

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ»



Δ.Μ.Π.Σ. "ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ"

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ
ΘΕΙΚΩΝ ΑΝΙΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΝΙΤΡΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΙΚΟΥ ΑΖΩΤΟΥ, ΣΕ ΦΥΤΑ ΜΑΡΟΥΛΙΟΥ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΣΕ ΤΕΧΝΗΤΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΒΑΣΙΛΕΙΑΔΗΣ ΛΑΖΑΡΟΣ

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΚΑΡΙΠΙΔΗΣ

Αναπληρωτής Καθηγητής
ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ

Ιωάννινα 2011



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ»

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΘΕΙΚΩΝ
ΑΝΙΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΝΙΤΡΙΚΩΝ ΚΑΙ
ΟΡΓΑΝΙΚΟΥ ΑΖΩΤΟΥ, ΣΕ ΦΥΤΑ ΜΑΡΟΥΛΙΟΥ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΣΕ ΤΕΧΝΗΤΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ**

Εκπόνηση εργασίας: **Λάζαρος Χ. Βασιλειάδης**

Εισηγητής: **Χαράλαμπος Καριπίδης**

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011



ΕΠΙΛΟΓΗ

...και η ζωή μου είναι...
...η ζωή μου είναι...
...η ζωή μου είναι...

...και η ζωή μου είναι...
...η ζωή μου είναι...
...η ζωή μου είναι...

Στους γονείς μου

...και η ζωή μου είναι...
...η ζωή μου είναι...

...και η ζωή μου είναι...
...η ζωή μου είναι...

...και η ζωή μου είναι...
...η ζωή μου είναι...

...και η ζωή μου είναι...
...η ζωή μου είναι...



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Διατμηματικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών “Αγροχημεία και Βιολογικές καλλιέργειες”, μεταξύ του Τ.Ε.Ι Ηπείρου και του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Τα πειράματα πεδίου πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκήπιο στο χώρο του Τ.Ε.Ι Ηπείρου και οι χημικές αναλύσεις στο Εργαστήριο Χημείας του Τμήματος Φυτικής Παραγωγής, του Τ.Ε.Ι Ηπείρου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον εισηγητή μου κ. Χαράλαμπο Καριπίδη, Καθηγητή Τμήματος Φυτικής Παραγωγής του Τ.Ε.Ι Ηπείρου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την τιμή που μου έκανε να μου αναθέσει τη συγκεκριμένη μελέτη, καθώς και για τη βοήθειά του σε όλα τα στάδια διεκπεραίωσης αυτής. Οι υποδείξεις του κ. Καριπίδη ήταν πάντα σε τόνο φιλικό και πνεύμα συζητήσιμο, ενώ πολλές φορές δεν δίστασε να καταπιαστεί με ζητήματα πρακτικά και χειρονακτικά.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον κ. Ραπακούση Σπυρίδων, Ειδικό Τεχνικό Προσωπικό του Τμήματος Φυτικής Παραγωγής του Τ.Ε.Ι Ηπείρου για τις συμβουλές του και το ιδιαίτερο ενδιαφέρον που έδειξε ειδικά στα πρώτα στάδια του πειράματος.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω τον κ. Μάντζο Νικόλαο, Ειδικό Τεχνικό Προσωπικό του Τμήματος Ανθοκομίας – Αρχιτεκτονικής Τοπίου για την πολύτιμη βοήθειά του στο χώρο του εργαστηρίου.

Βέβαια, στην πραγματοποίηση της εργασίας ουσιαστικό ρόλο έπαιξαν οι γονείς μου για τους οποίους είμαι περήφανος και αγαπάω. Τους ευχαριστώ θερμά τόσο για την υλική όσο και για την ηθική υποστήριξη που μου προσέφεραν.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την φίλη μου Ντούρντα Μαρία, τους φίλους μου Ριστάνη Κωνσταντίνο και Ντίμα Μάριο, οι οποίοι με οποιοδήποτε τρόπο συνέβαλαν στην πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	8
SUMMARY	9
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
2.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	13
2.1 Το μαρούλι	13
2.1.1 Βοτανική ταξινόμηση μαρουλιού	13
2.1.2 Γενικά χαρακτηριστικά	13
2.1.3 Περιγραφή του φυτού	15
2.1.4 Ποικιλίες μαρουλιού	16
2.1.5 Καλλιεργητικές φροντίδες	19
2.1.5.1 Σπορά και φύτευση	19
2.1.5.2 Λίπανση	20
2.1.5.3 Θερμοκρασία και φωτισμός	21
2.1.5.4 Συγκομιδή-Αποδόσεις-Διατήρηση	21
2.1.6 Ασθένειες και Ζωικά παράσιτα	22
2.1.7 Θρεπτική αξία	23
2.2 Το άζωτο και το πρόβλημα των νιτρικών	26
2.2.1 Απορρόφηση και φυσιολογικός ρόλος του αζώτου	26
2.2.2 Η αναγωγή των νιτρικών	27
2.2.3 Η αναγωγή των νιτρικών	28
2.2.4 Η αφομοίωση της αμμωνίας	29
2.2.5 Μορφές και κατανομή του αζώτου στο φυτό	30



2.2.6 Ο κύκλος του αζώτου στο αγροτικό οικοσύστημα	32
2.2.6.1 Ανοργανοποίηση-Ακινητοποίηση	33
2.2.6.2 Νιτροποίηση	34
2.2.6.3 Απώλειες N στην ατμόσφαιρα	34
2.2.7 Επιπτώσεις από την χρήση αζωτούχων λιπασμάτων	35
2.2.8 Εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης του N	39
2.2.9 Παράγοντες που επιδρούν στην συσσώρευση νιτρικών	41
2.2.9.1 Κλιματικοί παράγοντες	42
2.2.9.2 Γενετικοί παράγοντες	43
2.3 Ο ρόλος του στοιχείου S	45
2.3.1 Εισαγωγή	45
2.3.2 Κύκλος του θείου	45
2.3.3 Φυσιολογική δράση του S	46
2.3.4 Μορφές S στο έδαφος	47
2.3.5 Επιδράσεις των οξειδίων του θείου στα φυτά	48
3.ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	50
3.1 Υλικά και μέθοδοι	50
3.1.1 Εισαγωγή	50
3.1.2 Ριζοπότισμα με θρεπτικά διαλύματα	51
3.1.3 Δειγματοληψία φυτικών ιστών μαρουλιού	53
3.1.3.1 Ξήρανση σε φούρνο	53
3.1.3.2 Άλεσμα των φυτικών ιστών	54
3.1.3.3 Αποθήκευση-συντήρηση	54
3.1.4 Προσδιορισμός νιτρικού αζώτου	54



3.1.4.1 Χρωματομετρική μέθοδος	54
3.1.4.1.1 Αντιδραστήρια	54
3.1.4.1.2 Τρόπος εργασίας	55
3.1.4.1.3 Αρχή της μεθόδου	55
3.1.4.1.3.1 Αντιδραστήρια	55
3.1.4.1.3.2 Διαδικασία	56
3.1.5 Προσδιορισμός ολικού αζώτου μέθοδος (Kjeldahl)	58
3.1.5.1 Γενικά	58
3.1.5.2 Υγρή χώνευση (καύση)	59
3.1.5.3 Απόσταξη	60
3.1.5.4 Τιτλοδότηση	61
3.2 Αποτελέσματα-Συζήτηση	62
3.2.1 Βάρος των φυτών	62
3.2.2 Περιεκτικότητα Νιτρικών στα φύλλα των φυτών	65
3.2.3 Οργανικό άζωτο στα φύλλα	68
4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	72
Παράρτημα	73
Βιβλιογραφία	75
Διαδικτυακές πηγές	79



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η επίδραση των θειικών ανιόντων στην συσσώρευση νιτρικών και οργανικού αζώτου σε φυτά μαρουλιού, με σταθερή την ποσότητα του χορηγούμενου αζώτου σε όλες τις λιπαντικές επεμβάσεις, σε συνδυασμό με τρία διαφορετικά επίπεδα θειικής λίπανσης.

Συγκεκριμένα, στο γενικό μέρος παρουσιάζονται τα γενικά και βοτανικά χαρακτηριστικά του μαρουλιού, οι κυριότερες ποικιλίες του, οι καλλιεργητικές φροντίδες του, οι ασθένειες και τα ζωικά παράσιτά του, καθώς και η θρεπτική αξία του φυτού. Στη συνέχεια παραθέτονται στοιχεία που αφορούν το ρόλο του αζώτου στο φυτό, ο κύκλος του στο αγροτικό οικοσύστημα, οι επιπτώσεις από την χρήση αζωτούχων λιπασμάτων, οι εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης του N αλλά και οι παράγοντες που επιδρούν στην συσσώρευση νιτρικών. Επίσης, γίνεται μια αναφορά στο στοιχείο θείο, τον κύκλο του, την φυσιολογική του δράση, τις μορφές του στο έδαφος και τις επιδράσεις του στο περιβάλλον.

Στο ειδικό μέρος, δίνονται λεπτομερέστατα τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν, οι εργασίες και ο τρόπος εφαρμογής των μεθόδων που πραγματοποιήθηκαν. Ακόμη, παρουσιάζονται και αποτυπώνονται τα αποτελέσματα της διεξαγωγής του πειράματος.

Σκοπός του πειράματος ήταν να διαπιστωθεί αν η παρουσία θειικών ανιόντων στο θρεπτικό διάλυμα που χορηγείται σε φυτά μαρουλιού, επηρεάζει την απορρόφηση νιτρικών και οργανικού αζώτου και προκαλεί περιορισμό της συσσώρευσής τους στα φύλλα και τις ρίζες των φυτών.

SUMMARY

In this paper, there was a study of the effect of the sulphuric anions on the accumulation of nitric and organic nitrogen in lettuce leaves, with the quantity of the administered nitrogen to all the lubricant interventions being steady, in conjunction with three different levels of sulphuric lubrication.

More specifically, in the main part there is a presentation of the general and botanic characteristics of the lettuce, its main varieties, its cultivation procedures, its diseases and animal parasites as well as the plant's nutritious value. Following this, there are details about the role of the nitrogen in the plant, its cycle in the agrarian ecosystem, the impacts of the use nitrogen fertilizers, the alternative ways of management of the N as well as the factors that contribute towards the accumulation of nitrates. Furthermore, there is mention of the sulphur element, its cycle, its natural activity, its forms on the ground and its effects on the environment.

In the special section, there is a detailed presentation of the materials being used, the activities and the way of applying the methods that were used. What's more, the results of the experiment are presented and outlined.

The purpose of this experiment was to determine whether the presence of sulphuric anions in the nutritious solution, which is administered to the lettuce leaves, affects the absorption of nitric and organic nitrogen and, consequently, causes a limitation of their accumulation in the leaves and roots of the plant.



SUMMARY

In this paper, there was a study of the effect of the sulphuric anions on the accumulation of nitric and organic nitrogen in lettuce leaves, with the quantity of the administered nitrogen to all the lubricant interventions being steady, in conjunction with three different levels of sulphuric lubrication.

More specifically, in the main part there is a presentation of the general and botanic characteristics of the lettuce, its main varieties, its cultivation procedures, its diseases and animal parasites as well as the plant's nutritious value. Following this, there are details about the role of the nitrogen in the plant, its cycle in the agrarian ecosystem, the impacts of the use nitrogen fertilizers, the alternative ways of management of the N as well as the factors that contribute towards the accumulation of nitrates. Furthermore, there is mention of the sulphur element, its cycle, its natural activity, its forms on the ground and its effects on the environment.

In the special section, there is a detailed presentation of the materials being used, the activities and the way of applying the methods that were used. What's more, the results of the experiment are presented and outlined.

The purpose of this experiment was to determine whether the presence of sulphuric anions in the nutritious solution, which is administered to the lettuce leaves, affects the absorption of nitric and organic nitrogen and, consequently, causes a limitation of their accumulation in the leaves and roots of the plant.



1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ιστορία του μαρουλιού λέγεται πως ξεκίνησε από την Ανατολική Μεσόγειο και χρονολογείται πάνω από 5.000 χρόνια. Ιδιαίτερα διαδεδομένο ήταν το μαρούλι στην Ρωμαϊκή Αυτοκρατορία, που θεωρούνταν ότι είχε θεραπευτικές ιδιότητες. Αναφέρεται στα ιστορικά κείμενα ότι ο Αύγουστος Καίσαρας θεραπεύτηκε από σοβαρή ασθένεια, χρησιμοποιώντας τα φύλλα του μαρουλιού και από τότε είχε το μαρούλι σε μεγάλη υπόληψη. Ίσως δεν είναι τυχαίο που η πιο δημοφιλής σαλάτα σε όλο τον κόσμο, που χρησιμοποιεί σαν βάση της το μαρούλι, ονομάζεται Caesar's salad.

Οι Η.Π.Α. έχουν τη μεγαλύτερη παραγωγή μαρουλιού στον κόσμο, ακολουθούν η Κίνα, η Ισπανία και ο Καναδάς. Στην Ελλάδα καλλιεργείται σε έκταση 35.000 στρεμμάτων, με παραγωγή 65.000 τόνους και διάθεση αποκλειστικά για τις εγχώριες ανάγκες.

Το άζωτο αποτελεί το σημαντικότερο μακροστοιχείο στην ανόργανη διατροφή των φυτών τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά. Η επαρκής τροφοδότηση με άζωτο της καλλιέργειας καθορίζει σε μέγιστο βαθμό το μέγεθος της παραγωγής στα καλλιεργούμενα φυτά. Η αύξηση της χορηγούμενης αζωτούχου λίπανσης είναι αρνητικά συσχετισμένη, με την παρουσία νιτρικών ανιόντων στα φύλλα των περισσότερων φυλλωδών λαχανικών.

Σήμερα, τα λαχανικά αποτελούν την κυριότερη πηγή εισροής νιτρικών στον οργανισμό των ενήλικων ανθρώπων. Εκτιμάται πως περισσότερο από το 80% της μέσης ημερήσιας εισροής νιτρικών στον οργανισμό προέρχεται από τα λαχανικά. Η συσσώρευση νιτρικών στους φυτικούς ιστούς διαφόρων φυτών και η κατανάλωσή τους από τον άνθρωπο, έχει ευαισθητοποιήσει την κοινή γνώμη, καθώς τα νιτρικά ανιόντα θεωρούνται ότι κάτω από ορισμένες προϋποθέσεις, μπορούν να γίνουν επικίνδυνα για την υγεία των καταναλωτών.

Η αποφυγή της συγκέντρωσης των νιτρικών στα λαχανικά αποτελεί πλέον υποχρέωση του παραγωγού, ο οποίος θα πρέπει να τηρεί τους



κανόνες που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση. Στη χώρα μας και ιδίως στη Νότια Ελλάδα, οι συγκεντρώσεις στα λαχανικά, φαίνεται να είναι σαφώς χαμηλότερες συγκριτικά με εκείνες που διαπιστώνονται στις χώρες της Βόρειας Ευρώπης. Αυτό οφείλεται στο ότι στην Ελλάδα επικρατούν συνθήκες (φωτισμού, θερμοκρασίας), που αυξάνουν την αποτελεσματικότητα της ρεδουκτάσης σχεδόν ολόκληρο το χρόνο. Εξαιρέση αποτελεί η χειμερινή περίοδος όπου οι ώρες φωτισμού περιορίζονται και η θερμοκρασία πέφτει με έντονες διακυμάνσεις μεταξύ ημέρας και νύχτας.

Είναι γνωστό ότι οι αγρότες της Βόρειας και Κεντρικής Ευρώπης για κλιματολογικούς λόγους, που οφείλονται στις χαμηλές θερμοκρασίες και στον περιορισμένο φωτισμό, που επικρατούν στις χώρες αυτές κυρίως την περίοδο του χειμώνα, χρειάζονται περισσότερες αζωτούχες λιπάνσεις για την παραγωγή μεγάλης μάζας από βλάστηση σε πράσινα λαχανικά.

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (OMS ή WHO) όρισε την ημερήσια ανεκτή δόση για έναν ενήλικα τα 5 mgg νιτρικών ανά κιλό σωματικού βάρους και αυτή των νιτρωδών στα 0,2 mgg ανά κιλό σωματικού βάρους εκφρασμένα αντίστοιχα σε (KNO₃) νιτρικό κάλιο και νιτρώδες Νάτριο (NaNO₂). Σύμφωνα επίσης με ορισμένα άλλα ερευνητικά δεδομένα, ο άνθρωπος προσλαμβάνει νιτρικά κατά 70% από τα λαχανικά, κατά 15% από τα υπόλοιπα τρόφιμα και το υπόλοιπο 15% από το πόσιμο νερό. Η συνολική ποσότητα νιτρικών που προσλαμβάνει ένας άνθρωπος ανά ημέρα εξαρτάται από τις διατροφικές του συνήθειες και την περιεκτικότητα των λαχανικών και του πόσιμου νερού σε νιτρικά.

Ο κίνδυνος των νιτρικών στα λαχανικά περιορίζεται όταν τηρούνται οι κανόνες που παρέχουν τη δυνατότητα διατήρησης της φρεσκάδας αυτών των προϊόντων, όταν καταναλώνονται νωπά ή όταν μεταποιούνται. Ήδη το Συμβούλιο του Αμερικανικού Κογκρέσου είχε εκφράσει τις ανησυχίες του από τα πρώτα χρόνια της δεκαετίας του '60 και είχε επισημάνει τους σοβαρούς κινδύνους που εγκυμονεί η λήψη των νιτρικών από τους καταναλωτές, που πέρα από τα λαχανικά, υπάρχουν στο νερό, στα συντηρητικά και προσθετικά των ψαριών και των κρεάτων.

Στις 31 Ιανουαρίου 1997, η Επιτροπή Γεωργίας της Ευρωπαϊκής Ένωσης εξέδωσε μια οδηγία (194/97) που προσδιορίζει τα μέγιστα αποδεκτά ποσοστά για ορισμένες ουσίες που περιέχονται στα βρώσιμα προϊόντα και συγκεκριμένα αναφέρονται τα ποσοστά των νιτρικών στο μαρούλι.

Η εγκύκλιος καθορίζει τα εξής:

• **Μαρούλια** (μέγιστα αποδεκτά ποσοστά νιτρικών για νωπά προστατευόμενα σε θερμοκήπια, αλλά και σε μαρούλια που καλλιεργούνται στην ύπαιθρο).

- από την 1^η Οκτωβρίου μέχρι 31 Μαρτίου: 4.500 mg NO_3^- /Kgr νωπού βάρους για φυτά υπό κάλυψη.
- από την 1^η Οκτωβρίου μέχρι 31 Μαρτίου: 4.000 mg NO_3^- /Kgr νωπού βάρους για υπαίθρια καλλιέργεια.
- από την 1^η Απριλίου μέχρι 30 Σεπτεμβρίου: 3.500 mg NO_3^- /Kgr νωπού βάρους για φυτά υπό κάλυψη.
- από την 1^η Απριλίου μέχρι 30 Σεπτεμβρίου: 3.000 mg NO_3^- /Kgr νωπού βάρους για υπαίθρια καλλιέργεια.

Για μαρούλια τύπου Iceberg:

- 2.500 mg NO_3^- /Kgr νωπού βάρους για φυτά υπό κάλυψη.
- 2.000 mg NO_3^- /Kgr νωπού βάρους για υπαίθρια καλλιέργεια.

Το πρόβλημα των νιτρικών στα λαχανικά απασχολεί τους ερευνητές εδώ και πολλά χρόνια, ιδιαίτερα όμως τα τελευταία χρόνια, που οι διαιτολογικές απόψεις συντέιναν στην αύξηση της κατανάλωσης λαχανικών.

Ελπιδοφόρα αποτελέσματα προς την κατεύθυνση της λύσης αυτού του προβλήματος, έχουν δώσει ορισμένα πειράματα βελτίωσης των υφισταμένων ποικιλιών μέσω διασταύρωσης με γονότυπους, που τείνουν να συσσωρεύουν μικρές μόνο ποσότητες νιτρικών, κάτω από οποιοσδήποτε συνθήκες περιβάλλοντος και θρεπτικής κατάστασης του εδάφους (Reinink, 1988).

2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Το μαρούλι

Για να γίνει οποιαδήποτε μελέτη σε ένα φυτό θα πρέπει αρχικά να γίνεται μια αναφορά στα χαρακτηριστικά του. Είναι απαραίτητο, να έχουμε μια καλή εικόνα αυτού που αποτελεί το βιοτικό και αβιοτικό περιβάλλον του αντικειμένου της μελέτης μας.

2.1.1 Βοτανική ταξινόμηση μαρουλιού

Βασίλειο: Plantae

Άθροισμα: Magnoliophyta

Κλάση: Magnoliopsida

Υποκλάση: Asteridae

Τάξη: Asterales

Οικογένεια: Asteraceae

Γένος: Lactuca

Είδος: L. Sativa

2.1.2 Γενικά χαρακτηριστικά

Το μαρούλι ευδοκίμει καλύτερα στην χώρα μας κατά την περίοδο φθινοπώρου μέχρι την άνοιξη. Αντέχει στις χαμηλές θερμοκρασίες, ακόμη και κάτω των -5°C , ενώ υπό συνθήκες θερμές έχει την τάση να αναπτύσσει πρώιμα ανθοφόρο βλαστό, ιδιαίτερος δε όταν οι υψηλές θερμοκρασίες



συνδυάζονται και με μεγάλη φωτοπερίοδο. Καλλιέργειες που γίνονται νωρίς το φθινόπωρο ή αργά την άνοιξη αποτυγχάνουν πολλές φορές για αυτόν ακριβώς το λόγο. Δεν προφταίνουν να σχηματίσουν κεφαλή γιατί εκπτύσσουν γρήγορα ανθοφόρο βλαστό.

Γενικώς τα μαρούλια και ιδιαίτερος τα κεφαλωτά απαιτούν κατά την περίοδο κυρίως σχηματισμού της κεφαλής χαμηλές θερμοκρασίες. Αλλιώς, και αν σχηματίσουν κεφαλή, αυτή θα είναι μάλλον χαλαρή και η γεύση των φύλλων υπόπικρη. Αλλά και οι πολύ χαμηλές θερμοκρασίες δεν είναι ευνοϊκές για την καλή ανάπτυξη του φυτού. Κατά την χειμερινή περίοδο και για καλλιέργειες κεφαλωτών μαρουλιών μέσα σε θερμοκήπιο, θα ήταν ευνοϊκές θερμοκρασίες 15-20⁰C κατά την ημέρα και 10-15⁰C κατά την νύχτα.



Εικόνα 1. Το μαρούλι

(πηγή: <http://en.wikipedia.org/wiki/Lettuce>)

Πολλές ποικιλίες έχουν ευρεία προσαρμογή στις διάφορες συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού και άλλες διακρίνονται για την ιδιαιτερότητά τους να ευδοκίμουν υπό κάποιες ακραίες εποχικές συνθήκες.

Οι βροχές υπό συνθήκες μέτριων θερμοκρασιών ευνοούν την ανάπτυξη του περονόσπορου, ο οποίος μπορεί να προκαλέσει μεγάλες ζημιές στην καλλιέργεια.

Ως προς το έδαφος το μαρούλι είναι λιγότερο απαιτητικό. Αναπτύσσεται και αποδίδει σε διάφορους τύπους εδαφών, αλλά ευδοκίμει

καλύτερα σε γόνιμα, μέσης σύστασης πλούσια σε οργανική ουσία, στα ποτιστικά και αποστραγγισμένα εδάφη. Η καλύτερη αντίδραση του εδάφους είναι η ουδέτερη ή ελαφρώς όξινη (pH 6-7). Περισσότερο όξινα εδάφη δεν είναι ευνοϊκά για το μαρούλι και πρέπει να διορθώνονται με ενσωμάτωση της αναγκαίας ποσότητας ασβέστου. Επίσης πρέπει να αποφεύγονται και τα πολύ αλκαλικά εδάφη, στα οποία τα φυτά μπορούν να παρουσιάσουν χλώρωση.

Καλλιέργεια μαρουλιού συνεχής στο ίδιο έδαφος ή και με την καλλιέργεια συγγενών φυτών δεν συνιστάται, κυρίως για την αποφυγή ζημιών από ασθένειες ή άλλα ζωικά παράσιτα. Στην αμειψισπορά μπορεί να ακολουθεί την τομάτα, τα κολοκυνθώδη και το κρεμμύδι.

2.1.3 Περιγραφή του φυτού

Αναλόγως της μορφής και της διάταξης των φύλλων το *L. sativa* διακρίνεται στα: *L. Sativa var. capitata* D.C., η οποία σχηματίζει σφαιροειδή κεφαλή (κεφαλωτά μαρούλια), *L. s. var. romana* D.C. με κεφαλή επιμήκη (η καλλιεργούμενα στη χώρα μας ρωμάνα) και σε μερικές άλλες μορφές που δεν σχηματίζουν κεφαλή, οι οποίες αυτοφύονται ή και καλλιεργούνται για τα φύλλα τους (αντιδομάρουλα) ή τους βλαστούς των. Γενικώς έχουν $2n=18$ χρωμοσώματα, υπάρχουν όμως και τετραπλοειδείς μορφές με $4n=36$ χρωμοσώματα.

Το καλλιεργούμενο μαρούλι είναι φυτό πτώδες με ρίζα πασσαλώδη, η οποία κατά την μεταφύτευση συνήθως καταστρέφεται για να αναπτυχθεί αργότερα ένα επιπόλαιο θυσσανώδες ριζικό σύστημα. Τα φύλλα σχηματίζονται από ένα βραχύ στέλεχος και είναι πλατιά, ποικίλλοντος μεγέθους και σχήματος, με επιφάνεια λεία ή κυματοειδή, χρώματος πράσινου ή πρασινοκίτρινου και σε μερικές ποικιλίες με απόχρωση κόκκινη. Είναι πολύ κοντά το ένα με το άλλο, κατά τρόπο που να σχηματίζουν κατά την ανάπτυξη του φυτού σφαιροειδή ή προμήκη κεφαλή.

Κατά την εποχή της αναπαραγωγής το στέλεχος του φυτού επιμηκύνεται φτάνοντας συνήθως το ύψος των 0,80-1.20 m. και σχηματίζει διακλαδώσεις, οι οποίες καταλήγουν σε ταξιανθίες (κεφαλίδες) με 15-25 cm η καθεμιά ερμαφρόδιτα άνθη. Αυτά είναι μικρά και κίτρινα με στεφάνη από 5 ενωμένα πέταλα και στήμονες που σχηματίζουν σωλήνα γύρω από τον στύλο.

Ο σπόρος (για καρπό πρόκειται) είναι μικρός, επιμήκης, χρώματος ποικίλλοντος αναλόγως της ποικιλίας και εφοδιασμένος με πάππο (φούντα) από λεπτές και λευκές τρίχες.

Η κεφαλή του μαρουλιού περιέχει περίπου 94% νερό, 1,6% πρωτεΐνες, 2% υδατάνθρακες και 0,2% λίπη, είναι δε πλούσια σε βιταμίνη Α και C και δευτερευόντως σε Β₁, Β₂ και άλλες.

2.1.4 Ποικιλίες μαρουλιού

Υπάρχουν πάρα πολλές ποικιλίες μαρουλιού που μπορούν να διακριθούν σε 4 βοτανικές ποικιλίες.

- **Ο φυλλώδης τύπος**, στον οποίο τα φύλλα σχηματίζονται σαν ρόδα και δεν έχουν κεφαλή. Φύονται κατά δεκάδες και ανανεώνονται όταν τα πρώτα φύλλα κοπούν. Είναι κατσαρά ή μοιάζουν με της βελανιδιάς. Το χρώμα τους είναι πράσινο , ανοιχτό πράσινο ή και κόκκινο. Στον τύπο αυτό ανήκουν οι ποικιλίες σαλάτες Νεαπόλεως , αντιδομάρουλα και τα κοινά μαρούλια.
- **Ο κεφαλωτός τύπος**, με παχιά, μαλακά φύλλα που σχηματίζουν μία συμπαγή κεφαλή. Οι ποικιλίες εδώ είναι τα κόκκινα κλειστά μαρούλια, New York Imperial και άλλες.
- **Ο τύπος μαρουλιού-σπαραγγιού** με στενά φύλλα και παχύ σαρκώδη βλαστό. Οι ποικιλίες αυτού του τύπου καλλιεργούνται στην Ασία κυρίως για τους βλαστούς τους.

- Ο τύπος ρωμάνα με λεία σκληρά και ανορθωμένα φύλλα που σχηματίζουν ψηλή κεφαλή. Έχουν πολύ λεπτή γεύση και η υφή τους είναι τραγανή. Εδώ έχουμε τις ποικιλίες Σκουροπράσινο, λευκό Παρισιού και Κωνσταντινούπολης.



Εικόνα 2. Ποικιλία τύπου ρωμάνα

(πηγή: <http://images.google.gr>)

Μερικές ποικιλίες οι οποίες κατά καιρούς έχουν δοκιμαστεί στην Ελλάδα και αποτελούν ένα δείγμα μόνο των εκατοντάδων ποικιλιών που αναφέρονται στους διάφορους καταλόγους σπόρων είναι:

Parris Island Cos. Είναι ποικιλία τύπου ρωμάνα με ευμεγέθη κεφαλή, πράσινη, κλειστή, συμπαγή και επιμήκη όπως όλες οι ρωμάνες, κατάλληλη για ανοιξιότικη και φθινοπωρινή καλλιέργεια. Είναι ανθεκτική στο μωσαϊκό.

Verte Maraichere και **Blonde Maraichere.** Είναι και οι δύο ρωμάνες ενδιαφέρουσες, η πρώτη πράσινου χρώματος και η δεύτερη ανοιχτότερου (ξανθού) χρώματος.

Esmeralda. Νέα ποικιλία κεφαλωτού μαρουλιού με φύλλα λεία και κυματοειδή με κεφαλή ανοικτού πράσινου χρώματος και μεγάλου μεγέθους. Είναι κατάλληλη για καλοκαιρινή παραγωγή, αντέχοντας στην έκπτυξη ανθοφόρου βλαστού. Αναφέρεται ως ανθεκτική στο μωσαϊκό και στον περονόσπορο.

Divina. Ημιόψιμη κεφαλωτή ποικιλία, κατάλληλη για φθινοπωρινή και ανοιξιότικη καλλιέργεια με φύλλα λεία και κυματοειδή. Κεφαλή βάρους 500-600 gr περίπου. Είναι ανθεκτική στον περονόσπορο και ανεκτική στο μωσαϊκό.

Carlane. Κεφαλωτή και αυτή ποικιλία με φύλλα λεία και κυματοειδή, με κεφαλή ευμεγέθη. Είναι κατάλληλη για φθινοπωρινή και ανοιξιιάτικη καλλιέργεια και ανθεκτική στον περονόσπορο, ανεκτική δε στο μωσαϊκό.

Great Lakes. Είναι κεφαλωτό, κατσαρό μαρούλι, κατάλληλο για φθινοπωροχειμερινή και ανοιξιιάτικη καλλιέργεια. Κεφαλή συνεκτική, μεγάλη και κλειστή. Ποικιλία μεσοπρώιμη και ανθεκτική στην έκπτυξη ανθοφόρου βλαστού.

Italica. Κεφαλωτή και αυτή ποικιλία με φύλλα κατσαρά όπως η προηγούμενη, με κεφαλή μετρίου μεγέθους και χρώμα βαθυπράσινο. Είναι κατάλληλη για ανοιξιιάτικη και καλοκαιρινή καλλιέργεια.

Nerone. Είναι του ίδιου τύπου με τις δύο προηγούμενες ποικιλίες. Δίνει κεφαλή βάρους 700-800 gr και είναι κατάλληλη για καλοκαιρινές και φθινοπωρινές καλλιέργειες σε ήπια κλίματα.

Lollo rossa. Είναι φυλλώδες μαρούλι, πολύ κατσαρό που δεν σχηματίζει κεφαλή, αλλά οπωσδήποτε είναι συμπαγές. Τα φύλλα λεπτά και τρυφερά, έχουν στο άκρο τους καφεκόκκινο χρώμα. Καλλιεργείται από την άνοιξη μέχρι το φθινόπωρο.



Εικόνα 3. Ποικιλία τύπου Lollo rossa

(πηγή: <http://images.google.gr>)

2.1.5 Καλλιεργητικές φροντίδες

Μόλις μεγαλώσουν τα φυτά των μαρουλιών, αρχίζουμε τις καλλιεργητικές περιποιήσεις, ποτίσματα, σκαλίσματα, βοτανίσματα, αραιώματα, παραχώματα. Επιτρέπεται η συγκαλλιέργεια μαρουλιών με φρέσκα κρεμμυδάκια ή και άλλα λαχανικά. Σε μερικές ποικιλίες ανοίγουν τα φύλλα των μαρουλιών, οπότε τα συμμαζεύουμε και τα δένουμε στην κορυφή με ράφια για να μη σκληραίνουν αλλά και για να διατηρούν τρυφερό το φύλλωμά τους.

2.1.5.1 Σπορά και φύτευση

Η σπορά γίνεται συνήθως από τον Αύγουστο ή Σεπτέμβριο μέχρι το Φεβρουάριο για συγκομιδή κατά την περίοδο από τον Οκτώβριο μέχρι το Μάιο ή τον Ιούνιο. Εννοείται ότι είναι δυνατό να γίνονται σπορές κατά τη διάρκεια ολόκληρου του έτους, εφόσον χρησιμοποιούνται ποικιλίες κατάλληλες για τις διάφορες εποχές. Απαιτούνται 3–5 μήνες από τη σπορά μέχρι τη συγκομιδή, ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη ποικιλία και την εποχή της καλλιέργειας.

Ο χρησιμοποιούμενος σπόρος είναι φρόνιμο να μην έχει συγκομιστεί πρόσφατα, γιατί συνήθως λόγω λήθαργου δεν έχει καλή βλαστική ικανότητα. Το ποσοστό των σπόρων που πέφτουν σε λήθαργο μειώνεται αρκετά μετά 2-3 μήνες από την συγκομιδή τους.

Η σπορά στο σπορείο γίνεται αραιά, είτε στα πεταχτά είτε καλύτερα κατά γραμμές και καλύπτεται σε βάθος 0,5-1 cm. Εάν γίνει σε ξηρό έδαφος ακολουθεί πότισμα με ποτιστήρι. Για την απόκτηση 10.000 φυτών, όσων περίπου χρειάζονται για την κάλυψη ενός στρέμματος, απαιτείται έκταση σπορείου 20 τουλάχιστον m² και σπόρος ποσότητας 20-30 gr.

Μετά το φύτευμα που ακολουθεί σε 5-10 ημέρες από της σποράς αναλόγως των συνθηκών, συνεχίζονται τα ποτίσματα και γίνονται

βοτανίσματα και αραιώμα των φυτωρίων, όπου αυτά εμφανίστηκαν πυκνά. Η εφαρμογή ψεκασμών για την πρόληψη ασθενειών πιθανόν επίσης να είναι αναγκαία εάν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξή τους.

Στην απευθείας σπορά στον αγρό χρησιμοποιούνται πολύ μεγαλύτερες ποσότητες σπόρου, 300-400 gr ανά στρέμμα, μετά δε το φύτευμα γίνεται αραιώμα ώστε να διατηρηθούν φυτά στις επιθυμητές αποστάσεις.

Η μεταφύτευση των φυτών από το σπορείο στη μόνιμη θέση τους γίνεται 1-1,5 μετά την σπορά, όταν αυτά έχουν αποκτήσει 4-6 φύλλα. Φυτεύονται σε επίπεδο έδαφος εάν θα εφαρμόζεται πότισμα με τεχνητή βροχή ή σε τραπέζια (σαμάρια). Ο τελευταίος τρόπος προτιμάται όταν η καλλιέργεια είναι χειμερινή ή όταν η αποστράγγιση του εδάφους δεν είναι ικανοποιητική. Οι αποστάσεις φύτευσης είναι γενικώς 30-50 cm μεταξύ των γραμμών και 25-30 cm επί των γραμμών. Με αυτές τις αποστάσεις ο αριθμός των φυτών μπορεί να κυμαίνεται περίπου από 6.500 έως 13.000 κατά στρέμμα.

2.1.5.2 Λίπανση

Οι ανάγκες της καλλιέργειας για μια καλή απόδοση μπορούν να καλυφθούν με την προσθήκη στο έδαφος των εξής συνολικά λιπαντικών στοιχείων και λιπασμάτων: κοπριά χωνευμένη 2 - 4t/στρ., N 10 -15kg/στρ., P₂O₅ 10 - 15kg/στρ. και K₂O 15 -20 Kg/στρ.

Η κοπριά ενσωματώνεται πριν την φύτευση με μια άροση βάθους 30 – 40cm. Πριν από τη φύτευση ή την απευθείας στον αγρό σπορά παραχώνονται επίσης στο έδαφος τα φωσφοροκαλιούχα λιπάσματα, ενώ το αζωτούχο προστίθεται με επιφανειακές λιπάνσεις κατά περιόδους 20 περίπου ημερών. Τις επιφανειακές αυτές λιπάνσεις ακολουθεί πότισμα.

2.1.5.3 Θερμοκρασία και Φωτισμός

Η άριστη θερμοκρασία για την βλάστηση των σπόρων είναι μεταξύ 15 – 21°C. Το μαρούλι γενικά είναι φυτό ψυχρής εποχής και μπορεί να αντέξει και σε χαμηλές θερμοκρασίες, δηλαδή έως -5°C. Ο φωτισμός είναι πολύ σημαντικός παράγοντας για τη βλάστηση των σπόρων καθώς και για την περαιτέρω ανάπτυξη του. Στην Ελλάδα, ο φωτισμός δεν αποτελεί περιοριστικό παράγοντα ανάπτυξης του φυτού λόγω της μεγάλης ηλιοφάνειας σε όλη τη διάρκεια του χρόνου, για αυτό και δεν χρειάζεται επιπλέον τεχνητός φωτισμός.

2.1.5.4 Συγκομιδή – Αποδόσεις – Διατήρηση

Γενικά η συγκομιδή σε μια καλλιέργεια είναι τμηματική. Στον τύπο «ρωμάνα» γίνεται όταν έχει σχηματιστεί καλά η κεφαλή, όταν δηλαδή έχει κλείσει. Συνήθως τα μαρούλια κόβονται από την βάση τους, όχι όμως σπάνια φέρονται στην αγορά με την ρίζα τους για καλύτερη διατήρηση. Τα «κεφαλωτά» μαρούλια τα οποία είναι κατάλληλα και για εξαγωγή, συγκομίζονται όταν έχει σχηματιστεί πλήρως η κεφαλή με κοπή λίγο πιο κάτω από την επιφάνεια του εδάφους και κατά τις ώρες που δεν έχουν πάνω τους υγρασία.

Μετά την συγκομιδή αφαιρούνται τα κατεστραμμένα εξωτερικά φύλλα και τα φυτά συσκευάζονται ή και πλένονται προηγουμένως για να αποσταλούν στην αγορά.

Η εποχή συγκομιδής εξαρτάται από την εποχή σποράς και από την ποικιλία. Γενικώς από την σπορά μέχρι τη συγκομιδή περνούν 3-5 μήνες ή και περισσότερο στις χειμερινές καλλιέργειες και εφόσον μάλιστα πρόκειται για όψιμες ποικιλίες όπως συνήθως είναι οι ρωμάνες.

Οι αποδόσεις ποικίλλουν από 2 έως 2,5 tn ανά στρέμμα για τα κεφαλωτά μαρούλια και από 2,5 έως 3,5 tn συνήθως για τις ρωμάνες.

Η διατήρησή τους σε συνθήκες δωματίου είναι πολύ σύντομη. Σε συνθήκες ψυγείου μπορούν να διατηρηθούν για 20 περίπου ημέρες με θερμοκρασία 0°C και σχετική υγρασία 90-95%.

2.1.6 Ασθένειες και Ζωικά παράσιτα

Μεταξύ των κυριότερων ασθενειών και ζωικών παρασίτων που προσβάλλουν το μαρούλι είναι:

Τήξη σπορίων. Οφείλεται σε διάφορους μύκητες (*Pythium*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*), οι οποίοι προσβάλλουν κυρίως τα φυτά των σπορειών στο λαιμό με αποτέλεσμα την καταστροφή τους. Για την αποφυγή της προσβολής συνιστάται η χρησιμοποίηση νέου σπορείου ή απολυμασμένου, η χρήση υγιούς σπόρου, η αποφυγή πολλής υγρασίας και η αραιή σπορά. Η χρησιμοποίηση χαλκούχων ή άλλων μυκητοκτόνων είναι πολλές φορές αναγκαία.

Περονόσπορος. Αίτιο της ασθένειας είναι ο μύκητας *Bremia lactucae*, ο οποίος προκαλεί ύστερα από βροχή κυρίως, χλωρωτικές κηλίδες στα φύλλα. Στην κάτω επιφάνεια των κηλίδων εμφανίζεται λευκό επίχρισμα από τα κονίδια του μύκητα. Εναντίον του συνιστώνται ψεκασμοί με τα κατάλληλα μυκητοκτόνα.

Ωίδιο. Η ασθένεια προκαλείται από το μύκητα *Erysiphe cichoracearum*, ο οποίος ευνοείται από υψηλή υγρασία και θερμοκρασία. Συνιστάται η χρησιμοποίηση ωιδιοκτόνων φαρμάκων μόλις εμφανιστούν τα πρώτα συμπτώματα, που είναι η κηλίδωση των φύλλων και το χαρακτηριστικό λευκό επάνθισμα ωιδίων.

Ίώσεις. Ο ιός του μωσαϊκού του μαρουλιού μπορεί να προκαλέσει σοβαρές ζημιές. Μεταδίδεται με το σπόρο και τις αφίδες. Τα συμπτώματα της ίωσης είναι μωσαϊκό πράσινου και κίτρινου χρώματος στα φύλλα και καθυστέρηση στην ανάπτυξη των φυτών. Αντιμετωπίζεται με την χρησιμοποίηση υγιούς σπόρου (από υγιή φυτά), με την απομάκρυνση από τον αγρό των ασθενών φυτών κατά το δυνατό νωρίς και με έγκαιρη καταπολέμηση των αφίδων.



Από τα ζωικά παράσιτα, εκτός από τις αφίδες οι οποίες προκαλούν κυρίως ζημιές μεταδίδοντας τους ιούς και καταπολεμούνται με ψεκασμούς των κατάλληλων εντομοκτόνων, μπορούν επίσης να προκαλέσουν ζημιές μερικά έντομα του εδάφους (*Agrotis, Gryllotalpa*). Τα τελευταία αυτά καταπολεμούνται με διασπορά δολωμάτων ή με διασπορά και κάλυψη στο έδαφος εντομοκτόνων που ο γεωπόνος της περιοχής θα συστήσει. Στις καλλιέργειες των θερμοκηπίων προκαλεί ζημιές και ο αλευρώδης (*Trialeurodes vaporariorum*), μικρό και λευκό ημίπτερο που φαίνεται να πετά μόλις ταραξουμε το φύλλωμα των φυτών και που μζά τους χυμούς των φύλλων. Καταπολεμείται με ειδικά εντομοκτόνα, με παγίδες και με ειδικά αρπακτικά έντομα (βιολογική καταπολέμηση). Τα σαλιγκάρια προκαλούν κάποιες φορές ζημιές τρώγοντας τα φύλλα των φυτών και καταπολεμούνται εύκολα με δολώματα μεταλδεύδης.



Εικόνα 4. *Trialeurodes vaporariorum*

(πηγή: www.bayercropscience.gr)

2.1.7 Θρεπτική αξία

Το φύλλο του μαρουλιού είναι πιο θρεπτικό από ότι το κεφάλι του κυρίως εξαιτίας των υψηλών ποσοστών βιταμίνης Α και βιταμίνης C. Το μαρούλι είναι επίσης μία καλή πηγή Ca και P.

Επίσης, υψηλή είναι η περιεκτικότητα του μαρουλιού και σε φυτικές ίνες. Υπολογίζεται πως σε μια μερίδα μαρουλιού περιέχονται πάνω από 2,1 gr

φυτικών ινών. Οι φυτικές ίνες προσδίδουν όγκο στο υπόλειμμα τροφής αυξάνοντας τον όγκο και το βάρος των κοπράνων από 40% έως και 100%. Μέσω της δράσης αυτής, βοηθείται η λειτουργία του πεπτικού σωλήνα και μειώνεται ο χρόνος διέλευσης τυχόν «βλαβερών» ουσιών.

Το μαρούλι περιέχει σημαντικές ποσότητες καροτενοειδών (α- και β-καροτένιο, λουτεΐνη και ζεαξανθίνη). Επιδημιολογικές έρευνες σε όλο τον κόσμο συσχέτισαν την υψηλή διαιτητική πρόσληψη αυτών των καροτενοειδών με μειωμένα επεισόδια καρκίνων του πνεύμονα, μαστού, τραχήλου, δέρματος και στομάχου.

Πίνακας 1. Θρεπτική αξία του μαρουλιού

Θρεπτική σύσταση /100gr νωπού βάρους	Μαρούλι
Ενέργεια σε Kcal	15
Πρωτεΐνες σε gr	1,2
Συνολικά λιπαρά σε gr	0,2
Ασβέστιο σε mg	38
Σίδηρος σε mg	1,1
Μαγνήσιο σε mg	12
Φώσφορος σε mg	31
Κάλιο σε mg	247
Νάτριο σε mg	8
Ψευδάργυρος σε mg	0,23
Χαλκός σε mg	0,028
Βιταμίνη Α σε I.U	5807
Θειαμίνη (B1) σε mg	0,07
Ριβοφλαμίνη (B2) σε mg	0,07

Βιταμίνη C σε mg	24
Φυτικές ίνες σε gr	2,1

(πηγή: World Vegetables, 1983)

2.2 Το άζωτο και το πρόβλημα των νιτρικών

2.2.1 Απορρόφηση και φυσιολογικός ρόλος του αζώτου

Το άζωτο συνιστά βασικό συστατικό αρκετών ενώσεων των ιστών των φυτών. Τέτοιες ενώσεις είναι τα αμινοξέα, τα νουκλεοξέα, οι πρωτεΐνες και η χλωροφύλλη. Συνεπώς το άζωτο είναι το θεμελιώδες στοιχείο για την ανάπτυξη, την καρποφορία και την αναπαραγωγή του φυτού και δεν πρέπει σε καμιά περίπτωση να υπάρχει έλλειψή του ή μειωμένη περιεκτικότητά του στο έδαφος. Το μοριακό άζωτο είναι στοιχείο αδρανές, άοσμο, άγευστο, σε αέρια κατάσταση και ως τέτοιο δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί από το φυτό. Το άζωτο της ατμόσφαιρας δεσμεύεται στο έδαφος από κατηγορία μικροοργανισμών που καλούνται αζωτοβακτήρια, τα οποία αναπτύσσονται στις ρίζες των ψυχανθών. Τα φυτά απορροφούν το N από το έδαφος με τα ριζικά τριχίδια σε μορφή ιόντων. Τα νιτρικά ιόντα (NO^-) προσλαμβάνονται γενικώς με μεγαλύτερη ευκολία από ότι τα αμμωνιακά ιόντα (NH_4^+). Στις χαμηλές όμως θερμοκρασίες και στα αρχικά βλαστικά στάδια τα λαχανικά απορροφούν το ίδιο καλά ή και λίγο καλύτερα το αμμωνιακό άζωτο, για αυτό και σε αυτές τις συνθήκες χρησιμοποιούνται τα αμμωνιακά λιπάσματα. Επιπλέον τα νιτρικά ιόντα, ως αρνητικά φορτισμένα σωματίδια, δε συγκρατούνται από την αρνητικά επίσης φορτισμένη εξωτερική επιφάνεια των σωματιδίων της αργίλου και για το λόγο αυτό εκπλένονται εύκολα προς τα κατώτερα στρώματα του εδάφους. Για το λόγο αυτό και χρησιμοποιούνται στις επιφανειακές λιπάνσεις και μάλιστα σε περισσότερες από μία δόσεις. Αντίθετα, τα αμμωνιακά κατιόντα μπορούν να συγκρατηθούν από τα σωματίδια της αργίλου, εκπλένονται δυσκολότερα και άρα παραμένουν για περισσότερο χρόνο διαθέσιμα στα φυτά. Έτσι, τα αμμωνιακά λιπάσματα συνιστάται να χρησιμοποιούνται στις λιπάνσεις κατά την περίοδο των βροχών του χειμώνα και νωρίς την άνοιξη. Βραδείας αφομοίωσης από τα φυτά και δύσκολα εκπλυνόμενο είναι το αζωτούχο λίπασμα ουρία το οποίο χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις που θέλουμε να επιβραδύνουμε την ανάπτυξη μιας λαχανοκομικής καλλιέργειας.

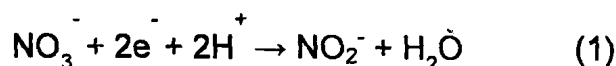


2.2.2 Η αναγωγή των νιτρικών

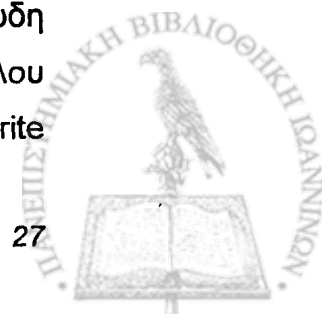
Για να αφομοιωθούν τα νιτρικά ιόντα από τα φυτικά κύτταρα και να μετασχηματιστούν σε οργανικό άζωτο θα πρέπει αρχικά να μετατραπούν σε αμμωνιακό άζωτο. Η διαδικασία αυτή από χημική άποψη είναι μία αναγωγή η οποία για να πραγματοποιηθεί απαιτεί κατανάλωση μεταβολικής ενέργειας. Προφανώς βέβαια, το ανόργανο άζωτο που απορροφάται από τα φυτά σε αμμωνιακή μορφή δεν χρειάζεται να υποστεί τέτοια μετατροπή αλλά είναι ήδη έτοιμο να μετατραπεί σε οργανικό άζωτο.

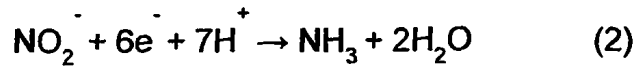
Η αναγωγή του αζώτου μέσα στα κύτταρα από NO_3^- σε NH αντιστοιχεί σε μεταβολή του αριθμού οξειδώσεως του αζώτου από (+5) που έχει στα νιτρικά σε (-3) που έχει στην αμμωνία. Πρόκειται δηλαδή για μια μεταβολή της τάξεως των 8 μονάδων η οποία αντιστοιχεί σε προσθήκη 8 ηλεκτρονίων στο νιτρικό ιόν. Η αναγωγή αυτή απαιτεί ενέργεια ίση περίπου με 120 kcal/mol. Πρόκειται δηλαδή για μία ενδεργονική βιοχημική αντίδραση με υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο η οποία δεν είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί απευθείας. Άλλωστε, όλοι οι δότες ηλεκτρονίων (συνένζυμα ή προσθετικές ομάδες) που υπεισέρχονται σε βιοχημικές αντιδράσεις είναι φορείς μόνο ενός ή δύο το πολύ ηλεκτρονίων. Επομένως, η παραπάνω αντίδραση δεν μπορεί να συντελείται απευθείας αλλά περιλαμβάνει περισσότερες επιμέρους φάσεις, οπότε είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν τα ηλεκτρόνια όχι ενός αλλά περισσότερων συνεχόμενων ή άλλων συστημάτων μεταφοράς ηλεκτρονίων.

Το πρώτο στάδιο της αναγωγής των νιτρικών σε αμμωνία μέσα στο φυτό συνίσταται στην αναγωγή τους σε νιτρώδη σύμφωνα με την αντίδραση



Η παραπάνω αντίδραση η οποία απαιτεί χημική ενέργεια ίση με 34,2 kcal/mol καταλύεται από ένα ενζυμικό σύστημα το οποίο ονομάζεται ρεδουκτάση των νιτρικών (nitrate reductase). Αμέσως μετά τον σχηματισμό τους, τα νιτρώδη ιόντα που παράγονται από την (1) ανάγονται σε αμμωνία μέσω ενός άλλου ενζυμικού συστήματος το οποίο ονομάζεται ρεδουκτάση των νιτρωδών (nitrite reductase) σύμφωνα με την αντίδραση:





Η αναγωγή των νιτρικών σε αμμωνιακά μπορεί να λαμβάνει χώρα είτε στις ρίζες του φυτού είτε στα φύλλα. Στην πρώτη περίπτωση, το οργανικό άζωτο που παράγεται στις ρίζες μεταφέρεται σε μορφή αμινοξέων, αμιδίων και αμινών προς το υπέργειο τμήμα του φυτού. Στην δεύτερη περίπτωση, το οργανικό άζωτο από τα φύλλα μεταφέρεται και ανακατανέμεται και στα υπόλοιπα όργανα του φυτού.

Η ρεδοκτάση των νιτρικών είναι ένα σύνθετο ένζυμο το οποίο περιλαμβάνει αρκετές προσθετικές ομάδες και έχει μοριακό βάρος περίπου 200.000 στα ανώτερα φυτά και 500.000 στα κατώτερα φυτά. Το μόριο του ενζύμου περιλαμβάνει πολλές πολυπεπτιδικές αλυσίδες, των οποίων η σύσταση καθορίζεται από αρκετούς γόνους. Η ρεδοκτάση των νιτρικών συνίσταται από 8 διαδοχικά τμήματα. Το ένζυμο ξεκινάει από ένα τμήμα με προσθετική ομάδα το NADH ή το NAD(P)H, συνεχίζει με τμήματα τα οποία κατά σειρά φέρουν ως προσθετικές ομάδες ένα FAD, ένα κυτόχρωμα b (σιδηροαίμη) και μία μολυβδαινοπτερίνη (Mo-MPT) και απολήγει σε ένα όξινο τμήμα. Τα υπόλοιπα 3 ενδιάμεσα τμήματα του ενζύμου φαίνεται μάλλον να χρησιμεύουν στην λειτουργική σύνδεση των παραπάνω περιοχών.

2.2.3 Η αναγωγή των νιτρικών

Η αναγωγή των νιτρικών σε αμμωνία αμέσως μετά τον σχηματισμό τους οφείλεται στο γεγονός ότι η ρεδοκτάση των νιτρικών βρίσκεται σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες μέσα στα φυτικά κύτταρα σε σύγκριση με την ρεδοκτάση των νιτρικών.

Όπως φαίνεται από την αντίδραση (2) της παραγράφου 2.2.2, για να αναχθεί ένα ιόν NO_2^- σε αμμωνία απαιτείται η μεταφορά 6 ηλεκτρονίων σε αυτό. Η μεταβολή της ελεύθερης ενθαλπίας της αντίδρασης αυτής ανέρχεται σε 85 kcal/mol περίπου. Επειδή τα γνωστά συνένζυμα και προσθετικές ομάδες που μεταφέρουν ηλεκτρόνια στις βιοχημικές αντιδράσεις είναι φορείς

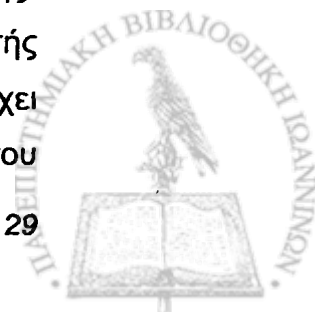


ενός ή δύο ηλεκτρονίων το πολύ, αρχικά πιστευόταν ότι η αναγωγή των νιτρωδών συντελείται σε τρία επιμέρους στάδια. Κάτι τέτοιο όμως σημαίνει ότι θα πρέπει να παράγονται κάποια ενδιάμεσα προϊόντα του μεταβολισμού. Μέχρι σήμερα όμως, τέτοια ενδιάμεσα προϊόντα του μεταβολισμού δεν έχουν ανιχνευθεί. Αντίθετα, τα μέχρι σήμερα ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι η ρεδουκτάση των νιτρωδών είναι ένα σύνθετο ένζυμο το οποίο περιλαμβάνει περισσότερες από μία προσθετικές ομάδες και ανάγει τα νιτρώδη σε αμμωνία χωρίς την απελευθέρωση ενδιάμεσων προϊόντων. Έχει αποδειχθεί ότι ο τελικός δότης των ηλεκτρονίων στα νιτρώδη ιόντα είναι μία ειδική σιδηροπρωτεΐνη, η σιροαΐμη, η οποία όμως είναι φορέας ενός μόνο ηλεκτρονίου. Στα φύλλα η σιροαΐμη λαμβάνει το ηλεκτρόνιο από ανηγμένη φερρεδοξίνη η οποία ενεργοποιείται μέσω οξειδωσης NAD(P)H.

Σε αντίθεση με την ρεδουκτάση των νιτρικών η οποία βρίσκεται μέσα στο κυτόπλασμα, στα φύλλα η ρεδουκτάση των νιτρωδών εδράζει στους χλωροπλάστες ενώ στις ρίζες σε προπλάστιάδια. Το ένζυμο έχει σχετικά χαμηλό μοριακό βάρος (περίπου 60.000-70.000), χρώμα ερυθροφαίο και περιέχει 2 άτομα σιδήρου ανά μόριο. Η προσθετική ομάδα της σιροαΐμης θεωρείται ότι προσδίδει στο ένζυμο την μοναδική του ικανότητα να λειτουργεί ως φορέας μεταφοράς 6 ηλεκτρονίων καθιστώντας έτσι εφικτή την αναγωγή των νιτρωδών σε αμμωνία. Πρέπει όμως να τονισθεί ξανά ότι ο μηχανισμός της μεταφοράς ηλεκτρονίων στα νιτρώδη κατά την αναγωγή τους σε αμμωνία μέσω της ρεδουκτάσης των νιτρωδών δεν είναι ακόμη πλήρως γνωστός.

2.2.4 Η αφομοίωση της αμμωνίας

Σύμφωνα με τα τελευταία ερευνητικά δεδομένα, η μετατροπή της αμμωνίας σε οργανικό άζωτο επιτυγχάνεται μέσω ενσωμάτωσής της στο αμινοξύ γλουταμινικό οξύ, οπότε παράγεται το αμίδιο γλουταμίνη. Η παραπάνω αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο συνθετάση της γλουταμίνης. Η αντίδραση αυτή θεωρείται ότι είναι η μοναδική μεταβολική οδός μετατροπής του αμμωνιακού αζώτου σε οργανικό άζωτο. Ως εκ τούτου θεωρείται ότι έχει ρόλο-κλειδί στην αφομοίωση όλων των μορφών ανοργάνου αζώτου που



εισέρχονται μέσα στο φυτικό κύτταρο (νιτρικά, αμμωνιακά, ατμοσφαιρικό άζωτο που δεσμεύεται από τα αζωτοβακτήρια, κ.λπ.).

Στη συνέχεια, η γλουταμίνη αντιδρά με το 2-κετογλουταρικό οξύ με την επίδραση του ενζύμου συνθετάση του γλουταμινικού οξέως (GOGAT), οπότε παράγονται δύο μόρια γλουταμινικού οξέως. Από αυτά, το ένα χρησιμοποιείται ξανά για την βιοσύνθεση γλουταμίνης στον κύκλο της αφομοίωσης της αμμωνίας ενώ το δεύτερο εγκαταλείπει τον κύκλο και χρησιμοποιείται σε τρασαμινώσεις για την βιοσύνθεση και των υπολοίπων αμινοξέων που είναι απαραίτητα για την πρωτεϊνοσύνθεση.

2.2.5 Μορφές και κατανομή του αζώτου στο φυτό

Στα φυτά οι πρωτεΐνες αποτελούν τα πλουσιότερα σε άζωτο συστατικά, αφού συγκεντρώνουν περίπου το 80-85 % του συνολικού αζώτου. Το πρωτεϊνικό κλάσμα του N διακρίνεται περαιτέρω σε πρωτεΐνες ενζυμικής φύσεως, αποθησαυριστικές και δομικές πρωτεΐνες. Το N των νουκλεϊκών οξέων αποτελεί το 10 % του συνολικού, ενώ των διαλυτών αζωτούχων ενώσεων αντιπροσωπεύει το υπόλοιπο 5 %. Χημική ανάλυση της συγκέντρωσης του αζώτου σε ξηρά ουσία δίνει ένα εύρος συγκεντρώσεων της τάξης των $5-50 \text{ mg g}^{-1}$, με το μεγαλύτερο κλάσμα του να βρίσκεται σε οργανική μορφή και ένα μικρότερο σε νιτρική.

Κατά κανόνα, τα φύλλα εμφανίζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αζώτου από το βλαστό, οι οποίες μάλιστα γίνονται μέγιστες όταν αυτά αποκτήσουν το πλήρες μέγεθός τους, όπου το πλείστον του N προέρχεται από τους αποθησαυριστικούς ιστούς. Τα $\frac{3}{4}$ των αζωτούχων ενώσεων στα φύλλα σχετίζονται με τη φωτοσύνθεση. Καθώς το φύλλο προχωρά προς το γηρασμό, η συγκέντρωση του N μειώνεται, αφενός γιατί αυξάνεται το % ξηρό βάρος, αφετέρου γιατί μέρος του N (αμινοξέα από υδρόλυση πρωτεϊνών) μετακινείται για χρησιμοποίηση σε άλλους ιστούς.

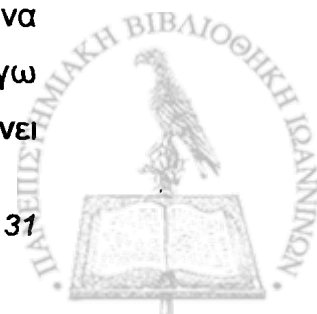
Χαρακτηριστικό για τα περισσότερα φυτά είναι ότι η συγκέντρωση του N μειώνεται με την αύξηση της καλλιέργειας. Οι Tei et al. (2002) εξηγούν την



προοδευτική μείωση του % N στην ξηρά ουσία με βάση την έννοια της διαμερισματοποίησης στο φυτό. Η περιεκτικότητα του N στο φυτό μεταβάλλεται σύμφωνα με την αναλογία δύο διαμερισμάτων του φυτού: το μεταβολικό, το οποίο θεωρείται φυσιολογικά ενεργό για αύξηση επειδή συνδέεται με μεταβολικές διεργασίες όπως η φωτοσύνθεση και έχει υψηλές συγκεντρώσεις N, και το δομικό, το οποίο αποτελείται από δομικούς και αποθηκευτικούς ιστούς, με χαμηλή περιεκτικότητα σε N. Έτσι, καθώς το φυτό μεγαλώνει, η συγκέντρωση του N στην ξηρά ουσία μειώνεται, λόγω μιας αύξησης της αναλογίας των δομικών και αποθηκευτικών ιστών, που είναι κυρίως αποτέλεσμα μιας αύξησης στο σχετικό ποσό ξηράς ουσίας στους βλαστούς.

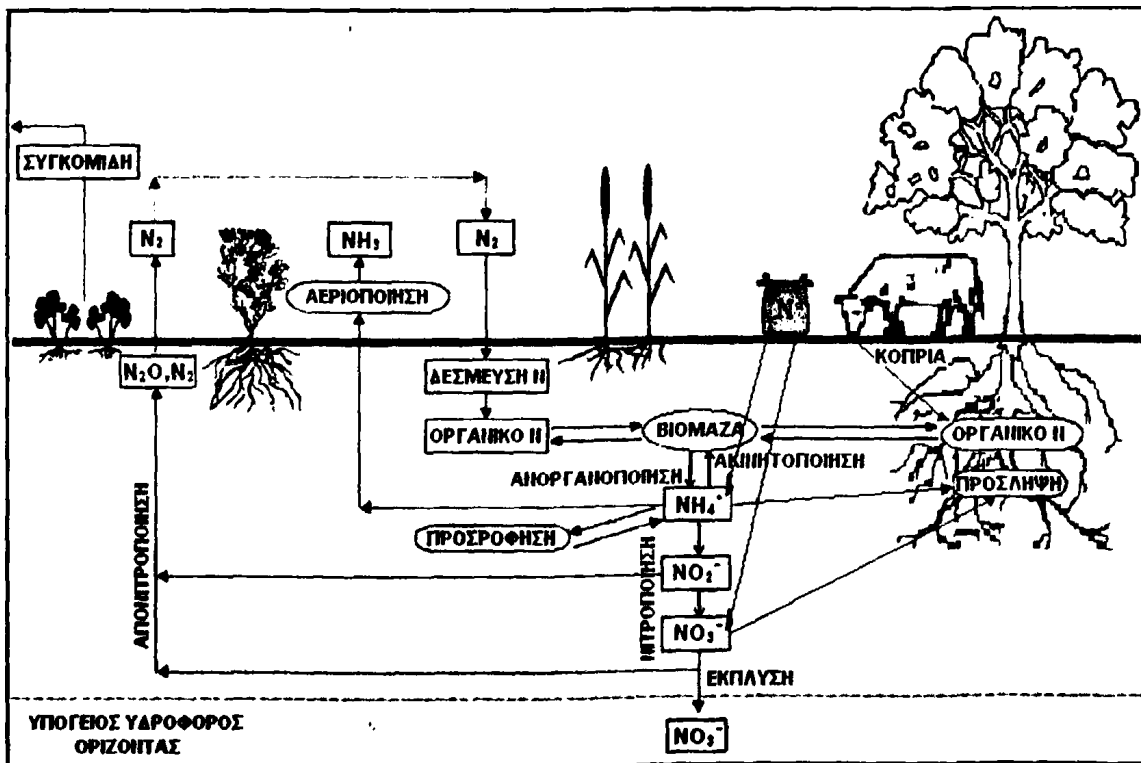
Ένα κοινό χαρακτηριστικό της κόμης των φυτών είναι η καθ' ύψος κατανομή του φυλλικού αζώτου, με τα ανώτερα στρώματα να εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις αζώτου, οι οποίες μειώνονται προς τα κατώτερα σκιαζόμενα στρώματα της κόμης. Η ανομοιόμορφη αυτή κατανομή του N δικαιολογείται πρωτίστως από τη σχέση του με τη φωτοσύνθεση. Από την κορυφή προς το κάτω μέρος της κόμης, τα φύλλα χρειάζονται προοδευτικά λιγότερο N για να μεγιστοποιήσουν την αφομοίωση του CO₂, λόγω της εξασθένησης της ακτινοβολίας μέσα στην κόμη. Εφόσον λοιπόν, τα επίπεδα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας είναι μεγαλύτερα στα ψηλότερα φύλλα, φαίνεται να είναι προς όφελος του φυτού να κατανέμει μεγαλύτερες ποσότητες N σε αυτά. Έτσι, καθώς η κόμη αναπτύσσεται, το N μετακινείται από τα γηραιότερα και τα όλο και περισσότερα σκιαζόμενα κάτω φύλλα, στα νεότερα της κορυφής. Έχει δείχτει ότι η ανομοιόμορφη κατανομή του N μεταξύ των φύλλων της κόμης αυξάνει την ημερήσια αφομοίωση CO₂ κατά 20-40 %, σε σχέση με μία θεωρητική ομοιόμορφη κατανομή.

Άλλος ένας παράγοντας που συνεισφέρει στην ανομοιόμορφη κατανομή του N καθ' ύψος του φυτού είναι η διαφορετική ηλικία των φύλλων της κόμης (με αύξηση της ηλικίας του φυτού η συγκέντρωση του αζώτου μειώνεται), όπως και το γεγονός ότι τα διάφορα φύλλα του φυτού μπορεί να αναπτυχθούν κάτω από διαφορετικές συνθήκες παροχής N λόγω διακυμάνσεων του εδαφικού αζώτου, ενώ η παραγωγή τους παραμένει συνεχής.



2.2.6 Ο κύκλος του αζώτου στο αγροτικό οικοσύστημα

Οι ροές του N στο αγροτικό οικοσύστημα παρουσιάζονται συνοπτικά στο σχήμα 1. Ο κύκλος του N ξεκινά από τα αποθέματα της ατμόσφαιρας: η εισροή και προσθήκη του N στο έδαφος λαμβάνει χώρα μέσω της βιολογικής και βιομηχανικής δέσμευσης (λιπάσματα) του ατμοσφαιρικού N_2 και μέσω των κατακρημνισμάτων. Παράλληλα, το έδαφος εμπλουτίζεται με N και από την αποσύνθεση των φυτικών και ζωικών υπολειμμάτων. Η απομάκρυνση του N από το έδαφος πραγματοποιείται με τη συγκομιδή των προϊόντων της καλλιέργειας, την επιστροφή του στην ατμόσφαιρα ως αέριο (NH_3 , N_2O , N_2 , NO_x) και την έκπλυση.

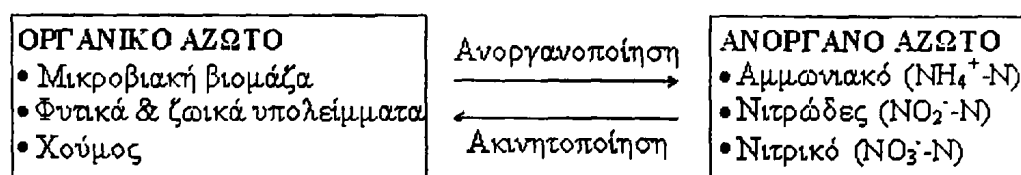


Σχήμα 1: Κύκλος N σε αγρό-οικοσύστημα (Τροποποιημένο από Ridley et al., 2004).

2.2.6.1 Ανοργανοποίηση – Ακίνητοποίηση

Κεντρικό στοιχείο στις ροές και τη διαθεσιμότητα των ευκίνητων μορφών αζώτου στο έδαφος είναι η ισορροπία μεταξύ των δύο βιοχημικής φύσεως διεργασιών, της ανοργανοποίησης και ακίνητοποίησης. Οι διεργασίες αυτές συνδέονται με τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών που αποτελούν την ετεροτροφική βιομάζα του εδάφους, και λαμβάνουν χώρα ταυτοχρόνως.

Η ανοργανοποίηση αναφέρεται στην απελευθέρωση NH_4^+ ή NH_3 μέσω μίας σειράς ενζυματικών αντιδράσεων οξειδωτικής διάσπασης της οργανικής ουσίας του εδάφους (αμινοποίηση, αμμωνιοποίηση) από έναν μεγάλο αριθμό μη εξειδικευμένων μικροοργανισμών, ενώ η ακίνητοποίηση περιλαμβάνει την αφομοίωση και ενσωμάτωση των ανόργανων μορφών N σε οργανικά συστατικά της ετεροτροφικής βιομάζας. Είναι επόμενο, λοιπόν, ότι το ποσό του διαθέσιμου ανόργανου N (συνήθως ως NH_4^+ ή NO_3^-) για τα φυτά εξαρτάται από τη διαφορά μεταξύ των ρυθμών των δύο αυτών αντίθετων διεργασιών.

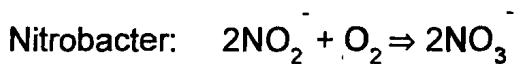
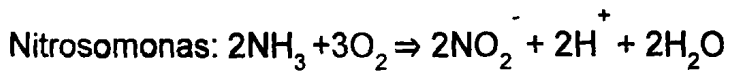


Σχήμα 2: Σχηματική παράσταση της δυναμικής ισορροπίας μεταξύ ανοργανοποίησης και ακίνητοποίησης του εδαφικού N (Αναλογίδης, 2000).

Ο ρυθμός της ανοργανοποίησης εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τη φύση του οργανικού υλικού που αποσυντίθεται (πήλικο C/N) και από τη σύσταση και τις ανάγκες της εδαφικής πανίδας σε N. Σε γενικές γραμμές, όταν ο λόγος C/N του υποστρώματος είναι μεγαλύτερος από αυτόν των μικροοργανισμών, οι μικροοργανισμοί δε θα ελευθερώσουν ανόργανο N κατά την αποσύνθεση, αντίθετα θα συμπληρώσουν τις απαιτήσεις τους σε N από το ανόργανο N του εδάφους (ακίνητοποίηση), μειώνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα του στοιχείου για τα φυτά.

2.2.6.2 Νιτροποίηση

Η νιτροποίηση του αμμωνιακού αζώτου οφείλεται στην δράση δύο ειδών βακτηρίων τα οποία μέσω της οξειδωσης των αμμωνιακών ιόντων σε νιτρώδη αρχικά και στη συνέχεια σε νιτρικά καλύπτουν τις ανάγκες τους σε ενέργεια. Τα βακτήρια αυτά δεν είναι αυτότροφα γιατί δεν διαθέτουν χλωροφύλλη και επομένως δεν μπορούν να δεσμεύσουν απευθείας την φωτεινή ενέργεια. Οι αντιδράσεις οξειδωσης του αμμωνιακού σε νιτρικό άζωτο είναι οι εξής:



2.2.6.3 Απώλειες N στην ατμόσφαιρα

Μέρος του νιτρικού αζώτου που παράγεται από τη νιτροποίηση ή προστίθεται στο έδαφος με τα ανόργανα λιπάσματα χάνεται στην ατμόσφαιρα μέσω της απονιτροποίησης, δηλαδή της αναγωγής του NO_3^- -N μέσω χημικών ή βιολογικών μηχανισμών, υπό συνθήκες περιορισμένης διαθεσιμότητας O_2 . Η χημική απονιτροποίηση εντοπίζεται σε ορισμένα όξινα εδάφη ($\text{pH} < 5.5$) και είναι περιορισμένης σημασίας για τα γεωργικά εδάφη, όπου κυριαρχεί η βιολογική απονιτροποίηση.

Η βιολογική απονιτροποίηση πραγματοποιείται με τη δράση χημοετερότροφων βακτηρίων, με τελικά προϊόντα τα αέρια N_2O και N_2 , τα οποία διαφεύγουν στην ατμόσφαιρα. Εκτιμάται ότι οι απώλειες αζώτου λόγω απονιτροποίησης μπορούν να κυμαίνονται από 2,5-50 % του προστιθέμενου N, ανάλογα με τις συνθήκες και την καλλιέργεια. Απώλειες αέριων μορφών αζώτου πραγματοποιούνται και κατά την διάρκεια της νιτροποίησης.

Μία εξίσου σημαντική, ίσως και η κυριότερη, οδός διαφυγής του N προς την ατμόσφαιρα είναι η εξαέρωση της αμμωνίας, η οποία λαμβάνει μεγάλη έκταση σε αλκαλικά ή ουδέτερα εδάφη, κατά την αποσύνθεση των οργανικών υπολειμμάτων κοντά στην επιφάνεια του εδάφους ή μετά την επιφανειακή εφαρμογή (ή ρηχή ενσωμάτωση) αμμωνιακών λιπασμάτων, ουρίας ή κοπριάς. Το ποσοστό του N που χάνεται από τα λιπάσματα λόγω της εξαέρωσης της NH_3 μπορεί να φτάσει έως και >50 %, ανάλογα τον τύπο του λιπάσματος, τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τις ιδιότητες του εδάφους.

2.2.7 Επιπτώσεις από τη χρήση αζωτούχων λιπασμάτων

Μεγάλο μέρος του διαθέσιμου N απομακρύνεται από τα εδάφη τόσο κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, μέσω της πρόσληψης από τα φυτά και της συγκομιδής των προϊόντων της καλλιέργειας, όσο και μετά, μέσω της ανοργανοποίησης του αζώτου, που μπορεί να οδηγήσει σε έκπλυση ή απονιτροποίηση. Οι διεργασίες αυτές έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της γονιμότητας των εδαφών και κατά συνέπεια της παραγωγικότητας των καλλιεργειών, εφόσον οι φυσικές εισροές N (βιολογική δέσμευση, ατμοσφαιρικές αποθέσεις) δεν επαρκούν για να καλύψουν τις απαιτήσεις των καλλιεργούμενων φυτών.

Στα συμβατικά εντατικά καλλιεργητικά συστήματα, η κύρια μέθοδος αποκατάστασης του N στα εδάφη είναι η προσθήκη ανόργανων χημικών λιπασμάτων. Στην Ε.Ε., η κύρια πηγή N στα καλλιεργούμενα εδάφη είναι τα ανόργανα λιπάσματα (υπό μορφή κυρίως νιτρικής αμμωνίας), αν και η κοπριά ζώων εξακολουθεί να παίζει σημαντικό ρόλο σε ορισμένες χώρες με αναπτυγμένη κτηνοτροφία, αποτελώντας έτσι τη δεύτερη κατά σειρά εισροή αζώτου στη γεωργία.

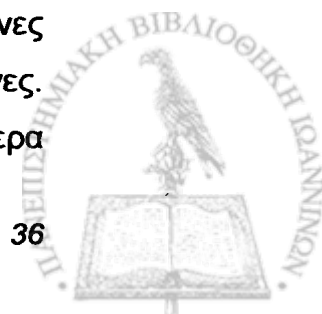
Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει η ανησυχία ότι η ποσότητα των ανόργανων λιπασμάτων που χρησιμοποιούνται στη γεωργία έχει επιφέρει δυσμενείς επιδράσεις στο περιβάλλον. Η Οδηγία της Ε.Ε. 91/676 περι



«Προστασίας υδάτων από νιτρορύπανση γεωργικής προέλευσης» υιοθετήθηκε ως ένα μέτρο αντιμετώπισης των πλεονασματικών αζωτούχων λιπάνσεων, οι οποίες έχουν οδηγήσει πολλές ζώνες εντατικών εκμεταλλεύσεων σε προβληματική κατάσταση από απόψεως νιτρορύπανσης των υδάτινων πόρων.

Το N στα εμπορικά σκευάσματα είναι ιδιαίτερα διαλυτό, ώστε να διευκολύνεται η πρόσληψή του από τα φυτά, γεγονός που το καθιστά ιδιαίτερα ευκίνητο στο έδαφος. Υπολογίζεται, όμως, ότι τα φυτά προσλαμβάνουν μόνο το 30-50 % του προστιθέμενου λιπασματικού N, και καθώς η διαδικασία μεταβολισμού του από τους μικροοργανισμούς του εδάφους είναι αργή, υπάρχει κίνδυνος επιφανειακής απορροής προς υδάτινους σχηματισμούς μετά από ισχυρή βροχόπτωση, και ρύπανσης των υπόγειων υδροφόρων λόγω διήθησης προς τα κατώτερα στρώματα.

Τα νιτρικά ιόντα δεν έχουν καμμία τοξική επενέργεια στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα νιτρικά όμως μέσα στο πεπτικό σύστημα μπορούν να μετατραπούν σε νιτρώδη τα οποία είναι γνωστό ότι οξειδώνουν την αιμογλοβίνη μετατρέποντάς την σε μεθαιμογλοβίνη. Η μεθαιμογλοβίνη όμως δεν μπορεί να μεταφέρει το αίμα από τους πνεύμονες στα διάφορα μέλη του ανθρώπινου σώματος με αποτέλεσμα ο ανθρώπινος οργανισμός να υφίσταται δηλητηρίαση (ασφυξία) ανάλογη με εκείνη που προκαλούν οι αναθυμιάσεις του μονοξειδίου του άνθρακα. Η ασθένεια αυτή είναι γνωστή με τον όρο «μεθαιμογλοβιναιμία». Σε έναν ενήλικα οι ποσότητες νιτρικών που προσλαμβάνονται μέσω της ανθρώπινης τροφής δεν είναι αρκετές για να προκαλέσουν τέτοια φαινόμενα στην πράξη. Στα βρέφη όμως η εμφάνιση ασφυξίας λόγω υπερβολικής κατανάλωσης νιτρικών είναι πιθανή. Η δηλητηρίαση των βρεφών με νιτρώδη προκαλεί ένα σύμπλεγμα συμπτωμάτων το οποίο είναι γνωστό με τον όρο κυάνωση. Σύμφωνα με ορισμένες επιστημονικές μελέτες φαίνεται ότι τα νιτρώδη, εκτός από τα άμεσα προβλήματα που μπορούν να προκαλέσουν στην ανθρώπινη υγεία, μπορούν κάτω από ορισμένες συνθήκες να μετατραπούν περαιτέρω σε νιτροζαμίνες μέσα στο πεπτικό σύστημα. Οι νιτροζαμίνες όμως θεωρούνται καρκινογόνες. Συνεπώς, η υπερβολική κατανάλωση νιτρικών μπορεί να έχει ιδιαίτερα δυσμενείς επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία.



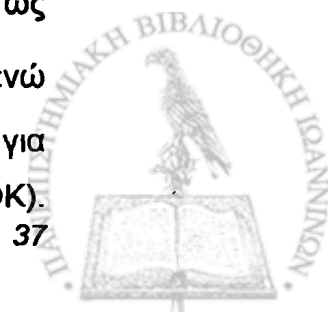
Σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας, η μέγιστη ασφαλής ποσότητα νιτρικών που μπορεί να προσλάβει ένας ενήλικας ανέρχεται στα 220 mg NO₃ ανά ημέρα. Σύμφωνα επίσης με ορισμένα άλλα ερευνητικά δεδομένα, ο άνθρωπος προσλαμβάνει νιτρικά κατά 70% από τα λαχανικά, κατά 15% από τα υπόλοιπα τρόφιμα και κατά το υπόλοιπο 15% από το πόσιμο νερό. Η συνολική ποσότητα νιτρικών που προσλαμβάνει ένας άνθρωπος ανά ημέρα εξαρτάται από τις διατροφικές συνήθειες, την περιεκτικότητα των λαχανικών σε νιτρικά και την περιεκτικότητα του πόσιμου νερού σε νιτρικά.

Πίνακας 2. Περιεκτικότητα του βρώσιμου τμήματος ορισμένων λαχανικών σε νιτρικά

Είδος φυτού	Mg NO ₃ ανά Kg νωπής μάζας
Μαρούλι	380 - 3500
Παντζάρι	150 - 5700
Σπανάκι	350 - 3900
Ραπανάκι	260 - 1200
Φασολάκι	80 - 820
Κουνουπίδι	60 - 660
Αγγούρι	20 - 300
Τομάτα	10 - 100

(πηγή: Scharpf and Wehrmann, 1991)

Η έκπλυση των NO₃ είναι ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που αφορούν στη χρήση των αζωτούχων λιπασμάτων, ειδικά στις περιπτώσεις που ο υδάτινος αποδέκτης χρησιμοποιείται για πόσιμο νερό και απειλείται η δημόσια υγεία. Η Ε.Ε., αναγνωρίζοντας τον κίνδυνο αυτό, έχει ορίσει ως ανώτατο όριο τα 50 mg NO₃/l στο πόσιμο νερό (Οδηγία 80/778/ΕΟΚ), ενώ παράλληλα δεσμεύει τα κράτη-μέλη να υιοθετήσουν τα κατάλληλα μέτρα για περιορισμό της νιτρορύπανσης γεωργικής προέλευσης (Οδηγία 91/676/ΕΟΚ).



Η έκπλυση παρατηρείται όταν η διαθέσιμη ποσότητα $\text{NO}_3^- \text{N}$ από τα ανόργανα λιπάσματα ή και από τη χρήση κοπριάς υπερβαίνει τις εποχιακές απαιτήσεις της καλλιέργειας, ενώ η ένταση του φαινομένου εξαρτάται από το κλίμα (θερμοκρασία, ύψος βροχοπτώσεων), τον τύπο του εδάφους, και τον τύπο της καλλιεργητικής εκμετάλλευσης. Από την άλλη πλευρά, αν αποδέκτες του $\text{NO}_3^- \text{N}$ είναι υδάτινοι σχηματισμοί μικρής ροής (ποτάμια, λίμνες, παράκτιες περιοχές), τότε το αζωτούχο λίπασμα μπορεί να συνεισφέρει στο φαινόμενο του ευτροφισμού.

Μία από τις κυριότερες οδούς διαφυγής του N στην ατμόσφαιρα είναι η απώλεια αζώτου από το έδαφος υπό μορφή αέριας αμμωνίας. Το 95 % των εκπομπών NH_3 στην ατμόσφαιρα αποδίδεται στις γεωργικές πρακτικές, με το 10-20 % συγκεκριμένα εκτιμάται ότι προέρχεται από τη χρήση αζωτούχων λιπασμάτων. Η αμμωνία είναι ένας από τους παράγοντες (μαζί με τα NO_x και το SO_2) που συνεισφέρουν στο φαινόμενο της όξινης βροχής και της οξίνισης (acidification) των χερσαίων και υδάτινων οικοσυστημάτων.

Ειδικά στην περίπτωση των εδαφών, η συστηματική χρήση υψηλών δόσεων ανόργανων λιπασμάτων με βάση την NH_3 (ή NH_4^+), έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της οξύτητας των εδαφών, η οποία πέρα του ότι μειώνει τη γονιμότητά τους, συντελεί στην ελευθέρωση κατιόντων όπως Fe, Al, Ca, Mg καθώς και βαρέων μετάλλων, τα οποία μπορούν να καταλήξουν με τη σειρά τους σε υδάτινους σχηματισμούς.

Επιπλέον, η χρήση των αζωτούχων λιπασμάτων συμβάλλει και στην αύξηση της συγκέντρωσης των εκπεμπόμενων αερίων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην χημεία της ατμόσφαιρας και στην ποιότητα του αέρα. Το κύριο πρόβλημα αφορά στις απώλειες λιπασματικού N υπό μορφή N_2O , το οποίο συμβάλλει στην καταστροφή του όζοντος στη στρατόσφαιρα και στο φαινόμενο του θερμοκηπίου στην τροπόσφαιρα. Αν και το N_2O παράγεται κατά τη διάρκεια φυσικών διεργασιών στο έδαφος (νιτροποίηση, απονιτροποίηση), οι διεργασίες αυτές εμπλουτίζονται από την προσθήκη των ανόργανων λιπασμάτων, τα οποία μαζί με την κτηνοτροφική παραγωγή και τη



χρήση κοπριάς συνεισφέρουν στο 60 % των ολικών ανθρωπογενών εκπομπών του αερίου αυτού. Η δράση των μικροοργανισμών του εδάφους επί του N των λιπασμάτων είναι υπεύθυνη και για την παραγωγή NO, το οποίο συμβάλλει στο σχηματισμό του φωτοχημικού νέφους.

2.2.8 Εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης του N

Η βιολογική (συνώνυμα: οικολογική, οργανική) γεωργία ήρθε σήμερα να δώσει λύσεις σε πολλά ζητήματα, ως μία πολλά υποσχόμενη εναλλακτική γεωργική πρακτική. Στα πλαίσια του γενικότερου στόχου και της σκέψης που διέπει τη βιολογική καλλιέργεια, η γεωργική εκμετάλλευση προσαρμόζεται στις δυνατότητες της εν λόγω περιοχής, με μεθόδους που επιτρέπουν τη διατήρηση της λειτουργίας του οικοσυστήματος και την προστασία των μη ανανεώσιμων πηγών ενέργειας και φυσικών πόρων, γεγονός που σημαίνει συνειδητή παραίτηση του στόχου για μέγιστες αποδόσεις.

Στο βιολογικό τρόπο παραγωγής, οι κύριες διαθέσιμες μέθοδοι διαχείρισης του N περιλαμβάνουν την προσθήκη οργανικών υλικών, την αμειψισπορά του φυτικού είδους με καλλιέργειες κάλυψης και ενσωμάτωση της βιομάζας στο έδαφος (χλωρή λίπανση), τη συγκαλλιέργεια με ψυχανθή και τον εμβολιασμό του εδάφους με αζωτοδεσμευτικά βακτήρια.

Τα οργανικά λιπάσματα (κοπριά, κομπόστ, ζωικά και φυτικά υπολείμματα, τύρφες κ.ά.) περιλαμβάνουν κάθε φυσικό οργανικό υλικό που περιέχει μέρος των θρεπτικών στοιχείων σε οργανική μορφή, ενώ ταυτόχρονα δεν περιέχει τοξικές ουσίες ή παθογόνους οργανισμούς. Η οργανική λίπανση επιδρά άμεσα στα φυτά μέσω της σταδιακής παροχής θρεπτικών στοιχείων, αλλά και έμμεσα, βελτιώνοντας τις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους.

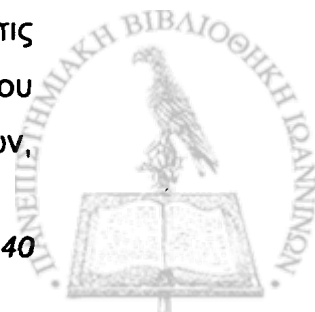
Η πρακτική της χλωρής λίπανσης περιλαμβάνει την καλλιέργεια οποιουδήποτε φυτικού είδους (π.χ. ψυχανθή, σιτηρά, ελαιοδοτικά) με σκοπό τη διακοπή του κύκλου βλάστησης και την ενσωμάτωση της βιομάζας στο έδαφος, σε στάδιο όπου το N (και τα λοιπά θρεπτικά στοιχεία) βρίσκεται στη



μέγιστη δυνατή συγκέντρωση. Οι χλωρές λιπάνσεις στο βιολογικό τρόπο παραγωγής αποτελούν κομβικό σημείο τόσο για τη θρέψη των καλλιεργειών, και ιδιαίτερα όσον αφορά στην κάλυψη των απαιτήσεων σε άζωτο, όσο και για τις ευεργετικές επιπτώσεις στις βιοχημικές ιδιότητες του εδάφους, όπως την αύξηση της οργανικής ουσίας, της ανοργανοποίησης του N, τον περιορισμό της διάβρωσης και της έκπλυσης NO_3^- . Στην περίπτωση των ψυχανθών, μάλιστα, έναντι της χρήσης ανόργανων λιπασμάτων, η βιολογική δέσμευση του N προσφέρει σημαντική μείωση και στην κατανάλωση ορυκτών καυσίμων.

Σε σύγκριση με τη μεμονωμένη καλλιέργεια ενός φυτικού είδους, η πρακτική της συγκαλλιέργειας μπορεί να αυξήσει σημαντικά την παραγωγικότητα μιας καλλιέργειας, μέσω της πιο αποτελεσματικής αξιοποίησης νερού, θρεπτικών στοιχείων και ηλιακής ενέργειας, ενώ παράλληλα φαίνεται να είναι μία πρακτική ευνοϊκή για το περιβάλλον, μειώνοντας τη συσσώρευση NO_3^- N στο έδαφος και τις εισροές N στο σύστημα. Η πληθώρα των δημοσιευμένων εργασιών σχετικά με την πρόσληψη N αφορά στις ευεργετικές επιδράσεις της συγκαλλιέργειας δημητριακών με ψυχανθή. Οι Li et al. (2001) διαπίστωσαν σημαντική αύξηση τόσο στις αποδόσεις, όσο και στην πρόσληψη N του συστήματος συγκαλλιέργειας σιταριού και ψυχανθούς, ενώ ανάλογες είναι οι αναφορές των Li et al. (1999) για τις αποδόσεις του συστήματος καλαμποκιού/ψυχανθούς.

Ο εμβολιασμός του εδάφους με ελεύθερα διαβιούντα διαζωτροφικά βακτήρια διερευνάται τα τελευταία χρόνια ως μία ακόμη εναλλακτική πρακτική περιορισμού ή και αντικατάστασης των ανόργανων χημικών αζωτούχων λιπασμάτων. Περιλαμβάνουν έναν μεγάλο αριθμό γενών αναερόβιων και αερόβιων βακτηρίων (*Acetobacter*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Zoogloea*), τα οποία έχουν απομονωθεί από τη ριζόσφαιρα πολλών φυτικών ειδών. Οι πιθανοί μηχανισμοί που προάγουν τις αποδόσεις των φυτών δεν περιορίζονται μόνο στη δέσμευση και παροχή του αζώτου, αλλά αποδίδονται και στην παραγωγή φυτοορμονών και βιταμινών,



στην πρόκληση ανθεκτικότητας σε παθογόνα, σε αυξημένη πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και διαλυτοποίηση του φωσφόρου.

Πολυάριθμα είναι τα παραδείγματα της ευεργετικής επίδρασης των βακτηρίων αυτών σε σημαντικό αριθμό καλλιεργούμενων ειδών. Ενδεικτικά αναφέρουμε ότι ο εμβολιασμός του εδάφους με είδη *Azotobacter* αντικατέστησε έως και το 50 % λιπασματικού N (ουρία) στο σιτάρι. Οι Saubidet et al. (2002) αναφέρουν σημαντική αύξηση σε βιομάζα, αποδόσεις, πρόσληψη και συσσώρευση N σε φυτά σιταριού από το *Azospirillum brasilense*, ενώ ανάλογα είναι και τα ευρήματα των Cohen et al. (1980) για το ίδιο είδος σε φυτά καλαμποκιού. Η δέσμευση του N από το *Acetobacter diazotrophicus* αντικατέστησε έως και το 60-80 % του απαραίτητου αζώτου σε φυτά σακχαροκάλαμου.

2.2.9 Παράγοντες που επιδρούν στην συσσώρευση νιτρικών.

Η συγκέντρωση NO_3^- στους φυτικούς ιστούς επηρεάζεται από διάφορους κλιματικούς και γενετικούς παράγοντες.

- Είδος φυτού
- Ποικιλία
- Όργανα φυτού
- Μέθοδος συγκομιδής
- Ακτινοβολία (εποχή)
- Απόδοση ασθένειας
- Μηχανική σύσταση
- Λίπανση
- Θερμοκρασία και υγρασία
- Διεργασίες αποθήκευσης
- Εποχή συγκομιδής



2.2.9.1 Κλιματικοί παράγοντες

Οι κλιματικοί παράγοντες επηρεάζουν την συγκέντρωση NO_3^- τόσο σε μακροπρόθεσμη βάση, όσο και βραχυπρόθεσμα. Ελάχιστη συγκέντρωση παρατηρείται στις 4 το απόγευμα. Μέγιστο σε νιτρικά εμφανίζεται από τις 4 το απόγευμα ως 8 το πρωί. Η συγκέντρωση NO_3^- στους φυτικούς ιστούς βρίσκεται πάντα σε δυναμική ισορροπία, διότι αντιπροσωπεύει τη διαφορά μεταξύ απορρόφησης και αναγωγής μέσα στο φυτό. Επίσης μπορεί να λάβει χώρα μεταφορά από και προς ένα φυτικό τμήμα, μετά την απορρόφηση NO_3^- . Έτσι η συγκέντρωση NO_3^- μπορεί να μεταβληθεί με τροποποίηση μιας τουλάχιστον από τις πιο πάνω διεργασίες.

Σύμφωνα με τα σημερινά δεδομένα οι κλιματικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση νιτρικών στα φυτά είναι:

- ♦ **Φως.** Μείωση της έντασης του φωτός ακολουθείται από αυξημένη συγκέντρωση NO_3^- . Το πρώτο στάδιο στην αναγωγή NO_3^- είναι η μετατροπή NO_3^- σε NO_2^- με το ένζυμο νιτρική αναγωγάση (NR), που είναι μια μεταλλοφλαβοπρωτεΐνη. Το στάδιο αυτό είναι που καθορίζει την ταχύτητα αναγωγής. Το ένζυμο NR χάνει την αναγωγική ικανότητά του πολύ γρήγορα στο σκοτάδι.

Ως προς την ένταση του φωτός παρατηρήθηκαν τα ακόλουθα: Η βράχυνση της φωτοπεριόδου αυξάνει την συγκέντρωση NO_3^- .

Όσον αφορά την ποιότητα του φωτός η δραστηριότητα του ενζύμου NR είναι μεγαλύτερη σε κυανό φως (380-470 nm) και άρα η συγκέντρωση NO_3^- είναι μικρότερη σε κυανό, σε σχέση με το ερυθρό φως (680-740 nm). Κατά την ανεπαρκή ένταση του φωτισμού ή τον περιορισμό της φωτεινής ημέρας, επιβραδύνεται η φωτοσύνθεση και επομένως μειώνεται η δημιουργία υδατανθράκων, γεγονός που οδηγεί στη μειωμένη αξιοποίηση των νιτρικών στην σύνθεση αμινοξέων (στις πρωτεϊνικές διαδικασίες). Ο παράγοντας αυτός αποκτά ιδιαίτερη



σημασία για θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Πειράματα σε σπανάκι έδειξαν ότι περνώντας από τα 6.460 LUX στα 37.660 LUX, η συγκέντρωση των νιτρικών στους ιστούς των φυτών μειώθηκε από 5,58% της ξηράς ουσίας σε 1,51% ξηράς ουσίας.

- ♦ **Θερμοκρασία.** Η θερμοκρασία επηρεάζει την απορρόφηση, μεταφορά και αναγωγή NO_3^- . Πτώση της θερμοκρασίας οδηγεί σε συγκέντρωση NO_3^- . Για αυτό σε χειμερινές καλλιέργειες μαρουλιών, λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών, παρατηρούνται υψηλότερα ποσοστά NO_3^- σε σχέση με τις ανοιξιάτικες καλλιέργειες. Η πτώση της θερμοκρασίας τη νύχτα δεν έχει τόσο μεγάλη επίδραση στην απορρόφηση NO_3^- όσο στην αναγωγή, γεγονός που οδηγεί σε συγκέντρωση NO_3^- . Η επίδραση της θερμοκρασίας ποικίλλει ανάλογα με το φυτικό είδος. Σύμφωνα με τους Gampage και Kafkasi (1980) σε έρευνα θερμοκηπίου όταν η θερμοκρασία στο ριζικό σύστημα είναι άνω των 17°C τα νιτρικά προτιμούνται από τα φυτά. Ενώ κάτω από 17°C τα αμμωνιακά είναι η καλύτερη πηγή αζώτου. Επίσης θερμοκρασία $>30^\circ\text{C}$ μπορεί να μειώσει τη δραστηριότητα της NR σε πολλά φυτά. Μεταξύ έντασης φωτός και θερμοκρασίας παρατηρείται αλληλεπίδραση, όσον αφορά την συγκέντρωση NO_3^- . Σε πολλές περιπτώσεις η θερμοκρασία ασκεί μέγιστη επίδραση με υψηλό N και χαμηλή ένταση φωτός. Το φως ασκεί την μέγιστη δράση σε υψηλή θερμοκρασία και υψηλό άζωτο.
- ♦ **Συγκέντρωση CO_2 .** Μείωση της συγκέντρωσης CO_2 συντελεί σε αύξηση της συγκέντρωσης NO_3^- . Αντίθετα εμπλουτισμός της ατμόσφαιρας σε CO_2 , μειώνει τη συγκέντρωση NO_3^- .

2.2.9.2 Γενετικοί παράγοντες

Οι ποικιλίες σπανακιού με λεία φύλλα περιέχουν πολύ λιγότερα NO_3^- σε σύγκριση με τις ποικιλίες που έχουν σγουρά φύλλα. Επίσης μεγαλύτερες συγκεντρώσεις νιτρικών βρέθηκαν σε ποικιλίες μαρουλιών κεφαλόμορφου



(Butter head) τύπου. Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις NO_3^- μπορεί να σχετίζονται με διαφορές στην απορρόφηση, αφομοίωση ή μεταφορά των NO_3^- . Στις ποικιλίες με λεία φύλλα η δραστηριότητα του ενζύμου NR είναι πολύ μεγαλύτερη, σε σύγκριση με τις σγουρές ποικιλίες. Πολλές φορές παρατηρείται συγκέντρωση NO_3^- στους μίσχους, διότι η δραστηριότητα του ενζύμου NR είναι μικρή. Η επιλογή γονότυπων με υψηλή δραστηριότητα NR τόσο στο υπέργειο τμήμα όσο και στις ρίζες, εξασφαλίζει την αναγωγή NO_3^- . Η δραστηριότητα του ενζύμου NR είναι ένα χαρακτηριστικό που κληρονομείται.

Πειραματικά αποτελέσματα του σταθμού Αγρονομίας και Φυσιολογίας Γ' INDRA D' ANTIDE'S έδειξαν ότι: Σε δύο διαφορετικές ποικιλίες μαρουλιού που δέχτηκαν την ίδια μεταχείριση αζώτου, οι συγκεντρώσεις νιτρικών στα φύλλα τους ήταν διαφορετικές. Είχαμε για την ποικιλία APOLLO συγκέντρωση NO_3^- στα φύλλα 3.700 mgr/Kgr ενώ στην ποικιλία KLOEK 2.360 mgr/ Kgr.

Διαπιστώθηκε ακόμη ότι οι πρώιμες ποικιλίες παρουσιάζουν μεγαλύτερη τάση συσσώρευσης νιτρικών στους ιστούς τους.

2.3 Ο ρόλος του στοιχείου S

2.3.1 Εισαγωγή

Το θείο είναι ένα κίτρινο εύθραυστο στοιχείο με χαρακτηριστική οσμή. Το συναντάμε σε μεγάλες ποσότητες σε θερμές πηγές και ηφαιστεια. Το θείο είναι πολύ σημαντικό για τη ζωή μιας και είναι δευτερεύον συστατικό για πολλές ενώσεις σημαντικές για τους ζωντανούς οργανισμούς, όπως τα οστά, τα λίπη και τα σωματικά υγρά. Το θείο είναι γνωστό από την αρχαιότητα.

Αποτελεί τμήμα των θειούχων αμινοξέων (κυστίνη, κυστεΐνη, μεθειονίνη) και δύο βιταμινών (θειαμίνη, βιοτίνη). Ακόμη αποτελεί συστατικό της κερατίνης, δηλαδή της σκληρής πρωτεϊνικής ουσίας του δέρματος, των τριχών και των νυχιών. Ακόμη είναι απαραίτητο για τη σύνθεση του κολλαγόνου. Χωρίς το θείο ο οργανισμός δεν μπορεί να κάνει τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών σωστά. Βοηθά στην καλή διατήρηση της γενικής εμφάνισης και ομορφιάς.

Οι διαβητικοί συχνά έχουν έλλειψη θείου και η σωστή ποσότητα τους προφυλάσσει αποτελεσματικά από αυτή την ασθένεια. Τέλος όσοι έχουν προβλήματα τριχόπτωσης ωφελούνται όταν παίρνουν τροφές με την απαραίτητη ποσότητα θείου. Λαχανικά που είναι πλούσια σε θείο είναι το λάχανο, το μπρόκολο, τα ραδίκια, τα καρότα, το σέλινο, το κουνουπίδι, τα κάστανα και οι μαύρες σταφίδες.

2.3.2 Κύκλος του θείου

Η κυκλοφορία του θείου διαμέσου της τροφικής αλυσίδας είναι σχετικά απλή. Οι απεκκρίσεις των οργανισμών, καθώς και οι νεκροί οργανικοί ιστοί περιέχουν θείο, το οποίο απελευθερώνεται από τους αποικοδομητές με τη μορφή υδρόθειου (H_2S). Στη συνέχεια, εξειδικευμένα βακτήρια μετατρέπουν



το υδρόθειο σε θειικά ιόντα τα οποία μπορούν να προσλάβουν εκ νέου τα φυτά και να τα ενσωματώσουν στα αμινοξέα και τις πρωτεΐνες.

Το SO_2 , αντίθετα με το H_2S , σχηματίζεται ελάχιστα από τις φυσικές διεργασίες (π.χ. εκρήξεις ηφαιστείων) και αποτελεί μετά το μονοξείδιο του άνθρακα τον περισσότερο εκλυόμενο στην ατμόσφαιρα αέριο ρύπο.

Οι κυριότερες πηγές παραγωγής SO_2 είναι:

- α) Η καύση των στερεών καυσίμων (γαιάνθρακες, λιθάνθρακες, λιγνίτες) συμμετέχει κατά 60%.
- β) Η καύση των υγρών καυσίμων (πετρέλαιο, κηροζίνη, μαζούτ) για παραγωγή ενέργειας, για βιομηχανίες και για κεντρική θέρμανση συμμετέχει περίπου 20%.
- γ) Οι βιομηχανικές διεργασίες για την παραγωγή μετάλλων από θειούχα ορυκτά συμμετέχουν στο υπόλοιπο 18%.
- δ) Η συνεισφορά σε SO_2 από κινητές πηγές, π.χ. αυτοκίνητα, είναι μικρή περίπου 2%.

Οι κύριες πηγές για το H_2S είναι:

- α) Οι βιολογικές αποσυνθέσεις φυτικής και ζωικής ύλης.
- β) Οι μικροβιακές αναγωγές των θειικών αλάτων του εδάφους.
- γ) Η αποσάθρωση των ορυκτών πετρωμάτων.
- δ) Τα ηφαίστεια.

Το H_2S συνεισφέρει κατά 50% στην ολική ποσότητα του κύκλου του θείου.

2.3.3 Φυσιολογική δράση του S

Η φυσιολογική δράση του θείου σε ένα φυτικό οργανισμό είναι θεμελιώδης. Μέσα στο φυτό το S μπορεί να συγκεντρωθεί ως SO_4^{2-} ή ως συστατικό της ένωσης γλουταθείο. Το γλουταθείο είναι μια μορφή αποθησαυρισμού του αναχθέντος S. Ενδέχεται η συγκέντρωση γλουταθείου να αποτελεί μηχανισμό αντιμετώπισης της υπερβολικής ποσότητας του S μέσα στο φυτό. Το S παίζει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των



χλωροπλαστών και της χλωροφύλλης, επίσης δρα καταλυτικά στη μεγάλη συγκέντρωση των νιτρικών στα φυτά.

Το ιόν του ανάγεται προκειμένου να χρησιμοποιηθεί από τα φυτά. Προσλαμβάνεται ως SO_4^{2-} . Τα SO_4^{2-} που δεν χρησιμοποιούνται από τα φυτά συσσωρεύονται στα φύλλα και λιγότερο στους σπόρους, από όπου μπορούν να κινητοποιηθούν αν χρειαστεί. Η θειική μορφή του (SO_4^{2-}) απαντάται και στο πλασματικό υγρό. Εκεί το βρίσκουμε όχι μόνο ως θειικό ασβέστιο αλλά και ως θειικό ανιόν που δρα ανταγωνιστικά στα νιτρικά ιόντα και ανιόντα χλωρίου Cl.

2.3.4 Μορφές S στο έδαφος

Τα εδάφη περιέχουν ανόργανο και οργανικό S. Τα φυτά χρησιμοποιούν αποκλειστικά την ανόργανη μορφή (SO_4^{2-}). Πολλά εδάφη σε υγρές και σε εύκρατες περιοχές περιέχουν μικρές ποσότητες ανόργανου S. Σε τέτοια εδάφη τα φυτά γρήγορα χρησιμοποιούν το S που ανοργανοποιείται με οξείδωση της οργανικής ουσίας μαζί με το S από το διαλυμένο στο νερό της βροχής και το SO_4^{2-} που προσροφάται από τα εδάφη. Τα SO_4^{2-} που χρησιμοποιούνται από τα φυτά προέρχονται από την οργανική ουσία. Έτσι το οργανικό S αναφέρεται ως αποθεματικό S.

Η γύψος είναι η πιο συνηθής μορφή SO_4^{2-} υπό μορφή ιζήματος. Η διαλυτότητα της γύψου είναι μικρή. Η συγκέντρωση SO_4^{2-} στο εδαφικό διάλυμα ποικίλει και κυρίως σε εδάφη που έχουν μικρή ικανότητα να προσροφούν SO_4^{2-} . Αν τα εδάφη έχουν αξιόλογη ικανότητα να προσροφούν SO_4^{2-} η συγκέντρωση του SO_4^{2-} στο διάλυμα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον επί της % κορεσμό με SO_4^{2-} . Τα θειοθειικά λιπάσματα είναι χημικώς ασταθείς ενώσεις σε όξινο διάλυμα και παράγουν SO_2 και στοιχειακό S. Τα πολυσουλφίδια είναι χημικώς ασταθείς ενώσεις και παράγουν κολλοειδές S και σουλφίδια, όταν προστίθενται στο έδαφος. Τα σουλφίδια οξειδώνονται γρήγορα σε στοιχειακό S.

Ανεξάρτητα από τη μορφή με την οποία χορηγείται το S στο έδαφος, το τελικό προϊόν σε καλά αεριζόμενα εδάφη είναι τα θειικά ιόντα (SO_4^{2-}). Το SO_4^{2-} σχηματίζει μικρής διαλυτότητας άλατα με Ca. Το SO_4^{2-} κατακρημνίζεται μαζί



με το CaCO_3 στο έδαφος και γίνεται σχετικά μη διαθέσιμο για το φυτό. Σε υγρά εδάφη τα SO_4^{2-} είναι λιγότερο ευκίνητα στο έδαφος από ότι τα NO_3^- ή τα ιόντα Cl^- και δυσκολότερα εκπλένονται. Αυτό εξηγεί γιατί οι απώλειες σε S είναι μικρότερες σε σύγκριση με το N.

2.3.5 Επιδράσεις των οξειδίων του θείου στα φυτά

Το διοξείδιο του θείου προσβάλλει τα φυτά. Έκθεση των φυτών σε μεγάλες συγκεντρώσεις SO_2 για μικρό χρονικό διάστημα προκαλεί οξεία δηλητηρίαση του φυτού, με συνέπεια τη νέκρωση τμημάτων των φύλλων, τα οποία τελικά ξηραίνονται. Μακρόχρονη έκθεση σε μικρότερες συγκεντρώσεις SO_2 προκαλεί χρόνιες δηλητηριάσεις του φυτού, που χαρακτηρίζονται από βαθμιαίο κιτρίνισμα των φύλλων, εξαιτίας της αναστολής του μηχανισμού παραγωγής της χλωροφύλλης. Οι οξείες δηλητηριάσεις οφείλονται στην ικανότητα του φυτού να μετατρέπει το απορροφούμενο SO_2 σε H_2SO_4 και τελικά σε θειικά άλατα. Όταν τα άλατα αυτά συσσωρευτούν στους μίσχους των φύλλων τότε παρατηρούνται, τα παραπάνω συμπτώματα.

Το S διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον πρωτογενή και δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών, ως συστατικό των πρωτεϊνών και άλλων ενώσεων που καθορίζουν την ποιότητα και θρεπτική αξία των προϊόντων. Πέρα από τη μείωση της απόδοσης, η τροφοπενία S είναι γνωστό ότι επηρεάζει δυσμενώς την ποιότητα των προϊόντων για κατανάλωση από τους ανθρώπους και τα ζώα. Επίσης η λίπανση με S επηρεάζει την ποιότητα των ζωοτροφών με αύξηση της βιταμίνης A της μηδικής, αύξηση της χλωροφύλλης του τριφυλλιού, αυξημένο περιεχόμενο πρωτεΐνης και σύσταση των αμινοξέων των ζωοτροφών.

Έχει μεγάλη σημασία να διατηρήσουμε άριστο επίπεδο S για να αποφευχθεί η συγκέντρωση NO_3^- στους φυτικούς ιστούς. Η επίδραση του S στην ποιότητα των ζωοτροφών έχει μεγάλη σημασία λόγω της σημαντικής επίδρασης στη διατροφή των θηλαστικών. Αυξημένο επίπεδο S στο σιτηρέσιο των θηλαστικών συνεπάγονταν αυξημένη λήψη τροφής, αυξημένη πεπτικότητα και κατάλληλο ισοζύγιο γάλακτος και μαλλιού. Η άριστη



περιεκτικότητα σε S επίσης βελτίωσε την αντοχή των φυτών σε εχθρούς και ασθένειες. Αυτό έχει μεγάλη σημασία για την Βιολογική Γεωργία, όπου δε χρησιμοποιούνται φυτοφάρμακα.

3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 Υλικά και μέθοδοι

3.1.1 Εισαγωγή

Η πειραματική έρευνα πραγματοποιήθηκε στο Τ.Ε.Ι Ηπείρου στην Άρτα. Η καλλιέργεια των φυτών μαρουλιού έγινε σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο του αγροκτήματος από 15 - 10-2008 έως 10 -01-2009. Τα φυτοδοχεία είχαν χωρητικότητα 1 lit και περιείχαν επεξεργασμένο υπόστρωμα από μείγμα αναλογίας 2:1 τύρφης-περλίτη.

Η ποικιλία *Italica*, του τύπου μαρουλιών *Crispa* επιλέχθηκε, διότι τα φυτά αυτά παρουσιάζουν μεγαλύτερη συσσώρευση νιτρικών. Επίσης, δεν σχηματίζουν κεφαλή και τα φύλλα των φυτών είναι κυματοειδή (σγουρά), τραγανά και εύθραυστα. Το χρώμα των φύλλων κυμαίνεται από μέτριο έως βαθύ πράσινο. Η εμφάνιση των φυτών είναι καλή, με ικανοποιητική ανθεκτικότητα στο περιφερειακό κάψιμο των φύλλων.

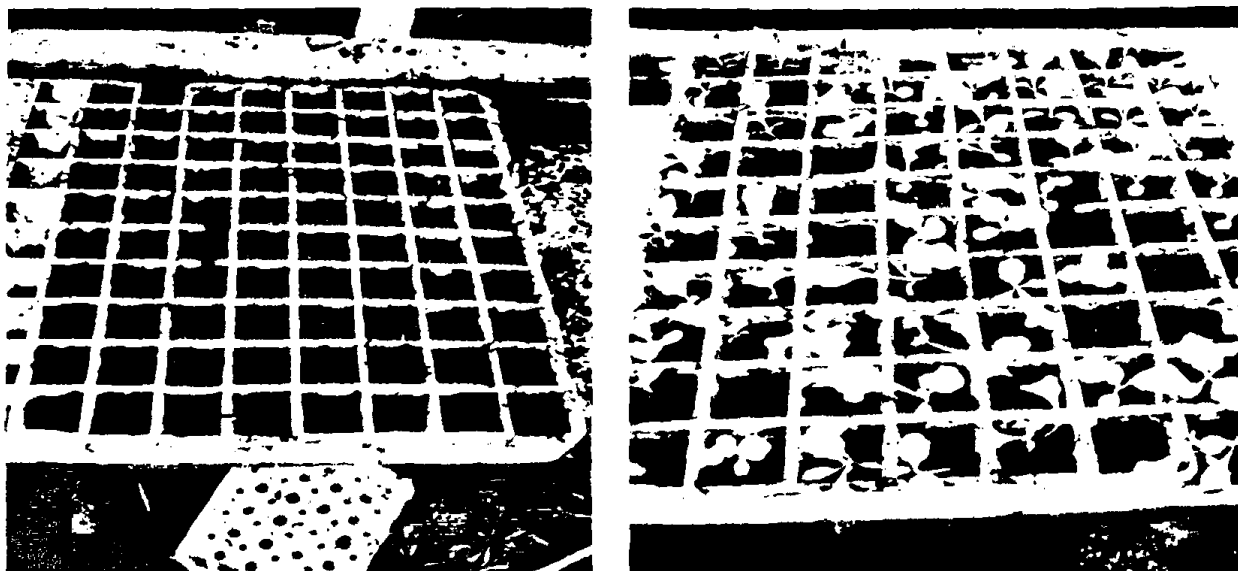
Στα φυτά μαρουλιού προσδιορίστηκαν: α) το βάρος της κεφαλής των φυτών, β) Η ποσότητα των νιτρικών στα φύλλα της κεφαλής και γ) η ποσότητα του ολικού αζώτου.

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με το πρόγραμμα Co – Stat και η επεξεργασία των γραφικών με το πρόγραμμα Microcal – origine.

Σκοπός του πειράματος ήταν να διαπιστωθεί αν η παρουσία θειικών ανιόντων στο θρεπτικό διάλυμα που χορηγείται σε φυτά μαρουλιού, επηρεάζει την απορρόφηση νιτρικών και οργανικού αζώτου και προκαλεί περιορισμό της συσσώρευσής τους στα φύλλα και τις ρίζες των φυτών.

3.1.2 Ριζοπότισμα με θρεπτικά διαλύματα

Τα σπορόφυτα τοποθετήθηκαν σε κιβώτια σποράς, μέχρι να αποκτήσουν το κατάλληλο μέγεθος για μεταφύτευση. Η μεταφύτευση πραγματοποιήθηκε χειρωνακτικά στις 07- 11- 08 σε 45 φυτοδοχεία και ακολούθησε πότισμα με απιονισμένο νερό.



Εικόνα 5. Κιβώτια σποράς πειραματικής εγκατάστασης

(πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Στα φυτά χορηγήθηκαν θρεπτικά διαλύματα τα οποία αφορούσαν εννές μεταχειρίσεις συγκεντρώσεων N και S (ως θειικά ανιόντα). Σύμφωνα με τις ποσότητες των χορηγηθέντων λιπασμάτων ανά λίτρο θρεπτικού διαλύματος προέκυψαν 9 συνδυασμοί N και S (βλ. πίνακας 4). Τα θρεπτικά διαλύματα σε κάθε περίπτωση παρέρχονταν μέχρι απορροής.

Πίνακας 3. Πειραματικές επεμβάσεις.

ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΛΙΠΑΣΜΑΤΩΝ $\times L^{-1}$	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ N ΚΑΙ S ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΤΟΥ ΠΟΤΙΣΜΑΤΟΣ ($mg \times L^{-1}$)
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 100 \times S 0
0,349 g νιτρικό κάλιο	
0,157 g νιτρική αμμωνία	

0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 200 × S 0
0,349 g νιτρικό κάλιο	
0,423 g νιτρική αμμωνία	
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 400 × S 0
0,349 g νιτρικό κάλιο	
1,015 g νιτρική αμμωνία	
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 100 × S 150
0,295 g θειικό κάλιο	
0,434 g θειικό μαγνήσιο	
0,286 g νιτρική αμμωνία	
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 200 × S 150
0,295 g θειικό κάλιο	
0,434 g θειικό μαγνήσιο	
0,572 g νιτρική αμμωνία	
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 400 × S 150
0,295 g θειικό κάλιο	
0,434 g θειικό μαγνήσιο	
1,143 g νιτρική αμμωνία	
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 100 × S 300
0,295 g θειικό κάλιο	
1,09 g θειικό μαγνήσιο	
0,284 g νιτρική αμμωνία	
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 200 × S 300
0,295 g θειικό κάλιο	
1,09 g θειικό μαγνήσιο	



0,572 g νιτρική αμμωνία	N 400 × S 300
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	
0,295 g θειικό κάλιο	
1,09 g θειικό μαγνήσιο	
1,143 g νιτρική αμμωνία	

Για κάθε ένα συνδυασμό από τις 9 παραπάνω λιπασματικές επεμβάσεις χρησιμοποιήθηκαν 5 φυτά μαρουλιού τα οποία αναπτύχθηκαν ανά ένα σε κάθε φυτοδοχείο. Το κάθε φυτό αποτελεί και ένα ανεξάρτητο πειραματικό τεμάχιο και συνεπώς σε κάθε πειραματική επέμβαση ελήφθησαν πέντε επαναλήψεις για κάθε μεταβλητή του πειράματος.

Συνολικά μέχρι την συγκομιδή έγιναν 8 ποτίσματα με θρεπτικά διαλύματα, σε 2 από τα οποία προστέθηκε μείγμα ιχνοστοιχείων (εμπορικό σκεύασμα Fertilon combi). Στα 2 τελευταία ποτίσματα χρησιμοποιήθηκαν διπλάσιες ποσότητες θρεπτικών διαλυμάτων. Το νερό του ποτίσματος ήταν βρόχινο, προερχόταν από δεξαμενή συγκέντρωσης, είχε περιεκτικότητα σε νιτρικά μη μετρίσιμη και σε θειικά <30 ppm.

3.1.3 Δειγματοληψία φυτικών ιστών μαρουλιού

3.1.3.1. Ξήρανση σε φούρνο

Στο στάδιο της συγκομιδής μετρήθηκε το βάρος των φυτών και τα παλιά (εξωτερικά) φύλλα, για τον προσδιορισμό του νωπού τους βάρους. Η ξήρανση των φυτικών ιστών του δείγματος έγινε σε ξηραντήριο στους 70° C για 48 ώρες, με σκοπό την απομάκρυνση όλης της ποσότητας του συγκρατημένου νερού και την καταστροφή των ενζύμων. Ξήρανση σε χαμηλότερες θερμοκρασίες δεν απομακρύνει όλο το νερό των ιστών, ενώ σε υψηλότερες μπορεί να οδηγήσει σε θερμική αποικοδόμηση και διάσπαση της οργανικής ουσίας, μειώνοντας έτσι το ξηρό βάρος. Μετά την ξήρανση τα δείγματα ζυγίστηκαν έτσι ώστε να προσδιορισθεί το ξηρό τους βάρος και από την σχέση νωπού / ξηρό βάρος το ποσοστό της περιεχόμενης υγρασίας του κάθε δείγματος.



0,572 g νιτρική αμμωνία	N 400 × S 300
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	
0,295 g θειικό κάλιο	
1,09 g θειικό μαγνήσιο	
1,143 g νιτρική αμμωνία	

Για κάθε ένα συνδυασμό από τις 9 παραπάνω λιπασματικές επεμβάσεις χρησιμοποιήθηκαν 5 φυτά μαρουλιού τα οποία αναπτύχθηκαν ανά ένα σε κάθε φυτοδοχείο. Το κάθε φυτό αποτελεί και ένα ανεξάρτητο πειραματικό τεμάχιο και συνεπώς σε κάθε πειραματική επέμβαση ελήφθησαν πέντε επαναλήψεις για κάθε μεταβλητή του πειράματος.

Συνολικά μέχρι την συγκομιδή έγιναν 8 ποτίσματα με θρεπτικά διαλύματα, σε 2 από τα οποία προστέθηκε μείγμα ιχνοστοιχείων (εμπορικό σκεύασμα Fertilon combi). Στα 2 τελευταία ποτίσματα χρησιμοποιήθηκαν διπλάσιες ποσότητες θρεπτικών διαλυμάτων. Το νερό του ποτίσματος ήταν βρόχινο, προερχόταν από δεξαμενή συγκέντρωσης, είχε περιεκτικότητα σε νιτρικά μη μετρίσιμη και σε θειικά <30 ppm.

3.1.3 Δειγματοληψία φυτικών ιστών μαρουλιού

3.1.3.1. Ξήρανση σε φούρνο

Στο στάδιο της συγκομιδής μετρήθηκε το βάρος των φυτών και τα παλιά (εξωτερικά) φύλλα, για τον προσδιορισμό του νωπού τους βάρους. Η ξήρανση των φυτικών ιστών του δείγματος έγινε σε ξηραντήριο στους 70° C για 48 ώρες, με σκοπό την απομάκρυνση όλης της ποσότητας του συγκρατημένου νερού και την καταστροφή των ενζύμων. Ξήρανση σε χαμηλότερες θερμοκρασίες δεν απομακρύνει όλο το νερό των ιστών, ενώ σε υψηλότερες μπορεί να οδηγήσει σε θερμική αποικοδόμηση και διάσπαση της οργανικής ουσίας, μειώνοντας έτσι το ξηρό βάρος. Μετά την ξήρανση τα δείγματα ζυγίστηκαν έτσι ώστε να προσδιορισθεί το ξηρό τους βάρος και από την σχέση νωπού / ξηρό βάρος το ποσοστό της περιεχόμενης υγρασίας του κάθε δείγματος.

3.1.3.2 Άλεσμα των φυτικών ιστών

Στα ξηρά δείγματα ακολούθησε άλεση με ειδικό μύλο ο οποίος αποτελούνταν με μαχαίρια από ανοξείδωτο χάλυβα, έτσι ώστε να μην επηρεάζεται το αποτέλεσμα της ανάλυσης και παράλληλα με την μείωση του μεγέθους των φυτικών ιστών, γίνεται ομοιόμορφο το υλικό και ευκολότερο στους χειρισμούς.

3.1.3.3 Αποθήκευση – συντήρηση

Τα δείγματα σφραγίστηκαν σε αεροστεγή φιαλίδια, τα οποία είχαν πλυθεί και τοποθετηθεί σε ξηραντήριο για 10 λεπτά στους 75⁰C. Στη συνέχεια, ακολούθησε αποθήκευσή τους σε θερμοκρασία - 20⁰C, έως την στιγμή που θα γινόταν ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε NO₃⁻ και ολικό N.

3.1.4 Προσδιορισμός νιτρικού αζώτου

3.1.4.1 Χρωματομετρική μέθοδος

Το δείγμα των φυτικών ιστών καλό είναι να αναλύεται αμέσως μετά την κατεργασία του για τον προσδιορισμό των νιτρικών. Αν αυτό δεν μπορεί να γίνει, οι φυτικοί ιστοί μπορούν να διατηρηθούν για λίγες ημέρες στο ψυγείο, προκειμένου να αποφευχθεί μικροβιακή και ενζυμική δραστηριότητα που επηρεάζει την περιεκτικότητα των φυτικών ιστών σε νιτρικά. Για περισσότερο καιρό το δείγμα μπορεί να διατηρηθεί σε θερμοκρασία -10 °C.

3.1.4.1.1 Αντιδραστήρια

Διάλυμα νιτρικού αζώτου 100 ppm. Παρασκευάζεται διαλύοντας 0,722 gr νιτρικού καλίου (KNO₃) σε 1 lt νερό.

Εκχυλιστικό διάλυμα. Παρασκευάζεται διαλύοντας 25 gr ένυδρου θειικού χαλκού (CuSO₄ · 5H₂O) και 3,3 gr θειικού αργύρου (Ag₂SO₄) σε 5 lt. Καλύτερα ο θειικός άργυρος να διαλύεται σε ζεστό νερό.

Μίγμα υδροξειδίου του ασβεστίου [Ca(OH)₂] και ανθρακικού μαγνησίου- υδροξειδίου μαγνησίου (MgCO₃ + Mg(OH)₂). Παρασκευάζεται με



ένα μέρος $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ και δύο μέρη $\text{MgCO}_3 + \text{Mg}(\text{OH})_2$ μέσα σε γουδί με πάρα πολύ καλό ανακάτεμα. Η λειοτρίβιση και η ανάδευση μπορεί να γίνουν με ειδικό μύλο άλεσης.

Ενεργός άνθρακας (Carcoal activated). Χρησιμοποιείται για τον αποχρωματισμό των εκχυλισμάτων. Ο ενεργός άνθρακας πρέπει να ξεπλένεται με απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό και να ξηραίνεται πριν τη χρησιμοποίησή του.

3.1.4.1.2 Τρόπος εργασίας

- Σε κωνική φιάλη των 100 ή 150 ml ζυγίζουμε ποσότητα αλεσμένων φυτικών ιστών, συνήθως 0,5 gr.
- Στη συνέχεια προσθέτουμε ποσότητα εκχυλιστικού διαλύματος $[(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) + (\text{Ag}_2\text{SO}_4)]$ 50 ml.
- Στην κωνική φιάλη προσθέτουμε και ενεργό άνθρακα 0,25 gr.
- Η φιάλη πωματίζεται και αναδύεται για 1 λεπτό με μηχανικό αναδευτήρα ή με το χέρι κατά διαστήματα για 30 min.
- Προσθέτουμε ποσότητα 0,5 gr μίγματος $[\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{MgCO}_3]$, ανακινούμε το δείγμα και το αφήνουμε στη συνέχεια σε ηρεμία για 20 min.
- Το διάλυμα διηθείται με ηθμό Whatman No 2 ή κάποιο αντίστοιχο.

3.1.4.1.3 Αρχή της μεθόδου

Δύο moles NO_3 αντιδρούν με ένα mole χρωμοτροπικού οξέως και σχηματίζουν σύμπλοκο, με κίτρινο χρώμα που απορροφά σε μήκος κύματος 410 nm. Υπολείμματα χλωρίου και κάποια οξείδια, μπορεί να αναπτύξουν κίτρινο χρώμα με το χρωμοτροπικό οξύ, γι αυτό προστίθεται θειικό οξύ.

3.1.4.1.3.1. Αντιδραστήρια

Διάλυμα Θειικής ουρίας: Παρασκευάζεται διαλύοντας 5 gr ουρίας και 4 gr Na_2SO_3 σε 100 ml απεσταγμένο νερό.



Αντιδραστήριο χρωμοτροπικού οξέος: Παρασκευάζεται διαλύοντας 0,1 gr χρωμοτροπικού οξέως σε 100 ml θειικού οξέως (H₂SO₄). Διατήρηση για 2 εβδομάδες σε σκούρα φιάλη.

Standard Νιτρικών (με μορφή N στα νιτρικά): Παρασκευάζεται διάλυμα 1.000 ppm με την προσθήκη 0,720 gr νιτρικού καλίου (KNO₃) σε 100 ml νερό. Στη συνέχεια το διάλυμα αυτό αραιώνεται δέκα φορές ώστε να προκύψει διάλυμα των 100 ppm. Με κατάλληλη αραιώση γίνεται η παρασκευή των standards διαλυμάτων.

3.1.4.1.3.2 Διαδικασία

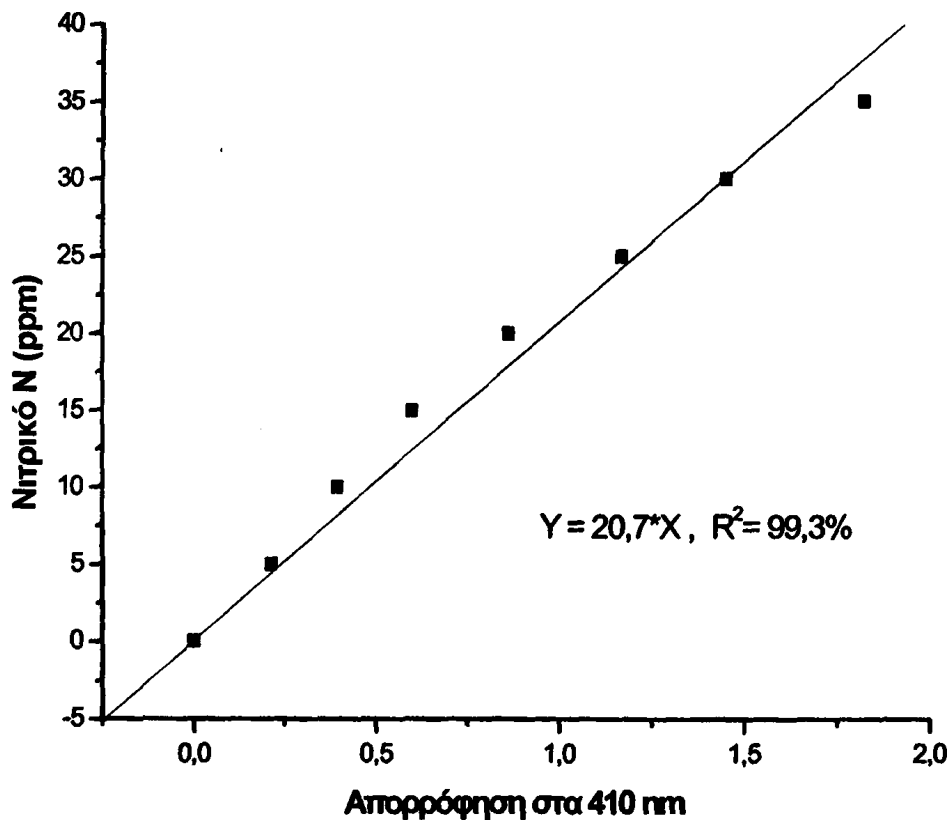
- Παίρνουμε 2 ml δείγματος και τα τοποθετούμε σε δοκιμαστικό σωλήνα.
- Προσθέτουμε μία σταγόνα από το αντιδραστήριο της θειικής ουρίας με συνεχή ανάδευση.
- Αφήνουμε το δείγμα σε ηρεμία για 4 min.
- Προσθέτουμε 1 ml από το αντιδραστήριο του χρωμοτροπικού οξέος με συνεχή ανάδευση.
- Στη συνέχεια προσθέτουμε 7 ml πυκνού θειικού οξέος (H₂SO₄).
- Αναδεύουμε για λίγο.
- Τοποθετούμε το δείγμα στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 10-20° C για 45 min.
- Παρασκευή standards διαλυμάτων:

STANDARDS 100 ppm (ml) N	Νερό (σε ml)	Τελική συγκέντρωση (σε ppm) N
0.0	2.0	0.0
0.1	1.9	5.0
0.2	1.8	10.0
0.3	1.5	15.0 κ.ο.κ.

Αφού προσθέσουμε τις παραπάνω ποσότητες νερού και διαλύματος 100 ppm N (παρασκευασμένο από νιτρικό κάλιο) σε δοκιμαστικούς σωλήνες, ακολουθούμε την ίδια διαδικασία με τα δείγματα.

- Μετράμε τα STANDARDS διαλύματα στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 410 nm και κατασκευάζουμε την καμπύλη αναφοράς.
- Στη συνέχεια στο ίδιο μήκος κύματος μετράμε και τα δείγματά μας.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς που προσδιορίστηκε με βάση τα standard διαλύματα του πειράματός μας.



Η παραπάνω καμπύλη αναφοράς αφορά την γραμμική σχέση, η οποία προκύπτει από την στατιστική επεξεργασία της γραμμικής παλινδρόμησης της συγκέντρωσης του νιτρικού αζώτου, πάνω στις ενδείξεις του φασματοφωτόμετρου και η οποία είναι :

$$Y = 20,7 \times X \quad (R^2 = 99,5\%) \quad \text{όπου,}$$

Υ είναι η συγκέντρωση του νιτρικού αζώτου σε ppm που αντιστοιχεί στην τιμή Χ της ένδειξης του φασματοφωτόμετρου. Επειδή στο εκάστοτε διάλυμα που εισάγεται προς μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο οι τιμές Υ αφορούν τις συγκεντρώσεις του νιτρικού Ν σε ppm, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των NO_3^- στα φύλλα του μαρουλιού και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έγινε ύστερα από αναγωγή των ppm νιτρικού Ν σε mg NO_3^- /kg νωπού βάρους.

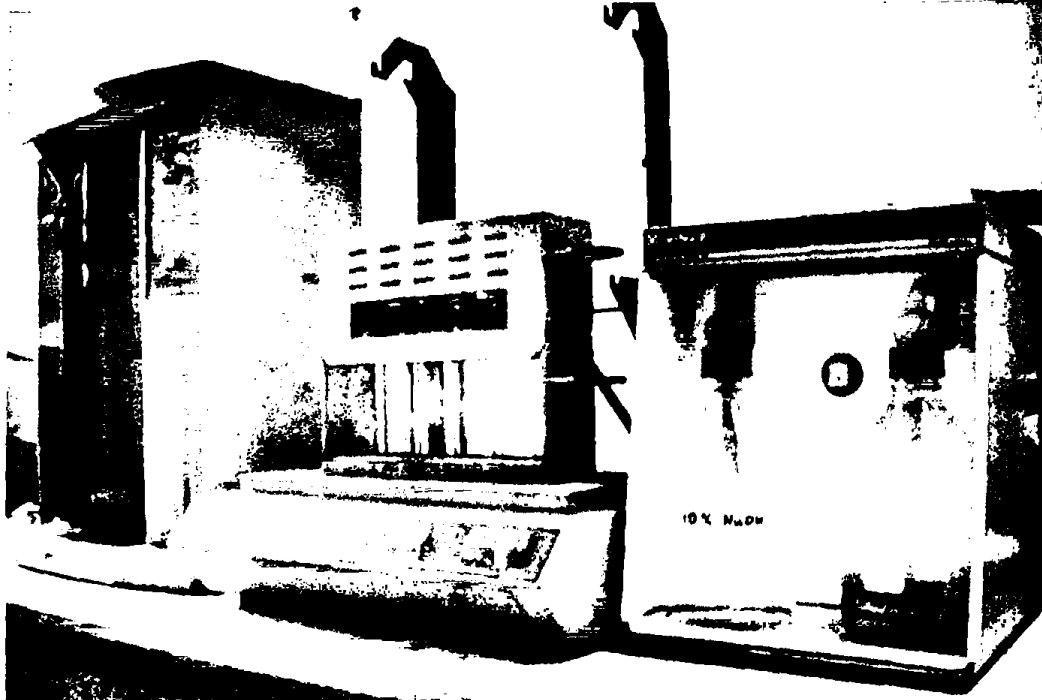
Για την μετατροπή των ppm νιτρικού Ν σε mg NO_3^- /kgf νωπού βάρους, υπολογίσθηκε αρχικά η περιεκτικότητα σε mg νιτρικών του δείγματος των 500 mg ξηρών ιστών, τα οποία ανάγονται σε βάρος νωπών ιστών λαμβάνοντας υπόψη τον συντελεστή αφυδάτωσης. Από την τιμή αυτή αναλογικά προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε νιτρικά ανά χιλιόγραμμο νωπού βάρους.

3.1.5 Προσδιορισμός ολικού αζώτου μέθοδος (Kjeldahl)

3.1.5.1 Γενικά

Αυτή η μέθοδος περιγράφει τον προσδιορισμό του ολικού αζώτου, κατά Kjeldahl, στα πόσιμα, επιφανειακά και υπόγεια νερά. Κατά την διαδικασία αυτή, μετράται η ελεύθερη αμμωνία και η αμμωνία που σχηματίζεται, κατά την μετατροπή του οργανικού αζώτου σε θειικό αμμώνιο $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ (φάση καύσης). Στη συνέχεια προσδιορίζεται το αμμωνιακό άζωτο με απόσταξη.

Ως **οργανικό άζωτο** κατά Kjeldahl, ορίζεται η διαφορά της τιμής της ελεύθερης αμμωνίας από την τιμή του ολικού αζώτου κατά Kjeldahl. Ως **ολικό άζωτο** κατά Kjeldahl, ορίζεται το άθροισμα της ελεύθερης αμμωνίας και του οργανικού που μετατρέπεται σε θειικό αμμώνιο $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$.



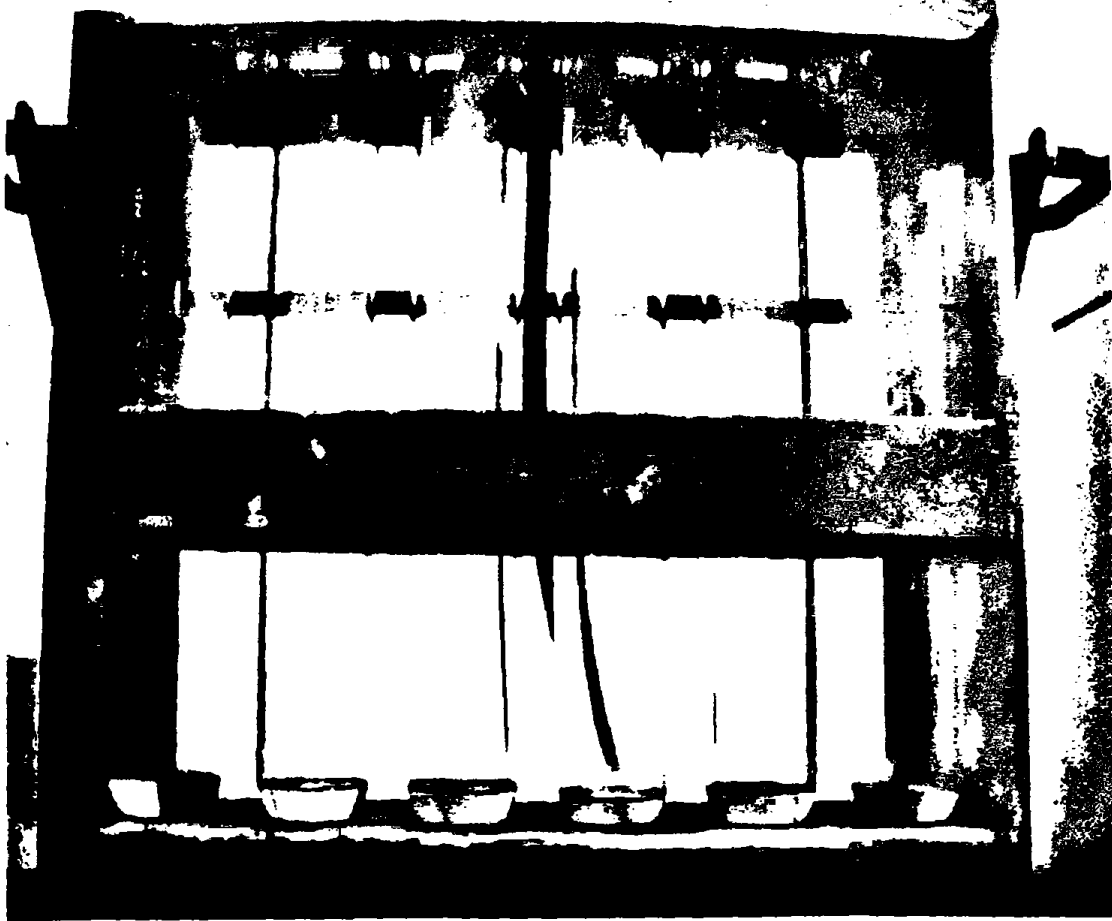
Εικόνα 6. Πειραματική διάταξη προσδιορισμού αζώτου κατά Kjeldahl, η οποία περιλαμβάνει (από αριστερά προς τα δεξιά): συσκευή αλκαλικής απόσταξης (VaroDEST), συσκευή υγρής χώνευσης 6 θέσεων (Turbotherm) και αναρροφητική συσκευή συλλογής ατμών καύσης (Turbosog).

(πηγή: προσωπικό αρχείο)

3.1.5.2 Υγρή χώνευση (καύση)

Η οργανική ουσία οξειδώνεται μέσω βρασμού με πυκνό H_2SO_4 παρουσία καταλυτών (K_2SO_4 , $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, Se), και το άζωτο (εκτός των νιτρικών) μετατρέπεται ποσοτικά σε ιόντα αμμωνίου, τα οποία παγιδεύονται ως $(NH_4)_2SO_4$, σύμφωνα με την αντίδραση: $H_2SO_4 + 2NH_3 \rightarrow (NH_4)_2SO_4$.

Για κάθε δείγμα ζυγίσουμε 0,5 gr φυτικού υλικού, τα οποία τοποθετήθηκαν σε σωλήνα Kjeldahl, μαζί με 2 ταμπλέτες μίγματος καταλύτη (100 g K_2SO_4 , 10 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ και 1,5 g Se) και 20 ml πυκνού H_2SO_4 . Έπειτα οι σωλήνες τοποθετήθηκαν στη συσκευή καύσης για 80 λεπτά. Στη διαδικασία συμπεριλάβαμε και ένα λευκό δείγμα (blank). Η καύση έχει ολοκληρωθεί όταν το χρώμα του δείγματος εντός του κυλίνδρου είναι διαυγές γαλαζοπράσινο. Πριν ακολουθήσει το επόμενο στάδιο, οι σωλήνες παρέμειναν για 15-20 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για να κρυώσουν.

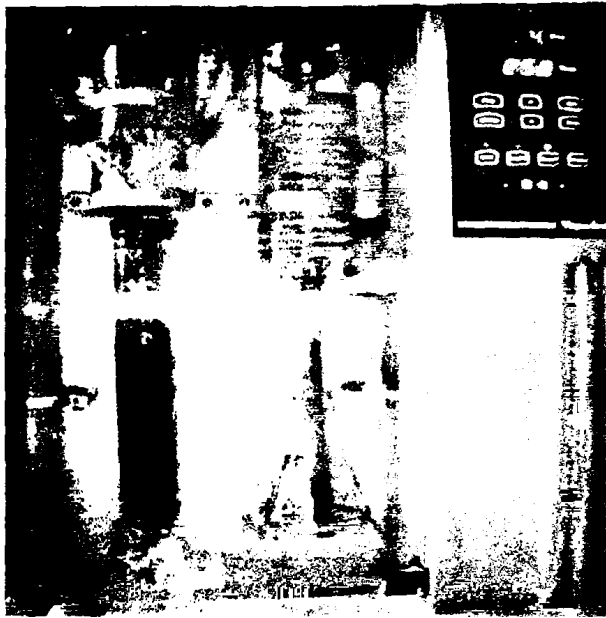


Εικόνα 7. Μίγμα καύσης μετά το πέρας της χώνευσης.

(πηγή: προσωπικό αρχείο)

3.1.5.3 Απόσταξη

Κάθε σωλήνας μεταφέρθηκε διαδοχικά στη θέση εισόδου (εικόνα αριστερή υποδοχή) της αποστακτικής συσκευής, ενώ στη θέση εξόδου (εικόνα δεξιά υποδοχή) μεταφέρθηκε κωνική φιάλη. Η διαδικασία απόσταξης περιλαμβάνει αυτόματη προσθήκη 70 ml απιονισμένου H_2O , 70ml $NaOH$ 3% και απόσταξη για 5 λεπτά.



Εικόνα 8. Συσκευή απόσταξης (Varodest) κατά τη διάρκεια επεξεργασίας δείγματος. Στον αριστερό υποδοχέα έχουμε τοποθετήσει τη φιάλη Kjeldahl, ενώ στα δεξιά την κωνική φιάλη.

(πηγή: προσωπικό αρχείο)

3.1.5.4 Τιτλοδότηση

Μετά την απόσταξη προστίθενται 1-2 σταγόνες δείκτη στο διάλυμα της κωνικής φιάλης με αποτέλεσμα να παίρνει χρώμα πράσινο. Το ποσό αμμωνίας που έχει παγιδευτεί στο διάλυμα της κωνικής φιάλης προσδιορίζεται με τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα ισχυρού οξέος (HCl). Το τέλος της ογκομέτρησης σηματοδοτείται με την αλλαγή του πράσινου χρώματος σε ελαφρύ ρόδινο.

Ο υπολογισμός της περιεκτικότητας σε N των δειγμάτων έγινε με την βοήθεια της σχέσης: $N \text{ ολικό} = [(A * 0,0014) / B] * 100 \text{ g\%}$ όπου

A: ml διαλύματος HCl 0,1 N που καταναλώθηκαν για την εξουδετέρωση της αποσταχθείσας αμμωνίας

B: g δείγματος και 0,0014: συντελεστής μετατροπής 1 ml διαλύματος H₂SO₄ 0,1 N σε g ολικού αζώτου.

3.2 Αποτελέσματα – Συζήτηση

3.2.1 Βάρος των φυτών

Το εύρος των τιμών του βάρους των φυτών κατά το στάδιο της δειγματοληψίας κυμάνθηκε μεταξύ των 70 και 140 g. Οι μέσες τιμές βάρους των φυτών για τους εννέα συνδυασμούς αζωτούχου και θειικής λίπανσης του πειράματος παρουσιάζονται στον πίνακα 1, και στο γράφημα της εικόνας 1.

Πίνακας 1: Μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα του βάρους των μαρουλιών για τις εννέα επεμβάσεις (συνδυασμοί αζωτούχου και θειικής λίπανσης) του πειράματος.

Είδος επέμβασης ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ Ν ΚΑΙ S ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΤΟΥ ΠΟΤΙΣΜΑΤΟΣ ($\text{mg} \times \text{L}^{-1}$)	ΜΕΣΟ ΒΑΡΟΣ ΚΕΦΑΛΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ (σε g)
N 100 × S 0	99,4 ± 3,02
N 100 × S 150	117 ± 4,4
N 100 × S 300	99 ± 3,67
N 200 × S 0	111 ± 5,5
N 200 × S 150	103,8 ± 15,56
N 200 × S 300	94,2 ± 6,34
N 400 × S 0	98,8 ± 4,89
N 400 × S 150	120,4 ± 5,74
N 400 × S 300	120,6 ± 5,93
LSD (για 36 BE και n=5)	20,23

Η ανάλυση της διασποράς των τιμών του βάρους των φυτών (σύμφωνα με το Εντελώς Τυχαίοποιημένο Σχέδιο με δύο παράγοντες και τρία επίπεδα ο κάθε ένας) έδειξε ότι:

Μεταξύ των επιπέδων N 100, N 200 και N 400 του παράγοντα «αζωτούχος λίπανση» δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μέσες τιμές βάρους των μαρουλιών.

N 100 : $105,1 \pm 3$ g

N 200 : $103 \pm 5,76$ g

N 400 : $113,26 \pm 4$ g

F = 2,008 για 2 και 36 ΒΕ, P = 0,15

Επίσης, μεταξύ των τριών επιπέδων του παράγοντα «θειική λίπανση» δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

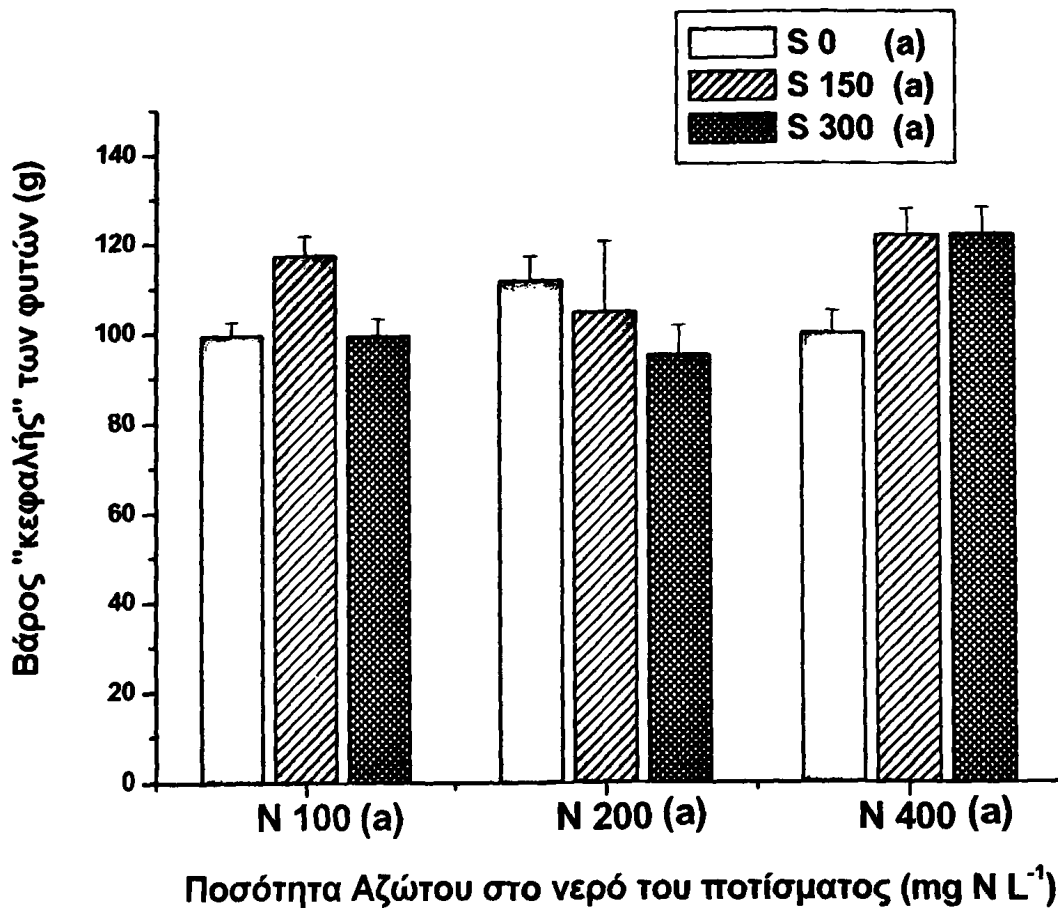
S 0 : $130,06 \pm 2,88$ g

S 150 : $113,73 \pm 5,63$ g

S 300 : $104,6 \pm 4,22$ g

F = 1,772 για 2 και 36 ΒΕ, P = 0,184

Τέλος, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων του πειράματος (Αζωτούχος και Θειική λίπανση). Το πειραματικό F ήταν 2,35 για 4 και 36 ΒΕ με P = 0,072.



Εικόνα 1. Μέσοι και τυπικά σφάλματα του βάρους της κεφαλής των μαρουλιών του πειράματος. Οι μέσοι που δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα, σύμφωνα με το κριτήριο της Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (ΕΣΔ) και για επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Τα παραπάνω αποτελέσματα φανερώνουν ότι, α) η πρόσθετη θειική λίπανση δεν συμβάλλει στην αύξηση του βάρους των φυτών και β) η αύξηση της αζωτούχου λίπανσης έχει μικρή επίδραση στο βάρος των φυτών και μάλιστα χωρίς στατιστικά σημαντική μεταβολή. Τα φυτά κατά μέσο όρο παρουσίασαν αύξηση βάρους μόνο κατά 10 g, όταν τετραπλασιάστηκε η συγκέντρωση του αζώτου στο νερό του ποτίσματος.

Αντίστοιχα αποτελέσματα επί της επίδρασης του συνδυασμού αζωτούχου και θειικής λίπανσης στο βάρος των φυτών του μαρουλιού αναφέρονται και σε προηγούμενη μελέτη (Ράπτη, 2009). Σε αντίθεση όμως με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, οι διαφορές στο μέσο βάρος των φυτών μεταξύ των τριών επιπέδων της αζωτούχου λίπανσης, είχαν βρεθεί στατιστικά σημαντικές. Το βάρος των φυτών του μαρουλιού αυξανόταν με την

αύξηση της αζωτούχου λίπανσης. Αντίθετα στην παρούσα μελέτη δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο βάρος των φυτών μεταξύ των επιπέδων της αζωτούχου λίπανσης.

Η διαφορά αυτή στην αντίδραση των φυτών στην αζωτούχο λίπανση πιθανά οφείλεται στην διαφορετική εποχή διεξαγωγής των δύο πειραμάτων. Στην προηγούμενη εργασία η εποχή διεξαγωγής του πειράματος ήταν αρχές άνοιξης, ενώ στην παρούσα μελέτη η εποχή διεξαγωγής των πειραμάτων ήταν μέσα χειμώνα. Είναι λοιπόν προφανής η διαφορά στην διάρκεια της φωτοπεριόδου και κατ' επέκταση στην διάρκεια της ενεργού φωτοσυνθετικής δραστηριότητας, η οποία σε μεγάλο βαθμό καθορίζει την αύξηση της βιομάζας των φυτών. Επιπλέον οι μικρότερες ανάγκες εξατμισοδιαπνοής των φυτών στην παρούσα μελέτη είχαν σαν αποτέλεσμα την εφαρμογή λιγότερων ποτισμάτων και συνεπώς η συνολική ποσότητα αζώτου που χορηγήθηκε στα φυτά ήταν μικρότερη σε σχέση με την προηγούμενη αναφερθείσα εργασία. Το γεγονός είναι ότι και από τις δύο μελέτες μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι ο διπλασιασμός ή και τετραπλασιασμός της αζωτούχου λίπανσης μόνο μικρή επίδραση μπορεί να έχει στην αύξηση του βάρους των φυτών, ιδιαίτερα κατά την χειμερινή περίοδο.

3.2.2 Περιεκτικότητα Νιτρικών στα φύλλα των φυτών

Οι μέσες τιμές των νιτρικών ανιόντων που ανιχνεύθηκαν στα εξωτερικά φύλλα της κεφαλής των φυτών για τις εννέα επεμβάσεις του πειράματος παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2: Μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα της περιεκτικότητας σε νιτρικά των εξωτερικών φύλλων της κεφαλής των φυτών, για τις εννέα επεμβάσεις (συνδυασμοί αζωτούχου και θειικής λίπανσης) του πειράματος.

Είδος επέμβασης ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ Ν ΚΑΙ S ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΤΟΥ ΠΟΤΙΣΜΑΤΟΣ ($\text{mg} \times \text{L}^{-1}$)	ΜΕΣΗ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΝΙΤΡΙΚΑ ΤΩΝ ΕΞΩΤΕΡΙΚΩΝ ΦΥΛΛΩΝ (σε $\text{mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ)
N 100 × S 0	229,16 ± 37,82
N 100 × S 150	265,5 ± 59,2



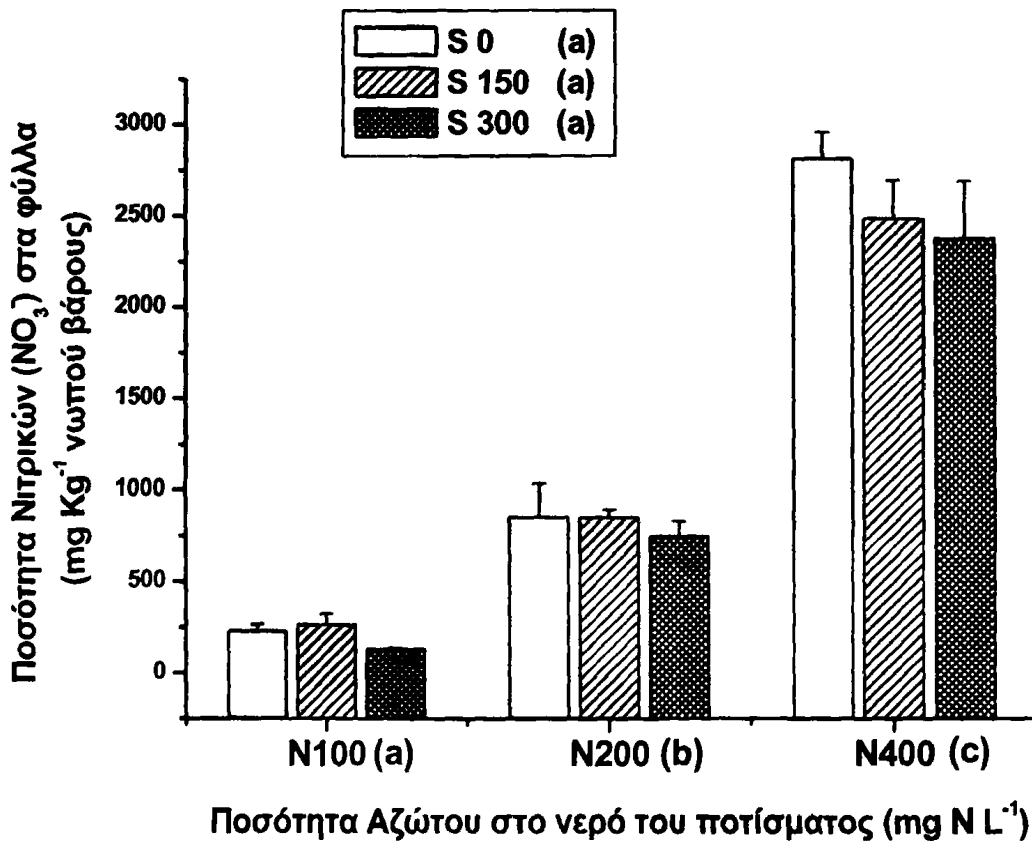
N 100 × S 300	128,43 ± 9,1
N 200 × S 0	847,84 ± 186,6
N 200 × S 150	846 ± 44,16
N 200 × S 300	743,43 ± 86,2
N 400 × S 0	2805,42 ± 146
N 400 × S 150	2478,48 ± 209,1
N 400 × S 300	2370,23 ± 312,4
LSD (για 36 BE και n=5)	440,5

Είναι προφανές ότι η συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα των φυτών εξαρτάται κυρίως από την ποσότητα του αζώτου στο νερό του ποτίσματος. Η ανάλυση της διασποράς και η δοκιμασία του F για τις τιμές των νιτρικών στα φύλλα των φυτών του πειράματος έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα των μαρουλιών ($F= 188,64$ για 2 και 36 BE, $P= 0,00$). Οι μέσες τιμές των νιτρικών ανεξάρτητα από τα επίπεδα της θειικής λίπανσης (περιθωριακοί μέσοι), από $207,7 \pm 26,8 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ στις μεταχειρίσεις με χαμηλό άζωτο (N:100), αυξάνονται στα $812,42 \pm 66,1 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ στις ενδιάμεσες αζωτούχους λιπάνσεις (N:200), και φθάνει τα $2551,38 \pm 133,74 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ στις μεταχειρίσεις με αυξημένο άζωτο (N:400).

Παράλληλα φαίνεται πως τα φυτά στις μεταχειρίσεις με πρόσθετη θειική λίπανση παρουσίασαν μικρότερες τιμές νιτρικών σε σχέση με τα φυτά που δεν έγινε λίπανση με προσθήκη θειικών ανιόντων. Οι μέσες τιμές νιτρικών για όλες τις μεταχειρίσεις χωρίς πρόσθετη θειική λίπανση (περιθωριακός μέσος με S:0) ήταν $1294,14 \pm 302,67 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ και στις μεταχειρίσεις με S:150 ήταν $1196,65 \pm 259,57 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ. Η μέση τιμή όμως στις μεταχειρίσεις με υψηλή πρόσθετη θειική λίπανση (S:300) μειώθηκε στα $1080,69 \pm 271,85 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ. Οι διαφορές αυτές όμως ήταν στατιστικά μη σημαντικές και αυτό λόγω του μεγάλου εύρους των τιμών των νιτρικών μέσα



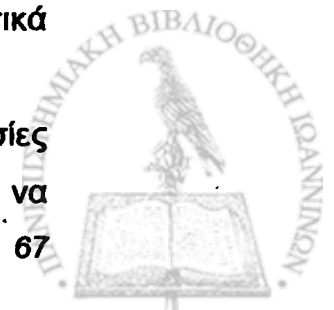
στις διάφορες επεμβάσεις του πειράματος που έχουν σαν αποτέλεσμα το αυξημένο πειραματικό σφάλμα ($F= 1,45$ για 2 και 36 BE, $P= 0,247$). Επιπλέον η ανάλυση έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων (αζωτούχου και θειικής λίπανσης) στην συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα των φυτών ($F= 0,54$ για 4 και 36 BE, $P= 0,7$). Τα προηγούμενα παρουσιάζονται στο γράφημα της εικόνας 2.



Εικόνα 2. Μέσοι και τυπικά σφάλματα της ποσότητας των νιτρικών στα εξωτερικά φύλλα της κεφαλής των μαρουλιών του πειράματος. Οι μέσοι που δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα, σύμφωνα με το κριτήριο της Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (ΕΣΔ) και για επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Αντίστοιχα αποτελέσματα αναφέρονται και σε προηγούμενη μελέτη (Ράπτη, 2009) και μάλιστα στην εργασία αυτή η επίδραση της πρόσθετης θειικής λίπανσης στον περιορισμό της ποσότητας των νιτρικών στα φύλλα των φυτών και οι διαφορές μεταξύ των επιπέδων της ήταν και στατιστικά σημαντικές, ιδιαίτερα στο επίπεδο των 300 mg × L⁻¹ θειικών ανιόντων.

Από την παρούσα μελέτη αλλά και από προηγούμενες εργασίες (Βασδέκης κ.α., 2005, Καριπίδης κ.α., 2007, Ράπτη, 2009) μπορούμε να



συμπεράνουμε ότι, α) η κύρια αιτία αύξησης των νιτρικών στα φύλλα του μαρουλιού είναι η αύξηση της αζωτούχου λίπανσης και β) η παρουσία των θειικών ανιόντων στο θρεπτικό διάλυμα έχει περιοριστική δράση στην συσσώρευση των νιτρικών στα φύλλα των φυτών, ιδιαίτερη σε υψηλές συγκεντρώσεις ($S: 300 \text{ mg} \times \text{L}^{-1}$).

Αναφορικά με την δεύτερη διαπίστωση που προέκυψε από την ανάλυση των πειραματικών μας δεδομένων, δύο είναι οι πιθανότερες αιτίες που μπορεί να εξηγήσουν την περιοριστική δράση των θειικών στην συσσώρευση των νιτρικών στα φύλλα των φυτών.

1. Τα θειικά ανιόντα εμπλέκονται σε κάποιο είδος ανταγωνισμού με τα νιτρικά στο θρεπτικό διάλυμα κατά την απορρόφησή τους από τις ρίζες των φυτών, καθώς και τα δύο είδη ανιόντων προσλαμβάνονται από τα φυτά όχι επιλεκτικά αλλά μέσω της μαζικής ροής κατά την απορρόφηση του νερού η οποία συντελείται κατά την λειτουργία της διαπνοής των φυτών.
2. Η πρόσθετη θειική λίπανση προκαλεί αύξηση της ποσότητας του ολικού θείου που απορροφάται από τα φυτά αυξάνοντας έτσι μεταβολική δραστηριότητα των φυτών μέσω της αύξησης της ενεργότητας των ενζύμων και ιδιαίτερα της ρεδοκτάσης των νιτρικών (της οποίας κεντρική θέση στην δομή και την δράση της κατέχει το θείο) με τελικό αποτέλεσμα την ταχύτερη αναγωγή των νιτρικών σε νιτρώδη και τελικώς οργανικής μορφής άζωτο.

Απάντηση σε ποιο από τα δύο παραπάνω αίτια οφείλεται με μεγαλύτερη πιθανότητα η παρατηρούμενη μείωση των νιτρικών από την δράση των θειικών ανιόντων στο εδαφικό διάλυμα, μπορεί να δώσει η παράλληλη μελέτη της συσσώρευσης του οργανικού αζώτου στα φύλλα των φυτών. Έτσι, αν ισχύει η δεύτερη εκδοχή, θα πρέπει στις περιπτώσεις των επεμβάσεων με πρόσθετη θειική λίπανση, η παρατηρούμενη μείωση των νιτρικών να συνοδεύεται από αύξηση του οργανικού αζώτου.

3.2.3 Οργανικό άζωτο στα φύλλα.

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού του οργανικού αζώτου στα φύλλα των φυτών του πειράματος παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 3.



συμπεράνουμε ότι, α) η κύρια αιτία αύξησης των νιτρικών στα φύλλα του μαρουλιού είναι η αύξηση της αζωτούχου λίπανσης και β) η παρουσία των θειικών ανιόντων στο θρεπτικό διάλυμα έχει περιοριστική δράση στην συσσώρευση των νιτρικών στα φύλλα των φυτών, ιδιαίτερη σε υψηλές συγκεντρώσεις (S: 300 mg× L⁻¹).

Αναφορικά με την δεύτερη διαπίστωση που προέκυψε από την ανάλυση των πειραματικών μας δεδομένων, δύο είναι οι πιθανότερες αιτίες που μπορεί να εξηγήσουν την περιοριστική δράση των θειικών στην συσσώρευση των νιτρικών στα φύλλα των φυτών.

1. Τα θειικά ανιόντα εμπλέκονται σε κάποιο είδος ανταγωνισμού με τα νιτρικά στο θρεπτικό διάλυμα κατά την απορρόφησή τους από τις ρίζες των φυτών, καθώς και τα δύο είδη ανιόντων προσλαμβάνονται από τα φυτά όχι επιλεκτικά αλλά μέσω της μαζικής ροής κατά την απορρόφηση του νερού η οποία συντελείται κατά την λειτουργία της διαπνοής των φυτών.
2. Η πρόσθετη θειική λίπανση προκαλεί αύξηση της ποσότητας του ολικού θείου που απορροφάται από τα φυτά αυξάνοντας έτσι μεταβολική δραστηριότητα των φυτών μέσω της αύξησης της ενεργότητας των ενζύμων και ιδιαίτερα της ρεδουκτάσης των νιτρικών (της οποίας κεντρική θέση στην δομή και την δράση της κατέχει το θείο) με τελικό αποτέλεσμα την ταχύτερη αναγωγή των νιτρικών σε νιτρώδη και τελικώς οργανικής μορφής άζωτο.

Απάντηση σε ποιο από τα δύο παραπάνω αίτια οφείλεται με μεγαλύτερη πιθανότητα η παρατηρούμενη μείωση των νιτρικών από την δράση των θειικών ανιόντων στο εδαφικό διάλυμα, μπορεί να δώσει η παράλληλη μελέτη της συσσώρευσης του οργανικού αζώτου στα φύλλα των φυτών. Έτσι, αν ισχύει η δεύτερη εκδοχή, θα πρέπει στις περιπτώσεις των επεμβάσεων με πρόσθετη θειική λίπανση, η παρατηρούμενη μείωση των νιτρικών να συνοδεύεται από αύξηση του οργανικού αζώτου.

3.2.3 Οργανικό άζωτο στα φύλλα.

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού του οργανικού αζώτου στα φύλλα των φυτών του πειράματος παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 3.



Πίνακας 3: Μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα της περιεκτικότητας σε οργανικό άζωτο των φύλλων της κεφαλής των φυτών, για τις εννέα επεμβάσεις (συνδυασμοί αζωτούχου και θειικής λίπανσης) του πειράματος.

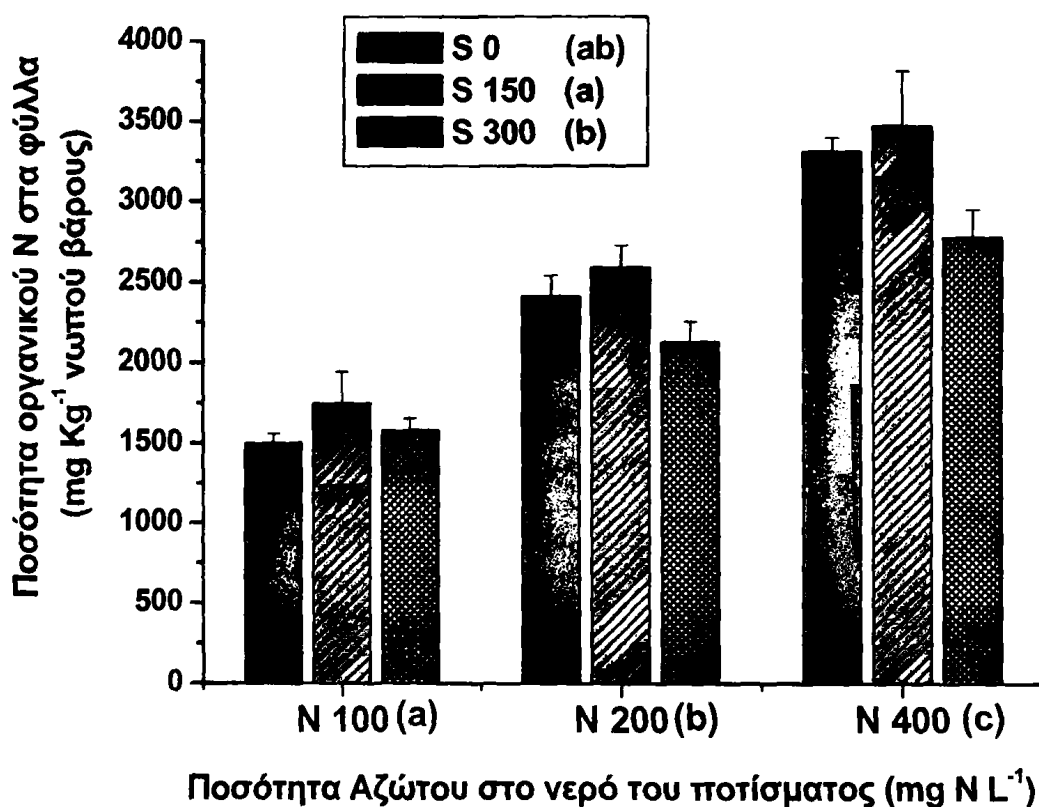
Είδος επέμβασης ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ N ΚΑΙ S ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΤΟΥ ΠΟΤΙΣΜΑΤΟΣ ($\text{mg} \times \text{L}^{-1}$)	ΜΕΣΗ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΣΕ ΟΡΓΑΝΙΚΟ ΑΖΩΤΟ (σε $\text{mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ)
N 100 × S 0	1496,16 ± 60,48
N 100 × S 150	1741,94 ± 195,07
N 100 × S 300	1575,43 ± 73,24
N 200 × S 0	2407,11 ± 132,14
N 200 × S 150	2587,37 ± 137,5
N 200 × S 300	2122,03 ± 128,92
N 400 × S 0	3308,1 ± 84,41
N 400 × S 150	3466,07 ± 341,38
N 400 × S 300	2776,45 ± 167,38
LSD (για 36 BE και n=5)	479,7

Η ανάλυση της διασποράς των τιμών της περιεκτικότητας των φύλλων σε οργανικό άζωτο έδειξε ότι η αύξηση της αζωτούχου λίπανσης έχει στατιστικά σημαντική επίδραση στην συσσώρευση του οργανικού αζώτου στα φύλλα ($F= 66,86$ για 2 και 36 BE, $P= 0,00$). Η μέση τιμή του οργανικού αζώτου για την χαμηλή αζωτούχο λίπανση (N:100), ανεξάρτητα από την θειική λίπανση που χορηγήθηκε στα φυτά (περιθωριακός μέσος), ήταν $1604,5 \pm 72,33 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ. Στην ενδιάμεση αζωτούχο λίπανση (N:200) αυξάνεται στην τιμή των $2372,17 \pm 87,57 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ και στην υψηλή αζωτούχο λίπανση (N:400) στην τιμή των $3183,54 \pm 143,7 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ, (LSD = 276,96 για 36 BE και n=15).

Και ο παράγοντας θειική λίπανση έχει στατιστικά σημαντική επίδραση

στην ποσότητα του οργανικού αζώτου που μετρήθηκε στα φύλλα των φυτών του πειράματος ($F= 5,22$ για 2 και 36 ΒΕ, $P= 0,01$). Οι συγκρίσεις των περιθωριακών μέσων για τον παράγοντα θειική λίπανση έδειξαν ότι το οργανικό άζωτο μειώνεται στατιστικά σημαντικά στην περίπτωση της υψηλής θειικής λίπανσης (S:300) με μέση τιμή τα $2157,97 \pm 148,2 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ σε σχέση με τα $2403,79 \pm 204,39 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ και $2598,46 \pm 227,85 \text{ mg} \times \text{Kg}^{-1}$ νβ για την χαμηλή (S:0) και ενδιάμεση (S:150) θειική λίπανση, οι οποίες και δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($LSD = 276,96$ για 36 ΒΕ και $n=15$).

Τα παραπάνω παρουσιάζονται και στο γράφημα της εικόνας 3.

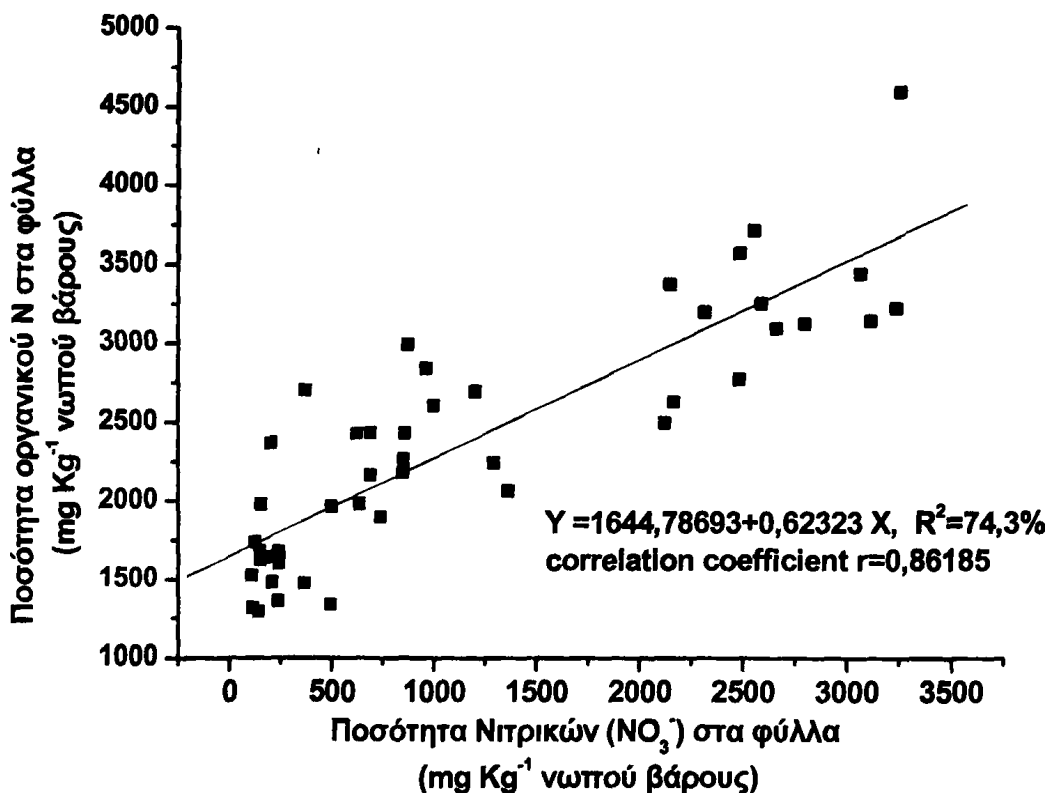


Εικόνα 3. Μέσοι και τυπικά σφάλματα της ποσότητας του οργανικού αζώτου στα φύλλα της κεφαλής των μαρουλιών (εξωτερικά) του πειράματος. Οι μέσοι που δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα, σύμφωνα με το κριτήριο της Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (ΕΣΔ) και για επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Τα παραπάνω αποτελέσματα φανερώνουν ότι η αυξημένη θειική λίπανση δεν προκαλεί την αύξηση του οργανικού αζώτου αλλά αντίθετα στην περίπτωση αυτή το οργανικό άζωτο μειώνεται παράλληλα με την μείωση και του αζώτου της νιτρικής μορφής.



Η ανάλυση της συσχέτισης μεταξύ των τιμών των νιτρικών και του οργανικού αζώτου που ανιχνεύθηκαν στα φύλλα των φυτών του μαρουλιού (εικόνα 4), φανερώνει ένα υψηλό θετικό συντελεστή συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών ($r=+0,86$) και η ευθεία παλινδρόμησης μεταξύ των δύο μεταβλητών ($Y=1644,78 + 0,623X$) εξηγεί το μεγαλύτερο μέρος της ολικής παραλλακτικότητας ($R^2=74,3\%$). Με άλλα λόγια η μείωση των νιτρικών στα φύλλα των φυτών στην περίπτωση της υψηλής θειικής λίπανσης συνοδεύεται όχι από αύξηση του οργανικού αζώτου αλλά από αντίστοιχη μείωση.



Εικόνα 4. Ανάλυση της συσχέτισης μεταξύ νιτρικών ανιόντων και οργανικού αζώτου που προσδιορίστηκαν στα φύλλα των φυτών του πειράματος.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η κύρια αιτία αύξησης των νιτρικών στα φύλλα του μαρουλιού είναι η αύξηση της αζωτούχου λίπανσης. Ο διπλασιασμός και ο τετραπλασιασμός της χορηγούμενης αζωτούχου λίπανσης προκαλεί ελάχιστη αύξηση στο βάρος της κεφαλής των φυτών, ενώ αυξάνει υπέρμετρα την συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αλλά και προηγούμενων αντίστοιχων εργασιών έδειξαν ότι όταν μαζί με την αζωτούχο λίπανση χορηγούνται και θειικά ανιόντα, περιορίζεται η συσσώρευση των νιτρικών στα φύλλα σε σχέση με τις περιπτώσεις όπου υπάρχουν χαμηλές συγκεντρώσεις θειικών στο νερό του ποτίσματος και κατά επέκταση στο εδαφικό διάλυμα.

Από την μελέτη της συσσώρευσης του οργανικού αζώτου και την ανάλυση της συσχέτισής του με την ποσότητα των νιτρικών στα φύλλα των φυτών, φαίνεται ότι η κύρια δράση των θειικών ανιόντων αναφορικά με την συσσώρευση των νιτρικών εντοπίζεται κυρίως σε ένα είδος ανταγωνισμού στην απορρόφηση των δύο ανιόντων από τις ρίζες των φυτών και όχι στην αύξηση και εντατικοποίηση του μεταβολισμού της αναγωγής των νιτρικών στα φύλλα.

Παράρτημα

ΒΑΡΟΣ ΚΕΦΑΛΗΣ ΦΥΤΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Πίνακας ανάλυσης της διασποράς και δοκιμασία του F για τα αποτελέσματα του βάρους της κεφαλής των μαρουλιών.

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσο Τετράγωνο	F	P
Παράγοντας 1 ^ο : N	2	997,73	498,86	2,007	0,149
Παράγοντας 2 ^ο : S	2	880,533	440,26	1,77	0,184
Αλληλεπίδραση N*S	4	2338,93	584,73	2,35	0,072
Υπόλοιπο	36	8944	248,44		
Σύνολο	44	13161,2			

ΝΙΤΡΙΚΑ ΣΤΑ ΕΞΩΤΕΡΙΚΑ ΦΥΛΛΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Πίνακας ανάλυσης της διασποράς και δοκιμασία του F για τα αποτελέσματα των νιτρικών στα εξωτερικά φύλλα της κεφαλής των μαρουλιών.

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσο Τετράγωνο	F	P
Παράγοντας 1 ^ο : N	2	342549,39	171274,7	1,45	0,247
Παράγοντας 2 ^ο : S	2	44412589,21	22206294,6	188,64	0,00**
Αλληλεπίδραση N*S	4	256895,5	64223,87	0,545	0,703
Υπόλοιπο	36	4237723,48	117714,54		
Σύνολο	44	49249757,58			

ΟΛΙΚΟ ΟΡΓΑΝΙΚΟ ΑΖΩΤΟ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Πίνακας ανάλυσης της διασποράς και δοκιμασία του F για τα αποτελέσματα του ολικού οργανικού αζώτου στα φύλλα της κεφαλής των μαρουλιών.

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσο Τετράγωνο	F	P
Παράγοντας 1 ^ο : N	2	1461768,96	730884,48	5,2256	0,0102*
Παράγοντας 2 ^ο : S	2	18704926,79	9352463,4	66,867	0,00***
Αλληλεπίδραση N*S	4	551387,88	137846,97	0,9855	0,427
Υπόλοιπο	36	5035183,49	139866,21		
Σύνολο	44	25753267,13			

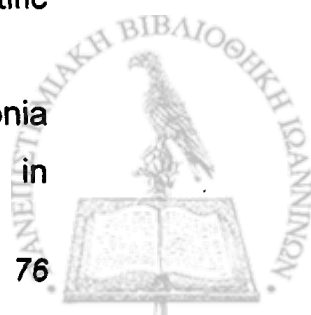
Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσσες αναφορές

1. Addiscott T.M. with contributions from Cold A.J., Oviatt C.A., Benjamin N. and Giller K.E., 2005. Nitrate ,agriculture and the environment., pp 145-152, 159-171, 201-203.
2. Atkinson, D., Jackson, J. E., Sharples, R.O and Waller, W. M. (eds). 1980 Mineral nutrition of fruit trees. Butterwoths. London pp 435.
3. Blom-Zandstra., M., 1989. Nitrate accumulation in vegetables and its relationship to quality. *Ann. Apl. Biol.* 115: 553-561.
4. Cohen E., Okon Y., Kigel J., Nur I., Henis Y. 1980. Increase in Dry Weight and Total Nitrogen Content in *Zea mays* and *Setaria italica* Associated with Nitrogen-fixing *Azospirillum* spp. *Plant Physiology*, 66: 746-749.
5. Gastal F., Lemaire G. 2002. N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany*, 53: 789-799.
6. Greenwood D. J., Lemaire G., Gosse G., Cruz P., Draycott A., Neeteson J. J. 1990. Decline in percentage of C3 and C4 Crops with Increasing Plant Mass. *Annals of Botany*, 66: 425-436.
7. Grindlay D. J. C. 1997. Towards an explanation of crop nitrogen demand based on the optimization of leaf nitrogen per unit leaf area. *Journal of Agricultural Science*, 128: 377-396.
8. Hodge A., Robinson D., Fitter A. 2000. Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? *Trends in Plant Science*, 5: 304-308.
9. Kennedy R. I., Choudhury A.T.M.A., Kecskés L. M. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 1229-1244.
10. Kowalenko, C.G., and Van Laerhoven C.J., (1998). Total sulfur determination in plant tissue. In "Handbook of reference methods for plant analysis". (Y.P Kartra ed.) CRC Press,. Boca Raton, Florida. pp. 93-102.



11. Lambers H., Chapin III S. F., Pons L. T. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
12. Li L., Yang S., Li X., Zhang F., Christie P. 1999. Interspecific complementary and competitive interactions between intercropped maize and faba bean. *Plant and Soil*, 212: 105-114.
13. Li L., Sun J., Li X., Yang S., Rengel Z. 2001. Wheat/maize or wheat/soybean intercropping. I. Yield advantage and interspecific interactions on nutrients. *Field Crops Research*, 71: 123-137.
14. Lötscher M., Stroh K., Schnyder H. 2003. Vertical Leaf Nitrogen Distribution in Relation to Nitrogen Status in Grassland Plants. *Annals of Botany*, 92: 1-10.
15. Norse D. 2003. Fertilizers and world food demand-implications for environmental stresses. *Agro-Chemicals Report*, 3: 14-22.
16. Papparozzi, E. T. (1999). Nitrogen and sulfur interaction in floricultural crops. *Acta Horticulturae* 481:379-383.
17. Park M., Kim C., Yang J., Lee H., Shin W., Kim S., Sa T. 2005. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiological Research*, 160: 127-133.
18. Sánchez L., Díez A. J., Vallejo A., Cartagena C. M. 2001. Denitrification losses from irrigated crops in central Spain. *Soil Biology & Biochemistry*, 33: 1201-1209.
19. Saubidet I. M., Fatta N., Barneix J. A. 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant and Soil*, 245: 215-222.
20. Šimek M, Cooper E. J. 2001. Nitrogen Use Efficiency in Temperate Zone Arable Lands. In: Shiyomi M, Koizumi H., ed. *Structure and Function in Agroecosystem Design and Management*. CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., pp. 228-251.
21. Smil V. 1997. *Global Population and the Nitrogen Cycle*. Scientific American Inc., pp. 76-81.
22. Sommer G. S., Schjoerring K. J., Denmead T. O. 2004. Ammonia Emission from Mineral Fertilizers and Fertilized Crops. *Advances in Agronomy*, 82: 557-622.



23. Stoate C., Boatman D. N., Borralho J. R., Carvalho R. C., de Snoo R. G., Eden P. 2001. Ecological impacts of arable intensification in Europe. *Journal of Environmental Management*, 63: 337-365.
24. Tei F., Benincasa P., Guiducci M. 2002. Critical nitrogen concentration in processing tomato. *Europ. J. Agronomy*, 18: 45-55.
25. Tilman D., Cassman G. K., Matson A. P., Naylor R., Polasky S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418: 671-677.
26. Tonitto C., David B. M., Drinkwater E. L. 2005. Replacing bare fallows with cover crops in fertilizer-intensive cropping systems: A meta-analysis of crop yield and N dynamics. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Article in Press.

Ελληνικές αναφορές

1. Άλκιμος Α. 1990. Βιοκαλλιέργειες. Εκδόσεις Ψυχάλου,σελ.16-19, Αθήνα.
2. Αναλογίδης Α. Δ. 2000. Έδαφος, θρεπτικά στοιχεία και φυτική παραγωγή. Εκδόσεις ΑΓΡΟ-τύπος Α.Ε., Αθήνα.
3. Βασδέκης Ε., Καριπίδης Χ., Σάββας Δ., 2005. Επίδραση ανόργανης ή οργανικής λίπανσης στη συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα μαρουλιού καλλιεργούμενου στο έδαφος. Πρακτικά 22ου Πανελληνίου Επιστημονικού Συνεδρίου της Ε.Ε.Ε.Ο. (1): 483-486.
4. Δημητράκης Κ.Γ. 1998. Λαχανοκομία. Εκδόσεις ΑΓΡΟΤΥΠΟΣ α.ε., σελ.304-316, Αθήνα.
5. Θεριός Ν. Ι. 1996. Ανόργανη θρέψη και λιπάσματα. ΕκδόσειςΓ. Δεδούσης, Θεσσαλονίκη.
6. Κανάκης Α.Γ. 2003. Γενική Λαχανοκομία. Εκδόσεις ΑΓΡΟΤΥΠΟΣ α.ε.,σελ.163-171, Αθήνα.
7. Κουκουλάκης Π.Χ., Σιμώνης Α.Δ., Γκέρτσης Α.Κ., 2000. Οργανική ουσία του εδάφους. Το πρόβλημα των ελληνικών εδαφών. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, σελ. 83-92.
8. Παρασκευόπουλος Κ.Π. Σύγχρονη Λαχανοκομία. Εκδόσεις Ψυχάλου, Αθήνα.

9. Σάββας Δημήτριος (2005). Σημειώσεις διδακτικής ενότητας : Το άζωτο ως θρεπτικό στοιχείο και το πρόβλημα των νιτρικών για την ποιότητα των γεωργικών προϊόντων και το περιβάλλον.,σελ.1-23.
10. Σιδηράς Κ. Ν. 1997. Οργανική λίπανση και αμειψισπορές. Εκδόσεις ΔΗΩ, Αθήνα.
11. Σιδηράς Κ. Ν. 2005. Βιολογική γεωργία. Φυτική Παραγωγή. Εκδόσεις ΔΗΩ, Αθήνα.
12. Σπαντιδάκης Κ., 2002. Βιολογικές Καλλιέργειες στο θερμοκήπιο. Εμπειρίες-Πρακτικές. σελ.15-18, Ρέθυμνο.
13. Στεργίου Β., Ακουμιανάκης Κ., Μουστάκας Ν., Ολύμπιος Χ., Πάσσαμ Χ.Κ.,2003. Η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην περιεκτικότητα νιτρικών στα φύλλα δύο ποικιλιών μαρουλιού. Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Επιστημονικού Συνεδρίου της Ε.Ε.Ε.Ο. (1): 99-101.

Διαδικτυακές πηγές

1. <http://en.wikipedia.org/wiki/Lettuce>
2. <http://images.google.gr>
3. www.bayercropscience.gr
4. www.botany.ubc.ca/biol351/351h.htm
5. www.siu.edu/departments/biochem/chime_rasmol/iron_sulfur