



Τεχνολογικό  
Πανεπιστήμιο  
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών  
Επιστημών και Διαχείρισης  
Περιβάλλοντος

**Μεταπτυχιακή διατριβή**

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΥΤΟΧΘΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ  
ΕΔΑΦΟΣ ΠΥΡΟΠΛΗΚΤΩΝ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΜΕ  
ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΩΝ  
ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΚΑΙ  
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΑΓΟΥΝ ΤΗΝ  
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ**

**Νίκη Παύλου**

**Λεμεσός, Μάιος 2024**



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ  
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μεταπτυχιακή διατριβή

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΥΤΟΧΘΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ  
ΑΠΟ ΕΔΑΦΟΣ ΠΥΡΟΠΛΗΚΤΩΝ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ  
ΜΕ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΩΝ  
ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΚΑΙ  
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΑΓΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ  
ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

της

Νίκης Παύλου

Επιβλέπων Καθηγητής

Δρ. Δημήτρης Τσάλτας

Λεμεσός, Μάιος 2024

## **Έντυπο έγκρισης**

Μεταπτυχιακή διατριβή

**Απομόνωση αυτόχθονων βακτηρίων από έδαφος πυρόπληκτων γεωργικών περιοχών, με ικανότητα καταβολισμού πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων και χαρακτηριστικών που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών**

Παρουσιάστηκε από

Νίκη Παύλου

Επιβλέπων καθηγητής: Δρ. Δημήτρης Τσάλτας, Αναπληρωτής Καθηγητής,  
ΤΕΠΑΚ

Μέλος επιτροπής: Δρ. Μιχαλάκης Χριστοφόρου, ΕΕΠ, ΤΕΠΑΚ

Μέλος επιτροπής: Δρ. Δημήτριος Σαρρής, Ανώτερος Λέκτορας,  
Επιστημονικός Διευθυντής, KES Research Centre

Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου

Λεμεσός, Μάιος 2024

## **Πνευματικά δικαιώματα**

Copyright © Νίκη Παύλου, 2024

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της μεταπτυχιακής διατριβής από το Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών,  
Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου  
δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του/της συγγραφέα εκ μέρους  
του Τμήματος.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Επιστημών Φυτικής Παραγωγής του Τμήματος Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Γεωπονική Βιοτεχνολογία», του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Δρ. Δημήτρη Τσάλτα για την παρότρυνσή του για την πρόταση αυτής της θεματικής, αλλά και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή του κατά την διάρκεια της υλοποίησης της διατριβής, καθώς και για την εμπιστοσύνη, την στήριξη, τις γνώσεις και την υπομονή που επέδειξε κατά τη διάρκεια του προγράμματος σπουδών.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Δρ. Λουκά Κανέτη για την πολύτιμη βοήθεια και στήριξη αυτής της εργασίας.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα το Δρ. Μιχαλάκη Χριστοφόρου και τους διδάκτορες Ελένη Ξενοφώντος, Στυλιανή Ευσταθίου και Χρυσόστομο Οπλό για την πολύτιμη βοήθεια, στήριξη, γνώσεις και συμβουλές στην ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω το υπόλοιπο προσωπικό του εργαστηρίου για την συνεργασία και βοήθειά τους, όπως και όλο το διδακτικό προσωπικό του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την βαθιά μου ευγνωμοσύνη στους γονείς μου, στην αδελφή μου και στους δικούς μου ανθρώπους για την αδιάκοπη στήριξή τους και την παρουσία τους σε κάθε μου επιλογή.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η απομόνωση βακτηρίων με ικανότητα καταβολισμού πολυκυκλικών αρωματικών ενώσεων (ΠΑΥ) και ιδιοτήτων που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών, με πιθανή εφαρμογή τους στην βιοαποκατάσταση γεωργικών και δασικών περιοχών της Κύπρου, που πλήγηκαν από πυρκαγιά. Έπειτα από βιβλιογραφική μελέτη η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν δειγματοληψία εδάφους από τη ριζόσφαιρα φυτών που παρουσίασαν αναβλάστηση μετά από πυρκαγιά, απομόνωση αυτόχθονων βακτηρίων με κατασκευή εργαστηριακού βιοαντιδραστήρα μίμησης του φυσικού περιβάλλοντος των μικροοργανισμών και εμπλουτισμένο υπόστρωμα με ΠΑΥ, αλλά και με συμβατικές μεθόδους άμεσης υγρής καλλιέργειας. Ακολούθησε η επιλογή ομάδας βακτηρίων με ισχυρές ικανότητες καταβολισμού ΠΑΥ έπειτα από βιοδοκιμή του χαρακτηριστικού σε υγρή καλλιέργειά, με μοναδική πηγή άνθρακα το ανθρακένιο. Τέλος, ακολούθησαν βιοδοκιμές ανίχνευσης ιδιοτήτων που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών, όπως η διαλυτοποίηση φωσφόρου, παραγωγής σιδηροφόρων και παραγωγής ινδολικών ενώσεων. Κύρια περιοχή δειγματοληψίας αποτέλεσε η περιοχή που πρωταγωνίστησε στην πυρκαγιά της ορεινής Λεμεσού-Λάρνακας (Αρακαπά, Διερώνας, Καλού Χωρίου, Οδού, Οράς, Επταγώνιας, Μελίνης) το καλοκαίρι του 2021, όπου και το συγκεκριμένο αυτό, γεγονός αποτέλεσε αφορμή για αυτήν την εργασία. Δειγματοληψία έγινε και σε περιοχή της Πάφου (Ακούρσος - Πέγεια) με τα αντίστοιχα μεικτά χαρακτηριστικά άγριας βλάστησης - γεωργικής καλλιέργειας, όπου επίσης υπέστη αντίστοιχη καταστροφή νωρίτερα το ίδιο έτος.

**Λέξεις Κλειδιά:** βιοαποκατάσταση, γεωργία, πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ), προώθηση της ανάπτυξης των φυτών, απομόνωση βακτηρίων, αυτόχθονα βακτήρια, ριζόσφαιρα, μικροβιολογία εδάφους, πυρκαγιά, καταβολισμός ΠΑΥ, εδαφικές ιδιότητες, διαλυτοποίηση φωσφόρου, παραγωγή σιδηροφόρων, παραγωγή ΙΑΑ

## **ABSTRACT**

This thesis aimed to isolate bacteria capable of catabolizing polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) while possessing properties conducive to plant growth promotion, with potential applications in the bioremediation of agricultural and forest areas in Cyprus ravaged by fire. Following a comprehensive literature review, the methodology involved soil sampling from the rhizosphere of vegetation displaying post-fire regrowth. Indigenous bacteria were isolated using both laboratory bioreactor setups mimicking natural soil environment, and conventional liquid culture technique, enriched with PAHs substrates. A selection process identified a subset of bacteria demonstrating robust PAHs catabolic activity, assessed through biotesting using anthracene as the sole carbon source in liquid culture. Subsequently, bioassays were conducted to assess plant growth-promoting properties, including phosphorus solubilization, siderophore production, and indole compound synthesis. The primary sampling site was the area affected by the Mountainous Limassol - Larnaca District fire (Arakapa, Dierona, Kalo Chorio, Odou, Ora, Eptagonia, Melini) in the summer of 2021, which motivated this research. Additionally, sampling was conducted in a mixed wild flora-agricultural area in Paphos (Akoursos - Peyia), also impacted by fire during the same summer.

**Key words:** bioremediation; agriculture; polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); plant growth promotion; bacteria isolation; indigenous bacteria; rhizosphere; soil microbiology; PAH degradation; wildfire; soil properties; phosphorus solubilization; siderophores production; IAA production



## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ABSTRACT .....	8
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ .....	9
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
2. ΤΟ ΕΔΑΦΙΚΟ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑ .....	15
2.1 Εξερευνώντας τη Δυναμική του Εδάφους στη Γεωργία: Φυσικές Ιδιότητες Εδάφους.....	17
2.1.1 Υφή – Η σύνθεση του εδάφους.....	18
2.1.2 Δομή - Κατασκευή του Πλαισίου για την Ανάπτυξη των Ριζών.....	19
2.1.3 Πορώδες – Οι Χώροι Κίνησης του Νερού και του Αέρα .....	20
2.2 Βιοποικιλότητα του εδάφους και η κρίσιμη συνεισφορά της, στη Γεωργία .....	21
2.3 Χημικές Ιδιότητες του Εδάφους: Το Κλειδί για τη Βιώσιμη Γεωργία.....	24
2.3.1 Η ενεργώς οξύτητα (pH) - Ένα Ζήτημα Ισορροπίας .....	25
2.3.2 Ικανότητα Ανταλλαγής Κατιόντων (CEC) – Δύναμη Κράτησης Θρεπτικών .....	27
2.3.4 Ηλεκτρική Αγωγιμότητα (EC) – Δείκτης Αλατότητας και Συνολικής Διαθεσιμότητας Θρεπτικών Εδάφους.....	28
2.3.5 Η Οργανική Ύλη: Η Καρδιά της Γονιμότητας του Εδάφους.....	29
2.3.6 Εδαφική Βιοχημεία: Κύριες Ιδιότητες και Γεωργικές Επιπτώσεις.....	32
3. ΠΥΡΚΑΓΙΕΣ ΚΑΙ ΕΔΑΦΟΣ.....	34
3.1 Επιπτώσεις στις Βιολογικές, Φυσικές και Χημικές Εδαφικές Ιδιότητες.....	36
3.2 Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ) .....	39
3.2.1 Ανθρωπογενείς και φυσικές πηγές εκπομπών ΠΑΥ .....	41
3.2.2 Τοξικότητα ΠΑΥ .....	42
4. ΒΙΟΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΕΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΠΟΡΡΥΠΑΝΣΗΣ ΡΥΠΩΝ ΠΑΥ.....	45
4.1 Φυσική εξασθένηση ρύπων .....	45
4.2 Βιοαύξηση .....	46
4.3 Φυτοαποκατάσταση.....	46
4.4 Ριζοαποκατάσταση: Βιοαποκατάσταση μέσω τις ωφέλιμης αλληλεπίδρασης φυτικού ριζικού συστήματος με τα εδαφικά μικρόβια .....	48

4.5 Περιβαλλοντικοί παράγοντες για επιτυχία της εφαρμοζόμενης βιοαποκατάστασης για απορρύπανση ΠΑΥ.....	51
4.5.1 Θερμοκρασία.....	51
4.5.2 Ενεργός Οξύτητα (pH).....	52
4.5.3 Παρουσία Οξυγόνου – Αερόβια και αναερόβια βιοαποικοδόμηση ΠΑΥ ....	52
4.5.4 Διαθεσιμότητα Θρεπτικών .....	53
4.5.5 Βιοδιαθεσιμότητα.....	53
4.6 Βακτήρια με ικανότητα καταβολισμού ΠΑΥ και ιδιοτήτων που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών.....	54
4.6.1 Βακτήρια με ικανότητα διαλυτοποίησης φωσφόρου.....	55
4.6.2 Βακτήρια με ικανότητα παραγωγής σιδηροφόρων.....	56
4.6.3 Βακτήρια με ικανότητα παραγωγής ινδολικών ενώσεων (IAA) .....	57
4.7 Πρόσφατη πρόοδος στις μοριακές τεχνικές με εφαρμογές στις Μεθοδολογίες της Βιοαποκατάστασης ΠΑΥ .....	58
4.7.1 Ενίσχυση των μεθόδων βιοαποκατάστασης υπό το πρίσμα των μοριακών τεχνικών: Εφαρμογές .....	59
5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	62
5.1 Σκοπός Μελέτης – Μεθοδολογία .....	62
5.2 Δειγματοληψία εδάφους .....	62
5.3 Καλλιέργεια και Απομόνωση Βακτηριακών Στελεχών.....	67
5.3.1 Παρασκευή Υποστρώματος Καλλιέργειας .....	67
5.3.2 Ανάπτυξη και απομόνωση βακτηρίων .....	69
5.3.2.1 Συμβατική μέθοδος: Ανάπτυξη και απομόνωση βακτηρίων .....	69
5.3.2.2 Βιοαντιδραστήρας: Ανάπτυξη και απομόνωση βακτηρίων .....	72
5.4 Μικροσκοπική Παρατήρηση .....	74
5.5 Χρώση Gram: Χαρακτηρισμός απομονωμένων βακτηρίων.....	74
5.6 Φύλαξη των απομονωμένων βακτηρίων στους -80°C .....	75
5.7 Βιοδοκιμές .....	76
5.7.1 Διερεύνηση της ικανότητας καταβολισμού πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (ΠΑΥ).....	76
5.7.2 Βιοδοκιμές χαρακτηριστικών που προάγουν την ανάπτυξη φυτών.....	78
5.7.2.1 Διαλυτοποίηση φωσφόρου.....	78
5.7.2.2 Προσδιορισμός ικανότητας παραγωγής σιδηροφόρων.....	81

5.7.2.3 Παραγωγής ινδολικών ενώσεων (IAA) .....	85
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	88
6.1 Ανάπτυξη και απομόνωση βακτηρίων.....	88
6.2 Μικροσκοπική Παρατήρηση .....	89
6.3 Χρώση Gram: Χαρακτηρισμός απομονωμένων βακτηρίων.....	89
6.4 Βιοδοκιμές .....	91
6.4.1 Διερεύνηση της ικανότητας καταβολισμού πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (ΠΑΥ).....	91
6.4.2 Χαρακτηριστικά που προάγουν την ανάπτυξη φυτών.....	94
6.4.2.1 Διαλυτοποίηση φωσφόρου.....	94
6.4.2.2 Προσδιορισμός ικανότητας παραγωγής σιδηροφόρων.....	95
6.4.2.3 Βιοδοκιμή Παραγωγής ινδολικών ενώσεων (IAA) .....	97
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	102
7.1 Ανάλυση των διαδικασιών ανάπτυξης και απομόνωσης των βακτηρίων .....	102
7.2 Ανάλυση Μικροσκοπικής παρατήρησης και Χρώσης Gram: Χαρακτηρισμός απομονωμένων βακτηρίων .....	102
7.3 Ανάλυση Διερεύνησης της ικανότητας καταβολισμού πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (ΠΑΥ) .....	103
7.4 Ανάλυση βιοδοκιμής διαλυτοποίησης φωσφόρου.....	104
7.5 Ανάλυση βιοδοκιμής παραγωγής σιδηροφόρων.....	104
7.6 Ανάλυση βιοδοκιμής παραγωγής ινδολικών ενώσεων (IAA) .....	105
7.7 Συνολική ανάλυση των αποτελεσμάτων .....	106
8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	108