



**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΚΡΗΤΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΒΙΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗ  
ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΜΕ ΜΥΚΗΤΕΣ**



**ΚΑΤΣΕΛΑΚΗ ΜΑΓΔΑΛΗΝΗ**

**Εισηγητής : Δρ. Δημήτριος Γκούμας**

**ΗΡΑΚΛΕΙΟ  
ΜΑΡΤΙΟΣ 2006**

Η ποιότητα ζωής πάνω στη γη είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ποιότητα του περιβάλλοντος. Το πρόβλημα της προστασίας του περιβάλλοντος έχει παγκόσμια διάσταση. Είναι ένα από τα μεγάλα προβλήματα της εποχής μας. Δεν είναι βέβαια καινούργιο με την έννοια ότι πάντοτε οι ενέργειες του ανθρώπου άμεσα ή έμμεσα, είχαν κάποιο αντίκτυπο στο φυσικό χώρο που τον περιβάλλει. Σήμερα όμως η υποβάθμιση και καταστροφή του περιβάλλοντος αποτελούν μια εκτεταμένη και γεμάτη κινδύνους πραγματικότητα. Και αυτό γιατί ασφαλώς η φύση έχει τα όρια της. Δεν είναι δυνατόν να ανέχεται επ'άοριστον χωρίς επιζήμιες συνέπειες οποιεσδήποτε επιβαρύνσεις. Οι αλόγιστες παρεμβάσεις του ανθρώπου στο περιβάλλον, η καταχρηστική χρησιμοποίηση και εκμετάλλευση του φυσικού πλούτου οδηγούν, αν όχι αμέσως μεσοπρόθεσμα ή μακροπρόθεσμα σε οδυνηρές συνέπειες υποβαθμίζοντας και καταστρέφοντας ή εξαφανίζοντας πρωταρχικά για τη ζωή αγαθά, θεωρούμενα μέχρι πρότινος ανεξάντλητα ή αναλλοίωτα όπως το καθαρό νερό, ο καθαρός αέρας, τα τοπία, οι καλλιεργήσιμες εκτάσεις, τα ζώα, τα φυτά. Μεταβάλλονται σε αρνητική κατεύθυνση οι κλιματολογικές συνθήκες, υπονομεύεται η διατροφή μας, απειλείται πολύπλευρα η υγεία μας.

Η συνειδητοποίηση των παραπάνω κινδύνων συντελέστηκε με αργό ρυθμό και μόνο τις τελευταίες τρεις δεκαετίες προκαλεί σημαντικές ανησυχίες και καταβάλλονται σοβαρές προσπάθειες για τη βελτίωση και προστασία του περιβάλλοντος.

Τις προηγούμενες δεκαετίες οι άνθρωποι χρησιμοποιούσαν το έδαφος σαν ένα εύκολο και κατάλληλο μέσο απόρριψης διαφόρων επικίνδυνων ουσιών και μόνο τα τελευταία χρόνια έγινε αντιληπτό ότι οι ουσίες αυτές εύκολα μπορούν να δημιουργήσουν σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα καθώς μπορούν να μετακινηθούν στα νερά, στην ατμόσφαιρα και μέσω της τροφικής αλυσίδας στον άνθρωπο. Τα πιο συχνά απαντώμενα τοξικά στο έδαφος είναι τα βαρέα μέταλλα, οργανικά χημικά, εκρηκτικά, πετρελαιοειδή και πύσσες, ραδιενεργά υλικά, υπολείμματα φυτοφαρμάκων.

Οι ουσίες αυτές προέρχονται είτε από σκόπιμη ρίψη τους στο έδαφος είτε από διαρροή τους από τα εργοστάσια παραγωγής τους από λάθος ή λόγω κακής τους διαχείρισης τους από τον άνθρωπο.

Μεταξύ αυτών τα φυτοφάρμακα έχουν αρκετά σημαντική συμμετοχή καθώς η εισροή τους στο εδαφικό περιβάλλον είναι συνεχής.

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι εφικτές στην πράξη για την απομάκρυνση των φυτοφαρμάκων από το έδαφος όπως η χημική επεξεργασία τους, η εξαέρωση και η αποτέφρωση. Κατά την εφαρμογή όμως των δύο πρώτων παράγονται μεγάλες ποσότητες οξέων και αλκάλων τα οποία στη συνέχεια πρέπει να εξουδετερωθούν. Η αποτέφρωση εξάλλου αν και χρησιμοποιείται ευρέως σήμερα, προκαλεί σοβαρές αντιρρήσεις λόγω της έκλυσης αναθυμιάσεων που πιθανόν είναι τοξικές αλλά και του αυξημένου κόστους για την υλοποίηση της. Λόγω της αυξανόμενης ανησυχίας για την ύπαρξη υπολειμμάτων στις τροφές, στο νερό και στο έδαφος υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον και ανάγκη να βρεθούν ασφαλείς, εύκολες και οικονομικά εφικτές μέθοδοι για την απομάκρυνση των φυτοφαρμάκων.

Αρκετές βιολογικές τεχνικές έχουν αναπτυχθεί για αυτό το λόγο ανάμεσά τους και η βιοαποδόμηση των φυτοφαρμάκων από μικροοργανισμούς. Η χρήση βακτηρίων ή μυκήτων είτε ενδημικών είτε εισαγόμενων με κάποιο υπόστρωμα (bioaugmentation) για τη διάσπαση διάφορων ρυπαντών καλείται βιοεξυγίανση (bioremediation).

Ο μικροβιακός μεταβολισμός είναι πιθανόν η πιο σημαντική διαδικασία για τη διάσπαση των φυτοφαρμάκων στο έδαφος καθώς αντλούν άνθρακα, άζωτο ή ενέργεια από τα μόρια τους.

Ο σκοπός της βιοεξυγίανσης είναι να μειώσει τα επίπεδα των ρύπων ώστε να είναι μη ανιχνεύσιμα ή να είναι τουλάχιστον εντός των αποδεκτών ορίων που έχουν καθοριστεί στην ιδανική δε περίπτωση να καταφέρει να ανοργανοποιήσει πλήρως τους ρύπους, μετατρέποντας τους σε διοξείδιο του άνθρακα, άρα εξουδετερώνοντάς τους οριστικά.

Η βιοεξυγίανση είναι συνήθως λιγότερο ακριβή από τις φυσικοχημικές μεθόδους. Προσφέρει επίσης τη δυνατότητα μεταχείρισης των εδαφών ή των υπόγειων νερών επί τόπου, απαιτεί λίγη ενέργεια και διατηρεί τη δομή του εδάφους.

Ίσως το πιο ελκυστικό χαρακτηριστικό της είναι η μικρή επίδραση που έχει στα φυσικά οικοσυστήματα και έτσι μπορεί να γίνει πιο εύκολα αποδεκτή από την κοινή γνώμη.

Η πολυπλοκότητα όμως των μικροβιακών μηχανισμών για την αποδόμηση των ρυπαντών καθώς επίσης και μη λεπτομερής γνώση τους, η χρονική διάρκεια που απαιτείται (εβδομάδες έως μήνες) είναι σοβαρά μειονεκτήματα για την εξάπλωση της. Είναι προφανές ότι απαιτούνται λεπτομερείς μελέτες και σοβαρή έρευνα για την ανάπτυξη εφικτών μεθόδων απορρύπανσης για να λυθεί το πρόβλημα των διαφόρων τοξικών αποβλήτων. Προς το παρόν στη βιοεξυγίανση εμπορικά χρησιμοποιούνται βακτήρια και λίγες μόνο απόπειρες έχουν γίνει χρησιμοποιώντας μύκητες και ειδικά αυτούς που προκαλούν τη λευκή σήψη σε ξύλο (white rot fungi).

### **White rot fungi**

Η ομάδα αυτή των μυκήτων περιλαμβάνει όλους τους μύκητες που προκαλούν τη λευκή σήψη στο ξύλο από όπου πήραν και την ονομασία τους. Είναι κυρίως Βασιδιομύκητες με σπουδαιότερα γένη τα : *Phanerochaete* sp, *Trametes* sp, *Pleurotus* sp, *Bjerkandera* sp και λίγα γένη των Ασκομυκήτων της οικογένειας Xylariaceae.

Η γρήγορη ανάπτυξη του μυκηλίου τους (διακλαδιζόμενες νηματοειδείς υφές) επιτρέπει τον γρήγορο αποικισμό των υποστρωμάτων άρα και τη γρήγορη διεύθυνσή τους στο έδαφος πετυχαίνοντας ευκολότερα την επαφή τους με τους ρυπαντές σε σχέση με άλλους μικροοργανισμούς. Μπορούν εκκρίνοντας εξωκυτταρικά διάφορα λιγνινολυτικά ένζυμα να διασπών την λιγνίνη και με τον παρόμοιο μηχανισμό ένα μεγάλο εύρος αδιάλυτων, ανθεκτικών, τοξικών χημικών ρυπαντών ανάμεσά τους και τα φυτοφάρμακα.

Είναι σημαντικό ότι η παραγωγή των ενζύμων αυτών είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση των ρυπαντών. Δεν είναι απαραίτητο δηλαδή οι μύκητες να χρησιμοποιήσουν (να αποικίσουν) τον συγκεκριμένο ρύπο για να παραχθούν τα ένζυμα, αρκεί μόνο η έλλειψη ενός και μόνο θρεπτικού στοιχείου (συνήθως άζωτο ή άνθρακας) που είναι απαραίτητο για την ανάπτυξή τους. Η δράση των ενζύμων δεν είναι εξειδικευμένη και αυτό επιτρέπει τη χρήση τους στη βιοεξυγίανση αφού συχνά υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί ρυπαντές συγχρόνως (π.χ μίγματα φυτοφαρμάκων) στο έδαφος. Αυτό είναι ένα σημαντικό συγκριτικό πλεονέκτημα σε σχέση με τα βακτήρια όπου συνήθως μια συγκεκριμένη ουσία διασπάται από ένα συγκεκριμένο ένζυμο.

Οι μύκητες αυτοί, επίσης είναι ανθεκτικοί σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, pH, και υγρασίας.

### *Phanerochaete chrysosporium*

Ανήκει στους Βασιδιομύκητες, τάξη Polyporales, οικογένεια Phanerochaetaceae.

Αποδομεί κορμούς ή και κλαδιά κωνοφόρων και φυλλοβόλων δέντρων δευτερογενώς. Έχει βρεθεί στις Εύκρατες ζώνες της Βόρειας Αμερικής, στην Ευρώπη αλλά και στο Ιράν. Είναι θερμοφίλος μύκητας με άριστο θερμοκρασίας τους 39<sup>0</sup>C. Έχει μελετηθεί πολύ σαν μύκητας – μοντέλο λόγω της ικανότητάς του να



αποδομεί τη λιγνίνη στο ξύλο και ουσιαστικά να βοηθά στην απομάκρυνση του φυσικού καφέ χρωματισμού του ξύλου που οφείλεται σε αυτή.

Αυτή του η ικανότητα έχει προκαλέσει ενδιαφέρον στις βιομηχανίες χαρτοπολτού και χαρτιού και μελετάται πιθανή χρησιμοποίησή του σαν εναλλακτική, φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος για τον αποχρωματισμό (λεύκανση) του ξύλου.

Το 1985 για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε σε έρευνες που αφορούν την αποδόμηση διαφόρων οργανικών ρυπαντών με δομή παρόμοια της λιγνίνης, λόγω του πλήθους των ενζύμων που εκκρίνει εξωκυτταρικά και εμπλέκονται στο μηχανισμό αποδόμησής τους.

Οι περισσότερες έρευνες πάνω στον *Phanerochaete chrysosporium* έχουν γίνει όμως σε υγρές καλλιέργειες in vitro και λίγα είναι γνωστά για την βιοαποδομητική ικανότητά του στο έδαφος.

Ο Lamar και οι συνεργάτες του (1994) χρησιμοποίησαν τους μύκητες : *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete soldida* και τον *Trametes hirsuta* για να απομακρύνουν την πενταχλωροφαινόλη και την creosote από μολυσμένα εδάφη σε συνθήκες αγρού. Από τους τρεις μύκητες ο *Phanerochaete soldida* αποδείχτηκε ότι είναι αποτελεσματικότερος, αφού παρουσίασε την υψηλότερη ικανότητα μετασχηματισμού των ουσιών αυτών και είχε ικανοποιητικό ρυθμό ανάπτυξης ακόμα και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες.

Σε ένα από τα πειράματα που έγιναν στον αγρό, όταν η θερμοκρασία έπεσε στους 8<sup>0</sup>C ο *Phanerochaete chrysosporium* παρουσίασε πρόβλημα στην ανάπτυξή του ,

αφού αυτός ο μύκητας έχει αργό ρυθμό ανάπτυξης σε τέτοια επίπεδα θερμοκρασιών. Ο Tekere *et.al* (2001) και ο Hestbjerg *et.al* (2003) ανέφεραν ότι σε συνθήκες αγρού ο *Phanerochaete chrysosporium* δεν έχει την ικανότητα να επιτύχει ιδανική δραστηριότητα και για αυτόν τον λόγο δεν είναι καλός ανταγωνιστής στο εδαφικό περιβάλλον.

Παρόλα αυτά, κάποιες μελέτες έχουν περιγράψει επιτυχή εφαρμογή του *Phanerochaete chrysosporium* στο έδαφος. Ο Reddy και Mathew (2001) απέδειξαν ότι αυτό το είδος ήταν ικανό να αποδομήσει το lindane, την ατραζίνη και το DDT (Dichlorodiphenyltrichloroethane).

### ***Trametes versicolor***

Συνώνυμα : *Agaricus* = *Coriolus* = *Polyporus* = *Polustictus*

Ανήκει στους Βασιδιομύκητες, τάξη Polyporales, οικογένεια Polyporaceae.

Συναντάται στα εύκρατα και υποτροπικά δάση όπου γρήγορα και εύκολα αποδομεί τα νεκρά φύλλα φυλλοβόλων και μη δέντρων



Ο *Trametes versicolor* έχει χρησιμοποιηθεί στην έρευνα για την αποδόμηση τοξικών ουσιών επειδή μπορεί να παράγει εξωκυτταρικά

κυρίως λακκάση, αλλά και LiP, MnP κ.α. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι είναι ανθεκτικός σε μεγάλη συγκέντρωση πενταχλωροφαινόλης.

Λίγη γνώση όμως υπάρχει για τη δυνατότητα παραγωγής των ενζύμων αυτών στο έδαφος.

Σε μια δοκιμή που έγινε από τους Tuomela *et al.* (1999) έδειξε ότι ο *Trametes versicolor* ανοργανοποίησε το 29% του προστιθέμενου στο έδαφος PCP (Pentachlorophenol) κατά τη διάρκεια 42 ημερών ανάπτυξής του στο έδαφος.

### *Pleurotus ostreatus*

Ανήκει στην οικογένεια των Βασιδιομυκήτων Polyporaceae.

Συναντάται στην Ευρώπη, Νότια Αφρική και Νότια Αμερική. Είναι ένας σαπροφυτικός μύκητας, εκκρίνει ένζυμα και οξέα τα οποία είναι ικανά να αποδομούν οργανικά πολυμερή και για τον λόγο αυτό θεωρείται φυσικός βιοαποδομητής.

Ο *Pleurotus ostreatus* σαν καλλιεργούμενος εδώδιμος μύκητας έχει πολλά πλεονεκτήματα όπως ραγδαία μυκηλιακή ανάπτυξη, υψηλή ικανότητα για σαπροφυτική αποίκηση, απλές και οικονομικές τεχνικές καλλιέργειας. Περιλαμβάνει πολλά είδη κατάλληλα για καλλιέργεια κάτω από διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες.



Το μεγαλύτερο όμως πλεονέκτημα του μύκητα είναι ότι η μεγαλύτερη ποσότητα της βιομάζας του μύκητα μπορεί να αναπτύσσεται πάνω σε λιγνολιτικό υπόστρωμα, το οποίο έχει ήδη παρασκευαστεί για ανθρώπινη κατανάλωση και για το λόγο αυτό το υπόστρωμα δεν θα χρειαστεί αποστείρωση. Το μυκήλιο του μύκητα αποικίζει αποτελεσματικά το φυσικό έδαφος και οι απαιτήσεις του σε θερμοκρασία είναι αξιοσημείωτα χαμηλότερες από ότι είναι εκείνες του *Phanerochaete chrysosporium*, αφού ο μύκητας παραμένει ενεργός και σε θερμοκρασίες 8 °C.

Ο *Pleurotus ostreatus* έχει δοκιμαστεί για την αποδόμηση του εντομοκτόνου Lindane και έχει βρεθεί να είναι αποτελεσματικός μειώνοντας τις συγκεντρώσεις του από 345 στα 30ppm σε διάστημα 45 ημερών, στο εργαστήριο.

Διαδοχικά σε πιλοτικές δοκιμές που διεξήχθησαν χρησιμοποιώντας πειραματικά τεμάχια των 2m<sup>3</sup>εδάφους βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις του εντομοκτόνου μειώθηκαν από 558 σε 37 ppm σε 274 ημέρες. Επόμενα πειράματα έγιναν σε 750 τόνους εδάφους που περιείχε συγκεντρώσεις του εντομοκτόνου Lindane (7,1 έως 37ppm με μέσο όρο 21 ppm). Το έδαφος αναμίχθηκε με 16% ( w/w) μυκηλιακού εμβολίου. Μετά από 24 μήνες μεταχείρισης οι συγκεντρώσεις του εντομοκτόνου είχαν μειωθεί έως και 97%, στο επίπεδο των 0,57 ppm πετυχαίνοντας σχεδόν το όριο κινδύνου για υπολειμματικότητα του φαρμάκου στο έδαφος (0,49ppm)

Ο Novorthy *et al.* (1999) επίσης περιέγραψε τον *Pleurotus ostreatus* σαν ιδανικό μύκητα για την εξυγίανση μολυσμένων, από δυσκολοεξόντωτους ρυπαντές, εδαφών εξαιτίας της ικανότητας του να αναπτύσσεται πολύ καλά και να παράγει εξωκυτταρικά ένζυμα στο έδαφος ακόμα και με την παρουσία μολυντών όπως PAHs (Polynuclear aromatic hydrocarbons) .

### **Phlebiopsis gigantea**

Συνώνυμα : *Phanerochaete* = *Peniophora* = *Phlebia* = *Phlebiopsis gigantea*

Ανήκει στους Βασιδιομύκητες, οικογένεια Corticiaceae. Συναντάται στη Βόρεια και Κεντρική Αμερική, στην Ευρώπη, στην Ανατολική Αφρική και στη Νότια Ασία.

Πρόκειται για σαπροφυτικό μύκητα που προκαλεί λευκή σήψη στους κορμούς των κωνοφόρων δέντρων αλλά και των υπολειμμάτων τους ( είδη του πεύκου, έλατου, τούγιας ).



Οι καρποφορίες του μύκητα αναπτύσσονται κατά μήκος της επιφάνειας του ξύλου που τελικά αποκτά ένα υπόλευκο ή ροζ χρώμα. Παράγει βασιδιοσπόρια τα οποία μεταφέρονται με τον άνεμο. Ο *Phlebiopsis gigantea* έχει επίσης και αγενή στάδιο όπου παράγει κονίδια. Τα αγενή σπόρια παράγονται εύκολα σε τεχνητά υποστρώματα στο εργαστήριο, στη φύση όμως η παραγωγή και ο ρόλος τους είναι αδιευκρίνιστος. Στις ΗΠΑ και στην Ευρώπη χρησιμοποιείται, εμπορικά, για τη βιολογική καταπολέμηση του παθογόνου μύκητα *Heterobacterium annosum* .

Ο μύκητας αυτός προκαλεί σοβαρές ζημιές σε φυτείες κωνοφόρων προσβάλλοντας καταρχήν πρόσφατα κομμένους κορμούς, προχωρεί στο ριζικό σύστημα των δέντρων με αποτέλεσμα την σταδιακή εξασθένηση και τελικά την νέκρωση των δέντρων. Η E.P.A (Environmental Protection Agency, U.S.A) ενδέχεται να τον χαρακτηρίσει σαν φυτοφάρμακο.



### ***Pycnoporus coccineus***

Ανήκει στους Βασιδιομύκητες, τάξη Polyporales, οικογένεια Polyporaceae.

Οι καρποφορίες του μύκητα μοιάζουν με μαστίγια χρώματος πορτοκαλοκόκκινου και σχηματίζονται στο νεκρό ξύλο. Το αραίωμα των θάμνων και το κλάδεμα των αναπτυσσόμενων δέντρων αποτελούν πρακτικές των καλλιεργητών που στοχεύουν στη παραγωγή δέντρων κατάλληλων για ξυλεία. Όμως οι πληγές που προκαλούνται αποτελούν σημεία εισόδου για τους μύκητες που αποδομούν το ξύλο και έτσι εύκολα αποικίζουν τα υγιή δένδρα.



Στην Αυστραλία έχουν βρεθεί δυο είδη, ο *Pycnoporus coccineus* και ο *Pycnoporus sanguineus*. Τα δυο αυτά είδη παρουσιάζουν ομοιότητες στην εμφάνισή τους και έτσι ο διαχωρισμός τους είναι δύσκολος. Και τα δυο είδη χρησιμοποιούνται στην φαρμακοποιία με ποικίλους τρόπους. Ο κυριότερος από αυτούς είναι η θεραπεία πληγών στα στοματική κοιλότητα.

### **Αποδόμηση λιγνίνης**

Στη φύση οι μύκητες αυτοί αναπτύσσονται στους ιστούς του ξύλου των φυτών, δέντρων που συντίθενται κυρίως από κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη.

Η λιγνίνη είναι ένα μεγάλο και πολύπλοκο πολυμερές το οποίο προκύπτει από τον πολυμερισμό τριών πρόδρομων ουσιών της κουμαρικής αλκοόλης, της κωνυφερικής αλκοόλης και της σιναπικής αλκοόλης που διαφέρουν ως προς τον αριθμό των μεθυλο-ομάδων που φέρουν στον αρωματικό δακτύλιό τους.

Με την ενζυματική οξείδωση των παραπάνω ουσιών και τη σύνδεσή τους με διάφορους δεσμούς C-C και αιθερικούς δημιουργείται ένα κυκλικό πολυμερές με πολύπλοκη και ακανόνιστη δομή, η λιγνίνη.



ικανοί να διασπάσουν τη λιγνίνη με όχι απόλυτα εξειδικευμένο τρόπο. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι και άλλες αρωματικές ουσίες, όπως είναι πολλά παρασιτοκτόνα και άλλα τοξικά, είναι επίσης επιδεκτικά στην αποδόμηση από τα λιγνινολυτικά αυτά ένζυμα.

Η παραγωγή λιγνινολυτικών ενζύμων από τους μύκητες των λευκών σήψεων του ξύλου αποτελεί ένα μεγάλο πλεονέκτημα για τη χρήση στην βιοεξυγίανση, αφού συνήθως μίγματα διάφορων ρυπαντών συνυπάρχουν στο έδαφος.

Έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες που αφορούν την αποδόμηση διαφόρων οργανικών ρυπαντών από τους white rot fungi όπως φαίνεται στον πίνακα.

**Πίνακας 1. Αποδόμηση τυπικών περιβαλλοντικών μολυντών από λιγνινολυτικούς Βασιδιομύκητες.**

Μύκητας	Ρυπαντές	Βιβλιογραφία
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Lindane, DDT BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene and xylene) Atrazine	Bumbus <i>et al.</i> , 1985 Yavad and Reddy, 1993 Hickey <i>et al.</i> , 1994
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> <i>Phanerochaete eryngi</i> <i>Pleurotus florida</i> <i>Pleurotus sajor-caju</i>	Heptachlor Lindane	Arisoy, 1998
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> <i>Trametes versicolor</i>	Pentachlorophenol	Alleman <i>et al.</i> , 1992
<i>Trametes versicolor</i>	Pesticides	Khadrani <i>et al.</i> , 1999 Morgan <i>et al.</i> , 1991
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Pesticides	Khadrani <i>et al.</i> , 1999
	Dyes	Sasek <i>et al.</i> , 1998
	Catechol Pyrene Phenanthrene	Bezadel <i>et al.</i> , 1996
<i>Pleurotus pulmonaris</i>	Atrazine	Mazaphy <i>et al.</i> , 1996
<i>Bjerkandera adusta</i>	Pesticides	Khadrani <i>et al.</i> , 1999

## ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

Ο γενικός όρος φυτοφάρμακα περιλαμβάνει μια μεγάλη ποικιλία από προϊόντα που χρησιμοποιούνται κυρίως σε γεωργικές εφαρμογές (απορρόφηση 75% των συνολικά χρησιμοποιούμενων ποσοτήτων), αλλά και για την καταπολέμηση εντόμων που προκαλούν σοβαρές ασθένειες όπως η ελονοσία, ο κίτρινος πυρετός, ο τύφος σώζοντας χιλιάδες ανθρώπινες ζωές. Μεγάλες επίσης ποσότητες παρασιτοκτόνων χρησιμοποιούνται για απολυμάνσεις, σε αστικές και βιομηχανικές εγκαταστάσεις και για τον έλεγχο της βλάστησης (σιδηροτροχιές, δρόμους).

**Φυτοπροστατευτικό** προϊόν ονομάζεται κάθε χημική ουσία (ή μίγμα ουσιών) που χρησιμοποιείται για την προστασία των καλλιεργούμενων φυτών με σκοπό τη βελτίωση της γεωργικής παραγωγής. Σε πάρα πολλές περιπτώσεις η απώλεια παραγωγής είναι μεγάλη αν δεν γίνει έγκαιρη καταπολέμηση των φυτοπαράσιτων. Παγκόσμια υπολογίζεται ότι τα παράσιτα καταστρέφουν το 35% της παραγωγής στον αγρό και 15% των αποθηκευμένων προϊόντων.

Τα περισσότερα όμως φυτοφάρμακα είναι ισχυρά δηλητήρια και περικλείουν κινδύνους για τον άνθρωπο, τους υπόλοιπους οργανισμούς και το περιβάλλον ειδικά όταν γίνεται κακή χρήση ή και κατάχρηση. Οι κίνδυνοι για τη υγεία του ανθρώπου και των ζώων έγκειται στην υψηλή τοξικότητα ορισμένων φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Οι κίνδυνοι μπορούν να προέλθουν είτε από απευθείας έκθεση (βιομηχανικοί εργάτες που παράγουν τα φυτοφάρμακα και χρήστες) είτε έμμεση έκθεση (καταναλωτές και άτομα παρόντα στους τόπους χρήσης). Οι χρόνιες επιπτώσεις της έκθεσης στα φυτοπροστατευτικά προϊόντα και οι οποίες είναι δυνατόν να θέσουν σε κίνδυνο την υγεία των εκτιθέμενων πληθυσμών είναι ιδίως αυτές που συνδέονται με τη βιοσυσσώρευση και την ανθεκτικότητα των ουσιών, με τις μη αναστρέψιμες επιδράσεις τους, όπως είναι η καρκινογένεση, η μεταλλαξιογένεση, η γονιδιοτοξικότητα ή οι αρνητικές επιδράσεις τους στο ανοσοποιητικό ή στο ενδοκρινικό σύστημα των θηλαστικών, ιχθύων ή πτηνών.

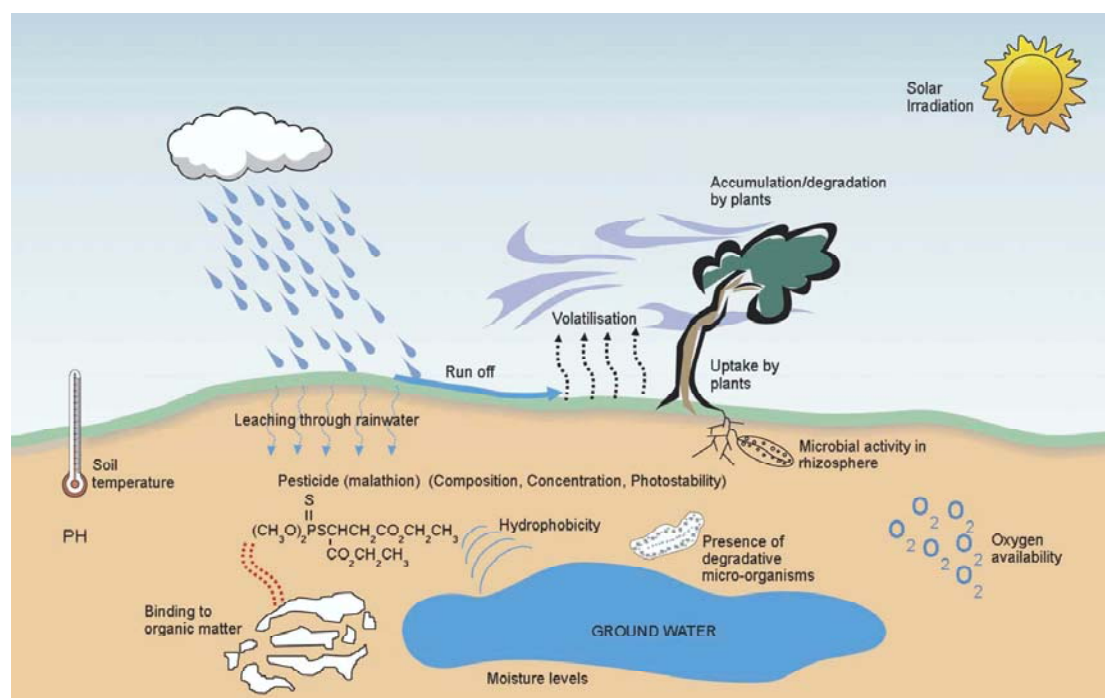
Σε ότι αφορά τους περιβαλλοντικούς κινδύνους, η έκπλυση και η επιφανειακή απορροή αποτελούν σημειακές πηγές ανεξέλεγκτης διασποράς φυτοπροστατευτικών προϊόντων στο περιβάλλον, που επιφέρουν ρύπανση του εδάφους και των υδάτων. Επίσης, η χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων μπορεί να έχει έμμεσες συμπληρωματικές επιπτώσεις στα οικοσυστήματα όπως, πχ περιορισμός της

βιοποικιλότητας. Στην πράξη, είναι εξαιρετικά δύσκολη η ποσοτικοποίηση των ανεπιθύμητων επιδράσεων της χρήσης φυτοφαρμάκων.

### Τύχη των φυτοπροστατευτικών μετά την εφαρμογή τους

Μετά την εφαρμογή ενός φυτοπροστατευτικού αυτό μπορεί να απορροφηθεί από τα φυτά, να εξατμιστεί, να δεσμευτεί στο έδαφος (στα κolloειδή της αργίλου ή στην οργανική ουσία) ή να περάσει στο υπέδαφος και στα υπόγεια νερά μέσω της έκπλυσης (αμμώδη εδάφη). Τέλος μπορεί να μετακινηθεί λόγω επιφανειακής απορροής σε λίμνες, ποτάμια και θάλασσα. Στο έδαφος μπορεί να υποστεί χημική ή μικροβιακή διάσπαση σε λιγότερο τοξικές ουσίες (μεταβολίτες).

Οι παραπάνω διεργασίες φαίνονται στο παρακάτω σχήμα



**Σχήμα 2 : Τύχη των φυτοπροστατευτικών στο περιβάλλον**

Οι παράγοντες που επιδρούν στα παραπάνω φαινόμενα εξαρτώνται τόσο από τις ιδιότητες του εδάφους όσο και από τα χαρακτηριστικά του φυτοφαρμάκου. Ειδικότερα η μηχανική σύσταση και το ποσοστό της οργανικής ουσίας είναι οι παράγοντες του εδάφους που επιδρούν περισσότερο. Όσον αφορά φυτοπροστατευτικά, η διαλυτότητά τους στο νερό, ανθεκτικότητά τους στη διάσπαση είναι οι ιδιότητες που δείχνουν το αν υπάρχει κίνδυνος ρύπανσης του εδάφους των υπόγειων νερών.

### Διαλυτότητα στο νερό (solubility)

Είναι ένα μέτρο που δείχνει την ευκολία διάλυσης ενός χημικού στο νερό και τυπικά εκφράζεται σαν η μέγιστη ποσότητα που μπορεί να διαλυθεί σε ένα λίτρο νερού (ppm ή ppb). Όσο μεγαλύτερη είναι η διαλυτότητα τόσο πιο εύκολα θα μεταφερθεί μακριά από το σημείο εφαρμογής, άρα και ο κίνδυνος ρύπανσης είναι μεγαλύτερος.

### Περίοδος ημιζωής (Half-life) DT<sub>50</sub>

Ορίζεται ως το χρονικό διάστημα (μέρες, εβδομάδες ή χρόνια) που απαιτείται, μετά την εφαρμογή, για να αποδομηθεί το 50% του φαρμάκου. Επειδή ο ρυθμός διάσπασης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, η περίοδος ημιζωής ορίζεται σαν εύρος (π.χ 1-3 μέρες, 2-4 χρόνια κ.λ.π.).

### **Πίνακας 2. Ταξινόμηση της βιοαποδόμησης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στο έδαφος**

DT <sub>50</sub> (ημέρες)	Ταξινόμηση
<20	Άμεσα αποδομήσημα
20-60	Αρκετά αποδομήσημα
60-180	Αργά αποδομήσημα
>180	Πολύ αργά αποδομήσημα

Επιμέρους δείκτες που αφορούν τη γρήγορη αποδόμηση ή όχι ενός φυτοφαρμάκου είναι οι παρακάτω :

- ❖ Soil half-life : Ορίζεται σαν το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την αποδόμηση του 50% του φαρμάκου στο έδαφος. Εξαρτάται από το pH, τη θερμοκρασία, τη μηχανική σύσταση του εδάφους και το είδος των μικροοργανισμών που υπάρχουν και που μπορούν να διασπάσουν το συγκεκριμένο φάρμακο.
- ❖ Photolysis half-life : Είναι το χρονικό διάστημα που απαιτείται για να αποδομηθεί το 50% του φαρμάκου από την έκθεση του στο φως. Όταν αυτό είναι μεγαλύτερο των 7 ημερών υπάρχει πιθανότητα ρύπανσης των υπόγειων νερών.
- ❖ Hydrolysis half-life : Είναι η χρονική περίοδος που διασπάται το φάρμακο όταν έρθει σε επαφή με το νερό. Η κρίσιμη τιμή ορίζεται στους 6 μήνες .
- ❖ Συντελεστής δέσμευσης του φαρμάκου στο έδαφος (K<sub>oc</sub>) : Είναι ένα μέτρο που δείχνει τη δυνατότητα του φαρμάκου να συγκρατηθεί να δεσμευτεί στο έδαφος.

Συγκεκριμένα είναι ο λόγος της μάζας του φαρμάκου που δεσμεύεται στο έδαφος ως προς τη μάζα του που παραμένει διαλυμένη στο εδαφικό νερό.

Είναι χαρακτηριστικό του φυτοφαρμάκου και είναι ανεξάρτητο από τον τύπο του εδάφους. Εξαρτάται από τη χημική σύσταση του φαρμάκου, τη διαλυτότητά του και το σημείο τήξης.

Για ένα δεδομένο έδαφος αν είναι γνωστό το ποσοστό οργανικής ουσίας που περιέχει μπορεί να υπολογιστεί ένας άλλος δείκτης  $K_p$  από τον τύπο :

$K_p = (K_{oc}) \times (\% \text{ Οργανική ουσία}) \times (0,0058)$  που δείχνει ακριβέστερα την πιθανότητα του συγκεκριμένου φαρμάκου στο συγκεκριμένο έδαφος να εκπλυθεί ή να απομακρυνθεί λόγω επιφανειακής απορροής.

Όταν το  $K_p$  ή το  $K_{oc}$  πλησιάζει το μηδέν το φάρμακο δεν μπορεί να δεσμευτεί στο έδαφος, έχει δηλαδή συμπεριφορά παρόμοια με εκείνη των νιτρικών ιόντων.

Ένα φυτοπροστατευτικό προϊόν μπορεί να φτάσει εύκολα στα υπόγεια νερά όταν:

Η διαλυτότητα του είναι μεγαλύτερη από  $30\text{mg l}^{-1}$

Ο συντελεστής δέσμευσης  $K_{oc}$  είναι  $< 300\text{-}500\text{ml g}^{-1}$

Περίοδος ημιζωής στο έδαφος  $> 2\text{-}3$  εβδομάδες

Περίοδος ημιζωής στο νερό  $> 6$  μήνες

Περίοδος ημιζωής στο φως  $> 3\text{-}7$  ημέρες

Στους παρακάτω πίνακες φαίνεται συνοπτικά ο κίνδυνος ή όχι ρύπανσης των υπόγειων νερών ανάλογα τον τύπο του εδάφους και του φυτοφαρμάκου.

**Πίνακας 3. Κίνδυνος μόλυνσης των υπόγειων νερών ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του εδάφους, του νερού και των φυτοφαρμάκων**

	<b>Κίνδυνός μόλυνσης υπόγειων νερών</b>	
	<b>Μικρός κίνδυνος</b>	<b>Μεγάλος κίνδυνος</b>
<b>Χαρακτηριστικά φυτοφαρμάκων</b>		
<b>Διαλυτότητα στο νερό</b>	μικρή	μεγάλη
<b>Απορρόφηση στο έδαφος</b>	υψηλή	χαμηλή
<b>Ανθεκτικότητα</b>	υψηλή	χαμηλή
<b>Χαρακτηριστικά του εδάφους</b>		
<b>Δομή</b>	Λεπτή άργιλος	Άμμος
<b>Οργανική ουσία</b>	Υψηλή περιεκτικότητα	Χαμηλή περιεκτικότητα
<b>Μακροπόροι</b>	Λίγοι, Μικροί	Πολλοί, Μεγάλοι
<b>Βάθος του υπόγειου νερού</b>	Βαθιά (40μέτρα ή και περισσότερο)	Ρηχά (8 μέτρα ή και λιγότερο)
<b>Ποσότητα νερού</b>		
<b>Βροχή/Άρδευση</b>	Μικρές ποσότητες σε μεγάλα χρονικά διαστήματα	Μεγάλες ποσότητες σε μικρά χρονικά διαστήματα

**Πίνακας 4. Συνδυασμός δέσμευσης στο έδαφος και DT<sub>50</sub> ενός φυτοφαρμάκου για τον προσδιορισμό της ρύπανσης που μπορεί να επιφέρει.**

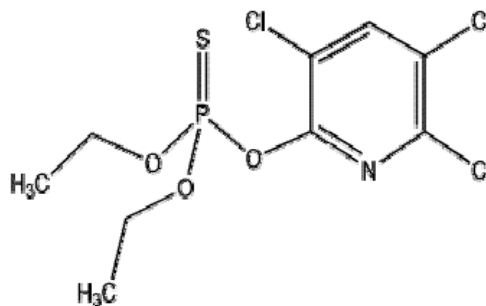
Συντελεστής Δέσμευσης (K <sub>oc</sub> )	DT <sub>50</sub>	Τρόπος απομάκρυνσης	Πιθανότητα ρύπανσης
Μικρός	Μακράς διάρκειας	Έκπλυση	Υπόγεια νερά
Μικρός	Σύντομης διάρκειας	Έκπλυση	Υπόγεια νερά
Μεγάλος	Μακράς διάρκειας	Επιφανειακή απορροή	Επιφανειακά νερά
Μεγάλος	Σύντομης διάρκειας	Επιφανειακή απορροή	Επιφανειακά νερά

## 1. Chlorpyrifos

Οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο εναντίον μυζητικών και μασητικών εντόμων.

### Τοξικότητα του φυτοφαρμάκου

Επικίνδυνο (Xn), εύφλεκτο, βλαβερό σε περίπτωση κατάποσης. Πολύ τοξικό για τις μέλισσες και για τα ψάρια.



### Φυσικά χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με την πιθανότητα ρύπανσης του νερού

Διαλυτότητα στο νερό (Avg, mg/L) : 1.39

Συντελεστής δέσμευσης (K<sub>oc</sub>) : 125.2

Περίοδος ημιζωής στο νερό (Avg, Days) : 58.1

Περίοδος ημιζωής (DT<sub>50</sub>) : 60-120 ημέρες

Με βάση τις παραπάνω ιδιότητες το φυτοπροστατευτικό χαρακτηρίζεται ως μέτριας ανθεκτικότητας.

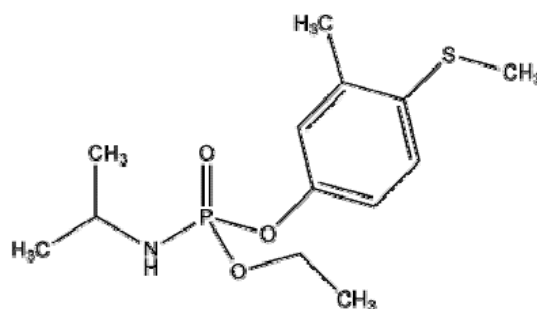


## 2. Fenamiphos

Διασυστηματικό οργανοφωσφορικό νηματοδοκτόνο που έχει και δράση επαφής.

Εφαρμόζεται μόνο στο έδαφος, είτε με ψεκασμό και ενσωμάτωση πριν τη σπορά ή φύτευση, είτε με το νερό της μεταφύτευσης ή της στάγδην άρδευσης.

Εφαρμόζεται σε καλλιέργειες όπως βαμβάκι και εσπεριδοειδή, ζαχαρότευτλα, καλλωπιστικά, καπνός, λαχανικά, μπανάνα και πατάτα για την καταπολέμηση νηματωδών.



### Τοξικότητα του φυτοφαρμάκου

Είναι δηλητήριο ( $T^+$ ). Βλαβερό σε επαφή με το δέρμα, πολύ τοξικό όταν εισπνέεται, πολύ τοξικό σε περίπτωση κατάποσης, ερεθίζει τα μάτια. Είναι πολύ τοξικό για τις μέλισσες, πολύ τοξικό για τα ψάρια, βλαβερό για τα παραγωγικά ζώα, επικίνδυνο για τα άγρια ζώα και πουλιά.

### Φυσικά χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με την πιθανότητα ρύπανσης του νερού

Διαλυτότητα στο νερό (Avg, mg/L) : 482.0

Συντελεστής δέσμευσης ( $K_{oc}$ ) : 341.0

Περίοδος ημιζωής στο νερό (Avg, Days) : 300,0

Περίοδος ημιζωής ( $DT_{50}$ ) : 50 ημέρες

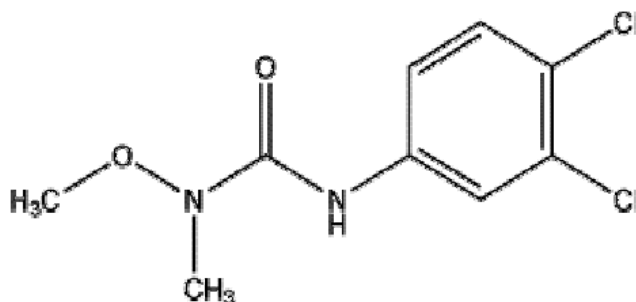
Με βάση τις παραπάνω ιδιότητες το φυτοπροστατευτικό χαρακτηρίζεται ως μέτριας ανθεκτικότητας.

## 3. Linuron

Είναι παράγωγο της φαινιουρίας και έχει δομή παρόμοια με τις τριαζίνες. Είναι εκλεκτικό, προφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο εναντίον ετήσιων πλατύφυλλων και αγρωστωδών ζιζανίων. Έχει και μεταφυτρωτική δράση σε νεαρά ζιζάνια.

Εφαρμόζεται σε καλλιέργειες αραβόσιτου, ηλίανθου, γλαδίου, κρεμμυδιού, σκόρδου, πατάτας και

πράσου για την καταπολέμηση ετήσιων πλατύφυλλων και αγρωστωδών ζιζανίων.



#### **Τοξικότητα του φυτοφαρμάκου**

Επικίνδυνο (Xn), Ερεθιστικό (Xi), βλαβερό σε περίπτωση κατάποσης, ερεθίζει τα μάτια, κίνδυνος σοβαρής βλάβης της υγείας κατόπιν παρατεταμένης έκθεσης. Σχετικά μη τοξικό για τις μέλισσες.

#### **Φυσικά χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με την πιθανότητα ρύπανσης του νερού**

Διαλυτότητα στο νερό (Avg, mg/L) : 77.0

Συντελεστής δέσμευσης ( $K_{oc}$ ) : 341.0

Περίοδος ημιζωής στο νερό (Avg, Days) : 262,0

Περίοδος ημιζωής ( $DT_{50}$ ) : 30-150 ημέρες

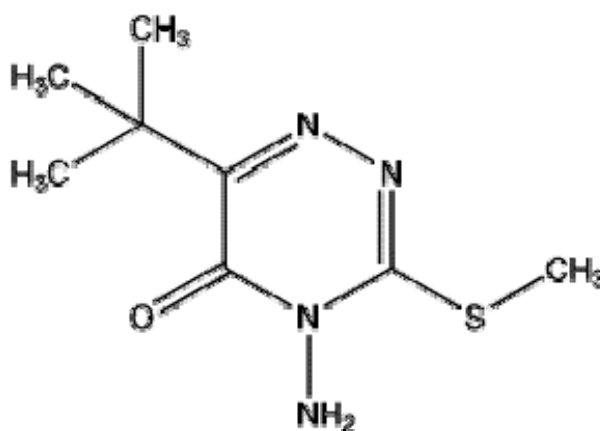
Με βάση τις παραπάνω ιδιότητες το φυτοπροστατευτικό χαρακτηρίζεται ως μέτριας ανθεκτικότητας.

#### **4. Metribuzin**

Είναι εκλεκτικό ζιζανιοκτόνο της ομάδας των τριαζινονών (ασύμμετρες τριαζίνες) με προφυτρωτική και μεταφυτρωτική δράση σε ετήσια, αγρωστώδη και πλατύφυλλα ζιζάνια.

Εφαρμόζεται με ομοιόμορφο ψεκασμό του εδάφους. Δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε αμμώδη εδάφη ούτε σε εδάφη που περιέχουν πάνω από 6% οργανική ουσία.

Εφαρμόζεται σε καλλιέργειες καρότου, μηδικής, πατάτας, σπαραγγιού και τομάτας για την καταπολέμηση ετήσιων πλατύφυλλων και αγρωστωδών ζιζανίων.



#### **Τοξικότητα του φυτοφαρμάκου**

Σχετικά μη τοξικό για τις μέλισσες.

#### **Φυσικά χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με την πιθανότητα ρύπανσης του νερού**

Διαλυτότητα στο νερό (Avg, mg/L) : 1.032

Συντελεστής δέσμευσης ( $K_{oc}$ ) : 106.0

Περίοδος ημιζωής στο νερό (Avg, Days) : 4,7

Περίοδος ημιζωής ( $DT_{50}$ ) : 14-60 ημέρες ,σε εδάφη όμως που η περιεκτικότητά τους σε οργανική ουσία είναι υψηλή, η περίοδος ημιζωής μπορεί να διαρκέσει αρκετούς μήνες.

## ΠΡΩΤΗ ΒΙΟΔΟΚΙΜΗ

### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Χρησιμοποιήθηκαν οι μύκητες :

- 1) *Trametes versicolor*
- 2) *Phanerochaete chrysosporium*
- 3) *Pleurotus ostreatus* (R14)
- 4) *Phlebiopsis gigantea*
- 5) *Pycnoporus coccineus*

Οι μύκητες διατηρούνται σε τρυβλία Petri και σε υπόστρωμα malt extract agar και ανανεώνονται κάθε μήνα . Προέρχονται από συλλογή που υπάρχει στο Πανεπιστήμιο Cranfield της Αγγλίας.

Για τη βιοδοκιμή χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Sencor .

❖ **Sencor (δραστική ουσία Metribuzin 70% w/w) :** Με τη διάλυση 7gr φαρμάκου σε 1 l απεσταγμένου νερού πετυχαίνεται πυκνό διάλυμα 7000ppm Sencor ή 4900ppm Metribuzin. Από το πυκνό αυτό διάλυμα και με την κατάλληλη αραίωση επιτυγχάνονται συγκεντρώσεις 7, 17.5, 35 και 52.5ppm δραστικής ουσίας και αυτές ήταν και οι τελικές συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν.

Χρησιμοποιήθηκαν αποστειρωμένα τρυβλία διαμέτρου 9cm και ως θρεπτικό υπόστρωμα malt extract agar το οποίο αποστειρώθηκε σε κλίβανο στους 121° C για 15 min. Στη συνέχεια προστέθηκε κατάλληλη ποσότητα από το πυκνό διάλυμα Metribuzin ούτως ώστε να επιτευχθούν οι παραπάνω συγκεντρώσεις. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία με malt extract agar χωρίς Metribuzin.

Η δοκιμή έγινε σε 3 επαναλήψεις. Στις 12/7/2005 τα τρυβλία εμβολιάστηκαν με τους αντιστοίχους μύκητες και επώαστηκαν στους 26<sup>0</sup>C για 7 ημέρες. Η ανάπτυξη του μυκηλίου μετρίοταν καθημερινά στους μύκητες *Trametes versicolor* και *Phanerochaete chrysosporium* ενώ στους υπόλοιπους ανά δύο ημέρες (μέτρηση οριζόντιας και κατακόρυφης διαμέτρου της καλλιέργειας).



Εικόνα 1. Ανάπτυξη του μύκητα *Pycnoporus coccineus* σε υπόστρωμα malt extract agar με διαφορετικές συγκεντρώσεις Metribuzin.

Τα αποτελέσματα δίδονται στον Πίνακα 5, ενώ ενδεικτικά στο διάγραμμα 1 παρουσιάζεται η ανάπτυξη του μύκητα *Pleurotus ostreatus* στις διαφορετικές συγκεντρώσεις του Metribuzin.

**Πίνακας 5. Επίδραση του Metribuzin στην ανάπτυξη του μυκηλίου διαφόρων μυκήτων**

Ανάπτυξη του μύκητα <i>Trametes versicolor</i> (cm)							
	23/07/'05	24/07/'05	25/07/'05	26/07/'05	27/07/'05	28/07/'05	29/07/'05
metribuzin							
CTL, 0ppm	2,52	5,55	8,6				
7ppm	2,16	5,55	8,6				
17,5ppm	2,61	5,42	8,6				
35ppm	3,16	5,87	8,6				
52,5ppm	2,76	5,57	8,6				
Ανάπτυξη του μύκητα <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (cm)							
CTL, 0ppm	1,8	2,74	4,05	5,63	6,82	8,6	
7ppm	1,78	2,73	4,05	5,83	7,2	8,6	
17,5ppm	1,66	2,58	4,09	5,7	7,07	8,6	
35ppm	1,92	2,85	4,37	6,06	7,64	8,6	
52,5ppm	1,5	2,63	4,16	5,83	7,42	8,6	
Ανάπτυξη του μύκητα <i>Pleurotus ostreatus</i> (R14) (cm)							
CTL, 0ppm	1	1,9	3,15	4,72	6,7	8,17	8,6
7ppm	1,11	2,18	3,43	4,85	6,8	7,81	8,6
17,5ppm	0,68	1,61	2,4	3,55	5,38	6,7	7,61
35ppm	0,62	1,27	1,65	2,47	3,97	4,57	5,45
52,5ppm	0,63	1,28	1,93	2,55	3,65	4,18	4,73
Ανάπτυξη του μύκητα <i>Phlebiopsis gigantea</i> (cm)							
CTL, 0ppm	2,36	6,56	8,6				
7ppm	2,45	6,7	8,6				
17,5ppm	2,51	6,61	8,6				
35ppm	2,71	7,06	8,6				
52,5ppm	2,61	6,92	8,6				
Ανάπτυξη του μύκητα <i>Rychnopus coccineus</i> (cm)							
CTL, 0ppm	1,46	3,46	5,66	7,43	8,6		
7ppm	1,3	3,43	5,41	7,18	8,6		
17,5ppm	1,43	3,66	5,76	7,6	8,6		
35ppm	1,57	3,83	5,05	6,96	8,6		
52,5ppm	1,55	2,01	4,08	6,08	8,6		

## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

Από τα αποτελέσματα της πρώτης βιοδοκιμής εξάγονται τα παρακάτω συμπεράσματα :

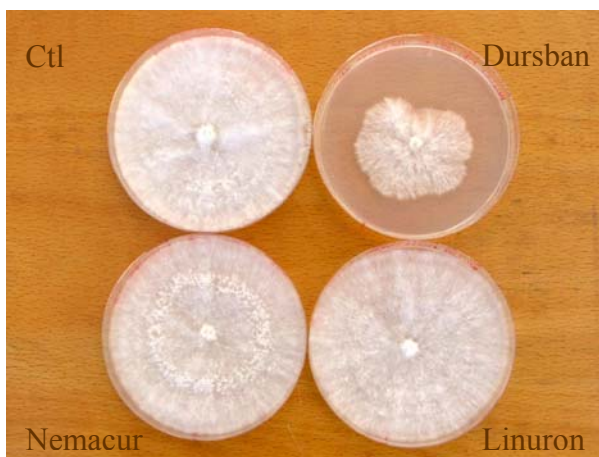
Και οι πέντε μύκητες αναπτύχθηκαν εξ ίσου καλά με το μάρτυρα σε όλες τις συγκεντρώσεις φυτοφαρμάκου Metribuzin. Εξάιρεση αποτέλεσε ο μύκητας *Pleurotus ostreatus* του οποίου η ανάπτυξη καθυστέρησε στις συγκεντρώσεις 35 και 52,5 ppm σε σχέση με το μάρτυρα τελικά όμως αυτή ολοκληρώθηκε (διάμετρος μυκηλίου 5,45cm και 4,73cm αντίστοιχα σε σχέση με τα 8,6 cm του μάρτυρα).

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ**

Συγκεντρώσεις (7-52,5 ppm) Metribuzin δεν επηρεάζουν την ανάπτυξη των μυκήτων *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phlebiopsis gigantea* και *Rychnoporus coccineus*. Η ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Pleurotus ostreatus* επιβραδύνεται σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 17,5 ppm.

## ΔΕΥΤΕΡΗ ΒΙΟΔΟΚΙΜΗ

Σκοπός της βιοδοκιμής αυτής ήταν να εξεταστεί η ανάπτυξη των μυκήτων σε τρία διαφορετικά υποστρώματα που περιείχαν συγκέντρωση 10ppm των φυτοφαρμάκων Fenamiphos, Linuron και Chlorpyrifos από τα εμπορικά τους σκευάσματα Nemacur, Linuron και Dursban αντίστοιχα.



Εικόνα 2. Ανάπτυξη του μύκητα *Pleurotus ostreatus* σε υπόστρωμα NDY+γλυκόζη σε συγκέντρωση 10ppm των φυτοφαρμάκων.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ

#### 1) Malt Extract Agar

Παρασκευάστηκε με την διάλυση 20g Malt Extract (LaB) (Malt extract 17g/l, Mycological peptone 3g/l) και την προσθήκη 15g Agar σε 1l απεσταγμένο νερό.

#### 2) NDY (minimal medium)

Θρεπτικά στοιχεία	Ποσότητα (g)
MgSO <sub>4</sub>	0.5
NaNO <sub>3</sub>	2.0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.14
KCl	0.5
FeSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0.01
Yeast	0.5
Agar	20
Απεσταγμένο νερό	1l

3) NDY+ γλυκόζη : Το υπόστρωμα αυτό περιείχε όλα τα παραπάνω θρεπτικά στοιχεία του NDY και επιπλέον 20g γλυκόζη.

## ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

### ❖ **Nemacur (δραστική ουσία Fenamiphos 40% v/v )**

Παρασκευάστηκε καταρχήν πυκνό διάλυμα 4000ppm Fenamiphos (διάλυση 1ml Nemacur σε 100ml νερού). Στη συνέχεια με την κατάλληλη αραίωση επιτεύχθηκε η τελική συγκέντρωση 10ppm Fenamiphos στα υποστρώματα.

### ❖ **Linuron (δραστική ουσία Linuron 50%w/w )**

Παρασκευάστηκε καταρχήν πυκνό διάλυμα 500ppm δραστικής ουσίας Linuron (διάλυση 1gr εμπορικού σκευάσματος Linuron σε 1000ml νερό) και με την κατάλληλη αραίωση επιτεύχθηκε η τελική συγκέντρωση 10ppm Linuron στα υποστρώματα.

### ❖ **Dursban (δραστική ουσία Chlorpyrifos 5% w/w).**

Παρασκευάστηκε καταρχήν πυκνό διάλυμα 50ppm Chlorpyrifos και στη συνέχεια τελική συγκέντρωση 10ppm στα υποστρώματα.

## ΜΥΚΗΤΕΣ

Χρησιμοποιήθηκαν οι μύκητες :

- 1) *Trametes versicolor*
- 2) *Phanerochaete chrysosporium*
- 3) *Pleurotus ostreatus*
- 4) *Phlebiopsis gigantea*
- 5) *Pycnoporus coccineus*

Τα υποστρώματα αποστειρώθηκαν σε κλίβανο στους 121<sup>0</sup>C για 15 min .

Χρησιμοποιήθηκαν αποστειρωμένα τρυβλία διαμέτρου 9cm τα οποία εμβολιάστηκαν στις 11/10/05 με τους αντίστοιχους μύκητες κάτω από ασηπτικές συνθήκες και επώαστηκαν στους 26<sup>0</sup>C για 10 ημέρες. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία με τα αντίστοιχα υποστρώματα χωρίς τα φυτοφάρμακα όπως επίσης και malt extract agar + ακετόνη επειδή αυτή χρησιμοποιήθηκε για τη διάλυση του Dursban. Η ανάπτυξη του μυκηλίου μετριόταν καθημερινά με μέτρηση της οριζόντιας και της κατακόρυφης διαμέτρου της καλλιέργειας. Τα αποτελέσματα της επίδρασης του θρεπτικού υποστρώματος σε συνδυασμό με τα χρησιμοποιούμενα φυτοφάρμακα παρουσιάζονται στους Πίνακες 6 έως 10.



Στις 17/10 πραγματοποιήθηκε νέα βιοδοκιμή προκειμένου να εξεταστεί η συμπεριφορά των μυκήτων στο υπόστρωμα NDY (minimal medium) που περιείχε μεγαλύτερη συγκέντρωση φυτοφαρμάκων (30ppm). Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν μίγματα των τριών φαρμάκων σε τελικές συγκεντρώσεις 15 και 30ppm που σχηματίστηκαν με προσθήκη συγκεντρώσεων 5 και 10 ppm κάθε φαρμάκου αντίστοιχα στο θρεπτικό υπόστρωμα. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία με θρεπτικό υπόστρωμα NDY. Τα αποτελέσματα δίδονται στους Πίνακες 11 έως 14.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 10PPM

#### *Trametes versicolor*

Ο μύκητας στο μάρτυρα αναπτύχθηκε πολύ καλά και στα τρία υποστρώματα ενώ η ακετόνη που χρησιμοποιήθηκε για τη διάλυση του Chlorpyrifos δεν φαίνεται να επηρεάζει την ανάπτυξη του.

❖ **Fenamiphos** : Στη συγκέντρωση των 10ppm Fenamiphos στα υποστρώματα Malt extract και NDY + γλυκόζη η ανάπτυξη του ήταν επίσης πολύ καλή (διάμετρος μυκηλίου 8,6cm και 8,5cm αντίστοιχα) ενώ στο NDY ελαφρά χαμηλότερη (7,5cm διάμετρος μυκηλίου) (Πίνακας 6). Σε όλες τις περιπτώσεις η διάμετρος αποικίας στο μάρτυρα, ήταν 8,6cm).

❖ **Chlorpyrifos** : Η ανάπτυξη του μύκητα στα 10ppm του φαρμάκου και στο υπόστρωμα malt extract ήταν αρκετά καλή (8cm διάμετρος μυκηλίου σε σχέση με τα 8,6cm στον μάρτυρα). Όμως στα υποστρώματα NDY και NDY + γλυκόζη η διάμετρος της καλλιέργειας μετρήθηκε 6,1cm και 5,8cm αντίστοιχα, όταν στον μάρτυρα ήταν 8,6cm.

❖ **Linuron** : Η ανάπτυξη του μύκητα (διάμετρος μυκηλίου) στα υποστρώματα malt extract, NDY και NDY + γλυκόζη ήταν 7,5cm, 8cm και 8,6cm αντίστοιχα. Φαίνεται ότι ο μύκητας αναπτύσσεται πολύ καλά και στα τρία υποστρώματα στη συγκέντρωση των 10ppm Linuron.

#### *Phanerochaete chrysosporium*

Η ανάπτυξη του μύκητα στο μάρτυρα ήταν πολύ γρήγορη αφού σε διάστημα 3-4 ημερών καλύφθηκε πλήρως η επιφάνεια των τρυβλίων (8,6cm).

❖ **Fenamiphos** : Η ανάπτυξη του μύκητα δεν επηρεάστηκε καθόλου στη συγκέντρωση των 10ppm στα υποστρώματα malt extract και NDY + γλυκόζη (8,6cm) ενώ ήταν αλαφρά χαμηλότερη στο υπόστρωμα NDY (8cm).

❖ **Chlorpyrifos** : Στη συγκέντρωση 10ppm Chlorpyrifos η ανάπτυξη της καλλιέργειας ήταν μικρότερη και στα τρία υποστρώματα malt extract, NDY, NDY + γλυκόζη σε σχέση με το μάρτυρα (7,2cm, 5,7cm και 7,5cm αντίστοιχα)

❖ **Linuron** : Η ανάπτυξη του μύκητα στο υπόστρωμα NDY + γλυκόζη και 10ppm του Linuron ήταν παρόμοια με του μάρτυρα (8,6cm). Στα δύο όμως άλλα

υποστρώματα malt extract και NDY ήταν σαφώς μικρότερη (6,5cm και 6,2cm διάμετρος μυκηλίου) (πίνακας 7).

### ***Pleurotus ostreatus (R14)***

Από τα αποτελέσματα (Πίνακες 6-10 ) προκύπτει ότι η ακετόνη που χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης του Chlorpyrifos δεν επηρέασε την ανάπτυξη των μυκήτων που χρησιμοποιηθήκαν εκτός από τον μύκητα *Pleurotus ostreatus* ή ανάπτυξη του οποίου μετρήθηκε 6,2cm σε σχέση με εκείνη του μάρτυρα ( χωρίς ακετόνη) που ήταν 8,6cm. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 8.

❖ **Fenamiphos** : Στους συνδυασμούς υποστρωμάτων malt extract , NDY + γλυκόζη και 10ppm Fenamiphos η ανάπτυξη του μύκητα ήταν παρόμοια με εκείνη του μάρτυρα ( 8,5cm και 8,6cm αντίστοιχα) ενώ στο θρεπτικό υπόστρωμα NDY μετρήθηκε 7,4cm.

❖ **Chlorpyrifos** : Στη συγκέντρωση 10ppm φυτοφαρμάκου και στα τρία υποστρώματα ο μύκητας παρουσίασε αρκετά μικρότερη ανάπτυξη σε σχέση με το μάρτυρα. Έτσι , ή διάμετρος του μυκηλίου ήταν 6,7cm, 6,7cm και 4,6cm στα υποστρώματα malt extract, NDY και NDY + γλυκόζη αντίστοιχα.

❖ **Linuron** : Ο μύκητας είχε σχεδόν τη μισή ανάπτυξη στα υποστρώματα malt extract (4,3cm) και στο NDY 6,7cm ενώ στο NDY + γλυκόζη η ανάπτυξη ήταν παρόμοια με εκείνη του μάρτυρα (8,6cm).

Στην περίπτωση αυτή φαίνεται ότι το Linuron παρεμποδίζει την ανάπτυξη του μύκητα όταν ενσωματώνεται στα θρεπτικά υποστρώματα.

### ***Phlebiopsis gigantea***

Ο μύκητας αναπτύχθηκε πολύ καλά στο μάρτυρα σε όλα τα υποστρώματα (πίνακας 9).

❖ **Chlorpyrifos** : Στα υποστρώματα malt extract και NDY + γλυκόζη η ανάπτυξη του μύκητα ήταν ελαφρά μικρότερη του μάρτυρα (7,6cm και 7,2cm διάμετρος μυκηλίου) ενώ στο υπόστρωμα NDY ήταν παρόμοια του μάρτυρα (8,6cm).

❖ **Fenamiphos** : Η συγκέντρωση 10ppm του Fenamiphos δεν επηρέασε καθόλου την ανάπτυξη του μύκητα και στα τρία υποστρώματα.

❖ **Linuron** : Η ανάπτυξη του μύκητα παρεμποδίστηκε από τα 10ppm Linuron στα υποστρώματα Malt extract και NDY (5,8cm και 6,7cm διάμετρος μυκηλίου αντίστοιχα).

### ***Pycnoporus coccineus***

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 10.

- ❖ **Fenamiphos** : Το Fenamiphos στα 10ppm δεν επηρέασε την ανάπτυξη του μύκητα σε κανένα από τα τρία υποστρώματα.
- ❖ **Chlorpyrifos** : Η ανάπτυξη του μύκητα φαίνεται να επηρεάζεται λιγότερο στο υπόστρωμα malt extract (7,3cm διάμετρος μυκηλίου) σε σχέση με την ανάπτυξη στα υποστρώματα NDY και NDY + γλυκόζη (5,2cm και 6cm διάμετρος μυκηλίου).
- ❖ **Linuron** : Σε όλα τα υποστρώματα ή ανάπτυξη του μύκητα δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τη συγκέντρωση των 10ppm.

### **ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 30PPM**

Στον συγκεντρωτικό Πίνακα 13 φαίνεται η ανάπτυξη των μυκήτων στο θρεπτικό υπόστρωμα NDY (minimal medium) κατά την τελευταία μέτρηση που συμπίπτει με την ολοκλήρωση της ανάπτυξης του μύκητα στα τρυβλία του μάρτυρα (8,6cm). Αναλυτικά η ανάπτυξη των μυκήτων παρουσιάζεται στον Πίνακα 12.

#### ***Trametes versicolor***

Η ανάπτυξη του μύκητα στα 30ppm των φυτοφαρμάκων υπολείπονται κατά το ήμισυ σε σχέση με εκείνη του μάρτυρα

#### ***Phanerochaete chrysosporium***

Η ανάπτυξη του μύκητα στη συγκέντρωση 30ppm ήταν πολύ περιορισμένη (0,80-1,10cm διάμετρος αποικίας) και στα τρία φυτοφάρμακα

#### ***Pleurotus ostreatus***

Η ανάπτυξη του μύκητα στο θρεπτικό υπόστρωμα NDY στη συγκέντρωση 30ppm Chlorpyrifos και Fenamiphos ήταν αρκετά καλή (6cm και 5,55cm διάμετρος μυκηλίου αντίστοιχα) ενώ στο Linuron υστέρησε σημαντικά (2,70cm).

#### ***Phlebiopsis gigantea***

Ο μύκητας στο υπόστρωμα NDY, παρουσία 30ppm Fenamiphos αναπτύχθηκε παρόμοια με το μάρτυρα ενώ στα 30ppm Chlorpyrifos και 30ppm Fenamiphos ήταν 6,8cm και 7,00cm αντίστοιχα

#### ***Pycnoporus coccineus***

Η ανάπτυξη του μύκητα στο θρεπτικό υπόστρωμα NDY παρουσία 30ppm Linuron ήταν παρόμοια του μάρτυρα ενώ στα 30ppm Fenamiphos μικρότερη (6,15cm

διάμετρος μυκηλίου) και στα 30ppm Chlorpyrifos πολύ μικρότερη (4,6cm) σε σχέση με τα 8,6cm του μάρτυρα.

## **ΜΙΓΜΑΤΑ**

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 12 ενώ στον πίνακα 14 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα της ανάπτυξης όλων των μυκήτων σε θρεπτικό υπόστρωμα NDY στο οποίο ενσωματώθηκαν μίγματα των τριών φαρμάκων, με συγκέντρωση 5 ή 10ppm για κάθε ένα, έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 15 ή 30ppm αντίστοιχα.

### ***Trametes versicolor***

Η ανάπτυξη του μύκητα υστέρησε αρκετά σε σχέση με το μάρτυρα τόσο στα 15ppm όσο και στα 30ppm μίγματος των Chlorpyrifos, Fenamiphos, Linuron (διάμετρος μυκηλίου 4,67cm και 4,95cm αντίστοιχα).

### ***Phanerochaete chrysosporium***

Η ανάπτυξη του μύκητα ήταν σχεδόν μηδενική στα 30ppm του μίγματος των φαρμάκων (1,25cm και 0,60cm αντίστοιχα).

### ***Pleurotus ostreatus***

Στη συγκέντρωση 15ppm του μίγματος των φαρμάκων Chlorpyrifos, Fenamiphos και Linuron η διάμετρος του μυκηλίου του μύκητα ήταν 5,7cm ενώ στα 30ppm σαφώς μικρότερη 2,7cm.

### ***Phlebiopsis gigantea***

Τόσο στα 15ppm μίγματος Chlorpyrifos, Fenamiphos και Linuron όσο και στα 30ppm του μίγματος η ανάπτυξη του μυκηλίου ήταν αρκετά καλή ( 7,25cm και 5,8cm αντίστοιχα).

### ***Pycnoporus coccineus***

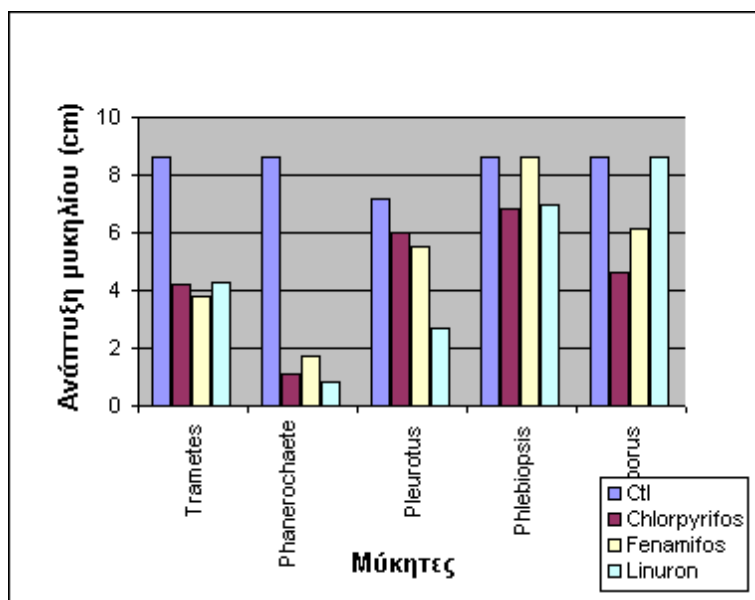
Ο μύκητας αναπτύχθηκε πολύ καλά στη συγκέντρωση 15ppm του μίγματος Fenamiphos, Chlorpyrifos και Linuron (διάμετρος μυκηλίου 7,85cm) όπως επίσης και στα 30ppm μίγματος φαρμάκων (6,8cm).

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ**

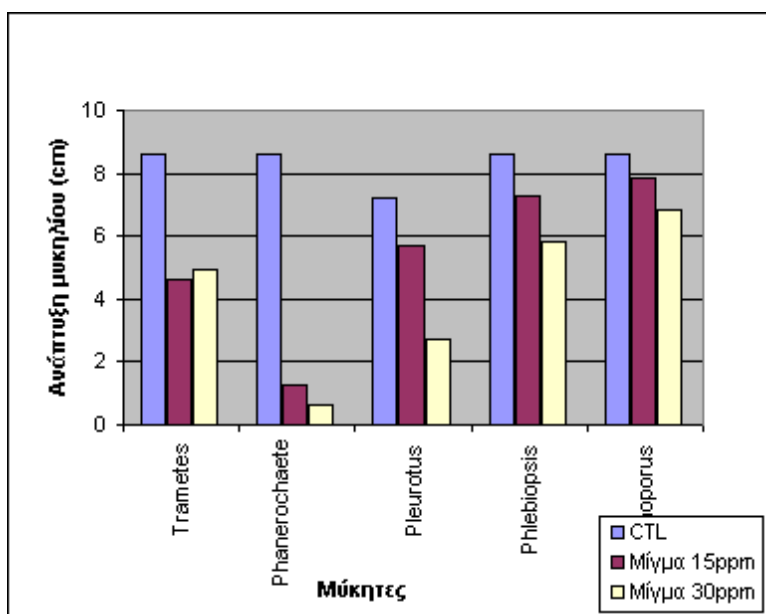
Από τις δοκιμές προκύπτει ότι ανάπτυξη του μυκηλίου όλων των μυκήτων επηρεάστηκε δραστικά στις περισσότερες των περιπτώσεων αφού υπολείπεται σημαντικά σε σχέση με εκείνη του μάρτυρα NDY χωρίς φάρμακο.

Ο μύκητας *Phlebiopsis gigantea* φαίνεται να μην επηρεάζεται σημαντικά από την παρουσία οποιουδήποτε εκ των τριών φαρμάκων. Επίσης η ανάπτυξη του *Rychnorogus coccineus* δεν επηρεάζεται από το Linuron ενώ το Chlorpyrifos φαίνεται να επηρεάζει ελάχιστα την ανάπτυξη του *Pleurotus ostreatus*.

Με βάση τα αποτελέσματα από τα φυτοφάρμακα αλλά και από τα μίγματα τους ο μύκητας *Phanerochaete chrysosporium* δεν επιλέχθηκε για τη συνέχεια των πειραμάτων επειδή η ανάπτυξή του παρεμποδίζεται.



Διάγραμμα 5. Ανάπτυξη του μυκηλίου σε συγκεντρώσεις φυτοφαρμάκων 30ppm.



Διάγραμμα 6. Ανάπτυξη του μυκηλίου σε μίγματα φυτοφαρμάκων 15ppm και 30ppm αντίστοιχα.

## **ΤΡΙΤΗ ΒΙΟΔΟΚΙΜΗ**

Σκοπός της βιοδοκιμής αυτής ήταν να εξεταστεί η ανάπτυξη των μυκήτων στο θρεπτικό υπόστρωμα NDY (minimal medium) παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων των φυτοφαρμάκων Chlorpyrifos, Linuron και Metribuzin, σε αναλυτική μορφή (analytical grade) καθώς και σε μίγματα αυτών και να αξιολογηθεί η δυνατότητα χρησιμοποίησής τους για τη βιοαποδόμηση των παραπάνω φυτοφαρμάκων σε επόμενες βιοδοκιμές.

## **ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ**

Χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υπόστρωμα NDY με την σύνθεση που φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

<b>Θρεπτικά στοιχεία</b>	<b>Ποσότητα (g)</b>
MgSO <sub>4</sub>	0.5
NaNO <sub>3</sub>	2.0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.14
KCl	0.5
FeSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	0.01
Yeast	0.5
Agar	20
Απεσταγμένο νερό	1l

### **ΜΥΚΗΤΕΣ**

Χρησιμοποιήθηκαν οι μύκητες

1. *Trametes versicolor*
2. *Pleurotus ostreatus*
3. *Phlebiopsis gigantea*



## ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

Χρησιμοποιήθηκαν τα φυτοφάρμακα (analytical standards)

1. Chlorpyrifos : 99,2% (καθαρότητα) .
2. Linuron : 99,7% (καθαρότητα) .
3. Metribuzin : 99,3% (καθαρότητα) .

Όλα τα αντιδραστήρια προέρχονται από την εταιρεία Sigma-Aldrich.

<b>Συγκεντρώσεις φαρμάκων</b>		
<b>5ppm</b>	0.375ml/150ml NDY	Από το πυκνό διάλυμα 2000ppm κάθε φαρμάκου
<b>25ppm</b>	1.875ml/150ml NDY	
<b>125ppm</b>	9.375ml/150ml NDY	
<b>Συγκεντρώσεις μιγμάτων</b>		
<b>10ppm</b>	0.25ml/150ml NDY	Από το πυκνό διάλυμα του 2000ppm κάθε φαρμάκου
<b>20ppm</b>	0.50ml/150ml NDY	
<b>30ppm</b>	0,75ml/150ml NDY	
<b>40ppm</b>	1,0ml/150ml NDY	

Καταρχήν παρασκευάστηκαν πυκνά διαλύματα 2000 ppm των φυτοφαρμάκων, χρησιμοποιώντας για τη διάλυσή τους μεθανόλη σε αναλογία 1:2 με νερό. Με την κατάλληλη αραιώση επιτεύχθηκαν τελικές συγκεντρώσεις 5ppm, 25ppm και 125ppm.

Επίσης χρησιμοποιήθηκαν μίγματα των φυτοφαρμάκων με τελικές συγκεντρώσεις 10ppm, 20ppm, 30ppm και 40ppm που προέκυψαν με προσθήκη ίσων ποσοτήτων φυτοφαρμάκων στο θρεπτικό υπόστρωμα NDY. Οι συγκεντρώσεις των φαρμάκων που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Το υπόστρωμα αποστειρώθηκε σε κλίβανο στους 121<sup>0</sup>C για 15 min. Χρησιμοποιήθηκαν αποστειρωμένα τρυβλία 9cm τα οποία εμβολιάστηκαν με τους μύκητες κάτω από ασηπτικές συνθήκες και επωάστηκαν στους 26<sup>0</sup>C για 13 ημέρες. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία με NDY χωρίς φυτοφάρμακα καθώς και NDY+5ml methanole επειδή αυτή χρησιμοποιήθηκε για τη διάλυση των φαρμάκων. Η δοκιμή έγινε σε τρεις επαναλήψεις. Η ανάπτυξη του μυκηλίου μετριόταν καθημερινά με μέτρηση της οριζόντιας και κατακόρυφης διαμέτρου της καλλιέργειας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους πίνακες 11-14.

## **ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Η στατιστική ανάλυση έγινε με ανάλυση διασποράς και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε έλεγχος με τη μέθοδο Tukey. Οι πίνακες της στατιστικής ανάλυσης παρουσιάζονται στους πίνακες 19-21.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τους πίνακες, τα διαγράμματα αλλά και τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα.

Η παρουσία της μεθανόλης δεν επηρέασε την ανάπτυξη των μυκήτων αφού δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους μάρτυρες NDY και NDY+5ml μεθανόλης.

### *Trametes versicolor*

❖ **Chlorpyrifos** : Οι επεμβάσεις 0, 5, 25 και 125ppm Chlorpyrifos διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Η ανάπτυξη των μυκήτων ήταν αρκετά καλή στα 25ppm (6,2cm διάμετρος μυκηλίου σε σχέση με τα 8,6cm του μάρτυρα).

Στην συγκέντρωση 125ppm μειώθηκε σημαντικά (3,8cm διάμετρος μυκηλίου).

Σημειώνεται ότι η συγκέντρωση αυτή (125ppm ) είναι περίπου 50 φορές μεγαλύτερη από την συνήθως χρησιμοποιούμενη στο έδαφος.

❖ **Linuron** : Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης των 5 ppm.

Η ανάπτυξη του μυκηλίου στην επέμβαση 25ppm Linuron ήταν αρκετά καλή (6,03cm διάμετρος μυκηλίου σε σχέση με τα 8,6cm του μάρτυρα) ενώ ήταν μηδενική στη επέμβαση 125 ppm Linuron.

❖ **Metribuzin** : Οι επεμβάσεις 0 ppm και 25 ppm Metribuzin δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά.

Ο μύκητας είχε πολύ καλή ανάπτυξη και στα 125 ppm (6,7cm διάμετρος μυκηλίου σε σχέση με τα 8,6cm του μάρτυρα). Φαίνεται ότι η ανάπτυξη του μύκητα παρεμποδίζεται ελάχιστα ακόμα και σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις Metribuzin.

❖ **Μίγματα** : Η ανάπτυξη του μύκητα στα 40ppm του μίγματος των φυτοφαρμάκων Chlorpyrifos, Linuron και Metribuzin ήταν αρκετά καλή (6,16cm διάμετρος μυκηλίου).

Μεταξύ των επεμβάσεων 20 ppm και 30 ppm μιγμάτων δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά.

### ***Pleurotus ostreatus***

❖ **Chlorpyrifos** : Όλες οι επεμβάσεις παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά. Η ανάπτυξη του μύκητα στη συγκέντρωση 125 ppm Chlorpyrifos (2,63cm διάμετρος μυκηλίου σχέση με τα 8,6cm του μάρτυρα).

Στη συγκέντρωση 25ppm ο μύκητας είχε αρκετά περιορισμένη ανάπτυξη (5,5cm διάμετρος μυκηλίου).

❖ **Linuron** : Στη συγκέντρωση 25 ppm Linuron η ανάπτυξη του μύκητα ήταν σχεδόν μηδενική και στη συγκέντρωση 125 ppm ο μύκητας δεν αναπτύχθηκε καθόλου.

❖ **Metribuzin** : Οι επεμβάσεις 5 ppm και 25 ppm Metribuzin δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. Η ανάπτυξη του μύκητα στις συγκεντρώσεις αυτές ήταν πολύ καλή (7,82cm και 7,75cm αντίστοιχα η διάμετρος του μυκηλίου σε σχέση με τα 8,6cm του μάρτυρα).

Στη συγκέντρωση 125 ppm όμως ήταν αρκετά περιορισμένη (3,27cm διάμετρος μυκηλίου).

❖ **Μίγματα** : Οι επεμβάσεις μάρτυρας, μάρτυρας + μεθανόλη και 10 ppm μίγματος φυτοφαρμάκων δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά.

Το ίδιο ισχύει και για τις επεμβάσεις 30 ppm και 40 ppm μίγματος φυτοφαρμάκων.

Στα 20 ppm μίγματος φαρμάκων η ανάπτυξη του μύκητα ήταν αρκετά καλή (5,23cm διάμετρος μυκηλίου) ενώ στα 30 ppm και 40 ppm η διάμετρος του μυκηλίου ήταν 3,1cm και 3,03 cm αντίστοιχα.

### ***Phlebiopsis gigantea***

❖ **Chlorpyrifos** : Η επέμβαση 5 ppm Chlorpyrifos δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από εκείνη του μάρτυρα.

Στη συγκέντρωση 125 ppm η ανάπτυξη του μύκητα ήταν αρκετά καλή (6,77cm διάμετρος μυκηλίου έναντι 8,6 cm του μάρτυρα).

Στη συγκέντρωση 125 ppm Chlorpyrifos όμως η ανάπτυξη του μειώθηκε σημαντικά (3,35 cm διάμετρος μυκηλίου).

❖ **Linuron** : Η ανάπτυξη του μύκητα στη συγκέντρωση 25 ppm Linuron ήταν αρκετά καλή (5,9cm διάμετρος μυκηλίου) ενώ στα 125 ppm Linuron ήταν μηδενική.

❖ **Metribuzin** : Οι επεμβάσεις μάρτυρα, 5ppm και 25ppm Metribuzin δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά.

Στη συγκέντρωση 125 ppm Metribuzin η ανάπτυξη του μύκητα ήταν αρκετά περιορισμένη (3,0cm διάμετρος μυκηλίου σε σύγκριση με τα 8,6cm του μάρτυρα).

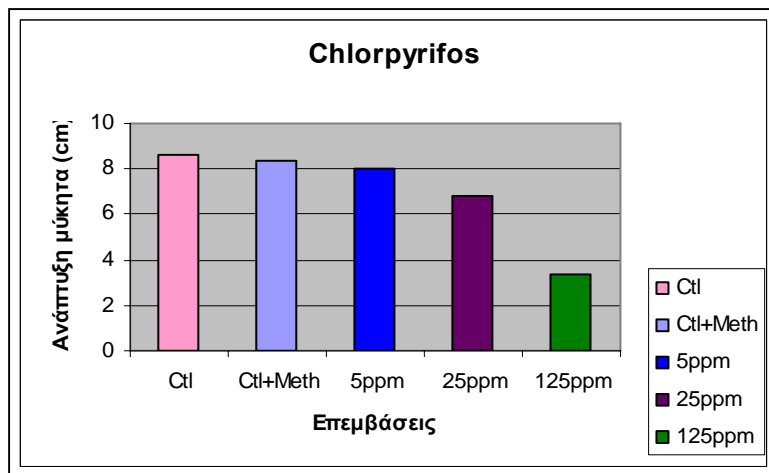
❖ **Μίγματα** : Ο μύκητας αναπτύχθηκε αρκετά καλά και στη υψηλότερη συγκέντρωση 40 ppm του μίγματος των φαρμάκων (διάμετρος του μυκηλίου 5,8cm).

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

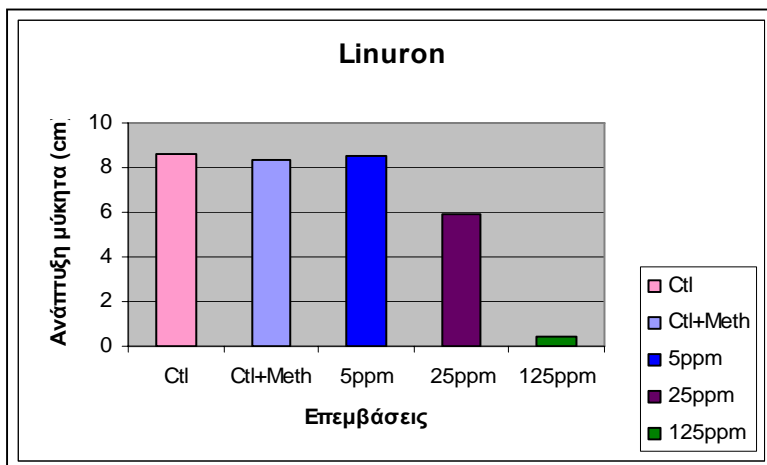
Στη συγκέντρωση των 5 ppm ανεξάρτητα από το χρησιμοποιούμενο φάρμακο όπως επίσης και στα μίγματα των φαρμάκων στις συγκεντρώσεις των 10ppm και 20ppm δεν επηρεάζεται η ανάπτυξη των τριών μυκήτων. Εξαιρέση αποτελεί το Linuron που προκαλεί υστέρηση στην ανάπτυξη του *Pleurotus ostreatus*. Τον ίδιο μύκητα φαίνεται να παρεμποδίζει το μίγμα στη συγκέντρωση των 20ppm.

Κατά γενικό κανόνα συγκεντρώσεις φυτοφαρμάκων σε δραστική ουσία μεγαλύτερη των 25ppm και μιγμάτων μεγαλύτερη των 30ppm φαίνεται ότι επηρεάζουν την ανάπτυξη του μυκηλίου και των τριών μυκήτων.

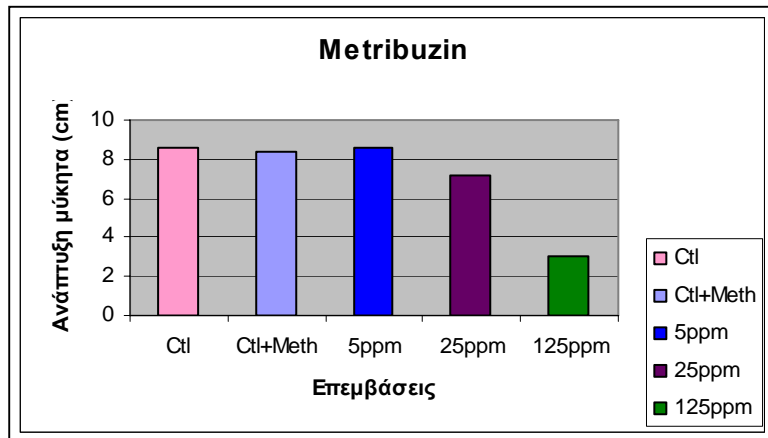
## Phlebiopsis gigantea



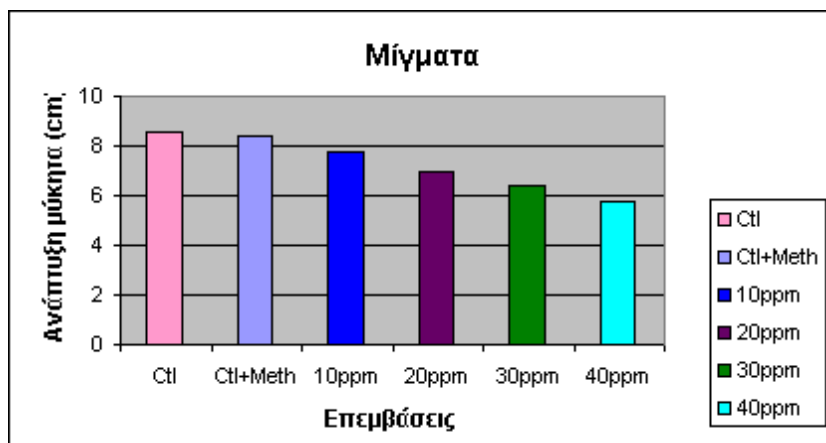
Διάγραμμα 15. Επίδραση της ανάπτυξης του μύκητα σε διαφορετικές συγκεντρώσεις Chlorpyrifos.



Διάγραμμα 16. Επίδραση της ανάπτυξης του μύκητα σε διαφορετικές συγκεντρώσεις Linuron.



Διάγραμμα 17. Επίδραση της ανάπτυξης του μύκητα σε διαφορετικές συγκεντρώσεις Metribuzin.

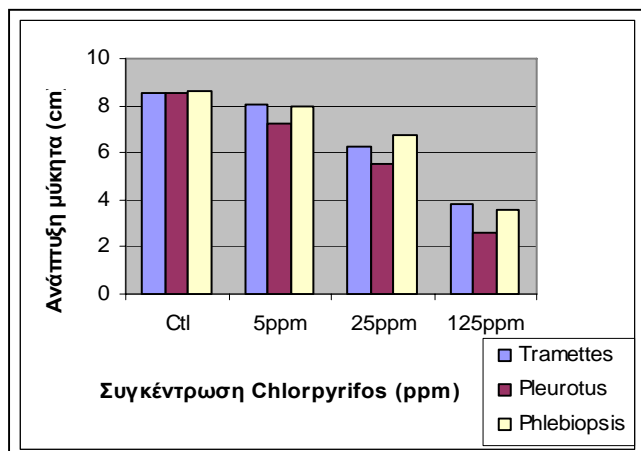


Διάγραμμα 18. Επίδραση της ανάπτυξης του μύκητα σε διαφορετικές συγκεντρώσεις μιγμάτων φυτοφαρμάκων.

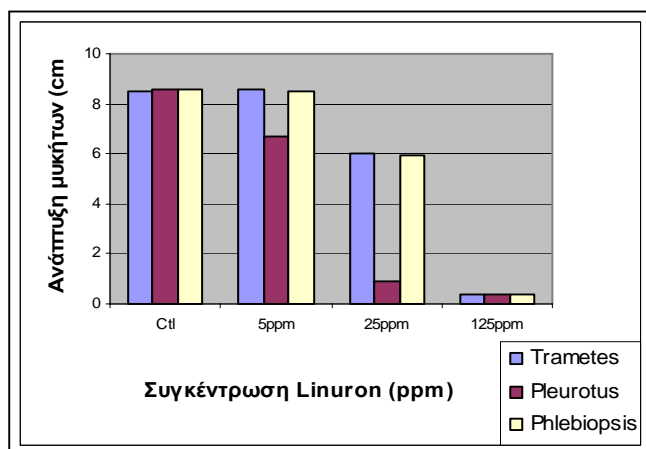




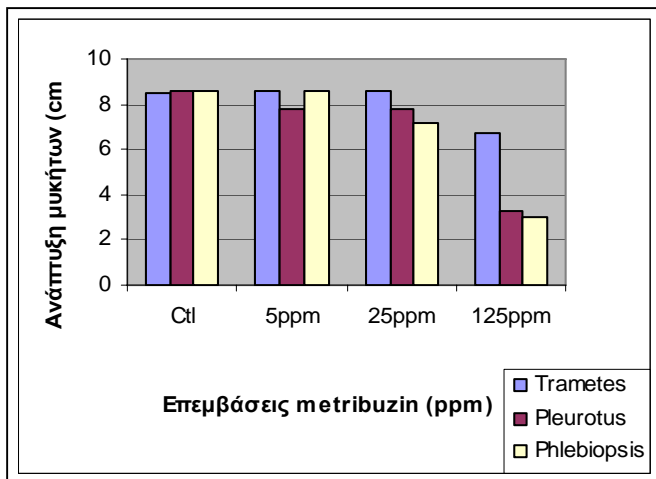
## Συγκεντρωτικά διαγράμματα τρίτης βιοδοκιμής



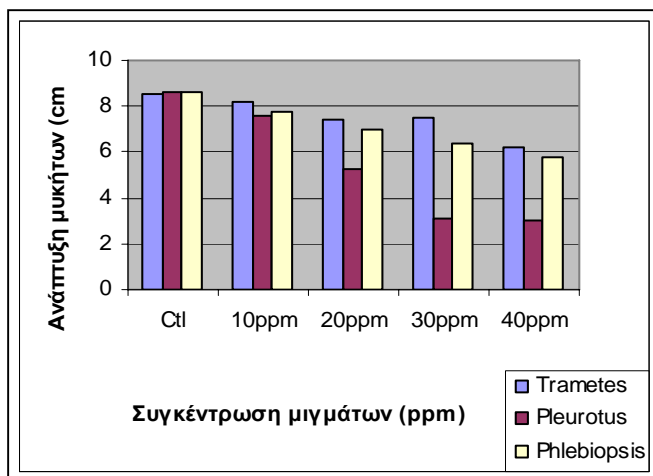
Διάγραμμα 19. Ανάπτυξη των μυκήτων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις Chlorpyrifos.



Διάγραμμα 20. Ανάπτυξη των μυκήτων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις Linuron.



Διάγραμμα 21. Ανάπτυξη των μυκήτων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις Metrbuzin.



Διάγραμμα 22. Ανάπτυξη των μυκήτων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις μιγμάτων φυτοφαρμάκων .

## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Andrzej Leonowicz *et al.*, (2003) *Weed Science*, **51**: 472-495.

Barr D. and Aust S. (1994) Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants. *Environmental Science Technology*, **28** (2): 78-87.

Bennet J., Connick W., Daigle D. and Wunch K. (2001) Formulation of soil for in situ remediation. In *fungi in bioremediation*. Gadd G, Ed Cambridge University Press. Cambridge, U.K.

Engene, (2005) *Fate of Pesticides in the Environment and its Bioremediation*.

Evans C. and Hedger J, (2001) Degradation of cell wall polymers. In *Fungi in bioremediation*. Gadd G. Ed Cambridge University Press. Cambridge, U.K.

Hestbjerg H., Willumsen P., Christensen M., Andersen O. and Jacobsen C. (2003) Bioaugmentation of tar-contaminated soils under field conditions using *Pleurotus ostreatus* refuse from commercial mushroom production. *Environmental Toxicology and Chemistry*; **22**(4) : 692-698.

Helen Atterby *et al.*, (2002) *Pesticide outlook – February 2002*

J.W. Bennet *et al.*, (2002) *Use of Fungi Biodegradation*. ASM Press Washington D.C.

Keisuke Ikehata *et al.*, (2004), *J. Environ. Eng Sci.* **3**: 1-19.

Lamar R., Davis M., Dietrich D. and Glaser J. (1994) Treatment of a pentachlorophenol and creosote contaminated soil using the lignin degradation fungus *Phanerochaete sordida*: a field demonstration. *Soil Biology & Biochemistry*; **26**: 1603-1611.

Lamar R., Evans J. and Glaser J. (1993) Solid-phase treatment of a PCP-contaminated soil using lignin degrading fungi. *Environmental Science and Technology*; **27**: 2566-2571

Maloney S. (2001) Pesticide degradation. *In* Gadd G. (Ed.) *Fungi in bioremediation*. Cambridge University Press. Cambridge, U.K

M. Vidali. (2001) *Pure and Applied chemistry*, **73** : 1163-1172.

Novotny C., Erbanova P., Sasek V., Kubatova a., Catjthman T., Lang E., Krahl J. and Zabrazil F. (1999) Extracellular oxidative enzyme production and PAH removal in soil by exploratory mycelium of white rot fungi. *Biodegradation*; **10**: 159-168.

Pointing S. (2001) Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*; **57**: 20-33.

Reddy C. and Mathew Z. (2001) Bioremediation potential of white rot fungi. *In*. Gadd G. (Eds.) *Fungi in bioremediation*. Cambridge University Press. Cambridge, U.K.

Silvia Isabel de Sousa Fragoeiro (2005) Use of fungi in bioremediation of pesticides. Cranfield University. Applied Mycology Group Institute of Bioscience and Technology. PhD. Thesis

Tekere M., Mswaka A., Zvauya R., and Read J. (2002) Growth, dye degradation and ligninolytic activity studies on Zimbabwean white rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology* **28**: 420-426.

Tuomela M., Lyytikainen M., Oivanen P. and Hatakka A. (1999) Mineralization and conversion of pentachlorophenol (PCP) in soil inoculated with the white rot fungus *Trametes versicolor*. *Soil Biology & Biochemistry*; **31**: 65-74.

## ΠΗΓΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

[www.mycoweb.com](http://www.mycoweb.com)

<http://botit.botany.wisc.edu/toms.fungi/may97.html>

<http://genome.jpi-psf.org/org/Phchr1.home.html>

<http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/heterob.html>

[http://www.anbg.gov.au/fungi/images-captions/pycnoporus\\_coccineus-0048.html](http://www.anbg.gov.au/fungi/images-captions/pycnoporus_coccineus-0048.html)

<http://www.hiddenforest.co.nz/fungi/family/polyporaceae/polyp03.html>

<http://www.earthfax.com>