



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΑΚΤΙΚΩΝ ΑΡΔΕΥΣΗΣ ΣΤΗ
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΛΙΝΗΣ
ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΕΛΙΑΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ «ΚΟΝΣΕΡΒΟΛΙΑ ΑΡΤΑΣ»**

ΛΙΝΑΡΔΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

Επιβλέπων: ΣΤΟΥΡΝΑΡΑΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

Επίκουρος Καθηγητής

Άρτα, Νοέμβριος 2022

**THE EFFECT OF DIFFERENT IRRIGATION PRACTICES ON THE
CONTENT OF TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS AND PROLINE IN
CULTIVAR 'KONSERVOLIA ARTAS' OLIVE LEAVES**

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή

Άρτα, 21/11/2022

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγητής
ΣΤΟΥΡΝΑΡΑΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ
2. Μέλος επιτροπής
ΤΣΙΡΟΓΙΑΝΝΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ
3. Μέλος επιτροπής
ΜΠΕΖΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ

© ΛΙΝΑΡΔΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ, 2022.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία είναι εξ ολοκλήρου αποτέλεσμα δικής μου ερευνητικής εργασίας, δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) για τη συγγραφή της περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία.

Επίθετο, Όνομα

ΛΙΝΑΡΔΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

Υπογραφή

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Παραγωγικής Γεωργίας και Φυτοϋγείας της Σχολής Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με σκοπό την ολοκλήρωση των προπτυχιακών μου σπουδών στο Τμήμα Γεωπονίας. Καταρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο καθηγητή Στουρνάρα Βασίλειο που μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα και για τον χρόνο και την βοήθεια που μου πρόσφερε σε όλη την διάρκεια της πραγματοποίησης της πτυχιακής εργασίας. Έπειτα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Υποψήφια Διδάκτορα Κωνσταντίνα Φωτιά για την καταπληκτική συνεργασία και την βοήθεια της σε οποιοδήποτε πρόβλημα αντιμετώπιζα, καθώς και για την υπομονή της και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Μπέζα Παρασκευή που ήταν πρόθυμη να μου λύσει οποιαδήποτε απορία αλλά και με εμπιστεύτηκε το μηχανήματα του εργαστηρίου της. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές μου που με βοήθησαν σε όλο το πειραματικό μέρος της πτυχιακής μου εργασίας και ήταν δίπλα μου σε κάθε δυσκολία που έβρισκα.

Περίληψη

Η ελαιοκαλλιέργεια αποτελεί την πιο σημαντική δενδροκομική καλλιέργεια στην Ελλάδα, καθώς όλο και περισσότεροι καταναλωτές στις αναπτυγμένες κοινωνίες έχουν υιοθετήσει την μεσογειακή διατροφή αναγνωρίζοντας τα οφέλη της στην υγεία. Η ζήτηση για ελαιόλαδο και προϊόντα ελιάς αυξάνεται συνεχώς τα τελευταία χρόνια με αποτέλεσμα την εξάπλωση της καλλιέργειας της ελιάς και την εγκατάσταση νέων ελαιώνων. Η ελιά είναι παραδοσιακά ξηρική καλλιέργειας αλλά καθώς με την άρδυσή της επιτυγχάνεται αύξηση των αποδόσεων, οι περισσότεροι ελαιώνες σήμερα αρδεύονται. Η αυξημένη όμως ζήτηση για νερό που συνδέεται με την εντατικοποίηση της γεωργίας τον τελευταίο αιώνα ασκεί μεγάλη πίεση στα παγκόσμια υδατικά αποθέματα που σε συνδυασμό με την κλιματική αλλαγή σημειώνουν μειωμένο ρυθμό ανανέωσης. Για την αντιμετώπιση αυτής της αυξανόμενης πίεσης αναζητούνται λύσεις με γνώμονα την ορθολογική και αειφορική χρήση νερού. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση δύο διαφορετικών πρακτικών άρδευσης της ελαιοκαλλιέργειας στην φυσιολογία της ελιάς ποικιλίας ‘Κονσερβολιά Άρτας’, μέσω του προσδιορισμού της συγκέντρωσης στα φύλλα της δύο δεικτών υδατικής καταπόνησης: των φαινολικών ουσιών και της προλίνης. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε ελαιώνα στην περιοχή της Γραμμενίτσας Άρτας, όπου εφαρμόστηκαν δύο πρακτικές άρδευσης: η καθόλου άρδευση (ξηρική άρδευση) και η άρδευση με βάση την εμπειρία του παραγωγού. Σε φύλλα ελιάς που συλλέχθηκαν από τον αγρό από κάθε μεταχείριση έγινε εκχύλιση για τον προσδιορισμό των φαινολικών ουσιών και της προλίνης. Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των φαινολικών ουσιών έδειξαν ότι καθώς περνούσαν οι ημέρες τα φαινολικά στα ξηρικά δέντρα αυξάνονταν, ενώ στα αρδευόμενα παρέμεναν σχετικά σταθερά. Όσον αφορά την προλίνη, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της έδειξαν ότι καθώς περνούσαν οι ημέρες η προλίνη στα ξηρικά δέντρα αυξάνονταν ενώ στα αρδευόμενα παρέμενε σχεδόν σταθερή με μικρές αυξομειώσεις. Συμπερασματικά, τα ξηρικά δέντρα παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές σε φαινολικές ουσίες και προλίνη, για να μπορέσει το φυτό να αντιμετωπίσει το υδατικό στρες στο οποίο βρίσκονταν και να επιβιώσει.

Λέξεις-κλειδιά: Φαινολικές ουσίες, προλίνη, άρδευση, φύλλα ελιάς

Abstract

Olive cultivation is the most important tree crop in Greece, as more and more consumers in developed societies have adopted the Mediterranean diet, recognizing its health benefits. The demand for olive oil and olive products is constantly increasing in recent years resulting in the spread of olive cultivation and the establishment of new olive groves. The olive tree is traditionally a dry crop but as its irrigation achieves an increase of yields, most olive groves today are irrigated. However, the increased demand for water associated with the intensification of agriculture in the last century puts more pressure on the world's water reserves, which in combination with climate change are experiencing a reduced rate of renewal. To cope with this increasing pressure, solutions are being sought based on the rational and sustainable use of water. In the present work the effect of two different irrigation practices of olive cultivation on the physiology of the olive cultivar 'Konservolia Artas' was studied by determining the concentration in the leaves of two indicators of water stress: phenolic substances and proline. The experiment was carried out in an olive grove in Grammenitsa Arta, where two irrigation practices were applied: no irrigation and irrigation based on the experience of the producer. Olive leaves from cultivar 'Konservolia Artas' collected from the field of each treatment, and they were extracted for the determination of phenolic substances and proline. The results of phenolic determination showed that as the days passed, phenolics in the dry trees increased, while in the irrigated trees remained relatively stable. As for proline, the results of its determination showed that as the days passed, proline in dry trees increased while in irrigated trees it remained almost constant with small fluctuations. In conclusion, the olive trees treated with no irrigation showed higher values of phenolic substances and proline to enable the plant to cope with the water stress to which they were under and to survive.

Keywords: Phenolic substances, Proline, Irrigation, Olive leaves

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	6
Περίληψη.....	7
Abstract.....	8
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	12
1. Εισαγωγή.....	12
2. Βοτανική ταξινόμηση.....	13
2.1. Χαρακτηριστικά της ελιάς.....	14
3. Ελαιοκαλλιέργεια στην Ελλάδα και τον κόσμο.....	16
4. Άρδευση ελιάς.....	19
5. Παγκόσμια υδατικά αποθέματα.....	20
6. Ορθολογική άρδευση καλλιεργειών.....	22
7. Δείκτες υδατικής καταπόνησης στα φυτά.....	24
7.1. Φαινολικές ουσίες.....	24
7.1.1. Διαχωρισμός και κατηγοριοποίηση φαινολικών ουσιών....	24
7.1.2. Κατηγορίες πολυφαινολών.....	25
7.1.3. Φαινόλες στα φύλλα της ελιάς.....	26
7.1.4. Αντιοξειδωτική δράση.....	27
7.2. Προλίνη.....	28
7.2.1. Βιοσύνθεση της προλίνης.....	29
7.2.2. Εξωγενής προλίνη και ανάπτυξη φυτού.....	30
7.2.3. Προλίνη και Νερό-Φωτοσύνθεση.....	30
7.2.4. Προλίνη και στρες βαρέων μετάλλων.....	30

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	31
1. Σκοπός του πειράματος.....	31
2. Υλικά και μέθοδοι.....	31
2.1. Περιγραφή ελαιώνα.....	31
2.2. Μεταχειρίσεις.....	31
2.2.1. Μέτρηση φαινολικών ουσιών	31
2.2.2. Μέτρηση προλίνης	35
2.2.2.1. Διαδικασία εκχύλισης	35
2.2.2.2. Διαδικασία προσδιορισμού προλίνης.....	35
2.2.2.3. Διαδικασία σχηματισμού πρότυπης καμπύλης.....	36
3. Στατιστική ανάλυση.....	37
4. Αποτελέσματα	38
4.1. Φαινολικές ουσίες	38
4.2. Προλίνη	39
5. Συζήτηση – Συμπέρασμα.....	41
Βιβλιογραφία.....	42

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ/ΕΙΚΟΝΩΝ

Διάγραμμα 1: Ελληνικές εκτάσεις ελαιώνων κατά περιφέρεια 2019.....	17
Διάγραμμα 2: Διάγραμμα αποτελεσμάτων φαινολικών ουσιών.....	39
Διάγραμμα 3 : Διάγραμμα αποτελεσμάτων προλίνης.....	40
Εικόνα 1: Τοποθέτηση φυτικού υλικού στον φούρνο.....	33
Εικόνα 2: Λειοτρίβηση φυτικού υλικού.....	33
Εικόνα 3: Συλλογή 500ml φολίνης.....	33
Εικόνα 4: Τοποθέτηση τελικών δειγμάτων στο υδατόλουτρο.....	33
Εικόνα 5: Τοποθέτηση δοκιμαστικού σωλήνα στο vortex.....	37

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή

Η ελιά προέρχεται από την Ανατολική Μεσόγειο, Μέση Ανατολή, Ιράν και από τους πρόποδες του Καυκάσου. Αλλά οι απόψεις δίστανται, πολλοί ερευνητές λένε ότι η ελιά διασώθηκε μετά την εποχή των παγετώνων και βρέθηκε στην Συρία, στην Αφρική και ειδικότερα στο Μαρόκο με την Αλγερία. Βέβαια αυτό δεν παίζει κάποιον ρόλο αφού η άγρια μορφή της ελιάς βρίσκεται σε μεγάλη έκταση στο Αιγαίο Πέλαγος και αυτό το προδίδουν τα απολιθώματα των φύλλων ελιάς που ανακαλύφθηκαν στην ηφαιστειακή στάχτη της Σαντορίνης, στην Νίσυρο.

Η ελιά καλλιεργήθηκε πρώτη φορά στην Κρήτη και στην Νότια Ελλάδα ενώ μετέπειτα μεταφέρθηκε στους εποίκους Έλληνες, στην Σικελία και έπειτα έφτασε μέχρι την Νότια Ιταλία. Αργότερα διαδόθηκε αρκετά με την Ρωμαϊκή επέκταση, απλώθηκε σε όλη την Μεσογειακή λεκάνη και την Ιβηρική χερσόνησο. Σήμερα η καλλιέργεια έχει φτάσει στην Αμερική, την Ζηλανδία και σε ολόκληρη την Αφρική. Στο Πακιστάν, Αφγανιστάν, Ινδία, Νεπάλ, Κίνα, Ιαπωνία κ.α. έτσι πλέον η ελιά υπάρχει σε όλο τον κόσμο εκτός της Ανταρκτικής. Επίσης η ελιά χρησιμοποιείται και σαν φυσικό όριο για τα τέσσερα μέρη του ορίζοντα που μπορεί να ζήσει. Στα ανατολικά είναι το Ιράν, δυτικά και νότια είναι ο Ατλαντικός ωκεανός ενώ βόρεια βρίσκεται η Μαριούπολη και η Γιάλτα της Κριμαίας χερσονήσου. Εκεί υπάρχουν δέντρα που η ηλικία τους είναι εκατοντάδων ετών (Κυριτσάκης, 2007).

Το δέντρο όμως με το πέρασμα των χρόνων εξαιτίας της συνεισφοράς των Ελλήνων αφού η Ελλάδα αποτελεί το δεύτερο κέντρο καταγωγής της, αλλά και συνεισφορά των Εβραίων, των Φοινίκων και των Αιγυπτίων μπόρεσε να εξελιχθεί. Έγιναν γονικές μεταλλάξεις ή φυσικές διασταυρώσεις με το πέρασμα των χρόνων γι' αυτό πλέον υπάρχουν πάνω από 600 ποικιλίες. Σε αυτό κύριος παράγοντας ήταν οι καιρικές συνθήκες αλλά και οι συνθήκες του εδάφους. Με αποτέλεσμα μετά από όλες αυτές τις ποικιλίες που δημιουργήθηκαν, έγιναν καινούργιες που μπορούσαν να καλλιεργηθούν, οι οποίες έγιναν αφορμή για να δημιουργηθούν ακόμη περισσότερες (Κυριτσάκης, 2007).

Το ελαιόλαδο έκανε την πρώτη του εμφάνιση στα αρχαία νομίσματα της Αθήνας, όπου παρουσιάζονταν η προστάτιδα Θεά της με ένα στεφάνι από κλαδιά ελιάς στο κεφάλι της και ένα πήλινο δοχείο που περιείχε ελαιόλαδο. Οπότε καταλαβαίνουμε ότι το ελαιόλαδο άρχισε να έχει πρωταρχικό ρόλο στις οικογένειες αφού χρησιμοποιούνταν ως υλικό τροφodότησης

στα καντήλια για να μπορούν οι άνθρωποι το βράδυ να φωτίζονται. Οπότε ήταν επόμενο να αρχίσουν οι φιλοσοφίες, τα ποιήματα και οι μύθοι. Ο Ηρόδοτος το 500 π.Χ. φρόντισε να κάνει φανερό ότι η καλλιέργεια και η συγκομιδή των ελαιών όπως και του ελαιόλαδου ήταν μια πολύ σημαντική και ιερή διαδικασία για τους ανθρώπους (ΣΕΒΙΤΕΛ, 2013).

Ο πρώτος μύθος που μας αποκαλύπτει ότι το ελαιόλαδο ήταν εξίσου σημαντικό με τον καρπό της ελιάς ήταν αυτός του Διονύσου και των δώρων του. Λοιπόν λέγεται ο Απόλλωνας είχε τρεις εγγονές, την Σπερμώ, την Οινώ και την Ελαΐς, οι οποίες ήταν κόρες του Βασιλιά της Δήλου. Έτσι, ο Διόνυσος έκανε σε κάθε μια από ένα δώρο, την ικανότητα της δημιουργίας της γης σε σιτάρι, του νερού σε οίνο και του νερού σε ελαιόλαδο, αντίστοιχα (ΣΕΒΙΤΕΛ, 2013).

2. Βοτανική ταξινόμηση

Το δέντρο της ελιάς είναι αείφυλλο, αιωνόβιο, ορθόκλαδο μπορεί και πλαγιόκλαδο. Έχει τρεις ή περισσότερους βραχίονες, οι οποίοι φέρουν βλαστούς που εμφανίζονται τα φύλλα, τα άνθη και οι καρποί (Κωστελένος, 2012).

Η ελιά ανήκει στην οικογένεια Oleaceae και στο γένος Olea το οποίο περιέχει ακόμη 35 περίπου είδη ελιάς, οι οποίες καλλιεργούνται σε εύκρατα και τροπικά κλίματα (Κωστελένος, 2012).

Παρακάτω ακολουθεί η βοτανική ταξινόμηση της ελιάς:

Βασίλειο	<i>Plantae</i>
Υποβασίλειο	<i>Tracheobionata</i>
Υπερδιαίρεση	<i>Spermatophyta</i>
Διαίρεση	<i>Magnoliophyta</i>
Κλάση	<i>Magnoliopsida</i>
Υποκλάση	<i>Asteridae</i>
Τάξη	<i>Lamiales</i>
Οικογένεια	<i>Oleaceae</i>
Υποοικογένεια	<i>Oleoideae</i>
Γένος	<i>Olea</i>
Είδος	<i>Europaea</i>

Η *Olea europaea* χωρίζεται σε δύο υποομάδες την άγρια και την καλλιεργούμενη ελιά (*Olea europaea* L. var. *sylvestris* Rouy και *Olea europaea* L. subsp. *sativa* Hoffman, αντίστοιχα). Άγρια ελιά είναι η ελιά που αυτογονιμοποιείται και παράγει καρπούς αλλά δεν προκύπτουν ποτέ δενδρύλλια που να παράγουν μεγάλες ελιές με μεγάλη ελαιοπεριεκτικότητα. Αντίθετα, ήμερες ελιές είναι αυτές που αυτογονιμοποιούνται και από αυτό προκύπτουν λίγα σπορόφυτα με μεγάλες ελιές και με μεγάλη ελαιοπεριεκτικότητα. Τα πρώτα χρόνια της ανάπτυξης τους μοιάζουν μεταξύ τους, έχουν μικρά φύλλα και είναι πυκνά. Όμως αφού ενηλικιωθούν αλλάζουν με τον καιρό και αποκτούν διαφορετικά γνωρίσματα όσον αφορά τους καρπούς και τα φύλλα (Κωστελένος, 2012).

2.1. Χαρακτηριστικά της ελιάς

Η ελιά μπορεί να αναγνωριστεί εύκολα καθώς έχει χαρακτηριστικά εύκολα αναγνωρίσιμα.

- a. Ρίζα: Το ριζικό σύστημα της ελιάς είναι τεράστιο με τον κύριο όγκο του να βρίσκεται στην επιφάνεια του εδάφους, 15-20 ή 50-60 εκατοστά ενώ ένα μικρότερο μέρος της ρίζας φτάνει μέχρι και τα 100 εκατοστά (Μπαλατσούρας, 1986; Ποντίκης, 2000).
- b. Κορμός ελαιόδεντρου: είναι κυλινδρικός και ανώμαλος στα μεγάλης ηλικίας δέντρα. Στα νεαρά ελαιόδεντρα ο φλοιός είναι σταχτοπράσινος και ο κορμός λείος. Με το πέρασμα του χρόνου ο φλοιός ρυτιδώνεται, φελλοποιείται και παίρνει σταχτί- μαύρο χρώμα. Με το πέρασμα των χρόνων το πάχος στον κορμό της ελιάς αυξάνεται μέχρι ενός μέτρου ή και περισσότερο (Ποντίκης, 2000).
- c. Οφθαλμοί και Βλαστοί: η ελιά φέρει μόνο ξυλοφόρους και μικτούς οφθαλμούς, οι οποίοι θα δώσουν λαίμαργους και βλάστηση αντίστοιχα. Οι βλαστοφόροι οφθαλμοί είναι μικροί, στενοί και κωνικοί ενώ οι ανθοφόροι είναι εξογκωμένοι και σφαιρικοί. Βέβαια δύσκολα ξεχωρίζονται παρά μόνο στο στάδιο της διαφοροποίησης. Ο μεγάλος αριθμός λαίμαργων βλαστών υποδηλώνει ακαρπία. (Στάμος Παναγιώτης, 2013)
- d. Άνθη και ταξιανθίες: Τα άνθη του δέντρου χωρίζονται σε τέλεια και ατελή. Τα τέλεια έχουν δύο στήμονες με κανονικό ύπερο και μπορούν να δώσουν καρπούς ενώ τα ατελή άνθη έχουν δύο στήμονες με υποπλαστικό ύπερο αλλά δεν δίνουν καρπούς αν και ανθίζουν. Η αναλογία τους εξαρτάται από τις κλιματικές συνθήκες και το έδαφος αλλά επηρεάζονται και από τους γενετικούς παράγοντες που έχουν

προκύψει. Πολύ σημαντικό ρόλο στην αναλογία παίζει το άζωτο. Είναι ερμαφρόδιτα, λευκά σε ταξιανθία βότρυ. Βρίσκονται στις μασχάλες των φύλλων σε ομάδες των 8-25. Έχουν συμπέταλη στεφάνη με τέσσερα σέπαλα, κυπελλοειδή κάλυκα με τέσσερα πέταλα και με δύο στήμονες που προεξέχουν. Έχουν ωοθήκη επιφυή με δύο καρπόφυλλα και με στύλο κωνικό που είναι κοντός, με δύο λοβούς. (Κωστελένος, 2012)

- e. Καρπός: Οι καρποί είναι σαρκώδεις, με ποικίλα σχήματα ή μεγέθη (ωοειδή, σφαιρικές κ.α.). Το χρώμα τους είναι πράσινο και κατά την ωρίμανση τους γίνεται μελανό μέχρι και μαύρο. Ο πυρήνας τους είναι ξυλώδης με ένα ή δύο σπέρματα. (Κωστελένος, 2012). Αποτελείται από τον φλοιό ή το εξωκάρπιο (εφυμενίδα, επιδερμίδα), τη σάρκα ή το μεσοκάρπιο όπου γίνεται η ελαιογένεση και τέλος στο εσωτερικό βρίσκεται ο πυρήνας ή το ενδοκάρπιο που περιέχει το σπέρμα. Χρειάζονται 6-7 μήνες για να ωριμάσει ο καρπός από την στιγμή που θα γίνει η καρπόδεση. (Στάμος Παναγιώτης, 2013)
- f. Φύλλα της ελιάς είναι συνήθως βραχύμισχα, επιμήκη, λογχοειδή. Το χρώμα τους στην επάνω επιφάνεια είναι βαθύ ανοιχτό πράσινο και στην κάτω επιφάνεια έχουν ασημί-λευκό χρώμα. Σχεδόν πάντα καταλήγουν σε αιχμηρή απόφυση, που αποτελεί συνέχιση της κεντρικής νευρώσεως. Η κεντρική νεύρωση είναι εμφανείς σε ορισμένες από τις καλλιεργούμενες ποικιλίες. Το έλασμα του φύλλου είναι μεγάλο ή μικρό ανάλογα με την ποικιλία της ελιάς. Στην κάτω επιφάνεια των φύλλων βρίσκονται τα στομάτια, τα οποία καλύπτονται από τα τριχίδια με αποτέλεσμα αυτό να βοηθάει στην εξοικονόμηση νερού. (Μπαλατσούρας, 1986; Ποντίκης, 2000)

Η ανοχή της ελιάς στην ξηρασία έχει επιτευχθεί από την φύση μειώνοντας την επιφάνεια των φύλλων όπως και της στοματικής αγωγιμότητας. Ακόμα οι Fernandez et al. (1997) αναφέρουν ότι το φυτό προσαρμοσε την ωσμωτική του ικανότητα και περιόρισε τις απώλειες νερού μέσω των στομάτων. Επίσης οι ποικιλίες που αντέχουν στην ξηρασία έχουν κοντότερο στέλεχος και τα φύλλα έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό. Έτσι, τα φυτά έχουν αναπτύξει μηχανισμούς για την επιβίωση τους κατά την διάρκεια της ξηρασίας. Το βασικότερο είναι η αύξηση στην συσσώρευση διαφόρων ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS). Ωστόσο, διάφοροι τύποι οξυγόνου επηρεάζουν τις μεμβράνες, τις πρωτεΐνες του DNA με επακόλουθη συνέπεια τον κυτταρικό θάνατο. Γι' αυτό το φυτό παράγει διάφορα είδη αντιοξειδωτικών για να αποτοξινώνεται.

Τα αντιοξειδωτικά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

- Μη ενζυματικές (γλουταθειόνης, καρροτενοειδή, τοκοφερόλη, ασκορβικό οξύ) τα οποία καταστέλλουν τις επιδράσεις του οξειδωτικού στρες
- Ενζυματικά (μονοδεϋδης δροασκορβικής αναγωγάσης, υπεροξειδάση, καταλάση, αναγωγάσης γλουταθειόνης, ασκορβικό υπεροξειδάση, υπεροξειδική δισμουτάση, αφυδροασκορβική αναγωγάση)

Ακόμα πρέπει να αναφερθεί ότι τα αντιοξειδωτικά παίζουν μεγάλο ρόλο στην αντοχή της ελιάς στην ξηρασία. (Varela et al., 2016)

3. Ελαιοκαλλιέργεια στην Ελλάδα και τον κόσμο

Η ελιά καλλιεργείται παγκόσμια αλλά είναι ευρέως διαδεδομένη στην Ευρωπαϊκή Ένωση (65% της παγκόσμιας παραγωγής) και κυρίως στην Ισπανία, την Ιταλία, την Ελλάδα και την Πορτογαλία. Ειδικότερα, το 2020 η Ισπανία παρήγαγε 2.623.720 τόνους ελιές, η Ιταλία 1.145.520 τόνους και η Ελλάδα 906.020 τόνους. Η Αφρική (κυρίως Τυνησία, Μαρόκο) καταλαμβάνει τη δεύτερη θέση (16,7%), η Ασία την τρίτη (15,2%), η Αμερική τέταρτη (2,7%) και τελευταία είναι η Ωκεανία με 0,3% της παγκόσμιας παραγωγής (FAO, 2022).

Παρακάτω ακολουθούν εξειδικευμένες πληροφορίες για την κάθε ελαιοπαραγωγική χώρα της Ε.Ε.:

- Η Ισπανία το 1986 είχε 2.063.000 εκτάρια ενώ το 1991 καταγράφηκαν 2.074.000 εκτάρια σύμφωνα με το FAOSTAT. Το 2000 καταγράφηκαν 2.300.000 εκτάρια ενώ η τελευταία καταγραφή, το 2020, έδειξε ότι η Ισπανία έχει 2.623.720 ελαιοπαραγωγικά εκτάρια. (FAO, 2022). Αποτέλεσμα της τόσο μεγάλης καλλιεργητικής έκτασης είναι η αύξηση της χρήσης των λιπασμάτων, των φυτοφαρμάκων αλλά και της άρδευσης. Ακόμα η συγκομιδή σε κάποιες εκτάσεις γίνεται μηχανικά αλλά στις περισσότερες εξακολουθεί να υπάρχει ο παραδοσιακός τρόπος συγκομιδής που γίνεται με τα χέρια. Βέβαια με την πάροδο του χρόνου έχει αρχίσει να αναπτύσσεται η βιολογική καλλιέργεια ιδιαίτερα στην Extremadura. Οι αγρότες που ξέρουν την παραδοσιακή καλλιέργεια υπόκεινται σε αγρο-περιβαλλοντικά προγράμματα που παρέχουν κίνητρο για τις γεωργικές πρακτικές χαμηλών εισροών. Οπότε ήταν επόμενο να έχει αναπτυχθεί η ολοκληρωμένη καταπολέμηση ζιζανίων, παρασίτων και τα ολοκληρωμένα συστήματα παραγωγής.

- Η Ελλάδα άρχισε να αποκτά μεγάλη έκταση ελαιώνων τα τελευταία 25 χρόνια επειδή η φύτευση των αγροτεμαχίων γίνεται πολύ πυκνή. Ωστόσο, είχε ελαιοπαραγωγικά εκτάρια από πολύ πιο πριν. Το 1991 καταγράφηκαν 705.000 εκτάρια, το 2000 γύρω στα 780.357 εκτάρια, ενώ το 2020 καταγράφηκαν 906.020 εκτάρια. Σκοπός της καλλιέργειας της ελιάς είναι η εντατικοποίηση της παραγωγής με τη χρήση μηχανημάτων, με την εξομάλυνση του εδάφους, τη στάγδην άρδευση και την αυξημένη χρήση εξωτερικών εισροών. Οι ελαιώνες με τα παλιά δέντρα αντικαταστάθηκαν και πλέον στην Ελλάδα καλλιεργούνται περίπου 64.000 εκτάρια με βιολογικό τρόπο.
- Στην Ιταλία το 1986 καταγράφηκαν 1.150.949 εκτάρια, το 1991 1.115.322 εκτάρια, το 2000 1.161.600 εκτάρια, ενώ το 2020 καταγράφηκαν 1.145.520 ελαιοπαραγωγικά εκτάρια. Η παραγωγή εντατικοποιήθηκε και τα παλιά δέντρα αντικαταστάθηκαν με καλύτερες ποικιλίες ελιές και πιο παραγωγικές. Η βιολογική καλλιέργεια συνεχίζεται σύμφωνα με τους νέους κανονισμούς (834/2007) που προωθεί τη συνεχιζόμενη ανάπτυξη αειφόρων συστημάτων καλλιέργειας και μια ποικιλία από προϊόντα υψηλής ποιότητας (FAO, 2022).



Τα αγροκτήματα όπου καλλιεργούνται ελαιόδεντρα ποικίλουν σε μέγεθος από μικρότερα των 0,5 εκταρίων μέχρι και μεγαλύτερα των 500 εκταρίων. Η ελιές είναι ένα αιωνόβιο δέντρο οπότε στους ελαιώνες υπάρχουν μεγάλης ηλικίας δέντρα τα οποία έχουν μεγάλα κλαδιά αφού είναι εμβολιασμένες αγριελιές. Συνολικά υπάρχουν τρεις τύποι φυτείας:

- 1) Οι παραδοσιακές φυτείες χαμηλών εισροών: τα δέντρα φυτεύονται σε αναβαθμίδες και οι χημικές επεμβάσεις είναι λίγες ενώ συμβάλλουν στην βιοποικιλότητα και έχουν θετικό αντίκτυπο στο περιβάλλον. Ωστόσο είναι επιρρεπείς στην εγκατάλειψη λόγω ότι τα κέρδη που αποκομίζονται είναι αρκετά χαμηλά.
- 2) Οι εντατικοποιημένες παραδοσιακές φυτείες: χρησιμοποιούνται περισσότερα χημικά μέσα (λιπάσματα, φυτοφάρμακα) και εντατικές επεμβάσεις για την καταπολέμηση των παρασίτων. Ακόμα, η πυκνότητα των δέντρων είναι μεγαλύτερη και χρησιμοποιείται άρδευση καθώς και μηχανική συγκομιδή.
- 3) Οι υπερεντατικές σύγχρονες φυτείες: τα ελαιόδεντρα που χρησιμοποιούνται είναι κατάλληλα για μεγάλη πυκνότητα δηλαδή 1.600-1.800 δέντρα/εκτάριο. Χρησιμοποιούνται ειδικευμένα συστήματα άρδευσης, εντατικά, εκμηχανισμένα συστήματα και πρέπει να προσθέσουμε ότι σε αυτόν τον τύπο φυτείας είναι απαραίτητος ο θειικός χαλκός 5-6 φορές τον χρόνο. (Martin et al. 2010)

Τέλος, πρέπει να αναφέρουμε ότι οι βιολογικές φυτείες διαδίδεται πολύ γρήγορα αφού έχουν αυστηρά πρότυπα παραγωγής που απαγορεύουν την χρήση χημικών ουσιών όπως στα υπόλοιπα είδη φυτειών. Αυτό το είδος φυτείας αναμένεται να επιδοτηθεί από την Ε.Ε. (834/2007) για να μπορέσει να διατηρηθεί αυτό το σύστημα αειφόρου καλλιέργειας (Martin et al. 2010).

4. Άρδευση ελιάς

Η ελιά έχει τη δυνατότητα να καλλιεργηθεί και σε συνθήκες ξηρασίας καθώς διαθέτει καλό μηχανισμό άμυνας στην ξηρασία. Αυτό όμως επηρεάζει την παραγωγικότητα και απόδοση των δέντρων, γι' αυτό κρίνεται σωστό για την παραγωγή κάθε ευκαιρία για βελτίωση των συνθηκών υγρασίας να μην μένει ανεκμετάλλευτη. Η καλλιέργεια αυτή μπορεί να αξιοποιεί επακριβώς κάθε ποσότητα νερού που της παρέχεται μέχρι το σημείο επάρκειας και όχι παραπάνω καθώς δημιουργεί προβλήματα.

Η άρδευση στην ελιά δίδει θετικά αποτελέσματα στις εξής περιπτώσεις:

- Όταν οι βροχοπτώσεις της περιοχής είναι ανεπαρκείς
- Όταν οι βροχοπτώσεις είναι πολλές το χειμώνα και έτσι κατά τις κρίσιμες περιόδους της άνοιξης και καλοκαιριού αφήνονται ακάλυπτα τα δέντρα
- Το έδαφος είναι αμμώδες ή χαλικώδες με μικρή ικανότητα συγκράτησης νερού

Κρίσιμα στάδια όπου τα ελαιόδεντρα δεν πρέπει να έρχονται αντιμέτωπα με έλλειψη υγρασίας είναι :

- Από τη διαφοροποίηση οφθαλμών και την ανθοφορία έως την καρπόδεση, συνήθως Απρίλιο-Μάιο. Η μη επαρκής υγρασία την κρίσιμη αυτή περίοδο φέρει λιγότερες ταξιανθίες με λιγότερα άνθη σε κάθε ταξιανθία, πολλά ατελή άνθη, μικρή καρπόδεση, λιγότερους καρποφόρους βλαστούς για την επόμενη χρονιά.
- Την περίοδο αυξήσεως του καρπού (Ιούλιο) καθώς η έλλειψη υγρασίας φέρει μικροκαρπία, ανεπιθύμητη για τις επιτραπέζιες ελιές.
- Το διάστημα σκλήρυνσης του πυρήνα (Αύγουστο), που λόγω της έλλειψης υγρασίας εκτός από την μικροκαρπία, φέρει και συρρίκνωση των καρπών εφόσον τα φύλλα αποβάλλουν το νερό με τη διαπνοή εξασφαλίζουν νερό από τους καρπούς.

Ο τρόπος άρδευσης που χρησιμοποιείται περισσότερο είναι το σύστημα μικροεκτοξευτήρων άρδευσης. Η ποσότητα νερού σε κάθε άρδευση ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο του εδάφους και το μέγεθος των δέντρων. Θα πρέπει να είναι τόση ώστε να φθάνει στο βάθος του ριζοστρώματος χωρίς να προκαλεί ασφυξία στις ρίζες. Η συχνότητα καθορίζεται από την διαθεσιμότητα του νερού για επαρκή υγρασία στο έδαφος όλη την περίοδο αλλά και κυρίως στις κρίσιμες περιόδους για την καλλιέργεια. Τέλος, συνίσταται κυρίως στις επιτραπέζιες ποικιλίες ελιάς καθώς επιδιώκεται μεγάλο μέγεθος καρπού και

μπορεί να πραγματοποιηθεί ο συνδυασμός λίπανση, άρδευση, κλάδεμα (Μπαλατσούρας 1986).

5. Παγκόσμια υδατικά αποθέματα

Έχει πραγματοποιηθεί μελέτη από το Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (Bates et al. 2008) που επεξεργάζεται τις επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στα υδατικά αποθέματα της Ευρώπης και μελετά την αύξηση κάποιας υποκείμενης ξηρασίας, ιδιαίτερα στην Νότια Ευρώπη, την αύξηση των πλημμυρικών φαινομένων, την μείωση της υδροηλεκτρικής παραγωγής ενέργειας και τέλος μείωση της γεωργικής παραγωγής αλλά και υποβάθμιση του υδατικού οικοσυστήματος. Η μέτρηση του βαθμού έλλειψης υδατικού αποθέματος για ανθρώπινη χρήση προσδιορίζεται με τον δείκτη Falkenmark που αναφέρεται για κάθε χώρα ξεχωριστά. Οπότε, με βάση την μελέτη εκτιμάται ότι:

- ως κατώφλι ανεπάρκειας υδατικών πόρων είναι τα 1.700 m^3 νερού/κεφαλή σε ετήσια βάση. Το αποτέλεσμα αυτό υπολογίστηκε έχοντας υπολογίσει την οικιακή, γεωργική, βιομηχανική χρήση και τις ανάγκες του περιβάλλοντος σε νερό (Rijsberman, 2006).
- Ωστόσο, τα κράτη που η χρήση νερού κατά κεφαλή είναι μικρότερη των 1.700 m^3 χαρακτηρίζεται ως «υπό κατάσταση υδατικού στρες».
- Όταν η ποσότητα του νερού είναι μικρότερη των 1.000 m^3 τότε έχουμε έλλειψη υδατικών πόρων
- Τέλος, όταν τα υδατικά αποθέματα είναι 500 m^3 τότε λέμε ότι υπάρχει απόλυτη έλλειψη υδατικών πόρων.

Στα αναπτυγμένα κράτη η κατανάλωση κατά κεφαλή έχει σταθεροποιηθεί αλλά το πρόβλημα δεν έχει λυθεί αφού υπολογίζεται ότι το 2025 θα υπάρχουν κράτη που θα βρίσκονται σε υδατικό στρες ενώ 14 χώρες θα φτάσουν στο επίπεδο υδατικού στρες «έλλειψη ύδατος» (Smakhtin et al. 2004).

Είναι φανερό ότι ο μεγαλύτερος καταναλωτής σε υδατικά αποθέματα είναι ο γεωργικός τομέας αφού με την πάροδο του χρόνου για την κάλυψη των αναγκών του η εκμετάλλευση του νερού έχει αυξηθεί εκθετικά. Το 2025 υπολογίζεται ότι η χρησιμοποίηση των υδατικών αποθεμάτων θα ξεπεράσει τα 3.000 m^3 , δηλαδή θα αυξηθεί έξι φορές περισσότερο σε

σύγκριση με τον 20^ο αιώνα. Έπειτα, ακολουθεί ο τομέας της βιομηχανίας που το 2025 θα χρησιμοποιεί το 1.000 hm³ των υδατικών αποθεμάτων και αναμένεται αύξηση της κατανάλωσης και στην οικιακή χρήση που συνεχίζει να παραμένει ο χαμηλότερος τομεακός καταναλωτής.

Το 2009 καταγράφηκε ότι ο υδατικός πόρος σε αρκετές περιοχές εξαιτίας της ανεξέλεγκτης κατανάλωσης ύδατος προκάλεσε κίνδυνο μη κάλυψης των αναγκών των υπόλοιπων χρήσεων όπως επίσης αναφέρεται ότι έχουν αυξηθεί οι περιστασιακές υφαλμυρώσεις των παράκτιων υδροφόρων της ευρωπαϊκής επικράτεια με αποτέλεσμα να μειώνονται τα υδατικά διαθέσιμα αποθέματα που προορίζονται για κατανάλωση.

Όσον αφορά την οικιακή χρήση, υπάρχει μια σταθερότητα ως προς την προέλευση των υδατικών αποθεμάτων μεταξύ υπόγειων και επιφανειακών και αυτό αποτυπώνεται με την βοήθεια του δείκτη εκμετάλλευσης υδάτων (Water exploitation index, WEI, Marcuello et al. 2003). Αυτός ο δείκτης υπολογίζεται ως ο λόγος των συνολικών ετήσιων απολήψεων ύδατος προς το συνολικό διαθέσιμο ανανεώσιμων ποσοτήτων ύδατος. Οι τιμές αυτές αν είναι μεγαλύτερες από 0,2 τότε οι υδατικοί πόροι δέχονται πιέσεις, ενώ αν η τιμή είναι μεγαλύτερη από 0,4 τότε οι πιέσεις είναι ισχυρές και δείχνουν την μη αειφορική χρήση των υδατικών πόρων (Raskin et al. 1997). Βέβαια ορισμένοι ειδικοί πιστεύουν ότι το 0,4 είναι πολύ μικρή τιμή γι' αυτό προτείνουν το 0,6, όμως από επιστημονική άποψη οι δείκτες μεγαλύτεροι του 0,4 δείχνουν ότι είναι αδύνατον τα υδατικά οικοσυστήματα να επιβιώσουν (Alcamo et al. 2000).

Είναι ανάγκη να αναφερθεί ότι περισσότερα από 20 κράτη της κεντρικής και βόρειας Ευρώπης λογίζονται ως μηδενικής έντασης ως προς την πίεση στους υδατικούς πόρους ενώ 9 (μαζί με την Ελλάδα) κατατάσσονται στην κλίμακα WEI ως χαμηλή πίεση προς του υδατικούς πόρους. Μόνο 4 είναι τα μεσογειακά κράτη (Κύπρος, Μάλτα, Ιταλία, Ισπανία) που ασκούνται πιέσεις στους υδατικούς πόρους (UNEP 2007). Εν κατακλείδι πρέπει να σημειωθεί ότι η χρησιμοποίηση του δείκτη σε εθνικό επίπεδο υπολείπεται σε σχέση με την χρήση του επιπέδου της λεκάνης απορροής γι' αυτό και συχνά η έλλειψη νερού έχει τοπικό χαρακτήρα.

6. Ορθολογική άρδευση καλλιεργειών

Είναι απαραίτητη η βελτίωση και η επέκταση της άρδευσης αφού τα αποθέματα νερού όλο και μειώνονται με αποτέλεσμα η γεωργία να πρέπει να στραφεί σε αυτοτροφοδοτούμενες λύσεις. Η μοναδική λύση στο πρόβλημα των χαμηλών αποθεμάτων νερού είναι η ορθολογική διαχείριση τους και η αποτελεσματική χρήση τους αφού δεν προβλέπεται δημιουργία νέων πηγών νερού στον υπόγειο υδροφόρο ορίζοντα. Τα προβλήματα που έχουν δημιουργηθεί είναι τα εξής:

1. Έλεγχος της ζήτησης του νερού και η σωστή εκμετάλλευση του

Η γεωργία έχει την μερίδα του λέοντος στα αποθέματα του νερού οπότε η σωστή χρήση του θα εξοικονομήσει αρκετή ποσότητα και για το μέλλον. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί:

Εφαρμογή ορθής αρδευτικής πρακτικής:

- Δημιουργία ή αντικατάσταση δικτύων μεταφοράς του νερού για την αποφυγή διαρροών εξαιτίας κάποιας βλάβης
- Υποχρεωτική εγκατάσταση συστημάτων άρδευσης που θα εξοικονομούν νερό
- Δημιουργία κατάλληλου σχεδίου ποτίσματος που θα συμβαδίζει με τις συνθήκες της κάθε περιοχής και τις ανάγκες των φυτών
- Εφαρμογή κατάλληλου συστήματος άρδευσης που θα καλύπτει τις ανάγκες κάθε καλλιέργειας
- Ενημέρωση των αγροτών για τις ανάγκες νερού των καλλιεργειών τους
- Εφαρμογή τεχνικών άρδευσης για να μην αλατώνεται το έδαφος και για τον κατάλληλο προγραμματισμό ποτίσματος των καλλιεργειών που θέλουν μικρότερη ποσότητα νερού, όπως η ελλειμματική άρδευση και η υπόγεια άρδευση όταν υπάρχει υπερβολική έλλειψη νερού
- Η άρδευση των καλλιεργειών συνιστάται να γίνεται τις βραδινές ώρες ώστε το φυτό να ποτίζεται με περισσότερο νερό αφού δεν υπάρχει η προϋπόθεση της εξάτμισης του
- Πληροφόρηση του κόστους νερού και καταγραφή της χρησιμοποιημένης ποσότητας με την βοήθεια του υδρόμετρου
- Στην εξοικονόμηση του νερού βοηθάει και η υδρολίπανση αφού δεν θα χρειαστεί να ξανά ποτίσεις για να λιώσουν οι κόκκοι του λιπάσματος, αλλά

επίσης μετά το τέλος της αρδευτικής περιόδου του χωραφιού θα πρέπει να γίνει έλεγχος στο σύστημα άρδευσης για τυχόν βλάβες.

Εφαρμογή ορθής διαχείρισης του εδάφους:

- Το έδαφος πρέπει να καλλιεργείται επιφανειακά για να αποφεύγουν την μεγάλη απορροή του νερού
- Η καλλιέργεια πρέπει να γίνεται κατά τις ισοϋψείς για να συγκρατείται το νερό και να αποφεύγεται η διάβρωση των εδαφών
- Διατήρηση της οργανικής ουσίας σε υψηλά επίπεδα με την μη καλλιέργεια του εδάφους και φυτοκάλυψη του εδάφους για να μην εξατμίζεται μεγάλη ποσότητα του νερού
- Αύξηση της υδατοϊκανότητας του χωραφιού εξαιτίας της αύξησης της οργανικής ουσίας στα επιφανειακά στρώματα και έλεγχος εδάφους για τυχόν ελλείψεις σε θρεπτικά στοιχεία
- Καταστροφή ζιζανίων για να μειωθεί ο ανταγωνισμός και οι απώλειες νερού λόγω της διαπνοής των ζιζανίων

Εφαρμογή ορθής διαχείρισης της καλλιέργειας:

- Λαμβάνοντας υπόψιν τις βροχοπτώσεις της περιοχής, την διαθεσιμότητα σε νερό άρδευσης και απόδοσης της καλλιέργειας πρέπει να επιλεγεί η καλλιέργεια που θα εγκατασταθεί στο χωράφι
- Ανθεκτικές ποικιλίες κατά την έλλειψη νερού
- Επιλογή ποικιλιών που ο κύκλος ζωής τους είναι μικρός
- Σωστή επιλογή λιπασμάτων για την καλλιέργεια και εξοικονόμηση τους σε χρονιές που η παραγωγή των φυτών είναι μειωμένη
- Η χρήση των φυτοφαρμάκων πρέπει να γίνεται σωστά με βάση τις οδηγίες ώστε να υπάρχουν χαμηλότερα έξοδα και η εφαρμογή τους πρέπει να γίνεται την σωστή χρονική στιγμή για να μην υπάρχουν προβλήματα με τους ωφέλιμους οργανισμούς
- Επιλογή κατάλληλων μεθόδων καταπολέμησης (βιολογική ή ολοκληρωμένη) για την αντιμετώπιση των ασθενειών και των εχθρών όσο είναι εφικτό.

Βέβαια όλες οι παραπάνω παράμετροι μπορούν να πραγματοποιηθούν εφόσον υπάρχει ισχυρή και αποτελεσματική υπηρεσία Γεωργικών Εφαρμογών που διαθέτει εξειδικευμένο προσωπικό, επαρκή οικονομική υποστήριξη, πραγματοποίηση προγραμμάτων κατάρτισης των αγροτών και υπάρχει συνεχή έρευνα για τις καλύτερες και πιο ορθολογικές εφαρμογές για την εξοικονόμηση νερού άρδευσης (Χαρτζουλάκης, 2009).

7. Δείκτες υδατικής καταπόνησης στα φυτά

7.1. Φαινολικές ουσίες

Φαινολικές ενώσεις

Αποτελούν μια μεγάλη ομάδα χημικών ενώσεων που είναι διαδεδομένες στη φύση σε ελεύθερη κατάσταση ή σε μορφή ενώσεων με πολύπλοκη ή και μη δομή. Επίσης, είναι από τις κυριότερες ομάδες δευτερογενών μεταβολιτών και περιέχουν υδροξυλομάδες ενωμένες με αρωματικό δακτύλιο. Περιλαμβάνει έναν ή και περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους με ένα και περισσότερα υδροξύλια και διακρίνονται ανάλογα με τη χημική δομή τους σε 15 βασικές κατηγορίες. Οι φαινόλες βρίσκονται συνήθως σε μορφή γλυκοζιτών με ένα ή και περισσότερα σάκχαρα σαν υποκατάστατες της υδροξυλομάδας ή συνδεδεμένα με άτομα άνθρακα αρωματικού δακτυλίου ή ως αγλυκόνες.

Οι φαινολικές ενώσεις είναι δραστικές εξαιτίας του όξινου χαρακτήρα των υδροξυλικών ομάδων καθώς και των πυρηνόφιλων ιδιοτήτων των φαινολικών δακτυλίων (Khanbabaee and Van Tee, 2001).

7.1.1. Διαχωρισμός και κατηγοριοποίηση φαινολικών ουσιών

Ο διαχωρισμός αυτός συνεπάγεται ανάλογα

1. με τον αριθμό των ατόμων,
2. τον αριθμό αρωματικών δακτυλίων που περιέχουν
3. απλές φαινόλες αν περιέχουν αρωματικό δακτύλιο και
4. σε πολυφαινόλες αν περιέχουν παραπάνω

Οι απλές διαχωρίζονται σε φαινολικά οξέα και κουμαρίνες ενώ οι πολυφαινόλες σε φλαβονοειδή και ταννίνες.

Ορισμός πολυφαινολών: Οι πολυφαινόλες αποτελούν μια κατηγορία φυσικών ενώσεων που συντίθενται από φυτά με χημικά χαρακτηριστικά και έχουν άμεση σχέση με φαινολικές ουσίες που αποδίδουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Οι κατηγορίες των φυσικών αυτών ουσιών χαρακτηρίζονται από δύο δακτυλίους φαινυλίου και πολλούς υδροξυλικούς υποκατάστατες συνδεδεμένα με αρωματικούς ή ετεροκυκλικούς δακτυλίους. Οι πολυφαινόλες μπορούν να ταξινομηθούν σε φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή ή διαιρούνται σε κατηγορίες ανάλογα με τον αριθμό μονάδων φαινόλης εντός της μοριακής δομής, και τον τύπο σύνδεσης μεταξύ των μονάδων φαινόλης. Η δομή τους ποικίλλει από απλή έως πολύπλοκη πολυμερή δομή, όπως οι ταννίνες. Δημιουργούνται από βιογενετικά, από δύο συνθετικές οδούς, του σικιμικού οξέος και του οξικού.

Φυτικές πολυφαινόλες: Προέρχονται από προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και βρίσκονται στη φύση συνδεδεμένες με υδατάνθρακες μέσω των υδροξυλίων τους (Khanbabaee and Van Tee, 2001).

7.1.2. Κατηγορίες πολυφαινολών

- 1) Μη φλαβονοειδή: έχουν τουλάχιστον έναν φαινολικό δακτύλιο με διαφορετικές αντιδραστικές ομάδες και συμπεριλαμβάνουν τα φαινολικά οξέα, φαινυλικές αλκοόλες, στυλβένια, χαλκόνες και λιγνάνες.
- Φαινολικά οξέα: Είναι ομάδα οργανικών οξέων που περιέχουν όλες τις οργανικές ενώσεις και περιέχουν το λιγότερο μια καρβοξυλομάδα και ένα φαινολικό υδροξύλιο. Αποτελούν παράγωγα του κινναμωμικού και βενζοϊκού οξέος, τα οποία βρίσκονται στα φυτά με την μορφή εστέρων ή γλυκοσιδών. Σ' αυτή την κατηγορία συγκαταλέγεται το καφεϊκό οξύ, το σιναπικό και το φερούλικό οξύ, ενώ στην δεύτερη κατηγορία το σαλικυλικό οξύ και το γαλλικό οξύ. Από τις σημαντικότερες δράσεις τους αποτελούν η αντιφλεγμονώδης, η αντιμικροβιακή και η κυτταροστατική τους δράση (Crozier et al., 2009; Motilva et al., 2013).
- Στυλβένια: Είναι ενώσεις που απαντώνται σε ορισμένους τύπους φυτών, που ανήκουν σε υποομάδα φυτοχημικών, τις πολυφαινόλες. Προκύπτει από τα παράγωγα κινναμωμικού οξέος που παράγεται από φυτικούς ιστούς. Έχουν γνωστοποιηθεί σχεδόν 300 δομές στυλβενοειδών, τα πιο γνωστά είναι η ρεσβερατρόλη και το περοστυλβένιο. Η πρώτη είναι γνωστή σε δέρματα σταφυλιών, κρασί, φιστίκια και

- βακκίνια και δρα ως αντιοξειδωτικό και αντιφλεγμονώδες (Crozier et al., 2009; Motilva et al., 2013).
- Λιγνάνες: Είναι πολυφαινικές ενώσεις που συναντώνται στα φυτά και δίδουν δομική ποικιλομορφία. Δρουν ως κυτταροτοξικοί, αντικοί, αντιμυκητιακοί, αντιοξειδωτικοί παράγοντες. Βρίσκονται στον φλοιό, τις ρίζες, τα λουλούδια και τους σπόρους. Περιλαμβάνει ομάδα φυσικών ενώσεων με σκελετούς άνθρακα προερχόμενοι από δύο μονάδες φαινυλοπροπανίου ενωμένες με έναν δεσμό άνθρακα μεταξύ των δυο κεντρικών β-καρβονίων των αλυσίδων O3 (Crozier et al., 2009; Motilva et al., 2013).
 - 2) Φλαβονοειδή: Είναι μια μεγάλη κατηγορία φαινολών. Αποτελούν δευτερογενείς μεταβολιτές χαμηλού μοριακού βάρους που παράγονται από τα φυτά, προσδίδουν στα φυτά έντονα χρώματα και τα προστατεύουν από παθογόνους μικροοργανισμούς. Επίσης, βοηθούν τα φυτά να ανταπεξέλθουν σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες όπως η υπεριώδης ακτινοβολία, υδατική καταπόνηση, εδάφη πλούσια σε τοξικά μέταλλα. Η έκκριση φλαβονοειδών λαμβάνει χώρα ως σήμα παραγωγής απαραίτητων συστατικών για ανάπτυξη χρήσιμων συμβιωτικών οργανισμών στα φυτά. Η χημική τους δομή περιγράφει ένα σύνολο φυσικών προϊόντων που σχηματίζουν ανθρακικό σκελετό με 15 άτομα άνθρακα διατεταγμένα σε αρωματικούς δακτυλίους που ενώνονται με μια γέφυρα 3 ανθράκων. Αυτά διακρίνονται σε ομάδες όπως οι φλαβόνες, χαλκόνες, φλαβονόλες, ανθοκυανίνες κ.α. (Khanbabaee and Van Tee, 2001).
 - 3) Ταννίνες: Οι ταννίνες ανήκουν στα φαινολικά οξέα και φτιάχνουν φαινολικές ενώσεις που είναι αδιάλυτα σύμπλοκα μεταξύ υδατανθράκων και πρωτεϊνών. Υπάρχουν τρεις κατηγορίες: οι ταννίνες ή προανθοκυανιδίνες, οι υδρολυμένες ταννίνες και οι γαλλοταννίνες (Khanbabaee and Van Tee, 2001).

7.1.3. Φαινόλες στα φύλλα της ελιάς

Τα φύλλα της ελιάς περιέχουν συστατικά όπως η ελευρωπεΐνη, η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη και διάφοροι εστέρες, με κάποια φαινολικά οξέα όπως το καφεϊκό και το βανιλικό. Η ελευρωπεΐνη είναι ένα πολύ σημαντικό συστατικό για τα φύλλα αφού ευθύνονται για την προστασία από τις διάφορες ασθένειες, την αντοχή στο κρύο και από τα διάφορα έντομα. Η ελευρωπεΐνη είναι ένας ετεροσιτικός εστέρας του β-γλυκοζυλιωμένου ελενολικού οξύ και υδροξυτυροσόλη και μπορεί με ευκολία να μετατραπεί σε ενδογενή και

εξωγενή β-γλυκοσιδάση σε γλυκόζη και ελευρωπεΐνη αγλυκόνη. Η β-υδροξυτυροσόλη είναι μια αλκοόλη που βρίσκεται στην ελιά αλλά δεν υπάρχει σε αποκλειστικότητα μόνο εκεί, όπως η ελευρωπεΐνη. Τα επίπεδα της ελευρωπεΐνης και της υδροξυτυροσόλης μεταβάλλονται κατά την διάρκεια ανάπτυξης του καρπού και ωρίμανσης του ελαιόδεντρου. Βέβαια σημαντικό ρόλο παίζουν στο περιβαλλοντικό στρες των φυτών λόγω ξηρασίας ή ηλιακής ακτινοβολίας, αλατότητας κ.α.

Επιπρόσθετα, τα φύλλα της ελιάς περιέχουν ακόμα φαινόλες, τριτερπένια, χαλκόνες, κουμαρίνες, αλκαλοειδή και φλαβονοειδή ή γλυκοζίδια φλαβονοειδών. Το διμεθυλο-ελευρωπεΐνη είναι υποπροϊόν της ελευρωπεΐνης και αποτελεί δείκτη ωρίμανσης της ελιάς. Όσο αυξάνεται η τιμή της τόσο μειώνεται η τιμή της ελευρωπεΐνης, το οποίο εξηγείται από την αύξηση της δραστηριότητας των υδρολυτικών ενζύμων κατά την πρόοδο της ωρίμανσης.

Γενικά τα φυτά που εκτίθενται για μεγάλη διάρκεια σε αβιοτικό στρες έχουν μεγαλύτερη παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών ως μέρος των μη ενζυματικών μηχανισμών με αποτέλεσμα να έχουν ισχυρότατη αντιοξειδωτική ικανότητα για την προστασίας των κυτταρικών δομών από την οξειδωτική βλάβη που έχει προκληθεί χάρη στην αύξηση των παραγωγικών αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) στα κύτταρα. (Sies, 1993; Naczk and Shahidi, 2004; Reginato et al., 2014).

7.1.4. Αντιοξειδωτική δράση

Τα φύλλα της ελιάς έχουν αντιοξειδωτική δράση επειδή οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν προβλήματα στα κύτταρα και στους ιστούς του οργανισμού εξαιτίας της οξείδωσης. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να βοηθήσουν τον οργανισμό όταν βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις στην μεταγραφή των γονιδίων, σε φλεγμονές, στην κυτταρική απόσταση, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις παίρνουν ηλεκτρόνια από τις πρωτεΐνες, τα λιπίδια και το DNA με αποτέλεσμα να οδηγούν τον οργανισμό σε σοβαρές επιπτώσεις όπως είναι ο καρκίνος, θάνατο των κυττάρων κ.α. Ωστόσο, τα αντιοξειδωτικά λειτουργούν με το να δίνουν ηλεκτρόνια στις ελεύθερες ρίζες και όχι να παίρνουν. Οπότε οι ελεύθερες ρίζες μετατρέπονται σε ουσίες σάρωσης ηλεκτρονίων αποτρέποντας την οξείδωση τους. Βοηθούν στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA και διατηρούν τα κύτταρα υγιή, κρατώντας σταθερή την οξειδοαναγωγική ομοιόσταση. (Cheeseman KH, Slater TF. 1993.)

Τα συστατικά των φύλλων της ελιάς που συμμετέχουν στην αντιοξειδωτική δράση είναι: τα φαινολικά όπως η τυροσόλη, η ελευρωπεΐνη και διάφορα φαινολικά οξέα όπως το καφεϊκό.

Έπειτα, συμμετέχει η τριτερπένια (ολεανολικό οξύ), οι κουμαρίνες (σκοπολετίνη), τα αλκαλοειδή (παράγωγα κινγκονίνης) και τα φλαβονοειδή (ρουτίνη, λουτεολίνη κ.α.). (Paray, Zsofia & Antal, Istvan. 2014.)

Η ελευρωπεΐνη σταματάει την οξειδωση των λιποπρωτεΐνων χαμηλής πυκνότητας (LDL) που προκαλείται από θεικό χαλκό. Έτσι η ικανότητα της LDL να αντιστέκεται στην οξειδωση αυξάνεται, ενώ μειώνονται τα επίπεδα στο πλάσμα της ολικής, ελεύθερης και εστεροποιημένης χοληστερόλης. Εξουδετερώνει το νιτρικό οξείδιο (iNOS) στο κύτταρο και το υποχλωριώδες οξύ (HOCl) το οποίο αν υπάρξει σε μεγάλη ποσότητα δημιουργεί φλεγμονή και προκαλεί βλάβες στις πρωτεΐνες και στα ένζυμα. (Haris Omar, S. 2010.)

7.2. Προλίνη

Η προλίνη είναι ένα πολύ σημαντικό αμινοξύ αφού παράγεται όταν τα φυτά υποστούν κάποια συνθήκη που θα τα στρεσάρει. Η προλίνη συμβάλει κατά την διάρκεια του στρες ως χηλικός παράγοντας μετάλλου, ως αντιοξειδωτικό αμυντικό μόριο και ως μόριο σηματοδότησης. Ακόμα, η προλίνη δράση καταπληκτικά ως οσμολύτης για την διατήρηση της ωσμωτικής ισορροπίας όταν το φυτό βρεθεί σε περιβάλλον που θα το στρεσάρει. Σταθεροποιεί τις μεμβράνες αποτρέποντας την ηλεκτρολυτική διαρροή ενώ αντίθετα προσλαμβάνει διάφορα είδη οξυγόνου (ROS π.χ. OH, O₂, H₂O₂) με αποτέλεσμα την αντιμετώπιση της οξειδωτικής έκρηξης των φυτών. Η προλίνη μπορεί να γίνει τοξική όταν χορηγηθεί εξωγενώς σε μεγάλες συγκεντρώσεις γι' αυτό είναι σημαντικό να χορηγούνται στα φυτά μικρές ποσότητες για να έχουν τα φυτά αντοχή στο στρες.

Όταν ένα φυτό εκτίθεται σε πολλές περιβαλλοντικές πιέσεις όπως η αλατότητα, η έλλειψη νερού, ακραίες καιρικές συνθήκες, έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία και σε υψηλές συγκεντρώσεις τοξικών μεταλλικών ιόντων συσσωρεύονται με την πρόσληψη διαφόρων ειδών οξυγόνου με αποτέλεσμα την συσσώρευση της προλίνης. Οπότε για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων καθώς δημιουργούν πρόβλημα στην ανάπτυξη του φυτού και στην παραγωγικότητα, και τέλος δημιουργούν ζημιές στην υπεροξειδωση των λιπιδικών συστατικών των μεμβρανών. Τα κύτταρα των φυτών ανέπτυξαν διάφορους μηχανισμούς για να διατηρηθεί η ROS σταθερή και να μην υπάρχουν προβλήματα με την τοξικότητα. Βέβαια και το άλλο άκρο της έλλειψης ROS δημιουργούν πρόβλημα στο μηχανισμό μετάδοσης του σήματος αφού καθορίζονται από χαμηλά μοριακά αντιοξειδωτικά ένζυμα που μεταβολίζουν το βάρος όπως η γλουταθειόνη, το ασκορβικό οξύ, η α-τοκοφερόλη και διάφορα

αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η καταλάση, η ασκορβική υπεροξειδάση και η υπεροξειδική δισμουτάση. Φυσικά, σε διαφορετικές συνθήκες δημιουργούνται ελεύθερες ρίζες που οδηγούν σε οξειδωτικό στρες με αποτέλεσμα το φυτό να δυσκολεύεται να μεγαλώσει. Επίσης συσσωρεύονται μεγάλες ποσότητες διαλυμένων ουσιών που έχουν μικρό μοριακό βάρος, ευδιάλυτες οργανικές ενώσεις που είναι μη τοξικές ακόμα και σε υψηλές συγκεντρώσεις. Αυτές παρέχουν την προστασία που χρειάζεται το φυτό όταν υπόκεινται σε δυσμενή συνθήκες αφού συμβάλλουν στην ωσμωτική προσαρμογή των κυττάρων, στην αποτοξίνωση ROS, προστατεύουν τις μεμβράνες και σταθεροποιούν τις πρωτεΐνες όπως είναι η σακχαρόζη, η προλίνη. (Sofa et al., 2004)

7.2.1. Βιοσύνθεση της προλίνης

Η προλίνη συντίθεται με δύο τρόπους, από την ορνιθίνη που μετατρέπεται σε P5C και με φυσικό τρόπο εξαιτίας του συσσωρευμένου στρες. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο πρώτος τρόπος είναι ο καλύτερος αφού η ορνιθίνη είναι πολύ σημαντική για την ανάπτυξη του σπόρου. Όσον αφορά τον δεύτερο τρόπο η προλίνη δρα ως μοριακός συνοδός που εξασφαλίζει την ακεραιότητα της πρωτεΐνης και την ενδυνάμωση της δραστηριότητας διαφόρων ενζύμων.

Η εφαρμογή εξωγενούς προλίνης μειώνει τα επίπεδα ROS στους μύκητες και στους ζυμομύκητες με αποτέλεσμα τα κύτταρα να μην πεθαίνουν την κατάλληλη χρονική στιγμή που πρέπει. Ακόμα, αποτρέπει την υπεροξειδωση των λιπιδίων στα κύτταρα που εκτίθενται σε βαρέα μέταλλα. Η προλίνη ανάγεται στα απομονωμένα θυλάκια των μεμβρανών και η ποσότητα της μπορεί να προσδιοριστεί μέσω της βιοσύνθεσης, του καταβολισμού και της μεταφοράς της μεταξύ των κυττάρων σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα. Τα ένζυμα που συμβάλλουν στην βιοσύνθεση εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα ενώ τα ένζυμα που συμβάλλουν στον καταβολισμό εντοπίζονται στα μιτοχόνδρια.

Η ενδοκυτταρική εφαρμογή προλίνης γίνεται κάπου ενδιάμεσα στην κυτοσόλη, τους χλωροπλάστες και τα μιτοχόνδρια. Υψηλές ποσότητες προλίνης ανιχνεύθηκε σε φυτά που βρίσκονται υπό πίεση αλατιού, το οποίο είχε υψηλότερη τιμή από τα φυτά που δεν είχαν υποβληθεί σε κάποιο είδος στρες. Ο μεταβολισμός της προλίνης αρχίζει από την βιοσύνθεση της. Όταν ενεργοποιηθεί τότε ο καταβολισμός, απενεργοποιείται κατά της αφυδάτωση και η επανενυδάτωση γίνεται με το που απενεργοποιηθεί η βιοσύνθεση. (Hayat et al., 2012)

7.2.2. Εξωγενής προλίνη και ανάπτυξη του φυτού

Όταν το στρες είναι αβιοτικό και τα φυτά προσβάλλονται από αυτό παρουσιάζουν αργή ανάπτυξη ή και καθόλου. Η χορήγηση εξωγενώς προλίνη βοηθάει στην ωσμοπροστασία και ενισχύει την ανάπτυξη των φυτών που εκτίθενται σε καταπόνηση άλατος (Hayat et al., 2012).

7.2.3. Προλίνη και Νερό-Φωτοσύνθεση

Το στρες δημιουργεί πρόβλημα στην σχέση νερό-φυτό με αποτέλεσμα να δυσκολεύεται η πρόσληψη νερού, η ανάβαση των χυμών και η λειτουργία των στοματίων. Ακόμα επιβραδύνεται η βιοσύνθεση της χλωροφύλλης και εντέλει μειώνεται η φωτοσύνθεση. Η μείωση του νερού στα φύλλα έχει ως αποτέλεσμα την διαταραχή του φυτού με αποτέλεσμα της έναρξη της συσσώρευσης της προλίνης. Όπως έχει αναφερθεί η προλίνη προστατεύει τα φυτά από το στρες κρατώντας σταθερό το μιτοχονδριακό σύμπλεγμα μεταφοράς ηλεκτρονίων, κρατώντας τις μεμβράνες, τις πρωτεΐνες και τα ένζυμα άθικτα. (Hayat et al., 2012)

7.2.4. Προλίνη και στρες βαρέων μετάλλων

Τα βαρέα μέταλλα (Cd, Cu, Pb, Ni, Zn) έχουν καταστροφικές συνέπειες για τα φυτά και πόσο μάλλον για το περιβάλλον. Η πρόσληψη μεγάλης ποσότητας βαρέων μετάλλων οδηγεί σε σοβαρές φυσιολογικές και δομικές διαταραχές. Εξαιτίας της προσβολής αυτής τα φυτά συσσωρεύουν μεγάλη ποσότητα προλίνης. Αυτή η ποσότητα προλίνης βοηθάει στην ανακούφιση των φυτών αφού ενεργοποιεί το σχηματισμό φυτοχλατινών, οι οποίες χηλοποιούνται με τα βαρέα μέταλλα και έτσι η τοξικότητα ελαττώνεται. (Hayat et al, 2012)

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Σκοπός του πειράματος

Σκοπός του πειράματος είναι η μελέτη της επίδρασης δυο διαφορετικών πρακτικών άρδευσης (ξηρικό, αρδευόμενο) στη φυσιολογία της ελιάς ποικιλίας ‘Κονσερβολιά Άρτας’, μέσω του προσδιορισμού της συγκέντρωσης στα φύλλα της δύο δεικτών υδατικής καταπόνησης: των φαινολικών ουσιών και της προλίνης.

2. Υλικά και μέθοδοι

2.1. Περιγραφή ελαιώνα

Το πείραμα διεξάχθηκε σε ελαιώνα έκτασης 0,25 εκταρίων ποικιλίας ‘Κονσερβολιά Άρτας’ ηλικίας 40 ετών στην περιοχή της Γραμμενίτσας Άρτας. Το έδαφος του χωραφιού ήταν αργιλοπηλώδες και η εγκατάσταση του έγινε περίπου το 1981. Οι συντεταγμένες του χωραφιού είναι 39°10'47.0''N και 20°58'44.7''E.

Τα φυτικά δείγματα που μεταχειρίστηκαν με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu ήταν 24 και συλλέχθηκαν από το Ιούλιο με τον Αύγουστο του 2021, ενώ τα φυτικά δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για την μέθοδο της Proline ήταν 29 και συλλέχθηκαν τον Ιούλιο με τον Οκτώβριο του 2021.

2.2. Μεταχειρίσεις

Σε μια γραμμή φύτευσης εφαρμόστηκε μια διαφορετική αρδευτική πρακτική που αποτελούσε και την κάθε μεταχείριση:

1. Ξηρικό: Στο πειραματικό αυτό τεμάχιο δεν πραγματοποιήθηκαν καθόλου αρδεύσεις
2. Άρδευση παραγωγού: Στο πειραματικό αυτό τεμάχιο η άρδευση πραγματοποιήθηκε με βάση την εμπειρία του παραγωγού.

Κάθε γραμμή φύτευσης είχε δέκα δέντρα από τα οποία πήρα αρκετά φύλλα για επαναλήψεις.

2.2.1. Μέτρηση των φαινολικών ουσιών

Αρχικά, τοποθετούνται τα φύλλα που μαζεύτηκαν σε ειδικές σακούλες όπου αναγράφεται πάνω το δέντρο από το οποίο μαζεύτηκαν και την ημερομηνία. Έπειτα τοποθετούνται μέσα σε ειδικό φούρνο (Εικόνα 1) στους 50 βαθμούς για 3-4 ημέρες αφού έχουν ζυγιστεί και

καταγραφεί το βάρος τους. Η θερμοκρασία δεν πρέπει να ξεπερνά τους 70 βαθμούς γιατί υπάρχει περίπτωση να καούν οι φυτικοί ιστοί. Στην συνέχεια, παρασκευάζεται διάλυμα αιθανόλης 80% δηλαδή 80 ml αιθανόλη και 20ml νερό. Αφού τα φύλλα έχουν αποξηρανθεί, ξανά ζυγίζονται και τρίβονται ένα, ένα στο γουδί μέχρι να γίνουν σκόνη. Κάθε φύλλο που έχει γίνει σκόνη αναμιγνύεται με λίγες σταγόνες αιθανόλης με σκοπό να γίνει μια πάστα (Εικόνα 3). Έπειτα τοποθετείται με την βοήθεια ενός χωνιού σε δοκιμαστικό σωλήνα μαζί με περισσότερο διάλυμα αιθανόλης 80%. Τα ml που πρέπει να υπάρχουν μέσα στον δοκιμαστικό σωλήνα είναι 10 ml. Τα σκεύη καθαρίζονται με απιονισμένο νερό και αιθανόλη για να απολυμανθούν πριν χρησιμοποιηθούν ξανά τα σκεύη για να τριφτεί το επόμενο φύλλο. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για κάθε φύλλο.

Αφού έχουν τριφτεί όλα τα φύλλα και έχουν τοποθετηθεί μέσα στους δοκιμαστικούς σωλήνες, φυγοκεντρίζονται για 15 λεπτά στις 3000 στροφές. Έπειτα, από κάθε δείγμα με την βοήθεια μιας πιπέτας συλλέγονται 250 μl του αρχικού διαλύματος και αφού τοποθετηθεί σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα, προστίθενται 9,750 μl απιονισμένου νερού. Από το δεύτερο διάλυμα συλλέγεται 1ml και αφού τοποθετηθεί σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα, προστίθεται 500μl αντιδραστηρίου Folin Ciocalteu 2N (Εικόνα 3) που είναι το αντιδραστήριο. Ακόμα προστίθεται 4,5 ml απιονισμένου νερού και έπειτα τα διαλύματα αφήνονται για 3-5 λεπτά ώστε να μπορέσουν να προστεθούν 4 ml ανθρακικού νατρίου 7,5% βάρος κατά όγκο και το διάλυμα να παραμείνει σε ήρεμη κατάσταση.



Εικόνα 1. Τοποθέτηση φυτικού υλικού στο φούρνο.



Εικόνα 2. Λειοτρίβηση φυτικού υλικού.



Εικόνα 3. Συλλογή 500μl φολίνης.



Εικόνα 4. Τοποθέτηση δειγμάτων στο υδατόλουτρο.

Επίσης, απαραίτητη είναι η παρασκευή ενός τυφλού διαλύματος δηλαδή σε έναν καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 1ml απιονισμένο νερό αντί για 1ml αραιωμένου υπερκείμενου, 500μl Folin Ciocalteu 2N, 4,5 ml απιονισμένο νερό και 4ml ανθρακικό νάτριο. Έπειτα, τα διαλύματα μαζί με το τυφλό διάλυμα τοποθετούνται στο υδατόλουτρο (Εικόνα 4) στους 40 βαθμούς Κελσίου για 20 λεπτά και μετά αφήνονται στο σκοτάδι για 30 λεπτά μέχρι να αλλάξουν χρώμα.

Για την ποσοτικοποίηση των δειγμάτων παρασκευάζεται καμπύλη αναφοράς με πρότυπα διαλύματα γαλλικού οξέος σε υδατοαιθανολικό μίγμα 80:20 αιθανόλη:νερό, συγκέντρωσης 20-200 ppm με γραμμική εξίσωση $y=0,0026x+0,0606$, $R^2=0,9786$. Τα πρότυπα συγκέντρωσης 20-200 ppm παρασκευάζονται με αραιώση αντίστοιχων όγκων λαμβανόμενων από πυκνό υδατοαιθανολικού διαλύματος 1000 ppm γαλλικού οξέος σε απιονισμένο νερό. Από τα αραιωμένα πρότυπα λαμβάνεται όγκος 1mL μεταφέρεται σε ογκομετρικές φιάλες των 10 ml όπου και προστίθενται διαδοχικά τα αντιδραστήρια της μέτρησης, δηλαδή 0,5 ml αντιδραστηρίου Folin Ciocalteu 2N, 4,5ml απιονισμένου νερού και 4ml ανθρακικού νατρίου 7,5% βάρος κατά όγκο. Τέλος, με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου μετρήθηκε η απορροφητικότητα που έχουν τα διαλύματα στα 765nm. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος ανά g ξηρού βάρους φύλλου (mg GAE g⁻¹ ξ. β. φύλλου).

2.2.2. Μέτρηση της προλίνης

Για τον προσδιορισμό της προλίνης στους φυτικούς ιστούς χρησιμοποιήθηκαν τρία απαραίτητα διαλύματα:

1. Α. διάλυμα αιθανόλη 70%: 175ml αιθανόλης + 75 ml d. H₂O= 250ml
2. Β διάλυμα αιθανόλη 40% για την πρότυπη καμπύλη: 10ml αιθανόλης+15ml d.H₂O =25ml
- 3a. Γ διάλυμα νινυδρίνη: 0,25g τοποθετούνται σε διάλυμα που περιέχει: 30ml acetic acid (glacial) + 10ml ethanol (pure). Ο όγκος συμπληρώνεται με d.H₂O μέχρι τα 50ml. Η διάλυση γίνεται χωρίς θέρμανση και υπό συνεχή ανάδευση.
- 3b. Γ διάλυμα προλίνη 1mM: 28,78 (29)mg L-proline διαλύονται σε διάλυμα 25ml (τελικός όγκος) διαλύματος 70% αιθανόλης (διάλυμα Α). Από αυτό το διάλυμα χρησιμοποιούμε διαφορετικούς όγκους που συνδυάζονται με διάλυμα 70% αιθανόλης

(διάλυμα Α), προκειμένου να δημιουργηθούν σε ξεχωριστούς, αριθμημένους (0, 0,025, 0,050, 0,1, 0,2, 0,4, 0,8 mM proline) σωλήνες falcon των 15ml τα παρακάτω διαλύματα προλίνης:

Όγκος Διαλύματος Προλίνης 1Mm	Όγκος διαλύματος Α (70% αιθανόλη)	Παρασκευασμένο διάλυμα προλίνης (mM)
0	10,0 ml	0
250 μl (0.25 ml)	9,75 ml	0,025
500 μl (0.50 ml)	9,50 ml	0,05
1000 μl (1.0ml)	9,00 ml	0,1
2000 μl (2.0ml)	8,00 ml	0,2
4000 μl (4.0 ml)	6,00 ml	0,4
8000 μl (8 ml)	2,00 ml	0,8

Ποσότητες διαλύματος για την παρασκευή διαλύματος προλίνης.

2.2.2.1. Διαδικασία εκχύλισης

Πρώτα γίνεται η ζύγιση περίπου 100 mg φυτικού ιστού και τοποθετείται στο γουδί μικρή ποσότητα άμμου και 2 ml διαλύματος Α (70% αιθανόλη). Ο φυτικός ιστός ψιλοτεμαχίζεται και τοποθετείται μέσα στο γουδί με την άμμο. Στην συνέχεια πραγματοποιείται η λειοτρίβηση του φυτικού ιστού και γίνεται πρόσθεση ακόμη 2 ml διαλύματος Α (70% αιθανόλης). Όταν η λειοτρίβηση ολοκληρωθεί, τότε το εκχύλισμα του φυτικού ιστού μεταφέρεται στα κατάλληλα αριθμημένα falcon των 15 ml. Τα δείγματα τοποθετούνται σε ψυγείο το λιγότερο μια ώρα. Αφού τα δείγματα βγουν από το ψυγείο ακολουθεί φυγοκέντρηση τους στις 4000 στροφές για 10 λεπτά. Στην συνέχεια, το υπερκείμενο κάθε δείγματος μεταφέρετε σε καθαρό, κατάλληλα αριθμημένο falcon των 15 ml. Το υπερκείμενο, αυτό, θα χρησιμοποιηθεί στον προσδιορισμό της προλίνης.

2.2.2.2. Διαδικασία προσδιορισμού προλίνης

Σε κατάλληλα αριθμημένα falcon των 15 ml τοποθετούνται τα εξής:

- 2000μl (2 ml) διαλύματος νινυδρίνης (διάλυμα Γ)
- 1000μl (1 ml) εκχυλίσματος φυτικού ιστού.

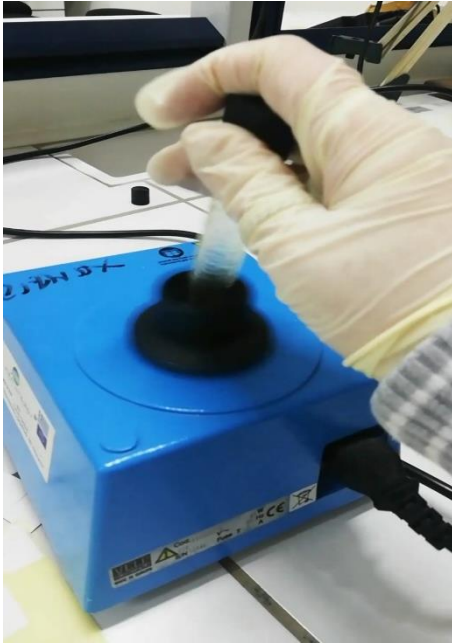
Οι σωλήνες πωματίζονται, περνάνε από το vortex για 10-15 sec και έπειτα μεταφέρονται σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία 95° C, όπου παραμένουν για 25 min. Στην συνέχεια, τοποθετούνται στο παγόλουτρο και έπειτα σε φυγόκεντρο στις 4000 στροφές για 5 λεπτά. Τέλος το υπερκείμενο μεταφέρεται σε κυψελίδα και καταγράφεται η ένδειξη σε φωτόμετρο στα 520 nm.

2.2.2.3. Διαδικασία σχηματισμού πρότυπης καμπύλης

Σε καθένα από τα κατάλληλα αριθμημένα (0, 0,005, 0,01, 0,02, 0,04, 0,08, 0,16) falcon των 15ml τοποθετούνται 2000μl (2 ml) διαλύματος νινυδρίνης (διάλυμα Γ) και έπειτα ανάλογα με την αρίθμηση του σωλήνα τοποθετούνται επιπλέον:

Πυκνό διάλυμα προλίνης mM	Όγκος διαλύματος	Όγκος διαλύματος B (αιθανόλη 40%)	Τελικό διάλυμα προλίνης mM
0	0	1000μl (1ml)	0
0,025	200μl (0.2ml)	800μl (0.8ml)	0,005
0,05	200μl (0.2ml)	800μl (0.8ml)	0,01
0,1	200μl (0.2ml)	800μl (0.8ml)	0,02
0,2	200μl (0.2ml)	800μl (0.8ml)	0,04
0,4	200μl (0.2ml)	800μl (0.8ml)	0,08
0,8	200μl (0.2ml)	800μl (0.8ml)	0,16

Στην συνέχεια η διαδικασία είναι ίδια με αυτήν που αναφέρεται παραπάνω για τα δείγματα των φυτικών ιστών. Δηλαδή τα δείγματα περνάνε από το vortex για 10-15 sec και έπειτα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 95°C για 25 λεπτά. Ακολούθως, τοποθετούνται σε παγόλουτρο και έπειτα φυγοκεντρίζονται για 5 λεπτά στις 4000 στροφές. Τέλος, το υπερκείμενο μεταφέρεται στην κυψελίδα και καταγράφεται η ένδειξη του φωτόμετρου στα 520nm. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg προλίνης ανά g νωπού βάρους φύλλου (mg προλίνης g⁻¹ ν. β. φύλλου).



Εικόνα 5. Τοποθέτηση δοκιμαστικού σωλήνα στο vortex.

3. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του λογισμικού SPSS 20.0 (SPSS 20.0, IBM Corp. 2011). Εφαρμόστηκε η ανάλυση διασποράς (ANOVA) και οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων μεταχειρίσεων για τους τις παραμέτρους προσδιορίστηκε με το LSD test ($p \leq 0.05$).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

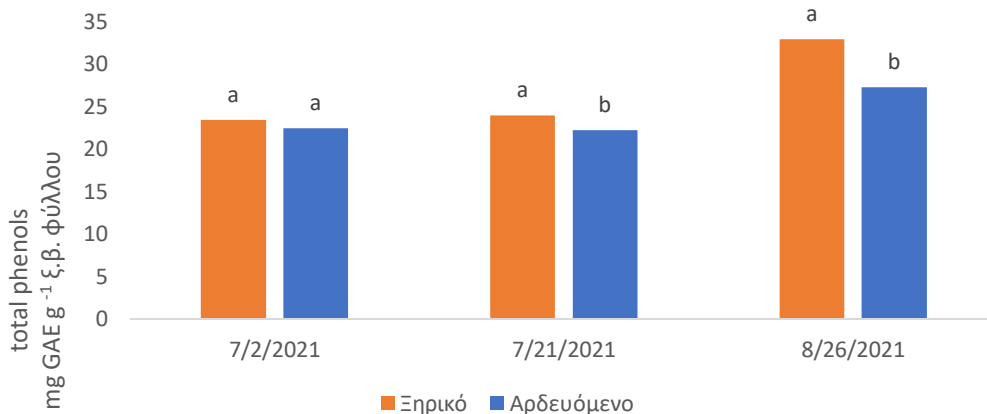
4.1. Φαινολικές ουσίες

Από τα αποτελέσματα (Διάγραμμα 2) προκύπτει ότι οι φαινολικές ουσίες των ξηρικών είναι πάντα πιο υψηλές στα ξηρικά σε σύγκριση με τα αρδευόμενα δένδρα. Οι μετρήσεις που έγιναν στις 2/7/2021 δείχνουν ότι στα φύλλα από ξηρικά δένδρα η τιμή τους είναι 23,4 mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος ανά g ξηρού βάρους φύλλου (mg GAE g⁻¹ ξ. β. φύλλου), ενώ στα αρδευόμενα είναι 22,44 mg GAE g⁻¹ ξ. β. φύλλου. Αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχει κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ τους αφού το ποσοστό διαφοράς τους είναι 4,2% με υψηλότερη κατά λίγες μονάδες τα ξηρικά δέντρα.

Στην μέτρηση που έγινε 21/7/2021 οι φαινολικές ουσίες των ξηρικών είναι 23,97 mg GAE g⁻¹ ξ. β. φύλλου, ενώ των αρδευόμενων είναι 22,24 mg GAE g⁻¹ ξ. β. φύλλου. Από εδώ καταλαβαίνουμε ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ τους κατά 7,7% με υψηλότερη τιμή τα ξηρικά δέντρα.

Στην μέτρηση του 26/8/2021 παρατηρούμε μια ραγδαία αύξηση των φαινολικών ουσιών και των δύο μεταχειρίσεων. Η τιμή των φαινολικών ουσιών στα ξηρικά δέντρα είναι 32,91 mg GAE g⁻¹ ξ. β. φύλλου, ενώ στα αρδευόμενα είναι 27,24 mg GAE g⁻¹ ξ. β. φύλλου. Παρατηρούμε ότι υπάρχει σημαντική διαφορά ανάμεσα σε αυτές τις δύο μετρήσεις κατά 20% με υψηλότερη τιμή στα ξηρικά δέντρα.

Άρα, συμπεραίνουμε ότι όσο περνάνε οι μέρες και οι συνθήκες γίνονται πιο έντονες οι φαινολικές ουσίες που υπάρχουν στα φύλλα των ξηρικών δέντρων αυξάνονται περισσότερο λόγω της καταπόνησης που δέχονται, ενώ οι φαινολικές ουσίες στα αρδευόμενα δέντρα είναι σχετικά σταθερά με πολύ μικρές αυξομειώσεις.



Διάγραμμα 2 Διάγραμμα αποτελεσμάτων φαινολικών ουσιών

*διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά σε $p > 0,05$

4.2 Προλίνη

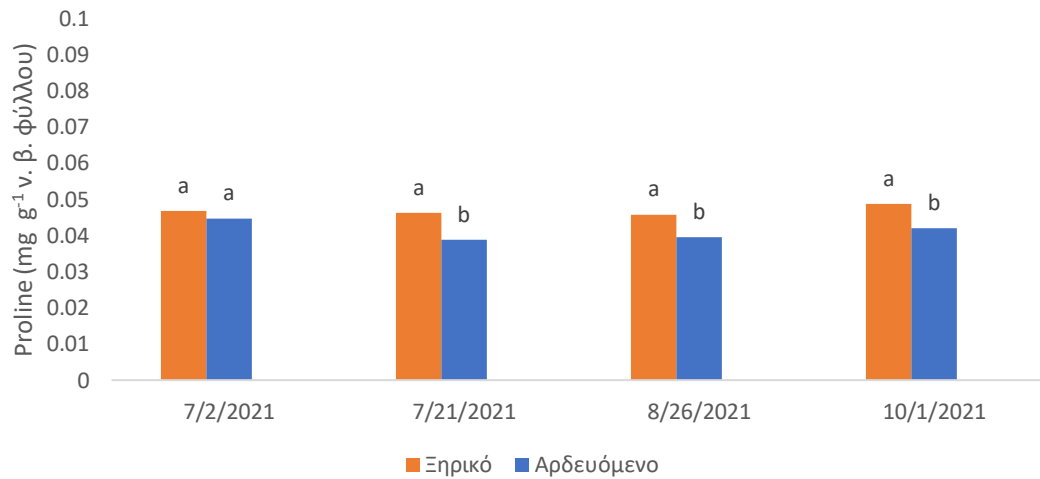
Αρχικά, από το σχεδιάγραμμα καταλαβαίνουμε ότι η προλίνη των ξηρικών είναι πάντα πιο αυξημένη από αυτή των αρδευόμενων δέντρων. Οι μετρήσεις που κάναμε στις 2/7/2021 παρατηρήσαμε ότι στα ξηρικά δείγματα η τιμή τους είναι 0,0467 mg προλίνης g⁻¹ v. β. φύλλου, ενώ τα αρδευόμενα είναι 0,0447 mg προλίνης g⁻¹ v. β. φύλλου. Αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχει κάποια σημαντικά διαφορά μεταξύ τους αφού το ποσοστό διαφοράς τους είναι 4,4% με υψηλότερη κατά λίγες μονάδες στα ξηρικά δέντρα.

Στην μέτρηση που έγινε 21/7/2021 η προλίνη των ξηρικών είναι 0,0463 mg προλίνης g⁻¹ v. β. φύλλου, ενώ των αρδευόμενων είναι 0,0388 mg προλίνης g⁻¹ v. β. φύλλου. Από εδώ καταλαβαίνουμε ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ τους κατά 19,3% με υψηλότερη τιμή στα ξηρικά δέντρα.

Στη μέτρηση του 26/8/2021 παρατηρούμε ότι η τιμή της προλίνης στα ξηρικά δέντρα είναι 0,0458 mg προλίνης g⁻¹ v. β. φύλλου, ενώ στα αρδευόμενα είναι 0,0396 mg προλίνης g⁻¹ v. β. φύλλου. Παρατηρούμε ότι υπάρχει σημαντική διαφορά ανάμεσα σε αυτές τις δύο τιμές κατά 15,6% με υψηλότερη τιμή στα ξηρικά δέντρα.

Στη μέτρηση βέβαια που έγινε στις 1/10/2021 παρατηρούμε ότι η προλίνη στα ξηρικά είναι 0,0487 mg προλίνης g⁻¹ v. β. φύλλου, ενώ στα αρδευόμενα είναι 0,042 mg προλίνης g⁻¹ v. β. φύλλου. Υπάρχει σημαντική διαφορά κατά 15,9 % με υψηλότερη τιμή στα ξηρικά δέντρα.

Βέβαια πρέπει να αναφέρουμε ότι στις μετρήσεις που έγιναν στις 26/8/2021 και 1/10/2021 παρατηρούμε ότι τα ποσοστά είναι πολύ κοντά κατά 0,3%. Άρα, από το σχεδιάγραμμα συμπεραίνουμε ότι οι τιμές των ξηρικών δέντρων δεν αλλάζουν τόσο ραγδαία, όπως το ίδιο ισχύει και για τα αρδευόμενα φυτά. Γενικά οι τιμές εμφανίζουν μια σχετική σταθερότητα με μικρές διαφορές.



Διάγραμμα 3 Διάγραμμα αποτελεσμάτων προλίνης

5. Συζήτηση-Συμπέρασμα

Η προλίνη και οι φαινολικές ουσίες προστατεύουν το φυτό από κάθε είδος περιβαλλοντικού στρες, όπως η ηλιακή ακτινοβολία, η ξηρασία, η υψηλή αλατότητα κ.α. Επίσης, φροντίζουν να το αποτοξινώνουν από τις ελεύθερες ρίζες ή αλλιώς τα διάφορα είδη οξυγόνου (ROS) και δρουν ως αντιοξειδωτικά. Βέβαια, οι μεγάλες ποσότητες προλίνης μπορούν να δράσουν αρνητικά στο φυτό, πόσο μάλλον αν χορηγείται στο φυτό εξωτερικά (Sofa et al., 2004). Φυσικά το ίδιο ισχύει και για τα διάφορα είδη οξυγόνου, μπορεί να γίνουν ωφέλιμα αλλά αν συγκεντρωθεί μεγάλη ποσότητα από αυτά μπορεί να καταστρέψει το φυτό μέχρι και να το θανατώσει. Γι' αυτό και αρχίζει το φυτό να συσσωρεύει τις φαινολικές ουσίες και την προλίνη ώστε να καταπολεμήσει κάθε πρόβλημα.

Με βάση τα αποτελέσματα του πειράματος και αυτά των de Abreu and Mazzafera, 2005 και Jaafar et al., 2012, η παραγωγή των φαινολικών ουσιών αυξάνεται για να μπορέσει το φυτό να αντιμετωπίσει το στρες στο οποίο υπόκειται. Ακόμα, αυξάνεται και η ποσότητα των πολυφαινολών με σκοπό το φυτό να μπορέσει να αποτοξινωθεί από τα διάφορα είδη οξυγόνου (ROS), σύμφωνα με τους Carrera and Bertiller, 2010; Campanella and Bertiller, 2011; Westoby et al., 2002; Reddy et al., 2004 και τους Hatier and Gould, 2008; Agati and Tattini, 2010.

Επίσης, σύμφωνα με τους Bates et al., 1973 και με βάση τα αποτελέσματα που βρήκαμε στο πείραμα συμπεραίνουμε ότι και η προλίνη αυξάνεται σε περίπτωση που το φυτό βρεθεί σε κατάσταση στρες όπως και οι φαινολικές ουσίες.

Εν κατακλείδι, η προλίνη και οι φαινολικές ουσίες είναι το σύστημα άμυνας του φυτού να λύνει τα προβλήματα που δημιουργούνται από οποιοδήποτε περιβαλλοντικό στρες για να μπορέσει να συνεχίσει να αναπτύσσεται και να είναι παραγωγικό.

Βιβλιογραφία:

Ελληνική

- Κυριτσάκης, Α. (2007). Ελαιόλαδο συμβατικό και βιολογικό, Βρώσιμη ελιά – πάστα ελιάς, 4^η Έκδοση, Θεσσαλονίκη: Αγροτικές Συνεταιρικές Εκδόσεις.
- Κωστελένιος Γ.Δ. (2011) Στοιχεία ελαιοκομίας «Ιστορία, Περιγραφή και Γεωγραφική κατανομή των ποικιλιών ελιάς στην Ελλάδα» Ιδιωτική έκδοση.
- Μπαλατσούρας, Γ.Δ. (1986) Σύγχρονη ελαιοκομία «Το ελαιόδεντρο», Τόμος 1.
- Ποντίκης, Κ.Π. 2000. Ειδική δενδροκομία, ελαιοκομία. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, Τόμος 3.
- ΣΕΒΙΤΕΛ (2013). Το ελληνικό ελαιόλαδο με ορίζοντα το 2020. Διαθέσιμο στο <http://www.oliveoil.gr/> Τελευταία πρόσβαση 13/07/2022.
- Στάμος Π. (2013) «Καλλιέργεια της ελιάς (ποικιλία Μανάκι) στην περιοχή Αργολίδος και Τροιζηνίας». Πτυχιακή εργασία.
- Χατζουλάκης Κ., Μπερτάκη Μ., ΕΘΙΑΓΕ, Ινστιτούτο Ελιάς και Υποτροπικών Φυτών, 73100 Χανιά, Κρήτης (2009). Ορθολογική διαχείριση του νερού άρδευσης: Αναγκαιότητα για αειφόρο αγροτική ανάπτυξη.

Ξένη

- Adriano Sofo, Bartolomeo Dichio, Cristos Xiloyannis, Andrea Masia (2004) Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress.
- Agati, G., Tattini, M., 2010. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. *New Phytol.* 186, 78.
- Alcamo, J., Henrich, T., Rosch, T., 2000. World Water in 2025 – Global modeling and scenario analysis for the World Commission on Water for the 21st Century. Report A0002, Centre for Environmental System Research, University of Kassel, Germany.
- Bates, B C, Z W Kundzewicz, S Wu and J P Palutikof (eds) (2008). ‘Climate change and water’. Technical Paper VI of the IPCC, IPCC Secretariat, Geneva.
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Campanella, M.V., Bertiller, M.B., 2011. Is N-resorption efficiency related to secondary compounds and leaf longevity in coexisting plant species of the arid Patagonian Monte, Argentina? *Austral Ecol.* 36, 395-402.
- Carillo P, Mastrolonardo G, Nacca F, Parisi D, Verlotta A, Fuggi A (2008) Nitrogen metabolism in durum wheat under salinity: accumulation of proline and glycine betaine. *Functional Plant Biology* 35: 412-426.
- Carrera, A.L., Bertiller, M.B., 2010. Relationship among plant litter, fine roots, and soil organic C and N across an aridity gradient in northern Patagonia, Argentina. *Ecoscience* 17, 276-286.
- Cheeseman KH, Slater TF. 1993. An introduction to free radicals chemistry. *Br Med Bull*, 49, 481-93.
- Cross JM, von Korff M, Altman T, Bartzetko L, Sulpice R, Gibon Y, Palacios N, Stitt M (2006) Variation of Enzyme Activities and Metabolite Levels in 24 Arabidopsis Accessions Growing in Carbon-Limited Conditions. *Plant Physiology* 142: 357-372 .

- Crozier, A., Japanath, I.B., Clifford, M.N., 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Product Rep.* 8, 1001-10043.
- FAOSTAT 2022. Crops and livestock products
- Fernandez J.E, Moreno F, Giron I.F, Blazquez O.M. Stomatal control of water use in olive tree leaves. *Plant Soil* 1997; 190:179-192.
- Haris Omar, S. 2010. Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. *Scientia Pharmaceutica*, 78(2), 133-154.
- Hatier, J.H.B., Gould, K.S., 2008. Foliar anthocyanins as modulators of stress signals. *J. Theor. Biol.* 253, 625-627.
- Herve Martin, Ευρωπαϊκή Επιτροπή, ΓΔ Περιβάλλοντος, LIFE E.4-BU-9, 02/1, 200 rue de la Loi, B-1049 Βρυξέλλες (2010). Ορθή πρακτική για τη βελτίωση των περιβαλλοντικών επιδόσεων στον κλάδο του ελαιόλαδου.
- Khanbabaee, K., Van Tee, T., 2001. Tannins: classification and definition. *Nat Product Rep.* 18, 641-649.
- M. Celeste Varela, Idris Arshan, Mariana A. Reginato, Ana M. Cenzano, M. Virginia Luna (2016) Phenolic compounds as indicators of drought resistance in shrubs from Patagonian shrublands (Argentina).
- Marcuello, Conchita, and Lallana, Concha, (2003). Water exploitation index: European Environment Agency, accessed May 31, 2009, at http://themes.eea.europa.eu/Specific_media/water/indicators/WQ01c%2C2003.1001/WEI_101003v2.pdf
- Naczka, M., Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatogr. A* 1054, 95-111.
- Papay, Zsafia & Antal, Istvan. 2014. Study on the antioxidant activity during the formulation of biological active ingredient. *European Scientific Journal*, 3, 1857-7881.
- Raskin, P.; Gleick, P. H.; Kirshen, P.; Pontius, R. G. Jr; and Strzepek, K., 1997. Comprehensive assessment of the freshwater resources of the world. Stockholm Environmental Institute, Sweden. Document prepared for the fifth session of the United National Commission on Sustainable Development, 1997.
- Reddy, A.R., Chaitanyaa, K.V., Vivekanandan, M., 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 161, 1189-1202.
- Reginato, M.A., Castagna, A., Castro, S., Ranieri, A., Luna, V., 2014. Physiological responses of a halophytix shrub to salt stress by Na₂SO₄ and NaCl: oxidative damage and the role of polyphenols in antioxidant protection.
- Rijsberman, Frank, 2006. Water scarcity: Fact or fiction? *Agricultural Water Management*, 80:5-22. ISI.
- Shamsul Hayat, Qaiser Hayat, Mohammed Nasser Alyemeni, Arif Shafi Wani, John Pichtel, Aqil Ahmad (2012) Role of proline under changing environment, A review.
- Sies H, 1993. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.* 215, 213-219.
- Smakhtin, Vladimir U.; Revenga, C.; Dol, P. (2004). Taking into account environmental water requirements in global-scale water resources assessments. Colombo, Sri Lanka: IWMI. V, 24p. (Comprehensive Assessment of water Management in Agriculture Research Report 2).
- UNEP. 2007. Freshwater in Europe.
- Westoby, M., Falster, D.S., Moles, A.T., Vesk, P.A., Wright, I.J., 2002. Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33, 125-159.