ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ»

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

ΘΕΜΑ:

«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΖΩΤΟΥΧΟΥ ΚΑΙ ΘΕΙΙΚΗΣ ΛΙΠΑΝΣΗΣ ΣΤΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΝΙΤΡΙΚΩΝ ΣΕ ΦΥΤΑ ΡΟΚΑΣ ΠΟΥ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΝΤΑΙ ΣΕ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΠΑΝΤΑΖΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΚΑΡΙΠΙΔΗΣ
Καθηγητής ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2013

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ....

Ευχαριστώ όλους όσους συνέβαλλαν, ακόμη και στο ελάχιστο να πραγματοποιήσω την διπλωματική μου εργασία.

Ιδιαίτερα, ευχαριστώ ολόψυχα τον καθηγητή μου κ. Καριπίδη για την άριστη συνεργασία και την συμπαράσταση του να φέρω εις πέρας την μεταπτυχιακή μου διατριβή αφού συνέβαλλε και ο ίδιος με την τεχνογνωσία του τόσο στο πειραματικό όσο και το θεωρητικό μέρος.

Ευχαριστώ το ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ για την παραχώρηση του εργαστηρίου και του θερμοκηπίου, τον καθηγητή μου κ. Μαλισιόβα που με την άδειά του χρησιμοποιήθηκε εργαστηριακός εξοπλισμός προκειμένου να γίνει το πειραματικό κομμάτι αυτής της έρευνας καθώς και τον καθηγητή μου κ. Μάνο που κατά τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών με στήριζε και με συμβούλευε συνεχώς.

Ευχαριστώ τους γονείς μου για την στήριξή τους, μα πιο πολύ τον αδερφό μου Θεόδωρο, που ήταν ανά πάσα στιγμή δίπλα μου και συνεισέφερε, όποτε τον χρειαζόμουν.

Ευχαριστώ τις φίλες μου Λένα, Κατερίνα και Χαρά...ξέρουν αυτές....

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή χωρίζεται σε δυο μέρη, ένα θεωρητικό και ένα πειραματικό. Στο πρώτο μέρος παρουσιάζονται η καταγωγή της ρόκας, η περιγραφή του φυτού, οι συνθήκες ανάπτυξής της και το περιβάλλον που χρειάζεται για να ευδοκιμήσει, η συγκομιδή και η συντήρηση καθώς η θρεπτική αξία και οι θεραπευτικές της ιδιότητες.

Επίσης, γίνεται αναφορά στο άζωτο που 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 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. Έτσι στην Ευρωπαϊκή Ένωση έχουν ορισθεί μέγιστα αποδεκτά ποσοστά νιτρικών για διάθεση των νωπών προϊόντων στην κατανάλωση, τόσο σε προϊόντα που προέρχονται από θερμοκήπια, όσο και σε υπαίθριες καλλιέργειες φυλλωδών λαχανικών.

Διάφορες μέθοδοι έχουν αναφερθεί κατά καιρούς, οι οποίες ασχολούνται με τη μείωση της περιεκτικότητας των νιτρικών στα μαρούλια και σε άλλα φυλλώδη λαχανικά, με ή χωρίς επιπτώσεις στην παραγωγή.

Το είδος της χορηγούμενης αζωτούχου λίπανσης θεωρείται ότι επηρεάζει την συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα.

Δυνατότητα εφαρμογής στον αγρό φαίνεται να έχει και η ρύθμιση της ισορροπίας των ανιόντων στο ριζόστρωμα των φυτών με την χορήγηση SO_4^{2-} τα οποία πιθανά μπορούν να υποκαταστήσουν τα Cl^- στον ανταγωνισμό με

τα NO_3^- και στην ελάττωση της συγκέντρωσης των τελευταίων στα φυτικά χυμοτόπια. Τα SO_4^{2-} αντίθετα με τα Cl^- δεν φαίνεται να υποβαθμίζουν το έδαφος ενώ παράλληλα πιστεύεται ότι μπορεί να έχουν ανάλογη επίδραση (Urrestarazu et al, 1998, Paparozzi, 1999). Ειδικά για τα SO_4^{2-} αναφέρεται η αλληλεπίδραση του θείου με το άζωτο στην πρόσληψή τους από διάφορα φυτά (Dale et al, 1991, Paparozzi et al, 1994, Macz et al, 2001), ενώ η αύξηση της συγκέντρωσης θείου στα κύτταρα θεωρείται ότι ενισχύει και διεγείρει την δράση του συστήματος της ρεδουκτάσης των νιτρικών και κατ' επέκταση περιορίζει την συσσώρευση των νιτρικών στα κυτταρικά χυμοτόπια. Με άλλα λόγια είναι πιθανό η παρουσία αυξημένων ποσοτήτων θειικών ανιόντων μπορεί να επιδρά στην απορρόφηση των νιτρικών και να περιορίσει την συσσώρευσή τους στα κυτταρικά χυμοτόπια.

Στόχος της εργασίας αυτής, ήταν να μελετηθεί η δυνατότητα περιορισμού συγκέντρωσης νιτρικών στα φύλλα της ρόκας χωρίς να υποβαθμιστεί η ποιότητα και να περιοριστεί η ποσότητα.

Ωστόσο, η εργασία αυτή μπορεί να αποτελέσει βοήθημα για συνέχιση της έρευνας αυτής αφού τα στοιχεία που δίνονται μέσα από τα πειράματα, τις παρατηρήσεις, τα αποτελέσματα, τα συμπεράσματα και τα βιβλιογραφικά δεδομένα έχουν βασιστεί σε ελληνική και διεθνή βιβλιογραφία.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια η ρόκα (*Eruca sativa*) έχει γίνει πολύ δημοφιλής και αγαπητή. Ως θεραπευτικό φυτό έχει χρησιμοποιηθεί από τον μεσαίωνα μιας και περιέχει σιναπέλαιο. Στις μέρες μας τα φύλλα της χρησιμοποιούνται κυρίως στις σαλάτες. Η καλλιέργειά της είναι πολύ εύκολη και μπορεί να γίνει εκτός από τον κήπο και σε δοχεία ή μεγάλες γλάστρες.

Η σπορά της ξεκινά νωρίς την άνοιξη και μπορεί να συνεχιστεί για πολλούς μήνες. Το χειμώνα μπορεί να καλλιεργηθεί και σε θερμοκήπια. Η καλλιέργεια της ρόκας μπορεί να αποφέρει στον παραγωγό έσοδα της τάξης των 700 ευρώ ανά στρέμμα με τη μέση στρεμματική παραγωγή να κυμαίνεται μεταξύ 1000-1200κιλά και την τιμή πώλησης στα 0,60 – 0,80 ευρώ το κιλό.

Για την καλύτερη πορεία της καλλιέργειας της ρόκας χρειάζεται συνεχής πληροφόρηση, ενημέρωση και έρευνα.

Α΄ ΜΕΡΟΣ
(ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο

ΡΟΚΑ (*Eruca sativa*)

1.1 ΚΑΤΑΓΩΓΗ

Η ρόκα είναι ένα ποώδες φυτό με καταγωγή από την Νοτιοανατολική Ασία, όμως φύεται ή καλλιεργείται σε αρκετές περιοχές της Μεσογείου και στη Βόρειο Αμερική.

Στην αρχαία Ελλάδα ήταν γνωστή ως 'εύζωμον'. Είναι λαχανικό γνωστό μεταξύ εκείνων που ονομάζονταν «επίσπορα» από τον Θεόφραστο δηλαδή, αυτών που μπορούν να σπαρθούν πολλές φορές κατά τη διάρκεια του έτους. Άλλοι λένε πως την ρόκα την έχουν φέρει οι πρόσφυγες από την Κωνσταντινούπολη και άλλοι από την Θράκη.

1.2 ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ – ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ

Η ρόκα ανήκει στο γένος *Eruca* και το είδος *sativa*, της οικογένειας των Σταυρανθών δηλαδή *Brassicaceae* και στην τάξη *Brassicales*.

Είναι ένα πράσινο αρωματικό λαχανικό, μονοετές, χειμωνιάτικο, που ανθίζει ακόμη από τον Μάρτιο έως τον Ιούνιο.

Το ύψος της ρόκας μπορεί να φθάσει έως και τα 80 – 100χιλιοστά με βλαστούς που διακλαδίζονται.

Τα άνθη της έχουν διάμετρο 2 – 4εκατοστά, είναι λευκά με πορφυρές φλέβες ή κιτρινωπά διατεταγμένα και σχηματίζουν ταξιανθίες κόρυμβο, με την τυπική δομή του άνθους των σταυρανθών. Τα πέταλα είναι μπεζ, με μωβ πορφυρές νευρώσεις και οι στήμονες κίτρινοι. Το φυτό αποβάλλει τα σέπαλά του αμέσως μετά την άνθιση.

Ο καρπός είναι μικρός, κωνικός, ραμφοειδής και περιέχει αρκετούς ωοειδής σπόρους κίτρινου χρώματος.

Τα φύλλα της είναι πτερωτά, έλοβα με 4-10 μικρούς πλευρικούς λοβούς και ένα μεγάλο ακραίο λοβό.

Η ρίζα του φυτού είναι πασσαλώδης.

Το καλλιεργούμενο αυτό είδος φημίζεται κυρίως για την πολύ έντονη και χαρακτηριστική μυρωδιά, την περίεργη και λίγο πικάντικη αλλά κατά τα άλλα ευχάριστη γεύση αφού ο βλαστός και τα φύλλα τρώγονται φρέσκα σε

διάφορες σαλάτες ενώ εμπλουτίζουν τη γεύση πολλών πιάτων καθώς σε ορισμένες περιοχές μαγειρεύεται μαζί με κρέας.

1.3 ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Το φυτό ρόκα είναι συγγενές με το φυτό *Eruca langirostra* δηλαδή την άγρια ρόκα ή αζουμάτο που παλαιότερα φύτρωνε σε μεγάλες εκτάσεις, σαν σπαρτό, και θεωρείται φυτό με μελισσοκομική αξία.

Οι ποικιλίες που παρουσιάζουν ενδιαφέρον και αξίζει να αναφερθούν βάσει των χαρακτηριστικών και των απαιτήσεων που τις διακρίνει είναι οι παρακάτω:

Καλλιεργούμενη Ρόκα (*It. Rucola coltivata, En. Cultivated rocket*):

Η καλλιεργούμενη ρόκα έχει φύλλο στρογγυλεμένο και το άνθος της είναι λευκό με καφετιές ραβδώσεις.

Η σπορά γίνεται απευθείας στο χωράφι, από τον Φεβρουάριο έως τον Σεπτέμβριο. Καλλιεργείται και σε θερμοκήπιο.

Οι αποστάσεις κυμαίνονται από 20-30cm μεταξύ των σειρών καθώς είναι ελάχιστα απαιτητική.

Οι δόσεις του σπόρου αντιστοιχούν σε 50-60gr/ 100m^2 .

Το βάρος 1000 σπόρων είναι περίπου 2gr.

Άγρια Ρόκα – *Diplotaxis tenuifolia (It Rucola selvatica, En. Wild rocket):*

Ποικιλία που παράγει μικρό φυτό με γκριζοπράσινο φύλλωμα και έντονα ψαλιδωτά φύλλα και κίτρινο άνθος.

Η σπορά γίνεται στο χωράφι από την άνοιξη έως το φθινόπωρο.

Οι αποστάσεις κυμαίνονται από 20-35cm μεταξύ των σειρών.

Οι δόσεις του σπόρου που αντιστοιχούν σε 100m^2 είναι 50-60gr.

Το βάρος 1000 σπόρων είναι περίπου 2gr.

Η άγρια ρόκα είναι κατάλληλη για σαλάτα, με χαρακτηριστικό την πολύ έντονη πικάντικη γεύση, αναπτύσσεται λίγο βραδέως και σχηματίζει μια ροζέτα. Είναι πολυετής και μπορεί να κόβεται συχνά.

Ρόκα Αρωματική

Ποικιλία εξωτερικού, περίπου 50 ημερών, ιδανική για σαλάτα. Το φυτό που παράγεται έχει ύψος 25-30cm.

Δίνει 4-6 κοπές και αν ευνοούν οι συνθήκες μπορεί και περισσότερες.

1.4 ΕΔΑΦΟΚΛΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

Η ρόκα είναι ένα πολύ ανθεκτικό φυτό που μπορεί να ευδοκιμήσει σε όλα τα είδη των εδαφών. Είναι ανθεκτική στο κρύο και στο χιόνι αφού μπορεί να αντέξει μέχρι τους -3°C χωρίς σημαντικές ζημιές με εξαίρεση την σκλήρυνση των φύλλων της. Είναι απαιτητικότερη, όμως, σε νερό και έτσι σε θερμοκρασίες πάνω από 25°C έχει αυξημένες ανάγκες.

Η ρόκα είναι φυτό ηλιόφιλο, αγαπάει δηλαδή τον ήλιο αλλά μπορεί να καλλιεργηθεί και σε πιο σκιερά μέρη, αρκεί να τη βλέπει ο ήλιος κάποιες ώρες την ημέρα.

Πολλαπλασιάζεται αρκετά εύκολα με σπόρους. Η σπορά γίνεται με το χέρι από την άνοιξη μέχρι το φθινόπωρο. Σε μεγάλες καλλιέργειες η σπορά γίνεται με σπαρτικές μηχανές.

Κάποιες φορές, όταν το φθινόπωρο είναι πολύ ήπιο, τότε μπορεί να έχουμε ρόκα και μέσα στην καρδιά του χειμώνα. Η ρόκα μπορεί να σπαρθεί την άνοιξη ή το φθινόπωρο αλλά η καλύτερη εποχή είναι από τον Φεβρουάριο μέχρι τον Σεπτέμβριο. Ευδοκιμεί στα περισσότερα εδάφη με μικρή αντοχή σε pH 6-7. Η σπορά γίνεται άμεσα στο χωράφι σε βάθος 0,5-1,0cm και σπέρνεται σε γραμμές που απέχουν 15cm. Οι σπόροι βλαστάνουν 5-15 ημέρες μετά την σπορά ανάλογα με την ποικιλία. Το ύψος της ρόκας μπορεί να φτάσει σε ύψος 10-60cm.

1.5 ΣΥΛΛΟΓΗ – ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Στη φύση θα τη βρούμε σε όλη την διάρκεια του έτους, άλλοτε καταπράσινη, άλλοτε κοκκινοκαφέ και άλλοτε ανθισμένη.

Η ανάπτυξη της ρόκας συντελείται σε 8-10 εβδομάδες. Όσο ο καιρός είναι ζεστός, τόσο γρηγορότερα αναπτύσσεται.

Από τα μέσα του Απριλίου μέχρι τα τέλη του Μαΐου αρχίζει να ανθίζει στις πιο ζεστές περιοχές και η ανθοφορία της μπορεί να παραταθεί μέχρι τα μέσα του Ιουνίου και στις πιο ψυχρές περιοχές.

Ο βλαστός και τα φύλλα της ρόκας τρώγονται σε διάφορες σαλάτες, ενώ σε ορισμένες περιοχές μαγειρεύεται.

Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει ιδιαίτερα δημοφιλής σε διάφορες χώρες του κόσμου.

Καλλιεργείται για τα μικρά της φύλλα και καταναλώνεται ως σαλάτα από μόνη της ή σε ανάμειξη με άλλες σαλάτες.

Στην περίπτωση αυτή συγκομίζεται περίπου 18 ημέρες από την σπορά. Τα ώριμα φυτά συγκομίζονται 30-50 ημέρες από την σπορά και πωλούνται σε ματσάκια και συνήθως τρώγεται μαγειρεμένη.

Η γεύση της είναι πιπεράτη, αρωματική και ελαφρώς πικρή. Η άγρια ρόκα έχει πιο πιπεράτη γεύση και πιο έντονο άρωμα από την καλλιεργούμενη.

Χρησιμοποιείται από τα αρχαία χρόνια σε σαλάτες είτε μόνη της είτε σε συνδυασμό με άλλα φυλλώδη λαχανικά και κυρίως με το μαρούλι ως αφροδισιακό αλλά και ως καρύκευμα στην μαγειρική.

Η κομμένη ρόκα δεν θέλει ιδιαίτερους χειρισμούς. Μπορεί να συντηρηθεί εύκολα στο ψυγείο για 4-5 μέρες χωρίς ιδιαίτερα προβλήματα. Μετά όμως αρχίζει να κιτρινίζει.

1.6 ΧΡΗΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ – ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Στην ιατρική τα φύλλα της ρόκας δεν χρησιμοποιούνται για την παρασκευή κάποιου φαρμάκου, σε αντίθεση με τους σπόρους της που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ελαίου απαραίτητο για την φαρμακοποιία. Το έλαιο αυτό είναι ιδιαίτερα καυστικό. Η ρόκα που χρησιμοποιείται για θεραπευτικούς σκοπούς, πρέπει να συγκομίζεται κατά την ανθοφορία του φυτού.

Επίσης, αποτελεί μια καλή πηγή ασβεστίου, μαγνησίου, καλίου, βιταμινών του συμπλέγματος Β αλλά και βιταμίνης Α, C και K, καθώς είναι πλούσια σε φυλλικό οξύ. Επίσης, η τακτική κατανάλωση ρόκας διεγείρει τη γαστρεντερική οδό, βελτιώνει το μεταβολισμό, διεγείρει το ανοσοποιητικό σύστημα, βοηθά στη μείωση αλάτων, ενισχύει τα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων, αυξάνει τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης και αντιστρόφως, χαμηλώνει την κακή χοληστερόλη στο αίμα ενώ ενισχύει το νευρικό σύστημα. Επιπλέον, χρησιμοποιείται ως χωνευτικό, τονωτικό, διουρητικό, αντιβακτηριδιακό, έχει αντιοξειδωτική δράση, αλλά ενεργεί και κατά του διαβήτη όσο και της παχυσαρκίας. Ωστόσο, είναι γνωστή από τα αρχαία χρόνια και για την τόνωση της σεξουαλικής λειτουργίας.

1.7 ΦΕΡΝΟΝΤΑΣ ΤΗ ΡΟΚΑ ΣΤΟ ΜΠΑΛΚΟΝΙ ΜΑΣ

Η καλλιέργεια της ρόκας στην πόλη, είναι πολύ εύκολη. Αγοράζοντας ένα φακελάκι με υγιής σπόρους, σπείρτε μερικούς σε μια γλάστρα διαμέτρου 20εκατοστών και τοποθετήστε τη σε μια ηλιόλουστη μεριά, ποτίζοντάς τη συχνά. Έτσι, θα δημιουργηθεί ένα σπορείο ρόκας. Όταν τα φυτά αποκτήσουν 2-3πραγματικά φύλλα, μπορούν να μεταφυτευτούν σε νέες γλάστρες ώστε να απέχουν 10-15εκατοστά το καθένα. Λίπασμα δεν χρειάζεται μιας και η διάρκεια της καλλιέργειας είναι σύντομη. Όταν τα φυτά φτάσουν τα 20-25εκατοστά και έχουν τουλάχιστον 7-10φύλλα, τότε μπορούν να κοπούν. Αυτό συμβαίνει 8-10 εβδομάδες μετά τη σπορά. Τα φυτά που κόπηκαν σε 2-4 εβδομάδες, θα δώσουν νέα φύλλα τα οποία μπορούν να κοπούν ξανά.

1.8 ΜΙΚΡΑ ΜΥΣΤΙΚΑ

Η ρόκα διατηρείται στο ψυγείο μέσα σε μια πλαστική διαφανή σακούλα για αρκετό καιρό. Σε περίπτωση που μαραθεί την ρίχνετε σε κρύο νερό για μια-δυο ώρες και έτσι ανακτά αρκετά καλά τη ζωντάνια της.

Κόβετε τη ρόκα με μαχαίρι και όχι με τα χέρια.

Καλό είναι να μην καταψύχετε γιατί δεν διαχειρίζεται εύκολα όπως τα υπόλοιπα κατεψυγμένα λαχανικά.

Η προσθήκη λαδιού στη σαλάτα της ρόκας είναι απαραίτητη γιατί το ελαιόλαδο είναι εκείνο που απομακρύνει την ιδιαίτερη γεύση της.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο

ΤΑ ΝΙΤΡΙΚΑ ΚΑΙ Η ΣΠΟΥΔΑΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥΣ

2.1 ΓΕΝΙΚΑ

Είναι μια ανόργανη μορφή του στοιχείου άζωτο (N), κοινό στοιχείο με πολύ μεγάλη σπουδαιότητα για τη ζωή. Συναντώνται ως νιτρικά ιόντα (NO_3) στο διάλυμα που περιβάλλει τα σωματίδια του εδάφους. Τα νιτρικά είναι μια μορφή αζώτου που μπορεί εύκολα να προσληφθεί από το φυτό. Αποτελούν μέρος του κύκλου του αζώτου στο έδαφος και είναι απαραίτητα για τη ζωή.

Παρόλο που το έδαφος περιέχει μεγάλα αποθέματα νιτρικών ιόντων αυτά δεν είναι εύκολα διαθέσιμα στα φυτά διότι δεν συγκρατούνται από τα φυλλίδια της αργίλου και των συμπλόκων της στο έδαφος και εκπλύνονται προς τα βαθύτερα στρώματα του εδάφους. Μπορούν να ¨δεσμευτούν¨ στα αποθέματα του εδάφους ως οργανικό άζωτο. Το άζωτο ενώνεται με τον άνθρακα στον χούμο και προστατεύεται έτσι, έως ότου απελευθερωθεί από τους οργανισμούς ως ¨διαθέσιμο¨ νιτρικό.

Οι απαιτήσεις για διαθέσιμες μορφές αζώτου συνήθως είναι μεγαλύτερες από τις παροχές. Έτσι, για να διατηρήσουν τα φυτά το πλήρες δυναμικό τους για παραγωγή τροφής στο επιθυμητό επίπεδο και να αναπτυχθούν σωστά, είναι απαραίτητη η προσθήκη αζωτούχου λιπάσματος που συμπληρώνει τα ανεπαρκή αποθέματα αζώτου.

2.2 ΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΝΙΤΡΙΚΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

Η συγκέντρωση NO_3^- στους φυτικούς ιστούς αποτελεί φυσιολογικό φαινόμενο, που συνδέεται άμεσα με το μεταβολισμό του αζώτου στα φυτά και προκύπτει από την απορρόφηση των νιτρικών ιόντων σε μεγαλύτερη ποσότητα από αυτή που ανάγεται.

Η συγκέντρωση NO_3^- εξαρτάται από:

- τον γονότυπο,

- την περιεκτικότητα του εδάφους σε NO_3^- και

- τις κλιματικές συνθήκες κάτω από τις οποίες αναπτύσσονται τα φυτά.

Τελευταία, το ενδιαφέρον εστιάζεται στη συγκέντρωση NO_3^- στις τροφές. Η αναγωγή NO_3^- σε NO_2^- και οι δυσμενείς δράσεις αυτής της αναγωγής στον άνθρωπο και τα ζώα είναι υπεύθυνες γι' αυτό το ενδιαφέρον.

Ανάμεσα στις τροφές που καταναλώνονται, τα νωπά και τα κονσερβοποιημένα λαχανικά είναι οι κυριότερες πηγές NO_3^- για τον ανθρώπινο οργανισμό.

2.3 ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΤΗΣ ΝΙΤΡΟΡΥΠΑΝΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΥΓΕΙΑ

Τα νιτρικά από μόνα τους δεν είναι τοξικά και όταν εισέλθουν στην κυκλοφορία του αίματος δεν παίρνουν μέρος στις κανονικές βιολογικές διεργασίες. Αντίθετα, αποβάλλονται σχετικά με τα ούρα (80%) ή τα περιττώματα (1-2%) και ανακυκλώνονται με το σάλιο (18%).

Τα NO_3^- και τα NO_2^- σε μικρές συγκεντρώσεις είναι ακίνδυνα για τον άνθρωπο, αλλά σε υψηλές συγκεντρώσεις ή κάτω από ειδικές συνθήκες μπορούν να γίνουν πολύ επικίνδυνα, που σε κάποιες περιπτώσεις μπορούν να επιφέρουν ακόμη και το θάνατο.

Η τοξικότητα NO_3^- είναι σχετικά χαμηλή και ποικίλλει ευρέως. Η μοιραία δόση για ενήλικες είναι 15-70 mgr NO_3^--N/Kgr ζώντος βάρους. Τα νιτρώδη σχηματίζονται από αναγωγή των νιτρικών ή χορηγούνται με τα συντηρημένα τρόφιμα. Η μοιραία δόση νιτρωδών (NO_2^-) για τον άνθρωπο είναι περίπου 20 mgr NO_2^- –N/Kgr ζώντος βάρους.

Κατά την πέψη των τροφών όμως, τα νιτρικά είναι δυνατόν να αναχθούν εν μέρει με την βοήθεια των μικροοργανισμών σε νιτρώδη στο στόμα και στο γαστρο-εντερικό σύστημα. Τα νιτρώδη είναι βιολογικά δραστικά και δυναμικά τοξικά και αποτελούν την πηγή των ανησυχιών για την υγεία του ανθρώπου.

Υπάρχουν τρεις κύριες πιθανές επιδράσεις των νιτρικών στην υγεία του ανθρώπου:

1. Μεθαιμογλοβιναιμία (Σύνδρομο κυάνωσης των βρεφών)

Από τη φύση τους η δράση των νιτρικών δεν είναι τοξική, όταν όμως εισέλθουν στο αίμα, το δισθενές ιόν σιδήρου (Fe^{+2}) της αιμογλοβίνης μπορεί να οξειδωθεί στην τρισθενή μορφή (Fe^{+3}), με αποτέλεσμα τη δημιουργία μεθαιμογλοβίνης , η οποία σε υψηλά ποσοστά στο αίμα, μπορεί να οδηγήσει σε συμπτώματα ασφυξίας τον άνθρωπο, λόγω της αδυναμίας μεταφοράς οξυγόνου στους περιφερειακούς ιστούς.

Η μεθαιμογλοβίνη απαρτίζει το 1% της αιμογλοβίνης σε υγιή άτομα, το 4% στα νεογέννητα παιδιά και το 6% ή και περισσότερο σε μωρά με αναπνευστικά προβλήματα ή διάρροια. Η μικρή ποσότητα μεθαιμογλοβίνης, που κανονικά παράγεται, μπορεί να μετατραπεί ενζυματικά ξανά σε αιμογλοβίνη. Αν η ταχύτητα μετατροπής της μεθαιμογλοβίνης είναι μικρότερη από την ταχύτητα συγκέντρωσης, τότε έχουμε μεγάλη συγκέντρωση μεθαιμογλοβίνης στο αίμα με επιζήμιες συνέπειες για την υγεία μας.

Πρόκειται, λοιπόν, για μια ανωμαλία του αίματος που παρατηρείται σε βρέφη κάτω των 6 μηνών τα οποία τρέφονται με γάλα σκόνη που αναμειγνύεται με νερό.

Η ικανότητα του αίματος να μεταφέρει οξυγόνο έχει καταστραφεί, σε αυτή την ασθένεια, με αποτέλεσμα την κυάνωση του δέρματος και το θάνατο του βρέφους.

Μελέτες στο Ισραήλ έδειξαν, ότι καταστάσεις, όπως η διάρροια είναι η κύρια αιτία και όχι οι πιθανές ποσότητες των προσλαμβανόμενων νιτρικών σε τρόφιμα και νερό (Hegewch – Shiloah 1982).

Η ασθένεια έχει σχεδόν εξαφανιστεί από τη Δ. Ευρώπη και τις Η.Π.Α. και μόνο ευκαιριακές περιπτώσεις υπάρχουν ακόμη στην Α. Ευρώπη, χωρίς να είναι γνωστή η αιτία της διαφοράς αυτής.

Άλλες έρευνες σχετικά με τις πιθανότητες εμφάνισης της ασθένειας έδειξαν ότι τα νιτρικά σε συγκέντρωση μεγαλύτερη των 10mg/l νερού και νιτρώδη σε συγκέντρωση πάνω από τη μέγιστη αποδεκτή του 1mg/l, μπορεί να αποτελέσουν παράγοντα της εμφάνισης της ασθένειας Μεθαιμογλοβιναιμία ή blue baby syndrome.

Στη Βρετανία καταγράφηκαν περίπου 15 τέτοιες περιπτώσεις τα τελευταία 40 χρόνια. Το Υπουργείο Υγείας της χώρας αυτής αποδέχεται ως

ασφαλές όριο για την συγκέντρωση νιτρικών, σε σχέση με τη συγκεκριμένη ασθένεια των 100mg/l (Hanley, 1991).

Η συγκέντρωση μεθαιμογλοβίνης μπορεί να προκληθεί και από πολλές ενώσεις όπως: μονοξείδιο του άνθρακα (CO), phenacetin, χρώματα ανιλίνης, και το λούστρο των επίπλων. Εκτός από την κυάνωση, η τοξικότητα NO_3^- ή NO_2^- εκδηλώνεται με πιο χρόνια συμπτώματα όπως:

- Τα NO_3^- και NO_2^- καταστρέφουν την καροτίνη των τροφών και προκαλούν έλλειψη βιταμίνης Α σε άνθρωπο και ζώα, ενώ στον άνθρωπο μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στο θυρεοειδή.
- Τα NO_2^- προκαλούν ταχυκαρδίες, εμετούς και διάρροια.
- Τα NO_2^- στα ζώα αυξάνουν την ανάγκη για ιώδιο λόγω των ανωμαλιών που προκαλούνται στο θυρεοειδή αδένα.
- Υψηλή συγκέντρωση NO_2^- στις τροφές δίνει ανώμαλο ηλεκτροεγκεφαλογράφημα και πνευματική καθυστέρηση σε ασθενείς με κληρονομική μεθαιμογλοβιναιμία.
- Ανωμαλία στα έμβρυα από την νιτροζαμίνη που σχηματίζεται από αντίδραση νιτρωδών και ορισμένων οργανικών αμινών.

2. Καρκίνος του στομάχου

Σε μερικά πειράματα με ζώα, οι νιτροζαμίνες που προέρχονται από νιτρικά και νιτρώδη σε συνδυασμό με αμίνες, βρέθηκαν ότι έχουν καρκινογόνες ιδιότητες. Δεν υπάρχει ωστόσο καμία μαρτυρία που να υποστηρίζει τη θεωρία αυτή για τον άνθρωπο.

Οι περιπτώσεις καρκίνου του στομάχου στον βιομηχανικό κόσμο έχουν μειωθεί σταθερά, ενώ η έκθεση σε νιτρικά, με την μεγαλύτερη χρήση λαχανικών και σε μερικές περιοχές με το νερό, είναι πολύ πιθανό να έχει αυξηθεί. Η μείωση στις εμφανίσεις καρκίνου του στομάχου αποδίδεται στην πιο ισορροπημένη διατροφή, με περισσότερα φρούτα και λαχανικά και μικρότερη χρήση αλάτων ως συντηρητικά και άλλων παρόμοιων μέσων. Νιτρικά και νιτρώδη θα υπάρχουν πάντοτε στο στομάχι. Φαίνεται ότι η παρουσία τους εκεί δεν είναι ο κύριος παράγοντας που καθορίζει το ρυθμό σχηματισμού καρκίνου και τον προορισμό τους στην πράξη.

Το Εθνικό Συμβούλιο Έρευνας των ΗΠΑ, για τα νιτρικά και νιτρώδη, αναφέρει ότι η έκθεση σε συγκεντρώσεις νιτρικών στο πόσιμο νερό δεν είναι

πιθανό να συμβάλλει στο κίνδυνο δημιουργίας καρκίνου του στομάχου. Προσπάθειες για τον περιορισμό της έκθεσης σε νιτρικά ή νιτρώδη, με βάση την καρκινογένεση, θα περιέπλεκαν τη διατροφή, ενώ έχει δειχθεί επανειλημμένα ότι τα λαχανικά μειώνουν τον κίνδυνο καρκίνου. Κάθε θεωρητικός κίνδυνος καρκίνου θα πρέπει να εκτιμάται σε σχέση με την ωφέλεια από τη χρήση των λαχανικών.

Παρόλα αυτά, πρόσφατες, σχετικά, επιδημιολογικές μελέτες υποστηρίζουν την πιθανότητα συνδέσμου ανάμεσα στον καρκίνο του στομάχου και την υψηλή συγκέντρωση αζώτου. Ο Hartman το 1983 (Ελληνική Εδαφολογική Εταιρεία, 2000) συνέκρινε τα ποσοστά θνησιμότητας από καρκίνο του στομάχου για δώδεκα χώρες και εκτιμήσεις για την κατά κεφαλή κατανάλωση αζώτου και διαπίστωσε σημαντική θετική συσχέτιση των δυο.

Στην Κολομβία επίσης, η υψηλή θνησιμότητα από καρκίνο του στομάχου σε δυο κοινότητες φάνηκε να σχετίζεται με κατανάλωση νερού από πηγάδια από υψηλές συγκεντρώσεις νιτρικών σε αντίθεση με δυο άλλες κοινότητες που δεν κατανάλωναν νερό από αυτά. Επόμενες μελέτες όμως, δεν επιβεβαίωσαν τη συσχέτιση αυτή.

Άλλες μελέτες έδειξαν αυξημένο κίνδυνο δημιουργίας δυσπλασιών σε παιδιά και γυναίκες που κατανάλωναν νερό με συγκεντρώσεις αζώτου μεγαλύτερες από 5mg/l. Κάτι τέτοιο όμως δεν έχει πλήρως αποδειχθεί.

Σε εργασία που πραγματοποιήθηκε παλαιότερα από το Γ. Νοσοκομείο Τρικάλων (Γκαλέας Θ. 1992) προσπάθησε να παρουσιάσει τις ενδείξεις που στοιχειοθετούν ένα πιθανό ρόλο που παίζουν τα νιτρικά και τα νιτρώδη στην αιτιολογία του καρκίνου του στομάχου.

Ακόμη, έγιναν ερωτήσεις στο Γ. Νοσοκομείο του Βόλου και στο Υγειονομικό καθώς και στο Δήμο Αλμυρού όπου είχαν να αναφέρουν κάποιες περιπτώσεις καρκίνων στομάχου αλλά ούτε οι ίδιοι, ούτε ο μελετητής μπορούν να αποδώσουν με σιγουριά ότι οι περιπτώσεις αυτές οφείλονται σε νιτρικά.

Ωστόσο, ιδιαίτερα ενημερωμένες και αυθεντικές πηγές θεωρούνται η Μελέτη της ECETOC (1987) «Νιτρικά και πόσιμο ύδωρ» και η συνθετική εργασία των Annette Petersen and Suren Stoltze (1999), η οποία αξιολογεί τα τελευταία ευρήματα και επανεξετάζει τις υποτιθέμενες τοξικολογικές επιδράσεις των νιτρικών στον ανθρώπινο οργανισμό, ενώ συγχρόνως αναδεικνύει τον ευεργετικό ρόλο τους στην ανθρώπινη υγεία.

Όπως έχει προαναφερθεί, το μέγιστο ποσοστό (80-90%) των νιτρικών που παραλαμβάνονται με την τροφή προέρχονται από τα νωπά λαχανικά και ειδικότερα από τα πράσινα φυλλώδη είδη (σέλινο, σπανάκι, μαρούλι κλπ). Εάν τα νιτρικά ήταν ένας κρίσιμος παράγων για την πρόκληση καρκίνου τότε οι χορτοφάγοι με πολύ μεγαλύτερη κατανάλωση νιτρικών (185-194mg κατ' άτομο ημερησίως) από τους μη χορτοφάγους (61mg κατ' άτομο ημερησίως) θα έπρεπε να παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερη συχνότητα γαστρο-εντερικού καρκίνου, ενώ οι σχετικές κλινικές έρευνες αποδεικνύουν ακριβώς το αντίθετο.

Στις προηγμένες χώρες γενικότερα, οι πληθυσμοί είναι εκτεθειμένοι σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις νιτρικών λόγω της τάσης για μεγαλύτερη συμμετοχή των χορταρικών στο διαιτολόγιο, αλλά και λόγω ανερχομένης στάθμης νιτρικών στο πόσιμο ύδωρ. Ωστόσο παρατηρείται σαφής τάση μείωσης των κρουσμάτων γαστρικού καρκίνου. (Dincer, Y., Akcay, T., Osman, T., Dogusoy, G.,2006)

3. Καρκίνος της ουροδόχου κύστης στις γυναίκες

Σε έρευνα που έγινε στην Iowa των ΗΠΑ (Epidiomology, 2001) διαπιστώθηκε ότι οι γυναίκες που έπιναν στο πόσιμο νερό, στο οποίο είχαν βρεθεί υψηλές συγκεντρώσεις νιτρικών αλάτων , είχαν 3 φορές περισσότερη πιθανότητα να παρουσιάσουν καρκίνο της ουροδόχου κύστης σε σύγκριση με αυτές που είχαν χαμηλότερα επίπεδα του τοξικού παράγοντα.

Διαπιστώθηκε επίσης, μια μικρή αύξηση του κινδύνου και για τον καρκίνο της ωοθήκης, ενώ για τον καρκίνο της μήτρας και του ορθού (χοντρό έντερο) ο κίνδυνος ήταν μικρότερος.

Δεν βρέθηκε οποιαδήποτε σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων νιτρικών αλάτων στο πόσιμο νερό και κινδύνου για άλλους καρκίνους όπως λευχαιμία, καρκίνο του μαστού, του νεφρού, του πνεύμονα και άλλους.

Ο κίνδυνος για καρκίνο της ουροδόχου κύστης αυξανόταν αναλογικά με την αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρικών αλάτων μέσα στο πόσιμο νερό.

Η έρευνα άρχισε το 1986 και συμμετείχαν 22.000 γυναίκες ηλικίας από 55 έως 69 ετών. Το 75% των γυναικών αυτών χρησιμοποιούσαν το νερό που τους παρείχε το δημοτικό δίκτυο παροχής πόσιμου νερού και οι περισσότερες έπιναν το νερό αυτό για περισσότερο από 20 χρόνια.

2.4 ΝΙΤΡΙΚΑ ΚΑΙ ΝΙΤΡΩΔΗ ΑΛΑΤΑ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Νιτρικά και νιτρώδη συναντάμε στο νερό, στα φρούτα και λαχανικά, σε χυμούς και παρασκευάσματα από φρούτα και λαχανικά, σε αλλαντικά, σε φάρμακα όπως suflonamides, dapsone, bismuth, subnitrite, lidocaine αλλά και σε τοπικά αναισθητικά όπως Benzocaine, Lidocaine, Hurricaine. Για να απαλλαγούμε από τις παρενέργειές τους πρέπει να τα αναγνωρίζουμε και να τα καταναλώνουμε με ασφάλεια.

Εξετάζοντας τη σύσταση των τροφίμων που συμμετέχουν στη καθημερινή διατροφή των ανθρώπων, ανακαλύπτουμε ότι ένα μεγάλο μέρος από αυτά, περιέχουν ουσίες που χαρακτηρίζονται από άχρηστες έως και επικίνδυνες. Ο λόγος, για τα διάφορα πρόσθετα των τροφίμων, που σκοπό έχουν, μεταξύ άλλων, να «βελτιώσουν» την εμφάνιση, το χρώμα και τη σύσταση των τροφίμων. Μια ιδιαίτερη κατηγορία τέτοιων ουσιών είναι και τα συντηρητικά, με βασικό εκπρόσωπό τους, τα νιτρικά και τα νιτρώδη άλατα. Ουσίες καθόλου αθώες που, ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια, έχουν μπει για τα καλά στην διατροφική μας αλυσίδα.

Σε κανονικά επίπεδα, τα νιτρικά άλατα βοηθούν στη θεραπεία των πληγών και των εγκαυμάτων, ελέγχουν την πίεση του αίματος και ενισχύουν τη λειτουργία του εγκεφάλου. Σε υψηλές όμως συγκεντρώσεις, αφού πρώτα μετατραπούν σε νιτρώδη, αντιδρούν με τις αμίνες (παράγωγα αμμωνίας) δημιουργώντας τις νιτροζαμίνες. Ουσίες, που οι περισσότερες μελέτες, τις κατατάσσουν στις επικίνδυνες και πιθανώς καρκινογόνες.

Τα νιτρικά και νιτρώδη άλατα προστίθενται στα τρόφιμα (κυρίως σε ιχθυοπαρασκευάσματα και κρεατοπαρασκευάσματα) για να εμποδίσουν την ανάπτυξη του βακτηριδίου, Clostridium botulinum, η τοξίνη του οποίου μπορεί να οδηγήσει στην παράλυση και πολλές φορές στο θάνατο. Ένας, ακόμη, λόγος για τη χρησιμοποίησή τους είναι ότι προσδίδουν στα αλλαντικά που δέχονται θερμική επεξεργασία τη χαρακτηριστική γεύση, υφή και ροζέ χρώμα.

Οι κύριες πηγές όμως, νιτρικών για τον ενήλικο άνθρωπο είναι τα φυλλώδη λαχανικά (μαρούλι, σπανάκι, αντίδια) καθώς και όσων το υπόγειο τμήμα τους είναι εδώδιμο (ραπανάκι, παντζάρι). Τα λαχανικά παρέχουν περισσότερο από το 85% του διαιτητικού νιτρικού άλατος (το οποίο είναι

απαραίτητο για τη σωστή λειτουργία του οργανισμού), όμως η υπερβολική λήψη του μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα υγείας.

Στο σημείο αυτό, αξίζει να αναφερθεί ότι, προκειμένου να μειώσουμε τα νιτρικά στα λαχανικά, υπάρχουν αρκετοί τρόποι, άλλοι παραδοσιακοί και άλλοι με τη βοήθεια της χημικής βιομηχανίας. Οι πιο απλοί και οικολογικοί είναι οι παρακάτω:

- χρήση ποικιλιών που συσσωρεύουν χαμηλές ποσότητες νιτρικών
- αύξηση της έντασης και της διάρκειας του φωτός με την εφαρμογή τεχνητού φωτισμού
- συγκομιδή τον κατάλληλο χρόνο
- καλλιέργεια την κατάλληλη εποχή
- υδροπονική καλλιέργεια των λαχανικών
- βιολογική καλλιέργεια των λαχανικών.

Τα νιτρικά άλατα μπορούν, επίσης, να βρεθούν και στο πόσιμο νερό σε αρκετές περιοχές της χώρας μας, λόγω της αλόγιστης χρήσης των λιπασμάτων όπου τα νερά παρουσιάζουν υψηλές συγκεντρώσεις νιτρικών. Το νερό, ωστόσο, είναι μια από τις ποιο συνηθισμένες αιτίες της δηλητηρίασης από NO_2^- των παιδιών. Αποστείρωση με βρασμό αυξάνει την συγκέντρωση νιτρικών. Η ανώτατη επιτρεπόμενη συγκέντρωση νιτρικών ριζών (NO_3^-) στο πόσιμο νερό σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ.) και την Ευρωπαϊκή Επιτροπή υπεύθυνη για την ποιότητα των υδάτων θα πρέπει να είναι μικρότερη από 50mg/l η οποία ισοδυναμεί με 11,3mg/l (NO_3^--N).

2.4.1 ΝΙΤΡΩΔΗ ΑΛΑΤΑ

E249 (νιτρώδες κάλιο)
E250 (νιτρώδες νάτριο)

Προέλευση: Φυσικά μεταλλικά στοιχεία. Μπορούν να εξορυχτούν ή να παρασκευαστούν χημικά, το πρώτο από το νιτρικό κάλιο και το δεύτερο από το νιτρικό νάτριο.

Χρήση: Χρησιμοποιείται ως συντηρητικό σε προϊόντα κρέατος και ψαριών.

Ανώτατο όριο: Έως 300mg ανά κιλό μάζας προϊόντος.

Παρενέργειες: Με τη θερμότητα κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος ή στο στομάχι μας κατά τη διαδικασία της πέψης μπορούν να μετατραπούν σε νιτρώδη (E249 και E250 αντίστοιχα).

Χρήσιμη συμβουλή: Όταν βράζουμε τα λαχανικά, ένα σημαντικό μέρος των νιτρικών που περιέχεται σε αυτά περνάει στο νερό που έβρασαν, γι' αυτό και δεν θα πρέπει να καταναλώνεται.

2.5 ΝΙΤΡΟΖΑΜΙΝΕΣ

Κατά την πέψη των τροφών τα νιτρώδη ιόντα (NO_2^-) με τη βοήθεια κάποιων μικροοργανισμών που βρίσκονται στο πεπτικό σύστημα, μπορούν να αναχθούν σε νιτρώδεις ενώσεις, οι οποίες είναι ιδιαίτερα τοξικές. Τα νιτρώδη ιόντα βιολογικά, είναι περισσότερο δραστικά και επομένως είναι δυναμικά τοξικά. Έτσι η μεγαλύτερη ανησυχία για την υγεία των ανθρώπων σήμερα είναι τα νιτρώδη που βρίσκονται στις τροφές ή σχηματίζονται από τα νιτρικά ή παράγονται ενδογενώς στον οργανισμό.

Η παρουσία (NO_2^-) και των δευτερογενών αμινών μαζί στο αίμα, μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό νιτροζαμινών, που θεωρούνται υπεύθυνες για την ανάπτυξη καρκίνου σε πολλά όργανα του ανθρωπίνου σώματος ή σε πολλές περιπτώσεις προκαλούν μεταλλάξεις και τερατογεννέσεις. Τα νιτρώδη (από τις τροφές ή αυτά που σχηματίζονται με την αναγωγή των νιτρικών ή ενδογενώς) μπορούν να αντιδράσουν με αμίνες και να σχηματίσουν νιτροζαμίνες. Οι νιτροζαμίνες μπορεί να προέρχονται από τις τροφές στις οποίες προστίθενται κυρίως ως συντηρητικά, τον καπνό τσιγάρου και τα ορεκτικά.

Ανώτατο όριο: Έως 300mg ανά κιλό μάζας προϊόντος.

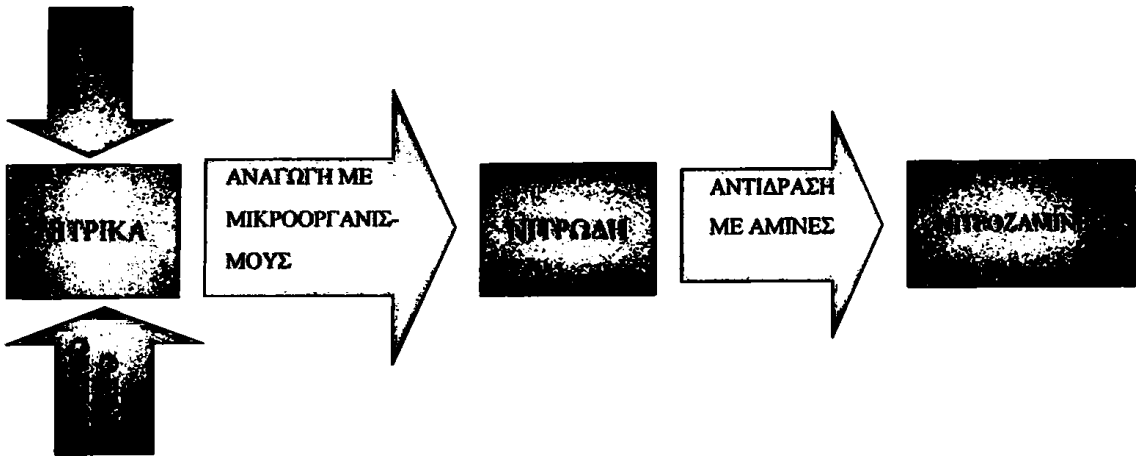
Παρενέργειες: Με τη θερμότητα κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος ή στο στομάχι μας κατά τη διαδικασία της πέψης μπορούν να μετατραπούν σε νιτρώδη (E249 και E250 αντίστοιχα).

Χρήσιμη συμβουλή: Όταν βράζουμε τα λαχανικά, ένα σημαντικό μέρος των νιτρικών που περιέχεται σε αυτά περνάει στο νερό που έβρασαν, γι' αυτό και δεν θα πρέπει να καταναλώνεται.

2.5 ΝΙΤΡΟΖΑΜΙΝΕΣ

Κατά την πέψη των τροφών τα νιτρώδη ιόντα (NO_2^-) με τη βοήθεια κάποιων μικροοργανισμών που βρίσκονται στο πεπτικό σύστημα, μπορούν να αναχθούν σε νιτρώδεις ενώσεις, οι οποίες είναι ιδιαίτερα τοξικές. Τα νιτρώδη ιόντα βιολογικά, είναι περισσότερο δραστικά και επομένως είναι δυναμικά τοξικά. Έτσι η μεγαλύτερη ανησυχία για την υγεία των ανθρώπων σήμερα είναι τα νιτρώδη που βρίσκονται στις τροφές ή σχηματίζονται από τα νιτρικά ή παράγονται ενδογενώς στον οργανισμό.

Η παρουσία (NO_2^-) και των δευτερογενών αμινών μαζί στο αίμα, μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό νιτροζαμινών, που θεωρούνται υπεύθυνες για την ανάπτυξη καρκίνου σε πολλά όργανα του ανθρωπίνου σώματος ή σε πολλές περιπτώσεις προκαλούν μεταλλάξεις και τερατογεννέσεις. Τα νιτρώδη (από τις τροφές ή αυτά που σχηματίζονται με την αναγωγή των νιτρικών ή ενδογενώς) μπορούν να αντιδράσουν με αμίνες και να σχηματίσουν νιτροζαμίνες. Οι νιτροζαμίνες μπορεί να προέρχονται από τις τροφές στις οποίες προστίθενται κυρίως ως συντηρητικά, τον καπνό τσιγάρου και τα ορεκτικά.



Σχήμα 1: Διάγραμμα σχηματισμού νιτροζαμινών

Η συσσώρευση νιτρικών ριζών στον ανθρώπινο οργανισμό σε πολλές περιπτώσεις είναι δυνατόν να προκαλέσει βλάβες στο θυρεοειδή, ταχυκαρδία και άλλες ηπιότερης μορφής παθολογικές ασθένειες.

Βρέθηκε ότι υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ καρκίνου του οισοφάγου της φυλής Bantu και της έλλειψης Mo στα λαχανικά.

Οι νιτροζαμίνες, όπως για παράδειγμα, η διμεθυλο-νιτροσαμίνη, είναι χημικά σταθερές ενώσεις κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, παρόλο που υπόκειται σε φυτοχημική αποσύνθεση στο υπεριώδες φως. Η κύρια επίδραση των νιτροζαμινών είναι κυρίως ζημιά στο συκώτι με την αλλοίωση που δημιουργείται να είναι ένας χαρακτηριστικός αιμορραγικός τύπος νέκρωσης. Αυτό, εξηγείται, λόγω της σχετικά επιλεκτικής δράσης στο συκώτι, αφού γενικά, τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τον μεταβολισμό χημικών ουσιών και άλλων ξένων συστατικών είναι παρόντα σε υψηλό ποσοστό στο συκώτι.

Παρόλο που η έρευνα για την τοξικότητα και την καρκινογένεση των νιτροζαμινών ξεκίνησε από ενδείξεις που βρέθηκαν στην βιομηχανική χρήση αυτών, πολύ αργότερα εξετάστηκε η επίπτωση νιτροζαμινών που προέρχονται από άλλες πηγές. Έχει αποδειχθεί ότι οργανισμοί που έχουνε τραφεί από γεύματα πλούσια σε νιτρώδη έχουν πιθανό σχηματισμό νιτροζαμινών από δευτερογενείς και τριτογενείς αμίνες. Ο σχηματισμός αυτών των νιτροζαμινών εξαρτάται πάρα πολύ από το pH και ευνοείται από τις όξινες συνθήκες που επικρατούν στο στομάχι των θηλαστικών για την πρόκληση καρκίνου.(Mitsui, T., and Kondo, T., 1999)

Είναι ξεκάθαρο ότι, πολλά $N\text{-}NO_2^-$ συστατικά είναι έντονα

καρκινογόνα και φαίνεται πιθανό ότι περισσότερα από αυτή την ομάδα συστατικών θα αποδειχθούν να είναι καρκινογόνα στο μέλλον. Φαίνεται να μην υπάρχει δημοσιευμένη έρευνα- αναφορά οποιουδήποτε ζωικού είδους το οποίο να είναι ανθεκτικό στις μεγάλες συγκεντρώσεις των συστατικών αυτών.

2.6 ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΝΙΤΡΙΚΩΝ

Αντίθετα από τις επικρατούσες αντιλήψεις, σήμερα ενισχύονται οι ερευνητικές ενδείξεις ότι τα νιτρικά διατροφικής προελεύσεως συμμετέχουν σε ένα αμυντικό μηχανισμό, ο οποίος προστατεύει το γαστρο-εντερικό σύστημα από παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως το *Helicobacter pylori*, το οποίο προκαλεί γαστρίτιδες, έλκη και γαστρικό καρκίνο.

Περιληπτικά, ο μηχανισμός της θετικής αυτής επίδρασης έχει ως αφετηρία την αναγωγή των νιτρικών σε νιτρώδη στη στοματική κοιλότητα, από το ένζυμο νιτρική ρεδουκτάση, που προέρχεται από συμβιωτικά βακτήρια του στόματος. Πρόσφατες έρευνες που διεξήχθησαν in vitro απέδειξαν ότι η προσθήκη NO_2^--N στο όξινο περιβάλλον του στομάχου αυξάνει την αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή άμυνα του στομάχου στο 100πλάσιο κατά ενός ευρέως φάσματος παθογόνων, συμπεριλαμβανομένων των *Salmonella, Shigella* και *E. coli*. Άλλα σχετικά αποτελέσματα δείχνουν ότι το NO_2-N στο όξινο περιβάλλον του στομάχου μπορεί να προσφέρει προστασία κατά του *Helicobacter pylori*, πράγμα που θα εξηγούσε γιατί τα νιτρικά διατροφικής προελεύσεως μειώνουν τα κρούσματα καρκίνου του στομάχου (αναφορά Θεριός Ι., Dykhuizen et αΙ., 1998).

2.7 Η ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΗΜΕΡΑ - ΚΑΝΟΝΕΣ

Με την οδηγία 91/676, της Ε.Ε. του 1991, άρχισε η προστασία του πόσιμου νερού από τις γεωργικές πρακτικές και θέσπισαν ευαίσθητες ζώνες οπού η συγκέντρωση των νιτρικών στο νερό ήταν >50mg/l. Στις ζώνες αυτές υιοθετήθηκε ειδικό σχέδιο δράσης για τη μείωση της ρύπανσης από λιπάσματα. Από το 1998 λειτουργεί το σύστημα *MINAS* στην Ολλανδία (MINerals Accounting System) το οποίο παρακολουθεί τις ποσότητες αζώτου (N) και φωσφόρου (P), που χρησιμοποιούνται στη γεωργία.

Στόχος του προγράμματος είναι: το έτος 2015 οι περιοχές με συγκέντρωση νιτρικών στα υπόγεια ύδατά τους >50mg/l, να μειωθούν στο 21% των συνολικών περιοχών, από το 40% που ήταν το 1985, ενώ το έτος 2037 το ποσοστό να μειωθεί στο 12%.

Στην Ε.Ε. προωθείται η θέσπιση των κανόνων της ορθής γεωργικής πρακτικής. Αυτό πρακτικά για τα αζωτούχα λιπάσματα σημαίνει ότι:

1. Το αζωτούχο νιτρικό λίπασμα δεν εφαρμόζεται στην αρχή της βροχερής περιόδου (φθινόπωρο).
2. Χρησιμοποιείται ακριβώς η δόση που απαιτείται από την καλλιέργεια.
3. Το αζωτούχο νιτρικό λίπασμα εφαρμόζεται μόνο όταν οι ανάγκες της καλλιέργειας το απαιτούν.
4. Σε αμμώδη εδάφη το αζωτούχο νιτρικό λίπασμα εφαρμόζεται σε πολλές και μικρές δόσεις.
5. Η καλλιέργεια διατηρείται σε καλή κατάσταση, ώστε τα φυτά να προσλαμβάνουν το νιτρικό άζωτο σε ικανοποιητικό βαθμό.

Επειδή ο κίνδυνος για την ανθρώπινη υγεία από τα νιτρικά είναι αρκετά σημαντικός, η Ε.Ε. το 1995 θέσπισε ανώτατο επιτρεπτό όριο ημερήσιας κατανάλωσης νιτρικών ίσο με 3,65mg/k σωματικού βάρους του λήπτη, το οποίο αντιστοιχεί σε 255,5mg NO_3^-N την ημέρα για ένα άτομο του οποίου το βάρος είναι 70k.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο

ΤΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΑΖΩΤΟ ΚΑΙ Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ

3.1 ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΑΖΩΤΟ

Το άζωτο είναι αέριο, άχρωμο, άοσμο, άγευστο, ελαφρότερο του αέρα και καταλαμβάνει το 78% του όγκου του. Ο τριπλός δεσμός ανάμεσα στα δύο άτομα που αποτελούν το μόριο του αζώτου (N_2) θεωρείται από τους ισχυρότερους στη φύση, με αποτέλεσμα να είναι αδρανές αέριο, ιδιαίτερα σε συνηθισμένες θερμοκρασίες. Διαλύεται ελάχιστα στο νερό, δεν είναι δηλητηριώδες αέριο αλλά ασφυκτικό. Δεν καίγεται αλλά έχει παρατηρηθεί ότι ορισμένα στοιχεία μπορούν να "καούν" σε άζωτο, όπως το μαγνήσιο στους 300°C και το λίθιο ακόμα και σε θερμοκρασία δωματίου, παράγοντας κρυσταλλικά μεταλλικά νιτρίδια. Όταν θερμανθεί υπό πίεση με το υδρογόνο παρουσία καταλύτη, σχηματίζεται αμμωνία.

Το άζωτο αποτελεί συστατικό πολλών βιομορίων όπως των νουκλεϊνικών οξέων, πρωτεϊνών, βιταμινών, πουρίνων, αλκαλοειδών και άλλα. Αν και το άζωτο αφθονεί στην ατμόσφαιρα, δεν μπορεί να αξιοποιηθεί από τους παραγωγούς στη μορφή με την οποία βρίσκεται σ' αυτή (μοριακό άζωτο). Για το λόγο αυτό, η εισαγωγή του ατμοσφαιρικού αζώτου στις τροφικές αλυσίδες των οικοσυστημάτων γίνεται με τη διαδικασία της αζωτοδέσμευσης, η οποία μετατρέπει το ατμοσφαιρικό άζωτο σε μορφές αξιοποιήσιμες από τους παραγωγούς.

3.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Το άζωτο είναι συστατικό όλων των ζωντανών κυττάρων. Συμμετέχει στο μόριο των πρωτεϊνών, νουκλεοξέων, αμινοξέων, των ένζυμων και των συνενζύμων καθώς και της χλωροφύλλης. Ονομάστηκε άζωτο γιατί χωρίς αυτό δεν μπορεί να υπάρξει ζωή.

Είναι, επομένως, καταφανής η σημασία του αζώτου για τη ζωή των κυττάρων και τη σύνθεση των πρωτεϊνούχων δομικών στοιχείων του πρωτοπλάστη, καθώς και της κληρονομικής ουσίας DNA και του μηχανισμού της πρωτεϊνοσύνθεσης (είδη RNA).

Το άζωτο συντελεί στην ανάπτυξη των ριζών. Γι' αυτό τα κονδυλόριζα αφαιρούν τις μεγαλύτερες ποσότητες αζώτου από το έδαφος. Μεγάλες ποσότητες αζώτου ελαττώνουν το σάκχαρο των τεύτλων, ενώ αυξάνουν την ποσότητα των νιτρικών σ' αυτά .

Το πλάγιασμα των δημητριακών συσχετίζεται με τη περίσσεια αζώτου και ελαττωμένη ξηρή ουσία. Περίσσεια αζώτου επιβραδύνει την ωρίμανση γιατί παρεμποδίζει την αφυδάτωση των φυτών.

Τα φυτά που υποφέρουν από έλλειψη αζώτου, παρουσιάζουν τα ώριμα φύλλα τους κίτρινα και απονεκρωμένα, ενώ τα νεώτερα φύλλα παραμένουν πρασινωπά. Γενικά, τα φυτά με τροφοπενία αζώτου περιέχουν μόνο πρωτεΐνες, οι οποίες και υδρολύονται για να προσφέρουν αμινοξέα στα τμήματα του φυτού που τα έχουν ανάγκη.

Σαν δείκτες για την έλλειψη αζώτου από το έδαφος χρησιμοποιούνται το καλαμπόκι, η μηλιά, η ροδακινιά και τα εσπεριδοειδή. Ο εφοδιασμός των καλλιεργειών σε άζωτο καθορίζει κατά μεγάλο μέρος την αύξηση, την ανάπτυξη και την παραγωγή των φυτών. Η έλλειψη του αζώτου από το έδαφος είναι πάντοτε πιθανή, γιατί οι καλλιέργειες απομακρύνουν μεγάλες ποσότητες από το στοιχειό. Το άζωτο επομένως είναι στοιχείο με το οποίο πάντοτε λιπαίνονται τα χωράφια.

Τα φυτά προσλαμβάνουν το άζωτο που χρειάζονται ως αμμωνιακό ή νιτρικό ιόν. Ποιο από τα δυο αυτά ιόντα θα προτιμήσει το φυτό εξαρτάται από εσωτερικούς και εξωτερικούς παράγοντες .

Καμία φορά παρατηρείται συσσώρευση νιτρικών στα φυτά όταν αυτά δεν μπορούν να τα χρησιμοποιήσουν όπως στην περίπτωση που δεν υπάρχουν επαρκείς ποσότητες υδατανθράκων. Νιτρικά συσσωρεύονται περισσότερο στα ετήσια αγρωστώδη και λιγότερο στα διετή και πολυετή αγρωστώδη ή ψυχανθή. Επίσης, μεγαλύτερες ποσότητες παρατηρούνται στους μίσχους και στους βλαστούς, παρά στα φύλλα. Η ποσότητα των νιτρικών που υπάρχει στα φυτά και θα μπορούσε να προκαλέσει τοξικά φαινόμενα στα ζώα, δεν έχει ακριβώς καθοριστεί. Πιστεύεται ότι, όταν το ολικό άζωτο υπερβαίνει το 2,5% στα αγρωστώδη και το 3% στα ψυχανθή, είναι ενδεικτικό της πιθανότητας να εμφανιστούν τοξικά συμπτώματα

Οι παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την παρουσία αυξημένων ποσοτήτων νιτρικών στα φυτά, αναφέρονται παρακάτω:

Α) η χρησιμοποίηση νιτρικών λιπασμάτων σε ποσότητες μεγαλύτερες από αυτές που χρειάζονται τα φυτά.

Β) η χρήση του 2,4D(2,4-διχλωροφαινοξυοξικου οξέος).

Γ) η έλλειψη αφομοιώσιμου μολυβδαινίου στο έδαφος .

Τα νιτρικά, όταν ανάγονται σε νιτρώδη, προκαλούν τοξικά φαινόμενα στους ζωικούς οργανισμούς, γιατί κατά την αναγωγή τους οξειδώνεται η αιμογλοβίνη και γίνεται ανίκανη να μεταφέρει οξυγόνο. Τα νιτρικά ανάγονται, επίσης, σε νιτρώδη από σαπροφυτικά και παρασιτικά βακτήρια. Μεγάλες ποσότητες νιτρωδών έχουν βρεθεί σε αποθηκευμένα λαχανικά, ιδίως σπανάκια, μαρούλια και σαλατικά.

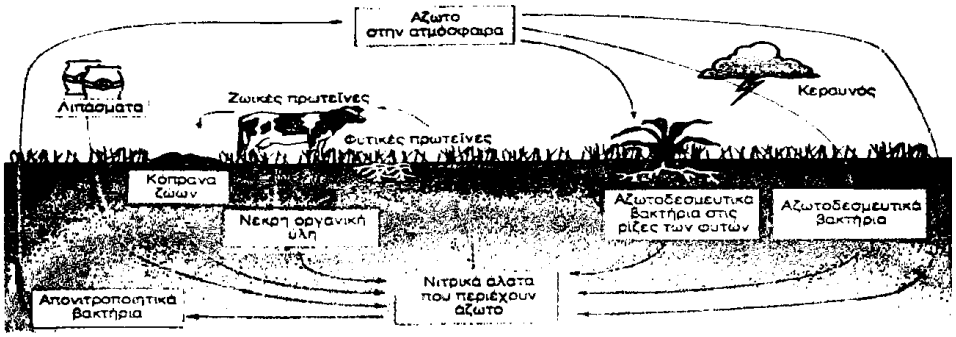
Μεγάλη χρήση νιτρικών και νιτρωδών γίνεται κατά τη διατήρηση των κρεάτων και ψαριών. Στις Η.Π.Α. οι ποσότητες που χρησιμοποιούνται ανέρχονται σε 200-500 p.p.m. έτσι ο άνθρωπος παίρνει με τις κονσερβοποιημένες τροφές νιτρώδη σε ποσότητες που ανέρχονται στο 22 μmoles ή 1,5mg $NaNO_2$ την ήμερα. Η ποσότητα των νιτρωδών εμφανίζει τελευταία ιδιαίτερο ενδιαφέρον, γιατί έχει διαπιστωθεί ότι τα νιτρώδη όταν αντιδρούν με ορισμένες δευτεροταγείς αμίνες, σχηματίζουν νιτροζαμίνες, που είναι ενώσεις καρκινογόνες για τον άνθρωπο.

3.3 Ο ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΣΤΗ ΦΥΣΗ

Ο κύκλος του αζώτου δια μέσω των ζώντων οργανισμών συνίσταται από τις εξής μεταβολές :

- απορρόφηση αζώτου από τα φυτά,$NH4^+$ και $NO3^-$
- αναγωγική μετατροπή του ανόργανου αζώτου σε άζωτο αμινοξέων, πρωτεϊνών και λοιπών οργανικών αζωτούχων ουσιών μέσα στα φυτικά κύτταρα.
- κατανάλωση φυτών από ζώα με συνέπεια μέρος του ανόργανου αζώτου του εδάφους να πέρνα στους ζωικούς οργανισμούς.
- αποσύνθεση οργανικής ουσίας (φυτικά υπολείμματα, περιττώματα ζώων, νεκροί ζωικοί οργανισμοί) με αποτέλεσμα υδρόλυση πρωτεϊνών και σχηματισμό χουμικών ουσιών.
- αμμωνιοποίηση των οργανικών αζωτούχων ουσιών που περιέχονται στην αποσυντιθέμενη οργανική ουσία στο έδαφος συχνά αποδίδεται και με τον όρο 'ανοργανοποίηση'.

- νιτροποίηση NH_4^+ με τελικό προϊόν τα νιτρικά ιόντα NO_3^- οπότε ο κύκλος επαναλαμβάνεται.



Εικόνα 1: Ο κύκλος του αζώτου

3.4 ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ ΑΖΩΤΟΥ ΣΤΟ ΕΔΑΦΟΣ

Η νιτροποίηση του αμμωνιακού αζώτου οφείλεται στη δράση δύο ειδών βακτηρίων τα οποία μέσω της οξείδωσης 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 ενέργεια. Οι αντιδράσεις οξείδωσης του αμμωνιακού σε νιτρικό άζωτο είναι οι εξής :

Nitrosomas: $2NH_3 + 3O_2 \blacktriangleright 2NO_2^- + 2H_2O$

Nitrobacter: $2NO_2^- + O_2 \blacktriangleright 2NO_3^-$

3.5 ΕΚΠΛΥΣΗ ΑΖΩΤΟΥ

Ένα μέρος του νιτρικού αζώτου που σχηματίζεται στο έδαφος μέσω του κύκλου του αζώτου δεν απορροφάται από τα φυτά αλλά εκπλύνεται από το νερό των βροχών οπότε ακολουθεί τον παρακάτω κύκλο:

NO_3^- ▶ εδαφικό νερό ▶ λίμνες, θάλασσες και ωκεανοί ▶ πλαγκτόν ▶ ψάρια ▶ πουλιά ▶ NO_3^- εδάφους

Από το άζωτο που είναι δεσμευμένο στο πλαγκτόν και τους υδρόβιους οργανισμούς ένα μέρος του δεν επιστρέφει ξανά στα χερσαία οικοσυστήματα αλλά εναποτίθεται στον βυθό της θάλασσας και μένει εκεί αδρανοποιημένο για τα φυτά αζώτου.

Το νιτρικό άζωτο που περιέχεται στο εδαφικό νερό είναι ανεπιθύμητο για λόγους υγιεινής. Γι' αυτό, η αύξηση της συγκέντρωσης νιτρικών στα υπόγεια και τα επιφανειακά νερά των χερσαίων οικοσυστημάτων συνιστά ένα

οικολογικό πρόβλημα το οποίο είναι γνωστό με τον όρο νιτρορύπανση. Πρόβλημα υπάρχει κυρίως με το πόσιμο νερό δεδομένου ότι η πρόσληψη σχετικά μεγάλων ποσοτήτων νιτρικών από τον άνθρωπο μπορεί να προκαλέσει προβλήματα υγείας .

3.6 ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ

Η απονιτροποίηση προκαλείται από αναερόβιους μικροοργανισμούς σε σημεία του εδάφους που δεν αερίζονται καλά με συνέπεια να επικρατούν αναερόβιες συνθήκες.

NO_3^- εδάφους ►►N_2, N_2O (αέριες μορφές N που διαφεύγουν στην ατμόσφαιρα)

Η απονιτροποίηση επομένως έχει και αυτή σαν συνέπεια την απώλεια αφομοιώσιμου για τα φυτά αζώτου από το έδαφος.

3.7 ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΟΥ ΑΖΩΤΟΥ

Τα ανώτερα φυτά δεν μπορούν να δεσμεύσουν απευθείας το ατμοσφαιρικό άζωτο, μολονότι περιβάλλονται από παντού από αυτό. Υπάρχουν, όμως, ορισμένοι μικροοργανισμοί, κυρίως βακτήρια, οι οποίοι διαθέτουν βιοχημικούς μηχανισμούς μέσω των οποίων το ατμοσφαιρικό άζωτο ανάγεται σε νιτρικό με συνέπεια να γίνεται αφομοιώσιμο τόσο για αυτά όσο και για τα φυτά.

3.8 ΔΕΣΜΕΥΣΗ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΟΥ ΑΖΩΤΟΥ

Η τρίτη θεμελιώδης λειτουργία επιπρόσθετα με την φωτοσύνθεση και την αναπνοή είναι η αζωτοδέσμευση. Η διεργασία αυτή είναι μέρος των αντιδράσεων του κύκλου του αζώτου. Όπως προαναφέραμε, πολλά συστατικά των ζωντανών οργανισμών περιέχουν N, τα άτομα του οποίου προκύπτουν από τον κύκλο του N, ο οποίος ξεκινά από τα αποθέματα της ατμόσφαιρας. Το άζωτο αφαιρείται από την ατμόσφαιρα με την διεργασία της αζωτοδέσμευσης και επιστρέφει στην ατμόσφαιρα με την απονιτροποίηση. Εκτιμάται ότι $25X10^6$ τόνοι αζώτου αφαιρούνται ετησίως από τα εδάφη των Η.Π.Α. με τα συγκομιζόμενα προϊόντα και με έκπλυση των εδαφών. Για την αποκατάσταση της γονιμότητας $3X10^6$ τόνοι αζώτου προστίθενται ετησίως υπό μορφή

λιπασμάτων (κοπριά, ούρα, λιπάσματα). Το πιο σημαντικό τμήμα $10X10^6$ τόνοι αζώτου επιστρέφει με τη βιολογική δέσμευση N.

Η δέσμευση του αζώτου μπορεί να γίνει με τις ακόλουθες διεργασίες:

➢ ***Με φυσική αζωτοδέσμευση,*** όπου το άζωτο της ατμόσφαιρας ενώνεται με το οξυγόνο ή το υδρογόνο των υδρατμών, με την απορρόφηση ενέργειας που προσφέρεται από κεραυνούς ή άλλες ηλεκτρικές εκκενώσεις, σχηματίζοντας νιτρικά ιόντα ή αμμωνία αντίστοιχα. Αυτά, στη συνέχεια, μεταφέρονται με τη βοήθεια της βροχής στο έδαφος.

➢ ***Με βιολογική αζωτοδέσμευση,*** όπου αποτελεί τον κύριο τρόπο μετατροπής του ελεύθερου αζώτου σε χρήσιμες χημικές ενώσεις. Το N αν και απαρτίζει το 79% του ατμοσφαιρικού αέρα είναι θρεπτικό στοιχείο που συνήθως βρίσκεται σε ανεπαρκή εφοδιασμό για τις καλλιέργειες. Πραγματοποιείται με τη βοήθεια μικροοργανισμών του εδάφους, αζωτοδεσμευτικά βακτήρια, τα οποία είτε ζουν ελεύθερα είτε συνηθέστερα συμβιώνουν (πχ. *Rhizobium*) στις ρίζες ορισμένων φυτών όπως τα ψυχανθή (όσπρια, κουκιά κλπ.). Εκεί, τα βακτήρια μετατρέπουν το ατμοσφαιρικό άζωτο σε νιτρικά ιόντα μέρος των οποίων μεταφέρονται στα φυτά. Ως μέρος αυτής της συμβίωσης τα φυτά μετατρέπουν τα νιτρικά ιόντα σε οξείδια του αζώτου και αμινοξέα, για τη δημιουργία πρωτεϊνών και άλλων βιολογικά χρήσιμων μορίων και σε αντάλλαγμα εκκρίνουν σάκχαρα τα οποία χρειάζονται τα βακτήρια.

3.9 ΝΙΤΡΙΚΑ ΙΟΝΤΑ

Τα νιτρικά (NO_3^-) είναι η κύρια μορφή αζώτου που συναντάται στο έδαφος. Είναι πολύ διαλυτά στο νερό σε ελαφρά διαπερατά κυρίως εδάφη, μετά από υψηλή βροχόπτωση. Τα νιτρικά γρήγορα απονιτροποιούνται κάτω από αναγωγικές συνθήκες. Έτσι, σε βαριά εδάφη σημαντικές ποσότητες αερίου N_2 μπορεί να παράγονται.

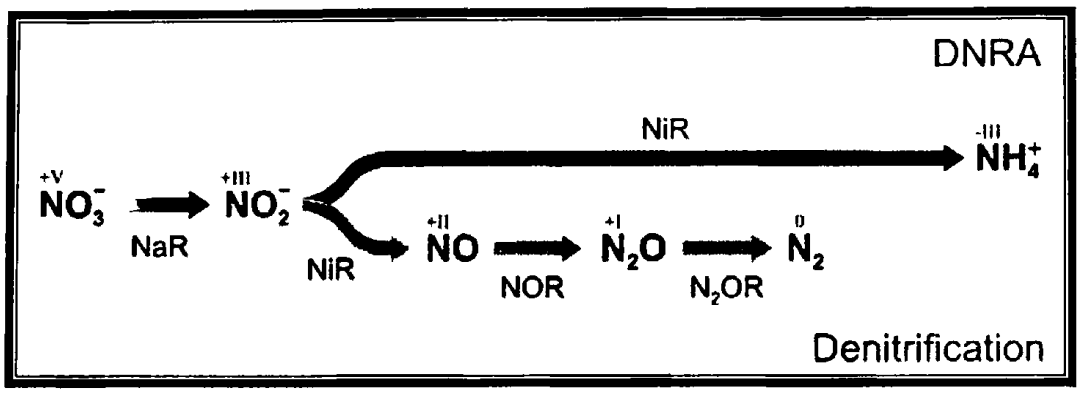
3.9.1 ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΝΙΤΡΙΚΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΑΠΟ ΤΑ ΦΥΤΑ

Η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων στους φυτικούς ιστούς αποτελεί ένα φυσιολογικό φαινόμενο που συνδέεται άμεσα με το μεταβολισμό του αζώτου στα φυτά. Τα φυτά μπορούν να απορροφήσουν το άζωτο είτε υπό μορφή νιτρικών (NO_3^-), είτε υπό μορφή αμμωνιακών (NH_4^+) ιόντων και στη συνέχεια να το ανάγουν και να το ενσωματώσουν στα διάφορα όργανά τους. Ενώ όμως, η αμμωνιακή μορφή αζώτου δεν είναι συγκεντρώσιμη μέσα στους φυτικούς ιστούς, γιατί είναι τοξική για τα φυτά, η νιτρική μορφή συγκεντρώνεται στα μιτοχόνδρια των κυττάρων και χρησιμοποιείται από τα φυτά για να αντισταθμίζει τα θετικά φορτία των ιόντων καλίου, μαγνησίου, ασβεστίου, νατρίου, κ.λπ. και όχι μόνο, αλλά επιτελεί και μια δράση ωσμωρυθμιστική για την αποκατάσταση τυχόν ελλείψεων των οργανικών συντελεστών στα μιτοχόνδρια.

Τα ιόντα NH_4^+ μόλις απορροφηθούν χρησιμοποιούνται στη σύνθεση των αμινοξέων και άλλων αζωτούχων ενώσεων (πουρίνες, πυριμιδίνες, ορισμένα συνένζυμα κ.α.).

Τα νιτρικά ιόντα (NO_3^-), αντίθετα, όταν απορροφηθούν από το φυτό θα πρέπει να οργανοποιηθούν μέσω αναγωγής. Αυτό πραγματοποιείται μέσω του ενζύμου ρεδουκτάση των νιτρικών (NR) που συντίθεται και ενεργοποιείται από την παρουσία του υποστρώματος του, δηλαδή των νιτρικών ιόντων.

Σε αντίθεση με τα αμμωνιακά ιόντα, το ποσοστό των νιτρικών που δεν ανάγεται από τα ένζυμα μπορεί να συγκεντρωθεί στα κύτταρα, χωρίς να βλάψει το φυτό αλλά παράλληλα αποτελεί και σημαντική πηγή αποθησαυρισμένων θρεπτικών ουσιών. Μάλιστα, το ποσοστό του νιτρικού αζώτου στους ιστούς, στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών (διαπιστώνεται μέσω φυλλοδιαγνωστικής), αποτελεί σημαντικό δείκτη της υγιεινής κατάστασης της καλλιέργειας και συνδέεται άμεσα με το τελικό παραγωγικό αποτέλεσμα.



Εικόνα 2 : Διαδικασία μετατροπής των νιτρικών ιόντων σε αμμωνιακά

Το χαμηλό ποσοστό συγκέντρωσης των νιτρικών μέσα στο φυτό εκδηλώνεται με τα τυπικά συμπτώματα της έλλειψης αζώτου, ενώ η περίσσεια των αμμωνιακών ιόντων εκδηλώνεται με τα ίδια συμπτώματα της έλλειψης καλίου, γιατί υπάρχει υψηλός ανταγωνισμός μεταξύ των δύο αυτών στοιχείων. Ωστόσο, μόνο στις περιπτώσεις όπου η μοναδική πηγή αζώτου είναι η αμμωνιακή, μπορούν να εκδηλωθούν ζημιές στους ιστούς των φυτών.

Από όσα αναφέραμε παραπάνω, προκύπτει ότι τα νιτρικά αποτελούν διεργασία φυσικής σύνθεσης στα φυτά, η συσσώρευση των οποίων στους φυτικούς ιστούς επηρεάζεται από όλους τους παράγοντες που εμπλέκονται στην αφομοίωση του αζώτου. Δυστυχώς, η παρουσία των νιτρικών στα βρώσιμα τμήματα των φυτών μπορεί να δημιουργήσει σοβαρά προβλήματα στους καταναλωτές, από τη στιγμή που τα νιτρικά, όταν φαγωθούν, μπορούν να αναχθούν σε νιτρώδη, τα οποία με τη σειρά τους, μπορούν να ενωθούν με τις ελεύθερες αμίνες και να σχηματίσουν νιτροζαμίνες, ενώσεις εξαιρετικά καρκινογόνες. Το πέρασμα από τα νιτρικά σε νιτρώδη μπορεί να συμβεί και μέσω ενζυματικής μορφής.

3.9.2 Η ΑΝΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΝΙΤΡΙΚΩΝ

Για να αφομοιωθούν τα νιτρικά ιόντα από τα φυτικά κύτταρα και να μετασχηματισθούν σε οργανικό άζωτο θα πρέπει αρχικά να μετατραπούν σε αμμωνιακό άζωτο. Η διαδικασία αυτή από χημική άποψη είναι 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 ήδη είναι έτοιμο να μετατραπεί σε οργανική μορφή.

Η αναγωγή του αζώτου μέσα στα κύτταρα από NO_3^- σε NH_3^+ αντιστοιχεί σε μεταβολή του αριθμού οξειδώσεως 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 οκτώ ηλεκτρονίων στο νιτρικό ιόν. Η αναγωγή αυτή απαιτεί ενέργεια ίση περίπου με 120 Kcal/mol. Πρόκειται δηλαδή για μια 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 μόνον 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 συνενζύμων 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:

$$NO_3^- + 2e^- + 2H^+ \blacktriangleright NO_2^- + H_2O \qquad (1)$$

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. Αμέσως μετά το σχηματισμό τους, τα νιτρώδη ιόντα που παράγονται από την παραπάνω αντίδραση ανάγονται σε αμμωνία μέσω ενός άλλου ενζυμικού συστήματος το οποίο ονομάζεται ρεδουκτάση των νιτρωδών συμφώνα με την αντίδραση:

$$NO_2^- + 6e^- + 7H^+ \blacktriangleright NH_3 + 2H_2 \qquad (2)$$

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.

Στη δεύτερη περίπτωση, το οργανικό άζωτο από τα φύλλα μεταφέρεται και ανακατανέμεται και στα υπόλοιπα όργανα του φυτού.

Η ρεδουκτάση 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 ρεδουκτάση των νιτρικών συνίσταται από οκτώ διαδοχικά τμήματα. Το ένζυμο ξεκινά 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 τρία ενδιάμεσα τμήματα του ενζύμου φαίνεται μάλλον να χρησιμεύουν στη λειτουργική σύνδεση των παραπάνω περιοχών.(Campbell 1999).

Τα ηλεκτρόνια αρχικά παρέχονται από ανηγμένη αφυδρογονάση η οποία φέρει ως προσθετική ομάδα το NAD(P)H. Από εκεί, τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται αρχικά σε οξειδωμένο FAD με αποτέλεσμα το NAD(P)H να οξειδώνεται σε $NAD(P)^+$ ενώ το FAD να ανάγεται σε $FADH_2$. Στη συνέχεια τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται στο κυτόχρωμα c (σιδηροαίμη) οπότε το $FADH_2$ οξειδώνεται ξανά σε FAD. Ακολουθεί η μεταφορά των ηλεκτρονίων από το κυτόχρωμα c στη μολυβδαονοπτερίνη η οποία με τη σειρά της τα μεταφέρει στο τελικό δότη, το NO_3^-, το οποίο έτσι ανάγεται σε NO_2^- . Δηλαδή η άμεση αναγωγή των νιτρικών γίνεται από το μολυβδαίνιο (Mo).

Συμφωνά με τον Campbell (1999), εκτός από το φυσικό αρχικό δότη ηλεκτρονίων που είναι το NADPH, η ρεδουκτάση των νιτρικών μπορεί να δέχεται ηλεκτρόνια και από άλλους δότες, όπως από ανηγμένες φλαβίνες ($FMNH_2$). Από τα παραπάνω είναι φανερό ότι εφόσον κάθε μία από τις προσθετικές ομάδες του ενζύμου μπορεί σε κάποια δεδομένη στιγμή να βρίσκεται είτε σε οξειδωμένη είτε σε ανηγμένη κατάσταση, η ρεδουκτάση των νιτρικών μπορεί να βρίσκεται σε διάφορες οξειδωμένες ή ανηγμένες μορφές.

Στα περισσότερα φυτικά είδη η αναγωγή των νιτρικών μπορεί να γίνει τόσο στις ρίζες όσο και στα φύλλα. Τα ανηγμένα NAD(P)H τα οποία παρέχουν την αρχική ενέργεια και τα ηλεκτρόνια φαίνεται ότι στους μεν πράσινους ιστούς που φωτοσυνθέτουν παράγονται στα grana των χλωροπλαστών κατά τις διεργασίες του φωτοσυνθετικού συστήματος I ενώ στις ρίζες προέρχονται από την αναπνοή.

Επομένως, η ενέργεια για την αναγωγή των νιτρικών στις μεν ρίζες προέρχεται από την αποδόμηση των αναπνευστικών υποστρωμάτων (υδατάνθρακες), ενώ στα φύλλα προέρχεται άμεσα από τις διεργασίες της φωτοσύνθεσης. Γι' αυτό το λόγο, στα περισσότερα ανώτερα φυτά η αναγωγή

των νιτρικών συντελείται κυρίως στα φύλλα και όχι στις ρίζες των φυτών. Η δυνατότητα των ριζών να μεταβολίζουν τα νιτρικά και να τα μετατρέπουν σε οργανικό άζωτο καθορίζεται κυρίως από την διαθεσιμότητα αναπνευστικών υποστρωμάτων (σακχάρων) τα οποία έχουν μεταφερθεί εκεί από τα υπέργεια, φωτοσυνθετικά ενεργά όργανα. Γι' αυτό, όταν η συγκέντρωση νιτρικών στο περιβάλλον των ριζών είναι σχετικά χαμηλή, το ποσοστό του νιτρικού αζώτου που μετατρέπεται σε οργανικό άζωτο στις ρίζες είναι μεγάλο.

Καθώς όμως, η τροφοδότηση με νιτρικά αυξάνεται, η διαθεσιμότητα αναπνευστικών υποστρωμάτων καθίσταται περιοριστικός παράγοντας στην περαιτέρω αύξηση της ενζυμικής δραστηριότητας της ρεδουκτάσης των νιτρικών στις ρίζες. Έτσι, το ποσοστό των νιτρικών που μεταφέρεται στα φύλλα για να μεταβολισθεί εκεί σε οργανικό άζωτο διευρύνεται.

Η ρεδουκτάση των νιτρικών περιέχεται στο κυτόπλασμα του κυττάρου και επομένως και η διεργασία της αναγωγής του NO_3^- σε NO_2^- γίνεται μέσα στο κυτόπλασμα. Η ρεδουκτάση των νιτρικών είναι ένα βραχύβιο ένζυμο. Ο χρόνος ημίσειας ζωής της δεν ξεπερνά τις λίγες ώρες (Beevers and Haageman,1983). Η παρουσία νιτρικού υποστρώματος καθώς και κυτοκινινών διεγείρει τα κύτταρα στη παραγωγή ρεδουκτάσης των νιτρικών ενώ αντίθετα η αμμωνία καθώς και ορισμένα αμινοξέα ή αμίνες προκαλούν πλήρη ανάσχεση στην βιοσύνθεση του ενζύμου.

Ανάσχεση στη δραστηριότητα του ενζύμου προκαλεί επίσης, και η έλλειψη μολυβδαινίου στο περιβάλλον του.

Η στάθμη της ρεδουκτάσης των νιτρικών στα φύλλα υπόκειται σε σημαντική ημερήσια διακύμανση η οποία σε μεγάλο βαθμό ακολουθεί την διακύμανση του φωτός. Η ρεδουκτάση των νιτρικών που βρίσκεται στο υπέργειο μέρος του φυτού είναι ένα φωτοευαίσθητο ένζυμο τι οποίο αδρανοποιείται ταχύτατα όταν δεν υπάρχει φώς ενώ αντίθετα ο έντονος φωτισμός επάγει την βιοσύνθεση του ενζύμου. Γι' αυτό κάτω από συνθήκες φτωχού φωτισμού η περιεκτικότητα των φύλλων σε ρεδουκτάση των νιτρικών είναι περιορισμένη με συνέπεια να μειώνεται και ο ρυθμός μετατροπής του νιτρικού σε οργανικό άζωτο. Κάτω από τέτοιες συνθήκες αυξάνεται η συσσώρευση νιτρικών στα χυμοτόπια, με συνέπεια οι φυτικοί ιστοί να παρουσιάζουν υψηλές συγκεντρώσεις σε NO_3^-.

Αντίθετα με τα φύλλα, στις ρίζες τα επίπεδα της ρεδουκτάσης των

νιτρικών δεν παρουσιάζουν διακυμάνσεις που να σχετίζονται με τις ημερήσιες μεταβολές στην ένταση του φωτός. Είναι γνωστό ότι, ενώ η αναπνοή δεν παρουσιάζει διακυμάνσεις που να σχετίζονται άμεσα με την ένταση του φωτισμού, το αντίθετο συμβαίνει με τη φωτοσύνθεση. Επομένως αυτή η διαφορετική συμπεριφορά οφείλεται στο γεγονός ότι η δραστηριότητα της ρεδουκτάσης των νιτρικών καθορίζεται από την διαθεσιμότητα NAD(P)H ή NADH τα οποία στα μεν φύλλα προέρχονται από τη φωτοσύνθεση ενώ στις ρίζες από την αναπνοή.

Η κινητικότητα των νιτρικών μέσω του ηθμού είναι πρακτικά ασήμαντη με αποτέλεσμα η μετακίνηση και ανακατανομή του αζώτου μέσω του ηθμού να γίνεται σχεδόν αποκλειστικά και μόνο σε μορφή αμινοξέων, αμινών, αμιδίων και λοιπών διαλυτών οργανικών αζωτούχων ουσιών. Η μετακίνηση του οργανικού αζώτου μέσω του ηθμού συμβάλλει στην ανακατανομή του αζώτου μέσα στο φυτό με στόχο την ομοιόμορφη κάλυψη των διατροφικών του αναγκών. Παράλληλα όμως συμβάλλει στην αποφυγή συνεχούς συσσώρευσης νιτρικών ιόντων και ανιόντων οργανικών οξέων μέσα στα χυμοτόπια των πλήρως ανεπτυγμένων φύλλων η οποία αν συνέβαινε θα οδηγούσε σε υπερβολικά υψηλές τιμές ωσμωτικού δυναμικού μέσα σε αυτά με προφανείς τις καταστροφικές επιδράσεις στη λειτουργία των κύτταρων.

Εκτός όμως, από την μεταφορά μέσω του ηθμού και την ανακατανομή του οργανικού αζώτου σε αλλά όργανα του φυτού που έχουν άμεσες ανάγκες, η συσσώρευση οργανικών ιόντων μέσα στο χυμοτόπιο αποφεύγεται και μέσω δύο επιπλέον μηχανισμών.

Ο πρώτος μηχανισμός συνίσταται στη κατακρήμνιση οργανικών ανιόντων σε μορφή αδιάλυτων αλάτων τα οποία δεν επηρεάζουν το ωσμωτικό δυναμικό, όπως το οξαλικό ασβέστιο.(Van Egmond and Breteler,1972)

Ο δεύτερος μηχανισμός περιλαμβάνει μεταφορά ανιόντων οργανικών οξέων από την κόμη του φυτού στις ρίζες μέσω του ηθμού με συνοδό κατιόν του καλίου. Στη συνέχεια, τα οργανικά ανιόντα αποκαρβοξυλιώνονται οπότε απελευθερώνονται ιόντα OH^- ή HCO_3^- στο εξωτερικό περιβάλλον της ρίζας.(Marschner, 1995)

3.9.3 Η ΑΝΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΝΙΤΡΩΔΩΝ

Τα νιτρώδη ιόντα που προκύπτουν από την αναγωγή των νιτρικών δεν συσσωρεύονται στα φυτικά κύτταρα αλλά ανάγονται περαιτέρω σε αμμωνία αμέσως μετά τον σχηματισμό τους. Η αναγωγή των νιτρωδών σε αμμωνία μέσα στα φυτικά κύτταρα επιτυγχάνεται με την βοήθεια ενός ενζυμικού συστήματος που είναι γνωστό ως ρεδουκτάση των νιτρωδών. Η αναγωγή των νιτρωδών σε αμμωνία αμέσως μετά τον σχηματισμό τους οφείλεται στο γεγονός ότι η ρεδουκτάση των νιτρωδών βρίσκεται σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες μέσα στα φυτικά κύτταρα σε σύγκριση με τη ρεδουκτάση των νιτρικών. Η γενική αντίδραση, μέσω της οποίας τα νιτρώδη ιόντα μετατρέπονται σε αμμωνία είναι η εξής :

$$NO_2^- + 6e^- + 7H^+ \blacktriangleright NH_3 + 2H_2O$$

Όπως φαίνεται στην παραπάνω αντίδραση, 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 85kcal/mol περίπου. Επειδή τα γνωστά συνένζυμα και προσθετικές ομάδες που μεταφέρουν ηλεκτρόνια στις βιοχημικές αντιδράσεις είναι φορείς ενός ή δύο ηλεκτρονίων το πολύ, αρχικά πιστεύονταν 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 μια 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 σιροαίμη, η οποία όμως είναι φορέας ενός μόνο ηλεκτρονίου. Στα φύλλα η σιροαίμη λαμβάνει το ηλεκτρόνιο από ανηγμένη φερρεδοξίνη η οποία ενεργοποιείται μέσω οξείδωσης NAD(P)H. Τα NAD(P)H που ανάγουν την φερρεδοξίνη προέρχονται από το φωτοσύστημα Ι όταν υπάρχει φώς και από την αναπνοή στο σκοτάδι. Ας σημειωθεί ακόμη ότι στις ρίζες δεν έχει ανιχνευθεί φερρεδοξίνη.

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 προπλαστίδια. Το ένζυμο έχει σχετικά χαμηλό μοριακό βάρος (περίπου 60.000-70.000), χρώμα ερυθροφαιό και περιέχει 2 άτομα σιδήρου ανά μόριο. Η προσθετική ομάδα της σιροαίμης 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 μεταφοράς ηλεκτρονίων στα νιτρώδη κατά την αναγωγή τους σε αμμωνία μέσω της ρεδουκτάσης των νιτρωδών δεν είναι ακόμη πλήρως γνωστός.

3.9.4 Η ΑΦΟΜΟΙΩΣΗ ΤΗΣ ΑΜΜΩΝΙΑΣ

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

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 υπόλοιπων αμινοξέων που είναι απαραίτητα για την πρωτεϊνοσύνθεση.

Έχει διαπιστωθεί ότι η συνθετάση της γλοταμίνης και η συνθετάση του γλουταμινικού οξέως περιέχονται τόσο στα κύτταρα των ριζών όσο και στα κύτταρα των πράσινων φυτικών οργάνων. Ειδικά στα τελευταία, τα προαναφερόμενα ένζυμα φαίνεται ότι εδράζονται στους χλωροπλάστες. Η συνθετάση της γλουταμίνης παρουσιάζει ψηλό βαθμό εκλεκτικότητας (χαμηλή τιμή Km) ως προς την αμμωνία με αποτέλεσμα η συγκέντρωση της τελευταίας μέσα στα κύτταρα να διατηρείται σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Αυτό σημαίνει ότι αμέσως μόλις σχηματίζεται αμμωνία ως προϊόν της αναγωγής των νιτρικών ή εισέρχεται μέσα στο κύτταρο από άλλη πηγή η συνθετάση της

γλουταμίνης την μετασχηματίζει ταχύτατα σε γλουταμίνη. Έτσι η ενδοκυτταρική συγκέντρωση της αμμωνίας παραμένει χαμηλή. Αυτό είναι πολύ σημαντικό δεδομένου ότι η αμμωνία είναι τοξική για τα κύτταρα ακόμη και σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις αφού είναι γνωστό ότι προκαλεί απόζευξη των αντιδράσεων φωτοφωσφορυλίωσης. Πέρα από αυτό, η υψηλή εκλεκτικότητα του ενζύμου ως προς την αμμωνία που επιτρέπει να είναι αποτελεσματικό στην αξιοποίηση του ανόργανου αζώτου που εισέρχεται μέσα στα κύτταρα ακόμη και όταν ο ρυθμός απορρόφησης αζώτου από το φυτό ή αναγωγής των νιτρικών σε αμμωνία είναι σχετικά χαμηλός.

Η συνθετάση της γλουταμίνης χρειάζεται ATP για να ενεργοποιηθεί. Επιπλέον, φαίνεται ότι η παρουσία επαρκών ποσοτήτων μαγνησίου καθώς και η ύπαρξη ενός σχετικά αλκαλικού περιβάλλοντος είναι επίσης απαραίτητοι παράγοντές για την ενεργοποίηση του ενζύμου.

Σε περίπτωση που η τροφοδότηση των φυτών με άζωτο είναι υψηλή, με συνέπεια η συγκέντρωση αμμωνίας μέσα στο φυτικό κύτταρο να τείνει να ανυψωθεί, και τα δύο μόρια γλουταμινικού οξέως που προκύπτουν από την αμίνωση του 2-κετογλουταρικού οξέως δρουν ως υποδοχείς αμμωνίας .

Όταν η αμμωνία δεσμεύεται μέσω αυτής της εναλλακτικής μεταβολικής οδού, από τα δύο μόρια γλουταμίνης που προκύπτουν το ένα συνεχίζει τον κύκλο ενώ το άλλο τον εγκαταλείπει για να αξιοποιηθεί για την βιοσύνθεση άλλων αμινοξέων και πρωτεϊνών.

Παλιότερα πιστεύονταν ότι η αρχική αφομοίωση της αμμωνίας επιτυγχανόταν μέσω της αντίδρασης βιοσύνθεσης του γλουταμινικού οξέως .

Σύμφωνα όμως με τον Marschmer (1995), η αφυδρογονάση του γλουταμινικού οξέως έχει εκλεκτικότητα ως προς την αμμωνία (υψηλή τιμή Km) και επομένως δεν μπορεί να διατηρεί την συγκέντρωση της αμμωνίας μέσα στα κύτταρα σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Επιπλέον, το ένζυμο αυτό συναντάται μόνον στα μιτοχόνδρια των ριζών και των φύλλων. Είναι επομένως απίθανο να έχει η αφυδρογονάση του γλουταμινικού οξέως τον ρόλο που της αποδιδόταν παλιότερα στην αφομοίωση του ανοργανού αζώτου από τα φυτά.

Μετά τον σχηματισμό του το γλουταμινικό οξύ αντιδρά με διάφορα άλλα κετονοξέα (π.χ. οξαλοξεικό, πυροσταφυλικό) στα οποία μεταβιβάζει την αμινομάδα του με αποτέλεσμα να προκύπτουν και τα υπόλοιπα 19 από τα

συνολικά 20 αμινοξέα τα οποία είναι αναγκαία για την πρωτεϊνοσύνθεση καθώς και τα διάφορα άλλα ενδιάμεσα του μεταβολισμού του οργανικού αζώτου.

Οι αντιδράσεις αυτές καλούνται αντιδράσεις τρανσαμίνωσης ενώ τα ένζυμα που τις καταλύουν καλούνται αμινοτρανσφεράσες ή τρανσαμινάσες. Από τα υπάρχοντα πειραματικά δεδομένα όμως, φαίνεται ότι μόνο λίγα αμινοξέα, ή άλλες αζωτούχες οργανικές ενώσεις βιοσυντίθενται στην ρίζα ενώ η βιοσύνθεση όλων των άλλων αζωτούχων οργανικών ενώσεων λαμβάνει χώρα στο υπέργειο τμήμα του φυτού. Αυτό γίνεται για λόγους ενεργειακής οικονομίας του φυτού. Πράγματι, για την βιοσύνθεση των διαφόρων αμινοξέων και αμινών μέσω αντιδράσεων ταρανσαμίνωσης είναι αναγκαία η ύπαρξη των αντίστοιχων σκελετών άνθρακα στους οποίους θα μεταφερθεί η αμινομάδα. Οι σκελετοί άνθρακα που χρησιμοποιούνται σε αυτές τις αντιδράσεις προέρχονται είτε από την αναπνευστική αποδόμηση υδατανθράκων (γλυκόλυση, κύκλος τρικαρβοξυλικών οξέων), είτε από ενδιάμεσα παράγωγα της φωτοσύνθεσης.

Τα κύτταρα της ρίζας όμως δεν φωτοσυνθέτουν, ενώ η αναπνευστική αποδόμηση υδατανθράκων έχει ως συνέπεια την κατανάλωση σημαντικού μέρους των ενεργειακών αποθεμάτων των ριζών. Γι' αυτό, το φυτό προτιμά να ενσωματώνει όσο περισσότερο άζωτο μπορεί στους διαθέσιμους σκελετούς άνθρακα και να τους στέλνει στα φύλλα (Marschner, 1995). Εκεί ο περαιτέρω μεταβολισμός του οργανικού αζώτου γίνεται με την χρήση σκελετών άνθρακα που παράγονται κατά τις διεργασίες της φωτοσύνθεσης, οπότε η ενεργειακή επιβάρυνση του φυτού είναι πολύ μικρότερη. Η ενσωμάτωση μεγάλων ποσοτήτων αζώτου σε έναν σκελετό άνθρακα σημαίνει ότι οι αζωτούχες ενώσεις που μεταφέρονται από την ρίζα προς την κόμη του φυτού μέσω του ανιόντος χυμού έχουν υψηλή τιμή N/C. Πραγματικά οι περισσότερες αζωτούχες οργανικές ενώσεις που μεταφέρονται από την ρίζα προς την κόμη του φυτού μέσω του ανιόντος χυμού έχουν τιμή N/C μεγαλύτερη από 0,4 (Wallace and Pate, 1965). Τέτοιες ενώσεις είναι συνήθως τα αμίδια γλουταμίνη (2N/5C) και η ασπαραγίνη (2N/4C), το αμινοξύ αργινίνη (4N/6C) και το ουρεΐδιο αλαντοΐνη (4N/4C).

3.10 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΟΡΦΩΝ Ν ΣΤΑ ΦΥΤΑ

Φυτά που αναπτύσσονται σε εδάφη που περιέχουν αμμωνιακά ιόντα NH_4^+ χωρίς καθόλου νιτρικά NO_3^-, περιέχουν μικρότερες συγκεντρώσεις Ca, Mg, K και υψηλότερες συγκεντρώσεις P και S.

Τα φυτά που δέχθηκαν μόνο NH_4^+ είχαν υψηλότερο ολικό άζωτο, ελεύθερα αμινοξέα, αμίδια και NH_4^+. Χορήγηση NH_4^+ σε τομάτα κατά την άνθηση οδηγεί στο σύμπτωμα *'blossom end rot'* (ξηρή σήψη κορυφής), λόγω ανταγωνισμού από το NH_4^+ της απορρόφησης Ca. Το περιεχόμενο σε οργανικά οξέα ήταν σημαντικά χαμηλότερο σε φυτά που είχαν τραφεί με NH_4^+.

Πιστεύεται ότι για τα περισσότερα είδη φυτών, η κανονική θρέψη περιλαμβάνει την απορρόφηση υψηλής αναλογίας αζώτου στη μορφή NO_3^-. Έτσι, η θρέψη με NH_4^+ είναι μια τεχνητή και εξαιρετική περίπτωση, αν και υπάρχουν μερικά φυτά όπως του γένους *Pinus* που προτιμούν αμμωνιακό N και μπορούν να αναπτύσσονται σε εδάφη όπου οι συνθήκες είναι δυσμενείς για νιτροποίηση. Στα είδη που έχουν προσαρμοστεί και αναπτύσσονται κάτω από υψηλό NH_4^+, δεν παρατηρήθηκε τροφοπενία Ca και M.

3.11 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ NO_3^- ΣΤΑ ΦΥΤΑ

Η συγκέντρωση NO_3^- στους φυτικούς ιστούς επηρεάζεται από διάφορους κλιματικούς και γενετικούς παράγοντες. Αυτοί είναι οι εξής:

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

3.11.1.1 ΚΛΙΜΑΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

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 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 ικανότητα πολύ γρήγορα στο

σκοτάδι.

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

Όσον αφορά την ποιότητα 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^-. Γι' 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 Gammore 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° C μπορεί να μειώσει τη δραστηριότητα της NR σε πολλά φυτά. Μεταξύ έντασης φωτός και θερμοκρασίας παρατηρείται αλληλεπίδραση, όσο 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^-.

3.11.1.2 ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Οι ποικιλίες σπανακιού με λεία φύλλα περιέχουν πολύ λιγότερα NO_3^- σε σύγκριση με τις ποικιλίες που έχουν σγουρά φύλλα, επίσης μεγαλύτερες συγκεντρώσεις 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 δύο διαφορετικών ποικιλιών είναι διαφορετικές. Έχουμε για την ποικιλία *APOLLO* συγκέντρωση NO_3^- σε φύλλα 3.700 mgr/Kgr ενώ στην ποικιλία *KLOEK* 2.360 mgr/ Kgr

Διαπιστώθηκε ακόμη, ότι οι πρώιμες ποικιλίες παρουσιάζουν μεγαλύτερη τάση συσσώρευσης νιτρικών (NO_3^-) στους ιστούς τους.

3.11.2 ΛΙΠΑΝΣΗ ΚΑΙ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΝΙΤΡΙΚΩΝ

Η αποφυγή της συσσώρευσης των NO_3^-, σύμφωνα με τα όρια που έχουν θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση και τους διεθνείς οργανισμούς αποτελεί πλέον υποχρέωση των παραγωγών λαχανικών. Είναι προφανές ότι ο παράγοντας πάνω στον οποίο χρειάζεται να παρέμβουμε καταρχήν είναι το άζωτο. Τα αζωτούχα λιπάσματα (νιτρική αμμωνία, νιτρικό ασβέστιο, κ.λ.π.) ευνοούν τη συσσώρευση των νιτρικών μολονότι, διεγείροντας τη δράση της ρεδουκτάσης των νιτρικών, επιταχύνουν τους ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών (γνωρίζουμε ότι τα καλύτερα λαχανικά είναι εκείνα που παράγονται σε μικρό χρονικό διάστημα), με βάση το μέσο όρο του καλλιεργητικού κύκλου του κάθε είδους και της κάθε ποικιλίας.

Από έρευνες που έγιναν, βρέθηκε ότι η χρήση οργανικών ή αμμωνιακών λιπασμάτων ευνοούν τη συσσώρευση νιτρικών στα φυτά. Τα αμμωνιακά λιπάσματα (ουρία, θειικό αμμώνιο, κ.λ.π.) περιορίζουν τον κίνδυνο της συσσώρευσης των νιτρικών, τουλάχιστον μέχρις ότου δε μετατρέπονται με τη σειρά τους σε νιτρικό άζωτο στο έδαφος.

Συνεπώς και στις δύο περιπτώσεις είναι βασικό να προσέξουμε τη δόση και την εποχή χορήγησης των αζωτούχων λιπασμάτων. Οι μειωμένες δόσεις και η εποχή χορήγησης της τελευταίας δόσης (να απέχει πολύ από τη συλλογή) μπορούν να αποτελέσουν μεθόδους μείωσης των ποσοστών συσσώρευσης του νιτρικού αζώτου στους ιστούς των πιο επικίνδυνων ειδών.

Δεν θα πρέπει να υποβαθμίζεται, ωστόσο, το νιτρικό άζωτο που περιέχει το έδαφος (το φυσικό) και που μπορεί να σχηματιστεί κατά τρόπο ανεξέλεγκτο μετά την αποσύνθεση της οργανικής ουσίας (λόγου χάριν μετά από αμειψισπορά ψυχανθών ή χλωρής λίπανσης). Γι' αυτό το λόγο αυτοί οι τύποι εδαφών θα πρέπει να αποκλείονται από την καλλιέργεια εκείνων των λαχανικών, που είναι ικανά να συγκεντρώσουν μεγάλες ποσότητες νιτρικών.

Ο ανταγωνισμός μεταξύ νιτρικού και αμμωνιακού αζώτου στο υπόστρωμα καλλιέργειας, παρέχει μια περαιτέρω ευκαιρία ελέγχου της συσσώρευσης των νιτρικών. Αλλά αυτό είναι δυνατόν μόνο στα φτωχά σε οργανική ουσία εδάφη (αμμώδη εδάφη, κοκκινοχώματα) όπου, με μια σωστή διαχείριση της ανόργανης λίπανσης, μπορούμε να ικανοποιήσουμε τις απαιτήσεις της καλλιέργειας.

Ορισμένες έρευνες απέδειξαν ότι τα αμμωνιακά λιπάσματα που χορηγούνται στα λαχανικά, τα οποία καλλιεργούνται σε φτωχά σε οργανική ουσία εδάφη, παρέχουν τη δυνατότητα παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων προϊόντων με χαμηλά ποσοστά NO_3^-, ενώ στα πλούσια σε οργανική ουσία εδάφη το αμμωνιακό άζωτο δεν διακόπτει τη συσσώρευση των νιτρικών, λόγω υπερβολικής παρουσίας νιτρικού αζώτου στο έδαφος. Αυτό συμβαίνει γιατί τα φυτά απορροφούν αμμωνιακό άζωτο, χωρίς όμως να πειράζει, εάν στο μέσο καλλιέργειας υπάρχει και μια μέτρια ποσότητα νιτρικού αζώτου, που μπορεί να καλύψει τις ποσότητες εκείνες, που συνδέονται με το μεταβολισμό του αζώτου. Σύμφωνα με τα είδη, για να πραγματοποιηθεί αυτός ο μηχανισμός, η σχέση μεταξύ NO_3^- και NH_4^+ αζώτου, μπορεί να κυμαίνεται από 1 μέχρι 10.

Ο ανταγωνισμός μεταξύ του νιτρικού και του αμμωνιακού αζώτου μπορεί πιο εύκολα να ρυθμιστεί στις καλλιέργειες σε θρεπτικά υποστρώματα, όπου επίσης μπορούμε να μειώσουμε δραστικά τη συγκέντρωση των νιτρικών στους φυτικούς ιστούς, καταργώντας το άζωτο του θρεπτικού διαλύματος στα τελευταία στάδια της καλλιέργειας, υποχρεώνοντας έτσι τα φυτά να χρησιμοποιήσουν τα μεγάλα ποσοστά νιτρικού αζώτου που ήδη έχουν συσσωρεύσει. Πιο δύσκολη είναι αντίθετα η ρύθμιση στο χωράφι.

Τέλος ο παράγοντας που φέρει την κύρια ευθύνη της εμφανίσεως του προβλήματος στον ανησυχητικό βαθμό που υπάρχει σήμερα είναι η εφαρμοζόμενη αζωτούχος λίπανση. Κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες (συνθήκες εργαστηρίου) η συσσώρευση NO_3^- είναι συνάρτηση της ποσότητας και του τύπου της παρεχομένης λίπανσης.

3.11.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΛΟΙΠΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ NO_3^-

- Ο εφοδιασμός φωσφόρου (P) δεν επιδρά σημαντικά στην συγκέντρωση NO_3^- στα λαχανικά.
- Η έλλειψη θείου (S) οδηγεί στην συγκέντρωση NO_3^- στα λαχανικά. Έλλειψη S μειώνει την δραστηριότητα του ενζύμου NR και οδηγεί σε συγκέντρωση NO_3^- στους φυτικούς ιστούς. Έχει μεγάλη σημασία να διατηρήσουμε άριστο επίπεδο S για να αποφευχθεί η συγκέντρωση NO_3^- στους φυτικούς ιστούς. Επίσης, η έλλειψη S μειώνει την αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησης N στα φυτά. Έτσι, η τροφοπενία S μπορεί να αυξήσει την απώλεια N από γεωργικά εδάφη, μέσω της απονιτροποίησης και της έκπλυσης.
- Η παρουσία K αυξάνει την απορρόφηση NO_3^-.
- Δεν παρατηρήθηκε συγκεκριμένη τάση της επίδρασης ασβεστίου (Ca) στην συγκέντρωση NO_3^- στα λαχανικά. Έλλειψη Ca μειώνει την αύξηση των ριζών με συνέπεια και την απορρόφηση NO_3^- . Το Ca ασκεί επίδραση στην απορρόφηση NO_3^- και πιθανώς στην αναγωγή του. Σε αντίθεση με τα NO_3^- που ευνοούν την προσρόφηση Ca και Mg και εμποδίζουν αυτή των φωσφορικών (Μπούρμπος – Σκουντριδάκης 1990).

3.11.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ

Εξετάζοντας τον παράγοντα ιχνοστοιχεία θα πρέπει να έχουμε βαθιά συνειδητοποιήσει τον καθοριστικό τους ρόλο στην ισόρροπη θρέψη του φυτού ξέχωρα από τις απαραίτητες συγκεντρώσεις του που θα είναι μόνο κάποια μέρη στο εκατομμύριο (ppm).

Ειδικότερα, ενδιαφερόμαστε για τα ιχνοστοιχείο μολυβδαίνιο (Mo) που αποτελεί βασικό δομικό συστατικό της νιτρικής ρεδουκτάσης (ή νιτρικής αναγωγάσης) που καταλύει την αντίδραση μετατροπής των νιτρικών (NO_3^-) σε νιτρώδη (NO_2^-) μέσα στο φυτό. Σε φυτά με έλλειψη Mo τα NO_3^- συγκεντρώνονται και φθάνουν ως το 3% του ξηρού βάρους. Φυτά που λιπαίνονται με NH_4^+ δεν παρουσιάζουν τέτοια εξάρτηση από το Mo. Η έλλειψη Mo οδηγεί σε συγκέντρωση NO_3^-. Αντίστοιχα το ιχνοστοιχείο μαγγάνιο (Mη) αποτελεί συστατικό της νιτρώδους ρεδουκτάσης, του ενζύμου που είναι υπεύθυνο για την περαιτέρω μετατροπή των νιτρωδών. Όσον αφορά τα μη θεμελιώδη στοιχεία η αύξηση του εναλλακτικού νατρίου (Na) στο έδαφος αυξάνει την απορρόφηση NO_3^-.

Πολλοί ερευνητές επιχείρησαν να κάνουν χρήση του γεγονότος αυτού στην γεωργική πρακτική. Συγκεκριμένα στην περιοχή LIMOUSINE της κεντροδυτικής Γαλλίας η εταιρεία DIERAL που παράγει παιδικές τροφές σε βαζάκια εφάρμοσε ένα εκτεταμένο πρόγραμμα παροχής των δύο αυτών ιχνοστοιχείων στα φυτά είτε από το έδαφος, είτε από το φύλλωμα. Με τον τρόπο αυτό επιτεύχθηκε μεγαλύτερη ενεργοποίηση των ενζύμων και μετατροπή των νιτρικών. Όμως, σε φυτά που έχουν την τάση να απορροφούν μεγάλες ποσότητες νιτρικών (όπως το σπανάκι και το καρότο), η προσθήκη αυτή δεν μπόρεσε να επιλύσει παρά ένα μέρος του προβλήματος. Οι δυνατότητες αύξησης της ποσότητας των αναγωγικών ενζύμων είναι περιορισμένες. Στόχος μας, βέβαια, είναι η αποφυγή τροφοπενιών μαγγανίου (Mη) ή μολυβδαινίου (Mo). Η πρώτη παρατηρείται σε υψηλό pH λόγω οξείδωσης του αφομοιώσιμου δισθενούς μαγγανίου (Mn) σε οξείδιο του μαγγανίου (MnO_2) από τη δράση μικροοργανισμών, ενώ η δεύτερη είναι φαινόμενο των όξινων εδαφών.

3.11.5 ΛΑΧΑΝΙΚΑ ΜΕ ΥΨΗΛΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ

Η δυναμική του κινδύνου ποικίλλει σημαντικά σε σχέση με τα διάφορα τμήματα του φυτού. Γενικά, η συσσώρευση των νιτρικών στα ανθικά όργανα είναι πάρα πολύ χαμηλή. Αυξάνει σταδιακά στους καρπούς, σπόρους, φύλλα, ρίζες, μίσχους και στελέχη. Ορισμένα φυτά, συνήθως, αποτελούν μεγάλους συσσωρευτές νιτρικών, όπως το σπανάκι, το μαρούλι, το σέλινο, το λάχανο, το μπρόκολο, το κουνουπίδι, το ρεπάνι, το παντζάρι ενώ το καρότο, το κρεμμύδι, η πατάτα, το φασολάκι και η γλυκοπατάτα, δεν αποτελούν συσσωρευτές νιτρικών.

Καλά θα είναι να έχουμε υπόψη, ότι αυτή η ταξινόμηση δεν είναι δεδομένη, αφού η συγκέντρωση των νιτρικών μπορεί να εξαρτηθεί από γενετικούς, κλιματικούς και καλλιεργητικούς παράγοντες. Μεγάλη διαφορά μπορεί να παρατηρηθεί ακόμη και μεταξύ των ίδιων οργάνων διαφορετικών ειδών, π.χ. η ρίζα του παντζαριού και του ρεπανιού συσσωρεύουν νιτρικά, ενώ η ρίζα του καρότου και της πατάτας καθόλου ή ελάχιστα. Παλιά όργανα παρουσιάζουν μεγαλύτερα ποσοστά νιτρικών σε σχέση με τα νεότερα του ίδιου φυτού: τα εξωτερικά φύλλα (που συνήθως δεν τα τρώμε) του μαρουλιού παρουσιάζουν συγκεντρώσεις ακόμη και διπλάσιες από τα εσωτερικά.

Τα φρέσκα λαχανικά συνήθως περιέχουν περισσότερα νιτρικά από τα διατηρημένα. Αυτό οφείλεται στο ξέπλυμα που υφίστανται στη φάση του πλυσίματος και κυρίως κατά το βράσιμο. Στα φρέσκα προϊόντα που συγκεντρώνονται χωρίς να καταψυχθούν, μόλις συλλέγουν, το ποσοστό των νιτρικών είναι πάντα μεγαλύτερο λόγω της αναγωγής των νιτρικών που καταρχήν είναι ενζυμική (πολύ υψηλή, πάνω από 10° C) και βακτηριακή στη συνέχεια, χαρακτηριστική των διατηρημένων προϊόντων που δεν καταψύχονται κανονικά. Το σημαντικό πλεονέκτημα των νωπών λαχανικών, είναι ωστόσο, η μεγάλη περιεκτικότητα βιταμίνης C, η οποία αντιδρά σαν αντίδοτο και εμποδίζει το σχηματισμό νιτροζαμινών.

Τα διάφορα φυτικά είδη, ανάλογα με τη γενετική τους προέλευση, που αποτελεί βασικό παράγοντα ελέγχου της περιεκτικότητάς τους σε νιτρικά, κατατάσσονται σε διάφορες κατηγορίες, με βασικό κριτήριο τη συσσωρευτική τους ικανότητα σε νιτρικά. Τα λαχανοκομικά φυτά διαφέρουν ως προς το βαθμό συσσώρευσης νιτρικών που συνήθως μπορεί να φθάσουν. Υπάρχουν φυτά που συσσωρεύουν αρκετά μεγάλες ποσότητες όπως σπανάκι, μαρούλι,

παντζάρι και άλλα λιγότερο επικίνδυνα όπως τομάτες, αρακάς, πατάτες.

Πίνακας 1: Περιεκτικότητα διαφόρων λαχανοκομικών καλλιεργειών σε νιτρικά (ppm NO_3^- στο νωπό βάρος)

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΝΙΤΡΙΚΩΝ
Μαρούλι	7	**720**
Βαλεριάνα	3	2447
Ραπανάκι	**3**	**1480**
Σπανάκι	4	1706
Καρότο	2	102
Σέλινο	5	449
Κουνουπίδι	6	152
Πράσο	7	73

Πηγή: Επιστημονική Ημερίδα BASF Limburgerhof 17 & 18/05/1999

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ ΘΕΙΟΥ

4.1 ΓΕΝΙΚΑ

Ο ρόλος του θείου για την αύξηση των φυτών είναι γνωστός εδώ και 150 χρόνια.

Το θείο είναι ένα από τα μακροστοιχεία, αν και τα φυτά χρειάζονται πολύ λιγότερο, από ότι Ν ή Κ. Οι ποσότητες S που απαιτούνται από τις περισσότερες καλλιέργειες είναι συγκρίσιμες με τις απαιτούμενες ποσότητες Mg. Πολύ πριν γίνει γνωστός ο θεμελιώδης ρόλος του στα φυτά, το θείο χρησιμοποιήθηκε υπό μορφή γύψου. Τα τελευταία χρόνια αυξάνεται το ενδιαφέρον για το S ως θρεπτικό στοιχείο, λόγω της επίδρασης του τόσο στην απόδοση, όσο και στην ποιότητα των προϊόντων.

4.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ 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 (Σιμώνης Α,1995).

Το Ν και το S είναι κύρια συστατικά των πρωτεϊνών, έτσι η έλλειψη S επηρεάζει την αξιοποίηση Ν μέσα στο φυτό για τη σύνθεση πρωτεΐνης. Η έλλειψη θείου μπορεί να εμπλουτίσει τα παραγόμενα φυτικά προϊόντα σε μη πρωτεϊνικό άζωτο, συμπεριλαμβανομένου του NO_3-N στους φυτικούς ιστούς. Έτσι έχει μεγάλη σημασία η διατήρηση του άριστου επιπέδου S στα φυτά, ώστε να αποφευχθεί η μεγάλη συγκέντρωση (NO_3^-) στους φυτικούς ιστούς (Θεριός Ι. 1996).

Το S σε δύο θειοαμινοξέα (μεθειονίνη, κυστεΐνη, κυστίνη, θειαμίνη κ.λ.π.) που είναι αναντικατάστατα συστατικά των πρωτεϊνών. Τρεις ακόμη

ενώσεις η ανευρίνη, η βιοτίνη και η φερρεδοξίνη, καθώς και το συνένζυμο Α της αναπνοής περιέχουν το στοιχείο αυτό. Προϊόντα με χαρακτηριστική οσμή, όπως το κρεμμύδι και η μουστάρδα, περιέχουν S. Το S είναι ενεργοποιητής ενζύμων όπως η παπαΐνη, βρομελίνη και φυκίνη.

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 μπορεί να κινητοποιηθεί αν χρειαστεί. Η θειική μορφή (SO_4^{2-}) του θείου απαντάται και στο πλασματικό υγρό. Εκεί το βρίσκουμε όχι μόνο ως θειικό ασβέστιο αλλά και ως θειικό ανιόν (SO_4^{2-}) που δρα ανταγωνιστικά στα νιτρικά ιόντα (NO_3^-) και ανιόντα χλωρίου Cl.

Η αναγκαία ποσότητα S για μια καλλιέργεια συσχετίζεται με το ποσό του χορηγούμενου N-ούχου λιπάσματος. Έλλειψη S επιβραδύνει την αύξηση των φυτών, διότι το S διαδραματίζει τους εξής ρόλους:

Είναι συστατικό των αμινοξέων κυστίνη, κυστεΐνη και μεθειονίνη, που αποτελούν τμήμα των πρωτεϊνών.

- Σύνθεση της χλωροφύλλης, αν και η χλωροφύλλη δεν περιέχει S.
- Ενεργοποίηση μερικών πρωτεολυτικών ενζύμων, όπως η παπαΐνη.
- Σύνθεση μερικών βιταμινών, όπως βιοτίνη, θειαμίνη (βιταμίνη B_1), γλουτοθειόνη, λιποϊκό οξύ καθώς και το συνένζυμο Α.
- Σχηματισμός μερικών σουλφιδρυλικών δεσμών, που έχουν σχέση με τα δομικά χαρακτηριστικά του πρωτοπλάσματος. Η πυκνότητα των σουλφιδρυλικών δεσμών σχετίζεται με την αντοχή στο ψύχος ή την ξηρασία.
- Σχηματισμός ελαίων, όπως του κρεμμυδιού και φυτών της οικογένειας *Cruciferae*.
- Σχηματισμός φερρεδοξίνης, που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη φωτοσύνθεση.
- Σχηματισμός αζωφερρεδοξίνης, που παίρνει μέρος στην αζωτοδέσμευση με τα βακτήρια του γένους *Rhizodium*.
- Δραστηριότητα της ATP-σουλφουρυλάσης, ενός ενζύμου που παίρνει μέρος στο μεταβολισμό του S.
- Δραστηριότητα του ενζύμου νιτρική αναγωγάση, που είναι υπεύθυνη για τη μετατροπή του NO_3^--N σε αμινοξέα και κατόπιν σε πρωτεΐνη.

4.3 Ο ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΘΕΙΟΥ

Το θείο 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 θειο ο οργανισμός δεν μπορεί να κάνει τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών σωστά. Βοηθά στην καλή διατήρηση της γενικής εμφάνισης και ομορφιάς

Δίνει ωραίο χρώμα στο δέρμα και αστραφτερά μαλλιά. Οι διαβητικοί συχνά έχουν έλλειψη θείου και η σωστή ποσότητα μας προφυλάσσει αποτελεσματικά από αυτήν την ασθένεια. Τέλος όσοι έχουν προβλήματα τριχόπτωσης ωφελούνται όταν παίρνουν αποτελέσματα τις τροφές την απαραίτητη ποσότητα θείου.

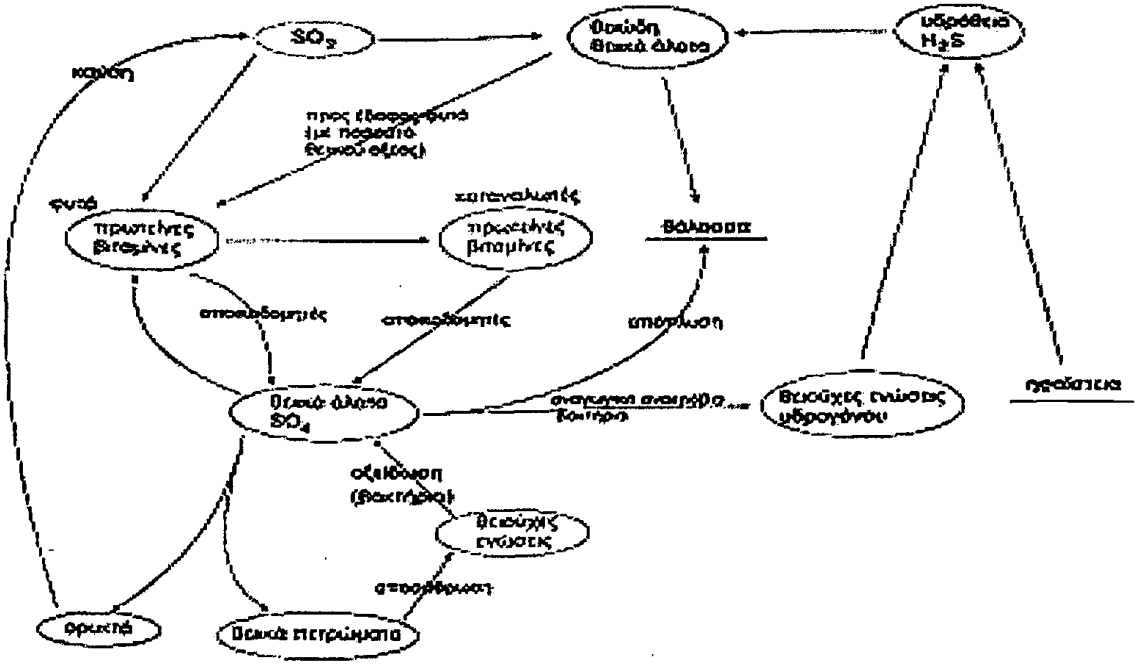
Από τα λαχανικά που είναι πλούσια σε θείο είναι το λάχανο, μπρόκολο, ραδίκια, καρότα, σέλινο, κουνουπίδι, κάστανα, μαύρες σταφίδες. Οι περισσότερες τροφές που περιέχουν φυσικού θειο πρέπει να τρώγονται ωμές, γιατί το ψήσιμο τις κάνει δύσπεπτες και προκαλούνται αέρια.

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 θείο δεν είναι εύκολα διαλυτό στοιχείο, με αποτέλεσμα να συσσωρεύεται σε ιζήματα και να σχηματίζει ενώσεις αδιάλυτες στο νερό. Σε αυτή τη μορφή το θείο δεν είναι διαθέσιμο στους ζωντανούς οργανισμούς. Αντίστοιχα όμως, νέες ποσότητες θείου καθίστανται διαθέσιμες με την αποσάθρωση θειούχων πετρωμάτων όπως ο γύψος.

Οι εκρήξεις ηφαιστείων, αλλά και η καύση ορυκτών καυσίμων, απελευθερώνουν θείο στην ατμόσφαιρα, συνήθως με τη μορφή υδρόθειου, το οποίο αρχικά μετατρέπεται σε διοξείδιο του θείου και στη συνέχεια σε θειικό οξύ. Το θειικό οξύ καταλήγει στην επιφάνεια της γης με τις βροχοπτώσεις, όπου ασκεί ιδιαίτερα τοξική επίδραση στα φυτά. Το φαινόμενο αυτό είναι

γνωστό ως όξινη βροχή και έχει προκαλέσει μεγάλες καταστροφές δασών σε πολλές περιοχές του πλανήτη.



Εικόνα 3: Ο κύκλος του θείου

4.4 ΑΝΑΓΩΓΗ ΣΕ ΘΕΙΙΚΑ (SO_4^{2-})

Τα ανώτερα φυτά και πολλοί μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν το SO_4^{2-} ως πηγή S. Η αφομοίωση των (SO_4^{2-}) είναι ανάλογη με την αφομοίωση των νιτρικών και αφορά μια σειρά από αντιδράσεις όπου το SO_4^{2-} ανάγεται σε σουλφίδιο και χρησιμοποιείται για το σχηματισμό κυστεΐνης. Η όλη διαδικασία είναι μια εξαιρετικά ενδόθερμη διαδικασία, η οποία απαιτεί ενέργεια της τάξης των 180 kcal/mol. Η αναγωγή των θειικών θεωρείται η ποιο ενεργοδυναμική αντίδραση που γίνεται στα ζωντανά κύτταρα. Το αρχικό στάδιο περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του SO_4^{2-} με αδενοσινοτριφωσφορικό οξύ (ATP) και καταλήγει στο σχηματισμό αδενοσίνης-5-φωσφοθεϊκής (APS) και στο τέλος της ένωσης 3-φωσφοαδενοσίνης-5-φωσφοθεϊκής (PAPS). Η αρχική αντίδραση καταλύεται με ATP σουλφουριλάση και έχει ως εξής:

SO_4^{2-} + ATP σουρφορυλάση ⟷ APS κινάση

Το δεύτερο στάδιο πραγματοποιείται με το ένζυμο APS κινάση και δίνει:

$$\mathbf{APS + ATP \longrightarrow PAPS + ADP}$$

Η ένωση αυτή χρησιμοποιείται ως δότης S σε ενώσεις όπως υδατάνθρακες, φαινόλες και στερόλες. Επίσης η ένωση PAPS είναι υπόστρωμα για αναγωγή τουS^{6+} σε S^{4+} ως σουλφίδιο. Το ένζυμο που καταλύει αυτή την αναγωγή 2 ηλεκτρονίων είναι η PAPS αναγωγάση. Η ένωση PAPS μεταφέρεται σε μια διθειόλη πρωτεΐνης με μικρό μοριακό βάρος.

Η θειοθειική πρωτεΐνη υφίσταται οξειδοαναγωγή η οποία απελευθερώνει δισουλφίδιο με αριθμό οξείδωσης του S = +4

Στη συνέχεια, γίνεται αναγωγή σε H_2S με το ένζυμο ρεδουκτάση των θειικών ή θειική αναγωγάση. Συνολικά απαιτούνται 6 ηλεκτρόνια γι αυτή την αναγωγή και χορηγούνται από 3mol NADPH:

$$\mathbf{H_2SO_3 + 3NADPH + 3H^+ \longrightarrow H_2S + 3NADP + 3H_2O}$$

Το τελευταίο στάδιο της αφομοίωσης S περιλαμβάνει την αντίδραση H_2S με O-ακετυλ-σερίνη η οποία έχει τύπο [$CH^3OCH_2CH(NH_2)COOH$], για σχηματισμό του αμινοξέος κυστεΐνη [$HSCH_2CH(NH_2)COOH$].

Η κυστεΐνη χρησιμοποιείται από τα φυτά και τους μικροοργανισμούς ως κύρια πηγή θείου για το σχηματισμό μεθειονίνης. Ενδιάμεσα προϊόντα σε αυτή τη διεργασία είναι η cystathione και ομοκυστίνη.

Τα ζώα, τα φυτά και πολλοί μικροοργανισμοί περιέχουν το ένζυμο *cysteine desulfurylase*, που καταλύει την αντίδραση:

Κυστεΐνη + H_2O ⟶ πυρουβικό οξύ + NH_3 + H_2S

Και το H_2S στη συνέχεια μας δίνει θειοθειικά:

$$\mathbf{H_2S + 2O_2 \longrightarrow S_2O_3 + H_2O + 2H^+}$$

4.5 ΜΟΡΦΕΣ S ΣΤΟ ΕΔΑΦΟΣ ΚΑΙ Η ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΑΠΟ ΤΑ ΦΥΤΑ

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 τα SO_4^{2-} που προσροφώνται 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.

Τα SO_4^{2-} απαντώνται στα εδάφη σε 3 μορφές, στο εδαφικό διάλυμα, ως ίζημα και ως προσροφημένο στην επιφάνεια των ορυκτών της αργίλου. Η γύψος είναι η πιο συνήθης μορφή SO_4^{2-} υπό μορφή ιζήματος. Η διαλυτότητα της γύψου είναι μικρή (450 μgr S/ml H_2O). Η συγκέντρωση SO_4^{2-} σε ισορροπία με $CaSO_4.2H_2O$ είναι πολλές φορές μεγαλύτερη από τη συγκέντρωση που χρειάζονται τα φυτά για άριστη θρέψη. Τα περισσότερα εδάφη με υψηλό βαθμό αποσάθρωσης περιέχουν προσροφημένο SO_4^{2-}.

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 απ' ότι τα NO_3^- ή τα ιόντα Cl^- και δυσκολότερα εκπλύνονται. Αυτό εξηγεί γιατί οι απώλειες σε S είναι μικρότερες σε σύγκριση με το N.

Εδάφη με υψηλό βαθμό αποσάθρωσης έχουν σημαντική ικανότητα προσρόφησης SO_4^{2-}. Η προσρόφηση SO_4^{2-} είναι συνάρτηση της

συγκέντρωσης. Λιπάσματα που αυξάνουν τη συγκέντρωση των SO_4^{2-} στο εδαφικό διάλυμα, αυξάνουν την προσρόφηση. Τα φυτά μπορούν να χρησιμοποιήσουν τα προσροφημένα SO_4^{2-}. Η προσρόφηση μπορεί να μειώσει τις απώλειες των θειικών λιπασμάτων, με μείωση της έκπλυσης. Προσθήκη P μειώνει την ικανότατα του εδάφους για προσρόφηση SO_4^{2-}.

4.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΛΛΕΙΨΗΣ S ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Σήμερα στην Αγγλία, Σουηδία, Δανία, Γερμανία και Γαλλία η έλλειψη S είναι η πιο διαδεδομένη από όλες τις τροφοπενίες. Ο μειωμένος εφοδιασμός S στις καλλιέργειες έχει πολλές συνέπειες. 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. Έτσι στα σιτηρά για ψωμί η περιεκτικότητα σε S έχει θετική συσχέτιση με την αρτοποιητική ικανότητα των αλεύρων. 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.

Η περιεκτικότητα σε NO_3^- στα λαχανικά και τις ζωοτροφές είναι ένα σημαντικό κριτήριο της ποιότητας των τροφών. Τα N και S είναι κύρια συστατικά των πρωτεϊνών, έτσι η έλλειψη S επηρεάζει την αξιοποίηση N μέσα στο φυτό για τη σύνθεση πρωτεΐνης. Η έλλειψη S μπορεί να εμπλουτίσει τα προϊόντα σε μη πρωτεϊνικό N, συμπεριλαμβανομένου του NO_3 στο φυτικό ιστό.

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 οργανική Γεωργία, όπου δεν

χρησιμοποιούνται φυτοφάρμακα. Η έλλειψη S μείωσε την αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησης N στα φυτά. Έτσι, η τροφοπενία S μπορεί να αυξήσει την απώλεια N από γεωργικά εδάφη, μέσω της απονιτροποίησης και της έκπλυσης.

4.7 ΘΕΙΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

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 απ' ότι τα NO_3^- ή τα ιόντα Cl^- και δυσκολότερα εκπλύνονται. Αυτό εξηγεί γιατί οι απώλειες σε S είναι μικρότερες σε σύγκριση με το N.

Εδάφη με υψηλό βαθμό αποσάθρωσης έχουν σημαντική ικανότητα προσρόφησης SO_4^{2-}. Η προσρόφηση SO_4^{2-} είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης. Λιπάσματα που αυξάνουν τη συγκέντρωση των SO_4^{2-} στο εδαφικό διάλυμα, αυξάνουν την προσρόφηση. Τα φυτά μπορούν να χρησιμοποιήσουν τα προσροφημένα SO_4^{2-}. Η προσρόφηση μπορεί να μειώσει τις απώλειες των θειικών λιπασμάτων, με μείωση της έκπλυσης. Προσθήκη P μειώνει την ικανότατα του εδάφους για προσρόφηση SO_4^{2-}.

Β΄ ΜΕΡΟΣ
(ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5ο

5.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Φυτά ρόκας (*Eruca sativa*) καλλιεργήθηκαν σε φυτοδοχεία και αναπτύχθηκαν με την χορήγηση θρεπτικών διαλυμάτων. Η καλλιέργεια των φυτών έγινε σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο του αγροκτήματος του Τ.Ε.Ι. Ηπείρου από τα τέλη Νοεμβρίου του 2011 ως τα τέλη Ιανουαρίου του 2012.

Τα φυτοδοχεία είχαν χωρητικότητα 1 lit και περιείχαν επεξεργασμένο υπόστρωμα από μείγμα 2:1 τύρφης-περλίτη.

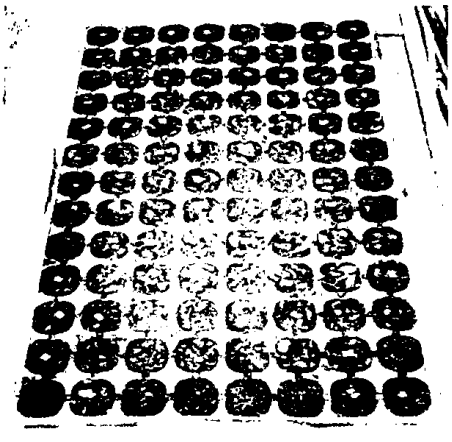
Στα φυτά χορηγήθηκαν θρεπτικά διαλύματα τα οποία αφορούσαν εννέα συνδυασμούς συγκεντρώσεων N και S (ως θειικά ανιόντα). Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι ποσότητες των χορηγηθέντων λιπασμάτων ανά λίτρο θρεπτικού διαλύματος. Σύμφωνα με τις ποσότητες αυτές προέκυψαν οι εννέα συνδυασμοί N και S που παρουσιάζονται στην στήλη των επεμβάσεων του πειράματος (τρία επίπεδα N-ούχου λίπανσης 100, 200 και 400 χιλιοστογραμμάρια N ανά λίτρο διαλύματος και τρία επίπεδα θειικής λίπανσης 0, 150 και 300 χιλιοστογραμμάρια θείου υπό μορφή θειικών ανιόντων ανά λίτρο διαλύματος). Τα θρεπτικά διαλύματα σε κάθε περίπτωση παρέρχονταν μέχρι απορροής. Συνολικά, μέχρι την συγκομιδή έγιναν 19 ποτίσματα σε δυο από τα οποία έγινε και πρόσθετη χορήγηση μείγματος ιχνοστοιχείων (χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα *Fertilon Combi*). Το νερό του ποτίσματος ήταν βρόχινο και προερχόταν από δεξαμενή συγκέντρωσης. Είχε περιεκτικότητα σε νιτρικά μη μετρίσιμη και σε θειικά <30 ppm.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ

ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΛΙΠΑΣΜΑΤΩΝ × L^{-1}	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ N ΚΑΙ S ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΤΟΥ ΠΟΤΙΣΜΑΤΟΣ (mg× L^{-1})
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 100 × 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	
0,652 g φωσφορικό μονοκάλιο	N 400 × S 300
0,295 g θειικό κάλιο	
1,09 g θειικό μαγνήσιο	
1,143 g νιτρική αμμωνία	

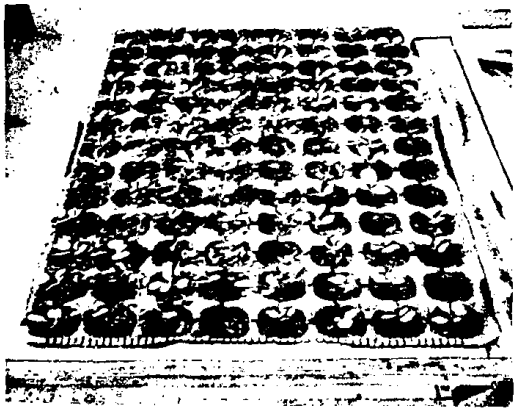
Για κάθε ένα συνδυασμό από τις εννέα παραπάνω λιπασματικές επεμβάσεις χρησιμοποιήθηκαν πέντε φυτά που αναπτύχθηκαν ανά ένα σε κάθε φυτοδοχείο. Το κάθε φυτό αποτελεί και ένα ανεξάρτητο πειραματικό τεμάχιο και συνεπώς, σε κάθε πειραματική επέμβαση ελήφθησαν πέντε επαναλήψεις για κάθε μεταβλητή του πειράματος.

Στις παρακάτω φωτογραφίες (1,2,3,4) απεικονίζονται τα στάδια ανάπτυξης της ρόκας.


(1)


(2)

Φωτογραφίες (1) και (2) : Νεαρά φυτάρια ρόκας σε φυτοδοχεία από υπόστρωμα τύρφης.


(3)

Φωτογραφία (3) : Παραγωγή φυταρίων ρόκας για μεταφύτευση σε γλαστράκια τύρφης - περλίτη.

(4.1)

(4.2)

(4.3)

(4.4)

(4.5)

(4.6)

(4.7)

(4.8)

(4.9)

Φωτογραφίες (4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9) : Νεαρά φυτά ρόκας. Γιο κάθε ένα συνδυασμό από τις εννέα λιπασματικές επεμβάσεις χρησιμοποιήθηκαν πέντε φυτά που αναπτύχθηκαν ανά ένα σε κάθε φυτοδοχείο.

5.2 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΦΥΛΛΩΝ ΤΗΣ ΡΟΚΑΣ

Στο στάδιο της συγκομιδής μετρήθηκε το βάρος των φύλλων των φυτών ρόκας καθώς προσδιορίσθηκε το νωπό τους βάρος. Κατόπιν τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο για 48 ώρες στους 75° C.

Μετά την ξήρανση τα δείγματα ζυγίστηκαν έτσι ώστε να προσδιορισθεί το ξηρό τους βάρος και από την σχέση νωπού / ξηρού βάρου

το ποσοστό της περιεχόμενης υγρασίας του κάθε δείγματος. Το ποσοστό υγρασίας είναι απαραίτητο κατά την αναγωγή των τιμών των νιτρικών και του ολικού θείου σαν ποσότητα ανά χιλιόγραμμο νωπών φυτών.

Τα ξηρά δείγματα κονιορτοποιήθηκαν με μύλο άλεσης, σφραγίστηκαν σε αεροστεγή φιαλίδια και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία -20° C μέχρι την στιγμή όπου θα γινόταν ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε NO_3- και ολικό S.

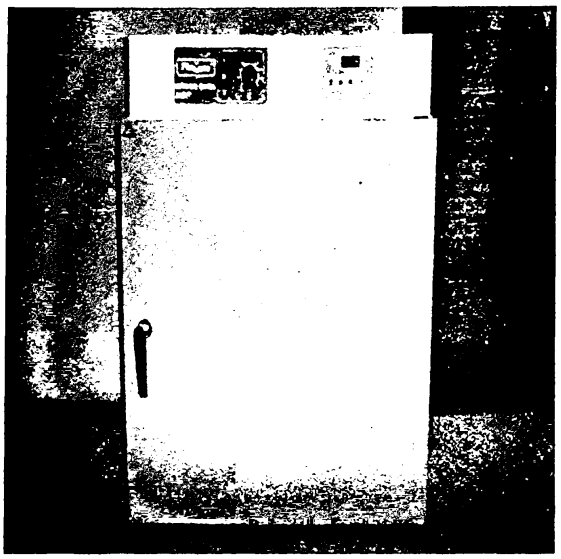
Για τον προσδιορισμό του νιτρικού-N έγινε εκχύλιση ποσότητας αλεσμένων ιστών με διάλυμα ($CuSO_4.5H_2O$) 0,01M και Ag_2SO_4 0,002M και στο εκχύλισμα εφαρμόσθηκε η μέθοδος του χρωμοτροπικού οξέος σε φασματοφωτόμετρο στα 410 nm.

Ο προσδιορισμός του ολικού S έγινε μετά από καύση ποσότητας ξηρών ιστών παρουσία Ag_2O και $NaHCO_3$ στους 550° C για την οξείδωση του S προς SO_4^{2-}, εκχύλιση των SO_4^{2-} με οξικό οξύ 1M και τέλος προσδιορισμός του S με την θολομετρική μέθοδο του $BaCl_2$ σε φασματοφωτόμετρο στα 420 nm.

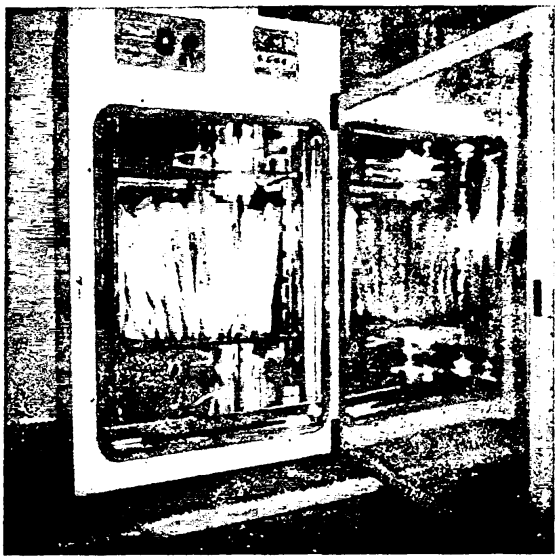
Τα αποτελέσματα τόσο των νιτρικών όσο και του ολικού S μετατράπηκαν σε mg/Kg νωπού βάρους. Η ανάλυση της διασποράς των αποτελεσμάτων έγινε σύμφωνα με το εντελώς τυχαιοποιημένο σχέδιο σε ένα 3x3 διπαραγοντικό πείραμα με πέντε επαναλήψεις ανά επέμβαση.

(5.1) (5.2) (5.3)

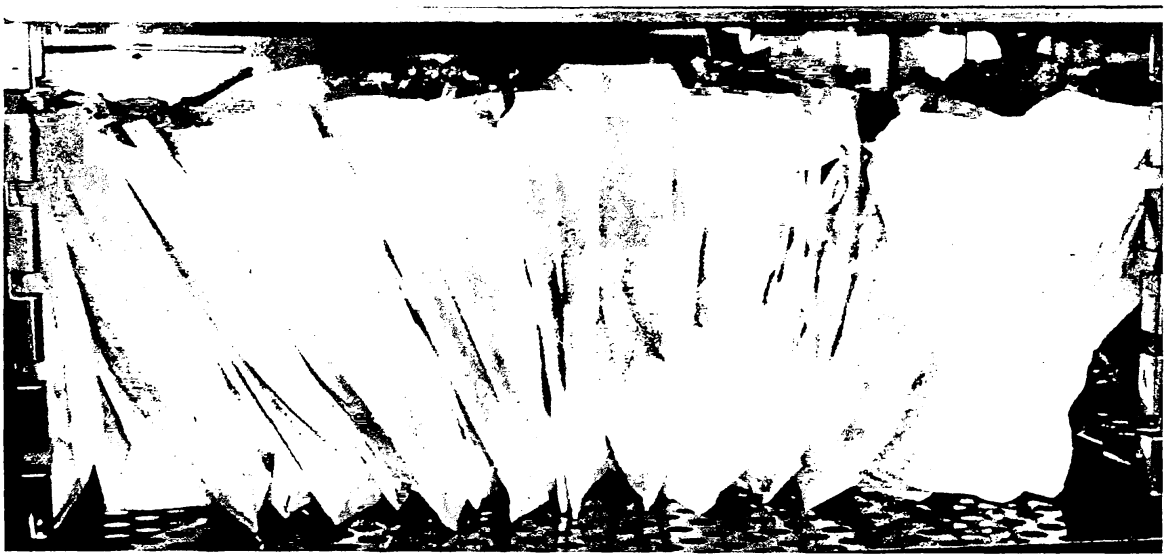
Φωτογραφίες (5.1, 5.2, 5.3) : Στάδιο συγκομιδής όπου μετρήθηκε το βάρος των φύλλων των φυτών ρόκας με ζυγαριά ακριβείας.



(6.1)

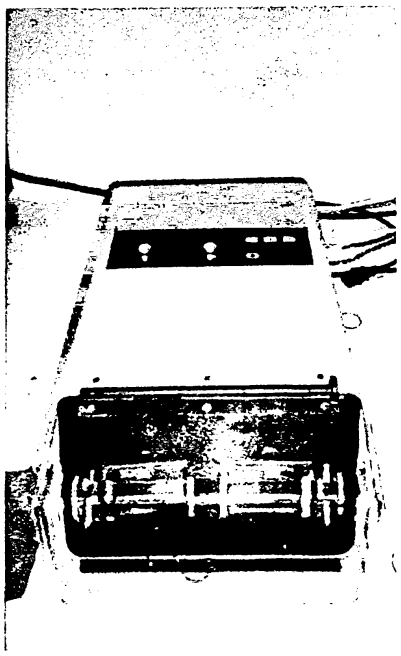


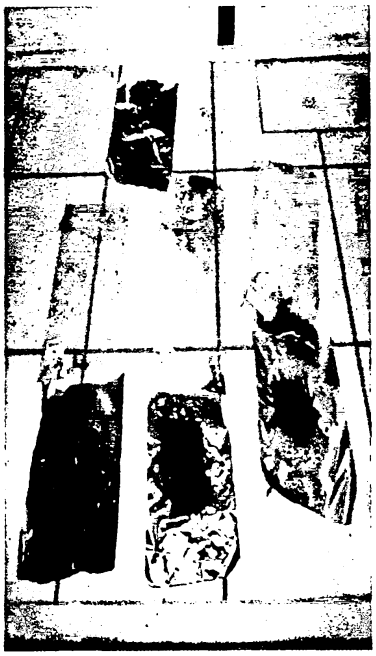
(6.2)



(6.3)

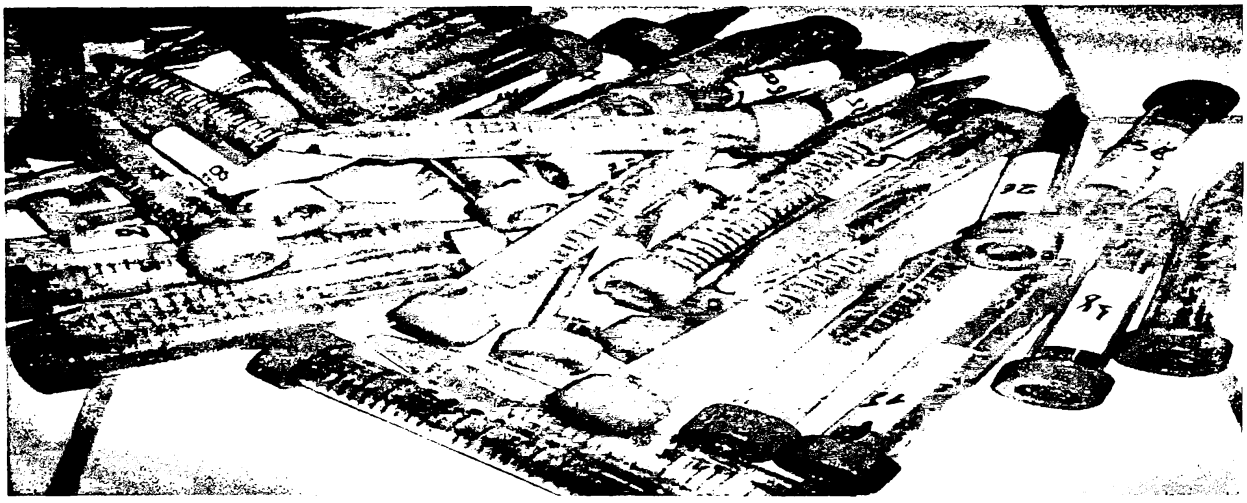
Φωτογραφίες (6.1, 6.2, 6.3) : Μόλις προσδιορίσθηκε το νωπό βάρος φύλλων της ρόκας τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο για 48 ώρες στους 75° C





(7.1) (7.2) (7.3)

Φωτογραφίες (7.1, 7.2, 7.3) : Κονιορτοποίηση ξηρών δειγμάτων με μύλο άλεσης.



(8)

Φωτογραφία (8) : Δείγματα αλεσμένων φυτικών ιστών που σφραγίστηκαν σε αεροστεγή φιαλίδια.

5.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΙΤΡΙΚΟΥ ΑΖΩΤΟΥ

5.3.1. ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

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.

5.3.2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Διάλυμα νιτρικού αζώτου 100 ppm. Παρασκευάζεται διαλύοντας 0,722 gr νιτρικού καλίου (KNO_3) σε 1lt νερό, και χρησιμοποιείται για την παρασκευή διαλυμάτων νιτρικών γνωστής συγκέντρωσης για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς.

Εκχυλιστικό διάλυμα. Παρασκευάζεται διαλύοντας 25 gr θειικού χαλκού ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) και 3,3 gr θειικού αργύρου (Ag_2SO_4) σε 5lt. Καλύτερα ο θειικός άργυρος να διαλύεται σε ζεστό νερό.

Μίγμα υδροξειδίου του ασβεστίου [$Ca(OH)_2$] και ανθρακικού μαγνησίου-υδροξειδίου μαγνησίου ($MgCO_3 + Mg(OH)_2$). Παρασκευάζεται με ένα μέρος [$Ca(OH)_2$] και δύο μέρη $MgCO_3 + Mg(OH)_2$ 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.

5.3.3. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

✓ Σε ένα ποτήρι ζέσεως των 100 ή 150 ml προσθέτουμε ποσότητα αλεσμένων φυτικών ιστών. Στην παρούσα εργασία λαμβάνονταν 100 mg.

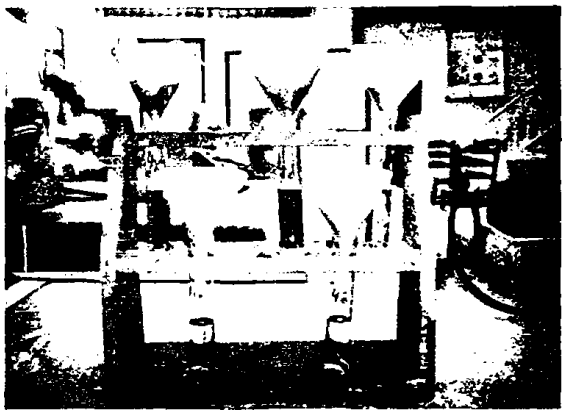
✓ Στη συνέχεια προσθέτουμε 10 ml εκχυλιστικού διαλύματος [($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) + (Ag_2SO_4)].

✓ Στο δοχείο προσθέτουμε και μια μικρή ποσότητα ενεργού άνθρακα (περίπου 20 mg).

✓ Το μείγμα αναδεύεται για 1 λεπτό με μηχανικό αναδευτήρα.

✓ Ακολούθως γίνεται προσθήκη 100 mg μίγματος [$Ca(OH)_2$ - $MgCO_3$], ανακινούμε το δείγμα και το αφήνουμε στη συνέχεια σε ηρεμία για 20 min.

✓ Το διάλυμα διηθείται με ηθμό *Whatman No 2* ή κάποιο αντίστοιχο.



(9)

Φωτογραφία (9) : Εκχύλιση δειγμάτων.

5.3.4.ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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.

5.3.4.1. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

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 (H_2SO_4). 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 (KNO_3) σε 100 ml νερό. Στη συνέχεια το διάλυμα αυτό αραιώνεται δέκα φορές ώστε να προκύψει

διάλυμα των 100 ppm. Με κατάλληλη αραίωση γίνεται η παρασκευή των *standards* διαλυμάτων.

5.3.4.2. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

✓ Το εκάστοτε δείγμα εκχυλίσματος φυτικών ιστών αραιώνεται κατάλληλα έτσι ώστε η απορρόφηση του οργάνου να βρίσκεται κάτω από την τιμή 1,5 που αντιστοιχεί σε συγκεντρώσεις αζώτου που βρίσκονται μέσα στο γραμμικό μέρος της καμπύλης αναφοράς (κάτω από 30 ppm N), όπως φαίνεται παρακάτω.

✓ Παίρνουμε 200 μl από το εκχύλισμα κάθε δείγματος (μετά από την αραίωση) 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.

✓ Τοποθετούμε τον δοκιμαστικό σωλήνα μέσα σε υδατόλουτρο με παγωμένο νερό για την απορρόφηση της εκλυόμενης θερμοκρασίας κατά την προσθήκη των οξέων που ακολουθεί.

✓ Προσθέτουμε 100 μl από το αντιδραστήριο του χρωμοτροπικού οξέος με συνεχή ανάδευση.

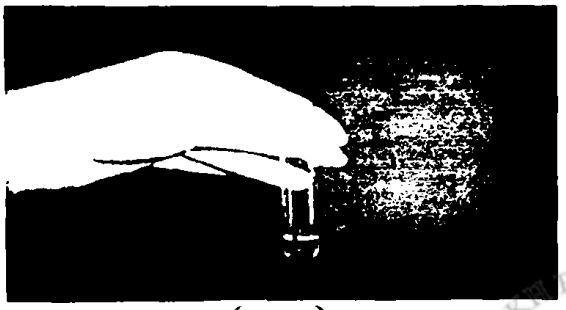
✓ Στη συνέχεια προσθέτουμε προσεκτικά 700 μl πυκνού θειικού οξέος (H_2SO_4).

✓ Αναδεύουμε για λίγο.

✓ Τοποθετούμε το δείγμα σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία 10-20° C για 45 min.

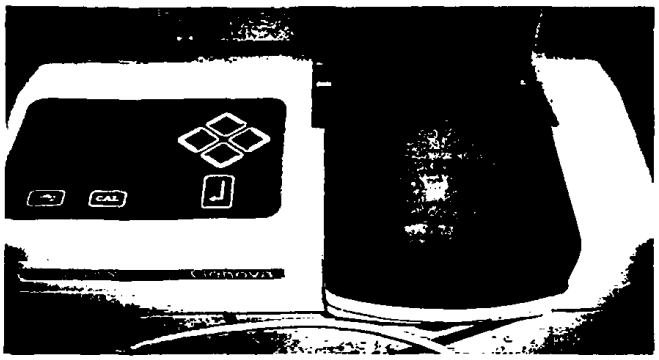
✓ Το δείγμα τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο για την μέτρηση της απορρόφησης του, σε μήκος κύματος 410 nm.

(10.1)



(10.2)

Φωτογραφίες (10.$_1$, 10.$_2$) : Ενδεικτικές αποχρώσεις δειγμάτων.



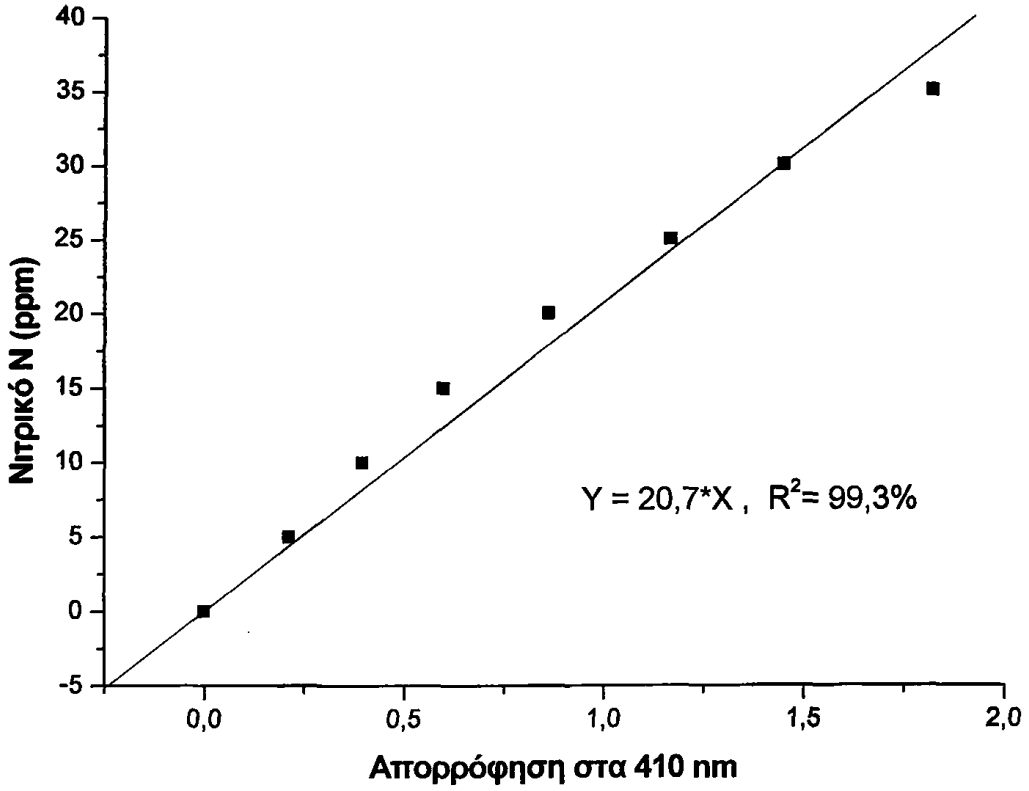
(11)

Φωτογραφία (11) : Το δείγμα τοποθετείται σε κυψελίδα και κατόπιν, στο φασματοφωτόμετρο για την μέτρηση της απορρόφησης του, σε μήκος κύματος 410 nm.

Καμπύλη Αναφοράς

Αυτή αφορά την γραμμική σχέση μεταξύ της απορρόφησης του φασματοφωτόμετρου στα 410 nm και της συγκέντρωσης των NO_3^- στα διαλύματα από 0 έως 40 ppm. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις δεν ισχύει η γραμμική σχέση. Για την κατασκευή της χρησιμοποιούνται διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων NO_3^- (παρασκευασμένο από νιτρικό κάλιο) με διαβάθμιση ανά 5 ppm από 0 έως 35 ppm και προσδιορίζεται η απορρόφησής τους από το όργανο.

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



Καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό του νιτρικού N (όπως προκύπτει από τη μέτρηση των *STANDARD* διαλυμάτων).

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 :

$Y = 20,7 \times X$ $(R^2=99,5\%)$

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

Για την μετατροπή των ppm νιτρικού N σε mg NO_3^-/kgr νωπού βάρους, υπολογίσθηκε αρχικά η περιεκτικότητα σε mg νιτρικών του δείγματος των 200 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.

5.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ S

5.4.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΘΕΙΙΚΩΝ

Η μέθοδος που θα ακολουθήσουμε στηρίζεται στην μετατροπή του θείου των φυτικών ιστών σε θειικά (SO_4^{2-}).

5.4.1.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Οξειδωτικό μίγμα: 2 gr οξειδίου του αργύρου (Ag_2O) και 50 gr μονόξινο ανθρακικό νάτριο ($NaHCO_3$)(ποιότητα ACS)

Αντιδραστήριο προστασίας της στάχτης Όξινο ανθρακικό νάτριο $NaHCO_3$

Διαλύτης στάχτης: 1M οξικό οξύ (58 ml / lt απεσταγμένο νερό)

STANDARDS Θειικών: Παρασκευάζονται από θειικό κάλιο (K_2SO_4)

5.4.1.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

✓ Ζυγίζουμε 0,100 +-0,005 gr. ξηρών φυτικών ιστών σε σκόνη (100 mesh) και την τοποθετούμε σε πορσελάνινη κάψα (χωνευτήριο).

✓ Προσθέτουμε 0,52 +-0,005 gr οξειδωτικού μίγματος και τα αναμειγνύουμε κτυπώντας ελαφρά την κάψα στον πάγκο.

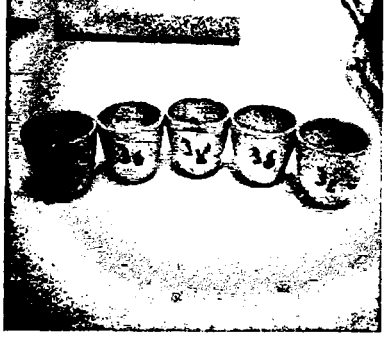
✓ Προσθέτουμε 0,5 +-0,005 gr $NaHCO_3$ καλύπτοντας πλήρως το δείγμα.

✓ Τοποθετούμε τις κάψες σε φούρνο υψηλών θερμοκρασιών στους 550°C για τρεις ώρες και ακολούθως τις απομακρύνουμε μέχρι να κρυώσουν.

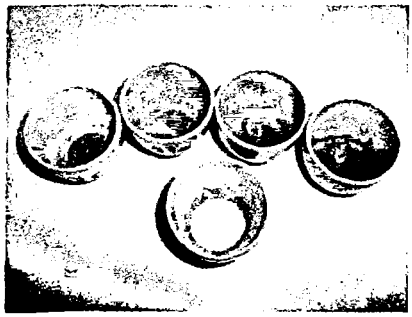
✓ Προσθέτουμε σε κάθε κάψα με προσοχή 15 ml από το διαλύτη στάχτης.

✓ Για την επιτάχυνση της εξουδετέρωσης και απομάκρυνσης του CO_2 και διάλυσης της στάχτης, θερμαίνουμε τις κάψες σε θερμαντική πλάκα στους 200° C για 20 λεπτά.

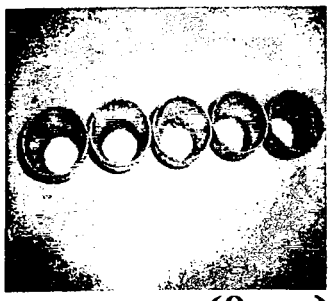
✓ Το περιεχόμενο της κάψας αφού κρυώσει, μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη με τη βοήθεια ενός χωνιού, ξεπλένοντάς την με απεσταγμένο νερό, φτάνοντας τον όγκο του διαλύματος στα 20 ml.



(12.1)

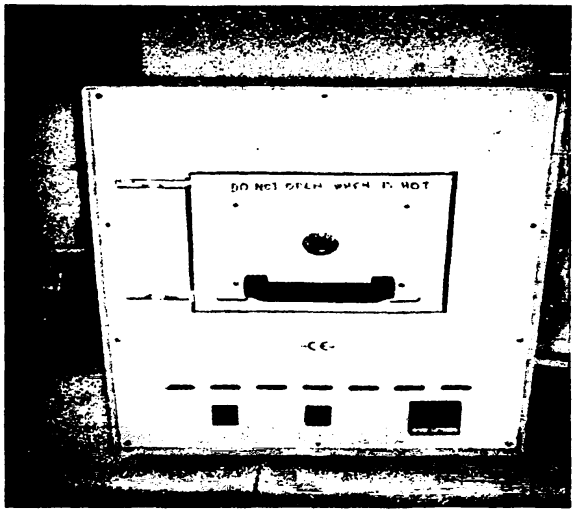


(12.2)

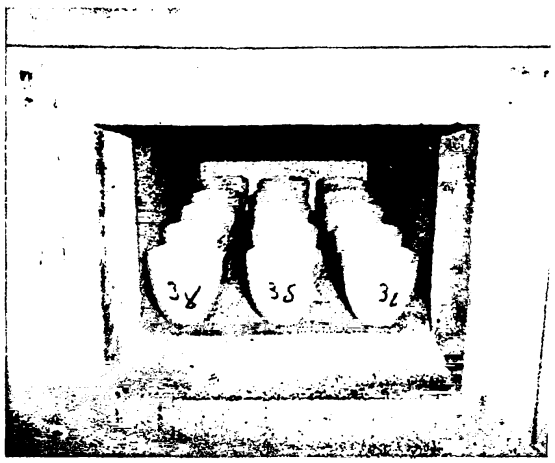


(θ12.3)

Φωτογραφίες (12.1, 12.2, 12.3) : Τα δείγματα ξηρών φυτικών ιστών σε σκόνι τοποθετημένα σε πορσελάνινες κάψες.



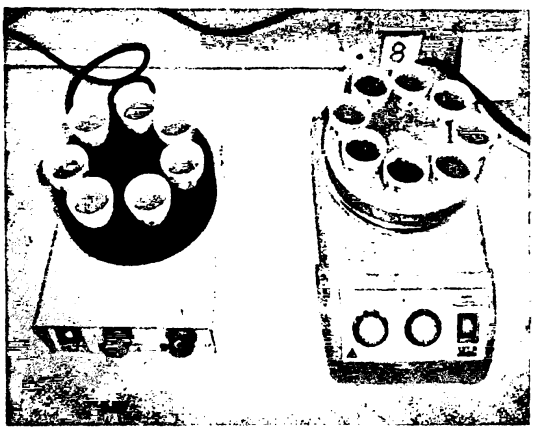
(13.1)



(13.2)

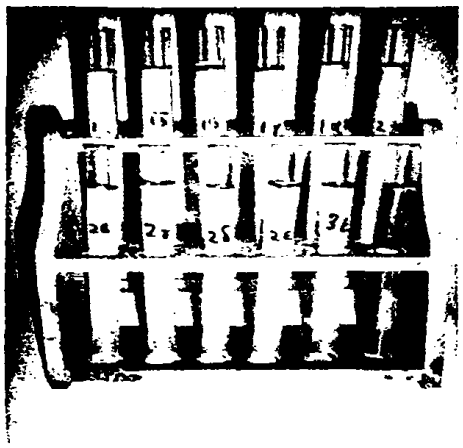
Φωτογραφίες (13.1, 13.2) : Τοποθέτηση πορσελάνινων καψών στον φούρ στους 550°C για τρεις ώρες.

(14.1)



(14.2)

Φωτογραφίες (14.1, 14.2,) : Σε κάθε κάψα γίνεται προσθήκη 15 ml από διαλύτη στάχτης **(14.1)** και αμέσως θερμαίνουμε τις κάψες σε θερμαντ πλάκα **(14.2).**



(15)

Φωτογραφία (15) : Μεταφορά περιεχομένου της κάψας σε ογκομετρική φιάλη με τη βοήθεια ενός χωνιού, ξεπλένοντάς την με απεσταγμένο νερό, φτάνοντας τον όγκο του διαλύματος στα 20 ml.

5.4.2 ΘΟΛΟΜΕΤΡΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Ιδιότητες – χαρακτηριστικά: Τα θειικά ιόντα (SO_4^{2-}) καθιζάνουν μέσω οξικού οξέος με χλωριούχο βάριο ($BaCl_2$) προς σχηματισμό κρυστάλλων θειικού βαρίου ($BaSO_2$) ομοιόμορφου μεγέθους. Η απορρόφηση του φωτός από το αιώρημα του θειικού βαρίου ($BaSO_2$) μετράται με ένα φασματοφωτόμετρο και η συγκέντρωση των θειικών (SO_4^{2-}) προσδιορίζεται δια μέσου συγκριτικής αντιπαραβολής με μια καμπύλη αναφοράς που δημιουργείται από διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης.

Επιμολύνσεις – αποκλίσεις: Έγχρωμα ή αιωρούμενα υλικά σε μεγάλες ποσότητες μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα. Μερικά αιωρούμενα υλικά μπορεί να απομακρυνθούν από το διάλυμα με φιλτράρισμα. Αν τα παραπάνω είναι μικρά σε σύγκριση με τη συγκέντρωση των θειικών ανιόντων (SO_4^{2-}), γίνεται διόρθωση με τη χρησιμοποίηση τυφλών διαλυμάτων χωρίς τη χρήση χλωριούχου βαρίου ($BaCl_2$).

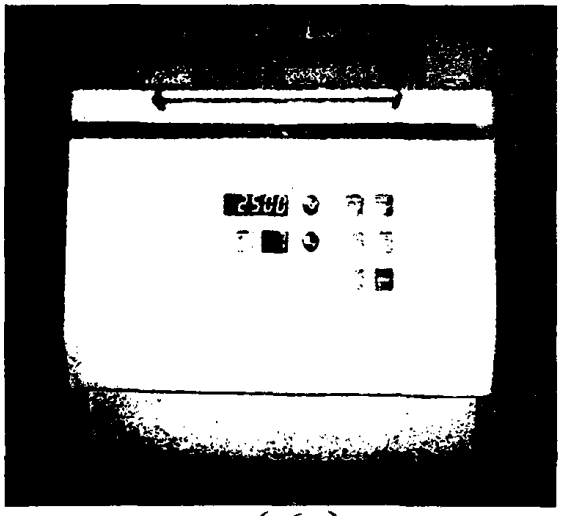
Αντί της διόρθωσης των τιμών απορρόφησης με αφαίρεση των μετρήσεων από «τυφλά» διαλύματα, στην παρούσα εργασία τα διαλύματα από τα δείγματα του πειράματος υποβλήθηκαν σε φυγοκέντριση για 10 min στις 2500 rpm με σκοπό την κατακάθιση των αιωρούμενων σωματιδίων και την πλήρη διαύγανση των δειγμάτων. Έτσι τα δείγματα μετά από την διαδικασία

αυτή έδιναν τιμές απορρόφησης μηδενικές, όπως και ο μάρτυρας (χωρίς παρουσία θειικών) όταν δεν γινόταν προσθήκη χλωριούχου βαρίου.

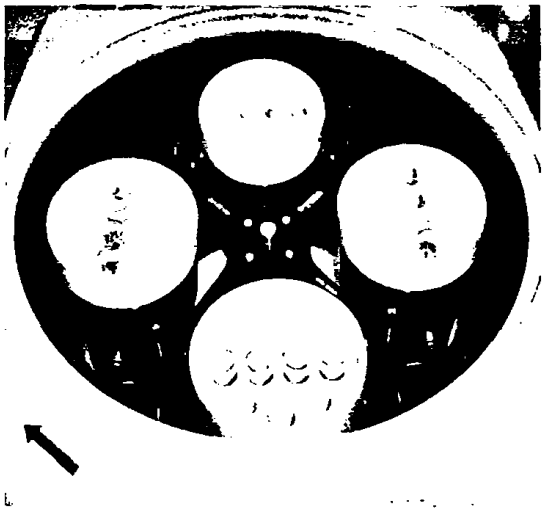
Πυρίτιο σε περίσσεια 500 mgr/lt προκαλεί επίδραση στα αποτελέσματα και σε νερά ή διαλύματα με μεγάλες ποσότητες οργανικών ουσιών μπορεί να μην είναι δυνατή η καθίζηση του θειικού βαρίου ($BaSO_4$) ικανοποιητικά.

Οι προσδιορισμοί γίνονται σε θερμοκρασία δωματίου. Διακύμανση θερμοκρασίας 10° C δεν προκαλεί σοβαρά σφάλματα.

Ελάχιστη συγκέντρωση προσδιορισμού θειικών (SO_4^{2-}): περίπου 1 ppm.



(16.1)



(16.2)

Φωτογραφίες (16.1, 16.2) : Τα διαλύματα από τα δείγματα του πειράματος υποβλήθηκαν σε φυγοκέντριση για 10 min στις 2500 rpm με σκοπό την κατακάθιση των αιωρούμενων σωματιδίων και την πλήρη διαύγανση των δειγμάτων.

5.4.2.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1) <u>Ρυθμιστικό διάλυμα:</u> Σε 300 ml απεσταγμένο νερό διαλύονται 75 gr χλωριούχου νατρίου (NaCl). Προστίθενται 30 ml πυκνό υδροχλωρικό οξύ (HCl), 100 ml αιθυλική αλκοόλη 95% ή ισοπροπυλική αλκοόλη και 50 ml γλυκερίνη. Το διάλυμα ομογενοποιείται.

2) Χλωριούχο Βάριο ($BaCl_2$) σε κρυστάλλους (20-30 mesh).

3) *STANDARDS* διαλύματα θειικών: 0,1479 gr άνυδρο Na_2SO_4 αποξηραμένο στους 140° C για δύο ώρες στα 1000 ml ή διαλύονται 10,41 ml πρότυπο διάλυμα 0,02 N H_2SO_4 στα 100 ml αποσταγμένου νερού.

5.4.2.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σχηματισμός αιωρήματος θειικού βαρίου

✓ Λαμβάνεται ποσότητα 1 ml δείγματος ή μικρότερη η οποία αραιώνεται με απεσταγμένο νερό σε δοκιμαστικό σωλήνα στην κατάλληλη αραίωση ώστε η απορρόφηση του δείγματος να βρίσκεται μέσα στο γραμμικό μέρος της καμπύλης αναφοράς (βλέπετε παρακάτω).

✓ Προστίθενται 50 μl από το ρυθμιστικό διάλυμα και αναμειγνύονται με ανακίνηση.

✓ Προστίθεται μια μεζούρα χλωριούχο βάριο ($BaCl_2$), οπότε και αρχίζει η μέτρηση του χρόνου ανάμιξης (1 λεπτό ακριβώς).

5.4.2.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΘΟΛΟΤΗΤΑΣ

✓ Αμέσως μετά την ανάμιξη των αντιδραστηρίων μεταφέρεται το δείγμα στην κυψελίδα του οργάνου.

- **Κατασκευή της καμπύλης αναφοράς:** Για τα *STANDARDS* από 0 – 40 ppm (ανά 5 ppm). Πάνω από 40 ppm η ακρίβεια περιορίζεται.

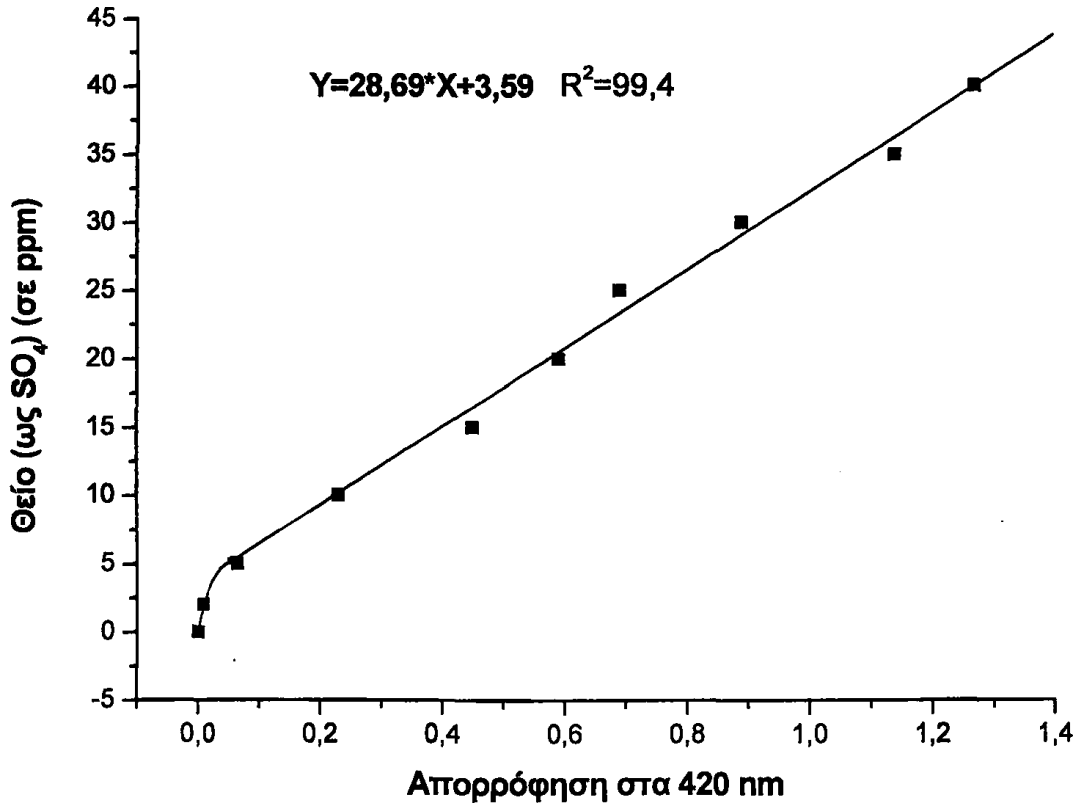
5.4.2.4 ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ SO_4^{2-} ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ.

Με βάση τα πρότυπα διαλύματα SO_4^{2-} καταρτίστηκε η παρακάτω καμπύλη αναφοράς. Η σχέση μεταξύ συγκέντρωσης S (εξαρτημένη μεταβλητή) και ενδείξεων του φασματοφωτόμετρου (ανεξάρτητη μεταβλητή) αποδίδεται από μια γραμμική συνάρτηση η οποία προκύπτει από την ανάλυση της παλινδρόμησης της συγκέντρωσης S πάνω στις τιμές του φασματοφωτόμετρου και είναι :

$Y= 28,69 * X + 3,59$ $R^2= 99,4$

όπου Y : Οι τιμές S σε ppm και X οι τιμές του φασματοφωτόμετρου για $X> 0,06$

για τιμές $X<0,06$ οι συγκεντρώσεις προσδιορίστηκαν με αντιπαραβολή απορρόφησης - συγκέντρωσης από το διάγραμμα διασκόρπισης του διαγράμματος 4, διότι για τιμές απορρόφησης κάτω από 0,06 η σχέση μεταξύ απορρόφησης οργάνου και συγκέντρωσης S δεν είναι γραμμική.



Καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό του θείου (όπως προκύπτει από τη μέτρηση των *STANDARDS*).

Οι τιμές που προκύπτουν από την παραπάνω σχέση αφορούν την συγκέντρωση του ολικού S σε ppm στα διαλύματα τα οποία παρασκευάσθηκαν από τα δείγματα των φυτών. Τα αποτελέσματα του πειράματος και η στατιστική τους επεξεργασία έγιναν ύστερα από αναγωγή σε mg S/kg νωπού βάρους.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις της διασποράς (*ANOVA*) που αφορούν τις παρατηρήσεις για τις μεταβλητές του πειράματος (νωπό βάρος φυτών, περιεκτικότητα νιτρικών, περιεκτικότητα σε ολικό θείο) παρατίθενται σε παράρτημα στο τέλος της εργασίας.

Α. Νωπό βάρος των φυτών

Το νωπό βάρος των φυτών της ρόκας στο στάδιο συγκομιδής παρουσίασε μεγάλη διαφοροποίηση, η οποία είχε σχέση με τις μεταχειρίσεις του πειράματος και κυμάνθηκε από 21 έως 65γρ. Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές βάρους των φυτών και τα τυπικά σφάλματα για τους εννέα συνδυασμούς λίπανσης με άζωτο (N) και θείο (S) του πειράματος.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα του βάρους των φυτών της ρόκας για τις εννέα επεμβάσεις (συνδυασμοί αζωτούχου και θειικής λίπανσης) του πειράματος.

Είδος επέμβασης ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ N ΚΑΙ S ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΤΟΥ ΠΟΤΙΣΜΑΤΟΣ (mg× L^{-1})	ΜΕΣΟ ΒΑΡΟΣ ΚΕΦΑΛΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ (σε g)
N 100 × S 0	29,72 ± 2,6
N 100 × S 150	25,32 ± 0,7
N 100 × S 300	27,32 ± 1,6
N 200 × S 0	29,32 ± 3,5
N 200 × S 150	43 ± 3
N 200 × S 300	41 ± 3,4
N 400 × S 0	24,54 ± 1,1
N 400 × S 150	42,94 ± 6,2
N 400 × S 300	45,1 ± 5,8
LSD (για 36 ΒΕ και n=5)	10,48

Η ανάλυση της διασποράς των τιμών του βάρους των φυτών της ρόκας έδειξε ότι αυτό επηρεάζεται σημαντικά και από τον παράγοντα N-ούχος λίπανση (F=8,05 για 2 και 36 ΒΕ, P=0,013) και από τον παράγοντα το S-

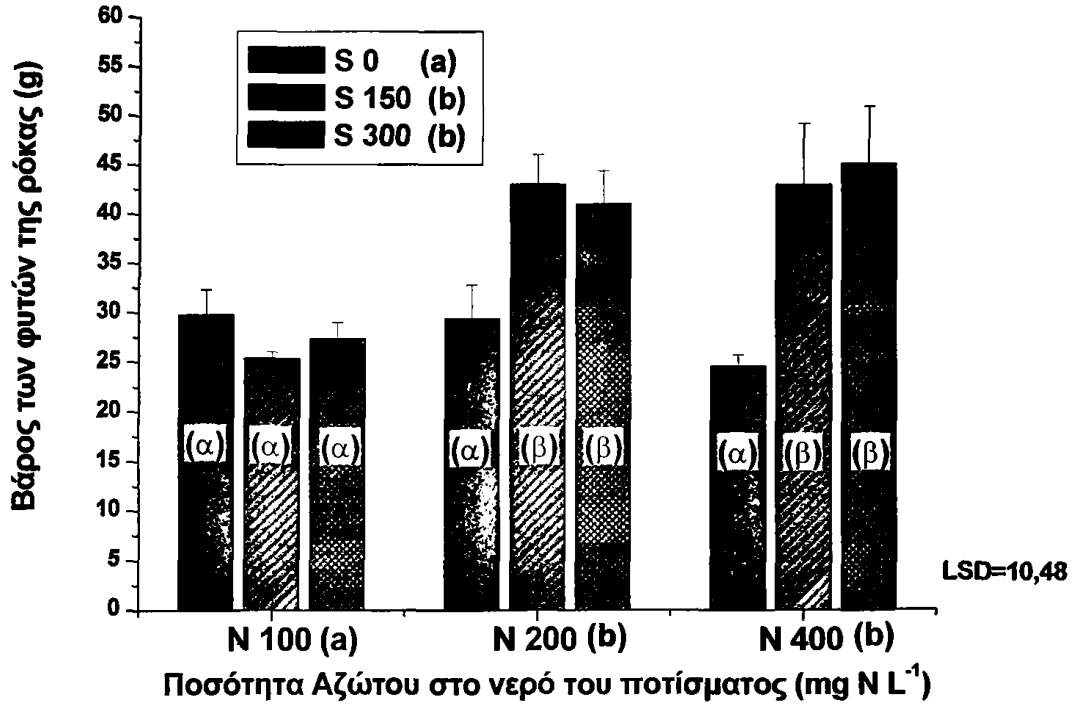
ούχος λίπανση (F=7,14 για 2 και 36 ΒΕ, P=0,024). Επίσης διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων, N και S (F=3,67 για 4 και 36 ΒΕ, P=0,01).

Η σημαντική αλληλεπίδραση φανερώνει ότι η επίδραση του ενός παράγοντα λίπανσης (N ή S) στο βάρος των φυτών της ρόκας, εξαρτάται και διαφοροποιείται μέσα στα επίπεδα του άλλου παράγοντα και για την σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων που αφορούν την επίδραση του κάθε παράγοντα λίπανσης στο βάρος των φυτών, θα πρέπει να γίνουν ξεχωριστές συγκρίσεις των μέσων των τιμών του βάρους της ρόκας, μέσα στα επίπεδα του άλλου παράγοντα (**συγκρίσεις των μέσων των απλών κύριων επιδράσεων**). Για τις συγκρίσεις αυτές, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος η κρίσιμη περιοχή (κρίσιμη διαφορά) ήταν 10,48 γρ (LSD=10,48 για 36 $ΒΕ_{υπ}$, n=5 και επίπεδο σημαντικότητας α=0,05).

Έτσι από τις συγκρίσεις των μέσων των απλών κύριων επιδράσεων του ενός παράγοντα μέσα στα επίπεδα του άλλου μπορούμε να διαπιστώσουμε τα ακόλουθα:

1) Μέσα στο επίπεδο λίπανσης των 100 ppm N, δεν υπάρχει διαφορά στο βάρος των φυτών ανεξάρτητα από τις δόσεις της θειικής λίπανσης.
2) Αντίθετα, τόσο στο επίπεδο των 200 ppm N όσο και στο επίπεδο των 400 ppm N, το βάρος των φυτών αυξήθηκε όταν αυτά δέχθηκαν πρόσθετη θειική λίπανση και μάλιστα χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ των δόσεων (επιπέδων) 150 και 300 ppm S, σε σύγκριση με τα φυτά που δεν τους χορηγήθηκε S.
3) Από τις συγκρίσεις των μέσων του βάρους για την μεταχείριση με 0 ppm S, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επιπέδων 100, 200, και 400 ppm N. Με άλλα λόγια όταν υπάρχει πενία S στο θρεπτικό διάλυμα το βάρος των φυτών παραμένει χαμηλό όσο άζωτο και να προθέσουμε.
4) Τέλος, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα φυτά της ρόκας δεν αυξάνουν το βάρος τους με τον διπλασιασμό της χορηγουμένης N-ούχου λίπανσης καθώς μεταξύ των επιπέδων 200 και 400 ppm N δεν βρέθηκαν στατιστικά διαφορές στο βάρος των φυτών ανεξάρτητα από την χορηγουμένη θειική λίπανση.

Τα παραπάνω παρουσιάζονται στο γράφημα της εικόνας 1.



Εικόνα 1. Μέσοι και τυπικά σφάλματα του βάρους των φυτών 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%.

Β. Περιεκτικότητα των φυτών της ρόκας σε νιτρικά ανιόντα.

Η περιεκτικότητα σε NO_3^- των φυτών του πειράματος παρουσίασε πολύ μεγάλο εύρος τιμών ανάλογα κυρίως με την χορηγούμενη N-ούχο λίπανση. Οι ελάχιστες τιμές βρέθηκαν στα 400 mg NO_3^-/Kg νωπού βάρους, ενώ οι μέγιστες έφθασαν τα 5000 mg NO_3^-/Kg ν.β. Λόγω του μεγάλου εύρους των τιμών αυτών, η ανάλυση της διασποράς τους έγινε μετά από μετατροπή των τιμών της περιεκτικότητας σε NO_3^- στους δεκαδικούς τους λογάριθμους (λογαριθμική μετατροπή). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στις πραγματικές τιμές.

Οι μέσες τιμές των νιτρικών ανιόντων που ανιχνεύθηκαν στα φυτά της ρόκας για τις εννέα επεμβάσεις του περάματος παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα της περιεκτικότητας σε νιτρικά των φυτών της ρόκας και μέσες τιμές και τυπικά σφάλματα των δεκαδικών λογάριθμων, για τις εννέα επεμβάσεις (συνδυασμοί αζωτούχου και θειικής λίπανσης) του πειράματος.

Είδος επέμβασης ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ N ΚΑΙ S ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΤΟΥ ΠΟΤΙΣΜΑΤΟΣ (mg× L^{-1})	ΜΕΣΗ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΝΙΤΡΙΚΑ (σε mg× Kg^{-1} νβ)	ΜΕΣΕΣ ΤΙΜΕΣ (log_{10}) NO_3^-
N 100 × S 0	500 ± 34	2,695 ± 0,03
N 100 × S 150	547,3 ± 60,6	2,728 ± 0,05
N 100 × S 300	584,4 ± 39,5	2,762 ± 0,03
N 200 × S 0	1471,2 ± 215,2	3,146 ± 0,07
N 200 × S 150	570,9 ± 34,9	2,753 ± 0,03
N 200 × S 300	698,4 ± 73,5	2,833 ± 0,05
N 400 × S 0	3357,3 ± 557,2	3,501 ± 0,07
N 400 × S 150	3002,6 ± 543,1	3,435 ± 0,11
N 400 × S 300	1431,4 ± 473,5	3,079 ± 0,12
LSD (για 36 ΒΕ και n=5)		0,203

Σύμφωνα με την ανάλυση της διασποράς και τη γενική δοκιμασία του F για τα παραπάνω αποτελέσματα περιεκτικότητας σε NO_3^- διαπιστώνεται ότι αυτή επηρεάζεται σημαντικά τόσο από την αύξηση της N-ούχου λίπανσης όσο και από την πρόσθετη θειική λίπανση. Όπως ήταν φυσικό η N-ούχος λίπανση είχε την μεγαλύτερη επίδραση στην περιεκτικότητα των φυτών σε NO_3^- και εκεί οφείλεται το μεγαλύτερο μέρος της ολικής παραλλακτικότητας ($F=60,98$ για 2 και 36 ΒΕ, $P<0,001$). Όμως και η θειική λίπανση είχε σημαντική επίδραση στην συσσώρευση NO_3^- στα φυτά ($F=7,88$ για 2 και 36 ΒΕ, $P=0,001$) φανερώνοντας ότι η απορρόφηση του αζώτου από τα φυτά επηρεάζεται από την συγκέντρωση και των δύο στοιχείων στο θρεπτικό διάλυμα.

Σύμφωνα με τις συγκρίσεις των περιθωριακών μέσων διαπιστώνεται ότι κάθε αύξηση στην N-ούχο λίπανση προκαλεί στατιστικά σημαντική αύξηση στην συσσώρευση NO_3^- στα φυτά της ρόκας. Αντίθετα η χορήγηση SO_4^{2-} φαίνεται ότι περιορίζει την αύξηση των νιτρικών στους ιστούς των φυτών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα της περιεκτικότητας σε νιτρικά των φυτών της ρόκας και μέσες τιμές και τυπικά σφάλματα των δεκαδικών λογάριθμων, για τις εννέα επεμβάσεις (συνδυασμοί αζωτούχου και θειικής λίπανσης) του πειράματος.

Είδος επέμβασης ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ N ΚΑΙ S ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΤΟΥ ΠΟΤΙΣΜΑΤΟΣ (mg× L^{-1})	ΜΕΣΗ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΝΙΤΡΙΚΑ (σε mg× Kg^{-1} νβ)	ΜΕΣΕΣ ΤΙΜΕΣ (log_{10}) NO_3^-
N 100 × S 0	500 ± 34	2,695 ± 0,03
N 100 × S 150	547,3 ± 60,6	2,728 ± 0,05
N 100 × S 300	584,4 ± 39,5	2,762 ± 0,03
N 200 × S 0	1471,2 ± 215,2	3,146 ± 0,07
N 200 × S 150	570,9 ± 34,9	2,753 ± 0,03
N 200 × S 300	698,4 ± 73,5	2,833 ± 0,05
N 400 × S 0	3357,3 ± 557,2	3,501 ± 0,07
N 400 × S 150	3002,6 ± 543,1	3,435 ± 0,11
N 400 × S 300	1431,4 ± 473,5	3,079 ± 0,12
LSD (για 36 ΒΕ και n=5)		0,203

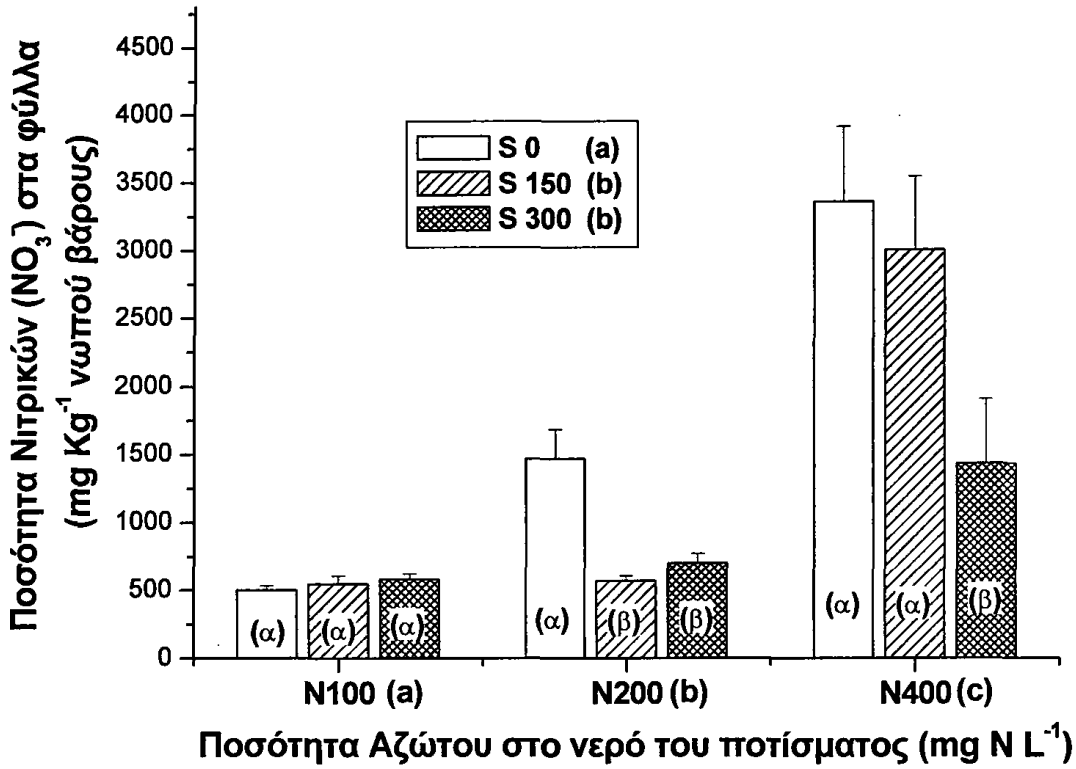
Σύμφωνα με την ανάλυση της διασποράς και τη γενική δοκιμασία του F για τα παραπάνω αποτελέσματα περιεκτικότητας σε NO_3^- διαπιστώνεται ότι αυτή επηρεάζεται σημαντικά τόσο από την αύξηση της N-ούχου λίπανσης όσο και από την πρόσθετη θειική λίπανση. Όπως ήταν φυσικό η N-ούχος λίπανση είχε την μεγαλύτερη επίδραση στην περιεκτικότητα των φυτών σε NO_3^- και εκεί οφείλεται το μεγαλύτερο μέρος της ολικής παραλλακτικότητας (F=60,98 για 2 και 36 ΒΕ, P<0,001). Όμως και η θειική λίπανση είχε σημαντική επίδραση στην συσσώρευση NO_3^- στα φυτά (F=7,88 για 2 και 36 ΒΕ, P=0,001) φανερώνοντας ότι η απορρόφηση του αζώτου από τα φυτά επηρεάζεται από την συγκέντρωση και των δύο στοιχείων στο θρεπτικό διάλυμα.

Σύμφωνα με τις συγκρίσεις των περιθωριακών μέσων διαπιστώνεται ότι κάθε αύξηση στην N-ούχο λίπανση προκαλεί στατιστικά σημαντική αύξηση στην συσσώρευση NO_3^- στα φυτά της ρόκας. Αντίθετα η χορήγηση SO_4^{2-} φαίνεται ότι περιορίζει την αύξηση των νιτρικών στους ιστούς των φυτών.

Όμως ένα στατιστικά σημαντικό μέρος της ολικής παραλλακτικότητας βρέθηκε ότι οφείλεται στην αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων (N-ούχος και S-ούχος λίπανση) του πειράματος (F=5,99 για 4 και 36 ΒΕ, P=0,001), κάτι που σημαίνει ότι οι διαφορές μεταξύ των μέσων των πειραματικών επεμβάσεων (απλές κύριες επιδράσεις) του ενός παράγοντα μεταβάλλονται μέσα στα επίπεδα του άλλου. Έτσι από τις συγκρίσεις των μέσων των απλών κύριων επιδράσεων και με το κριτήριο της ΕΣΔ για επίπεδο σημαντικότητας 5% (LSD=0,203) μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι:

1) Στο επίπεδο της N-ούχου λίπανσης με 100 ppm N,. η συσσώρευση NO_3^- στα φυτά της ρόκας παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα ανεξάρτητα από την ποσότητα SO_4^{2-} στο θρεπτικό διάλυμα.
2) Στο επίπεδο των 200 ppm N παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στην συσσώρευση νιτρικών στους ιστούς των φυτών μόνο όταν στο θρεπτικό διάλυμα δεν υπήρχε προσθήκη SO_4^{2-} ανιόντων. Αντίθετα στα φυτά που χορηγήθηκε πρόσθετη θειική λίπανση, οι ποσότητες των νιτρικών παρέμειναν σε χαμηλά επίπεδα, αντίστοιχα με εκείνα της μειωμένης N-ούχου λίπανσης (100 ppm N), τόσο στο επίπεδο των 150 ppm S όσο και στο επίπεδο των 300 ppm S χωρίς σημαντικές διαφορές.
3) Στο επίπεδο της λίπανσης με 400 ppm N παρατηρήθηκε μια πολύ μεγάλη αύξηση στην περιεκτικότητα των ιστών της ρόκας σε NO_3^-, ιδιαίτερα στην μεταχείριση με 0 ppm S. Επίσης, από την σύγκριση των μέσων σε αυτό το επίπεδο N-ούχου λίπανσης, μεταξύ των φυτών που δεν έγινε πρόσθετη θειική λίπανση (0 ppm S) και αυτών που δέχθηκαν 150 ppm S, δεν υφίσταται στατιστικά σημαντική διαφορά. Μόνο στα φυτά που δέχθηκαν την αυξημένη S-ούχο λίπανση (300 ppm S) η περιεκτικότητα σε NO_3^- κρατήθηκε σε σχετικά χαμηλά επίπεδα.

Όλα τα παραπάνω παρουσιάζονται συνοπτικά στο γράφημα της εικόνας 2.



Εικόνα 2. Μέσοι και τυπικά σφάλματα της ποσότητας των νιτρικών στα φυτά 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%.

Γ. Περιεκτικότητα των φυτών σε ολικό θείο

Στον πίνακα 3 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της περιεκτικότητας σε ολικό θείο για τις εννέα επεμβάσεις του πειράματος.

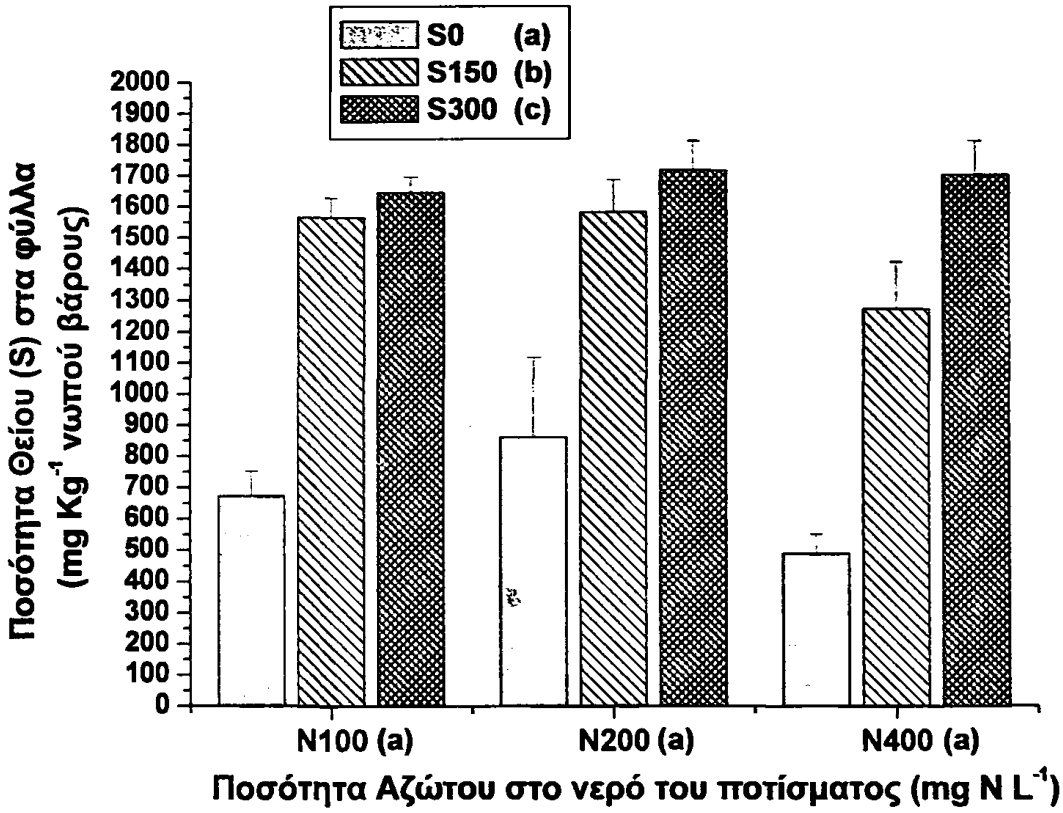
ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα της περιεκτικότητας σε ολικό θείο των φυτών της ρόκας για τις εννέα επεμβάσεις (συνδυασμοί αζωτούχου και θειικής λίπανσης) του πειράματος.

Είδος επέμβασης ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ N ΚΑΙ S ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΤΟΥ ΠΟΤΙΣΜΑΤΟΣ (mg× L^{-1})	ΜΕΣΗ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΟΛΙΚΟ ΘΕΙΟ (σε mg× Kg^{-1} νβ)
N 100 × S 0	336,37 ± 39,7
N 100 × S 150	781,24 ± 32,3
N 100 × S 300	821,65 ± 24,8
N 200 × S 0	429,52 ± 128,4
N 200 × S 150	789,19 ± 52,3
N 200 × S 300	856,76 ± 48,3
N 400 × S 0	244,32 ± 31,8
N 400 × S 150	635,44 ± 73,9
N 400 × S 300	850 ± 56,3
LSD (για 36 ΒΕ και n=5)	180,54

Η ανάλυση της διασποράς των τιμών της περιεκτικότητας σε ολικό θείο φανερώνει ότι αυτή δεν εξαρτάται από τις ποσότητες της N-ούχου λίπανσης (F=2,64 για 2 και 36 ΒΕ, P=0,85), φαίνεται δε ότι εξαρτάται αποκλειστικά από τις συγκεντρώσεις των θειικών ανιόντων στο θρεπτικό διάλυμα (F=55,74 για 2 και 36 ΒΕ, P<0,001) καθώς δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων λίπανσης (F=0,82 για 4 και 36 ΒΕ, P=0,52).

Οι συγκρίσεις των περιθωριακών μέσων για τον παράγοντα θειική λίπανση φανερώνουν ότι τόσο οι συγκεντρώσεις των 150 ppm S στο θρεπτικό διάλυμα όσο και εκείνες των 300 ppm S, αυξάνουν στατιστικά σημαντικά την περιεκτικότητα των φυτών της ρόκας σε ολικό θείο σε σχέση με τα φυτά που δεν έγινε προσθήκη θειικών ανιόντων (0 ppm S). Με άλλα λόγια αύξηση της θειικής λίπανσης έχει σαν αντίκτυπο την αύξηση του ολικού θείου στα φυτά

της ρόκας. Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται και στο γράφημα της εικόνας 3.



Εικόνα 3. Μέσοι και τυπικά σφάλματα της ποσότητας του ολικού θείου στα φυτά της ρόκας. 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%.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το άζωτο αποτελεί το κύριο θρεπτικό μακροστοιχείο το οποίο καθορίζει την αύξηση της βιομάζας των φυτών. Η επάρκεια αζώτου στο θρεπτικό διάλυμα επιτρέπει την πλήρη εκδήλωση της αύξησης των φυτών, σύμφωνα με την γενετική τους καταβολή. Τα φυτά παραλαμβάνουν το άζωτο από το εδαφικό διάλυμα υπό μορφή κυρίως νιτρικών ανιόντων μέσω του ρεύματος της διαπνοής και η παρουσία NO_3^- στο θρεπτικό διάλυμα καθορίζει σε μέγιστο βαθμό το ύψος της παραγωγής. Όλα αυτά βέβαια όταν δεν υφίστανται άλλοι περιοριστικοί παράγοντες που μπορεί να εμποδίζουν τον φυτικό μεταβολισμό όπως για παράδειγμα, η περιορισμένη υγρασία, η έλλειψη φωτισμού ή CO_2, όπως επίσης και η έλλειψη άλλων ζωτικών ανόργανων θρεπτικών στοιχείων.

Ένα από τα ιχνοστοιχεία που παίζει σπουδαίο ρόλο στον φυτικό μεταβολισμό και μπορεί να επηρεάζει σημαντικά την αύξηση της βιομάζας τους είναι και το θείο, το οποίο συμμετέχει στην δομή βασικών αμινοξέων των πρωτεϊνών, όπως της μεθειονίνης και κυστεΐνης, κατέχοντας κεντρική θέση στα ενεργά κέντρα των ενζύμων, όπως για παράδειγμα στην οργάνωση του συστήματος της νιτρικής ρεδουκτάσης και της ρεδουκτάσης των νιτρωδών, επηρεάζοντας έτσι καθοριστικά τον μεταβολισμό του αζώτου στα φυτά (Ruiz et.al., 2005).

Κάτω από συνθήκες έλλειψης θείου στο θρεπτικό διάλυμα παρατηρείται ελάττωση της βιοσύνθεσης κυστεΐνης και μεθειονίνης, αύξηση της αργινίνης, ασπαραγγίνης, γλουταμίνης και σερίνης, ενώ παράλληλα διαπιστώνεται σημαντική μείωση της ενεργότητας της ρεδουκτάσης των νιτρικών και αύξηση της συσσώρευσης νιτρικών στα κυτταρικά χυμοτόπια της ελαιοκράμβης (Kaur et. al., 2011). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την περιορισμένη αύξηση της φυτικής βιομάζας.

Τα αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης αζώτου και θείου στο βάρος των φυτών της ρόκας στην παρούσα εργασία, συμφωνούν με τα παραπάνω, καθώς σε επάρκεια θείου στο θρεπτικό διάλυμα που χορηγήθηκε στα φυτά της ρόκας διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση της βιομάζας τους, όταν η συγκέντρωση του αζώτου στο θρεπτικό διάλυμα αυξάνεται από 100 ppm N στα 200 και στα 400 ppm. Αντίθετα στις περιπτώσεις όπου η παρουσία του θείου στο θρεπτικό

διάλυμα ήταν μικρή, το βάρος των φυτών παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα ακόμα και όταν η χορηγούμενη N-ούχος λίπανση ανήλθε στα 400 ppm N.

Υψηλές δόσεις όμως N-ούχου λίπανσης (400 ppm N) δεν διαπιστώθηκε να έχουν ιδιαίτερο αντίκτυπο στην αύξηση της βιομάζας της ρόκας. Η δόση αυτή δεν προκάλεσε αύξηση στο βάρος των φυτών αλλά προκάλεσε υπέρμετρη αύξηση της περιεκτικότητας σε NO_3^- στους ιστούς των φυτών. Στην περίπτωση μάλιστα όπου η υψηλή N-ούχος λίπανση (400 ppm N) συνδυάστηκε με έλλειψη S στο θρεπτικό διάλυμα, τα φυτά της ρόκας όχι μόνο παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές συσσώρευσης NO_3^- αλλά το βάρος παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα αντίστοιχα με την χαμηλή δόση N-ούχου λίπανσης (100 ppm N). Η ταυτόχρονη χορήγηση και S, περιόρισε σημαντικά την συσσώρευση νιτρικών στα φυτά, ιδιαίτερα στην αυξημένη δόση SO_4^{2-} (300 ppm S).

Η επίδραση αυτή του S στα αποτελέσματα του πειράματος, σχετίζεται με την κεντρική θέση που κατέχει το στοιχείο στον μεταβολισμό των φυτών, ιδιαίτερα στην αναγωγή των NO_3^- μέσω της αύξησης της ενεργότητας του συμπλόκου της νιτρικής ρεδουκτάσης και της αύξησης της περιεκτικότητας του οργανικού (ανοιγμένου αζώτου) στους ιστούς των φυτών. Αυτό φαίνεται καθαρά από τα αποτελέσματα του πειράματος στο επίπεδο της ενδιάμεσης N-ούχου λίπανσης (200 ppm N). Στην περίπτωση όπου η χορήγηση αζώτου στα φυτά δεν συνοδεύτηκε από την παρουσία SO_4^{2-} (0 ppm S) διαπιστώθηκε αύξηση στην συσσώρευση νιτρικών χωρίς αύξηση στο βάρος των φυτών. Αντίθετα στο επίπεδο της λίπανσης με 150 και 300 ppm S, η περιεκτικότητα των φυτών σε νιτρικά παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα ενώ το βάρος των φυτών παρουσίασε σημαντική αύξηση.

Το θείο όμως πέρα από την άμεση σχέση στον μεταβολισμό και την αναγωγή των NO_3^-, φαίνεται να έχει και άλλη επίδραση στην απορρόφηση των NO_3^- από τα φυτά της ρόκας. Από τα αποτελέσματα της ανάλυσης των φυτών ως προς την περιεκτικότητά τους σε ολικό θείο, φαίνεται ότι το στοιχείο απορροφάται από τα φυτά ανεξάρτητα από την ποσότητα της χορηγούμενης N-ούχου λίπανσης. Τόσο σε χαμηλές (N: 100 ppm) όσο και σε ενδιάμεσες (N: 200 ppm) ή υψηλές (N: 400 ppm) δόσεις N-ούχου λίπανσης, η

περιεκτικότητα των φυτών σε ολικό S παρουσίασε σημαντική αύξηση με την αύξηση της θειικής λίπανσης.

Επιπλέον τα αποτελέσματα του βάρους των φυτών και της περιεκτικότητάς τους σε NO_3^-, μέσα στο επίπεδο της υψηλής N-ούχου λίπανσης (N: 400 ppm), έδειξαν ότι η παρουσία 150 ppm S στην χορήγηση του θρεπτικού διαλύματος στα φυτά της ρόκας, ενώ προκάλεσε αύξηση στο βάρος των φυτών είχε πολύ μικρή επίδραση στην περιεκτικότητά τους σε NO_3^-. Από την άλλη μεριά όμως στη δόση των 300 ppm S δεν διαπιστώθηκε αύξηση στο βάρος των φυτών αν και παρατηρήθηκε αύξηση στην περιεκτικότητα των φυτών σε ολικό θείο. Βρέθηκε όμως στατιστικά σημαντική μείωση στη περιεκτικότητα των φυτών σε NO_3^-, σε σχέση με τα φυτά που δέχθηκαν είτε 0 ppm S είτε 150 ppm S.

Τα ευρήματα αυτά μας οδηγούν στα συμπέρασμα ότι σε αυξημένες δόσεις θειικής λίπανσης τα SO_4^{2-} (μεγαλύτερες από 150 ppm S) παρεμβάλλονται κατά κάποιο τρόπο στην απορρόφηση των NO_3^- από τις ρίζες των φυτών, περιορίζοντας έτσι την υπέρμετρη συσσώρευσή τους στα κυτταρικά χυμοτόπια. Τα αποτελέσματα αυτά είναι αντίστοιχα με εκείνα που αναφέρονται σε προηγούμενες εργασίες στο μαρούλι και στο ραπανάκι (Ράπτη, 2009) και ενισχύονται από τα ευρήματα του Βασιλειάδη (2011), ο οποίος βρήκε ότι η ελάττωση των νιτρικών σε φυτά μαρουλιού, όταν αυτά δέχονται αυξημένες δόσεις θειικής λίπανσης, δεν συνοδεύεται από κάποια σημαντική αύξηση στην περιεκτικότητά τους οργανικό άζωτο. Αντίστοιχο συμπέρασμα για την επίδραση των SO_4^{2-} στην απορρόφηση των νιτρικών, διατύπωσαν και οι Ruiz *et al.* (2005), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι υψηλές συγκεντρώσεις SO_4^{2-} στο θρεπτικό διάλυμα προκαλούν ελάττωση των νιτρικών στα φύλλα των φασολιών.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ (ANOVA)

1. ΒΑΡΟΣ ΦΥΤΩΝ

DESCRIPTIVE STATISTICS
Variable: ΒΑΡΟΣ ΦΥΤΩΝ

nitr	sulf	Mean	Sta. Dev.	Minimum	Maximum	n
all	all	34.2459259259	10.9029633839	21.5	65.2	45
1	all	27.4533333333	4.22541065911	23.3	39.1	15
2	all	37.7644444444	9.24877912721	23.1	51.6	15
3	all	37.52	14.0009795576	21.5	65.2	15
1	1	29.72	5.86148445362	23.6	39.1	5
1	2	25.32	1.51393526942	23.3	27.3	5
1	3	27.32	3.70229658455	24.2	33.3	5
2	1	29.32	7.8305172243	23.1	43	5
2	2	43	6.64529909033	35.2	51.6	5
2	3	40.9733333333	7.59222555572	33.4	50.4	5
3	1	24.54	2.51256840703	21.5	27.2	5
3	2	42.94	13.8557930123	31.5	64.7	5
3	3	45.08	13.001422999	32.5	65.2	5
all	1	27.86	5.9222100122	21.5	43	15
all	2	37.0866666667	11.9288286257	23.3	64.7	15
all	3	37.7911111111	11.420647319	24.2	65.2	15

TWO WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Variable: ΒΑΡΟΣ ΦΥΤΩΝ
1st Factor: sulf
2nd Factor: nitr

ΠΗΓΗ ΠΑΡ/ΚΟΤΗΤΑΣ	BE	AT	MT	F	P
Κύριες Επιδράσεις					
sulf	2	921.2729383	460.63647	7.1378649	0.0024 **
nitr	2	1038.582716	519.29136	8.0467609	0.0013 **
Αλληλεπίδραση					
sulf x nitr	4	947.3956543	236.84891	3.6701296	0.0132 *
Υπόλοιπο (Σφάλμα)	36	2323.231556	64.53421<-		
Σύνολο	44	5230.482864			
Model	8	2907.251309	363.40641	5.6312212	.0001 ***

Least Significant Difference (LSD)
Error mean square = Variance = 64.5342098765
Degrees of freedom = 36
Significance level = 5%

Factor: sulf
LSD 0.05 = 5.94911613862

Rank	Trt#	Mean	n	Groups of not significantly different means
1	3	37.7911111111	15	a
2	2	37.0866666667	15	a
3	1	27.86	15	b

Factor: nitr
LSD 0.05 = 5.94911613862

Rank	Trt#	Mean	n	Groups of not significantly different means
1	2	37.7644444444	15	a
2	3	37.52	15	a
3	1	27.4533333333	15	b

ΣΥΓΚΡΙΣΕΙΣ ΜΕΣΩΝ ΑΠΛΩΝ ΚΥΡΙΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ

$$LSD = t_{(0,05\ BE_{\upsilon\pi})} \times \sqrt{\frac{2 \times MT_{\upsilon\pi}}{n}} = 2{,}064 \times (2 \times 64{,}53421:5)^{1/2} = 10{,}48$$

$BE_{\upsilon\pi} = 36$
$n = 5$
$t = 2{,}064$ (για α=0,05 και $BE_{\upsilon\pi}$=36)

2. ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΣΕ ΝΙΤΡΙΚΑ

DESCRIPTIVE STATISTICS

Variable: NO_3^-

nitr	sulf	Mean	Sta. Dev.	Minimum	Maximum	n
all	all	1351.49849607	1230.38434753	417.77161	5121.7714	45
1	all	543.882879042	102.033533287	417.77161	717.048	15
2	all	913.490630434	495.088900891	463.71966	2037.0682	15
3	all	2597.12197874	1391.21730292	717.048	5121.7714	15
1	1	499.985367983	76.0799584363	417.77161	577.622	5
1	2	547.291141153	135.59969307	433.38066	717.048	5
1	3	584.372127991	88.2611245451	454.46704	685.08656	5
2	1	1471.17379915	481.121789616	806.679	2037.0682	5
2	2	570.923211447	78.0263257346	484.0074	691.43914	5
2	3	698.3748807	164.414450508	463.71966	916.58985	5
3	1	3357.27794862	1245.83985001	1892.21	5121.7714	5
3	2	3002.64374788	1214.43358374	1083.9098	4083.19	5
3	3	1431.44423972	1058.71227861	717.048	3236.675	5
all	1	1776.14570525	1420.89997331	417.77161	5121.7714	15
all	2	1373.61936683	1360.18897575	433.38066	4083.19	15
all	3	904.730416138	693.64321648	454.46704	3236.675	15

TWO WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Variable: $\log(NO_3^-)$
1st Factor: sulf
2nd Factor: nitr

ΠΗΓΗ ΠΑΡ/ΚΟΤΗΤΑΣ	BE	AT	MT	F	P
Κύριες Επιδράσεις					
sulf	2	0.380223932	0.190112	7.8796571	0.0015 **
nitr	2	2.942439545	1.4712198	60.978315	0.0000 ***
Αλληλεπίδραση					
sulf x nitr	4	0.578139682	0.1445349	5.9906046	0.0008 ***
Υπόλοιπο (Σφάλμα)	36	0.868569617	0.0241269<-		
Σύνολο	44	4.769372775			
Model	8	3.900803158	0.4876004	20.209795	0.0000 ***

```
 Least Significant Difference (LSD)
Error mean square = Variance = 0.0241269338
Degrees of freedom = 36
Significance level = 5%

Factor: sulf
LSD 0.05 = 0.11502931008

 Rank Trt#          Mean        n Groups of not significantly different means
-----------------------------------------------------------------------------
    1    1 3.11414525893       15 a
    2    2 2.97235819516       15  b
    3    3 2.89177659821       15  b

Factor: nitr
LSD 0.05 = 0.11502931008

 Rank Trt#          Mean        n Groups of not significantly different means
-----------------------------------------------------------------------------
    1    3 3.33865758692       15 a
    2    2 2.91117573191       15  b
    3    1 2.72844673347       15   c
```

ΣΥΓΚΡΙΣΕΙΣ ΜΕΣΩΝ ΑΠΛΩΝ ΚΥΡΙΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ

$$LSD = t_{(0,05\ BE_{\upsilon\pi})} \times \sqrt{\frac{2 \times MT_{\upsilon\pi}}{n}} = 2{,}064 x (2 x\, 0{,}0241269{:}5)^{1/2} = 0{,}20276$$

$BE_{\upsilon\pi} = 36$
$n = 5$
$t = 2{,}064$ (για α=0,05 και $BE_{\upsilon\pi}$=36)

3. ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΣΕ ΟΛΙΚΟ ΘΕΙΟ

DESCRIPTIVE STATISTICS

Variable: Ολικό S

nitr	sulf	Mean	Sta. Dev.	Minimum	Maximum	n
all	all	1276.55475451	520.950893224	313.06667	2075.6696	45
1	all	1292.84871718	475.026964951	481.01307	1754.1634	15
2	all	1383.64729639	523.282452485	440.62222	2075.6696	15
3	all	1153.16824994	569.719394256	313.06667	1982.8773	15
1	1	672.749556347	177.68987852	481.01307	965.35	5
1	2	1562.48096519	144.309011648	1313.65	1659.4725	5
1	3	1643.31563001	110.968049278	1483.6324	1754.1634	5
2	1	859.036604718	574.177909958	440.62222	1836.2909	5
2	2	1578.38545598	233.801332522	1376.01	1960.4975	5
2	3	1713.51982848	215.866816222	1544.2872	2075.6696	5
3	1	488.65025287	142.452591589	313.06667	693.12	5
3	2	1270.88148871	330.486987809	1003.4151	1801.1886	5
3	3	1699.97300825	251.935002147	1290.4309	1982.8773	5
all	1	673.478804645	365.391760098	313.06667	1836.2909	15
all	2	1470.58263663	272.367360618	1003.4151	1960.4975	15
all	3	1685.60282225	189.624607167	1290.4309	2075.6696	15

TWO WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Variable: Ολικό S
1st Factor: sulf
2nd Factor: nitr

ΠΗΓΗ ΠΑΡ/ΚΟΤΗΤΑΣ	BE	AT	MT	F	P
Κύριες Επιδράσεις					
sulf	2	8530016.131	4265008.1	55.740393	.0000 ***
nitr	2	404378.0288	202189.01	2.6424558	.0850 ns
Αλληλεπίδραση					
sulf x nitr	4	252197.92	63049.48	0.8240085	.5186 ns
Υπόλοιπο (Σφάλμα)	36	2754560.579	76515.572<-		
Σύνολο	44	11941152.66			
Model	8	9186592.08	1148324	15.007717	.0000 ***

Least Significant Difference (LSD)
Error mean square = Variance = 76515.5716355
Degrees of freedom = 36
Significance level = 5%

Factor: sulf
LSD 0.05 = 204.848299118

Rank	Trt#	Mean	n	Groups of not significantly different means
1	3	1685.60282225	15	a
2	2	1470.58263663	15	b
3	1	673.478804645	15	c

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Α. ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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

Atkinson, D., Jackson, J. E., Sharples, R.O and Waller, W. M. (eds). 1980 Mineral nutrition of fruit trees. Butterwoths. London pp 435

Blom-Zandstra., M., 1989. Nitrate accumulation in vegetables and its relationship to quality. Ann. Apl. Biol. 115: 553-561.

Dincer, Y., Akcay, T., Osman, T., Dogusoy, G., Nitric Oxide and Antioxidant Defense in Patients with Gastric Cancer., C Springer Science+Business Media, Inc. 2006., pp 1367–1370

Gianquinto, G., Borin M., (1992). Nitrate content in vegetable crops as affected by soil characteristics, rate and type of fertilization. In: Scaife A. (Ed.) Proc. Second Congress of the European society of Agronomy, Warwick, 23-28/8/92, 256-257.

Kaur G., Chanddna R., Pandey R., Abrol Y. P., Iqbal M. and Ahmad A., 2011. Sulfur starvation and restoration affect nitrate uptake and assimilation in rapesed. Protoplasma, 248: 299-311.

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 Karlra ed.) CRC Press,. Boca Raton, Florida. pp. 93-102.

Macz, O., Paparozzi, E. T. and W. W. Stroup. (2001). The effect of nitrogen and sulfur applications on pot chrysanthemum production and post-harvest perfromance I. Leaf nitrogen and sulfur concentrations. J. Plant Nutrition 24(1):111-130

Mitsui, T., and Kondo, T., 1999. Vegetables, High Nitrate Foods, Increased Breath Nitrous Oxide, Digestive Diseases and Sciences, Vol. 44, No. 6 (June 1999), pp. 1216-1219

Paparozzi, E. T. (1999). Nitrogen and sulfur interaction in floricultural crops. Acta Horticulturae 481:379-383.

Petersen, A., and Stoltze, S., 1999. Nitrate and nitrite in vegetables on the Danish market: content and intake., Food Additives and Contaminants, Vol. 16, No. 7, 291-299

Ruiz J., Rivero R. and Romero L., 2005. Regulation of nitrogen assimilation by sulfur in bean. Journal of Plant Nutrition, 28: 1163-1174.

Snedecor G. W and Cochran W. G., 1989. Square root transformation for counts, pp 287-289 in Statistical Methodw, 8th edition. Iova State University Press

Steingrover, E.G., Steenhuizen, J.W., and Vander Boon, J., (1993). Effects of low light Intensities at night on nitrate accumulation in lettuce grown on a recirculating nutrient solution. Netherlands J. Agric. Sci. 41(1): 13-21.

Urrestarazu, M; Postigo, A; Salas, M; Sanchez, A; Carrasco, G., 1998. Nitrate accumulation reduction using chloride in the nutrient solution on lettuce growing by NFT in semiarid climate conditions. Journal of Plant Nutrition, 21 (8) pp. 1705-1714.

Β. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Αναλογίδης Δ. Α. (1989) 'NO_3 –N ως δείκτης διαθεσιμότητας εδαφικού αζώτου...' Πρακτικά 2ου Πανελλήνιου εδαφολογικού συνεδρίου Λάρισα

Βαλέρας Ιωάννης (2011) Επίδραση της θειικής λίπανσης στη συσσώρευση νιτρικών στο μαρούλι καλλιεργούμενο σε τεχνητό υπόστρωμα. Πτυχιακή εργασία ΤΕΙ Ηπείρου Άρτα.

Βασδέκης Ε., Καριπίδης Χ., Σάββας Δ., 2005. Επίδραση ανόργανης ή οργανικής λίπανσης στη συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα μαρουλιού καλλιεργούμενου στο έδαφος. Πρακτικά 22ου Πανελλήνιου Επιστημονικού Συνεδρίου της Ε.Ε.Ε.Ο. (1): 483-486.

Βασιλειάδης Λάζαρος, 2011 Συγκριτική μελέτη της επίδρασης των θειικών ανιόντων στην συσσώρευση νιτρικών και οργανικού αζώτου, σε φυτά μαρουλιού καλλιεργουμένων σε τεχνητό υπόστρωμα. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, ΔΠΜΣ «Αγροχημεία και Βιολογικές Καλλιέργειες». Διπλωματική Εργασία. Ιωάννινα.

Δημητράκης Κ.Γ Λαχανοκομία, σελ.280-284,304-316

Θεριός Ιωάννης (1996) Ανόργανη θρέψη και λιπάσματα Αθήνα

Μάνος Γ. – Παπαδόπουλος Γ. (1986) Η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στη συσσώρευση νιτρικών στους ιστούς των λαχανοκομικών φυτών Περιοδικό Αγροτικά θέματα τεύχος 5

Ομήρου Δ. Μιχάλης (2009) Επίδραση αζωτούχου και θειικής λίπανσης στην παραγωγή γλυκοσινολικών στους ιστούς της ρόκας (*Eruca sativa*) και του μπρόκολου (*Brassica oleracea var. Italica*) και επιπτώσεις της ενσωμάτωσης των υπολειμμάτων του μπρόκολου και των γλυκοσινολικών στις μικροβιακές κοινότητες του εδάφους. Διδακτορική διατριβή Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών .

Παγουλάτου Μαριάνθη (2008) Μελέτη μιας νέας βακτηρίωσης της ρόκας (*Eruca sativa*). Πτυχιακή εργασία ΤΕΙ Κρήτης Ηράκλειο.

Ράπτη Βασιλική, 2009. Επίδραση της θειικής λίπανσης στη συσσώρευση νιτρικών στο μαρούλι και στο ραπάνι καλλιεργουμένων σε τεχνητό υπόστρωμα. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, ΔΠΜΣ «Αγροχημεία και Βιολογικές Καλλιέργειες». Διπλωματική Εργασία. Ιωάννινα.

Σάββας Δημήτριος (1996) Σημειώσεις ειδικής Λαχανοκομίας ΤΕΙ Ηπείρου Άρτα

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

Σαράφης Χαράλαμπος (2004) Διαχρονική πορεία της ρύπανσης των υπόγειων υδάτων του Δήμου Αλμυρού από τα νιτρικά γεωργικής προέλευσης. Διπλωματική εργασία Πανεπιστήμιο Αιγαίου Μυτιλήνη.

Σιμώνης Α – Σετάτου Ε. (1995) Το πρόβλημα με τα νιτρικά Περιοδικό Γεωργική Τεχνολογία τεύχος 3

Σιμώνης Α. , Σετάτου Ε. (1992) Αποτελεσματικότητα Αζώτου – παράγοντες που την επηρεάζουν και τρόποι βελτίωσής της V. Απονιτροποίηση Περιοδικό Γεωπονικά τεύχος 340

Σίωμος Αναστάσιος (2001) Νιτρικά και φυτορμόνες στα λαχανικά και μέτρα προστασίας του καταναλωτή Περιοδικό Καταναλωτικό Βήμα Τεύχος Απριλίου – Μαΐου.

Τσιτσίας Κυριάκος Λιπασματολογία σελ.27-33,46-49, ΟΕΔΒ Αθήνα 1987.

Χριστοδούλου Χριστιάνα (2003) Παρακολούθηση επιπέδων συγκέντρωσης νιτρικών σε μαρούλι 'σαλάτα' που παράγεται σε υδροπονική καλλιέργεια στην περιοχή Αχαρνών Αττικής. Πτυχιακή εργασία ΤΕΙ Κρήτης Ηράκλειο.

Γ. ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ

blog.livingreen.gr

http://www.deepgreece.com

www.eatwell.gr

http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A1%CF%8C%CE%BA%CE%B1_%28%CF%86%CF%85%CF%84%CF%8C%29

http://www.ethnos.gr/entheta.asp?catid=23353&subid=2&pubid=63725007

www.fitotech.gr

www.freshco.gr

www.kalliergo.gr

http://oikopress.gr/index.php/sustainable-growth/103-a

http://rsts.gr/infobank/index.asp?xkey=440

Δ. ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

ΠΑΝΤΑΖΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ