009a. The use of Collembola avoidance tests to characterize sewage sludges as soil amendments. *Chemosphere*, 77: 1526-1533.
- Natal-da-Luz. T., J. Römbke & J.P. Sousa. 2008b. Avoidance tests in site-specific risk assessment—influence of soil properties on the avoidance response of Collembola and earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27: 1112-1117.
- Natal-da-Luz. T., M.J.B. Amorim, J. Römbke & J.P. Sousa. 2008a. Avoidance tests with earthworms and springtails: defining the minimum exposure time to observe a significant response. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 71: 545-551.
- Natal-da-Luz. T., R. Ribeiro & J.P. Sousa 2004. Avoidance tests with Collembola and earthworms as early screening tools for site specific assessment of polluted soils. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 23: 2188-2193.
- Navas, A., P. Flores-Romero, S. Sánchez-Moreno, J. A. Camargo & E. C. McGawley. 2010. Effects of heavy metal soil pollution on nematode communities after the Aznalcollar mining spill. *Nematropica*, 40(1): 13-29.
- Neher, D., T. Bongers & H. Ferris. 1994. Computation of nematode community indices. Society of Nematologists WorkShop. 33pp.
- Neher, D.A., & C.L. Campbell. 1996. Sampling for regional monitoring of nematode communities in agricultural soils. *Journal of Nematology*, 28:196-208.
- Neher, D.A., & R.K. Olson. 1999. Nematode communities in soils of four farm cropping management systems. *Pedobiologia*, 5: 430-438.
- Neher, D. A., S.L. Peck, J.O. Rawlings & C.L. Campbell. 1995. Measures of nematode community structure and sources of variability among and within agricultural fields. *Plant and Soil*, 170:167-181.

- Neher, D.A., 2001. Role of Nematodes in Soil Health and Their Use as Indicators. *Journal of Nematology*, 33(4): 161-168.
- Nicholson, F.A., S.R. Smith, B.J. Alloway, C. Carlton-Smith, B.J. Chambers. 2003. Inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales. *The Science of the Total Environment*. 311: 205-219.
- Nieboer, E. & D.H.S. Richardson. 1980. The replacement of the nondescript term "heavy metals" by the biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environmental Pollution*, B1: 3-26.
- Niklasson, M., H. Petersen & E. Davis-Parker Jr. 2000. Environmental stress and reproductive mode in *Mesaphorura macrochaeta* (Tullberginae, Collembola). *Pedobiologia*, 44: 476-488.
- Nriagu, J.O & J.M. Pacyna, 1989. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by heavy metals. *Nature* 333: 134-139.
- O' Lear, H.A. & J.M. Blair. 1999. Responses of soil microarthropods to changes in soil water availability in tallgrass prairie. *Biology & Fertility of Soils*, 29:207-217
- OECD, 1984. Guideline for Testing of Chemicals, No. 207, Earthworm, Acute Toxicity Test.
- Oka, Y. 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments - A review. *Applied Soil Ecology*, 44: 101-115.
- Oliver, M.A. 1997. Soil and human health: a review. *European Journal of Soil Science*, 48: 573-592.
- Paixao S.M. & A.M. Anselmo. 2002. Effect of Olive Mill Wastewaters on the Oxygen Consumption by Activated Sludge Microorganisms: an Acute Toxicity Test Method. *Journal of Applied Toxicology*. 22: 173-176.
- Paixao, S.M., E. Mendonca, A. Picado & A.M. Anselmo. 1999. Acute Toxicity Evaluation of Olive Oil Mill Wastewaters: A Comparative Study of Three Aquatic Organisms. *Environmental Toxicology*. 14: 263-269.
- Pankhurst C.E., Double B.M. & Gupta V.V.S.R., 1997. Biological indicators of soil health: synthesis. In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (eds), *Biological indicators of soil health*, CAB International, pp. 419-435.
- Pankhurst CE, 1997. Biodiversity of soil organisms as an indicator of soil health. In: *Biological indicators of soil health*, Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (eds), , CAB International, pp. 297-324.
- Paoletti, M.G. & M. Hassall, 1999. Woodlice (Isopoda: Oniscidea): their potential for assessing sustainability and use as bioindicators. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 157-165.
- Paredes, C., M.P. Bernal, J. Cegarra, A. Roig. 2002. Bio-degradation of olive mill wastewaters ludge by its co-composting with agricultural wastes. *Bioresource Technology*, 85: 1-8.
- Park, B.Y., J.-K. Lee, H.-M. Rob & Y.H. Kim. 2011. Effects of heavy metal contamination from an abandoned mine on nematode community structure as an indicator of soil ecosystem health. *Applied Soil Ecology*, 51: 17- 24.
- Parmelee R.W., C.T. Philips, R.T. Checkai and P. Bohlen, 1996. Determining the effects of pollutants on soil faunal communities and trophic structure, using a defined microcosm system. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 116(6):1212-1217.
- Parmelee R.W., R.S. Wentzel, C.T. Phillips, M. Simini & R.T. Checkai. 1993. Soil microcosm for testing the effects of chemical pollutants on soil fauna communities and trophic structure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 1477-1486.
- Pedersen, M.B., J.A. Axelsen, B. Strandberg, J. Jensen & M. Attreil. 1999. The Impact of a Copper Gradient on a Microarthropod Field Community. *Ecotoxicology*, 8: 467-483.
- Pen-Muratov, S., N. Shukurov & Y. Steinberger. 2008. Influence of industrial heavy metal pollution on soil free-living nematode population. *Environmental Pollution*. 152: 172-183.
- Pen-Muratov, S., N. Shukurov & Y. Steinberger. 2010. Soil free-living nematodes as indicators of both industrial pollution and livestock activity in Central Asia. *Ecological Indicators*. 10: 955-967.
- Petala, M., P. Samaras, A. Zouboulis, A. Kungolos & G. Sakellariopoulos. 2006. Ecotoxicological properties of wastewater treated using tertiary methods. *Environmental Toxicology*, 21: 417-424.
- Philips, J.R., 1990. Acarina: Astigmata (Acaridida). In: Dindal, D.L. (Ed.), *Soil Biology Guide*. Wiley, New York, pp. 757-778.
- Piotrowska, A., G. Iamarino, M.A. Rao & L. Gianfreda. 2006. Short-term effects of olive mill waste water (OMW) on chemical and biochemical properties of a semiarid Mediterranean soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 600-610.
- Περδικάτσος, Β., Ε. Μανούσογλου, Ν. Σπαρτάλη, Δ. Μωραϊτης & Δ. Πεντάρη. 2004. Συμπεριφορά υγρών υπολειμμάτων ελαιουργείων σε πετρώματα δαιφόρου λιθολογίας. *Δελτίον της Ελληνικής Γεωλογικής Εταιρείας*. XXXVI: 236-245.

- Ποντίκης, Κ. 1992. Ελαιοκομία. Εκδόσεις Σταμούλη. Πειραιάς. 261 σελ.
- Qi, Y. & Ch. Hu. 2007. Soil nematode abundance in relation to diversity in different soil farming systems. *World Journal of Agricultural Sciences*. 3(5): 587-592.
- Rajapaksha, R.M.C.P., M.A. Tobor-Kaplon, E. Baath. 2004. Metal Toxicity Affects Fungal and Bacterial Activities in Soil Differently. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5): 2966-2973.
- Ramos-Cormenzana, A., M. Monteoliva-Sanchez & M.J. Lopez. 1995. Bioremediation of alpechin. *International Biodegradation and Biodeterioration*, 249-268.
- Razos, P.I & A. Christides. 2010. An Investigation on Heavy Metals in an Industrial Area in Greece . *International Journal of Environmental Research*, 4(4):785-794.
- Reichman, S.M. 2002. The Responses of Plants to Metal Toxicity: A review focusing on Copper, Manganese and Zinc. Australian Minerals & Energy Environment Foundation, Melbourne, Australia. 54pp. Available at: [www.plantstress.com/articles/toxicity\\_i/Metal\\_toxicity.pdf](http://www.plantstress.com/articles/toxicity_i/Metal_toxicity.pdf)
- Rinaldi, M., G. Rana & M. Introna. 2003. Olive-mill wastewater spreading in southern Italy: effects on a durum wheat crop. *Field Crops Research*, 84: 319-326.
- Rivas, F.J., F.J. Beltrán, O. Gimeno & J. Frades. 2001. Treatment of olive oil mill wastewater by Fenton's reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:1873-1880.
- Robards, K. & P., Worsfold. 1991. Cd: Toxicology and analysis. *A Review Analyst*, 116: 549-568.
- Rombke, J. S. Jansch & W. Didden. 2005. The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62: 249-265.
- Ross, S. 1994. Toxic metals in Soil-Plant Systems. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Roussidou, C., K. Papadopoulou, G. Zervakis & B.K. Singh. 2010. Repeated application of diluted olive mill wastewater induces changes in the structure of the soil microbial community. *European Journal of Soil Biology*, 46: 34-40.
- Rout, G.R. & P. Das. 2003. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism. *Agronomie*, 23: 3-11.
- Rouvalis, A & J. Iliopoulou-Georgudaki. 2010. Comparative Assessment of Olive Oil Mill Effluents from Three-phase and Two-phase Systems, Treated for Hydrogen Production. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(4): 432-436
- Rozzi, A. & F. Malpei. 1996. Treatment and disposal of olive mill effluents *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1996: 135-144.
- Ruf, A. & L. Beck. 2005. The use of predatory soil mites in ecological soil classification and assessment concepts, with perspectives for oribatid mites. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62: 290-299
- Russel, D.J. & G. Alberti, 1998. Effects of long-term geogenic heavy metal contamination on soil organic matter and microarthropod communities, in particular Collembola. *Applied Soil Ecology*, 9:483-488.
- Sadaka-Laulan, N., J.F. Ponge, M.F. Roquebert, E. Bury & A. Boumezzough. 1998. Feeding preferences of the Collembolan *Onychiurus sinensis* for fungi colonizing holm oak litter (*Quercus rotundifolia* Lam.). *European Journal of Soil Biology*, 34: 179-188.
- Saiz-Jimenez, C., J.W. Leeuw & Gomez-Alarcon, G. 1987. Sludge from the waste water of the olive processing industry: a potential soil fertilizer. *The Science of the Total Environment*. 62: 445-452.
- Salmon, S. & J.F. Ponge. 2001. Earthworm excreta attract soil springtails: laboratory experiments on *Heteromurus nitidus* (Collembola: Entomobryidae). *Soil Biology and Biochemistry*, 33: 1959-1969.
- Salmon, S., Ponge, J.F., 1998. Responses to light in a soil-dwelling springtail. *European Journal of Soil Biology*, 34: 199-201.
- Sanchez-Moreno, S. & A. Navas. 2007. Nematode diversity and food web condition in heavy metal polluted soils in a river basin in southern Spain. *European Journal of Soil Biology*, 43: 166-179.
- Sanchez-Moreno, S., J.A. Camargo, & A. Navas. 2006. Ecotoxicological assessment of the impact of residual heavy metals on soil nematodes in the Guadiamar River Basin (Southern Spain). *Environmental Monitoring and Assessment*, 116: 245-262.
- SAS Institute. 2000. JMP Start statistics. A guide to statistical and data analysis. Version 4.02. SAS Institute. Cary, NC.
- Schlöter, M., O. Dilly & J.C. Munch, 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 98: 255-262.
- Schmalfuss, H., 1984. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. In: Sutton, S.L., Holdich, D.M. (Eds.), *The Biology of Terrestrial Isopods*. The Zoological Society of London. Clarendon Press, Oxford, pp. 49-63.

- Scott-Fordsmand, J.J., K, Maraldo, P.J. v.d. Brink. 2008. The toxicity of copper contaminated soil using a gnotobiotic Soil Multi-species Test System (SMS). *Environment International*, 34: 524–530.
- Scott-Fordsmand, J.J., P.H. Krogh & J.M. Weeks. 1997. Sublethal toxicity of copper to a soil-dwelling springtail *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae). *Environmental Toxicology & Chemistry*, 16, 2538–2542.
- Scott-Fordsmand, J.J., P.H. Krogh & S.P. Hopkin. 1999. Toxicity of nickel to a soil-dwelling springtail, *Folsomia fimetaria* (Collembola, Isotomidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 43: 57–61.
- Scott, H.G. 1961. Collembola: Pictorial Keys to the Nearctic Genera. *Annals of the Entomological Society of America*. 104-113.
- Seastedt, T.T., 1984. The role of microarthropods in decomposition and mineralization processes. *Annual Review of Entomology*, 29:25-46.
- Secofase, 1994. Development, improvement and standardization of test systems for assessing sublethal effects of chemicals on fauna in the soil ecosystem, Kula, H., Heimbach, U., Lokke, H.,(Eds.), Third Technical Report, Denmark.
- Shao, Y, W. Zhang, J. Shen, L. Zhou, H. Xia, W. Shu, H. Ferris & S. Fu. 2008. Nematodes as indicators of soil recovery in tailings of a lead/zinc mine. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 2040-2046.
- Sheppard, S.C. 1977. Toxicity testing using microcosms. I n:, *Soil Ecotoxicology*, G. Bitton, J. Taradellas, D. Rossel (Eds.), Lewis Press, Michigan, 1977, pp. 346–373.
- Shukurov, N., S. Pen-Mouratov & Y. Steinberger . 2005. The impact of the Almalyk Industrial Complex on soil chemical and biological properties. *Environmental Pollution*, 136: 331-340.
- Shukurov, N., S. Pen-Mouratov & Y. Steinberger. 2006. The influence of soil pollution on soil microbial biomass and nematode community structure in Navoiy Industrial Park, Uzbekistan. *Environment International*, 32: 1-11.
- Sierra, J., E. Marti, G. Montserrat, R. Cruanas, M.A. Garau. 2001. Characterisation and evolution of a soil affected by olive oil mill wastewater disposal. *The Science of the Total Environment*. 279: 207-214.
- Skubala, P. &A. Kafel. 2004. Oribatid mite communities and metal bioaccumulation in oribatid species (Acari, Oribatida) along the heavy metal gradient in forest ecosystems. *Environmental Pollution*, 132: 51–60.
- Smit, C.E. & C.A.M. van Gestel. 1998. Effects of soil type, prepercolation, and ageing on bioaccumulation and toxicity of zinc for the springtail *Folsomia candida*. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 17: 1132–1141.
- Smit, C.E., & C.A.M. van Gestel. 1996. Comparison of the toxicity of zinc for the springtail *Folsomia candida* in artificially contaminated and polluted field soils. *Applied Soil Ecology*, 3: 127–136.
- Smit, C.E., I. van Overbeek, & C.A.M. van Gestel. 1998. The influence of food supply on the toxicity of zinc for *Folsomia candida* (Collembola). *Pedobiologia*, 42: 154–164.
- Smit, C.E., Stam, E.M., Baas, N., Hollander, R., van Gestel, C.A.M., 2004. Effects of dietary zinc exposure on life history of the parthenogenetic springtail *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae). *Environmental Toxicology & Chemistry*, 23: 1719–1724.
- Son, J., H.-h. Mo, J.-h. Kim, M.I. Ryoo & K. Cho. 2007. Effect of soil organic matter and pH on toxicity of cadmium to *Paronychiurus kimi* (Lee) (Collembola). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 10(1): 55-61.
- Sørensen, P.B., L. Carlsen, L. Vikelsøe & A.G. Rasmussen. 2001. Modelling analysis of sewage sludge amended soil. NERI technical report. No 361. National Environmental Research Institute, Roskilde, 40p
- Southey, J.F. (Ed.), 1986. Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes. His Majesty Service Office, London, 202 pp.
- SP-IPM. 2004. Soil biota and sustainable agriculture: challenges and opportunities. IPM Research Brief No. 2. SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Cotonou, Benin. Available at: [www.spipm.cgiar.org/c/document\\_library/get\\_file?p\\_l\\_id=17830&folderId=18484&name=DLFE-82.pdf](http://www.spipm.cgiar.org/c/document_library/get_file?p_l_id=17830&folderId=18484&name=DLFE-82.pdf)
- Speir, T.W., H.A. Kettles, A. Parshotam, P.L. Searle, L.N.C. Vlaar. 1995. A simple kinetic approach to derive the ecological dose value, ED50, for the assessment of Cr (VI) toxicity to soil biological properties. *Soil Biology and Biochemistry*. 27:801-810.
- Speir, T.W., A.P. van Schaik, L.C. Hunter, J.L. Ryburn & H.J. Percival. 2007. Attempts to derive EC<sub>50</sub> values for heavy metals from land-applied Cu-, Ni-, and Zn-spiked sewage sludge. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 539–549.
- Stephenson, G.L., Koper, N., Atkinson, G.F., Salomon, K.R., Scroggins, R.P. 2000. Use of nonlinear regression techniques for describing concentration response relationships of plant species exposed to contaminated site soils.

- Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 2968-2981.
- Straalen van, N.M., J.H.M. Schobben, & R.G.M. De Goede. 1989. Population consequences of cadmium toxicity in soil microarthropods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 17: 190-204.
- Strojan, C.L. 1978. The impact of zinc smelter emissions on forest litter arthropods. *Oikos*, 31: 41-46.
- Stuczynski, T., G.W. McCarty & G. Siebielec. 2003. Response of Soil Microbiological Activities to Cadmium, Lead, and Zinc Salt Amendments. *Journal of Environmental Quality*, 32: 1346-1355.
- Tarjan, A. C., R. P. Esser, and L. C. Shih. 1977. An illustrated key to nematodes found in fresh water. Journal WPCF 49, 2318-2337, adapted by Allen Szalanski as Interactive Diagnostic Key to Plant Parasitic, Freelifving and Predaceous Nematodes (<http://nematode.unl.edu/key/nemakey.htm>).
- Tranvik, L. & H. Eijsackers. 1989. On the advantage of *Folsomia fimetarioides* over *Isotomiella minor* (Collembola) in a metal polluted soil. *Oecologia*, 80: 195-200.
- Tranvik, L., G. Bengtsson & S. Rundgren. 1993. Relative abundance and resistance traits of two Collembola species under metal stress. *Journal of Applied Ecology*, 30: 43-52.
- Treonis, A.M., E.E. Austina, J.S. Buyerb, J.E. Maul, L. Spicera & I.A. Zasadac. 2010. Effects of organic amendment and tillage on soil microorganisms and microfauna. *Applied Soil Ecology*, 46: 103-110.
- U.S.E.P.A., 1978. Chemical Oxygen Demand (Colorimetric, Automated; Manual). U.S. Environmental Protection Agency, 1978. Method #:410.4. Available at: [www.epa.gov/region9/qa/pdfs/410\\_4dqi.pdf](http://www.epa.gov/region9/qa/pdfs/410_4dqi.pdf)
- USDA. 2001. Guidelines for Soil Quality Assessment in Conservation Planning. (Joubert B. ed), Soil Quality Institute, Natural Resources Conservation Service, United States Department of Agriculture. 48pp.
- USDA. 2004. Soil biology and land management. United States Department of Agriculture. National Resources Conservation Center. Soil Quality – Soil Biology. Technical Note No 4. 20pp. Available at: [soils.usda.gov/sqi/publications/files/soilbiolandmgt.pdf](http://soils.usda.gov/sqi/publications/files/soilbiolandmgt.pdf)
- Venieri, D., Rouvalis A. & Iliopoulou-Georgudaki J. 2010. Microbial and toxic evaluation of raw and treated olive oil mill wastewaters. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85(10): 1380-1388.
- Vigo, F., & M. Cagliari. 1999. Photocatalytic oxidation applied to olive mill wastewater treatment. *Rivista Italiana Sostanze Grasse*. 76:345-53.
- Vitolo, S., L. Petarca & B. Bresci. 1999. Treatment of Olive Oil Industry Wastes. *Bioresource Technology* (1999) 129-137.
- Wardle, D.A. 2002. Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components. Princeton University Press. Princeton University Press, New Jersey. 400pp.
- Wasilewska, L. 1994. The effect of age of meadows on succession and diversity in soil nematode communities. *Pedobiologia*, 38: 1-11.
- Weiss, B., 1991. Influence of sewage sludge and heavy metals on nematodes in an arable soil. *Biology and Fertility of Soils*. 12:5-9.
- Whitehead, A.G. & J.R. Hemming. 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology*. 55:25-38.
- Wiles, J.A. & P.H. Krogh. 1998. Tests with the Collembolans *Isotoma viridis*, *Folsomia candida* and *Folsomia fimetaria*. In: *Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests*, ed. H. Løkke, CAM Van Gestel, pp. 131-56. Chichester, UK: Wiley.
- Yang, Y.-G., Z.-S. Jin, X.-Y. Bi, F.-L. Li, L. Sum, J. Liu & Z.-Y. Fu. 2009. Atmospheric Deposition-Carried Pb, Zn, and Cd from a Zinc Smelter and Their Effect on Soil Microorganisms. *Pedosphere*, 19(4): 422-433.
- Yeates, G.W., V.A. Orchard, T.W. Speir, J.L. Hunt & M.C.C. Hermans, , 1994. Impact of pasture contamination by copper, chromium, arsenic timber preservative on soil biological activity. *Biology and Fertility of Soils*, 18: 200-208.
- Yeates, G.W. & D.C. Coleman 1982. Role of nematodes in decomposition. In: *Nematodes in Soil Ecosystems*. D.W. Freckman ed. Courtesy of the University of Texas Press, Austin. Pp 55-80.
- Yeates, G.W., V.A. Orchard, T.W. Speir & J.L. Hunt. 1994. Impact of pasture contamination by cooper, chromium, arsenic timber preservative on soil biological activity. *Biology and Fertility of Soils*, 18: 200-208.
- Yeates, G.W. 1994. Modification and qualification of the nematode Maturity Index. *Pedobiologia*, 38: 97-101.
- Yeates, G.W., Bongers, T., De Goede, R.G.M., Freckman, D.W. Georgieva, S.S., 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera — an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology*. 25: 315-331.

- Yeates, G.W., H. Ferris, T. Moens & V.H. v.d. Putten. 2009. The role of nematodes in agroecosystems. In: *Nematodes as Environmental Indicators*, (eds M.J. Wilson and T. Kakouli-Duarte) CAB International. p. 1-44.
- Yesilada, E., M. Ozen & O. Yesilada. 1999. Studies on the toxic and genotoxic effects of olive oil mill wastewater. *Fresenius Environmental Bulletin*, 8(11/12): 732-739.
- Zaitsev A.S. & N.M. van Straalen, 2001. Species diversity and metal accumulation in oribatid mites (Acari, Oribatida) of forests affected by a metallurgical plant. *Pedobiologia*, 45:467-479.
- Zenjari B., & A. Nejmeddine. 2001. Impact of spreading olive mill wastewater on soil characteristics: laboratory experiments. *Agronomie*. 21:749-755.
- Zhang, F.-P., Li C.-F., L.-G. Tong, Yue, L.-X., Li P., Ciren Y.-J. & Cao C.-G.. 2010. Response of microbial characteristics to heavy metal pollution of mining soils in central Tibet, China. *Applied Soil Ecology*, 45: 144-151.