



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

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ



ΤΙΤΛΟΣ:

«ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΩΦΕΛΙΜΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΥΤΩΝ ΤΟΜΑΤΑΣ ΤΩΝ
ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ FORMULA F1 ΚΑΙ HE-MAN ΣΕ ΥΔΡΟΠΟΝΙΚΗ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, ΣΤΗ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΓΥΡΗΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ
ΤΟΥ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*»

ΚΡΙΤΣΙΜΑΣ ΑΝΔΡΕΑΣ
Τεχνολόγος Γεωπόνος

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2017



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

«ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΩΦΕΛΙΜΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΥΤΩΝ ΤΟΜΑΤΑΣ ΤΩΝ
ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ FORMULA F1 ΚΑΙ HE-MAN ΣΕ ΥΔΡΟΠΟΝΙΚΗ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, ΣΤΗ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΓΥΡΗΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ
ΤΟΥ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΤΟΥ

ΚΡΙΤΣΙΜΑ ΑΝΔΡΕΑ
Τεχνολόγος Γεωπόνος

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:
ΠΑΤΑΚΙΟΥΤΑΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2017

Στη μαμά,
που με στηρίζει σε κάθε μου βήμα

Η ανάθεση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής έγινε με απόφαση της Ε.Δ.Ε. του Διατμηματικού Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Αγροχημεία – Εφαρμογές στη Ζωική και Φυτική Παραγωγή/Φαρμακευτικά Φυτά» (συνεδρία 62^Α /27-02-2015) κατά την οποία εγκρίθηκαν το θέμα και η τριμελής εξεταστική επιτροπή.

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. Καριπίδης Χαράλαμπος, Καθηγητής
2. Μάνος Γεώργιος, Καθηγητής
3. Πατακιούτας Γεώργιος, Αν. Καθηγητής (Επιβλέπων)

«Όσο μένουμε μαζί, θα είμαστε εντάξει.»

– Ann Fisher

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Εν αρχή θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή του ΤΕΙ Ηπείρου, κο. Μάνο Γεώργιο, που αποτέλεσε τη θρυαλλίδα του μεταπτυχιακού μου καθοδηγώντας με απ' τα πρώτα κιόλας βήματα με τις συμβουλές του και την πολύτιμη εμπειρία του.

Επίσης, είναι πρέπει να ευχαριστήσω την κα. Υφαντή Βούλα, Καθηγήτρια του ΤΕΙ Ηπείρου, που με την πολύτιμη αρωγή της κατάφερα να ολοκληρώσω τόσο το πειραματικό όσο και το συγγραφικό κομμάτι της διπλωματικής μου εργασίας. Η καθοδήγηση σε όλα τα στάδια ήταν η κινητήριος δύναμη της ολοκλήρωσης της παρούσας εργασίας.

Επιπροσθέτως, η συμβολή των κο. Καριπίδη Χαράλαμπο, Καθηγητή του ΤΕΙ Ηπείρου, κα. Δούμα Δήμητρα, Καθηγήτρια του ΤΕΙ Ηπείρου, κα. Δήμου Δήμητρα, Εξωτερική Συνεργάτης του ΤΕΙ Ηπείρου, αποτέλεσε βασικό δομικό υλικό για τη διεξαγωγή του πειραματικού μέρους καθώς επίσης και για τη συγγραφή της εργασίας.

Επιπλέον, οι Μπακέα Μαρία και Κέφη Κατερίνα, Εξωτερικοί Συνεργάτες του ΤΕΙ Ηπείρου, μου παρείχαν στήριξη απ' το πρώτο κιόλας βήμα του πειράματος ως και την ολοκλήρωσή του, στις οποίες χρωστάω το μεγαλύτερο κομμάτι της παρούσας διατριβής. Ένα «ευχαριστώ» είναι πράγματι ανεπαρκές, παραταύτα «σας ευχαριστώ».

Τέλος, ευχαριστώ τον κο. Πατακιούτα Γεώργιο, Καθηγητή του ΤΕΙ Ηπείρου, και επιβλέπων της παρούσας εργασίας, που μου έδωσε την ευκαιρία και τη δυνατότητα να αναλάβω το συγκεκριμένο θέμα και να το διερευνήσω εις βάθος.

Δεν θα ήθελα να ξεχάσω τον Ίλαρχό μου, κο. Μπίτση Γεώργιο, Διοικητή της 1^{ης} ΙΛΗΣ, της 5^{ης} Επιλαρχίας Μέσων Αρμάτων, που μου έδωσε τη δυνατότητα να έρθω Ελλάδα και να παρουσιάσω την παρούσα διατριβή, τον οποίο και ευχαριστώ από καρδιάς. Δίχως τη συμβολή του δεν θα κατάφερνα ναβάλω ποτέ την τελευταία τελεία επί τούτω.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Με την παρούσα εργασία μελετήθηκε η ικανότητα ανταγωνιστών μικροοργανισμών, όπως ο μύκητας *Trichoderma harzianum* (T-22), το ριζοβακτήριο *Bacillus amyloliquefaciens* (FZB42) και ο συμβιωτικός μυκορριζικός μύκητας *Glomus intraradices*, στην προστασία φυτών τομάτας από προσβολές που οφείλονται στο *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Καθώς επίσης και η επίδραση των στα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά της τομάτας.

Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκαν δυο ποικιλίες τομάτας (Formula F1 και He-man), οι οποίες καλλιεργήθηκαν σε ανοικτό υδροπονικό σύστημα στο θερμοκήπιο του ΤΕΙ Ηπείρου στην Άρτα. Ο εμβολισμός του υποστρώματος με τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς πραγματοποιήθηκε στους δίσκους σποράς (τύρφη-περλίτης, 2:1), στη μεταφύτευση (περλίτης) και επαναλήφθηκε κάθε 4 εβδομάδες με εξαίρεση το *Glomus intraradices*. Το υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών μολύνθηκε τεχνητά με αιώρημα σπορίων (10^6 σπόρια mL^{-1}) του *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* BPIC-2550 (Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο).

Προσδιορίστηκαν η *in vitro* βλαστικότητα της γύρης και το μήκος των γυρεοσωλήνων σε θρεπτικό υπόστρωμα 12% σακχαρόζης και 50 mg L^{-1} βορικού οξέος. Παράλληλα από ώριμους καρπούς τομάτας μετρήκαν ο αριθμός σπερμάτων ανά καρπό και το βάρος 1000 σπόρων.

Το *Bacillus amyloliquefaciens* και το *Trichoderma harzianum* (T-22) φαίνεται ότι παρείχαν σημαντική προστασία στα φυτά συγκριτικά με τον εμβολιασμένο με το παθογόνο μάρτυρα. Οι παρατηρήσεις αυτές επιβεβαιώνονται και από τις μετρήσεις που αφορούν την ανάπτυξη των φυτών (ύψος, νωπό βάρος). Συμπερασματικά φαίνεται ότι το *Bacillus amyloliquefaciens* και το *Trichoderma harzianum* (T-22) μπορούν να μειώσουν τη ζημιά και να προστατέψουν τα φυτά της τομάτας από το *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Βρέθηκε επίσης ότι οι μύκητες *Glomus intraradices* και *Trichoderma harzianum* επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά της

βλαστικότητας της γύρης της τομάτας. Παρόλα αυτά, δεν είχαν σημαντική επίδραση στα χαρακτηριστικά της παραγωγής σπόρου. Τα αποτελέσματα φανερώνουν ότι σε κάθε μεταχείριση, η παραγόμενη γύρη ανεξάρτητα από τις όποιες διαφορές στα χαρακτηριστικά βλαστικότητας είχε επαρκή βλαστικότητα και ικανότητα επιμήκυνσης των γυρεοσωλήνων, με επακόλουθο την παραγωγή ικανού αριθμού σπερμάτων ανά καρπό.

ABSTRACT

We investigated the ability of an isolate of *Trichoderma harzianum* (T-22), an arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus intraradices* and a strain of the gram positive soil bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* (FZB42) to control wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato seedlings. Also the effect of the symbiotic microorganisms on the reproductive traits of tomato was evaluated.

For the experiment two varieties of tomato (Formula F1 and He-man) were used and grown in an open hydroponic system in the greenhouse of the TEI of Epirus (Arta). The substrate was inoculated by using a spore suspension (10^6 spores mL^{-1}) of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* BPIC-2550 (provided by Benaki phytopathological Institute, Athens GR).

The *in vitro* pollen germination and pollen tube length were determined after incubation in a medium containing 12% sucrose and 50 mg L^{-1} boric acid. In addition, the number of seeds per fruit and the 1000 seed weight were estimated.

Bacillus amyloliquefaciens and *Trichoderma harzianum* (T-22) appeared to provide significant protection to the plants as compared with the inoculated with the pathogen control treatment. From the obtained results it can be concluded that the application of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Trichoderma harzianum* (T-22) as a biocontrol agent played an important role in reducing disease damage and appeared to have a great potential in protecting tomato plants against infections by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. It was found that the fungi *Glomus intraradices* and *Trichoderma harzianum* affect the germination characteristics of tomato pollen. However, they had no significant effect on the characteristics of seed production. The results indicate that in all the treatments, the produced pollen has efficient germination and tube growth to promote sufficient seed production.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	10
Α' ΜΕΡΟΣ.....	14
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	15
1.1. Η Τομάτα	15
1.1.1. Καταγωγή – Ιστορική Εξέλιξη.....	15
1.1.2. Βοτανικοί Χαρακτήρες.....	16
1.1.3. Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις.....	20
1.1.4. Υδροπονία	22
1.1.4.1. Υδροπονία – Ορισμοί	22
1.1.4.2. Θρεπτικό διάλυμα	23
1.1.4.2.1. Ηλεκτρική αγωγιμότητα θρεπτικού διαλύματος	24
1.1.4.2.2. pH θρεπτικού διαλύματος.....	25
1.1.4.3. Υποστρώματα των υδροπονικών καλλιεργειών	26
1.1.4.4. Κατάταξη των υδροπονικών συστημάτων	28
1.1.4.4.1. Ανοικτά και κλειστά υδροπονικά συστήματα.....	30
1.1.4.5. Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα υδροπονίας	31
1.1.4.6. Θρέψη υδροπονικών καλλιεργειών.....	33
1.1.4.6.1. Σύνθεση θρεπτικού διαλύματος.....	33
1.1.4.6.2. Χρησιμοποιούμενα λιπάσματα.....	35
1.1.4.6.3. Περιγραφή των λιπασμάτων που χρησιμοποιούνται στην υδροπονία.....	37
1.1.4.6.4. Αρχές σύνθεσης θρεπτικών διαλυμάτων.....	40
1.1.4.6.5. Σύνθεση θρεπτικού διαλύματος.....	42

1.1.4.6.5.1. Αναλογίες μακροστοιχείων	42
1.1.4.6.5.2. Ο ρόλος του pH του θρεπτικού διαλύματος-παράγοντες που το επηρεάζουν	43
1.1.4.6.5.3. Συνολική συγκέντρωση αλάτων – Αγωγιμότητα-Ηλεκτρική αγωγιμότητα (Electrical Conductivity, EC).....	47
1.1.5. ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ	49
1.1.5.1. ΜΥΚΟΡΡΙΖΕΣ	49
1.1.5.1.1. Γενικά περί μυκορριζών	49
1.1.5.1.2. Ο ρόλος των μυκορριζών.....	49
1.1.5.1.3. Τύποι μυκορριζών	51
1.1.5.1.3.1. Εκτομυκόρριζες	51
1.1.5.1.3.2. Ενδομυκόρριζες.....	52
1.1.5.1.3.3. Δενδροειδείς μυκόρριζες	53
1.1.5.1.4. Δομή και στάδια ανάπτυξης.....	55
1.1.5.1.4.1. Υφές του εδάφους.....	56
1.1.5.1.4.2. Επαφή Και Διεϊσδυση Ρίζας	56
1.1.5.1.4.3. Πολλαπλασιασμός Των Υφών Στο Φλοιό.....	57
1.1.5.1.4.3.1. Arbuscules	58
1.1.5.1.4.3.2. Κύστεις	59
1.1.5.1.4.3.3. Σπόρια	60
1.1.5.1.5. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΔΕΝΔΡΟΕΙΔΩΝ ΜΥΚΟΡΡΙΖΩΝ.....	61
1.1.5.1.5.1. Πρόσληψη Φωσφόρου.....	61
1.1.5.1.5.2. Άλλες Ωφέλειες Δενδροειδών Μυκορριζών	62
1.1.5.1.5.3. Ο Δενδροειδής Μύκητας <i>Glomus intraradices</i>	64
1.1.5.1.5.3.1. Επίδραση στην ανόργανη θρέψη των φυτών.....	69
1.1.5.1.5.3.2. Επίδραση στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών.....	74
1.1.5.1.5.3.3. Επίδραση στην υδατική κατάσταση των φυτών.....	76

1.1.5.1.5.3.4.	Επίδραση στα βαρέα μέταλλα	78
1.1.5.1.5.3.5.	Βελτίωση τη δομής του εδάφους	79
1.1.5.1.5.3.6.	Προστασία φυτών από παθογόνα του εδάφους.....	80
1.1.5.1.6.	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΥΚΗΤΩΝ	81
1.1.5.1.6.1.	<i>Trichoderma</i> spp.....	86
1.1.5.1.6.2.	<i>Fusarium oxysporum</i>	87
1.1.5.2.	ΡΙΖΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΠΡΟΑΓΟΥΝ ΤΗ ΦΥΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ (PGPR)	88
1.1.5.2.1.	Η περιοχή της ριζόσφαιρας.....	90
1.1.5.2.2.	Αλληλεπιδράσεις μικροοργανισμών στη ριζόσφαιρα	92
1.1.5.2.3.	Μηχανισμοί δράσης των PGPR	96
1.1.5.2.3.1.	Άμεσοι μηχανισμοί ενίσχυσης της ανάπτυξης από PGPR.....	96
1.1.5.2.3.2.	Έμμεσοι μηχανισμοί ενίσχυσης της ανάπτυξης από PGPR.....	100
1.1.5.2.4.	Ταξινόμηση και ονοματολογία.....	103
1.1.5.2.5.	Σκευάσματα PGPR και τρόποι εφαρμογής.....	104
1.1.5.2.6.	Εφαρμογή PGPR στη σύγχρονη φυτοπροστασία.....	106
1.1.6.	Βλαστικότητα Γύρης	109
1.1.6.1.	Μορφολογία και φυσιολογία της γύρης.....	109
1.1.6.1.1.	Σχηματισμός και μορφολογία γυρεοκόκκων	109
1.1.6.1.2.	Είδη μικροσποριακού τάπητα	110
1.1.6.1.3.	Μείωση του σποριογόνου ιστού.....	110
1.1.6.1.4.	Μεταμειωτική εξέλιξη της γύρης	111
1.1.6.1.5.	Το τοίχωμα του γυρεοκόκκου (σπορόδερμα).....	113
1.1.6.2.	Μορφολογία και φυσιολογία της βλάστησης του γυρεοσωλήνα	118
1.1.6.2.1.	Χημεία και δομή του τοιχώματος του γυρεοσωλήνα	118
1.1.6.2.2.	Ο ρόλος των σακχάρων	120
1.1.6.2.3.	Ο ρόλος του Βορίου.....	122
1.1.6.2.4.	Επίδραση του πληθυσμού και ρόλος του ασβεστίου	125

1.1.6.2.5. Επίδραση διαφόρων μεταβολιτών (βιταμινών, αμινοξέων, φυτικών ορμονών κ.λ.π.)	127
1.1.6.2.6. Η επίδραση του pH.....	128
1.1.6.2.7. Επίδραση της θερμοκρασίας.....	129
1.1.6.2.8. Γενετικοί παράγοντες.....	129
1.1.6.3. Προσδιορισμός της ζωτικότητας της γύρης.....	130
1.1.6.3.1. Μέθοδοι χρώσης.....	131
1.1.6.3.2. Μέθοδοι βλάστησης	135
1.1.6.3.2.1. Βλάστηση <i>in vivo</i>	135
1.1.6.3.2.2. <i>In vitro</i> καλλιέργεια της γύρης	136
1.1.6.3.3. Αποθήκευση της γύρης	139
1.1.6.3.4. Μέθοδοι αποθήκευσης.....	141
Β΄ ΜΕΡΟΣ.....	143
1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	144
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	145
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	151
3.1. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΥΤΩΝ	151
3.2. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΑΠΟ <i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i>	153
3.3. ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΓΥΡΗΣ	157
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	159
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	163
ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	164
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	190

Α' ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Η Τομάτα

1.1.1. Καταγωγή - Ιστορική Εξέλιξη

Οι πληροφορίες σχετικά με την καταγωγή της τομάτας ήταν συγκεχυμένες. Αρχικά επικρατούσε η άποψη ότι χώρα καταγωγής της τομάτας είναι το Περού, όμως με τις πληροφορίες (ιστορικές, αρχαιολογικές, εθνοβοτανικές) που έδωσε ο Jenkins το 1948, έγινε αργότερα αποδεκτό ότι χώρα καταγωγής της καλλιεργούμενης τομάτας είναι το Μεξικό και μάλιστα η περιοχή Vera Cruz-Puebla, απ' όπου αρχικά μεταφέρθηκε τον 16^ο αιώνα στην Ευρώπη και κατόπιν ακολούθησε η διασπορά της σε αρκετές περιοχές της υφελίου. Είναι γνωστοί οι φόβοι που επικρατούσαν μέχρι τον 20^ο αιώνα στις περιοχές της Μεσογείου, της Β. Ευρώπης και της Β. Αμερικής, ότι δηλαδή οι τομάτες περιέχουν τοξικές ουσίες, γεγονός που παρεμπόδιζε την κατανάλωση των. Οι φόβοι αυτοί οφειλόταν στην παρουσία δηλητηριωδών γλυκοαλκαλοειδών στα φύλλα και στους καρπούς άλλων μελών της ίδιας οικογένειας (*Solanaceae*). Κάτι το οποίο ξεπεράστηκε στις αρχές του 20^{ου} αιώνα και έκτοτε η κατανάλωση της τομάτας αυξήθηκε σημαντικά (Ολύμπιος, 2001). Στην Ελλάδα η εισαγωγή της έγινε στην Αθήνα το 1918 ως κηπευτική καλλιέργεια. Ως βιομηχανική πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκε μετά τον πρώτο παγκόσμιο πόλεμο στα Δωδεκάνησα και τη Νότια Ελλάδα. Η μεγάλη εξάπλωση της καλλιέργειας άρχισε μετά το 1960 και κυρίως το 1975 με τη δημιουργία βιομηχανικών μονάδων παραγωγής τοματοπολτού, αποφλοιωμένης τομάτας και άλλων παραγώγων (Αγγίδης, 1996).

Οι λόγοι που καθιστούν την τομάτα ως δημοφιλές λαχανικό είναι αρκετοί. Οι σπουδαιότεροι είναι: ότι εφοδιάζει τον οργανισμό με βιταμίνες (ιδίως βιταμίνη C), έχει ελκυστικό χρώμα και ιδιαίτερο άρωμα, γεγονός που την καθιστά αρεστή στη διατροφή. Ποικιλίες της έχουν εγκλιματιστεί σ' ένα μεγάλο εύρος τύπων εδάφους και κλίματος, αν και θα πρέπει να υπογραμμιστεί ότι το φυτό απαιτεί θερμό κλίμα και εδάφη με καλή στράγγιση. Σήμερα, η καλλιέργεια της τομάτας εκτείνεται από τις τροπικές περιοχές μέχρι και μερικές μοίρες από τον αρκτικό κύκλο· και στις μεν περιοχές όπου η διάρκεια της θερμής περιόδου το επιτρέπει, η τομάτα καλλιεργείται στο ύπαιθρο, ενώ σε άλλες περιοχές, και σε περιόδους «εκτός εποχής», καλλιεργείται σε θερμοκήπια και σε άλλες υπό προστασία κατασκευές. Η μορφή καλλιέργειας της τομάτας ποικίλει από την εκτατική (μεγάλες εκτάσεις σε γραμμική καλλιέργεια πλήρως μηχανοποιημένη, με εφάπαξ συγκομιδή με μηχανικά μέσα) έως την εντατική (καλλιέργεια σε θερμοκήπια, υποστύλωση, κλάδεμα, επαναλαμβανόμενη συγκομιδή με το χέρι). Σε διεθνή κλίμακα, η καλλιέργεια της τομάτας καταλαμβάνει την Τρίτη σε έκταση θέση ύστερα από την πατάτα και τη γλυκοπατάτα, ενώ στην Ελλάδα η επιτραπέζια τομάτα καταλαμβάνει τη δεύτερη σε έκταση θέση μετά την πατάτα. Σήμερα, η τομάτα πρωταγωνιστεί στη διατροφή, κυρίως των Μεσογειακών λαών. Καλλιεργείται για τον καρπό της, ο οποίος καταναλώνεται ώριμος, νωπός, αποξηραμένος, σε άλμη, ακέραιος ή πολτοποιημένος. Επιπροσθέτως και οι άωροι καρποί (τοξικοί εάν καταναλωθούν νωποί) συντηρούνται σε άλμη ή ξύδι (Ολύμπιος, 2001).

1.1.2. Βοτανικοί Χαρακτήρες

Η τομάτα είναι φυτό ποώδες, ετήσιο, διετές και σπανιότερα πολυετές, που φτάνει τα 1-3 m σε ύψος. Ολόκληρο το φυτό της τομάτας καλύπτεται από αδενώδεις τρίχες, οι οποίες αναδίδουν ένα δυνατό άρωμα όταν σπάζουν. Το φυτό της τομάτας αναπτύσσει ευδιάκριτη κεντρική ρίζα, αρκετές δευτερεύουσες και ριζικά τριχίδια, όταν ο σπόρος σπέρνεται

απευθείας στη μόνιμη θέση. Στην περίπτωση αυτή η πασσαλώδης ρίζα μπορεί να φτάσει σε βάθος 60 cm. Επειδή όμως, κατά κανόνα, τουλάχιστον στην καλλιέργεια στο θερμοκήπιο, η τομάτα μεταφυτεύεται μια ή περισσότερες φορές· η κεντρική ρίζα κόβεται, καταστρέφεται και το φυτό αρχίζει να παράγει με «ευκολία» πολλές δευτερεύουσες πλευρικές ρίζες, οι οποίες εξαπλώνονται επιφανειακά χωρίς να εισχωρούν σε μεγάλο βάθος. Οι δευτερεύουσες αυτές πλευρικές ρίζες παράγονται ακόμη και από το λαιμό του φυτού, γεγονός που θεωρείται πλεονέκτημα, για τι διευκολύνει τη μεταφύτευση ακόμη και με γυμνή ρίζα ή μπάλα χώματος, χωρίς αυτό να συνεπάγεται ότι αυτή είναι και η ενδεδειγμένη τεχνική. Το γεγονός ότι το φυτό της τομάτας παράγει νέες ρίζες από το λαιμό του, βοηθά στη διαπίστωση των συνθηκών κάτω από τις οποίες ζει και αναπτύσσεται το ριζικό σύστημα. Φερειπείν, εάν παρατηρηθούν εξογκώματα ή εναέριες ρίζες στην περιοχή του λαιμού του φυτού, δημιουργείται η υποψία ότι η κατάσταση στο ριζόστρωμα είναι προβληματική, λόγω, παραδείγματος χάριν, κακού αερισμού, υπερβολικής υγρασίας, συμπίεσης του εδάφους κ.ο.κ. (Ολύμπιος, 2001).

Ο βλαστός της τομάτας έχει κυλινδρικό σχήμα και εσωτερικά είναι πλήρης. Στα πρώτα στάδια της ανάπτυξής του είναι τρυφερός, εύθραυστος, χυμώδης και μαλακός. Έπειτα, ωστόσο, γίνεται σταδιακά πιο σκληρός, αποκτά μηχανική αντοχή, χωρίς να ξυλοποιείται και είναι σχετικά εύθραυστος. Ο κεντρικός βλαστός φέρει τα πραγματικά φύλλα, στις μασχάλες των οποίων υπάρχουν οφθαλμοί που δίνουν πλευρικούς βλαστούς. Πολλές φορές, οι πλευρικοί βλαστοί που βρίσκονται κοντά στην κορυφή του φυτού είναι τόσο ζωνιοί, που με δυσκολία μπορεί κανείς να ξεχωρίσει ποιος είναι ο κεντρικός βλαστός και ποιος ο πλευρικός. Στην κορυφή του στελέχους μπορεί να υπάρχουν ταξιανθίες ή διακλαδώσεις στελεχών (Ολύμπιος, 2001).

Το φυτό της τομάτας έχει σύνθετα πραγματικά φύλλα. Κάθε φύλλο αποτελείται από ζεύγη φυλλαρίων και παράφυλλων, με ένα μόνο φυλλάριο στην άκρη. Ο αριθμός των ζευγών φυλλαρίων σε κάθε φύλλο διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία και τη θέση του φύλλου επί του βλαστού. Είναι

δυνατόν να συναντηθούν ποικιλίες με τρία, τέσσερα ή πέντε ζεύγη φυλλαρίων. Τα πρώτα πραγματικά φύλλα μιας συγκεκριμένης ποικιλίας έχουν μικρότερο αριθμό ζευγών. Εκτός από τον αριθμό των ζευγών, και το μέγεθος των φύλλων (μήκος – πλάτος) που είναι χαρακτηριστικό της κάθε ποικιλίας, επηρεάζεται όμως και από τις συνθήκες καλλιέργειας. Συνήθως, οι μεγαλόκαρπες ποικιλίες έχουν πιο μακριά και πιο πλατιά φύλλα, ενώ στις μικρόκαρπες ποικιλίες οι διαστάσεις των φύλλων είναι μικρότερες. Τα φύλλα εμφανίζονται σε ελικοειδή διάταξη πάνω στο βλαστό. Καλύπτονται από αδενώδεις τρίχες, που εκκρίνουν μια ουσία με χαρακτηριστικό άρωμα. Η επάνω επιφάνεια των φύλλων έχει χρώμα λαμπερό βαθύ πράσινο και η κάτω ελαιώδες ανοικτό πράσινο (Ολύμπιος, 2001).

Τα άνθη της τομάτας εμφανίζονται σε ταξιανθίες, από δύο έως τρία άνθη ανά ταξιανθία, μέχρι είκοσι ή και περισσότερα. Ένας μέσος επιθυμητός αριθμός ανθέων ανά ταξιανθία που θα εξελιχθεί σε καρπούς αποτελείτο από έξι έως οκτώ άνθη. Οι ταξιανθίες εμφανίζονται επί των βλαστών του φυτού και διακλαδίζονται συμμετρικά ή ασύμμετρα, ανάλογα με την ποικιλία. Στο άκρο κάθε διακλάδωσης υπάρχει και ένα άνθος. Το άνθος, φέρει πράσινο δερματώδη κάλυκα που αποτελείται από πέντε ή περισσότερα σέπελα, στεφάνη κίτρινη με πέντε ή περισσότερα ενωμένα πέταλα, πέντε ή περισσότερους στήμονες ενωμένους στη βάση τους με τη στεφάνη και ενωμένους κατά μήκος μεταξύ τους, ώστε να σχηματίζουν κώνο γύρω από τον στύλο ο οποίος είναι συνήθως πιο κοντός και εγκλωβίζεται από τους ανθήρες, στίγμα και ύπερο με καλά αναπτυγμένη ωοθήκη. Η ωοθήκη είναι πολύχωρη με δύο έως επτά ή και περισσότερους χώρους, όπου κάθε χώρος έχει πολλά ωάρια (Ολύμπιος, 2001).

Τα άνθη είναι ερμαφρόδιτα και αυτογονιμοποιούνται, αν και κάτω από ορισμένες συνθήκες μπορεί να σταυρογονιμοποιηθούν. Η κατασκευή του άνθους με το στύλο πιο κοντό και το στίγμα να περιβάλλεται από τον κώνο που σχηματίζουν οι ανθήρες, βοηθά στην αυτογονιμοποίηση. Η τομάτα είναι ουδέτερο φυτό όσον αφορά τον φωτοπεριοδισμό ή μπορεί να ευνοείται από συνθήκες μικρής ημέρας. Η γονιμοποίηση γίνεται δύο μέρες περίπου μετά την επικονίαση και επηρεάζεται σημαντικά από τη σχετική υγρασία του

περιβάλλοντος, την ταχύτητα του ανέμου και τη θερμοκρασία. Έπειτα από τη γονιμοποίηση, η ανάπτυξη και ωρίμανση του καρπού γίνεται συνήθως σε διάστημα 45–60 ημερών, που εξαρτάται από την ποικιλία, τις κλιματικές και τις καλλιεργητικές συνθήκες.

Ο καρπός της τομάτας είναι πολύχωρος ράγα, με ποικίλα σχήματα και αποτελείται από το φλοιό, τη σάρκα (πούλπα) και τους σπόρους. Ο φλοιός σχηματίζεται από άχρωμα ή κίτρινα πολυγωνικά, λεία κύτταρα που σχηματίζουν μια μεβράνη. Η σάρκα σχηματίζεται από μεγάλα, ωοειδή κύτταρα που περιέχουν τη χρωστική ουσία: λυκοπένιο. Ο καρπός ποικιλιών με δύο χώρους είναι συνήθως σφαιρικός, ενώ αυτών με τρεις, τέσσερις, πέντε ή περισσότερους χώρους είναι πεπλατυσμένος και μερικές φορές ακανόνιστος. Το βάρος του καρπού είναι, συνήθως, στις βιομηχανικές ποικιλίες 60–120 gr και στις επιτραπέζιες 150–300 gr. Το χρώμα του καρπού είναι συνήθως κόκκινο, υπάρχουν ωστόσο και ποικιλίες που έχουν χρώμα πορτοκαλί, κίτρινο, ροζ ή λευκό. Ο χρωματισμός των καρπών της τομάτας οφείλεται σε δύο χρωστικές: το καροτένιο (κίτρινο χρώμα καρπού) και το λυκοπένιο (κόκκινο χρώμα καρπού), και επηρεάζεται από τη σχέση των χρωστικών αυτών και τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Το κόκκινο χρώμα οφείλεται στο καροτενοειδές λυκοπένιο ενώ το πορτοκαλί στο β-καροτένιο (προβιταμίνη Α). Σε μικρότερες ποσότητες υπάρχουν επίσης και άλλα καροτενοειδή και ξανθοφύλλες. Το λυκοπένιο δε χρειάζεται φως για να σχηματισθεί. Οι καρποί μετά τη συγκομιδή κοκκινίζουν στο σκοτάδι. Θερμοκρασίες άνω των 32 °C εμποδίζουν τη σύνθεση του λυκοπενίου, όχι όμως και του β-καροτενίου, γι' αυτό κι όταν επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες οι καρποί δεν έχουν βαθύ κόκκινο χρώμα, αλλά πορτοκαλί.

Οι καρποί της τομάτας περιέχουν 94-95 % νερό, ενώ το υπόλοιπο 5-6 % συνίσταται κυρίως από σάκχαρα, οργανικά οξέα και άλλα συστατικά. Κατά την ωρίμανσή τους συμβαίνουν δραματικές μεταβολές στη χημική σύσταση, οι οποίες προσδίδουν στον καρπό χαρακτηριστική γεύση, άρωμα και υφή (Tigchelaar, 1986).

Οι βιομηχανικές ποικιλίες έχουν πιο παχιά κυτταρικά τοιχώματα και υψηλότερη περιεκτικότητα σε διαλυτά στερεά. Οι καρποί είναι σημαντική

πηγή αντιοξειδωτικών και βιταμίνης C. Μερικές ποικιλίες βελτιώνονται ειδικά για υπέρ υψηλή περιεκτικότητα σε καροτενοειδή και χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία. Η τομάτα αποτελεί ιδανικό φυτό για γενετικές μελέτες λόγω του απλού συστήματος αναπαραγωγής, της ευκολίας της καλλιέργειας και της μεγάλης γενετικής ποικιλομορφίας σε καλλιεργούμενα και άγρια είδη (Tigchelaar, 1986).

Ο σπόρος της τομάτας είναι ωοειδής, πεπλατυσμένος, χρώματος κίτρινο-καφέ-χρυσαφένιος και η επιφάνειά του καλύπτεται με τριχοειδείς αποφύσεις που του δίνουν μεταξώδη επιφάνεια (διαφορά από μελιτζάνα και πιπεριά). Οι σπόροι διατάσσονται πάνω στον κεντρικό άξονα, στο κέντρο της ράγας και βρίσκονται μέσα σε καθορισμένους χώρους, που έχουν ακτινωτή διάταξη. Καλύπτονται από ένα κιτρινωπό υγρό που περιέχει κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και πηκτίνες. Το μέγεθος των σπόρων είναι μικρό με διάμετρο 3-5 mm. Εσωτερικά ο σπόρος φέρει κυρτό (σπειροειδές) έμβρυο που περιβάλλεται από ένα μικρό ενδοσπέρμιο. Ο σπόρος της τομάτας διατηρεί, υπό κανονικές συνθήκες αποθήκευσης, τη βλαστικότητα του για τέσσερα τουλάχιστον χρόνια μετά τη συγκομιδή του, εάν όμως αποθηκευτεί σε χαμηλή θερμοκρασία και με χαμηλή περιεκτικότητα των σπόρων σε υγρασία, εύκολα διατηρεί τη βλαστικότητα του για πάνω από 10 χρόνια. Ένα γραμμάριο σπόρου περιέχει περίπου 450 σπέρματα (Ολύμπιος, 2001).

1.1.3. Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις

Η τομάτα είναι φυτό θερμής εποχής και ευπαθές στον παγετό, με άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 21-23 °C. Οι πολύ χαμηλές και οι υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα στη διαμόρφωση του καρπού και παραμορφώσεις. Επιπλέον, χρειάζεται άμεση ηλιοφάνεια. Τα σκιασμένα φυτά μπορεί να έχουν προβλήματα στη διαμόρφωση του καρπού ή καθυστέρηση καρποφορίας. Η τομάτα μπορεί να καλλιεργηθεί σε όλες σχεδόν τις κατηγορίες εδαφών, αρκεί να στραγγίζουν καλά. Τα άριστο pH εδάφους ανάπτυξης των φυτών κυμαίνεται μεταξύ 5.5 και 7.5. Σε όλες τις

περιπτώσεις, είναι επιθυμητή η μεγάλη περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ουσία καθώς και σε ανόργανα θρεπτικά στοιχεία. Πρέπει να αποφεύγονται τα αλατούχα εδάφη. Επίσης, είναι απαραίτητο να αποφεύγονται οι υψηλές συγκεντρώσεις των μεταλλικών αλάτων κοντά στο ριζικό σύστημα, για τι προκαλείται περιορισμένη βλάστηση της καλλιέργειας και ατροφία στις ρίζες. Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου της τομάτας, εξαρτάται από τις κλιματικές συνθήκες και κατά δεύτερο λόγο από την ποικιλία. Το φυτό χρειάζεται το λιγότερο τέσσερις μήνες χωρίς παγετούς για να μπορέσει να συμπληρώσει το βιολογικό του κύκλο, από τη σπορά μέχρι την έναρξη της συγκομιδής.

1.1.4. Υδροπονία

1.1.4.1. Υδροπονία - Ορισμοί

Υδροπονία ή εκτός εδάφους καλλιέργεια, είναι η ανάπτυξη των φυτών χωρίς τη χρήση εδάφους, με την παρουσία ή απουσία κάποιου μέσου (υπόστρωμα) και με παροχή από το σύστημα των συνολικών απαιτήσεων των φυτών σε νερό και θρεπτικά στοιχεία. (Jensen, 1999; Hanger, 1993). Σύμφωνα με τους Αναστασίου και Παπαγεωργίου (1999) η υδροπονική καλλιέργεια είναι μια προηγμένη και εξελιγμένη τεχνική καλλιέργειας, με την οποία τα φυτά αναπτύσσονται χωρίς τη χρησιμοποίηση εδάφους ή εδαφικού μίγματος.

Η υδροπονία είναι μέθοδος καλλιέργειας φυτών εκτός εδάφους, σύμφωνα με την οποία οι ρίζες των φυτών αναπτύσσονται είτε σε στερεά υποστρώματα εμποτισμένα με τεχνητό θρεπτικό διάλυμα, είτε απευθείας στο θρεπτικό διάλυμα από το οποίο τα φυτά απορροφούν τις απαραίτητες για την ανάπτυξή τους ποσότητες νερού και θρεπτικών στοιχείων. Ένας βασικός παράγοντας επιτυχίας του υδροπονικού συστήματος είναι η παροχή θρεπτικού διαλύματος κατάλληλης χημικής σύστασης.

Τα υποστρώματα των υδροπονικών καλλιεργειών, συνήθως είναι πορώδη υλικά, φυσικά ή προερχόμενα από βιομηχανική επεξεργασία, τα οποία μπορούν να συγκρατούν θρεπτικό διάλυμα και αέρα εξαιτίας των πόρων που διαθέτουν. Η πρόληψη της ποσότητας του θρεπτικού διαλύματος και του αέρα γίνεται άμεσα από τα φυτά και για το λόγο αυτό το υπόστρωμα είναι ικανό να αντικαταστήσει το έδαφος.

Πολλές υδροπονικές καλλιέργειες χρησιμοποιούν κάποιο τύπο υποστρώματος, που περιέχει οργανικό υλικό όπως την τύρφη ή το πριονίδι και για το λόγο αυτό οι υδροπονικές αυτές μέθοδοι καλούνται συχνά καλλιέργεια εκτός εδάφους (soiless culture), ενώ μόνο η καλλιέργεια σε

θρεπτικό διάλυμα (water culture), θα μπορούσε να θεωρηθεί πραγματική υδροπονία (Σιώμος, 2002).

1.1.4.2. Θρεπτικό διάλυμα

Σε όλα τα υδροπονικά συστήματα η θρέψη των καλλιεργούμενων φυτών επιτυγχάνεται με τη χορήγηση θρεπτικού διαλύματος. Ως θρεπτικό διάλυμα, ορίζεται μία ποσότητα νερού, στην οποία βρίσκονται διαλυμένα τα κατάλληλα θρεπτικά στοιχεία στις ακριβείς ποσότητες και αναλογίες που χρειάζονται για την σωστή ανάπτυξη του κάθε φυτού και μάλιστα για κάθε στάδιο της ανάπτυξής του.

Βασικό ρόλο κατά την παρασκευή του θρεπτικού διαλύματος έχει η ποιότητα του νερού. Για το λόγο αυτό είναι επιτακτική ανάγκη να γίνει ανάλυση του νερού πριν προστεθεί στο θρεπτικό διάλυμα. Η περιεκτικότητα του νερού σε οξυανθρακικά ιόντα (HCO_3^-) έχει ιδιαίτερη σημασία, γιατί η συγκέντρωση τους αποτελεί μέτρο της ρυθμιστικής ικανότητας του στις μεταβολές του pH. Όσο υψηλότερες είναι οι ποσότητες των οξυανθρακικών που περιέχονται στο νερό, τόσο μεγαλύτερες ποσότητες οξέος απαιτούνται για την εξουδετέρωσή τους, ώστε να και ρυθμίζεται το pH στη επιθυμητή τιμή (Σιώμος, 2002).

Ανάλογα με το υδροπονικό σύστημα που εφαρμόζεται, το θρεπτικό διάλυμα μπορεί να είναι ανακυκλώσιμο ή μίας χρήσης. Και στις δύο περιπτώσεις αποθηκεύεται σε κατάλληλο δοχείο από οξυάντοχο υλικό και η τροφοδοσία του στα φυτά γίνεται είτε μέσω σταλακτήρων, είτε μέσω ειδικών καναλιών, είτε με ειδικούς μικροψεκαστήρες οι οποίοι ψεκάζουν μικροσταγονίδια απευθείας στη ρίζα των φυτών.

Το θρεπτικό διάλυμα θα πρέπει να περιέχει όλα τα απαραίτητα για την ανάπτυξη των φυτών ανόργανα θρεπτικά στοιχεία. Εξαιρούνται, το υδρογόνο και το οξυγόνο, που είναι συστατικά του νερού, ενώ οξυγόνο προσλαμβάνεται και από τον ατμοσφαιρικό αέρα για τις ανάγκες της αναπνοής. Το χλώριο τις περισσότερες φορές εμπεριέχεται σε επαρκείς

ποσότητες ως χλωριούχο ανιόν στο νερό που χρησιμοποιείται για την παρασκευή του διαλύματος, καθώς επίσης και στις προσμίξεις των λιπασμάτων. Έτσι, ενώ τα απαραίτητα στοιχεία για την ανάπτυξη των φυτών είναι 16 μόνο τα 12 πρέπει να προστίθενται στο νερό κατά την παρασκευή του θρεπτικού διαλύματος, δηλαδή τα μακροστοιχεία N, P, S, K, Ca και Mg και τα ιχνοστοιχεία Fe, Mn, Zn, Cu, B, και Mo. Ο άνθρακας προσλαμβάνεται από τα φυτά από το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) της ατμόσφαιρας.

Υπάρχουν πολλές συνταγές για τα υδροπονικά θρεπτικά διαλύματα, οι οποίες είναι παρόμοιες και η ουσιαστική διαφορά τους είναι στην αναλογία αζώτου προς κάλιο. Ενδεικτικά αναφέρονται οι συνταγές: Hoagland's, Johnson's, Jensen's, Larsen's και Cooper's. Τα ποσοστά αζώτου και καλίου είναι διαφορετικά, επειδή τα φυτά χρειάζονται λιγότερο άζωτο κατά τη διάρκεια των μικρών ή σκοτεινών ημερών ενώ μεγαλύτερη ποσότητα αζώτου απαιτείται κατά τη διάρκεια των μακρών ημερών με έντονο φως ήλιου και με υψηλότερες θερμοκρασίες.

Τα δοχεία των πυκνών διαλυμάτων είναι μεγάλα δοχεία χωρητικότητας 100-1000 λίτρων, στα οποία περιέχονται τα θρεπτικά διαλύματα σε συγκέντρωση 50-100 φορές μεγαλύτερη από αυτή που χρειάζονται τα φυτά.

Παρακάτω αναλύονται δύο βασικές παράμετροι που πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη κατά την εκτέλεση της συνταγής του θρεπτικού διαλύματος και αυτές είναι η ηλεκτρική αγωγιμότητα και το pH του θρεπτικού διαλύματος.

1.1.4.2.1. Ηλεκτρική αγωγιμότητα θρεπτικού διαλύματος

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα είναι το φυσικό μέγεθος που εκφράζεται ως το αντίστροφο της ειδικής ηλεκτρικής αντίστασης ενός υλικού και έχει διαστάσεις ηλεκτρικής αντίστασης ανά μονάδα μήκους. Ως μονάδα μέτρησης της ηλεκτρικής αγωγιμότητας έχει καθιερωθεί διεθνώς το dS m⁻¹ (επίσης

χρησιμοποιείται και το mS cm^{-1} και ισχύει $1 \text{ dS m}^{-1} = 1 \text{ mS cm}^{-1} = 1 \text{ mmhos cm}^{-1}$).

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα ενός υδατικού διαλύματος, για συγκεκριμένη θερμοκρασία, είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των ιόντων που βρίσκονται διαλυμένα σε αυτό. Για την περίπτωση της υδροπονίας συμπεραίνεται ότι η ηλεκτρική αγωγιμότητα αποτελεί το μέτρο της περιεκτικότητας σε θρεπτικά στοιχεία και ανόργανα άλατα που βρίσκονται διαλυμένα στο θρεπτικό διάλυμα. (Σιώμος, 2002).

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα δεν παρέχει πληροφορίες για το είδος των αλάτων που είναι διαλυμένα σε ένα διάλυμα, αλλά μόνο για την συνολική τους συγκέντρωση. Πάρα ταύτα στην υδροπονική πράξη η αγωγιμότητα χρησιμοποιείται, τόσο κατά τον καθημερινό έλεγχο της κατάστασης του θρεπτικού διαλύματος στον χώρο του ριζικού συστήματος, όσο και για την πιστοποίηση της καταλληλότητας των νέων διαλυμάτων, εξαιτίας της ευκολίας με την οποία προσδιορίζεται.

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με τη θερμοκρασία. Για τις περισσότερες υδροπονικές λαχανοκομικές καλλιέργειες, το άριστο εύρος τιμών της ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο περιβάλλον του ριζικού συστήματος είναι συνήθως $1.5\text{-}3.5 \text{ mS cm}^{-1}$ ενώ για ορισμένα είδη 4 mS cm^{-1} . Στην περίπτωση που η τιμή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας είναι πιο χαμηλά από το κατώτερο όριο, σημαίνει ότι το θρεπτικό διάλυμα είναι ανεπαρκές σε θρεπτικά στοιχεία. Αντίθετα όταν η τιμή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας είναι πολύ πιο ψηλά από το ανώτατο όριο σημαίνει ότι η συνολική περιεκτικότητα του διαλύματος σε άλατα (θρεπτικών στοιχείων και μη) είναι τόσο μεγάλη με αποτέλεσμα τα φυτά να υφίστανται αλατούχο καταπόνηση ανάλογη με αυτή στην οποία είναι εκτεθειμένα όταν καλλιεργούνται σε αλατούχα εδάφη.

1.1.4.2.2. pH θρεπτικού διαλύματος

Το pH του θρεπτικού διαλύματος όπως προαναφέρθηκε είναι άλλη μία βασική παράμετρος που καθορίζει την καταλληλότητα του θρεπτικού διαλύματος. Το pH αποτελεί μέτρο της περιεκτικότητάς του σε ιόντα υδρογόνου, δηλαδή της ενεργού οξύτητάς του. Οι τιμές του pH κυμαίνονται από 0 έως 14 (0-6 όξινο, 7 ουδέτερο, 8-14 αλκαλικό). Η τιμή του pH αναφέρεται επομένως στην οξύτητα ή την αλκαλικότητα του θρεπτικού διαλύματος. Όταν το pH είναι ψηλότερο ή χαμηλότερο από ένα εύρος τιμών που θεωρούνται ως ανώτερα και κατώτερα επιθυμητά όρια, πολλά θρεπτικά στοιχεία καθίστανται δυσδιάλυτα (κυρίως ο P, ο Fe, το Mn σε υψηλό pH). Συνεπώς δυσχεραίνεται η απορρόφησή τους από τα φυτά, ενώ σε άλλα, όπως το Mn και το Al σε χαμηλές τιμές pH, ο ρυθμός απορρόφησής του είναι ταχύτερος συγκριτικά με τους συνήθεις ρυθμούς. Αποτέλεσμα αυτού του φαινομένου να εμφανίζονται διαταραχές στην θρέψη των φυτών. Για τα περισσότερα είδη φυτών, το pH του θρεπτικού διαλύματος στην περιοχή των ριζών θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 5,5 και 6,5 (Σιώμος, 2002).

Το pH του θρεπτικού διαλύματος επηρεάζεται κυρίως από τη θερμοκρασία, την ποσότητα του φωτός, την εξάτμιση, την ποσότητα των θρεπτικών στοιχείων και την καθαρότητα του νερού, το οποίο προστίθεται και για το λόγο αυτό θα πρέπει να γίνεται περιοδικός έλεγχος της τιμής του στο θρεπτικό διάλυμα.

Όπως παρατηρείται οι περισσότερες υδροπονικές καλλιέργειες μπορούν να αναπτυχθούν μέσα σε ένα εύρος pH 5.8 έως 6.8, με άριστη την τιμή 6.3. Ο έλεγχος του pH σε ένα υδροπονικό σύστημα είναι πολύ ευκολότερος από ότι σε καλλιέργεια επί του εδάφους.

1.1.4.3. Υποστρώματα των υδροπονικών καλλιεργειών

Το υπόστρωμα είναι αδρανές υλικό πάνω στο οποίο το φυτό αναπτύσσεται και προσλαμβάνει όλα τα θρεπτικά στοιχεία από το θρεπτικό

διάλυμα που παρέχεται. Πολλά υλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποστρώματα ανάμεσά στα οποία είναι ο πετροβάμβακας, ο περλίτης, ο βερμικουλίτης, το αμμοχάλικο, η άμμος ή ακόμη ο αέρας.

Η καλλιέργεια των φυτών σε υποστρώματα προτιμάται συγκριτικά με την καλλιέργεια σε περιβάλλον ύδατος διότι στην πρώτη περίπτωση εξασφαλίζεται καλύτερη μηχανική στήριξη των φυτών.

Η τοποθέτηση των υποστρωμάτων γίνεται επί υδρορροών ή καναλιών. Το θρεπτικό διάλυμα αποθηκεύεται σε μια δεξαμενή και εφαρμόζεται μέσω του δικτύου υδρολίπανσης στο υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών, συνεπώς αρκετό νερό και θρεπτικά στοιχεία συγκρατούνται στο υπόστρωμα μέχρι την επόμενη εφαρμογή του διαλύματος.

Ως προς την περιεκτικότητα σε οργανική ουσία, τα υποστρώματα μπορούν να διακριθούν σε:

- ο Οργανικά ή χηλίκως ενεργά, αν περιέχουν οργανική ουσία και απελευθερώνουν θρεπτικά ιόντα και σε
- ο Ανόργανα ή αδρανή αν δεν περιέχουν οργανική ουσία και δεν συγκρατούν ούτε απελευθερώνουν ανόργανα ιόντα στο περιεχόμενο σε αυτά θρεπτικό διάλυμα.

Σύμφωνα με το Σιώμο (2002) ένα υπόστρωμα θα πρέπει να έχει τα εξής χαρακτηριστικά για να επιτελεί με τον καλύτερο τρόπο τον ρόλο του στην υδροπονία:

- ✓ Ικανοποιητική αναλογία μεταξύ νερού και αέρα στην κατάσταση της υδατοϊκανότητας ώστε και το μεγαλύτερο μέρος του νερού που συγκρατεί να μπορεί να απορροφάται εύκολα από το ριζικό σύστημα των φυτών και να επιτρέπεται η είσοδος του οξυγόνου που είναι αναγκαίο για την καλή λειτουργία του ριζικού συστήματος.
- ✓ Σταθερή δομή και κατάλληλη πυκνότητα, ώστε να μην αποσυντίθεται εύκολα και να προσφέρει υποστήριξη στις ρίζες των φυτών.
- ✓ Να είναι απαλλαγμένο από παθογόνα, ζωικούς εχθρούς και σπόρους ζιζανίων.

- ✓ Να είναι εύκολο στη χρήση του και γενικά στους καλλιεργητικούς χειρισμούς.
- ✓ Ομοιομορφία στην σύσταση, στην εμφάνιση και στην συμπεριφορά από άποψη θρέψης, ώστε να μπορεί να λειτουργεί ως δεξαμενή νερού και θρεπτικών στοιχείων.
- ✓ Να είναι χημικά αδρανές, δηλαδή να μη συγκρατεί ούτε και να αποδίδει ανόργανα ιόντα στο θρεπτικό διάλυμα. ή εφόσον είναι χημικά ενεργό να διαθέτει μεγάλη εναλλακτική ικανότητα και κατάλληλο pH.
- ✓ Να έχει χαμηλό κόστος.

Ο πετροβάμβακας, ο περλίτης, η ελαφρόπετρα, η άμμος, η διογκωμένη άργιλος, ο βερμικουλίτης και το αμμοχάλικο είναι τα πιο διαδεδομένα υποστρώματα διεθνώς. Ακόμα χρησιμοποιούνται και οργανικά υποστρώματα όπως η τύρφη, η κοκοτύρφη, ενώ έχουν επίσης δοκιμαστεί υποστρώματα όπως το πριονίδι, άχυρο, χαρτοπολτός, αλεσμένοι φλοιοί δένδρων, επεξεργασμένη ιλύς, πλαστικό πολυαιθυλενίου ακόμα και φύκια.

Στην Ελλάδα δεν χρησιμοποιούνται υδροπονικά συστήματα χωρίς υποστρώματα αφενός λόγω υψηλού κόστους εγκατάστασης και αφετέρου εξαιτίας της ευαισθησίας τους στη μετάδοση ασθενειών.

1.1.4.4. Κατάταξη των υδροπονικών συστημάτων

Υπάρχουν πολλά συστήματα με τα οποία εφαρμόζονται υδροπονικές καλλιέργειες. Η κατάταξή τους γίνεται με διάφορα κριτήρια.

- Με βάση την επαναχρησιμοποίηση ή μη του θρεπτικού διαλύματος, δύο είναι οι κατηγορίες υδροπονικών συστημάτων:
 1. Τα Ανοικτά συστήματα
 2. Τα Κλειστά συστήματα

- Με βάση τον τρόπο παροχής του θρεπτικού διαλύματος, υπάρχουν δύο κατηγορίες υδροπονικών συστημάτων:
 - i. Τα παθητικά συστήματα, που περιλαμβάνουν:
 - 1. Το σύστημα φυτιλιού (wick feeding system)
 - 2. Την καλλιέργεια ύδατος (water culture system)
 - ii. Τα ενεργά συστήματα, που περιλαμβάνουν:
 - 1. Το σύστημα N.F.T. (nutrient film technique)
 - 2. Το σύστημα πλημμύρας και στράγγισης ή άμπωτης και ροής (flood and rain or ebb and flow system)
 - 3. Το σύστημα στάγδην εφαρμογής του θρεπτικού διαλύματος (drip feeding control)
 - 4. Την αεροπονία (aeroponics)
- Με βάση τη χρήση ή μη υποστρώματος, υπάρχουν τρεις κατηγορίες υδροπονικών συστημάτων:
 - i. Τα συστήματα με χρήση υποστρώματος, το οποίο μπορεί να είναι ανόργανο ή αδρανές και περιλαμβάνουν:
 - 1. Καλλιέργεια σε άμμο
 - 2. Καλλιέργεια σε χαλίκι
 - 3. Καλλιέργεια σε πετροβάμβακα
 - 4. Καλλιέργεια σε περλίτη
 - 5. Καλλιέργεια σε βερμικουλίτη
 - 6. Καλλιέργεια σε μίγμα περλίτη-βερμικουλίτη
 - 7. Καλλιέργεια σε ελαφρόπετρα
 - 8. Καλλιέργεια σε άργιλο,
 - ii. Τα συστήματα με χρήση υποστρώματος, το οποίο μπορεί να είναι οργανικό ή ενεργό και περιλαμβάνουν:
 - 1. Καλλιέργεια σε τύρφη
 - 2. Καλλιέργεια σε coco soil
 - iii. Τα υγρά συστήματα ή συστήματα συνεχούς ροής που περιλαμβάνουν:
 - 1. Το σύστημα N.F.T. (nutrient film technique)

iv. Το σύστημα αεροπονίας

- Με βάση τον τρόπο συγκράτησης του υποστρώματος, υπάρχουν δύο κατηγορίες υδροπονικών συστημάτων:
 - i. Καλλιέργεια σε σάκους ή σε φυτοδοχεία
 - ii. Καλλιέργεια σε υδρορροή υποστρώματος

1.1.4.4.1. Ανοικτά και κλειστά υδροπονικά συστήματα

Τα ανοικτά και κλειστά υδροπονικά συστήματα αποτελούν τους δύο κύριους τύπους εμπορικών συστημάτων φυτικής παραγωγής (Seymour, 1993).

Τα υδροπονικά συστήματα στα οποία, το απορρέον θρεπτικό διάλυμα από τον χώρο των ριζών μετά την άρδευση, δεν συγκεντρώνεται σε κάποια δεξαμενή ώστε να επαναχρησιμοποιηθεί, αλλά απορροφάται από το έδαφος ή συλλέγεται και απορρίπτεται εκτός του θερμοκηπίου καλείται ανοικτό. Τα συστήματα έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι απλά στην εγκατάστασή τους και το γεγονός αυτό τα καθιστά ευρέως διαδεδομένα. Ένα ακόμα πλεονέκτημα είναι ότι το θρεπτικό διάλυμα που χορηγείται στα φυτά έχει διαρκώς σταθερή σύσταση. Επίσης παρουσιάζουν μικρότερη ευαισθησία στην αλατότητα του χρησιμοποιούμενου νερού καθώς επίσης και στη σύσταση και το είδος του υποστρώματος. Το βασικό μειονέκτημά τους είναι ότι ένα ποσοστό του θρεπτικού διαλύματος, το οποίο μπορεί να ανέλθει ακόμη και στο 15-20 % της χορηγούμενης ποσότητας που προστίθεται με το νερό της άρδευσης, κάθε φορά απορρέει με αποτέλεσμα την οικονομική επιβάρυνση της λειτουργίας του συστήματος. Το γεγονός αυτό όμως ισοσκελίζεται από το μειωμένο κόστος εξοπλισμού. Επιπρόσθετα, αν η απορροή αυτή οδηγηθεί στο έδαφος, προκαλεί ρύπανση του περιβάλλοντος και ιδιαίτερα του υπόγειου υδροφόρου ορίζοντα (Σιώμος, 2002).

Τα υδροπονικά συστήματα στα οποία, το απορρέον θρεπτικό διάλυμα από τον χώρο των ριζών μετά την άρδευση, συγκεντρώνεται ξανά σε δεξαμενή και ανακυκλώνεται, ώστε να επαναχρησιμοποιηθεί καλούνται **κλειστά**. Πλεονέκτημα αυτού του συστήματος είναι η μείωση του κόστους λειτουργίας λόγω μειωμένης κατανάλωσης νερού και λιπασμάτων. Ένα ακόμα πλεονέκτημα είναι ότι δεν ρυπαίνει τόσο το περιβάλλον όσο τα ανοιχτά συστήματα. Στα μειονεκτήματα συγκαταλέγονται η ιδιαίτερη ευαισθησία του συστήματος και ο κίνδυνος εξάπλωσης ασθενειών στην καλλιέργεια. Το υψηλό κόστος επένδυσης, σε εξοπλισμό απολύμανσης του επανακυκλοφορούμενου θρεπτικού διαλύματος αποτελεί περιοριστικό παράγοντα στην εξάπλωση αυτού του τύπου (Αναστασίου και Παπαγεωργίου, 1999).

1.1.4.5. Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα υδροπονίας

Τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει η υδροπονική καλλιέργεια σύμφωνα με τους Nelson (1991), Μαυρογιαννόπουλο (1994), Hanan (1998), Σιώμο (2002) είναι τα εξής:

1. Καλύτερη θρέψη των φυτών, η οποία είναι πιο εύκολο να ελεγχθεί και να διορθωθεί σε περίπτωση λάθους.
2. Αύξηση της απόδοσης των παραγόμενων προϊόντων από 20 έως 50%, συγκριτικά με καλλιέργειες σε έδαφος, λόγω των καλύτερων φυσικοχημικών ιδιοτήτων των υποστρωμάτων, της βελτιστοποίησης της θρέψης και των υψηλότερων θερμοκρασιών στο στρώμα των ριζών.
3. Δυνατότητα εφαρμογής μεγαλύτερων πυκνοτήτων φύτευσης, καθώς και η φύτευση νέας καλλιέργειας άμεσα μετά την απομάκρυνση της προηγούμενης.

4. Βελτίωση της ποιότητας των προϊόντων εξαιτίας του γεγονότος ότι τα φυτά λαμβάνουν θρεπτικά στοιχεία σε ιδανικές ποσότητες και θα αναπτύσσονται σε ελεγχόμενες συνθήκες περιβάλλοντος.
5. Παραγωγή πιο «καθαρών» προϊόντων από χημικής άποψης, αφού δεν είναι απαραίτητη η εφαρμογή πρακτικών όπως η απολύμανση.
6. Εξάλειψη των προβλημάτων που προκαλούν οι ασθένειες του εδάφους (έντομα εδάφους, νηματώδεις, βακτήρια, βερτιτσίλιο, πυρηνochaίτη) στις καλλιέργειες και μείωση της πιθανότητας μόλυνσης από παθογόνους μικροοργανισμούς του εδάφους (πύθιο, φουζάριο, φυτόφθορα).
7. Δυνατότητα καλλιέργειας φυτών σε προβληματικά εδάφη, είτε επειδή μειονεκτούν σε φυσικές ιδιότητες (πολύ συνεκτικά ή πολύ ελαφρά εδάφη ή εδάφη με μικρό ποσοστό οργανικής ουσίας), είτε απουσίας εδάφους (βραχώδεις περιοχές ή έρημοι).
8. Αποφυγή απωλειών νερού και θρεπτικών στοιχείων εξαιτίας της μη ύπαρξης επιφανειακών διαρροών.
9. Εφαρμογή πολλών και χρήσιμων αυτοματισμών, που περιορίζουν την χειρωνακτική εργασία.
10. Συμβολή, ειδικά των κλειστών υδροπονικών συστημάτων, στην προστασία του περιβάλλοντος και ειδικά σε περιοχές όπου τα υπόγεια νερά μολύνονται από την έκπλυση λιπασμάτων, φυτοφαρμάκων και απολυμαντικών μέσων.

Τα μειονεκτήματα που παρουσιάζουν τα υδροπονικά συστήματα σύμφωνα με τους Μαυρογιαννόπουλο (1994), Hanan (1998), Σιώμο (2002) είναι τα εξής:

1. Αυξημένη ακρίβεια κατά τη σύνθεση του θρεπτικού διαλύματος. Απόκλιση της ποσότητας των ιχνοστοιχείων, έστω και μικρή, είναι δυνατό να προκαλέσει σοβαρή πιθανότητα εμφάνισης τοξικότητας ή τροφопενιών.
2. Τα υδροπονικά συστήματα είναι αυξημένης ευαισθησίας. Οποιαδήποτε απόκλιση του pH και της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του θρεπτικού

διαλύματος από τις καθορισμένες τιμές μπορεί να προκαλέσει σοβαρές ζημίες στην καλλιέργεια.

3. Τα κλειστά υδροπονικά συστήματα, είναι πιο ευαίσθητα σε καθολική μόλυνση από ασθένειες, όπως φουζάριο και βερτιτσίλιο, μέσω του ανακυκλούμενου θρεπτικού διαλύματος, έστω κι αν προσβληθεί ένα μόνο φυτό.
4. Το προσωπικό που εφαρμόζει την υδροπονική καλλιέργεια θα πρέπει να είναι πολύ καλά καταρτισμένο και να μπορεί να χειρίζεται τα συστήματα της υδροπονίας. Επίσης θα πρέπει να έχει εξειδικευμένες γνώσεις σχετικά με τη φυσιολογία των φυτών, αφού ο χειρισμός των αυτόματων συστημάτων της ανάμιξης και κυκλοφορίας του θρεπτικού διαλύματος, του ποτίσματος και της ρύθμισης του περιβάλλοντος του θερμοκηπίου είναι σχετικά περίπλοκος.
5. Το αυξημένο κόστος εγκατάστασης και λειτουργίας.

1.1.4.6. Θρέψη υδροπονικών καλλιεργειών

Η λίπανση και η ανόργανη θρέψη των υδροπονικών καλλιεργειών πραγματοποιείται αποκλειστικά μέσω του θρεπτικού διαλύματος που παρέχεται στα φυτά. Είναι γνωστό ότι η σύνθεση του θρεπτικού διαλύματος (σχήμα θρέψης) θα πρέπει να καταστρώνεται για ένα συγκεκριμένο φυτικό είδος, αφού ληφθούν υπόψη το στάδιο ανάπτυξης, η εποχή του έτους, το κλίμα της περιοχής και η ποιότητα του χρησιμοποιούμενου νερού άρδευσης.

Για το λόγο αυτό γίνεται λεπτομερής αναφορά στα θρεπτικά διαλύματα και πιο συγκεκριμένα στη σύνθεση, την Παρασκευή, τους τρόπους χορήγησης καθώς και σε ορισμένα χαρακτηριστικά τους.

1.1.4.6.1. Σύνθεση θρεπτικού διαλύματος

Είναι γνωστό ότι τα ανώτερα φυτά έχουν ανάγκη από 16 χημικά στοιχεία για να αναπτυχθούν και να ολοκληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο. Από αυτά, τα 9 είναι απαραίτητα σε μεγάλες ποσότητες και ονομάζονται μακροστοιχεία (C, O, H, N, P, K, Ca, Mg, S), ενώ τα υπόλοιπα 7 είναι απαραίτητα σε μικρές ποσότητες και ονομάζονται ιχνοστοιχεία (Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, Cl).

Στις υδροπονικές καλλιέργειες χρησιμοποιούνται πλήρη θρεπτικά διαλύματα, δηλαδή υδατικά διαλύματα που περιέχουν όλα τα απαραίτητα ανόργανα θρεπτικά στοιχεία, εκτός από τον άνθρακα, ο οποίος προσλαμβάνεται από την ατμόσφαιρα ως CO₂. Το H και το O είναι συστατικά του νερού, ενώ το O προσλαμβάνεται επίσης και από τον ατμοσφαιρικό αέρα για τις ανάγκες της αναπνοής. Το Cl περιέχεται σχεδόν πάντα στο νερό που χρησιμοποιείται για την Παρασκευή του διαλύματος. Επομένως, μόνο 12 από τα 16 απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία πρέπει να προστίθενται στο νερό για την παρασκευή των θρεπτικών διαλυμάτων (Σάββας, 1998).

Τα 12 αυτά στοιχεία αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και προκύπτουν 144 αλληλεπιδράσεις. Όπως είναι προφανές, είναι αδύνατο να αναφερθούν πλήρως όλες αυτές οι αλληλεπιδράσεις.

Οι μορφές υπό τις οποίες υφίστανται τα θρεπτικά στοιχεία μέσα στα θρεπτικά διαλύματα είναι:

Πίνακας 1. Μορφές υπό τις οποίες υφίστανται τα θρεπτικά στοιχεία στα θρεπτικά διαλύματα.

Μακροστοιχείο	Χημική μορφή	Ιχνοστοιχείο	Χημική μορφή
Άζωτο (N)	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	Σίδηρος (Fe)	Fe ²⁺
Φώσφορος (P)	H ₂ PO ₄ ⁻	Μαγγάνιο (Mn)	Mn ²⁺
Κάλιο (K)	K ⁺	Ψευδάργυρος (Zn)	Zn ²⁺
Ασβέστιο (Ca)	Ca ²⁺	Χαλκός (Cu)	Cu ²⁺
Μαγνήσιο (Mg)	Mg ²⁺	Βόριο (B)	H ₃ BO ₃
Θείο (S)	SO ₄ ²⁻	Μολυβδαίνιο (Mo)	MoO ₄ ²⁻
		Χλώριο (Cl)	Cl ⁻

Πίνακας _. Παράδειγμα σύνθεσης θρεπτικών διαλυμάτων εφαρμογής και απορροής σε ανοικτή υδροπονική καλλιέργεια τομάτας σε πετροβάμβακα (Adams, 2002).

Πίνακας 2. Παράδειγμα σύνθεσης θρεπτικών διαλυμάτων εφαρμογής και απορροής σε ανοικτή υδροπονική καλλιέργεια τομάτας σε πετροβάμβακα (Adams, 2002).

Παράμετροι, Στοιχεία	Μονάδες	Διάλυμα εφαρμογής	Διάλυμα απορροής
EC	mS cm ⁻¹	2,30	3,00
N-NH ₄ ⁺	mmol l ⁻¹	1,25	<0,50
K ⁺	mmol l ⁻¹	8,75	7,00
Ca ²⁺	mmol l ⁻¹	4,25	7,00
Mg ²⁺	mmol l ⁻¹	2,00	3,50
N-NO ₃ ⁻	mmol l ⁻¹	13,75	17,00
S-SO ₄ ²⁻	mmol l ⁻¹	3,75	5,00
P-H ₂ PO ₄ ⁻	mmol l ⁻¹	1,25	0,70
Fe	mmol l ⁻¹	15,00	15,00
Mn	mmol l ⁻¹	10,00	7,00
Zn	mmol l ⁻¹	5,00	7,00
B	mmol l ⁻¹	30,00	50,00
Cu	mmol l ⁻¹	0,75	0,70
Mo	mmol l ⁻¹	0,50	-

1.1.4.6.2. Χρησιμοποιούμενα λιπάσματα

Η προσθήκη των θρεπτικών στοιχείων στο διάλυμα, επιβάλλει την εφαρμογή απλών υδατοδιαλυτών λιπασμάτων και οξέων, ενώ για την κάλυψη των αναγκών σε σίδηρο, χρησιμοποιούνται οργανομεταλλικά σύμπλοκα (χηλικές ενώσεις). Η χρήση των σύνθετων λιπασμάτων καθιστά ανέφικτη την προσαρμογή της θρέψης στα δεδομένα της κάθε καλλιεργητικής συγκυρίας (ποιότητα νερού, στάδιο ανάπτυξης των φυτών, απαιτούμενες αναλογίες μεταξύ των θρεπτικών στοιχείων, κ.λ.π.). Όλα σχεδόν τα λιπάσματα που χρησιμοποιούνται ως πηγές μακροστοιχείων αποτελούνται από δυο ιόντα θρεπτικών στοιχείων (ένα κατιόν και ένα ανιόν). Θα πρέπει να αποφεύγεται η χρήση λιπασμάτων των οποίων μόνο το ένα ιόν είναι θρεπτικό στοιχείο (π.χ. KCl). Αντιθέτως, για τα λιπάσματα ιχνοστοιχείων δεν υφίσταται τέτοιο πρόβλημα, δεδομένου ότι οι ποσότητες που χρησιμοποιούνται είναι πολύ χαμηλές.

Πίνακας 3. Λιπάσματα που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή θρεπτικών διαλυμάτων στις υδροπονικές καλλιέργειες (Sonneveld, 2002; Σάββας, 1998).

Λίπασμα	Χημικός τύπος	Θρεπτικά στοιχεία %	Μοριακό βάρος	Χημικό Ισοδύναμο	Διαλυτότητα (kg/l, 0°C)
Νιτρική Αμμωνία	NH_4NO_3	N: 34,5	80,0	80,0	1,18
Νιτρικό Ασβέστιο	$5[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]\text{NH}_4\text{NO}_3$	N: 15,5 Ca: 19	1080,5	108,05	1,02
Νιτρικό Κάλιο	KNO_3	N: 13 K: 38	101,1	101,1	0,13
Νιτρικό Μαγνήσιο	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Mg: 9 N: 11	256,3	128,1	-
Νιτρικό Οξύ	HNO_3	N: 22	63,0	63,0	-
Φωσφορικό Μονοκάλιο	KH_2PO_4	P: 23 K: 28	136,1	136,1	1,67
Φωσφορικό Οξύ	H_3PO_4	P: 32	98,0	98,0	-
Θειικό Κάλιο	K_2SO_4	K: 45 S: 18	174,3	87,1	0,12
Θειικό Μαγνήσιο	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Mg: 9,7 S: 13	246,3	123,1	0,26
Χηλικός Σίδηρος	Fe-EDDHA	Fe: 5	1118	-	-

Χηλικός Σίδηρος	Fe-EDTA	Fe: 13	430	-	-
Χηλικός Σίδηρος	Fe-DTPA	Fe: 6	932	-	-
Θειικό Μαγγάνιο	MnSO ₄ H ₂ O	Mn: 32	196,0	-	1,05
Θειικός Ψευδάργυρος	ZnSO ₄ 7H ₂ O	Zn: 23	287,5	-	0,62
Θειικός Χαλκός	CuSO ₄ 5H ₂ O	Cu: 25	249,5	-	0,32
Βορικό Οξύ	H ₃ BO ₃	B: 17,5	61,8	-	0,050
Βόρακας (Τετραβορικό Νάτριο)	Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O	B: 11,0	381,2	-	0,016
Solubor (Οκταβορικό Νάτριο)	Na ₂ B ₈ O ₁₃ · 4H ₂ O	B: 20,5	412,4	-	0,045
Επταμολυβδαινικό Αμμώνιο	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	Mo: 58	1163,3	-	0,43
Μολυβδαινικό Νάτριο	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	Mo: 40	241,9	-	0,56

1.1.4.6.3. Περιγραφή των λιπασμάτων που

χρησιμοποιούνται στην υδροπονία

Νιτρική αμμωνία (Ammonium nitrate). Χρησιμοποιείται κυρίως για τη ρύθμιση του pH του θρεπτικού διαλύματος στο χώρο της ριζόσφαιρας. Λόγω του ότι η συγκέντρωση του αμμωνίου στα θρεπτικά διαλύματα θα πρέπει να είναι πολύ χαμηλή (συνήθως < 1 meq/l), προστίθεται σε μικρές ποσότητες. Η προσθήκη της σε μεγάλες ποσότητες θα έχει σαν αποτέλεσμα την έντονη μείωση του pH με αρνητικές συνέπειες στην καλλιέργεια.

Νιτρικό ασβέστιο (Calcium nitrate). Χρησιμοποιείται αποκλειστικά για την προσθήκη ασβεστίου στα θρεπτικά διαλύματα. Από το χημικό του τύπο είναι εμφανές ότι περιέχει και NH₄NO₃ (5%), το οποίο θα πρέπει να συνυπολογίζεται κατά τον υπολογισμό του αμμωνίου που προστίθεται.

Νιτρικό κάλιο (Potassium nitrate). Αποτελεί το κυρίως χρησιμοποιούμενο στην υδροπονία λίπασμα για προσθήκη καλίου.

Νιτρικό μαγνήσιο (Magnesium nitrate). Χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις που απαιτείται η τροφοδότηση των φυτών με μαγνήσιο σε υψηλή συγκέντρωση, ενώ παράλληλα η συγκέντρωση των θειικών πρέπει να διατηρηθεί χαμηλή. Στην περίπτωση αυτή δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μοναδική πηγή μαγνησίου το θειικό μαγνήσιο.

Νιτρικό οξύ (Nitric acid). Είναι υγρό λίπασμα αζώτου και ο κύριος σκοπός της χρησιμοποίησής του είναι η μείωση του pH του θρεπτικού διαλύματος στα επιθυμητά επίπεδα (ήτοι 5,5-6,0). Το νιτρικό οξύ που διατίθεται για γεωργική χρήση έχει καθαρότητα 67%. Η εφαρμογή του θα πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή και να λαμβάνονται τα απαραίτητα μέτρα προστασίας (όπως φερειπείν γάντια, φόρμα εργασίας, μάσκα, γυαλιά).

Φωσφορικό μονοκάλιο (Monopotassium phosphate). Χρησιμοποιείται για την προσθήκη φωσφόρου στο θρεπτικό διάλυμα. Η εφαρμογή του έχει ως αποτέλεσμα τη μικρή μείωση του pH του θρεπτικού διαλύματος λόγω της απελευθέρωσης των ιόντων H_2PO_4^- .

Φωσφορικό οξύ (Phosphoric acid). Είναι το κυριότερο φωσφορικό λίπασμα που χρησιμοποιείται στις υδροπονικές καλλιέργειες λόγω του χαμηλότερου κόστους σε σχέση με το φωσφορικό μονοκάλιο. Το φωσφορικό οξύ που διατίθεται για γεωργική χρήση έχει καθαρότητα 85%. Η εφαρμογή του θα πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή και να λαμβάνονται μέτρα προστασίας (γάντια, φόρμα εργασίας, μάσκα, γυαλιά).

Θειικό κάλιο (Potassium sulfate). Χρησιμοποιείται ως συμπληρωματική πηγή καλίου στις περιπτώσεις που η επιθυμητή συγκέντρωση K^+ στο διάλυμα

δεν μπορεί να καλυφθεί με την προσθήκη νιτρικού καλίου και φωσφορικού μονοκαλίου (η συγκέντρωση NO_3^- και H_2PO_4^- αντίστοιχα, θα ξεπερνούσε το επιθυμητό επίπεδο).

Θεικό μαγνήσιο (Magnesium sulfate). Αποτελεί την κύρια πηγή μαγνησίου στα θρεπτικά διαλύματα. Στην υδροπονία χρησιμοποιείται μόνο το επταϋδρικό θεικό μαγνήσιο (Epsom Salt), το οποίο έχει υψηλή διαλυτότητα. Αντιθέτως, το μονοϋδρικό μαγνήσιο (Κιζερίτης) δεν εφαρμόζεται στην υδροπονία, λόγω της χαμηλής διαλυτότητάς του.

Χηλικός σίδηρος (Iron chelate). Ο σίδηρος είναι το μόνο θρεπτικό στοιχείο που απαιτείται να προστίθεται σε χηλική μορφή (οργανομεταλλικό σύμπλοκο) και όχι σε ανόργανη μορφή. Ο βασικός λόγος είναι η ιδιαιτερότητα που έχει ο ανόργανος σίδηρος να μην είναι αφομοιώσιμος για τα φυτά στα θρεπτικά διαλύματα. Τα ιόντα του δισθενούς σιδήρου (Fe^{2+}) αρχίζουν να καταβυθίζονται σαν $\text{Fe}(\text{OH})_2$ μόνο όταν το pH γίνει ουδέτερο. Αντιθέτως, η διαθεσιμότητα των ιόντων του τρισθενούς σιδήρου (Fe^{3+}) είναι σχεδόν μηδενική ήδη σε πιο χαμηλές τιμές pH (4,5-5,0) δεδομένου ότι ο Fe^{3+} σε τιμές $\text{pH} > 3$ αρχίζει να καταβυθίζεται σε μορφή αδιάλυτου $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Η αναλογία ιόντων $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ εξαρτάται από το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του διαλύματος σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση (Mengel, 1984):

$$E = 0,77 + 0,59 \cdot \log[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$$

όπου E = οξειδοαναγωγικό δυναμικό σε mV.

Συνήθως, όμως, στα θρεπτικά διαλύματα το οξειδοαναγωγικό δυναμικό παίρνει υψηλές τιμές και αυτό έχει σαν συνέπεια τη χαμηλή συγκέντρωση Fe^{2+} . Το αποτέλεσμα θα είναι η εμφάνιση τροφопενίας σιδήρου στα φυτά ακόμη και εάν προστίθενται σημαντικές ποσότητες ανόργανου σιδήρου στο διάλυμα. Η κατάσταση αυτή αντιμετωπίζεται με την προσθήκη ενώσεων χηλικού σιδήρου. Τα οργανομεταλλικά σύμπλοκα απορροφώνται από τα φυτά σε μοριακή μορφή (δηλαδή προσλαμβάνεται ολόκληρο το χηλικό μόριο

μαζί με το σίδηρο) από τις κορυφές των ριζιδίων. Μετά την απορρόφησή του από τη ρίζα, το χηλικό μόριο εισέρχεται στο μεταβολισμό του φυτού κι έτσι ο σίδηρος απελευθερώνεται και αξιοποιείται από το φυτό (Σάββας, 1998).

Θειικό μαγγάνιο (Manganese sulfate). Στην υδροπονία χρησιμοποιείται το μονοϋδρικό θειικό μαγγάνιο λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητάς του σε καθαρό μαγγάνιο (32%). Στην υδροπονία δεν συνιστάται η χρήση χηλικού μαγγανίου λόγω του ότι έχει μεγαλύτερο κόστος χωρίς να προσφέρει κανένα πλεονέκτημα.

Θειικός ψευδάργυρος (Zinc sulfate). Στην υδροπονία χρησιμοποιείται ο επταϋδρικός θειικός ψευδάργυρος λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητάς του σε καθαρό ψευδάργυρο (23%).

Θειικός χαλκός (Copper sulfate). Στην υδροπονία χρησιμοποιείται ο επταϋδρικός θειικός χαλκός.

Βόρακας (Borax). Ο βόρακας είναι τετραβορικό άλας του νατρίου και χρησιμοποιείται συχνά σαν πηγή βορίου στα θρεπτικά διαλύματα.

Solubor. Είναι πιο ευδιάλυτο από το βόρακα και έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε καθαρό βόριο.

Επταμολυβδαινικό αμμώνιο (Ammonium molybdate). Είναι το ένα από τα δύο υδατοδιαλυτά λιπάσματα μολυβδαίνιου και η περιεκτικότητά του σε καθαρό μολυβδαίνιο είναι πολύ υψηλή (54%).

Μολυβδαινικό νάτριο (Sodium molybdate). Χρησιμοποιείται και αυτό στην υδροπονία και έχει επίσης υψηλή περιεκτικότητα σε καθαρό μολυβδαίνιο (40%).

1.1.4.6.4. Αρχές σύνθεσης θρεπτικών διαλυμάτων

Η κατάρτιση της σύνθεσης ενός θρεπτικού διαλύματος θα πρέπει να βασίζεται στις εξής αρχές:

- Προσαρμογή στα χαρακτηριστικά της συγκεκριμένης καλλιέργειας (είδος του καλλιεργούμενου φυτού, στάδιο ανάπτυξης, καιρικές συνθήκες που επικρατούν, υπόστρωμα καλλιέργειας).
- Προσαρμογή στην ποιότητα του χρησιμοποιούμενου νερού.
- Η ηλεκτρική αγωγιμότητα και το pH θα πρέπει να κυμαίνονται σε συγκεκριμένα όρια.
- Η απόλυτη συγκέντρωση κάθε θρεπτικού μακροστοιχείου στα διάλυμα δεν είναι τόσο σημαντική όσο οι αμοιβαίες αναλογίες μεταξύ συγκεκριμένων.

Οι συνθέσεις των θρεπτικών διαλυμάτων που αναφέρονται σε διάφορες βιβλιογραφικές πηγές ονομάζονται βασικές συνθέσεις. Οι συνθέσεις αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν αυτούσιες μόνο στην περίπτωση που το χρησιμοποιούμενο νερό είναι απιονισμένο ή βρόχινο (πρακτικά μηδενική συγκέντρωση αλάτων). Όμως, τα περισσότερα νερά που χρησιμοποιούνται στις υδροπονικές μονάδες, προέρχονται από γεωτρήσεις (υπόγεια νερά), ποτάμια (επιφανειακά νερά), φυσικές πηγές, κλπ. Η κίνηση του νερού μέσα στα πετρώματα προκαλεί τη φυσική και χημική αποσάρθρωσή τους με διαδικασίες όπως η υδρόλυση, η διάλυση, η οξεόλυση και η οξειδωση. Παράλληλα, δεν θα πρέπει να αγνοηθεί και η μόλυνση των υδάτων από διάφορους εξωγενείς παράγοντες όπως φερειπείν λιπάσματα, απόβλητα, κλπ. Όλα αυτά έχουν σαν αποτέλεσμα, το νερό άρδευσης να περιέχει σημαντικές ποσότητες ανόργανων ιόντων.

Τα κυριότερα άλατα νερού άρδευσης είναι τα ανθρακικά, χλωριούχα, διττανθρακικά, θειικά και νιτρικά των κατιόντων ασβεστίου, μαγνησίου, νατρίου και καλίου. Γι' αυτό το λόγο από τις ποσότητες των θρεπτικών στοιχείων που θα έπρεπε να προστεθούν σε απιονισμένο νερό, θα πρέπει να αφαιρούνται οι ποσότητες των θρεπτικών στοιχείων που περιέχονται στο νερό άρδευσης. Οι τελικές συνθέσεις που προκύπτουν μετά την προσαρμογή

στα δεδομένα της συγκεκριμένης καλλιέργειας λέγονται τροποποιημένες συνθέσεις.

1.1.4.6.5. Σύνθεση θρεπτικού διαλύματος

Για να δημιουργηθεί η σύνθεση ενός διαλύματος για ένα συγκεκριμένο φυτικό είδος και για δεδομένες συνθήκες καλλιέργειας, θα πρέπει να είναι γνωστά ορισμένα αρχικά δεδομένα. Τα δεδομένα αυτά είναι τα εξής:

- Οι αμοιβαίες αναλογίες συγκεντρώσεων (συνήθως σε meq/l) μεταξύ των μακροστοιχείων: K:Ca:Mg και N:K στο θρεπτικό διάλυμα.
- Οι επιθυμητές συγκεντρώσεις των μακροστοιχείων: K, Ca, Mg, H_2PO_4 , SO_4 .
- Το pH του θρεπτικού διαλύματος.
- Η συγκέντρωση των ιόντων NH_4^+ (μεταβάλλεται ανάλογα με την ανθεκτικότητα του φυτού και τις διακυμάνσεις του pH στη ριζόσφαιρα).
- Η συνολική συγκέντρωση αλάτων στο θρεπτικό διάλυμα (σε meq/l) η οποία αντιστοιχεί σε μια συγκεκριμένη τιμή ηλεκτρικής αγωγιμότητας.
- Οι επιθυμητές συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων: Fe, Mn, Zn, Cu, B και Mo (σε $\mu\text{mol/l}$).

1.1.4.6.5.1. Αναλογίες μακροστοιχείων

Παράλληλα με τη συνολική συγκέντρωση των αλάτων στο θρεπτικό διάλυμα, είναι σημαντική η διατήρηση συγκεκριμένων αναλογιών μεταξύ των θρεπτικών στοιχείων. Σε μια δεδομένη αγωγιμότητα, η υψηλή συγκέντρωση ενός μακροστοιχείου έχει σαν αποτέλεσμα τη χαμηλότερη συγκέντρωση κάποιου άλλου. Τέτοιες ανισορροπίες είναι πολύ πιθανόν να επιφέρουν θρεπτικές διαταραχές στις καλλιέργειες. Γι' αυτό το λόγο οι αναλογίες μεταξύ των μακροστοιχείων θα πρέπει να προσαρμόζονται με

μεγάλη προσοχή στις απαιτήσεις της καλλιέργειας, ενώ την ίδια στιγμή θα πρέπει να παρακολουθείται η ισορροπία τους στη ζώνη της ριζόσφαιρας (Sonneveld, 2002). Συμπερασματικά, κατά την παρασκευή των θρεπτικών διαλυμάτων για κάθε καλλιέργεια, θα πρέπει να δίνονται ειδικές συστάσεις σε σχέση με τις εφαρμοζόμενες αναλογίες K:Ca:Mg και N:K στο θρεπτικό διάλυμα.

1.1.4.6.5.2. Ο ρόλος του pH του θρεπτικού

διαλύματος-παράγοντες που το επηρεάζουν

Στις υδροπονικές καλλιέργειες το άριστο pH του θρεπτικού διαλύματος στο χώρο της ριζόσφαιρας κυμαίνεται μεταξύ 5 και 6 για τα περισσότερα φυτικά είδη. Υψηλότερα επίπεδα από το 6 μπορεί να επιφέρουν εμφράξεις στο αρδευτικό σύστημα από την καθίζηση των δυσδιάλυτων αλάτων (κυρίως αλάτων φωσφορικού ασβεστίου). Χαμηλότερα επίπεδα pH είναι πιθανόν να καταστρέψουν τη δομή του υποστρώματος όπως στην περίπτωση του πετροβάμβακα. Παράλληλα, στις καλλιέργειες αυτές, εφόσον οι ρίζες των φυτών αναπτύσσονται σε περιορισμένο όγκο, οι αλλαγές του pH μπορεί να είναι γρήγορες εμφανίζοντας έντονη διακύμανση κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, εξαιτίας της μικρής ικανότητας ρύθμισης του pH του θρεπτικού διαλύματος. Επομένως οι αδέξιοι χειρισμοί μπορούν να καταστρέψουν ταχύτατα την καλλιέργεια (Lea-Cox et al., 1996; Sonneveld, 2002). Επιπρόσθετα, το pH του θρεπτικού διαλύματος στο χώρο της ριζόσφαιρας αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες ρύθμισης της απορρόφησης θρεπτικών στοιχείων και ιδιαίτερα των ιχνοστοιχείων από τα φυτά. Οι αλλαγές του pH εντείνονται από την αναλογία απορρόφησης μεταξύ κατιόντων και ανιόντων, αλλά επηρεάζονται ισχυρά από το pH του θρεπτικού διαλύματος εφαρμογής (Adams, 2002).

Συνοπτικά, οι συστάσεις για τη ρύθμιση του pH στο χώρο της ριζόσφαιρας εντοπίζονται στα παρακάτω (Sonneveld, 1993):

I. Όταν το pH είναι σε υψηλά επίπεδα συνιστώνται:

- Μείωση του pH του θρεπτικού διαλύματος, αλλά όχι κάτω από 5,0.
- Συμπληρωματική εφαρμογή NH_4 σε ποσότητες που να μην ξεπερνούν το 10-20% του συνολικού N (ανάλογα με το καλλιεργούμενο είδος).

II. Όταν το pH είναι σε χαμηλά επίπεδα συνιστώνται:

- Αύξηση του pH του θρεπτικού διαλύματος, αλλά όχι πάνω από 6,2.
- Μείωση της εφαρμογής NH_4 .
- Προσθήκη KHCO_3 .

Παρακάτω αναφέρεται αναλυτικά η επίδραση του αμμωνιακού αζώτου στη συμπληρωματική ρύθμιση και διατήρηση του pH στα επιθυμητά επίπεδα.

Η ποσότητα του οξέος που μπορεί να προστεθεί στο θρεπτικό διάλυμα θα πρέπει να περιορίζεται λόγω του ότι η ικανότητα ρύθμισης του pH καθορίζεται λιγότερο ή περισσότερο μεμονωμένα από το επίπεδο του P. Σε συγκεντρώσεις P από 1,0-1,5 mmol l^{-1} που είναι χαρακτηριστικές για τα περισσότερα θρεπτικά διαλύματα, η αλλαγή του pH από το 5 στο 6 και το αντίθετο, χρειάζεται μόνο 0,10-0,15 mmol l^{-1} OH ή H_3O αντίστοιχα, επειδή σ' αυτό το εύρος του pH μόνο το 10% του P μετατρέπεται από H_2PO_4 σε HPO_4 (Steiner, 1966). Στα κλειστά συστήματα η ποσότητα H_3O που είναι απαραίτητη για τον έλεγχο της διαφορετικής απορρόφησης μεταξύ των κατιόντων και των ανιόντων, μπορεί να είναι μεγαλύτερη από 2 mmol l^{-1} (Voogt και Sonneveld, 1997).

Αλλάζοντας την αναλογία NH_4 και NO_3 κατά την εφαρμογή του N, προσφέρεται μια εξαιρετική δυνατότητα ελέγχου της σχετικής απορρόφησης ανιόντων και κατιόντων καθώς και του pH. Ποσότητα $\text{NH}_4\text{-N}$ γύρω στο 10% του ολικού N θεωρείται επαρκής για τη ρύθμιση του pH στο χώρο της ριζόσφαιρας για τις περισσότερες καλλιέργειες, ενώ οι επιθυμητές συγκεντρώσεις NH_4 στο θρεπτικό διάλυμα κυμαίνονται γύρω στο 1,00-1,25

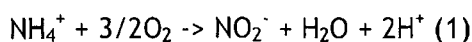
mmol l⁻¹ (Sonneveld, 2002). Κατά την περίοδο ανάπτυξης των φυτών η συγκέντρωση του NH₄ ρυθμίζεται ανάλογα με τα αποτελέσματα μέτρησης του pH στο χώρο της ριζόσφαιρας. Οι αναλογίες NH₄: ολικό N για έναν καλό έλεγχο του pH σπάνια ξεπερνούν το 0,15.

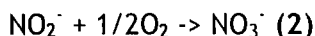
Τα NO₃ και NH₄ μπορεί να προκαλέσουν ανεπιθύμητα μεγάλες αλλαγές στο pH, ιδιαίτερα κοντά στην επιφάνεια των ριζών, επηρεάζοντας έτσι την απορρόφηση ή μη ορισμένων στοιχείων, ή κάποιες λειτουργίες στην επιφάνεια των ριζών.

Τα διαλύματα που βασίζονται στο NO₃-N τείνουν στο να γίνουν περισσότερο αλκαλικά σε επαφή με τα φυτά, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να παρουσιασθεί έλλειψη σιδήρου ειδικά σε υδροπονικές καλλιέργειες. Η αύξηση του pH, οφείλεται στη διαφορετική απορρόφηση των NO₃ και των κύριων κατιόντων. Τα κατιόντα αυτά (εκτός των NH₄) απορροφώνται πιο αργά και το pH αυξάνει. Η απορρόφηση των NO₃⁻ διευκολύνεται κάτω από ελαφρώς όξινες συνθήκες (σε pH που κυμαίνεται από 4,5-6), ή είναι ανεξάρτητη του pH, ενώ αντίθετα η απορρόφηση του NH₄-N συμβαίνει γρηγορότερα σε επίπεδα pH κάπως μεγαλύτερα (6-7). (Naftel, 1931).

Η απορρόφηση του N σε μορφή κατιόντος (NH₄⁺) έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της συνολικής απορρόφησης ανιόντων, η οποία εξισορροπείται με αποβολή H⁺ από τα κύτταρα των ριζών (Kirkby και Knight, 1977; Lea-Cox et al., 1996). Το αποτέλεσμα θα είναι η πτώση του pH στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας σε ανεπιθύμητα επίπεδα για τα περισσότερα φυτικά είδη (Breteler, 1973; Ikeda και Osawa, 1981; Stensvand και Gislerod, 1992). Η παρουσία του NH₄ στο περιβάλλον των ριζών, μπορεί ακόμη να μειώσει το pH λόγω της απελευθέρωσης H⁺ που δημιουργούνται κατά τη διαδικασία της νιτροποίησης κατά την οξείδωση των NH₄⁺ σε NO₂⁻ μέσω των βακτηρίων *Nitrosomonas* sp. και αρκετών άλλων γενών νιτροποιητικών βακτηρίων (Bolan et al., 1991).

Τα NH₄⁺ που υπάρχουν μέσα στο θρεπτικό διάλυμα νιτροποιούνται ταχύτατα εξαιτίας της δράσης των βακτηρίων σύμφωνα με τις αντιδράσεις:





Η αντίδραση 1 που οφείλεται στη δράση του *Nitrosomonas*, έχει δύο συνέπειες: πρώτον την κατανάλωση οξυγόνου που υπάρχει μέσα στο διάλυμα και δεύτερον την παραγωγή Η και κατά συνέπεια την πτώση του pH. Αν η κατανάλωση οξυγόνου είναι μεγάλη, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την αναπνοή των ριζών. Η ένταση των προβλημάτων αυτών καθίσταται τόσο μεγαλύτερη όσο αυξάνει η συγκέντρωση NH_4 στο θρεπτικό διάλυμα. Η μείωση του pH αποτελεί πρόβλημα μόνο όταν η συγκέντρωση του NH_4^+ στο χώρο των ριζών είναι τόσο υψηλή, ώστε το pH στο χώρο αυτό να λαμβάνει τιμές χαμηλότερες του 5. Στη συγκριμένη περίπτωση προκαλούνται διαταραχές θρέψης που σχετίζονται με το υπερβολικά χαμηλό pH (τοξικότητες Al, Mn, κλπ). Αντιθέτως, μια μικρή ποσότητα NH_4^+ της τάξης των 0,5-1,5 meq/l θα ήταν χρήσιμο να υπάρχει στο θρεπτικό διάλυμα, δεδομένου ότι έτσι επιτυγχάνεται ευκολότερα η συγκράτηση του pH του διαλύματος στο χώρο των ριζών σε τιμές χαμηλότερες από 6,0-6,5 (το pH στο χώρο των ριζών τείνει να αυξάνει εξαιτίας της απελευθέρωσης HCO_3^-) (Sonneveld, 2002).

Η νιτροποίηση των NH_4^+ στην περιοχή των ριζών συντελείται βαθμιαία με συνέπεια να απελευθερώνονται συνεχώς H^+ . Η συνεχής απελευθέρωση H^+ που γίνεται μέσω της νιτροποίησης των NH_4^+ δρα αντίστροφα προς την επίσης συνεχή απελευθέρωση HCO_3^- από τις ρίζες. Επομένως, η τιμή του pH του διαλύματος στο χώρο των ριζών συγκρατείται καλύτερα μέσα στα επιθυμητά όρια, χωρίς έντονες διακυμάνσεις που συνοδεύουν την περιοδική χορήγηση σημαντικών ποσοτήτων οξέος.

Με την εφαρμογή χαμηλών συγκεντρώσεων $\text{NH}_4\text{-N}$, οι οποίες είναι απαραίτητες για τον έλεγχο του pH στις υδροπονικές καλλιέργειες, οι αποδόσεις συχνά αυξάνονται. Η αύξηση της παραγωγής ερμηνεύεται σαν αποτέλεσμα μείωσης της χλώρωσης των φύλλων που οφείλεται στο χαμηλότερο pH στο χώρο της ριζόσφαιρας, συνέπεια της προσθήκης $\text{NH}_4\text{-N}$. Η παρατήρηση αυτή εντοπίζεται ιδιαίτερα στα φυτά που είναι ευαίσθητα στη

χλώρωση όπως φερειπείν η αγγουριά, η ζέρμπερα και η τριανταφυλλιά (Sonneveld, 2002). Τα άριστα επίπεδα του pH των θρεπτικών διαλυμάτων, είναι πολλαπλάσια για διαφορετικά είδη φυτών σε σχέση με τον εφαρμοζόμενο τύπο του N.

1.1.4.6.5.3. Συνολική συγκέντρωση αλάτων -

Αγωγιμότητα-Ηλεκτρική αγωγιμότητα

(Electrical Conductivity, EC)

Είναι μια παράμετρος που εκφράζει την ικανότητα ενός υδατικού διαλύματος να άγει το ηλεκτρικό ρεύμα γεγονός το οποίος οφείλεται στην παρουσία ιόντων. Όσο πιο πολλά ιόντα είναι διαλυμένα στο νερό τόσο μεγαλύτερη η ικανότητά του να άγει το ηλεκτρικό ρεύμα. Επομένως, η EC είναι ανάλογη της συνολικής συγκέντρωσης ιόντων στο διάλυμα. Η μέτρησή της με τη βοήθεια εύχρηστων, φορητών οργάνων χρησιμοποιείται ευρύτατα για τον γρήγορο προσδιορισμό της συνολικής συγκέντρωσης αλάτων σε θρεπτικά διαλύματα.

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα μετρείται σε mS cm^{-1} ($1 \text{ mS cm}^{-1} = 1 \text{ dS m}^{-1} = 1 \text{ }\mu\text{S cm}^{-1}$).

Η EC δεν μας δίνει πληροφορίες για το είδος των ιόντων (K^+ , Na^+ , SO_4^{2-} , κλπ.) που περιέχονται στο υδατικό διάλυμα.

Η τιμή της θα πρέπει να κυμαίνεται σε συγκεκριμένα όρια σε σχέση με το είδος της καλλιέργειας, το στάδιο ανάπτυξης και τις καιρικές συνθήκες που επικρατούν. Στις περισσότερες περιπτώσεις η συνιστώμενη συνολική συγκέντρωση αλάτων κυμαίνεται μεταξύ 20-40 meq/l, ενώ αντίστοιχα η αγωγιμότητα κυμαίνεται μεταξύ 1,8-3,6 mS/cm (Σάββας, 1998). Στην περίπτωση που η αγωγιμότητα διατηρείται σε υψηλά επίπεδα, το νερό στην περιοχή της ριζόσφαιρας δεν είναι διαθέσιμο λόγω του χαμηλού υδατικού δυναμικού με αποτέλεσμα τη δυσχέρεια πρόσληψής του από το περιβάλλον

του υποστρώματος (Schnitzler και Gruda, 2002). Επομένως, κάτω από συνθήκες αλατούχου stress, ο αποκλεισμός των αλάτων από τα μεταβολικά στα ενεργά φύλλα και τις κορυφές αύξησης και η συνεπακόλουθη ωσμωτική προσαρμογή των κυττάρων επιβάλλουν στα φυτά ένα σημαντικά δυσμενέστερο ενεργειακό ισοζύγιο με αποτέλεσμα αυτά να παρουσιάζουν χαμηλότερους ρυθμούς αύξησης (Καραμπουρνιώτης, 2003). Τα καλλιεργούμενα φυτά που αντιμετωπίζουν με αυτόν τον τρόπο αλατότητα, αντιδρούν με πτώση της παραγωγής σε βαθμό ανάλογο με την αύξηση της αλατότητας πάνω από ένα όριο. Παράλληλα, δεν θα πρέπει να αγνοηθεί το γεγονός ότι η υψηλή αλατότητα είναι και υπεύθυνη για τη μείωση της απορρόφησης του Ca, η οποία οφείλεται σε άμεσο ωσμωτικό stress στη διαδικασία απορρόφησης, ή στη μειωμένη ανάπτυξη της ρίζας (Ehret και Ho, 1986) ή στην έμμεση επίδραση της αλατότητας στη διαπνοή λόγω της μείωσης του μεγέθους των φύλλων (Abd-Alla et al., 1993).

Από την άλλη πλευρά, σε ορισμένες καλλιέργειες η εφαρμογή θρεπτικών διαλυμάτων με αγωγιμότητα σε ελαφρώς υψηλότερα επίπεδα από τα όρια ανοχής του κάθε φυτού, εφαρμόζεται για τη βελτίωση της ποιότητας. Στις περιπτώσεις αυτές, η μικρή μείωση της παραγωγής αντισταθμίζεται από την καλύτερη ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων. Η χρήση του NaCl, σα μέσο αύξησης της αλατότητας, στις υδροπονικές καλλιέργειες τομάτας είναι πλέον συνήθης πρακτική σε ορισμένες χώρες όπως η Αγγλία και η Ιταλία, ενώ δεν συνιστάται στις καλλιέργειες αγγουριάς λόγω της ευαισθησίας των στην υψηλή αλατότητα (Schnitzler και Gruda, 2002).

1.1.5. ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

1.1.5.1. ΜΥΚΟΡΡΙΖΕΣ

1.1.5.1.1. Γενικά περί μυκορριζών

Ο όρος μυκόρριζα διατυπώθηκε για πρώτη φορά από τον Γερμανό Βοτανικό Frank το 1885 και χαρακτηρίζει μια συμβίωση μεταξύ φυτών και μυκήτων. Ο όρος "μυκόρριζα" χρησιμοποιείται για να περιγράφει τις ιδιαίτερα αλληλοεξαρτώμενες σχέσεις, στις οποίες σε γενικές γραμμές ο μύκητας παρέχει στα φυτά - ξενιστές, ανόργανα συστατικά (π.χ. φώσφορο, άζωτο) καθώς και πιο πολύπλοκες οργανικές ενώσεις που συνθέτει ο ίδιος (π.χ. φυτορμόνες) και σε αντάλλαγμα παίρνει από αυτά υδατάνθρακες (Harley & Smith, 1983). Στις συμβιώσεις αυτές, αλληλεπιδρούν τα φυτά - ξενιστές, οι συμβιωτικοί μύκητες και οι εδαφολογικοί παράγοντες. Ο μύκητας αποτελεί δηλαδή ένα είδος μεσάζοντα μεταξύ φυτού και εδάφους.

Ο σχηματισμός μυκορριζών είναι φαινόμενο πολύ διαδεδομένο σε όλες τις φυτοκοινότητες της γης και δημιουργείται στις ρίζες πάνω σε ποσοστό πάνω από τα δύο τρίτα των φυτικών ειδών (Fitter & Moyersoen, 1996). Παλαιοντολογικά ευρήματα δείχνουν ότι μυκόρριζες σχημάτιζαν και τα πρώτα φυτικά είδη τα οποία εμφανίστηκαν στην γη. Τέλος, πολλά είδη αυτότροφων οργανισμών, που δεν σχηματίζουν ριζικά τριχίδια ή και ρίζες, μπορούν να υπάρχουν σε ορισμένες περιοχές λόγω της ικανότητας δημιουργίας μυκορριζών (Fitter, 2005).

1.1.5.1.2. Ο ρόλος των μυκορριζών

Οι μυκόρριζες τροφοδοτούν τα φυτά με ανόργανες ύλες από το έδαφος, οι οποίες σε διαφορετική περίπτωση δεν θα είχαν προσληφθεί. Οι υφές των μυκορριζικών μυκήτων έχουν τη δυνατότητα να αυξάνουν την απορροφητική

επιφάνεια της ρίζας. Για παράδειγμα, οι Rousseau, Sylvia και Fox (1994) βρήκαν ότι παρόλο που οι εδαφικές υφές ήταν λιγότερες από το 20% της συνολικής μάζας της απορροφητικής επιφάνειας, συνεισφέρανε σχεδόν 80% στην απορροφητική) επιφάνεια των νεαρών σπορόφυτων κωνοφόρων. Όμως, για να είναι η μυκόρριζα αποτελεσματική στην πρόσληψη θρεπτικών, οι υφές θα πρέπει να κατανέμονται πέρα από τη στερητική ζώνη θρεπτικών που δημιουργείται γύρω από τη ρίζα. Η στερητική ζώνη θρεπτικών αναπτύσσεται όταν τα θρεπτικά συστατικά αφαιρούνται από το εδαφικό διάλυμα γρηγορότερα απ' ό,τι προστίθενται στο μέσο διάχυσης. Για ένα ιόν με μικρή κινητικότητα, όπως το φωσφορικό, μία οξεία και στενή στερητική ζώνη αναπτύσσεται γύρω και κοντά στη ρίζα. Οι υφές μπορούν να γεφυρώσουν αυτή τη στερητική ζώνη και να αναπτύσσονται σε έδαφος με ικανοποιητικά αποθέματα φωσφόρου.

Το δίκτυο των ιστών του μύκητα συγκρατεί με τέτοιο τρόπο το έδαφος, ώστε να εξασφαλίζεται περισσότερη υγρασία, ενώ εμποδίζει την διάβρωση του εδάφους και την ερημοποίηση του σε ξηρά κλίματα. Επίσης, στα οφέλη των μυκορριζών μπορούν να συμπεριληφθούν η αύξηση της παραγωγής καθώς και η βελτίωση της ικανότητας συσσώρευσης θρεπτικών στοιχείων στην περιοχή της ρίζας. Η πρόσληψη μικροστοιχείων, όπως ο ψευδάργυρος και ο χαλκός, βελτιώνεται από την παρουσία των μυκορριζών, διότι για αυτά τα στοιχεία η πρόσληψη από τη ρίζα επίσης περιορίζεται λόγω περιορισμένης διάχυσης. Για στοιχεία με μεγαλύτερη κινητικότητα, όπως τα νιτρικά, η στερητική ζώνη είναι πλατιά και είναι λιγότερο πιθανό οι υφές να αναπτυχθούν εκτενώς στη ζώνη που δεν επηρεάζεται μόνο από τη ρίζα.

Ένα άλλο προτέρημα που αποδίδεται στους μυκορριζικούς μύκητες είναι πρόσβαση σε δεξαμενές φωσφόρου που δεν είναι εύκολα διαθέσιμες στα φυτά. Ένας μηχανισμός για αυτή την πρόσβαση είναι η φυσικοχημική απελευθέρωση ή δέσμευση ανόργανων και οργανικών μορφών φωσφόρου μέσω οργανικών οξέων. Κάποιοι εκτομυκορριζικοί μύκητες έχουν βρεθεί ότι παράγουν μεγάλες ποσότητες οξαλικού οξέως και αυτό μπορεί τουλάχιστον μερικώς να εξηγήσει την επαυξημένη πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών από εκτομυκορριζικές ρίζες. Ένας δεύτερος μηχανισμός με τον οποίο οι

μυκορριζικοί μύκητες απελευθερώνουν ανόργανο φώσφορο, είναι μέσω ανοργανοποίησης της οργανικής ουσίας. Αυτό συμβαίνει με υδρόλυση μέσω φωσφατάσης των εστερικών δεσμών των οργανικών φωσφορικών (C-O-P).

Οι μυκορριζικοί μύκητες, επίσης, συμβάλλουν στην αποθήκευση του άνθρακα στο έδαφος, ενώ οι υφές τους αποτελούν αγωγούς, μέσω των οποίων ο άνθρακας μεταφέρεται από τις ρίζες των φυτών στους μικροοργανισμούς του εδάφους που είναι υπεύθυνοι για την αποσύνθεση.

Τέλος οι μυκορριζες μπορούν να συμβάλλουν στην αναδάσωση περιοχών που είναι εχθρικές στα φυτά, όπως εδάφη που έχουν διαβρωθεί σοβαρά ή έχουν υψηλό επίπεδο αλατότητας, λόγω της ικανότητας πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων.

1.1.5.1.3. Τύποι μυκορριζών

Έχουν αναγνωρισθεί διαφορετικοί τύποι μυκορριζικών αποικιών με βάση τη μορφολογία τους, στους οποίους περιλαμβάνονται διαφορετικές ομάδες μυκήτων και φυτών ξενιστών. Σύμφωνα με τον Read (1998) οι μυκορριζες διακρίνονται σε:

1.1.5.1.3.1. Εκτομυκορριζες

Οι εκτομυκορριζες απαντούν σε μικρό σχετικά αριθμό φυτών, κυρίως δασικών και σχηματίζονται στις ρίζες δέντρων από έναν βασιδιομύκητα ή ασκομύκητα. Η ύπαρξή τους είναι απαραίτητη για την εγκατάσταση και την επιβίωση δασικών δενδρυλλίων, ιδιαίτερα των κωνοφόρων. Αρχικά, ο μύκητας που υποβοηθείται από τις εκκρίσεις των ριζών, σχηματίζει ένα είδος μανδύα ο οποίος περιβάλλει τα λεπτά ριζίδια. Ο μανδύας διαφέρει πολύ σε πυκνότητα, χρώμα, και υφή, ανάλογα με τον ιδιαίτερο συνδυασμό μύκητα-φυτού. Ο μανδύας αυξάνει την απορροφητική επιφάνεια των ριζών και συχνά η μορφολογία των ριζιδίων επηρεάζεται, με αποτέλεσμα το

σχηματισμό δικάλας και συσσωμάτωσης. Σε συνέχεια του μανδύα υπάρχουν δέσμες υφών που επεκτείνονται στο έδαφος. Συχνά, οι δέσμες υφών συγκεντρώνονται για να σχηματίσουν ριζόμορφα, τα οποία είναι φανερά δια γυμνού οφθαλμού. Οι υφές ενζυματικά εισέρχονται μέσα στους μεσοκυττάριους χώρους και σχηματίζουν γύρω από τα κύτταρα της επιδερμίδας και του φλοιού ένα είδος πλέγματος, που είναι γνωστό ως πλέγμα του Hartig από τον Robert Hartig που θεωρείται ο ιδρυτής της δασικής βιολογίας. Το πλέγμα αυτό είναι και το κύριο γνώρισμα αυτού του είδους της μυκόρριζας. Οι αυξίνες που παράγονται από τις ρίζες και το μύκητα προκαλούν αύξηση του μεγέθους των κυττάρων των ριζίδων.

Οι εκτομυκόρριζες απαντώνται σε δασικά είδη, από θάμνους μέχρι δένδρα. Πολλά από τα φυτά - ξενιστές ανήκουν στις οικογένειες Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae, και Myrtaceae. Πάνω από 4000 είδη μυκήτων, που ανήκουν κυρίως στους βασιδιομύκητες, και λιγότερο στους ασκομύκητες, είναι γνωστό ότι σχηματίζουν εκτομυκόρριζες. Πολλοί από αυτούς τους μύκητες παράγουν μανιτάρια στα δάση. Μερικοί μύκητες έχουν περιορισμένο εύρος ξενιστών, όπως ο *Boletus betulicola* σε *Betula spp.*, ενώ άλλοι έχουν μεγάλο εύρος ξενιστών, όπως ο *Pisolithus tinctorius*, που σχηματίζει εκτομυκόρριζα με πάνω από 46 είδη δένδρων που ανήκουν σε τουλάχιστον οκτώ γένη.

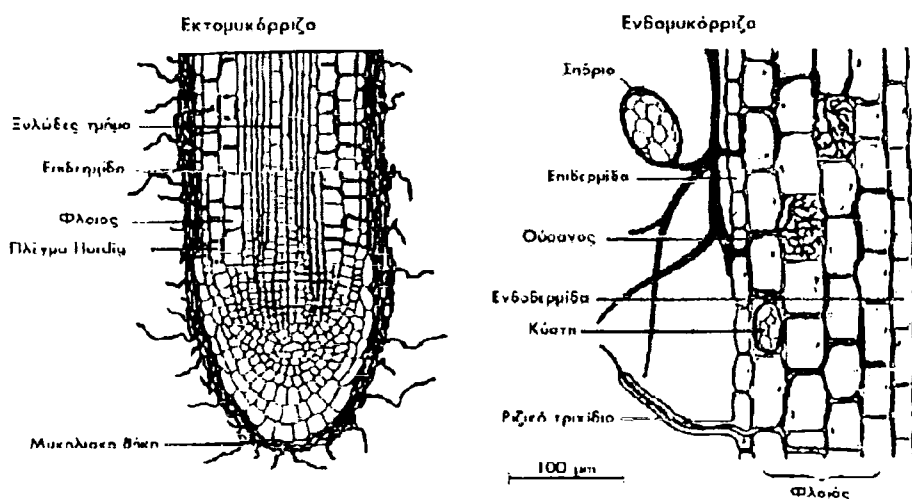
1.1.5.1.3.2. Ενδομυκόρριζες

Η ενδομυκόρριζα είναι ο πιο διαδεδομένος τύπος μυκόρριζας, αφού απαντά στα δύο τρίτα τουλάχιστον των χερσαίων φυτών και φαίνεται ότι αυτή η συμβίωση είναι η πλέον άφθονη και διαδεδομένη σε χερσαία οικοσυστήματα. Σε αντιδιαστολή με την εκτομυκόρριζα, η ενδομυκόρριζα δεν σχηματίζει τον τυπικό μανδύα γύρω από τα ριζίδια, αλλά οι υφές της εισέρχονται όχι μόνο μεταξύ των κυττάρων των ριζιδίων αλλά και μέσα σε αυτά. Αντίθετα από ότι συμβαίνει με την εκτομυκόρριζα, η ενδομυκόρριζα δεν

προκαλεί σημαντική διόγκωση των κυττάρων των ριζικών τριχιδίων ή χαρακτηριστικές ανατομικές μεταβολές στις ρίζες.

Οι ενδομυκόρριζες περιλαμβάνουν τρεις κύριους τύπους. Οι δύο είναι πολύ εξειδικευμένοι: ο ένας τύπος απαντά στα φυτικά είδη της τάξης *Ericales* και είναι ασκομύκητας, ο δε άλλος είναι βασιδιομύκητας και απαντά σε φυτά της οικογένειας *Orchidaceae*. Και στους δύο αυτούς εξειδικευμένους τύπους μυκορριζών, ο μύκητας εφοδιάζει το φυτό με άζωτο (N) και φώσφορο (P) και με κάποια ιχνοστοιχεία.

Ο τρίτος τύπος ενδομυκόρριζα και ο πλέον διαδεδομένος είναι ο θυσανοειδής-δενδροειδής (arbuscular) και στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ως *Arbuscular Mycorrhizal Fungi* (AMF).



Εικόνα 1. Σχηματική απεικόνιση της δομής (α) της εκτομυκόρριζας και (β) της ενδομυκόρριζας (Πηγή. biology, uwsp. edu.../symbioses/endomyc. him).

1.1.5.1.3.3. Δενδροειδείς μυκόρριζες

Ο δενδροειδής τύπος ενδομυκόρριζας απαντά στις περισσότερες οικογένειες των σπερμοφύτων (με την οικογένεια *Cruciferae* να αποτελεί μια από τις ελάχιστες εξαιρέσεις), όπως επίσης σε πέριδες και σε βρυόφυτα. Πάνω από 150 είδη ζυγομύκητων που ανήκουν στην τάξη *Glomales*

σχηματίζουν θυσάνους (arbuscules) εντός των ριζών (Morton & Benny, 1990). Οι ειδικοί σχηματισμοί, από τους οποίους προέκυψε και η ονομασία του μύκητα, αποτελούν τα σημεία όπου τα θρεπτικά στοιχεία ανταλλάσσονται με υδατάνθρακες μεταξύ μύκητα και φυτού.

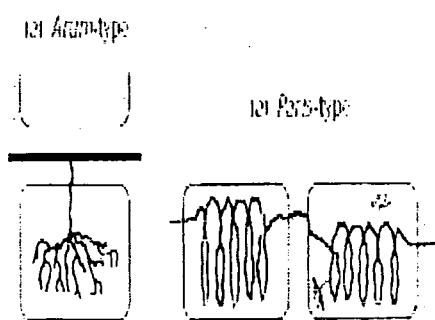
Τα θρεπτικά στοιχεία προσλαμβάνονται από τις μυκηλιακές υφές που αναπτύσσονται στο έδαφος. Ενίοτε στις δενδροειδείς ενδομυκόρριζες σχηματίζονται και κύστει (vesicles), συνήθως στους μεσοκυττάριους χώρους της ρίζας, οι οποίες πρέπει να λειτουργούν ως αποθηκευτικοί χώροι, αλλά και ως αναπαραγωγικά όργανα για τους μύκητες. Παλαιότερα, θεωρείτο ότι όλες οι δενδροειδείς μυκόρριζες σχηματίζουν και κύστει. Τελευταία, ωστόσο, έχει διαπιστωθεί ότι η πλειοψηφία (περίπου το 80%) των ειδών σχηματίζουν τόσο θυσάνους, όσο και κύστες, ενώ τα υπόλοιπα είδη δεν σχηματίζουν κύστει (Smith & Read, 1997).



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση ενός ολοκληρωμένου μοντέλου συμβίωσης του δενδροειδούς μυκορριζικού μύκητα με το φυτό. Ο σχηματισμός μυκόρριζας επιτρέπει στην ανταλλαγή θρεπτικών συστατικών και υδατανθρακών. Ο μύκητας χρησιμοποιεί τους υδατάνθρακες για την δημιουργία στρογγυλόμορφων σπορίων που χρησιμεύουν για την αναπαραγωγή του σε περιόδους δυσμενών συνθηκών. Πηγή: www.ufz.de/index.php?en=l_7029.

1.1.5.1.4. Δομή και στάδια ανάπτυξης

Το διαγνωστικό στοιχείο των δενδροειδών μυκορριζών είναι η δημιουργία ενός πολύ διακλαδισμένου δενδρυλλίου μέσα στο ριζικό κύτταρο. Ο μύκητας αρχικά μεγαλώνει ανάμεσα στα κύτταρα, αλλά σύντομα διαπερνά το κυτταρικό τοίχος του ξενιστή και αναπτύσσεται μέσα στο κύτταρο. Σε αυτή τη σχέση, ούτε το κυτταρικό τοίχωμα του μύκητα ούτε του φυτού διαρρηγνύονται. Καθώς μεγαλώνει ο μύκητας, η κυτταρική μεμβράνη εγκολπώνεται και τυλίγει τον μύκητα, δημιουργώντας ένα νέο χώρο, όπου αποτίθεται υλικό μεγάλης μοριακής πολυπλοκότητας. Αυτός ο χώρος του αποπλάστη εμποδίζει την απευθείας επαφή ανάμεσα στο φυτό και το κυτόπλασμα του μύκητα και επιτρέπει αποδοτική μεταφορά θρεπτικών ανάμεσα στους συμβίους. Τα δενδρύλλια έχουν σχετικά μικρή διάρκεια ζωής, λιγότερο από 15 μέρες, και μπορεί να είναι δύσκολο να παρατηρηθούν σε δείγματα που έχουν ληφθεί από τη φύση.



Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση των δύο τύπων υφών που δημιουργούν οι δενδροειδής μύκητες στα κύτταρα. Χαρακτηριστικό του Arbus τύπου είναι η εμφάνιση των υφών ανάμεσα στα κύτταρα και οι διακλαδώσεις του σχηματίζονται εντός του κυττάρου. Στον τύπο Paris οι υφές και οι δομές του μύκητες αναπτύσσονται εντός του κυττάρου Πηγή: Παπαδάκη Ε. & Συντρίκου Ι. 2005.

1.1.5.1.4.1. Υφές του εδάφους

Οι μυκορριζικές αποικίες μπορούν να αρχίσουν από τη βλάστηση των σπορίων. Οι υφές μπορεί επίσης να προέλθουν από τεμάχια των ριζών. Σε μερικές περιπτώσεις υπάρχει ήδη ένα δίκτυο υφών ως αποτέλεσμα προηγούμενης δραστηριότητας της ρίζας. Οι υφές που προκύπτουν από τη βλάστηση σπορίων έχουν μια περιορισμένη ικανότητα να αναπτύσσονται και δεν εισβάλλουν σε μια ευπαθή ρίζα με αποτέλεσμα σε διάστημα περίπου μίας εβδομάδας να "πεθαίνουν". Οι εδαφικές υφές, που είναι επίσης γνωστές ως εξωριζικές, είναι ινώδεις μυκητιακές δομές που διακλαδίζονται μέσα στο έδαφος. Είναι υπεύθυνες για την πρόσληψη και αξιοποίηση των θρεπτικών ουσιών, την εξάπλωση της αποικίας, το σχηματισμό σπορίων κ.λ.π.. Οι δενδροειδείς μύκητες επάγουν διαφορετικούς τύπους εδαφολογικών υφών και περιλαμβάνουν τις πυκνές ή "διανεμητικές" υφές καθώς επίσης και τις λεπτές "απορροφητικές". Έχει παρατηρηθεί ότι οι υφές αυτών των μυκήτων πολλαπλασιάζονται σε μικροπεριοχές του εδάφους όπου συγκεντρώνονται θρεπτικές ουσίες (St John et al, 1983).

1.1.5.1.4.2. Επαφή Και Διείσδυση Ρίζας

Οι μυκορριζικές αποικίες αρχίζουν να σχηματίζονται όταν τα σπόρια του μύκητα, που βρίσκονται στο έδαφος σε λήθαργο, έρχονται σε επαφή με τη ρίζα του φυτού - ξενιστή. Στην συνέχεια, μια ή περισσότερες υφές παράγουν διογκώσεις μεταξύ των επιδερμικών κυττάρων, που καλούνται πλάκες συγκράτησης ή προσκόλλησης (appressoria). Η διείσδυση γίνεται όταν οι υφές από τα appressoria διαπερνούν τα επιδερμικά ή φλοιώδη κύτταρα για να εισέλθουν στη ρίζα. Αυτές οι υφές διασχίζουν την υποδερμίδα (μέσω διαπερατών κυττάρων, εάν αυτά υπάρχουν στην εξωδερμίδα) και αρχίζουν να διακλαδίζονται στον εξωτερικό φλοιό.

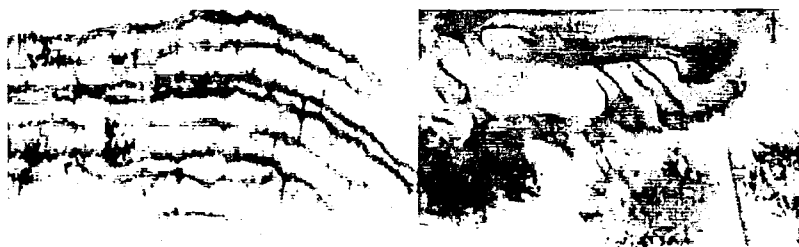
1.1.5.1.4.3. Πολλαπλασιασμός Των Υφών Στο

Φλοιό

Οι υφές χωρίς σέπτα εξαπλώνονται κατά μήκος του φλοιού και στις δύο κατευθύνσεις από το σημείο εισόδου για να διαμορφώσουν μια αποικία. Οι υφές μέσα στη ρίζα είναι αρχικά χωρίς εγκάρσια τοιχώματα, αλλά αυτά μπορούν να εμφανιστούν στις παλαιότερες ρίζες. Ο Gallaud (1905) παρατήρησε ότι οι αποικίες των δενδροειδών μυκήτων στα διάφορα είδη, διαμόρφωσαν δύο ευδιάκριτους τύπους μορφολογίας, τους οποίους ονόμασε σειρά Arum και σειρά Paris.

Στις ρίζες με τις αποικίες της σειράς Arum, οι υφές πολλαπλασιάζονται στο φλοιό αυξανόμενες κατά μήκος μεταξύ των κυττάρων - ξενιστών. Αυτό γίνεται επειδή αυξάνονται κατά μήκος των μεσοκυττάρων χώρων, μεταξύ των τοιχωμάτων των κυττάρων της ρίζας. Οι προκύπτουσες αποικίες των μυκήτων αυτών παρουσιάζουν μια γραμμική εμφάνιση (Brundrett et al, 1984).

Στη σειρά Paris οι υφές διαδίδονται σχηματίζοντας έλικες μέσα στα κύτταρα, επειδή δεν υπάρχουν συνεχείς μεσοκυττάριοι χώροι. Σε αυτές τις αποικίες η εξάπλωση των υφών γίνεται πρωτίστως με ενδοκυτταρική αύξηση, Αφού ακολουθήσουν μια πολύπλοκη πορεία μέσω των κυττάρων του φλοιού. Οι προκύπτουσες αποικίες των μυκήτων έχουν γενικά μια συσπειρωμένη εμφάνιση (Gallaud, 1905), αλλά μπορούν να έχουν πιο διακλαδισμένη μορφή (Widden, 1996).



Εικόνα 4. Μικροσκοπική παρατήρηση αποικιών τύπου Arum και Paris
Πηγή: Παπαδάκη Ε. & Συντρίκου Ι. 2005.

1.1.5.1.4.3.1. Arbuscules

Τα arbuscules είναι περίπλοκα διακλαδισμένοι μυζητήρες που σχηματίζονται μέσα στα κύτταρα του φλοιού της ρίζας. Ονομάστηκαν έτσι από τον Gallaud (1905), επειδή μοιάζουν με μικρά δέντρα. Σχηματίζονται από τις επαναλαμβανόμενες διχοτομήσεις των διακλαδώσεων των υφών και τις μειώσεις του πλάτους τους.

Τα arbuscules αρχίζουν να σχηματίζονται περίπου 2 ημέρες μετά από τη διείσδυση της ρίζας. Αυξάνονται μέσα σε συγκεκριμένα κύτταρα του φλοιού, αλλά παραμένουν έξω από το κυτταρόπλασμα τους, κυρίως λόγω του ότι περιβάλλονται από κυτοπλασματική μεμβράνη. Θεωρούνται ως η βασικότερη περιοχή της ανταλλαγής μεταξύ του μύκητα και του ξενιστή. Ο σχηματισμός τους ακολουθεί την αύξηση των υφών, αναπτυσσόμενος εξωτερικά από το σημείο εισόδου. Έχουν μικρή διάρκεια ζωής και αρχίζουν να «καταρρέουν» μετά από μερικές ημέρες, αλλά οι υφές και οι κύστει μπορούν να παραμείνουν στις ρίζες για μήνες ή και χρόνια.



Εικόνα 5. Μικροφωτογραφία μικροσκοπίου δομής arbuscules στα κύτταρα της ρίζας Πηγή: Παπαδάκη Ε. & Συντρίκου Ι. 2005.

1.1.5.1.4.3.2. Κύστεις

Άλλες δομές που δημιουργούνται από μερικούς δενδροειδείς μυκορριζικούς μύκητες περιλαμβάνουν κύστεις, βοηθητικά κύτταρα, και αγενή σπόρια. Οι κύστεις είναι δομές με λεπτά τοιχώματα, γεμάτες λίπη, που συνήθως σχηματίζονται στο χώρο ανάμεσα στα κύτταρα. Η κύρια λειτουργία τους εικάζεται ότι είναι αποθηκευτική. Παρόλα αυτά, οι κύστεις μπορούν να χρησιμεύσουν και σαν αναπαραγωγικά οργανίδια του μύκητα.

Τα βοηθητικά κύτταρα δημιουργούνται στο έδαφος και μπορεί να είναι σπειρωμένα ή σε κόμπους. Ο ρόλος αυτών των κυττάρων δεν είναι γνωστός. Αναπαραγωγικά σπόρια μπορούν να δημιουργηθούν είτε στη ρίζα, ή στο έδαφος. Τα σπόρια που παράγονται από τους μύκητες οι οποίοι σχηματίζουν δενδροειδείς μυκορριζικές σχέσεις είναι αγενή, και δημιουργούνται από τη διαφοροποίηση απλοειδών υφών. Για κάποιους μύκητες (πχ. *Glomus intraradices*), οι κύστεις μέσα στη ρίζα υπόκεινται σε δευτερογενή πάχυνση και δημιουργείται τοίχωμα (septum) κάθετο στην υφή σύνδεσης, οπότε δημιουργείται σπόριο, αλλά συνήθως τα σπόρια προέρχονται από διογκώσεις εδαφικών υφών.

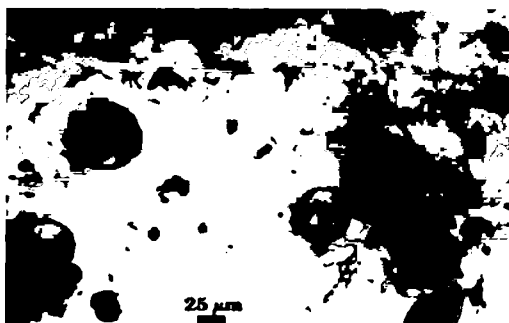


Εικόνα 6. Μικροφωτογραφία μικροσκοπίου κύστεων σε κύτταρα ριζικού συστήματος. Πηγή: Παπαδάκη Ε. & Συντρίκου Ι. 2005.

Οι κύστεις χρησιμεύουν για τη συσσώρευση των προϊόντων που παράγονται από τη φωτοσύνθεση των φυτών - ξενιστών (υδατάνθρακες) και είναι απαραίτητα για την επιβίωση του μύκητα. Εμφανίζονται αμέσως μετά τα πρώτα arbuscules, αλλά συνεχίζουν να αναπτύσσονται και όταν αυτά έχουν ωριμάσει. Είναι διογκώσεις στο φλοιό της ρίζας που περιέχουν τα λιπίδια και το κυτταρόπλασμα και μπορούν να είναι μεσοκυττάρια ή ενδοκυττάρια. Οι κύστεις μπορούν να αναπτύξουν παχιά τοιχώματα στις παλαιότερες ρίζες και να λειτουργήσουν ως propagules (έμφυλα ή άφυλα σπόρια). (Biermann & Linderman, 1983).

1.1.5.1.4.3.3. Σπόρια

Τα σπόρια των δενδροειδών μυκορριζικών μυκήτων είναι πολύ χαρακτηριστικά. Κυμαίνονται σε διάμετρο από 10 μm στον *Glomus tenue* έως πάνω από 1000 μm στη *Scutellospora* spp. Τα σπόρια ποικίλουν στο χρώμα, από υαλώδη (διαφανή) μέχρι μαύρα και η υφή της επιφάνειας εμφανίζεται από λεία μέχρι πολύ διακοσμημένη. Το γένος *Glomus* σχηματίζει σπόρια στο τέλος των υφών, το γένος *Acaulospora* σχηματίζει σπόρια κάθετα από το λαιμό διογκωμένης άκρης υφής, και το γένος *Entrophospora* σχηματίζει σπόρια μέσα από το λαιμό της διογκωμένης άκρης υφής. Δύο άλλα γένη, *Gigaspora* και *Scutellospora*, ξεχωρίζουν από την παρουσία εσωτερικών μεμβρανών στα τοιχώματα και από την φυτρωτική ασπίδα (δομή του τοιχώματος όπου μπορεί να ξεκινήσει φυτρωτικός σωλήνας στο γένος *Scutellospora*). Με βάση μοριακά δεδομένα, δύο καινούργιες οικογένειες (*Archaeosporaceae* και *Parglomus*) έχουν προστεθεί, πράγμα που φανερώνει ότι η ταξινόμια αυτών των μυκήτων είναι ακόμη ρευστή.



Εικόνα 7. Φωτογραφία μικροσκοπίου σπορίων του δένδροειδούς μυκορριζικού μύκητα. Πηγή: Παπαδάκη Ε. & Συντρίκου Ι. 2005.

Τα σπόρια σχηματίζονται σαν διογκώσεις σε μια ή περισσότερες υφές στο έδαφος ή στις ρίζες. Περιέχουν τα λιπίδια, το κυτταρόπλασμα και πολλούς πυρήνες. Συνήθως αναπτύσσουν τοιχώματα με περισσότερα από ένα στρώματα και μπορούν να λειτουργήσουν ως propagules. Τα σπόρια περιέχονται σε εξειδικευμένα όργανα που καλούνται καρποφορίες και λειτουργούν σαν αποθήκες θρεπτικών στοιχείων.

1.1.5.1.5. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΔΕΝΔΡΟΕΙΔΩΝ ΜΥΚΟΡΡΙΖΩΝ

1.1.5.1.5.1. Πρόσληψη Φωσφόρου

Η συνεισφορά των δένδροειδών μυκορριζών στα φυτά-ξενιστές είναι πολυποίκιλη. Η κυριότερη ίσως συνεισφορά τους είναι η αποτελεσματική πρόσληψη του φωσφόρου (P). Τα μυκορριζικά φυτά βρέθηκε να περιέχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις P στους ιστούς τους σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες (Sanders & Tinker, 1971). Κάτι τέτοιο συμβαίνει επειδή οι μυκηλιακές υφές διεισδύουν σε μεγαλύτερα βάθη εδάφους από αυτά που μπορούν να φτάσουν οι ίδιες οι ρίζες του φυτού (Sanders & Tinker, 1971) και έτσι έχουν την ικανότητα να προσλαμβάνουν τα φωσφορικά ιόντα και να τα μεταφέρουν στο φυτό-ξενιστή πολύ πιο γρήγορα από ότι στην περίπτωση της διάχυσης μέσω του εδάφους. Επιπρόσθετα, οι δένδροειδείς μυκορριζες

έχουν μικρότερη διάμετρο (Smith & Read, 1997), γεγονός που τις επιτρέπει να μπορούν να διαπερνούν εδαφικούς πόρους μικρότερης διαμέτρου από ότι οι ρίζες και τα ριζικά τριχίδια (O'Keefe & Sylvia, 1992), αυξάνοντας έτσι, πιο αποτελεσματικά, τον όγκο του χρησιμοποιήσιμου εδάφους.

Επίσης, η αυξημένη ικανότητα πρόσληψης P αποδίδεται στο γεγονός ότι οι μύκητες που συμβιώνουν στις ρίζες των φυτών έχουν το πλεονέκτημα ότι προμηθεύονται άνθρακα (C) από το φυτό-ξενιστή τους. Αυτό το γεγονός τους καθιστά πιο ισχυρούς ανταγωνιστές έναντι των άλλων μικροοργανισμών του εδάφους, ιδιαίτερα σε εδάφη που ο C είναι περιοριστικό στοιχείο (Smith & Read, 1997). Έτσι, έχουν την δυνατότητα να απορροφούν μεγαλύτερη ποσότητα P από το εδαφικό διάλυμα και να την αποδίδουν στα φυτά που συμβιώνουν μαζί τους.

1.1.5.1.5.2. Άλλες Ωφέλειες Δενδροειδών

Μυκορριζών

Η συνεισφορά των δενδροειδών μυκορριζών στα φυτά-ξενιστές δεν περιορίζεται στην αποτελεσματική πρόσληψη P από το σύστημα φυτού - δενδροειδούς μυκορριζας, αλλά παράλληλα εντοπίζεται και σε πολλούς τομείς, τόσο σε επίπεδο ατομικού φυτού, όσο και σε επίπεδο φυτοκοινότητας.

Αρχικά, έχει βρεθεί ότι οι δενδροειδείς μυκορριζες μπορούν να προσλαμβάνουν και να μεταφέρουν το N στο φυτό (Raven κ.ά., 1978; Ames κ.ά., 1983; Bago κ.ά., 1996; Mader κ.ά., 2000). Ο μηχανισμός που εμφανίζεται είναι ο ίδιος με αυτόν που εκδηλώνεται κατά την πρόσληψη του P και σχετίζεται με την μεταφορά των στοιχείων από το έδαφος στο φυτό, μέσω των υφών του μύκητα.

Σήμερα, υπάρχουν όλο και περισσότερες μαρτυρίες ότι οι μυκορριζικοί μύκητες εμπλέκονται στην πρόσληψη και μεταφορά ανόργανου N. Έχει αποδειχτεί επίσης, ότι οι υφές των δενδροειδών μυκορριζών προσλαμβάνουν

και μεταφέρουν αμμωνιακά ιόντα (Ames κ.ά., 1983; Johansen κ.ά., 1992; Frey & Schiiepp, 1993; Johansen κ.ά., 1993), νιτρικά (Johansen κ.ά., 1993; Tobar κ.ά., 1994; Bago κ.ά., 1996), αλλά και οργανικές ενώσεις N (Ames κ.ά., 1983; Hawkins κ.ά., 2000; Hodge κ.ά., 2001).

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι συμβίωση μπορεί να επηρεάσει και άμεσα τις υδατικές σχέσεις του φυτού-ξενιστή. Συγκεκριμένα, η συμβίωση φυτών με μυκορριζικούς μύκητες βρέθηκε να συμβάλλει στην πρόσληψη εδαφικού νερού - μέσω των υφών που αναπτύσσει ο μύκητας (Hardie & Leyton, 1981; Allen, 1982; Auge, 2001) και στο πιο αποτελεσματικό “φιλτράρισμα” του (Hardie & Leyton, 1981; Sieverding, 1981). Επίσης, υπάρχουν διάφορες ενδείξεις ότι η μεταφορά νερού που πραγματοποιείται μέσω των υφών των μυκορριζών καθιστά τα φυτά πιο ανθεκτικά στην ξηρασία και καθυστερεί τον μαρασμό σε περίπτωση υδατικής καταπόνησης (Auge & Duan, 1991).

Οι δενδροειδείς μυκορριζες παίζουν σπουδαίο ρόλο σε ρυπασμένα με βαρέα μέταλλα εδάφη διότι προστατεύουν τα φυτά από την τοξικότητα που μπορεί να προκαλέσει η συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στο έδαφος, όπως παράδειγμα, ο ψευδάργυρος και το κάδμιο (Wilkins, 1991). Αυτό μπορεί να συμβεί είτε δεσμεύοντας τα μέταλλα μέσα στις υφές τους (Denny & Wilkins, 1987; Marschner κ.ά., 1998; Brunner & Frey, 2000), είτε μειώνοντας την μεταφορά των μετάλλων στα ανώτερα σημεία του φυτού.

Οι μυκορριζικοί μύκητες έχουν την ιδιότητα να βελτιώνουν τη συσσωμάτωση των εδαφικών τεμαχιδίων, επομένως και τη δομή του εδάφους (Miller & Jastrow, 2000). Οι υφές των μυκορριζών παράγουν χημικές ενώσεις οι οποίες ενώνουν τα συσσωματώματα του εδάφους (Graham κ.ά., 1982) και βελτιώνουν το πορώδες του. Έτσι, επιτυγχάνεται η ευκολότερη κίνηση του νερού μέσα στο έδαφος, ο καλύτερος αερισμός των ριζών και η αποτελεσματικότερη στερεοποίηση τους στο έδαφος (Fitter, 2005), η μεγαλύτερη ανάπτυξη της ρίζας και κατ’ επέκταση του ίδιου του φυτού.

Η ύπαρξη δενδροειδών μυκορριζών αυξάνει την αντίσταση των φυτών στα παθογόνα και ιδιαίτερα στους μύκητες που προσβάλλουν το ριζικό σύστημα (Norman & Hooker, 2000). Αυτό συμβαίνει διότι βελτιώνονται οι

παράγοντες που συντελούν στον έλεγχο των παθογόνων από τις μυκόρριζες όπως, η βελτίωση της θρεπτικής κατάστασης του φυτού και η αλλαγή στην ανατομία και στην αρχιτεκτονική του ριζικού του συστήματος σε συνεργασία με την ενεργοποίηση των μηχανισμών άμυνας του ίδιου του φυτού (Azcon-Aguilar κ.ά., 2002; Pozo κ.ά., 2002). Η συνεισφορά αυτή των δενδροειδών μυκορριζών είναι ιδιαίτερης σημασίας για τα φυτά που αναπτύσσουν πλούσιο διακλαδισμένο ριζικό σύστημα, καθώς ο κίνδυνος προσβολής τους από παθογόνους οργανισμούς είναι αυξημένος.

1.1.5.1.5.3. Ο Δενδροειδής Μύκητας *Glomus intraradices*

Ένας από τους πιο γνωστούς δενδροειδείς μύκητες του γένους *Glomus* είναι ο *Glomus intraradices*. Ο συγκεκριμένος μύκητας, έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην γεωργία και κηπουρική. Επίσης έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλές επιστημονικές μελέτες λόγω της δημιουργίας μυκόρριζας που συμβάλλει στην βελτίωση του εδάφους. Ο λόγω της δημιουργίας μυκόρριζας που συμβάλλει στην βελτίωση του εδάφους. Ο *Glomus intraradices* αποικίζει νωρίτερα το φυτό από τους άλλους μύκητες του γένους *Glomus*. Επίσης δημιουργεί μεγαλύτερο δίκτυο υφών και αλληλεπιδρά πιο έντονα με τα φυτά ξενιστές του. Σύμφωνα με μελέτες, ο μύκητας αυτός, λόγω του μεγάλου δικτύου υφών που δημιουργεί, φαίνεται να βοηθά στην βελτίωση του εδάφους καθώς και στην μεγαλύτερη πρόσληψη φωσφόρου από το φυτό. Συγκεκριμένα, έχει φανεί ότι είναι από τους λίγους δενδροειδείς μύκητες που μπορούν να ελέγξουν την πρόσληψη θρεπτικών και φωσφόρου ανάλογα με τις ποσότητες που υπάρχουν στο έδαφος.

Ο όρος μυκόρριζα χρησιμοποιείται από τους επιστήμονες για να περιγράψει την μη παθογόνο συμβιωτική σχέση αμοιβαίας ωφέλειας που αναπτύσσεται ανάμεσα σε ένα φυτό και ένα μύκητα. Σε αυτή την μορφή σχέσης ωφελείται και το φυτό από τον μύκητα αλλά και ο μύκητας που

εξασφαλίζει έτσι την επιβίωσή του από το φυτό. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι η υφή που προκύπτει από τα σπόρια του μύκητα θα νεκρωθεί σε διάστημα μιας περίπου εβδομάδας αν δεν υπάρξει κάποια ρίζα φυτού η οποία θα της προσφέρει τα απαραίτητα για την επιβίωσή της (Marschner & Dell, 1994).

Μέσω της σχέσης αμοιβαιότητας, παρέχεται στον μύκητα η δυνατότητα άμεσης πρόσβασης του στα οργανικά οξέα του φυτού, στους υδατάνθρακες όπως η γλυκόζη και η σουκρόζη οι οποίοι παράγονται κατά την διαδικασία της φωτοσύνθεσης, σε άλλα προϊόντα φωτοσύνθεσης που εκκρίνονται από τα ριζίδια του φυτού αλλά και σε αυξητικούς παράγοντες όπως οι βιταμίνες. Οι ουσίες αυτές μετακινούνται μέσα στο φυτό από τα σημεία που παράγονται, δηλαδή τα φύλλα, πηγαίνουν στο ριζικό σύστημα και μέσω αυτού καταλήγουν στον μύκητα. Σε ανταπόδοση, το φυτό εκμεταλλεύεται το μυκήλιο του μύκητα αυξάνοντας την ενεργό επιφάνεια του ριζικού συστήματός του αλλά και με αποτελεσματικότερη πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και νερού (Αγγελής, 2007).

Για τις ευεργετικές ιδιότητες που το φυτό επωφελείται από τις μυκόρριζες, πρέπει να υποστεί την απώλεια ποσοστού 10-20% των προϊόντων της φωτοσύνθεσης τα οποία θα καταναλωθούν για τις ανάγκες του σχηματισμού, διατήρησης και λειτουργίας των υφών του μύκητα (Marschner & Dell, 1994).

Υπάρχουν διάφοροι τύποι μυκόρριζας από τους οποίους οι πιο σημαντικοί είναι οι ενδομυκόρριζες ή ενδοτροφικές μυκόρριζες και οι εξωμυκόρριζες, οι οποίες έχουν μεγάλη οικονομική και οικολογική σημασία. Αυτοί οι δυο τύποι μυκόρριζας έχουν αξιοσημείωτες λειτουργικές ομοιότητες παρά τις διαφορές τους στο είδος των φυτών που αποικούν και στις δομές που αναπτύσσουν μέσα στα φυτά αυτά (Miyasaka & Habte, 2001).

Οι ενδομυκόρριζες που αποτελούν και το αντικείμενο της παρούσας μελέτης είναι μύκητες των οποίων οι υφή εισέρχεται στα κύτταρα των ριζιδίων του φυτού σχηματίζοντας σφαιρικές δομές που μοιάζουν είτε με κύστες και ονομάζονται κυστίδια, είτε με εκτενείς διακλαδώσεις που μοιάζουν με κλάδους δέντρων και ονομάζονται δενδρίδια. Τα κυστίδια

θεωρούνται αποθήκες αποθησαυριστικών ουσιών του μύκητα. Οι ουσίες που αποθηκεύονται εκεί αποδομούνται και αποδίδουν ενέργεια στο μύκητα, όταν η παρεχόμενη από το φυτό ενέργεια είναι μικρότερη των αναγκών του. Η δομή των δενδριδίων αυξάνει την επιφάνεια επαφής της υφής του μύκητα και των κυττάρων του κυτταροπλάσματος του ξενιστή έτσι ώστε να διευκολύνεται η μεταφορά των θρεπτικών στοιχείων μεταξύ τους (Αγγελής, 2007).

Οι μυκόρριζες αυτού του τύπου ανήκουν στην κατηγορία Glomeromycota και από αναλύσεις DNA και μελέτες σε απολιθώματα έχει βρεθεί ότι αυτή η συμβιωτική σχέση έχει παρουσιαστεί πριν 400-600 εκατομμύρια έτη. Οι ενδομυκόρριζες έχουν εντοπιστεί σε πάνω από το 85% όλων των οικογενειών φυτών του πλανήτη. (<http://en.wikipedia.org/wiki/Mycorrhiza>).

Σύμφωνα με τους Clark & Zeto (2000), αν όλοι οι παράγοντες που αφορούν την ανάπτυξη των φυτών παραμένουν σταθεροί και δεν είναι περιοριστικοί, τότε οι μυκόρριζες μπορεί να είναι καθοριστικής σημασίας όχι μόνο για την επιβίωση των φυτών αλλά και όσον αφορά την ικανότητά τους να προσλαμβάνουν τα απαιτούμενα θρεπτικά στοιχεία για την διατήρησή τους καθώς μεταφέρουν τα θρεπτικά στοιχεία σε μεγάλες αποστάσεις σε σχέση με τις ρίζες.

Τα πιο αξιοσημείωτα αποτελέσματα για το φυτό από την παρουσία της μυκόρριζας παρουσιάζονται σε συνθήκες αδυναμίας του φυτού να εξασφαλίσει κυρίως φώσφορο P (Miyasaka & Habte, 2001).

Οι μυκόρριζες εγκαθίστανται συνήθως στο ριζικό σύστημα των φυτών αλλά κάποιες φορές εμφανίζονται στο βλαστό τους. Η σύνδεση του φυτού με τον μύκητα ξεκινάει όταν η υφή του μύκητα που βρίσκεται στο έδαφος αντιλαμβάνεται την παρουσία ρίζας μέσω ουσιών που η ρίζα εκκρίνει προκειμένου να προσελκύσει την μυκόρριζα, και ανταποκρίνεται σε αυτή εξασφαλίζοντας επαφή των δυο επιφανειών. (<http://www.ufz.de/index.php?en=17023>).

Έπειτα η υφή του μύκητα δημιουργεί τα απρεσσόρια, τα οποία είναι μια διόγκωση που έρχεται σε επαφή με την επιφάνεια του ξενιστή και εξασφαλίζει ισχυρή πρόσφυση του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή. Αφού

επιτευχθεί η πρόσφυση, από τη βάση του απρεσσορίου εκφύεται μια λεπτή διατρητική υφή η οποία διαπερνά την ριζοδερμίδα του ξενιστή και έτσι επιτυγχάνεται η μόλυνση (Αγγελής, 2007).

Αυτό προϋποθέτει την αναγνώριση από το φυτό του εισερχόμενου μύκητα προκειμένου να συνεχιστεί η διαδικασία εισόδου στην ρίζα του φυτού. Στην εικόνα 4 απεικονίζεται η είσοδος του μύκητα στη ρίζα του φυτού. Η υφή του μύκητα πλησιάζει την ρίζα του φυτού. Σχηματίζονται τα απρεσόρια από τις υφές και όταν το φυτό αναγνωρίσει τον εισερχόμενο μύκητα εγκρίνει την είσοδό του στην ρίζα και συνεχίζεται η διαδικασία εισόδου (<http://www.ufz.de/index.php?en=17023>).



Εικόνα 8. Είσοδος στην ρίζα (Πηγή: <http://www.ufz.de/index.php?en=17023>).

Έπειτα δημιουργούνται τα δενδρίδια τα οποία μορφολογικά μοιάζουν σαν μικρά δέντρα και προέρχονται από πολλαπλασιασμό και διακλάδωση της υφής του μύκητα. Στην εικόνα 5 απεικονίζεται ένα δενδρίδιο μύκητα του γένους *Glomus* σε κύτταρο του φλοιού της ρίζας φυτού (<http://mycorrhizas.info/#intro>).



Εικόνα 9. Δενδρίδιο ενός είδους *Glomus* σε κύτταρο φλοιού ρίζας (Πηγή: <http://mycorrhizas.info/#intro>).

Ο χρόνος δημιουργίας των κυστιδίων είναι περίπου 2 ημέρες ύστερα από τη διάτρηση της ρίζας από την υφή του μύκητα. Αναπτύσσονται μέσα στα κύτταρα του φλοιού της ρίζας αλλά εκτός του κυτταροπλάσματος. Ο χρόνος ζωής τους είναι μικρός σχετικά και δεν διαρκεί περισσότερο από μερικές ημέρες. (<http://mycorrhizas.info/vam.html>).

Στην εικόνα 10 απεικονίζονται τα κυστίδια ενός είδους *Glomus* σε ρίζα φυτού.



Εικόνα 10. Κυστίδια (V) ενός είδους *Glomus* σε ρίζα φυτού (Πηγή: <http://mycorrhizas.info/vam.html>).

1.1.5.1.5.3.1. Επίδραση στην ανόργανη

θρέψη των φυτών

Κανόνα αποτελεί πλέον η άποψη ότι ο εμβολιασμός φυτών με μυκόρριζα ενισχύει την αύξηση και ανάπτυξή τους αυξάνοντας την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων μέσω αύξησης της επιφάνειας απορρόφησης των στοιχείων, είτε καθιστώντας διαθέσιμα για πρόσληψη από τα φυτά στοιχεία που θεωρούνταν ακινητοποιημένα στο έδαφος, είτε τέλος, μέσω απέκκρισης χηλικών ενώσεων των εξωενζύμων. Η δυνατότητα της εξωτερικής υφής του μύκητα να προσλαμβάνει και να μεταφέρει θρεπτικά στοιχεία από το έδαφος στο φυτό έχει εξακριβωθεί για τα παρακάτω στοιχεία: P, NH_4^+ , NO_3^- , K, Ca, SO_4^{2-} , Cu, Zn, και Fe. Σύμφωνα με την μελέτη των Marschner & Dell (1994), έχει αποδειχθεί ότι η εξωτερική υφή της μυκόρριζας δύναται να εξασφαλίσει στο φυτό το 80% του αναγκαίου P, το 25% του N, το 10% του K, το 25% του Zn, και το 60% του Cu και ότι τα ποσοστά αυτά θεωρούνται ικανοποιητικά για την ανάπτυξη των φυτών σε διαφορετικά εδάφη.

Σε επόμενη μελέτη εξετάστηκε η επίδραση της μυκόρριζας στο νωπό βάρος των φύλλων και του βλαστού των φυτών, στην ποσότητα τη χλωροφύλλης, των πρωτεϊνών και των σακχάρων, στην συγκέντρωση του C, του N και στην δράση του ενζύμου συνθετάση της γλουταμίνης. Το συμπέρασμα που προέκυψε ήταν ότι η επίδραση της μυκόρριζας στις παραπάνω παραμέτρους εξαρτάται από το είδος της μυκόρριζας που χρησιμοποιήθηκε (Boucher et al., 1999).

Επιπλέον, ο εμβολιασμός των φυτών με μυκόρριζα τους προσδίδει αυξημένη ανθεκτικότητα σε παθογόνα του ριζικού συστήματος, στην ξηρασία, σε χαμηλές θερμοκρασίες του εδάφους, σε δυσμενείς συνθήκες εδαφικού pH, και σε τυχόν σοκ που υφίσταται το φυτό μετά από μεταφύτευση. Ο συνδυασμός ρίζας και μύκητα έχει άριστα αποτελέσματα όσον αφορά την αποκατάσταση επιβαρυνμένων εδαφών και χρησιμοποιείται

ευρέως σε γεωργικές πρακτικές που πρέπει να εφαρμοστούν σε άγονα, ξηρά, υψηλής αλατότητας και μειωμένης ευφορίας εδάφη (Raju et al., 1990).

Όταν υπάρχει ελεύθερη επιφάνεια εκμετάλλευσης για την ρίζα, το ποσοστό του P που εξασφαλίζεται στο φυτό από την εξωτερική υφή της μυκόρριζας φτάνει το 80% της αναγκαίας ποσότητας P καθώς η υφή φτάνει σε μήκος ως και 10 cm από την επιφάνεια της ρίζας. Εκτός όμως από αυτό τον τρόπο προμήθειας P στο φυτό, η μυκόρριζα μπορεί να επιδρά και με τον σχηματισμό πολυφωσφορικών ενώσεων στην υφή, διατηρώντας έτσι χαμηλή εσωτερική συγκέντρωση φωσφορικών αλάτων. Επίσης, εξ αιτίας της πολύ μικρής διαμέτρου των υφών, ο μύκητας, έχει την δυνατότητα εκμετάλλευσης μεγαλύτερου όγκου εδάφους ως προς την προμήθεια P σε σχέση με την επιφάνεια της ρίζας γεγονός που οδηγεί σε 2-6 φορές περισσότερη εισροή P. Τέλος, η παραγωγή εξωκυτταρικών φωσφορικών οξέων καταλύει την παραλαβή P από οργανικά σύνθετα του εδάφους. Έτσι λοιπόν τα φυτά με μυκόρριζα μπορούν να αξιοποιούν καλύτερα τις πηγές φωσφόρου του εδάφους (Marschner & Dell, 1994).

Παρ' όλ' αυτά η ενίσχυση της ανάπτυξης των φυτών με την συμβολή της μυκόρριζας εξαρτάται από παράγοντες του εδάφους αλλά και του ίδιου του φυτού οι οποίοι καθορίζουν την πρόσληψη του P από το φυτά καθώς και από την κατάσταση του P στο έδαφος. Συχνά παρατηρείται μια ύφεση στα επίπεδα μόλυνσης των φυτών από μυκόρριζα όταν στο έδαφος υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση P. Ο βαθμός της ύφεσης αυτής δεν εξαρτάται μόνο από το είδος του μύκητα αλλά και από την περίσσεια P στο έδαφος. Κοινώς είναι αποδεκτό ότι οι μυκόρριζες δεν ευνοούν τόσο πολύ την αύξηση και ανάπτυξη φυτών που έχουν ήδη άλλους τρόπους να προσλαμβάνουν P από το έδαφος σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, όπως για παράδειγμα λεπτές ρίζες μακριά ριζικά τριχίδια και ρίζες με μεγάλο βαθμό διακλάδωσης (Marschner & Dell, 1994; De Miranda et al., 1989).

Την ίδια άποψη υποστηρίζουν και οι Raju et al. (1990), σύμφωνα με τους οποίους, η εφαρμογή στο έδαφος φωσφορικής λίπανσης ευνόησε την αύξηση και ανάπτυξη φυτών που δεν είχαν μυκόρριζα ενώ παρεμπόδισε την

ανάπτυξη φυτών με μυκόρριζα. Επιπλέον παρεμπόδισε την ανάπτυξη του μύκητα στο ριζικό σύστημα των φυτών.

Οι ερευνητές έχουν προτείνει διάφορους τρόπους με τους οποίους μπορεί να επιτυγχάνεται αύξηση στην πρόσληψη P από τα φυτά με μυκόρριζα. Μερικοί από αυτούς είναι: εκμετάλλευση από το φυτό μεγαλύτερου όγκου εδάφους, ταχύτερη μετακίνηση της μυκόρριζας μέσα στις υφές του μύκητα και διαλυτοποίηση του εδαφικού P. Η εκμετάλλευση μεγαλύτερου όγκου εδάφους από τα φυτά με μυκόρριζα επιτυγχάνεται μειώνοντας την απόσταση που πρέπει να διανυθεί από τα ιόντα P ώσπου να φτάσουν στις ρίζες του φυτού και αυξάνοντας την επιφάνεια που είναι διαθέσιμη για απορρόφηση. Η ταχύτερη μετακίνηση του P μέσα στις υφές του μύκητα επιτυγχάνεται αυξάνοντας την συνάφεια για τα ιόντα P και μειώνοντας το κατώτατο όριο συγκέντρωσης για απορρόφηση P. Η διαλυτοποίηση του εδαφικού P επιτυγχάνεται με την πρόσληψη από το φυτό οργανικών οξέων και φωσφορικών ενζύμων (Bolan, 1991).

Σύμφωνα με έρευνα των Ortas et al. (1996), προέκυψε ότι η αυξημένη πρόσληψη P από φυτά με μυκόρριζα οφείλεται σε αλλαγές που υφίσταται η ριζόσφαιρα ως αποτέλεσμα της χρήσης ιόντων NH_4^+-N από τα φυτά. Αυτή η αλληλεπίδραση ιόντων NH_4^+-N και φυτών με μυκόρριζα οδηγεί σε μεταβολές στο pH του εδάφους. Η ελάττωση του pH που προκαλείται στην ριζόσφαιρα ενός φυτού εξ' αιτίας της παρουσίας της μυκόρριζας μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερη πρόσληψη P που μπορεί να προέρχεται από διαλυτοποίηση φωσφορικού ασβεστίου του εδάφους με αποτέλεσμα να αυξάνεται η διαθεσιμότητα P και για το φυτό αλλά και για την υφή του μύκητα.

Εκτός από την ιδιότητα της μυκόρριζας να βοηθάει την πρόσληψη P από τα φυτά, θεωρείται ότι αυξάνει και την πρόσληψη του N βοηθώντας έτσι και πάλι την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών. Βέβαια, κατά τους Schalamuk et al. (2011), αυτή η θεωρία είναι ακόμη υπό αμφισβήτηση κατά ένα μικρό ποσοστό όμως. Αυτό διότι σε κάποιες έρευνες τα φυτά που είχαν μυκόρριζα παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα N σε σχέση με τα φυτά χωρίς την παρουσία του μύκητα, ενώ σε άλλες μελέτες δεν παρουσιάστηκαν διαφορές μεταξύ των φυτών με μυκόρριζα και των φυτών χωρίς τον μύκητα όσον αφορά τα

επίπεδα N. Αυτό το μπέρδεμα των επιστημόνων προκύπτει από την ιδιότητα του N να βρίσκεται στο έδαφος με διαφορετικές μορφές και έτσι, οι απώλειές του οφείλονται στις διαφορετικές αυτές μορφές όπως η πτητικότητα, η απονιτροποίηση και η έκπλυση. Τελικά από την μελέτη αυτή προέκυψε ότι η παρουσία της μυκόρριζας συμβάλλει στην πρόσληψη NH_4^+ και N από το έδαφος.

Φυτά όπως τα ψυχανθή έχουν μεγάλη ανάγκη από P προκειμένου να σχηματίσουν τους όζους στην ρίζα γεγονός που τα καθιστά απόλυτα εξαρτημένα από την μυκόρριζα. Συνεπώς, οι ευεργετικές για το φυτό ιδιότητες της δέσμευσης N συνδέονται άρρηκτα με την ύπαρξη εδαφών με χαμηλή συγκέντρωση N. Το N που η μυκόρριζα προσλαμβάνει και μεταφέρει στο φυτό είναι κυρίως με την μορφή NH_4NO_3 . Το ποσοστό με το οποίο μπορεί η μυκόρριζα να προμηθεύσει τα φυτά ανέρχεται σε περίπου 24% σύμφωνα με τους Marschner & Dell, (1994). Όσον αφορά τα ψυχανθή φυτά, η ενισχυμένη προμήθεια N από την μυκόρριζα δεν οφείλεται μόνο στην αζωτοδέσμευση αλλά κυρίως στην ενισχυμένη πρόσληψή του από έδαφος, μιας που η μυκόρριζα διευκολύνει την εισροή N στα άκρα των ριζών.

Από μελέτη των Tobar et al. (1994), προέκυψε το συμπέρασμα ότι ακόμη και υπό συνθήκες υδατικού stress τα φυτά που έχουν μυκόρριζα παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευκολία στην πρόσληψη N σε σχέση με τα φυτά χωρίς μυκόρριζα διότι οι υφές του μύκητα καθιστούν διαθέσιμα για το φυτό τα θρεπτικά στοιχεία που θεωρούνται ακινητοποιημένα στο έδαφος, ή που παρουσιάζουν δυσκολία στην κίνησή τους στο εδαφικό διάλυμα εξ αιτίας της περιορισμένης υγρασίας. Το ίδιο συμπέρασμα προκύπτει από την μελέτη των Hamel & Smith (1991), σχετικά με την παροχή N σε φυτά με την βοήθεια ψυχανθών. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η προσθήκη N στα φυτά ήταν μεγαλύτερη όταν υπήρχε η παρουσία της μυκόρριζας σε σχέση με φυτά χωρίς τον μύκητα.

Η ικανότητα της υφής της μυκόρριζας να προσλαμβάνει K ανέρχεται σε ποσοστό περίπου 10%. Το ποσοστό αυτό αποτελεί βεβαίως μια συνεισφορά στο φυτό ως προς την πρόσληψη K αλλά εξακολουθεί αυτή η συνεισφορά να

είναι μικρή και οι απαιτήσεις του φυτού να μην πληρούνται (Marschner & Dell, 1994).

Αυξημένη πρόσληψη Κ εξ αιτίας της παρουσίας της μυκόρριζας παρατηρείται σε όξινα εδάφη και γενικά σε συνθήκες χαμηλού εδαφικού pH. Αντιθέτως σε ουδέτερα εδάφη δεν παρατηρούνται μεταβολές στην πρόσληψη Κ από τα φυτά κι έτσι τα επίπεδά του είναι χαμηλότερα σε φυτά με μυκόρριζα απ' ότι σε φυτά χωρίς μυκόρριζα (Clark & Zeto, 2000).

Η πρόσληψη του Ca από την υφή του μύκητα συγκρινόμενη με τα ποσοστά πρόσληψης του P είναι πολύ μικρή (Marschner & Dell, 1994). Και για το Ca ισχύουν τα ίδια που προαναφέρθηκαν για το Κ. Γενικά, ανιχνεύεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε φυτά με μυκόρριζα σε σχέση με φυτά χωρίς μυκόρριζα (Clark & Zeto, 2000). Μειωμένη πρόσληψη Ca παρατηρείται σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης στο έδαφος αυτού του στοιχείου είτε μετά από προσθήκη λίπανσης διότι παρεμποδίζεται η ανάπτυξη του μύκητα και συνεπώς η λειτουργία που επιτελεί για το φυτό (Liu et al., 2000).

Η πρόσληψη του Zn και του Cu από την υφή της μυκόρριζας έχει μελετηθεί ευρέως και οι έρευνες για το καλαμπόκι για παράδειγμα έχουν δείξει ότι ποσοστό 16-25% για τον Zn και 13-20% για τον Cu οφείλονται στην παρουσία του μύκητα στη ρίζα του φυτού. Η πρόσληψη του Cu και του Zn έχει άμεση σχέση με την συγκέντρωση του P, καθώς ο P ενισχύει όχι μόνο την πρόσληψη αλλά και την συγκέντρωση του Cu στον βλαστό του φυτού (Marschner & Dell, 1994).

Οι Ortas et al. (2002), θεωρούν ότι η υψηλή συγκέντρωση P παρεμποδίζει την ανάπτυξη του μύκητα στις ρίζες κι έτσι παρεμποδίζεται και πρόσληψη του Zn. Δημιουργείται δηλαδή μια αρνητική σχέση μεταξύ του Zn και του ποσοστού της μόλυνσης από μυκόρριζα στις ρίζες. Επίσης, οι ίδιοι ερευνητές υποστήριξαν ότι οι υφές της μυκόρριζας στο ριζικό σύστημα των φυτών είναι υπεύθυνες για την αυξημένη πρόσληψη Zn από το έδαφος σε ποσοστά 25-60% ανάλογα και με το είδος φυτού. Γενικά, από μετρήσεις σε φυτά με μυκόρριζα και φυτά χωρίς μυκόρριζα βρέθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις P, Zn, Fe και Cu στα φυτά με την μυκόρριζα, ενώ όσον αφορά το Mn τα επίπεδά του δεν φάνηκε να παρουσίασαν διαφορές. Σχετικά

με την συγκέντρωση του Cu, εξ αιτίας της μυκόρριζας η συγκέντρωσή του φαίνεται αυξημένη κατά 135% στο ριζικό σύστημα των φυτών (Kothari et al., 1990).

Σε αντίθεση με τα άλλα στοιχεία, για το Mn έχει αποδειχθεί ότι δεν επηρεάζεται συνήθως από την παρουσία της μυκόρριζας κι αν αυτό συμβεί συνήθως μειώνεται η συγκέντρωσή του στα μολυσμένα φυτά (Marschner & Dell, 1994).

Σύμφωνα με μελέτη των Posta et al. (1994), προκύπτει ότι η παρουσία της μυκόρριζας στη ρίζα των φυτών μειώνει την συγκέντρωση Mn στα φυτά εμποδίζοντας την πρόσληψή του από το έδαφος λόγω διαδικασιών οξειδωσης ή διάσπασης του στοιχείου αυτού. Δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρο το πώς συμβαίνει αυτό όμως θεωρείται ότι οφείλεται στους μικροοργανισμούς του εδάφους και σε έκκριση ουσιών από την ρίζα. Η παρουσία του μύκητα θεωρείται ότι επηρεάζει την διαλυτότητα του Mn στην ριζόσφαιρα είτε άμεσα με αλλοίωση ή μείωση της συγκέντρωσής του είτε έμμεσα με την βοήθεια των μικροοργανισμών του εδάφους. Στην έρευνα αυτή, η παρουσία μικροοργανισμών που μειώνουν τα επίπεδα Mn στην ριζόσφαιρα των φυτών με μυκόρριζα δηλώνουν μεταβολή στους μικροοργανισμούς του εδάφους λόγω της παρουσίας του μύκητα.

1.1.5.1.5.3.2. Επίδραση στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών

Η μορφή του ριζικού συστήματος επηρεάζεται από την παρουσία της μυκόρριζας σε μεγάλο βαθμό με πιο κοινό χαρακτηριστικό την αυξημένη διακλάδωση των ριζιδίων. Επειδή η διαμόρφωση του ριζικού συστήματος εξαρτάται από την δραστηριότητα των κορυφών των ριζών, όλοι οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των ριζών, άμεσα ή έμμεσα επηρεάζουν την δραστηριότητα και την δομή των μεριστωμάτων των κορυφών των ριζών. Η μορφολογία και ανάπτυξη του ριζικού συστήματος

έχει συνδεθεί την με την δομή των κορυφών των πλευρικών ριζών. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι οι τροποποιήσεις στην δομή της ρίζας και την φυσιολογία της προκαλεί και αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση και η παρουσία της μυκόρριζας επιδρά στις αλλαγές αυτές (Berta et al., 1995).

Η παρουσία και δράση της μυκόρριζας όμως εξαρτάται και από άλλους παράγοντες όπως ο τύπος του εδάφους, το είδος του μύκητα, και η ποικιλία του καλλιεργούμενου φυτού. Τα διάφορα είδη φυτών ποικίλλουν ως προς την παρουσία της μυκόρριζας και αυτό εξαρτάται από την ικανότητα του κάθε φυτού να εξασφαλίζει επάρκεια θρεπτικών στοιχείων και νερού χωρίς την παρουσία του μύκητα. Σχετικά με αυτό το ζήτημα οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι φυτικά είδη με μακρύ και επαρκές ριζικό σύστημα και με μεγάλες πλευρικές ρίζες ήταν λιγότερο εξαρτημένα από την μυκόρριζα σε σχέση με φυτικά είδη με μικρότερο και φτωχότερο ριζικό σύστημα. Εξαίρεση όμως σε αυτό τον κανόνα αποτελούν φυτά τα οποία έχουν σχετικά αργό ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με άλλα διότι αυτά δεν έχουν μεγάλες απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία και ιδιαίτερα σε P (Graham & Syvertsen, 1985).

Συγκεκριμένα για την καλλιέργεια του αραβοσίτου, η παρουσία της μυκόρριζας επιδρά σημαντικά στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος αλλά και στην μορφολογία του κι έτσι είναι φυσικό να επιδρά και στην αποβολή στοιχείων από τις ρίζες. Σύμφωνα με έρευνες των Azaizeh et al. (1995), η αποβολή σακχάρων και αμινοξέων από την ρίζα ήταν χαμηλότερη σε φυτά εμβολιασμένα με μυκόρριζα σε σχέση με τα φυτά χωρίς την παρουσία του μύκητα και γενικά η αποβολή αυτών των συστατικών από το ριζικό σύστημα μειωνόταν καθώς αυξανόταν η πρόσληψη φωσφόρου από το έδαφος.

Η παρουσία του μύκητα έχει την δυνατότητα να επιδρά στην αποβολή στοιχείων από τις ρίζες των φυτών παρεμποδίζοντάς την. Έτσι, τα φυτά με μυκόρριζα αναπτύσσονται καλύτερα από τα φυτά χωρίς την παρουσία του μύκητα στις περισσότερες των περιπτώσεων (Azaizeh et al., 1995).

Δεδομένης της θετικής επίδρασης του μύκητα στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών, εγείρεται στους ερευνητές το ενδιαφέρον σχετικά με την εξάρτηση του μεγέθους αυτής της επίδρασης από το ηλικιακό στάδιο του

φυτού κατά την στιγμή της προσθήκης του μύκητα. Ακόμη δεν υπάρχει σαφής απάντηση σε αυτό το ερώτημα αλλά σύμφωνα με την μελέτη των Mustafa et al. (2010), εκτιμάται ότι η προσθήκη της μυκόρριζας στο φυτό όταν αυτό δεν βρίσκεται σε νεαρό στάδιο, δηλαδή μετά τον πρώτο μήνα, έχει πιο εμφανή αποτελέσματα όσον αφορά την αύξηση και ανάπτυξή του. Διότι διαπιστώθηκε ότι η μυκόρριζα μεταβάλλει την μορφή, την φυσιολογία και την βιοχημεία του ριζικού συστήματος επιδρώντας κυρίως στο μέγεθος των πλευρικών βοηθητικών ριζών, αυξάνοντάς το.

1.1.5.1.5.3.3. Επίδραση στην υδατική κατάσταση των φυτών

Πολλές έρευνες σχετικά με την σχέση συμβίωσης της μυκόρριζας με τα διάφορα φυτικά είδη έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι η παρουσία της μυκόρριζας στο ριζικό σύστημα των φυτών επηρεάζει την υδατική κατάσταση των φυτών και κυρίως όταν επικρατούν συνθήκες μειωμένης υγρασίας ή ξηρασίας πιθανόν λόγω της μειωμένης αντίστασης των στομάτων των φύλλων στο άνοιγμα. Η μυκόρριζα βοηθάει πολύ τα φυτά ως προς την πρόσληψη του νερού από το έδαφος. Κάποιοι ερευνητές υποστήριξαν ότι η μυκόρριζα ενισχύει την διαπνοή στα φυτά. Η συμβολή του μύκητα είναι ότι ενισχύει την πρόσληψη νερού από εδάφη με χαμηλό ποσοστό υγρασίας και ότι βοηθάει την διαπνοή των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με το μύκητα. Επομένως αποδεικνύεται ότι οι ρίζες των φυτών που έχουν μυκόρριζα προσαρμόζονται καλύτερα σε εδάφη με μειωμένη υγρασία σε σχέση με φυτά χωρίς μυκόρριζα (Nikolaou et al., 2003).

Μια πιθανή αιτία αυτού αποτελεί το γεγονός ότι η μυκόρριζα ενισχύει την φυσιολογική ανθεκτικότητα του φυτού στην ξηρασία είτε εμποδίζοντας την αφυδάτωση είτε καθιστώντας το φυτό πιο ανθεκτικό σε αυτή.

Σύμφωνα με έρευνα των Cho et al. (2006), από την συμβίωση του μύκητα με το φυτό δημιουργείται μια ακόμη θετική συνέπεια για το φυτό, η

αυξημένη ανθεκτικότητα του φυτού σε συνθήκες αυξημένης αλατότητας εδάφους. Οι ίδιοι ερευνητές θεωρούν ότι αυτή η ιδιότητα είναι πιο έντονη στα φυτά σε σχέση με την ανθεκτικότητα στην ξηρασία και ότι σχετίζεται άμεσα με την ιδιότητα της αυξημένης πρόσληψης P από το φυτό.

Σύμφωνα με τους Simpson & Daft, (1990), η προσθήκη μυκόρριζας στις ρίζες των φυτών αυξάνει την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος σε φυτά που υφίστανται κάποιου είδους stress, ενισχύει την μειωμένη ευαισθησία των στομάτων στο άνοιγμα, βοηθάει τα φυτά να αξιοποιούν καλύτερα το παρεχόμενο νερό και αυξάνει την υδραυλική τους αγωγιμότητα. Από την άλλη, οι ίδιοι ερευνητές θεωρούν ότι όποια ευεργετική δράση της μυκόρριζας στα φυτά που υφίστανται stress εξαρτάται από παράγοντες όπως η κατάσταση και εξάπλωση της ρίζας και του νερού στο έδαφος και από την διάρκεια της περιόδου που το φυτό βρίσκεται σε κατάσταση υδατικού stress. Τα φυτά που έχουν ευνοηθεί από την μυκόρριζα όσον αφορά την αύξηση και ανάπτυξή τους χρειάζονται περισσότερη ποσότητα νερού για να καλύπτουν τις ανάγκες τους και έτσι αυτά τα φυτά υποφέρουν περισσότερο από την έλλειψη υγρασίας σε σχέση με τα φυτά χωρίς μυκόρριζα. Η μελέτη αυτή έδειξε επίσης ότι υπάρχουν μεγάλες διαφορές όσον αφορά την ανθεκτικότητα των φυτών στο υδατικό stress μεταξύ των διαφόρων ειδών μυκόρριζας με τα οποία μολύνονται οι ρίζες των φυτών.

Σε φυτά με μυκόρριζα, ο ρυθμός διαπνοής ήταν αυξημένος κατά 30% σε σχέση με φυτά χωρίς τον μύκητα και αυτό αποδίδεται στην μεγαλύτερη φυλλική επιφάνεια των εμβολιασμένων φυτών σύμφωνα με τους Kothari et al. (1990). Επίσης, ο ρυθμός πρόσληψης νερού ήταν διπλάσιος στα φυτά με μυκόρριζα σχετικά με τα φυτά χωρίς.

Συνεπώς, παρατηρήθηκε πιο γρήγορη αποκατάσταση των εμβολιασμένων φυτών από το υδατικό stress. Αυτό αποδόθηκε από τους ερευνητές στην υψηλότερη υδραυλική αγωγιμότητα των εμβολιασμένων φυτών και στην υψηλότερη συγκέντρωση P. Βέβαια από σύγκριση φυτών με μυκόρριζα και φυτών χωρίς μυκόρριζα αλλά με φωσφορική λίπανση δεν προέκυψαν διαφορές όσον αφορά την υδραυλική αγωγιμότητα αλλά παρουσιάστηκαν διαφορές στον ρυθμό διαπνοής ανά μονάδα φυλλικής

επιφάνειας που ήταν υψηλότερος στα εμβολιασμένα φυτά (Kothari et al., 1990).

1.1.5.1.5.3.4. Επίδραση στα βαρέα μέταλλα

Η μυκόρριζα έχει την ικανότητα να δεσμεύει βαρέα μέταλλα από το εδάφους αυξάνοντας έτσι την ανθεκτικότητα των εμβολιασμένων φυτών σε βαρέα μέταλλα που βρίσκονται σε επιβαρυμένα εδάφη (Marschner & Dell, 1994). Οι υφές του μύκητα μπορούν να συγκεντρώνουν ποσότητες Zn και Cd και να τις μεταφέρουν στα φυτά με τρόπο που να μην είναι επιζήμιος για αυτά.

Σύμφωνα με έρευνες αποδείχθηκε ότι το μήκος και γενικά το μέγεθος των υφών του μύκητα παραμένει ανεπηρέαστο από την παρουσία των βαρέων μετάλλων. Κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η πρόσληψη από τα φυτά ορισμένων από τα βαρέα μέταλλα του εδάφους σε μορφές χρήσιμες για το φυτό είναι μεγαλύτερη σε φυτά με μυκόρριζα ενώ άλλοι θεωρούν ότι τα στοιχεία αυτά ανιχνεύονται σε μικρότερες ποσότητες στα φυτά λόγω της παρουσίας της μυκόρριζας. Σε πειράματα που έγιναν και αφορούσαν τον αραβόσιτο αποδείχθηκε ότι η παρουσία της μυκόρριζας οδήγησε σε αύξηση της βιομάζας του φυτού και μείωσε τα επίπεδα βαρέων μετάλλων (Cd, Cu, Zn και Mn) στο φυτό ή δεν είχε κανένα αποτέλεσμα στην ανάπτυξη και στην πρόσληψη αυτών των στοιχείων από το έδαφος. Επίσης οι ίδιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι σε χαμηλότερο pH εδάφους η δράση της μυκόρριζας ενισχύεται (Leyval et al., 1997).

Παρόμοια έρευνα των Weissenhorn et al. (1995), έδειξε ότι η συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στο φυτό μειώθηκε εξ' αιτίας του αποικισμού της ρίζας με μυκόρριζα όταν τα επίπεδα βαρέων μετάλλων στο έδαφος ήταν υψηλά. Αντίθετα, σε συνθήκες εδάφους με χαμηλότερη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων παρατηρήθηκε αυξημένη πρόσληψή τους από τα φυτά απουσία της μυκόρριζας.

1.1.5.1.5.3.5. Βελτίωση τη δομής του

εδάφους

Στην μυκόρριζα αποδίδεται ακόμη μια ευεργετική ιδιότητα για τα φυτά, η ιδιότητα της βελτίωσης της δομής του εδάφους και της ευκολότερης επιβίωσης και αυξημένης αντοχής των εμβολιασμένων με τον μύκητα φυτών σε συνθήκες περιβαλλοντικού stress.

Σύμφωνα με έρευνα των Tang et al. (2009), η παρουσία της μυκόρριζας στο έδαφος περιόρισε τις βλαβερές συνέπειες που προκλήθηκαν στα φυτά από οργανικούς μολυσματικούς παράγοντες του εδάφους γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η βιοαποκατάσταση του εδάφους προκαλούμενη από την παρουσία της μυκόρριζας είναι μια εξελισσόμενη και πολλά υποσχόμενη μέθοδος για επιβαρυμένα εδάφη με οργανικούς ρυπογόνους παράγοντες η οποία μέθοδος είναι συμφέρουσα και από οικονομική άποψη αλλά και από την άποψη της λιγότερης καταστροφής και προξένησης ζημιών στο έδαφος. Επιπλέον, όσον αφορά τα ίδια τα φυτά η μυκόρριζα όπως είπαμε αυξάνει την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και τους προσδίδει ανθεκτικότητα σε συνθήκες stress προερχόμενο από το περιβάλλον εξ' αιτίας και της ενίσχυσης της δράσης αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως καταλάση (SOD), ή η περοξυδάση (POD).

Ένα ακόμη σημαντικό ζήτημα είναι η επίδραση ορισμένων μυκητοκτόνων στην δραστηριότητα της μυκόρριζας στο έδαφος αλλά και πώς η μυκόρριζα έχει την δυνατότητα να «ρυθμίζει» τις δυσμενείς συνθήκες που δημιουργούνται για τους μικροβιακούς πληθυσμούς του εδάφους εξ' αιτίας αυτών των μυκητοκτόνων. Οι μελετητές θεωρούν ότι ορισμένα μυκητοκτόνα (Captan) επηρεάζουν την μορφή της συμβίωσης της μυκόρριζας με το φυτό ξενιστή κατά διαφορετικό τρόπο το καθένα θετικά, αρνητικά ή με ουδέτερο τρόπο. Συμπερασματικά από αυτή την μελέτη προκύπτει ότι πράγματι η παρουσία της μυκόρριζας στο έδαφος μετριάξει τις αρνητικές επιδράσεις ορισμένων χημικών σκευασμάτων στους μικροβιακούς πληθυσμούς του εδάφους. Συγκεκριμένα για τον αραβόσιτο έχουν ήδη αναφερθεί οι

ευεργετικές ιδιότητες της μυκόρριζας στην αύξηση και ανάπτυξή του, γεγονός που επιβεβαιώνεται και στην παρούσα μελέτη, τονίζοντας ιδιαίτερα την αυξημένη δράση του ενζύμου συνθετάση της γλουταμίνης που είναι χρήσιμο για την προσθήκη του αζώτου στα μόρια των πρωτεϊνών του φυτού (Samarbakhsh et al., 2009).

1.1.5.1.5.3.6. Προστασία φυτών από παθογόνα του εδάφους

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει πάνω στα διάφορα είδη οργανισμών του εδάφους, αρκετοί από αυτούς σχετίζονται με την ριζόσφαιρα των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με μυκόρριζα. Κάποιοι από αυτούς είναι τα N₂-αζωτοδεσμευτικά βακτήρια, τα ριζοβακτήρια που προωθούν την ανάπτυξη των φυτών, τα φωσφοδιαλυτικά βακτήρια και οι ανταγωνιστές των παθογόνων των φυτών. Οι μυκόρριζες είναι ένα αντικείμενο μελέτης που χρησιμοποιείται ευρέως στα αγροοικοσυστήματα και παίζει σημαντικό ρόλο στις διαδικασίες της ριζόσφαιρας των φυτών όπως η προστασία των φυτών από ασθένειες και παθογόνα του εδάφους. Η δράση των μυκορριζών μπορεί να ενισχύεται και από άλλους οργανισμούς του εδάφους κυρίως όσον αφορά τον βιολογικό έλεγχο (Budi et al., 1999).

Η παρουσία της μυκόρριζας φαίνεται να μειώνει την ζημιά που προκαλείται στα φυτά από παθογόνους οργανισμούς του εδάφους. Αυτό εξαρτάται από το είδος του μύκητα που προστίθεται στην ρίζα των φυτών αλλά και από άλλους παράγοντες όπως ο παθογόνος οργανισμός, η κατάσταση του εδάφους και παράγοντες του περιβάλλοντος, καθώς ο βαθμός προστασίας που παρέχεται από την μυκόρριζα ποικίλει ανάλογα με αυτές τις συνθήκες. Δηλαδή, η προστασία του φυτού από την παρουσία του μύκητα διαμορφώνεται από παράγοντες του περιβάλλοντος και του εδάφους. Ορισμένοι από τους παθογόνους οργανισμούς στους οποίους αποδεικνύεται αποτελεσματική η παρουσία της μυκόρριζας είναι οι:

Phytophthora, *Gaeumannomyces*, *Fusarium*, *Chalara* (*Thielaviopsis*), *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Verticillium*, *Aphanomyces*, και για νηματώδεις: *Rotylenchus*, *Pratylenchus* και *Meloidogyne*. Ασφαλώς αυτό δεν σημαίνει ότι η μυκόρριζα προστατεύει το φυτό από τους ανωτέρω οργανισμούς κάτω από οποιοσδήποτε συνθήκες. Για παράδειγμα είναι βασικό να υπάρχει πλήρης ανάπτυξη της μυκόρριζας στη ρίζα του φυτού όταν θα εκτεθεί αυτό στον επικίνδυνο παράγοντα έτσι ώστε να υπάρξει αποτελεσματική συμβολή του μύκητα στην ανθεκτικότητα και προστασία του φυτού (Azcón-Aguilar & Barea, 1996).

1.1.5.1.6. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΥΚΗΤΩΝ

Η κοινή επιφάνεια ανάμεσα στο έδαφος και τις ρίζες ή εναλλακτικά ο χώρος που περιβάλλει τις ρίζες και επηρεάζεται από αυτές, είναι η ριζόσφαιρα. Ένας χώρος υψηλών μικροβιακών πληθυσμών, έντονης μικροβιολογικής δραστηριότητας και ταχύτατων αλλαγών. Οι μικροοργανισμοί της ριζόσφαιρας ζουν πάνω σε νεκρά επιδερμικά κύτταρα, εκκρίματα των ριζών και νεκρή οργανική ουσία (Bonkowski et al, 2000).

Εκτός από τον ανταγωνισμό των μικροοργανισμών, στη ριζόσφαιρα έχει παρατηρηθεί και το φαινόμενο της αλληλεπίδρασης των διαφόρων μικροοργανισμών που έχει σαν αποτέλεσμα την προστασία του φυτού έναντι άλλων παθογόνων. Μελέτες έχουν δείξει ότι βακτήρια, ενδοφυτικοί και μυκορριζικοί μύκητες, ανεξάρτητα από την μεμονωμένη δράση τους στα φυτά, όταν βρεθούν στο ίδιο περιβάλλον με ανταγωνιστή ή συμβιώτη, τότε παρατηρείται διαφορετική εξέλιξη στην ανάπτυξη των φυτών. Η εξέλιξη αυτή ποικίλλει ανάλογα με τους μικροοργανισμούς που συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση και είτε φαίνεται αύξηση στην ανάπτυξη των φυτών και προφύλαξη από άλλα παθογόνα αίτια, είτε μείωση της ανάπτυξης ή ακόμα και καμία αλληλεπίδραση μεταξύ τους. Σύμφωνα με μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι:

Υπάρχουν μύκητες που όταν βρεθούν με άλλους επηρεάζουν την επίδραση των τελευταίων στο φυτό ανάλογα πάντα και το υπόστρωμα στο οποίο βρίσκονται. Ένας κοινός σαπροφυτικός μύκητας, ο *Clonostachys rosea*, όταν εμβολιασθεί σε ρίζα τομάτας σε απλό υπόστρωμα τότε ο μύκητας αυτός αυξάνει την ανάπτυξη του φυτού καθώς και την πρόσληψη φωσφόρου, όμως μειώνει την πρόσληψη αζώτου. Στην ίδια μελέτη μια μυκόρριζα του γένους *Glomus* ο *Glomus intraradices* όταν εμβολιασθεί στις ρίζες τομάτας δεν προκαλεί καμία επίδραση στην ανάπτυξη του φυτού παρά μόνο αυξάνει την συγκέντρωση φωσφόρου. Όταν όμως υπήρξε ταυτόχρονος εμβολιασμός, τότε εμφανίσθηκαν τα αποτελέσματα της δράσης του μύκητα *C. Rosea* δηλαδή αύξηση της ανάπτυξης του φυτού και της πρόσληψης φωσφόρου (Ravnskov et al, 2006).

Στην ίδια μελέτη προστέθηκαν στο υπόστρωμα και πίτουρα σιταριού. Τα συγκεκριμένα χρησιμοποιούνται ως θρεπτικό μέσο και έχει παρατηρηθεί σε διάφορα άλλα πειράματα ότι παρουσία τους υπάρχει θετική αλληλεπίδραση μεταξύ μυκήτων και μυκορριζών και συγκεκριμένα πληθυσμιακή αύξηση του AMF σε φυτά αγγουριού (Ravnskov et al, 1999).

Στο συγκεκριμένο πείραμα αποδείχθηκε ότι, η παρουσία πίτουρου στο υπόστρωμα παρόντος του *C. rosea* προκάλεσε μεν αύξηση στον πληθυσμό του μύκητα, στη ρίζα όμως μειώθηκε ο αποικισμός της από τον μυκορριζικό μύκητα. Ο *C.rosea* και ο *G.intraradices* ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι του πίτουρου αναστέλλουν τον μεταξύ τους αποικισμό στη ρίζα. Επίσης και οι δύο επιδρούν στη μικροβιακή κοινότητα του φυτού. Συγκεκριμένα ο *Glomus intraradices* μπορεί να επιδράσει ανεξάρτητα από την παρουσία του πίτουρου, ενώ στον *Clonostachys rosea* η παρουσία πίτουρου έχει σαν αποτέλεσμα να μειώνεται ο μικροβιακός πληθυσμός, ενώ απουσία πίτουρου να αυξάνεται. (Ravnskov et al, 2006). Σαν αποτέλεσμα φαίνεται ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ ενδοφυτικού μύκητα και μυκόρριζας και συγκεκριμένα η δράση τους σε φυτά τομάτας είναι συνεργιστική και δρουν στην κατεύθυνση της επίδρασης του μύκητα *C. Rosea*.

Θετική αλληλεπίδραση μεταξύ βακτηρίων και μυκορριζικών μυκήτων έχει αποδειχθεί και σε όξινα εδάφη. Ο J. Widada το 2002 τοποθέτησε σόργο

σε όξινο έδαφος. Στην συνέχεια, χρησιμοποίησε κατηγορίες ριζοβακτηρίων όπως βακτήρια που διαλύουν το φώσφορο (PSB) και συγκεκριμένα το *Pseudomonas* sp., βακτήρια που καθορίζουν το άζωτο (NFB) όπου χρησιμοποιήθηκε το *Azospirillum lipoferum* και σιδηροφόρα βακτήρια (SPB) όπως το *Pseudomonas fluorescens*. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν οι μυκορριζικοί μύκητες *Glomus manihoti* και ο *Entrophospora colombiana*. Κατά τον αποικισμό μόνο βακτηρίων στα φυτά διαπιστώθηκε αύξηση της βιομάζας του φυτού καθώς και περαιτέρω πρόσληψη θρεπτικών όπως N, P, Fe και Zn. Παρόμοια αποτελέσματα υπήρξαν και με τον αποικισμό των μυκορριζικών μυκήτων. Όταν εμβολιάστηκαν ταυτόχρονα οι μύκητες και τα βακτήρια παρουσιάστηκε περαιτέρω αύξηση της βιομάζας του φυτού και πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων. Συγκεκριμένα, με τον συνδυασμό του μύκητα και του PSB υπήρξε αύξηση κατά 112 φορές, ενώ μύκητας και NFB προκάλεσε αύξηση κατά 64 φορές και τέλος ο συνδυασμός μύκητα με SPB κατά 60 φορές.

Αλληλεπίδραση έχει παρατηρηθεί και μεταξύ βακτηρίων και μυκορριζών παρουσία παθογόνου μύκητα. Δύο ριζοβακτήρια ο *Pseudomonas fluorescens* SBW25 και ο *Paenibacillus brasilensis* PB177 έχουν διαφορετική προστατευτική δράση όταν προστεθούν ξεχωριστά σε χειμερινό σιτάρι το οποίο είναι προηγουμένως εμβολιασμένο με το παθογόνο μύκητα *Microdochium nivale*. Ο συγκεκριμένος μύκητας, προκαλεί τη ροζ μούχλα στα φυτά σιταριού και ιδιαίτερα το χειμώνα. Στο συγκεκριμένο πείραμα φάνηκε ότι η προσθήκη δύο διαφορετικών μυκορριζών του *G. intraradices* στο σιτάρι δίνει διαφορετικά αποτελέσματα στην συμβίωση τους με τα βακτήρια. Ο *G. intraradices* αυξάνει τη φυτική μάζα των, εμβολιασμένων με το παθογόνο, φυτών και έχει προστατευτική δράση. Παρουσία του βακτηρίου *Paenibacillus brasilensis* PB177 η προστατευτική δράση της μυκορριζας φαίνεται να αναστέλλεται. Επίσης, παρουσία του βακτηρίου *Pseudomonas fluorescens* SBW25 φαίνεται ότι η μυκορριζα διατηρεί τη προστατευτική δράση της έναντι του μύκητα. (Jaderlund et al, 2008). Σαν αποτέλεσμα φάνηκε ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ μύκητα και μυκορριζας σε

φυτά σιταριού έχουν διαφορετική εξέλιξη παρουσία διαφορετικών βακτηρίων.

Στη ριζόσφαιρα υπάρχει μεγάλος αριθμός διαφορετικών μικροοργανισμών που μπορούν να αποικίσουν τα φυτά επηρεάζοντας θετικά ή αρνητικά το φυτό. Ο ανταγωνισμός μεταξύ των μικροοργανισμών στον αποικισμό ενός φυτού φαίνεται και στο παρακάτω πείραμα. Ένα μη παθογόνο στέλεχος του *Fusarium oxysporum*, το Fo 162, είναι γνωστό ότι εμποδίζει τον αποικισμό του φυτού τομάτας από παρασιτικούς νηματώδεις (Hallmann and Sikora, 1994). Επίσης, ένας μυκορριζικός μύκητας ο *Glomus coronatum* όταν προστεθεί σε φυτά τομάτας έχει προστατευτική δράση έναντι του νηματώδη *Meloidogyne incognita*. Σε πείραμα που έγινε, παρατηρήθηκε ότι ο ξεχωριστός εμβολιασμός του μύκητα και της μυκόρριζας σε φυτά τομάτας παρουσία του νηματώδη *Meloidogyne incognita* έχουν προστατευτική δράση έναντι του νηματώδη και συγκεκριμένα αναστέλλουν την ανάπτυξη του. Όμως, όταν το στέλεχος του μύκητα και ο μυκορριζικός μύκητας εισέλθουν ταυτόχρονα, όχι μόνο δεν αναστέλλουν την δράση του νηματώδη αλλά ταυτόχρονα αυξάνουν τον αποικισμό του στο φυτό. Σαν αποτέλεσμα δηλαδή φαίνεται ότι η αλληλεπίδραση του μύκητα και της μυκόρριζας στο φυτό δρα ανασταλτικά για το φυτό και συγκεκριμένα μπορεί να βοηθήσει τη δράση άλλου παθογόνου οργανισμού (Diedhiou et al, 2002).

Η αλληλεπίδραση μυκήτων με μυκόρριζες ποικίλλουν ανάλογα με τα είδη των μυκήτων καθώς και με τα φυτά στα οποία αποικίζουν. Ο S. Fracchia το 1999 δοκίμασε διαφορετικά είδη μυκορριζικών μυκήτων του γένους *Glomus* σε συνδυασμό με διαφορετικά στελέχη του μύκητα *Fusarium oxysporum* σε φυτά όπως αραβόσιτο, σόργο, μαρούλι, ντομάτα, σιτάρι, φακή και μπιζέλι. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι προσθέτοντας το μυκορριζικό μύκητα, εμφάνισε θετικά αποτελέσματα το μπιζέλι, ενισχύοντας περισσότερο την αύξηση του φυτού και τον αποικισμό του από τη μυκόρριζα. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγήθηκαν και στον ταυτόχρονο εμβολιασμό του φυτού με το *Fusarium oxysporum* σε συνδυασμό με τον μυκορριζικό μύκητα. Συγκεκριμένα, προσθέτοντας τον μύκητα, ενισχύθηκε η επιβίωση του φυτού του μπιζελιού ενδεχομένως δρώντας θετικά παρουσία των μυκορριζικών

μυκήτων. Η αλληλεπίδραση του ενδοφυτικού και μυκορριζικού μύκητα στο μπιζέλι είχε ως αποτέλεσμα να αυξηθούν το ξηρό βάρος των υπέργειων τμημάτων του φυτού και η συγκέντρωση αζώτου και φωσφόρου καθώς και το επίπεδο αποικισμού τόσο των ενδογενών όσο και των προστιθέμενων μυκορριζικών μυκήτων.

Οι μύκητες ποικίλλουν ανάλογα με τη δράση τους στο φυτό. Υπάρχουν παθογόνοι (τα περισσότερα στελέχη του *Fusarium oxysporum*) και ανταγωνιστικοί μύκητες που άλλοτε δρουν θετικά και άλλοτε αρνητικά για το φυτό. Υπάρχει όμως και μια κατηγορία μυκήτων που προάγουν την ανάπτυξη του φυτού. Αυτή η κατηγορία γνωστή και ως PGPF (plant growth promoting fungi) απαρτίζεται από μη παθογόνους μύκητες, η παρουσία των οποίων στα φυτά προάγει την ανάπτυξη τους και την προστασία τους από διάφορες ασθένειες (Hyakumachi, 1994). Επίσης, οι μύκητες όπως ο *Phoma* sp. και *Penicillium simplicissimum* που ανήκουν σε αυτή τη κατηγορία, δρουν θετικά έναντι του *Colletotrichum orbiculare* που δρα κυρίως στα φυτά αγγουριού. Φυτά αγγουριού παρουσία του παθογόνου *Colletotrichum orbiculare* εμβολιάσθηκαν ταυτόχρονα με PGPF μύκητες (*Phoma* sp. και *Penicillium simplicissimum*) και του μυκορριζικού μύκητα, συγκεκριμένα τον *Glomus mosseae*. Από το πείραμα φάνηκε ότι ενώ οι μύκητες ξεχωριστά έχουν θετική επίδραση έναντι του παθογόνου, σε συνδυασμό με τον μυκορριζικό μύκητα όχι μόνο δεν αύξησαν την θετική τους επίδραση στο φυτό αλλά αντιθέτως μείωσαν την προστασία τους έναντι στο παθογόνο (Chandanie et al, 2005).

Γενικά, τα αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης μυκορριζικών μυκήτων με παθογόνους μύκητες ποικίλουν ανάλογα το είδος των μυκήτων, το φυτό ξενιστή καθώς και το έδαφος στο οποίο επιβιώνουν. Η αλληλεπίδραση των μυκήτων αυτών πολλές φορές είναι θετική. Ο *Phoma terrestris* που προσβάλλει το κρεμμύδι, όταν αλληλεπιδράσει με μυκορριζικό μύκητα μειώνεται η προσβολή του στο φυτό (Becker, 1976). Παρόμοιο αποτέλεσμα φαίνεται και στην αλληλεπίδραση του *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* με μυκορριζικό μύκητα σε φυτά αγγουριού (Dehne, 1982). Επίσης, ο παθογόνος μύκητας του καπνού, *Thielaviopsis basicola* όταν

Βρεθεί σε περιβάλλον μυκόρριζας παρατηρήθηκε εκτός της μείωσης της ζημιάς που προκαλεί στο φυτό και μείωση της αναπαραγωγής του (Baltruschat and Schonbeck, 1972).

Η αλληλεπίδραση του παθογόνου με το μυκορριζικό μύκητα πολλές φορές είναι αρνητική για το φυτό. Αυτό διέπεται από έναν κανόνα: «ότι είναι καλό για το φυτό είναι καλό και για τον μύκητα». Έτσι, φυτά που δημιουργούν μυκόρριζες είναι πιο πιθανόν να προσβληθούν από παθογόνους μύκητες λόγω της αυξημένης πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων και της περαιτέρω ανάπτυξης τους. Το φυτό αβοκάντο όταν δημιουργεί μυκορριζικές σχέσεις, σε τυχόν προσβολή του από το παθογόνο μύκητα *Phytophthora cinnamomi*, παρατηρείται αυξημένη προσβολή καθώς και προκαλείται μεγαλύτερη ζημιά στο φυτό (Davis et al, 1978). Παρόμοιο αποτέλεσμα έχει φανεί και στην επίδραση του *P. parasitica* όταν προσβάλλει εσπεριδοειδή παρουσία μυκορριζικού μύκητα. (Davis et al, 1978).

Υπάρχουν και περιπτώσεις όπου ο παθογόνος και ο μυκορριζικός μύκητας δεν αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και δεν επηρεάζεται η δράση τους στο φυτό. Οι Zambolin και Schenck το 1981 ερεύνησαν την αλληλεπίδραση των μυκήτων *Rhizoctonia solani* και *Fusarium solani* με μυκορριζικούς μύκητες σε φυτά σόγιας. Το συμπέρασμα τους ήταν ότι δεν υπήρξε καμία αλληλεπίδραση μεταξύ των μυκήτων καθώς δεν παρατηρήθηκε προσβολή και ζημιά στο φυτό.

1.1.5.1.6.1. *Trichoderma* spp.

Το γένος *Trichoderma* περιλαμβάνει είδη μη μολυσματικών συμβιωτών των ανώτερων φυτών, είδη που παρασιτούν σε άλλους μύκητες και είδη που είναι περιστασιακά παθογόνα. Αποτελούν το πιο συχνά απομονωμένο γένος μυκήτων από το έδαφος και οι περισσότεροι, από τα ανταγωνιστικά στελέχη, αναπαράγονται αγενώς.

Μελέτες δείχνουν, πως η δράση των μυκήτων του γένους *Trichoderma* κατά των παθογόνων μυκήτων μπορεί να εμπλέκει έμμεσους μηχανισμούς

που μοιάζουν στην επίκτητη διασυστηματική ανθεκτικότητα και την επαγόμενη από ριζοβακτήρια διασυστηματική αντοχή. Το 1997, ο Bigirimana et al., έδειξε πως η εφαρμογή του στελέχους *Trichoderma harzianum* T-39 στο έδαφος οδήγησε στην αντίσταση των φύλλων του φασολιού στην ασθένεια που προκαλούν οι μύκητες *B. cinerea* και *C. lindemuthianum*.

Παράλληλα, σύμφωνα με μελέτες, υπάρχουν τρεις κατηγορίες μορίων που παράγονται από τα είδη *Trichoderma*, όπως πρωτεΐνες με ενζυματική δράση που διεγείρουν τη βιοσύνθεση αιθυλενίου, πρωτεΐνες που δραστηριοποιούν τους μηχανισμούς αντοχής και αφορούν κυρίως την αντίδραση υπερευαισθησίας, καθώς και διάφορα ολιγοσακχαρίδια που λειτουργούν ως διεγέρτες (elicitors) και επάγουν μηχανισμούς αντοχής στα φυτά. Ακόμη, υπάρχουν μύκητες που παρασιτούν σε άλλους παθογόνους μύκητες και παράγοντας ένζυμα αποικοδομούν το κυτταρικό του τοίχωμα, θανατώνοντάς τα.

Τέλος, εκτός της προστατευτικής του δράσης, ο αποικισμός του ριζικού συστήματος από είδη αυτού του γένους, συχνά ενισχύει την ανάπτυξη των ριζών, την παραγωγικότητα της καλλιέργειας, την αντοχή στην αβιοτική καταπόνηση και την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων.

1.1.5.1.6.2. *Fusarium oxysporum*

Τα περισσότερα στελέχη του *Fusarium oxysporum* έχουν παθογόνο δράση. Εντούτοις έχει ανακαλυφθεί ένα μη παθογόνο στέλεχος το Fo 47 το οποίο δρα ενάντια σε ασθένειες που προκαλούνται από φουσάρια και αποδίδεται κυρίως στον ανταγωνισμό τους για θρεπτικά στοιχεία (Duijff et al., 1998).

Ο εμβολιασμός ριζών φασολιού με το στέλεχος αυτό περιόρισε την ανάπτυξη του παθογόνου μύκητα *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, στην επιδερμίδα και τον εξωτερικό φλοιό της ρίζας (Benhamou and Garand, 2001). Ο αποικισμός της ρίζας από το ανταγωνιστικό στέλεχος φουζαρίου προκάλεσε την απόθεση ενός αδιαπέραστου υλικού, που περικύκλωνε τις

υφές του παθογόνου μύκητα και το οποίο συσσωρευόταν στα απρόσβλητα αγγεία του ξύλου. Το γεγονός αυτό μαρτυρά, ότι οι ρίζες του ξενιστή σηματοδοτήθηκαν ώστε να αντισταθούν στην εισβολή μέσω της άμεσης διέγερσης μιας αλληλουχίας μη εξειδικευμένων αμυντικών αντιδράσεων.

1.1.5.2.ΡΙΖΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΠΡΩΑΓΟΥΝ ΤΗ ΦΥΤΙΚΗ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ (PGPR)

Τα ριζοβακτήρια (rhizobacteria) είναι βακτήρια εδάφους τα οποία αποικίζουν τη ριζόσφαιρα και αλληλεπιδρούν με το έδαφος, τους μικροοργανισμούς και τα διάφορα φυτικά είδη. Σύμφωνα με τον Hiltner (1904), ως ριζόσφαιρα ορίζεται η περιοχή του εδάφους η οποία επηρεάζεται από το ριζικό σύστημα των φυτών. Η παρουσία ριζοβακτηρίων στη ριζόσφαιρα μπορεί να έχει θετική, αρνητική ή ουδέτερη επίδραση στην ανάπτυξη των φυτών (Antoun and Prévost, 2005). Περίπου 2 έως 5 % των ριζοβακτηρίων, επηρεάζουν θετικά την ανάπτυξη των φυτών και ονομάζονται ριζοβακτήρια που προάγουν τη φυτική ανάπτυξη (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR). Ο όρος "PGPR" χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1978 από τους Kloepper και Schroth για να περιγράψουν ριζοβακτήρια που προήγαν σημαντικά τη φυτική ανάπτυξη σε ραπανάκια (*Raphanus sativus*), (Kloepper and Schroth, 1978). Υπάρχουν βέβαια και περιπτώσεις εδαφών, όπου τα PGPR απαντώνται σε υψηλότερα ποσοστά, όπως για παράδειγμα σε ορισμένα επισχετικά εδάφη (suppressive soils), (Antoun and Kloepper, 2001). Ως επισχετικό ορίζεται το έδαφος εκείνο στο οποίο το παθογόνο δεν μπορεί να εγκατασταθεί, είτε εγκαθίσταται προκαλώντας αμελητέα έως καθόλου προσβολή, είτε εγκαθίσταται προκαλώντας ασθένεια για κάποιο χρονικό διάστημα, η ένταση της οποίας μειώνεται σημαντικά με την πάροδο του χρόνου παρόλο που το παθογόνο μπορεί να υπάρχει στο έδαφος (Cook and Baker, 1983).

Τα PGPR χρησιμοποιούν έναν ή περισσότερους μηχανισμούς δράσης για να προάγουν την αύξηση των φυτών. Οι μηχανισμοί έχουν είτε άμεση επίδραση στην ανάπτυξη των φυτών, είτε την προάγουν έμμεσα προστατεύοντας τα φυτά από παθογόνους μικροοργανισμούς (Sraeren et al., 2009). Στους άμεσους τρόπους δράσης περιλαμβάνονται η έκκριση φυτοορμονών, η διαλυτοποίηση ανόργανων ουσιών που βρίσκονται σε αδιάλυτη μορφή, όπως ο φώσφορος, και η αυξημένη πρόσληψη απαραίτητων για τα φυτά θρεπτικών στοιχείων (Vessey, 2003). Στη διεθνή βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί διάφοροι έμμεσοι μηχανισμοί προαγωγής της ανάπτυξης από PGPR, όπως η παραγωγή αντιβιοτικών ουσιών, η επαγόμενη διασυστηματική ανοχή στα φυτά (Induced Systemic Resistance, ISR) και ο ανταγωνισμός με φυτοπαθογόνα για θρεπτικά στοιχεία και θέσεις αποικισμού (Kloepper et al., 2004).

Με βάση τις ιδιότητες που παρουσιάζουν τα PGPR, ο Somer και οι συνεργάτες του (2004) ταξινόμησαν τα PGPR σε διάφορες κατηγορίες. Συγκεκριμένα, τα κατέταξαν σε βιολογικά λιπάσματα (biofertilizers) όταν αυξάνουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων στα φυτά, φυτοδιεγέρτες (phytostimulators) όταν προάγουν την ανάπτυξη κυρίως μέσω της παραγωγής φυτοορμονών, ριζοαποθεραπευτές (rhizoremediators) όταν αποδομούν οργανικούς ρύπους, και βιολογικά γεωργικά φάρμακα (biopesticides) όταν παρέχουν προστασία από φυτοπαθογόνα κυρίως μέσω της παραγωγής αντιμικροβιακών ουσιών και της πρόκλησης ISR (Induced Systemic Resistance). Στελέχη PGPR μπορούμε να συναντήσουμε σε πολλά και διαφορετικά γένη βακτηρίων. Συγκεκριμένα, τα γένη *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Gordonia*, *Klebsiella*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων και PGPR (Glick, 1995). Από τα παραπάνω γένη, τα *Bacillus* spp. και *Pseudomonas* spp. είναι τα πιο ευρέως διαδεδομένα και έχουν μελετηθεί εκτεταμένα από τους επιστήμονες.

Αξίζει να αναφερθεί στο σημείο αυτό ότι παρόλη την ονομασία “PGPR”, τα συγκεκριμένα βακτήρια δεν προάγουν πάντα την ανάπτυξη των φυτών. Ένα βακτήριο που προάγει την ανάπτυξη ενός φυτικού είδους, ενδέχεται να

μην έχει καμία επίδραση ή να έχει και αρνητική επίδραση (deleterious effect) στην ανάπτυξη άλλων φυτών. Επίσης ένα βακτήριο που προάγει τη φυτική ανάπτυξη σε συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες μπορεί να μην έχει καμία επίδραση ή ακόμη και να μειώσει την αύξηση του ίδιου φυτού κάτω από διαφορετική συνθήκες ανάπτυξης (Tuzun and Bent, 1999). Στην περίπτωση που τα ριζοσφαιρικά βακτήρια οδηγούν σε μείωση της ανάπτυξης του φυτού ονομάζονται επιβλαβή ριζοβακτήρια (deleterious rhizobacteria), (Nehl et al., 1997). Η μείωση αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους μηχανισμούς, όπως: παραγωγή φυτοορμονών που επιβραδύνουν την ανάπτυξη, ανταγωνισμό με το φυτό για θρεπτικά στοιχεία, παραγωγή φυτοτοξικών ουσιών κ.ά. Κάποια λοιπόν PGPR μπορεί σε διαφορετικό περιβάλλον να λειτουργήσουν ως ανασταλτικά για τα φυτά (Nehl et al., 1997). Απαραίτητη λοιπόν κρίνεται η γνώση της βιοοικολογίας των βακτηρίων PGPR σε διαφορετικές συνθήκες και ξενιστές.

1.1.5.2.1. Η περιοχή της ριζόσφαιρας

Ο όρος «ριζόσφαιρα» αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Lorenz Hiltner το 1904 (Hiltner, 1904). Στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας, λαμβάνουν χώρα πολύ σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φυτών, μικροοργανισμών και εδάφους. Σύμφωνα με τον Sorensen (1997) η ριζόσφαιρα, ο όγκος δηλαδή του εδάφους που περιβάλλει τη ρίζα και επηρεάζεται χημικά, φυσικά και βιολογικά από αυτή, αποτελεί ένα ιδιαίτερα ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη διαφόρων μικροοργανισμών, επιδρώντας σημαντικά στην ευρωστία των φυτών και στη γονιμότητα του εδάφους.

Κατά τη διάρκεια βλάστησης των σπόρων και ανάπτυξης των φυταρίων, το αναπτυσσόμενο φυτό αλληλεπιδρά με ένα μεγάλο εύρος μικροοργανισμών που βρίσκεται στο έδαφος που το περιβάλλει. Η αύξηση των ριζών και η παράλληλη έκκριση οργανικών ουσιών, τις οποίες χρησιμοποιούν οι μικροοργανισμοί της ριζόσφαιρας ως θρεπτικά στοιχεία,

αποτελούν την κινητήρια δύναμη για την ανάπτυξη ενεργών μικροβιακών πληθυσμών στη ζώνη της ρίζας και του περιβάλλοντος εδάφους (Morgan and Whipps, 2001). Γενικά, υπάρχουν τρία διαφορετικά μέρη που απαρτίζουν την περιοχή της ριζόσφαιρας: η ρίζα, η επιφάνεια της ρίζας (rhizoplane) και το έδαφος που περιβάλλει άμεσα τη ρίζα (Nihorimbere et al., 2011).

Το φαινόμενο της ριζικής έκκρισης (root exudation) αναφέρεται στην έκκριση οργανικών ουσιών από τις ζωντανές φυτικές ρίζες προς το περιβάλλον έδαφος και ο ρυθμός της έκκρισης διαφέρει ανάλογα με το φυτικό είδος και τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Jones and Darrah, 1995). Η μελέτη της χημικής σύστασης και της συγκέντρωσης των ριζικών εκκρίσεων στο έδαφος είναι ιδιαίτερα δύσκολη σε φυσικές συνθήκες, παρουσία της ενδογενούς μικροβιακής κοινότητας. Ανάλογες, επομένως, μελέτες πραγματοποιούνται με ανάπτυξη φυτών σε ασηπτικές συνθήκες (Stolp, 1988).

Οι ριζικές εκκρίσεις συνήθως ταξινομούνται σε δυο κατηγορίες ουσιών. Σε μικρού μοριακού βάρους ουσίες, όπως για παράδειγμα αμινοξέα, οργανικά οξέα, σάκχαρα, φαινόλες και άλλους δευτερογενείς μεταβολίτες, και μεγάλου μοριακού βάρους εκκρίσεις όπως πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες (Bais et al., 2006). Η ποιοτική και ποσοτική σύσταση των ριζικών εκκρίσεων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως το φυτικό είδος, η ποικιλία και η ηλικία του φυτού, από πολλούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως pH εδάφους, τύπο εδάφους, συγκέντρωση οξυγόνου, ένταση φωτός, θερμοκρασία εδάφους, διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων καθώς και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτών και μικροοργανισμών. Οι ριζικές εκκρίσεις έχουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του φυτού, αφού περιλαμβάνουν ουσίες που μειώνουν την τριβή μεταξύ ακροριζίου (καλύπτρα) και εδάφους, βελτιώνουν την επαφή μεταξύ ρίζας και εδαφικού διαλύματος, αυξάνουν τη διαλυτοποίηση ή και την απορρόφηση διαφόρων ανόργανων στοιχείων κ.ά. Παράλληλα όμως προσελκύουν και διάφορους μικροοργανισμούς τους εδάφους τόσο ωφέλιμους όσο και παθογόνους και συνεπώς καθορίζουν τη μικροβιακή σύσταση της ριζόσφαιρας.

Ένα μεγάλο ποσοστό του συνόλου των προϊόντων της φωτοσύνθεσης εκκρίνεται από τις ρίζες των φυτών προς το έδαφος (Brimecombe et al., 2007). Εξαιτίας των ριζικών εκκρίσεων, η περιοχή της ριζόσφαιρας είναι πλουσιότερη σε θρεπτικά στοιχεία σε σύγκριση με τον κύριο όγκο του εδάφους. Έχει αναφερθεί ότι ο πληθυσμός των βακτηρίων στη ριζόσφαιρα είναι από 10-100 φορές μεγαλύτερος από τον πληθυσμό στο υπόλοιπο έδαφος και ότι έως 15 % της επιφάνειας της ρίζας μπορεί να καλύπτεται από αποικίες διαφόρων βακτηριακών στελεχών (Sraeren et al., 2009; Van Loon, 2007). Η μικροχλωρίδα της ριζόσφαιρας περιλαμβάνει βακτήρια, μύκητες, νηματώδεις, πρωτόζωα, φύκη και μικροαθρόποδα (Raaijmakers et al., 2009). Τα βακτήρια αποτελούν την πολυπληθέστερη κατηγορία μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας. Παρόλο που οι μύκητες αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της μικροβιακής βιομάζας του εδάφους, τα βακτήρια θεωρούνται το ενεργότερο κλάσμα λόγω των μικροσκοπικών τους διαστάσεων σε συνδυασμό με τον υψηλό πληθυσμό και την υψηλή ταχύτητα πολλαπλασιασμού τους.

Το μέγεθος και η σύνθεση της μικροβιακής κοινότητας της ριζόσφαιρας εξαρτάται τόσο από την ποσότητα και τη σύσταση των ριζικών εκκρίσεων όσο και από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μικροοργανισμών (Somers et al., 2004). Ο ανταγωνισμός στην περιοχή της ριζόσφαιρας είναι ιδιαίτερα έντονος, εξαιτίας της ύπαρξης μεγάλου αριθμού μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί της ριζόσφαιρας αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με διάφορους μηχανισμούς, οι οποίοι μάλιστα παίζουν σημαντικό ρόλο στη βιολογική καταπολέμηση φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών.

1.1.5.2.2. Αλληλεπιδράσεις μικροοργανισμών στη ριζόσφαιρα

Στην περιοχή της ριζόσφαιρας, στα ανώτερα φυτά, αναπτύσσονται σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτού, εδάφους και μικροοργανισμών.

Οι αλληλεπιδράσεις αυτές έχουν τεράστια σημασία για τη γεωργική παραγωγή, αφού στην περιοχή αυτή υπάρχουν όχι μόνο τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία για την ανάπτυξη των φυτών αλλά και σημαντικός αριθμός παθογόνων μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί λοιπόν του εδάφους αναπτύσσουν διάφορους μηχανισμούς τους οποίους αξιοποιούν τα φυτά περιορίζοντας τις επιδράσεις των εδαφογενών παθογόνων και οι οποίοι παίζουν καταλυτικό ρόλο στη βιολογική καταπολέμηση φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών.

Στην περίπτωση εδαφογενών παθογόνων, η βιολογική καταπολέμηση έχει οριστεί ως «η μείωση της ποσότητας ενός παθογόνου ή παρασίτου ή η εξασθένηση των λειτουργιών οι οποίες σχετίζονται με την προσβολή, σε οποιοδήποτε στάδιο του βιολογικού του κύκλου, από έναν ή περισσότερους οργανισμούς, με τρόπο φυσικό, ή με χειρισμούς στο περιβάλλον, το ξενιστή ή τον ανταγωνιστή, ή με μαζική εισαγωγή ενός ή περισσότερων ανταγωνιστών» (Cook and Baker, 1983). Οι οργανισμοί αυτοί ονομάζονται βιολογικοί παράγοντες (biocontrol agents ή biological control agents).

Οι κύριοι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη βιολογική καταπολέμηση εδαφογενών φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών είναι οι ακόλουθοι:

Ι. Ανταγωνισμός

Ο ανταγωνισμός μεταξύ βιολογικών παραγόντων και παθογόνων είναι γνωστός εδώ και πολλά χρόνια ως μηχανισμός βιολογικού ελέγχου των ασθενειών (Duijff et al., 1993). Η ανταγωνιστική αυτή σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών μπορεί να αφορά τη διαθεσιμότητα σε χώρο, ανόργανα στοιχεία και άλλους αβιοτικούς παράγοντες οι οποίοι βρίσκονται σε περιοριστικές συγκεντρώσεις στο εδαφικό διάλυμα. Ο παράγοντας βιολογικού ελέγχου καταλαμβάνει την οικοθέση του παθογόνου, την οποία και εξαντλεί από συστατικά απαραίτητα για την αύξηση του παθογόνου παρεμποδίζοντας την εγκατάστασή του. Αρκετοί μη παθογόνοι μικροοργανισμοί, παρέχουν προστασία στα φυτά εξαιτίας της ικανότητάς τους να αποικίζουν γρηγορότερα την περιοχή της ριζόσφαιρας σε σύγκριση με τα φυτοπαθογόνα και να εκμεταλλεύονται

σημαντικά στοιχεία της ριζόσφαιρας. Για παράδειγμα, ο ανταγωνισμός για θρεπτικά στοιχεία, και ιδιαίτερα άνθρακα, έχει βρεθεί ότι επιδρά στη μολυσματική ικανότητα του παθογόνου, αναστέλλοντας τη βλάστηση των σπορίων μυκήτων στο έδαφος, αφού δεν μπορούν να προσλάβουν τις ουσίες που απαιτούνται για τη διέγερση της βλάστησης (Alabouvette et al., 2006).

II. Υπερπαρασιτισμός και παραγωγή υδρολυτικών ενζύμων

Ορισμένοι βιολογικοί παράγοντες έχουν την ικανότητα να εμποδίζουν την εξάπλωση μιας ασθένειας παρασιτώντας το φυτοπαθογόνο μικροοργανισμό. Στην περίπτωση αυτή ο παράγοντας βιολογικού ελέγχου παρασιτεί άμεσα και καταστρέφει είτε το παθογόνο είτε τις μονάδες παραγωγής του (σπόρια, σκληρώτια κ.ά.), αντλώντας απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία. Έχουν αναφερθεί διάφοροι υπερπαρασίτοι μύκητες οι οποίοι προσβάλλουν φυτοπαθογόνους μύκητες, όπως για παράδειγμα μύκητες του γένους *Trichoderma* οι οποίοι παρασιτούν διάφορους εδαφογενείς μύκητες (Rey et al., 2001; Sivan et al., 1987) καθώς και στελέχη του είδους *Coniothirium minitans* τα οποία παρασιτούν υφές και σκληρώτια του φυτοπαθογόνου μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* (De Vrije et al., 2001). Σύμφωνα με τον Paravizas (1985), περιέλιξη και είσοδος των υφών του παρασίτου εντός των υφών του ξενιστή και εκροή ή συγκέντρωση πρωτοπλάσματος στο κέντρο των υφών είναι φαινόμενα που συνήθως παρατηρούνται σε περιπτώσεις παρασιτισμού μεταξύ μυκήτων. Επιπλέον τα παράσιτα παράγουν ένζυμα, όπως πρωτεάσες, χιτινάσες, γλουκανάσες, και τοξίνες με σκοπό τη λύση των υφών ή των ληθαργικών μορφών, όπως είναι τα σκληρώτια. Τα ένζυμα και οι τοξίνες συνήθως δρουν συνεργιστικά και ο μύκητας που δέχεται την επίθεση σύντομα υφίσταται αποδιοργάνωση του κυτταρικού τοιχώματος, απώλεια του πρωτοπλάσματος και τελικά καταστρέφεται (Chiu and Tzean, 1995).

III. Παραγωγή αντιβιοτικών ουσιών

Τα αντιβιοτικά είναι χημικές ουσίες που παράγονται από μικροοργανισμούς και μπορούν να μειώσουν ή να αναστείλουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών. Με την παραγωγή αντιβιοτικών ουσιών, ένας μικροοργανισμός, παρεμποδίζει την ανάπτυξη παθογόνων και προφυλάσσει την απαραίτητη για την επιβίωσή του οικοθέση. Η παραγωγή αντιβιοτικών ουσιών από ορισμένα βακτήρια του εδάφους έχει ιδιαίτερη σημασία στη βιολογική καταπολέμηση εδαφογενών φυτοπαθογόνων μυκήτων. Το φαινόμενο αυτό έχει μελετηθεί εκτεταμένα σε βακτήρια του γένους *Bacillus* spp. και *Pseudomonas* spp. Έχει προσδιοριστεί πληθώρα αντιβιοτικών που παράγονται από συγκεκριμένους μικροοργανισμούς, οι οποίοι χρησιμοποιούνται ως βιολογικοί παράγοντες, όπως για παράδειγμα ετεροκυκλικές αρωματικές ενώσεις (phenazine-1-carboxylic acid), πυρόλες (pyoluteorin, pyrrolnitrin), φαινόλες (2,4-diacetylphloroglucinol) και κυκλικά λιποπεπτίδια (iturin A). (Chin-A-Woeng et al., 1998; Kinsella et al., 2009).

Σε ορισμένες περιπτώσεις η επίδραση της αντιβίωσης στην καταπολέμηση εδαφογενών φυτοπαθογόνων αμφισβητείται. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι ουσίες αυτές σπάνια ανιχνεύονται στο έδαφος είτε επειδή δεσμεύονται ισχυρά στα κολλοειδή του εδάφους είτε επειδή αποδομούνται από τη μικροχλωρίδα του εδάφους. Επιπλέον το μέγεθος της επίδρασης των αντιβιοτικών ουσιών στους παθογόνους μικροοργανισμούς είναι δύσκολο να διαχωριστεί από την επίδραση άλλων μηχανισμών όπως ο ανταγωνισμός για θρεπτικά στοιχεία (Whirps, 2001). Παρόλα αυτά, σε πολλές βιβλιογραφικές αναφορές η επίδραση της παραγωγής αντιβιοτικών ουσιών από βακτήρια *in vitro* έχει επαληθευτεί και σε *in vivo* πειράματα. Οι δοκιμές αυτές περιλαμβάνουν σύγκριση της αποτελεσματικότητας καταπολέμησης στο έδαφος μεταξύ του βιολογικού παράγοντα που παράγει το αντιβιοτικό και μεταλλαγμένων ατόμων αυτού, που δεν παράγουν ή υπερεκφράζουν την παραγωγή αντιβιοτικού (Chin-A-Woeng et al., 1998), καθώς και απομόνωση του αντιβιοτικού παράγοντα και δοκιμή της αποτελεσματικότητάς του στο

έδαφος σε σχέση με το στέλεχος που το παράγει (Howell and Stipanovic, 1979).

1.1.5.2.3. Μηχανισμοί δράσης των PGPR

Η ευεργετική επίδραση των PGPR εκδηλώνεται στα διάφορα φυτικά είδη με προαγωγή της αύξησης συγκεκριμένων βιολογικών χαρακτηριστικών ανάπτυξης των φυτών (π.χ. μήκος, διάμετρος, νωπό και ξηρό βάρος βλαστού, αριθμός φύλλων, νωπό και ξηρό βάρος ρίζας) καθώς επίσης και της απόδοσής τους. Τα PGPR χρησιμοποιούν έναν ή ακόμη και περισσότερους διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης για να προάγουν την αύξηση των φυτών (direct plant growth promotion mechanisms), με την παραγωγή για παράδειγμα φυτοορμονών, είτε έμμεσα (indirect plant growth promotion mechanisms) προστατεύοντας τα φυτά από παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως για παράδειγμα με την παραγωγή αντιβιοτικών ουσιών (Podile and Kishore, 2006). Στην περίπτωση μάλιστα αυτή λειτουργούν ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου. Οι άμεσοι αλλά και οι έμμεσοι μηχανισμοί δράσης των PGPR περιγράφονται λεπτομερώς στις επόμενες παραγράφους.

1.1.5.2.3.1. Άμεσοι μηχανισμοί ενίσχυσης της

ανάπτυξης από PGPR

I. Παραγωγή φυτοορμονών

Οι φυτοορμόνες ή φυτικές ορμόνες (phytohormones ή plant hormones), οργανικές ενώσεις που σε μικρές συγκεντρώσεις λειτουργούν ως χημικά σήματα και ρυθμίζουν την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών, μπορούν να συντίθενται τόσο από τα ίδια τα φυτά όσο και από μικροοργανισμούς που βρίσκονται στην περιοχή της ριζόσφαιρας. Υπάρχουν πολλές αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία για βακτήρια που έχουν την ικανότητα να παράγουν

φυτικές ορμόνες στη ζώνη της ρίζας και να αυξάνουν επομένως την πυκνότητα και το μήκος του ριζικού συστήματος και συνεπώς τη συνολική βιομάζα των φυτών (Πίνακας 4). Η αύξηση αυτή στην επιφάνεια της ρίζας καθιστά αποτελεσματικότερη την πρόσληψη νερού και θρεπτικών στοιχείων αφού εκμεταλλεύονται μεγαλύτερο όγκο εδάφους.

Το ινδολοξικό οξύ (indole-3-acetic acid, IAA) είναι ίσως η πιο γνωστή φυτοορμόνη (αυξίνη) που παράγεται από PGPR και μάλιστα σε υψηλές συγκεντρώσεις (Barazani and Friedman, 1999). Φυτά που υπέστησαν μεταχείριση με στελέχη PGPR, που παράγουν IAA παρουσίασαν πλουσιότερο ριζικό σύστημα και μεγαλύτερη φυτική ανάπτυξη (Barazani and Friedman, 1999). Έχει αναφερθεί η παραγωγή και άλλων φυτοορμονών από PGPR αλλά σε μικρότερη έκταση. Ριζοβακτήρια που ανήκουν στα γένη *Azospirillum* και *Pseudomonas* spp. Παράγουν κυτοκίνινες και γιββερελίνες (γιββερελλικό οξύ, gibberellic acid, GA). (Gaudin et al., 1994). Τα βακτήρια *Bacillus pumilus* και *licheniformis* έχουν την ικανότητα παραγωγής γιββερελλικού οξέος (Gutierrez-Manero et al., 2001). Ωστόσο, δεν είναι ακόμη σαφής ο ρόλος των κυτοκινινών και γιββερελινών που παράγονται από PGPR στην προαγωγή της ανάπτυξης. Το αιθυλένιο είναι μια άλλη φυτική ορμόνη και η παραγωγή αιθυλενίου στα φυτά διεγείρεται σε συνθήκες καταπόνησης και προκαλεί μεταξύ άλλων και αναστολή στην ανάπτυξη των ριζών. Ο Glick και οι συνεργάτες του (1998) αναφέρουν ότι ορισμένα PGPR παράγουν το ένζυμο απαμινάση (deaminase) του 1-άμινο-κυκλοπρόπανο-1-καρβοξυλικού οξέος (ACC), το οποίο υδρολύει το ACC (πρόδρομη ουσία του αιθυλενίου) και επομένως μειώνεται η παραγωγή αιθυλενίου στη ρίζα και προάγεται έτσι η ανάπτυξη της.

Πίνακας 4. Παραδείγματα ριζοβακτηρίων προωθητικών της φυτικής ανάπτυξης (PGPR) που παράγουν φυτικές ορμόνες (Vessey, 2003).

Φυτική ορμόνη	PGPR	Ξενιστής	Βιβλιογραφική αναφορά
IAA ^a	<i>Aeromonas veronii</i>	Ρύζι	Mehnaz et al., 2001
	<i>Agrobacterium</i> sp.	Μαρούλι	Barazani and

Friedman, 1999			
Κυτοκινίνες	<i>Azospirillum brasilense</i>	Σιτάρι	Kaushik et al., 2000
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Ρύζι	Mehnaz et al., 2001
	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Σιτάρι	Timmusk et al., 1999
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Σόγια	De Salamone et al., 2001
Γιββερελίνες	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Alnus glutinosa</i>	Gutierrez-Manero et al., 2001
ACC απαμινάση ^b	<i>Bacillus pumillus</i>	<i>Brassica napus</i>	Belimov et al., 2001
	<i>Pseudomonas cepasia</i>	Σόγια	Cattelan et al., 1999
	<i>Pseudomonas putida</i>	Φασολιά	Mayak et al., 1999
	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Brassica napus</i>	Belimov et al., 2001

^aIAA: Indole-3-acetic acid (ινδολοξικό οξύ, αυξίνη).

^bACC απαμινάση: ένζυμο που διασπά το ACC (πρόδρομη ουσία του αιθυλενίου).

II. Διαλυτοποίηση φωσφορικών

Ο φώσφορος, μετά το άζωτο, είναι το δεύτερο σημαντικότερο μακροστοιχείο απαραίτητο για την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών. Ακόμη και σε πλούσια εδάφη, η μεγαλύτερη ποσότητα φωσφόρου είναι σε αδιάλυτη μορφή και μόνο σε μικρό ποσοστό (<5%) είναι διαθέσιμο στα φυτά. Στο έδαφος υπάρχουν βακτήρια (Phosphate Solubilizing Bacteria, PSB) που εκκρίνουν οργανικά οξέα και φωσφατάσες για να μετατρέψουν αδιάλυτες μορφές φωσφορικών αλάτων σε διαλυτές. Η διεργασία αυτή στη ριζόσφαιρα οδηγεί σε αύξηση του διαθέσιμου φωσφόρου στα φυτά και σε αύξηση της πρόσληψης. Διάφορα βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Erwinia* και *Enterobacter* spp. είναι πολύ αποτελεσματικά στη διαλυτοποίηση φωσφορικών αλάτων. Εντούτοις, οι αναφορές για

διαλυτοποίηση φωσφορικών ενώσεων από PGPR προς όφελος συγκεκριμένων φυτικών ειδών είναι περιορισμένες (Gyaneshwar et al., 2002; Idriss et al., 2002). Οι Idriss et al. (2002) για παράδειγμα αναφέρουν ότι η διαλυτοποίηση φωσφορικών αλάτων από το στέλεχος FZB45 του *Bacillus amyloliquefaciens* ενίσχυσε την ανάπτυξη του καλαμποκιού.

III. Πρόσληψη σιδήρου (Fe)

Παρόλο που ο σίδηρος είναι σε αφθονία στο έδαφος, η διαθεσιμότητά του στο εδαφικό διάλυμα είναι ιδιαίτερα μικρή. Τα βακτήρια λοιπόν έχουν αναπτύξει ένα μηχανισμό για αποτελεσματική πρόσληψη σιδήρου παράγοντας και εκκρίνοντας ουσίες που δημιουργούν χηλικές ενώσεις σιδήρου (iron-chelating) χαμηλού μοριακού βάρους, γνωστές ως σιδηροφόρους (siderophores). Οι ουσίες αυτές δεσμεύουν Fe^{3+} από το έδαφος και το μεταφέρουν στο εσωτερικό του κυττάρου. Η πρόσληψη του σιδήρου με τη βοήθεια σιδηροφόρων έχει μελετηθεί ιδιαίτερα σε PGPR του γένους *Pseudomonas* spp. αλλά και σε είδη *Azospirillum* spp. (Wang et al. 1993). Πολλά φυτικά είδη μπορούν να δεσμεύσουν το σίδηρο που προσλαμβάνεται με τη βοήθεια βακτηριακών σιδηροφόρων οι οποίοι μπορούν να αποτελέσουν πηγή σιδήρου για το φυτό, προάγοντας την ανάπτυξή του (Wang et al., 1993; Masalha et al., 2000).

IV. Πρόσληψη αζώτου (N)

Η επίδραση των PGPR στην πρόσληψη αζώτου και συνεπώς στην προαγωγή της ανάπτυξης έχει αναφερθεί από πολλούς ερευνητές (Abbasi et al., 2011; Adesemoye and Kloepper, 2009; Adesemoye et al., 2010). Πιθανότατα η προαγωγή της φυτικής ανάπτυξης οφείλεται σε εναλλακτικές επιδράσεις των βακτηρίων που οδηγούν σε αυξημένη συγκέντρωση αζώτου στο φυτό εξαιτίας της αύξησης της επιφάνειας του ριζικού συστήματος και όχι στην άμεση δέσμευση του αζώτου από το έδαφος μέσω των PGPR. Σε πρόσφατη έρευνα που έγινε με τα στελέχη *B. amyloliquefaciens* IN937a και *B. pumilus* T4, οι Adesemoye et al. (2009) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα PGPR προήγαγαν την ανάπτυξη των φυτών, αύξησαν την επιφάνεια των ριζών

και βελτίωσαν τη δομή τους. Το πλουσιότερο ριζικό σύστημα παρήγαγε μεγαλύτερες ριζικές εκκρίσεις οπότε υπήρχε και αυξημένη μικροβιακή δραστηριότητα έτσι ώστε τελικά μετά από μια σειρά γεγονότων περισσότερη ποσότητα αζώτου ήταν διαθέσιμη για πρόσληψη μέσω του ριζικού συστήματος. Τα ίδια όμως στελέχη δεν είχαν την ικανότητα να δεσμεύσουν άζωτο σε δοκιμές που έγιναν σε θρεπτικό υπόστρωμα JNFb.

1.1.5.2.3.2. Έμμεσοι μηχανισμοί ενίσχυσης της ανάπτυξης από PGPR

I. Παραγωγή αντιμυκητιακών μεταβολιτών (Antifungal Metabolites, AFMs)

Πρόκειται για οργανικές ουσίες, μικρού μοριακού βάρους, οι οποίες αναστέλλουν την ανάπτυξη ορισμένων μικροοργανισμών. Στους αντιμυκητιακούς μεταβολίτες ανήκουν και τα αντιβιοτικά. Ένας μεγάλος αριθμός βακτηρίων έχει βρεθεί ότι παράγει αντιβιοτικά δραστικά έναντι πολλών φυτοπαθογόνων μυκήτων τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε βιολογικοί παράγοντες. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι τα Gram(-) βακτήρια παράγουν τα αντιβιοτικά φεναζίνη-1-καρβοξυλικό οξύ (phenazine-1-carboxylic acid), φεναζίνη-1-καρβοξαμίδιο (phenazine-1-carboxamide), 2,4-διακέτυλο φλωρογλυκινόλη (2,4-diacetyl phloroglucinol), πυολουτεορίνη (pyoluteorin) και πυρολνιτρίνη (pyrrolnitrin). (Lugtenberg and Kamilova, 2009). Επίσης, οι ουσίες zwittermycin A και kanosamine που παράγονται από βακτήρια του είδους *Bacillus cereus* έχουν αντιμικροβιακή δράση. Επιπλέον σε έρευνες που έγιναν πρόσφατα βρέθηκε ότι τα αντιβιοτικά D-gluconic acid (Kaur et al., 2006) και 2-hexyl-5-propyl resorcinol (Cazorla et al., 2006) που παράγονται από είδη του γένους *Pseudomonas* ήταν αποτελεσματικά έναντι σημαντικών εδαφογενών ασθενειών.

II. Ανταγωνισμός για θρεπτικά στοιχεία και θέσεις αποικισμού

Ο ανταγωνισμός μεταξύ βιολογικών παραγόντων και παθογόνων για θρεπτικά στοιχεία και θέσεις αποικισμού στην περιοχή της ριζόσφαιρας είναι γνωστός εδώ και δεκαετίες ως μηχανισμός βιολογικού ελέγχου. Τα PGPR ανταγωνίζονται με τους φυτοπαθογόνους μικροοργανισμούς για την κατάληψη κατάλληλων θέσεων αποικισμού και θρεπτικών στοιχείων. Η εγκατάσταση υψηλών πληθυσμών PGPR στη ριζόσφαιρα θα πρέπει να συνοδεύεται από εκμετάλλευση των διαθέσιμων θρεπτικών στοιχείων από τα ίδια, περιορίζοντας τη διαθεσιμότητά τους για τα παθογόνα και συνεπώς την ικανότητα αποικισμού. Ο μηχανισμός αυτός χρησιμοποιείται κυρίως από PGPR του γένους *Pseudomonas* επειδή αναπτύσσουν πολύ υψηλούς πληθυσμούς στη ριζόσφαιρα και παρουσιάζουν μεγάλη προσαρμοστικότητα ως προς τις θρεπτικές τους απαιτήσεις (Walsh et al., 2001). Οι Kamilova et al. (2005) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι δεν αρκεί μόνο ο αποτελεσματικός αποικισμός της ρίζας από PGPR για επιτυχή βιολογική καταπολέμηση. Τα PGPR θα πρέπει να ανταγωνίζονται αποτελεσματικά τα παθογόνα και για θρεπτικά στοιχεία. Έρευνες έδειξαν ότι τα PGPR που παράγουν σιδηροφόρους, δεσμεύουν το διαθέσιμο Fe^{3+} του εδάφους και το σύμπλοκο που προκύπτει ευνοεί την ανάπτυξη του βακτηρίου και του φυτού-ξενιστή, ενώ παράλληλα η περιορισμένη διαθεσιμότητα σιδήρου αναστέλλει την ανάπτυξη των παθογόνων (O' Sullivan and O' Gara, 1992).

III. Παρασιτισμός και λύση κυττάρων

Ορισμένα PGPR έχουν τη δυνατότητα να παράγουν υδρολυτικά ένζυμα και να αποδομούν βασικά δομικά συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων παθογόνων μυκήτων, διαδικασία που είναι γνωστή ως παρασιτισμός. Τα σημαντικότερα υδρολυτικά ένζυμα των βακτηρίων είναι οι χιτινάσες και οι γλουκανάσες. Για παράδειγμα, τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* *cepacia* παράγουν γλουκανάσες και αναστέλλουν την ανάπτυξη σημαντικών εδαφογενών μυκήτων, όπως *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* και *Pythium ultimum* (Fridlender et al., 1993). Χιτινάσες με δράση έναντι μυκήτων έχουν απομονωθεί από τα είδη *Bacillus subtilis*, *Serratia*

marcescens, *Streptomyces plymuthica* και *Pseudomonas chlororaphis* (Chin-A-Woeng et al., 1998).

IV. Επαγόμενη διασυστηματική ανοχή (Induced Systemic Resistance, ISR)

Η αλληλεπίδραση ορισμένων PGPR με τις ρίζες των φυτών μπορεί να ενεργοποιήσει την ανάπτυξη διασυστηματικής ανοχής των φυτών σε παθογόνους μύκητες, βακτήρια και ιούς (Choudhary and Johri, 2009; Kloepper et al., 2004; Ryu et al., 2004; Vallad and Goodman, 2004). Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται επαγόμενη διασυστηματική ανοχή (Induced Systemic Resistance, ISR). Τόσο το γιασμονικό οξύ (jasmonic acid, JA) όσο και το αιθυλένιο (ethylene, ET) παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην ISR, η οποία, σε αντίθεση με τη SAR (Systemic Acquired Resistance) είναι ανεξάρτητη από τη συσσώρευση σαλικυλικού οξέος στα φυτά ή την παραγωγή πρωτεϊνών που σχετίζονται με την παθογένεση (Pathogenesis Related proteins, PR proteins). (Van Loon, 2007).

Το φαινόμενο της ISR ανακαλύφθηκε όταν οι λιπο-πολυσακχαρίτες (lipopolysaccharides, LPS) που απομονώθηκαν από το ριζοβακτήριο *Pseudomonas* sp. στέλεχος WCS417r κατάφεραν να ελέγξουν τη φουζαρίωση σε φυτά γαρυφαλλιάς (Van Peer et al., 1991). Αρκετές ουσίες που παράγονται από PGPR μπορούν να προκαλέσουν ISR, όπως για παράδειγμα λιπο-πολυσακχαρίτες, σαλικυλικό οξύ (salicylic acid, SA) και σιδηροφόροι (Van Loon, 2007). Πρόσφατα διάφορα κυκλικά λιποπεπτίδια, ο αντιμυκητιακός μεταβολίτης 2,4-διακέτυλο φλωρογλυκινόλη, μόρια AHLs (Acyl homoserine lactones) και πτητικές ουσίες όπως η 2,3-βουτανεδιόλη (2,3-butanediol) και ακετοΐνη (acetoin=3-hydroxy-2-butanone) έχουν προστεθεί στη λίστα των ουσιών που προκαλούν ISR (Ryu et al., 2004). Σε αντίθεση με τους υπόλοιπους μηχανισμούς, δεν απαιτείται υψηλή ικανότητα αποικισμού των ριζών από το βακτήριο για την πρόκληση της ISR. Για τα βακτήρια που δεν αποικίζουν αποτελεσματικά τη ριζόσφαιρα και παράγουν αντιμυκητιακούς μεταβολίτες, ο βιολογικός έλεγχος των παθογόνων οφείλεται κυρίως στην πρόκληση ISR και λιγότερο στην αντιβίωση (Choudhary and Johri, 2009).

1.1.5.2.4. Ταξινόμηση και ονοματολογία

Η αντιμετώπιση διαφόρων φυτοπαθογόνων με την εφαρμογή βιολογικών παραγόντων χρήζει ιδιαίτερης προσοχής στις μέρες μας εξαιτίας των προβλημάτων που απορρέουν από την αλόγιστη χρήση γεωργικών φαρμάκων. Τα τελευταία λοιπόν χρόνια υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον για αναγνώριση και χαρακτηρισμό ωφέλιμων βακτηρίων εδάφους που προάγουν τη φυτική ανάπτυξη και συμβάλλουν στο βιολογικό έλεγχο φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών. Αποτελέσματα αυτού του γεγονότος είναι η ανακάλυψη και καταγραφή νέων PGPR που ανήκουν σε πολλά και διαφορετικά γένη. Σε αυτό βέβαια συμβάλλει και η εξέλιξη του συστηματική ταξινόμηση των βακτηρίων καθώς και η πληρέστερη κατανόηση των διαφορετικών μηχανισμών δράσης. Ο αριθμός επομένως των στελεχών PGPR αυξάνει συνεχώς, αφού πολυάριθμες μελέτες λαμβάνουν χώρα παγκοσμίως σε ένα μεγάλο εύρος φυτικών ειδών. Ενδεικτικά λοιπόν αναφέρουμε ότι στελέχη PGPR μπορούμε να συναντήσουμε στα ακόλουθα γένη: *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Gordonia*, *Klebsiella*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas* και *Serratia* (Glick, 1995).

Τα PGPR που ανήκουν στα γένη *Bacillus* και *Pseudomonas* είναι τα πιο μελετημένα και ευρέως γνωστά. Οι πρώτες αναφορές για επίδραση ωφέλιμων βακτηρίων στην προαγωγή της ανάπτυξης έγιναν για Gram (-) βακτήρια του γένους *Pseudomonas* (*P. Fluorescens* και *P. putida*), (Burr et al., 1978), τα οποία παραμένουν μέχρι και σήμερα σημαντικοί βιολογικοί παράγοντες. Το γένος *Bacillus* περιλαμβάνει Gram (+), ραβδόμορφα βακτήρια που ταξινομούνται στο φύλο Firmicutes (Πίνακας 5). Μπορούν να σχηματίσουν σπόρια (ενδοσπόρια) και να επιβιώσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες. Στο γένος *Bacillus* ανήκουν πολυάριθμα διαφορετικά είδη και περιλαμβάνουν τόσο ωφέλιμα όσο και παθογόνα βακτήρια. Τα είδη *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, *B.*

polymyxa, *B. subtilis* και *B. megaterium* περιλαμβάνουν τα πιο γνωστά στελέχη PGPR. Από αυτά τα στελέχη του *B. subtilis* χρησιμοποιούνται ευρέως ως Βιολογικοί παράγοντες, επειδή παρουσιάζουν υψηλή ικανότητα αποικισμού, παράγουν αντιβιοτικές ουσίες και είναι αποτελεσματικά έναντι πολλών παθογόνων μικροοργανισμών (Cazorla et al., 2007).

Πίνακας 5. Η συστηματική ταξινόμηση του γένους *Bacillus*.

Βασίλειο	Bacteria
Φύλο	Firmicutes
Κλάση	Bacilli
Τάξη	Bacilalles
Οικογένεια	Bacillaceae
Γένος	<i>Bacillus</i>

1.1.5.2.5. Σκευάσματα PGPR και τρόποι εφαρμογής

Στα πλαίσια της έρευνας για την ανακάλυψη νέων προϊόντων φυτοπροστασίας και θρέψης φυτών, πιο φιλικών στον άνθρωπο και το περιβάλλον, σημαντικό ρόλο μπορούν να παίξουν τα σκευάσματα PGPR. Επί τούτω έχουν διερευνηθεί πολλά είδη PGPR ως προς τη βιολογική τους δράση σε διάφορα παθοσυστήματα. Οι πειραματικές δοκιμές γίνονται σε φυτοδοχεία σε εργαστηριακές συνθήκες, στο θερμοκήπιο αλλά και στον αγρό. Ορισμένα από αυτά αναπτύχθηκαν σε εμπορικά σκευάσματα και χρησιμοποιούνται σε εμπορική κλίμακα κυρίως για την καταπολέμηση εδαφογενών φυτοπαθογόνων μυκήτων (Πίνακας 6). Για παράδειγμα το στέλεχος *B. subtilis* GB03, ως δραστικός παράγοντας του εμπορικού σκευάσματος Companion, με διάφορους μηχανισμούς παράγει και φυτοορμόνες που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών (Ryu et al., 2003 και 2004).

Τα πλεονεκτήματα από τη χρήση σκευασμάτων PGPR έναντι των συμβατικών σκευασμάτων είναι η μικρότερη τοξικότητα, η εκλεκτικότητα, η περιορισμένη χρήση επικίνδυνων συνθετικών γεωργικών φαρμάκων και ο χαμηλός κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Σύμφωνα με την EPA (Environmental Protection Agency, USA), τα παραπάνω χαρακτηριστικά καθιστούν τα σκευάσματα αυτά χαμηλότερου κινδύνου έναντι συμβατικών μέσων φυτοπροστασίας. Μειονεκτήματα των σκευασμάτων PGPR μπορούν να θεωρηθούν η μειωμένη αποτελεσματικότητα σε σχέση με τα συμβατικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα, γεγονός που επιβάλλει την επανάληψη των εφαρμογών, η παραλλακτικότητα της αποτελεσματικότητας στον αγρό, η μικρή διάρκεια ζωής κατά την αποθήκευση και συντήρηση, η αργή τους δράση και η μικρή υπολειμματική διάρκεια δράσης.

Τα εμπορικά διαθέσιμα σκευάσματα PGPR συναντώνται σε διάφορες μορφές ανάλογα με το υλικό-φορέα που περιέχουν. Έτσι, τα υγρά σκευάσματα περιέχουν μεταξύ άλλων και φυτικά έλαια όπως φοινικέλαιο, καστορέλαιο και έλαιο κράμβης. Στην περίπτωση των στερεών σκευασμάτων, τα πιο γνωστά είναι σκόνες ή κόκκοι και χρησιμοποιούνται ποικίλα υλικά-φορείς μεταξύ των οποίων τύρφη, ταλκ, βερμικουλίτης και διάφορα υλικά κομποστοποίησης. (Podile and Kishore, 2006). Από τα υλικά αυτά, η τύρφη είναι ο καταλληλότερος φορέας χάρις της υψηλής υδατοχωρητικότητας και περιεκτικότητας σε θρεπτικά στοιχεία. Η έρευνα στην τυποποίηση των PGPR σκευασμάτων έχει επικεντρωθεί στην ανακάλυψη νέων υλικών-φορέων ή στη βελτίωση των ιδιοτήτων διαθέσιμων υλικών με την προσθήκη θρεπτικών ή συνθετικών προϊόντων στο φορέα του σκευάσματος που θα αυξάνει την επιβίωση των PGPR και επομένως την αποτελεσματικότητα καταπολέμησης του σκευάσματος. Για το σκοπό αυτό έχουν χρησιμοποιηθεί προϊόντα όπως η χιτίνη (chitin) και η χιτοζάνη (chitosan). (Domenech et al., 2006). Τα PGPR και τα σκευάσματά τους συνήθως εφαρμόζονται με επένδυση των σπόρων (seed-treatment), εμβάπτιση της ρίζας πριν τη μεταφύτευση (root-dip), ενσωμάτωση στο έδαφος (soil-amendment) και ριζοπότισμα (root-drench).

Πίνακας 6. Εμπορικά σκευάσματα PGPR (Choudhary and Johri, 2009).

Εμπορικό όνομα	Εταιρία	Βιολογικός παράγοντας	Στόχος, ξενιστής ή παθοσύστημα
Serenade	AgraQuest	<i>Bacillus subtilis</i> QST713	Μύκητες, βακτήρια σε διάφορες καλλιέργειες
Companion	Growth Products	<i>Bacillus subtilis</i> GB03	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>
YieldShield	Gustafson	<i>Bacillus pumilus</i> GB34	Εδαφογενείς μύκητες
FZB24 li	Abitep	<i>Bacillus subtilis</i> FZB24	Οπωροκηπευτικά, καλλωπιστικά, φράουλες, πατάτες
EcoGuard	Novozymes	<i>Bacillus licheniformis</i> SB3086	<i>Sclerotinia jomoeocarpa</i> σε χλοοτάπητα
Subtilex	Becker Underwood	<i>Bacillus subtilis</i> MB1600	Μύκητες σε βαμβάκι, σόγια, όσπρια

1.1.5.2.6. Εφαρμογή PGPR στη σύγχρονη φυτοπροστασία

Οι ετήσιες απώλειες στη γεωργική παραγωγή από φυτικές ασθένειες έχουν εκτιμηθεί πως ξεπερνούν τα 200 δισεκατομμύρια ευρώ (Agrios, 2005). Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών και η εφαρμογή συνθετικών γεωργικών φαρμάκων είναι οι συνηθέστεροι τρόποι για την αντιμετώπιση των ασθενειών των φυτών. Ωστόσο, η ανάπτυξη ανθεκτικών ποικιλιών έχει επιτευχθεί για περιορισμένο αριθμό ασθενειών και συνήθως απαιτεί μακροχρόνιες ερευνητικές προσπάθειες. Επιπλέον, η παραγωγή και διάθεση στην αγορά προϊόντων φυσικής προέλευσης απαλλαγμένων από επικίνδυνες χημικές ουσίες αποτελεί στις μέρες μας πρωταρχικό παράγοντα τόσο για

τους καταναλωτές όσο και για τις κυβερνητικές αποφάσεις. Στα πλαίσια αυτής της θεώρησης, η εύρεση νέων εναλλακτικών τρόπων καταπολέμησης εχθρών και ασθενειών καθίσταται απαραίτητη, και αυτό το ρόλο μπορούν να παίξουν τα εμπορικά σκευάσματα PGPR.

Τα περισσότερα σκευάσματα PGPR χρησιμοποιούνται ως παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης και συμβάλλουν επομένως έμμεσα στην προαγωγή της ανάπτυξης των φυτών (Glick et al., 1999). Τα σκευάσματα PGPR υπάγονται στη μεγαλύτερη κατηγορία των βιολογικών γεωργικών φαρμάκων (biopesticides). Τα biopesticides είναι φυσικής προέλευσης σκευάσματα και οι δραστικές ουσίες τους προέρχονται από φυτά (biochemical pesticides), μικροοργανισμούς (microbial pesticides), και γενετικώς τροποποιημένα φυτά (lant-incorporated protectants, PIPs), (EPA). Μέχρι το τέλος του 2001, ο αριθμός των εγκεκριμένων δραστικών παραγόντων αυτής της κατηγορίας ήταν παγκοσμίως 195 και των αντίστοιχων σκευασμάτων 780 (EPA). Η χρήση μικροβιακών σκευασμάτων, όπως τα PGPR, αποτελεί αναμφίβολα μια νέα προσέγγιση φυτοπροστασίας. Πρόσφατα, διάφοροι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί αποτέλεσαν τους δραστικούς παράγοντες μιας νέας γενιάς μικροβιακών σκευασμάτων (Montesinos, 2003).

Η προαγωγή της ανάπτυξης, με την προσθήκη PGPR, περιλαμβάνει μεταξύ άλλων αυξήσεις σε βλαστική ικανότητα, ανάπτυξη ρίζας, απόδοση, φυλλική επιφάνεια, χλωροφύλλη, περιεκτικότητα αζώτου, φωσφόρου και σιδήρου, μήκος και βάρος βλαστού και ρίζας (Lucy et al., 2004). Η χρήση PGPR με σκοπό την αύξηση της απόδοσης των καλλιεργειών είναι περιορισμένη εξαιτίας της παραλλακτικότητας και της αστάθειας των αποτελεσμάτων που παρατηρείται σε πειράματα εργαστηρίου, θερμοκηπίου και αγρού (Mishustin and Naumova, 1962). Το έδαφος είναι αναμφίβολα ένα πολυσύνθετο περιβάλλον και διάφοροι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν το προσδοκώμενο αποτέλεσμα. Για παράδειγμα, η εδαφική υγρασία, ο τύπος του εδάφους, το pH, και οι περιβαλλοντικές συνθήκες μπορούν να επηρεάσουν την ικανότητα αποικισμού των ριζών μετά τον εμβολιασμό και συνεπώς την αποτελεσματικότητα των PGPR.

1.1.6. Βλαστικότητα Γύρης

1.1.6.1. Μορφολογία και φυσιολογία της γύρης

Η γύρη των αγγειοσπέρμων φυτών, όταν απελευθερώνεται από τους ανθήρες αποτελεί ένα σύνολο πολυάριθμων μικρών κόκκων (γυρεοκόκκων), οι οποίοι παράγονται δια μειωτικής πυρηνοτομίας.

Ο γυρεόκοκκος αποτελεί το μικροσπόριο, μέσω του οποίου επιτυγχάνεται ο εγγενής πολλαπλασιασμός. Αυτό βέβαια σε συνδυασμό με την παρουσία ενός επιδεκτικού στίγματος και μίας ώριμης ωothήκης.

Ο ουσιαστικός ρόλος του γυρεοκόκκου είναι να απελευθερώσει μέσα στην σπερματική βλάστη μίας επιδεκτικής ωothήκης δύο γαμέτες, έτσι ώστε να επιτευχθεί η λεγόμενη «διπλή» γονιμοποίηση και να δημιουργηθούν το ζυγωτό κύτταρο, το οποίο θα εξελιχθεί σε έμβρυο και το μητρικό του ενδοσπερμίου κύτταρο, που θα εξελιχθεί αντίστοιχα σε ενδοσπέρμιο.

Ανάλογα με το είδος των φυτών οι γυρεόκοκοί τους αποτελούνται από ένα «απλοειδές φυτό» (άρρεν γαμετόφυτο) συνιστάμενο από δύο ή τρία κύτταρα, τα οποία περιβάλλονται από ένα λεπτό ή παχύ τοίχωμα (σπορόδερμα).

1.1.6.1.1. Σχηματισμός και μορφολογία

γυρεοκόκκων

Στον σχηματισμό και την εξέλιξη των γυρεοκόκκων σπουδαίο ρόλο παίζουν δύο ιστοί του ανθήρα. Ο σποριογόνος ιστός, ο οποίος δίνει γένεση στα μικροσπόρια, τα οποία εξελίσσονται σε γυρεοκόκκους και ο τάπητας (tapetum), ο οποίος συμβάλλει στην θρέψη και ωρίμανση των μικροσπορίων.

1.1.6.1.2. Είδη μικροσποριακού τάπητα

Ο ιστός του τάπητα αποτελείται από μια στρώση κυττάρων, τα οποία περιβάλλουν τον σποριογόνο ιστό (Charman, 1987). Στα τραχειόφυτα, παρά τις μερικές διαφορές που υπάρχουν, τα είδη του τάπητα μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες : τον αδενώδη ή εκκριτικό τάπητα, όπου τα τοιχώματα των κυττάρων του δεν αποικοδομούνται αλλά εκκρίνουν τα παράγωγά τους εντός της κοιλότητας (loculus) του ανθήρα (όπου ευρίσκεται ο σποριογόνος ιστός) και τον περιλούουν, και τον αμοιβαδοειδή ή περιπλασμοδιακό τάπητα, στον οποίο οι πρωτοπλάστες των κυττάρων του επιμηκύνονται και εισδύουν δια μέσου του περιβαλλόμενου σποριογόνου ιστού, με αποτέλεσμα να συγχωνεύονται οι πρωτοπλάστες των κυττάρων του σχηματίζοντας έτσι ένα περιπλασμόδιο.

1.1.6.1.3. Μείωση του σποριογόνου ιστού

Πριν την έναρξη της μείωσης τα κύτταρα του σποριογόνου ιστού είναι συνδεδεμένα με πλασμοδεσμούς. Τέτοιοι δεσμοί παρατηρούνται και μεταξύ των κυττάρων του τάπητα και του σποριογόνου ιστού, φανερώνοντας μία σαφή επικοινωνία μεταξύ των δύο ιστών του ανθήρα σ' αυτό το στάδιο, όπως επίσης και τον ρόλο του τάπητα στην διατροφή του σποριογόνου ιστού (Mascarenhas, 1975).

Ακριβώς πριν το λεπτοταϊνικό στάδιο της προφάσεως I τα μητρικά των μικροσπορίων κύτταρα περιβάλλονται από ένα στρώμα καλλόζης (πολυμερές της β-1,3-γλυκόζης), η οποία αποτίθεται μεταξύ κυτταρικής μεμβράνης και κυτταρικού τοιχώματος. Οι πλασμοδεσμοί μεταξύ τάπητα και σποριογόνου ιστού εξαφανίζονται και το στρώμα της καλλόζης εξακολουθεί να αυξάνει σε πάχος. Ορισμένες περιοχές των μητρικών των μικροσπορίων κυττάρων δεν καλύπτονται με καλλόζη και σ' αυτές τις περιοχές τα γειτονικά κύτταρα βρίσκονται σε επαφή δια μέσου κυτοπλασματικών δεσμών, τους οποίους ο Mascarenhas (1975) αποκαλεί cytomictic channels.

Πιστεύεται ότι τα κανάλια αυτά συμβάλλουν στον συγχρονισμό των διεργασιών διαίρεσης των κυττάρων κατά τη διάρκεια των μειωτικών σταδίων.

Κατά την έναρξη της μειωτικής διαίρεσης II τα μητρικά των μικροσπορίων κύτταρα απομονώνονται το ένα από το άλλο, καθώς παύουν να υφίστανται οι πλασμοδεσμοί, οι οποίοι τα συνέδεαν μεταξύ τους και περιβάλλονται από ένα ανεξάρτητο τοίχωμα καλλόζης. Μετά την ολοκλήρωση της μείωσης II και τον σχηματισμό των τεσσάρων μικροσπορίων (στάδιο της τετράδος) κάθε μικροσπόριο απομονώνεται από τα άλλα τρία με ξεχωριστό τοίχωμα καλλόζης.

Σ' αυτό το στάδιο τα κύτταρα του τάπητα και τα αναπτυσσόμενα μικροσπόρια αλληλεπιδρούν προς την κατεύθυνση της αποδόμησης του τοιχώματος καλλόζης, με επακόλουθο την απελευθέρωση των τεσσάρων μικροσπορίων. Η απελευθέρωση αυτή γίνεται δια μέσου της δράσης επί του τοιχώματος καλλόζης, ενός υδρολυτικού ενζύμου, της καλλάσης (β-1,3-γλουκανάση), το οποίο παράγεται από τα κύτταρα του τάπητα σ' αυτό το στάδιο εξέλιξης του ανθήρα. Η δράση του ενζύμου είναι ακριβώς εντοπισμένη σ' αυτό το στάδιο και κάθε αστοχία στον χρόνο της επίδρασής του οδηγεί σε αρρενοστεριότητα (κυτοπλασματική) (Mascarenhas, 1975; Chapman, 1987).

1.1.6.1.4. Μεταμειωτική εξέλιξη της γύρης

Μετά την διάσπαση των μικροσπορίων από την τετράδα ακολουθεί μία ενδιάμεση φάση στην εξέλιξή τους, όπου τα μικροσπόρια αυξάνουν σε μέγεθος και παρατηρείται έντονη βιοσυνθετική δραστηριότητα. Κατά το τέλος αυτής της φάσης ο πυρήνας των μικροσπορίων διαιρείται κατά ένα άνισο τρόπο, δίνοντας γένεση σε δύο κύτταρα, το βλαστικό και το γενετικό (ή γενετήσιο). Σε μερικά είδη το γενετικό κύτταρο διαιρείται πριν την βλάστηση της γύρης, δίνοντας γένεση σε δύο σπερματικά κύτταρα. Στα

περισσότερα φυτά όμως το γενετικό κύτταρο ολοκληρώνει την διαίρεσή του αργότερα κατά την βλάστηση και ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα.

Ο γυρεόκοκκος με τον γυρεοσωλήνα αποτελούνται στην πραγματικότητα από το γενετικό κύτταρο, ή τα δύο σπερματικά κύτταρα, τα οποία περιέχονται εντός του κυτοπλάσματος του βλαστικού κυττάρου. Αυτά τα κύτταρα έχουν πυρήνα, κυτταρόπλασμα με τα δικά του οργανίδια, κυτταρική μεμβράνη, η οποία στο γενετικό κύτταρο περιβάλλεται από ένα λεπτό κυτταρικό τοίχωμα.

Ο Mascarenhas (1975) περιέγραψε την μίτωση του μικροσποριακού πυρήνα και τον σχηματισμό του γενετικού κυττάρου και του βλαστικού πυρήνα. Αρχικά, μετά την απελευθέρωση από την τετράδα και πριν την έναρξη της διαίρεσης του πυρήνα του μικροσπορίου, εμφανίζεται ένα μεγάλο χυμοτόπιο ή μία ομάδα χυμοτοπίων. Η διαστολή του χυμοτοπίου συνοδεύεται από την μετανάστευση του μικροσποριακού πυρήνα και του μεγαλύτερου μέρους του κυτοπλάσματος προς το άκρο του μικροσπορίου, αφήνοντας ένα λεπτό στρώμα κυτοπλάσματος γύρω από το χυμοτόπιο. Η μίτωση που ακολουθεί είναι ασύμμετρη. Ο ένας θυγατρικός πυρήνας, ο βλαστικός, παραμένει στο κέντρο του μικροσπορίου, ενώ ο άλλος, ο γενετικός, βρίσκεται κοντά στο κυτταρικό τοίχωμα του μικροσπορίου (πρώιμος γυρεόκοκκος). Ένα κυτταρικό έλασμα σχηματίζεται μεταξύ των δύο πυρήνων, το οποίο στην συνέχεια κάμπτεται γύρω από τον γενετικό πυρήνα σχηματίζοντας ένα ημισφαιρικό έγκλειστο γύρω από αυτόν και οι παρυφές του συναντούνται με το τοίχωμα του μικροσπορίου (ενδόστρωμα) και συγχωνεύονται μ' αυτό.

Η περιφέρεια που σχηματίζουν τα σημεία επαφής του ελάσματος με το τοίχωμα του μικροσπορίου βαθμιαία ελαττώνεται σαν το διάφραγμα κλειστής ίριδας και συγχωνεύεται μ' αυτό, περιορίζοντας έτσι ένα μικρό μέρος του κυτοπλάσματος γύρω από τον γενετικό πυρήνα. Το σφαιρικό γενετικό κύτταρο τότε μεταναστεύει προς το κέντρο του πρώιμου γυρεοκόκκου. Κατά την διαδικασία της εξέλιξης και ωρίμανσης του γυρεοκόκκου το γενετικό κύτταρο επιμηκύνεται και το τοίχωμά του καθίσταται περισσότερο λεπτό. Σ'

αυτή την διαδικασία της επιμήκυνσης του γενετικού κυττάρου φαίνεται πως παίζουν ρόλο οι μικροσωληνίσκοι.

Αξιοσημείωτο είναι ότι κατά τον σχηματισμό του γενετικού κυττάρου παρατηρείται καλλόζη στο κυτταρικό του τοίχωμα. Έχει αναφερθεί η παρουσία καλλόζης σε νεοσύστατα γενετικά κύτταρα διαφόρων φυτικών ειδών, η οποία ταυτοποιείται με χρώση κυανού της ρεζορκινόλης και της αντίδρασης φθορισμού με κυανού της ανιλίνης. Σε όλα τα είδη η καλλόζη εμφανιζόταν πρώτα στην περιοχή του τοιχώματος μεταξύ των δύο θυγατρικών πυρήνων και με την πάροδο του χρόνου περιέβαλε πλήρως το γενετικό κύτταρο. (Heslop-Harrison, 1968b; Mephan and Lane, 1970).

Από διάφορες παρατηρήσεις προκύπτει ότι ο πυρήνας του βλαστικού κυττάρου είναι υποβαθμισμένος και όχι σημαντικός για την βλάστηση και ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα (Bishop and McGowan, 1953). Όμως, παράλληλα, θεωρείται ότι εκπληρεί μία ουσιαστική λειτουργία στη διαίρεση (τμηματοποίηση) του γυρεοσωλήνα και πρέπει να είναι παρών για πλήρη γαμετοφυτική εξέλιξη (Mascarenhas, 1975).

1.1.6.1.5. Το τοίχωμα του γυρεοκόκκου

(σπορόδερμα)

Οι γυρεόκοκκοι στο στάδιο της πλήρους ωρίμανσής τους διαθέτουν παχιά τοιχώματα (στα περισσότερα είδη) αποτελούμενα από διάφορα στρώματα. Ανάλογα με το είδος του φυτού, μία ή περισσότερες περιοχές του γυρεοκόκκου δεν έχουν παχύ τοίχωμα. Αυτές οι περιοχές αποτελούν τους βλαστικούς πόρους (apertures), από τους οποίους εκβλαστάνουν οι γυρεοσωλήνες (Mascarenhas, 1975; Heslop-Harrison, 1975; 1987).

Τα στρώματα, τα οποία συνθέτουν το τοίχωμα των γυρεοκόκκων είναι χημικά και μορφολογικά καθορισμένα, έχουν διαφορετική εξελικτική προέλευση και διαφορετικές λειτουργικές αρμοδιότητες, και είναι δυνατόν να συντίθενται από διάφορες υποστρώσεις. Τα κύρια στρώματα είναι δύο :

το ενδόστρωμα (intine), ευρισκόμενο προς το εσωτερικό του κόκκου και το εξώστρωμα (exine), το οποίο βρίσκεται στο εξωτερικό του.

1. Το ενδόστρωμα

Το ενδόστρωμα σχηματίζει ένα συνεχές στρώμα και περιβάλλει το βλαστικό κύτταρο του ώριμου γυρεοκόκκου. Αντίθετα με το εξώστρωμα, είναι ομαλής υφής αν και ακολουθεί τοπογραφικά την εσωτερική επιφάνεια του εξωστρώματος, με αποτέλεσμα να εμπλέκονται τα συστατικά τους. Η χημική σύσταση του ενδοστρώματος ομοιάζει με εκείνη των πρωταρχικών τοιχωμάτων των σωματικών κυττάρων των αγγειοσπέρμων φυτών. Περιέχει μικροϊνίδια κυτταρίνης (πολυμερές της β-1,4-γλυκόζης), τα οποία συγκρατούνται μέσω μίας μήτρας πηκτινών και ημικυτταρίνης. Επίσης ανιχνεύεται η παρουσία πρωτεϊνών (Heslop-Harrison, 1975).

Η ανάπτυξη του ενδοστρώματος αρχίζει αμέσως μετά την απελευθέρωση των μικροσπορίων από την τετράδα και αποτελεί προϊόν της δράσης της απλοειδούς γενεάς, δηλαδή του πρωτοπλάστη του μικροσπορίου κατά την πρώτη περίοδο της ανάπτυξης της γύρης και του βλαστικού κυττάρου του άρρενος γαμετοφύτου μετά την μιτωτική διαίρεση του πυρήνα (Mascarenhas, 1975; Heslop-Harrison, 1975; Dickinson, 1982). Είναι αξιοσημείωτο ότι η ανάπτυξη του ενδοστρώματος σταματά στην περίπτωση εξέλιξης στείρου σπορίου, ενώ το εξώστρωμα εξακολουθεί να αποτίθεται και να αυξάνει σε πάχος εξ αιτίας της δράσης του τάπητα (Mascarenhas, 1975; Heslop-Harrison, 1975).

Οι πρωτεΐνες, οι οποίες συσσωρεύονται στο ενδόστρωμα είναι προϊόντα της απλοειδούς γαμετοφυτικής γενεάς. Έχει αναφερθεί η παρουσία όξινης φωσφατάσης, ριβοζονουκλεάσης, εστεράσης, αμυλάσης και πρωτεάσης σε 50 είδη γύρης 27 οικογενειών αγγειοσπέρμων φυτών. Η δραστηριότητα των ενζύμων αυτών εστιάζεται γύρω και επί των βλαστικών πόρων (Knox and Heslop-Harrison, 1970).

Ο βιολογικός ρόλος αυτών των ενζύμων φαίνεται πως σχετίζεται με την βλάστηση της γύρης, την πρωτογενή διατροφή του γυρεοσωλήνα και

την διείσδυση του τελευταίου δια μέσου της επιφάνειας του στίγματος (Roggen and Stanley, 1969). Όταν τα ένζυμα αυτά απομακρυνθούν με υδατική εκχύλιση, παρατηρείται σημαντική μείωση της βλαστικότητας της γύρης, η οποία επανέρχεται μερικά, όταν στο μέσο εκβλάστησης προστεθεί το αρχικό εκχύλισμα. Ο χρόνος, ο οποίος μεσολαβεί από την εισαγωγή της γύρης στο υλικό εκχύλισης ως την εκχύλιση των πρωτεϊνών του ενδοστρώματος από τους κύριους βλαστικούς πόρους είναι περίπου 5 min (σε αντίθεση οι πρωτεΐνες του εξωστρώματος εκχυλίζονται ταχύτατα μέσα σε 5 sec).

Οι πρωτεΐνες του ενδοστρώματος είναι υπεύθυνες για τον μηχανισμό του αυτό-ασυμβιβάστου (intraspecific incompatibility system) ο οποίος ελέγχεται από το γαμετόφυτο, το οποίο αποτελεί την θυγατρική γενεά (γαμετοφυτικός έλεγχος) (Heslop-Harrison, 1975).

II. Το εξώστρωμα

Αυτό αποτελεί το ανθεκτικό εξωτερικό στρώμα του τοιχώματος των γυρεοκόκκων των τραχύφυτων. Στα αγγειόσπερμα φυτά συνήθως έχει ανάγλυφη υφή σε ποικίλο βαθμό, αποτελώντας ισχυρό γενετικό στοιχείο της εξέλιξης, και δίνει βάση για ταξινόμηση της γύρης. Ο Zetzche (1932), (από αναφορά Heslop-Harrison, 1968) ανέφερε σαν κύριο υλικό της χημικής σύνθεσης του εξωστρώματος την σποροπολλενίνη και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι είναι ένα πολυτερπένιο. Η σποροπολλενίνη είναι ένα προϊόν πολυμερισμού καροτινοειδών και καροτινοειδών εστέρων με κυμαινόμενο εμπειρικό χημικό τύπο. Αν και υφίσταται αργή αυτοοξειδωση, θεωρείται σαν το πιο ανθεκτικό συστατικό των κυτταρικών τοιχωμάτων, τα οποία παράγονται από τα φυτά (Heslop-Harrison, 1968).

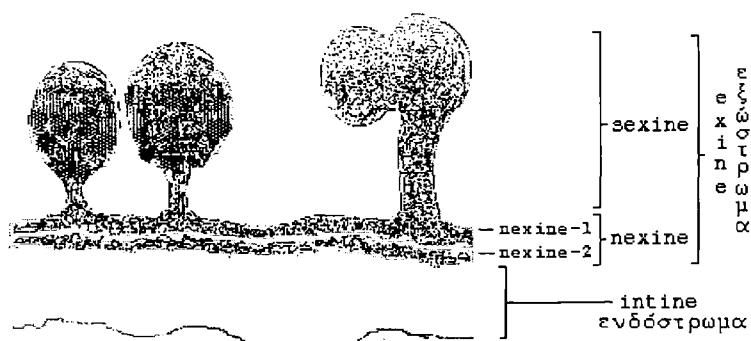
Αντίθετα με το ενδόστρωμα, το εξώστρωμα αρχίζει να σχηματίζεται, ενώ τα μικροσπόρια είναι συνδεδεμένα εντός της τετράδος αμέσως μετά την ολοκλήρωση της μείωσης. Υλικά με παρεμφερείς ιδιότητες της σποροπολλενίνης, (για τον λόγο αυτό πολλοί ερευνητές τα αποκαλούν πρωτοσποροπολλενίνη) παραγόμενα από τα μικροσπόρια, αρχίζουν να

συσσωρεύονται μεταξύ κυτταρικής μεμβράνης και τοιχώματος καλλόξης σε κάθε σπόριο της τετράδος. Το υλικό αυτό αποτελεί το πρωτοεξώστρωμα (primexine), αποτελώντας το πρότυπο πάνω στο οποίο αποτίθεται η σποροπολλενίνη για τον σχηματισμό του κυρίως εξωστρώματος και προφανώς αποτελεί προϊόν της δράσης της απλοειδούς γενεάς του φυτού.

Μετά την απελευθέρωση από την τετράδα αρχίζει ο σχηματισμός του ενδοστρώματος, ενώ παράλληλα αρχίζει και η απόθεση της σποροπολλενίνης δια μέσου της δράσης του τάπητα. Στην περιοχή των βλαστικών πόρων δεν αποτίθεται σποροπολλενίνη, επιτρέποντας έτσι την έκπτυξη και ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα, όταν ο γυρεόκοκκος βρεθεί στο κατάλληλο περιβάλλον. Πολλοί ερευνητές πιστεύουν ότι στον μηχανισμό αυτό συμμετέχουν σφαιρικοί σχηματισμοί από σποροπολλενίνη, καλούμενοι "Orbicules" ή "Ubish bodies", οι οποίοι χρησιμεύουν για την μεταφορά του υλικού από τα κύτταρα του τάπητα (ειδικά στο αδενώδη τύπο) στο τοίχωμα του μικροσπορίου (Mascarenhas, 1975; Heslop-Harrison, 1975).

Κατά την τελική ωρίμανση του γυρεοκόκκου αυτό το εξωτερικό στρώμα αποκτά ανάγλυφη επιφάνεια, χαρακτηριστική για το κάθε είδος με εγκολπώσεις και επάρματα, τα οποία αποτελούν χαρακτηριστικά για ταξινόμηση της γύρης.

Υπάρχουν διάφορες ονοματολογίες για τα στρώματα που συνθέτουν το εξώστρωμα. Ο Heslop-Harrison (1968) χρησιμοποίησε την ονοματολογία, η οποία αναφέρεται στην παρακάτω εικόνα 16 για τα διάφορα στρώματα του τοιχώματος του γυρεοκόκκου του *Lilium longiflorum*.



Εικόνα 11. Απόδοση από μικροφωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (scanning) του σποροδέρματος του γυρεοκόκκου του *Lilium longiflorum*. (Heslop-Harrison, 1968a).

Η sexine και nexine-1 αποτελούν το γνήσιο εξώστρωμα (exine), (προϊόν της δράσης του τάπητα), ενώ η nexine-2, αποτελεί το προϊόν της «ωρίμανσης» της primexine.

Κατά την τελική ωρίμανση του γυρεοκόκκου διάφορα υλικά προερχόμενα από τον τάπητα αποτίθενται στην επιφάνεια και στα ενδιάμεσα κενά της εξωτερικής επιφάνειας του εξωστρώματος. Τα πιο εμφανή υλικά είναι οι καροτινοειδείς χρωστικές, οι οποίες είναι υπεύθυνες για το πορτοκαλί ή κίτρινο χρώμα των γυρεοκόκκων πολλών φυτικών ειδών. Οι παραπάνω χρωστικές μαζί με άλλες λιπιδιακής φύσεως ουσίες σχηματίζουν το αποκαλούμενο pollenkitt, το οποίο λειτουργεί ως προσκολλητικός παράγων στα εντομόφιλα είδη φυτών, πιθανά δε να προσφέρουν και προστασία στην γύρη από την υπεριώδη ακτινοβολία (Mascarenhas, 1975; Heslop-Harrison, 1975; Dickinson, 1982).

Τα τοιχώματα του εξωστρώματος των ώριμων γυρεοκόκκων εμπλουτίζονται επίσης με πρωτεΐνες και γλυκοπρωτεΐνες, οι οποίες προέρχονται από τα κύτταρα του τάπητα και φέρονται μέσα σε λιπιδιακό επίχρισμα (tryphine). Όταν η γύρη βρεθεί στο κατάλληλο περιβάλλον, (π.χ. στίγμα), οι πρωτεΐνες αυτές απελευθερώνονται πολύ γρήγορα (σε μερικά δευτερόλεπτα) και θεωρούνται υπεύθυνες για τον μηχανισμό του αυτοασυμβιάστου. Ο μηχανισμός αυτός (σε αντίθεση με εκείνο που περιλαμβάνει πρωτεΐνες του ενδοστρώματος) ελέγχεται από το σποριόφυτο

(σποριοφυτικός έλεγχος)· τούτο διότι οι πρωτεΐνες του εξωστρώματος είναι παράγωγα της μητρικής διπλοειδούς σποριοφυτικής γενεάς (τάπητας) (Heslop-Harrison, 1975;). Μερικές από τις πρωτεΐνες αυτές θεωρούνται αλλεργιογόνοι παράγοντες (Heslop-Harrison, 1975).

1.1.6.2.Μορφολογία και φυσιολογία της βλάστησης του γυρεοσωλήνα

1.1.6.2.1. Χημεία και δομή του τοιχώματος του γυρεοσωλήνα

Η κύρια μεταβολική λειτουργία του άρρενος γαμετοφύτου κατά την δεύτερη φάση, μετά την ενυδάτωση είναι η σύνθεση του τοιχώματος του γυρεοσωλήνα. Τα υδατανθρακικά και λιπιδιακά αποθέματα του γυρεοκόκκου χρησιμοποιούνται για τον σκοπό αυτό, ενώ αυτές οι ενδογενείς πηγές συμπληρώνονται κατά την ανάπτυξή του από μεταβολίτες, που προσλαμβάνονται από το στίγμα και τον στύλο του υπέρου.

I. Η χημεία του τοιχώματος

Στο τοίχωμα του γυρεοσωλήνα υπάρχουν τρεις κύριοι τύποι πολυσακχαριτών : κυτταρίνη, καλλόζη και πηκτίνη. Τα συστατικά αυτά εκλαμβάνονται ως ευρείες ομάδες και όχι ως καθορισμένες χημικές ουσίες (Heslop-Harrison, 1987).

Η κυτταρίνη του τοιχώματος φαίνεται να μην είναι ομοιογενές πολυμερές της β-(1,4)-γλυκόζης, αλλά αποτελείται από αμφότερους β-(1,3) και β-(1,4) δεσμούς με τους δεύτερους να κυριαρχούν (Heslop-Harrison, 1987).

Η καλλόζη, αντίθετα με την κυτταρίνη, δεν έχει μικροϊνδιακή υφή και οι αποθέσεις της φαίνονται άμορφες στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Αποτελεί

ένα σύμπλοκο β -(1,3) και β -(1,4) δεσμών γλυκόζης με κυρίαρχη μορφή την πρώτη. Είναι επίσης πιθανή η παρουσία πηκτινών και πρωτεϊνών στην σύνθεσή της.

Είναι πολύ δύσκολο να δοθεί η χημική σύνθεση της καλλόζης καθώς αυτή διαφέρει από είδος σε είδος αλλά ακόμα και από θέση σε θέση στον ίδιο γυρεοσωλήνα (Heslop-Harrison, 1987). Η ακριβής χημική σύνθεση των πηκτινών του τοιχώματος του γυρεοσωλήνα είναι και αυτή ασαφής. Η αραβινόζη αποτελεί το κύριο συστατικό, ενώ η γαλακτόζη είναι αναλογικά λιγότερη.

II. Η δομή του τοιχώματος

Το τοίχωμα του γυρεοσωλήνα είτε αναπτύσσεται στο στύλο (*in vivo*) είτε σε τεχνητό υπόστρωμα (*in vitro*), αποτελείται από τρία καθορισμένα στρώματα: (1) ένα εξωτερικό μικροϊνδιακό πηκτινικό κάλυμμα (2) ένα μικροϊνδιακό, κυρίως κυτταρινικό, ενδιάμεσο στρώμα και (3) ένα εσωτερικό κολεό καλλόζης (Heslop-Harrison, 1987).

- 1) Το εξωτερικό πηκτινικό κάλυμμα: Αυτό εκτείνεται σε όλο το μήκος του γυρεοσωλήνα και είναι συνεχές με το πηκτινικό κάλυμμα του άκρου του. Χρωματίζεται εύκολα με alcian blue, μία χρωστική, η οποία αντιδρά σε χαμηλό pH με τις ομάδες των ουρονικών οξέων.
- 2) Το κυτταρινικό ενδιάμεσο στρώμα: Διακρίνεται από τα παρακείμενα στρώματα από τις ιδιότητες χρώσης που έχει. Δείχνει κάποια ελαφρά συγγένεια με τις πηκτινικές χρωστικές αλλά καμία στο κυανούν της ανιλίνης, η οποία χρωματίζει την καλλόζη. Χρωματίζεται έντονα με calcoflour white, μια φθορίζουσα χρωστική με συγγένεια στις γλουκάνες με δεσπόζοντες τους β -(1,4) γλυκοζιτικούς δεσμούς.
- 3) Ο εσωτερικός κολεός καλλόζης: Το πάχος της ποικίλει ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης. Συνήθως διακρίνεται εύκολα από την συγγενεία της προς το κυανούν της ανιλίνης. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο φαίνεται ομοιογενής, συνήθως όμως εμφανίζονται ορισμένα φακοειδή έγκλειστα, κυρίως εκεί όπου παχύνεται το τοίχωμα ή κατά τον

σχηματισμό των διαχωριστικών τοιχωμάτων καλόζης (plugs). Εκτείνεται σε όλο το μήκος του γυρεοσωλήνα εκτός από την ακραία αναπτυσσόμενη περιοχή (Reynolds and Dashek, 1976).

Η καλλόζη εκτός από συστατικό του τοιχώματος, λειτουργεί και ως σφραγιστικό υλικό του γυρεοσωλήνα. Οι αποθέσεις αυτές της καλλόζης καλούνται "plugs" (φραγμοί) και έχουν ως αποτέλεσμα την σφράγιση των παλαιότερων τμημάτων του γυρεοσωλήνα από τις νεότερες αναπτυσσόμενα περιοχές και εμφανίζονται *in vitro* και *in vivo* (Rosen, 1968; Heslop-Harrison, 1987). Οι φραγμοί εξυπηρετούν τον περιορισμό του κυτοπλάσματος και της ροής του βοηθώντας έτσι στην διατήρηση της κατάλληλης πίεσης σπαργής στο ακραίο τμήμα του γυρεοσωλήνα. Εκτός από το κύριο συστατικό (καλλόζη) περιέχουν κυτταρίνη και πηκτίνη (Heslop-Harrison, 1987).

Συγκριτικά μεγαλύτερες ποσότητες καλλόζης αποτίθενται στους γυρεοσωλήνες, οι οποίοι σχηματίζονται σε ασύμβατες επικονιάσεις (Rosen 1968). Επίσης σε τεχνητά υποστρώματα, όπου οι συνθήκες δεν είναι συχνά άριστες, συσσωρεύεται περισσότερη καλλόζη στο άκρο, παρά μετά από κανονική συμβατή επικονίαση στην φύση (Vasil, 1987).

1.1.6.2.2. Ο ρόλος των σακχάρων

Οι γυρεόκοκκοι περιέχουν μερικά αποθησαυριστικά θρεπτικά υλικά, τα οποία χρησιμοποιούνται κατά τα αρχικά στάδια της βλάστησής τους. Στα υλικά αυτά περιλαμβάνονται οι υδατάνθρακες, η περιεκτικότητα των οποίων διαφέρει από είδος σε είδος και δεν επαρκεί για μία αυτόνομη ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα (Johri and Vasil, 1961; Vasil, 1987).

Αντίθετα υπάρχουν αναφορές, στις οποίες υποστηρίζεται ότι οι γυρεόκοκκοι δεν έχουν ανάγκη τροφοδοσίας με σάκχαρα από εξωτερικές πηγές για να βλαστήσουν και να αναπτύξουν γυρεοσωλήνα (Antony and Harlan, 1920; Visser, 1955). Η παρουσία των σακχάρων στο μέσο εκβλάστησης θεωρείται ουσιαστική μόνο για την επίτευξη των κατάλληλων ωσμωτικών συνθηκών για τη βλάστηση των γυρεοκόκκων. Σύμφωνα με τον

Visser (1955) η βλάστηση της γύρης εξαρτάται από το ρυθμό, κατά τον οποίο το νερό απελευθερώνεται από το μέσο και απορροφάται από την γύρη (“diffusion rate of water”) και σχετίζεται με το είδος της γύρης και τη συγκέντρωση του σακχάρου.

Όμως η χρήση ραδιενεργά επισημασμένων σακχάρων (14C-σακχαρόζη, φρουκτόζη, γλυκόζη) στο μέσο εκβλάστησης απέδειξε πέρα από κάθε αμφιβολία ότι οι βλαστώνοντες γυρεόκοκκοι απορροφούν και χρησιμοποιούν εξωγενή σάκχαρα κατά την αναπνοή τους απελευθερώνοντας 14CO_2 (O’Kelley, 1955, 1957).

Η ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα περιλαμβάνει την σύνθεση μεγάλων ποσοτήτων υλικών του κυτταρικού τοιχώματος τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Η τροφοδότηση με σάκχαρα της βλαστώνουσας γύρης *in vitro* υποβοηθά μία συνεχή ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων, η οποία σε μερικές περιπτώσεις γίνεται κατά παρόμοιο τρόπο και σε παρόμοια έκταση με την ανάπτυξη *in vivo* (Vasil, 1987).

Η σακχαρόζη είναι το πιο κοινό σάκχαρο, το οποίο χρησιμοποιείται στις *in vitro* καλλιέργειες της γύρης, αλλά έχουν χρησιμοποιηθεί και διάφορα άλλα σάκχαρα. Η σακχαρόζη, δεξτρόζη, ραμνόζη, ραφινόζη, λακτόζη και γαλακτόζη δίνουν γενικά καλά αποτελέσματα βλαστικότητας, ενώ η φρουκτόζη, η μαννόζη και η μαννιτόλη όχι. Η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG-400), η οποία δεν μεταβολίζεται από τα φυτικά κύτταρα, βρέθηκε σε μερικές περιπτώσεις να δίδει καλύτερα αποτελέσματα στην *in vitro* βλάστηση από την σακχαρόζη (Zhang and Croes, 1982: από αναφορά Vasil, 1987).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η δυνατότητα χρησιμοποίησης της γαλακτόζης από την γύρη και η αδυναμία χρησιμοποίησης της κοινότατης στο φυτικό βασίλειο, φρουκτόζης. Η ανάπτυξη γυρεοσωλήνων σε υποστρώματα γλυκόζης ή φρουκτόζης ή μείγματος των δύο σακχάρων, ή σε σακχαρόζη παρουσία ινβερτάσης είναι πολύ περιορισμένη σε σύγκριση με την ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα σε σακχαρόζη. Έχει προταθεί ότι η ευεργετική επίδραση της σακχαρόζης, σε σύγκριση με άλλα σάκχαρα οφείλεται στην παρουσία του δακτυλίου της β-D-φρουκτοφουρανόζης στο

μόριό της και ότι οι γυρεοσωλήνες χρησιμοποιούν αποτελεσματικά την σακχαρόζη κατά την αναπνοή τους λόγω του δακτυλίου της β-D-φρουκτοφουρανόζης. Το ένζυμο β-D-φρουκτοφουρανοζιδάση έχει βρεθεί στην γύρη. Αυτή η υπόθεση στηρίζεται ακόμα στο γεγονός ότι η ραφινόζη και η σταχυόζη προκαλούν μία αύξηση στην ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα και οι δύο υδρολύονται από την γύρη πιο αργά από ότι η σακχαρόζη. Ραφινόζη και σταχυόζη διαθέτουν στο μόριό τους για περισσότερο χρονικό διάστημα την β-D-φρουκτοφουρανόζη λόγω της βραδύτερης υδρόλυσής τους σε σύγκριση με την σακχαρόζη. Επίσης, ο ρυθμός συγχώνευσης ραδιοϊσοτόπων εντός των λιπιδίων και πολυσακχαριτών στην γύρη, η οποία αναπτύσσεται σε ¹⁴C-σακχαρόζη είναι ταχύτερος από ότι με άλλα επισημασμένα σάκχαρα (Vasil, 1987).

Εκτός από την διατροφή των γυρεοσωλήνων τα σάκχαρα συμβάλλουν στην διαμόρφωση του κατάλληλου ωσμωτικού δυναμικού του μέσου, εντός του οποίου βλαστάνει η γύρη και αναπτύσσεται ο γυρεοσωλήνας. Η δημιουργία κατάλληλης ωσμωτικής πίεσης στο μέσο εκβλάστησης είναι ουσιαστική για την κανονική ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων, καθώς ελέγχει την απορρόφηση του νερού από το κυτόπλασμα του γυρεοσωλήνα. Ανάλογα με το είδος της γύρης υπάρχει μια περιοχή τιμών ωσμωτικής πίεσης, εντός της οποίας παρατηρείται φυσιολογική ανάπτυξη. Όταν οι τιμές της ωσμωτικής πίεσης του μέσου είναι μικρότερες από τις τιμές της ωσμωτικής πίεσης του κυτοπλάσματος, τότε το νερό εισέρχεται στο κυτόπλασμα σε μεγαλύτερες ποσότητες και η αναπτυσσόμενη πίεση σπαργής προκαλεί διάρρηξη των γυρεοσωλήνων (Johri and Vasil, 1961; Vasil, 1987). Όταν οι τιμές είναι μεγαλύτερες, η είσοδος του νερού επιβραδύνεται, με αποτέλεσμα την μείωση του ρυθμού ανάπτυξης και σε πολλές περιπτώσεις την αναστολή της.

1.1.6.2.3. Ο ρόλος του Βορίου

Τα άνθη και ειδικά οι ιστοί του στίγματος, στύλου και ωοθήκης περιέχουν συχνά υψηλές συγκεντρώσεις βορίου, ενώ οι γυρεόκοκκοι πολλών ειδών είναι ανεπαρκείς ως προς το στοιχείο αυτό (O'Kelley, 1957).

Το βόριο έχει διεγερτική επίδραση στην βλάστηση της γύρης. Διάφορες ενώσεις του βορίου (βορικό οξύ, βόρακας κ.α.) έχει βρεθεί ότι επιδρούν θετικά σ' αυτή. Αν και οι μέγιστες συγκεντρώσεις του βορίου στους φυτικούς ιστούς, πάνω από τις οποίες είναι δυνατό να παρατηρηθούν φαινόμενα τοξικότητας για τα φυτά είναι πολύ χαμηλές, οι γυρεόκοκκοι μπορούν να ανεχθούν συγκεντρώσεις βορίου στο μέσο βλάστησης, πάνω από 1200 ppm. Η άριστη όμως επίδραση στην βλαστικότητα της γύρης και στην ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων παρατηρείται σε συγκεντρώσεις 10-150 ppm, ανάλογα με το είδος της γύρης, τις συνθήκες ανάπτυξης, και τα ενδογενή επίπεδα βορίου (Vasil, 1987). Σε μερικές περιπτώσεις η προσθήκη βορίου στο υπόστρωμα εκβλάστησης μπορεί να μην έχει καμία επίδραση ή και να είναι παρεμποδιστική για την βλάστηση της γύρης. Αυτό οφείλεται στα υψηλά ενδογενή επίπεδα του βορίου σ' αυτά τα είδη (Vasil, 1962, 1964).

Ο ρόλος του βορίου στην βλάστηση της γύρης και της ανάπτυξης του γυρεοσωλήνα είναι ο εξής: α) προάγει την απορρόφηση και τον μεταβολισμό των σακχάρων, β) αυξάνει την απορρόφηση του οξυγόνου και γ) συμμετέχει στην σύνθεση πηκτινικών ουσιών για το τοίχωμα του αναπτυσσόμενου γυρεοσωλήνα (Vasil, 1960a; Johri and Vasil, 1961).

Η συμβολή του βορίου στον μεταβολισμό των σακχάρων από την βλαστανούσα γύρη γίνεται μέσω του σχηματισμού ιονισμένων συμπλόκων βορίου-σακχάρου, τα οποία μεταφέρονται με μεγαλύτερη ευκολία δια μέσου των κυτταρικών μεμβρανών, από το μέσο εκβλάστησης στο κυτταρόπλασμα του γυρεοσωλήνα από ότι τα μη ιονισμένα μόρια του σακχάρου. Δύο πιθανές ερμηνείες γι' αυτή την δράση του βορίου έχουν προταθεί από τους Gauch and Duggar (1953): Κατά την πρώτη άποψη το ιόν του βορίου αντιδρά με το μόριο του σακχάρου σχηματίζοντας ένα ιονισμένο σύμπλοκο βορίου-σακχάρου και μ' αυτή την μορφή διέρχεται δια μέσου των κυτταρικών μεμβρανών, μέχρις ότου το κύτταρο χρησιμοποιήσει το σύμπλοκο αυτό και απελευθερώσει το ιόν του βορίου. Κατά την δεύτερη άποψη το ιόν του

βορίου συνδέεται με τις κυτταρικές μεμβράνες, εκεί αντιδρά χημικά με το μόριο του σακχάρου, διευκολύνοντας την διέλευσή του δια μέσου της μεμβράνης. Ακολούθως το σάκχαρο απελευθερώνεται στο εσωτερικό του κυττάρου με μία δεύτερη αντίδραση, ενώ το ιόν του βορίου παραμένει δεσμευμένο στην μεμβράνη. Η δεύτερη ερμηνεία είναι περισσότερο πιθανή, αφού γενικά το βόριο είναι σχετικά δυσκίνητο στους φυτικούς ιστούς και κατά την διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου τα φυτά απαιτούν περισσότερο βόριο, όσο σχηματίζονται νέες μεμβράνες (Vasil, 1987).

Το βόριο διεγείρει την απορρόφηση των σακχάρων όσο και την απορρόφηση του οξυγόνου στους γυρεοκόκκους (O'Kelley, 1957; Stanley and Lichtenberg, 1963). Είναι όμως άγνωστο κατά πόσο το βόριο και το σάκχαρο απορροφώνται ανεξάρτητα το ένα από το άλλο ή ότι ο αυξανόμενος ρυθμός αναπνοής προκαλείται δια της αυξανόμενης απορρόφησης σακχάρων και αντίστροφα. Γυρεόκοκκοι καλλιεργούμενοι σε υποστρώματα γλυκόζης παρουσιάζουν υψηλούς ρυθμούς απορρόφησης οξυγόνου και σακχάρου χωρίς προσθήκη βορίου αλλά η ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων παρεμποδίζεται (O'Kelley, 1957). Αυτό υποδεικνύει ότι η επίδραση του βορίου στην ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα είναι αρκετά διαφορετική από την επίδρασή του στην απορρόφηση σακχάρου και οξυγόνου (αναπνοή).

Το βόριο επίσης θεωρείται ότι συμβάλλει στην σύνθεση των τοιχωμάτων του γυρεοσωλήνα, συμμετέχοντας στην σύνθεση των πηκτινικών ουσιών του επιμηκυνόμενου γυρεοσωλήνα (Daschek and Rosen, 1966;). Η υπόθεση στηρίζεται και στο γεγονός ότι μύκητες, οι οποίοι δεν απαιτούν βόριο για την ανάπτυξή τους δεν συνθέτουν πηκτίνες (Gauch and Duggar, 1954). πιστεύεται ότι παίζει ρόλο στον σχηματισμό των D-γαλακτουρονικών μονάδων της πηκτίνης (Vasil, 1987).

Σε συνθήκες υψηλού υδατικού δυναμικού (χαμηλή ωσμωτική πίεση του υποστρώματος) η διάρρηξη των γυρεοσωλήνων μπορεί να περιορισθεί με την προσθήκη βορίου στο υπόστρωμα εκβλάστησης (Visser, 1955), ενώ αναφέρεται ότι οι γυρεόκοκκοι μπορούν να βλαστήσουν σε υδατικά διαλύματα βορικού οξέος χωρίς την παρουσία κάποιου εξωγενούς

σακχάρου. Αυτή η ευεργετική επίδραση του βορίου οφείλεται στην αύξηση της βιοσύνθεσης πηκτινικών ουσιών του τοιχώματος του γυρεοσωλήνα.

Η ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων περιορίζεται στην παραπάνω περίπτωση, αφού η τροφοδότηση του τοιχώματος με πρόδρομες ουσίες γίνεται μόνο από τις εσωτερικές πηγές. Κατά τα αρχικά στάδια της βλάστησης της γύρης, όταν οι γυρεοσωλήνες αντλούν ουσίες από τα αποθησαυρισμένα υλικά των γυρεοκόκκων, η παρουσία του βορίου επιταχύνει την ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα. Έτσι φαίνεται πως η κύρια επίδραση του βορίου μπορεί να μην είναι στην μεταφορά των υδατανθράκων εντός του άρρενος γαμετοφύτου, αλλά κυρίως στον μεταβολισμό τους (Vasil, 1987).

1.1.6.2.4. Επίδραση του πληθυσμού και ρόλος του

ασβεστίου

Από πολλούς ερευνητές έχει παρατηρηθεί ότι γυρεόκοκκοι καλλιεργούμενοι σε πυκνούς πληθυσμούς βλαστάνουν καλύτερα και σχηματίζουν μεγαλύτερους γυρεοσωλήνες σε σύγκριση με την γύρη, η οποία καλλιεργείται σε μικρούς πληθυσμούς στο ίδιο μέσο. Τέτοιο φαινόμενο παρατηρείται σε ένα μεγάλο αριθμό φυτικών ειδών. Οι Brewbaker και Kwack (1963) μελέτησαν γύρη από 86 είδη 39 διαφορετικών οικογενειών αγγειοσπέρμων και έδειξαν ότι ένας «παράγων ανάπτυξης», ο οποίος περιέχεται σε υδατικά εκχυλίσματα πολλών φυτικών ιστών αντικαθιστά πλήρως την επίδραση του πληθυσμού. Ο παράγοντας αυτός είναι το ιόν του ασβεστίου. Αλλα ιόντα όπως K, Mg, και Na έχουν συμπληρωματικό ρόλο στην απορρόφηση και σύνδεση του ασβεστίου με την γύρη (Brewbaker and Kwach, 1963).

Οι γυρεόκοκκοι έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε ασβέστιο και χρειάζονται αρκετή ποσότητα για άριστη βλάστηση (Vasil, 1987). Το περιεχόμενο ασβέστιο στην γύρη βρίσκεται στο 0,03 %, επί ξηρού βάρους,

ενώ στα φύλλα, βλαστούς και σπόρους είναι 1,5 %, 1,2 % και 0,2 % αντίστοιχα (Todd and O' Bretherick, 1942; Vasil, 1987).

Η επίδραση του Ca εξαρτάται από την παρουσία κατάλληλου ωσμωτικού περιβάλλοντος, βορίου και αερόβιων συνθηκών. Τα επίπεδα του απαιτούμενου Ca για άριστη βλάστηση ποικίλουν ανάλογα με το είδος. Οι Kwack και Kim (1967) βρήκαν ότι το ασβέστιο προστατεύει τους γυρεοκόκκους από την παρεμποδιστική επίδραση πολλών υλικών, συνδεόμενο εντός των πηκτινικών περιοχών του τοιχώματος του γυρεοσωλήνα, αυξάνοντας έτσι την ακαμψία (σταθερότητα) και μειώνοντας την περατότητα του τοιχώματος. Βοηθά επίσης στην ρύθμιση της απορρόφησης διαλυμένων ουσιών, αποτρέποντας την διάρρηξη των γυρεοσωλήνων. Υδατάνθρακες διαφεύγουν από τους γυρεοσωλήνες, αν δεν είναι παρόν στο υπόστρωμα το ασβέστιο. Το ίδιο παρατηρείται, όταν προστίθεται στο μέσον EDTA, ουσία που δεσμεύει το ασβέστιο.

Η επίδραση του ασβεστίου στην ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων εξαρτάται από το pH και την θερμοκρασία με τα καλύτερα αποτελέσματα να παρατηρούνται σε υψηλές τιμές pH και θερμοκρασίας (Kwack 1965a,b). Το ασβέστιο, που δεσμεύεται στα τοιχώματα των γυρεοσωλήνων είναι ανταλλάξιμο και μη μεταβολίσιμο και είναι γνωστό ότι διαχέεται εύκολα εντός υδατικών μέσων. Η παύση της ανάπτυξης *in vitro* και η απώλεια της ζωτικότητας της γύρης κατά την αποθήκευση φαίνεται να σχετίζεται με την οξειδωτική μείωση του pH και την πιθανή επίδραση στις ιδιότητες δέσμευσης του ασβεστίου από τους γυρεοκόκκους και από τα τοιχώματα των γυρεοσωλήνων (Brewbaker και Kwack, 1964: από αναφορά Vasil, 1987).

Το ασβέστιο επίσης θεωρείται ότι συμβάλλει στο προσανατολισμό του γυρεοσωλήνα προς τη σπερματική βλάστη, δρώντας σαν χημιοτροπικός παράγων (Mascarenhas and Machlis, 1962,1964; Mascarenhas, 1975).

1.1.6.2.5. Επίδραση διαφόρων μεταβολιτών

(βιταμινών, αμινοξέων, φυτικών ορμονών

κ.λ.π.)

Οι γυρεόκοκκοι πολλών φυτικών ειδών περιέχουν σχετικά μεγάλες ποσότητες αυξινών και γιββερελλινών, γι' αυτό συνήθως πρόσθετες ποσότητες ουσιών ανάπτυξης στο μέσο εκβλάστησης αποτυγχάνουν να δώσουν κάποια αξιόλογη βελτίωση στην βλάστηση και ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων (Johri and Vasil, 1961; Brewbaker and Kwach, 1963). Σε μερικές περιπτώσεις πέτυχαν να βελτιώσουν την ανάπτυξη *in vitro*, αλλά αυτή ήταν μικρή και συχνά ασήμαντη μπροστά στην επίδραση άλλων παραγόντων (π.χ. Βόριο). (de Bruyn, 1966). Εξωγενής τροφοδότηση με IAA δεν φαίνεται να είναι απαραίτητη για την βλάστηση πολλών ειδών γύρης (Vasil, 1987).

Εχει αναφερθεί ότι οι γιββερελλίνες διεγείρουν την βλάστηση της γύρης σε διάφορα φυτικά είδη. Φαίνεται να έχουν ευεργετική επίδραση κατά τα αρχικά στάδια της βλάστησης, καθώς η περιεκτικότητά τους στην γύρη μειώνεται γρήγορα κατά την πρώτη ώρα της βλάστησης.

Οι Brewbaker και Kwach (1963) βρήκαν ότι γάλα καρύδας και εκχύλισμα ζύμης διεγείρουν την βλάστηση της γύρης, αλλά ανέφεραν αρνητικά αποτελέσματα για διάφορες αυξίνες, κινετίνες, γιββερελλίνες, αμινοξέα, βιταμίνες, υδρολυμένη καζεΐνη, ουρία κ.ά. Η όποια διεγερτική επίδραση αυτών των ουσιών θεωρείται είτε ως επακόλουθο υποάριστου αριθμού γυρεοκόκκων στο μέσο είτε υποάριστης συγκέντρωσης Βορίου (Brewbaker and Kwach, 1963).

Για την βελτίωση της βλάστησης της γύρης έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες βιταμίνες, αμινοξέα, καροτινοειδή και ανόργανα άλατα όπως K, Na, Co, Cu, Mg και Zn. Φαίνεται όμως ότι έχουν δευτερεύουσα σημασία (de Bruyn, 1966; Vasil, 1987).

Οι περισσότερες βιταμίνες δεν έχουν κάποια αξιόλογη επίδραση στη βλαστικότητα της γύρης *in vitro* (Smith, 1942; Vasil, 1960a). Έχει αναφερθεί ότι διάφορα αμινοξέα (αλανίνη, ασπαραγινικό οξύ, γλουταμινικό οξύ, ιστιδίνη και βαλίνη) βελτιώνουν την βλάστηση της γύρης (Turpy et al., 1983). Από τα καροτινοειδή έχει βρεθεί ότι άλλα είναι ευεργετικά στη βλάστηση και άλλα την παρεμποδίζουν. Η παρουσία καροτινοειδών στη γύρη και το στίγμα, με παρεμποδιστική επίδραση, θεωρείται ότι εμποδίζει την πρόωρη βλάστηση των γυρεοκόκκων όταν το στίγμα δεν είναι ώριμο. Η επίδραση των διαφόρων αλάτων θεωρείται ότι οφείλεται στην συμβολή τους στην απορρόφηση, δέσμευση και δράση του Ca ή στη τροποποίηση του pH (Johri and Vasil, 1961; Vasil, 1987).

1.1.6.2.6. Η επίδραση του pH

Οι απαιτήσεις της γύρης, ως προς την τιμή του pH του μέσου για ικανοποιητική βλάστηση, ποικίλουν μεταξύ των φυτικών ειδών. Στο *Lathirus odoratus* έχει παρατηρηθεί ότι το άριστο επίπεδο pH για την βλάστηση της γύρης του είναι 7 και το εύρος του για καλή βλάστηση είναι περιορισμένο. Στην *Petunia* τα καλύτερα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν μεταξύ pH 5,5 και 5,8 (Brewbaker and Majumber, 1961). Καμπύλες βλαστικότητας με διπλά άριστα σε ένα ευρύ φάσμα τιμών pH έχουν αναφερθεί σε διάφορα είδη (Berg, 1930; Branscheit, 1930: από αναφορά Vasil, 1987).

Σε πολλά είδη γύρης έχει βρεθεί ότι ασφαλής βλάστηση παρατηρείται σε pH μεταξύ 4 και 9. Το άριστο pH για βλάστηση γύρης σε μέσα που περιέχουν βορικά ιόντα βρίσκεται μεταξύ 6,5 και 7,1 (Stanley and Lichtenberg, 1963). Σε μερικές περιπτώσεις παρατηρείται σταθερή βλάστηση και ανάπτυξη γυρεοσωλήνων σε ένα ευρύ φάσμα τιμών pH, από 3,5 ως 9. Αναφέρθηκαν περιπτώσεις (Cosmos, Rododendron), όπου το άριστο του pH μεταβάλλεται κατά την διάρκεια της ανθικής περιόδου. (Kubo, 1955a,b: από Johri and Vasil, 1961; Rosen, 1968; Vasil, 1987).

1.1.6.2.7. Επίδραση της θερμοκρασίας

Η σχέση μεταξύ θερμοκρασίας και βλάστησης της γύρης συνήθως παριστάνεται από μία καμπύλη αρίστου και το Q10 για την ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα είναι κατά προσέγγιση 2 (Roberts and Struckmeyer, 1948; Visser, 1955; Vasil, 1962b). Στα περισσότερα φυτά η μέγιστη βλαστικότητα και ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα *in vitro* παρατηρείται μεταξύ 20° και 30°C (Sexsmith and Fryer, 1943; King and Johnston, 1958; Staudt, 1982). Οσον αφορά στη γύρη της τομάτας έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες θερμοκρασίες για την *in vitro* βλάστησή της, όπως 25°C (McLeod, 1975), 17°C -23°C (Visser, 1955), 15°C (Zamir et al., 1981), 14°C (Maisonneuve and Dennijs, 1984).

Η βλάστηση της γύρης και η επιμήκυνση των γυρεοσωλήνων συνήθως αυξάνεται από τους 17S ως τους 30°C, όμως υψηλότερες θερμοκρασίες επιβραδύνουν την ανάπτυξή τους (Vasil, 1987).

Σε χαμηλές θερμοκρασίες το ποσοστό βλαστικότητας και η ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα είναι συνήθως σημαντικά μειωμένα και κάτω από τέτοιες συνθήκες *in vivo* οι σωλήνες μπορεί να μην φθάσουν ποτέ στην ωοθήκη (Smith and Cochran, 1935: από αναφορά Vasil, 1987). Σε θερμοκρασίες, οι οποίες δεν είναι άριστες για την βλάστηση της γύρης, επαρκής ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων μπορεί να παρατηρηθεί μόνο όταν ο χρόνος ανάπτυξης δεν είναι περιοριστικός παράγων. Η διάμετρος του γυρεοσωλήνα αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος (Smith, 1942). Οι γυρεόκοκκοι του *Antirrhinum* παρουσιάζουν μικρή βλαστικότητα στους 15°C, άριστη στους 25°C, διόγκωση του άκρου του σωλήνα στους 30°C και εκτεταμένη διάρρηξη στους 35°C. Σε πολλά άλλα φυτά διόγκωση, διακλάδωση και διάρρηξη επίσης παρατηρήθηκαν στους 35°-40°C (Vasil, 1962). Φαίνεται ότι η θερμοκρασία κατά κάποιο τρόπο επηρεάζει την σταθερότητα των τοιχωμάτων του γυρεοσωλήνα (Vasil, 1987).

1.1.6.2.8. Γενετικοί παράγοντες

Περίπου το 70% των αγγειοσπέρμων παράγουν δικύτταρη γύρη, ενώ το υπόλοιπο τρικύτταρη (Brewbaker, 1967). Οι δικύτταροι γυρεόκοκκοι έχουν παχύ σπορόδερμα, βλαστάνουν εύκολα *in vitro*, μπορεί να αποθηκευθούν με ασφάλεια για μεγάλες χρονικές περιόδους και χαρακτηρίζονται από γαμετοφυτικό έλεγχο του μηχανισμού αυτο-ασυμβιβάστου, όπου ο στύλος και η ωοθήκη αποτελούν θέσεις αυτο-ασυμβίβαστης παρεμπόδισης.

Οι τρικύτταροι γυρεόκοκκοι έχουν λεπτό σπορόδερμα, βλαστάνουν δύσκολα *in vitro*, αποθηκεύονται λίγο και τα φυτά, από τα οποία προέρχονται παρουσιάζουν σποροφυτικό έλεγχο του μηχανισμού αυτο-ασυμβιβάστου. Στον κανόνα αυτό υπάρχουν και μερικές εξαιρέσεις. Για παράδειγμα το *Gossypium* παράγει δικύτταρη γύρη, αλλά αυτή βλαστάνει ελάχιστα *in vitro* και χάνει την ζωτικότητά της μέσα σε 24 ώρες, κάτω από τις περισσότερες μεθόδους αποθήκευσης, ενώ τα *Brassica* και *Pennisetum* παράγουν τρικύτταρη γύρη, η οποία βλαστάνει ικανοποιητικά *in vitro* και μπορεί να συντηρηθεί για αρκετό χρόνο (Vasil, 1960b, 1962; Hanna, 1990).

Γυρεόκοκκοι με διαφορετικό γονότυπο εντός του ιδίου είδους έχουν διαφορετικές απαιτήσεις ως προς την σύνθεση του μέσου επώασης (συγκέντρωση σακχαρώζης, βορίου, ασβεστίου) για άριστη βλάστηση και ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων (Vasil, 1987).

1.1.6.3. Προσδιορισμός της ζωτικότητας της γύρης

Στα πειράματα, τα οποία ασχολούνται με την συντήρηση της γύρης, ο προσδιορισμός της ζωτικότητας (ή βιωσιμότητας) των εκάστοτε συντηρουμένων δειγμάτων γύρης είναι βασικής σημασίας. Πολλές μελέτες έχουν γίνει για το σκοπό αυτό και πλήθος φυτικών ειδών έχουν εξετασθεί ως προς την συμπεριφορά τους απέναντι στις διάφορες μεθόδους που έχουν επινοηθεί.

Οι μέθοδοι προσδιορισμού της βιωσιμότητας της γύρης μπορούν να συνοψισθούν σε τρεις γενικές κατηγορίες βασιζόμενες πάνω στην: (1) χρώση

ή φθορισμό της γύρης, (2) βλαστικότητα της γύρης, (3) καρποδετική και σποροπαραγωγική ικανότητα της γύρης.

Οι δοκιμές που περιλαμβάνουν χρώση ή φθορισμό είναι ποικίλες και γενικά αφορούν την διάκριση των "ζωντανών" από τους "νεκρούς" γυρεοκόκκους με κριτήριο τον διαφορετικό χρωματισμό ή φθορισμό των πρώτων από τους δεύτερους. Κατά γενική αποδοχή η "σταθεροποίηση" των γυρεοκόκκων με χρωστικές είναι χρήσιμη μόνο, όταν δεν απαιτείται ακριβής υπολογισμός της βιωσιμότητας της γύρης.

Οι δοκιμές, οι οποίες βασίζονται στην βλαστικότητα της γύρης διακρίνουν τους ζωντανούς από τους νεκρούς γυρεοκόκκους, ανάλογα με την ικανότητά τους να βλαστήσουν και να αναπτύξουν γυρεοσωλήνα *in vitro* (σε τεχνητά υποστρώματα) και *in vivo* (επί του στύλου του υπέρου).

Τέλος, οι δοκιμές, που αφορούν την καρποδετική και σποροπαραγωγική ικανότητα σαν μέτρο της βιωσιμότητας της γύρης, συγκρίνουν την ικανότητα αυτή του υπό εξέταση δείγματος με την νωπή γύρη, ύστερα από τεχνητές επικονιάσεις όταν δεν υφίστανται θέματα ασυμβιβάστου.

Η τελευταία μέθοδος, αν και ταιριάζει περισσότερο στα πειράματα αποθήκευσης της γύρης, αφού ο κυριότερος σκοπός αυτών των πειραμάτων είναι η χρήση της αποθηκευμένης γύρης σε διασταυρώσεις πολύ αργότερα από τον χρόνο συλλογής της, είναι σχετικά δύσκολη στην εφαρμογή της, γιατί απαιτεί πολύ χρόνο από την έναρξή της ως την συγκομιδή των σπόρων, με βάση τον αριθμό των οποίων θα γίνει η σύγκριση με τον μάρτυρα (νωπή γύρη). Αντίθετα οι μέθοδοι βλάστησης της γύρης, αν και δεν δίνουν σίγουρα αποτελέσματα, είναι σχετικά γρήγορες, μπορούν να εφαρμοσθούν σε πολλά δείγματα ταυτόχρονα, δίνουν ένα καλό «μέτρο» της βιωσιμότητας της γύρης και γι' αυτό συνήθως προτιμούνται.

1.1.6.3.1. Μέθοδοι χρώσης

Η διαφοροποίηση, που επιτυγχάνεται μεταξύ ζωντανών (βιώσιμων) γυρεοκόκκων και μη βιώσιμων (στείρων), με τις μεθόδους αυτές, βασίζεται στην αναγνώριση ορισμένων μορφολογικών ή φυσιολογικών χαρακτηριστικών, με κριτήριο τις διαφορετικές ιδιότητες χρώσης, οι οποίες θεωρείται ότι ξεχωρίζουν τους πρώτους από τους δεύτερους.

Άλλες μέθοδοι βασίζονται στην διαπίστωση της παρουσίας κυτοπλάσματος, άλλες στην ανίχνευση της παρουσίας ορισμένων ενζύμων, άλλες στην παρουσία αμύλου και τέλος ορισμένες στην παρουσία ακεραίων κυτταρικών μεμβρανών.

Για την ανίχνευση του αμύλου χρησιμοποιείται η αντίδραση ιωδίου και συγκεκριμένα του Iodine-Potassium iodide (I-KI) . Η δοκιμή αυτή παρουσιάζει αστοχίες στην εφαρμογή και στην εξαγωγή συμπερασμάτων (Jeffries, 1977), αφού υπάρχουν πολλά παραδείγματα, όπου νεκροί γυρεόκοκκοι εμφανίζονται να περιέχουν άμυλο και γυρεόκοκκοι οι οποίοι δεν αντιδρούν στην χρωστική να βλαστάνουν εύκολα. Σημειώνεται ότι γυρεόκοκκοι, οι οποίοι έχουν παχύ σπορόδερμα δεν χρωματίζονται, όπως για παράδειγμα γυρεόκοκκοι των γενών *Gossypium*, *Hibiscus*, *Silphium* και *Curcubita* (Alexander, 1969). Επίσης αναφέρεται ότι η χρώση με I-KI δεν δίνει αποτελέσματα, τα οποία είναι δυνατόν να συσχετίζονται με την βιωσιμότητα που διαπιστώνεται με άλλα μέσα (*in vitro* βλαστικότητα). (King, 1960; Werner and Chang, 1981).

Η ακετοκαρμίνη χρησιμοποιείται για τον χρωματισμό χρωματοσωμάτων και πυρήνων και έχει χρησιμοποιηθεί για τον χρωματισμό της γύρης διαφόρων ειδών (Belling, 1921; Tomas, 1940; Marks, 1952: από αναφορά Towill, 1985). Η μέθοδος είναι πολύ γρήγορη αλλά ο συσχετισμός των αποτελεσμάτων που δίνει με την *in vitro* βλαστικότητα είναι πολύ χαμηλός (Janssen and Hermesen, 1979). Το κυανούν του βάμβακος (cotton blue) μαζί με την ακετοκαρμίνη έχουν δοκιμασθεί για τον χρωματισμό του κυτοπλάσματος της γύρης της τομάτας (Ockedon and Gates, 1976). Όμως τα αποτελέσματα σε σχέση με την *in vitro* βλαστικότητα είναι υπερβολικά υψηλά.

Για τον διαφορετικό χρωματισμό ζωντανών και στείρων γυρεοκόκκων ο Alexander (1969) χρησιμοποίησε συνδυασμό χρωστικών, χρωματίζοντας το κυτόπλασμά τους. Χρησιμοποιήθηκαν για τον χρωματισμό της γύρης πολλών φυτικών ειδών υδατικό διάλυμα πράσινου του μαλαχίτη, όξινης φουξίνης και πορτοκαλί-G (Malahite green, acid fuchsin, orange G) με προσθήκη αλκοόλης, γλυκερόλης και φαινόλης παρουσία οξικού οξέος. Ανάλογα με το είδος η διαφορετική χρώση ζωντανών και μη γυρεοκόκκων εξαρτάται από την συγκέντρωση των χρωστικών ουσιών, το πάχος του σποροδέρματος των γυρεοκόκκων και το pH του διαλύματος των χρωστικών.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα ταυτοποίησης ζώντων και μη γυρεοκόκκων μέσω ενζυματικής αντίδρασης αποτελεί η αντίδραση της υπεροξειδάσης. Η δοκιμή αυτή βασίζεται στην οξειδωση της παρεχόμενης εξωτερικά βενζιδίνης δια της υπεροξειδάσης, που περιέχει ο ζωντανός γυρεόκοκκος, παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (King, 1960). Η αντίδραση στον γυρεόκοκκο συνοδεύεται από εκπομπή αερίου οξυγόνου, το οποίο απελευθερώνεται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου δια της δράσης της καταλάσης. Συνήθως οι ζωντανοί γυρεόκοκκοι χρωματίζονται έντονα κυανοί (γλυκοπατάτα, σακχαροκάλαμο). Όμως οι ιδιαίτερες σχέσεις χρώσης και βιωσιμότητας πρέπει να προσδιορίζονται για κάθε είδος γύρης. Για παράδειγμα οι ζωντανοί γυρεόκοκκοι της τομάτας και της πατάτας, δεν χρωματίζονται αλλά αυξάνουν σε μέγεθος, αποκτώντας ωοειδή μορφή. Οι νεκροί γυρεόκοκκοι αντίθετα δεν αυξάνουν σε μέγεθος αλλά αποκτούν κυανό χρώμα. Η δοκιμή αυτή γενικά δεν παρουσιάζει μεγάλο συσχετισμό με τις δοκιμές *in vitro* βλαστικότητας (Janssen and Hermesen, 1979).

Οι δοκιμές φθορίζοντος χρωματισμού (fluorochromasia) και τετραζολίου βασίζονται στην παρουσία ακεραίων κυτταρικών μεμβρανών στους ζωντανούς γυρεοκόκκους. Αντίθετα οι νεκροί γυρεόκοκκοι στερούνται ακέραιων κυτταρικών μεμβρανών. Οι δοκιμές αυτές θεωρείται ότι πλεονεκτούν στον προσδιορισμό της βιωσιμότητας, από τις άλλες μεθόδους χρώσης.

Η δοκιμή του τετραζολίου, στην οποία μπορεί να χρησιμοποιηθούν διάφορα άλατα του τετραζολίου, εξαρτάται από την πρόσληψη της χημικής

ένωσης και την επακόλουθη αναγωγή της προς παραγωγή εγχρώμου προϊόντος. Η ακεραιότητα των μεμβρανών είναι απαραίτητη για την παρεμπόδιση της απώλειας του παραγόμενου προϊόντος (formazan). Η αναγωγή του τετραζολίου γίνεται ως εξής: Το ηλεκτρικό οξύ χρησιμοποιείται ως δότης ηλεκτρονίων στο τετραζόλιο, το οποίο ανάγεται σε έγχρωμο formazan, ενώ το ηλεκτρικό οξύ οξειδώνεται σε φουμαρικό. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από την αφυδρογονάση του ηλεκτρικού οξέος (κύκλος του Krebs). (Oberle and Watson, 1953; Hauser and Morisson, 1964). Από τα διάφορα άλατα του τετραζολίου τα περισσότερο συσχετιζόμενα αποτελέσματα με την *in vitro* βλαστικότητα, φαίνεται πως δίνει το 3(4-5-dimethyl thiazolyl 1-2) 2,5-diphenyl tetrazolium bromid (MTT), ή αλλιώς {3(4-5-διμεθυλο-θιαζολιλο)2,5-διφενυλβορομίδιο του τετραζολίου} (Norton, 1966; Werner and Chang, 1981).

Στην φθοριοχρωματική αντίδραση (FCR) (Heslop-Harrison J. and Heslop-Harrison Y., 1970; Heslop-Harrison J. et al., 1984) η διαφοροποίηση μεταξύ βιώσιμων και μη γυρεοκόκκων γίνεται χάρη στον φθορίζοντα χρωματισμό που αποκτούν οι πρώτοι κατά την δοκιμή αυτή. Η αντίδραση βασίζεται στην πρόσληψη του μη πολικού fluorescein το οποίο φθορίζει. Η παρουσία μιας ακέραιας κυτταρικής μεμβράνης απαιτείται για την διατήρηση και αύξηση της συγκέντρωσης του φθορίζοντος υλικού στο κυτόπλασμα του γυρεοκόκκου. Οι Sivanina και Heslop-Harrison J. (1981) ανέφεραν σημαντική συσχέτιση της δοκιμής αυτής και της *in vitro* βλαστικότητας εννέα φυτικών ειδών. Επίσης, σημαντική συσχέτιση μεταξύ της FCR και της *in vitro* βλαστικότητας βρέθηκε και για την τομάτα (Heslop-Harrison J. et al., 1984), όμως πάντα η FCR έδινε τιμές μεγαλύτερες από την *in vitro* βλαστικότητα και τονίζεται από τους ερευνητές ότι η φθοριοχρωματική αντίδραση δεν αποτελεί ασφαλή μέθοδο προσδιορισμού της βιωσιμότητας της γύρης.

Γενικά, όλες οι μέθοδοι προσδιορισμού της ζωτικότητας της γύρης που βασίζονται στην χρώση της, συνήθως δίνουν μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με την *in vitro* μέτρηση της βλαστικότητας. Αν και υπάρχουν αναφορές καλού συσχετισμού μεταξύ χρώσης και της *in vitro* βλάστησης, οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν ότι όταν υπάρχει δυνατότητα

εφαρμογής της δεύτερης μεθόδου είναι προτιμότερη από την πρώτη. Δεν είναι τυχαίο ότι όλες οι μέθοδοι χρώσης εφαρμόστηκαν πάντοτε σε συσχετισμό με την *in vitro* βλαστικότητα, με στόχο να την υποκαταστήσουν (Towill, 1985).

1.1.6.3.2. Μέθοδοι βλάστησης

Με τον όρο βλάστηση της γύρης εννοούμε την έκπτυξη και ανάπτυξη γυρεοσωλήνων από τους γυρεοκόκκους, όταν οι τελευταίοι βρεθούν σε κατάλληλο φυσικοχημικό περιβάλλον (*in vitro* και *in vivo*).

Οι πρώτες παρατηρήσεις γυρεοσωλήνων έγιναν στα μέσα περίπου του 19ου αιώνα. Από τότε έχει εξετασθεί ένας μεγάλος αριθμός φυτικών ειδών ως προς την ικανότητα της γύρης τους να βλαστάνει σε ένα πλήθος υποστρωμάτων.

Είναι γεγονός ότι η βλάστηση και η επιμήκυνση του γυρεοσωλήνα *in vitro* δεν είναι συχνά όμοια μ' εκείνη που παρατηρείται *in vivo* και είναι επίσης φανερό ότι ορισμένα χαρακτηριστικά της ανάπτυξης του γυρεοσωλήνα *in vitro* -ιδιαίτερα η λεπτή υφή του αναπτυσσόμενου άκρου του γυρεοσωλήνα- δεν είναι συγκρίσιμα με τους γυρεοσωλήνες, οι οποίοι αναπτύσσονται ύστερα από γονιμοποίηση στην φύση (Røsen, 1968). Παρ' όλα αυτά, για τους περισσότερους πρακτικούς σκοπούς η βλάστηση και ανάπτυξη *in vitro* μπορεί να θεωρηθεί συγκρίσιμη με την *in vivo* (Vasil, 1987).

1.1.6.3.2.1. Βλάστηση *in vivo*

Στη μέθοδο αυτή η γύρη τοποθετείται φέρεται και αφήνεται να βλαστήσει επί του στύλου του υπέρου. Η διάκριση των βλαστημένων γυρεοσωλήνων από τους παρακείμενους ιστούς του στύλου βασίζεται στη παρουσία της καλλόξης στο τοίχωμα των γυρεοσωλήνων, ενώ αυτή δεν

υπάρχει στους ιστούς του υπέρου. Για τον εντοπισμό της καλλόζης χρησιμοποιείται το κυανούν της ανιλίνης. Η χρωστική αντιδρά με την καλλόζη προκαλώντας τον φθορισμό της (Martin, 1959).

Ο Martin (1959) χρησιμοποίησε το κυανούν της ανιλίνης για την ανίχνευση γυρεοσωλήνων *in vivo* στην τομάτα και άλλα φυτά. Αρχικά «σταθεροποιούνται» οι στύλοι με χρήση διαλύματος φορμαλίνης-οξικού οξέος-αιθυλικής αλκοόλης. Στη συνέχεια γίνεται διαύγαση των στύλων με διάλυμα NaOH. Ακολούθως εφαρμόζεται το διάλυμα της χρωστικής. Για τη παρατήρηση των γυρεοσωλήνων χρησιμοποιείται κοινό οπτικό μικροσκόπιο με υπεριώδη φωτισμό 356 nm, και το κατάλληλο φίλτρο.

Η παραπάνω μέθοδος παρέχει την μεγαλύτερη δυνατή συσχέτιση με τον αριθμό των παραγόμενων σπερμάτων ανά καρπό, ιδιαίτερα στη τομάτα (Dempsey, 1962; Fernandez-Munoz et al., 1994).

1.1.6.3.2.2. *In vitro* καλλιέργεια της γύρης

Τα υποστρώματα, τα οποία χρησιμοποιούνται για την *in vitro* βλάστηση της γύρης είναι υδατικά διαλύματα σακχάρου, τα οποία μπορεί να περιέχουν και άλλες ουσίες οργανικής ή ανόργανης προέλευσης.

Για την καλλιέργεια της γύρης έχουν χρησιμοποιηθεί απλά ως και σύνθετα θρεπτικά υποστρώματα. Το απλούστερο και περισσότερο χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα αποτελείται από σακχαρόζη και βορικό οξύ (Vasil, 1960a, 1964; Johri and Vasil, 1961; Brewbaker and Kwach, 1963; Van der Woude et al., 1971). Στα είδη της γύρης, τα οποία χρειάζονται πιο σύνθετα μέσα βελτίωσης της βλαστικότητας και της ανάπτυξης του γυρεοσωλήνα, το προηγούμενο υπόστρωμα συμπληρώνεται και με νιτρικό ασβέστιο, νιτρικό κάλιο, θειικό μαγνήσιο, χλωριούχο ασβέστιο, φωσφορικό κάλιο ή συνδυασμό των προηγούμενων ανόργανων αλάτων (Brewbaker and Kwach, 1963; Kwach, 1967; Vasil, 1987). Το pH των υποστρωμάτων αυτών κυμαίνεται μεταξύ 5,2 και 6,8. Στο μέσον εκβλάστησης μπορούν επίσης να

προστίθενται και άλλες ουσίες οργανικής φύσης, όπως ορμόνες, βιταμίνες, αμινοξέα, εκχυλίσματα ζύμης και φυτικών ιστών.

Στις περισσότερες περιπτώσεις η ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων ολοκληρώνεται εντός 1-12 ωρών, γι' αυτό η μόλυνση από βακτηρίδια και μύκητες δεν αποτελεί πρόβλημα αν και έχουν χρησιμοποιηθεί αντιβιοτικά για την αποτροπή πιθανών μολύνσεων (Stanley et al., 1958; LaFountain and Mascarenhas, 1972).

Ενα από τα πιο σημαντικά προβλήματα στην καλλιέργεια της γύρης είναι η ανομοιομορφία (μικρή ή μεγάλη) των δειγμάτων της γύρης, τα οποία παρουσιάζουν διαφορές στην βλαστικότητα (σε συγκεκριμένο μέσον), όταν συλλέγονται από διάφορα άνθη ή ακόμη και από διαφορετικούς ανθήρες του ίδιου άνθους (King, 1955; Johri and Vasil, 1961; Rosen, 1968). Επίσης, η διασπορά και η πυκνότητα της γύρης στα υποστρώματα επηρεάζει την βλαστικότητα και την ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων. Γι' αυτό είναι σημαντικό να αναμειγνύονται ομοιόμορφα όλα τα δείγματα πριν την χρήση τους, και να διασπείρονται ομοιόμορφα σε όλα τα υποστρώματα (Visser, 1955; Vasil, 1960; Johri and Vasil, 1961; Vasil, 1987).

Μερικές από τις διαφορές στην καλλιέργεια της γύρης οφείλονται στην γενετική της ποικιλομορφία. Ο αριθμός του γονιώματος επίσης παίζει ρόλο στις θρεπτικές απαιτήσεις της γύρης. Ακόμη και οι περιβαλλοντικές συνθήκες, κάτω από τις οποίες αναπτύσσονται τα φυτά, όπως επίσης και οι συνθήκες ανόργανης διατροφής των φυτών, επηρεάζουν την σύνθεση του υποστρώματος για μία ικανοποιητική βλάστηση της γύρης (Vasil, 1987).

Μεταξύ των φυτικών ειδών, ακόμη και ποικιλιών του ίδιου είδους, υπάρχουν διαφορές στις απαιτήσεις της γύρης ως προς την σύνθεση του υποστρώματος (σύνθεση και συγκέντρωση των διαλυμένων ουσιών στο υπόστρωμα) και τις συνθήκες επώασης (θερμοκρασία, pH κ.α.).•γι' αυτό δεν μπορεί να δοθεί μία συγκεκριμένη οδηγία για την καλλιέργεια της γύρης κάποιου φυτικού είδους (Vasil, 1987).

Η περισσότερο χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την *in vitro* καλλιέργεια της γύρης, είναι της «κρεμασμένης» σταγόνας. Οι γυρεόκοκκοι τοποθετούνται σε μία σταγόνα υγρού υποστρώματος πάνω σε μία

καλυπτρίδα, η οποία αναστρέφεται και τοποθετείται πάνω από το άνοιγμα της κοιλότητας μιας ειδικής αντικειμενοφόρου πλάκας. Στα χείλη της κοιλότητας προστίθεται βαζελίνη ή ορυκτέλαιο για στεγανότητα, ενώ στον πυθμένα προστίθεται και μια σταγόνα απεσταγμένου νερού έτσι ώστε στο μικροπεριβάλλον της κοιλότητας να επικρατούν συνθήκες υψηλής ατμοσφαιρικής υγρασίας, για την αποφυγή της μεταβολής της συγκέντρωσης των υλικών του υποστρώματος από εξάτμιση (Mortenson et al., 1964). Μετά το πέρας της επώασης των γυρεοκόκκων η καλυπτρίδα τοποθετείται σε κοινή αντικειμενοφόρο παρέχοντας την δυνατότητα μικροσκοπικής παρατήρησης (Vasil, 1960a, 1962, 1964).

Μία παραλλαγή της προηγούμενης διαδικασίας είναι η μέθοδος της «ιστάμενης» σταγόνας. Η σταγόνα του υποστρώματος τοποθετείται σε αντικειμενοφόρο πλάκα, η οποία για διευκόλυνση της διατήρησης του σχήματος της σταγόνας διαθέτει μικρή φακοειδή εκσκαφή. Για την αποφυγή της εξάτμισης του υποστρώματος, πρέπει η επώαση να γίνεται σε κλειστά δοχεία με συνθήκες υψηλής υγρασίας (Brewbaker and Kwach, 1963; Mascarenhas, 1966a).

Σε περιπτώσεις, όπου δεν απαιτείται σταθερή μικροσκοπική εξέταση ή όταν η γύρη χρησιμοποιείται για βιοχημικές μελέτες, μπορούν να γίνουν καλλιέργειες γύρης με μεγάλες ποσότητες γυρεοκόκκων σε δοκιμαστικούς σωλήνες ή σε φιάλες με υγρά μέσα πάνω σε δονητή ή με την βοήθεια πεπιεσμένου αέρα, ο οποίος διοχετεύεται εντός του διαλύματος επώασης (Mascarenhas, 1966a; Roggen and Stanley, 1969; Van der Woude et al., 1971; Towill, 1984).

Όταν στο υπόστρωμα προστίθεται άγαρ ή ζελατίνη, τότε αυτό αποκτά ημιστερεή μορφή και απλώνεται σε γυάλινες επιφάνειες ή τρυβλία petri (Johri and Vasil, 1961). Σε τέτοια υποστρώματα η ομοιόμορφη προσθήκη της γύρης γίνεται με «σκόνισμα» των γυρεοκόκκων, με την βοήθεια λεπτών επιχρωστών. Και σ' αυτά τα υποστρώματα πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την αποφυγή της εξάτμισής τους, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολή της συγκέντρωσης των συστατικών τους.

1.1.6.3.3. Αποθήκευση της γύρης

Η αποθήκευση ή πιο σωστά συντήρηση της γύρης αφορά στην διατήρηση της βλαστικής και γονιμοποιητικής ικανότητάς της για χρονικά διαστήματα πολύ μεγαλύτερα από εκείνα, που μπορεί κάτω από συνθήκες περιβάλλοντος να επιτευχθεί, έτσι ώστε να είναι δυνατή η χρήση της σε αναπαραγωγικούς και ερευνητικούς σκοπούς.

Οι γυρεόκοκκοι των αγγειοσπέρμων φυτών, όπως έχει αναφερθεί στα προηγούμενα κεφάλαια, καλύπτονται από σποροπολλενίνη, η οποία τους καθιστά εξαιρετικά ανθεκτικούς. Η παρουσία ανθεκτικών τοιχωμάτων και τα διάφορα έγκλειστα της γύρης, πλούσια σε σάκχαρα, άμυλο και άλλα αποθησαυριστικά υλικά, βοηθούν στην συντήρηση των γυρεοκόκκων.

Ισως η πρωιμότερη προσπάθεια συντήρησης της γύρης για σκοπούς επικοινωνίας έγινε στην Μέση Ανατολή πριν από 4000 χρόνια περίπου, όπου άρρενες ταξιανθίες της χουρμαδιάς διατηρούντο από την μία καλλιεργητική περίοδο μέχρι την άλλη, σε κρύο και ξηρό περιβάλλον. Οι παλαιότερες επιστημονικές παρατηρήσεις πάνω στην μακροβιότητα της γύρης, κυρίως κάτω από φυσιολογικές συνθήκες περιβάλλοντος, πραγματοποιήθηκαν κατά το δεύτερο μισό του 19ου αιώνα (King, 1965).

Το αυξημένο ενδιαφέρον για την παράταση της ζωής της γύρης με κατάλληλες τροποποιήσεις των συνθηκών του περιβάλλοντος άρχισε στις αρχές του τρέχοντα αιώνα. Εκτοτε ένας μεγάλος αριθμός καλλιεργούμενων φυτών εξετάσθηκε ως προς την δυνατότητα συντήρησης της γύρης τους, περιλαμβάνοντας κηπευτικά, αγρωστώδη, καρποφόρα δένδρα, καλλωπιστικά και κλωστικά φυτά.

Η αποθήκευση της γύρης έχει πρωταρχικό ενδιαφέρον για τους γεωπόνους και τους βελτιωτές φυτών, καθώς αυτή παρέχει την δυνατότητα να ξεπερασθούν μερικά από τα προβλήματα των διαφόρων αναπαραγωγικών προγραμμάτων. Οι ερευνητές από παλιά ενδιαφέρονται να διασταυρώσουν ποικιλίες, είδη, ακόμα και γένη, προς παραγωγή νέων και βελτιωμένων φυτών, καλύτερα προσαρμοσμένων στις ανθρώπινες ανάγκες. Όμως πολλές από τις προσπάθειες αυτές απέτυχαν εξ αιτίας περιοριστικών

φραγμών στις διασταυρώσεις (εκτός από φαινόμενα ασυμβιβάστου) όπως είναι:

- α) εποχιακοί περιορισμοί (διασταυρώσεις μεταξύ φυτών, τα οποία ανθίζουν σε διαφορετική εποχή του έτους),
- β) γεωγραφικοί περιορισμοί (τα φυτά αναπτύσσονται σε διαφορετικές περιοχές του κόσμου) και
- γ) φυσιολογικοί περιορισμοί (σε μερικές περιπτώσεις τα άρρενα και θήλεα μέρη των ανθέων ωριμάζουν σε διαφορετικούς χρόνους ή τα άρρενα και θήλεα άνθη στα δίοικα ή στα δίκλινα φυτά ανθίζουν σε διαφορετικούς χρόνους). (Towill, 1985; Bajaj, 1987).

Η αποθήκευση της γύρης μπορεί επίσης να χρησιμεύσει σε προγράμματα και στρατηγικές διατήρησης γενετικού υλικού, συμπληρώνοντας ή και υποκαθιστώντας τα κλωνικά φυτά και τους σπόρους. Με την δημιουργία "τραπεζών" γύρης μπορεί να μειωθεί η ανάγκη για διατήρηση δενδροκήπων και φυτωρίων για την εξασφάλιση της αναγκαίας γύρης κατά τη διάρκεια μίας χρονιάς, όμως πρέπει να λαμβάνεται πρόνοια για την μείωση της πιθανότητας μετάδοσης ασθενειών, αφού η μεταφορά ιών και μυκήτων με την γύρη δεν είναι σπάνια φαινόμενα (Towill, 1985; Bajaj, 1987).

Εκτός των παραπάνω σκοπών η αποθήκευση της γύρης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή απλοειδών φυτών από απομονωμένη γύρη (γυρεϊκά έμβρυα). (Bajaj, 1987).

Διάφοροι μικρότερης σημασίας στόχοι είναι η χρήση της αποθηκευμένης γύρης σε μελισσοκομικές καλλιέργειες και σε μελέτες αλλεργικών παθήσεων. Σ' αυτές τις περιπτώσεις δεν ενδιαφέρει η διατήρηση της ζωτικότητας αλλά μόνο η διατήρηση αμετάβλητης της χημικής σύστασης της γύρης (Stanley and Linskens, 1974: από αναφορά Towill, 1985).

Τέλος, υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον για χρήση της βλαστικότητας της γύρης και της επιμήκυνσης του γυρεοσωλήνα, στην ανίχνευση της δυσμενούς επίδρασης στη βιολογική δραστηριότητα που μπορεί να έχει το περιβάλλον (τοξικότητα, μεταλλακτικότητα). Η αποθήκευση της γύρης μπορεί να βοηθήσει και σ' αυτό τον τομέα (Towill, 1985).

1.1.6.3.4. Μέθοδοι αποθήκευσης

Γενικά οι μέθοδοι αποθήκευσης της γύρης μπορούν να διαχωριστούν στις εξής κατηγορίες:

- α) Αποθήκευση σε θερμοκρασία 3-5°C. Η μέθοδος αυτή αφορά συντήρηση μικρής περιόδου και η θερμοκρασία επιτυγχάνεται σε θαλάμους συντήρησης οικιακού ψυγείου (Bajaj, 1987).
- β) Κατάψυξη σε θερμοκρασίες -10° ως -34°C. Οι θερμοκρασίες αυτές επιτυγχάνονται με τα κοινά ψυκτικά συστήματα, που χρησιμοποιούνται και στα οικιακά ψυγεία. Σ' αυτές τις θερμοκρασίες διατηρείται η ζωτικότητα της γύρης για μεγάλες σχετικά χρονικές περιόδους (Towill, 1985; Bajaj, 1987).
- γ) Αποθήκευση σε κρυογενικές θερμοκρασίες. Αυτές αφορούν θερμοκρασίες βρασμού διαφόρων αερίων, όταν βρίσκονται σε υγρή κατάσταση (άζωτο, αργό, οξυγόνο). Οι θερμοκρασίες που επιτυγχάνονται είναι πολύ χαμηλές (κάτω των -180°C) και σ' αυτές τις συνθήκες η γύρη διατηρεί την αρχική της ζωτικότητα για πολύ μεγάλα χρονικά διαστήματα (Towill, 1985; Bajaj, 1987).
- δ) Λυοφιλοποίηση υπό κενό ή υπό ψύξη (Freeze drying-Vacuum drying). Με την μέθοδο αυτή απομακρύνεται το περιεχόμενο νερό της γύρης δια εξαχνώσεως εξαιτίας των πολύ χαμηλών πιέσεων, στις οποίες εκτίθεται. Η διαφορά μεταξύ των μεθόδων έγκειται στο ότι στην λυοφιλοποίηση υπό ψύξη, το υλικό πριν την εφαρμογή των χαμηλών πιέσεων καταψύχεται. Η λυοφιλοποιημένη γύρη μπορεί να διατηρήσει την ζωτικότητά της για αρκετό καιρό ακόμα και σε θερμοκρασία δωματίου (Ching and Ching, 1964; King, 1965; Livingston and Ching, 1967).
- ε) Αποθήκευση σε οργανικούς διαλύτες. Έχει αναφερθεί ότι διάφοροι οργανικοί διαλύτες (άνυδρη αλκοόλη, η-εξάνιο, βουτανόλη, αμυλαλκοόλη, βενζίνη κ.α.) επιτυγχάνουν αύξηση της

μακροβιότητας της γύρης, όταν η τελευταία αποθηκευθεί σ' αυτούς (Iwanami and Nakamura, 1972; Iwanami, 1975; Iwanami and Iwadare, 1978; Agarwal, 1983; Iwanami, 1984; Jain and Shivana, 1988).

Από τις προηγούμενες μεθόδους αποθήκευσης της γύρης ενδιαφέρον παρουσιάζουν η κατάψυξη σε θερμοκρασίες από -10°C έως -34°C , η συντήρηση με εφαρμογή κρυογενικών θερμοκρασιών και η λυοφιλοποίηση. Εκτός από την αποθήκευση σε κρυογενικές θερμοκρασίες οι λοιπές μέθοδοι γενικά φαίνονται κατάλληλες για αποθήκευση γύρης για αναπαραγωγικούς σκοπούς, αλλά τότε η γύρη χάνει την βιωσιμότητα της βαθμιαία με την πάροδο του χρόνου (Bajaj, 1987). Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η αποθήκευση σε κρυογενικές θερμοκρασίες, καθώς μ' αυτή την μέθοδο διατηρείται σχεδόν αναλλοίωτη η ζωτικότητα της γύρης σε όλα σχεδόν τα φυτικά είδη που δοκιμάσθηκαν (Johri and Vasil, 1961).

Β' ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Η ευεργετική δράση των ενδομυκορριζικών μυκήτων (ΑΜ) στην ανάπτυξη των φυτών είναι γνωστή και καλά τεκμηριωμένη, καθώς συμβάλλουν στην ενίσχυση της θρέψης των φυτών δια μέσου της πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων, κυρίως του φωσφόρου (Peterson et al., 1984), ενώ παράλληλα παρέχουν προστασία από διάφορα εδαφοπαθογόνα (Sikes, 2010). Επίσης, ορισμένοι ανταγωνιστικοί μύκητες του γένους *Trichoderma* που αποικίζουν τη ριζόσφαιρα και χρησιμοποιούνται ως βιολογικοί παράγοντες για την αντιμετώπιση εδαφοπαθογόνων, έχει βρεθεί ότι επιδρούν θετικά στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος και την απόδοση των φυτών (Mwangi et al., 2011). Επιπλέον, ορισμένα ριζοβακτήρια (PGPR), προωθούν την ανάπτυξη των φυτών μέσω της παραγωγής φυτορρυθμιστικών ουσιών, βελτιώνουν τη διαθεσιμότητα και την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από τις ρίζες των φυτών, διεγείρουν μηχανισμούς ανοσοποίησης των φυτών και εκκρίνουν αντιβιοτικές ουσίες που επηρεάζουν την ανάπτυξη εδαφοπαθογόνων (van Loon, 2007).

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η διερεύνηση της ικανότητας εμπορικά διαθέσιμων στελεχών επιλεγμένων μικροοργανισμών, όπως το βακτήριο *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 και οι μύκητες *Trichoderma harzianum* T-22, *Glomus intraradices*, στο να παρέχουν προστασία σε φυτά τομάτας από το *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, καθώς επίσης και η επίδρασή των στο ποσοστό της *in vitro* βλαστικότητας της γύρης, στην επιμήκυνση των γυρεοσωλήνων, στον αριθμό των σπερμάτων ανά καρπό και στο βάρος των 1000 σπόρων της τομάτας.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Φυτά υβριδίου τομάτας, των ποικιλιών Formula F1 και He-man, καλλιεργήθηκαν σε ανοικτό υδροπονικό σύστημα με υπόστρωμα πετροβάμβακα στο θερμοκήπιο του ΤΕΙ Ηπείρου στην Άρτα (Απρίλιος 2014 - Αύγουστος 2014). Η σπορά πραγματοποιήθηκε, έπειτα από απολύμανση του σπόρου (NaClO 0.5%, 2 min) σε αποστειρωμένο μείγμα (120°C, 20 min) τύρφης-περλίτη (2:1). Τα νεαρά φυτά μεταφυτεύτηκαν σε απολυμασμένες γλάστρες (NaClO 10%, 10 min) με υπόστρωμα περλίτη και καλλιεργήθηκαν υδροπονικά.

Κατά τη διάρκεια του πειράματος διαφορετικά θρεπτικά διαλύματα χρησιμοποιήθηκαν για την καλλιέργεια της τομάτας σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης. Η χημική σύσταση των θρεπτικών διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη των φυτών τομάτας αναφέρονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 7, 8 και 9).

Πίνακας 7. Σύσταση πυκνού θρεπτικού διαλύματος για τη διαβροχή του υποστρώματος για καλλιέργεια τομάτας.

E.C.	2,93	dS/m
pH	5,60	
Πυκνό διάλυμα Α		10 ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό ασβέστιο	1,189 Kg
2	Νιτρικό κάλιο	0,074 Kg
3	Χηλικός σίδηρος	0,019 Kg
Πυκνό διάλυμα Β		10 ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό κάλιο	0,088 Kg
2	Θειικό μαγνήσιο	0,665 Kg
3	Φωσφορικό μονοκάλιο	0,191 Kg
4	Θειικό κάλιο	0,331 Kg
5	Θειικό μαγγάνιο	2,03 g
6	Θειικός ψευδάργυρος	1,39 g
7	Θειικός χαλκός	0,25 g

8	Βόρακας	3,81	g
9	Μολυβδαινικό νάτριο	0,12	g
	Πυκνό διάλυμα οξέως	10	ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό οξύ	0,235	λίτρα

Πίνακας 8. Σύσταση πυκνού θρεπτικού διαλύματος για την ανάπτυξη σπορόφυτων τομάτας.

E.C.		2,60	dS/m
pH		5,50	
	Πυκνό διάλυμα Α	10	ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό ασβέστιο	0,694	Kg
2	Νιτρικό κάλιο	0,730	Kg
3	Νιτρικό αμμώνιο	0,048	Kg
4	Χηλικός σίδηρος	0,014	Kg
	Πυκνό διάλυμα Β	10	ΛΙΤΡΑ
1	Θειικό μαγνήσιο	0,240	Kg
2	Φωσφορικό μονοκάλιο	0,163	Kg
3	Νιτρικό μαγνήσιο	0,198	Kg
4	Π.Δ. Ιχνοστοιχείων	0,050	λίτρα
	Πυκνό διάλυμα ιχνοστοιχείων	20	ΛΙΤΡΑ
1	Θειικό μαγγάνιο	594,88	g
2	Θειικός ψευδάργυρος	672,75	g
3	Θειικός χαλκός	69,92	g
4	Βόρακας	1418,91	g
5	Μολυβδαινικό νάτριο	48,38	g
6	Νιτρικό οξύ	0,04	λίτρα
	Πυκνό διάλυμα οξέως	10	ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό οξύ	0,200	λίτρα

Πίνακας 9. Σύσταση πυκνού θρεπτικού διαλύματος για την ανάπτυξη φυτών τομάτας στο βλαστικό στάδιο.

E.C.		2,60	dS/m
pH		5,60	
	Πυκνό διάλυμα Α	50	ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό ασβέστιο	4,538	Kg
2	Νιτρικό κάλιο	0,669	Kg
3	Νιτρικό αμμώνιο	0,264	Kg
4	Χηλικός σίδηρος	0,070	Kg
	Πυκνό διάλυμα Β	50	ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό κάλιο	0,647	Kg
2	Θειικό μαγνήσιο	2,586	Kg
3	Φωσφορικό μονοκάλιο	1,021	Kg
4	Θειικό κάλιο	1,262	Kg

5	Θειικό μαγγάνιο	8,45	g
6	Θειικός ψευδάργυρος	4,10	g
7	Θειικός χαλκός	1,00	g
8	Βόρακας	16,68	g
9	Μολυβδαινικό νάτριο	0,60	g
	Πυκνό διάλυμα οξέως	50	ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό οξύ	1,173	λίτρα

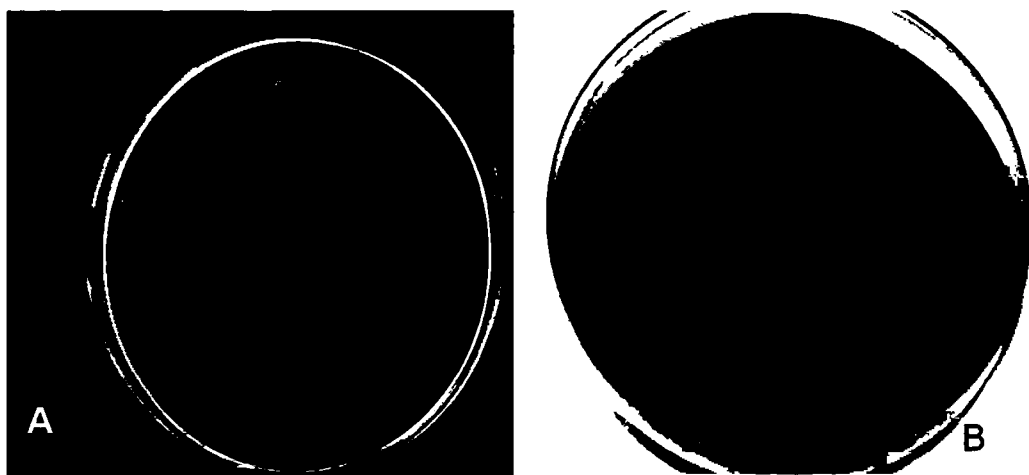
Για τον εμβολιασμό των φυτών με συμβιωτικούς μικροοργανισμούς χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά σκευάσματα των *Glomus intraradices* (MycosymTri-Ton, Χελλαφαρμ Α.Ε.), *Trichoderma harzianum* (T-22) (Triatum -P, KOPPERT B.V), *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 (Greener, Intrachem Ελλάς Ε.Π.Ε.), τα οποία εφαρμόστηκαν στις συνιστώμενες δόσεις κατά τη σπορά των φυτών (6g L^{-1} υποστρώματος, $1,5\text{ g m}^{-2}$, $0,5\text{ mL L}^{-1}$ αντίστοιχα) και τη μεταφύτευση ($1,5\text{ g}$ θέση μεταφύτευσης, $0,3\text{ g L}^{-1}$ 50 mL ανά φυτό, $0,5\text{ L}^{-1}$ 50 mL ανά φυτό). Επανάληψη των εμβολιασμών πραγματοποιήθηκε ανά 4 εβδομάδες για τα *Trichoderma harzianum* (T-22) και *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42.

Για τη μόλυνση των φυτών χρησιμοποιήθηκε στέλεχος του *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* BPIC-2550 (Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο), το οποίο καλλιεργήθηκε σε τρυβλία Petri με υπόστρωμα PDA στους $26\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ο εμβολιασμός του υποστρώματος πραγματοποιήθηκε κατά τη μεταφύτευση με αιώρημα μικροσπορίων (10^6 σπόρια mL^{-1} , 50 mL ανά φυτό) και επαναλήφθηκε μετά από ένα μήνα.

Το εμπορικό σκευάσμα Greener (περιέχει το στέλεχος *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24 υπό μορφή αιωρήματος ενδοσπορίων) εφαρμόστηκε με ριζοπότισμα σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (τελική συγκέντρωση διαλύματος 10^7 cfu/ml). Πραγματοποιήθηκαν 2 εμβολιασμοί των φυτών, ο 1^{ος} κατά τη σπορά και ο 2^{ος} κατά τη μεταφύτευση των φυτών σε πλάκες πετροβάμβακα.

Για την παρακολούθηση του πληθυσμού του *Bacillus amyloliquefaciens* στην περιοχή της ριζόσφαιρας έγιναν 2 δειγματοληψίες, η 1^η πριν τη μεταφύτευση και η 2^η στο τέλος της καλλιέργειας. Σε κάθε δειγματοληψία και για κάθε μεταχείριση ελήφθησαν δείγματα ριζόσφαιρας από 3 φυτά. Ο

πληθυσμός του *Bacillus amyloliquefaciens* καθώς και των υπόλοιπων βακτηριών προσδιορίσθηκε με τη μέθοδο καταμέτρησης βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων. Η διάκριση ανάμεσα στο *Bacillus amyloliquefaciens* και στα υπόλοιπα βακτήρια της ριζόσφαιρας έγινε με βάση: α) την τυπική μορφή που εμφανίζουν οι αποικίες του βακτηρίου στην επιφάνεια πλήρους θρεπτικού μέσου ανάπτυξης (Εικόνα 12Α) και β) την εμφάνιση διαυγούς ζώνης β-αιμόλυσης γύρω από τις αποικίες του βακτηρίου μετά από ανάπτυξη σε αιματούχο άγαρ (Nihorimbere et al., 2012) (Εικόνα 12Β).



Αποικίες του *B. amyloliquefaciens*

Εικόνα 12. Αποικίες βακτηρίων που αποικίζουν τη ριζόσφαιρα των φυτών τομάτας σε στερεό θρεπτικό μέσο ανάπτυξης: Α) Nutrient Agar και Β) Sheep Blood Agar.

Με το τέλος του πειράματος καταγράφηκαν στοιχεία που αφορούσαν στην ανάπτυξη των φυτών (20 ανά μεταχείριση), όπως το ύψος και το νωπό βάρος. Η προσβολή των φυτών από το φυτοπαθογόνο εκτιμήθηκε με απομόνωσή του από την περιοχή του λαιμού των φυτών (4 φυτά ανά μεταχείριση). Τμήμα του στελέχους (10 cm) από το λαιμό κόπηκε, απολυμάνθηκε (NaClO 10%, 5 min). Αποκαλύφθηκε ο κεντρικός κύλινδρος, λήφθηκαν 5 τομές (μήκους 1 cm) περιμετρικά, έτσι ώστε να περιλαμβάνουν την περιοχή των αγγείων, τοποθετήθηκαν σε τρυβλίο Petri με PDA και

επώαστηκαν στους 26 °C για 6 μέρες. Για τον υπολογισμό του ποσοστού προσβολής του φυτού λήφθηκε υπόψη, ότι κάθε τομή αντιπροσωπεύει το 20 % των αγγείων του φυτού. Ο πληθυσμός του *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* στη ριζόσφαιρα εκτιμήθηκε με τη μέθοδο της καταμέτρησης των βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων (cfu g⁻¹ ξηρού βάρους ρίζας) μετά από επίστρωση σε τρυβλία με θρεπτικό υπόστρωμα PDA και χλωραμφαινικόλη (100 µg mL⁻¹) των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων του αποπλύματος ριζών σε αποστειρωμένο διάλυμα Ringer's (4 δείγματα ανά μεταχείριση). Οι τυπικές αποικίες του *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (επώαση 26 °C, 7 ημέρες) καταμετρήθηκαν και εκφράσθηκαν σε cfu g⁻¹ ξηρού βάρους ρίζας.

Η συλλογή της γύρης γινόταν τις πρωινές ώρες (9-11 π.μ.) από πλήρως αναπτυγμένα άνθη. Αμέσως μετά την συλλογή, η γύρη υποβάλλονταν σε *in vitro* καλλιέργεια σε τεχνητό υπόστρωμα 12% σακχαρόζης και 50 mg L⁻¹ H₃BO₃. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της σταγόνας πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα που βρισκόταν μέσα σε τρυβλίο παρουσία απεσταγμένου νερού. Μετά την προσθήκη της γύρης σφραγίζονταν τα τρυβλία και τοποθετούνταν για επώαση σε θερμοκρασία 16 °C απουσία φωτισμού. Μετά από 6 ώρες η βλάστηση της γύρης σταματούσε με την προσθήκη οξικής καρμίνης, τοποθετούνταν οι καλυπτρίδες στις σταγόνες με τα υποστρώματα και ακολούθως λαμβάνονταν οι παρατηρήσεις σε οπτικό μικροσκόπιο με την χρήση ψηφιακής φωτογραφικής μηχανής. Σε κάθε μεταχείριση έγιναν δέκα επαναλήψεις όπου προσδιοριζόταν η % βλαστικότητα και το μήκος των γυρεοσωλήνων με εφαρμογή του προγράμματος Image-Pro Plus 6.0. Επίσης κατά την ωρίμαση των καρπών σε κάθε μεταχείριση μετρήθηκαν ο αριθμός των σπερμάτων ανά καρπό και το βάρος των 1000 σπόρων (ISTA, 1999).

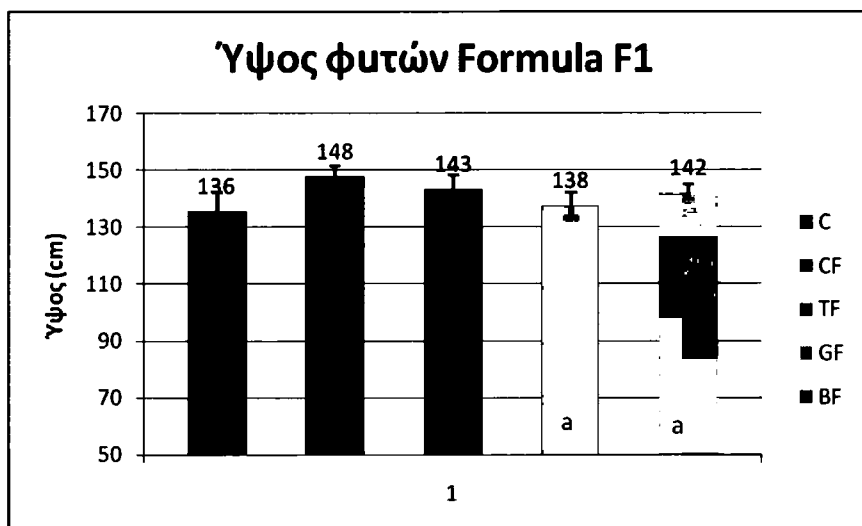
Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS. Πραγματοποιήθηκε απλή ανάλυση διασποράς (ANOVA) και για το διαχωρισμό των μέσων όρων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό κριτήριο της Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (LSD) σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (p=0.05). Η στατιστική επεξεργασία των ποσοστών βλαστικότητας έγινε μετά από μετατροπή τους σε μοίρες (arcsine transformation) σύμφωνα με την

σχέση: $\omega^o = \frac{\text{αόξημ \% βλαστικότητα}}{100}$. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται
ως ποσοστά επί τοις εκατό (%).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

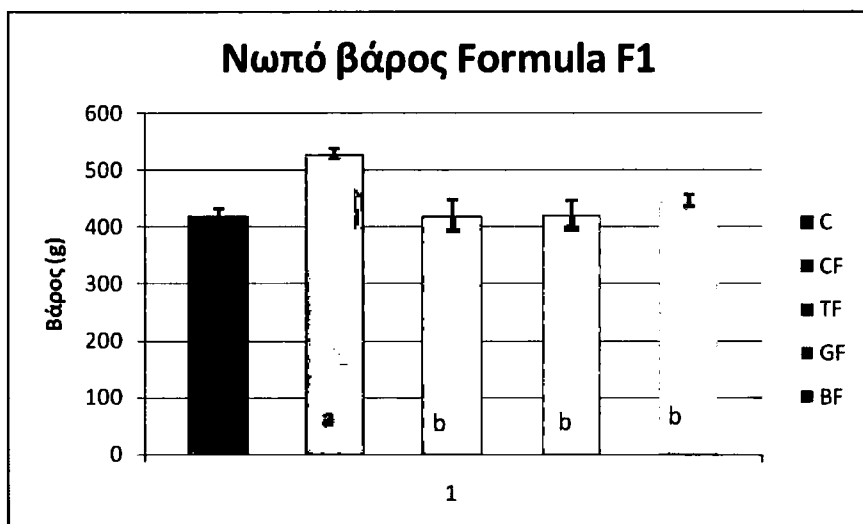
3.1. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΥΤΩΝ

Αναφορικά με το ύψος των φυτών (Γραφημα 1) δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στις διάφορες μεταχειρίσεις (Ανοva $p=0.475$). Παρόλο που τα εμβολιασμένα με *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* φυτά του μάρτυρα παρουσίασαν το μεγαλύτερο ύψος η διαφορά δεν ήταν σημαντική συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις.



Γράφημα 1. Μέσος όρος ύψους φυτών (m) στις διάφορες μεταχειρίσεις. F: *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, C: Μάρτυρας, T: *Trichoderma harzianum* T-22, B: *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, G: *Glomus intraradices* ($p<0.05$).

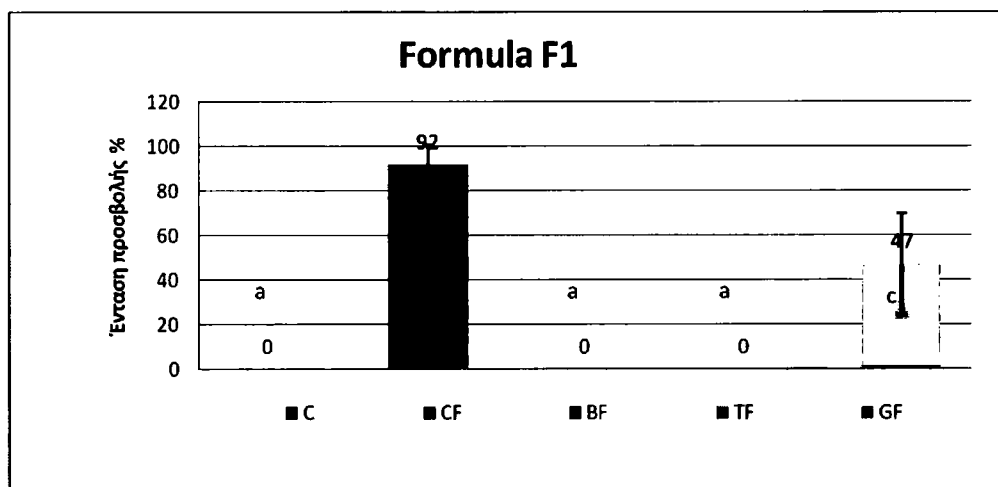
Το νωπό βάρος των φυτών παρουσίασε στατιστικών σημαντική διαφορά στις διάφορες μεταχειρίσεις (Ανοva $p=0.0.02$). Μεγαλύτερο νωπό βάρος παρουσίασαν *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* φυτά του μάρτυρα συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις.



Γράφημα 2. Μέσος όρος νωπού βάρους φυτών (g) στις διάφορες μεταχειρίσεις. F: *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, C: Μάρτυρας, T: *Trichoderma harzianum* T-22, B: *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, G: *Glomus intraradices* ($p < 0.05$).

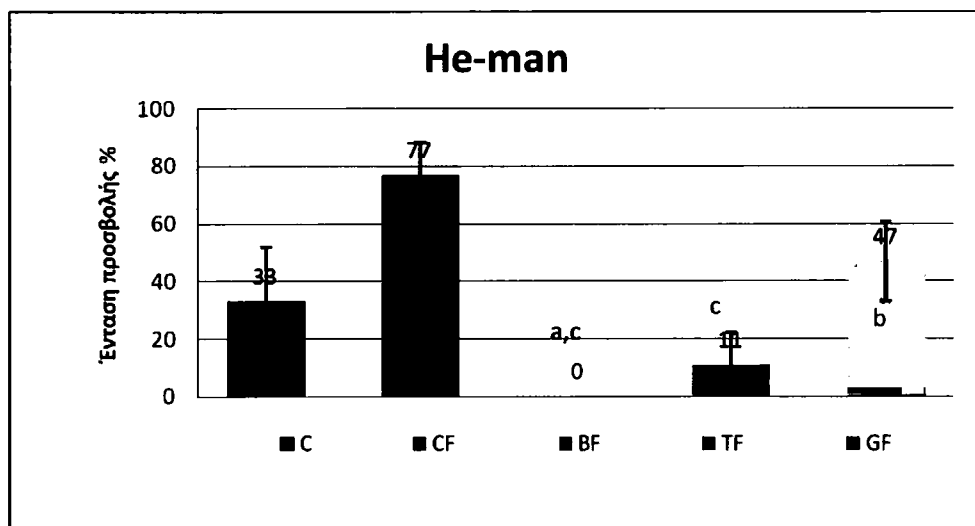
3.2. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΑΠΟ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Στη συνέχεια (Γραφήμα 3) αναφέρονται τα αποτελέσματα που αφορούν την ικανότητα των μικροοργανισμών που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών και παρέχουν προστασία στα φυτά της τομάτας από το φυτοπαθογόνο μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.



Γράφημα 3. Μέσος όρος ποσοστού προσβολής των φυτών της ποικιλίας Formula F1 από το εδαφογενές φυτοπαθογόνο *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* στις διάφορες μεταχειρίσεις. F: *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, C: Μάρτυρας, T: *Trichoderma harzianum* T-22, B: *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, G: *Glomus Intraradices*. Οι μέσοι όροι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους ($p < 0.05$).

Στην ποικιλία Formula F1 διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις μεταχειρίσεις, για επίπεδο σημαντικότητας 5%, αναφορικά με την ένταση της προσβολής των φυτών από το *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Ανοva $p=0.000$). Το ποσοστό προσβολής στα εμβολιασμένα φυτά του μάρτυρα ανήλθε σε ποσοστό 92%, ενώ στα μη εμβολιασμένα φυτά του μάρτυρα δεν παρατηρήθηκε προσβολή (0% προσβολή) (LSD $p=0.000$). Το *Trichoderma harzianum* T-22 και το *Bacillus amylolyquefaciens* FZB42 φαίνεται ότι παρέχουν ικανοποιητική προστασία στα φυτά από τον φυτοπαθογόνο μύκητα σε αντίθεση με το *Glomus Intraradices* το οποίο μείωσε την ένταση της προσβολής (47 %) αλλά δεν παρείχε αποτελεσματική προστασία.



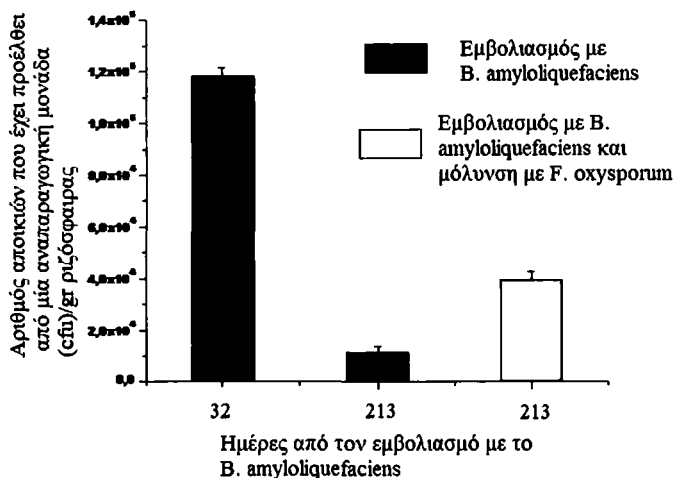
Γράφημα 4. Μέσος όρος ποσοστού προσβολής των φυτών της ποικιλίας Heman από το εδαφογενές φυτοπαθογόνο *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* στις διάφορες μεταχειρίσεις. F: *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, C: Μάρτυρας, T: *Trichoderma harzianum* T-22, B: *Bacillus amylolyquefaciens* FZB42, G: *Glomus Intraradices*. Οι μέσοι όροι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους ($p<0.05$).

Στα φυτά της ποικιλίας Heman παρατηρήθηκε επίσης στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις μεταχειρίσεις αναφορικά με το ποσοστό προσβολής των φυτών από το *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Ανοva $p=0.014$). Το ποσοστό προσβολής των εμβολιασμένων φυτών του μάρτυρα ανήλθε σε ποσοστό 77%, ενώ στα μη εμβολιασμένα φυτά παρατηρήθηκε

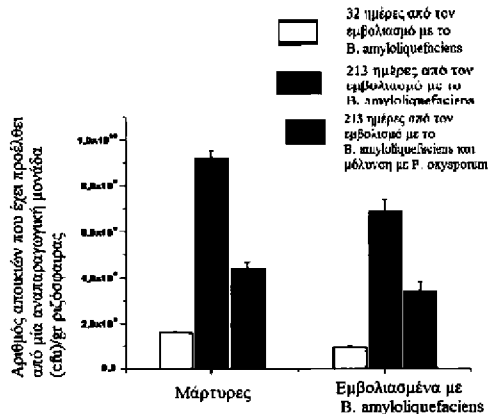
μικρότερη προσβολή 33% λόγω μη αποτελεσματικής απομόνωσής τους (LSD $p=0.033$). Και σε αυτή την ποικιλία το *Trichoderma harzianum* T-22 και το *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 φαίνεται ότι προστατεύουν τα φυτά από το συγκεκριμένο φυτοπαθογόνο σε αντίθεση με το *Glomus Intraradices* το οποίο παρόλο που μείωσε την ένταση της προσβολής (47 %) αυτή δεν παρουσίασε στατιστικές σημαντική διαφορά συγκριτικά με τον εμβολιασμένο μάρτυρα (LSD $p=0.123$).

Οι αναλύσεις των δειγμάτων της ριζόσφαιρας έδειξαν ότι το *Bacillus amyloliquefaciens* εγκαταστάθηκε σε σημαντικούς πληθυσμούς αν και ο πληθυσμός του παρουσίασε σημαντική μείωση στη 2^η δειγματοληψία (Γράφημα 5). Αξίζει να σημειωθεί ότι ο πληθυσμός του ωφέλιμου βακτηρίου στη 2^η δειγματοληψία ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στα δείγματα που έγινε τεχνητή μόλυνση με *Fusarium oxysporum* σε σχέση με αυτά που δεν έγινε (Γράφημα 5). Αντίθετα, παρατηρήθηκε μείωση του συνολικού πληθυσμού των βακτηρίων της ριζόσφαιρας στα δείγματα αυτά καθώς και στα αντίστοιχα δείγματα από τον μάρτυρα (Γράφημα 6). Πιθανά αυτό να οφείλεται στο γεγονός, ότι το *Fusarium oxysporum* ασκεί μικρότερη ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη του πληθυσμού του *Bacillus amyloliquefaciens* σε σχέση με τους πληθυσμούς των υπόλοιπων βακτηρίων της ριζόσφαιρας. Ο μειωμένος πληθυσμός των υπόλοιπων βακτηρίων επιτρέπει στο *Bacillus amyloliquefaciens* ν' αυξήσει τον πληθυσμό του καθώς τα βακτήρια της ριζόσφαιρας ανταγωνίζονται μεταξύ τους για τις ίδιες περιορισμένες θέσεις και πηγές θρεπτικών ουσιών (Di Mattia et al., 2002; Espinosa-Urgel M. et al., 2002).

«ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΩΦΕΛΙΜΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΥΤΩΝ
ΤΟΜΑΤΑΣ ΤΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ FORMULA F1 ΚΑΙ HE-MAN ΣΕ ΥΔΡΟΠΟΝΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, ΣΤΗ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΤΗΣ ΓΥΡΗΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΟΥ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*»



Γράφημα 5. Αποικισμός της ριζόσφαιρας των φυτών τομάτας ποικιλίας Formula F1 από το *B. amyloliquefaciens* FZB24 σε υδροπονική καλλιέργεια.

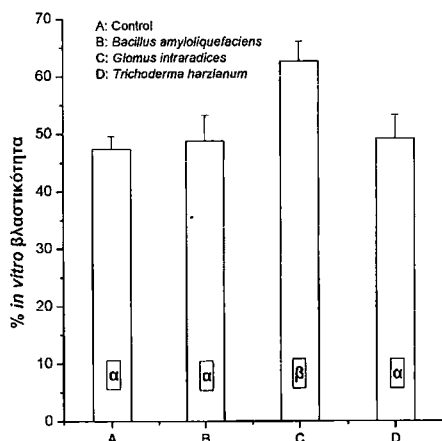


Γράφημα 6. Πληθυσμός βακτηρίων που αποικίζουν τη ριζόσφαιρα των φυτών ταμάτας ποικιλίας Formula F1 σε υδροπονική καλλιέργεια.

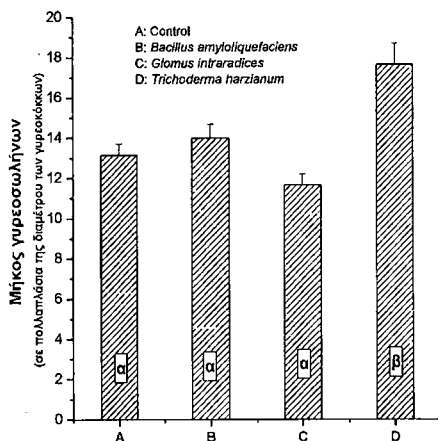
3.3. ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΓΥΡΗΣ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος, τα φυτά της τομάτας Formula F1 είχαν διαφορετική έκφραση στα αναπαραγωγικά χαρακτηρίστηκα τους, ανάλογα με το είδος του συμβιωτικού μικροοργανισμού που χρησιμοποιήθηκε.

Τα φυτά που εμβολιάσθηκαν με τον μύκητα *Glomus intraradices* παρουσίασαν αύξηση στην *in vitro* βλαστικότητα της γύρης, όχι όμως σημαντική αύξηση στο μήκος των γυρεοσωλήνων. Η αύξηση του ποσοστού της *in vitro* βλαστικότητας της γύρης της τομάτας Formula F1 δεν φαίνεται να επηρέασε τα χαρακτηριστικά της παραγωγής σπόρων καθώς δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές τόσο στον αριθμό σπερμάτων ανά καρπό όσο και στο βάρος των 1000 σπόρων.



Γράφημα 7. Βλαστικότητα γύρης. Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

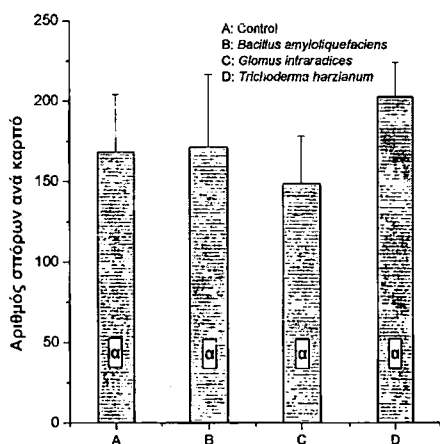


Γράφημα 8. Μέσο μήκος γυρεοσωλήνων. Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

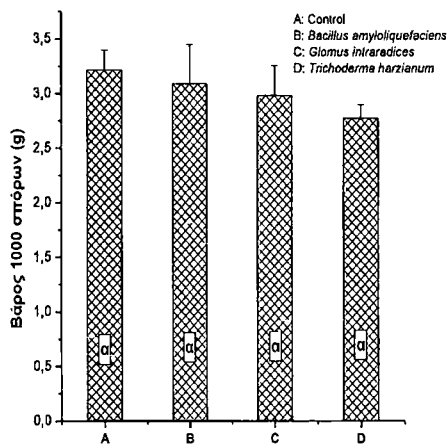
Στην περίπτωση του σαπροφυτικού μύκητα *Trichoderma harzianum* το στέλεχος T-22 βρέθηκε ότι προκάλεσε σημαντική αύξηση στο μήκος των γυρεοσωλήνων της τομάτας Formula F1, αλλά δεν επηρέασε το ποσοστό της *in vitro* βλαστικότητα. Παρόλα αυτά δεν διαπιστώθηκε σημαντική επίδραση στα χαρακτηριστικά παραγωγής σπόρου.

Στην παρούσα εργασία το στέλεχος FZB42 του ριζοβακτηρίου *Bacillus amyloliquefaciens* δεν παρουσίασε καμία ευεργετική επίδραση στα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά του συγκεκριμένου υβριδίου.

Φαίνεται ότι, ανεξάρτητα από την ευεργετική επίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στα χαρακτηριστικά της βλαστικότητας της γύρης στο υβρίδιο Formula F1, για την παραγωγή σπόρων αρκεί ένα ελάχιστο ποσοστό βλαστικότητας καθώς τόσο τα φυτά μάρτυρες όσο και τα φυτά που εμβολιάστηκαν με τους μικροοργανισμούς *Glomus intraradices* και *Trichoderma harzianum* T-22 δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στα χαρακτηριστικά του παραγόμενου σπόρου.



Γράφημα 9. Μέσος αριθμός σπερμάτων ανά καρπό. Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.



Γράφημα 10. Μέσο βάρος 100 σπόρων. Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο πλαίσιο της εργασίας δοκιμάστηκε η ικανότητα τριών (3) εμπορικά διαθέσιμων σκευασμάτων ωφέλιμων μικροοργανισμών, που χρησιμοποιούνται ως ενισχυτικά της ανάπτυξης των φυτών, στο να παρέχουν προστασία σε φυτά τομάτας από το *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Η αλληλεπίδραση μυκήτων με μυκόρριζες ποικίλλουν ανάλογα με τα είδη των μυκήτων καθώς και με τα φυτά στα οποία αποικίζουν. Ο S. Fracchia το 1999 δοκίμασε διαφορετικά είδη μυκορριζικών μυκήτων του γένους *Glomus* σε συνδυασμό με διαφορετικά στελέχη του μύκητα *Fusarium oxysporum* σε φυτά όπως αραβόσιτο, σόργο, μαρούλι, ντομάτα, σιτάρι, φακή και μπιζέλι. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι προσθέτοντας το μυκορριζικό μύκητα, εμφάνισε θετικά αποτελέσματα το μπιζέλι, ενισχύοντας περισσότερο την αύξηση του φυτού και τον εποικισμό του από τη μυκόρριζα. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγήθηκαν και στον ταυτόχρονο εμβολιασμό του φυτού με το *Fusarium oxysporum* σε συνδυασμό με τον μυκορριζικό μύκητα. Συγκεκριμένα, προσθέτοντας τον μύκητα, ενισχύθηκε η επιβίωση του φυτού του μπιζελλίου ενδεχομένως δρώντας θετικά παρουσία των μυκορριζικών μυκήτων. Η αλληλεπίδραση του ενδοφυτικού και μυκορριζικού μύκητα στο μπιζέλι είχε ως αποτέλεσμα να αυξηθούν το ξηρό βάρος των υπέργειων τμημάτων του φυτού και η συγκέντρωση αζώτου και φωσφόρου καθώς και το επίπεδο αποικισμού τόσο των ενδογενών όσο και των προστιθέμενων μυκορριζικών μυκήτων.

Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι το *Bacillus amyloliquefaciens* και το *Trichoderma harzianum* περιόρισαν σημαντικά την προσβολή των φυτών της τομάτας από το εδαφογενές φυτοπαθογόνο *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Εντούτοις, δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές

στην ανάπτυξη των φυτών (ύψος) έπειτα από την επίδραση των μικροοργανισμών.

Σε πρόσφατη έρευνα που έγινε με τα στελέχη *B. amyloliquefaciens* IN937a και *B. Pumilus* T4, οι Adesemoye et al. (2009) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα PGPR προήγαν την ανάπτυξη των φυτών, αύξησαν την επιφάνεια των ριζών και βελτίωσαν τη δομή τους.

Τουναντίον, σε πείραμα που έγινε, παρατηρήθηκε ότι ο ξεχωριστός εμβολιασμός του μύκητα και της μυκόρριζας σε φυτά τομάτας παρουσία του νηματώδη *Meloidogyne incognita* έχουν προστατευτική δράση έναντι του νηματώδη και συγκεκριμένα αναστέλλουν την ανάπτυξη του. Όμως, όταν το στέλεχος του μύκητα και ο μυκορριζικός μύκητας εισέλθουν ταυτόχρονα, όχι μόνο δεν αναστέλλουν την δράση του νηματώδη αλλά ταυτόχρονα αυξάνουν τον αποικισμό του στο φυτό. Σαν αποτέλεσμα δηλαδή φαίνεται ότι η αλληλεπίδραση του μύκητα και της μυκόρριζας στο φυτό δρα ανασταλτικά για το φυτό και συγκεκριμένα μπορεί να βοηθήσει τη δράση άλλου παθογόνου οργανισμού (Diedhiou et al, 2002).

Στην παρούσα εργασία το στέλεχος FZB42 του ριζοβακτηρίου *Bacillus amyloliquefaciens* δεν παρουσίασε καμία ευεργετική επίδραση στα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά του συγκεκριμένου υβριδίου. Εντούτοις, τα φυτά που εμβολιάστηκαν με τον μύκητα *Glomus intrararities* παρουσίασαν αύξηση στην *in vitro* βλαστικότητα της γύρης, όχι όμως σημαντική αύξηση στο μήκος των γυρεοσωλήνων. Αντίστοιχα, οι Pulton κ.ά. (2001) παρατήρησαν ευεργετική επίδραση του συγγενούς είδους συμβιωτικού μύκητα *Glomus etunicatum* στα ποιοτικά χαρακτηριστικά της γύρης δύο ποικιλιών τομάτας, αν και αυτή εκφράσθηκε κυρίως σαν αύξηση του μήκους των γυρεοσωλήνων και όχι ως ποσοστό της *in vitro* βλαστικότητας. Οι διαφορές αυτές πιθανά να οφείλονται είτε στο είδος του συμβιωτικού μύκητα που χρησιμοποιήθηκε, είτε στο διαφορετικό γονότυπο των εμβολιασμένων φυτών. Η αύξηση του ποσοστού της *in vitro* βλαστικότητας της γύρης της τομάτας Formula F1 δεν φαίνεται να επηρέασε τα χαρακτηριστικά της παραγωγής σπόρων καθώς δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές τόσο στον αριθμό σπερμάτων ανά καρπό όσο και στο βάρος των 1000 σπόρων. Σε

αντίστοιχη εργασία (Pulton et al., 2001) αναφέρεται ότι το συγγενές είδος *Glomus etunicatum* είχε σημαντική επίδραση στην παραγωγή σπόρων της τομάτας μόνο σε μία από τις δύο ποικιλίες που εφαρμόστηκε. Αυτό φανερώνει ότι η ευεργετική επίδραση των συμβιωτικών μυκήτων στην παραγωγή σπόρων στη ντομάτα εξαρτάται από τον γονότυπο των φυτών (Bryla & Koide, 1990). Στην περίπτωση του σαπροφυτικού μύκητα *Trichoderma harzianum* το στέλεχος T-22 βρέθηκε ότι προκάλεσε σημαντική αύξηση στο μήκος των γυρεοσωλήνων της τομάτας Formula F1, αλλά δεν επηρέασε το ποσοστό της *in vitro* βλαστικότητας. Παρόλα αυτά δεν διαπιστώθηκε σημαντική επίδραση στα χαρακτηριστικά παραγωγής σπόρου. Η απουσία επίδρασης στα χαρακτηριστικά παραγωγής σπόρου του *Trichoderma harzianum* αναφέρεται και για το είδος *Brassica rapa* (Haque et al., 2012). Ως εκ τούτου, φαίνεται ότι, ανεξάρτητα από την ευεργετική επίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στα χαρακτηριστικά της βλαστικότητας της γύρης στο υβρίδιο Formula F1, για την παραγωγή σπόρων αρκεί ένα ελάχιστο ποσοστό βλαστικότητας καθώς τόσο τα φυτά μάρτυρες όσο και τα φυτά που εμβολιάστηκαν με τους μικροοργανισμούς *Glomus intraradices* και *Trichoderma harzianum* T-22 δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στα χαρακτηριστικά του παραγόμενου σπόρου.

Εν κατακλείδι, σταχυολογώντας τα πορίσματα της παρούσας εργασίας, είναι έκδηλο πως η εφαρμογή των προαναφερθέντων μικροοργανισμών μπορεί να αποτελέσει σαφώς μία οικονομικά, συμφέρουσα και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδο για τον έλεγχο του *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Επί τούτω συνιστάται περαιτέρω έρευνα ως προς τη διερεύνηση της ωφέλιμης επίδρασης της συμβίωσης ωφέλιμων μικροοργανισμών με φυτά τομάτας όπου παρέχουν προστασίας από ασθένειες εδάφους, προωθούν την ανάπτυξη των φυτών, δρουν συνεργιστικά στην παραγωγή και βλάστηση της γύρης και στην παραγωγή σπόρου. Καθώς η παραγωγή και διάθεση στην αγορά προϊόντων φυσικής προέλευσης απαλλαγμένων από επικίνδυνες χημικές ουσίες αποτελεί στις μέρες μας πρωταρχικό παράγοντα τόσο για

τους καταναλωτές όσο και για τις κυβερνητικές αποφάσεις. Στα πλαίσια αυτής της θεώρησης, η εύρεση νέων εναλλακτικών τρόπων καταπολέμησης εκθρών και ασθενειών καθίσταται απαραίτητη, και αυτό το ρόλο μπορούν να παίξουν τα εμπορικά σκευάσματα PGPR και των οφέλιμων μυκορριζικών μυκήτων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abbasi M.K., Sharif S., Kazmi M., Sultan T., Aslam M., 2011. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. *Plant Biosystems* 145, 159-168.
2. Abd-Alla, A.M., Abou-Hadid, A.F., Jones, R.A, 1993. Salinity stresses alters the vegetative and reproductive growth of cucumber plants. *Acta Horticulturae* 323: 411-421.
3. Adams, P., 2002. Nutritional control in hydroponics. In: Savvas, D., Passam, H.C. (eds). *Hydroponic Production of Vegetables and Ornamentals*. Embryo Publications, Athens, Greece, pp. 211-261.
4. Adesemoye A.O., Kloepper J.W., 2009. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85, 1-12.
5. Adesemoye A.O., Torbert H.A., Kloepper J.W., 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbiology Ecology* 58, 921-929.
6. Adesemoye A.O., Torbert H.A., Kloepper J.W., 2010. Increased plant uptake of nitrogen from ¹⁵N-depleted fertilizer using plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied Soil Ecology* 48, 54-58.
7. Agarwal P. K., 1983. Effect of storage in organic solvents on the germination of grapevine pollen. *J. Hortic. Sci.* 58 : 389-392.
8. Agrios G.N., 2005. *Plant Pathology*. Amsterdam: Academic. Pp. 635, 4th ed.
9. Alabouvette C., Olivian C., Steinberg C., 2006. Biological control of plant diseases: the European situation. *European Journal of Plant Pathology* 114, 329-341.
10. Alexander M. P., 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technol.* 44 : 117-122.

11. Allen M. F., 1982. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on water movement through *Bouteloua gracilis*. *New Phytologist* 91:191-196.
12. Ames, R. N. Reid C. P. P. Porter L. K, and Cambardella C., 1983. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ¹⁵N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist* 95:381-396.
13. Antony S. and H. Harlan, 1920. Germination of barley pollen. *J. Agr. Research*. 18 : 525-536.
14. Antoun H., Kloepper J.W., 2001. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), In: *Encyclopedia of Genetics*, Brønner S., Miller J.H., eds., Academic Press, N.Y., 1477-1480.
15. Antoun H., Prévost D., 2005. Ecology of plant promoting rhizobacteria. In: Siddiqui ZA (ed) *PGPR: biocontrol and biofertilization*. Springer, Dordrecht, pp. 1-38.
16. Auge R. and Duan. X., 1991. Mycorrhizal fungi and nonhydraulic root signals of soil drying. *Plant Physiology* 97:821-824.
17. Auge R.M., 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11:3-42.
18. Azaizeh H. A., Marschner H., Romheld V. Wittenmayer L. (1995). Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and other soil microorganisms on growth, mineral nutrient acquisition and root exudation of soil-grown maize plants. *Mycorrhiza* 5:321-327.
19. Azcón-Aguilar C., Barea J. M. (1996). Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens - an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6 :457-464.
20. Azcon-Aguilar C.M. Jaizme-Vega C. and Calvet C., 2002. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soilborne plant pathogens. Pages 187-197 in S. Gianinazzi, H. Schuepp, K. Haselwandter, and J. M. Barea, editors. *Mycorrhizal Technology in Agriculture: From Genes to Bioproducts*. Basel: ALS Birkhauser Verlag.

21. Bago, B. Vierheilig H. Piche Y. and Azcon-Aguilar C., 1996. Nitrate depletion and pH changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown in monoxenic culture. *New Phytologist* 133:273-280.
22. Bajaj Y. P. S., 1987. Cryopreservation of pollen and pollen embryos, and the establishment of pollen banks. *Int. Rev. Cytol.* 107 : 397- 420.
23. Baltruschat H. and Schonbeck F., 1972. The influence of endotrophic mycorrhiza on the infestation of tobacco by *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathol Z.* 84:172-188.
24. Barazani O., Friedman J., 1999. Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria? *Journal of Chemical Ecology* 25, 2397-2406.
25. Becker W.N., 1976. Quantification of onion vesicular-arbuscular mycorrhizae and their resistance to *Pyrenochaeta terrestris*. Ph.D dissertation, Univ Illinois, Urbana 72 pp.
26. Benhamou N and Garand C., 2001. Cytological Analysis of Defense-Related Mechanisms Induced in Pea Root Tissues in Response to Colonization by Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *The American Phytopathological Society.* 91:730-740.
27. Benhamou N. and Garand C., 2001. Cytological Analysis of Defense-Related Mechanisms Induced in Pea Root Tissues in Response to Colonization by Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *The American Phytopathological Society.* 91: 730-740.
28. Berta G., Trotta A., Fusconi A., Hooker J. E., Munro M., Atkinson D., Giovannetti M., Morini S., Fortuna P., Tisserant B., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. (1995). Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology in *Prunus cerasifera*. *Tree Physiology* 15: 281–293.
29. Biermann B. & Linderman R.G. 1983. Use of vesicular - arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculums. *New Phytologist.* 95:97-105.

30. Bigirimana J., Meyer G D., Poppe J., Elad Y., Hofte M., 1997. Induction of systemic resistance on bean (*Phaseolus vulgaris*) by *Trichoderma harzianum*. *Agriculture and Food Sciences* 62: 1373-7503.
31. Bishop C. J. and L. J. McGowan, 1953. The role of the vegetative nucleus in pollen tube growth and in the division of the generative nucleus in *Tradescantia paludosa*. *Amer. J. Bot.* 40 : 658-659.
32. Bolan N. S. (1991). A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134: 189-207.
33. Bolan, N.S., Hedley, M.J., White, R.E., 1991. Processes of soil acidification during nitrogen cycling with emphasis on legume based pastures. In *Plant-Soil Interactions at low pH*. Wright, R.J., Baligar, V.C., Murrmann, R.P. pp.169-179. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
34. Boucher A., Dalpé Y., Charest C. (1999). Effect of arbuscular mycorrhizal colonization of four species of glomus on physiological responses of maize. *Journal of plant nutrition*. 22(4&5): 783-797.
35. Breteler, H., 1973. A comparison between NH_4 and NO_3 nutrition of young sugar-beet plants grown in nutrient solution at constant acidity. 1. Production of dry matter, ionic balance and chemical composition. *Neth. J. Agr. Sci.* 21: 227-244.
36. Brewbaker J. L. and B. H. Kwach, 1963. The essential role of calcium in pollen germination and pollen tube growth. *Am. J. Bot.* 50 : 859-865.
37. Brewbaker J. L. and S. K. Majumber, 1961. Cultural studies of the pollen population effect and the self-incompatibility inhibition. *Am. J. Bot.* 48 : 457-464.
38. Brewbaker J. L., 1967. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. *Am. J. Bot.* 54 : 1069-1083.
39. Brimecombe M.J., De Leij F.A.A.M., Lynch J.M., 2007. Rhizodeposition and microbial populations. In: Pinton R., Veranini Z. &

- Nannipieri P., eds. *The rhizosphere biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. New York, USA: Taylor & Francis Group.
40. Brundrett M.C. Piche Y. & Peterson R.L. 1984. A new method for observing the morphology of vesicular - arbuscular mycorrhizae, *Canadian Journal of Botany*. 62: 2128-2134.
 41. Brunner I. and Frey B., 2000. Detection and localization of aluminum and heavy metals in ectomycorrhizal Norway spruce seedlings. *Environmental Pollution* 108:121-128.
 42. Bryla D.R. and Koide R.T., 1990. Regulation of reproduction in wild and cultivated *Lycopersicon esculentum* Mill. by vesicular-arbuscular mycorrhizal infection. *Oecologia* 84:74-81.
 43. Budi S. W., Van Tuinen D., Martinotti G., Gianinazzi S. (1999). Isolation from the Sorghum bicolor Mycorrhizosphere of a Bacterium Compatible with Arbuscular Mycorrhiza Development and Antagonistic towards Soilborne Fungal Pathogens. *Applied And Environmental Microbiology*. 65(11):5148-5150.
 44. Burr T.J., Schroth M.N., Suslow T., 1978. Increased potato yield by treatment of seedpieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescences* and *P. putida*, *Phytopathology* 68, 1377-1383.
 45. Cazorla F.M., Duckett S.B., Bergstorm E.T., Norren S., Odijk R., Lugtenberg B.J., Thomas-Oates J.E., Bloemberg G.V., 2006. Biocotrol of avocado *Dematophora* root rot by the antagonistic *Pseudomonas fluorescens* PCL1606 correlates with thw production of 2-hexyl 5-propyl resorcinol. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19, 418-428.
 46. Cazorla F.M., Romero D., Pérez-García A., Lugtenberg B.J.J., de Vicente A., Bloemberg G., 2007. Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from avocado rhizoplane displaying biocontrol activity. *Journal of Applied Microbiology* 103, 1950-1959.
 47. Chandanie W.A., Kubota M., Hyakumachi M. 2005. Interaction between plant growth promoting fungi and arbuscular mycorrhizal

- fungus *Glomus mosseae* and induction of systemic resistance to anthracnose disease in cucumber. *Plant Soil* 286:209-217.
48. Chapman G. P., 1987. The tapetum. *Int. Rev. of Cytol.* 107 : 111-126.
 49. Chin-A-Woeng T.F.C., Bloembergen G.V., Van der Bij A.J., Van Der Drift K.M., Schripsema J., Kroon B., Scheffer R.J., Keel C., Baker P.A.H.M., Tichy H.V., De Bruijn, Thomas-Oates J.E., Lungtenberg B.J.J., 1998. Biocotrol by phenazine-1-carboxamide producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL 1391 of tomato rot caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11, 1069-1077.
 50. Ching T. M. and K. K. Ching, 1964. Freeze-drying pine pollen. *Plant Physiol.* 39 : 705-709.
 51. Chiu S.C., Tzean S.S., 1995. Glucanolytic enzyme production by *Schizophyllum commune* Fr. during mycoparasitism. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 46, 83-94.
 52. Cho K., Tolera H., Leeb J., Ownley B., Stutz J. C., Moore J. L., Auge R. M. (2006). Mycorrhizal symbiosis and response of sorghum plants to combined drought and salinity stresses. *Journal of Plant Physiology* 163: 517–528.
 53. Choudhary D.K., Johry B.N., 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants-With special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research* 164, 493-513.
 54. Clark R. B., Zeto S. K. (2000). Mineral Acquisition by Arbuscular Mycorrhizal Plants. *Journal of Plant Nutrition.* 23(7): 867-902.
 55. Cook R.J., Baker K.F., 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. *American Phytopathological Society*, St. Paul, Minnesota, pp 539.
 56. Dashek W. V. and W. G. Rosen, 1966. Electron microscopical localization of chemical components in the growth zone of lily pollen tubes. *Protoplasma* 61 : 192-204.

57. Davis R.M., Menge J.A. and Zentmyer G.A., 1978. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on Phytophthora root rot of three crop plants. *Phytopathology* 68:1614-1617.
58. de Bruyn J. A., 1966. The *in vitro* germination of pollen of *Setaria sphacelata*. Effects of carbohydrates, hormones, vitamins and micronutrients. *Physiol. Plant.* 19 : 365-376.
59. De Miranda J. C. C., Harris P. J., Wild A. (1989). Effects of soil and plant phosphorus concentrations on vesicular-arbuscular mycorrhiza in sorghum plants. *New phytol.* 112: 405-410.
60. De Vrije T., Antoine N., Buitelaar R.M., Bruckner S., Dissevelt M., Durand A., Gerlagh M., Jones E.E., Luth P., Oostra J., Ravensberg W.J., Renaud R., Rinzema A., Weber F.J., Whipps J.M., 2001. The fungal biocontrol agent *Coniothyrium minitans*: production by solid-state fermentation, application and marketing. *Applied Microbiology Biotechnology* 56, 58-68.
61. Dehne H.W., 1982. Interaction Between Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Plant Pathogens, Institut für Pflanzenkrankheiten and Pflanzenschutz, University of Flannove 72:1115.
62. Dempsey W., 1962. Pollen tube growth *in vivo* as a measure of pollen viability. *Science* 138 : 436-437.
63. Denny H. J. and Wilkins D. A. 1987. Zinc tolerance in *Betula* spp. IV. The mechanism of ectomycorrhizal amelioration of zinc toxicity. *New Phytologist* 106:545-553.
64. Di Mattia E., Greco S. and Cassiari I, (2002). *Microb. Ecol.* 43: 34-43.
65. Dickinson H. G., 1982. The development of pollen. *Revue de Cytologie Biolog. Veg. Bot.* 5 : 5-19.
66. Diedhiou P.M. Hallmann J. Oerke E.C. Dehne H.W. 2002. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and non-pathogenic *Fusarium Oxysporum* on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato, 13:199-204.
67. Djonovic S. Vargas W.A. Kolomiets M.V. Hordesk M. Wiest A. Kenerley C.M. 2007. A Proteinaceous elicitor Sml from the beneficial

- fungus *Trichoderma virens* is requires for induced systemic resistance in maize. *Plant Physiology*. 145:875-876.
68. Domenech J., Reddy M.S., Kloepper J.W., Ramos B., Gutierrez-Mañero J., 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promoting and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. *BioControl* 51: 245-258.
69. Duijff B.J., Meijer J.W., Bakker P.A.H.M., Schippers B., 1993. Siderophore-mediated competition for iron and induced resistance in the suppression of *Fusarium* wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 99, 277-289.
70. Duijff B.J., Pouhair D., Olivain C., Alabouvette C. and Lemanceau P., 1998. Implication of systemic induced resisatnce in the suppression of fusarium wilt of tomato by *Pseudomonas fluorenxens* WCS417r and by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *Eur J. Plant Patrol* 104: 903-910.
71. Ehret, D.L., Ho, L.C., 1986. Translocation of calcium in relation to tomato fruit growth. *Annals of Botany* 58: 679-688.
72. EPA/OPP. What are Biopesticides?
<http://www.epa.gov/opp00001/biopesticides/whatarebiopesticides.htm>
73. Espinosa-Urgel M., Kolter R. and Ramos J-L., (2002). *Microbiology* 148: 1-3.
74. Fernandez-Munoz R., J. J. Gonzalez-Fernandez and J. Cuartero, 1994. Methods for testing the fertility of tomato pollen formed at low temperature. *J. Hor. Sci.* 69 : 1083-1088.
75. Fitter A. H. 2005. Darkness visible: reflections on underground ecology. *Journal of Ecology* 93:231-243.
76. Fitter A. H. and Moyersoen B. 1996. Evolutionary trends in rootmicrobe symbioses. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Biological Sciences* 351:1367-1375.

77. Fracchia S. Romera G. I. Godeas A. and Ocampo J.A. 1999. Effect of saprophytic fungus *Fusarium oxysporum* on arbuscular mycorrhizal colonization and growth of plants in greenhouse and field trials. *Plants and Soil* 223:175-184.
78. Frey B. and Schiepp H., 1993. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. *New Phytologist* 124:221-230.
79. Pridlender M., Inbar J., Chet I., 1993. Biological control of soilborne plant pathogens by a B-1,3-glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biology and Biochemistry* 25, 1211-1221.
80. Gallaud I., 1905. Etudes sur les mycorrhizes endofytes. *Revue General de Botanique* 17:5-48, 66-83, 123-136.
81. Gauch H. G. and W. M. Duggar, 1953. The role of boron in the translocation of sucrose. *Plant Physiol.* 28 : 457-466.
82. Gaudin V., Vrain D., Jouanin L., 1994. Bacterial genes modifying hormonal balance in plant. *Plant Physiology and Biology* 32, 11-29.
83. Glick B.R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal Microbiology* 41, 109-117.
84. Glick B.R., Patten C.L., Holguin G., Penrose D.M., 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. Imperial College Press, London, UK.
85. Glick B.R., Penrose D.M., Li J.P., 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology* 190, 63-68.
86. Graham J. H. Linderman R. G. and Menge J. A., 1982. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal *Glomus* spp. In relation to root colonization and growth of Troyer Citrange. *New Phytologist* 91:183-189.
87. Graham J. H., Syvertsen J. P. (1985). Host Determinants of Mycorrhizal Dependency of Citrus Rootstock Seedlings. *New Phytol.* 101:667-676.

88. Gutierrez-Mañero J., Ramos-Solano B., Probanza A., Mehouchi J., Tadeo F.R., Talon M., 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum* 111, 206-211.
89. Gyaneshwar P., Kumar G.N., Parekh L.J., Poole P.S., 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutritions of plants. *Plant and Soil* 245, 83-93.
90. Hallmann J. Sikora R.A. 1994. influence of fusarium, a mutualistic fungal endophyte, on *Meloidogyne incognita* infection of tomato. *Plant Dis Protect* 101:475-481.
91. Hamel G., Smith D. L. (1991). Interspecific N-transfer and Plant Development in a Mycorrhizal Field-grown Mixture. *Soil Biol. B&hem.* 23(1): 661-665.
92. Hanan J. J., 1998. Greenhouses Advanced Technology for Protected Horticulture CRC Press, pp 684.
93. Hanger, B., 1993. Hydroponics: The World, Australian, and South Pacific Islands Scene. In: Commercial Hydroponics in Australasia, A Guide for Growers Pro-Set Pty Ltd, Hobart.
94. Hanna W. W., 1990. Long-term storage of *Pennisetum glaucum* pollen. *Theor. Appl. Genet.* 79 : 605-608.
95. Haque Md.M., Ilias G.N.M. and Molla A.H., 2012. Impact of *Trichoderma*-enriched biofertilizer on the growth and yield of mustard (*Brassica rapa* L.) and tomato (*Solanum lycopersicon* Mill.). *The Agriculturists* 10(2):109-119.
96. Hardie K. and Leyton L., 1981. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover in phosphate deficient soil. *New Phytologist* 89:599-608.
97. Harley J.L. and Smith S.E. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. London.

98. Hauser E. J. P. and J. H. Morrison, 1964. The cytochemical reduction of nitro-blue tetrazolium as an index of pollen viability. *Am. J. Bot.* **51** : 748-752.
99. Hawkins H.J. Johansen A. and George E., 2000. Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 226:275-285.
100. Heslop-Harrison J. and Y. Heslop-Harrison, 1970. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. *Stain Technol.* **45** : 115-120.
101. Heslop-Harrison J., 1968a. Pollen wall development. *Science.* **161** : 230-237.
102. Heslop-Harrison J., 1968b. Synchronous pollen mitosis and the formation of the generative cell in massulate orchids. *J. Cell Sci.* **3** : 457-466.
103. Heslop-Harrison J., 1975. The physiology of the pollen grain surface. *Proc. of the Roy. Soc. Lond.* **190 B** : 275-299.
104. Heslop-Harrison J., 1987. Pollen germination and pollen-tube growth. *Int. Rev. of Cytol.* **107** : 1-78.
105. Heslop-Harrison J., Y. Heslop-Harrison and A. R. Shivanna, 1984. The evaluation of pollen quality, and a further appraisal of the fluorochromatic (FCR) test procedure. *Theor. Appl. Genet.* **67** : 367-375.
106. Hiltner L., 1904. Über neue Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und untr besonderes Berücksichtigung der Grundugungen und Brauche. *Arb Deutsch Landwirt Ges Berlin* **98**, 59-78.
107. Hodge A. Campbell C. D. and Fitter A. H., 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature* 413:297-299.
108. Howell H.R., Stipanovic R.D., 1979. Cotrol of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology* **69**, 480-482.

109. Hyakumachi M., 1994. Plant growth promoting fungi from Turf grass rhizosphere with potential for disease suppression. *Soil Microotg* 44:53-68.
110. Idriss E.E., Makarewicz O, Farouk A., Rosner K., Greiner R., Bochow H., Richter T., Boriss R., 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. *Microbiology* 148, 2097-2109.
111. Ikeda, H., Osawa, T., 1981. Nitrate and ammonium-N absorption by vegetables from nutrient solution containing ammonium nitrate and the resultant change of solution pH. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 50: 225-230.
112. International Seed Testing Association, 1999. International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.* 27(Suppl): 51-53.
113. Iwanami Y. and N. Nakamura, 1972. Storage in an organic solvent as a means for preserving viability of pollen grains. *Stain Technol.* 47 : 137-139.
114. Iwanami Y. and T. Iwadare, 1978. Inhibiting effects of myrmicacin on pollen growth and pollen tube mitosis. *Bot. Gaz.* 139 : 42-45.
115. Iwanami Y., 1975. Absolute dormancy of pollen induced by soaking in organic solvents. *Protoplasma* 84 : 181-184.
116. Iwanami Y., 1984. The viability of pollen grains of a Lily (*Lolium auratum*) and the eggs of the brine-shrimp (*Artemia salina*) soaked in organic solvents for 10 years. *Experientia* 40 : 568-569.
117. Jaderlund L. Arthurson V. Granhall U. and Jansson J K. 2008. Spesific interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth - promoting bacteria as revealed by different combinations. Lawrence Berkeley National Laboratory.
118. Jain A. and K. R. Shivanna, 1988. Storage of pollen grains in organic solvents: effect of organic solvents on leaching of phospholipids and its relationship to pollen viability. *Ann. Bot.* 61 : 325-330.
119. Janssen A. W. and J. G. Hermesen, 1976. Estimating pollen fertility in *Solanum* species and haploids. *Euphytica* 25 : 577-586.

120. Jeffries C. J., 1977. Sequential staining to assess viability and starch content in individual pollen grains. *Stain Technol.* **52** : 277-283.
121. Jenkins JA., 1948. The origin of the cultivated tomato. *Econ. Bot.* **2**: 379-392.
122. Jensen M.H., 1999. Hydroponics Worldwide In: Proceedings International Symposium on Growing Media and Hydroponics, Ontario, Canada 19-26 May 1997, Ed. AP Papadopoulos. *Acta Hort.* **481**, 719-729.
123. Johansen A. Jakobsen I. and Jensen E. S., 1992. Hyphal transport of ¹⁵N-labelled nitrogen by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. *New Phytologist* **122**:281-288.
124. Johansen A. Jakobsen I. and Jensen E. S., 1993. Hyphal transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus of N applied to the soil as ammonium or nitrate. *Biology and Fertility of Soils* **16**:66 -70.
125. Johri B. M. and I. K. Vasil, 1961. Physiology of pollen. *The Botanical Review* **27** : 325-381.
126. Jones D.L., Darrah P.R., 1995. Influx and efflux of organic acids across the soil-root interface of *Zea mays* L. and its implications in rhizosphere C flow. *Plant Soil* **173**, 103-109.
127. Kamilova F., Validov S., Azarova T, Mulders I., Lugtenberg B., 2005. Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environmental Microbiology* **7**, 1809-1817.
128. Kaur R., Macleod J., Foley W., Nayudu M., 2006. Gluconic acid, an antifungal agent produced by *Pseudomonas* species in biological control of take-all. *Phytochemistry* **67**, 595-604.
129. King J. R. and T. M. Johnston, 1958. Factors affecting Irish potato pollen germination in an artificial environment. *Am. Pot. J.* **35** : 689-700.
130. King J. R., 1955. Irish potato pollen storage. *Am. Potato J.* **32** : 460-466.

131. King J. R., 1960. The peroxidase reaction as an indicator of pollen viability. *Stain Technol.* **35** : 225-227.
132. King J. R., 1965. The storage of pollen - particularly by the freeze-drying method. *Bul. Torrey Bot. Club.* **92** : 270-287.
133. Kinsella K., Schulthess C.P., Morris T.F., Stuart J.D., 2009. Rapid quantification of *Bacillus subtilis* antibiotics in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* **41**, 374-379.
134. Kirkby, E.A., Knight, A.H., 1977. Influence of the level of nitrate on ion uptake and assimilation, organic acid accumulation, and cation-anion balance in whole tomato plants. *Plant Physiol.* **60**: 349-353.
135. Klopfer J.W., Ryu C.M., Zhang S., 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* **94**, 1259-1266.
136. Klopfer J.W., Schroth M.N., 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic bacteria.* ed. Station de Pathologic Vegetal et Phytobacteriologic **2**, 879-882. Angers, France.
137. Knox R.B. and J. Heslop-Harrison, 1970. Pollen wall proteins: localization and enzymic activity. *J Cell Sci.* **6** : 1-27.
138. Kothari S., Marschner H., George E. (1990). Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize. *New Phytol.* **116**: 303-311.
139. Kwack B. H. and I. H. Kim, 1967. Effects of calcium ion and the protective action on survival and growth inhibition of pollen. *Physiol. Plant.* **20** : 73-82.
140. Kwack B. H., 1967. Studies on cellular site of calcium action in promoting pollen growth. *Physiol. Plant.* **20** : 825-833.
141. LaFountain K. L. and J. P. Mascarenhas, 1972. Isolation of vegetative and generative nuclei from pollen tubes. *Exp. Cell Res.* **73** : 233-236.

142. Lea-Cox, J.D., Stutte, G.W., Berry, W.L., Wheeler, R.M., 1996. Nutrient dynamics and pH/charge-balance relationships in hydroponic solutions. *Acta Hort.* 481: 241-248.
143. Leyval C., Turnau K., Haselwandter K. (1997). Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects., *Mycorrhiza* 7 :139-153.
144. Liu A., Hamel C., Hamilton R. I., Ma B. L., Smith D. L. (2000). Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza* 9 : 331-336.
145. Livingston G. K. and K. K. Ching, 1967. The longevity and fertility of freeze-dried Douglas-fir pollen. *Silvae Genet.* 16 : 98-101.
146. Lucy M., Reed E., Glick B.R., 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86, 1-25.
147. Lugtenberg B., Kamilova F., 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63, 541-546.
148. Mader P. Vierheilig H. Streitwolf-Engel R. et al., 2000. Transport of ¹⁵N from a soil compartment separated by a polytetra-fluoroethylene membrane to plant roots via the hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 146:155-161.
149. Madigan M.I., 2005. Βιολογία Μικροοργανισμών. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο.
150. Maisonneuve B. and A. P. M. Den Nijs, 1984. *In vitro* pollen germination and tube growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and its relation with plant growth. *Euphytica* 33 : 833-840.
151. Marschner P. Jentschke G. and Godbold D. L., 1998. Cation exchange capacity and lead sorption in ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 205:93-98.
152. Martin F. W., 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technol.* 34 : 125-128.

153. Masalha J., Kosegarten H., Elmaci O., Mengel K., 2000. The central role of microbial activity for iron acquisition in maize and sunflower. *Biology and Fertility of Soils* 30, 433-439.
154. Mascarenhas J. P., 1966a. Pollen tube growth and ribonucleic acid synthesis by vegetative and generative nuclei of *Tradescantia*. *Am. J. Bot.* 53 : 563-569.
155. Mascarenhas J. P. and L. Machlis, 1962. Chemotropic response of *Antirrhinum majus* to calcium. *Nature* 196 : 292-293.
156. Mascarenhas J. P., 1966b. Distribution of ionic calcium in the tissues of gynoecium of *Antirrhinum majus*. *Protoplasma* 62 : 53-58.
157. Mascarenhas J. P., 1975. The biochemistry of angiosperm pollen development. *The Botanical Review.* 41 : 259-314.
158. McLeod K.A., 1975. The control of growth of tomato pollen. *Ann. Bot.* 39 : 591-596.
159. Mengel, K., 1984. *Ernahrung und Stoffwechsel der Pflanze*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Germany.
160. Mepham R. H. and G. R. Lane 1970. Observations on the fine structure of developing microspores of *Tradescantia bracteata*. *Protoplasma.* 70 : 1-20.
161. Miller R. M. and Jastrow J. D., 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. Pages 3-18 in Y. Kapulnik and D. D. J. Douds, editors. *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands.
162. Mishustin E.N., Naumova A.N., 1962. Acterial fertilizers: Their effectiveness and mode of action. *Mikrobiologiya* 31, 543-555.
163. Miyasaka S. C. Habte M. (2001). Plant Mechanisms and Mycorrhizal Symbioses to Increase Phosphorus Uptake Efficiency. *Commun. Soil Sci. Plant anal.* 32(7&8): 1101-1147.
164. Montesinos E., 2003. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *International Microbiology* 6, 245-252.

165. Morgan J.A.W., Whipps J.M., 2001. Methodological approaches to the study of rhizobacteria carbon flow and microbial population dynamics. In: Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. eds. The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. New York: Marcel Dekker, 373-409.
166. Mortenson L. R., S. J. Peloquin and R. W. Hougas, 1964. Germination of Solanum pollen on artificial media. Am. Potato J. 41 : 322-328.
167. Morton J. B. and Benny G. L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes) - a new order, Glomales, 2 new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and 2 new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. Mycotaxon 37:471-491.
168. Mustafa A., Othman R., Zainal Abidin M., Ganesan V. (2010). Growth Response of Sweet Corn (Zea mays) to Glomus mosseae Inoculation over Different Plant Ages. Asian Journal of Plant Sciences. 9 (6):337-343.
169. Mwangi M.W., Monda E.O., Okoth S.A. and Jefwa J.M., 2011. Inoculation of tomato seedlings with *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi and their effect on growth and control of wilt in tomato seedlings. Braz. J. Microbiol. 42:508-513.
170. Naftel, J., 1931. The absorption of ammonium and nitrate nitrogen by various plants at different stages of growth. J. Amer. Soc. Agron. 23: 142.
171. Nehl D.B., Allen S.J., Brown J.F., 1997. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. *Applied Soil Ecology* 5, 1-20.
172. Nelson, V.P., 1991. Greenhouse operation and management. Practice Hall.
173. Nihorimbere V., Cawoy H., Seyer A., Brunelle A., Thonart P. and Ongena M., (2012). FEMS Microbiol Ecol 79: 176-191.
174. Nihorimbere V., Ongena M., Smargiassi M., Thonart P., 2011. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant

- growth and health. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 15, 327-337.
175. Nikolaou N., Angelopoulos K. Karagiannidis N. (2003). Effects of drought Stress on Mycorrhizal and Non-Mycorrhizal Cabernet Sauvignon Grapevine, Grafted Onto Various Rootstocks. *Expl Agric.* 39: 241-252.
176. Norman, J. R., and J. E. Hooker., 2000. Sporulation of *Phytophthora fragariae* shows greater stimulation by exudates of non-mycorrhizal than by mycorrhizal strawberry roots. *Mycological Research* 104:1069-1073.
177. Norton J. D., 1966. Testing of Plum pollen viability with tetrazolium salts. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 89 : 132-134.
178. O' Sullivan D., O' Gara F., 1992. Traits of fluorescents *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiological Reviews* 56, 662-676.
179. O'Keefe D. M. and Sylvia D. M., 1992. Chronology and mechanisms of P-uptake by mycorrhizal sweet potato plants. *New Phytologist* 122:651-659.
180. Oberle G. D. and R. Watson, 1953. The use of 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride in viability tests of fruit pollens. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 61 : 299-303.
181. Ockendon D J. and P. J. Gates, 1976. Reduced pollen viability in the onion (*Allium cepa*). *New Phytol.* 76 : 511-517.
182. O'Kelley J. C., 1955. External carbohydrates in growth and respiration of pollen tubes *in vitro*. *Am. J. Bot.* 42 : 322-326.
183. O'Kelley J. C., 1957. Boron effects on growth, oxygen uptake and sugar absorption by germinating pollen. *Am. J. Bot.* 44 : 239-244.
184. Ortas I., Harris E. J., Rowell D. L.(1996). Enhanced uptake of phosphorus by mycorrhizal sorghum plants as influenced by forms of nitrogen. *Plant and Soil.* 184: 255-264.
185. Ortas I., Ortakc D., Kaya Z., Cinar A., O'nelge N. (2002). Mycorrhizal dependency of Sour Orange in Relation to Phosphorus and Zinc Nutrition. *Journal of Plant Nutrition.* 25(6): 1263-1279.

186. Papavizas G.C., 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology* 23, 23-54.
187. Peterson R.L., Piché Y. and Plenchette C., 1984. Mycorrhizae and their potential use in the agricultural and forestry industries. *Biotechnol. Adv.* 2:101-120.
188. Podile A.R., Kishore A.K., 2006. Plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Associated Bacteria* 3, 195-230.
189. Posta K., Marschner H., Romheld V. (1994). Manganese reduction in the rhizosphere of mycorrhizal and nonmycorrhizal maize. *Mycorrhiza* 5:119-124.
190. Posta K., Marschner H., Romheld V. (1994). Manganese reduction in the rhizosphere of mycorrhizal and nonmycorrhizal maize. *Mycorrhiza* 5:119-124.
191. Pulton J.L., Koide R.T. and Stephenson A.G., 2001. Effects of mycorrhizal infection, soil phosphorus availability and fruit production on the male function in two cultivars of *Lycopersicon esculentum*. *Plant, Cell & Env.* 24:841-849.
192. Pozo M. J., Slezack-Deschaumes S., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi S. and Azcon-Aguilar C., 2002. Plant defense responses induced by arbuscular mycorrhizal fungi. Pages 103-111 in S. Gianinazzi, H. Schuepp, K. Haselwandter, and J. M. Barea, editors, *Mycorrhizal Technology in Agriculture: From Genes to Bioproducts*. Basel: ALS Birkhauser Verlag.
193. Raaijmakers J.M., Paulitz T.C., Steinberg C., Alabouvette C., Moenne-Loccoz Y., 2009. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil* 321, 341-361.
194. Raju P. S., Clark R. B., Ellis J. R., Duncan R. R., Maranville J. W. (1990). Benefit and cost analysis and phosphorus efficiency of VA mycorrhizal fungi colonizations with sorghum (*Sorghum bicolor*)

- genotypes grown at varied phosphorus levels. Plant and Soil 124:199-204.
195. Raven J. A. Smith S. E. and Smith F. A., 1978. Ammonium assimilation and the role of mycorrhizas in climax communities in Scotland. Botanical Society of Edinburgh Transactions 43:27-35.
196. Ravnskov S., Jensen B., Knudsen M.B., Bodker L., Jensen D.F., Karlinski L. and Larsen J., 2006. Soil inoculation with the biocontrol agent *Clonostachys rosea* and the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* result in mutual inhibition, plant growth promotion and alteration of soil microbial communities. Soil Biology & Biochemistry 38:3453-3462.
197. Ravnskov S., Larsen J., Olsson P.A. and Jakobsen I., 1999. Effect of various compounds on growth and phosphorus uptake of an arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytologist 141:517-524.
198. Read D. J. 1998. Mycorrhiza - the state of the art. Pages 3-34 in A. Varma and B. Hock, editors. Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology (second edition). Springer, Berlin.
199. Rey M., Delgado-Janara J., Benitez T., 2001. Improved antifungal activity of a mutant *Trichoderma harzianum* CECT 2413 which produces more extracellular proteins. Applied Microbiology Biotechnology 55, 604-608.
200. Reynolds J. D. and W. V. Dashek, 1976. Cytochemical analysis of callose localization in *Lilium longiflorum* pollen tubes. Ann. Bot. 40 : 409-416.
201. Roberts R. H. and B. E. Struckmeyer, 1948. Notes on pollination with special reference to Delicious and Winesap. Proc Am. Soc. Hort. Sci. 51 : 54-61.
202. Roggen H. O. J. R. and R. G. Stanley, 1969. Cell-wall-hydrolyzing enzymes in wall formation as measured by pollen-tube extension. Planta 84 : 295-303.
203. Rosen W. G., 1968. Ultrastructure and physiology of pollen. Ann Rev. Plant Physiol. 19 : 435-462.

204. Ruy C.-M., Farag M.A., Hu C.-H., Reddy M.S., Kloepper J.W., Paré P.W., 2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **134**, 1017-1026.
205. Ruy C.-M., Farag M.A., Hu C.-H., Reddy M.S., Wie H.-X., Kloepper J.W., 2003. Bacterial volatiles promote growth of *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* **100**, 4927-4932.
206. Samarbakhsh S., Rejabi F., Adrakani M. R., Nejad F., Miransari M. (2009). The Combined Effects of Fungicides and Arbuscular Mycorrhiza on Corn (*Zea mays* L.) Growth and Yield under Field Conditions. *Journal of Biological Sciences*. **9**(4):327-376.
207. Sanders F. E. and Tinker P. B. 1971. Mechanism of absorption of phosphate from soil by Endogone mycorrhizas. *Nature* **233**:278 -279.
208. Schalamuk S., Cabello M. N., Chidichimo H., Golik S. (2011). Effects of Inoculation with *Glomus mosseae* in Conventionally Tilled and Nontilled Soils with Different Levels of Nitrogen Fertilization on Wheat Growth, Arbuscular Mycorrhizal Colonization, and Nitrogen Nutrition. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. **42**:586-598.
209. Schnitzler, W.H., and Gruda, N.S., 2002. Hydroponics and product quality. In: Savvas, D., Passam, H.C. (Eds). *Hydroponic Production of Vegetables and Ornamentals*. Embryo Publications, Athens, Greece 374-403.
210. Sexsmith J. J. and J. R. Fryer, 1943. Studies relating to fertility in alfalfa (*Medicago sativa* L.). II. Temperature effect on pollen tube growth. *Sci. Agric.* **24** : 145-151.
211. Seymour G., 1993. Review of Commercial Hydroponic Crop Production Systems In: *Commercial Hydroponics in Australasia, A Guide for Growers*, Pro-Set Pty Ltd, Hobart.
212. Shivanna K. R. and J. Heslop-Harrison, 1981. Membrane state and pollen viability. *Ann. Bot.* **47** : 759-770.
213. Sieverding E., 1981. Influence of soil water regimes on VA mycorrhizae. Effect on plant growth, water utilization and

- development of mycorrhiza. Journal of Agronomy and Crop Science 150:400-411.
214. Sikes B.A., 2010. When do arbuscular mycorrhizal fungi protect plant roots from pathogens? Plant Sign. Behav. 5(6):763-765.
215. Simpson D., Daft M. J. (1990). Interactions between water-stress and different mycorrhizal inocula on plant growth and mycorrhizal development in maize and sorghum. Plant and Soil 121: 179-186.
216. Sivan A., Ucko O., Chet I., 1987. Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field condition. *Plant Disease* 71, 587-592.
217. Smith P. F., 1942. Studies of the growth of pollen with respect to temperature, auxins, colchicine and vitamin B1. Am. J. Bot. 29 : 56-66.
218. Smith S. E. and Read D. J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd edition. Academic Press.
219. Somers E., Vanderleyden J., Srinivasan M., 2004. Rhizosphere bacterial signaling: a love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology* 30, 205-240.
220. Sonneveld, C., 1993. An overview of nutrition in hydroponics, Australian Hydroponic Conference. Hydroponics and the environment. Monash University Melbourne Australia. Bruce Laffer (Editor) 21-36.
221. Sonneveld, C., 2002. Composition of nutrient solutions. In: Savvas, D., Passam, H.C. (Eds). Hydroponic Production of Vegetables and Ornamentals. Embryo Publications, Athens, Greece, pp. 179-210.
222. Sorensen J., 1997. *The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms*. In: J.D. van Elsas, J.T. Trevors, E.M.H. Wellington (Eds.). Modern Soil Ecology, New York, USA: Marcel Dekker, 21-46.
223. Spaepen S., Vanderleyden J., Okon Y., 2009. Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. *Advances in Botanical Research* 51, 283-320.
224. St John T.V & Hunt H.W., 1983. Statistical treatment of VAM infection data. Plant and Soil 73: 307-313.

225. Stanley R. G. and E. A. Lichtenberg, 1963. The effect of various boron compounds on *in vitro* germination of pollen. *Physiol. Plant.* 16 : 337-346.
226. Stanley R. G., L. C. T. Young and J. S. D. Graham, 1958. Carbon dioxide fixation in germinating Pine pollen (*Pinus ponderosa*). *Nature* (London) 182 : 1462-1463.
227. Staudt G., 1982. Pollenkeimung und pollenschlauchwachstum *in vivo* bei Vitis und die abh, ngigkeit von der temperatur. (Pollen germination and pollen tube growth *in vivo* with Vitis and the depedence on temperature). *Vitis* 21 : 205-216.
228. Steiner, A.A., 1966. The influence of the chemical composistion of a nutrient solution on the production of tomato plants. *Plant and Soil*, 24: 454-466.
229. Stensvand, A., Gislerod, H.R., 1992. The effect of the NO₃/NH₄ ratio of the nutrient solution on growth and mineral uptake in *Chrysanthemum x morifolium*, *Passiflora caerulea*, and *Cordylone fruticosa*. *Gartebbauwissenschaft* 57: 193-198.
230. Stolp H., 1988. Microbial ecology: organisms, habitats, activities. New York, USA: Cambridge University Press.
231. Tang M., Chen H., Huang J. C., Tian Z. Q. (2009). AM fungi effects on the growth and physiology of Zea mays seedlings under diesel stress. *Soil Biology & Biochemistry* 41: 936–940.
232. Tigchelaar EC, 1986. Breeding Vegetable Crops. Edited by Mark J. Bassett.
233. Tobar R. Azcon R. and Barea J. M., 1994. Improved nitrogen uptake and transport from 15Nlabelled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhiza under water-stressed conditions. *New Phytologist* 126:119-122.
234. Tobar R. M., Azcon R., Barea J. M. (1994). The improvement of plant N acquisition from an ammonium-treated, drought-stressed soil by the fungal symbiont in arbuscular mycorrhizae. *Mycorrhiza* 4:105-108.

235. Todd F. E. and O. Bretherick, 1942. The composition of pollens. J. Econ. Entomol. **35** : 312-317.
236. Towill L. E., 1984. Seed set with potato pollen stored at low temperatures. Am. Potato Jour. **61** : 569-575.
237. Towill L. E., 1985. Low temperature and freeze/vacuum-drying preservation of pollen. In "Cryopreservation of Plant Cells and Organs". (K.K. Kartha ed.) CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp 171-198.
238. Tupy J., E. Hrabetova and V. Capkova, 1983. Amino acids and bivalent cations in the growth of tobacco pollen in mass culture. Plant Scien. Letters **30** : 91-98.
239. Tuzun S., Bent E., 1999. The role of hydrolytic enzymes in multigenic and microbially-induced resistance in plants. In: *Induced plant defenses against pathogens and herbivores: biochemistry, ecology and agriculture*, eds. A.A. Agrawal, S. Tuzun and E. Bent, APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 95-115.
240. Vallad G.E., Goodman R.M., 2004. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Science* **44**, 1920-1934.
241. Van Loon L.C., 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology* **119**, 243-254.
242. Van Loon L.C., 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* **119**:243-254.
243. Van Peer R., Niemann G.J., Schippers B., 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS417r. *Phytopathology* **81**, 728-734.
244. VanDerWoude W. J., D. J. Morre and C. E. Bracker, 1971. Isolation and characterization of secretory vesicles in germinated pollen of *Lilium longiflorum*. *J. Cell Sci.* **8** : 331-351.
245. Vasil I. K., 1960a. Studies on pollen germination of certain Cucurbitaceae. *Am. J. Bot.* **47** : 239-247.

246. Vasil I. K., 1960b. Pollen germination in some Gramineae : Pennisetum typhoideum. *Nature* (London) **187** : 1134-1135.
247. Vasil I. K., 1962b. Studies on pollen germination of certain Leguminosae and Cruciferae. *Beitr. Biol. Pflanzen* **38** : 137-159.
248. Vasil I. K., 1987. Physiology and culture of pollen. *Int. Rev. of Cytol.* **107** : 127-174.
249. Vessey J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* **255**, 571-586.
250. Visser T., 1955. Germination and storage of pollen. *Meded. Landbouwhogesh. Wageningen.* **55** : 1-68.
251. Voogt, W., and Sonneveld, C., 1997. Nutrient management in closed growing systems for greenhouse production. In: Goto, E., Kurate, and M. Hayashi (eds). *Plant Production in Closed Ecosystems*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands: 83-102.
252. Walsh U.F., Morrissey J.P., O' Gara F., 2001. *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation. *Current Opinion in Biotechnology* **12**, 289-295.
253. Wang Y., Brown H.N., Crowley D.E., Szaniszlo P.J., 1993. Evidence for direct utilization of a siderophore ferrioxamine B, in axenically grown cucumber. *Plant Cell and Environment* **16**, 579-585.
254. Weissenhorn I., Leyval C., Belgly O., Berthelin J. (1995). Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. *Mycorrhiza* **5**:245-251.
255. Werner D. J. and S. Chang, 1981. Stain testing viability in stored Peach pollen. *HortScience* **16**(4) : 522-523.
256. Whipps J.M., 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* **52**, 487-511.
257. Widden P., 1996. The morphology of vesicular - arbuscular mycorrhizae in *Clintonia borealis* and *Medeola Virginia*. *Canadian Journal of Botany* **74**: 679-685.

258. Wilkins D. A., 1991. The influence of sheating (ecto-)mycorrhizas of trees on the uptake and toxicity of metals. Agriculture Ecosystems & Environment 35:245-260.
259. Zambolin L. and Schenck N.C., 1981. Interaction between a vesiculararbuscular mycorrhiza and root infecting fungi on soybean. Phytopathology 71:267.
260. Zamir D., S. D. Tanksley and R. A. Jones, 1981. Low temperature effect on selective fertilization by pollen mixtures of wild and cultivated tomato species. Theor. Appl. Genet. 59 : 235-238.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Αγγελής Γ. (2007). Μικροβιολογία & Μικροβιακή Τεχνολογία. Εκδόσεις Σταμούλη.
2. Αγγίδης Α., 1996. Τομάτα υπαίθρια (επιτραπέζια - βιομηχανική - καλλιέργεια - αξιοποίηση). Θεσσαλονίκη.
3. Αναστασίου Α., Παπαγεωργίου Γ., 1999. Υδροπονικά συστήματα καλλιέργειας και έλεγχος της θρέψης. Γεωργία-Κτηνοτροφία 9, 60-74.
4. Βαρδαβάκης Μ., 1993. Συστηματική Βοτανική (Κρυπτόγαμα - Σπερματόφυτα). Εκδόσεις Δ.Κ. Σαλονικίδη.
5. Γεωργακόπουλου Α., 2012. Επίδραση της παρουσίας μυκόρριζας στην αύξηση φυτών αραβοσίτου (*Zea mays* L.). Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών, Κατεύθυνση: Οικολογία, Διαχείριση και Προστασία Φυσικού Περιβάλλοντος, Πάτρα.
6. Καραγκούνη - Κύρτου Α.Δ., 1999. Μικροβιολογία. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλη, Αθήνα.
7. Καραμπουνιώτης, Γ.Α., 2003. Φυσιολογία Καταπονήσεων των Φυτών. Εκδόσεις Έμβρυο.
8. Καριπίδης Χ., 2010. Η αποθήκευση της γύρης ως δυνατότητα συντήρησης γενετικού υλικού. Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Αγροχημεία-Βιολογικές Καλλιέργειες, Μάθημα: Γεωργικά Οικοσυστήματα και Καλλιεργητικές Παρεμβάσεις. Ιωάννινα.
9. Κούγιας Π., 2007. Εξοικονόμηση ενεργείας σε θερμοκήπια με ηλιακό παθητικό σύστημα θέρμανσης συνδυασμένο με υδρορροή υδροπονίας. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών: Ειδίκευση Γεωργικής Μηχανικής και Υδατικών Πόρων, Θεσσαλονίκη.
10. Κώτσιρας, Α.Ι., 2011. Υδροπονικές Καλλιέργειες. Σημειώσεις από τις παραδόσεις του μαθήματος της Λαχανοκομίας IV. ΤΕΙ Καλαμάτας, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα ΘΕΚΑ, Καλαμάτα.

11. **Μαργαρίτης Α.Χ., 2004.** Βιολογία Κυττάρου. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα.
12. **Μαυρογιαννόπουλος Γ.Ν., 1994.** Υδροπονικές καλλιέργειες και θρεπτικά διαλύματα., Εκδόσεις Α. Σταμούλης, σελ. 132.
13. **Μπεκρής Φ., 2009.** Γονιδιακή Έκφραση κατά την Αλληλεπίδραση Φυτών Τομάτας με ένα μη παθογόνο στέλεχος *Fusarium solani*, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Λάρισα.
14. **Μυρεσιώτης Χ., 2012.** Διευρεύνηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ριζοβακτηρίων που προωθούν τη φυτική ανάπτυξη (PGPR) και γεωργικών φαρμάκων. Διδακτορική Διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Ειδίκευση Επιστημών Φυτοπροστασίας, Εργαστήριο Γεωργικών Φαρμάκων, Θεσσαλονίκη.
15. **Ολύμπιος Χ., 2001.** Η τεχνική της καλλιέργειας των κηπευτικών στα θερμοκήπια. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλη.
16. **Παπαδάκη Ελένη & Συντρίκου Ιωάννα, 2005.** Ανίχνευση Πιθανών Ενδομυκορριζικών Στελεχών Και Συμβιωτικών Αζωτοβακτηρίων Και Επίδραση Τους Στην Ανάπτυξη Των Παρακάτω Λαχανοκομιών Φυτών: Φασόλι Συγκαλλιεργούμενο Με Αραβόσιτο & Μελιτζάνα Συγκαλλιεργούμενη Με Κατιφέ, Τμήμα Θερμοκηπιακών Καλλιεργειών & Ανθοκομίας, ΤΕΙ Καλαμάτας.
17. **Πούλιος Σ., 2010.** Αλληλεπίδραση δενδρόμορφων μυκορριζικών στελεχών με τον ενδοσυμβιωτικό μύκητα *Fusarium solani* στέλεχος FsK σε ρίζες τομάτας. Μεταπτυχιακή Διατριβή. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Βιοτεχνολογία - Ποιότητα Διατροφής & Περιβάλλοντος» του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Λάρισα.
18. **Σάββας, Δ., 1998.** Υδροπονία καλλωπιστικών φυτών. ΤΕΙ Ηπείρου. Τμήμα Ανθοκομίας-Αρχιτεκτονικής Τοπίου.
19. **Σιώμος, Α.Σ., 2002.** Καλλιέργεια λαχανικών στο θερμοκήπιο. Μέρος Β'. Τμήμα Εκδόσεων, Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο. Θεσσαλονίκη. Α.Π.Θ.

20. Στρίτσου Β., 2009. Ανοσοεντοπισμός και ενεργότητα της πυροφωσφορυλάσης της ουριδινοδιφωσφορογλυκέζης (UGPάσης) σε αναπτυσσόμενους ανθοφόρους οφθαλμούς τομάτας. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Μορφολογίας και Ανατομίας Φυτών, Αθήνα.