

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

**Μελέτη των επιδράσεων φυτοπροστατευτικών προϊόντων
στα φυτά που πρόκειται να προστατεύσουν**

**Γεώργιος Παπάζης
Γεωπόνος
Μεταπτυχιακή εργασία**

Ιωάννινα 2006



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή έγινε στα πλαίσια του διατμηματικού μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών με τίτλο, «Αγροχημεία και βιολογικές καλλιέργειες».

Εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Βοτανικής του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με άμεσο επιβλέποντα τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Κυτταρίσση Άρη τον οποίο ευχαριστώ θερμά για το ενδιαφέρον του, το χρόνο που διέθεσε για την συνεχή υποστήριξη και τις πολύπλευρες υποδείξεις που μου παρείχε στην εκτέλεση της εργασίας.

Στον Αναπληρωτή Καθηγητή του τμήματος Φυτικής Παραγωγής του ΤΕΙ Ηπείρου κ. Καριπίδη Χαράλαμπο και τον Επίκουρο Καθηγητή του τμήματος Ανθοκομίας – Αρχιτεκτονικής Τοπίου του ΤΕΙ Ηπείρου κ. Πατακιούτα Γιώργο, μέλη της εξεταστικής επιτροπής, οφείλω τις ευχαριστίες μου, για τον χρόνο και την υπομονή που διέθεσαν για να κρίνουν αυτήν την εργασία.

Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Λόλα Πέτρο για την βιβλιογραφία που μου έστειλε, καθώς και τον Αναπληρωτή Καθηγητή του τμήματος Μαθηματικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Καρακώστα Κωνσταντίνο για το ενδιαφέρον του και την βοήθεια όταν του ζητήθηκε.

Ακόμη επιθυμώ να εκφράσω τις ευχαριστίες μου:

Στην Δρ. Λεβίζου Έφη, στον Δρ. Λιακόπουλο Γιώργο και στην Δρ. Λαμπροπούλου Δήμητρα για την φιλική τους διάθεση και την βοήθεια που μου έδωσαν όταν χρειάστηκε.

Στους μεταπτυχιακούς φοιτητές του εργαστηρίου Βοτανικής, Νίκο Μάρκο, Κατερίνα Ιώβη, Σταύρο Σταγάκη και Κάρολο Γιαννάκη για το ωραίο κλίμα που επικρατεί στο εργαστήριο.

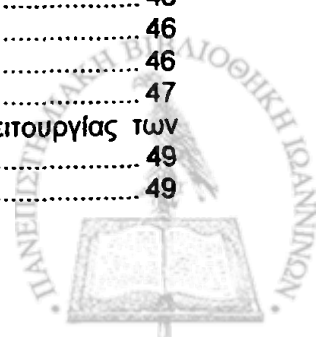
Στον αδερφό μου Νεκτάριο και την σύζυγο του Γεωργία που στον εργασιακό μας χώρο κατά την διάρκεια της μεταπτυχιακής εργασίας, κάλυπταν την απουσία μου, με την δική τους υπερπροσπάθεια.

Στην γυναίκα μου για την αγόγγυστη υποστήριξη της προσπάθειάς μου, και στα παιδιά μου για την κατανόηση που έδειξαν για τον λιγότερο χρόνο που τους αφιέρωσα.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	3
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ	1
Ορισμός φυτοπροστατευτικών προϊόντων	1
Αναγκαιότητα της χρήσης τους.....	1
Αλληλεπίδραση μεταξύ των οργανισμών, από την σκοπιά της ζωής στον πλανήτη μας.....	1
Η καλλιέργεια κάνει την αρνητική αλληλεπίδραση ασθένεια-εχθρό και τη θετική τροφή.....	2
Η αύξηση του πληθυσμού του ανθρώπινου είδους στον πλανήτη μας, εντείνει την ανάγκη της φυτοπροστασίας.	2
Η μέθοδος της καλλιέργειας διαφοροποιεί την ανάγκη της φυτοπροστασίας.....	3
Το ερώτημα της φυτοπροστασίας.....	3
Τα σύνθετα ερωτήματα δεν απαντιούνται σε μια γενιά, ούτε από ένα άτομο.	3
Τα χημικά είναι τα πρώτα «όπλα» που αναδεικνύονται κατά των φυτοπαράσιτων.....	4
Ταξινόμηση των ΦΠ.....	4
Χημικά ΦΠ.....	5
Βιολογικά ΦΠ	14
Τυποποίηση των ΦΠ	14
Βοηθητικές ουσίες	14
Μορφές τυποποιημένων ΦΠ.....	16
ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ	19
Επαφή του ΦΠ με το καλλιεργούμενο φυτό.....	19
Είσοδος και μετακίνηση του ΦΠ στο καλλιεργούμενο φυτό.....	19
Αλληλεπίδραση ΦΠ με το καλλιεργούμενο φυτό	22
Μεταβολισμός ΦΠ από τα φυτά	22
Φυτικά ένζυμα και μεταβολισμός των ΦΠ.....	23
Εκλεκτικότητα των ΦΠ	23
ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ.....	28
Φυτοτοξικότητα, αποτελεσματικότητα των ΦΠ.....	28
Η φυτοτοξικότητα ως κατάσταση καταπόνησης.....	28
Μακροσκοπικά συμπτώματα και καταγεγραμμένες φυτοτοξικότητες.....	29
Διάγνωση φυτοτοξικότητας.....	34
Η φυτοτοξικότητα των ΦΠ σε υποκυτταρικό επίπεδο.....	34
Αντιμετώπιση φυτοτοξικότητας.....	38
Μέθοδοι εκτίμησης φυτοτοξικότητας.....	38
Πειραματικό υλικό για μελέτη φυτοτοξικότητας.....	38
Μετρήσεις.....	39
Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ Α	41
Δομή και λειτουργία της φωτοσυνθετικής συσκευής.....	41
Ο χλωροπλάστης	41
Οι θυλακοειδείς μεμβράνες	42
Οι φωτοσυνθετικές κεραίες LHCI και LHCII	42
Το φωτοσύστημα II (PSII)	44
Η πλαστοκινίνη	45
Το κυτόχρωμα <i>b6f</i>	45
Η πλαστοκυανίνη	45
Το φωτοσύστημα I (PSI)	45
Η φερεδοξίνη.....	46
FNR, NADP ⁺ και NADPH	46
Η ATP συνθάση	46
Η συνολική αντίδραση.....	47
Ο φθορισμός της χλωροφύλλης α in vivo, ως μέσο διάγνωσης της λειτουργίας των φυτών.....	49
Εισαγωγή	49



Το "φαινόμενο Kautsky"	49
Μετρήσιμες παράμετροι φθορισμού και η σημασία τους	51
Τρόποι μέτρησης του φθορισμού	52
Η μέθοδος παλμών κορεσμού και ανάλυση απόσβεσης	53
Σχέση μεταξύ απόδοσης φθορισμού και απόδοση ανά φωτόνιο του PSII	56
Συμπεράσματα	58
ΣΚΟΠΟΣ	59
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	61
Φυτά και συνθήκες ανάπτυξης	61
Φυτοπροστατευτικά προϊόντα	63
Παρασκευή ψεκαστικού διαλύματος και ψεκασμός	64
Μετρήσεις	65
Ανάπτυξης και αριθμού καρπών ανά φυτό	65
Έμμεση εκτίμηση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη	65
Φθορισμού της χλωροφύλλης <i>a in vivo</i>	65
Rapid Light Curves	66
Induction Curves	67
Στατιστική επεξεργασία	68
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	69
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	78
Πείραμα 1 ^ο	78
Πείραμα 2 ^ο	79
Πείραμα 3 ^ο	79
Πείραμα 4 ^ο	80
Πείραμα 5 ^ο	81
Πείραμα 6 ^ο	82
Πείραμα 7 ^ο	82
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	84
SUMMARY	84
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	85
ΕΛΛΗΝΙΚΗ	85
ΑΓΓΛΙΚΗ	86
ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ ΣΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ	88



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Ορισμός φυτοπροστατευτικών προϊόντων

Φυτοπροστατευτικά προϊόντα (ΦΠ) είναι η γενική ονομασία που χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει την ομάδα των προϊόντων, που περιλαμβάνει τα μυκητοκτόνα –βακτηριοκτόνα, εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνα, νηματωδοκτόνα, τρωκτικοκτόνα, ζιζανιοκτόνα και ρυθμιστές φυτικής ανάπτυξης.

Σύμφωνα με άρθρο 2 Οδηγίας 91/414/ΕΟΚ, ΦΠ καλούνται οι δραστικές ουσίες και τα σκευάσματα, τα οποία περιέχουν μία ή περισσότερες δραστικές ουσίες, με την μορφή με την οποία προσφέρονται στον χρήστη και προορίζονται να προστατεύσουν τα φυτά ή τα φυτικά προϊόντα από κάθε είδους επιβλαβείς οργανισμούς ή να προλαμβάνουν τη δράση τους, να επηρεάζουν τις βιολογικές διεργασίες των φυτών (π.χ. ρυθμιστές αύξεσης), εκτός αν πρόκειται για θρεπτικές ουσίες, να διατηρούν τα φυτικά προϊόντα (όχι συντηρητικά), να καταστρέφουν τα ανεπιθύμητα φυτά, να επιβραδύνουν ή να παρεμποδίζουν την ανεπιθύμητη ανάπτυξη των φυτών.

Δραστική ουσία είναι η χημικά καθαρή ή η βιομηχανικά παραγόμενη τεχνικά καθαρή ουσία του ΦΠ που έχει την φυτοπροστατευτική δράση κατά την εφαρμογή της στα φυτά. Η δραστική ουσία αναφέρεται με το διεθνώς παραδεκτό κοινό όνομα και όχι με το συνήθως μακροσκελές και δυσκολομνημόνευτο χημικό τύπο της (Παλούκης & Παπαδόπουλος 1989). Τα κοινά ονόματα έχουν γίνει αποδεκτά από το ISO (International Standards Organization) ή το BSI (British Standards Institution) ή το ANSI (American Standards Institute), (Παναγιωτάρου-Πέτσικου & Χρυσάγη-Τοκουζμπάλιδη 1988).

Σκεύασμα ή παρασκεύασμα, σύμφωνα με το νόμο 721/77 περί εγκρίσεως κυκλοφορίας και ελέγχου των γεωργικών φαρμάκων (Άρθρο 1), είναι το μίγμα του χημικά ή τεχνικά καθαρού δρώντος συστατικού ή συστατικών με βοηθητικές ουσίες στην αυτήν πάντοτε σύνθεση και σύσταση έτοιμο προς χρήση ως έχει ή μετά από απλή αραιώση. Το εμπορικό όνομα του σκευάσματος ΦΠ είναι η ονομασία με την οποία κυκλοφορεί στην αγορά.

Βοηθητικές ουσίες, σύμφωνα με την ίδια πηγή, είναι τα μη άμεσα δρώντα, εναντίων των εχθρών και ασθενειών των φυτών, συστατικά του ΦΠ, τα οποία όμως είναι απολύτως απαραίτητα ώστε η δ.ο. να αποκτήσει τις στην πράξη αναγκαίες ή και σκόπιμες για το ΦΠ ιδιότητες.

Τα ΦΠ κυκλοφορούν στην αγορά μετά από έγκριση του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. Οι άδειες κυκλοφορίας είναι προσωρινές (διετής) ή οριστικές (πενταετής) και χορηγούνται μετά την συμπλήρωση πλήρους φακέλου από τον αιτούντα, με στοιχεία για την αποτελεσματικότητα, την φυτοτοξικότητα, την μελισσοτοξικότητα, τοξικότητα στα θηλαστικά, οικοτοξικότητα, και τον τρόπο ανίχνευσης τους. Συνήθως απαιτούνται 6-10 χρόνια από την ημέρα της αρχικής ανακάλυψης των χρήσιμων και βιοκτόνων ιδιοτήτων μιας δ.ο. μέχρι την ημερομηνία του ξεκινήματος της εμπορίας του ΦΠ (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου 1991).

Αναγκαιότητα της χρήσης τους

Αλληλεπίδραση μεταξύ των οργανισμών, από την σκοπιά της ζωής στον πλανήτη μας.

Τα φυτά στην εξελικτική τους πορεία ανέπτυξαν μηχανισμούς προσαρμογής τόσο στις εδαφοκλιματικές μεταβολές όσο και στην άμυνα τους και γενικότερα στην αλληλεπίδραση τους με άλλους οργανισμούς. Η προσαρμογή των φυτών αποτυπώνεται στο γενετικό τους υλικό με την μορφή συγκεκριμένων αλληλουχιών βάσεων που κωδικοποιούν προσαρμογές των φυτών «ικανές να ξεχωρίζουν εχθρούς από φίλους και να ρυθμίζουν αναλόγως τους όρους της σχέσης τους» (Μανέτας & Ridge 2005).



Η ζωή στον πλανήτη μας και η εξέλιξη των ειδών από την σκοπιά της διαιώνισης και της προσαρμογής των ειδών χρειάζεται όλες τις μορφές αλληλεπιδράσεων, θετικές (αμοιβαιότητα, ομοσιτισμό), ουδέτερες (ουδετερότητα), αρνητικές (ανταγωνισμός, ασιτισμός, παρασιτισμός), σε αντίθεση με το κάθε άτομο ενός είδους που θα προτιμούσε μόνο τις θετικές. Το ότι το κάθε είδος καταφέρνει να επιβιώνει, υπό την πίεση βέβαια των αρνητικών αλληλεπιδράσεων βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων, είναι η πειστική απάντηση πως το κάθε είδος άρα και το κάθε φυτικό είδος δεν έχει την ανάγκη προστασίας (δεν αναφερόμαστε σε ρύπανση, στέρηση ενδαιτήματος των ειδών από ανθρωπογενείς παρεμβάσεις, ή απειλή προς εξαφάνιση ενός είδους από περιβαλλοντικές αλλαγές).

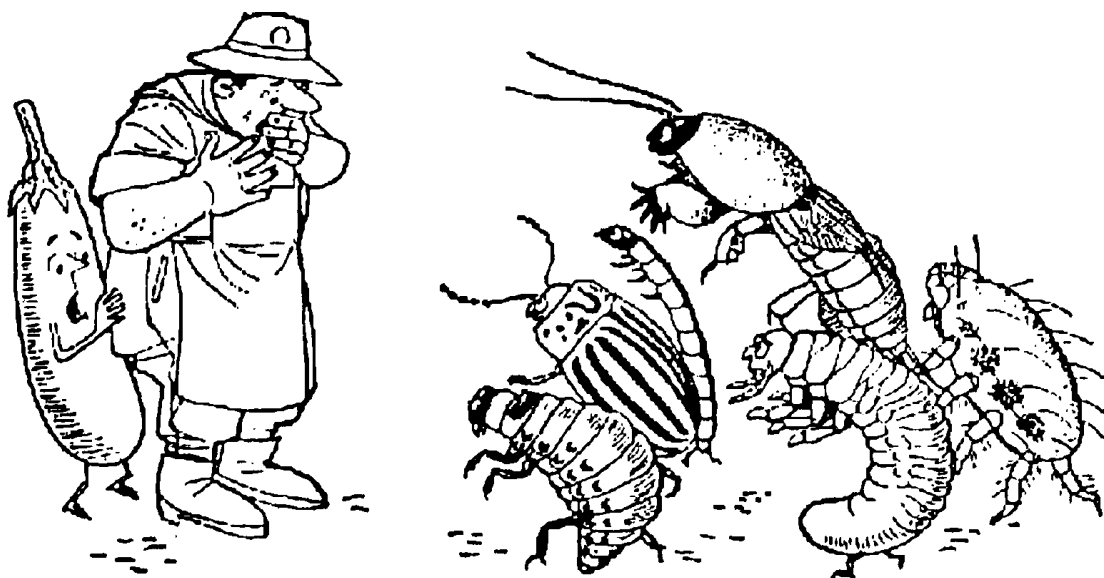
Εξάλλου ασθένειες των φυτών υπήρχαν και πριν την εμφάνιση του ανθρώπου όπως συμπεραίνεται από απολιθώματα μυκήτων σε στρώματα της προκαμβρίου περιόδου (Δημητριάδης 1981).

Η καλλιέργεια κάνει την αρνητική αλληλεπίδραση ασθένεια-εχθρό και τη θετική τροφή.

Από την στιγμή που ο άνθρωπος άρχισε να καλλιεργεί φυτά, αντιμετώπισε ασθένειες ικανές να ζημιώσουν την παραγωγή (Δημητριάδης 1981). Συμπεραίνουμε πως η ανάγκη της φυτοπροστασίας δημιουργείτε ταυτόχρονα με το ξεκίνημα της καλλιέργειας.

Η προστασία γίνεται αναγκαία στην ανθρωποκεντρική θεώρηση του κόσμου.

Σε αυτή την περίπτωση πρέπει να αποκλειστούν από τα γεύματα τα έντομα, οι μύκητες, τα βακτήρια κλπ. που έχουν την κακή συνήθεια να κάθονται πρώτοι στο τραπέζι και να μην παραδέχονται πως η καλλιέργεια αποτελεί ιδιοκτησία του καλλιεργητή.



Σχήμα 1. Μερικοί από τους εχθρούς των φυτών. Από Vincenzo Forte.

Η αύξηση του πληθυσμού του ανθρώπινου είδους στον πλανήτη μας, εντείνει την ανάγκη της φυτοπροστασίας.

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες και οι σχέσεις αλληλοεπίδρασης μεταξύ των ειδών, με τους μηχανισμούς ανάδρασης, ενώ καταφέρνουν άριστα να ρυθμίσουν τους πληθυσμούς των ειδών με σχετικά μικρές αποκλίσεις γύρω από την θέση ισορροπίας, αδυνατούν όλο και περισσότερο τον τελευταίο αιώνα να ρυθμίσουν τον πληθυσμό του ανθρώπινου είδους (θετικό) και των φυτικών και ζωικών ειδών που αποτελούν μέρος της διατροφής του στην παλιά θέση ισορροπίας τους.

Η αύξηση των καλλιεργειών στο μέγεθος των απαιτήσεων της κάλυψης των διατροφικών αναγκών του πληθυσμού της γης, σε συνδυασμό με την μεγάλη διακίνηση προϊόντων και ανθρώπων που συμβάλλουν στην εξάπλωση εχθρών και ασθενειών των φυτών, κάνει σχεδόν αδύνατη την οικονομικά επιτυχή καλλιέργεια χωρίς την χρήση φυτοπροστατευτικών.



Πάρα πολλά είναι τα παραδείγματα που μπορούν να αναφερθούν, μεταξύ αυτών μεγάλης σπουδαιότητας είναι αυτό της Ιρλανδίας, όταν η είσοδος του περονοσπόρου (*Phytophthora infestans*) στις καλλιέργειες πατάτας τα έτη 1845 –1846 κατέστρεψε την παραγωγή. Ο λιμός αυτός προκάλεσε τον θάνατο 1.000.000 ατόμων και τον εκπατρισμό περίπου 2.000.000 ατόμων (Δημητριάδης 1981).

Ακόμη και στις μέρες μας που οι τρόποι φυτοπροστασίας και τα ΦΠ είναι πολλά, η επιτυχής φυτοπροστασία είναι αυτή που τις περισσότερες φορές κρίνει την καλλιέργεια από άποψη ποιότητας, ποσότητας και ρύπανσης.

Σχηματικά μπορούμε να πούμε πως το κόστος της διατήρησης του πληθυσμού του ανθρώπινου είδους (με τις σημερινές του συνήθειες) σε ανώτερα επίπεδα στοιχίζει, στο πεδίο της αλληλεπίδρασης με το αβιοτικό περιβάλλον τη ρύπανση, στο επίπεδο της άμεσης αλληλεπίδρασης με άλλους οργανισμούς το σύστημα υγείας, ενώ στην έμμεση αλληλεπίδραση με άλλους οργανισμούς τη φυτοπροστασία των καλλιεργούμενων φυτών και την προστασία από ασθένειες των παραγωγικών ζώων.

Η μέθοδος της καλλιέργειας διαφοροποιεί την ανάγκη της φυτοπροστασίας.

Οι καλλιέργειες των φυτών, περισσότερο στη συμβατική αλλά και στην ολοκληρωμένη και λιγότερο στην βιολογική διαχείριση τους, συγκεντρώνουν σε μια περιορισμένη έκταση μεγάλο αριθμό φυτών, υβριδίων ή ποικιλιών, επιλεγμένων με βάση χαρακτηριστικά, εμφάνισης του καρπού, μονογονικές ανθεκτικότητες σε ασθένειες και κυρίως βάση της παραγωγικότητας. Με αυτό τον τρόπο τα τελευταία χρόνια σχεδόν σταμάτησαν να καλλιεργούνται τοπικές ποικιλίες καλά προσαρμοσμένες στις εδαφοκλιματικές συνθήκες κάθε τόπου και χάθηκε πολύτιμο γενετικό υλικό.

Οι καλλιεργητές στην προσπάθειά τους να βελτιώσουν την απόδοση των φυτών φροντίζουν με τις κατάλληλες αποστάσεις φύτευσης μεταξύ των φυτών να μειώσουν τον μεταξύ τους ανταγωνισμό, ενώ με τα σκαλίσματα ή τα ζιζανιοκτόνα που είναι ευκολότερος και συνήθως είναι ο αποτελεσματικότερος τρόπος, μειώνουν τον ανταγωνισμό από τα ζιζάνια.

Το πότισμα, η λίπανση και οι φυτορυθμιστικές ουσίες δημιουργούν τις προϋποθέσεις μεγάλων αποδόσεων ακόμα και σε τόπο και κλιματικές συνθήκες που τα φυτά από μόνα τους χωρίς την υποστήριξη των καλλιεργητών δεν θα κατάφερναν να ολοκληρώσουν ούτε τον βιολογικό τους κύκλο.

Όμως μεγάλη συνάθροιση φυτών ενός είδους αποτελεί πόλο έλξης για τους εχθρούς (έντομα, ακάρεα, νηματώδεις) και τις ασθένειες (μυκητολογικές, βακτηριολογικές, ιολογικές) του. Τα φυσικά 'ωφέλιμα' έντομα και μικροοργανισμοί που ζημιώνουν τα παθογόνα, ενώ στην φύση σε διάσπαρτα άτομα ενός είδους καταφέρνουν να κρατούν τα παθογόνα σε χαμηλά επίπεδα στις καλλιέργειες δεν τα καταφέρνουν.

Είναι φανερό πως με αυτή τη μορφή άσκησης της γεωργίας η χρήση των φυτοπροστατευτικών σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό είναι αναγκαία.

Το ερώτημα της φυτοπροστασίας

Η καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών απασχολούσε τους καλλιεργητές από την αρχαιότητα όπως φαίνεται σε συγγράμματα αρχαίων συγγραφέων. Ο Θεόφραστος ο Ερέσιος (370-286 π.Χ.) αναφέρει για τις κομμιώσεις Κερασίας – Δαμασκηνιάς, τις σκωριάσεις, τους άνθρακες τα ωίδια και τις επιδράσεις των μετεωρολογικών παραγόντων.

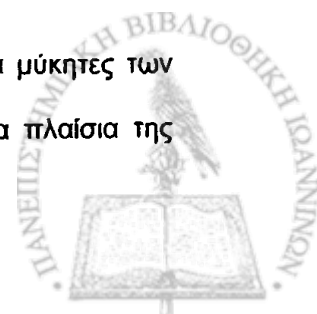
Τα σύνθετα ερωτήματα δεν απαντιούνται σε μια γενιά, ούτε από ένα άτομο.

Η εφεύρεση και η τελειοποίηση των οπτικών οργάνων τον 17^ο αιώνα, οδήγησε στην σταδιακή ανακάλυψη σημαντικών φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών.

Το 1665 ο Robert Hooke παρατήρησε τα σπόρια ενός Phragmide

Το 1729 ο Ιταλός βοτανικός Micheli καλλιεργεί σε θρεπτικά υποστρώματα μύκητες των γενών *Mucor*, *Botrytis*, *Aspegillus*.

Το 1753 ο Linnaeus θέτει την βάση της συστηματικής των μυκήτων στα πλαίσια της κατάταξης των φυτών και των ζώων.



Το 1842 ο Γερμανός von Martius, περιγράφει πρώτος την ασθένεια του περionoσπόρου της πατάτας, καθώς και τον μύκητα που θεωρεί υπαίτιο.

Το 1857 ο Speerschneider αποδεικνύει πειραματικά τον ρόλο του μύκητα στην ασθένεια του περionoσπόρου.

Το 1861-63 εργασίες του De Bary, επιβάλλουν οριστικά την άποψη πως οι μύκητες είναι τα αίτια και όχι το αποτέλεσμα της ασθένειας.

Το 1876 αποτελεί σταθμό στην μικροβιολογία, αφού καταρρίπτεται πλήρως από τον Paster η εσφαλμένη θεωρία της αυτομάτου γενέσεως (Μπαλής Κ.Δ., 1983).

Το 1876 ο Koch θέτει τις αναγκαίες αποδεικτικές αρχές της σχέσης ενός μικροοργανισμού προς μία δεδομένη ασθένεια.

Ενώ πολλές είναι ακόμα οι ανακαλύψεις που σταδιακά έγιναν με τις εργασίες των επιστημόνων που ασχολήθηκαν με την φυτοπροστασία, η απαρίθμηση τους ξεφεύγει από τον σκοπό της εργασίας μας. Σταματάμε την παρουσίαση των βημάτων της μικροβιολογίας και κατ' επέκταση της φυτοπαθολογίας το έτος 1876 διότι τότε ξεκαθαρίζει η άποψη ότι μικροοργανισμοί είναι υπεύθυνοι για τις ασθένειες των φυτών.

Και αφού ξεκαθαρίζει ο εχθρός αναζητούνται οι τρόποι εξόντωσης του.

Τα χημικά είναι τα πρώτα «όπλα» που αναδεικνύονται κατά των φυτοπαράσιτων.

Ιστορικά το 1851 ήταν η πρώτη φορά που χρησιμοποιήθηκε χημική ουσία εναντίων μυκήτων, το φυτοφάρμακο ήταν το θειασβέστιο. Μα σαν σημείο ορόσημο της φυτοπροστασίας θεωρείται το 1882, όταν ο Millarder σε μια περιοχή του Bordeaux (Γαλλία), παρατήρησε πως στις άκρες των αμπελιών που ήταν ψεκασμένες με μίγμα θειικού χαλκού και ασβέστη, για αποθάρρυνση των περαστικών από την κλοπή σταφυλιών, η προσβολή από τον περionoσπορο (*Plasmopara viticola*) ήταν μικρότερη (Γεωργόπουλος 1979).

Εναντίων των εντόμων χημικά στοιχεία είχαν χρησιμοποιηθεί πολύ νωρίτερα. Αναφέρονται πληροφορίες από το Όμηρο (1000 πΧ) ότι το θείο χρησιμοποιούταν ως καπνογόνο κλειστών χώρων, ενώ το 79 μΧ ο Πλινέος αναφέρει τη χρήση του αρσενικού για την καταπολέμηση εντόμων (Παπαδοπούλου – Μουρκίδου 1991).

Το 17^ο αιώνα άρχισε να χρησιμοποιείται το φυτικής προέλευσης εντομοκτόνο νικοτίνη. Το 1850 χρησιμοποιήθηκαν στην φυτοπροστασία δύο άλλα σημαντικά εντομοκτόνα, η ροτενόνη, εκχύλισμα από τις ρίζες του φυτού Derris και το πύρεθρο από τα άνθη ειδών χρυσανθέμων.

Το 1930 ανακαλύπτονται τα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα, ενώ το 1939 ανακαλύπτεται το DDT. Κατά τη διάρκεια του Β Παγκοσμίου πολέμου ανακαλύφθηκε η ομάδα των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων. Την ίδια περίοδο το 1943 ανακαλύπτεται η ζιζανιοκτόνος δράση της ομάδας των φαινοξυαλκανοεικών.

Από το 1950 και μετά έχουμε ταχεία αύξηση των χημικών ΦΠ.

Ταξινόμηση των ΦΠ

Τα ΦΠ ταξινομούνται σε μυκητοκτόνα – βακτηριοκτόνα, εντομοκτόνα - ακαρεοκτόνα – νηματοδοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, φυτορρυθμιστικές ουσίες και τρωκτικοκτόνα. Ο διαχωρισμός στις παραπάνω κατηγορίες στηρίζεται στο είδος της κύριας προστασίας που προσφέρει το κάθε σκεύασμα στην καλλιέργεια.

Τα ΦΠ κάθε κατηγορίας υποδιαιρούνται σε ακόμα μικρότερες ομάδες κυρίως βάση της χημικής ομάδας που ανήκουν και της θέσης που επηρεάζουν στους οργανισμούς στόχους (βλέπε πίνακες, 1-6).

Τα ΦΠ που δεν διαπερνούν την επιδερμίδα των φυτών ονομάζονται προστατευτικά (π.χ. mancozeb, τα περισσότερα χαλκούχα κτλ), ενώ αυτά που περνούν εντός των φυτών καλούνται διασυστηματικά (π.χ. foseetyl Al, metalaxyl). Μερικά από τα τελευταία έχουν συμπλασματική (κίνηση στον συμπλάστη που είναι το συνεχόμενο σύνολο των ζωντανών μερών του φυτού, δηλαδή οι πρωτοπλασματικές μεμβράνες, τα πλασμοδέσματα, το κυτόπλασμα και το φλοίωμα), άλλα έχουν αποπλάσματική (κίνηση στον αποπλάστη που είναι το μη συνεχόμενο σύνολο των μη ζώντων μερών του φυτού, δηλαδή τα κυτταρικά τοιχώματα, οι μεσοκυττάριοι χώροι και το ξύλωμα), ενώ ορισμένα μετακινούνται και με τους δυο τρόπους μέσα στο φυτό. Από τα ζιζανιοκτόνα που εφαρμόζονται στο φύλλωμα τα περισσότερα εμφανίζουν συμπλασματική κίνηση ενώ αυτά που εφαρμόζονται από το έδαφος έχουν αποπλάσματική κίνηση (Ελευθεροχωρινός 1996).



Χημικά ΦΠ

Ο συνολικός αριθμός εμπορικών σκευασμάτων χημικών ΦΠ, που κυκλοφορούσαν στην Ελλάδα το 2005 μαζί με τα τρωκτικοκτόνα αριθμούσαν τα 1700 (Γιαννοπολίτης 2005). Αν και οι δραστικές είναι πολλές δεν υπάρχουν εγκεκριμένες χρήσεις ώστε να καλύπτεται όλο το φάσμα των παθογόνων και εχθρών για κάθε καλλιέργεια. Για καλλιέργειες φυτών μικρότερης εμπορικής σημασίας όπως μαϊντανός, άνηθος, ρόκα κλπ υπάρχουν από ελάχιστες έως καμία δραστικές ουσίες και εγκεκριμένες χρήσεις.

Μυκητοκτόνα – Βακτηριοκτόνα

Τα εγκεκριμένα χημικά σκευάσματα με μυκητοκτόνο – βακτηριοκτόνο (ή βακτηριοστατική) δράση σε κυκλοφορία στη Ελλάδα το 2005 ήταν περίπου 600. Οι δραστικές ουσίες σε μίγμα ή μόνες που υπήρχαν στα παραπάνω φάρμακα ήταν 195 (Πίνακας 1, Γιαννοπολίτης 2005).

Εντομοκτόνα

Το 2005 κυκλοφορούσαν στην χώρα μας 490 εγκεκριμένα εντομοκτόνα χημικά σκευάσματα με 81 δραστικές ουσίες σε μίγμα ή μόνες τους (Πίνακας 2, Γιαννοπολίτης 2005).

Ακαρεοκτόνα

Το 2005 κυκλοφορούσαν στην χώρα μας 44 εγκεκριμένα ακαρεοκτόνα χημικά σκευάσματα με 13 δραστικές ουσίες σε μίγμα ή μόνες τους (Πίνακας 3, Γιαννοπολίτης 2005).

Νηματοδοκτόνα

Το 2005 κυκλοφορούσαν στην χώρα μας 25 εγκεκριμένα νηματοδοκτόνα χημικά σκευάσματα με 11 δραστικές ουσίες. (Γιαννοπολίτης 2005).

Ζιζανιοκτόνα

Η τρίτη σε πλήθος ομάδα των ζιζανιοκτόνων, το 2005 αριθμούσε στην χώρα μας 360 εγκεκριμένα ζιζανιοκτόνα χημικά σκευάσματα, με 139 δραστικές ουσίες σε μίγμα ή μόνες τους (Γιαννοπολίτης 2005).

Φυτορυθμιστικές ουσίες

Το 2005 κυκλοφορούσαν στην χώρα μας 103 εγκεκριμένα χημικά σκευάσματα φυτορυθμιστικών ουσιών, με 33 δραστικές ουσίες. (Γιαννοπολίτης 2005).



Πίνακας 1. Δραστικές ουσίες μυκητοκτόνων ΦΠ, ομαδοποιημένες κατά τρόπο δράσης και χημική ομάδα.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΧΗΜΙΚΗ ΟΜΑΔΑ - ΔΡΑΣΗ		ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ	ΧΡΗΣΗ
A	Μυκητοκτόνα μη εξειδικευμένης δράσης		
1	Θείο στοιχειακό S	Θείο	β
2	Ενώσεις Cu	Βορδιγάλειος πολτός, CuSO ₄ .5H ₂ O εξουδετερωμένος με Ca(OH) ₂	β
"	"	Βουργούνδιος πολτός, CuSO ₄ .5H ₂ O εξουδετερωμένος με NaCO ₃ .10H ₂ O	β
"	"	Οξυχλωριούχος Cu, Cu(OH) ₂ , CuCl ₂	β
"	"	Υδροξείδιο του Cu, Cu(OH) ₂	β
"	"	Υποξείδιο του Cu, Cu ₂ O	β
"	"	Χαλκούχα άλατα λιπάρων & ρητινικών οξέων	
3	Διθειοκαρβαμικά	mancozeb, maneb, propineb	
"	"	metiram, propined, thiram, ziram	
4	Διάφορες οργανικές ενώσεις	Κινόνες: dithianon, dichlone	
"	"	Φθαλιμίδια: captan, folpct, captafol	
"	"	Χλωρονιτρίλια: chlorothalonil	
"	"	Σουλφαμίδια: dichlofluanid, tolyfluanid	
"	"	Γουανιδίνες: dodine, quazatine, iminoctadine	
B	Μυκητοκτόνα αγνώστου τρόπου δράσης		
	Κυανοακεταμίδιο	cymoxanil	
	Φωσφονικές ενώσεις	fosetyl - Al	
	Καρβαμικά	iprovalicarb	
Γ	Παρεμποδιστές σύνθεσης νουκλεοξέων		
1	Φαινυλαμίδια (PA)	benalaxyl, metalaxyl, metalaxyl-M, ofurace	
2	Υδροξυπυριμιδίνες	Bupirimate, ethirimol	
3	Ισοξάζολες	hymexazol	
Δ	Παρεμποδιστές μίτωσης & κυτταροδιαίρεσης		
1	Μεθυλο-Βενζιμιδαζολο-Καρβαμικά (MBC)	benomyl, carbendazim, thiabendazole, thiophanate-methyl	
2	N-Φαινύλ-Καρβαμικά	diethofencarb	
3	Φαινυλουρίες	pencycuron	
Ε	Μυκητοκτόνα που δρουν στην αναπνοή		
1	Ομάδα των QOI (Quinone Outside azoxystrobin, kresoxim-methyl, trifloxystrobin, famoxadone Inhibitors)		
2	Καρβοξαμίδια	carboxin, flutolanil, oxycarboxin	
3	Διάφορες άλλες ενώσεις	dinocap, fluazinam	
Z	Παρεμποδιστές σύνθεσης αμινοξέων & πρωτεϊνών		
1	Ανιλινο-Πυριμιδίνες (AP)	cyprodinil, pyrimethanil	
2	Αντιβιοτικά	kasugamycin, streptomycin	
H	Παρεμποδιστές σύνθεσης λιπιδίων & μεμβρανών		
1	Δικαρβοξυμίδια	iprodione, procymidone, vinclozolin	
2	Αρωματικοί υδρογονάνθρακες (χλωροφαινόλια, νιτροανιλίνες) (AH)	Dichloran, quintozone(PCNB), tolclofos-methyl, etridiazole	
3	Διάφορες άλλες ενώσεις	propamocarb hydrochloride	
Θ	Παρεμποδιστές βιοσύνθεσης στερόλης SBI (Sterol Biosynthesis Inhibitors)		
1	Κλάση I, των DMIs (Demethylation Inhibitors)	Πιπεραζίνες: triforine	
		Πυριδίνες: pyrisenox	
		Πυριμιδίνες: fenarimol, nuarimol	
		Ιμιδαζόλες: imazalil, prochloraz	
		Τριαζόλες: bitertanol, bromuconazole, cyproconazole, defenoconazole, diniconazole, epoxiconazole, fenbuconazole, fluquinconazole, flusilazole, flutriafol, hexaconazole, myclobutanil, penconazole, propiconazole, tebuconazole, tetraconazole,	



		triadimefon, triadimenol	
2	Κλάση II των Αμινών	Μορφολίνες: dimethomorph, dodemorph, fenproprimorph, tridemorph	
		Σπυροκεταλαμίνες: spiroxamine	
3	Κλάση III των Υδροξυανιιδίων	fenhexamid	
I	Μυκητοκτόνα εξειδικευμένης δράσης		
1	Παρεμποδιστής σύνθεσης χιτίνης	polyoxin B	
2	Παρεμπόδιση σύνθεσης κυτταρικών τοιχωμάτων	dimethomorph	
3	Παρεμποδιστής σύνθεσης μελανίνης	tricyclazole	
4	Διεγέρτης της άμυνας του φυτού	acibenzolar-S-methyl	
5	Παρεμβαίνει στα αρχικά στάδια μετάδοσης μηνυμάτων σε κυτταρικό επίπεδο.	quinoxifen	
6	Παρεμβαίνει στη μετάδοση οσμωτικών μηνυμάτων σε κυτταρικό επίπεδο.	fludioxonil	
K	Βιολογικά μυκητοκτόνα Δρουν ανταγωνιστικά σε ορισμένα παθογόνα όπως ο βοτρυτής.	Με βάση τον μύκητα <i>Trichoderma harzianum</i>	β

β: Επιτρέπεται η χρήση τους στις βιολογικές καλλιέργειες



Πίνακας 2. Δραστικές ουσίες εντομοκτόνων ΦΠ, ομαδοποιημένες κατά τρόπο δράσης και χημική ομάδα (Γιαννοπολίτης 2005).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΧΗΜΙΚΗ ΟΜΑΔΑ - ΔΡΑΣΗ	ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ	ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ
A	Εντομοκτόνα με δράση στο νευρικό σύστημα.		
1	Παρεμποδιστές της ακετυλοχολινεστερασης		
α	Καρβαμιδικά	carbaryl, thiodicarb.	O
	Καρβαμιδικά	bendiocarb, benfuracarb, butocarboxin, butoxycarboxin, carbofuran, carbosulfan, formetanate, furathiocarb, methomyl, pirimicarb.	S
β	Οργανοφωσφορικά	azinphos-methyl, cadusafos, chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, diazinon, dichlorvos, ethoprop, fenitrothion, fenthion, malathion, methidathion, phosalone, phosmet, pirimiphos methyl.	O
	Οργανοφωσφορικά	dimethoate, fenamiphos, methamidophos	S
2	Παρεμποδιστές στην πύλη νατρίου		
α	Συνθετικές πυρεθρίνες (ή πυρεθρινοειδή)	acrinathrin, alpha cypermethrin, beta cyfluthrin, bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, esfenvalerate, fluvalinate, lambda cyhalothrin, permethrin, tefluthrin, zeta cypermethrin.	O
β	Οξαδιαζινών	indoxacarb	
3	Παρεμποδιστές στους υποδοχείς της ακετυλοχολίνης		
α	Νεονικοτινοειδή	acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid	S
β	Σπινουσύνες	spinosad	
4	Παρεμποδιστές στους υποδοχείς του GABA (Gamma-aminobutyric acid)		
α	Οργανοχλωριωμένα	endosulfan	
	Φενύλ-πυραζόλες	flupronil	
β	Αβερμεκτίνες	abamectin	
B	Ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων (IGRs, Insect Growth Regulators).		
1α	Παρεμποδιστές σύνθεσης χιτίνης τύπου O.		
	Παράγωγα βενζουλουρίας	disflubenzuron, flufenoxuron, hexaflumuron, lufenuron, teflubenzuron, triflumuron.	
1β	Παρεμποδιστές σύνθεσης χιτίνης τύπου I.		
		buprofezin	
1γ	Παρεμποδιστές σύνθεσης χιτίνης τύπου 2.		
		cyromazine	
2	Μιμητικά της ορμόνης νεότητας.		
		fenoxycard, pyriproxyfen	
3	Μιμητικά της εκδυσόνης.		
	Διακυλυδραζινών	tebufenozide	
	Φυτικής προέλευσης	azadirachtin A+B	S



Πίνακας 3. Δραστικές ουσίες ακαρεοκτόνων ΦΠ, ομαδοποιημένες κατά τρόπο δράσης και χημική ομάδα (Γιαννοπολίτης 2005).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΧΗΜΙΚΗ ΟΜΑΔΑ - ΔΡΑΣΗ	ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ
A	Οργανοκασσιτερούχα	azocyclotin, cyhexatin, fenbutatin oxide
B	Παράγωγα βενζοϋλουρίας	clofentezine flufenoxuron hexythiazox
Γ		dicofol
Δ	Δράση στο νευρικό σύστημα. Παρεμποδιστές στην πύλη νατρίου Συνθετικές πυρεθρίνες (ή πυρεθρινοειδή)	acrinathrin, bifenthrin, fenvalerate
Ε	Φορμαμιδίνες	amitraz
Ζ		propargite
Η	Δράση στο νευρικό σύστημα. Παρεμποδιστές της ακετυλοχολινεστερασης Οργανοφωσφορικά	dichlorvos, methamidophos, phosalone fenazaquin, fenpyroximate, pyridaben, tebufenpyrad
Θ		

Η ταξινόμηση είναι με βάση το <<IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) Mode of Action Classification May 2005>>.

Πίνακας 4. Δραστικές ουσίες νηματωδοκτόνων ΦΠ, ομαδοποιημένες κατά τρόπο δράσης και χημική ομάδα ((Γιαννοπολίτης 2005).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΧΗΜΙΚΗ ΟΜΑΔΑ	ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ
A	Πτητικά νηματωδοκτόνα Αλογονωμένοι υδρογονάνθρακες	1,3 dichloropropene, chloropicrin
B	Νηματωδοκτόνα που ελευθερώνουν πτητικές ενώσεις Ενώσεις που ελευθερώνουν ισοθειοκυανικό μεθύλιο Ενώσεις που ελευθερώνουν διθειάνθρακα	dazomet, metam, potassium N-hydroxymethyl-N-methyldithiocarbamate sodium tetrathiocarbonate
Γ	Μη πτητικά νηματοδοκτόνα Καρβαμιδικά Οργανοφωσφορικά	aldicarb, carbofuran, carbosulfan, oxamyl cadusafos, ethoprop, fenamiphos, fosthiazate



Πίνακας 5. Δραστικές ουσίες ζιζανιοκτόνων ΦΠ, ομαδοποιημένες κατά τρόπο δράσης και χημική ομάδα (Γιαννοπολίτης 2005).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΧΗΜΙΚΗ ΟΜΑΔΑ - ΔΡΑΣΗ	ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ
A	Εκλεκτικά αγρωστωδοκτόνα	
<i>Παρεμποδιστές του ενζύμου καρβοξυλάση του ακετυλο-συνενζύμου A (ACCase inhibitors) και σταματούν τη σύνθεση των λιπαρών οξέων.</i>		
1	Αρυλοξυφαινοξυ-προπιονικά οξέα (Ομάδα των -fops)	clodinafop propargyl, cyhalofop butyl, diclofop methyl, fenoxaprop-p-ethyl, fenoxaprop-p-ethyl, haloxyfop-r-methyl, proaquizafop, quizalofop-p-ethyl.
2	Παράγωγα κυκλοεξανεδιόνης ή οξύμες (ομάδα των -dims)	clethodim, cycloxydim, tralkoxydim
B	Παρεμποδιστές του ενζύμου ALS (acetolactate synthase, οξείκογαλακτική συνθετάση).	
<i>Σταματούν τη σύνθεση τριών απαραίτητων αμινοξέων (λευκίνη, ισολευκίνη, βαλίνη), με αποτέλεσμα να σταματά η ανάπτυξη των ζιζανίων.</i>		
1	Σουλφονουρίες	azimsulfuron, bensulfuron, chlorsulfuron, foramsulfuron, iodosulfuron, nicosulfuron, rimsulfuron, thifensulfuron, triasulfuron, tribenuron, triflusulfuron.
2	Ιμιδαζολινόνες	imazamethabenz, imazamox
3	Τριαζολοπυριμιδίνες	florasulam, metosulam
Γ	Παρεμποδιστές της φωτοσύνθεσης στο Φωτοσύστημα II.	
<i>Εμποδίζουν τη φυσιολογική ροή των ηλεκτρονίων στο Φωτοσύστημα II</i>		
1	Υποκατηγορία Τριαζινών	
α	Τριαζίνες	simazine, terbuthylazine, prometryn
β	Τριαζινόνες	metamitron, metribuzin
γ	Ουρακίλες	lenacil, terbacil
δ	Πυριδαζινόνες	chlorigazon
ε	Φαινυλο-καρβαμιδικά	desmedipham, phenmedipham
2	Υποκατηγορία Φαινυλουρίας	
α	Παράγωγα φαινυλουρίας	diuron, fluometuron, isoproturon, linuron
β	Αμίδια	propanil
3	Υποκατηγορία Βενζονιτρίλων	
α	Βενζονιτρίλια	bromoxynil, ioxynil
β	Βενζοθειοδιαζινόνες	bentazone
γ	Φαινυλοπυριδαζίνες	pyridate
Δ	Παρεμποδιστές της φωτοσύνθεσης στο φωτοσύστημα I.	
<i>Εκτρέπουν τη κανονική ροή των ηλεκτρονίων από το Φωτοσύστημα I προς το οξυγόνο, οδηγώντας στην παραγωγή τοξικών ριζών οξυγόνου.</i>		
1	Διπυριδύλια	diquat, paraquat
Ε	Παρεμποδιστές του ενζύμου PPO (protoporphyrinogen oxidase).	
<i>Το ένζυμο αυτό καταλύει την παραγωγή προτοπορφυρίνης, που είναι απαραίτητη για τη βιοσύνθεση της χλωροφύλλης και των κυτοχρωμάτων.</i>		
1	Διφαινυλικοί αιθέρες	oxyfluorfen
2	Οξαδιαζόλες	oxadiazon
3	Τριαζολινόνες	carfentrazone-ethyl
Z	Παρεμποδιστές βιοσύνθεσης καροτινοειδών.	
<i>Υπάρχουν τρεις υποκατηγορίες παρεμποδιστών, ανάλογα με το στάδιο (ένζυμο) της διαδικασίας βιοσύνθεσης στο οποίο ασκούν τη δράση τους.</i>		
1	Αναστολείς του ενζύμου PDS (αποκορεσμού του φυτοενίου, phytoene desaturase)	



α	Διάφορες χημικές ομάδες	diflufenican, fluorochloridone
2	Αναστολείς του ενζύμου 4-HPPD (διοξυγενάση του 4-υδροξυ-φαινυλο-σταφυλικού οξέος, 4-hydroxy-phenyl-pyruvate dioxygenase).	
α	Τρικετόνες	mesotrione, sulcotrione
β	Ισοξαζόλες	isoxaflutole
3	Αναστολείς σε άγνωστο σημείο.	
α	Τριαζόλες	amitrole
β	Ισοξαζολιδόνες	clomazone
γ	Διφαινυλικοί αιθέρες	aclonifen
H	Παραμποδιστές του ενζύμου EPSPS (enol-pyruvyl shikimic acid phosphate synthase, συνθετάση του φωσφο-ενολο-πυρουβυλσικιμικού οξέος). <i>Το ένζυμο αυτό συμμετέχει στη βιοσύνθεση των απαραίτητων για τα φυτά αμινοξέων (τυροσίνη, τρυπτοφάνη, φαινυλανίνη)</i>	
1	Γλυκίνες	glyphosate, glyphosate trimesium (sulfosate)
Θ	Παραμποδιστές του ενζύμου GS (glutamine synthetase, συνθετάση της γλουταμίνης). <i>Αναστέλλουν τη δράση της GS ενός ενζύμου απαραίτητου στα φυτά για την αφομοίωση της αμμωνίας.</i>	
1	Φωσφινικά οξέα	glufosinate
I	Παραμποδιστές της μίτωσης. <i>Παραμποδίζουν τον κολυμερισμό της τουμπουλίνης (tubulin) και τον σχηματισμό της ατράκτου κατά τη μίτωση.</i>	
1	Δινιτροανιλίνες	benfluralin, ethalfluralin, pendimethalin, trifluralin
2	Βενζαμίδια	propyzamide
3	Παράγωγα βενζοϊκού οξέως	Chlorthal-dimethyl
K	Παραμποδιστές της κυτταροδιαίρεσης. <i>Αναστέλλουν τις κυτταροδιαίρεσεις χωρίς να παρεμποδίζουν τον σχηματισμό της ατράκτου κατά τη μίτωση.</i>	
1	Χλωρο-ακεταμίδια	acetochlor, alachlor, dimethenamid, propachlor, s-metolachlor
2	Ακεταμίδια	napropamide
3	Οξυ-ακεταμίδια	flufenacet
Λ	Παραμποδιστές βιοσύνθεσης λιπιδίων <i>Χωρίς να παρεμβαίνουν στο ένζυμο καρβοξυλάση του ακετυλο-συνενζύμου Α (ACCase).</i>	
1	Θειοκαβαμιδικά	molinate, pebulate, prosulfocarb, thiobencarb
2	Βενζοφουράνια	ethofumesate
M	Ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης (ορμονικά).	
1	Φαινοξυ-αλκανοϊκά παράγωγα	2,4-D, MCPA, mecoprop, mecoprop-p
2	Παράγωγα βενζοϊκού οξέος	dicamba
3	Παράγωγα πυριδινοκαρβοξυλικού οξέος	clopyralid, triclopyr
4	Παράγωγα κινολινοκαρβοξυλικού οξέος	quinclorac

Η κατάταξη είναι σύμφωνα με την πρόταση της ειδικής διεθνούς επιτροπής (Herbicide Resistance Action Committee, 2005)
 Classification of Herbicides According to Mode of Action (2005)
www.plantprotection.org/HRAC/



Πίνακας 6. Δραστικές ουσίες φυτορυθμιστικών ουσιών ΦΠ, ομαδοποιημένες κατά τρόπο δράσης και χημική ομάδα (Γιαννοπολίτης 2005).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΧΗΜΙΚΗ ΟΜΑΔΑ - ΔΡΑΣΗ	ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ
A	Συνθετικές αυξίνες	Indolobutyric acid (IBA), PCPA, α-naphthylacetic acid (NAA), β-naphthylxyacetic acid (β-NOA)
B	Γιββερελλίνες	gibberellic acid, gibberellin
Γ	Ενώσεις αιθυλενίου	ethephon
Δ	Αντιφυτρωτικές ενώσεις	chlorpropham, maleic hydrazine
Ε	Επιβραδυντές αύξησης	chlormequat chloride, daminozide, mepiquat, paclobutrazol, prohexadione calcium
Z	Αποφυλλωτικά	carfentrazone ethyl, dimethipin, thidiazuron
H	Αποξηραντικά κορυφής βλαστών Λιπαρές αλκοόλες Δινιτροανιλίνες	n-decanol, octanol butralin, pendimethalin
Θ	Γενικά αποξηραντικά	diquat, paraquat, χλωρικό μαγνήσιο
I	Γενικοί διεγέρτες	sodium nitrophenolate, sodium nitroguaiacolate, thiamine, nicotinic acid, L-cysteine, folic acid.



Βιολογικά ΦΠ

Η ανάγκη για μεγαλύτερη εξειδίκευση στην καταπολέμηση μόνο του φυτοπαθογόνου οργανισμού, καθώς και η απαίτηση για μικρότερη επιβάρυνση του περιβάλλοντος και των προϊόντων με χημικά, οδήγησε την έρευνα στην εύρεση βιολογικών παραγόντων καταπολέμησης παθογόνων και εχθρών των φυτών. Πολλά από τα παραπάνω κυκλοφορούν με μεγάλη επιτυχία στην αγορά. Σε αυτά συγκαταλέγονται ιοί που προσβάλλουν έντομα (*Granulosis virus*), βακτήρια που προσβάλλουν έντομα (*Bacillus thuringensis*), μύκητες που προσβάλλουν έντομα (*Bauveria basiana*), μύκητες που ανταγωνίζονται φυτοπαθογόνους μύκητες (*Trichoderma harzianum*), έντομα παρασιτοειδή (*Aphidius colemani*, *A. Ervi*) και αρπακτικά εντόμων (*Orius sp.*), νηματώδεις παράσιτα εντόμων, ακάρεα αρπακτικά εντόμων (*Phytoseilus persimilis*) κλπ.

Τυποποίηση των ΦΠ

Βοηθητικές ουσίες

Το έτοιμο για χρήση ΦΠ περιέχει εκτός της δραστικής ουσίας και μια σειρά άλλες ουσίες που καλούνται βοηθητικές. Οι βοηθητικές ουσίες χρησιμεύουν ως διαλύτες, φορείς ή αραιωτικά της δραστικής ουσίας ή ως γαλακτοματοποιητές, διαβρεκτικά, επικολλητικά, αντιπηκτικά, αντιαφρώδη, συνδετικά, ρυθμιστικά, σταθεροποιητικά, διασπορικά κλπ. Οι βοηθητικές ουσίες έχουν καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα του ΦΠ (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου 1991). Η επιλογή τους προς χρήση σε ένα ΦΠ σχετίζεται με:

Τις φυσικοχημικές ιδιότητες της δ.ο. (σημείο τήξης, διαλυτότητα στο νερό ή σε διάφορους οργανικούς διαλύτες, πτητικότητα, υδρολυτική και θερμική σταθερότητα).

Τις βιολογικές ιδιότητες της δ.ο. (εκλεκτικότητα, στόχος)

Τις τοξικολογικές ιδιότητες (φυτοτοξικότητα, τοξικότητα σε θηλαστικά, μέλισσες, ψάρια, ωφέλιμα έντομα κλπ).

Τον τόπο και τρόπο της εφαρμογής του ΦΠ (εφαρμογή στο έδαφος προφυτρωτικά ή μεταφυτρωτικά, εφαρμογή στο φύλλωμα, υδρόφιλη ή υδρόφοβη επιφάνεια φύλλων, σκόνισμα ή ψεκασμός κλπ.).

Καλλιεργητικές και εδαφοκλιματικές συνθήκες.

Οργανικοί διαλύτες

Στις περιπτώσεις που η δ.ο. δεν έχει επαρκή διαλυτότητα στο νερό χρησιμοποιούνται για την διάλυση της οργανικοί διαλύτες πχ. ξυλόλη, ξυλένιο, κυκλοεξάνιο. Το είδος των χρησιμοποιούμενων οργανικών διαλυτών έχει μεγάλη επίδραση όχι μόνο στην αποτελεσματικότητα του ΦΠ, αλλά και στην τοξικολογική συμπεριφορά της δ.ο., επειδή αυξάνει την ταχύτητα διείσδυσης σε λιπόφιλες επιφάνειες οργανισμών (Ορφανίδη 1968).

Γαλακτωματοποιητικοί παράγοντες.

Η σταθερότητα του παραγόμενου γαλακτώματος της ανάμειξης μετά από ανάδευση δύο μη μιγνυόμενων ετερογενών υγρών (πχ. υδρόφοβο ΦΠ στο νερό στην ανάμειξη πριν την εφαρμογή με ψεκασμό) επιτυγχάνεται με την χρήση των γαλακτωματοποιητών.

Η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή θα πρέπει να είναι αρκετή ώστε να εξασφαλίσει κάποια σχετική σταθερότητα του γαλακτώματος κατά την διάρκεια του ψεκασμού, όχι όμως πολύ μεγάλη ώστε να καταφέρει να σπάσει το γαλάκτωμα μετά την εφαρμογή του έτσι ώστε το εξατμιζόμενο νερό να αφήσει την δ.ο. του ΦΠ πάνω στην επιφάνεια του φυτού υπό μορφή λεπτής μεμβράνης (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου Ε. 1991).

Οι γαλακτωματοποιητές είναι επιφανειακώς ενεργές ουσίες που το μόριο τους περιέχει δύο τμήματα, ένα μερικώς υδρόφιλο και ένα μερικώς λιπόφιλο. Ως γαλακτοματοποιητικοί παράγοντες διακρίνονται σε ανιοντικούς, κατιοντικούς, μη ιοντικούς, αμφοτερικούς και τους αδιάλυτους στο νερό.



Διαβρεκτικοί και εξαπλωτικοί παράγοντες

Με τους διαβρεκτικούς παράγοντες επιδιώκεται η άμεση και πλήρη επαφή (χωρίς την παρεμβολή διαχωριστικού στρώματος αέρα) των σταγόνων του ψεκαστικού υγρού με τις ισχυρά υδρόφοβες επιφάνειες των φυτών και των καταπολεμούμενων εντόμων και ακαρέων.

Οι εξαπλωτικοί παράγοντες επιτρέπουν την μέγιστη δυνατή εξάπλωση των σταγόνων του ψεκαστικού υγρού πάνω στις υδρόφοβες επιφάνειες της επιδερμίδας των φυτών, με αποτέλεσμα την καλύτερη κάλυψη τους.

Οι διαβρεκτικοί και εξαπλωτικοί παράγοντες όπως και η προηγούμενη κατηγορία των γαλακτωματοποιητών είναι επιφανειακώς ενεργές ουσίες. Για αυτό τον λόγο δεν είναι πάντοτε ευχερής η διάκριση των παραπάνω κατηγοριών και είναι δυνατόν ουσίες που χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητικές να δρουν και ως διαβρεκτικές και εξαπλωτικές.

Προσκολλητικοί παράγοντες

Με του προσκολλητικούς παράγοντες επιδιώκεται η αύξηση της ικανότητας συγκράτησης των σταγόνων του ψεκαστικού υγρού ή της σκόνης επίτασης πάνω στην επιφάνεια των φυτών και των αρθρόποδων παρασίτων.

Παράγοντες σταθεροποίησης των εναιωρημάτων σκόνης.

Στην κατηγορία αυτή βρίσκονται διάφορα προστατευτικά κολλοειδή που επιβραδύνουν την ταχύτητα κατακρήμνισης των σκευασμάτων βρέξιμης σκόνης κατά την αραίωση τους σε νερό ή παρεμποδίζουν τον σχηματισμό συσσωματωμάτων. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν πολλές διαφόρου χημικής σύνθεσης ουσίες όπως, προϊόντα γάλακτος, κόμμεα, ρητίνες, ζελατίνη, στεατικό ασβέστιο, στεατικό νάτριο, άμυλο, σαπούνι, δεξτρίνες, μεθυλοκυτταρίνη, καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη και χρησιμοποιούνται σε αναλογία 0,3-3% (Ορφανίδη 1968).

Η αύξηση της αιώρησης των σκευασμάτων βρέξιμης σκόνης με την χρήση των σταθεροποιητών οφείλεται, είτε στην προσρόφηση τους πάνω στην επιφάνεια της σκόνης κάνοντάς την να έχει μικρότερο ειδικό βάρος από το υγρό μέσο, είτε στην αύξηση του ιξώδους του υγρού μέσου.

Αραιωτικές αδρανείς σκόνες

Στα σκευάσματα με την μορφή βρέξιμης σκόνης και σκόνης επίτασης η δραστική ουσία αφού διαλυθεί σε οργανικό διαλύτη ψεκάζεται πάνω σε αδρανείς αραιωτικές σκόνες. Στη συνέχεια προσθέτονται οι προσκολλητικές ουσίες. Οι σκόνες πρέπει να είναι λεπτόκοκκοι ώστε να διέρχονται από κόσκινα με οπές 44 μm .

Οι ιδιότητες των αραιωτικών αδρανών σκόνων, μερικές εκ των οποίων παραθέτουμε στον παρακάτω πίνακα, επιδρούν σημαντικά στις βιολογικές και υπόλοιπες ιδιότητες των ΦΠ που τις περιέχουν.

Η υγροσκοπικότητα των αδρανών σκόνων επιδρά αρνητικά στο ΦΠ και με την αύξηση της συσσωμάτωσης κατά την αποθήκευση καθώς και με την γρήγορη υδρόλυση ευπαθών δ.ο..

Το ειδικό βάρος επιδρά στην αιώρηση των βρέξιμων σκόνων μέσα στο ψεκαστικό υγρό σύμφωνα με τον νόμο του Stokes. Ενώ το φαινόμενο ειδικό βάρος ενδιαφέρει από άποψης συσκευασίας και χώρου αποθήκευσης των ΦΠ.

Η σκληρότητα ενδιαφέρει διότι συντελεί στην ταχύτερη φθορά των ψεκαστικών μέσων. Η γη των διατόμων θεωρείται ιδιαίτερα σκληρά σε σχέση με τον τάλκη και τον βεντονίτη.

Το pH των αραιωτικών αδρανών σκόνων σε πολλές περιπτώσεις αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την δυνατότητα χρήσης μίας σκόνης ως φορέα μιας δ.ο.. Για παράδειγμα αλκαλικές σκόνες του βετονίτη ή του οξειδίου του ασβεστίου μπορούν να επιδράσουν στην ταχύτητα διάσπασης ορισμένων εντομοκτόνων που υδρολύονται γρήγορα σε αλκαλικό περιβάλλον όπως το Dimethoate.

Η λεπτότητα των κόκκων έχει σημαντική επίδραση στην αιώρηση των βρέξιμων σκόνων καθώς και στην αποτελεσματικότητα των ΦΠ στον κύριο στόχο τους.



Πίνακας 7. Χημικός τύπος και ιδιότητες αδρανών αραιωτικών σκονών.

ΕΙΔΟΣ ΑΡΑΙΩΤΙΚΗΣ ΑΔΡΑΝΗΣ ΣΚΟΝΗΣ	ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΥΓΡΟΣΚΟΠΙΚΟΤΗΤΑ	ΕΙΔΙΚΟ ΒΑΡΟΣ ΚΟΚΚΩΝ	ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΕΙΔΙΚΟ ΒΑΡΟΣ lb/ft ³	pH
Γη διατόμων (οξείδιο του πυριτίου)	SiO ₂		2,0-2,3	9-11	5-8 συνήθως 7
Καολινίτης (Κιμωλία)	Al ₂ (Si ₂ O ₅)(OH) ₄	+	2,6	30-35	5-6
Πυροφυλλίτης	Al ₂ (Si ₄ O ₁₀)(OH) ₂			28	6-7
Ατταπουλγίτης	Mg ₃ Si ₄ O ₂₀ (OH) ₂ ·8H ₂ O		2,6	27-31	7
Γύψος	CaSO ₄ ·2H ₂ O	+	2,3	49-57	7-8
Τάλκης	Mg ₃ (Si ₄ O ₁₀)(OH) ₂	-		30-52	6-10
Ανθρακικό ασβέστιο	CaCO ₃		2,7	48-67	8-9
Βεντονίτης (Μοντοριλονίτης)	Al ₂ (Si ₄ O ₁₀)(OH) ₂	+			9-10
Οξείδια ασβεστίου με υδροξείδιο του ασβεστίου	CaO & Ca(OH) ₂		2,1-2,2		12-13
Οργανικές αδρανείς σκόνες, όπως κελύφη καρυδιών ή αμυγδάλων					

Μορφές τυποποιημένων ΦΠ

Ξηρά σκευάσματα

Σκόνη D, DP, P (dust, dustable powder, powder)

Στην τυποποίηση στη μορφή σκόνης, αναμειγνύεται η δραστική ουσία με αδρανείς αραιωτικές σκόνες όπως: τάλκης, πυροφυλλίτης, μπετονίτης, ατταπουλγίτης ή οργανικά σώματα. Η επιλογή του φορέα μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τις ιδιότητες του ΦΠ. Αν ο χρησιμοποιούμενος φορέας δημιουργεί αλκαλικές συνθήκες στο μικροπεριβάλλον της δ.ο. του ΦΠ μπορεί να επιταχύνει την διάσπαση της δραστικής ουσίας.

Στα ΦΠ σε μορφή σκόνης η περιεκτικότητα σε δ.ο. κυμαίνεται από 0,1-10% (β/β). Το μέγεθος των κόκκων βρίσκεται μεταξύ 1 και 150 μm. Ο μικρότερος διαμερισμός ενώ αυξάνει την απολεσματοκτικότητα του ΦΠ, ενέχει τον κίνδυνο της εναπόθεσης σε περιοχές εκτός στόχου. Οι σκόνες χρησιμοποιούνται σε μικρή κλίμακα για επικαλύψεις σπόρων πριν τη σπορά, επιπασσεις φυτών, για οικιακή χρήση καθώς και σε περιοχές που υπάρχει έλλειψη νερού.

Κοκκώδες G (Granular)

Σε αυτή τη μορφή τυποποιούνται συνήθως τα πολύ τοξικά εντομοκτόνα εδάφους και μερικά ζιζανιοκτόνα. Αποτελείται από κόκκους αδρανούς υλικού με μεγάλη προσροφητική ικανότητα (π.χ. ατταπουλγίτης, καολινίτης) εμποτισμένους ή επενδυμένους με την δ.ο. (Ελευθεροχωρινός 1996).

Με αυτόν τον τρόπο αποφεύγεται η πρόσληψη φαρμάκου από τον καλλιεργητή και η ρύπανση της γύρω περιοχής εκτός στόχου, από την αιώρηση και εναπόθεση ΦΠ σε μορφή λεπτής σκόνης.

Μια ειδική κατηγορία κοκκωδών είναι αυτή των κοκκωδών βραδείας αποδέσμευσης. Σε αυτή την περίπτωση οι κόκκοι επικαλύπτονται με διάφορες ουσίες (πλαστικά κλπ.) ώστε να ρυθμίζεται ή ταχύνεται ελευθέρωση της δ.ο.. Με αυτό τον τρόπο η δ.ο. προστατεύεται από παράγοντες αποδόμησης καθώς και από την προσρόφηση στα κολλοειδή του εδάφους.

Για την παρασκευή των κόκκων, η δ.ο. διαλύεται σε κάποιον διαλύτη και στη συνέχεια με το διάλυμα αυτό εμποτίζεται ο φορέας που συνήθως είναι ο ατταπουλγίτης ή ο καολινίτης.

Το μέγεθος των κόκκων χαρακτηρίζεται με δύο αριθμούς π.χ. 30/60 που δηλώνει πως το μεγαλύτερο μέρος των κόκκων περνά από κόσκινο No 30 (30 οπές ανά τετραγωνική ίντσα) ενώ ένα πολύ μικρό ποσοστό κόκκων θα περάσει από κόσκινο No 60.

Σε κοκκώδη μορφή τυποποιούνται πολλά εντομοκτόνα εδάφους και ελάχιστα ζιζανιοκτόνα. Εφαρμόζονται συνήθως με ενσωμάτωση πριν την σπορά ενώ σε μερικές καλλιέργειες



εφαρμόζεται η μισή πριν τη σπορά και η υπόλοιπη στο σκάλισμα. Η χρήση αυτών των ΦΠ από την σκοπιά της φυτοπροστασίας στοχεύει στην επίτευξη στο έδαφος μίας αρχικής συγκέντρωσης δ.ο. ικανή να συγκρατήσει τα φυτοπαθογόνα ή τα ζιζάνια σε επίπεδα που δεν επηρεάζουν την παραγωγή, ενώ παράλληλα η σταδιακή αποδόμηση της δ.ο. να επιτρέψει την συγκομιδή ενός προϊόντος χωρίς υπολείμματα ή με υπολείμματα κάτω από τα επιτρεπτά όρια.

Δολώματα

Δολώματα είναι δ.ο. επικαλυμμένες επάνω σε εδώδιμα συστατικά (πίτουρα, σπόρους σταριού, αραβόσιτου κλπ.) για την καταπολέμηση εντόμων εδάφους, ακρίδες, μυρμήγκια, τρωκτικά κλπ.

Καπνογόνα ξηρά

Σε μορφή πετρεσμμένης πελλέτας τυποποιούνται τα φωσφίδια του αργιλίου μαζί με ανθρακικό αμμόνιο. Οι πελλέτες με την έκθεση τους σε υγρασία ελευθερώνουν καπνογόνο φωσφίνη που σκοτώνει τα έντομα σε αποθήκες σιτηρών κλπ.

Σκευάσματα που διαλύονται σε νερό και εφαρμόζονται με ψεκασμούς

Διάλυμα S, LC, SL (Solution, Liquid Concentrate, Soluble Liquid)

Σκεύασμα υγρό αποτελούμενο από την δ.ο. διαλυμένη σε κατάλληλο οργανικό διαλύτη και πιθανόν άλλες βοηθητικές ουσίες. Εφαρμόζεται μετά από αραίωση με νερό.

Υδατικό διάλυμα AS (Aqueous Solution)

Είναι πυκνό διάλυμα της δ.ο. σε νερό. Οι δ.ο. με μεγάλη υδατοδιαλυτότητα μπορούν να τυποποιηθούν σε μορφή απλών υδατοδιαλυμάτων. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα με Na, K και αμίνες άλατα των ζιζανιοκτόνων MCPA και 2,4-D.

Υδατοδιαλυτή σκόνη WSP, SP (Water Soluble Powder, Soluble Powder)

Σκεύασμα του οποίου η δ.ο. είναι σκόνη διαλυτή στο νερό. Το σκεύασμα μπορεί να περιέχει και μη διαλυτές αδρανείς ουσίες. Εφαρμόζεται μετά από αραίωση του με νερό σαν πραγματικό διάλυμα της δ.ο..

Βρέξιμη σκόνη WP, PM (wattable powder, poudre mouillable)

Τα σκευάσματα αυτής της μορφής περιέχουν τα μικροτεμαχισμένα σωματίδια της δ.ο. και κάποια αδρανή αραιωτική σκόνη (π.χ. ατταπουλγίτης, каолинίτης, γη διατόμων, τάλκης) αναμιγμένα ή εμποτισμένα με διαβρεκτικές ή επιφανειακά ενεργές ουσίες. Η συγκέντρωση της δ.ο. στις βρέξιμες σκόνες μπορεί να φθάσει μέχρι 75% κατά βάρος.

Όταν η δ.ο. είναι σε υγρή μορφή εμποτίζεται ή προσροφάται στα στερεά αδρανή υλικά, ενώ όταν αυτή είναι στερεά αναμιγνύεται με το αδρανές υλικό (Ελευθεροχωρινός Γ. Η. 1996). Το προϊόν που προκύπτει με τους δύο τρόπους αναμιγνύεται ή εμποτίζεται με τις βοηθητικές ουσίες και αλέθεται για να αποκτήσει την επιθυμητή λεπτότητα και ομοιογένεια.

Αυτή η τυποποίηση ενδείκνυται για δ.ο. που είναι δυσδιάλυτες στο νερό και σε οργανικούς διαλύτες.

Θεωρείται καλής ποιότητας μία βρέξιμη σκόνη όταν το μεγαλύτερο ποσοστό των σωματιδίων της έχει διάμετρο μικρότερη από 5 μm ενώ όλα τα σωματίδια πρέπει να περνούν από κόσκινο με διάμετρο οπών 44 μm.

Τα περισσότερα μυκητοκτόνα και αρκετά ζιζανιοκτόνα τυποποιούνται σε αυτή την μορφή.

Κατά την παρασκευή του ψεκαστικού διαλύματος θα πρέπει η βρέξιμη σκόνη να διασπείρεται εύκολα στο νερό και να μην σχηματίζει συσσωματώματα.



Εναιώρημα συμπυκνωμένο SC, FL (Suspension Concentrate, Flowable Concentrate)

Σκεύασμα υγρό. Αποτελείται από τα λεπτά τεμαχίδια (μέγεθος 1-2 μm) της δ.ο. και των βοηθητικών ουσιών διασπαρμένα στο νερό, έτσι που να σχηματίζεται πυκνό αιώρημα (Ελευθεροχωρινός 1996). Εφαρμόζεται μετά από αραιώση του με νερό.

Βρέξιμοι κόκκοι WG, WDG (Water Granules, Water Dispersible Granules)

Περιέχουν σε μικρούς κόκκους τη δ.ο., τα αδρανή υλικά και τις βοηθητικές ουσίες. Ο τύπος αυτός αναπτύχθηκε για να αντικαταστήσει τις βρέξιμες σκόνες από τις οποίες πλεονεκτεί διότι, δεν δημιουργεί σκόνη κατά την προετοιμασία του ψεκαστικού υγρού, έχει καλύτερη ρευστότητα και δοσομέτρηση λόγω σταθερού όγκου.

Πυκνά γαλακτωματοποιήσιμο διάλυμα, EC (emulsifiable concentrate)

Υγρό σκεύασμα αποτελούμενο από την δ.ο. διαλυμένη σε κατάλληλους οργανικούς διαλύτες (π.χ. ξυλένιο, κυκλοεξάνιο κλπ), γαλακτωματοποιητικούς παράγοντες και άλλες βοηθητικές ουσίες. Εφαρμόζεται μετά από αραιώση με νερό και δίνει σταθερό γαλάκτωμα.

Συνήθως τα πυκνά γαλακτωποιήσιμα σκευάσματα δίνουν γαλακτώματα του τύπου λάδι / νερό. Υπάρχουν όμως και αντίστροφα γαλακτώματα δηλαδή νερό/λάδι και έτσι τυποποιούνται κυρίως τα ζιζανιοκτόνα. Το γαλάκτωμα νερό/λάδι ΕΟ, είναι μη ομοιογενές υγρό που αποτελείται από μικρές σταγόνες υδατικής φάσης που περιέχουν την δ.ο. σε μια συνεχή οργανική φάση.

Αιώρημα μικροκαψουλών μεγέθους 2-10 μm CS, MC, ME (Capsule Suspension, Microcapsule Suspension, Microencapsulated formulation).

Η δ.ο. του ΦΠ μπορεί να περιβληθεί με ένα ζελατινώδες ή πολυμερές περίβλημα ώστε να ελέγχεται η ταχύτητα ελευθέρωσης της δ.ο. μέσω του πάχους του περιβλήματος και της δομής σχηματιζόμενης μικροκάψουλας. Οι μικροκάψουλες αιωρούνται σε νερό. Η μικροκάψουλα μπορεί να περιέχει υλικά που φιλτράρουν το υπερίσδεσ τμήμα του φάσματος της ηλιακής ακτινοβολίας ώστε να προστατεύεται από φωτοδιάσπαση η δ.ο. (π.χ. πυρεθρίνες).

Υπέρμικρου όγκου ULV (ultra low volume)

Είναι σκευάσματα με καθαρή (τεχνικά καθαρή) δ.ο. σε υγρή μορφή. Μία από τις χρήσεις των σκευασμάτων αυτών είναι κατά τους αεροψεκασμούς. Για την εφαρμογή τους απαιτείται ψεκαστικό μηχάνημα τύπου νεφελοψεκαστήρα που μπορούν να παράγουν σταγονίδια πάρα πολύ μικρού όγκου (διάμετρος σταγόνας < 50 μm).

Καπνογόνα

Είναι σκευάσματα είτε πτητικών υγρών και στερεών ουσιών ή στερεών ουσιών που με διάσπαση ή καύση ελευθερώνουν αέρια τα οποία χρησιμοποιούνται για απεντόμωση ή γενική απολύμανση, υλικού μέσα σε κλειστούς χώρους ή του εδάφους.

Αεροζόλ AE (aerosol)

Μικρά σωματίδια (0,1 – 1 μ) δ.ο. διαμερισμένη σε κάποιο υγροποιημένο αέριο πχ. φρέον. Σε αυτή την μορφή τυποποιούνται ΦΠ για οικιακή χρήση.

Λοιπά σκευάσματα

Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται οι δενδροκομικοί κηροί, ειδικά ΦΠ που χρησιμοποιούνται στην κτηνιατρική κλπ.



ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Επαφή του ΦΠ με το καλλιεργούμενο φυτό

Τα ΦΠ διαλυμένα τις περισσότερες φορές σε νερό, κατά τις εφαρμογές στο φύλλωμα των καλλιεργούμενων φυτών, φθάνουν πάνω στις εξωτερικές τους επιφάνειες με την μορφή μικρών σταγόνων. Μετά την πρόσκρουση των σταγονιδίων στην επιφάνεια των φυτών, κυρίως οι επιφανειακές τάσεις μεταξύ ψεκαστικού υγρού - επιφάνειας φυτού και ψεκαστικού υγρού - αέρα καθορίζουν την εξάπλωση των σταγονιδίων (Ορφανίδη 1968).

Μετά την εφαρμογή η διαλυμένη δραστική ουσία στο ψεκαστικό υγρό μαζί με τις βοηθητικές ουσίες του σκευάσματος έρχονται σε επαφή με την εφυμενίδα των φυτών.

Η εφυμενίδα είναι μια λεπτή, συνεχής όχι κυτταρική, ημιδιαπερατή μεμβράνη που καλύπτει εξωτερικά την επιδερμίδα των φύλλων και αποτελείται από κηρώδεις ουσίες και κυτίνη. Σχηματικά αναφέρεται πως η εφυμενίδα μοιάζει με σφουγγάρι, με σκελετό από την μερικώς υδρόφιλη κυτίνη και τους πόρους γεμάτους με υδρόφοβες κηρώδεις ουσίες που σε πολλά σημεία βγαίνουν στην επιφάνεια. Η εφυμενίδα είναι διαπερατή σε σημαντικό βαθμό και ο μηχανισμός είναι η διάχυση (Λόλας 2003).

Οι κηρώδεις ουσίες είναι εστέρες λιπαρών οξέων και αλκοολών, σχετικά μικρού μοριακού βάρους, χωρίς ενεργές ομάδες στις άκρες ($\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$).

Η κυτίνη είναι πολυμερισμένα οξέα και αλκοόλες μεγάλου μοριακού βάρους, περιέχει υδρόφιλες ομάδες $-\text{OH}$ και $-\text{COOH}$ καθώς και υδρόφοβες ομάδες $-\text{CH}_2$ και $-\text{CH}_3$. Οι υδρόφιλες ομάδες με την προσρόφηση μορίων νερού εξογκώνουν την κυτίνη σχηματίζοντας ένα συνεχές υδρόφιλο σύνολο που λέγεται υδάτινη οδός.

Η εφυμενίδα δημιουργείται μετά τον σχηματισμό των κυτταρικών τοιχωμάτων. Σχηματίζεται με συμπύκνωση και πολυμερισμό ενώσεων που εκκρίνονται από τα επιδερμικά κύτταρα.

Εφυμενίδα δεν σχηματίζεται στα επιδερμικά κύτταρα της ρίζας, οπότε το ΦΠ έρχεται αμέσως σε επαφή μαζί τους.

Είσοδος και μετακίνηση του ΦΠ στο καλλιεργούμενο φυτό

Η είσοδος και μετακίνηση των ΦΠ στα φύλλα

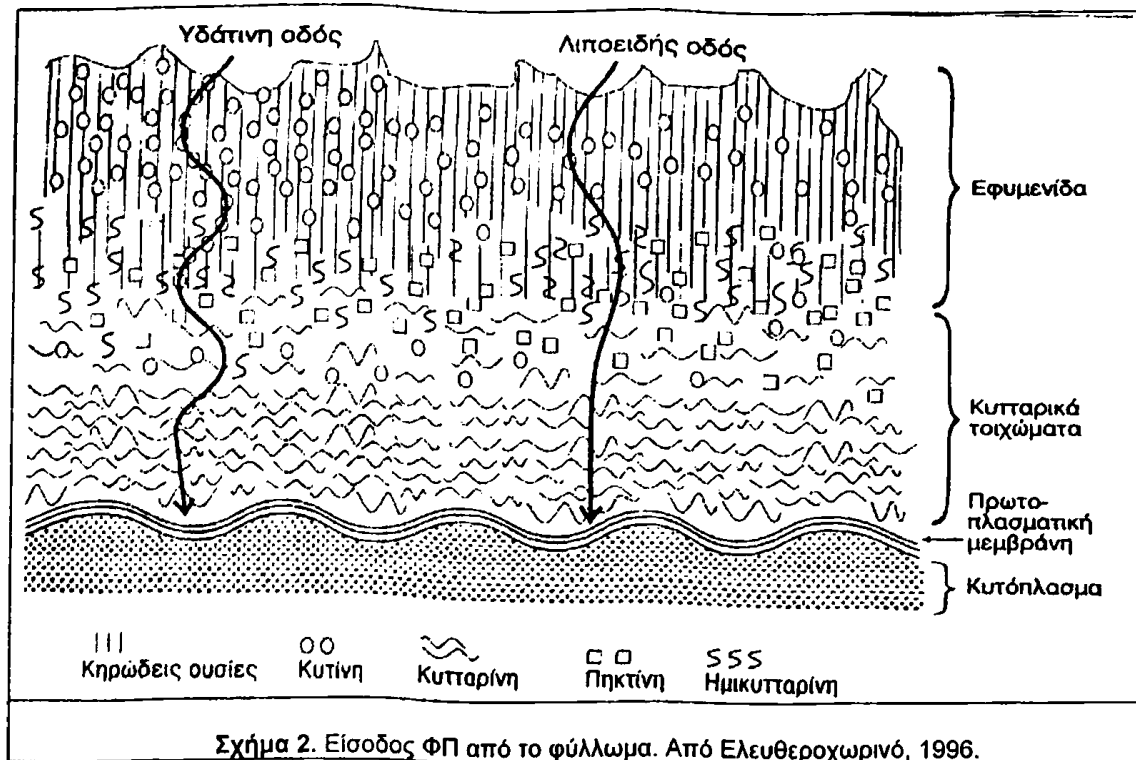
Οι κηρώδεις ουσίες αποτελούν σοβαρό εμπόδιο στην μετακίνηση πολικών ενώσεων προς τα κυτταρικά τοιχώματα και ευθύνονται για την εκλεκτικότητα πολλών ΦΠ σε διάφορες καλλιεργούμενα φυτά. Το είδος και η ποσότητα των κηρωδών ουσιών στην επιφάνεια των φυτών είναι διαφορετικό σε κάθε φυτικό είδος. Η παραγωγή των παραπάνω ουσιών επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, την ένταση του φωτός, την ταχύτητα του ανέμου και άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Αντίθετα η υδάτινη οδός (σχήμα 2) αυξάνει τη διαπερατότητα της εφυμενίδας σε πολικές ενώσεις και συμβάλει στην είσοδο των υδατοδιαλυτών ΦΠ στα φυτά. Η υδάτινη οδός διαστέλλεται και απωθεί τις κηρώδεις ουσίες όταν τα φυτά αναπτύσσονται σε ευνοϊκές συνθήκες υγρασίας, ενώ συστέλλεται μειώνοντας τη διαπερατότητα της εφυμενίδας σε υδρόφιλες ομάδες όταν τα φυτά αναπτύσσονται σε συνθήκες ξηρασίας.

Τα μη πολικά μόρια των υδρόφοβων ΦΠ διαπερνούν την εφυμενίδα μέσω της λιποειδούς οδού (σχήμα 2) που σχηματίζεται από τις κηρώδεις ουσίες της εφυμενίδας. Η λιποειδής οδός σε αντίθεση με τον υδάτινη είναι μόνιμη (Ελευθεροχωρινός 1996).

Μετά την εφυμενίδα το επόμενο εμπόδιο που προβάλλουν τα φυτά στην επικοινωνία με το περιβάλλον είναι τα κυτταρικά τοιχώματα της επιδερμίδας. Αυτά αποτελούνται από τις υδρόφιλες πηκτίνες (με πολικές ομάδες $-\text{COOH}$ του πολυγαλακτουρονικού οξέως) και τις επίσης υδρόφιλες κυτταρίνες (με πολικές ομάδες $-\text{OH}$).





Για να φθάσουν τα ΦΠ και να ελευθερωθούν στο κυτόπλασμα των κυτάρων θα πρέπει να περάσουν και ένα τρίτο εμπόδιο που είναι η πρωτοπλασματική μεμβράνη.

Ορισμένα σημεία των κυτταρικών τοιχωμάτων (των καταφρακτικών κυτάρων, των κυτάρων που περιβάλλουν τις νευρώσεις καθώς και τις τρίχες των φύλλων και κατά μήκος των αντικλινών κυτταρικών τοιχωμάτων των επιδερμικών κυτάρων), διασχίζονται από τα εκτοδέσματα. Αυτά είναι μικροσκοπικά κανάλια που εκτείνονται από την επιφάνεια της πρωτοπλασματικής μεμβράνης μέσω των κυτταρικών τοιχωμάτων μέχρι την εφυμενίδα την οποία δεν διασχίζουν. Τα εκτοδέσματα συμβάλλουν πολύ στην είσοδο ΦΠ στο φύλλο καθώς και στην έκκριση ουσιών από το φύλλο.

Εφόσον η πολικότητα των στρωμάτων που πρέπει να περάσει ένα ΦΠ που ψεκάστηκε πάνω σε φύλλο αυξάνει στην πορεία από την επιφάνεια της εφυμενίδας μέχρι την κυτοπλασματική μεμβράνη, θα αυξάνει αντίστοιχα και η ευκολία μετακίνησης των πολικών ΦΠ καθώς και η δυσκολία μετακίνησης των μη πολικών ΦΠ. Το υδρόφιλο ΦΠ δυσκολεύεται να περάσει την εφυμενίδα αλλά μετά κινείται εύκολα στα υδρόφιλα κυτταρικά τοιχώματα. Αντίθετα το υδρόφοβο ΦΠ περνά εύκολα την εφυμενίδα αλλά όσο προχωρά συναντά μεγαλύτερες δυσκολίες στην μετακίνησή του μέσα στα υδρόφιλα κυτταρικά τοιχώματα. Τα ΦΠ με μέση πολικότητα διέρχονται καλλίτερα από τα μη πολικά, αυτό γίνεται γιατί τα μη πολικά διαλύονται στις κηρώδεις ουσίες της εφυμενίδας και δεν καταφέρνουν να περάσουν τα κυτταρικά τοιχώματα.

Η είσοδος και μετακίνηση των ΦΠ από την επιφάνεια της εφυμενίδας έως την πρωτοπλασματική μεμβράνη γίνεται μέσω ενός παθητικού φαινομένου της διάχυσης. Ιονιζόμενα ΦΠ μπορούν να εισχωρήσουν και ιοντοανταλλακτικά. Η πρωτοπλασματική μεμβράνη συγκροτείται από λιπίδια (κυρίως φωσφολιπίδια) και πρωτεΐνες. Είναι διπλοειδής και έχει το υδρόφιλο μέρος των λιπιδίων στις εξωτερικές επιφάνειές της, ενώ το υδρόφιλο στο εσωτερικό της. Το πάχος της είναι 60-100 Å. Η είσοδος του ΦΠ στην πρωτοπλασματική μεμβράνη και η απελευθέρωσή του στο κυτόπλασμα, σε ορισμένα ΦΠ γίνεται με ενεργή μεταφορά που χρειάζεται κατανάλωση ενέργειας με την μορφή ATP από το φυτό (άμεσα στην περίπτωση των πρωτεϊνικών φορέων, έμμεσα στην περίπτωση εγκλωβισμού ιόντων), ενώ σε άλλα ΦΠ γίνεται παθητικά με διάχυση. Οι λιπιδιακές διπλοστοιβάδες είναι από κατασκευής τους αδιαπέραστες από ιόντα και τα περισσότερα πολικά μόρια (Stryer 1997). Τα μη πολικά ΦΠ διαχέονται ευκολότερα μέσω της κυτταρικής μεμβράνης από ότι τα πολικά (Λόλας 2003). Στην περίπτωση της ελεύθερης διάχυσης, τα λιπόφιλα μόρια διαχέονται μέσα από την λιπιδιακή διπλοστοιβάδα, ενώ τα μόρια των υδρόφιλων ουσιών περνούν μέσα από έναν υδρόφιλο δίαυλο διαμεμβρανικής πρωτεΐνης, χωρίς την κατανάλωση ενέργειας και στις δύο περιπτώσεις (Δεληβόπουλος 1994).

Μετά την είσοδο τους στον αποπλάστη ή τον συμπλάστη, στα φύλλα ή στη ρίζα, τα μόρια ή τα ιόντα των ΦΠ μετακινούνται σε μικρότερες ή μεγαλύτερες αποστάσεις δια μέσου των ίδιων δρόμων που μετακινούνται το νερό, τα ανόργανα θρεπτικά στοιχεία και τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης.

Η είσοδος των ΦΠ μέσα από τα στοματίδια των φύλλων είναι μικρή. Ο λόγος της μικρής συνεισφοράς των στοματίων στην είσοδο των ΦΠ μέσα στο φυτό είναι η μικρή συνολική τους επιφάνεια, σε συνδυασμό με την κατανομή του μεγαλύτερου ποσοστού τους στο κάτω μέρος των φύλλων που δεν φθάνει συνήθως το ψεκαστικό υγρό, καθώς και η απαίτηση ΦΠ με μικρή επιφανειακή τάση για να εισχωρήσει. Η ύπαρξη υποστοματικής εφυμενίδας (λεπτότερη) στα περισσότερα φυτά εμποδίζει ακόμα περισσότερο την είσοδο των ΦΠ μέσω των στοματίων.

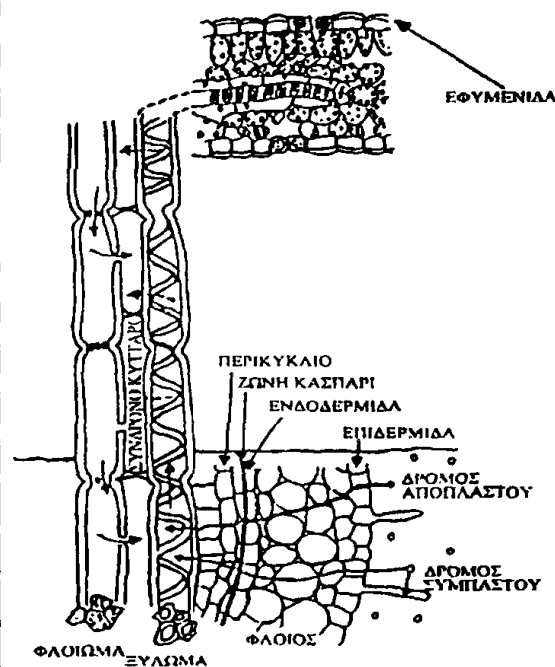
Η είσοδος και μετακίνηση του ΦΠ στην ρίζα

Η είσοδος του ΦΠ από την ρίζα στις εφαρμογές στο έδαφος ακολουθεί τους δρόμους και μηχανισμούς απορρόφησης των θρεπτικών στοιχείων. Η ζώνη εισόδου των ΦΠ στη ρίζα βρίσκεται 5-50 mm πίσω από τα ακρορίζια, που συμπίπτει με τη ζώνη επιμήκυνσης της ρίζας (Λόλας 2003).

Τα πολικά ΦΠ εισέρχονται ευκολότερα στις ρίζες σε σχέση με τα μη πολικά διότι το κύριο εμπόδιο της εφυμενίδας που υπάρχει στα φύλλα στην ρίζα δεν υπάρχει.

Τα ΦΠ εισέρχονται στην ρίζα είτε μέσω της οδού του αποπλάστη, είτε μέσω της οδού του συμπλάστη, είτε με την χρήση και των δυο οδών.

Σχήμα 3. Είσοδος ΦΠ από την ρίζα. Από Λόλας, 2003.



Μέσω της οδού του αποπλάστη (σχήμα 3) τα ΦΠ κινούνται στα κυτταρικά τοιχώματα της επιδερμίδας μετά στα κυτταρικά τοιχώματα και τους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιού μέχρι την ενδοδερμίδα, όπου συναντούν τις λωρίδες του Gaspari. Στη συνέχεια αφού τις περάσουν με διάχυση, κινούνται ξανά στα κυτταρικά τοιχώματα και τους μεσοκυττάριους χώρους του περικυκλίου και καταλήγουν στα αγγεία του ξύλου. Οι λωρίδες του Gaspari όταν έχουν ολοκληρώσει την ανάπτυξή τους είναι ελάχιστα διαπερατές στο νερό, τα ανόργανα στοιχεία και τα ΦΠ. Αντίθετα στις ρίζες των νεαρών φυτών που δεν έχει ολοκληρωθεί η ανάπτυξη των λωρίδων του Gaspari, μπορούν να περάσουν ανόργανα στοιχεία και μόρια ή ιόντα ΦΠ. Η μετακίνηση μέσω της οδού του αποπλάστη γίνεται με κυρίως με την κίνηση του νερού. Η ενέργεια για αυτή την μετακίνηση παρέχεται από την διαπνοή των φυτών.

Τα ΦΠ που εισέρχονται μέσω της οδού του συμπλάστη (σχήμα 3) αρχικά διαπερνούν τα κυτταρικά τοιχώματα των επιδερμικών κυττάρων, στη συνέχεια αφού περάσουν την πρωτοπλασματική μεμβράνη ελευθερώνονται στο κυτόπλασμα όπου μέσω των πλασμοδεσμάτων μετακινούνται από κύτταρο σε κύτταρο. Με τον παραπάνω τρόπο

διασχίζουν τον φλοιό, την ενδοδερμίδα, το περικύκλιο και καταλήγουν στους ηθμούς. Η μετακίνηση μέσω του συμπλάστη συνήθως γίνεται με κατανάλωση ενέργειας που συμβαίνει κυρίως κατά το στάδιο του περάσματος του ΦΠ δια μέσου της πρωτοπλασματικής μεμβράνης.

Μερικά ΦΠ μετακινούνται και με τους δυο τρόπους εντός του φυτού. Αρχικά κινούνται μέσω της οδού του αποπλάστη, αλλά όταν φθάνουν στις λωρίδες του Gaspari αδυνατώντας να τις περάσουν, εισέρχονται στην πρωτοπλασματική μεμβράνη των κυττάρων της ενδοδερμίδας και ελευθερώνονται στο κυτόπλασμα τους. Τα ΦΠ στην συνέχεια ακολουθούν την οδό του συμπλάστη και είτε καταλήγουν στους ηθμούς ή μετά την έκκρισή τους από τα κύτταρα της ενδοδερμίδας ή του περικυκλίου στα κυτταρικά τοιχώματα και τους μεσοκυττάρους χώρους καταλήγουν στα αγγεία.

Αλληλεπίδραση ΦΠ με το καλλιεργούμενο φυτό

Τις περισσότερες φορές το ΦΠ χρησιμοποιείται να προστατεύσει τα καλλιεργούμενα φυτά από εχθρούς, ζιζάνια κλπ που βρίσκονται έξω από τους ιστούς των φυτών. Με την δράση τους απαλλάσσουν την καλλιέργεια από τους εχθρούς και τις ασθένειες έτσι έχουμε την θετική πλευρά της αλληλεπίδρασης. Όμως το καταλληλότερο ΦΠ που θανατώνει τον επιβλαβή παράγοντα και παραμένει στην εξωτερική επιφάνεια των καλλιεργούμενων φυτών, χωρίς να εισέρχεται στα κύτταρα τους, δεν υπάρχει για κάθε συνδυασμό εχθρού και καλλιέργειας.

Στην περίπτωση που ο επιβλαβής παράγοντας βρίσκεται μέσα στα κύτταρα του φυτού (διάφοροι μύκητες, βακτήρια, φυσιολογικές λειτουργίες) απαιτείται η επαφή του ΦΠ με τα κύτταρα του καλλιεργούμενου φυτού άρα χρειάζεται ακόμη μεγαλύτερη εξειδίκευση του ΦΠ ώστε να μην επηρεάζει τα καλλιεργούμενα φυτά.

Όταν μέρος του ΦΠ διαπερνά την εφυμενίδα, επιδερμίδα, κυτταρικό τοίχωμα, πρωτοπλασματική μεμβράνη και ελευθερώνεται στο πρωτόπλασμα, τα φυτά δέχονται την αρνητική πλευρά της αλληλεπίδρασης, την φυτοτοξικότητα, που με διάφορους μηχανισμούς προσπαθούν να την ξεπεράσουν.

Καίτοι τις περισσότερες φορές δεν υπάρχει η απόλυτη ζητούμενη εξειδίκευση των ΦΠ ή φυτοπροστασία καταφέρνει με την χρήση των ΦΠ υπό όρους να καταπολεμεί τους εχθρούς και τις ασθένειες των φυτών με ικανοποιητική εκλεκτικότητα στα φυτά της καλλιέργειας.

Μεταβολισμός ΦΠ από τα φυτά.

Τα ΦΠ φυλλώματος ή εδάφους μετακινούνται σε μικρές οι μεγάλες αποστάσεις εντός των ιστών του φυτού όπου εκδηλώνουν την δράση τους. Τα φυτά αντιλαμβάνονται τα ΦΠ ως ξενοβιοτικά (ξένα, παρείσακτα) και προσπαθούν με τον μεταβολισμό τους, να αποφύγουν την δυσμενή επίδραση από την παρουσία τους.

Μεταβολισμός των ΦΠ είναι όλες οι βιοχημικές αντιδράσεις που οδηγούν στην μετατροπή των μορίων τους, σαν αποτέλεσμα της επίδρασης του φυτού πάνω στο ΦΠ.

Οι σημαντικότερες αντιδράσεις μεταβολισμού και διάσπασης των ΦΠ στα φυτά είναι η οξείδωση, η αναγωγή, ή υδρόλυση, η υδροξυλίωση, ή αποκαρβοξυλίωση, η απακυλίωση ή απακυλοξυλίωση, απαλογονοποίηση, απαμίνωση, και το σπάσιμο δακτυλίου (Λόλας 2003).

Η αδρανοποίηση μπορεί να προέλθει είτε από την προσρόφηση των ΦΠ στα συστατικά του κυττάρου, είτε από τον σχηματισμό συμπλόκων με σάκχαρα, αμινοξέα, λιγνίνη, πεπτίδια και λιπίδια.

Η μεταβολική πορεία του ΦΠ μέσα στο φυτό μπορεί να διακριθεί σε 4 στάδια. Στο πρώτο στάδιο γίνονται διάφορες ενζυματικές μεταβολές στο μόριο του ΦΠ ώστε να γίνει ή ένωση λιγότερο τοξική (αντίθετα σε ορισμένες περιπτώσεις ζιζανιοκτόνων, ο μεταβολισμός δημιουργεί το τοξικό για το φυτό μόριο). Στο δεύτερο στάδιο σχηματίζονται σύμπλοκα του ξενοβιοτικού ή των προϊόντων μεταβολισμού του με συστατικά του κυττάρου όπως γλουταθειόνη, γλυκόζη, πρωτεΐνες ή αμινοξέα λιγνίνη, πεπτίδια και λιπίδια. Στο τρίτο στάδιο μεταφέρονται τα υδατοδιαλυτά σύμπλοκα και ακινητοποιούνται, με δέσμευση τους σε κυτταρικά συστατικά όπως η λιγνίνη, ή γίνεται αποθήκευσή τους στα χυμοτόπια και τα κυτταρικά τοιχώματα. Στο τέταρτο στάδιο στα χυμοτόπια ή στα κυτταρικά τοιχώματα τα σύμπλοκα μπορεί να υποστούν και άλλες μεταβολές και να σχηματισθούν τα αδιάλυτα ή δεσμευμένα υπολείμματα που είναι βιολογικά αδιάθετα. Τα τελικά προϊόντα διάσπασης από τα φυτά δεν είναι φυτοτοξικά. Στους ζωικούς οργανισμούς τα σύμπλοκα αυτά είναι τοξικά και τις περισσότερες φορές αποβάλλονται (Λόλας 2003).



Φυτικά ένζυμα και μεταβολισμός των ΦΠ

Από φιλοσοφική άποψη, όσο η επαφή των συνθετικών ΦΠ με τα φυτά είναι υπόθεση λίγων χρόνων, τόσο μικραίνει η πιθανότητα της ύπαρξης γενετικής πληροφορίας στα φυτά για την σύνθεση ειδικών ενζύμων που να καταλύουν τον μεταβολισμό του κάθε ΦΠ. Η αλληλεπίδραση των φυτών στην μακρόχρονη εξελικτική τους πορεία με ένα διαρκώς μεταβαλλόμενο και ορισμένες φορές σχετικά τοξικό περιβάλλον (πχ εδάφη με βαριά μέταλλα), ενσωμάτωσε κληρονομικό υλικό στα φυτά τέτοιο που η έκφραση του μπορεί να σχηματίσει τα ένζυμα κατάλυσης του μεταβολισμού και αποτοξικοποίησής τους. Έτσι τα φυτά θα λέγαμε πως είναι υποψιασμένα με το θέμα των ξενοβιοτικών.

Από όλου τους οργανισμούς του πλανήτη έρχονται άμεσα σε επαφή με ΦΠ κυρίως τα καλλιεργούμενα φυτά και οι επιβλαβείς για τα καλλιεργούμενα φυτά οργανισμοί. Οι υπόλοιποι οργανισμοί μόνο έμμεσα σαν αποτέλεσμα της ρύπανσης έρχονται σε επαφή με ΦΠ. Σε αυτή την επαφή πάντα το καλλιεργούμενο φυτό είναι προστατευόμενο και δέχεται ελάχιστη πίεση από τα εκλεκτικά γι' αυτό ΦΠ. Αντίθετα οι οργανισμοί στόχοι της φυτοπροστασίας δέχθηκαν τις τελευταίες δεκαετίες τεράστια πίεση από τα ΦΠ με αποτέλεσμα να έχουν προκύψει μεταλλάξεις που να κάνουν ανθεκτικό τον παθογόνο οργανισμό σε κάποια από αυτά.

Τα ένζυμα που έχουν βρεθεί να καταλύουν τον μεταβολισμό κάποιων ζιζανιοκτόνων είναι :
Αρυλακεταμιδάση για το propanil στο ρύζι.

Η s τρανσφεράση της γλουταθειόνης (Glutathione-s-transferase) για τις τριαζίνες στο καλαμπόκι.

Περοξιδάσες για το isoxnif.

Καρβοξυλεστεράσες για το illoxa στην αγριοβρώμη.

ALS (οξεικογαλακτική συνθετάση) για τις σουλφονυλουρίες και ιμιδαζολινόνες.

AcoA-carboxylase για τα αρυλοξυφαινοξυπροπιονικά.

GS για το basta.

CytP450s

κ.α.

(Λόλας 2003).

Εκλεκτικότητα των ΦΠ

Εκλεκτικότητα ενός ΦΠ είναι η ικανότητα κατά την εφαρμογή του σε μία καλλιέργεια, να δρα αποτελεσματικά πάνω στον στόχο του χωρίς να επηρεάζει τα καλλιεργούμενο φυτικό είδος.

Η εκλεκτικότητα των ΦΠ εκδηλώνεται μεταξύ μελών του φυτικού/ζωικού βασιλείου, του ίδιου βασιλείου, οικογενειών, γενών, ειδών ή και χαμηλότερων ταξινομικών υποδιαιρέσεων. Η εκλεκτικότητα στηρίζεται σε διάφορους μηχανισμούς. Οι περιπτώσεις απόλυτης εκλεκτικότητας είναι ελάχιστες π.χ. οι τριαζίνες στο καλαμπόκι, ενώ αυτή υποβοηθείται στις περισσότερες περιπτώσεις με την εκλεκτική χρήση των ΦΠ.

Μηχανισμοί εκλεκτικότητας

Στην εργασία μας είναι σημαντική η παρουσίαση των μηχανισμών εκλεκτικότητας διότι κάθε μη εκλεκτική περίπτωση έχει ως αποτέλεσμα την φυτοτοξικότητα στο καλλιεργούμενο φυτό.

Η ταξινόμηση των μηχανισμών εκλεκτικότητας των ΦΠ ακολουθεί την προτεινόμενη από τον Λόλα για τα ζιζανιοκτόνα.

Μηχανισμοί εκλεκτικότητας μη εξαρτώμενοι από το φυτό

Οι μηχανισμοί εκλεκτικότητας αυτής της κατηγορίας εκδηλώνουν την εκλεκτικότητα τους μόνο κάτω από ορισμένες συνθήκες και αυτή εξαρτάται από άλλους παράγοντες εκτός του φυτού.

Εκλεκτικότητα θέσης

Για να δράσει ένα ΦΠ απαιτείται ή άμεση επαφή με τον οργανισμό που προσπαθεί να αντιμετωπίσει. Απαιτείται ακόμη μια ελάχιστη δόση του ΦΠ καθώς και μια χρονική διάρκεια



της επαφής που θα επιτρέψει την είσοδο της δραστικής ουσίας σε ικανή ποσότητα να βλάψει τον οργανισμό.

Μπορεί να επιτευχθεί εκλεκτικότητα αν η επέμβαση γίνει μόνο πάνω στον οργανισμό στόχο και όχι στα καλλιεργούμενα φυτά, όπως στις περιπτώσεις ψεκασμού με ζιζανιοκτόνα μεταξύ των γραμμών της καλλιέργειας (εκλεκτικότητα θέσης), ή σε καταπολεμήσεις εντόμων, μυκήτων εδάφους ή πολυετών ζιζανίων πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας.

Εκλεκτικότητα ΦΠ και ψεκαστικού υγρού

Η χημική σύνθεση του ΦΠ

Η χημική σύνθεση, η στερεοχημικός τύπος της δραστικής ουσίας του ΦΠ καθορίζει πολλές φορές την εκλεκτικότητά του.

Η καθαρότητα των δραστικών

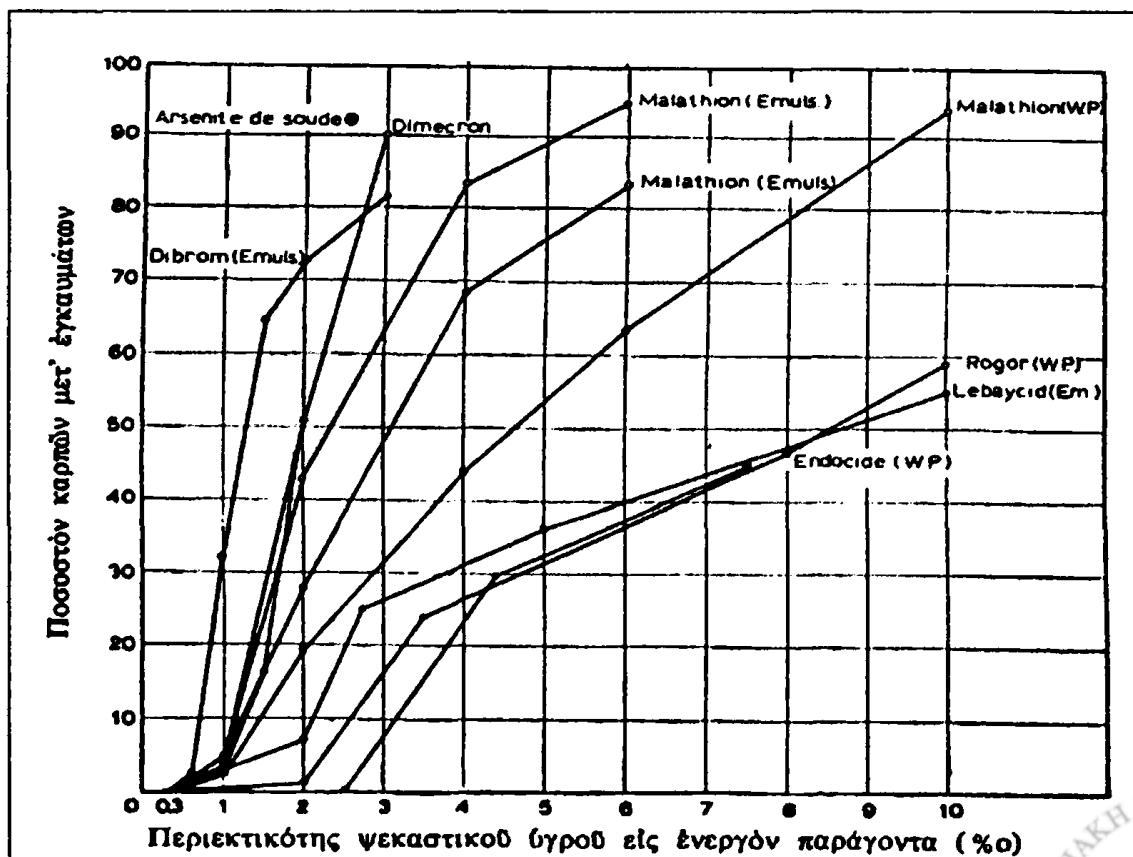
Οι ξένες προσμίξεις (οποιοδήποτε συστατικό, εκτός από την καθαρή δραστική ουσία), που περιέχεται στη τεχνικά καθαρή δραστική ουσία όπως παρασκευάζεται βιομηχανικώς (περιλαμβάνονται τα μη δραστικά ισομερή) και προέρχονται από τη βιομηχανική διεργασία ή από την αποδόμηση κατά την αποθήκευση, μπορεί να επηρεάσουν δυσμενώς τα καλλιεργούμενα φυτά.

Περιεκτικότητα ψεκαστικού υγρού σε δραστική ουσία

Για δεδομένο είδος φυτού και ΦΠ καθώς και για δεδομένο τρόπο ψεκασμού η φυτοτοξική επίδραση είναι συνήθως ανάλογη της περιεκτικότητας του ψεκαστικού υγρού σε δ.ο. (σχήμα 4) (Ορφανίδη 1968). Η προτεινόμενη δόση στην ετικέτα του ΦΠ είναι συνήθως ασφαλής. Μεγαλύτερες δόσεις από αυτή μπορεί να προκαλέσουν φυτοτοξικότητα.

Εφαρμοζόμενη ποσότητα ψεκαστικού υγρού προς φυλλική επιφάνεια

Εκτός από την περιεκτικότητα σε δ.ο. του ψεκαστικού υγρού διαφοροποίηση της φυτοτοξικής δράσης έχουμε και από το ποσό της δ.ο. που εφαρμόζεται ανά μονάδα φυλλικής επιφάνειας.



Σχήμα 4. Εξάρτηση της φυτοτοξικής επίδρασης ορισμένων ΦΠ σε καρπό ελιάς, σε σχέση με την περιεκτικότητα του ψεκαστικού υγρού σε δραστική ουσία. Από Ορφανίδη, 1968.

Οι βοηθητικές ουσίες

Η προσθήκη βοηθητικών ουσιών, κατά την παρασκευή των ΦΠ ή πριν τον ψεκασμό, μεταβάλλουν την εκλεκτικότητά τους. Η προσθήκη επιφανειοδραστικών ουσιών (προσκολλητικών, διαβρεκτικών, εξαπλωτικών κ.α.) αυξάνει την είσοδο δ.ο. στο φυτό επηρεάζοντας την εκλεκτικότητα των ΦΠ (Ελευθεροχωρινός 1996).

Σε περιπτώσεις που επιτρέπεται η ανάμειξη δύο δ.ο. και το ένα είναι σε μορφή βρέξιμης σκόνης ενώ το άλλο σε μορφή πυκνό γαλακτωποιήσιμο σκεύασμα, υπάρχει ο κίνδυνος τα σωματίδια της βρέξιμης σκόνης να σχηματίσουν συσσωματώματα ή να επέλθει ταχεία καθίζηση της σκόνης λόγω αντίδρασης των διαβρεκτικών ουσιών της βρέξιμης σκόνης με τους γαλακτοματοποιητές του πυκνού γαλακτωποιήσιμου σκευάσματος (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου 1991).

Συνδιαστικότητα

Είναι δυνατόν ΦΠ που δεν έχουν τοξική επίδραση όταν εφαρμόζονται μόνα τους, να εμφανίσουν φυτοτοξική δράση όταν εφαρμοσθούν ταυτόχρονα. Τέτοιο αποτέλεσμα έχουμε κατά την ανάμειξη μερικών ορυκτελαίων με σαπούνι. Ανάλογη είναι και η περίπτωση της ανάμειξης πολλών ορυκτελαίου με θειάφι, θειασβέστιο ή άλλα θειούχα φάρμακα (Zineb, Maneb κλπ.) (Ορφανίδης 1968).

Ένα αντίστοιχο παράδειγμα είναι η απώλεια της εκλεκτικότητας του ζιζανιοκτόνου rimsulfuron στην καλλιέργεια του καλαμποκιού, από την παρουσία εντομοκτόνων της ομάδας των οργανοφωσφορικών, πριν, κατά ή μετά την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου.

Εκλεκτικότητα εδαφοκλιματική

Εδαφικοί παράγοντες

Η μηχανική σύσταση και η οργανική ουσία του εδάφους επηρεάζουν, μέσω της προσρόφησής των ΦΠ στα κολλοειδή τους, την διαθεσιμότητα των ΦΠ στα φυτά. Πολλά ζιζανιοκτόνα προτείνουν, μικρότερες δόσεις σε αμμώδη εδάφη, ή την μη χρήση τους για αποφυγή πιθανής φυτοτοξικότητας σε ελαφρά εδάφη με οργανική ουσία μικρότερη από 1% (βλέπε πίνακα 9).

Σχετικά ψηλές συνθήκες υγρασίας στο έδαφος μπορεί να αυξήσουν την ταχύτητα αποδέσμευσης της δ.ο. από κοκκώδη σκευάσματα με κίνδυνο πρόκλησης φυτοτοξικότητας στα φυτά (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου 1991).

Το pH του εδαφικού διαλύματος μεταβάλλει την διαθεσιμότητα των ΦΠ στα φυτά και μέσω της άμεσης διάσπασης των ΦΠ αλλά και έμμεσα επηρεάζοντας την διάσπαση των ΦΠ. Στην τελευταία περίπτωση εμπίπτει η χρήση των ζιζανιοκτόνων εδάφους της ομάδας των τριαζινών, όπου όσο το pH στο έδαφος αυξάνει, όλο και λιγότερο ζιζανιοκτόνο φέρει θετικό φορτίο με αποτέλεσμα μικρότερη προσρόφηση στα αρνητικά φορτισμένα κολλοειδή του εδάφους με συνέπεια να αυξάνει ο κίνδυνος φυτοτοξικότητας για την καλλιέργεια.

Κλιματικοί παράγοντες

Η θερμοκρασία κατά την ώρα του ψεκασμού σε ορισμένα ΦΠ αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την αποφυγή εκδήλωσης φυτοτοξικότητας.

Πολύ γνωστές είναι οι φυτοτοξικότητες, του θείου σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 25 °C και των ορυκτελαίων – παραφινέλαιων σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 32 °C.

Στην περίπτωση του ζιζανιοκτόνου nicosulfuron απαιτείται η θερμοκρασία κατά τον ψεκασμό να βρίσκονται μεταξύ 10 και 25 °C.

Μεταξύ των κλιματικών παραγόντων σημαντική επίδραση στην εκλεκτικότητα των ΦΠ ασκούν η βροχόπτωση, η σχετική υγρασία και το φως. Η επίδραση τους είναι είτε άμεση (εξάτμιση-εξάχνωση, φωτοχημική ή χημική διάσπαση, έκπλυση, προσρόφηση, κλπ.) επηρεάζοντας την διαθεσιμότητα του ΦΠ πάνω στο φυτό, είτε έμμεσα επηρεάζοντας τους ρυθμούς ανάπτυξης, μεταβολισμού, πάχος και διαπερατότητας των προστατευτικών ιστών του φυτού, με αντίκτυπο στην εκλεκτικότητα του ΦΠ μέσα στο καλλιεργούμενο φυτό. Ειδικότερα οι χαμηλές εντάσεις ακτινοβολίας σχετίζονται με μικρό πάχος εφυμενίδας, άρα μεγαλύτερη διαπερατότητα στα ΦΠ.



Μηχανισμοί εκλεκτικότητας εξαρτώμενοι από το φυτό

Η εκλεκτικότητα που στηρίζεται σε μηχανισμούς αυτής της κατηγορίας καθορίζεται από παράγοντες που σχετίζονται με το φυτό.

Εκλεκτικότητα γενετική

Το ίδιο ΦΠ μπορεί να έχει μεγάλη φυτοτοξική επίδραση σε ένα φυτικό είδος και καθόλου σε ένα άλλο (βλέπε πίνακα 9).

Υπάρχουν περιπτώσεις που ένα ΦΠ δείχνει διαφορετική εκλεκτικότητα σε ποικιλίες του ίδιου φυτικού είδους. Για παράδειγμα έχουν παρατηρηθεί διαφορές στην εκλεκτικότητα του ζιζανιοκτόνου metribuzin σε διάφορες ποικιλίες πατάτας, του chloramben σε ποικιλίες αγγουριού, του bentazon στη σόγια, κ.α. Στις περισσότερες περιπτώσεις αποδόθηκε η διαφορά εκλεκτικότητας του ΦΠ σε διαφορές της γενετικής σύστασης των ποικιλιών (Λόλας 2003).

Εκλεκτικότητα μορφολογική

Ορισμένα ΦΠ προκαλούν προβλήματα φυτοτοξικότητας μόνο σε ένα φυτικό όργανο, για παράδειγμα στα άνθη ή στον καρπό, ενώ κάποια άλλα φυτικά όργανα όπως τα φύλλα δεν επηρεάζονται.

Μορφολογικοί χαρακτήρες των φυτών όπως, βάθος ριζικού συστήματος, θέση κορυφαίων μεριστωμάτων, χαρακτηριστικά φύλλου (σχήμα, γωνία πρόσφυσης στον βλαστό, θέση, βαθμός κάλυψης με τριχίδια, τραχύτητα, ποσότητα και ποιότητα κηρών επιφάνειας εφυμενίδας, αριθμός, μέγεθος και βαθμός ανοίγματος των στοματίων) διαφέρουν από είδος σε είδος. Αυτές οι μορφολογικές διαφορές τροποποιούν την επαφή, συγκράτηση, είσοδο και μετακίνηση του ΦΠ με αποτέλεσμα την διαφορετική εκλεκτικότητα του.

Κατά κανόνα τα νεαράς ηλικίας φυτά ή όργανα τους, εμφανίζουν μεγαλύτερη ευπάθεια στα ΦΠ (βλέπε πίνακα 9). Αυτή η ευπάθεια οφείλεται στην μειωμένη ικανότητα των νεαρών φυτών για μεταβολισμό των ΦΠ και στην μη πλήρως ανεπτυγμένη (μικρό πάχος) εφυμενίδα που επιτρέπει την είσοδο μεγαλύτερης ποσότητας ΦΠ εντός του φυτού.

Σε φυτά *Lactuca sativa* και *Plantago major* που αναπτύχθηκαν σε ίδιες εντάσεις φωτός ($250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) βρέθηκε (βλέπε πίνακα 8) πως η σύνθεση των κηρών και στα δύο είδη, ελαφρά μόνο αλλάζει με το αναπτυξιακό στάδιο των φύλλων, ενώ μεγάλες ήταν οι διαφορές μεταξύ των φύλλων των δύο ειδών. Στην ίδια εργασία βρέθηκε πως τα νεαρά φύλλα του μαρουλιού είχαν την μισή περιεκτικότητα σε κηρούς (σε mg κηρών g^{-1} ξ.β.φύλλου) σε σχέση με τα μέσης ηλικίας και τα παλαιότερα. Αντίθετα τα φύλλα όλων των ηλικιών του *Plantago major* είχαν την ίδια περιεκτικότητα (Martine et al. 1998).

Εκλεκτικότητα φυσιολογική

Ο μειωμένος ρυθμός εισόδου και μετακίνησης, σε συνδυασμό με την κατανομή και την αδρανοποίηση εντός του καλλιεργούμενου φυτού, συχνά ευθύνονται για την εκλεκτικότητα των ΦΠ.

Εκλεκτικότητα βιοχημική

Η εκλεκτικότητα ορισμένων ΦΠ που εισέρχονται στο πρωτόπλασμα των φυτών στηρίζεται στον ενζυμικό μεταβολισμό τους (διάσπαση-αδρανοποίηση) σε μη τοξικές ενώσεις, η στην απουσία βιοχημικών μηχανισμών στα καλλιεργούμενα φυτά που να μετατρέπουν μια αδρανή (προζιζανιοκτόνο) σε ενεργό ουσία (ζιζανιοκτόνο).

Η βιοχημική εκλεκτικότητα έστρεψε την ανάπτυξης νέων ΦΠ (τουλάχιστον για τα ζιζανιοκτόνα) από την εύρεση νέων μορίων με επιθυμητές φυτοπροστατευτικές και εκλεκτικές ιδιότητες, στην επέκταση της εκλεκτικότητας με την ενσωμάτωση γονιδίων ανθεκτικότητας σε είδη γνωστά ΦΠ.

Γονίδια υπεύθυνα για τον μεταβολισμό ΦΠ (κυρίως ζιζανιοκτόνων) εντοπίστηκαν ή αναπτύχθηκαν σε διάφορα είδη φυτών και μεταφέρθηκαν με την κλασική γενετική σε συγγενείς καλλιεργούμενες ποικιλίες. Ανάλογα γονίδια που βρέθηκαν σε φυτά ή σε άλλους οργανισμούς όπως βακτήρια μεταφέρθηκαν επιτυχία με μεθόδους γενετικής μηχανικής και εκφράστηκαν σε φυτά μεγάλων καλλιεργειών όπως σόγια, καλαμπόκι κ.α.



Η δημιουργία διαγονιδιακών καλλιεργούμενων φυτών με βιοχημική εκλεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα αποτελεί τα τελευταία χρόνια πεδίο πολλών επιστημονικών ερευνών, μα και το σημείο της μεγάλης αντιπαράθεσης των οικολογικών οργανώσεων με τα μεγάλα οικονομικά συμφέροντα των εταιρειών. Το 2001 διατέθηκαν εμπορικά σπόροι για την καλλιέργεια 526 εκατομμυρίων στρεμμάτων με γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες, εκ των οποίων το 77% αφορούσε διαγονιδιακά φυτά με ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα. (Λόλας 2003).

Πίνακας 8. Σύνθεση (%) και ποσότητα, των εκχυλισμένων με χλωροφόρμιο κηρών εφυμενίδας φύλλων τριών αναπτυξιακών σταδίων, των φυτών *Lactuca sativa* και *Plantago major* (Martine et al. 1998).

Συστατικό	<i>Lactuca sativa</i>			<i>Plantago major</i>		
	Νεαρό	Μέσης	Παλιό	Νεαρό	Μέσης	Παλιό
Αλκοόλες	88	86	83	1	1	1
Τριτερπενικά οξέα				68	64	57
Λιπαρά οξέα	8	6	7			
Γραμμικοί υδρογονάνθρακες				18	13	19
Μη αναγνωρισμένα	4	8	10	13	22	23
Σύνολο κηρών σε mg κηρών g ⁻¹ ξ.β. φύλλου	5	11	8	10	8	8



ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Φυτοτοξικότητα, αποτελεσματικότητα των ΦΠ.

Τα ΦΠ, για να προστατεύσουν την καλλιέργεια από τους εχθρούς, τα παθογόνα και τα ζιζάνια στην πλειοψηφία τους έρχονται σε άμεση επαφή με τα καλλιεργούμενα φυτά. Παράλληλα με την προστασία, τα ΦΠ αλληλεπιδρούν με τις επιφάνειες των φυτών (κυρίως με τα φύλλα) και ένα μέρος τους παραμένει στην επιφάνεια, ενώ κάποια ποσότητα είναι δυνατό να εισέλθει στο εσωτερικό τους, επηρεάζοντας πιθανώς τις φυσιολογικές και βιοχημικές λειτουργίες του φυτού.

Ουδέν καλόν αμιγές κακού θα έλεγαν οι αρχαίοι πρόγονοί μας βλέποντας τις δύο όψεις της εφαρμογής των ΦΠ. Από την μια τη φυτοτοξικότητα που είναι το σύνολο των μη επιθυμητών, δυσμενών επιδράσεων, των ΦΠ στους φυτικούς οργανισμούς που βρίσκονται εκτός του στόχου εφαρμογής του ΦΠ (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου Ε. 1991). Και από την άλλη την αποτελεσματικότητα ενός ΦΠ που θεωρείται το σύνολο των τοξικών ή δυσμενών επιδράσεων του ΦΠ, που προκαλείται στους στόχους πάνω στους οποίους εφαρμόζεται (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου 1991).

Η φυτοπροστασία της καλλιέργειας έχει δύο βασικούς στόχους πρώτον το ΦΠ να μην επηρεάσει δυσμενώς τα καλλιεργούμενα φυτά (να μην προκαλεί φυτοτοξικότητα) και δεύτερον να είναι μεγάλης αποτελεσματικότητας στον οργανισμό στόχο. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της εκλεκτικότητας που είναι η ελάχιστη ή μικρή τοξικότητα του ΦΠ στο οργανισμό μη στόχο και ταυτόχρονα η υψηλή αποτελεσματικότητα στον οργανισμό στόχο.

Η φυτοτοξική επίδραση των ΦΠ μπορεί να είναι οξεία, εμφανιζόμενη σε 1-2 μέρες από την εφαρμογή του ΦΠ ή χρόνια, εκδηλούμενη μετά από ολόκληρες εβδομάδες (π.χ. πολλοί ορυκτελαίων) (Ορφανίδης 1968).

Η φυτοτοξικότητα ως κατάσταση καταπόνησης.

Μπορούν να συμπεριληφθούν και τα ΦΠ με φυτοτοξική επίδραση στους παράγοντες καταπόνησης των φυτών, αφού οι περισσότεροι ορισμοί θεωρούν ως καταπόνηση γενικά την σημαντική παρέκκλιση από τις κανονικές συνθήκες της ζωής, κατάσταση που και από την χρήση των ΦΠ μπορεί να προκληθεί. Σαν παράγοντες καταπόνησης των φυτών, αντιμετωπίζονται εκτός από τις ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες (ξηρασία, υγρασία, παγετός, ακραίες θερμοκρασίες, ηλιακή ακτινοβολία κλπ), τόσο οι ατμοσφαιρικοί ρύποι (SO_2 , H_2S , O_3 , NO , κλπ) όσο και τα βαρέα μέταλλα (Zn, Pb, Ni, Co, Cu κλπ) στο έδαφος (Larcher 2001).

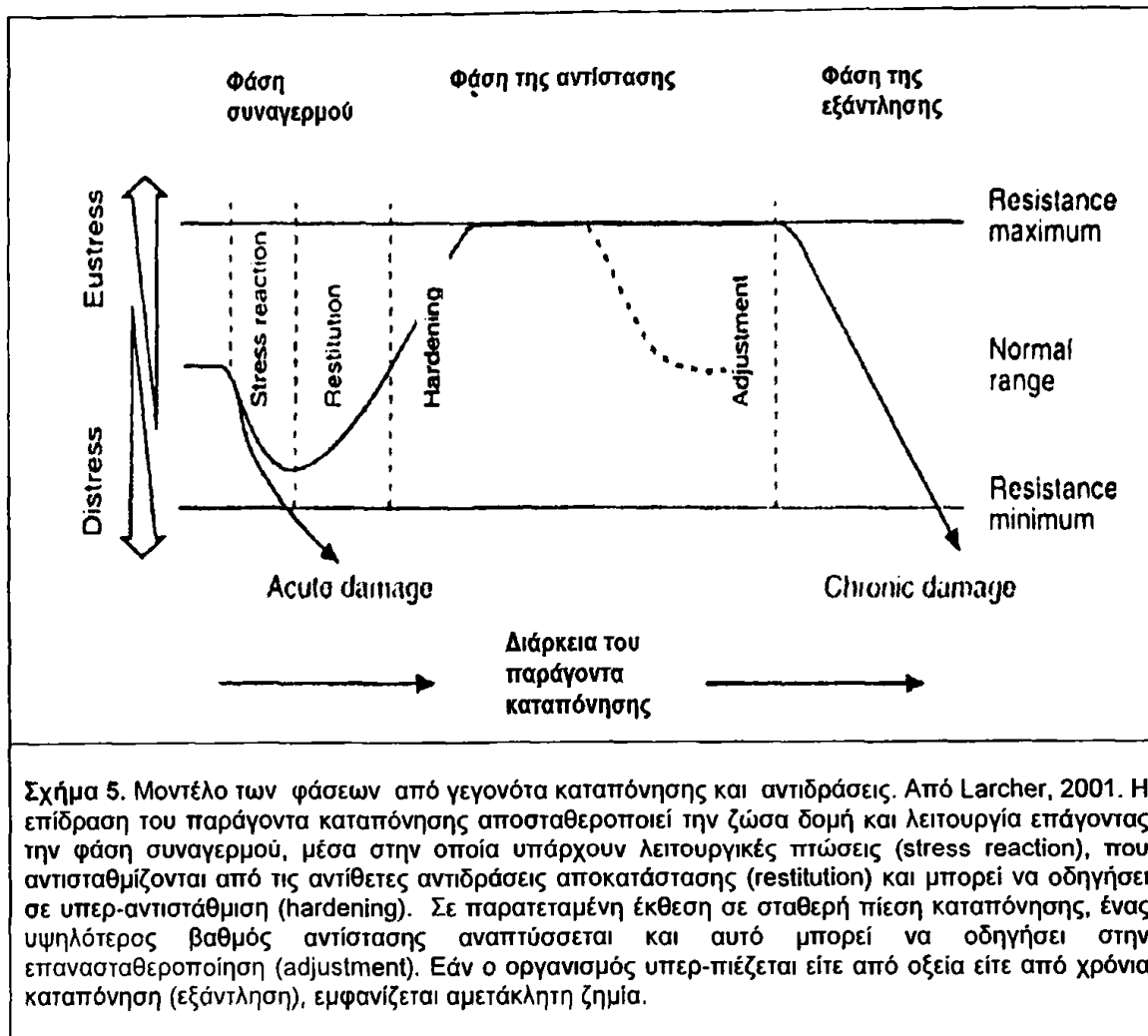
Στο βαθμό που θεωρείται η φυτοτοξικότητα από την χρήση ΦΠ ως κατάσταση καταπόνησης των φυτών, μπορούν να αξιοποιηθούν κάποιες γενικές αρχές που προέκυψαν από σημαντική έρευνα σε θέματα καταπόνησης.

Σύμφωνα με την δυναμική άποψη της καταπόνησης, οι οργανισμοί περνούν από μία ακολουθία χαρακτηριστικών φάσεων (βλέπε σχήμα 5).

Η *φάση συναγερμού (alarm phase)* : η αρχή ενός γεγονότος διαταραχής ακολουθείται από την αποσταθεροποίηση των δομικών (όπως πρωτεΐνες, βιομεμβράνες, κυτοσκελετός) και λειτουργικών (βιοχημικές διεργασίες, μεταβολισμός της ενέργειας) όρων που απαιτούνται για την κανονική εκτέλεση των ζωτικής σημασίας διεργασιών. Στην περίπτωση που η εξασθένιση γίνεται πολύ έντονη και γρήγορη, το κύτταρο καταρρέει πριν να μπορέσουν να εφαρμοστούν αμυντικά μέτρα. Η φάση συναγερμού ξεκινά με τις αντιδράσεις καταπόνησης στις οποίες οι καταβολικές αντιδράσεις υπερτερούν των αναβολικών. Εάν η ένταση του ερεθίσματος παραμένει αμετάβλητη, αρχίζει γρήγορα η αποκατάσταση υπό μορφή διαδικασιών επισκευής, όπου γίνονται πρωτεϊνικές συνθέσεις και σύνθεση προστατευτικών ουσιών.

Αυτή η διαδικασία οδηγεί στην *φάση της αντίστασης*, μέσα στην οποία, κάτω από συνεχή καταπόνηση, η αντίσταση αυξάνει (hardening). Λόγω της προκύπτουσας βελτίωσης στη σταθερότητα, η κανονικοποίηση μπορεί να πραγματοποιηθεί παρά τη συνεχή πίεση (adjustment). Η αυξανόμενη αντίσταση ενάντια στην καταπόνηση μπορεί να παραμείνει για κάποιο χρόνο αφότου έχει πάψει η διαταραχή.





Εάν η κατάσταση της καταπόνησης εμμένει για μεγάλο χρονικό διάστημα, ή εάν η ένταση της πίεσης αυξάνεται, μπορεί να επέλθει η κατάσταση της *εξάντλησης* κατά τη διάρκεια της τελευταίας φάσης, καθιστώντας τα φυτά ευαίσθητα στη μόλυνση που εμφανίζεται συνεπεία της εξασθετισμένης άμυνα των ξενιστών (π.χ. μόλυνση από προαιρετικά παράσιτα) και οδηγεί στην πρόωρη κατάρρευση. Εάν η εξασθένιση ήταν μόνο προσωρινή, η λειτουργική κατάσταση θα αποκατασταθεί στο αρχικό της επίπεδο. Εάν είναι απαραίτητο, οποιαδήποτε ζημία που υφίσταται μπορεί να αποκατασταθεί σε μια φάση αναγέννησης.

Όταν τα όρια της ανοχής και η προσαρμοστική ικανότητα ξεπερνιούνται, το αποτέλεσμα μπορεί να είναι η μόνιμος ζημία ή ακόμα και ο θάνατος.

Η έννοια της φάσης του συνδρόμου καταπόνησης που περιγράψαμε είναι ακόμα μια θεωρητική προσπάθεια να παρουσιαστούν οι πιθανές ακολουθίες και τάσεις. Επομένως, δεν πρέπει να αναμένεται ότι τα φαινόμενα και οι τάσεις που περιγράψαμε θα εμφανιστούν σε απάντηση σε κάθε καταπόνηση. Εντούτοις, υπάρχουν επαρκή στοιχεία ότι αυτές οι ακολουθίες φάσεων πραγματικά εμφανίζονται και είναι πάντοτε εξαρτώμενες από τον χρόνο. Οι διαδικασίες που πραγματοποιούνται κάτω από την καταπόνηση πρέπει επομένως να θεωρηθούν υπαγόμενες στη συνεχή αλλαγή, το οποίο σημαίνει ότι οι νόμοι που κυβερνούν τη δυναμική της ισορροπίας τους δεν ισχύουν πάντα (Larcher 2001).

Μακροσκοπικά συμπτώματα και καταγεγραμμένες φυτοτοξικότητες

Σε όλες τις κατηγορίες των ΦΠ και ιδιαίτερα στα ζιζανιοκτόνα, μικρές αποκλίσεις από τις ιδανικές συνθήκες εφαρμογής του σκευάσματος δημιουργεί προβλήματα φυτοτοξικότητας στα καλλιεργούμενα φυτά.

Οι γενικές κατηγορίες μακροσκοπικών συμπτωμάτων φυτοτοξικότητας που έχουν καταγραφεί από χρήση ζιζανιοκτόνων είναι οι παρακάτω (Λόλας 2003):



Μείωση παραγωγής.

Καθυστέρηση στην αύξηση – ανάπτυξη των φυτών.

Πτώση φύλλων, ανθέων ή καρπών.

Ρίζες λίγες κοντόχοντρες που στην άκρη μοιάζουν με κρεμμύδι. Προκύπτουν όταν εμποδίζονται οι κυτταροδιαιρέσεις.

Χλώρωση, μερικό ή ολικό κιτρίνισμα μεσονεύριο ή περιφερειακό των φύλλων.

Επύκντες εναέριες ρίζες που εμφανίζονται στο λαιμό του φυτού.

Παραμορφώσεις φύλλων και μίσχων με τη μορφή επιναστίας, ή διάφορων ανώμαλων και ασυνήθιστων μορφών όπως πτεροσχιδή, κυπελωτά ή κατσαρά φύλλα.

Παραμορφώσεις βλαστού και στελέχους. Σε αυτή την κατηγορία συμπτωμάτων εντάσσονται οι περιπτώσεις όπου α) ένας οι περισσότεροι βλαστοί παρουσιάζουν κάμψη – συστροφή, β) το στέλεχος του φυτού διογκώνεται ή σχίζεται ή βγάζει εναέριες ρίζες στη βάση του.

Ξήρανση μερική κατά τόπους ή στην περιφέρεια των φύλλων, ή ολική νέκρωση των φύλλων.

Ξήρανση φυτού. Σε σοβαρές περιπτώσεις φυτοτοξικότητας από ζιζανιοκτόνα πολλές φορές παρατηρείται ξήρανση – νέκρωση ολόκληρου του φυτού.



Πίνακας 9. Φυτοτοξικότητες από την χρήση ΦΠ όπως αναγράφονται στις ετικέτες τους.

ΟΝΟΜΑ ΚΟΙΝΟ	ΜΟΡΦΗ	ΕΙΔΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ
Μυκητοκτόνα		
Azoxystrobin	SC	Φυτοτοξικό στη μηλιά, την ενοχλεί ακόμα και το νέφος από παρακείμενο ψεκασμό.
Benomyl *	WP	Κίνδυνος σκωρόχρωσης σε μήλα (π.χ. Golden)
Captan	WP	Σε ευαίσθητες ποικιλίες αχλαδιάς όπως: Αποστολιάτικα, Renette, D'Angou, Bosc Βουτυράτα κ.α. μπορεί να προκληθεί φυτοτοξικότητα. Σπόροι μερικών λαχανικών και σε μεγάλες δόσεις σπόροι τομάτας και σέλινου μπορεί να πάθουν ζημιά. Μερικές ποικιλίες μηλιάς (π.χ. Red Delicious, Winesap) μπορεί να πάθουν ζημιά.
Chinomethionate *	WP	Στην ποικιλία μηλών Golden West να μη χρησιμοποιείται μετά την καρπόδεση
Dinocap	WP, LC	Κίνδυνοι εσχάρωσης σε μήλα Golden
Dithianon	SC, WP, WG	Να μη χρησιμοποιείται όψιμα (2 μήνες πριν τη συγκομιδή) σε μηλιές Golden delicious, γιατί μπορεί να προκαλέσει κηλίδωση καρπών. Στην κερασιά και δαμασκηνιά να προηγείται δοκιμαστική εφαρμογή γιατί υπάρχει κίνδυνος παρενέργειας και κυρίως στους τρυφερούς καρπούς. Ο συνδυασμός με dicofol, dinocap καθώς η εφαρμογή θερινού πολτού 14 ημέρες πριν η μετά από την εφαρμογή του dithianon μπορεί να προκαλέσει κηλίδωση καρπών.
Dodine	WP, SC	Να αποφεύγεται χρήση σε αχλάδια Κοντούλα, Αποστολάτικο, κίνδυνοι εσχάρωσης σε μήλα Golden delicious.
Fluazinam	SC	Μπορεί να προκαλέσει νεκρωτικές κηλίδες σε ράγες σταφυλιού με ευαίσθητη επιδερμίδα.
Hexaconazole	WG, SC	Είναι φυτοτοξικό σε ορισμένες ποικιλίες μηλιάς μετά την πτώση των πετάλων.
Iprodione	FL	Ψεκασμοί σε καλλιέργειες θερμοκηπίου με έντονη ηλιοφάνεια και υψηλή θερμοκρασία μπορεί να προκαλέσει μικροεγκαύματα.
Mancozeb	WP, WG	Φυτοτοξικότητα σε μερικές ποικιλίες αχλαδιών (π.χ. Κρυστάλλι, Βουτυράτα, Κόσσια), κίνδυνος φυτοτοξικότητας και σκωρίασης σε μήλα Golden
Maneb	SC	Κίνδυνος φυτοτοξικότητας σε ορισμένες ποικιλίες κολοκυνθοειδών. Πρέπει να γίνεται δοκιμή πριν γενικευτεί η εφαρμογή του. Δεν συνιστάται σε φυτά σπορείου.
Metiram	WP, WG	Να μην εφαρμόζεται σε ανοιχτά άνθη.
Propineb	WP	Στα καλλωπιστικά συνιστάται δοκιμαστική εφαρμογή σε μικρή κλίμακα ως προς την ανεκτικότητα διαφόρων ποικιλιών
Thiram	WP, WG	Δεν συνιστάται η χρήση του σε φυτά σπορείου.
Zineb	WP	Να μη χρησιμοποιείται στην ποικιλία δαμασκηνιάς Αμσδεν.
Ziram	WP, WG	Φυτοτοξικό στις ποικιλίες Golden Delicious της μηλιάς και Κρυστάλλι της αχλαδιάς. Μπορεί να είναι φυτοτοξικό σε ορισμένες ποικιλίες βερικοκιάς. Κίνδυνος σκωρίασης σε μήλα Reinette de Canada.
Βορδιγάλειος πολτός, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ εξουδετερωμένος με $\text{Ca}(\text{OH})_2$	WP	Μπορεί να προκαλέσει φυτοτοξικότητα στα κολοκυνθοειδή κάτω από συνθήκες υψηλής υγρασίας. Στη μηλιά και αχλαδιά να χρησιμοποιείται πριν την άνθιση. Φυτοτοξικό σε ορισμένες ποικιλίες μηλιάς και αχλαδιάς. Φυτοτοξικό στη ροδακινιά, κερασιά και δαμασκηνιά αφού φουσκώσουν τα μάτια.
Θείο	WP, WG, D	Κίνδυνοι φυτοτοξικότητας σε μήλα Golden Delicious, αχλαδιές και εγκαυμάτων σε θερμοκρασία πάνω από 28 °C
Οξυχλωριούχος Cu, $\text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{CuCl}_2$	WG	Είναι φυτοτοξικό στη ροδακινιά, κερασιά και δαμασκηνιά μετά το φούσκωμα των ματιών. Τα κολοκυνθοειδή είναι ευαίσθητα. Οι ποικιλίες μηλιάς Golden delicious, Jonathan, Renette, Staimon είναι ευαίσθητες όταν το σκεύασμα εφαρμόζεται μετά την έναρξη της βλάστησης. Να αποφεύγεται η χρήση του κατά την άνθιση.
Υποξείδιο του Cu, Cu_2O	WP	Φυτοτοξικό στα κολοκυνθοειδή και στα σταυρανθή. Φυτοτοξικό σε μερικές ποικιλίες μηλιάς και αχλαδιάς. Στην αχλαδιά να χρησιμοποιείται πριν την άνθιση. Είναι φυτοτοξικό στη ροδακινιά αφού φουσκώσουν τα μάτια. Να αποφεύγεται η χρήση του κατά την άνθιση. Στις ετήσιες καλλιέργειες να μην χρησιμοποιείται η μεγάλη δόση στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης γιατί προκαλεί φυτοτοξικότητα.
Εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνα		
Abamectin	EC	Στα αχλάδια ο συνδυασμός Vertimec + λάδι να μην εφαρμόζεται 14 ημέρες πριν η μετά τον ψεκασμό με Captan.
Acrinathrin	EC	Το φύλλωμα των φυτών να είναι στεγνό πριν τον ψεκασμό. Να αποφεύγονται οι ψεκασμοί κατά τις θερμές ώρες της ημέρας.



Bromopropylate *	EC	Μετά από επανειλημμένους ψεκασμούς με δόση πάνω από 75κ.εκ. σκευ./100 λίτρα νερό στη δαμασκηλιά μπορεί να προκαλέσει φυτοτοξικότητα
Cadusafos	EW	Να μην χρησιμοποιείται στη γραμμή σποράς, μπορεί να προκληθεί φυτοτοξικότητα.
Carbaryl	DP, WP, SC, SL	Αν στη μηλιά οι επεμβάσεις γίνουν πριν περάσουν 30 μέρες από πλήρη άνθιση, μπορεί να προκληθεί αραίωμα καρπών. Οι επανειλημμένες εφαρμογές στον καπνό μπορεί να προκαλέσουν ζημιά στα φυτά.
Chlorpyrifos	WP	Μπορεί να προκαλέσει φυτοτοξικότητα σε νεαρά φυτά μαρουλιού. Μπορεί να προκαλέσει φυτοτοξικότητα σε πρώιμες ποικιλίες ροδακινιάς
Cyhexatin	SC	Στα τριαντάφυλλα είναι φυτοτοξικό στην ποικιλία Μπακαρά.
Diazinon	EC, WP	Να μην χρησιμοποιείται στα καλλωπιστικά, γαρδένια, ιβίσκος, γιασεμί, φτέρες, ποινσέτια και βιολέτα.
Dichlorvos	SL	Στα καλλωπιστικά να προηγείται δοκιμαστική εφαρμογή. Πάντως να μην χρησιμοποιείται στα φυτά Cissus, Asparagus, Tradescantia, Chrysanthemum, Euphorbia
Dicofol	EC	Προσοχή στα φυτά νεαρής ηλικίας.
Dimethoate	EC	Πιθανόν να προκαλέσει φυτοτοξικότητα σε ορισμένες ποικιλίες αμπειού. Στην ελιά είναι φυτοτοξικό στη "Λιανολιά Κερκύρας" και σε αυξημένες δόσεις και στην "Κονσερβολιά". Να μην χρησιμοποιείται σε χρυσάνθεμα, καλλωπιστικά του γένους Prunus, σε αζαλέα και άλλα καλλωπιστικά.
Ethion *	EC	Στις πρώιμες ποικιλίες μηλιάς μπορεί να προκληθεί φυτοτοξικότητα.
Fenazaquin	SC	Το φύλλωμα των φυτών να είναι στεγνό πριν τον ψεκασμό. Να αποφεύγονται οι ψεκασμοί κατά τις θερμές ώρες της ημέρας.
Fenoxycard	WP, WG	Να μη χρησιμοποιείται στις ποικιλίες αχλαδιάς Hardy και General Leclerk. Υπάρχει κίνδυνος φυτοτοξικότητας σε καρπούς και φύλλα.
Malathion	DP, WP, EC	Μπορεί να προκαλέσει φυτοτοξικότητα σε αγγούρι, κολοκύθι, πεπόνι και φασόλι θερμοκηπίου, καθώς και σε ορισμένες ποικιλίες αμπειού, μηλιάς, αχλαδιάς και κερασιάς,
Mecarbam *	EC	Στα καλλωπιστικά και γενικά νεαρά φυτά θερμοκηπίου μπορεί να προκληθεί φυτοτοξικότητα
Methamidophos	SL	Σε ορισμένα καλλωπιστικά είδη όπως η τραπεζάντια, εφόρβια και χρυσάνθεμο, προκαλεί φυτοτοξικότητα.
Methomyl	SP, SL	Σε υπέρβαση δόσεων μπορεί να προκληθεί φυτοτοξικότητα στο βαμβάκι και στον καπνό.
Phosalone	EC	Στη μηλιά και ειδικά στις κίτρινες ποικιλίες (π.χ. Golden delicious) αν χρησιμοποιηθεί σε μεγαλύτερες της κανονικής δόσεις υπάρχει κίνδυνος φυτοτοξικότητας.
Pirimicarb	EC	Να μην χρησιμοποιείται στο χρυσάνθεμο και στην πικροδάφνη, λόγω φυτοτοξικότητας
Propargite	WP, EC, EW	Να μην εφαρμόζεται όταν τα φυτά υποφέρουν από ξηρασία, ασθένειες, νηματώδεις, τροφοπνίες και γενικά όταν τα φυτά δεν είναι σε καλή κατάσταση.
Thiacloprid	SC	Στην αχλαδιά και την ροδακινιά, να γίνει δοκιμή πριν να γενικευτεί η εφαρμογή.
Ορυκτέλαιο, παραφινέλαιο	EW	Να μην εφαρμόζεται με παγετό, ψηλές θερμοκρασίες > 32 ο c, ξηρασία ή πολύ υγρασία. Για 14-21 ημέρες από την εφαρμογή του να μην ακολουθήσουν ψεκασμοί με θείο, πολυθειούχα και βορδεϊγάλειος πολύς. Να μην εφαρμόζεται για 90 ημέρες πριν ή 60 ημέρες μετά από εφαρμογές carpan ή folpet.
Ζιζανιοκτόνα		
Alachlor	EC	Να αποφεύγεται η εφαρμογή του σε αμμώδη, αβαθή εδάφη, γιατί υπάρχει αυξημένος κίνδυνος φυτοτοξικότητας.
Benfluralin	EC	Να αποφεύγεται η χρήση σε πολύ αμμουδερά εδάφη γιατί υπάρχει αυξημένος κίνδυνος φυτοτοξικότητας.
Bentazone	SL	Ορισμένες ποικιλίες φασολιού (κυρίως αναρριχώμενες), είναι ευαίσθητες.
Chlorthal-dimehtyl	WP	Να αποφεύγεται η διαβροχή της κορυφής των φυτών.
Desmedipham + phenmedipham	EC	Πιθανόν να προκαλέσει παροδική χλώρωση των φύλλων ιδιαίτερα σε εξασθενημένες καλλιέργειες και όταν επικρατούν δυσμενείς συνθήκες
Linuron	WP, SC	Να αποφεύγεται η εφαρμογή του σε αμμώδη εδάφη, γιατί υπάρχει κίνδυνος φυτοτοξικότητας.
MCPA	SL	Να μην εφαρμόζεται σε καλλιέργειες σιτηρών και καλαμποκιού με συμπτώματα από τροφοπνίες και έλλειψη νερού. Μπορεί να προκληθεί φυτοτοξικότητα σε απόσταση 400 μέτρα από το σημείο εφαρμογής σε ευαίσθητα είδη καλλιεργούμενων φυτών όπως βαμβάκι, τομάτα, τεύτλα, καπνά, αμπέλια, δένδρα.
Metribuzin	WP, WG, SC	Να αποφεύγεται η χρήση σε πολύ αμμουδερά εδάφη. Ορισμένες ποικιλίες πατάτας είναι ευαίσθητες.
Nicosulfuron	SC, WG	Να μην χρησιμοποιείται όταν το καλαμπόκι βρίσκεται σε υδατική κατάπληξη και σε θερμοκρασίες πάνω από 25 °C ή κάτω από 10 °C.



Oxyfluorfen	EC	Είναι φυτοτοξικό στις καλλιέργειες που δεν συνιστάται. Και στον ηλιάνθο αν η δόση ξεπεράσει τα 120 cc / στρ.
Prometryn	WP, SC	Να αποφεύγεται η χρήση του σε αμμώδη εδάφη γιατί υπάρχει κίνδυνος πρόκλησης φυτοτοξικότητας.
Pyridate	EC	Μπορεί να προκαλέσει φυτοτοξικότητα στο ρύζι. Είναι φυτοτοξικό στη σίκαλη.
Rimsulfuron	WG	Να μην εφαρμόζεται σε καλαμπόκι που υποφέρει από προσβολή εντόμων ή ασθενειών, φυτοτοξικότητα άλλων ζιζανιοκτόνων, πολύ χαμηλή ή υψηλή θερμοκρασία. Ακόμη δεν πρέπει να έχουν εφαρμοσθεί στο έδαφος της καλλιέργειας κοκκώδη ογανοφωσφορικά εντομοκτόνα και ο ψεκασμός με οργανοφωσφορικά σκευάσματα θα πρέπει να απέχει τουλάχιστον 7 μέρες πριν ή 4 μέρες μετά την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου.
Simazine	WP	Να μην χρησιμοποιείται τον τελευταίο χρόνο των πολυετών καλλιεργειών (κίνδυνος φυτοτοξικότητας, από υπολείμματα, για την επόμενη καλλιέργεια)
Sulcotrione	SC	Να μην εφαρμόζεται σε ασθενικά φυτά, ή σε φυτά που έχουν πληγεί από κρύο, πλημμύρες, ξηρασία ή ασθένειες.
Tribenuron methyl	WG	Δεν συνιστάται σε καλλιέργειες κριθαριού και σιταριού που έχουν υποστεί καταπόνηση από παγετό, νεροκράτημα και ασθένειες.
Trifluralin	EC	Σε αβαθή και αμμώδη εδάφη προκαλεί φυτοτοξικότητα στις συνιστώμενες καλλιέργειες.
Φυτορυθμιστικές ουσίες Chlormequat	SL	Να μην χρησιμοποιείται όταν η καλλιέργεια είναι βρεγμένη ή όταν αναμένεται βροχή ή παγετός. Ακόμη δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε εδάφη χαμηλής γονιμότητας.
Daminozide	SG	Να μην εφαρμόζεται σε ασθενικά φυτά, που υποφέρουν από τροφопενίες, από έλλειψη νερού, παγετό ή νηματώδεις.
Gibberellic acid	SL	Σε μηλιές όπου χρησιμοποιείται, μπορεί να έχει αρνητική επίδραση στον σχηματισμό μπουμπουκιών τον επόμενο από τον ψεκασμό χρόνο.
Paclobutrazol	SC	Στην αχλαδιά να μην χρησιμοποιείται από το στάδιο της πράσινης κορυφής και μέχρι 2 εβδομάδες από την πτώση των πετάλων γιατί μπορεί να μειώσει την καρποφορία.
β-naphthoxyacetic acid (β-NOA)	EC	Όταν εφαρμόζεται στην αναπτυσσόμενη κορυφή ή στα φύλλα των φυτών δρα φυτοτοξικά.

* Έχει απαγορευθεί η χρήση τους στην Ελλάδα.



Διάγνωση φυτοτοξικότητας

Από την παραπάνω ομαδοποίηση των συμπτωμάτων κατανοούμε πως τα φυτά για μια σειρά φυτοτοξικά αίτια θα εκφραστούν με σχετικά παρόμοιο τρόπο. Η εκφραστική αδυναμία των φυτών παρομοιάζεται με το κλάμα των μικρών παιδιών που μπορεί να προκληθεί από ποικίλης φύσης μικροενοχλήσεις μέχρι και από σοβαρές παθήσεις. (Μπέμ Φ.) Έτσι η διάγνωση της αιτίας που προκάλεσε την φυτοτοξικότητα τις περισσότερες φορές δεν είναι απλή. Για παράδειγμα σε πολλά φυτά συμπτώματα που θα μπορούσαν να αποδοθούν σε ζιζανιοκτόνα όπως το 2,4-D, οφείλονται σε ιούς. Μεσονεύριες χλωρώσεις των φύλλων που προκαλούνται από τριαζίνες μπορεί να θεωρηθούν ως έλλειψη Fe ή Mn που εμφανίζουν παρόμοια συμπτώματα.

Ομοιότητες σε φυτοτοξικά συμπτώματα μπορεί να προκληθούν από ζιζανιοκτόνα μίας χημικής ομάδας με όμοιο τρόπο δράσης (π.χ. Τριαζίνες). Δεν αποκλείεται όμοια συμπτώματα να έχουμε και από ζιζανιοκτόνα διαφορετικών χημικών ομάδων (π.χ. Τριαζίνες και Ουρίες). Ομοιότητα συμπτωμάτων φυτοτοξικότητας μπορεί να υπάρχει και μεταξύ διαφορετικών κατηγοριών ΦΠ (π.χ. ζιζανιοκτόνα και εντομοκτόνα ή μυκητοκτόνα κλπ.). Ακόμη, ομοιότητα συμπτωμάτων φυτοτοξικότητας με αυτή ορισμένων ΦΠ μπορεί να οφείλεται σε ασθένειες, ρύπανση, καιρικές αντιξοότητες κλπ.

Ποικιλομορφία συμπτωμάτων μπορεί να πάρουμε και από τον ίδιο ακόμα φυτοτοξικό παράγοντα σαν αποτέλεσμα διαφορετικών δόσεων, καιρικών συνθηκών, σταδίου ανάπτυξης των φυτών κλπ. (Λόλας 2003).

Η φυτοτοξικότητα των ΦΠ σε υποκυτταρικό επίπεδο

Στην περίπτωση των ΦΠ επαφής η φυτοτοξική επίδραση περιορίζεται στα μέρη του φυτού με τα οποία έρχεται σε επαφή ο τοξικός παράγοντας, ενώ τα διασυστηματικά ΦΠ μπορούν να επιδράσουν και σε απόσταση από το σημείο εισόδου τους.

Η φυτοτοξικότητα από ζιζανιοκτόνα επαφής εκδηλώνεται σύντομα σε χρονικό διάστημα λίγων λεπτών ή ωρών. Τα συμπτώματα εμφανίζεται στα κύτταρα ή τους ιστούς εισόδου του ζιζανιοκτόνου και συνήθως προέρχονται από αποδιοργάνωση των κυτταρικών μεμβρανών, αύξηση της διαπερατότητάς τους και απώλεια κυτταρικών συστατικών.

Η φυτοτοξικότητα από διασυστηματικά ζιζανιοκτόνα εκδηλώνεται σχετικά αργά σε χρονικό διάστημα ωρών, ημερών ή εβδομάδων, μετά από μετακίνηση του μέσα στο φυτό από το σημείο εισόδου στο σημείο δράσης (βλέπε πίνακες 1-6). Η τοξικότητα οφείλεται στην επίδραση των ζιζανιοκτόνων σε φυσιολογικές διεργασίες ή βιοχημικές αντιδράσεις (Λόλας 2003).

Στον παρακάτω πίνακα 10, παρουσιάζουμε γνωστές φυτοτοξικότητες από ΦΠ ομαδοποιημένα βάση του κύριου μηχανισμού δράσης. Μπορούμε να παρατηρήσουμε πως από τα εντομοκτόνα, αυτά που δρουν παρεμποδίζοντας την πύλη Na ή την σύνθεση της χιτίνης στα έντομα, δεν παρουσιάζουν φυτοτοξικότητα όπως άλλωστε αναμέναμε, αφού τα φυτά δεν έχουν αυτά τα ένζυμα που παρεμποδίζονται. Η μη αναμενόμενη φυτοτοξικότητα που εμφανίζουν πολλά ΦΠ εντομοκτόνα που δρουν ως παρεμποδιστές της ακετυλοχοληστερινάσης θα πρέπει να οφείλεται σε δευτερεύοντες μηχανισμούς δράσης που υπάρχουν και στα φυτά που εμφανίζεται η φυτοτοξικότητα.

Από τα μυκητοκτόνα όπως φαίνεται στο παρακάτω πίνακα, τις περισσότερες φυτοτοξικότητες τις εμφανίζουν ΦΠ μη εξειδικευμένης δράσης προστατευτικά που όταν από διάφορες αιτίες περνούν στο φυτικό κύτταρο το βλάπτουν.



Πίνακας 10. Επισκόπηση των ΦΠ ως προς την δυνατότητα πρόκλησης φυτοτοξικότητας με τη χρήση τους. Η ταξινόμηση των ΦΠ έγινε ανα κατηγορία με βάση τον μηχανισμό δράσης της δ.ο..

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ	ΧΗΜΙΚΗ ΟΜΑΔΑ Η ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ *	ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ **
Εντομοκτόνα		
Παρεμποδιστές της ακετυλοχολινεστεράσης	carbaryl, thiodicarb, bendiocarb, benfuracarb, butocarboxin, butoxycarboxin, carbofuran, carbosulfan, formetanate, furathiocarb, methomyl, pirimicarb, azinphos-methyl, cadusafos, chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, diazinon, dichlorvos, ethoprop, fenitrothion, fenthion, malathion, methidathion, phosalone, phosmet, pirimiphos methyl, dimethoate, fenamiphos, methamidophos.	Μηλιά, καπνός. Σε βαμβάκι, καπνό. Να μην χρησιμοποιείται στη γραμμή σποράς. Σε νεαρά φυτά μαρουλιού, σε πρώιμες ποικιλίες ροδακινιάς. Σε γαρδένια, ιβίσκο, γιασεμί, φτέρες, βιολέτα. Σε Cissus, Asparagus, Tradescantia, Chrysanthemum, Euphorbia. Σε κολοκυνθοειδή, φασόλι, αμπέλι μήλα, αχλάδι, κεράσι. Σε αμπέλι, λιανολιμή Κερκύρας, αζαλέα, άλλα καλλωπιστικά. Σε κίτρινα μήλα. Σε τραδεσκάντια, εφόρβια και χρυσάνθεμο.
Παρεμποδιστές στην πύλη νατρίου	acrinathrin, alpha cypermethrin, beta cyfluthrin, bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, esfenvalerate, fluvalinate, lambda cyhalothrin, permethrin, tefluthrin, zeta cypermethrin, indoxacarb.	Να μην γίνεται ο ψεκασμός τις ζεστές ώρες της ημέρας
Παρεμποδιστές στους υποδοχείς της ακετυλοχολίνης	acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid, spinosad	Σε ποικιλίες μηλιάς, αχλαδιάς.
Παρεμποδιστές στους υποδοχείς του GABA (Gamma-aminobutyric acid)	endosulfan, fipronil, abamectin	Αχλάδια σε συνδυασμό με captan
Παρεμποδιστές σύνθεσης χιτίνης	diflubenzuron, flufenoxuron, hexaflumuron, lufenuron, teflubenzuron, triflumuron, buprofezin, cyromazine	
Μιμητικά της ορμόνης νεότητας.	fenoxycard, pyriproxifen	Ποικιλίες αχλαδιάς.
Μιμητικά της εκδυσόνης.	Tebufozide	
Μη εξειδικευμένος τρόπος δράσης Pymetrozine		
Παρεμποδίζει την μιτοχονδριακή μεταφορά ηλεκτρονίων (αναπνοή).	Aluminium Phosphide	
Παρεμποδίζει την μιτοχονδριακή μεταφορά ηλεκτρονίων (αναπνοή) σε διαφορετική θέση.	Ροτενόνη	
Σχηματισμός λεπτού αδιαπέραστου Παραφινέλαιο, πολλοί θερινοί-χειμερινοί Όχι σε θερμοκρασίες > 32 °C. από το οξυγόνο φύλλο γύρω από το σώμα των εντόμων.		
Διείσδυση στα επιφανειακά κύτταρα και καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών.	Αλατα (Κ) λιπαρών οξέων	
Μυκητοκτόνα		
Μυκητοκτόνα μη εξειδικευμένης δράσης	Θείο στοιχειακό S, Ενώσεις Cu, mancozeb, maneb, propineb, metiram, propined, thiram, ziram, dithianon, dichlone, captan, folpet, captafol, chlorothalonil, dichlofluanid, tolyfluanid, dodine, quazatine, iminoctadine	Κολοκυνθοειδή, μηλιά, αχλαδιά σε θερμοκρασίες > 28 °C. Κολοκυνθοειδή, σταυρανθή, μηλιά, αχλαδιά, ροδακινιά, κερασιά, δαμασκηλιά, πρώιμα στάδια ετήσιων καλλιεργειών. Αχλάδια, εσχάρωση σε μήλα. Κολοκυνθοειδή, νεαρά φυτά. Τοξικότητα σε ανοικτά άνθη. Πιθανή φυτοτοξικότητα σε καλλωπιστικά. Όχι σε φυτά στο σπορείο. Σε μήλα Golden, αχλάδια κρυστάλλια, κάποιες ποικιλίες βερικοκιάς.
Μυκητοκτόνα αγνώστου τρόπου δράσης	cymoxanil, fosetyl - Al, iprovalicarb	



Παρεμποδιστές σύνθεσης νουκλεοξέων	benalaxyl, metalaxyl, metalaxyl-M, ofurace, bupirimate, ethirimol, hymexazol	
Παρεμποδιστές μίτωσης & κυτταροδιαίρεσης	benomyl, carbendazim, thiabendazole, thiophanate-methyl, diethofencarb, pencycuron	Μηλιά
Μυκητοκτόνα που δρουν στην αναπνοή	azoxystrobin, kresoxim-methyl, trifloxystrobin, famoxadone, carboxin, flutolanil, oxycarboxin, dinocap, fluazinam	Μηλιά. Εσχάρωση σε μήλα. Κηλίδες σε ράγες σταφυλιού.
Παρεμποδιστές σύνθεσης αμινοξέων & πρωτεϊνών	cyprodinil, pyrimethanil, kasugamycin, streptomycin	
Παρεμποδιστές σύνθεσης λιπιδίων & μεμβρανών	iprodione, procymidone, vinclozolin, dichloran, quintozone(PCNB), tolclofos-methyl, etridiazole, propamocarb hydrochloride	Γενικά μικροεγκαύματα
Παρεμποδιστές βιοσύνθεσης στερόλης SBI (Sterol Biosynthesis Inhibitors)	triforine, pyrifenoxy, fenarimol, nuarimol, imazalil, prochloraz, bitertanol, bromuconazole, cyproconazole, defenoconazole, diniconazole, epoxiconazole, fenbuconazole, fluquinconazole, flusilazole, flutriafol, hexaconazole, myclobutanil, penconazole, propiconazole, tebuconazole, tetraconazole, triadimefon, triadimenol, dimethomorph, dodemorph, fenproprimorph, tridemorph, spiroxamine, fenhexamid	Μηλιά
Παρεμποδιστής σύνθεσης χιτίνης	polyoxin B	
Παρεμπόδιση σύνθεσης κυτταρικών τοιχωμάτων	dimethomorph	
Παρεμποδιστής σύνθεσης μελανίνης	tricyclazole	
Διεγέρτης της άμυνας του φυτού	acibenzolar-S-methyl	
Παρεμβαίνει στα αρχικά στάδια μετάδοσης μνημάτων σε κυτταρικό επίπεδο.	quinoxifen	
Παρεμβαίνει στη μετάδοση οσμωτικών μνημάτων σε κυτταρικό επίπεδο.	fludioxonil	
Ζιζανιοκτόνα		
Παρεμποδιστές του ενζύμου καρβοξυλάση του ακετυλο-συνενζύμου Α (ACCase inhibitors) και σταματούν τη σύνθεση των λιπαρών οξέων.	clodinafop propargyl, cyhalofop butyl, diclofop methyl, fenoxaprop-p-ethyl, fenoxaprop-p-ethyl, haloxyfop-r-methyl, propaquizafop, quizalofop-p-ethyl, clethodim, cycloxydim, tralkoxydim	
Παρεμποδιστές του ενζύμου ALS (acetolactate synthase, οξεικογалаκτική συνθετάση).	azimsulfuron, bensulfuron, chlorsulfuron, foramsulfuron, iodosulfuron, nicosulfuron, rimsulfuron, thifensulfuron, triasulfuron, tribenuron, triflusalufuron, imazamethabenz, imazamox, florasulam, metosulam	Να μην χρησιμοποιείται όταν το καλαμπόκι βρίσκεται σε υδατική καταπόνηση και σε θερμοκρασίες πάνω από 25 °C ή κάτω από 10 °C. Όχι σε καλαμπόκι που υποφέρει από προσβολή εντόμων ή ασθενειών, φυτοτοξικότητα άλλων ζιζανιοκτόνων, πολύ χαμηλή ή υψηλή θερμοκρασία, ή έχουν εφαρμοσθεί οργανοφασφορικά εντομοκτόνα.
Παρεμποδιστές της φωτοσύνθεσης στο Φωτοσύνθεμα II.	simazine, terbutylazine, prometryn, metamitron, metribuzin, lenacil, terbacil, chloridazon, desmedipham, phenmedipham, diuron, fluometuron, isoproturon, linuron, propanil, bromoxynil, ioxynil, bentazone, pyridate	Όχι σε αμμώδη εδάφη. Όχι σε αμμώδη εδάφη, μη εκλεκτικό σε ορισμένες ποικιλίες πατάτας. Όχι σε αμμώδη εδάφη. Σε ποικιλίες φασολιού. Στη σίκαλη μπορεί και στο ρύζι.



Παρεμποδιστές της φωτοσύνθεσης diquat, paraquat
στο φωτοσύστημα I.

Παρεμποδιστές του ενζύμου PPO oxyfluorfen, oxadiazon, carfentrazone-ethyl Na μην χρησιμοποιείται όταν το καλαμπόκι
(protochlorophyllinogen oxidase). βρίσκεται σε υδατική καταπόνηση και σε
θερμοκρασίες πάνω από 25 °C ή κάτω από 10
°C.

Παρεμποδιστές βιοσύνθεσης diflufenican, fluorochloridone, Τρικετόνες,
καροτινοειδών. isoxaflutole, amitrole, clomazone, acifluorfen

Παρεμποδιστές του ενζύμου glyphosate, glyphosate trimesium (sulfosate)
EPSPS (enol-pyruvyl shikimic
acid phosphate synthase)

Παρεμποδιστές του ενζύμου GS glufosinate
(glutamine synthetase, συνθετάση
της γλουταμίνης).

Παρεμποδιστές της μίτωσης. benfluralin, ethalfluralin, pendimethalin, Όχι σε αμμώδη εδάφη. Όχι σε αμμώδη εδάφη.
trifluralin, propyzamide, chlorthal- Na αποφεύγεται η διαβροχή της κορυφής των
dimehtyl φυτών.
acetochlor, alachlor, dimethenamid, Όχι σε αμμώδη εδάφη.
propachlor, s-metolachlor, napropamide,
flufenacet

Παρεμποδιστές της κυτταροδιαίρεσης (χωρίς να
παρεμποδίζουν τον σχηματισμό
της ατράκτου).

Παρεμποδιστές βιοσύνθεσης molinate, pebulate, prosulfocarb,
λιπιδίων thiobencarb, ethofumesate

Ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης 2,4-D, MCPA, mecoprop, mecoprop-p,
(ορμονικά). dicamba, clopyralid, triclopyr, quinclorac.

Na μην εφαρμόζεται σε καλλιέργειες σιτηρών
και καλαμποκιού με συμπτώματα από
τροφοπενίες και έλλειψη νερού.

*Οι δραστικές ουσίες με έντονα γράμματα σχετίζονται με κάποιο είδος φυτοτοξικότητας, σύμφωνα με τις επικέτα των
ΦΠ που τις περιέχουν.

** Για κάθε τονισμένη δραστική ουσία στην αριστερή στήλη, αντιστοιχεί με την σειρά εμφάνισης μία πρόταση στη
στήλη με το είδος της φυτοτοξικότητας.



Αντιμετώπιση φυτοτοξικότητας

Ο καλύτερος τρόπος αντιμετώπισης της φυτοτοξικότητας είναι η πρόληψη. Η σωστή εφαρμογή του ΦΠ στη προτεινόμενη δόση, στις ενδεικνυόμενες καλλιέργειες και συνθήκες εφαρμογής, ελαχιστοποιεί τους κινδύνους φυτοτοξικής επίδρασης.

Φυτοτοξικότητα από διασυστηματικά κινούμενο ΦΠ (πχ ζιζανιοκτόνο) είναι δύσκολο αν όχι αδύνατο να αντιμετωπισθεί, ενώ από ΦΠ επαφής σχετικά ευκολότερο.

Γενικά όσο η χρονική απόσταση από την εφαρμογή του ΦΠ μέχρι την ώρα που γίνεται αντιληπτή η τοξικότητα μεγαλώνει, τόσο μειώνονται οι δυνατότητες αντιμετώπισης με ξέπλυμα των φυτών ή του εδάφους με νερό. Αναφέρεται πως ξεπλύματα μέσα στις πρώτες 6 ώρες από την στιγμή της επίδρασης του φυτοτοξικού ΦΠ βοηθάει ιδιαίτερα (Λόλας 2003).

Στις περιπτώσεις ελαφριάς φυτοτοξικότητας τα φυτά αναλαμβάνουν με το πέρασμα του χρόνου και με την βοήθεια ασθενών λιπάνσεων και ποτισμάτων. Όταν η φυτοτοξικότητα εμφανίζεται μόνο στα κάτω φύλλα πιθανόν να μην επεκταθεί στο υπόλοιπο φυτό.

Για ορισμένα ΦΠ, της πιο τοξικής κατηγορίας για τις καλλιέργειες, των ζιζανιοκτόνων, έχουν ανακαλυφθεί αρκετές χημικές ενώσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν αντίδοτα (ή αντιφυτοτοξικοί παράγοντες). Σε εμπορική κλίμακα έχουν χρησιμοποιηθεί τα *naphthalic anhydride* (NA) και *N,N -diallyl-2,2-dichloroacetamide* (R-25788) σε επικάλυψη σπόρων αραβοσίτου για προστασία από ζημιές στην καλλιέργεια από ψηλές δόσεις του EPTC και άλλων θειοκαρβαμιδικών ζιζανιοκτόνων.

Το NA παρεμποδίζει την ενεργοποίηση ή μειώνει την δραστικότητα των ζιζανιοκτόνων μέσα στο φυτό. Ενώ το R-25788 έχει βρεθεί πως προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης της γλουταθειόνης (GSH) και της μεταφοράς της γλουταθειόνης μέσα στα φυτά. Η GSH σχηματίζει ενώσεις με τα ζιζανιοκτόνα ή τα πιο τοξικά παράγωγα τους μέσα στο φυτό και αποτελεί τον κύριο μηχανισμό αποτοξίνωσης των φυτών από ζιζανιοκτόνα (Πασπάτης 1989, May et al. 1998).

Το τρίτο αντίδοτο ζιζανιοκτόνων που κυκλοφορεί εμπορικά είναι το *cyometrinil* (CGA-43089) που χρησιμοποιείται στην προστασία του σόργου από το ζιζανιοκτόνο *metolachlor* και άλλα ζιζανιοκτόνα της ομάδας των Χλωρο-ακεταμιδίων. Δρα είτε εμποδίζοντας την απορρόφηση του *metolachlor* είτε επιταχύνοντας την διάσπασή του στις 2-3 μέρες που το κολεόπτιλο είναι σε επαφή με το ζιζανιοκτόνο.

Εκτός από τα τρία αντίδοτα ζιζανιοκτόνων που κυκλοφορούν σε εμπορική κλίμακα υπάρχουν και άλλα που βρίσκονται σε πειραματικό στάδιο όπως το *benzyl hydrazone* αντίδοτο των ζιζανιοκτόνων *metrybuzin*, *terbutryne*, *atrazine* σε καλλιέργεια σόγιας κλπ. Πιθανολογείται πως πολλά αντίδοτα ζιζανιοκτόνων είναι γνωστά στις εταιρείες παραγωγής ΦΠ αλλά δεν αποκαλύπτονται διότι ευνοούν την χρήση ζιζανιοκτόνων ανταγωνιστριών εταιρειών ή πολύ κοινών και φθηνών ζιζανιοκτόνων (Πασπάτης 1989).

Μέθοδοι εκτίμησης φυτοτοξικότητας

Η φυτοτοξικότητα λόγω της εξάρτησής της από πολλές παραμέτρους πέραν του ΦΠ όπως αναφέραμε, παρά τις λεπτομερείς μελέτες που γίνονται πριν την εμπορική κυκλοφορία του σκευάσματος, δεν είναι λίγες οι φορές που η παρουσία της, με ορατά συμπτώματα η όχι, συνοδεύει τις καλλιέργειες υπονομεύοντας το εισόδημα των καλλιεργητών.

Είναι φανερό πως η εκτίμησή της φυτοτοξικής επίδρασης ενός ΦΠ αποτελεί φλέγον θέμα για την γεωργία και κατά συνέπεια για όλους τους εμπλεκόμενους φορείς.

Κάθε νέα δραστική ουσία που επιδεικνύει μια αξιόλογη τοξικότητα σε επιβλαβείς οργανισμούς των φυτών, μπαίνει στην διαδικασία αξιολόγησης της οικοτοξικολογικής της συμπεριφοράς που μέρος της είναι και η εκλεκτικότητα στα καλλιεργούμενα φυτά.

Πειραματικό υλικό για μελέτη φυτοτοξικότητας.

Τα περισσότερα πειράματα φυτοτοξικότητας έχουν γίνει πάνω σε άλγη (κυρίως *Selenastrum cupricornutum*, λιγότερο σε *Scenedesmus* sp. κ.α.) και διάτομα (*Cyclotella meneghiniana*), ενώ λιγότερα σε διάφορα υδρόβια φυτά επιπλέοντα ή ριζωμένα (*Lemna* sp, *Myriophyllum spicatum*, *Elodea canadensis*, *Ceratophyllum demersum* κ.α.) και πολύ πιο λίγα



σε ριζωμένα στα έδαφος φυτά (κάρδαμο, *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus*), (Xiaodong et al. 2000, Lewis 1995).

Ακόμα πολλές βιοδοκιμές γίνονται με την *Daphnia magna* (Villarroel et al. 2003), και *Tetrahymena pyriformis*. Τα περισσότερα από αυτά τα πειράματα είναι προσανατολισμένες στην εκτίμηση περιβαλλοντικών κινδύνων από ρύπανση.

Σε ανώτερα φυτά μελέτες φυτοτοξικότητας έχουν γίνει και σε ιστοκαλλιέργειες. Σε αυτές η φυτοτοξική επίδραση των ΦΠ εκτιμάται με μετρήσεις του βάρους, του αριθμού βλαστών και ριζών των φυτικών ιστών σε ορισμένο χρόνο από την εφαρμογή του τοξικού παράγοντα (Teixeira da Silva et al. 2003).

Από τα ανώτερα φυτά για την εκτίμηση της φυτοτοξικότητας στις περισσότερες εργασίες χρησιμοποιήθηκαν φυτά του γένους *Lemna* (Tong & Hongjun 1998). Πρόκειται για υδρόβιο φυτικό γένος της οικογένειας Lemnaceae που τα φυτικά του είδη αναπτύσσονται στην επιφάνεια του νερού με ευαισθησία σε πολυάριθμους ρύπους. Το μικρό μέγεθος, ευκολία καλλιέργειας και η γρήγορη αναπαραγωγή του φυτού (διπλασιάζει τον πληθυσμό του σε το χρόνο 4 ημερών) είναι ιδιότητες που έχουν οδηγήσει στη εκτεταμένη χρήση του σε πειράματα φυτοτοξικότητας. Χρησιμοποιείται κυρίως το είδος *Lemna minor* και λιγότερο το *L. gibba*, και το *L. perpusilla* (Lewis 1995).

Δίνει γρήγορα αποτελέσματα (4-21 ημέρες) και μπορεί με μία δοκιμή να ανιχνευθεί η τοξικότητα από έναν ρυπαντή χωρίς να απαιτούνται πληροφορίες για την χημική σύσταση του ρυπαντή. Ο τοξικός παράγοντας προστίθεται στο νερό της καλλιέργειας σε κλιμακούμενες συγκεντρώσεις και με μετρήσεις του αριθμού των φυτών, της επιφάνειας και του ξηρού βάρους των φύλλων στον χρόνο γίνεται εκτίμηση της τοξικότητας σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μέθοδος έχει εξελιχθεί αρκετά και με την χρήση μηχανών σάρωσης και τεχνικές επεξεργασίας εικόνας μπορεί να εκτιμηθεί εύκολα ο αριθμός, η επιφάνεια φύλλων και ο χρωματισμός (πράσινο, κιτρινοπράσινο, καφέ/μαύρο σε περίπτωση νεκρώσεων) των φυτών (Eberius 2001). Το βασικό μειονέκτημα στη χρήση της για διάγνωση φυτοτοξικότητας, είναι πως τα όποια αποτελέσματα στον έλεγχο ενός ΦΠ δεν μπορούν να μεταφερθούν σε άλλα φυτά πέρα από την *Lemna* χωρίς να γίνουν και άλλα πειράματα. Το πρόβλημα γίνεται μεγαλύτερο αν η εφαρμογή του ΦΠ γίνει με ψέκασμα από το φύλλο, γιατί η διαφορετικότητα της εφυμενίδα του κάθε φυτικού είδους θα αφήνει διαφορετικές ποσότητες ΦΠ να εισχωρήσουν και να αλληλεπιδράσουν με το κύτταρο του φυτού.

Είναι φανερό ή ανάγκη τα πειράματα φυτοτοξικότητας των ΦΠ να γίνονται για κάθε φυτό και σε αρκετές ποικιλίες του ώστε να αποκαλυφθούν τυχόν προβλήματα φυτοτοξικότητας.

Μετρήσεις

Η ανάγκη χρονικά σύντομων και οικονομικών στην εκτέλεση μεθόδων εκτίμησης της φυτοτοξικότητας έστρεψε την έρευνα στην εύρεση πολλών τρόπων μέτρησής της.

Η μέθοδος μέτρησης που ακολουθείται για την ανάλυση της φυτοτοξικότητας ενός ΦΠ εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως, το είδος του ΦΠ και ο μηχανισμός δράσης του, το είδος της καλλιέργειας, το χρονικό διάστημα μέσα στο οποίο θέλουμε να έχουμε τα αποτελέσματα, τον βαθμό της ευαισθησίας των μετρήσεων μας, το κόστος ανά μέτρηση κ.α.

Σε μετρήσεις που έγιναν σε τρία καλλιεργούμενα φυτικά είδη, την βρώμη (*Avena sativa*), το κινέζικο λάχανο (*Brassica campestris* cv. *chinensis*) και το μαρούλι (*Lactuca sativa*), που εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις του ζιζανιοκτόνου *sodium trichloroacetate*, βρέθηκε πως οι βιοχημικές μέθοδοι ήταν πολύ πιο ευαίσθητες στον εντοπισμό της φυτοτοξικότητας από αυτή της μέτρησης του νωπού βάρους, που και αυτή ήταν πιο ευαίσθητη από αυτή της μέτρησης της φυτρωτικότητας των σπόρων (Radetski et al. 2000).

Σωρευτικές μετρήσεις

Με αυτή την κατηγορία των μετρήσεων ή καθημερινή φυτοτοξική επίδραση του ΦΠ μετριέται αθροισμένη στο τέλος της καλλιέργειας. Η αξία τους βρίσκεται στο ότι μπορούν να εκτιμήσουν το συνολικό μέγεθος της φυτοτοξικής επίδρασης.

Στις πολύπλοκα συστήματα ή καταστάσεις κι όταν ο χρόνος δεν αποτελεί περιοριστικό παράγοντα, τα ασφαλέστερα συμπεράσματα για την τοξική επίδραση ενός παράγοντα βγαίνουν από το τελικό αποτέλεσμα. Έτσι στην περίπτωση των καλλιεργούμενων φυτών η καλλίτερη μέθοδος εκτίμησης της φυτοτοξικότητας από την χρήση ΦΠ θα ήταν η μέτρηση της απόδοσης των φυτών (σε βάρος, ζαχαρικό τίτλο κτλ) και η ποιότητα (στην ποιότητα συμπεριλαμβάνονται οι εμφανείς τοξικότητες και τα υπολείμματα που πρέπει να είναι κάτω

από τα επιτρεπτά όρια) των προϊόντων στην κανονική χρονική διάρκεια της καλλιέργειας. Οι παραπάνω μετρήσεις περιλαμβάνουν όλων των μορφών τις αλληλεπιδράσεις του ΦΠ με την καλλιέργεια. Αυτή η μέθοδος επειδή είναι η πιο αξιόπιστη χρησιμοποιείται από τις εταιρείες παραγωγής των ΦΠ στα τελικά στάδια ανάπτυξης και βελτίωσης του ΦΠ.

Πληροφορία για την φυτοτοξικής επίδρασης ενός ΦΠ μας δίνουν και οι μετρήσεις μορφολογικών παραμέτρων του φυτού όπως μέγεθος φυλλικής επιφάνειας, ύψος, διάμετρος βλαστού, ξηρό βάρος υπέργειου μέρους, ξηρό βάρος ριζικού συστήματος, μήκος ρίζας, φυτρωτικότητα σπόρων, ύψος νεαρών σποροφύτων καθώς και ρυθμοί ανάπτυξης του φυτού.

Τρέχουσες μετρήσεις

Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει μετρήσεις που αποδίδουν την φυτοτοξική επίδραση την δεδομένη στιγμή της μέτρησης. Με διαδοχικές μετρήσεις αυτών των παραμέτρων σε επιλεγμένες χρονικές στιγμές, παρακολουθούμε την χρονική εξέλιξη της φυτοτοξικότητας.

Στις τρέχουσες ανήκουν οι μετρήσεις φυσιολογικών λειτουργιών όπως, διαπνοή, υδατικό δυναμικό φύλλων, περιεκτικότητα ιστών σε νερό, αναπνοή, φωτοσύνθεση (Untiedt & Blanke 2004), φθορισμός της χλωροφύλλης. Αυτές είναι ευαίσθητες, σχετικά εύκολες, χαμηλού κόστους, μη καταστροφικές (οι περισσότερες από αυτές) μετρήσεις που μας παρουσιάζουν την στιγμή της μέτρησης το επίπεδο της λειτουργίας των αντίστοιχων μηχανισμών του φυτού.

Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται και οι βιοχημικές μετρήσεις, της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών, του DNA, του RNA και των αμινοξέων. Ακόμα μετρήσεις ενζύμων, όπως οι περοξειδάσες (που βρίσκονται σε όλα τα φυτά και σχετίζονται με αντιδράσεις οξειδωσης από ξενοβιοτικά), υπεροξειδική δυσμουτάση, καταλάσες, ρεδοουκτάση του γλουταθείου, καθώς και του ένζυμου s τρανσφεράση της γλουταθειόνης (Glutathione-s-transferase) με σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αποτοξίνωσης (Teisseire & Vernet 2001).

Στην παρούσα εργασία για την διερεύνηση πιθανών φυτοτοξικών επιδράσεων σε καλλιεργούμενα είδη από δύο κατηγορίες ΦΠ (εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα) που αναμένονται ασθενείς τοξικές επιδράσεις, με κριτήριο την ευαισθησία της, επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος του φθορισμού της χλωροφύλλης α,

Για αυτό τον λόγο θα αναπτυχθεί πιο εκτεταμένα η παραπάνω μέθοδος.



Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ Α

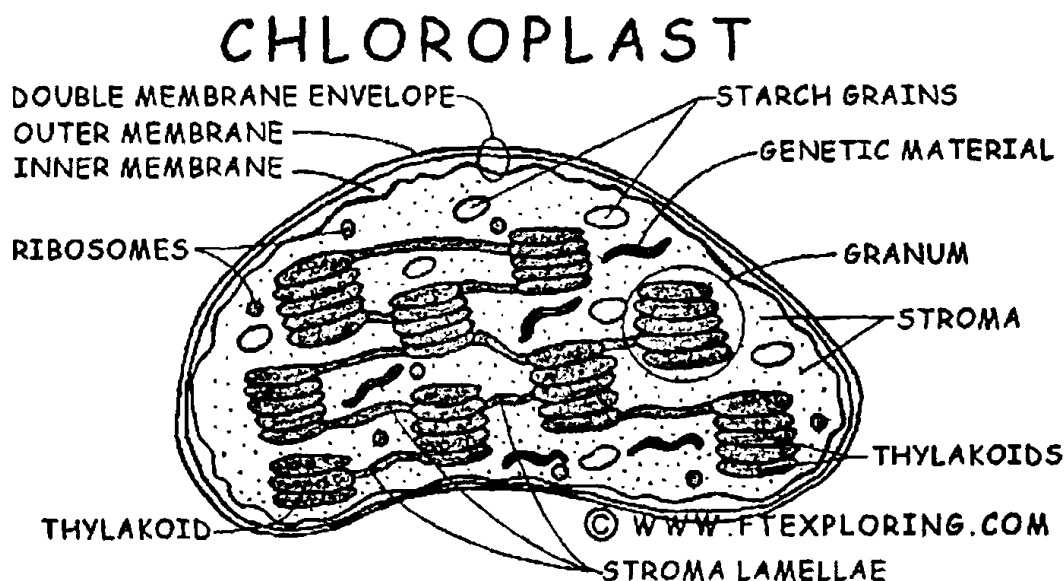
Μεταξύ των μεθόδων ελέγχου πιθανής φυτοτοξικότητας έχει χρησιμοποιηθεί ως γρήγορη, μη καταστροφική και ιδιαίτερα ευαίσθητη, αυτή του φθορισμού της χλωροφύλλης *in vivo*, με πολύ καλά αποτελέσματα στην διάκριση τοξικότητας ζιζανιοκτόνων που επιδρούν στην φωτοσύνθεση (Follak & Hurle, 2003), καθώς και καταστάσεων καταπόνησης από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως έλλειψη νερού, υψηλές εντάσεις φωτός και ακραίες θερμοκρασίες, (Gamon & Pearcy 1989, Groom & Baker 1992, White & Critchley 1999).

Η χλωροφύλλη α είναι μια φωτοσυνθετική χρωστική που παρεμβάλλεται στον μηχανισμό της φωτοσύνθεσης. Για την ερμηνεία των διεγέρσεων και αποδιεγέρσεων της που σχετίζονται με τον φθορισμό της, θα πρέπει να δούμε: α) την θέση και την λειτουργία της σε όλη την ακολουθία των αντιδράσεων, από την απορρόφηση των φωτονίων μέχρι την ενσωμάτωση του CO₂ σε οργανικές ενώσεις, και β) τον εξειδικευμένο φθορισμό της χλωροφύλλης α και τις τεχνικές που έχουν αναπτυχθεί ώστε ο εκπνευόμενος φθορισμός να μετατραπεί σε χρήσιμη πληροφορία για την διάγνωση της φυσιολογική κατάσταση των φυτών.

Δομή και λειτουργία της φωτοσυνθετικής συσκευής

Ο χλωροπλάστης

Η φωτοσύνθεση επιτελείται στους χλωροπλάστες (σχήμα 6), οργανίδια με μήκος 5μ και πάχος 3μ. Ένα κύτταρο μεσοφύλλου έχει 40-50 χλωροπλάστες, που αντιστοιχούν σε 500.000 οργανίδια ανά mm² επιφάνειας φύλλου. Οι χλωροπλάστες περιβάλλονται από δύο μεμβράνες μια εξωτερική και μια εσωτερική, 8-10 nm η κάθε μία, που απαρτίζουν το πλαστιδιακό περίβλημα. (Δεληβόπουλος 1994). Η εσωτερική μεμβράνη περιβάλλει το στρώμα, που περιέχει διαλυτά ένζυμα και περίπλοκο σύστημα μεμβρανικών σάκων που ονομάζονται θυλακοειδή και έχουν σχήμα επίπεδων δίσκων. Μία στοιβάδα από τέτοιους δίσκους ονομάζεται granum. Τα διάφορα granum ενώνονται μεταξύ τους με αστοίβακτα θυλακοειδή που αποκαλούνται θυλακοειδή του στρώματος. Οι μεμβράνες των θυλακοειδών διαχωρίζουν τον εσωτερικό υδατικό χώρο των θυλακοειδών (lumen) από τον στρωματικό χώρο. (Stryer 1997).



Σχήμα 6. Σχηματική απεικόνιση του χλωροπλάστη. Από διαδίκτυο www.ftexploring.com.

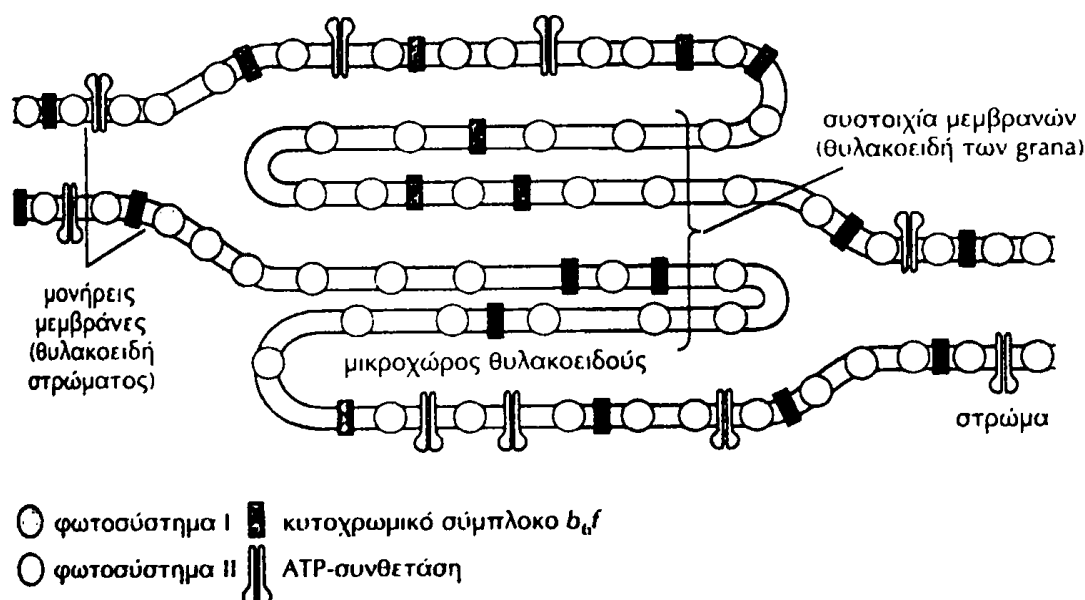
Μέσα στο στρώμα υπάρχουν, το πλαστιδιακό DNA, ριβοσώματα που συνθέτουν πρωτεΐνες, πλαστοσφαιρίδια διαμέτρου 10-15 nm που αντιπροσωπεύουν αποταμιευμένα



λιπίδια και κινόνες, καθώς και ποικίλος αριθμός αμυλοκόκκων. Στο στρώμα υπάρχει ακόμα το σιδηροπρωτεϊνικό σύμπλοκο φυτοφερριτίνη, που χρησιμοποιείται κατά την σύνθεση της χλωροφύλλης της φερρεδοξίνης και των κυτοχρωμάτων (Δελιβόπουλος 1994).

Οι θυλακοειδείς μεμβράνες

Οι μεμβράνες των θυλακοειδών περιέχουν τον μηχανισμό συλλογής και μεταγωγής ενέργειας δηλαδή τα φωτοσυστήματα I και II με τα αντίστοιχα κέντρα αντίδρασης και φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα LHCI και LHCII, καθώς και τις αλυσίδες μεταφοράς ηλεκτρονίων και τη συνθάση του ATP (σχήμα 7). Τα φωτοσυστήματα PSI και οι συνθάσες του ATP βρίσκονται σχεδόν αποκλειστικά στις μη στοιβαγμένες περιοχές, ενώ τα φωτοσυστήματα PSII εντοπίζονται κυρίως στις στοιβαγμένες περιοχές. Τα σύμπλοκα κυτοχρωμάτων *b6-f* είναι ισοτίμα κατανεμημένα και στις δύο περιοχές. Η πλαστοκινόννη είναι ο κινητός μεταφορέας μέσα στη μεμβράνη και η πλαστοκυανίνη είναι ο κινητός μεταφορέας εντός του χώρου που περιβάλλεται από τις θυλακοειδείς μεμβράνες (lumen).



Σχήμα 7. Κατανομή των φωτοσυνθετικών συμπλόκων στα θυλακοειδή των grana και στα θυλακοειδή του στρώματος. Από Μανέτα & Ridge 2005.

Οι φωτοσυλλεκτικές κεραίες LHCI και LHCII

Στις φωτοσυλλεκτικές κεραίες LHCI και LHCII των φωτοσυστημάτων PSI και PSII συμμετέχουν οι χλωροφύλλη α (Chl *a*), η χλωροφύλλη β (Chl *b*) (σχήμα 8) και τα καροτινοειδή (σχήμα 9) λουτεΐνη, βιολαξανθίνη και νεοξανθίνη (Morishige & Dreyfuss 1998).

Οι παραπάνω χρωστικές συναρμολογημένες με πρωτεΐνες, συγκροτούνται σε ένα λειτουργικό σύστημα απορρόφησης από ένα ευρύ φάσμα του ηλιακού φωτός.

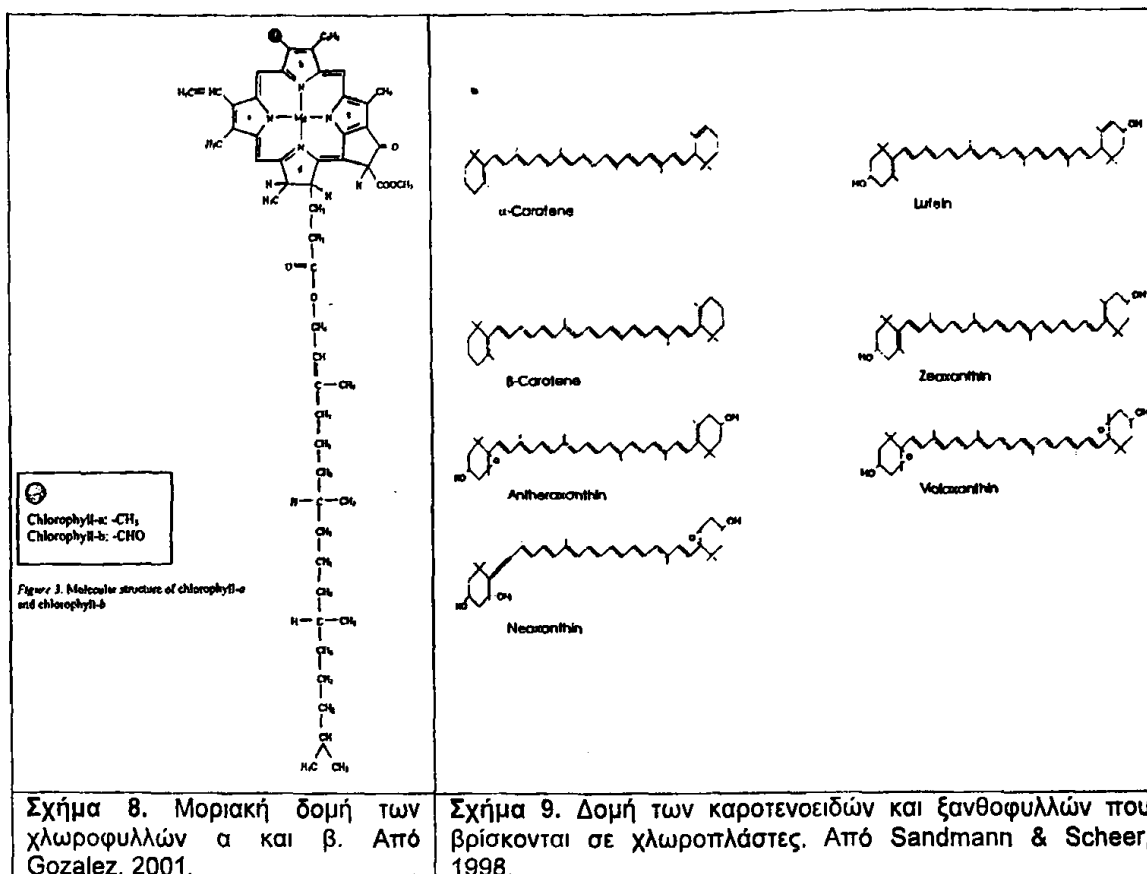
Η μεταφορά της ενέργειας πραγματοποιείται σύμφωνα με την αλληλουχία:

καροτινοειδή → Chl *b* → Chl *a* → κέντρο αντίδρασης

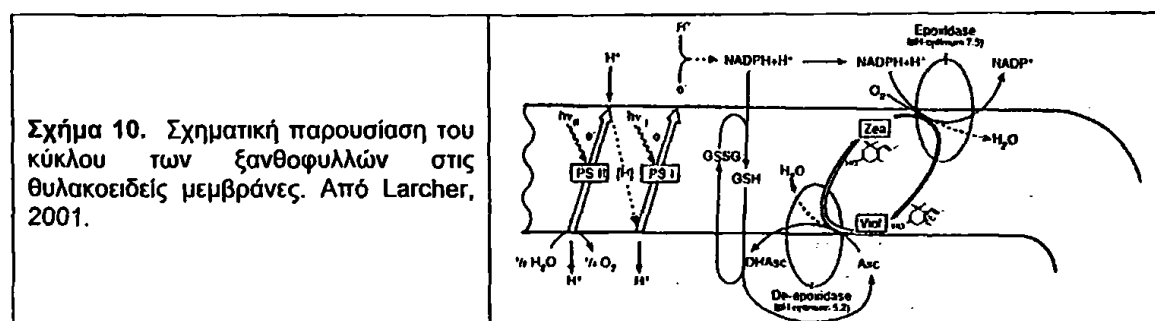
και η φωτοσυλλεκτική κεραία λειτουργεί ως χοάνη που κατευθύνει την ενέργεια των απορροφούμενων φωτονίων στο κέντρο αντίδρασης (Μανέτας & Ridge 2005).

Μια κατηγορία καροτινοειδών οι ξανθοφύλλες που βρίσκονται στην φωτοσυλλεκτική κεραία προστατεύουν την φωτοσυνθετική συσκευή από μεγάλες εντάσεις ακτινοβολίας (Hooper 1998). Μετά από ευαισθητοποίηση από το φως, ένα μέρος της χλωροφύλλης μπορεί να περάσει στην κατάσταση τριπλότητας για χρόνους σχετικά μεγάλους μετρούμενους σε μs . Σε αυτή την κατάσταση μπορεί να αντιδράσει με το οξυγόνο και να δημιουργήσει ενεργές ρίζες οξυγόνου, που είναι ιδιαίτερα βλαβερές για τις μεμβράνες (φωτο-οξειδωση). Τα καροτινοειδή αποσβένουν την κατάσταση τριπλότητας της χλωροφύλλης σε θερμότητα.





Καθώς οι εντάσεις του φωτός αυξάνουν, αρχίζει η ροή ηλεκτρονίων μέσω της φωτοσυνθετικής συσκευής με αποτέλεσμα την δημιουργία βαθμίδωσης πρωτονίων εκατέρωθεν της μεμβράνης των θυλακοειδών. Αυτή η οξίνιση στο lumen, ενεργοποιεί το ένζυμο απο-εποξειδάση που καταλύει την σύνθεση της ζεαξανθίνης (Z), από μία άλλη πρόδρομη ξανθοφύλλη τη βιολαξανθίνη (V) δια μέσω της ανθεραξανθίνης (A), μέσα σε λιπτά (σχήμα 10). Το ακριβώς αντίστροφο συμβαίνει καθώς οι εντάσεις του φωτός πέφτουν. Το ένζυμο που καταλύει την μετατροπή της ζεαξανθίνης σε βιολαξανθίνη βρίσκεται στο στρώμα του χλωροπλάστη και λέγεται εποξειδάση. Ο κύκλος αυτός είναι γνωστός ως κύκλος των ξανθοφυλλών.

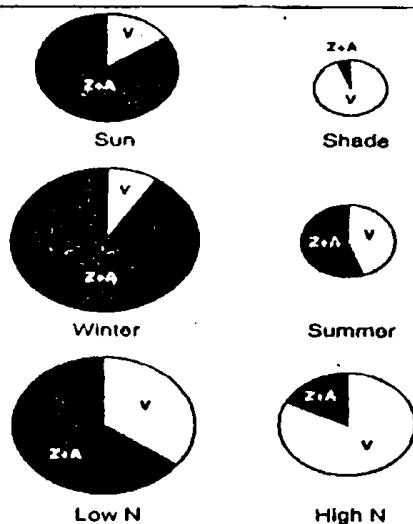


Κατά την μετατροπή παίρνουν μέρος τα οξειδωαναγωγικά συστήματα γλουταθειόνη / οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSH/GSSG) και ασκορβικό οξύ / δεϋδροασκορβικό οξύ (Asc/DHAsc) (Demmig-Adams & Adams 2001). Η φωτοπροστασία μέσω του κύκλου των ξανθοφυλλών παίρνει μέρος τόσο στην φωτοσυνθετική κεραία LHCI του PSI, όσο και στην LHCII του PSII (Morishige & Dreyfuss 1998).

Περιβαλλοντικές καταπονήσεις όπως, έλλειψη νερού ή θρεπτικών στοιχείων ή ακραίες θερμοκρασίες, διεγείρουν τον σχηματισμό Z + A με αποτέλεσμα την απόσβεση της ενέργειας (σχήμα 11).



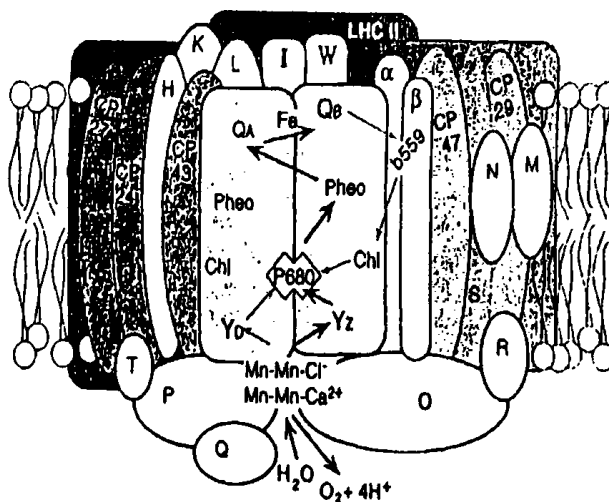
Σχήμα 11. Η συνολική συγκέντρωση των χρωστικών του κύκλου των ξανθοφυλλών ($V+A+Z$) ανά μοί χλωροφύλλης, είναι μεγαλύτερη σε φυτά εγκλιματισμένα σε ήλιο ή χειμερινές συνθήκες ή έλλειψη азώτου, σε σχέση με φυτά προσαρμοσμένα, σε σκιά ή καλοκαιρινές συνθήκες η ψηλά επίπεδα азώτου, αντίστοιχα. Από Demmig-Adams & Adams 2001.



Το φωτοσύστημα II (PSII)

Το φωτοσύστημα II (σχήμα 12) είναι μια συγκροτημένη διαμεμβρανική διάταξη περισσότερων των 10 πολυπεπτιδίων, καταλύει την μεταφορά ηλεκτρονίων από το νερό στην πλαστοκινόνη. Αποτελείται από ένα φωτοσυνθετικό σύμπλοκο, ένα πυρήνα με ένα κέντρο αντίδρασης και ένα σύμπλοκο που είναι υπεύθυνο για τη έκλυση O_2 .

Σχήμα 12. Το φωτοσύστημα II (PSII) όπως παρουσιάζεται από τους He & Malkin, 1998.
LHCII: Το φωτοσυνθετικό σύμπλοκο.
P680: Το κέντρο αντίδρασης του PSII.
 Q_A, Q_B : Οι πλαστοκινόνες A και B.
Mn-Mn...: Το σύμπλοκο έκλυσης O_2 .
Τα τμήματα των πρωτεϊνών συμβολίζονται με τα ονόματα των γονιδίων που κωδικοποιούν αυτές τις υπομονάδες.
Οι δύο σκιασμένες πρωτεϊνικές υπομονάδες είναι οι D1 και D2. Η D1 είναι γνωστή για την προστασία που παρέχει στο PSII από ψηλές εντάσεις ακτινοβολίας με την διάσπαση και την αναγέννηση της.
Τα έντονα βέλη αναπαράσταν την φυσιολογική διαδρομή της μεταφοράς ηλεκτρονίων, ενώ τα λεπτά την εναλλακτική διαδρομή της μεταφοράς ηλεκτρονίων.



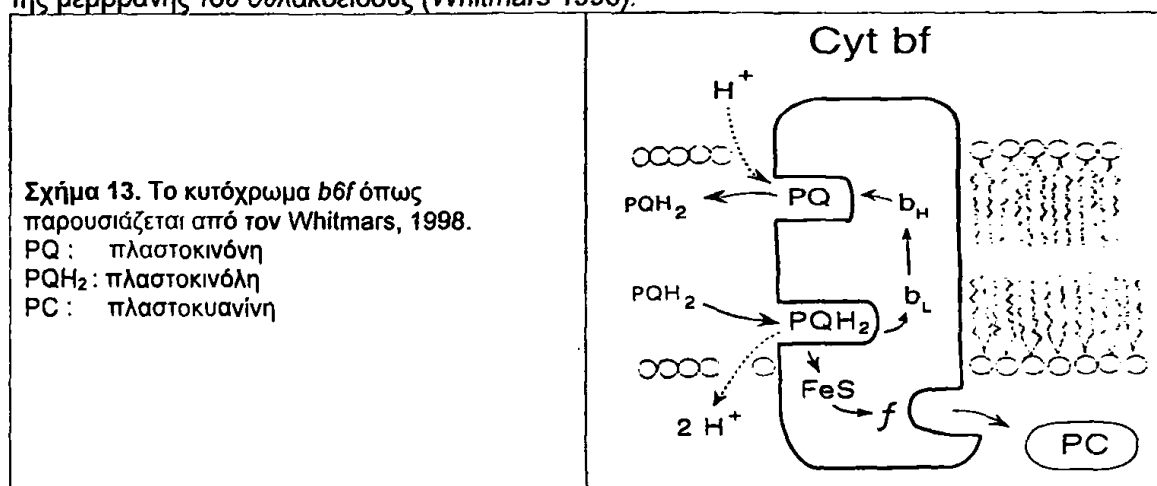
Η απορροφούμενη με τη φωτοσυνθετική κεφαλή φωτεινή ενέργεια, κατευθύνεται αρχικά στο ενεργό κέντρο αντίδρασης P680 του PSII (σχήμα 12). Για κάθε απορροφούμενο φωτόνιο, ένα διεγερμένο ηλεκτρόνιο μεταφέρεται από το κέντρο αντίδρασης P680 πρώτα στον δέκτη ηλεκτρονίων Pheo μετά στον PQ_A που δέχονται ένα e^- και μετά στο PQ_B που δέχεται 2 e^- (σχήμα 12). Το κάθε e^- αναπληρώνεται από το νερό που λειτουργεί ως δότης e^- μέσω του συμπλόκου έκλυσης O_2 .

Η πλαστοκινόνη

Μετά την πλήρη αναγωγή της η^*PQ_B , από το δεύτερο e^- , προτονιώνεται με $2H^+$ του στρώματος, απελευθερώνεται ως πλαστοκινόλη (PQH_2) στη δεξαμενή κινόνης της μεμβράνης των θυλακοειδών και μεταφέρεται στο σύμπλοκο των κυτοχρωμάτων b_6 και f (cyt b_6f) όπου οξειδώνεται σε PQ αφήνοντας $2H^+$ στη εσωτερική πλευρά της μεμβράνης των θυλακοειδών. Με αυτό τον τρόπο τα 2 ηλεκτρόνια από το PSII περνούν μέσω της πλαστοκινόνης (PQ), η οποία αποτελεί κινητό ενδιάμεσο φορέα, στο σύμπλοκο των κυτοχρωμάτων b_6f . Η λιποδιαλυτότητα, το μικρό μέγεθος, η ποικιλία των οξειδοαναγωγικών σταδίων και η δυνατότητα (των 6-8 μορίων ανά PSII) της PQ να προτονιώνεται με $2H$, την καθιστούν αποτελεσματικό φορέα στην φωτοσυνθετική μεταφορά ηλεκτρονίων, ενώ παράλληλα συμβάλλει στην βαθμίδωση του pH μεταξύ του εσωτερικού και του εξωτερικού της μεμβράνης χώρου. (Whitmarsh 1998).

Το κυτόχρωμα b_6f

Το κυτόχρωμα b_6f (σχήμα 13) αποτελεί ένα ολοκληρωμένο σύμπλεγμα πάνω στην μεμβράνη του θυλακοειδούς, που μεταφέρει ηλεκτρόνια από το PSII στο PSI καταλύοντας την οξείδωση της πλαστοκινόλης (PQH_2) και την αναγωγή της πλαστοκυανίνης (PC). Αυτές οι οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις είναι συζευγμένες με την μετακίνηση των πρωτονίων εγκάρσια της μεμβράνης του θυλακοειδούς (Whitmarsh 1998).



Η πλαστοκυανίνη

Η πλαστοκυανίνη είναι μια πρωτεΐνη που πηγαινοέρχεται με διάχυση στην εσωτερική υδατίνη φάση της θυλακοειδούς μεμβράνης (lumen), μεταφέροντας ηλεκτρόνια από το κυτόχρωμα f στο κέντρο αντίδρασης $P700$ του φωτοσυστήματος I, όπου αναπληρώνει το διεγερμένο ηλεκτρόνιο που έχει χάσει.

Κάτω από συνθήκες σταθερής κατάστασης αυτή η διαδικασία μπορεί να επαναληφθεί πάνω από 1000 φορές ανά δευτερόλεπτο (Whitmarsh 1998).

Το φωτοσύστημα I (PSI)

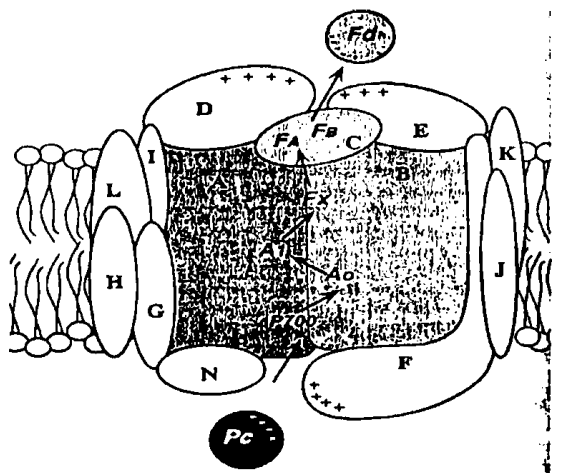
Στα φυτά το φωτοσύστημα I είναι ένα διαμεμβρανικό σύμπλεγμα πάνω στην θυλακοειδή μεμβράνη που καταλύει την οξείδωση της πλαστοκυανίνης και την αναγωγή της φερεδοξίνης (σχήμα 14).

Η διεγερμένη χλωροφύλλη (από την απορροφούμενη με τη φωτοσυνθετική κεραία LHCI φωτεινή ενέργεια) του κέντρου αντίδρασης $P700^*$, δίνει ένα ηλεκτρόνιο σε μια χλωροφύλλη δέκτη την A_0 , που είναι το πιο ισχυρό αναγωγικό βιομόριο που γνωρίζουμε. Εν τω μεταξύ, η $P700^+$ έχει δεχθεί ένα ηλεκτρόνιο από την ανοιγμένη πλαστοκυανίνη για να επιστρέψει στη μορφή $P700$, ώστε να είναι σε θέση να διεγερθεί πάλι.

Το ηλεκτρόνιο της A_0^- μεταφέρεται στην A_1 και στη συνέχεια σε μια σειρά από κέντρα Fe-S του PSI. Το τελικό βήμα είναι η αναγωγή της φερεδοξίνης.

Το φωτοσύστημα I διεγείρεται από φως στο υπέρυθρο (~700 nm), ενώ το PSII εξαρτάται από ψηλότερο ενεργειακό φάσμα φωτός στο ερυθρό (~650 nm).

Σχήμα 14. Το φωτοσύστημα I (PSI) όπως παρουσιάζεται από τους He & Malkin, 1998. Τα τμήματα των πρωτεϊνών συμβολίζονται με τα ονόματα των γονιδίων που κωδικοποιούν αυτές τις υπομονάδες. Τα βέλη υποδεικνύουν τη διαδρομή της μεταφοράς ηλεκτρονίων μέσω του PSI. P700: Το κέντρο αντίδρασης του PSI. Pc: πλαστοκυανίνη Fd: φερεδοξίνη



Η φερεδοξίνη

Η φερεδοξίνη είναι μικρή πρωτεΐνη που λειτουργεί μέσα στην υδατίνη φάση του στρώματος του χλωροπλάστη, μεταφέροντας ηλεκτρόνια από το PSI στην συνδεδεμένη με τη μεμβράνη φλαβοπρωτεΐνη γνωστή ως FNR (περίπτωση μη κυκλικής ροής ηλεκτρονίων).

Το ηλεκτρόνιο της φερεδοξίνης μπορεί να μεταφερθεί στο σύμπλοκο κυτοχρωμάτων *bf* αντί στο NADP^+ και από εκεί να ξαναπάει στο P700 μέσω της πλαστοκυανίνης. Αυτή η κυκλική ροή των ηλεκτρονίων έχει ως αποτέλεσμα την άντληση πρωτονίων δια του συμπλόκου κυτοχρωμάτων *bf*, αύξηση της βαθμίδωσης πρωτονίων και παραγωγή ATP χωρίς παραγωγή NADPH ούτε O_2 εφόσον το PSII δεν συμμετέχει στην κυκλική φωτοφωσφοριλίωση. Η κυκλική φωτοφωσφοριλίωση λαμβάνει μέρος όταν δεν υπάρχει διαθέσιμο NADP^+ για να δεχθεί ηλεκτρόνια από την ανηγμένη φερεδοξίνη εξ αιτίας του πολύ ψηλού λόγου συγκεντρώσεων NADPH προς NADP^+ .

Η φερεδοξίνη είναι ένα από τα πιο ισχυρά διαλυτά αναγωγικά που λειτουργεί στο φυτικό κύτταρο ($E_m \approx -420 \text{ mV}$).

FNR, NADP^+ και NADPH

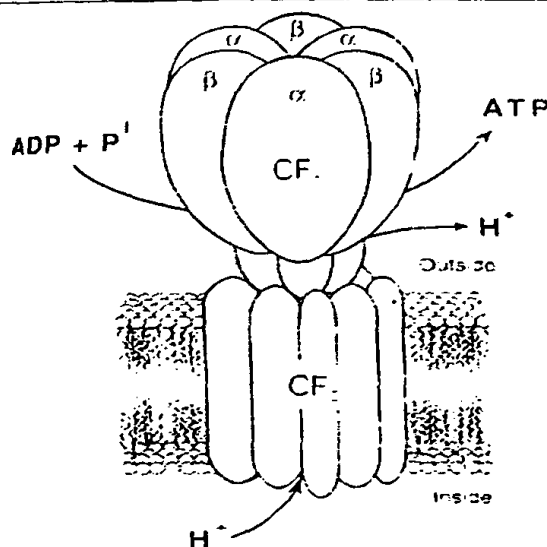
Η φερεδοξίνη- NADP^+ οξειδοοδουκτάση (FNR) συνδέει τον ενός ηλεκτρονίου δότη, φερεδοξίνη, με τον αποδέκτη δύο ηλεκτρονίων NADP^+ . Το NADP^+ είναι ο τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων στην φωτοσυνθετική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, όπου ανάγεται πλήρως με $2 e^-$ και με 1 πρωτόνιο γίνεται NADPH. Το NADPH είναι ένα ισχυρό αναγωγικό που χρησιμοποιείται στην αναγωγή του CO_2 και σε άλλους αναγωγικούς βιοσυνθετικούς κύκλους. Η μεταφορά ενός ηλεκτρονίου δια μέσω των φωτοσυστημάτων απαιτεί 2 φωτόνια. Για τον σχηματισμό κάθε NADPH απαιτούνται 4 φωτόνια και 8 για αναγωγή ενός μορίου CO_2 μέσω του κύκλου Calvin – Benson.

Η ATP συνθάση

Η μεταφορά ηλεκτρονίων δια μέσου της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων της φωτοσύνθεσης προκαλεί μια μεγάλη βαθμίδωση πρωτονίων μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης των θυλακοειδών. Ο εσωτερικός χώρος καθίσταται ιδιαίτερα όξινος σε σχέση με τον εξωτερικό του στρώματος. Η φωτοεπαγόμενη βαθμίδωση πρωτονίων μπορεί να έχει τιμή περίπου 3.5 μονάδες pH. Δεν γίνεται η παραμικρή σύνθεση ATP αν η βαθμίδωση pH είναι μικρότερη από 2 μονάδες. Για κάθε μόριο ATP που συντίθεται, περίπου τρία πρωτόνια διασχίζουν το σύμπλοκο $\text{CF}_0\text{-CF}_1$ (Stryer 1997).



Σχήμα 15. Μοντέλο της ATP συνθάσης, βυθισμένο στην μεμβράνη. Αποτελείται από τη διαμεμβρανική μονάδα CF₀ και τη καταλυτική μονάδα CF₁ στη στρωματική πλευρά της μεμβράνης των θυλακοειδών, όπως παρουσιάζεται από τον Whitmars, 1998.



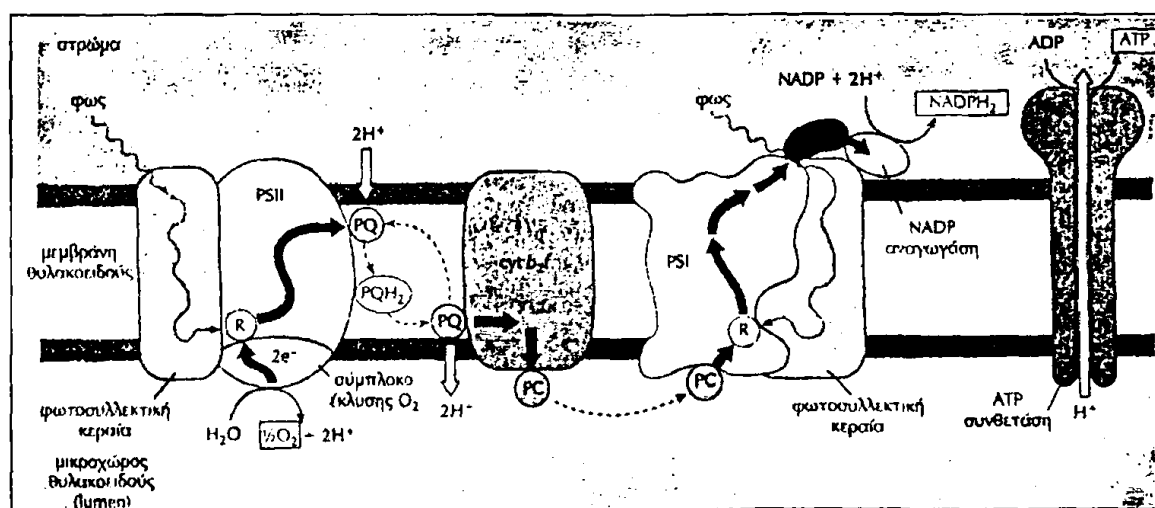
Η συνολική αντίδραση

Η συνολική αντίδραση που επιτελείται στην διαδρομή της φωτοσυνθετικής μεταφοράς ηλεκτρονίων είναι:



Στην ουσία το φως προκαλεί τη ροή των ηλεκτρονίων από το H₂O προς το NADP και οδηγεί στη δημιουργία μιας πρωτονιοκίνητης δύναμης. Αυτή η πορεία ονομάζεται σχήμα Z της φωτοσύνθεσης επειδή το οξειδοαναγωγικό διάγραμμα από την P680 μέχρι την P700 μοιάζει με Z.

Τα μόρια του NADPH και του ATP που παράγονται κατά τις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης, ανάγουν στη συνέχεια το CO₂ μετατρέποντάς το σε εξόξες και άλλες οργανικές ενώσεις. Η αφομοίωση του CO₂ γίνεται μέσω μιας σειράς αντιδράσεων που επιτελούνται στο στρώμα των χλωροπλαστών (σκοτεινές αντιδράσεις), γνωστών ως κύκλος του Calvin.



Σχήμα 16. Οι ηλεκτρονιομεταφορές και η πορεία της μη-κυκλικής φωτοσυνθετικής ροής ηλεκτρονίων και της φωτοφωσφορυλίωσης στα φυτά. Από Μανέτα & Ridge 2005.

PSI : Το φωτοσύστημα I
PSII : Το φωτοσύστημα II
R : Το κέντρο αντίδρασης του PSII ή του PSI

PQ : πλαστοκινόνη
PQH₂ : πλαστοκινόλη
PC : πλαστοκυανίνη
Fd : φερεδοξίνη

Για την αναγωγή ενός μορίου CO_2 μέσω του κύκλου Calvin χρειάζονται 2 μόρια NADPH και 3 μόρια ATP. Για τις συνθέσεις αυτών των μορίων απαιτείται απορρόφηση 4 φωτονίων από το PSII και 4 φωτονίων από το PSI. Με την ενέργεια αυτών των φωτονίων ανάγονται 2 μόρια NADP^+ σε NADPH και δημιουργείται μια βαθμίδωση πρωτονίων ικανή για τη σύνθεση 3 μορίων ATP (Stryer 1997).

Πίνακας 11. Οι απαιτούμενοι ανά στάδιο και οι συνολικοί χρόνοι στο PSII και PSI, κατά την γραμμική μεταφορά ηλεκτρονίων.

ΣΥΜΠΛΟΚΟ	ΑΠΟ	ΠΡΟΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΣΕ sec	ΣΥΝΟΛΙΚΟΙ ΧΡΟΝΟΙ ΑΝΑ ΣΥΜΠΛΟΚΟ		ΧΡΟΝΟΙ % ΤΟΥ ΣΥΝΟΛΙΚΟΥ / ΣΥΜΠΛΟΚΟ		% ΤΟΥ ΣΥΝΟΛΟΥ
				PSII	PSI	PSII	PSI	
PSII	H ₂ O	Mn	0,001			35,71%		33,31%
	Mn	Tyr	0,00045			16,07%		14,99%
	Tyr	P680	0,0000002			0,01%		0,01%
	P680	P680*	0,0000000000000			0,00%		0,00%
	P680*	Pheo	0,0000000000003			0,00%		0,00%
	Pheo	QA	0,00000000002			0,00%		0,00%
	QA	QB	0,00035			12,50%		11,66%
	QB	PQ	0,001			35,71%		33,31%
PSI	PC	P700	0,0002				98,96%	6,66%
	P700	P700*	0,0000000000000				0,00%	0,00%
	P700*	Ao	0,0000000000003				0,00%	0,00%
	Ao	A1	0,00000000012				0,00%	0,00%
	A1	Fx	0,0000001075				0,05%	0,00%
	Fx	Fd	0,000002				0,99%	0,07%
ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΧΡΟΝΟΣ			0,0030	0,0028	0,0002	100,00%	100,00%	100,00%

Επεξήγηση συμβόλων στα σχήματα 12,13 και 14.



Ο φθορισμός της χλωροφύλλης α in vivo, ως μέσο διάγνωσης της λειτουργίας των φυτών

Εισαγωγή

Το φως που απορροφάται από την φωτοσυλλεκτική κεραία, οδηγούμενο στην χλωροφύλλη α την διεγείρει. Η αποδιέγερση της από την κατάσταση απλότητας στην βασική μπορεί να γίνει μέσω τριών διαφορετικών δρόμων (σχήμα 17):

(P) να παράγει φωτοχημικό έργο μέσω του κέντρου αντίδρασης

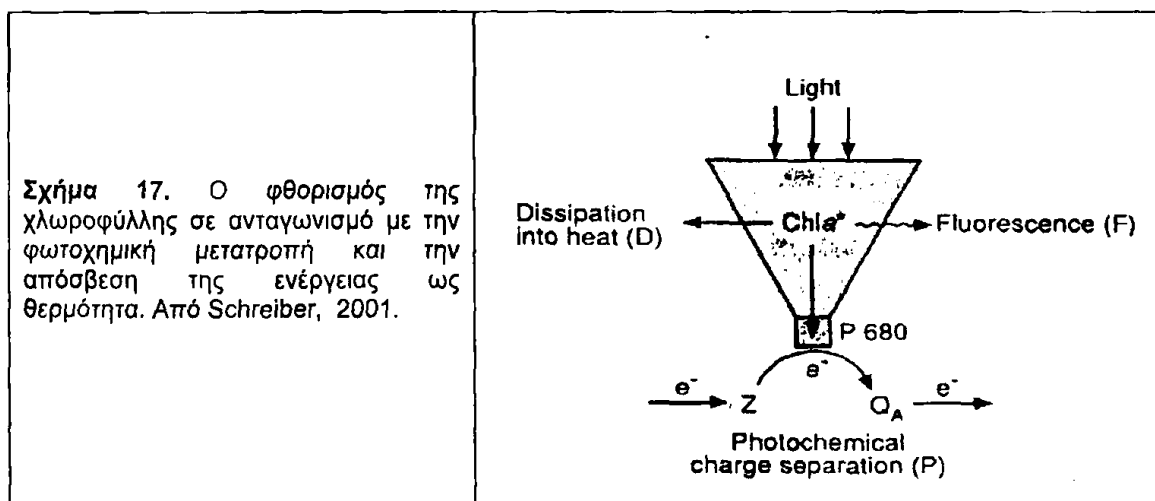
(D) να χαθεί ως θερμότητα

(F) να εκπεμφθεί ως φθορισμός στο περιβάλλον

Όπως φαίνεται στην παρακάτω εξίσωση, σε συνθήκες σταθερής έντασης φωτισμού, το άθροισμα των τριών δρόμων είναι σταθερό. Άρα το παραγόμενο φωτοχημικό έργο μπορεί να μειωθεί τόσο από τον φθορισμό, όσο και από την απόσβεση της ενέργειας ως θερμότητα (μη φωτοχημικό έργο).

$$P + F + D = 1 \text{ ή } F = 1 - P - D$$

Από τις φωτοσυνθετικές χρωστικές, την ικανότητα της αποδιέγερσης μέσω φθορισμού διαθέτουν μόνο οι χλωροφύλλες. Παρ' όλο που το φαινόμενο είναι πολύ έντονο in vitro, η in vivo εκπομπή φωτός από τα φύλλα σπανίως υπερβαίνει το 1-2% της απορροφηθείσας ενέργειας (Maxwell & Johnson 2000), έτσι δεν είναι δυνατόν να παρατηρηθεί με γυμνό οφθαλμό.



Κάτω από φυσικές συνθήκες ο μετρούμενος φθορισμός των φύλλων προέρχεται σχεδόν αποκλειστικά από τις χρωστικές της φωτοσυλλεκτικής κεραίας του φωτοσυστήματος II (PS II), άρα σχετίζεται με τον λόγο της φωτοχημικής μετατροπής στο ενεργό κέντρο του PS II και την απόσβεση της ενέργειας ως θερμότητα στο PS II (Schreiber 2001).

Το "φαινόμενο Kautsky"

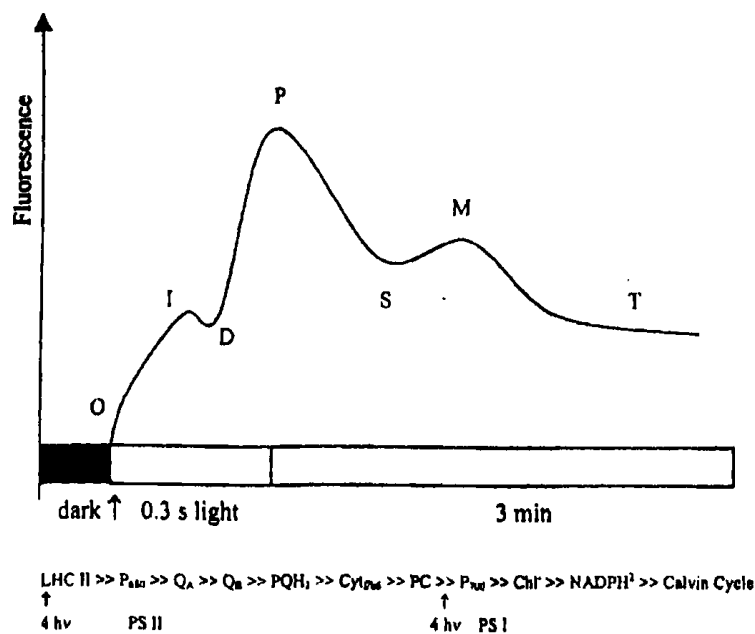
Αν ένα φύλλο φωτίζεται με σταθερή ένταση φωτός η εκπομπή φθορισμού είναι συνεχής σε σταθερό επίπεδο. Η μέτρηση αυτού του φθορισμού μας δίνει πολύ λίγες πληροφορίες για την λειτουργία της φωτοσυνθετικής συσκευής. Οπωσδήποτε περισσότερες πληροφορίες παρέχονται όταν μελετούνται οι μεταβολές του φθορισμού που συμβαίνουν κάτω από μεταβαλλόμενο φωτισμό και ειδικά κατά τα πρώτα λεπτά μετά τον αιφνίδιο φωτισμό ενός φύλλου που έχει προσαρμοστεί για αρκετή ώρα στο σκοτάδι. Η κινητική των μεταβολών φαίνεται στο σχήμα 18.

Η κινητική της επαγωγής και απόσβεσης του φθορισμού είναι γνωστή από τις αρχές της δεκαετίας του '30 ως "φαινόμενο Kautsky", από το όνομα του Γερμανού επιστήμονα που το μελέτησε.



Σχήμα 18.

"Φαινόμενο Kautsky"
Χαρακτηριστική
κινητική επαγωγής
φθορισμού, μετά από
φωτισμό φύλλων
προσαρμοσμένων στο
σκοτάδι.
O-P ταχεία φάση,
P-T αργή φάση.
Από Reigosa Roger &
Weiss, 2001.



Ο Kautsky παρατήρησε πως ο εκπεμπόμενος φθορισμός της χλωροφύλλης α εμφανίζει μία γρήγορη αύξηση ως το μέγιστο P (σχήμα 18) ακολουθούμενη από μία αργή πτώση που φθάνει τελικά μετά από λίγα λεπτά σε σταθερό επίπεδο. Απέδειξε επίσης πως η αργή πτώση του φθορισμού σχετίζεται με την αύξηση της αφομοίωσης του CO_2 (Reigosa Roger & Weiss 2001). Σε ένα τυπικό φυτό, οι μεταβολές σε αυτές τις διεργασίες συμπληρώνονται σε 15-20 min. Ωστόσο οι παραπάνω χρόνοι μπορεί να διαφοροποιούνται ανάλογα με το φυτό (Maxwell & Johnson 2000).

Ερμηνεία των σημείων της καμπύλης Kautsky.

Ο (origin): F_0 είναι η τιμή του φθορισμού αμέσως μετά τον φωτισμό (<1 ps). Αναπαριστά τον φθορισμό όταν πρακτικά το σύνολο των κέντρων αντίδρασης του PSII είναι ανοιχτά. Αυτά είναι ανοιχτά μετά από μια σύντομη παραμονή στο σκοτάδι (10 min έως 2 hr, ανάλογα με το φυτό και την φυσιολογική του κατάσταση), όταν οι αρχικοί και επόμενοι αποδέκτες ηλεκτρονίων πλαστοκινόνες A (Q_A) και B (Q_B) είναι πλήρως οξειδωμένες.

Φωτίζοντας με εντάσεις ικανές να κορέσουν την φωτοσύνθεση τα ηλεκτρόνια διοχετεύονται από το P680 πρώτα προς το (Q_A) και από εκεί στο (Q_B) τα αποθέματά των οποίων ανάγονται πλήρως. Το (Q_A) δεν μπορεί να δεχθεί δεύτερο ηλεκτρόνιο μέχρι να το διοχετεύσει στον επόμενο αποδέκτη ηλεκτρονίων (Q_B). Στο διάστημα που μεσολαβεί μέχρι τα (Q_A) και (Q_B) να οξειδωθούν διοχετεύοντας περαιτέρω τα ηλεκτρόνια τους προς την πλαστοκινόλη και το PSI, τα κέντρα αντίδρασης του PSII δεν μπορούν να δεχθούν επί πλέον ενέργεια διεγέρσεως, αφού η ροή ηλεκτρονίων παροδικά περιορίζεται από έλλειψη οξειδωμένων μορφών των (Q_A) και (Q_B). Έτσι ο αριθμός των κλειστών κέντρων αντίδρασης αυξάνει, η παραγωγή φωτοχημικού έργου στο PSII ελαττώνεται, ενώ αντίστοιχα, αυξάνει ο φθορισμός και η απόσβεση σε θερμότητα (Maxwell & Johnson 2000).

I (inflection): Όταν όλοι οι αρχικοί αποδέκτες του PSII (Q_A) έχουν αναχθεί (0,5 ms).

Η πρώτη αύξηση του φθορισμού από το F_0 στο επίπεδο I καλείται 'φωτοχημική φάση' διότι η κλίση της, είναι ανάλογη της ακτινικής έντασης του φωτός. Σε αντίθεση η αύξηση του φθορισμού από το I στο επίπεδο P (F_m) καλείται 'θερμική φάση' διότι η κλίση της δεν αυξάνει με την αύξηση της έντασης. (Schreiber et al. 1998)

D (dip level): Όταν όλοι οι δεύτεροι αποδέκτες του PSII (Q_B) έχουν αναχθεί (100-600 μ s).



P (peak): Όταν η δεξαμενή πλαστοκινόνης έχει πλήρως αναχθεί (0,5-2s). Είναι η μέγιστη τιμή φθορισμού F_m . Ως δεξαμενή πλαστοκινόνης αναφέρεται η αναλογία των 6-8 μορίων της ανά PSII (Whitmarsh 1998).

Μετά το σημείο P καθώς τα ηλεκτρόνια διοχετεύονται προς την πλαστοκινόλη και αρχίζει η λειτουργία του PSI, τα (Q_A) και (Q_B) επανοξειδώνονται, με αποτέλεσμα τα κέντρα αντίδρασης να ανοίγουν σταδιακά και η φωτοχημική απόδοση του PSII να αυξάνει ενώ ο φθορισμός να αποσβένει.

S (first steady state): Σε αυτό το στάδιο συσσωρεύεται $NADPH_2$ και ATP ενώ το pH αυξάνει.

M (maximum): Μια δευτερεύουσα κορυφή του φθορισμού υπάρχει συνήθως μετά την κορυφή P. Γενικά, αυτό ερμηνεύεται ως η στιγμή που ξεκινά η αφομοίωση του CO_2 .

T (terminal steady state): Μετά από 180-300 sec επιτυγχάνεται ένα σταθερό επίπεδο φθορισμού της χλωροφύλλης. Αυτό ερμηνεύεται ως η στιγμή κατά την οποία η κατάσταση ισορροπίας επιτυγχάνεται στη σύλληψη και την αφομοίωση του CO_2 (Reigosa Roger & Weiss 2001).

Όσο καλύτερη είναι η συνεργασία των δύο φωτοσυστημάτων και αποδοτικότερη η αφομοίωση του CO_2 , τόσο χαμηλότερο είναι το τελικό επίπεδο T.

Μετρήσιμες παράμετροι φθορισμού και η σημασία τους

F_0 : Είναι η ελάχιστη τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης, μετρούμενη σε προσκοτεινισμένο φυτικό δείγμα, με όλα τα PSII κέντρα αντίδρασης πλήρως ανοιχτά.

Το F_0 επηρεάζεται από κάθε περιβαλλοντική καταπόνηση η οποία μεταβάλλει το επίπεδο των χρωστικών του PSII. Η αύξηση του F_0 συνήθως αποδίδεται στην καταστροφή κέντρων αντίδρασης του PSII. Βλάβη του PSII από υψηλές θερμοκρασίες χαρακτηρίζεται από δραστική αύξηση του F_0 . Ενώ ζημιά από πάγωμα του θυλακοειδούς δεν επηρεάζει το F_0 .

F_m : Είναι η μέγιστη τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης μετρούμενη σε προσκοτεινισμένο, μη καταπονημένο φυτικό δείγμα, με όλα τα PSII κέντρα αντίδρασης πλήρως κλειστά.

Το F_m μειώνεται μετά από έκθεση των φύλλων σε ψηλές αλλά όχι βλαπτικές θερμοκρασίες. Πιο ακραίες θερμικές μεταχειρίσεις αυξάνουν το F_0 και μειώνουν το F_m . Σε πειράματα στην ύπαιθρο η μέτρηση της παραμέτρου F_m γίνεται το πρωί πριν την ανατολή του ηλίου και χρησιμοποιείται σαν σημείο αναφοράς.

$F_v = F_m - F_0$: Αυτή η παράμετρος ονομάζεται μεταβαλλόμενος (variable) φθορισμός. Κανονικά αυτή η παράμετρος χαμηλώνει από περιβαλλοντικές καταπονήσεις (πχ. ζέστη, παγωνιά, φωτοαναστολή) τα οποία προκαλούν ζημιά στις θυλακοειδείς μεμβράνες.

F_v/F_m (Yield) = $(F_m - F_0) / F_m = \Phi_{PSII} / qP$: Μέγιστη ανά φωτόνιο απόδοση του PSII. Υγιή φυτά, με άριστη απόδοση μετά από προσαρμογή στο σκοτάδι, έχουν F_v/F_m που κυμαίνεται μεταξύ 0,800 και 0,850. Αυτή η σχέση χρησιμοποιείται πολύ ως δείκτης της επαγόμενης καταπόνησης στην φωτοσυνθετική συσκευή. Μείωση της τιμής της, επιφέρει η φωτοαναστολή που προκαλείται από το φως όταν τα φυτά υφίστανται διάφορους τύπους περιβαλλοντικών καταπονήσεων όπως ξηρασία, κρύο, παγωνιά, ψηλές εντάσεις φωτός, αλατότητα κλπ.

Η μέτρηση του F_v/F_m είναι εύκολη, γίνεται σε δευτερόλεπτα χωρίς να καταστρέφεται το φυτό. Οι μεταβολές του μας δίνουν μία εκτίμηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης των φυτών κάτω από περιβαλλοντική καταπόνηση προτού τα φυτά εμφανίσουν οποιαδήποτε ορατά συμπτώματα.

F_t : Είναι η τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης, που μετρείται την κάθε δεδομένη στιγμή σε φωτισμένο φυτικό δείγμα. Η τιμή της καθορίζεται από την οξειδοαναγωγική και ενεργειακή κατάσταση του δείγματος.

F'_0 : Είναι η ελάχιστη τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης, μετρούμενη σε προφωτισμένο φυτικό δείγμα με όλα τα PSII κέντρα αντίδρασης πλήρως ανοιχτά. Για την μέτρησή του,



ταυτόχρονα με το σβήσιμο του ακτινικού φωτός ($\lambda=400-700$ nm), εφαρμόζεται υπέρυθρη ακτινοβολία μήκους κύματος $>680-700$ nm για 5,5 sec. Ο προσδιορισμός του F'_0 με το PAM 2100, αρχίζει σε 0,5 sec μετά την εφαρμογή της υπέρυθρης ακτινοβολίας και υπολογίζεται συνεχώς για 5 περιόδους διάρκειας 1 sec. Υπολογίζεται ο μέσος όρος της κάθε περιόδου και ο μικρότερος από αυτούς θεωρείται ως F'_0 .

Η μέτρηση της παραμέτρου στην ύπαιθρο θα πρέπει να συνδυασθεί με ταυτόχρονο σκέπασμα του φύλλου.

Ο προσδιορισμός του είναι απαραίτητος για τον υπολογισμό του qP , qN ενώ δεν χρειάζεται στον υπολογισμό του NPQ.

Σε φωτισμένα δείγματα που έχουν φθάσει σε σταθερή κατάσταση, η τρέχουσα τιμή φθορισμού F_t είναι κοντά στην αρχική F_0 ή κάτω από αυτή. Όταν το ακτινικό φως κλείσει ο φθορισμός πέφτει χαμηλότερα στο επίπεδο F'_0 . Αυτό καλείται απόσβεση του F_0 και ένας σημαντικός μηχανισμός της σχετίζεται με την παρουσία των ζεαξανθινών που ρυθμίζουν την απόσβεση της ενέργειας στις φωτοσυνθετικές κεραίες των φωτοσυστημάτων PSI και PSII.

F'_m : Η μέγιστη τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης μετρούμενη σε φωτισμένο φυτικό δείγμα. Ο προσδιορισμός του F'_m γίνεται μετά από κάθε εφαρμογή κορεσμένου παλμού ακτινοβολίας κατά την απόσβεση. Σε πράσινα φυτά η τιμή του F'_m γενικά είναι μικρότερη από την τιμή του F_m .

F_m/F_0 : Αυτή η αναλογία εξαρτάται από το υδατικό δυναμικό των φύλλων. Σύμφωνα με τους Reigosa Roger & Weiss, (2001) κάτω από συνθήκες ξηρασίας ο λόγος θα πέσει στο 1. Σε ακόμα μεγαλύτερη ξηρασίας κανένα F_v δεν παράγεται, αλλά αφότου αποκατασταθεί το πότισμα ο λόγος F_m/F_0 ανεβαίνει μέχρι το 3.

Τρόποι μέτρησης του φθορισμού

Υπάρχουν αρκετούς εμπορικοί τύποι οργάνων και πολλοί διαφορετικοί τρόποι μέτρησης του φθορισμού, η επιλογή τους γίνεται ανάλογα με τον επιδιωκόμενο σκοπό. Θα αναφερθούν περιληπτικά οι πιο συνηθισμένοι απ' αυτούς.

Το συμβατικό φθορισμόμετρο.

Με αυτό το όργανο, η χλωροφύλλη διεγείρεται με συνεχή παροχή φωτός που απορροφάται ισχυρά από τη χλωροφύλλη (κανονικά μπλε φως) και η εκπομπή του φθορισμού ανιχνεύεται στα 600 - 685 nm με τη βοήθεια φωτοαισθητήρα (φωτοδίοδο ή φωτοδίοδο και φωτοπολλαπλασιαστή). Ο διαχωρισμός του ασθενούς σήματος φθορισμού από το ισχυρότερο φως διέγερσης βασίζεται αποκλειστικά στην ποιότητα των οπτικών φίλτρων. Το σήμα διαταράσσεται από το περιβαλλοντικό φως με αποτέλεσμα οι μετρήσεις να πρέπει να γίνουν σε σκοτεινό δωμάτιο, ή με συσκευή που προσφέρει τέλεια φωτοστεγανότητα. Αυτό το όργανο μπορεί να παράγει την χαρακτηριστική καμπύλη επαγωγής φθορισμού, μετά από φωτισμό φύλλων προσαρμοσμένων στο σκοτάδι.

Φθορισμόμετρο με διαμόρφωση (modulation)

Σε αυτό το όργανο χρησιμοποιείται διαμορφωμένο φως διέγερσης, που δημιουργείται είτε μηχανικά είτε ηλεκτρονικά. Ενώ το διαμορφωμένο σήμα φθορισμού είναι επεξεργασμένο από ένα εκλεκτικό ενισχυτή που απορρίπτει όλα τα μη διαμορφωμένα σήματα. Έτσι αυτό το φθορισμόμετρο χαρακτηρίζεται από ορισμένα πλεονεκτήματα όπως:

1. Ότι επιπρόσθετα των οπτικών φίλτρων ένα ηλεκτρονικό φίλτρο καθαρίζει το σήμα.
2. Ότι ο φθορισμός από διέγερση ακτινικού φωτός δεν συνεισφέρει στο σήμα.
3. Ότι ακόμα και σε μεγάλες αλλαγές της έντασης του ακτινικού φωτός, το μετρούμενο σήμα παραμένει μέσα σε σταθερά επίπεδα.
4. Ότι στις χαμηλές εντάσεις του διαμορφωμένου φωτός μέτρησης (measuring light), ουσιαστικά δεν προκαλείται κλείσιμο των κέντρων αντίδρασης του PSII, έτσι ώστε το επίπεδο του F_0 να μπορεί συνεχώς να ελέγχεται.
5. Ότι το σήμα δεν διαταράσσεται από το περιβαλλοντικό φως, έτσι μπορούν να γίνουν πειράματα την ημέρα στο αγρό.



6. Ότι πέραν της χαρακτηριστικής καμπύλης επαγωγής φθορισμού, μετά από φωτισμό φύλλων προσαρμοσμένων στο σκοτάδι, μπορεί ακόμα να παράγει την από το φως στο σκοτάδι κινητική της χαλάρωσης καθώς και άλλες πληροφορίες κάτω από συνθήκες σταθερής κατάστασης σε συνδυασμό με την μέθοδο παλμών κορεσμού (Schreiber et al. 1998).

Στα πειράματά μας χρησιμοποιήθηκε η παραπάνω μέθοδος με τα πλεονεκτήματα που προσφέρει η τεχνική PAM (pulse amplitude modulation).

Η μέθοδος παλμών κορεσμού και ανάλυση απόσβεσης

Η μέθοδος των παλμών κορεσμού, στηρίζεται στην εφαρμογή επαρκώς ισχυρών φωτεινών παλμών, ώστε η πλαστοκινόνη Q_A γρήγορα να αναχθεί πλήρως και η φωτοχημική απόσβεση φθορισμού να κατασταλεί, έτσι ώστε η απομένουσα απόσβεση να μπορεί να θεωρηθεί μη φωτοχημική απόσβεση (Schreiber 2001).

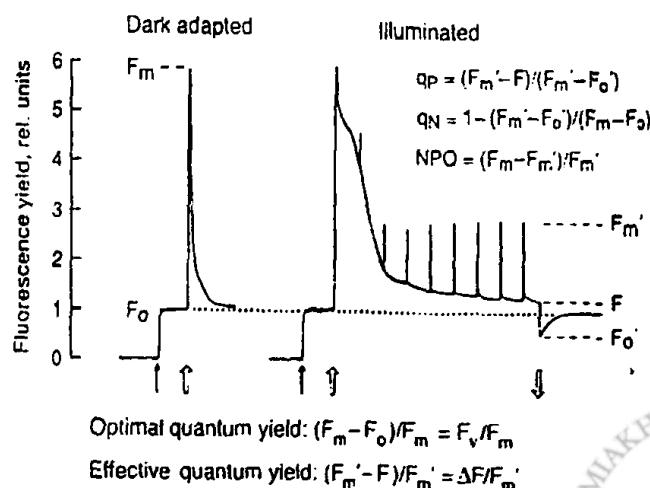
Ενώ η O-P, (ταχεία φάση στη χαρακτηριστική καμπύλη κινητικής επαγωγής φθορισμού) αντανakλά τις αλλαγές στην οξειδοαναγωγική κατάσταση της Q_A , η P-T (αργή φάση στη χαρακτηριστική καμπύλη κινητικής επαγωγής φθορισμού) είναι περίπλοκη από το γεγονός ότι μέσα σε αυτή μεταβάλλονται μαζί η φωτοχημική και η μη φωτοχημική απόσβεση. Είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των δύο τρόπων απόσβεσης με τη βοήθεια της μεθόδου ανάλυση απόσβεσης (quenching analysis) με παλμούς κορεσμού.

Όταν το δείγμα είναι προσαρμοσμένο στο σκοτάδι το F_0 και F_m καθορίζονται με εφαρμογή ενός παλμού φωτός κορεσμού. Από αυτές τις παραμέτρους φθορισμού μπορεί να υπολογισθεί ή μέγιστη ανά φωτόνιο απόδοση του PSII, F_v/F_m (Yield) = $(F_m - F_0) / F_m$ (σχήμα 19). Ο προσδιορισμός της τιμής του F_0 απαιτείται και στον προσδιορισμό του qN , ενώ του F_m στον υπολογισμό της τιμής του qN και του NPQ.

Κατά την διάρκεια που το δείγμα φωτίζεται, η τιμή του F_t υφίσταται σύνθετες αλλαγές μέχρι τελικά να φθάσει στο επίπεδο σταθερής κατάστασης. Με την μέθοδο των παλμών κορεσμού ο φθορισμός διεγείρεται κατά επαναλαμβανόμενο τρόπο, κάθε 10 – 30 sec, με παλμούς φωτός κορεσμού για 1 μ s, παραγόμενους από δίοδο φωτοεκπομπής (LED). Οι παλμοί διέρχονται από φίλτρο που επιτρέπει να περάσουν ακτινοβολίες μικρού μήκους κύματος ($\lambda < 670$ nm). Καταγράφονται με σχετικά συνεχή τρόπο το F_t , το F'_m έτσι μπορεί να υπολογισθεί η φωτοχημική απόδοση του PSII, $\Delta F/F'_m$ (Yield) = $(F'_m - F_t) / F'_m$. Ο προσδιορισμός της τιμής του F_t απαιτείται και στον προσδιορισμό του qP , ενώ του F'_m στον υπολογισμό της τιμής του qP , qN και του NPQ.

Τα σύγχρονα όργανα έχουν προγραμματισμένες ακολουθίες παροχής φωτός, αυτόματη καταγραφή, ανάλυση και υπολογισμό πολλών παραμέτρων (ETR, NPQ, qP , qN) (Schreiber 2001).

Σχήμα 19.
Ανάλυση απόσβεσης φθορισμού με την μέθοδο των παλμών κορεσμού.
Από Schreiber et al. 2001.



Οι περισσότεροι χρησιμοποιούμενοι παράμετροι απόσβεσης φθορισμού και η σημασία τους

Η διαφορά μεταξύ του μέγιστου φθορισμού (P , F_m) και του φθορισμού στο τελικό επίπεδο T ονομάζεται απόσβεση φθορισμού (fluorescence quenching). Διακρίνονται δύο τύποι: η φωτοχημική απόσβεση $qP = (F'_m - F_t) / (F'_m - F'_o)$ και η μη φωτοχημική απόσβεση $qNP = 1 - (F'_m - F'_o) / (F_m - F_o)$. Ο πρώτος τύπος σχετίζεται με τη μετασχηματισμό της ενέργειας στο κέντρο αντίδρασης του PSII, ενώ ο δεύτερος τύπος αναπαριστά τους διαφορετικούς δρόμους απόδοσης της ενέργειας (κυρίως ως μεταφορά θερμότητα και ενέργειας στο PSI) μετά την διέγερση της χλωροφύλλης (Schreiber et al. 1998).

Παράμετροι φωτοχημικής απόσβεσης

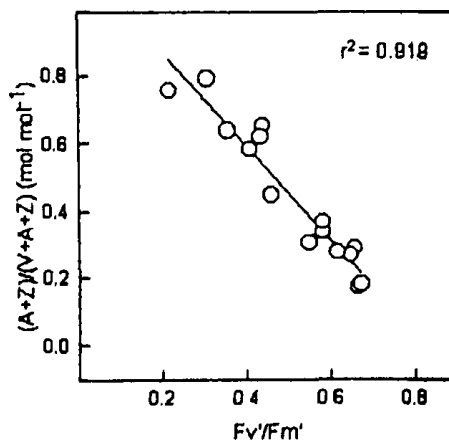
$\Delta F / F'_m = (\text{Yield}) = (F'_m - F_t) / F'_m$: Φωτοχημική απόδοση του PSII.

Ο προσδιορισμός του Yield συνήθίζεται να γίνεται κάτω από συνθήκες σταθερής κατάστασης, σε συνθήκες υπαίθρου. Οι πληροφορίες που μας δίνει το $\Delta F / F'_m$ είναι ιδιαίτερα σημαντικές, ειδικά όταν συνδυάζονται μαζί με το PAR και την θερμοκρασία φύλλου. Για τον προσδιορισμό του Yield δεν απαιτείται η γνώση του F_o , γεγονός που αποτελεί μεγάλο πρακτικό πλεονέκτημα.

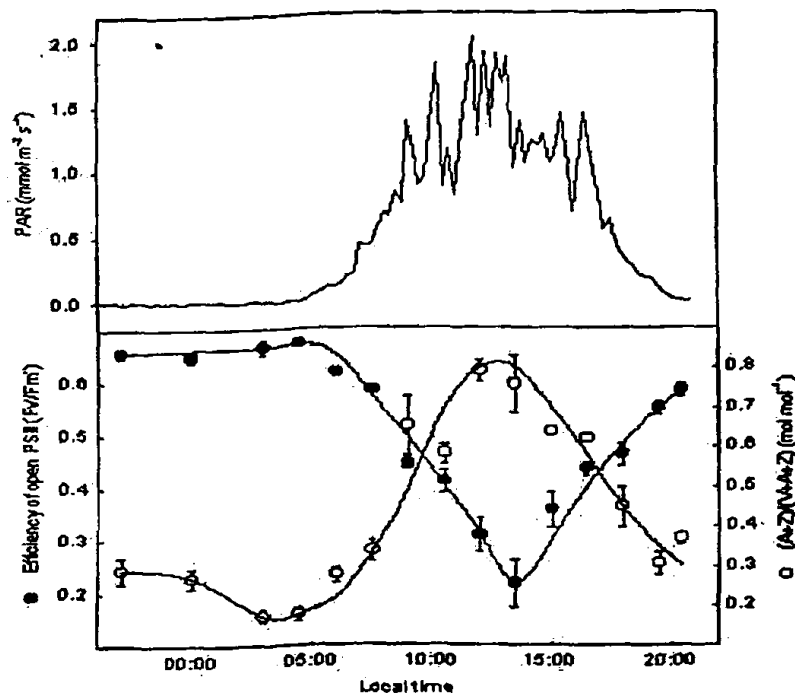
Αυτή η παράμετρος μετρά την αναλογία του απορροφούμενου φωτός από την χλωροφύλλη του PSII, που χρησιμοποιείται στην φωτοχημεία. Έτσι δίνει μια μέτρηση του συντελεστή γραμμικής μεταφοράς ηλεκτρονίων και γενικά έναν δείκτη της φωτοσύνθεσης. Κάτω από εργαστηριακές συνθήκες υπάρχει ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του Yield (Φ_{PSII}) και της απόδοσης της ενσωμάτωσης του CO_2 . Οποσδήποτε ασυμφωνία μεταξύ των δυο παραμέτρων μπορεί να συμβεί κάτω από ορισμένες συνθήκες καταπόνησης, λόγω των αλλαγών στην αναλογία της ενσωμάτωσης του CO_2 και των ανταγωνιστικών διεργασιών όπως η φωτοαναπνοής, ο μεταβολισμός του άζωτο και ή ψευδοκυκλική μεταφορά ηλεκτρονίων.

Η απόσβεση της πλεονάζουσας απορροφηθείσας ενέργειας από τη φωτοσυλεκτική κεραία, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της απόδοσης της μετατροπής της ηλιακής ενέργειας σε φωτοχημική, όπως εκτιμάται με την παράμετρο F_v / F'_m του φθορισμού της χλωροφύλλης.

Σχήμα 20.
Σχέση μεταξύ F_v / F'_m και κατάστασης της από-εποξειδωσης των χρωστικών του κύκλου των ξανθοφυλλών, σε φύλλα καλαμποκιού κάτω από συνθήκες πεδίου. Από Fracheboud, 2004.

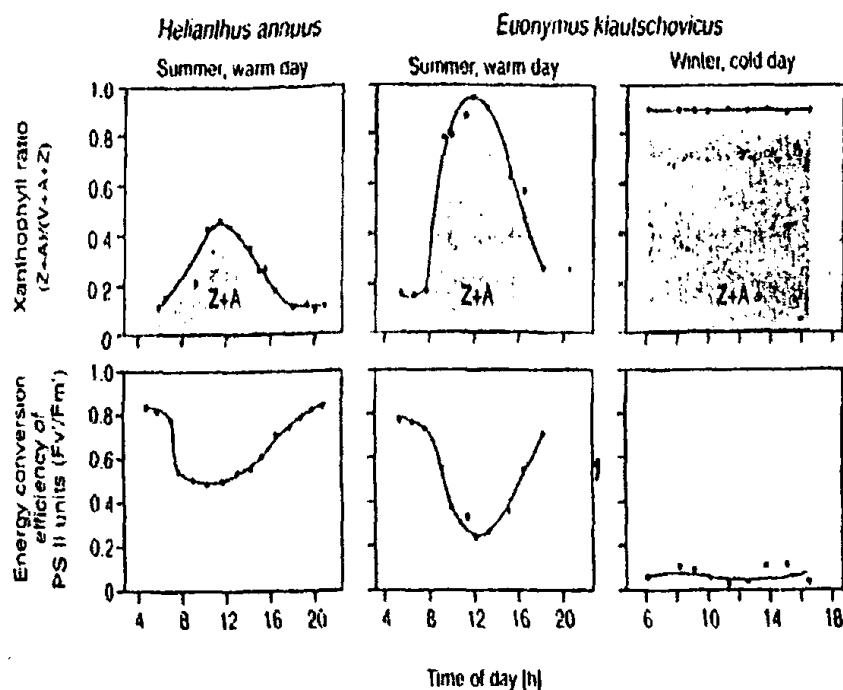


Σχήμα 21. Επίδραση των αλλαγών της φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολίας (PAR), στο Yield και στην κατάσταση από-εποξειδωσης των χρωστικών του κύκλου των ξανθοφυλλών (de-epoxidation state of xanthophylls cycle pigments) φύλλων αραβόσιτου στον αγρό. Από Fracheboud, 1995.



Σχήμα 22.

Η ημερήσια χρονική πορεία της μετατροπής της βιολαξανθίνης (V) σε ζεαξανθίνη και ανθεραξανθίνη (Z+A) στον κύκλο των ξανθοφυλλών, καθώς επίσης και οι αλλαγές στην αποδοτικότητα της μετατροπής της ηλιακής ενέργειας σε φωτοχημική (F_v/F_m) σε εκτεθειμένα στον ήλιο φύλλα ηλιανθου και σε φύλλα ενός πολυετούς θάμνου (*Euonymus*), μια θερμή θερινή και μια κρύα χειμωνιάτικη ημέρα. Από Demmig-Adams & Adams, 2001.



ETR (Electron transport rate): Αναπαριστά την φαινομενική φωτοσυνθετική μεταφορά ηλεκτρονίων. Μετρίεται σε μmol ηλεκτρονίων $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ τα οποία έχουν υπολογισθεί βάση των τιμών του Yield και του PAR με την χρήση της σχέσης:

$$\text{ETR} = \text{Yield} \times \text{PAR} \times 0,5 \times 0,84$$

Για τον υπολογισμό του ETR γίνονται οι παρακάτω υποθέσεις.

- Για την μεταφορά ενός ηλεκτρονίου διαδοχικά μέσω των δυο φωτοσυστημάτων απαιτούνται 2 φωτόνια. Γι αυτό μπαίνει ο συντελεστής 0,5 στην συνάρτηση υπολογισμού του ETR.



- Το 84% των φωτονίων που προσπίπτουν στα φύλλα πολλών φυτικών ειδών απορροφούνται (συντελεστής 0,84). Ο παραπάνω συντελεστής δεν είναι πάντα σωστός, μπορεί να ποικίλει εξαρτώμενος από την ανακλαστικότητα των φύλλων, την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη και την σύνθεση του φάσματος του προσπίπτοντος φωτός.

Το ETR είναι ανάλογο της αφομοίωσης του CO₂ και της έκλυσης του O₂. Για αυτές τις συγκρίσεις οι παρακάτω θεωρήσεις είναι σχετικές:

ο 4 ηλεκτρόνια πρέπει να μεταφερθούν για κάθε αφομοιούμενο CO₂ ή εκλυόμενο O₂.

ο Η τιμή του ETR/4 δεν είναι αναγκαστικά ίδια με την αναλογία του αφομοιούμενου CO₂ ή του εκλυόμενου O₂. Η ασυμφωνία μπορεί να αυξηθεί από την ροή ηλεκτρονίων της φωτοαναπνοής, την αναγωγή των νιτρικών ή την κυκλική ροή ηλεκτρονίων στο PSII (σχήμα 12).

ο Οι πληροφορίες φθορισμού κύρια προέρχονται από τα κορυφαία επίπεδα του χλωροπλάστη, ενώ η ανταλλαγή αερίων ολοκληρώνεται σε όλα τα στρώματα του χλωροπλάστη. Από την άλλη, τα κορυφαία επίπεδα απορροφούν περισσότερο φως επομένως είναι υπεύθυνα για το περισσότερο μέρος της ανταλλαγής αερίων, εκτός αν είναι φωτοανασταλμένα.

PAR είναι η πυκνότητα ροή της προσπίπτουσας φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολίας, μετρούμενη σε μολ φωτονίων m⁻² s⁻¹.

Παράμετροι μη φωτοχημικής απόσβεσης

NPQ (SV_N): Μη φωτοχημική απόσβεση $(F_m - F'_m) / F'_m$

Σχετίζεται γραμμικά με την απόσβεση της ενέργειας ως θερμότητα και παίρνει τιμές από 0 έως το άπειρο. Μετρά αλλαγές στην απόσβεση της ενέργειας ως θερμότητα σε σχέση με αυτή της προσαρμοσμένης στο σκοτάδι κατάστασης. Σε τυπικά φυτά, οι τιμές αναμένονται στο επίπεδο 0,5-3,5 στις ελαφριές εντάσεις κορεσμού, αυτές ποικίλουν έντονα μεταξύ των ειδών και των ιστορικών των φυτών. Γενικά, αν οι τιμές του F_v/F_m φυτών μετά από προσαρμογή στο σκοτάδι είναι εμφανώς διαφορετικές, άμεση σύγκριση των τιμών του NPQ να αποφεύγεται (Maxwell & Johnson 2000).

Σχέση μεταξύ απόδοσης φθορισμού και απόδοση ανά φωτόνιο του PSII

Η κατανόηση της σχέσης μεταξύ απόδοσης φθορισμού και απόδοσης ανά φωτόνιο του PSII είναι πολύ βασική σε όλες τις πρακτικές εφαρμογές του φθορισμού της χλωροφύλλης.

Κάνοντας την παραδοχή των υποθέσεων ότι: α) ο λόγος μεταξύ απόσβεσης της ενέργειας ως θερμότητα και εκπομπής φθορισμού παραμένει σταθερός κατά τη διάρκεια σύντομων φωτεινών παλμών κορεσμού, β) το σήμα φθορισμού προέρχεται μόνο από το PSII, αποδεικνύεται πως μπορούν από τα επίπεδα φθορισμού να προσδιορισθούν:

Μέγιστη ανά φωτόνιο απόδοση του PSII $\Phi_{II} = (F_m - F_0) / F_m = F_v / F_m$

Αποτελεσματική ανά φωτόνιο απόδοση του PSII $\Phi_{II} = (F'_m - F_0) / F'_m = \Delta F / F'_m$

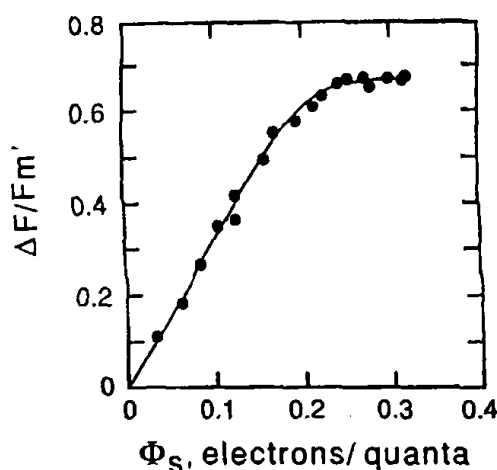
(Schreiber et al. 1998).

Αυτές οι δύο εκφράσεις έχουν επιβεβαιωθεί πειραματικά με ταυτόχρονες μετρήσεις του φθορισμού και της απόδοσης της φωτοσυνθετικής μεταφοράς ηλεκτρονίων (σχήμα 23).



Σχήμα 23.

Σχέση μεταξύ της αποτελεσματικής ανά φωτόνιο απόδοση του PSII, $\Delta F/F_m'$, και της ανά φωτόνιο απόδοσης μεταφοράς ηλεκτρονίων Φ_s , μετρούμενη με αναγωγή της φερρικυανίδης (ferricyanide) σε θυλακοειδή σπινακιού. Η παράμετρος που μεταβάλλεται είναι η ένταση του ακτινικού φωτός. Από Schreiber et al., 1998.



Πρακτικές πλευρές του προσδιορισμού του Φ_{II}

Όταν παρουσιάζονται διαφορές μεταξύ της τιμής του προσδιορισμένου με φθορισμό Φ_{II} , με την μετρούμενη μεταφορά ηλεκτρονίων, αυτό θα πρέπει να οφείλεται σε τουλάχιστον τρεις λόγους: (1) οι παράμετροι φθορισμού (F_0 , F , F_m , F_m') δεν προσδιορίστηκαν σωστά, (2) ο μετρούμενος λόγος της μεταφοράς ηλεκτρονίων δεν είναι ίδιος με το λόγο του διαχωρισμού ηλεκτρικού φορτίου (charge separation) του PSII, (3) οι διαφορές να οφείλονται στην βασική ετερογένεια του PSII, κατά την οποία εμπλέκεται το 1/3 περίπου των κέντρων έκλυσης O_2 (O_2 - evolving centers), τα οποία μπορεί να είναι κλειστά σε σχετικά χαμηλές εντάσεις φωτός, χωρίς μεγάλη απώλεια στην απόδοση μεταβλητού φθορισμού. Οι δυο πρώτοι λόγοι θα αναπτυχθούν παρακάτω λεπτομερέστερα.

Συνεισφορά του φθορισμού του PSI

Στις μελέτες φθορισμού θεωρείται πως ο μετρούμενος φθορισμός προέρχεται από το PSII. Αυτό ενώ είναι σωστό για τον μεταβλητό φθορισμό, στον προσδιορισμό του F_0 υπάρχει μια σημαντική συνεισφορά φθορισμού του PSI που ανέρχεται στο 5% του F_m για τα C3 φυτά και στο 11% του F_m για τα C4 φυτά.

Για να ελαχιστοποιηθεί η συνεισφορά σε φθορισμό του PSI, μπορούν να μετρηθούν μήκη κύματος φθορισμού μικρότερα του 700 nm, όπου η εκπομπή του PSII είναι κυρίαρχη, αυτό όμως επιφέρει σημαντική μείωση της αφθονίας του σήματος. Στην περίπτωση που δεν γίνει διόρθωση του φθορισμού του PSI, το Φ_{II} θα υποτιμηθεί (Schreiber et al. 1998).

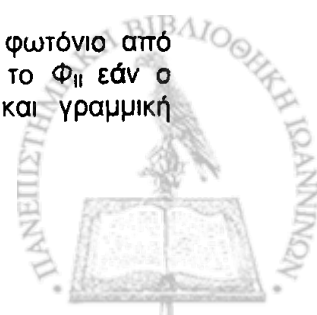
Ο προσδιορισμός του F_m

Στην μέθοδο παλμών κορεσμού, εφαρμόζεται φως μεγάλης έντασης προκειμένου να κορεσθεί η φωτοχημεία του PSII μέσα σε μικρότερο του δευτερόλεπτου χρόνο, προτού να προκληθούν οποιεσδήποτε δευτερογενείς αλλαγές που θα προκαλούσαν μια αλλαγή στην μη φωτοχημική απόσβεση.

Όμως δεν είναι δυνατό να προκληθεί μέγιστη απόδοση φθορισμού μέσα σε λιγότερο από 100 ms, ακόμη και από πολλαπλάσιες εντάσεις κορεσμού. Μικρότεροι χρόνοι εμπεριέχουν τον κίνδυνο υποεκτίμησης του F_m (Schreiber et al. 1998).

Κυκλική ροή γύρω από το PSII

Η παράμετρος $\Delta F/F_m'$ σχετίζεται με την αποτελεσματική απόδοση ανά φωτόνιο από διαχωρισμό ηλεκτρικού φορτίου (charge separation) στο κέντρο PSII, ενώ το Φ_{II} εάν ο διαχωρισμός ηλεκτρικού φορτίου οδηγεί σε δευτερογενή σταθεροποίηση και γραμμική μεταφορά ηλεκτρονίων ή όχι.



Η κυκλική ροή γύρω από το PSII μπορεί να διεγερθεί τεχνητά με την χρήση μικρών συγκεντρώσεων των λεγόμενων αντιδραστηρίων ADRY, που καταλύουν την αναγωγή των S2 και S3 καταστάσεων του συστήματος διάσπασης νερού, μέσω του κυτοχρώματος cyt b559, το οποίο ξανα-ανάγεται μέσω των αποδεκτών του PSII (σχήμα 13).

Η σημαντικότητα της κυκλικής ροής του PSII σε φυσιολογικές συνθήκες είναι υπό συζήτηση. Υπάρχουν ενδείξεις λειτουργίας του σε ψηλές εντάσεις φωτός.

Όπως αναμένονταν με παρουσία του CCCP ενός από τα αντιδραστήρα ADRY, η σχέση μεταξύ Φ_{II} και Φ_S είχε παραμορφωθεί, στην αυξανόμενη συγκέντρωση το Φ_S μπορεί να κατασταλεί ουσιαστικά με σημαντική απώλεια στο Φ_{II} (Schreiber et al. 1998).

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε πως η τεχνική του φθορισμού της χλωροφύλλης είναι μια πολύ ευαίσθητη, συχνά εφαρμοζόμενη, μη καταστροφική, γρήγορη μέθοδος για την εκτίμηση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας και γενικά της φυσιολογικής κατάστασης των φυτών. Θέλει ιδιαίτερη προσοχή στον σχεδιασμό και στην εκτέλεση των πειραμάτων, ώστε η πληθώρα των δεδομένων που μας τροφοδοτεί, να περιέχει σωστή πληροφορία για την κατάσταση των φυτών. Βασικό είναι στην κάθε μελετούμενη περίπτωση, να επιλέγεται προσεκτικά η κατάλληλη παράμετρος που αναγνωρίζει αλλαγές στην λειτουργία του φυτού. (Baker & Rosenqvist 2004).



ΣΚΟΠΟΣ

Μελέτες φυτοτοξικής επίδρασης των ΦΠ σε καλλιεργούμενα φυτά, ειδικά στην κατηγορία των ζιζανιοκτόνων, έχουν γίνει αρκετές και με πολλούς τρόπους μέτρησης της (Radetski et al. 2000, Follak & Hurlle 2003, Alister & Kogan 2004, Smith 2004).

Στόχος μας ήταν να διερευνήσουμε την αναμενόμενη ασθενέστερη φυτοτοξική επίδραση των κατηγοριών των εντομοκτόνων και μυκητοκτόνων σε καλλιεργούμενα φυτά όπου και οι εργασίες που έχουν γίνει είναι λιγότερες (Untiedt & Blanke 2004) αλλά και η σπουδαιότητα αυτού του τομέα είναι μεγάλη.

Στα καλλιεργήσιμα φυτά τα παραπάνω ΦΠ εφαρμόζονται είτε προληπτικά είτε κατασταλτικά τουλάχιστον μία φορά, ενώ τις περισσότερες φορές και ανάλογα με το φυτικό είδος και την πίεση των εχθρών και ασθενειών της καλλιέργειας, οι εφαρμογές μπορεί να υπερβούν τις πέντε, ανά καλλιεργητική περίοδο. Τα ΦΠ μπαίνουν το καθένα μόνο του ή γίνονται και συνδυασμοί ΦΠ στην ίδια εφαρμογή, όταν ο στόχος είναι πολλαπλός και το ένα σκεύασμα δεν είναι αρκετό. Η επανάληψη των εφαρμογών γίνεται συνήθως με εναλλαγή των ΦΠ σε χρονικό διάστημα 10-14 ημερών.

Η ποικιλία των περιβαλλοντικών συνθηκών από πριν ακόμα γίνει η εφαρμογή του ΦΠ, μαζί με την γενετική παραλλακτικότητα των διάφορων ποικιλιών και υβριδίων του κάθε φυτικού είδους που καλλιεργείται, σε συνδυασμό με υπολείμματα ΦΠ από προηγούμενες εφαρμογές, δημιουργούν βάσιμες υποψίες πως η φυτοτοξικότητα από ΦΠ δεν ανήκει στον χώρο της φαντασίας. Ωστόσο η παρουσία της κατά την διάρκεια της καλλιέργειας ειδικά στις ασθενείς φυτοτοξικές επιδράσεις δεν είναι έκδηλη, ακόμα και μειωμένη παραγωγή που οφείλεται σε αυτήν, δεν μπορεί να της αποδοθεί, διότι πλήθος άλλων παραγόντων (λίπανση, άρδευση, ασθένειες, κ.α) διεκδικούν μέρος της ευθύνης.

Η φυτοτοξικότητα στις διάφορες εκφάνσεις της, προκύπτει σαν αποτέλεσμα άπειρων συνδυασμών ΦΠ και άλλων παραγόντων (εδαφοκληματικοί, εχθροί, ασθένειες κ.α.) της καλλιέργειας, έτσι πρώτος στόχος της εργασίας μας ήταν να διερευνηθεί αν μια φθινή, γρήγορη μέθοδος όπως αυτή του φθορισμού της χλωροφύλλης, που σε εργασίες με ζιζανιοκτόνα σε ανώτερα φυτά είχε δώσει καλά αποτελέσματα (Frankart et al. 2003), θα μπορούσε να διαγνώσει πιθανόν ασθενείς φυτοτοξικές επιδράσεις από ΦΠ.

Ο δεύτερος σκοπός της εργασίας μας ήταν να ξεχωρίσει, αν κάποιες εργαστηριακές τεχνικές του φθορισμού της χλωροφύλλης μπορούν να διακρίνουν καλλίτερα τις φυτοτοξικές επιδράσεις. Για αυτό τον λόγο δοκιμάστηκαν οι τεχνικές φθορισμού Rapid Light Curves, Induction Curves καθώς και πρωινές και μεσημεριανές μετρήσεις Yield και ολοήμερες Yield και NPQ.

Ο τρίτος σκοπός της εργασίας μας ήταν να ελεγχθεί η χρονική εξέλιξη της φυτοτοξικής επίδρασης των ΦΠ.

Ο τέταρτος σκοπός της εργασίας μας ήταν να διερευνηθεί η φυτοτοξική επίδραση του παράγοντα της δόσης του ΦΠ, που είναι ένας από τους σημαντικότερους και αυτός που μπορεί απόλυτα να ελεγχθεί.

Ο πέμπτος σκοπός της εργασίας ήταν να ελεγχθεί αν κάποια βιολογικά σκευάσματα ΦΠ έχουν φυτοτοξική επίδραση.

Ο έκτος σκοπός ήταν να εξετασθεί αν στο ίδιο φυτό, τα νεώτερα φύλλα επηρεάζονται περισσότερο από την εφαρμογή ΦΠ.



Πίνακας 12. Οι σκοποί για τους οποίους σχεδιάστηκε και εκτελέστηκε το κάθε πείραμα.

Α/Α	ΣΚΟΠΟΙ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ						
		1	2	3	4	5	6	7
1	Έλεγχος της υπόθεσης πως η μέθοδος του φθορισμού της χλωροφύλλης α μπορεί να ανιχνεύσει ασθενείς φυτοτοξικές επιδράσεις από εφαρμογή ΦΠ.	+	+	+	+	+	+	+
2	Σύγκριση τεχνικών φθορισμού ως προς την δυνατότητα εντοπισμού φυτοτοξικών επιδράσεων. α. Rapid Light Curves και Induction Curves. β. Πρωινές και μεσημεριανές μετρήσεις Yield. γ. Ολοήμερες μετρήσεις Yield και NPQ.		+	+	+	+	+	+
3	Έλεγχος της χρονικής εξέλιξη της φυτοτοξικής επίδρασης.	+	+	+	+	+	+	+
4	Έλεγχος της επίδρασης της δόσης του ΦΠ στην φυτοτοξικότητα ενός ΦΠ.	+	+	+	+	+	+	+
5	Να εξετασθεί αν τα βιολογικά σκευάσματα ΦΠ έχουν φυτοτοξική επίδραση.	+	+	+	+	+		
6	Να εξετασθεί αν στο ίδιο φυτό, τα νεότερα φύλλα επηρεάζονται περισσότερο από τα παλαιότερα από την εφαρμογή ΦΠ.	+						

Σχεδιάστηκαν και εκτελέστηκαν 7 ανεξάρτητα πειράματα όπου εξετάστηκε η επίδραση δύο εντομοκτόνων, δύο μυκητοκτόνων-βακτηριοκτόνων και ενός μυκητοκτόνου, εκ των οποίων τα τέσσερα διαθέτουν έγκριση για χρήση και σε βιολογικές καλλιέργειες.



ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Φυτά και συνθήκες ανάπτυξης

Στο 1^ο και 2^ο πείραμα χρησιμοποιήθηκε το ραπανάκι (*Raphanus sativus* var. *saxa*) που είναι καλλιεργούμενο λαχανοκομικό φυτό, μικρού βιολογικού κύκλου με εδωδιμο υπόγειο μέρος.

Στο 3^ο, 4^ο, 5^ο και 6^ο πείραμα χρησιμοποιήθηκε το σπανάκι (*Spinacia oleracea* L. var. *spinacer*) που είναι ποώδες, λαχανοκομικό φυτό με μικρό βιολογικό κύκλο. Καλλιεργείται περισσότερο φθινόπωρο και χειμώνα με εδωδιμο το φυλλικό μέρος του φυτού.

Στο 7^ο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν φυτά πιπεριάς, *boundy* F1 (*Capsicum annuum* L.) είναι καρποφόρο λαχανικό με βιολογικό κύκλο μεγαλύτερο των 100 ημερών.

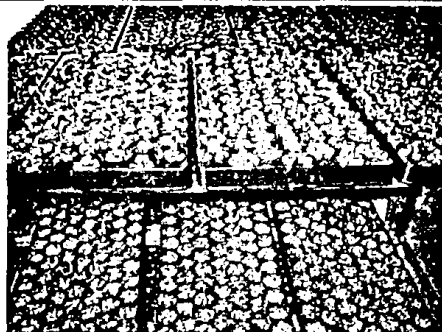
Τα φυτά ραπανάκι και σπανάκι που χρησιμοποιήθηκαν κατά τον πειραματισμό αναπτύχθηκαν από σπέρματα που προμηθευτήκαμε από επιχείρηση εμπορίας πολλαπλασιαστικού υλικού. Η σπορά έγινε τις 15 Οκτωβρίου 2005 σε πλαστικούς (PE) δίσκους 73 θέσεων, μέσα στο υπόστρωμα σπορείων Vriezenveen substrate, σε βάθος 1 cm.

Τα φυτά κατά την διάρκεια ανάπτυξης, ποτίζονταν μέχρι κορεσμού του υποστρώματος, με επίπλευση των τρύπιων στην βάση τους δίσκων, σε ειδικά διαμορφωμένη ξύλινη λεκάνη με πλήρες θρεπτικό διάλυμα για την ανάπτυξη των φυτών. Οι δίσκοι με τα φυτά διανυχτέρευαν σε προστατευμένο χώρο ενώ την ημέρα μεταφέρονταν σε κοντινό εξωτερικό χώρο τηρώντας σταθερή διάταξη και προσανατολισμό των φυτών. Ένα μέρος των φυτών (μετά από αραίωση) διατηρήθηκε ως το τέλος των πειραμάτων στους δίσκους πολλαπλών θέσεων, ενώ τα υπόλοιπα μεταφυτεύθηκαν σε πλαστικά γλαστράκια διαστάσεων 7X7X8 cm. Στο 1ο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν φυτά που δεν είχαν μεταφυτευθεί, ενώ από το 2ο έως και το 6ο πείραμα τα φυτά ήταν σε ατομικά γλαστράκια.

Τα φυτά πιπεριάς που χρησιμοποιήθηκαν στο 7^ο πείραμα σε συνθήκες αγρού, προμηθεύτηκαν από εμπορική φυτωριακή επιχείρηση και ήταν σε δίσκο 84 θέσεων. Μεταφυτεύθηκαν στον αγρό του εργαστηρίου Βοτανικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων σε έξι γραμμές, με αποστάσεις 75 cm μεταξύ των γραμμών και 50 cm πάνω στη γραμμή. Τα φυτά μεταφυτεύθηκαν σε φρεζαρισμένο χώμα και ποτίζονταν σε καθημερινή βάση με αυτοματοποιημένο μέσω προγραμματιστή σύστημα άρδευσης με σταγόνες. Το κάθε φυτό ποτίζονταν σταθερά με 1 lit νερού ανά ημέρα. Η άρδευση διακόπτονταν την ημέρα που έβρεχε. Τα φυτά λιπάζονταν με πλήρες λίπασμα 20-20-20+3 (N, P₂O₅, K₂O, MgO) την ημέρα της μεταφύτευσης με το πρώτο νερό της εγκατάστασης των φυτών. Η ζιζανιοκτονία που χρειάστηκε στην πορεία της καλλιέργειας, έγινε χειρωνακτικά με βοτανίσματα.



Εικόνα 1. Φυτά σε νεαρό στάδιο σε δίσκους πολλαπλών θέσεων, στον χώρο νυχτερινής προστασίας.



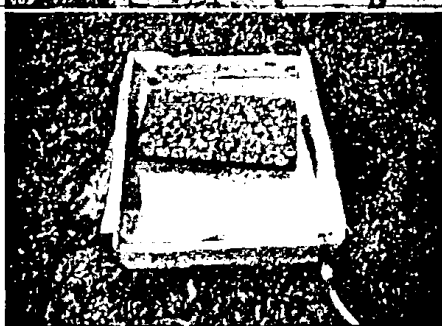
Εικόνα 2. Ανάπτυξη των φυτών σε δίσκους πολλαπλών θέσεων σε υπαίθριο χώρο κατά την διάρκεια της ημέρας.



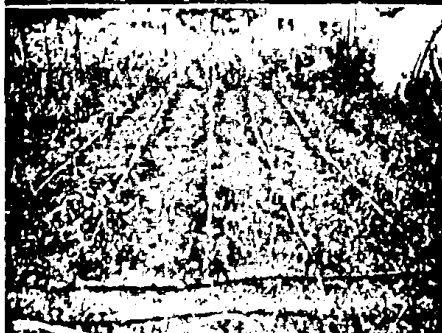
Εικόνα 3. Φυτά σπανακιού σε ατομικό γλαστράκι 7X7X8 κατά τον πειραματισμό.



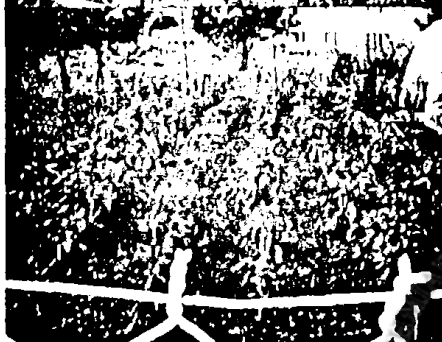
Εικόνα 4. Πότισμα με επίπλευση δίσκων σποράς.



Εικόνα 5. Φυτά πιπεριάς αμέσως μετά την φύτευση στο χωράφι.



Εικόνα 6. Φυτά πιπεριάς στο τέλος του πειράματος.



Φυτοπροστατευτικά προϊόντα

Πραγματοποιήθηκαν ένα πείραμα υπαίθριο με αραιωμένα φυτά σε δίσκο 73 θέσεων, πέντε εργαστηριακά και ένα πείραμα σε συνθήκες αγρού. Στα παραπάνω πειράματα τα φυτά ψεκάστηκαν με διάφορα φυτοπροστατευτικά σκευάσματα ή νερό (μάρτυρας), όπως φαίνεται στον Πίνακα 13. Τα Φ.Σ. που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

Cupravit OB21 50 WP (οξυχλωριούχος Cu 50%). Μυκητοκτόνο-βακτηριοκτόνο επαφής, με προστατευτική δράση εγκεκριμένο και για βιολογικές καλλιέργειες (BK).

Oikos 3.2 EC (εκχυλίσματα σπόρων *Azadirachta indica*, δραστική ουσία Azaditachtin A+B 3.2% w/v). Εντομοκτόνο διασυστηματικό, εγκεκριμένο και για BK.

Savona (άλατα καλίου λιπαρών οξέων 50,5% w/w) εντομοκτόνο, εγκεκριμένο και για BK.

Πίνακας 13. Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν. Φαίνονται τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν, τα Φ.Π. που εξετάστηκαν, οι μεταχειρίσεις και ο αριθμός των φυτών κάθε πειράματος. Οι σκιασμένες περιοχές αφορούν την προτεινόμενη δόση σύμφωνα με τον κατασκευαστή του κάθε προϊόντος.

Πείραμα 1 - Υπαίθριο		Φυτό: Ραπανάκι
Μέτρηση: Yield πρωινό και μεσημεριανό		
Μεταχειρίσεις	Σύμβολο	Αρ. φυτών
Μάρτυρας	M	21
Cupravit 250 g/100 l	C250	21
Cupravit 500 g/100 l	C500	21
Cupravit 1000 g/100 l	C1000	21
Πείραμα 2 - Εργαστηριακό		Φυτό: Ραπανάκι
Μέτρηση σε προσκοτεινιασμένα φυτά:		
α) Rapid Light Curves β) Induction Curves		
Μεταχειρίσεις	Σύμβολο	Αρ. φυτών
Μάρτυρας	M	4
Cupravit 250 g/100 l	C250	4
Cupravit 500 g/100 l	C500	4
Cupravit 1000 g/100 l	C1000	4
Πείραμα 3 - Εργαστηριακό		Φυτό: Σπανάκι
Μέτρηση σε προσκοτεινιασμένα φυτά:		
α) Rapid Light Curves β) Induction Curves		
Μεταχειρίσεις	Σύμβολο	Αρ. φυτών
Μάρτυρας	M	4
Oikos 112,5 cc/100 l	O1	4
Oikos 337,5 cc/100 l	O2	4
Πείραμα 4 - Εργαστηριακό		Φυτό: Σπανάκι
Μέτρηση σε προσκοτεινιασμένα φυτά:		
α) Rapid Light Curves β) Induction Curves		
Μεταχειρίσεις	Σύμβολο	Αρ. φυτών
Μάρτυρας	M	4
Savona 1000 cc/100 l	S1	4
Savona 3000 cc/100 l	S2	4
Πείραμα 5 - Εργαστηριακό		Φυτό: Σπανάκι
Μέτρηση σε προσκοτεινιασμένα φυτά:		
α) Rapid Light Curves β) Induction Curves		
Μεταχειρίσεις	Σύμβολο	Αρ. φυτών
Μάρτυρας	M	4
Bioclean 300 cc/100 l	B1	4
Bioclean 900 cc/100 l	B2	4
Πείραμα 6 - Εργαστηριακό		Φυτό: Σπανάκι
Μέτρηση σε προσκοτεινιασμένα φυτά:		
α) Rapid Light Curves β) Induction Curves		
Μεταχειρίσεις	Σύμβολο	Αρ. φυτών
Μάρτυρας	M	4
Dithane 200 g/100 l	D1	4
Dithane 600 g/100 l	D2	4
Πείραμα 7 - Στον αγρό		Φυτό: Πιπεριά
Μέτρηση: Yield, πρωινό και ημερήσιο		
Μεταχειρίσεις	Σύμβολο	Αρ. φυτών
Μάρτυρας	M	20
Dithane 200 g/100 l	D1	20
Dithane 600 g/100 l	D2	20

Bioclean (διάλυμα καλλίου με βάση φυτικά εκχυλίσματα και φρούτα). Μυκητοκτόνο-βακτηριοκτόνο εγκεκριμένο και για ΒΚ.

Dithane M-45 72 WP (mancozeb 72%). Προστατευτικό μυκητοκτόνο επαφής, εγκεκριμένο για χρήση σε πολλές καλλιέργειες εκτός των ΒΚ.

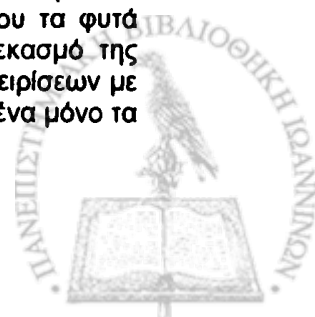
Παρασκευή ψεκαστικού διαλύματος και ψεκασμός

Για τον ψεκασμό των ΦΠ πάνω στα φυτά χρησιμοποιήθηκε ψεκαστήρας χειρός όγκου 1 lit. Τα διαλύματα παρασκευάζονταν στο εργαστήριο με χρήση απιονισμένου νερού ή με νερό του δικτύου ύδρευσης. Το ζύγισμα των ΦΠ με μορφή σκόνης γινόταν με ζυγαριά ακριβείας 0,0001 g, ενώ στα υγρά σκευάσματα η ογκομέτρηση γινόταν με προχοϊδες βαθμονομημένες με ακρίβεια 0,01 ml. Η ογκομέτρηση του νερού γινόταν με κωνική φιάλη των 500 ml. Μετά την παρασκευή των διαλυμάτων γινόταν μέτρηση του pH και της ηλεκτρικής τους αγωγιμότητας. Οι μετρήσεις τους που παραθέτονται στον πίνακα 14 έγιναν με το φορητό πεχάμετρο Bischof pH 18 και το ηλεκτρικό αγωγιμόμετρο Bischof L17.

Πίνακας 14. Ημερομηνία παρασκευής, pH και ηλεκτρική αγωγιμότητα των διαλυμάτων με τα οποία έγιναν οι ψεκασμοί.

ΣΚΕΥΑΣΜΑ	ΔΟΣΗ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΨΕΚΑΣΜΟΥ	pH	ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ μS/cm
Cupravit	0 g /100 lit	12/1/2005	6,98	17
Cupravit	250 g /100 lit	"	6,67	138
Cupravit	500 g /100 lit	"	6,80	240
Cupravit	1000 g /100 lit	"	6,06	400
Savona	0 cc/100 lit	25/1/2005	6,55	430
Savona	1000 cc/100 lit	"	10,05	820
Savona	3000 cc/100 lit	"	10,22	960
Oikos	0 cc/100 lit	25/1/2005	6,55	430
Oikos	112,5 cc/100 lit	"	7,50	434
Oikos	337,5 cc/100 lit	"	7,05	440
Bioclean	0 cc/100 lit	21/2/2005	7,01	11
Bioclean	300 cc/100 lit	"	4,15	930
Bioclean	900 cc/100 lit	"	4,25	2400
Dithane	0 g /100 lit	21/2/05 & 28/7/05	7,01	11
Dithane	200 g /100 lit	"	6,80	160
Dithane	600 g /100 lit	"	6,58	480

Ο ψεκασμός ακολουθούσε αμέσως μετά την παρασκευή και ανάδευση του διαλύματος και γινόταν μέχρι πρώτης απορροής. Η μεταχείριση του μάρτυρα ψεκάζονταν με σκέτο νερό. Κατά τον ψεκασμό λαμβάνονταν προφυλάξεις ώστε να μην μεταφέρονται σταγονίδια από τον ψεκασμό των φυτών της μιας μεταχείρισης στα φυτά της άλλης. Στα έξι πρώτα πειράματα που τα φυτά ήταν σε δίσκους ή ατομικά γλαστράκια, αυτό εξασφαλιζόταν με την παρουσία στο χώρο ψεκασμού μόνο των φυτών που θα ψεκάζονταν. Στο 7^ο πείραμα που τα φυτά πιπεριάς ήταν στο έδαφος και δεν μπορούσαν να μετακινηθούν, πριν τον ψεκασμό της μεταχείρισης με την τριπλάσια δόση, σκεπάστηκε το κάθε φυτό των άλλων μεταχειρίσεων με νάιλον σακούλα. Ενώ στη μεταχείριση με την κανονική δόση, παρέμεναν σκεπασμένα μόνο τα φυτά του μάρτυρα.



Μετρήσεις

Ανάπτυξης και αριθμού καρπών ανά φυτό.

Στο 7^ο πείραμα έγιναν δύο μετρήσεις του ύψους των φυτών. Η πρώτη έγινε πριν τον ψεκασμό των φυτών και η δεύτερη μετά ένα 13 ημέρες από αυτόν. Μετρήθηκε το ύψος του φυτού από το έδαφος μέχρι το ψηλότερο κορυφαίο μερίστωμα του φυτού.

Στο ίδιο πείραμα σε 45 ημέρες από τον ψεκασμό μετρήθηκαν ο αριθμός ανώριμων και ώριμων καρπών ανά φυτό. Το κριτήριο για την κατάταξη στην μία από τις δύο κατηγορίες ήταν το μέγεθος του καρπού της πιπεριάς.

Έμμεση εκτίμηση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη.

Στο 7^ο πείραμα έγινε μία αρχική (αμέσως πριν τον ψεκασμό των φυτών) έμμεση μέτρηση της περιεκτικότητας της χλωροφύλλης των φύλλων της πιπεριάς με το χλωροφυλλόμετρο CCM 200. Η ίδια μέτρηση επαναλήφθηκε 15 ημέρες μετά τον ψεκασμό. Οι μετρήσεις γίνονταν στα ίδια φύλλα που μετρήθηκε και ο φθορισμός της χλωροφύλλης. Σε κάθε φύλλο γινόταν δύο διαδοχικές μετρήσεις περίπου στο κέντρο του φύλλου (χωρίς να ακουμπάμε το κεντρικό νεύρο) και από αυτές υπολογίζονταν ο μέσος όρος του 1^{ου} φύλλου, ανάλογα υπολογιζόταν ο μέσος όρος του 2^{ου} φύλλου και από τις τιμές των δύο φύλλων υπολογιζόταν ο μέσος όρος του φυτού που χρησιμοποιήθηκε στην στατιστική επεξεργασία.

Φθορισμού της χλωροφύλλης α in vivo

Οι μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης πραγματοποιήθηκαν με PAM-2100 (WALZ). Γίνονταν η πρώτη μέτρηση πριν τον ψεκασμό και ακολουθούσαν καθημερινές μετρήσεις για 4-5 ημέρες, μετά γινόταν άλλες 2 μετρήσεις ανά 3 ημέρες. Οι επαναλαμβανόμενες στη διάρκεια του χρόνου μετρήσεις που αφορούσαν το κάθε φυτό, γίνονταν σε συγκεκριμένα φύλλα του φυτού, που είχαν σημειωθεί από την αρχή του πειράματος με ειδικό υλικό (απολυμαντικό πληγών Novaril) στο μίσχο τους.

Στο πρώτο πείραμα (υπαίθριο) μετρήθηκε το Yield πριν την ανατολή του ηλίου και στη διάρκεια του μεσημεριού.

Στο τελευταίο πείραμα (στον αγρό) μετρήθηκε το Yield πριν την ανατολή του ηλίου και στη διάρκεια της μέρας.

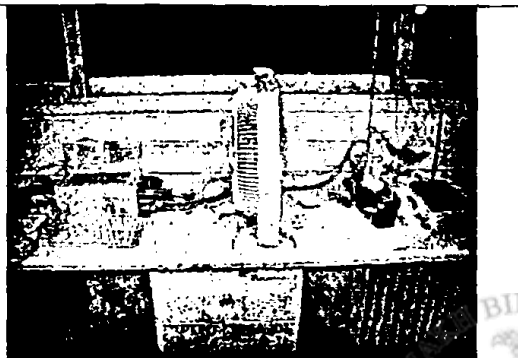
Στα υπόλοιπα πέντε πειράματα (εργαστηριακά) πραγματοποιήθηκαν τα ακόλουθα δυο είδη μετρήσεων:

α) εξάρτηση των παραμέτρων του φθορισμού από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves).

β) εξάρτηση των παραμέτρων του φθορισμού από τον χρόνο παραμονής σε σταθερή ένταση φωτός 680 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Induction Curves).

Οι μετρήσεις στα εργαστηριακά πειράματα πραγματοποιήθηκαν μετά τη δύση του ηλίου και αφού τα φύλλα είχαν παραμείνει στο σκοτάδι για τουλάχιστον μια ώρα.

Εικόνα 7. Μετρήσεις φθορισμού στο εργαστήριο με το PAM 2100.



Πίνακας 15. Χαρακτηριστικά οργάνου μέτρησης PAM-2100.

ΦΩΤΕΙΝΗ ΠΗΓΗ	ΜΗΚΟΣ ΚΥΜΑΤΟΣ nm	ΈΝΤΑΣΗ PAR $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	W m^{-2}
Mesuring light	650	0,1 σταθερό	
Actinic light Red LED	665	600 μέγιστο	
Far-red LED	730		15 μέγιστο
Halogen lamp	<710	8500 μέγιστο για συνεχή φωτισμό 15000 μέγιστο για φωτισμό κορεσμού	

Ο ανιχνευτής σήματος του οργάνου είναι φωτοδίοδος PIN προστατευμένη με φίλτρο αδιαπέραστο σε ακτινοβολίες μεγάλου μήκους κύματος ($\lambda > 710 \text{ nm}$) και βρίσκεται πάνω στο δαχτυλίδι που σχηματίζει το πιαστράκι στο μέρος που πιάνει το φύλλο για μέτρηση. Ο ίδιος αισθητήρας μετράει και το PAR, ενώ η θερμοκρασία φύλλου μετρίεται με αισθητήρα προσαρμοσμένο στο κάτω μέρος από το πιαστράκι με τρόπο που να ακουμπά στην κάτω πλευρά του φύλλου κατά την μέτρηση (Portable Chlorophyll Fluorometer PAM – 2100, 2003).

Για τον προσδιορισμό του F_m η ένταση του παλμού κορεσμού που χρησιμοποιήθηκε, ήταν η προκαθορισμένη τιμή 10 στις επιλογές των εντάσεων του PAM-2100 και η διάρκεια του παλμού ήταν 0,8 sec.

Μέσω της επιλογής της έντασης του φωτός μέτρησης (Measuring Light), του Gain και της απόστασης μεταξύ οπτικής ίνας και φυτικού δείγματος ρυθμίζονταν οι τιμές του F_0 ώστε να βρίσκονται στα συνιστώμενα επίπεδα (από 200 έως 400 mV).

Το F_0 προσδιορίζονταν σε συνδυασμό με το F_m , με αυτόν τον τρόπο οι δυο βασικές παράμετροι φθορισμού μετρούμενες κάτω από όμοιες συνθήκες έδιναν σωστότερο υπολογισμό του F_v / F_m .

Rapid Light Curves

Οι RLCs μετρήθηκαν με το PAM 2100, σε ένα σημαδεμένο φύλλο για κάθε προσκοτεινισμένο πειραματικό φυτό. Χρησιμοποιήθηκε μια ρουτίνα λογισμικού, όπου ο ακτινικός φωτισμός αυξήθηκε σε πέντε βήματα (συν την αρχική μέτρηση σχεδόν-σκοταδιού). Ο φωτισμός των φύλλων έγινε με εξωτερική πηγή ακτινικού φωτός, ή ένταση και η διάρκεια του οποίου δίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 16. Χρονική ακολουθία και διάρκεια των εντάσεων ακτινικού φωτισμού που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή των RLCs.

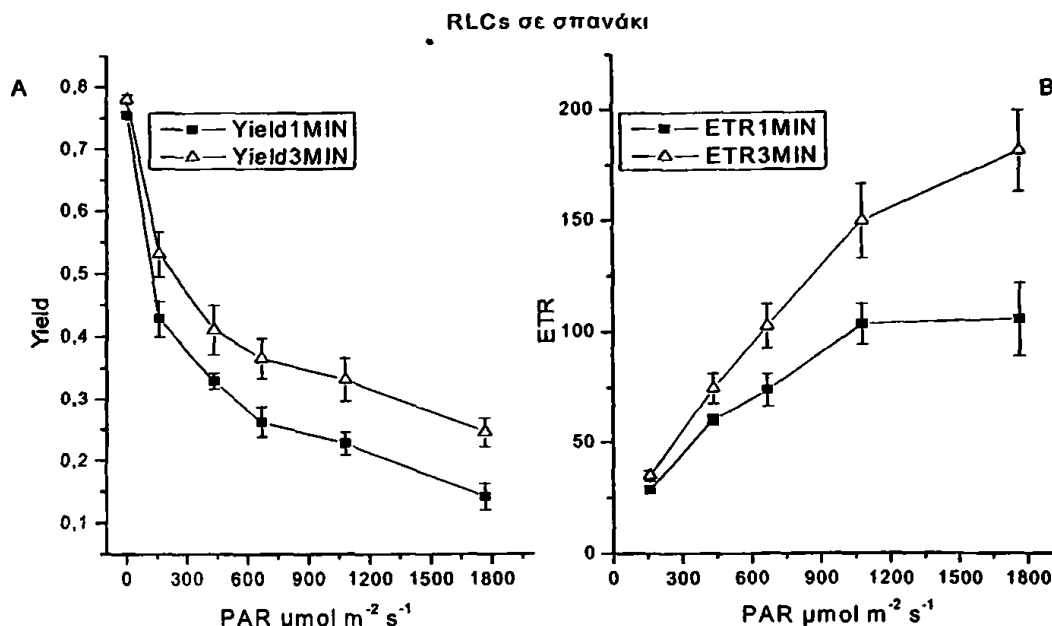
ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ ΦΩΤΙΣΜΩΝ	ΔΙΑΡΚΕΙΑ sec	PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$
0		1
1	56	150
2	60	450
3	60	680
4	60	1100
5	60	1800

Μετά την παραμονή του φύλλου για 1 λεπτό στην κάθε ένταση ακτινικού φωτός, ακολουθούσε εφαρμογή ενός φωτεινού παλμού κορεσμού και καταγραφή των παραμέτρων του επαγόμενου φθορισμού ETR, Yield, qP, qN, Ft και F_m' .

Τα αποτελέσματα καταγράφονταν άμεσα από το όργανο και μεταφέρονταν μετά την λήξη του πειράματος σε Η/Υ για στατιστική επεξεργασία.

Η επιλογή της διάρκειας παραμονής στην κάθε ένταση φωτισμού αποφασίστηκε μετά από προκαταρκτικές μετρήσεις, τα αποτελέσματα των οποίων φαίνονται στο παρακάτω σχήμα.





Σχήμα 24. Προκαταρκτικές μετρήσεις εξάρτησης του Yield (A) και του ETR (B) από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε φύλλα σπανακιού. Δοκιμάστηκαν του ενός και των τριών λεπτών χρονικές διάρκειες παραμονής στην κάθε ένταση. Αφού και με τους δύο χρόνους παραμονής είχαμε παρόμοια εξέλιξη του Yield και του ETR, επιλέχθηκε ο μικρότερος του ενός λεπτού. Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 3 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης. Ανάλογα αποτελέσματα είχαμε και στο ραπανάκι.

Οι RLCs περιγράφουν τις αποκρίσεις των φυτών σε μια σειρά διαδοχικά αυξανόμενων εντάσεων φωτισμού. Αυτές παρέχουν αναλυτικές πληροφορίες για τα χαρακτηριστικά κορεσμού της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, καθώς επίσης και για τη γενική φωτοσυνθετική απόδοση των φυτών. (Ralph & Gademann 2005).

Induction Curves

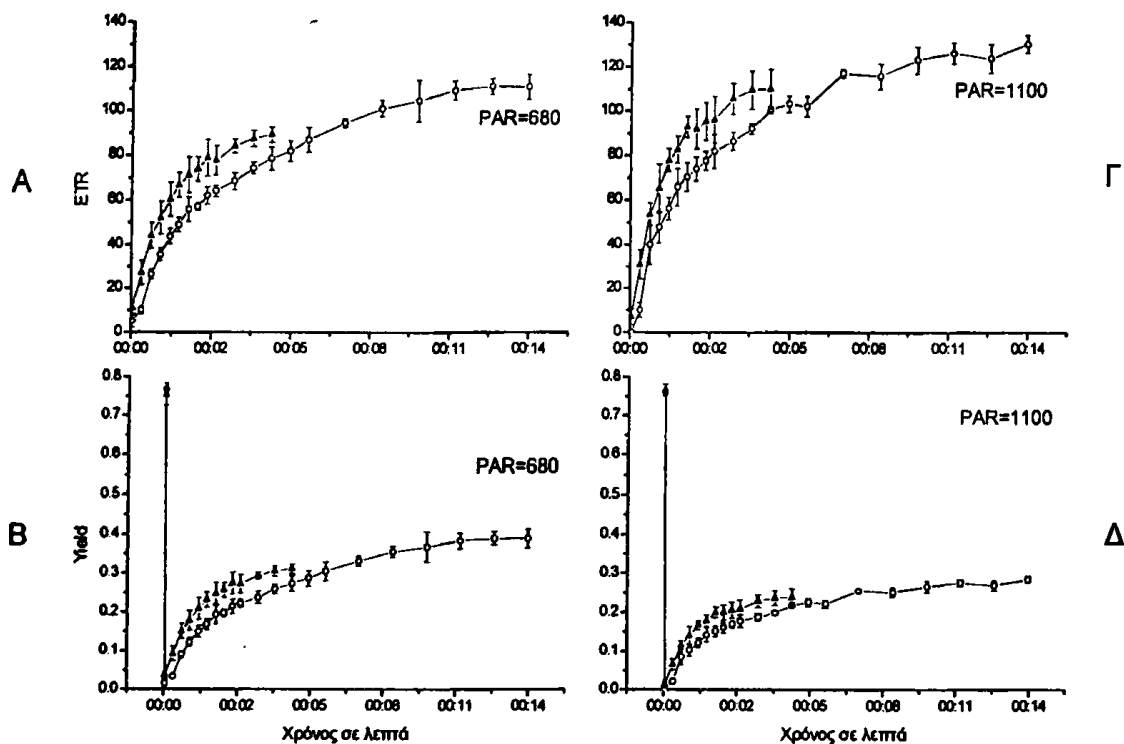
Οι Induction Curves μετρήθηκαν με το PAM 2100, σε ένα σημαδεμένο φύλλο για κάθε προσκοτεινιασμένο πειραματικό φυτό. Το μετρούμενο φύλλο 38 sec μετά την πρώτη μέτρηση (για μέτρηση του F_m και F_o) φωτίζονταν σε σταθερή ένταση ακτινικού φωτός $680 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ενώ με την χρήση ρουτίνας του φθορισμόμετρου, κάθε 20 sec γινόταν αυτόματη εφαρμογή ενός φωτεινού παλμού κορεσμού και καταγραφή των παραμέτρων του επαγόμενου φθορισμού ETR, Yield, qP , qN , F_t και F_m' . Σε κάθε Induction Curve η κάθε παράμετρος φθορισμού μετρήθηκε συνολικά 16 φορές.

Η επιλογή της χρονικής διάρκειας των Induction curves καθώς και η ένταση του ακτινικού φωτός, αποφασίστηκαν από τα αποτελέσματα προκαταρκτικών μετρήσεων, μέρος των οποίων βλέπουμε στο παρακάτω σχήμα.

Στις Induction Curves οι διαδοχικές μετρήσεις της κάθε παραμέτρου, παρουσιάζουν την μεταβολή της, σε σχέση με το χρόνο παραμονής του φύλλου στην παραπάνω ένταση φωτισμού.



Induction curves σε σπανάκι



Σχήμα 25. Προκαταρκτικές μετρήσεις της κινητικής της επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) σε φύλλα σπανακιού. Δοκιμάστηκαν δύο χρονικές διάρκειες ολοκλήρωσης των Induction curves, ή πρώτη ήταν των 5 λεπτών και η δεύτερη των 15. Δοκιμάστηκαν ακόμα η εκτέλεση των Induction curves στην ένταση ακτινικού φωτός 680 και 1100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Αφού και με τους δύο χρόνους ολοκλήρωσης των Induction curves, το Yield και το ETR πλησιάζουν την σταθερή κατάσταση, επιλέχθηκε ο μικρότερος χρόνος των 5 λεπτών. Η ένταση που επιλέχθηκε ήταν 680 $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 3 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης. Ανάλογα αποτελέσματα είχαμε και στο ραπανάκι.

Στατιστική επεξεργασία

Για την εξασφάλιση ομοιογενούς πειραματικού υλικού, τα φυτά πριν τον ψεκασμό επιλέγονταν με συνεκτίμηση της μορφολογικής ομοιότητας και των παραμέτρων φθορισμού Fm και Yield. Στην αξιολόγηση των φυτών η παράμετρος Yield είχε τον καθοριστικό λόγο. Στην ομαδοποίηση των φυτών της κάθε μεταχείρισης (εκτός από το πρώτο και το τελευταίο πείραμα) λαμβάνονταν μέριμνα ώστε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση, του πριν την ανατολή του ηλίου Yield των φύλλων φυτών της κάθε μεταχείρισης πριν τον ψεκασμό, να είναι περίπου ίδια.

Οι συγκρίσεις των μέσων όρων μεταξύ των μεταχειρίσεων γινόνταν με το t-Test και για πιθανότητα 5%.

Μόνο στο 1^ο πείραμα όπου συγκρίθηκαν το 1^ο με το 3^ο φύλλο φυτών ραπτανιού για το αν διαφέρουν ως προς την φυτοτοξική επίδραση του Cupravit, χρησιμοποιήθηκε το t-test με σύγκριση κατά ζεύγη, όπου ζεύγος ήταν το 1^ο και το 3^ο φύλλο του κάθε φυτού.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

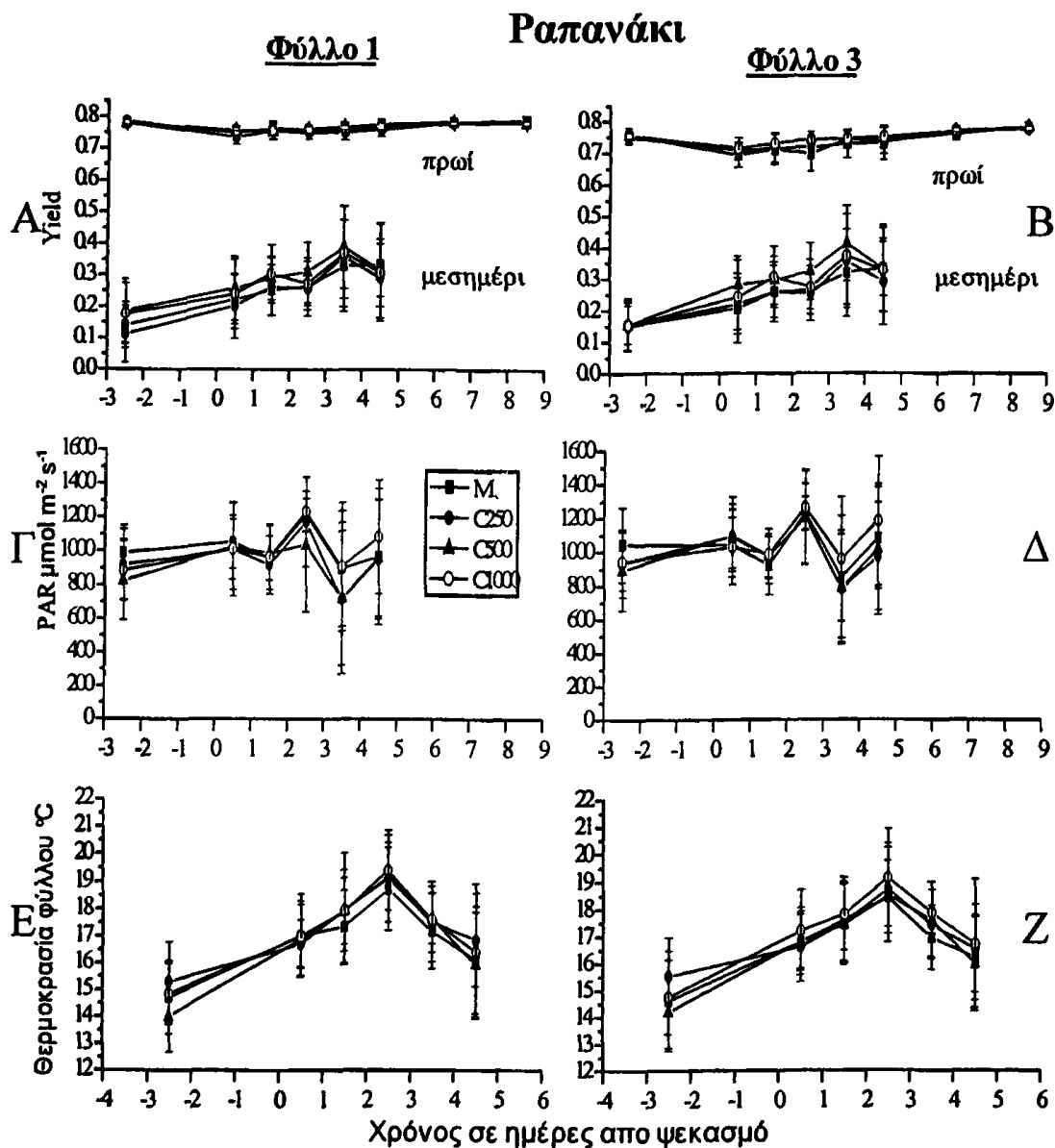
Τα αποτελέσματα των υπαίθριων πειραμάτων φαίνονται στο Σχήμα 1 και 7, ενώ αυτά των εργαστηριακών πειραμάτων στα Σχήματα 2 έως 6.

Στα σχήματα που ακολουθούν παρουσιάζονται επιλεκτικά από το σύνολο των ημερών που έγιναν μετρήσεις, μόνο τις μετρήσεις που παρουσιάζουν μεγαλύτερο ενδιαφέρον, δηλαδή της ημέρας πριν τον ψεκασμό, αμέσως μετά από αυτόν, της ημέρας με τις μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων και της τελευταίας ημέρας του πειράματος.

Σε κανένα από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν δεν διαπιστώθηκε κάποια παρατεταμένη και στατιστικώς σημαντική επίδραση των φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων. Επίσης στα φυτά των πειραμάτων, δεν παρουσιάστηκαν ορατά συμπτώματα όπως εγκαύματα ή χλωρώσεις.

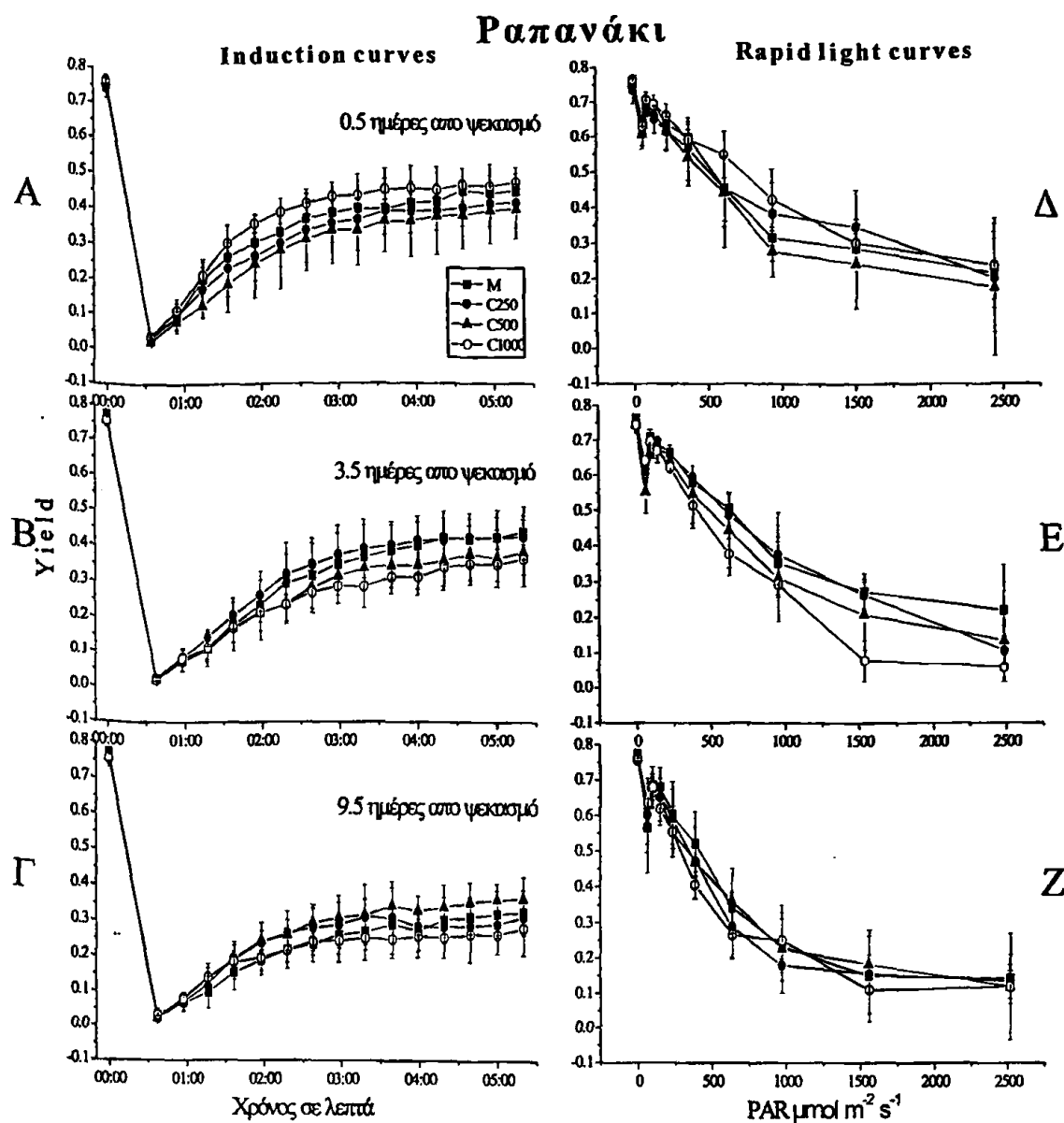
Μικρής έντασης επιδράσεις στη λειτουργία της φωτοσυνθετικής συσκευής παρατηρούνται αμέσως μετά τον ψεκασμό (1 έως 4 ημέρες). Οι επιδράσεις αυτές είναι άλλοτε θετικές και άλλοτε αρνητικές και εξαλείφονται πλήρως μετά την πάροδο 6-9 ημερών από τον ψεκασμό. Για λεπτομέρειες δες λεζάντες των σχημάτων.





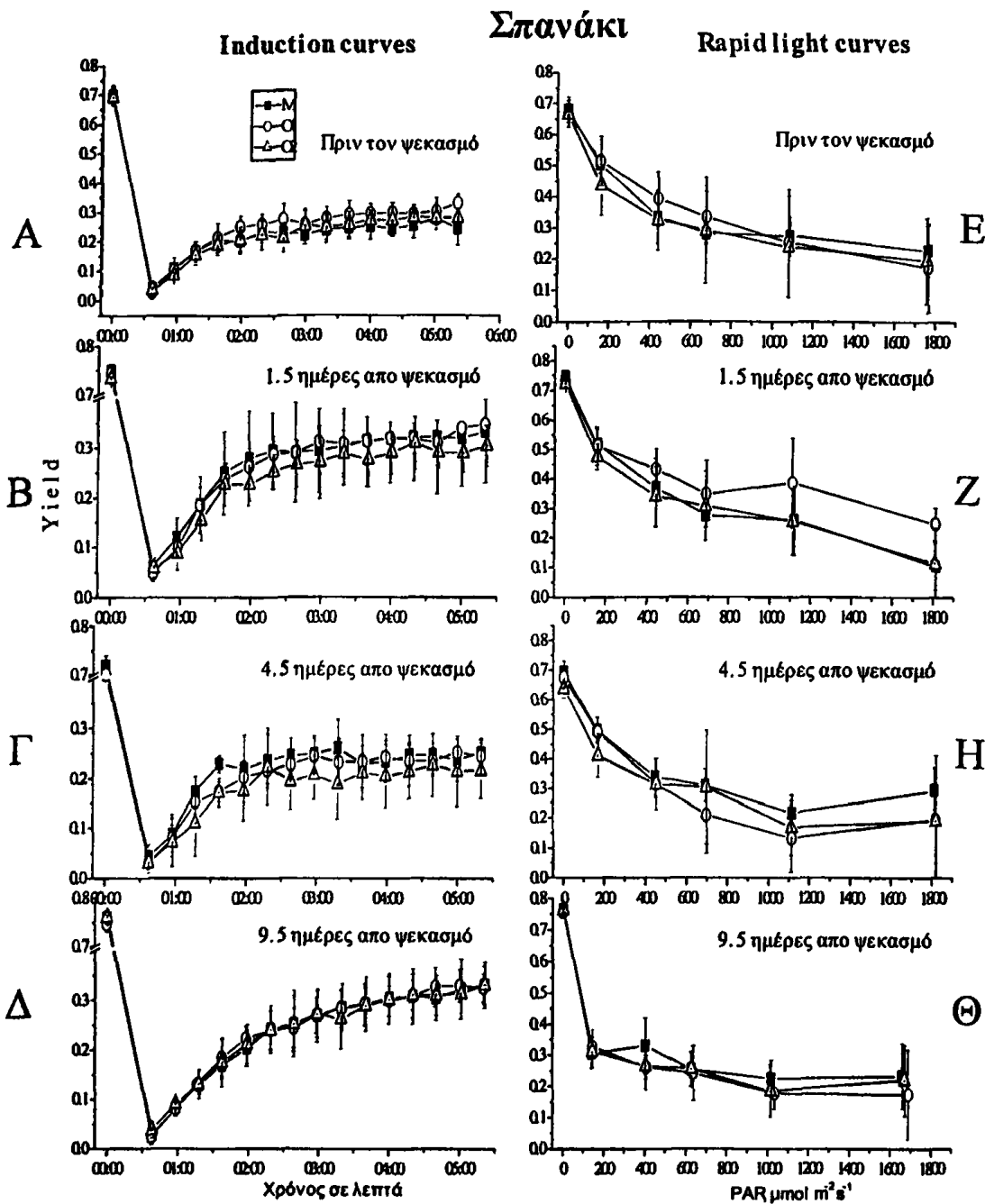
Σχήμα 26. Διακύμανση του Yield πριν την ανατολή του ηλίου και στη διάρκεια του μεσημεριού (Α, Β), της φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολίας στο επίπεδο του φύλλου (PAR, Γ, Δ) και της θερμοκρασίας του φύλλου (Ε, Ζ) στη διάρκεια του πειράματος, για το πρώτο (Α, Γ, Ε) και το τρίτο (Β, Δ, Ζ) φύλλο από την κορυφή φυτών ραπανιού. Δεν παρατηρείται καμία επίδραση λόγω ψεκασμού με Cupranit μεταξύ των μεταχειρίσεων. Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 21 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης.





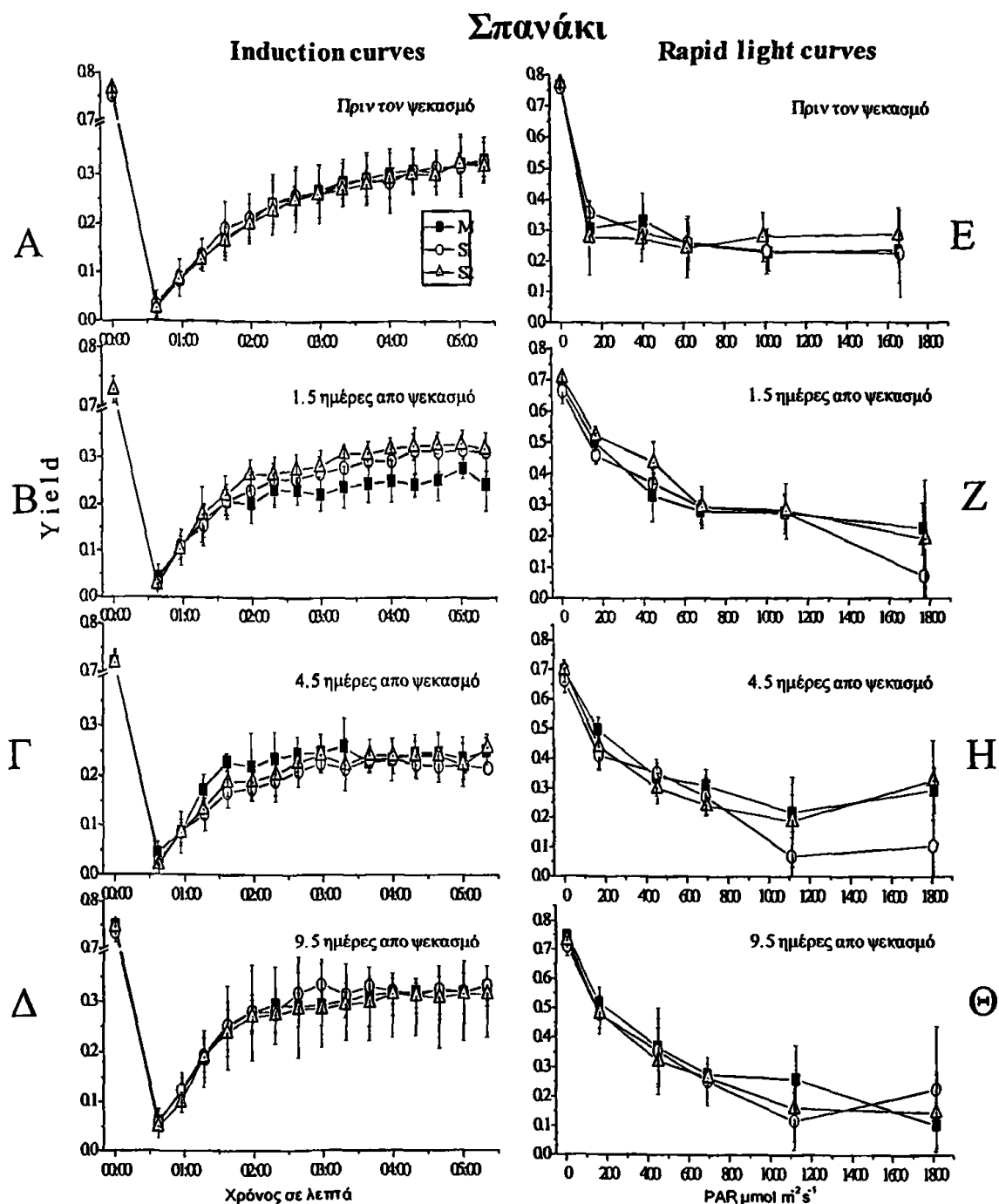
Σχήμα 27. Κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών ραπανιού με Cupravit. Και οι δύο τύποι μέτρησης υποδεικνύουν μια ελαφρά αρνητική επίδραση στη μεταχείριση C1000 στις 3.5 ημέρες από τον ψεκασμό (B, Ε), η οποία όμως εξαλείφεται στο τέλος του πειράματος (Γ, Ζ). Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 4 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης.





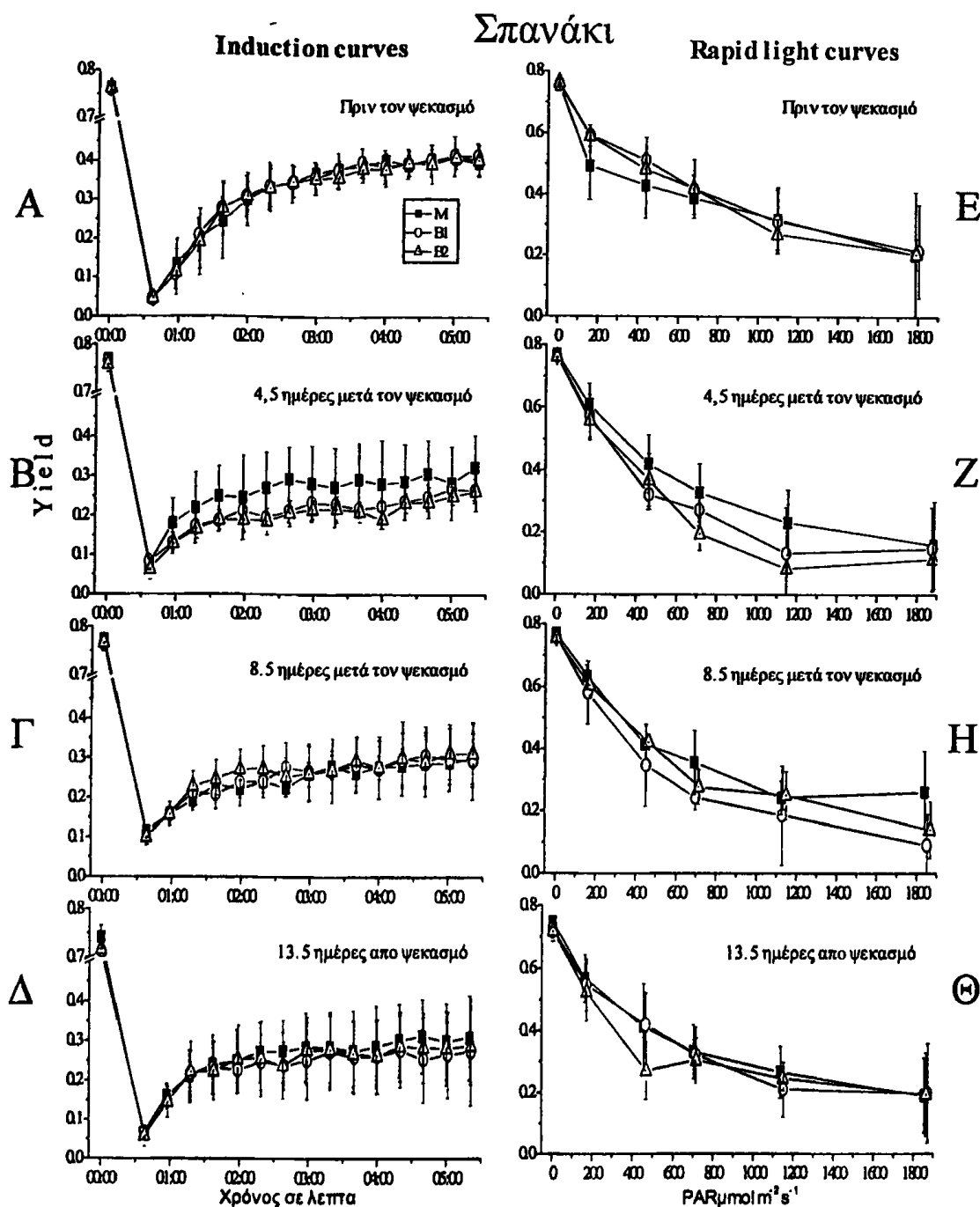
Σχήμα 28. Κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών σπανακιού με Οίκος. Και οι δύο τύποι μέτρησης υποδεικνύουν μια ελαφρά αρνητική επίδραση στη μεταχείριση O₂ στις 4.5 ημέρες από τον ψεκασμό (B, Z), η οποία όμως εξαλείφεται στο τέλος του πειράματος (Δ, Θ). Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 4 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης.





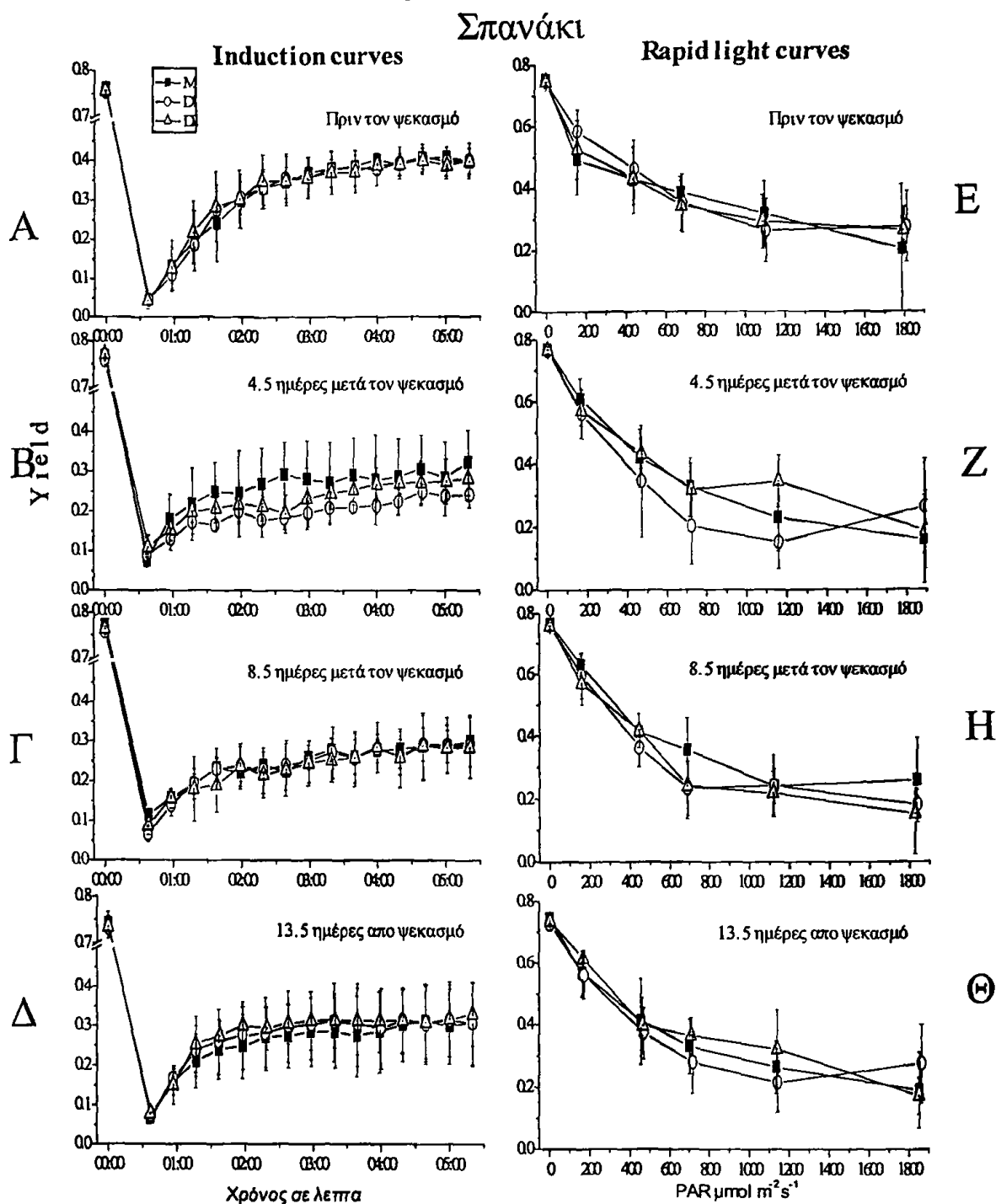
Σχήμα 29. Κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών σπανακιού με Savona. Η κινητική επαγωγής του φθορισμού υποδεικνύει μια ελαφρά θετική επίδραση στις μεταχειρίσεις S1 και S2 στις 1.5 ημέρες από τον ψεκασμό (B, Z), η οποία όμως εξαλείφεται στο τέλος του πειράματος (Δ, Θ). Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 4 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης.





Σχήμα 30. Κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών σπανακιού με Bloslean. Και οι δύο τύποι μέτρησης υποδεικνύουν μια ελαφρά αρνητική επίδραση στις μεταχειρίσεις B1 και B2 στις 4.5 ημέρες από τον ψεκασμό (B, Z), η οποία όμως εξαλείφεται στο τέλος του πειράματος (Δ, Θ). Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 4 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης.

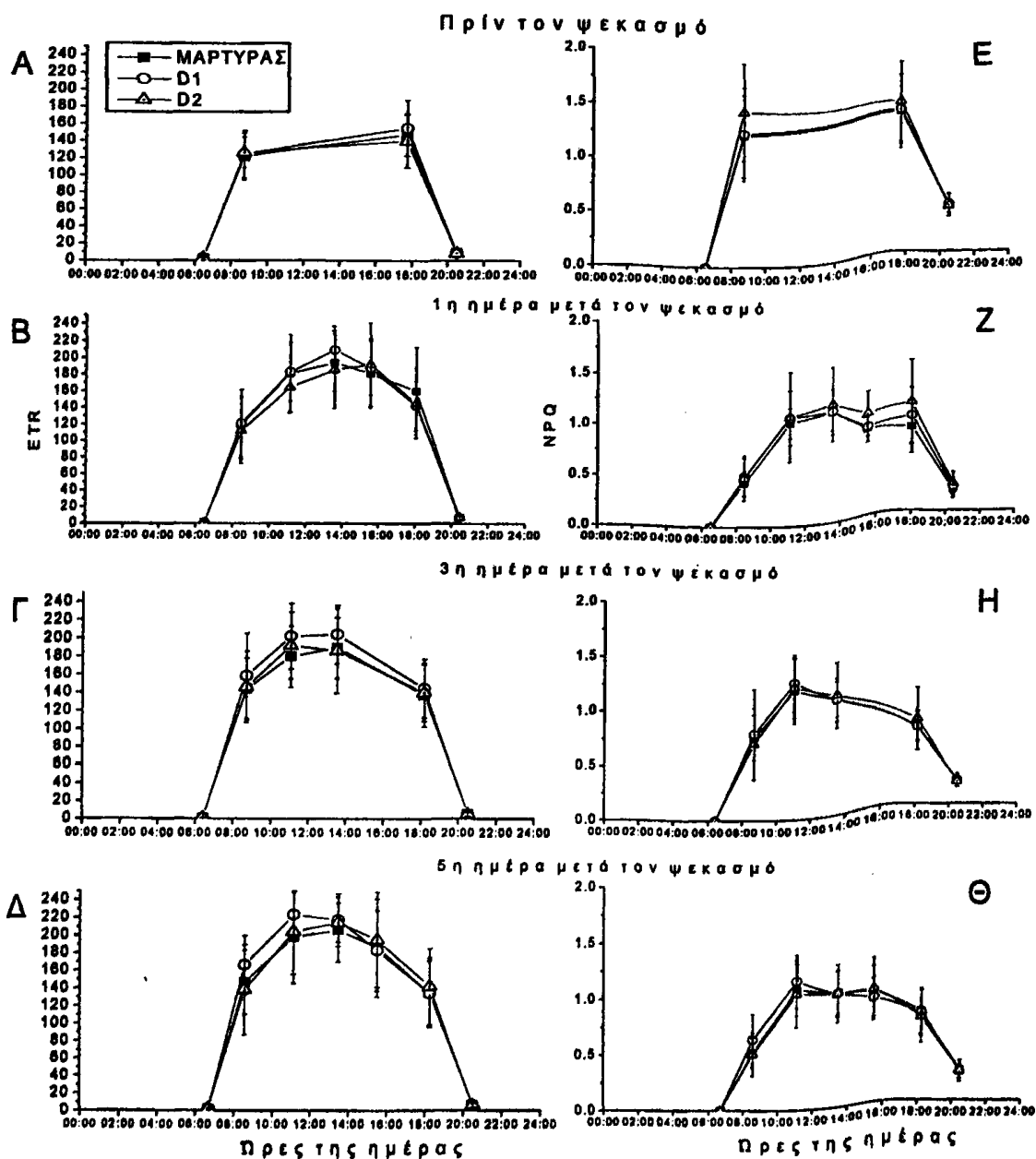




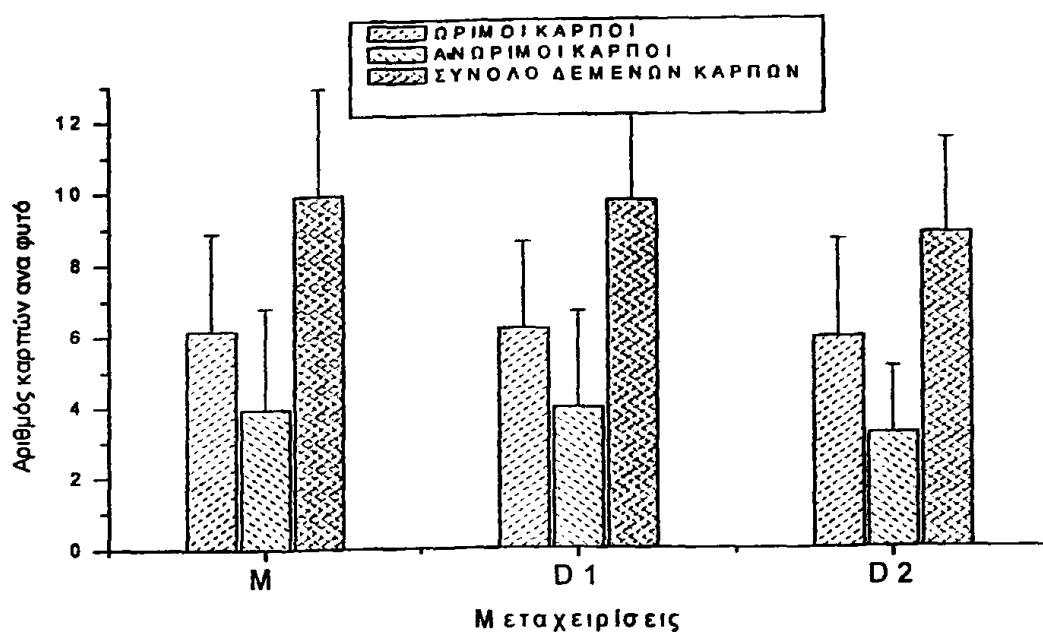
Σχήμα 31. Κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών σπανακιού με Dithane. Η κινητική επαγωγής του φθορισμού υποδεικνύει μια ελαφρά αρνητική επίδραση στις μεταχειρίσεις D1 και D2 στις 4.5 ημέρες από τον ψεκασμό (Β, Ζ), η οποία όμως εξαλείφεται στο τέλος του πειράματος (Δ, Θ). Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 4 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης.



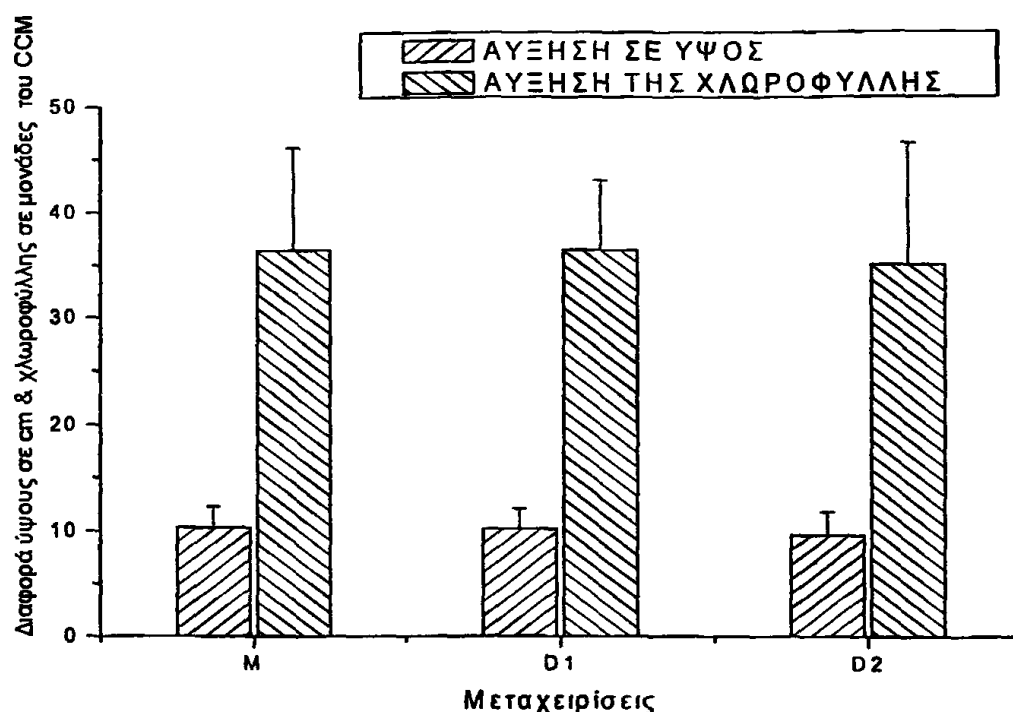
ΠΙΠΕΡΙΔΑ ΥΠΑΙΘΡΙΑ



Σχήμα 32. Ημερήσιες μετρήσεις ETR και NPQ, σε τρεις διαφορετικούς χρόνους από τον ψεκασμό των φυτών υπαίθριας πιπεριάς με Dithane. Στις μετρήσεις του ETR και NPQ δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων D1, D2 και του μάρτυρα M, σε όλη την διάρκεια του πειράματος. Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 20 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης.



Σχήμα 33. Αριθμός ώριμων, ανώριμων και σύνολο δεμένων καρπών πιπεριάς σε 45 ημέρες από τον ψεκασμό με το ΦΠ Dithane. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Παρατηρούμε μία ασθενή μείωση σε όλες τις μετρούμενες παραμέτρους στην μεταχείριση D2. Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 20 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης.



Σχήμα 34. Αύξηση σε ύψος των φυτών πιπεριάς, σε χρονικό διάστημα 13 ημερών από τον ψεκασμό με Dithane και αύξηση της χλωροφύλλης των φύλλων σε 15 ημέρες από αυτόν. Και στις δύο μετρούμενες παραμέτρους δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Παρατηρούμε μία ελαφρά μικρότερη αύξηση της χλωροφύλλης στην μεταχείριση D2 σε σχέση με την D1 και τον μάρτυρα M. Οι τιμές είναι μέσοι όροι $\pm$ SD των 20 επαναλήψεων της κάθε μεταχείρισης.



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Πείραμα 1°

Στο πρώτο πείραμα (σχήμα 26), φυτά ρεπανιού ψεκάστηκαν με τέσσερεις διαφορετικές δόσεις (0X, ½X, 1X, και 2X της προτεινόμενης) του σκευάσματος Cupravit OB21 50 WP, με περιεκτικότητα σε οξυχλωριούχος Cu 50% και τυποποίηση στη μορφή της βρέξιμης σκόνης. Ο συντακτικός τύπος του οξυχλωριούχου Cu είναι: $\text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{CuCl}_2$.

Ο Cu είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τα φυτά, χρειάζεται ως συστατικό, πολλών πρωτεϊνών καθώς και στην φωτοσυνθετική (πλαστοκυανίνη) και αναπνευστική (οξειδάση του κυτοχρώματος) αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (Vinit-Dunand et al. 2002). Τα φυτά βρίσκονται σε κατάσταση τροφопενίας σε συγκεντρώσεις Cu στους ιστούς κάτω από $1-5 \mu\text{g g}^{-1}$ ανάλογα με το φυτικό είδος (Ait Alia et al. 2004). Αντίθετα σε ψηλές συγκεντρώσεις είναι τοξικό, επηρεάζοντας, την διαπερατότητα των μεμβρανών, την δομή της χρωματίνης, την πρωτεϊνική σύνθεση, τις ενζυμικές δραστηριότητες, τις φωτοσυνθετικές και αναπνευστικές διαδικασίες καθώς και την ενεργοποίηση της γήρανσης των φυτών (Vinit-Dunand et al. 2002). Σε πειράματα με κουνουπίδι (*Brassica oleracea* L.) σε 10-12 ημέρες από την εφαρμογή τοξικών συγκεντρώσεων από την ρίζα των φυτών, εμφανίσθηκαν τοξικά συμπτώματα μικροφυλλίας και χλωρώσεων που ξεκινούσαν από τα φύλλα της κορυφής και επεκτεινόταν προς τα φύλλα της βάσης (Chatterjee 2000). Στην ίδια εργασία μετά 30 ημέρες από την εφαρμογή των τοξικών συγκεντρώσεων Cu, βρέθηκε πως η περιεκτικότητά του στον βλαστό και τα φύλλα ήταν 6 φορές, ενώ στην ρίζα 26 φορές μεγαλύτερη από αυτή των αντίστοιχων οργάνων των φυτών του μάρτυρα.

Στο πείραμά μας όπου τα ψεκασμένα φυτά ρεπανιού ελέγχονταν με πρωινές (πριν την ανατολή του ήλιου) και με μεσημεριανές μετρήσεις του Yield, ως προς την διαφορά φυτοτοξικότητας σε σχέση με την δόση και με την ηλικία των φύλλων, και για τις δύο ελεγχόμενες παραμέτρους δεν διαπιστώθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές και στις 5 διαδοχικές (μετά τον ψεκασμό) ημέρες των πρωινών και των μεσημεριανών μετρήσεων. Ούτε οι επόμενες πρωινές μετρήσεις, την 7^η και 9^η ημέρα από τον ψεκασμό, έδειξαν διαφορές.

Βάση των παραπάνω αποτελεσμάτων μπορούν να γίνουν δύο υποθέσεις, είτε πως το κατιόν του Cu^{++} δεν μπόρεσε να περάσει ειδικά την μη πολική εφυμενίδα του φυτού και μετέπειτα τα πιο πολικά στρώματα των κυτταρικών τοιχωμάτων και την κυτταρική μεμβράνη ώστε να επηρεάσει την κυτταρική λειτουργία του φυτού, είτε πως το κατιόν του Cu^{++} πέρασε στο κύτταρο μα δεν επηρέασε την λειτουργία της φωτοσυνθετικής συσκευής.

Στην βιβλιογραφία που ανατρέξαμε δεν βρέθηκαν πειράματα με εφαρμογή του Cu από το φύλλωμα, σε αντίστοιχο πείραμα με εφαρμογή του Cu από την ρίζα όπου δεν υπάρχει εφυμενίδα και η μετακίνηση του είναι γνωστή, βρέθηκαν αποτελέσματα σύμφωνα με τα δικά μας. Ειδικότερα σε ανάλογες μετρήσεις Yield σε προσκοτεινισμένα φυτά αγγουριού που είχαν δεχθεί πριν 10 ημέρες Cu σε τοξικές συγκεντρώσεις ($10 \mu\text{g g}^{-1}$ από την ρίζα) και ενώ άλλοι παράμετροι όπως, η συνολική επιφάνεια φύλλων, το συνολικό ξηρό βάρος, είχαν επηρεαστεί αρνητικά, το Yield έμεινε ανεπηρέαστο (Vinit-Dunand et al. 2002).

Ως προς την αξιολόγηση της μέτρησης του Yield για την καταλληλότητα της για μετρήσεις φυτοτοξικότητας παρατηρήσαμε ότι, στις ημερήσιες μετρήσεις θα πρέπει να διασφαλιστούν σταθερές συνθήκες ηλιοφάνειας και θερμοκρασίας στα φυτά στον χρόνο κατά και πριν τις μετρήσεις, λόγω του επηρεασμού του Yield από την ενεργοποίηση του κύκλου των ξανθοφυλλών. Ακόμα είδαμε πως η τεχνική της εναλλαγής των μετρήσεων με φυτά της επόμενης κάθε φορά επέμβασης και μετά την τελευταία πάλι από την αρχή, ενώ μειώνει τα σφάλματα μεταξύ των μεταχειρίσεων αυξάνει την τυπική απόκλιση μέσα στην μεταχείριση. Σε αυτό το πείραμα η διάταξη των φυτών μέσα στους δίσκους πολλαπλών θέσεων μας οδήγησε στην εναλλαγή των μετρήσεων μεταξύ των επεμβάσεων κατά πεντάδες με αποτέλεσμα τις μέρες με μεταβαλλόμενη νέφωση (3^η, 4^η και 5^η), να έχουμε μεγαλύτερες τυπικές αποκλίσεις ειδικά στο PAR που με την σειρά τους αύξησαν την τυπική απόκλιση της κάθε επέμβασης στο Yield.



Πείραμα 2°

Στο δεύτερο πείραμα (σχήμα 27), όπως και στο πρώτο, φυτά ρεπανιού ψεκάστηκαν με τέσσερις διαφορετικές δόσεις (0X, ½X, 1X, και 2X της προτεινόμενης) του βιολογικού σκευάσματος Cupravit OB21 50 WP (οξυχλωριούχος Cu 50%). Αυτό το πείραμα εκτελέστηκε στο εργαστήριο σε προσκοτεινισμένα φυτά.

Έγιναν μετρήσεις του Yield με τις τεχνικές φθορισμού, α) κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και β) εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών. Και οι δύο τύποι μέτρησης υποδεικνύουν μια ελαφρά αρνητική επίδραση στη μεταχείριση C1000 στις 3.5 ημέρες από τον ψεκασμό (B, E), η οποία όμως εξαλείφεται στο τέλος του πειράματος (Γ, Ζ).

Παρατηρούμε πως οι τεχνικές φθορισμού, α) κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και β) εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) είναι πιο ευαίσθητες αφού κατάφεραν να εντοπίσουν διαφορές στο Yield μεταξύ της μεταχείρισης με την ψηλότερη δόση του φαρμάκου και του μάρτυρα, που στο πρώτο πείραμα ή πρωινή (πριν την ανατολή του ήλιου) και η μεσημεριανή μέτρηση του Yield δεν μπόρεσαν να εντοπίσουν.

Ο Cu εμφάνισε το μέγιστο της τοξικής του επίδρασης σε 3.5 ημέρες από τον ψεκασμό. Υποθέτουμε πως ο χρόνος που μεσολάβησε απαιτήθηκε για να μετακινηθεί και να συγκεντρωθεί ένας ικανός αριθμός κατιόντων Cu^{++} στο κυτόπλασμα είτε και σε κυτταρικά οργανίδια και να επηρεάσει την κυτταρική λειτουργία.

Τα πρώτα κατιόντα Cu^{++} που διεισδύουν μέσω της υδάτινης οδού στο κυτόπλασμα αντιμετωπίζονται ως απαραίτητα στοιχεία, από την στιγμή που η συσσώρευση τους αρχίζει να δημιουργεί προβλήματα ενεργοποιούνται μηχανισμοί αντίστασης και αποτοξικοποίησης που καταφέρνουν να απομονώσουν και να μειώσουν την τοξική επίδραση των κατιόντων του Cu. Μεταξύ των μηχανισμών που επιστρατεύεται το φυτό για να ξεπεράσει την κατάσταση καταπόνηση που υφίσταται από το κατιόν του Cu είναι: 1) η ακινητοποίηση του στα κυτταρικά τοιχώματα ειδικά στις πηκτίνες, 2) η παρεμπόδιση της εισόδου του στο κυτόπλασμα από την κυτταρική μεμβράνη, 3) ο σχηματισμός χηλικών ενώσεων στο κυτόπλασμα με τα περιέχοντα θείο πολυτεππίδια (γλουταθειόνη και παράγωγα γλουταμύλκυστεϊνης), ο μεταλλικός δεσμός με πρωτεΐνες που περιέχουν SH και με άλλες επαγόμενες από την καταπόνηση πρωτεΐνες και 4) η διαμερισματοποίηση (compartmentalization) και ο σχηματισμός συμπλόκων με οργανικά και ανόργανα οξέα, φαινολικά παράγωγα και γλυκοσίδια στο χυμοτόπιο (Larcher 2004).

Στις 9.5 μέρες παρατηρούμε πως έχουν εκλείψει οι διαφορές στις μετρήσεις του Yield.

Είναι φανερό πως οι ψηλές δόσεις μπορούν να καταστήσουν ακόμα και ένα απαραίτητο για τα φυτά στοιχείο τοξικό. Το ότι τα χαλκούχα σκευάσματα είναι βιολογικά σχετίζεται με το ότι ο Cu είναι ένα στοιχείο απαραίτητο στα φυτά και όχι μια ξενοβιοτική χημική ένωση, ενώ παράλληλα δεν αποκλείει την φυτοτοξική τους επίδραση.

Πείραμα 3°

Στο τρίτο πείραμα (σχήμα 28), φυτά σπανακιού ψεκάστηκαν με τρεις διαφορετικές δόσεις (0X, 1X, και 3X της μέσης προτεινόμενης) του βιολογικού εντομοκτόνου Οίκος. Αυτό το πείραμα εκτελέστηκε στο εργαστήριο σε προσκοτεινισμένα φυτά.

Έγιναν μετρήσεις του Yield με τις τεχνικές φθορισμού, α) κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και β) εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών. Και οι δύο τύποι μέτρησης υποδεικνύουν μια ελαφρά αρνητική επίδραση στη μεταχείριση O2 στις 4.5 ημέρες από τον ψεκασμό (B, Z), η οποία όμως εξαλείφεται στο τέλος του πειράματος (Δ, Θ).

Η δραστική ουσία του Οίκος είναι η azadiractin, το σκεύασμα είναι τυποποιημένο σε μορφή πυκνό γαλακτωματοποιήσιμο EC και εντός του περιέχονται τα ισομερή της A και B σε αναλογία 3-4 προς 1, ενώ το συνολικό ποσοστό και των δύο ισομερών είναι 3,2 %. Το σκεύασμα προκύπτει μετά από εκχύλιση σπόρων του τροπικού δένδρου *Azadirachta indica* A. Juss. Το σκεύασμα έχει διασυστηματική κίνηση στο φυτό ενώ επηρεάζει τα έντομα δρώντας ως ρυθμιστής ανάπτυξης καθώς και ως αντιτροφικός και απωθητικός παράγοντας (Γιαννοπολίτης, 2005).

Η ελαφρά φυτοτοξική επίδραση, στην τριπλάσια της κανονικής δόσης που μεγιστοποιήθηκε την 4^η από τον ψεκασμό ημέρα, μπορεί να οφείλετε είτε στα δύο ισομερή της azadiractin, είτε στις βοηθητικές ουσίες (πχ στους γαλακτωματοποιητές), είτε σε άλλες ουσίες των σπόρων του *Azadirachta indica* A. Juss. που περνούν κατά την διαδικασία της

εκχύλισης. Έχουν βρεθεί κυρίως σε στελέχη αλλά και σε φύλλα του παραπάνω φυτού (σε σπόρους δεν υπάρχουν στοιχεία) αλληλοχημικές ουσίες (γαλλικό οξύ, *ρ*-κουμαρικό οξύ, *ρ*-υδροξυβενζοϊκό οξύ, βανιλικό οξύ, βενζοϊκό οξύ, φερουλικό οξύ και *trans*-κινναμικό οξύ) που παρουσιάζουν ισχυρή παρεμπόδιση στο φύτευμα και στην ανάπτυξη πολλών καλλιεργούμενων φυτών όπως ή μηδική (*Medicago sativa* L.), η βίγνα (*Vigna angularis*), το καρότο (*Daucus carota* L.), το ραπανάκι (*Raphanus sativus* L.), το ρύζι (*Oryza sativa* L.), το σουσάμι (*Sesamum indicum* L.) αλλά και σε ζιζάνια όπως η μουχρίτσα (*Echinochloa crus-galli*), *Monochoria vaginalis*, και *Aeschynomene indica* L. (Xuan et al. 2004). Το βενζοϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, *ρ*-κουμαρικό οξύ και βανιλικό οξύ, μειώνουν τον ρυθμό της φωτοσύνθεσης σε διάφορα φυτά (Καριπίδης 2004).

Και σε αυτό το πείραμα υπήρξε φυτοτοξικότητα παρόλο που το ΦΠ ήταν βιολογικό.

Η φυτοτοξικότητα μεγαλώνει όσο αυξάνει η δόση.

Πείραμα 4°

Στο τέταρτο πείραμα (σχήμα 29), φυτά σπανακιού ψεκάστηκαν με τρεις διαφορετικές δόσεις (0X, 1X, και 3X της μέσης προτεινόμενης) του βιολογικού εντομοκτόνου Savona. Η δραστική ουσία του, είναι τα άλατα καλίου λιπαρών οξέων με περιεκτικότητα 50,5% του σκευάσματος.

Αυτό το πείραμα εκτελέστηκε στο εργαστήριο σε προσκοτεινισμένα φυτά.

Έγιναν μετρήσεις του Yield με τις τεχνικές φθορισμού, α) κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και β) εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών. Η κινητική επαγωγής του φθορισμού υποδεικνύει μια ελαφρά θετική επίδραση στις μεταχειρίσεις S1 και S2 στις 1.5 ημέρες από τον ψεκασμό (B, Z), η οποία όμως εξαλείφεται στο τέλος του πειράματος (Δ, Θ).

Και σε αυτό το πείραμα διαπιστώνουμε πως και στην κανονική δόση όπως και στην τριπλάσια του Savona οι τεχνικές φθορισμού RLCs και ICs, κατάφεραν να εντοπίσουν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.

Το ότι υπήρξε θετική επίδραση στα ψεκασμένα φυτά σε σχέση με τον μάρτυρα, πιθανόν να οφείλεται στο απαραίτητο για τα φυτά κατίον K^+ που περιέχεται στο σκεύασμα. Ένα μέρος των κατιόντων K^+ πιθανόν από την εφυμενίδα μέσω της υδάτινης οδού, έφθασαν στο πρωτόπλασμα των κυττάρων όπου ευνόησαν την λειτουργία του φυτού.

Σύμφωνα με τον Καράταγλη (1992), οι υψηλές συγκεντρώσεις K^+ στο κυτόπλασμα χρησιμεύουν στην εξουδετέρωση των οργανικών οξέων και στην σταθεροποίηση του pH σε τιμές 7-8 που είναι οι άριστες για τις περισσότερες ενζυμικές αντιδράσεις. Το K^+ είναι κυρίως υπεύθυνο για τις μεταβολές της σπαργής των καταφρακτικών κυττάρων που ρυθμίζει το άνοιγμα και το κλείσιμο των στοματίων. Το κάλιο παίζει σημαντικό ρόλο στη διακίνηση των ζαχαρών και στην ενεργοποίηση πολλών ένζυμων που απαιτούνται για τις διάφορες μεταβολικές διεργασίες των φυτών (Coker et al., 2003). Τα ιόντα K^+ δεν επηρεάζουν άμεσα τα φωτοσυστήματα I και II, διεγείρουν όμως την σύνθεση του ενζύμου καρβοξυδισμουτάση (ένζυμο στον κύκλο του Calvin) και έχει διαπιστωθεί πως η αύξηση της περιεκτικότητας των φύλλων σε K επιφέρει αύξηση της φωτοσύνθεσης, της φωτοαναπνοής, της δραστηριότητας της καρβοξυδισμουτάσης, ενώ η έλλειψη K αυξάνει την αναπνοή.

Η αύξηση της φωτοσύνθεσης και της φωτοαναπνοής που επιφέρει η αύξηση της συγκέντρωσης του K στο πρωτόπλασμα, σύμφωνα με την θεωρία του φθορισμού της χλωροφύλλης α, συνεισφέρει ίσως στην αύξηση του Yield, γεγονός που ερμηνεύει την ανάλογη της δόσης αύξηση του Yield στα ψεκασμένα με το Savona φυτά του πειράματος. Η αντίφαση που εμφανίζεται στο επόμενο πείραμα όπου το Bioclen περιέχει K όμως το Yield μειώνεται, μπορεί να ερμηνευτεί αν υποθεθεί πως το διαφορετικό pH (περίπου 4.2) καθώς και η αρνητική επίδραση των αλληλοχημικών του ΦΠ δεν επιτρέψανε την εμφάνιση της θετικής επίδρασης του K.



Πείραμα 5°

Σε αυτό το πείραμα (σχήμα 30), φυτά σπανακιού ψεκάστηκαν με τρεις διαφορετικές δόσεις (0X, 1X, και 3X της προτεινόμενης) του βιολογικού μυκητοκτόνου Bioclean. Αυτό το πείραμα εκτελέστηκε στο εργαστήριο σε προσκοτεινισμένα φυτά.

Έγιναν μετρήσεις του Yield με τις τεχνικές φθορισμού, α) κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και β) εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών. Και οι δύο τύποι μέτρησης υποδεικνύουν μια ελαφρά αρνητική επίδραση στις μεταχειρίσεις B1 και B2 στις 4.5 ημέρες από τον ψεκασμό (B, Z), η οποία όμως εξαλείφεται σε 8.5 ημέρες από τον ψεκασμό (Γ, Η).

Και σε αυτό το πείραμα διαπιστώνουμε οι τεχνικές φθορισμού RLCs και ICs, κατάφεραν να εντοπίσουν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.

Σύμφωνα με την εταιρεία που το διακινεί στην χώρα μας (Φυτοοργανική, προσωπική επικοινωνία) το Bioclean παρασκευάζεται από ανώριμους σαρκώδεις καρπούς σουρβιάς. Αυτοί λιώνονται, αποστάζονται και το στερεό υπόλειμμα που προκύπτει από το φιλτράρισμα του αποστάγματος είναι η δραστική ουσία του προϊόντος. Παράλληλα μέσω ζύμωσης κάποιων υδατανθράκων από τον *Lactibacillus* προκύπτει ένα οργανικό οξύ υψηλής βιολογική δραστηριότητας. Το απόσταγμα των καρπών σουρβιάς μαζί με το οργανικό οξύ αποστάζονται με υδροξείδιο του καλίου. Το έτοιμο προϊόν για χρήση είναι καλιούχο διάλυμα (10 % σε K_2O) με εκχυλίσματα σουρβιάς, με προϊόντα ζύμωσης του *Lactibacillus* και οργανικά οξέα.

Και σε αυτό το πείραμα υπήρξε φυτοτοξικότητα παρόλο που το ΦΠ ήταν βιολογικό.

Και οι δύο δόσεις του σκευάσματος έφεραν την ίδια ελαφρά φυτοτοξική επίδραση στα φυτά.

Η αιτία της φυτοτοξική επίδραση είναι δύσκολο να διερευνηθεί λόγω των πολλών παραγόντων που επιδράσανε ταυτόχρονα στο φυτό. Η τριπλάσια δόση παρουσίασε σχεδόν την ίδια φυτοτοξική επίδραση με την κανονική.

Αξιοπρόσεκτο είναι πώς το pH του ψεκαστικού υγρού και στις δύο δόσεις του Bioclean ήταν πολύ χαμηλό (περίπου 4.2).

Τα H^+ καθώς και το κατιοντικό μέρος των οργανικών οξέων του ΦΠ, μπορεί μέσω του υδάτινου δρόμου να φθάσουν μέχρι το κυτόπλασμα των φυτών. Εκεί και για όσο χρονικό διάστημα ή ρυθμιστική ικανότητα του πρωτοπλάσματος και οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί του φυτού δεν καταφέρνουν να επαναφέρουν το pH του πρωτοπλάσματος στην αρχική του τιμή, μπορεί να επηρεασθεί ο βαθμός ιοντισμού της καρβοξυλικής ($-COOH$) και αμινικής ($-NH_3^+$) ομάδας των αμινοξέων με άμεση επίδραση στην λειτουργία των ενζύμων που τα αμινοξέα αποτελούν τις δομικές μονάδες τους.

Είναι γνωστό πώς σε όξινα διαλύματα (π.χ pH 1) η καρβοξυλική ομάδα δεν είναι ιοντισμένη ($-COOH$) ενώ η αμινομάδα είναι ιοντισμένη ($-NH_3^+$), ακόμη γνωρίζουμε πως σε ουδέτερο pH και οι δύο ομάδες των αμινοξέων είναι ιοντισμένες ($-COO^-$, $-NH_3^+$) και σε αλκαλικά διαλύματα (π.χ pH 11) η καρβοξυλική ομάδα είναι ιοντισμένη ($-COO^-$) ενώ η αμινομάδα είναι μη ιοντισμένη ($-NH_2$) (Stryer 1997).

Πέραν της επίδρασης στην δράση των ενζύμων το χαμηλό pH χαλαρώνει την κυτταροπλασματική μεμβράνη ενώ το πολύ όξινο καταστρέφει τη δομική της συγκρότηση (Μπόβης 1990).

Ένα ακόμη μέρος της ελαφράς φυτοτοξικότητας πιθανόν να οφείλεται σε ουσίες της σουρβιάς με αλληλοπαθητική δράση (με την αρνητική της μορφή) που κατέληξαν στο σκεύασμα. Είναι γνωστό πως φυτά που στην διάρκεια της ανάπτυξης τους καταπονήθηκαν από παράγοντες όπως ανεπάρκεια θρεπτικών στοιχείων και νερού, θερμοκρασίες, τραυματισμούς και φυτοπαθογόνα, παράγουν μεγαλύτερη ποσότητα αλληλοχημικών (Λεβίδου 2000, Καριπίδης 2004). Είναι φανερό πως οι διαφορετικές κάθε χρονιά συνθήκες στην ανάπτυξη της σουρβιάς, θα αυξομειώνουν την συγκέντρωση των αλληλοχημικών στο σκεύασμα, με αντίστοιχες επιδράσεις στα ψεκάσματα καλλιεργούμενα φυτά. Μεταξύ των αλληλοχημικών έχουν βρεθεί χημικές ουσίες με δυσμενή επίδραση στην αναπνοή, φωτοσύνθεση, υδατική ισορροπία και λειτουργία στομάτων, αγωγιμότητα των βλαστών, διαπερατότητα μεμβρανών, κυτταροδιαίρεση, ανάπτυξη, πρωτεϊνική σύνθεση και λειτουργία ενζύμων (Καριπίδης 2004).



Πείραμα 6°

Σε αυτό το πείραμα (σχήμα 31), φυτά σπανακιού ψεκάστηκαν με τρεις διαφορετικές δόσεις (0X, 1X, και 3X της προτεινόμενης) του συμβατικού μυκητοκτόνου Dithane M 45. Αυτό το πείραμα εκτελέστηκε στο εργαστήριο σε προσκοτεινισμένα φυτά.

Έγιναν μετρήσεις του Yield με τις τεχνικές φθορισμού, α) κινητική επαγωγής του φθορισμού (Induction Curves) και β) εξάρτησης από την ένταση του φωτός (Rapid Light Curves) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους μετά τον ψεκασμό φυτών. Και οι δύο τύποι μέτρησης υποδεικνύουν μια ελαφρά αρνητική επίδραση στις μεταχειρίσεις D1 και D2 στις 4.5 ημέρες από τον ψεκασμό (B, Z), η οποία όμως εξαλείφεται στο τέλος του πειράματος (Δ, Θ).

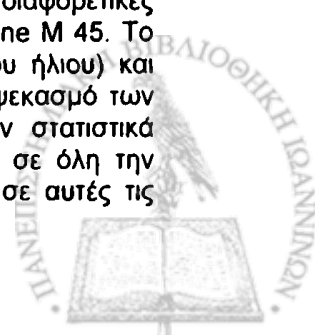
Η δραστική ουσία του Dithane M 45 είναι το mancozeb που ανήκει στην χημική ομάδα των διθειοκαρβαμιδικών, είναι ένα προστατευτικό φάρμακο επαφής, με γενική μη εξειδικευμένη δράση μέσα στο κύτταρο (Γιαννοπολίτης, 2005). Φυτοτοξικότητα από αυτή την δραστική ουσία σύμφωνα με την ετικέτα του σκευάσματος αναμένεται σε μερικές ποικιλίες αχλαδιών (π.χ. Κρυστάλλι, Βουτυράτα, Κόσσια), καθώς και σε μήλα της ποικιλίας Golden με την μορφή σκωρίασης των καρπών.

Η πρόκληση της φυτοτοξικότητας απαιτεί την διείσδυση μορίων του φαρμάκου εντός του κυττάρου των φυτών. Αν και το φάρμακο δεν είναι διασυστηματικό ένας αριθμός μορίων του περνάει στο κυτόπλασμα των φυτών όπου αναγνωρίζεται ως ξενοβιοτικό. Αφού η ένωση είναι οργανική, ενεργοποιείται ο μηχανισμός πρώτου σταδίου αποτοξικοποίησης του φυτού που αφορά τον μεταβολισμό και την διάσπαση του φυτοφαρμάκου. Στην συνέχεια με την ενεργοποίησή του δευτέρου μηχανισμού σχηματίζονται σύμπλοκα με συστατικά του κυττάρου όπως γλουταθειόνη, γλυκόζη, πρωτεΐνες ή αμινοξέα, λιγνίνη, πεπτιδία και λιπίδια. Στο τρίτο στάδιο μεταφέρονται τα υδατοδιαλυτά σύμπλοκα και ακινητοποιούνται, με δέσμευση τους σε κυτταρικά συστατικά όπως η λιγνίνη, ή αποθηκεύονται στα χυμοτόπια και τα κυτταρικά τοιχώματα. Στο τέταρτο στάδιο στα χυμοτόπια ή στα κυτταρικά τοιχώματα τα σύμπλοκα μπορεί να υποστούν και άλλες μεταβολές και να σχηματισθούν τα αδιάλυτα ή δεσμευμένα υπολείμματα που είναι βιολογικά αδιάθετα.

Πειράματα φυτοτοξικότητας με το mancozeb δεν βρέθηκαν στην βιβλιογραφία που ανατρέξαμε. Μια έμμεση αναφορά έχουμε από τους Untiedt και Blanke (2004) που χρησιμοποίησαν τα μυκητοκτόνα mancozeb και fusilazol συνδυασμένα με το εντομοκτόνο oxydemeton-methyl ψεκασμένα σε δένδρα μηλιάς. Ο ψεκασμός με αυτόν τον συνδυασμό ελάττωσε την συνολική αφομοίωση του CO₂ όλου του δένδρου κυρίως το μεσημέρι και, χρησιμοποιώντας ωριαίους μέσους, κατά μέσον όρο 7.4% την ημέρα της εφαρμογής τους. Αυτή η ελάττωση της φωτοσύνθεσης όλου του δένδρου εξασθένησε στο χρόνο, επιστρέφοντας σχεδόν στο αρχικό φωτοσυνθετικό δυναμικό, στα 3-5% σε 3 ημέρες, και χαρακτηρίστηκε από αυτούς ως αποδεκτή φυτοτοξικότητα. Ο ίδιος συνδυασμός φαρμάκων, αναλογικά σε σχέση με τις αλλαγές στη φωτοσύνθεση, αυξάνει την σκοτεινή αναπνοή (dark respiration) πάνω από 72% την νύχτα μετά την εφαρμογή, με δραστική αρνητική επίδραση στην ισορροπία άνθρακα του δέντρου. Τα αποτελέσματα αυτά δεν συγκρίνονται άμεσα με τα δικά μας αφού έχουμε διαφορετικά φυτικά είδη που ψεκάστηκαν αλλά και συνδυασμό άλλων φαρμάκων (το μυκητοκτόνο flusilazol που ανήκει στις τριαζόλες και δρα παρεμποδίζοντας την βιοσύνθεση της στερόλης και το εντομοκτόνο oxydemeton-methyl) με το mancozeb. Μπορεί όμως να προσέξουμε δύο ενδιαφέροντα στοιχεία, πρώτον πως η φωτοσύνθεση επηρεάστηκε από ψεκασμό δύο μυκητοκτόνων και ενός μυκητοκτόνου, άρα ευαίσθητες μέθοδοι μέτρησης παραμέτρων της φωτοσύνθεσης όπως ο φθορισμός της χλωροφύλλης α, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να διακρίνουν ασθενείς φυτοτοξικές επιδράσεις και δεύτερον ότι τα φυτά επανέρχονται μετά από λίγες μέρες που συμφωνεί με τα αποτελέσματα των δικών μας πειραμάτων από 2° -7°.

Πείραμα 7°

Σε αυτό το πείραμα (σχήμα 32,33,34), φυτά πιπεριάς ψεκάστηκαν με τρεις διαφορετικές δόσεις (0X, 1X, και 3X της προτεινόμενης) του συμβατικού μυκητοκτόνου Dithane M 45. Το πείραμα εκτελέστηκε στην ύπαιθρο και έγιναν πρωινές (πριν την ανατολή του ήλιου) και ημερήσιες μετρήσεις ETR και NPQ, σε τρεις διαφορετικούς χρόνους από τον ψεκασμό των φυτών με Dithane. Στις μετρήσεις του ETR και NPQ δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων D1, D2 και του μάρτυρα M, σε όλη την διάρκεια του πειράματος. Αυτά τα αποτελέσματα δηλώνουν πως το Dithane σε αυτές τις



δόσεις και κλιματικές συνθήκες που εφαρμόστηκε δεν έχει καμία αρνητική επίδραση στα φυτά της πιπεριάς Boudy F1 που ψεκάστηκαν.

Σε συμφωνία βρίσκονται και τα αποτελέσματα των μετρήσεων, παραγωγής (αριθμού ώριμων, ανώριμων και σύνολο δεμένων καρπών σε 45 ημέρες από τον ψεκασμό), βλάστησης (αύξηση ύψους φυτού σε χρονικό διάστημα 13 ημερών από τον ψεκασμό) καθώς και αύξησης της χλωροφύλλης των φύλλων (σε 15 ημέρες από τον ψεκασμό), όπου σε όλες τις παραμέτρους που μετρήθηκαν, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.

Παρατηρούμε πως ενώ η επίδραση της 3-πλάσιας της κανονικής δόση του mancozeb, στο 6^ο πείραμα με ψεκασμό σε φυτά σπανακιού, ήταν αρνητική, στο 7^ο πείραμα σε φυτά πιπεριάς δεν ανιχνεύθηκε καμία αρνητική επίδραση. Η διαφορετική επίδραση πιθανόν να οφείλεται σε παράγοντες που αφορούν τα φυτά. Ειδικότερα σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν ή χημική σύνθεση της εφυμενίδας του κάθε φυτού που καθορίζει την διαπερατότητα της, οι διαθέσιμοι μηχανισμοί αποτοξικοποίησης και οι περιβαλλοντικές συνθήκες κοντά στον ψεκασμό (όπως αναφέραμε στην εισαγωγή).



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι επιδράσεις φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων (Φ.Σ.) σε καλλιεργούμενα φυτά μέσω της τεχνικής του φθορισμού της χλωροφύλλης *in vivo*. Πραγματοποιήθηκαν 7 πειράματα με τρία φυτικά είδη (*Raphanus sativus*, *Spinacia oleracea* και *Capsicum annuum*), στα οποία εξετάστηκε η επίδραση πέντε Φ.Σ. (Cupravit, Οίκος, Savona, Bioclean, Dithane) σε δόσεις προτεινόμενες σύμφωνα με τον κατασκευαστή και διπλάσιες ή τριπλάσιες από αυτή. Σε κανένα από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν δεν διαπιστώθηκε κάποια παρατεταμένη και στατιστικώς σημαντική επίδραση των Φ.Σ. Εντούτοις, μικρής έντασης επιδράσεις στη λειτουργία της φωτοσυνθετικής συσκευής παρατηρήθηκαν αμέσως μετά τον ψεκασμό (1 έως 4 ημέρες). Οι επιδράσεις αυτές ήταν άλλοτε θετικές και άλλοτε αρνητικές και εξαλείφθηκαν πλήρως μετά την πάροδο 6 - 9 ημερών από τον ψεκασμό.

SUMMARY

The effects of crop protective products (P.P.) on the plants under protection was studied using the *in vivo* chlorophyll fluorescence technique. Seven experiments were carried out, using three plant species (*Raphanus sativus*, *Spinacia oleracea* and *Capsicum annuum*) and examining the effects of five P.P. (Cupravit, Oikos, Savona, Bioclean, Dithane) in the suggested by the manufacturer, double and triple doses. None of the experiments showed prolonged and statistically significant effects. However, slight effects on the function of the photosynthetic apparatus appeared immediately after spraying of P.P. (1 to 4 days). These effects were either negative or positive and were completely abolished 6 - 9 days after spraying.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- Γεωργόπουλος Σ., 1979. Καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών.
- Γιαννοπολίτης Κ., 2005. Οδηγός γεωργικών φαρμάκων. Σελ. 4-10.
- Δεληβόπουλος Σ., 1994. Μορφολογία και ανατομία φυτών.
- Δημητριάδη Σ., 1981. Μαθήματα φυτοπαθολογίας. Τόμος Α. Σελ. 15.
- Ελευθεροχωρινός Γ. Η., 1996. Ζιζανιολογία. Σελ. 184-190.
- Καράταγλης Σ., 1992. Φυσιολογία φυτών. Σελ. 141-143.
- Καρπιίδης Χ., 2004. Βιολογική γεωργία. Ηλιοθέρμανση εδάφους. Αλληλοπάθεια. Σελ. 15-43.
- Λεβίζου Ε. 2000. Αλληλεπιδράσεις της αυξημένης υπεριώδους-B (UV-B) ακτινοβολίας με την διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους και τον τεχνητό τραυματισμό στην ανάπτυξη και τη φυσιολογία των Μεσογειακών φυτών *Phlomis fruticosa* L. και *Cerastonia siliqua* L.. Διδακτορική διατριβή.
- Λόλας Π., 2003. Ζιζανιολογία, ζιζάνια-ζιζανιοκτόνα, τύχη και συμπεριφορά στο περιβάλλον. Σελ. 222-229.
- Μπαλής Κ.Δ., 1983. Μαθήματα γενικής μικροβιολογίας. Μέρος 1. Σελ. 13-29.
- Μπέμ Φ., 2000. Προσωπική επικοινωνία.
- Μπόβης Κ., 1990. Θρέψη φυτού. Μέρος πρώτο. Γονιμότητα του εδάφους. Σελ. 80.
- Ορφανίδη Π., 1968. Γεωργική φαρμακολογία. Τόμος Α Σελ. 467-490.
- Παλούκης Σ., Παπαδόπουλος Χ., 1989. Γεωργικά φάρμακα που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά. Σελ. VII, 98.
- Παναγιωτάρου-Πέτσικου Ν., Χρυσάγη-Τοκουζμπαλίδη Μ., 1988. Εγχειρίδιο χημικής καταπολέμησης ασθενειών των καλλιεργούμενων φυτών. Σελ. 13-22.
- Παπαδοπούλου-Μουρκίδου Ε., 1991. Γεωργικά φάρμακα. Μέρος 1 Σελ. 3-9, 125-136.
- Πασπάτης Ε., 1989. Φυτορρυθμιστικές ουσίες (φυτορμόνες). Σελ. 129-134.
- Προεδρικό διάταγμα υπ' αριθ. 115. Έγκριση, διάθεση στην αγορά και έλεγχος φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε συμμόρφωση προς την οδηγία 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου όπως έχει συμπληρωθεί. 30-5-1997.
- Forté V., 1984. Η μελιτζάνα. Τεχνική καλλιέργειας και φυτοπροστασία. Μετάφραση από Ιταλικά. Εκδόσεις Αγροτεχνική. Σελ. 40.
- Ridge I., Μανέτας Γ., 2005. Φυσιολογία φυτών. Σελ. 63-114.
- Stryer L., 1997. Βιοχημεία. 3^η έκδοση. Σελ. 549-578.

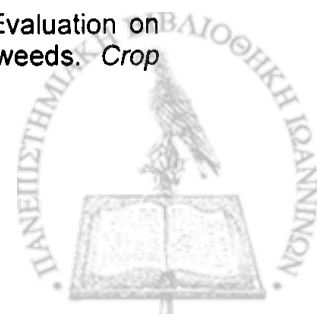


ΑΓΓΛΙΚΗ

- Ait Alia N., Ater M., Sunahara G., Robidoux P., 2004. Phytotoxicity and bioaccumulation of copper and chromium using barley (*Hordeum vulgare* L.) in spiked artificial and natural forest soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57, 363-374.
- Alister C., Kogan M., 2004. Effect of glyphosate applied over emerged asparagus spears. *Crop Protection* 23, 169-172.
- Baker N., Rosenqvist E., 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop protection strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* 55, 1607-1621.
- Bakker M., Baas W., Sijm D., Kolloff C., 1998. Leaf wax of *Lactuca Sativa* and *Plantago Major*. *Phytochemistry* Vol. 47, No. 8. 1489 -1493.
- Chatterjee J., Chatterjee C., 2000. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environmental Pollution* 109, 69-74.
- Coker, D., D. Oosterhuis, and R. Brown. 2003. Yield and physiological response of dryland and irrigated cotton to potassium fertilization: A four-year summary.
- Critchley C., 1998. Photoinhibition. Photosynthesis.
- Demmig-Adams B., Adams W., 2001. Photoprotection against excess light via Zeaxanthin dependent energy dissipation.
- Eberius M., 2001. LemnaTec GmbH Observation Parameters of the Duckweed Growth Inhibition Test Frond number - Total Frond Area - Dry weight, Schumanstrasse 18, 52146 Wurselen, Germany.
- Follak S., Hurle K., 2003. Effect of airborne bromoxynil-octanoate and metribuzin on non-target plants. *Environmental Pollution* 126, 139-146.
- Fracheboud Y., 2004. Using Chlorophyll Fluorescence to Study Photosynthesis.
- Frankart C., Eullaffroy P., Vernet G., 2003. Comparative effects of four herbicides on non-photochemical fluorescence quenching in *Lemna minor*. *Environmental and Experimental Botany* 49, 159 -168.
- He Z.W., Malkin R., 1998. Photosystem I and II. Photosynthesis.
- Hoover K. J. 1998. Chloroplast structure and development.
- Gonzalez L., 2001. Determination of photosynthetic pigments. Handbook of plant ecophysiology techniques.
- Larcher W., 2001. Physiological plant ecology. 346 - 449.
- Lewis M., 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review? *Environmental Pollution* 87, 319-336.
- Maxwell K., Johnson G., 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51, 659 - 668.
- May M., Vernoux T., Leaver C., Van Mondagu M., Inze D., 1998. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development. *Journal of Experimental Botany* 49, 649-667.



- Morishhige D.T., Dreyfuss B.W., 1998. Light-harvesting complexes of higher plants. *Photosynthesis*.
- Portable Chlorophyll Fluorometer PAM – 2100, 2003. Handbook of operation.
- Radetski C.M., Cotellet S., Ferard J-F., 2000. Classical and biochemical endpoints in the evaluation of phytotoxic effects caused by the herbicide trichloroacetate. *Environmental and Experimental Botany* 44, 221–229.
- Ralph P., Gademann R., 2005. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquatic Botany* 82, 222–237.
- Reigosa Roger M., Weiss O., 2001. Fluorescence techniques. Handbook of plant ecophysiology techniques.
- Sandmann G., Scheer H., 1998. Chloroplast pigments. *Photosynthesis*.
- Schreiber U., 2001. In vivo chlorophyll fluorescence: Assessment and Analysis of photosynthesis function. *Physiological plant ecology*.
- Schreiber U., Bilger W., Hormann H., and Neubauer C., 1998. Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool: basics and some aspects of practical relevance. *Photosynthesis*.
- Smith M.A.K., 2004. Pendimethalin phytotoxicity and seedling weed control in Indian spinach (*Basella alba* L.) *Crop Protection* 23, 201–204.
- Teisseire H., and Vernet G., 2001. Effects of the Fungicide Folpet on the Activities of Antioxidative Enzymes in Duckweed (*Lemna minor*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 69, 112–117.
- Teixeira da Silva J., Nhut D., Tanaka M., Fukai S., 2003. The effect of antibiotics on the in vitro growth response of chrysanthemum and tobacco stem transverse thin cell layers (TCLs). *Scientia Horticulturae* 97, 397–410.
- Tong Z., Hongjun J., 1998. Use of duckweed (*Lemna minor* L.) growth inhibition test to evaluate the toxicity of acrylonitrile, sulphocyanic sodium and acetonitrile in China. *Environmental Pollution*, Vol. 98 No 2, 143–147.
- Untiedt R., Blanke M., 2004 Effects of fungicide and insecticide mixtures on apple tree canopy photosynthesis, dark respiration and carbon economy. *Crop Protection* 23, 1001–1006.
- Villarroel M.J., Sancho E., Ferrando M.D., Andreu E., 2003. Acute, chronic and sublethal effects of the herbicide propanil on *Daphnia magna*. *Chemosphere* 53, 857–864.
- Vinit-Dunand F., Epron D., Alaoui-Sosse B., Badot P.M., 2002. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Science* 163, 53 – 58.
- Whitmarsh J., 1998. Electron transport and energy transduction. *Photosynthesis*
- Xiaodong W., Cheng S., Shixiang G., Liansheng W., Han S., 2000. Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus*. *Chemosphere* 44, 1711–1721.
- Xuan T.D., Eiji T., Hiroyuki T., Mitsuhiro M., Khanh T.D., Chung I-M., 2004. Evaluation on phytotoxicity of neem (*Azadirachta indica*. A. Juss) to crops and weeds. *Crop Protection* 23, 335–345.



ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ ΣΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

<http://www.ftexploring.com> . Σχηματική απεικόνιση του χλωροπλάστη.

<http://www.irac-online.org/resources/moa.asp>

<http://www.plantprotection.org/HRAC/> Classification of Herbicides According to Mode of Action (2005)

