



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η επίδραση ενός βιοδιεγέρτη (εκχύλισμα *Ascophyllum nodosum*)
στην ανάπτυξη του μαρουλιού (*Lactuca sativa* L.)**



Δημάκη Ηλιάνα - Φανουρία

Επιβλέπων καθηγητής: Μάντζος Νικόλαος
Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό

Άρτα 07/02/2020



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΝΟΣ ΒΙΟΔΙΕΓΕΡΤΗ (ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ
ASCOPHYLLUM NODOSUM) ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ
ΜΑΡΟΥΛΙΟΥ (LACTUCA SATIVA L.)**



Δημάκη Ηλιάνα - Φανουρία

Επιβλέπων καθηγητής: Μάντζος Νικόλαος
Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό

Άρτα 07/02/2020

**EFFECT OF BIOSTIMULANT (EXTRACT ASCOPHYLLUM
NODOSUM) IN DEVELOPMENT OF LETTUCE (LACTUCA
SATIVA L.)**

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή

Άρτα, 07/02/2020

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγητής
Μάντζος Νικόλαος
Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό

2. Μέλος επιτροπής
Πατακιούτας Γεώργιος
Αναπληρωτής Καθηγητής

3. Μέλος επιτροπής
Μπέζα Παρασκευή
Λέκτορας

Ο/Η Προϊστάμενος / η του Τμήματος

Τζώρα Αθηνά

PhD Κτηνίατρος, Καθηγήτρια

Υπογραφή

© Δημάκη Ηλιάννα - Φανουρία, 2020.

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 πτυχιακή 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.

Δημάκη Ηλιάνα - Φανουρία

Υπογραφή

Περίληψη

Οι βιοδιεγέρτες είναι ένα διαμορφωμένο προϊόν που βελτιώνει την παραγωγικότητα των φυτών μέσω των ιδιοτήτων των συστατικών που συμπεριλαμβάνει το σκεύασμα. Ο όρος βιοδιεγέρτης αναφέρεται σε οποιαδήποτε ουσία ή μικροοργανισμός που εφαρμόζεται σε φυτά, έδαφος και σπόρους με σκοπό να ενισχυθεί η αποτελεσματικότητα της θρέψης, η ανοχή σε αβιοτικούς και βιοτικούς στρεσογόνους παράγοντες και η ποιότητα των καλλιεργειών.

Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες βιοδιεγερτών, οι οποίες χρησιμοποιούνται στην καλλιέργεια των φυτών, και οι οποίες είναι βιοδιεγέρτες από χουμικά και φουλβικά οξέα, βιοδιεγέρτες από υδρόλυση πρωτεϊνών και αμινοξέα, βιοδιεγέρτες από μικροοργανισμούς, βιοδιεγέρτες από βιοπολυμερή, βιοδιεγέρτες από ανόργανες ενώσεις και βιοδιεγέρτες από φύκια.

Όσον αφορά τους αβιοτικούς στρεσογόνους παράγοντες, αυτοί αντιστοιχούν σε συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες, οι οποίες επιδρούν αρνητικά στην ανάπτυξη των φυτών. Οι παράγοντες αυτοί αντιστοιχούν στην έλλειψη νερού, στην υπερβολική ξηρασία, στην υψηλή αλατότητα και στις ακραίες (χαμηλές και υψηλές) καιρικές θερμοκρασίες. Τα στοιχεία αυτά εξετάζονται ως προς το φυτό μαρούλι, που ανήκει στην οικογένεια *Asteraceae* (*Compositae*). Το μαρούλι διακρίνεται στους εξής τύπους: *Cos* ή *Ρομάνα* (*Lactuca sativa var romana D.C*), *Λείο*, *Κεφαλωτό* (*Butterhead*) *Lactuca sativa var. capitata D.C*, *Κατσαρό κεφαλωτό* (*Crisphead* , *Iceberg* ή *Curly*) *Lactuca sativa var capitata D.C* , « *Χαλαρό ανοικτό φύλλωμα* » ή « *Σαλάτες* » (*Looseleaf*) *Lactuca sativa var crispa*, *Κινέζικο* (*Celtuce*) *Lactuca sativa var. Asparagina*) και το *Ινδικό* (*Lactuca indica L.*). Το φυτό αυτό έχει υψηλή θρεπτική αξία, αλλά και υψηλές απαιτήσεις όσον αφορά το καλλιεργούμενο έδαφος, τη λίπανση και την άρδυσή του, ενώ μπορεί να προσβληθεί από διάφορους βλαβερούς μικροοργανισμούς και ασθένειες.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εξεταστεί η επίδραση αλατότητας και βιοδιεγέρτη στα φυσιολογικά χαρακτηριστικά ποικιλίας μαρουλιού. Το πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε από τον Σεπτέμβριο έως τον Δεκέμβριο του 2019 και χρησιμοποιήθηκαν μαρούλια της ποικιλίας *Storfighter*. Τα φυτά καλλιεργήθηκαν σε αμφίρρικτο θερμοκήπιο πολλαπλό, καλυμμένο με υαλοπίνακες. Εγκαταστάθηκαν

τέσσερις πειραματικές επεμβάσεις (μεταχειρίσεις). Στην πρώτη (μάρτυρας) και δεύτερη μεταχείριση τα φυτά αρδεύονταν μόνο με θρεπτικό διάλυμα, ενώ στις άλλες δύο με θρεπτικό διάλυμα με την προσθήκη NaCl. Στη δεύτερη και την τέταρτη μεταχείριση τα φυτά ψεκάζονταν κάθε 15 ημέρες με διάλυμα βιοδιεγέρτη millerplex 3-3-3 (οργανικό λίπασμα με εκχύλισμα από φύκια) σε συγκέντρωση 2 ml σκευάσματος/200ml νερού.

Κατά τη διάρκεια του πειράματος προσδιορίστηκαν : α) η αγωγιμότητα στο διάλυμα απορροής β) οι συγκεντρώσεις χλωροφυλλών α,β. γ) η ολική ποσότητα φαινολικών για την οποία χρησιμοποιήσαμε τη μέθοδο (Folin Ciocalteu, FC) δ) η φυλλική επιφάνεια φύλλων ε) το νωπό και ξηρό βάρος φύλλων

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στην αρχή της καλλιεργητικής περιόδου η συγκέντρωση της φαινολικών αυξάνεται, ενώ στο τέλος της η συγκέντρωση της μειώνεται. Αυτή η μείωση πιθανότατα οφείλεται στην μετέπειτα γήρανση των φύλλων λόγω εκτεταμένης έκθεσης σε αλατότητα, ενώ η προσθήκη βιοδιεγέρτη στις μεταχειρίσεις με αυξημένη συγκέντρωση NaCl στο θρεπτικό διάλυμα άρδευσης φαίνεται ότι δεν ευνόησε ιδιαίτερα την ανάπτυξη των φυτών. Τέλος οι μετρήσεις των ανατομικών παραμέτρων: α) φυλλική επιφάνεια ανά φύλλο οι τιμές φύλλων που μετρήθηκαν τελικά ήταν στα 128,7 cm² /φύλλο στο μάρτυρα, 111,1 cm² /φύλλο σε αυτή με την αλατότητα χωρίς βιοδιεγέρτη και 110,3 cm² στη μεταχείριση με αυξημένη αλατότητα και βιοδιεγέρτη, στη μεταχείριση με το βιοδιεγέρτη 215,6 cm² , β) το νωπό και το ξηρό βάρος των φύλλων του μαρουλιού. Οι τελικές τιμές νωπού βάρους που κυμάνθηκαν από 328 g/φυτό στη μεταχείριση με τον βιοδιεγέρτη, ως 201 g/φυτό στη μεταχείριση με μεγάλη συγκέντρωση NaCl στο νερό άρδευσης.

Συμπερασματικά από την παρούσα μελέτη φάνηκε ότι η προσθήκη βιοδιεγέρτη στις μεταχειρίσεις με αυξημένη συγκέντρωση NaCl στο θρεπτικό διάλυμα άρδευσης δεν ευνόησε ιδιαίτερα την ανάπτυξη των φυτών. Ο ψεκασμός με βιοδιεγέρτη δεν φαίνεται να επηρέασε τη συγκέντρωση χλωροφυλλών στα φύλλα, ούτε το ξηρό βάρος των φυτών.

Λέξεις – κλειδιά: βιοδιεγέρτες, αβιοτικοί στρεσογόνοι παράγοντες, καλλιέργεια μαρουλιού

Abstract

Biostimulants are formulated products that improve plant productivity through the properties of the ingredients included in the formulation. The term bio-stimulant refers to any substance or micro-organism applied to plants, soil and seeds in order to enhance nutrition efficiency, tolerance to abiotic and biotic stressors and crop quality.

There are various classes of biostimulants used in the cultivation of plants, which are humic and fulvic acids, hydro lysates of proteins and amino acids, biostimulants from micro-organisms, biostimulants from biopolymers, biostimulants from inorganic compounds and biostimulants from algae.

With regard to abiotic stressors, they correspond to specific environmental conditions, which adversely affect plant growth. These factors correspond to lack of water, excessive drought, high salinity and extreme (low and high) weather temperatures. These data are examined in relation to the lettuce plant, belonging to the Asteraceae (Compositae) family. The lettuce is divided into the following types: *Lactuca sativa var romana D.C.*, (*Butterhead*) *Lactuca sativa var. capitata D.C.*, (*Crisphead*, *Iceberg* or *Curly*) *Lactuca sativa var capitata D.C.*, (*Looseleaf*) *Lactuca sativa var crispa*, (*Celtuce*) *Lactuca sativa var. Asparagina* & *Lactuca indica L.* This plant has high nutritional value, but also high requirements for cultivated soil, its fertilization and irrigation, and can be affected by various harmful micro-organisms and diseases.

The purpose of the present study was to examine the effect of salinity and bio-stimulant on the physiological characteristics of lettuce variety. The experimental part took place from September to December 2019 and used lettuce of the Storfighter variety. The plants were cultivated in a multifaceted greenhouse covered with glass panes. Four experimental procedures (treatments) were installed. In the first and second treatment the plants were irrigated with nutrient solution only, while in the other two the plants were irrigated with NaCl. In the second and fourth treatments the plants were sprayed every 15 days with a millerplex 3-3-3 bio-stimulant solution (organic fertilizer with algae extract) at a concentration of 2 ml of formulation / 200ml of water.

During the experiment the following points were determined: a) conductivity in runoff solution, b) chlorophyll concentrations a, b, c) the total amount of phenolics for which we used the method (Folin Ciocalteu, FC), d) the leaf surface and e) the wet and dry leaf weight.

The results of the experiment showed that at the beginning of the growing season the concentration of phenolics increased, while at the end of the period the concentration decreased. This decrease was probably due to the subsequent aging of the leaves due to extensive salinity exposure, while the addition of bio-stimulant to treatments with increased NaCl concentration in the irrigation solution appeared to have not particularly favored plant growth. Finally, measurements of the anatomical parameters: a) leaf area per leaf, leaf values finally measured were 128.7 cm² / leaf in the control, 111.1 cm² / leaf in it with no biostimulant salinity and 110.3 cm² in treatment (b) the fresh and dry weight of the lettuce leaves. Final fresh weight values ranged from 328 g / plant in treatment with bio-stimulant to 201 g / plant in treatment with high NaCl concentration in irrigation water.

In conclusion, the present study showed that the addition of biostimulant to treatments with increased NaCl concentration in the irrigation solution did not particularly favor plant growth. Spraying with bio-stimulator did not appear to affect the concentration of chlorophyll in the leaves or the dry weight of the plants.

Key – words: biostimulants, abiotic stressors, lettuce cultivation

Περιεχόμενα

Περίληψη	6
Abstract.....	8
Περιεχόμενα.....	10
Κατάλογος εικόνων.....	12
Κατάλογος πινάκων.....	13
Κατάλογος διαγραμμάτων	14
Εισαγωγή	15
Κεφάλαιο 1: Θεωρητικό μέρος.....	17
1.1 Η έννοια του βιοδιεγέρτη.....	17
1.1.1 Ορισμός του βιοδιεγέρτη	17
1.1.2 Διαφορές βιοδιεγερτών από τα λιπάσματα και τα φυτοπροστατευτικά	17
1.1.3 Αναθεώρηση των κανονισμών για τα λιπάσματα – χρήση βιοδιεγερτών στην Ελλάδα	19
1.1.4 Εφαρμογή βιοδιεγερτών σε καλλιέργειες	20
1.2 Κατηγορίες βιοδιεγερτών	21
1.2.1 Βιοδιεγέρτες από χουμικά και φουλβικά οξέα.....	22
1.2.2 Βιοδιεγέρτες από υδρόλυση πρωτεϊνών και αμινοξέα	23
1.2.3 Βιοδιεγέρτες από μικροοργανισμούς.....	25
1.2.4 Βιοδιεγέρτες από βιοπολυμερή	26
1.2.5 Βιοδιεγέρτες από ανόργανες ενώσεις.....	27
1.2.6 Βιοδιεγέρτες από φύκια	28
1.3 Αβιοτικοί στρεσογόνοι παράγοντες	34
1.3.1 Αλατότητα.....	37
1.3.1.1 Ορισμός αλατότητας	37
1.3.1.2 Δημιουργία υψηλής αλατότητας.....	37
1.3.1.3 Προβλήματα που δημιουργεί η υψηλή αλατότητα	38
1.3.1.4 Μηχανισμοί αντιμετώπισης.....	39
1.4.2 Έλλειψη νερού	40
1.4 Η καλλιέργεια του μαρουλιού	42
1.4.1 Ιστορικό – Καταγωγή - Εξάπλωση	42
1.4.2 Βοτανικοί- Μορφολογικοί χαρακτήρες του μαρουλιού	43
1.4.3 Θρεπτική αξία του μαρουλιού.....	44
1.4.4 Οικονομικά στοιχεία.....	44
1.4.5 Τύποι και ποικιλίες.....	45
1.4.6 Σπορά μαρουλιού	46
1.4.7 Απαιτήσεις - λίπανση.....	46

1.4.8 Άρδευση.....	48
1.4.9 Ασθένειες και εχθροί.....	49
1.4.10 Συγκομιδή.....	51
Κεφάλαιο 2: Υλικά και μέθοδοι πειραματικής διαδικασίας.....	53
2.1 Περιγραφή της πειραματικής εγκατάστασης.....	53
2.1.1 Το Θερμοκήπιο.....	53
2.2 Περιγραφή του πειράματος.....	54
2.2.1 Η καλλιέργεια.....	54
2.2.2 Σχεδιασμός του πειράματος.....	54
2.2.3 Δειγματοληψίες - αναλύσεις.....	56
2.3 Αποτελέσματα - συζήτηση.....	62
2.3.1 Ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC).....	62
2.3.2 Συγκέντρωση χλωροφύλλης.....	64
2.3.3 Ολικές φαινολικές ενώσεις - Μέθοδος Folin – Ciocalteu.....	67
2.3.4 Βλαστική ανάπτυξη φυτών.....	71
2.4 Συμπεράσματα.....	74
Βιβλιογραφία.....	75

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1: Αξία της παγκόσμιας αγοράς βιοδιεγερτών.....	21
Εικόνα 2: Πίνακας με τις επιδράσεις των βιοδιεγερτών σε φυσιολογικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά και των αναμενόμενων οφελών τους.....	22
Εικόνα 3: Αριθμός δημοσιεύσεων σχετικά με τη χρήση εκχυλισμάτων φυκιών ανά δεκαετία για τη χρονική περίοδο 1900 – 2000	28
Εικόνα 4: Ταξινόμηση φυτικών ορμονών στα καστανά φύκη	30
Εικόνα 5: Σχηματική απεικόνιση κύριων λειτουργιών των εκχυλισμάτων φυκών	31
Εικόνα 6: Πίνακας με τις επιδράσεις της εφαρμογής εκχυλισμάτων φυκιών σε διάφορες καλλιέργειες.....	33
Εικόνα 7: Ποσοστιαία σύγκριση των κυριότερων χωρών παραγωγής μαρουλιού.....	42
Εικόνα 8: Σπόρος και ρίζα μαρουλιού	44
Εικόνα 9: Κινέζικο μαρούλι	46
Εικόνα 10: Οι κυριότερες μυκητολογικές ασθένειες του μαρουλιού	50
Εικόνα 11: Εχθροί του μαρουλιού	51
Εικόνα 12: Ιώσεις μαρουλιού	51
Εικόνα 13: Συγκομιδή μαρουλιού.....	52
Εικόνα 14: Η φύτευση των σπόρων και η προετοιμασία των γλαστρών για την μεταφύτευση.....	53
Εικόνα 15: Τοποθέτηση γλαστρών σε πειραματικά κανάλια πριν και μετά την μεταφύτευση.....	54
Εικόνα 16: Βιοδιεγέρτης millerplex 3-3-3 (οργανικό λίπασμα με εκχύλισμα από φύκια).....	55

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1: Κύριες καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται βιοδιεγέρτες στην Ευρώπη. 20	
Πίνακας 2: Οι μεταχειρίσεις του πειράματος	55

Κατάλογος διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Ηλεκτρική Αγωγιμότητα (EC). Αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο διάλυμα απορροής, λόγω της συσσώρευσης του NaCl	63
Διάγραμμα 2: Ηλεκτρική Αγωγιμότητα υποστρώματος (EC). Αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο υπόστρωμα, λόγω της συσσώρευσης του NaCl	64
Διάγραμμα 3: Συγκεντρώσεις χλωροφύλλης α.β σε mg/g φύλλων	66
Διάγραμμα 4: Συνολική συγκέντρωση χλωροφύλλης σε mg/g φύλλου	67
Διάγραμμα 5: Πρότυπη καμπύλη για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών ουσιών με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu.....	68
Διάγραμμα 6: Οι ολικές φαινολικές ενώσεις σε mgGAE/ g νωπών φύλλων.....	68
Διάγραμμα 7: Εμβαδόν επιφάνειας φύλλων σε cm ²	70
Διάγραμμα 8: Νωπό βάρος υπέργειων τμημάτων φυτών μαρουλιού	71
Διάγραμμα 9: Ξηρό βάρος υπέργειων τμημάτων φυτών μαρουλιού	71

Εισαγωγή

Η αύξηση του πληθυσμού, ο γρήγορος ρυθμός βιομηχανοποίησης και οι συνεχείς καταπονήσεις του περιβάλλοντος προκάλεσαν την ανάγκη για προστασία του οικοσυστήματος, αύξηση της απόδοσης των καλλιεργειών και την κάλυψη των ανθρωπίνων αναγκών σε ότι αφορά διατροφικά θέματα. Τα παραπάνω μείζονα ζητήματα παρακίνησαν το ανθρώπινο δυναμικό του γεωργικού τομέα να εφαρμόσει νέες πρακτικές που θα αποτελέσουν μια καλή αρχή για την παραγωγή τροφίμων χωρίς περιβαλλοντικά προβλήματα και επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Για να πραγματοποιηθούν όλα τα παραπάνω ήρθαν στην επιφάνεια μία σειρά προϊόντων, οι *Βιοδιεγέρτες*. Η επίσημη παρουσίαση και προώθηση των βιοδιεγερτών έγινε στην παγκόσμια αγορά το 2012 στο Στρασβούργο όπου διεξήχθη το 1^ο Παγκόσμιο Συνέδριο για την εφαρμογή τέτοιων προϊόντων στη γεωργική παραγωγή (du Jardin, 2015).

Τα συστατικά των βιοδιεγερτών είναι ουσίες ή/και μικροοργανισμούς που όταν εφαρμοστούν σε φυτά, έδαφος, σπόρους και γεωργικά μέσα έχουν την ικανότητα να επηρεάσουν ορισμένες φυσιολογικές λειτουργίες των φυτικών οργανισμών (Calvo et al., 2014; du Jardin, 2015; Povero et al., 2016). Τα προϊόντα αυτά διεγείρουν φυσικές διεργασίες των φυτών με σκοπό την αύξηση της αποδοτικότητας των καλλιεργειών και την ενίσχυση της ποιότητάς τους (Povero et al., 2016; Van Oosten et al., 2017). Η προσθήκη των βιοδιεγερτών στα φυτά μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε στα πλαίσια του ποτίσματος των ριζών των φυτών με αρδευτικό νερό είτε ψεκάζοντας το φύλλωμά τους (Halpern et al., 2015; Povero et al., 2016; Van Oosten et al., 2017). Η επικρατέστερη εφαρμογή των βιοδιεγερτών στα φυτά είναι μέσω του ποτίσματος των ριζών τους, έτσι ώστε να γίνει άριστη αξιοποίηση των ουσιών και/ή των μικροοργανισμών που περιέχει μέσω του ριζικού συστήματος των φυτών (Van Oosten et al., 2017).

Οι βιοδιεγέρτες χρησιμοποιούνται για να ενισχύσουν την άμυνα των φυτών, για να βελτιώσουν την εδαφική δομή και για να προωθήσουν την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτικών οργανισμών. Συγκεκριμένα, αυξάνεται η πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και διευκολύνεται η χρήση τους από τα φυτά και έτσι ενισχύεται η ανοχή τους σε βιολογικές (μύκητες, βακτήρια, έντομα) και αβιοτικές (ξηρασία, αλατότητα, μη ευνοϊκές θερμοκρασίες, οξειδωτικό στρες) καταπονήσεις (du Jardin, 2015, Povero et

al., 2016, Van Oosten et al., 2017). Ακόμη, οι βιοδιεγερτικές ουσίες σχετίζονται με την βελτίωση κάποιων φυσικοχημικών ιδιοτήτων του εδάφους λόγω ανάπτυξης μικροβιακής δραστηριότητας και ανάπτυξης συμπληρωματικών μικροοργανισμών (Calvo et al., 2014). Τέλος, η χρήση τέτοιων προϊόντων επιφέρει μεγαλύτερη και ποιοτικότερη παραγωγή (du Jardin, 2015; Van Oosten et al., 2017).

Η δομή της τρέχουσας πτυχιακής εργασίας είναι συγκεκριμένη και συνίσταται στα εξής σημεία:

- Θεωρητικό μέρος της εργασίας, το οποίο εμπεριέχει τον ορισμό της έννοιας του βιοδιεγέρτη, τον τρόπο με τον οποίο αυτός επιδρά στην ανάπτυξη των φυτών, τις κατηγορίες στις οποίες ταξινομείται, καθώς επίσης και την παρουσίαση των διαφορών του από τα λιπάσματα και τα φυτοπροστατευτικά.
- Ερευνητικό μέρος της εργασίας, στο οποίο περιγράφεται η διαδικασία ανάπτυξης φυτών μαρουλιού με τη χρήση βιοδιεγέρτη (σε μορφή εκχυλίσματος φυκιών), στα πλαίσια πειραματικής δοκιμής
- Καταγραφή και ανάλυση των αποτελεσμάτων και συμπερασμάτων που προκύπτουν από την πειραματική ανάπτυξη των φυτών μαρουλιού με τη χρήση βιοδιεγέρτη

Κεφάλαιο 1: Θεωρητικό μέρος

1.1 Η έννοια του βιοδιεγέρτη

1.1.1 Ορισμός του βιοδιεγέρτη

Ο όρος «Βιοδιεγέρτες» δόθηκε από τους Zhang και Schmidt στο Κρατικό Πανεπιστήμιο της Βιρτζίνια το 1997 και αναφερόταν στις «ουσίες που εφαρμόζονται σε μικρές ποσότητες στα φυτά και μπορούν να βοηθήσουν στην ανάπτυξη τους» (du Jardin, 2015). Σήμερα οι βιοδιεγέρτες φυτών, σύμφωνα με το Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Βιομηχανίας Βιοδιεγερτών, είναι οποιαδήποτε ουσία ή μικροοργανισμός που όταν εφαρμόζεται σε φυτό, σπόρο, έδαφος ή θρεπτικό υπόστρωμα και σε συνδυασμό με το πρόγραμμα θρέψης βελτιώνουν την ανάπτυξη των φυτών, ενισχύουν την ποιότητα παραγωγής, βελτιστοποιούν τη διατροφική αποτελεσματικότητα, την ανοχή στο αβιοτικό και βιοτικό στρες (π.χ. αλατότητα, ξηρασία) και ενισχύουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καλλιεργειών φυτών (E.B.I.C 2011).

Οι βιοδιεγέρτες είναι φυσικές οργανικές ουσίες ή εκχυλίσματα με ποικιλία συστατικών τα οποία έχουν πολλαπλές και σύνθετες δράσεις. Οι βιοδιεγέρτες δεν έχουν άμεση δράση κατά των παρασίτων και συνεπώς δεν εμπίπτουν στο ρυθμιστικό πλαίσιο των φυτοφαρμάκων, ούτε και των λιπασμάτων που περιέχουν κάποια συγκεκριμένα ανόργανα θρεπτικά στοιχεία. (du Jardin, 2015).

Η κύρια δράση των βιοδιεγερτών είναι υποστηρικτική, συγκεκριμένα οι βιοδιεγέρτες βελτιώνουν την γονιμότητα του εδάφους και την ικανότητα των φυτών για υγιή ανάπτυξη. Επιπλέον, διεγείρουν και ενισχύουν τις φυσικές διεργασίες σε έδαφος και φυτά, την αντοχή στις αντίξοες συνθήκες και τον ανταγωνισμό, καθώς επίσης και την φωτοσυνθετική δράση (Sharma et al., 2014).

1.1.2 Διαφορές βιοδιεγερτών από τα λιπάσματα και τα φυτοπροστατευτικά

Η λέξη βιοδιεγέρτες επινοήθηκε από τους ειδικούς καλλιεργητές δενδροκοιτητικών για την περιγραφή ουσιών που προωθούν την ανάπτυξη των φυτών χωρίς να είναι θρεπτικές ουσίες, βελτιωτικά εδάφους ή φυτοφάρμακα (du Jardin, 2015). Οι βιοδιεγέρτες αποτελούν μία ξεχωριστή κατηγορία προϊόντων και

έχουν διαφορετικούς μηχανισμούς και τρόπους δράσης από τα λιπάσματα και τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα (Calvo et al., 2014; du Jardin, 2015). Παρακάτω, θα παρατεθούν αναλυτικά οι ορισμοί, έτσι ώστε να γίνει αντιληπτή η διαφορά μεταξύ τους.

Με τον γενικό όρο λίπασμα, αναφέρεται οποιαδήποτε ουσία, φυσική ή τεχνητά παρασκευασμένη που χρησιμοποιείται στην γεωργία για την βελτίωση της ανάπτυξης και την παραγωγικότητα των φυτών αλλά και τον εμπλουτισμό του εδάφους με θρεπτικά συστατικά. Τα λιπάσματα, ανάλογα με την προέλευσή τους, διακρίνονται σε οργανικά και ανόργανα. Τα οργανικά λιπάσματα προκύπτουν από την αποσύνθεση οργανικών υλικών φυτικής ή ζωικής προέλευσης και χρησιμοποιούνται για να εμπλουτίσουν το έδαφος με οργανική ουσία. Τα ανόργανα λιπάσματα είναι χημικές ενώσεις που παρασκευάζονται εργαστηριακά και συνήθως εφοδιάζουν το έδαφος με άζωτο (N), φώσφορο (P), κάλιο (K) και σπανιότερα μαγνήσιο (Mg) (Τσιτσιάς, 1997).

Φυτοπροστατευτικό προϊόν ονομάζεται κάθε χημική ουσία (ή μίγμα ουσιών) που χρησιμοποιείται στη γεωργία για την προστασία των φυτών έναντι εντομολογικών εχθρών, ασθενειών (μυκητολογικές, βακτηριολογικές), ζιζανίων ή έχει την ικανότητα να επιδρά στη βλαστική ικανότητα των φυτικών οργανισμών. Η οδηγία 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 15ης Ιουλίου 1991 σχετικά με την διάθεση στην αγορά φυτοπροστατευτικών προϊόντων, απαιτεί ότι τα κράτη μέλη δεν πρέπει να εγκρίνουν ένα φυτοπροστατευτικό προϊόν παρά μόνο εφόσον πληρούνται ορισμένες ειδικές απαιτήσεις, και ιδίως ότι το φυτοπροστατευτικό προϊόν δεν μπορεί να είναι επιβλαβές για τα υπόγεια ύδατα και για το πόσιμο νερό. Ονομάζονται αλλιώς γεωργικά φάρμακα ή φυτοφάρμακα και διακρίνονται σε έξι κύριες κατηγορίες: παρασιτοκτόνα, εντομοελκυστικά, εντομοαπωθητικά, ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων, φυτορυθμιστικές ουσίες και μικροβιολογικά σκευάσματα (Δημόπουλος, 1998).

Οι βιοδιεγέρτες προορίζονται για να επηρεάσουν φυσικές διεργασίες των φυτών ανεξάρτητα από το περιεχόμενό τους σε θρεπτικά συστατικά, καθώς περιέχουν ουσίες ευεργετικές για τα φυτά χωρίς να είναι θρεπτικά συστατικά, παρασιτοκτόνα ή βελτιωτικά εδάφους, σε αντίθεση με τα λιπάσματα και τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα (du Jardin, 2015). Οι βιοδιεγερτικές ουσίες είναι διαθέσιμες σε μια ποικιλία συνθέσεων με διάφορα συστατικά, αλλά γενικά ταξινομούνται σε τρεις μεγάλες

ομάδες με βάση την πηγή και το περιεχόμενο τους. Στις ομάδες αυτές περιλαμβάνονται οι χουμικές ουσίες (HS), τα προϊόντα που περιέχουν ορμόνες (HCP) και τα προϊόντα που περιέχουν αμινοξέα (AACP). Οι χουμικές ουσίες (HS) προέρχονται ως επί το πλείστον από την αποσύνθεση οργανικών αποβλήτων, ως αποτέλεσμα των δραστηριοτήτων των γαιοσκωλήκων και από ορυκτά πετρώματα. Αντίστοιχα, τα προϊόντα που περιέχουν αμινοξέα (AACP) προέρχονται από ζωικά και φυτικά παράγωγα και απόβλητα (Παυλάκη, 2018). Τα HCP, όπως τα εκχυλίσματα φυκιών, περιέχουν προσδιορισμένες ποσότητες δραστικών ουσιών ανάπτυξης φυτών, όπως αυξίνες, κυτοκινίνες ή παράγωγά τους (du Jardin, 2015).

Από την αναφορά των παραπάνω προκύπτει ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους βιοδιεγέρτες και τα λιπάσματα και φυτοπροστατευτικά. Η κύρια διαφορά τους έγκειται στο γεγονός ότι οι λειτουργίες που επηρεάζονται με τη χρήση βιοδιεγερτικών ουσιών προωθούνται με άλλα μέσα και όχι με την παροχή θρεπτικών ουσιών ή/και την προστασία των φυτών από επιβλαβείς οργανισμούς (Calvo et al., 2014).

1.1.3 Αναθεώρηση των κανονισμών για τα λιπάσματα – χρήση βιοδιεγερτών στην Ελλάδα

Η Ευρωπαϊκή Ένωση αναθεώρησε τους κανονισμούς για τα λιπάσματα, σε μία προσπάθεια να βοηθήσει τη γεωργία να κάνει στροφή προς την βιώσιμη οικονομία ανοίγοντας την πόρτα για τα «λιπασματικά προϊόντα», συμπεριλαμβανομένων και των φυτικών βιοδιεγερτών. Συγκεκριμένα προσπαθεί να δημιουργήσει νέες ευκαιρίες στην αγορά για τις καινοτόμες επιχειρήσεις, ενώ ταυτόχρονα να μειώσει τα απόβλητα, την κατανάλωση ενέργειας και την περιβαλλοντική επιβάρυνση συνολικά που προκαλείται».

Σύμφωνα με τη Βιομηχανία Φυτικών Βιοδιεγερτών (EBIC), οι χώρες της περιοχής της Μεσογείου -όπως η Ιταλία, η Ισπανία και η Γαλλία- σήμερα ηγούνται στην αγορά για την παραγωγή φυτικών βιοδιεγερτών και τη χρήση σε επίπεδο Ε.Ε.

Στην Ελλάδα οι βιοδιεγέρτες έχουν εισαχθεί στην γεωργική παραγωγή ως ένα καινοτόμο προϊόν που φέρει θετικά ποσοτικά και ποιοτικά αποτελέσματα, με τη χρήση τους να έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια. Στην ελληνική αγορά διατίθενται αρκετά βιοδιεγερτικά προϊόντα, τα περισσότερα όμως από αυτά

χρησιμοποιούνται και κατατάσσονται ως λιπάσματα-προϊόντα θρέψης ή/και ως βοηθητικές ουσίες λιπασμάτων. Είναι γεγονός πως κυκλοφορούν αρκετά προϊόντα αλλά και πολλά σκευάσματα, που ενώ θα μπορούσαν να συγκαταλέγονται στους βιοδιεγέρτες, κατατάσσονται σε άλλες κατηγορίες προϊόντων. Ακόμη, υπάρχουν προϊόντα και σκευάσματα, που χαρακτηρίζονται ως βιοδιεγέρτες, τα οποία αναφέρουν ελλειπίς ή ούτε καν τις στοιχειώδεις πληροφορίες αναφορικά με το περιεχόμενο και τον τρόπο δράσης τους. Ολοκληρώνοντας την ανάλυση λοιπόν, οι κύριες κατηγορίες βιοδιεγερτών που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι οι εξής: 1) Από εκχυλίσματα φυκιών, 2) Από μικρόβια και 3) Από πρωτεΐνες και αμινοξέα (Παυλάκη, 2018).

1.1.4 Εφαρμογή βιοδιεγερτών σε καλλιέργειες

Οι βιοδιεγέρτες στη σημερινή εποχή χρησιμοποιούνται σε μία πληθώρα καλλιεργειών, αφού έχουν πείσει έμπρακτα τους αγρότες για την χρησιμότητά τους. Οι κυριότερες καλλιέργειες, στις οποίες χρησιμοποιούνται βιοδιεγέρτες, είναι οι δενδρώδεις (πχ εσπεριδοειδή, μηλοειδή, ελιές, αμπέλια), οι αροτραίες (πχ σιτηρά, ρύζι, ελαιοκράμβη, ζαχαρότευτλα), λαχανοκομικές (πχ ντομάτα, μαρούλι, αγγούρι κα) και καλλωπιστικές (πχ χλοοτάπητες) (du Jardin, 2015). Οι πληροφορίες αυτές αποτυπώνονται και παραστατικά στον πίνακα που ακολουθεί.

Δενδρώδεις καλλιέργειες και αμπέλια	Αροτραίες καλλιέργειες	Λαχανοκομικές καλλιέργειες		Άλλες καλλιέργειες
Εσπεριδοειδή	Κριθάρι	Μπρόκολο	Κρεμμύδι	Καλλωπιστικά φυτά
Ροδιές	Αραβόσιτος	Λάχανο	Πιπεριά	Φυτόρια
Σταφύλια (επιτραπέζια)	Ρύζι	Καρότο	Τομάτα	Χλοοτάπητας
Σταφύλια (οινοποιήσιμα)	Σιτάρι	Κουνουπίδι	Μαρούλι	
	Ελαιοκράμβη	Αγγούρι	Φράουλα	
	Ζαχαρότευτλο	Μελιτζάνα	Πεπόνι	
		Σκόρδο	Καρπούζι	

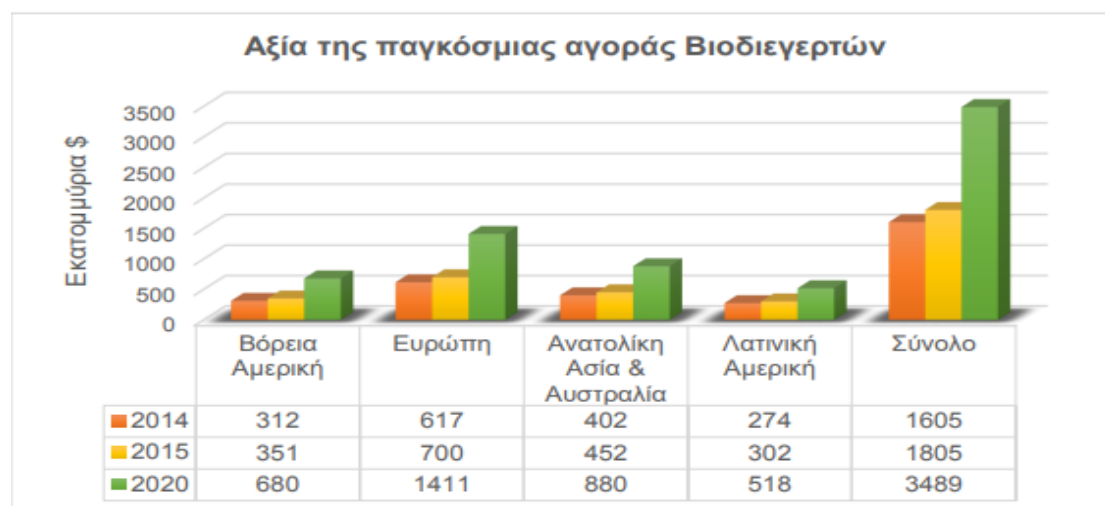
Πίνακας 1: Κύριες καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται βιοδιεγέρτες στην Ευρώπη (du Jardin, 2015)

1.2 Κατηγορίες βιοδιεγερτών

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η κατηγοριοποίηση των βιοδιεγερτών, καθώς βοηθάει στην καλύτερη μελέτη και ανάλυσή τους. Η συνηθέστερη κατηγοριοποίησή τους προκύπτει με βάση τις πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για αυτούς και είναι η εξής (du Jardin, 2015):

- Βιοδιεγέρτες από χουμικά και φουλβικά οξέα
- Βιοδιεγέρτες από υδρόλυση πρωτεϊνών και αμινοξέα
- Βιοδιεγέρτες από μικροοργανισμούς
- Βιοδιεγέρτες από βιοπολυμερή
- Βιοδιεγέρτες από ανόργανες ενώσεις
- Βιοδιεγέρτες από φύκια

Η σημασία των βιοδιεγερτών αντανακλά και στο οικονομικό επίπεδο, καθώς τα τελευταία χρόνια διαπιστώνονται σημαντικοί ρυθμοί αύξησης στη συγκεκριμένη αγορά. Η αύξηση αυτή αντιστοιχεί σε παγκόσμιο επίπεδο και χαρακτηριστικά αξίζει να αναφερθεί ότι το 2015 η αξία της αγοράς βιοδιεγερτών ανερχόταν λίγο πάνω από 1,8 δις δολάρια, ενώ για το 2020 προβλέπεται η αξία της συγκεκριμένης αγοράς να διαμορφώνεται σχεδόν στα 3,5 δις δολάρια. Η διαπίστωση αυτή απεικονίζεται και στην παρακάτω εικόνα ως εξής (Κουτσούγερας, 2019).



Εικόνα 1: Αξία της παγκόσμιας αγοράς βιοδιεγερτών

Συνοπτικά οι θετικές επιδράσεις των βιοδιεγερτών απεικονίζονται στον παρακάτω πίνακα (Κουτσούγερας, 2019; du Jardin, 2015).

	Χουμικά οξέα	Εκχυλίσματα φυκών	Προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και αμινοξέα	Γλυκίνες / Βεταΐνες	Μικροοργανισμοί (Ριζοβακτήρια)
Επίδραση σε κυτταρικό επίπεδο	Ενεργοποίηση ATPαίων άντλησης πρωτονίων στην πλασματική μεμβράνη, επάγοντας την κυτταρική μεγέθυνση ριζικών κυττάρων (<i>Zea mays</i>) (Jindo et. al., 2012)	<i>Ascorhylum nodosum</i> προάγει την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων συμβάλλοντας στην αφομοίωση ιχνοστοιχείων (<i>Brassica napus</i>) (Billard et. al., 2014)	Το ενζυμικό υδρόλυμα πρωτεϊνών από <i>Medicago sativa</i> διεγείρει το ένζυμο PAL, την έκφραση γονιδίων και την παραγωγή φλαβονοειδών υπό συνθήκες stress αλατότητας (Ertani et. al., (2013)	Προστασία φωτοσυστήματος II, από την επίδραση αλατότητας στην κινόα. (Shabala et. al., 2012)	Ενεργοποίηση φυτικών ορμονών - αυξινών από το <i>Azospirillum brasilense</i> . Επίδραση στο μήκος της ρίζας του <i>Triticum Aestivum</i> (Dobbelaere et. al., 1999)
Επίδραση σε φυσιολογικές δραστηριότητες	Αυξημένη ριζική ανάπτυξη	Αύξηση συγκεντρώσεων ιχνοστοιχείων στους ιστούς	Προστασία φλαβονοειδών έναντι ακτινοβολίας UV και οξειδωτικών διεργασιών	Μείωση γήρανσης των φύλλων και αυξημένη φωτοσυνθετική δραστηριότητα σε συνθήκες αυξημένης αλατότητας	Αύξηση ριζικών τριχιδίων και ριζικής πλευρικής πυκνότητας
Αποτελέσματα στη γεωργική πράξη	Βελτίωση αποτελεσματικότητας θρεπτικών ουσιών	Βελτιωμένη σύνθεση ιχνοστοιχείων στους φυτικούς ιστούς	Αυξημένη ανθεκτικότητα κάτω από συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων	Αύξηση ανθεκτικότητας κάτω από συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων	Βελτίωση αποτελεσματικότητας θρεπτικών ουσιών
Οικονομικά και περιβαλλοντικά οφέλη	Αύξηση απόδοσης καλλιέργειας, μείωση εισροών και απωλειών στο περιβάλλον	Ενισχυμένη θρεπτική αξία φυτικών ιστών (αυξημένη περιεκτικότητα σε S, Fe, Zn, Mg, Cu)	Υψηλότερη απόδοση κάτω από συνθήκες αβιοτικού stress	Αύξηση της καλλιεργητικής απόδοσης σε συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων	Υψηλότερη απόδοση, μείωση εισροών και απωλειών στο περιβάλλον

Εικόνα 2: Πίνακας με τις επιδράσεις των βιοδιεγερτών σε φυσιολογικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά και των αναμενόμενων οφελών τους

Παρακάτω αναλύονται πιο λεπτομερώς οι συγκεκριμένες κατηγορίες των βιοδιεγερτών.

1.2.1 Βιοδιεγέρτες από χουμικά και φουλβικά οξέα

Οι χουμικές ουσίες αποτελούν εδαφικές οργανικές ουσίες, οι οποίες προκύπτουν έπειτα από την αποσύνθεση ζωικών, φυτικών και μικροβιακών καταλοίπων, καθώς

επίσης και από τη μεταβολική δραστηριότητα των μικροβίων του εδάφους. Η βασική διαδικασία για να προκύψουν τα χουμικά και φουλβικά οξέα είναι η κλασμάτωση, μέσω της οποίας διαχωρίζονται τα συστατικά των χουμικών ουσιών, ανάλογα με τις διαφορές που έχουν στο μοριακό τους βάρος, τη διαλυτότητα, την οξύτητα και τη χημική τους σύσταση (Calvo et al., 2014).

Η εφαρμογή των χουμικών και φουλβικών οξέων επιδρά θετικά στο έδαφος που καλλιεργούνται τα φυτά. Οι θετικές επιδράσεις τους είναι οι εξής (Canellas et al., 2015):

- Προκαλούν ανάπτυξη του ριζικού συστήματος των φυτών
- Αυξάνουν την διαθεσιμότητα των θρεπτικών ουσιών
- Ανακουφίζουν τα φυτά σε δυσμενείς καταστάσεις αβιοτικού στρες (πχ αλατότητα)
- Ενισχύουν τη φωτοσυνθετική ικανότητα των φυτών,
- Βελτιώνουν τις φυσικές και χημικές ιδιότητες των εδαφών

Οι συγκεκριμένοι βιοδιεγέρτες χρησιμοποιούνται με ιδιαίτερη επιτυχία σε διάφορες καλλιέργειες, όπως πχ τα σιτηρά, το ρύζι, το καλαμπόκι, και λαχανικά όπως η ντομάτα, η πιπεριά, τα φασόλια και η πατάτα. Παράλληλα η χρήση τους είναι ευεργετική και σε δενδροκομικές καλλιέργειες ή ακόμη και σε καλλωπιστικά φυτά, όπως π.χ. η λεμονιά, η φιστικιά, το αμπέλι, το χρυσάνθεμο και ο βασιλικός. Επομένως προκύπτει η σημαντική διαπίστωση για τους βιοδιεγέρτες από χουμικά και φουλβικά οξέα ότι είναι κατάλληλοι για ένα ευρύ πεδίο φυτών και καλλιεργειών (Παυλάκη, 2018).

1.2.2 Βιοδιεγέρτες από υδρόλυση πρωτεϊνών και αμινοξέα

Οι βιοδιεγέρτες, που προκύπτουν από πρωτεΐνες, κατηγοριοποιούνται σε βιοδιεγέρτες υδρόλυσης πρωτεϊνών και βιοδιεγέρτες από αμινοξέα. Οι βιοδιεγέρτες υδρόλυσης πρωτεϊνών, εμπεριέχουν μείγμα ουσιών κυρίως από πεπτίδια αλλά και αμινοξέα, τα οποία προκύπτουν μέσω της διαδικασίας της υδρόλυσης διάφορων φυτικών και ζωικών παραγώγων – υπολειμμάτων. Συγκεκριμένα, το συντριπτικά μεγαλύτερο ποσοστό των παραγώγων αυτών είναι ζωικής προέλευσης (ποσοστό άνω του 90%) και αντιστοιχεί ως επί το πλείστον σε δέρμα και φτερά ζώων και λιγότερο σε αίμα και σπλάγχνα ζώων. Αντίστοιχα, το υπολειπόμενο ποσοστό των φυτικών

παραγώγων αντιστοιχεί σε σπόρους, άλλα μέρη των φυτών και υπολείμματα από διάφορες καλλιέργειες. Επίσης, οι βιοδιεγέρτες αυτοί εμπεριέχουν και άλλες οργανικές ουσίες, όπως π.χ. λίπη, φαινόλες και υδατάνθρακες.

Από την άλλη πλευρά, οι βιοδιεγέρτες από αμινοξέα, εμπεριέχουν μίγμα ουσιών κυρίως με βάση τα αμινοξέα και λιγότερο τα πεπτίδια, με τα πιο συνήθη αμινοξέα να είναι η γλουταμίνη, η αργιλίνη, η γλυκίνη και η προλίνη. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη συγκεκριμένη κατηγορία βιοδιεγερτών παρουσιάζει η διαδικασία της υδρόλυσης, η οποία πραγματοποιείται με τρεις διαφορετικούς τρόπους. Οι τρόποι αυτοί αντιστοιχούν στη χημική υδρόλυση (μέσω χρήσης είτε διαφόρων οξέων είτε αλκαλικών ενώσεων), στην ενζυματική υδρόλυση (μέσω χρήσης ζωικών & φυτικών ενζύμων είτε μικροοργανισμών) και στη θερμική υδρόλυση (μέσω ανάπτυξης υψηλών θερμοκρασιών στα φυτικά και ζωικά παράγωγα), με την πιο συνηθισμένη επιλογή να είναι συνδυασμός χημικής και ενζυματικής υδρόλυσης (Παυλάκη, 2018).

Ολοκληρώνοντας την ανάλυση στη συγκεκριμένη κατηγορία βιοδιεγερτών, προκύπτει ότι η χρήση τους επιφέρει μια σειρά από θετικές επιδράσεις στην ανάπτυξη των φυτών, με κάποιες από τις κυριότερες να είναι οι εξής (Παυλάκη, 2018):

- Ενίσχυση της ανάπτυξης των ριζών και της γονιμότητας του εδάφους
- Ενίσχυση της διαδικασίας αφομοίωσης θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά, όπως π.χ. ο σίδηρος, το μαγγάνιο, ο ψευδάργυρος και ο χαλκός
- Επιφέρουν την έκφραση γονιδίων στα φυτά, τα οποία έχουν σχέση με την ανθεκτικότητα των φυτών σε βιοτικές καταπονήσεις (πχ εξαιτίας προσβολής από μύκητες) και αβιοτικές καταπονήσεις (έκθεση σε συνθήκες αυξημένης αλατότητας, ακραίων θερμοκρασιών, ξηρασίας κα)
- Αύξηση της ανθεκτικότητας των φυτών στα βαρέα μέταλλα

Οι συγκεκριμένοι βιοδιεγέρτες έχουν χρησιμοποιηθεί σε καλλιέργειες της μπανάνας, της παπάγιας και του λωτού και λαχανικών όπως η ντομάτα, η πιπεριά, το μπιζέλι και το μαρούλι. Βέβαια, πρέπει να επισημανθεί ότι παρόλη τη θετική επίδραση των βιοδιεγερτών αυτών, κατά καιρούς έχουν ανακύψει διάφορες ανησυχίες και προβληματισμοί σχετικά με την εμφάνιση τοξικότητας κατά την εφαρμογή τους στις καλλιέργειες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι τα φυτά ντομάτας, στα οποία διαπιστώθηκε αναστολή της ανάπτυξής τους εξαιτίας του ψεκάσματος των φύλλων

τους με βιοδιεγέρτη που περιείχε αμινοξύ φυτικής προέλευσης. Αντίστοιχα, όσον αφορά τα αμινοξέα, που προέρχονται από ζωικά υποπροϊόντα, η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει απαγορεύσει τη χρήση τους στα μέρη των φυτών βιολογικών καλλιεργειών, τα οποία τρώγονται, σύμφωνα με το Ν. 354/2014 (Colla et al., 2014).

1.2.3 Βιοδιεγέρτες από μικροοργανισμούς

Οι βιοδιεγέρτες από μικροοργανισμούς προκύπτουν μέσω εφαρμογής μικροβιακών εμβολίων, τα οποία περιέχουν βακτήρια ή μύκητες. Η χρήση των βιοδιεγερτών αυτών αντιστοιχεί στην τάση για εφαρμογή μεθόδων καλλιέργειας, οι οποίες προάγουν τη βιώσιμη γεωργική παραγωγή, περιορίζοντας τη χρήση χημικών λιπασμάτων και ορμονών. Οι μικροοργανισμοί αυτοί λαμβάνονται από το νερό, το έδαφος, τους ιστούς των φυτών και τα απόβλητα των ζώων (πχ κοπριά) και επιδρούν θετικά στην ανάπτυξη των φυτών, καθώς συμβάλλουν στην παραγωγή οργανικών οξέων και άλλων πτητικών ενώσεων, οι οποίες σχετίζονται με τη διαλυτοποίηση και απορρόφηση διάφορων θρεπτικών ουσιών, όπως το άζωτο. Οι χρησιμοποιούμενοι μικροοργανισμοί ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών καθώς μεταφέρουν στις ρίζες των φυτών θρεπτικά συστατικά, και επίσης απελευθερώνουν οργανικά οξέα, τα οποία καθιστούν πιο γόνιμο το έδαφος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι τα βακτήρια *Bacillus licheniformis* και *Bacillus amyloliquefaciens*, τα οποία παράγουν οργανικά οξέα όπως το γαλακτικό οξύ, το οξικό οξύ και το ισοβουτυρικό οξύ (Calvo et al., 2014).

Υπάρχουν διάφορα βακτήρια και μύκητες, που χρησιμοποιούνται ως βιοδιεγέρτες με θετικά αποτελέσματα στην ανάπτυξη των φυτών. Τα πιο συνηθισμένα βακτήρια αντιστοιχούν στα γένη *Azoarcus spp.*, *Azotobacter spp.*, *Bacillus spp.*, *Pantoea spp.*, *Burkholderia spp.*, *Beijerinckia spp.*, *Herbaspirillum spp.* και *Glyconoacebacter spp.*, και συμβάλλουν στη σταθεροποίηση του αζώτου, ώστε να είναι αυτό πιο εύκολα διαθέσιμο στα φυτά. Επίσης, υπάρχουν τα βακτηριακά γένη *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Enterbacter*, *Citrobacter* και *Serratia*, τα οποία διευκολύνουν τη διάθεση θρεπτικών στοιχείων στα φυτά, όπως το κάλιο, ο χαλκός, το μαγγάνιο, το ασβέστιο, το μαγνήσιο και το θείο. Τέλος άξια αναφοράς είναι και τα βακτηριακά γένη *Azospirillum brasilense* και *Bacillus licheniformis*, τα οποία παράγουν φυτικές ορμόνες, όπως το IAA (Παυλάκη, 2018).

Αντίστοιχα, όσον αφορά τους μύκητες, οι συνηθέστεροι που χρησιμοποιούνται, αντιστοιχούν στα γένη *Trichoderma spp.* και *Glomus spp.*, και ειδικότερα στα είδη *T. harzianum*, *T. viride* και *G. innaradices*, συμβάλλοντας στην αντιμετώπιση διάφορων ασθενειών, από τις οποίες προσβάλλονται τα φυτά. Επιπρόσθετα, η συγκεκριμένη κατηγορία βιοδιεγερτών μπορεί να εμπεριέχει γένη μυκήτων όπως τα *Neotyphodium spp.*, *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Cucularia spp.* και *Colletotrichum spp.*, τα οποία, εφαρμοζόμενα σε φυτά όπως η ντομάτα, η πιπεριά, το σιτάρι και το κριθάρι, συμβάλλουν στην ενίσχυση της ανθεκτικότητάς τους σε συνθήκες ξηρασίας (Calvo et al., 2014). Τέλος το γένος του μύκητα *Trichoderma* και συγκεκριμένα τα είδη *T. reesei*, *T. subeffusum*, *T. luteffusum*, *T. atrovide*, *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. polysporum*, *T. sulphurea* και *T. phellinicola* καθιστούν τα φυτά πιο ανθεκτικά σε συνθήκες ξηρασίας, αλατότητας και ακραίων θερμοκρασιών, ενισχύουν τη λειτουργία των ριζών και τη δραστηριότητα της φωτοσύνθεσης που επιτελούν. Ως εκ τούτου, ο μύκητας *Trichoderma* χρησιμοποιείται σε διάφορες καλλιέργειες, ανάμεσα στις οποίες είναι το αγγούρι, το μαρούλι, το χρυσάνθεμο και το φραγκοστάφυλο (Lopez – Bucio et al., 2015).

1.2.4 Βιοδιεγέρτες από βιοπολυμερή

Στην κατηγορία αυτή εξετάζεται η χρήση της ουσίας χιτοζάνης ως βιοδιεγέρτης φυτών. Η χιτοζάνη αποτελεί μια ουσία, που εντάσσεται στην κατηγορία των οργανικών πολυσακχαριτών, και προέρχεται από τη χιτίνη. Η χιτίνη αποτελεί ουσία, η οποία συναντάται στον εξωσκελετό των καρκινοειδών της θάλασσας και των εντόμων και σε κυτταρικά τοιχώματα διάφορων μυκήτων, και ο μετασχηματισμός της σε χιτοζάνη προκύπτει είτε από επεξεργασία της με υδροξείδιο του νατρίου, είτε από επίδραση διάφορων μικροοργανισμών.

Η χιτοζάνη έχει διάφορες θετικές επιδράσεις στην ανάπτυξη των φυτών, οι οποίες όμως καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από παράγοντες όπως ο βαθμός συγκέντρωσής της, το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, οι κλιματολογικές συνθήκες και η οξύτητα του εδάφους. Κάποιες από τις επιδράσεις αυτές είναι οι εξής:

- Βελτίωση της ικανότητας φωτοσύνθεσης των φυτών (Du Jardin, 2015)
- Ενίσχυση της ανθεκτικότητας των φυτών σε αβιοτικές καταπονήσεις (Du Jardin, 2015)

- Αντοχή σε προσβολές από διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως πχ οι *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Staphylococcus aureus* και *Phytophthora capsici* (El Hadrami et al., 2010).

Οι βιοδιεγέρτες με χιτοζάνη έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορες καλλιέργειες. Ενδεικτικά αναφέρονται η ντομάτα, το καλαμπόκι, ο βασιλικός, η παπάγια, η μουσμουλιά, η βερικοκιά και ο καπνός.

1.2.5 Βιοδιεγέρτες από ανόργανες ενώσεις

Οι ανόργανες ενώσεις, οι οποίες αναφέρονται παρακάτω, αντιστοιχούν ως επί το πλείστον στα λιπάσματα, ωστόσο η αναφορά τους και για τους βιοδιεγέρτες έγκειται στο γεγονός ότι πολλά βιοδιεγερτικά σκευάσματα εμπεριέχουν τις ενώσεις αυτές. Υπάρχουν συγκεκριμένα ανόργανα στοιχεία, τα οποία είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των φυτών όπως το φώσφορο, το κάλιο, το άζωτο, το υδρογόνο, το οξυγόνο, ο άνθρακας, το ασβέστιο, το μαγνήσιο, το μαγγάνιο, ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός, το χλώριο, το βόριο και το μολυβδαίνιο. Ο βαθμός αφομοίωσής τους από τα φυτά εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, οι οποίοι είναι οι εξής (Παναγιωτόπουλος, 2010):

- Το (πρωταρχικό) μητρικό υλικό
- Η οξύτητα του εδάφους
- Οι χημικές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται
- Το επίπεδο οργανικών ουσιών στο έδαφος

Επιπρόσθετα, υπάρχουν ανόργανα στοιχεία, τα οποία είναι απαραίτητα για συγκεκριμένα είδη φυτών. Τα στοιχεία αυτά είναι το νάτριο, το αλουμίνιο, το σελήνιο, το πυρίτιο και το κοβάλτιο, όμως εμπεριέχονται συνήθως σε σκευάσματα βιοδιεγερτών. Συγκεκριμένα, το νάτριο είναι απαραίτητο για τα φυτά σπανάκι, σέλινο, λάχανο, ραπανάκι, ζαχαρότευτλο, σινάπι, καθώς και για τα αλόφυτα. Το αλουμίνιο καθίσταται χρήσιμο σε φυτά ανάλογα την περιεκτικότητα του εδάφους των φυτών σε άργιλο (η οποία δεν πρέπει να υπερβαίνει το ποσοστό 60% στο διάλυμα του εδάφους, καθώς επιδρά αρνητικά στην ανάπτυξη των φυτών) (Calvo et al., 2014). Το σελήνιο χρειάζεται σε φυτά όπως το κρεμμύδι, το λάχανο, το σινάπι και τα σταυρανθή. Το πυρίτιο χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον σε καλλιέργειες φρούτων

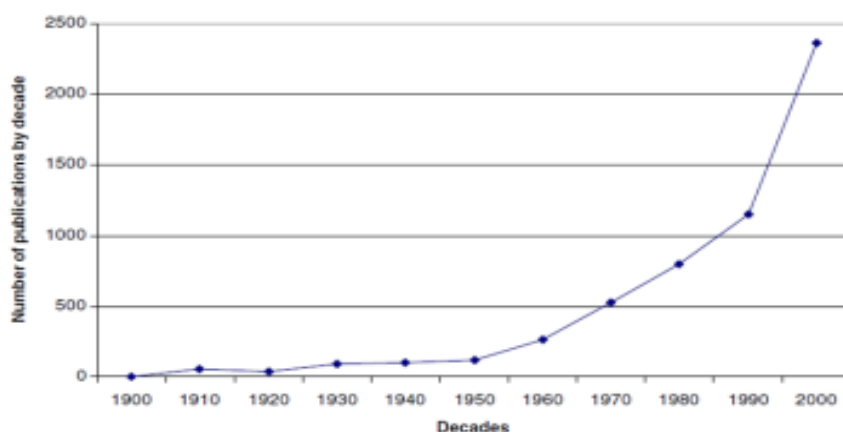
και λαχανικών, ενώ τέλος το κοβάλτιο χρησιμοποιείται από τα φυτά σινάπι, βαμβάκι και φασολιά (Παυλάκη, 2018).

1.2.6 Βιοδιεγέρτες από φύκια

Η χρήση των θαλάσσιων φυκιών από τον άνθρωπο γίνεται από την αρχαιότητα, ώστε να καλύψει διάφορες ανάγκες του. Η εφαρμογή τους γίνεται σε διάφορους τομείς όπως η γεωργία, η ιατρική και η υφαντουργία (Khan et al., 2009). Τα είδη φυκιών, τα οποία έχουν καταγραφεί, είναι περίπου 10.000 και κατατάσσονται ανάλογα με το χρώμα τους σε:

- καστανά (*Phaeophyta*)
- κόκκινα (*Rhodophyta*)
- πράσινα (*Chlorophyta*)

Το ενδιαφέρον και η έρευνα σχετικά με τη χρήση των εκχυλισμάτων φυκιών έχει αυξηθεί με έντονο ρυθμό τα τελευταία χρόνια, όπως διαφαίνεται και στην παρακάτω εικόνα σχετικά με τον αριθμό των αντίστοιχων δημοσιεύσεων (Κουτσούγερας, 2019; Craigie, 2010).



Εικόνα 3: Αριθμός δημοσιεύσεων σχετικά με τη χρήση εκχυλισμάτων φυκιών ανά δεκαετία για τη χρονική περίοδο 1900 – 2000

Από τις κατηγορίες αυτές, τα *Phaeophyta* (περίπου 2.000 είδη) χρησιμοποιούνται ως βιοδιεγέρτες φυτών και κυρίως τα είδη *Ascophyllum nodosum*, *Ecklonia maxima* και *Durvillea potatorum*. Η διαδικασία συλλογής των φυκιών γίνεται είτε με τη χρήση κατάλληλου μηχανολογικού εξοπλισμού είτε με χειρωνακτικό τρόπο, με την

κατάλληλη υποστήριξη εργαλείων. Η μηχανολογική μέθοδος είναι ταχύτερη και πιο αποτελεσματική, όμως η χειρωνακτική μέθοδος είναι πιο φιλική προς το περιβάλλον, και επομένως η εφαρμογή τους στις διάφορες χώρες ποικίλλει, ανάλογα την περιβαλλοντική ευαισθησία τους και το ισχύον νομικό καθεστώς (Κουτσούγερας, 2019).

Τα εκχυλίσματα φυκιών, που χρησιμοποιούνται στους βιοδιεγέρτες, προκύπτουν με εφαρμογή συγκεκριμένων διαδικασιών, είτε με μεμονωμένο τρόπο είτε συνδυαστικά μεταξύ τους, και είναι οι εξής (Calvo et al., 2014):

- Εκχύλιση με νερό, όπου τα φύκια ξηραίνονται σε θερμοκρασία κοντά στους 80° C, και υφίστανται εκχύλιση μέσω υδατικής διαδικασίας
- Εκχύλιση με οξέα ή αλκάλια, όπου πρώτα συμβαίνει η επεξεργασία των φυκιών με θειικό οξύ στους 40 – 50° C, σε συγκεκριμένες συνθήκες πίεσης, και στη συνέχεια γίνεται η εκχύλιση με τη χρήση ειδικών οξέων ή αλκαλίων
- Εκχύλιση μέσω κρυσταλλοποίησης, η οποία πραγματοποιείται με τη χρήση υγρού αζώτου
- Εκχύλιση μέσω ρήξης των κυττάρων, η οποία πραγματοποιείται αφού τα φύκια έχουν καταψυχθεί στους -25° C, ώστε στη συνέχεια να εφαρμοστεί σε αυτά υψηλή πίεση

Τα εκχυλίσματα φυκιών διατίθενται είτε σε υγρή είτε σε στερεή μορφή και εφαρμόζονται στο φύλλωμα των φυτών ή στις ρίζες τους, με ψεκασμό, ριζοπότισμα ή μέσω ανάμειξής τους στο νερό άρδευσης. Δρουν ως βιοδιεγέρτες γιατί εμπεριέχουν διάφορες οργανικές και ανόργανες ουσίες, οι οποίες ευνοούν την ανάπτυξη των φυτών, όπως το αμιζινικό οξύ, το γιββερλικό οξύ, το σαλικιλικό οξύ και οι κυτοκινίνες, οι οποίες αποτελούν φυτικές ορμόνες, οι πολυφαινόλες, οι πολυσακχαρίτες, οι βεταΐνες, οι στερόλες, οι υδατάνθρακες, τα τερπενοειδή, τα λιπαρά οξέα κ.α. (Παυλάκη, 2018).

Η ταξινόμηση των φυτικών ορμονών στα καστανά φύκη απεικονίζεται στον παρακάτω πίνακα ως εξής (Κουτσούγερας, 2019):

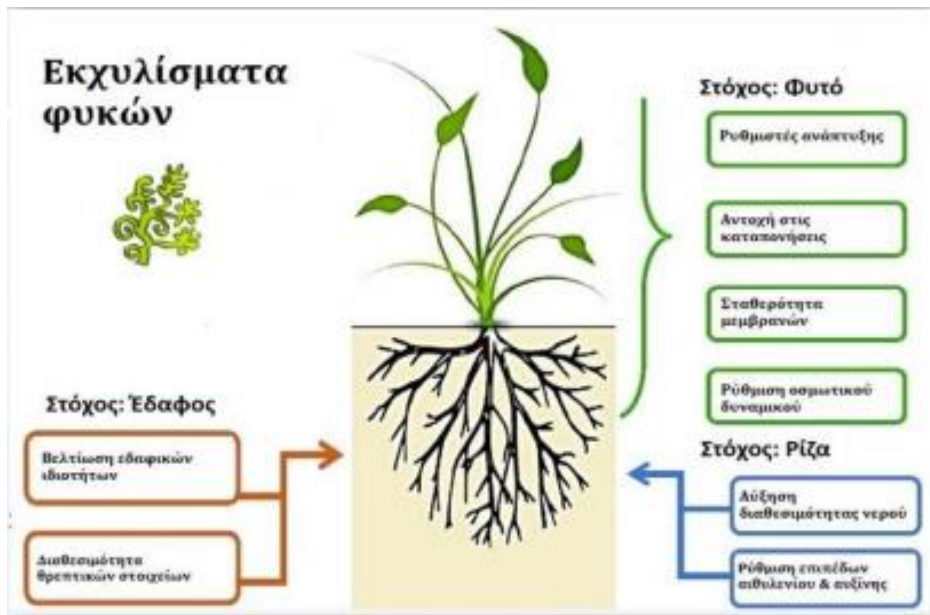
Φυτικές ορμόνες	Καστανά φύκη
Αποκοπτικό οξύ (ABA)	<i>Ascophyllum, Laminaria</i>
Αυξίνες (IAA)	<i>Ascophyllum, Fucus, Laminaria, Macrocystis, Undaria</i>
Κυτοκινίνες (CK _s)	<i>Ascophyllum, Cystoseira, Ecklonia, Fucus, Macrocystis, Sargassum</i>
Γιββερελλίνες (GA _s)	<i>Cystoseira, Ecklonia, Fucus, Petalonia, Sargassum</i>

Εικόνα 4: Ταξινόμηση φυτικών ορμονών στα καστανά φύκη

Η ύπαρξη των ουσιών αυτών επιδρά θετικά στην ανάπτυξη των φυτών ως εξής:

- Βελτιώνουν τον αερισμό του εδάφους και διατηρούν κατάλληλο το επίπεδο υγρασίας του (Battacharyya et al., 2015)
- Ενισχύουν την ανάπτυξη και λειτουργία των ριζών, έτσι ώστε να είναι πιο εύκολη και αποτελεσματική η πρόσληψη των θρεπτικών ουσιών από τα φυτά (Stirk et al., 2014)
- Ενισχύουν τη διαδικασία φωτοσύνθεσης των φυτών, επιβραδύνοντας παράλληλα τη γήρανση των φυτικών ιστών (Khan et al., 2009).
- Ενισχύουν την ανθεκτικότητα των φυτών σε δυσμενείς συνθήκες (αλατότητα, έλλειψη νερού, ακραίες θερμοκρασίες, προσβολή από διάφορους μικροοργανισμούς)

Η θετική επίδραση των βιοδιεγερτών φυκιών στα φυτά απεικονίζεται και παρακάτω ως εξής (Κουτσούγερας, 2019):



Εικόνα 5: Σχηματική απεικόνιση κύριων λειτουργιών των εκχυλισμάτων φυκών

Ως εκ τούτου, με τη χρήση των βιοδιεγερτών από φύκια, οι καλλιέργειες φυτών καθίστανται πιο αποδοτικές. Αυτός είναι ο λόγος άλλωστε που η χρήση τους παρατηρείται σε πληθώρα φυτών, όπως το καλαμπόκι, το κριθάρι, το ρύζι, η φασολιά, το καρπούζι, η φράουλα και σε λαχανικά όπως το κρεμμύδι, η πατάτα, η πιπεριά, το καρότο και το σπανάκι (Khan et al., 2009).

Η επίδραση των βιοδιεγερτών φυκιών στις διάφορες καλλιέργειες απεικονίζεται στον παρακάτω πίνακα ως εξής (Κουτσούγερας, 2019; Battacharyya et al., 2015):

Καλλιέργεια	Εκχύλισμα φυκών		Επιδράσεις	Reference
Λαχανοκομικά είδη				
Φασόλι	<i>A. nodosum</i>		Αύξηση βλάστησης.	Carvalho et. al., (2013)
Κουνουπίδι	<i>A. nodosum</i>		Αύξηση διαμέτρου ανθοκεφαλών και απόδοσης.	Abetz και Young (1983)
Αγγούρι	<i>E.intestinalis,</i> <i>G.pectinutum,</i> <i>Ecklonia maxima,</i> <i>A.nodosum</i>		Αύξηση απόδοσης, αριθμού καρπών και περιεκτικότητας σε Fe, Zn και Mn.	Nelson και Van (1984)
Μελιτζάνα	<i>A.nodosum,</i> <i>Hypnea</i> <i>musciformis</i> και <i>Gracilaria</i> <i>textorii</i>		Αύξηση βλάστησης και παραγωγής.	Abd El- Gawad και Osman (2014)
Μπάμια	<i>Rosenvigea</i> <i>intricate,</i> <i>Kappaphycus</i> <i>alvarezii</i>		Αύξηση χλωροφύλλης, καροτενοειδών και απόδοσης.	Thirumaran et. al., (2009)
Πιπεριά	<i>A.nodosum</i>		Αύξηση μήκους και διαμέτρου του καρπού. Ενίσχυση απόδοσης και επιπέδου χλωροφύλλης.	Eris et. al., (1995)
Τομάτα	<i>E.maxima, Ulva</i> <i>lactuca,</i> <i>P.gymnospora,</i> <i>Hypnea</i> <i>musciformis</i> και <i>Gracilaria textorii</i>		Αυξημένη απορρόφηση Mn. Αυξημένη περιεκτικότητα σε Zn, Fe και χλωροφύλλη. Βελτιωμένη βλάστηση, ύψος και απόδοση.	Crouch et. al., (1990)

Δενδροκομικά είδη				
Μανταρινιά	<i>A. nodosum</i>		Αύξηση απόδοσης.	Fomes et al., (2002)
Αμπέλι	<i>A. nodosum</i>		Ενίσχυση πρόσληψης Cu, K ⁺ και Ca ²⁺ . Αύξηση μεγέθους των ραγών. Αυξημένη απόδοση και ομοιόμορφη ωρίμανση.	
Ελιά	<i>A. nodosum</i>		Ενίσχυση απόδοσης και περιεκτικότητας ελαίου, λινολενικού και ελαϊκού οξέος. Επιτάχυνση ωρίμανσης και μείωση περιεκτικότητας στεατικού και λινολεϊκού οξέος.	Chouliaras et al., (2009)
Πορτοκαλιά	<i>A. nodosum</i>		Αύξηση βάρους, ποιοτικών χαρακτηριστικών, συνολικών διαλυτών στερεών – σακχάρων.	Spann και Little, (2011) Kamel, (2014)
Φράουλα	<i>A. nodosum</i>		Αύξηση απόδοσης και συνολικής ανθοκυανίνης.	Spinelli et al., (2010) Alam et al., (2013)

Εικόνα 6: Πίνακας με τις επιδράσεις της εφαρμογής εκχυλισμάτων φυκιών σε διάφορες καλλιέργειες

1.3 Αβιοτικοί στρεσογόνοι παράγοντες

Οι μη ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες φέρνουν τα φυτά αντιμέτωπα σε δύσκολες καταστάσεις. Οι αβιοτικοί παράγοντες μπορεί να αποβούν δυσμενείς και να επηρεάσουν αρνητικά την ανάπτυξη και την παραγωγή. Παρακάτω περιγράφονται οι κυριότεροι αβιοτικοί στρεσογόνοι παράγοντες:

1) Μηχανικοί στρεσογόνοι παράγοντες

Σε αυτό το είδος στρες είναι πολύ ευαίσθητα τα φυτά. Είναι γνωστό ότι μηχανικές οχλήσεις των φυτών (π.χ. επαφές με ανθρώπους και μηχανήματα, ισχυρός άνεμος, δονήσεις) μπορεί να οδηγήσει σε λιγότερο αναπτυγμένα φυτά. Επίσης ο τραυματισμός των φυτικών ιστών δημιουργεί πολλά προβλήματα, όπως μια πιθανή είσοδο παθογόνων.

Σαφώς και το μηχανικό στρες δε θα μπορούσε να αποφευχθεί εντελώς αλλά πρέπει να γίνεται προσπάθεια να παραμείνει στο ελάχιστο δυνατό.

2) Έλλειψη νερού

Κατά τη διάρκεια πολύ ζεστών και ξηρών ημερών, τα φυτά μπορεί να μαραθούν επειδή ο ρυθμός απώλειας νερού μέσω της διαπνοής υπερβαίνει τον ρυθμό με τον οποίο το ριζικό σύστημα απορροφά νερό από το έδαφος, με αποτέλεσμα μικρότερη ανάπτυξη.

Ο κύριος μηχανισμός άμυνας των φυτών απέναντι σε συνθήκες έλλειψης υγρασίας είναι στην ουσία η μείωση του ρυθμού διαπνοής. Η έλλειψη νερού στα φύλλα οδηγεί σε επιβράδυνση της διαπνοής κλείνοντας τα στόματα. Με τη σειρά του το κλείσιμο των στομάτων των φύλλων αυξάνει η θερμοκρασία των φύλλων και μειώνει τη μεταβολική δραστηριότητα του φυτού. Η έλλειψη νερού επίσης διεγείρει τη σύνθεση και την απελευθέρωση του αμψισικού οξέος στα φύλλα, ορμόνη που ελέγχει το άνοιγμα και το κλείσιμο των στομάτων.

Η ανάπτυξη των ριζών επηρεάζεται επίσης σε συνθήκες έλλειψης νερού. Το έδαφος ή σε οποιοδήποτε υπόστρωμα αναπτύσσεται ένα φυτό, αρχίζει συνήθως να στεγνώνει από την επιφάνεια προς τα κάτω. Αυτό αναστέλλει την ανάπτυξη ριζών, εν μέρει επειδή τα κύτταρα δεν μπορούν να διατηρήσουν τη σκλήρυνση που

απαιτείται για την επιμήκυνση. Οι βαθύτερες ρίζες, οι οποίες περιβάλλουν το υγρό υπόστρωμα, είναι ακόμα σε θέση να αναπτυχθούν. Το ριζικό σύστημα πολλαπλασιάζεται με τρόπο που μεγιστοποιεί την έκθεση στην υγρασία του εδάφους, αλλά αυτό απαιτεί κατανάλωση περισσότερης ενέργειας από την πλευρά των φυτών.

3) Υπερβολική υγρασία

Το βασικό πρόβλημα στην περίπτωση του στρες λόγω υπερβολικής εδαφικής υγρασίας, είναι η έλλειψη οξυγόνου. Αυτό οδηγεί πολλά φυτικά είδη στην παραγωγή αιθυλενίου, το οποίο μπορεί να προκαλέσει μέχρι και το θάνατο του ριζικού συστήματος. Η καταστροφή αυτών των κυττάρων δημιουργεί σωλήνες αέρα, οι οποίοι μπορούν να γεμίσουν με αέρα τα τμήματα του φυτού που βρίσκονται πάνω από το έδαφος. Με αυτό τον τρόπο, οι ρίζες μπορούν να λάβουν το απαραίτητο οξυγόνο ακόμη και όταν το έδαφος είναι ακόμα πολύ υγρό για να περιέχει αρκετό αέρα. Ο μαρασμός, το κιτρίνισμα των φύλλων, οι σηψιριζίες και η μειωμένη φυτική ανάπτυξη είναι κάποια από τα συμπτώματα της υπερβολικής υγρασίας.

Παράλληλα, σημαντικό ρόλο παίζει η ταχύτητα απορρόφησης και ταχύτητα διαπνοής του νερού από το φυτό, σχετικά με την κατάσταση υγρασίας του. Συγκεκριμένα, όταν η ταχύτητα απορρόφησης είναι μεγαλύτερη, τότε το φυτό έχει περίσσειμα νερού στους ιστούς του, ενώ αντίθετα όταν η ταχύτητα διαπνοής είναι μεγαλύτερη, τότε έχει έλλειμμα νερού στους ιστούς του. Στην δεύτερη περίπτωση (δηλαδή όταν η ταχύτητα διαπνοής είναι μεγαλύτερη) μειώνεται η μεταβολική δραστηριότητα του φυτού και επηρεάζεται αρνητικά η αύξησή του, καθώς επιβραδύνεται η φωτοσύνθεσή του και η επιμήκυνση των κυττάρων του. Τα κύτταρα αυτά αποκτούν μικρότερο μέγεθος με πιο παχιά τοιχώματα, εμποδίζοντας τη διαδικασία της εξάτμισης, ενώ οι μεσοκυττάριοι χώροι διατηρούν ένα σχετικά υψηλό επίπεδο υγρασίας, επιτρέποντας την αύξηση των φυτών, με αργό σχετικά ρυθμό, ακόμα και σε συνθήκες πιο ξηρής ατμόσφαιρας (Καράταγλης, 1999).

4) Αλατότητα

Η περίσσεια χλωρίου του Νατρίου στο έδαφος μπορεί να προβεί καταστροφική για δύο λόγους :

α) προκαλεί έλλειψη νερού στα φυτά λόγω μείωσης του οσμωτικού δυναμικού του εδάφους (βλ. και 1.3.1.4) και

β) το φυτό γίνεται τοξικό αφού το νάτριο σε υψηλές συγκεντρώσεις κατακλύζει την επιλεκτική διαπερατότητα των μεμβρανών των ριζών.

Συνεπώς, το φυτό δεν είναι σε θέση να απορροφήσει επιλεκτικά τα σωστά θρεπτικά συστατικά και μόνο το νάτριο απορροφάτε από το φυτό. Βέβαια, πολλά είδη φυτών μπορούν να ανταποκριθούν σε μέτρια αλατότητα υποστρώματος παράγοντας διαλυμένες ουσίες που είναι καλά ανεκτές σε υψηλές συγκεντρώσεις αλλά για μια προσωρινή κατάσταση.

5) Υψηλές θερμοκρασίες

Οι υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές ζημιές στα φυτά, λόγω της μεγάλης απώλειας νερού. Λόγω των υψηλών θερμοκρασιών τα φυτά προσπαθούν να αντλήσουν νερό από τις ρίζες προς τα φύλλα και στελέχη. Το νερό αυτό φεύγει μέσω των στομάτων κατά τη διαδικασία της διαπνοής. Η διαπνοή ψύχει τα φύλλα και άλλα μέρη του φυτού και τα προστατεύει από τα ηλιακά εγκαύματα. Αν δεν υπάρχει αρκετό νερό το φυτό θα θυσιάσει κάποια από τα φύλλα του να καούν.

Επιπρόσθετα, η αύξηση της θερμοκρασίας στα φυτά πέρα από τα επιτρεπτά όρια μπορεί να οδηγήσει σε μετουσίωση των πρωτεϊνών τους, αλλοιώνοντας τη βιολογική τους δράση. Παράλληλα, μπορεί να επηρεαστούν διάφορες διαδικασίες που πραγματοποιούνται στα φυτά, όπως πχ η αναπνοή και η φωτοσύνθεση, καθώς σε αυτές κομβικό ρόλο έχουν διάφορα ένζυμα, τα οποία επηρεάζονται δυσμενώς από τις υψηλές θερμοκρασίες (Καράταγλης, 1999).

6) Ψύχος και παγετός

Το ψύχος και ο παγετός μπορούν να προκαλέσουν πολύ σημαντικές ζημιές στα φυτά. Τόσο τα ευαίσθητα σε αυτά όσο και τα ανθεκτικά φυτά μπορούν να καταστραφούν. Το μαύρισμα των φύλλων και των μίσχων αλλά και ο αποχρωματισμός των ανθών είναι κάποια από τα συμπτώματα που εμφανίζονται. Τα άνθη που έχουν υποστεί τον παγετό δεν μπορούν να καρποφορήσουν.

Οι ζημιές αυτές προκύπτουν από το γεγονός ότι σε χαμηλές θερμοκρασίες (κάτω από 0° C) αρχίζουν να σχηματίζονται κρύσταλλοι στο εσωτερικό των κυττάρων του φυτού. Ως επακόλουθο της διαδικασίας αυτής προκύπτει έξοδος νερού από το

εσωτερικό του κυττάρου, το οποίο κρυσταλλώνεται λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών, οδηγώντας στην αφυδάτωση του φυτού (Καράταγλης, 1999).

7) Χημικοί στρεσογόνοι παράγοντες

Το χημικό στρες ή αλλιώς χημική βλάβη προέρχεται από την εφαρμογή λανθασμένης δόσης λιπάσματος ή παρασιτοκτόνου ή τον λανθασμένο χρόνο εφαρμογής τους σε μια καλλιέργεια. Η απρόσεκτη χρήση των ζιζανιοκτόνων ή οποιοδήποτε άλλου είδους χημικού σκευάσματος μπορεί να προκαλέσει βλάβη των φυτών όπως στίγματα στα φύλλα, παραμόρφωση ακόμη και ολοσχερή καταστροφή των φύλλων. Επίσης, στους παράγοντες αυτούς συγκαταλέγονται και οι υψηλές συγκεντρώσεις καυσαερίων στην ατμόσφαιρα διάφορων θερμοκηπίων, οι οποίες μπορεί να προέλθουν λόγω πιθανής διαρροής.

1.3.1 Αλατότητα

1.3.1.1 Ορισμός αλατότητας

Αλατότητα είναι η συγκέντρωση διαλυτών αλάτων (ανόργανων ιόντων) στο διάλυμα που βρίσκεται στην περιοχή του ριζοστρώματος (εδαφικό διάλυμα ή τεχνητό θρεπτικό διάλυμα). Τα ιόντα που συσσωρεύονται και είναι υπεύθυνα για την αύξηση της αλατότητας είναι το Na^+ και το Cl^- , ενώ σε μικρότερο βαθμό υπεύθυνα είναι το Ca^{2+} , Mg^{2+} , το SO_4^{2-} και το HCO_3^- .

Η αλατότητα του νερού εκφράζεται :

- με την ηλεκτρική αγωγιμότητα του (EC) που μετράται σε millisiemens ανά cm (mS cm^{-1}) στους 25 °C
- με το συνολικό ποσό των διαλυμένων αλάτων στο νερό με mg L^{-1} .

1.3.1.2 Δημιουργία υψηλής αλατότητας

Πολλές φορές το νερό που χορηγείται σε μία καλλιέργεια περιέχει ανόργανα άλατα. Ένα μέρος του νερού εξατμίζεται και ένα μεγάλο μέρος απορροφάται από τα φυτά. Τα φυτά έχουν ένα μηχανισμό εκλεκτικής απορρόφησης και απέκκρισης, οπότε το διαθέσιμο νερό που δεν απορροφάται ή δεν τους είναι αναγκαίο παραμένει στο έδαφος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα άλατα να βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις

και σε συνδυασμό με την αλόγιστη χρήση των λιπασμάτων η κατάσταση να χειροτερεύει. Το πρόβλημα επιδεινώνεται σε περιοχές με νερό κακής ποιότητας και ξεροθερμικές κλιματικές αλλαγές. Τόσο η εξάτμιση, όσο και η διαπνοή των φυτών αυξάνονται με συνέπεια την συσσώρευση αλάτων στις ρίζες, ωστόσο η χορήγηση κακής ποιότητας αρδευτικού νερού δεν ωφελεί (Σάββας, 2001).

Στην κατεύθυνση αυτή (δηλαδή στην ενίσχυση της ποιότητας του αρδευτικού νερού) μπορούν να εφαρμοστούν διάφορες ενέργειες, κάποιες από τις οποίες αναφέρονται ενδεικτικά ως εξής (Farmakon, 2017):

- Έλεγχος του νερού και του χόματος για πιθανή ύπαρξη αλάτων
- Ομοιόμορφη διανομή του νερού από το σύστημα άρδευσης
- Αξιολόγηση του σχεδιασμού και της λειτουργίας του αρδευτικού συστήματος από έναν έμπειρο και με κατάλληλη τεχνογνωσία επαγγελματία
- Ρύθμιση της πίεσης και της ποσότητας του αρδευτικού νερού, με βάση και τις καιρικές συνθήκες που επικρατούν
- Έλεγχος της λειτουργίας του αρδευτικού συστήματος και συντήρηση του αντίστοιχου εξοπλισμού, όταν αυτή απαιτείται
- Χρησιμοποίηση του βρόχινου νερού για την αφαίρεση των αλάτων

1.3.1.3 Προβλήματα που δημιουργεί η υψηλή αλατότητα

Τα διαλυτά άλατα επιδρούν στα φυτά με δύο κύριους μηχανισμούς : την ωσμωτική πίεση και την τοξικότητα:

Οσμωτική Πίεση: Τα διαλυτά άλατα μειώνουν το ωσμωτικό δυναμικό του εδαφικού νερού και δυσκολεύουν στα φυτά την πρόσληψη νερού από τις ρίζες. Στις καλλιέργειες που έχουν αναπτυχθεί αρκετά και δεν είναι στο πρώτο καιρό ανάπτυξης τους δεν προκαλεί μάρανση των φυτών ή μειωμένη πρόσληψη νερού. Όμως, η ενέργεια που δαπανείται για τη συγκέντρωση οργανικών και ανόργανων διαλυτών ενώσεων ώστε να μειωθεί το ωσμωτικό δυναμικό στο εσωτερικό των κυττάρων αλλά και να αντισταθμιστεί το χαμηλό ωσμωτικό του εδαφικού διαλύματος είναι περισσότερη. Τα νεαρά φυτά είναι πιο ευαίσθητα στην αλατότητα. Είναι γνωστό πως η αλατότητα καθυστερεί ή και σταματά τη βλάστηση των σπόρων (Φωτάρα, 2018).

Τοξικότητα: Τα περισσότερα φυτά έχουν εξελιχθεί με συνθήκες χαμηλής αλατότητας και οι μηχανισμοί που έχουν αναπτύξει όσον αφορά την απορρόφηση, μεταφορά και αξιοποίηση των θρεπτικών στοιχείων μπορεί να μην είναι αποτελεσματικοί σε συνθήκες υψηλής αλατότητας.

Όταν τα φυτά απορροφούν λιγότερα ή περισσότερα άλατα από όσα χρειάζονται για τη θρέψη τους προκαλούνται διαταραχές στις ζωτικές λειτουργίες των κυττάρων, που ονομάζονται τροφοπενίες ή τοξικότητες αντίστοιχα.

Η αύξηση της συσσώρευσης του NaCl στις ρίζες των φυτών οδηγεί στην αύξηση των συγκεντρώσεων των ιόντων Na⁺ και Cl⁻ στους φυτικούς ιστούς. Συγκεκριμένα, η υψηλή συγκέντρωση Cl⁻ στα φύλλα κάποιων ειδών μπορεί να προκαλέσει χλώρωση και θάνατο των φύλλων, ακόμα και αν η συγκέντρωση του Na⁺ στα φύλλα αυτά είναι χαμηλή. Παράλληλα, σε υψηλή συγκέντρωση Na⁺ στις ρίζες των φυτών, τα ιόντα αυτά μπορεί να αντικαταστήσουν το Ca²⁺ στις μεμβράνες των ριζικών κυττάρων, αλλοιώνοντας την περατότητά τους καθώς υπάρχει διαρροή K⁺ από τα κύτταρα αυτά. Τέλος, υπάρχει αρνητική επίδραση στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης, καθώς η υψηλή συγκέντρωση ιόντων Na⁺ και Cl⁻ μειώνει τη χλωροφύλλη και εν τέλει την απόδοση της φωτοσύνθεσης που πραγματοποιείται στα φυτά.

1.3.1.4 Μηχανισμοί αντιμετώπισης

Για να αντιμετωπιστεί η μείωση του υδατικού δυναμικού στο περιβάλλον των ριζών (Ψ_s) τα φυτά προσπαθούν να μειώσουν το δικό τους υδατικό δυναμικό σε χαμηλότερα επίπεδα, χωρίς την απώλεια σπαργής των κυττάρων. Αυτό μπορεί να γίνει με την συσσώρευση ανόργανων ιόντων (Na⁺ και Cl⁻) στα χυμοτόπια των κυττάρων. Ο μηχανισμός αυτός είναι χαρακτηριστικός των αλοφύτων.

Η συσσώρευση οργανικών μορίων (ωσμωλυτών), καθώς και ανόργανων όπως το κάλιο (K), με υψηλή διαλυτότητα που δεν εμπλέκονται στον κυτταρικό μεταβολισμό ακόμη και σε αυξημένες συγκεντρώσεις, καλείται ωσμωτική προσαρμογή και είναι εντονότερη στα γλυκόφυτα. Οι ωσμωλύτες, μη τοξικοί οργανικοί μεταβολίτες που συσσωρεύονται στο κυτόπλασμα, αφ' ενός διατηρούν σε ισορροπία το υδατικό δυναμικό του κυτοπλάσματος με εκείνο του χυμοτοπίου και αφ' ετέρου διατηρούν χαμηλό το υδατικό δυναμικό του κυττάρου ώστε να αποφεύγεται η απώλεια της σπαργής του. Κυριότεροι ωσμωλύτες είναι οι προλίνη, η σορβιτόλη και η γλυκίνη.

Για την σύνθεση των ωσμωλυτών τα φυτά δαπανούν σημαντικό ποσοστό άνθρακα που μπορεί να φτάσει έως και το 10% του φυτικού βάρους (Κωνσταντινίδου, 2003).

Η ωσμωτική προσαρμογή, παίζει σημαντικό ρόλο στον εγκλιματισμό του φυτού σε συνθήκες αλατότητας, καθώς μειώνει το υδατικό δυναμικό (Ψ_s) φυτού και οδηγεί το υδατικό δυναμικό της ρίζας σε τιμές αρνητικές από αυτό του εδάφους, επιτρέποντας τελικά στο νερό να εισρεύσει από το έδαφος στο φυτό (Κωνσταντινίδου, 2003).

Επιπλέον μηχανισμοί προστασίας των φύλλων από την απώλεια νερού είναι η παχυφαιτική προσαρμογή (succulence), η αύξηση της αναλογίας των ριζών προς το υπέργειο μέρος και οι μηχανισμοί προστασίας των φύλλων από την απώλεια νερού (αύξηση του πάχους της εφυμενίδας, κάλυψη της φυλλικής επιφάνειας με τρίχες, μικρότερος αριθμός στομάτων ανά μονάδα φυλλικής επιφάνειας, κάλυψη των στομάτων με κήρους και μερικό κλείσιμο των στομάτων).

1.4.2 Έλλειψη νερού

Η διαδικασία ποτίσματος με αρδευτικό νερό, το οποίο περιέχει υψηλή συγκέντρωση αλάτων, οδηγεί στην απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων από τις ρίζες των φυτών, περιορίζοντας τον μετέπειτα εφοδιασμό των βλαστών με νερό και τα απαραίτητα για αυτούς θρεπτικά στοιχεία. Είναι γνωστό πως η υδατική κατάσταση των φυτικών κυττάρων είναι αναπόσπαστα συνδεδεμένη με τη λειτουργία και την επιβίωση των φυτών. Αυτό συνδέεται με το γεγονός πως ο ρυθμός ανάπτυξης των φύλλων επηρεάζεται από τις αλλαγές που γίνονται στο υδατικό ισοζύγιο των φύλλων. Δεν είναι όμως, ακόμα γνωστό αν η μείωση της συγκέντρωσης των θρεπτικών στοιχείων και η έλλειψη ισορροπίας μεταξύ θρεπτικών στοιχείων στις ζώνες επιμήκυνσης είναι αρκετά σημαντική ώστε να προκαλεί μείωση του ρυθμού επιμήκυνσης των φύλλων σε μικρό χρονικό διάστημα.

Τα φυτά προσαρμόζονται σε συνθήκες υψηλής αλατότητας με διαφορετικούς τρόπους, όπως είναι:

- i. η εκδήλωση παχυμορφισμού στα φύλλα
- ii. με συγκέντρωση των αλάτων στα χυμοτόπια των κυττάρων,

- iii. παρατηρείται σε αυτά ευχυμία, αύξηση δηλαδή του όγκου τους και του περιεχομένου σε νερό, διατήρηση της σπαργής και υποκατάσταση σε ορισμένες του K από το Na.
- iv. με μείωση του αριθμού των στοματίων και η μεταβολή της κατανομής τους, και
- v. τέλος, ανατομικές διαφορές, όπως παχύτερες λωρίδες caspary ή ο σχηματισμός δεύτερης ενδοδερμίδας έχουν παρατηρηθεί σε ορισμένα αλόφυτα και βοηθούν στον περιορισμό της εισόδου αλάτων με διάχυση από τη ρίζα.

Η έλλειψη νερού ουσιαστικά προκαλεί στρες στα φυτά, καθώς ο ρυθμός απώλειας νερού λόγω της διαπνοής είναι μεγαλύτερος από το ρυθμό απορρόφησης του νερού από το έδαφος μέσω των ριζών. Βέβαια τα φυτά έχουν αναπτύξει μηχανισμούς, ώστε να μπορούν να αντιμετωπίζουν την κατάσταση αυτή. Οι μηχανισμοί αυτοί αντιστοιχούν είτε σε διαδικασίες επιβράδυνσης της διαπνοής, κλείνοντας τα στόματα των φύλλων, είτε σε διαδικασίες ανάπτυξης βαθύτερων ριζών για τα φυτά, ώστε να ενισχύουν την έκθεσή τους σε μεγαλύτερη επιφάνεια υγρού εδάφους. Όμως και στις δυο περιπτώσεις η ανάπτυξη των φυτών επηρεάζεται, καθώς το κλείσιμο των στομάτων των φύλλων μειώνει τη φωτοσυνθετική διαδικασία, ενώ η ανάπτυξη βαθύτερων ριζών συνεπάγεται κατανάλωση περισσότερης ενέργειας από τα φυτά (Farmacon, 2018b).

1.4 Η καλλιέργεια του μαρουλιού

1.4.1 Ιστορικό – Καταγωγή - Εξάπλωση

Το μαρούλι *Lactuca sativa* L. είναι φυτό της οικογένειας *Asteraceae* (*Compositae*). Προέρχεται κατά πάσα πιθανότητα από το άγριο μαρούλι *Lactuca serriola* ή *scariola* L., το οποίο συναντάται ως αυτοφυές σε πολλές περιοχές της Ευρώπης, κατόπιν διασταυρώσεων με τα άγρια είδη *L. Saligna* και *L. Virosa*. Είναι το πιο δημοφιλές και διαδεδομένο κηπευτικό της οικογένειας των *Asteraceae*. Θεωρείται ότι κατάγεται από τις περιοχές της Ανατολικής Μεσογείου, της Μικράς Ασίας, του Καυκάσου, της Περσίας και του Τουρκμενιστάν. Αναφέρεται πως οι Πέρσες το καλλιεργούσαν τον 6ο π.Χ. αιώνα, ήταν γνωστό στους αρχαίους Έλληνες και Ρωμαίους, ενώ στην Κίνα μεταφέρθηκε το 900 μ.Χ. Σήμερα το μαρούλι έχει διαδοθεί και καλλιεργείται σχεδόν σε όλο τον κόσμο. Οι κυρίαρχες χώρες παραγωγής, σύμφωνα με στοιχεία του 2012, είναι η Κίνα (ποσοστό 56,1%), οι ΗΠΑ (ποσοστό 15,5%), η Ινδία (ποσοστό 4,3%), το Ιράν και η Ιαπωνία (ποσοστό 2,2%) . Στην Ευρώπη οι κυριότερες είναι η Ισπανία (ποσοστό 3,5%), η Γερμανία (ποσοστό 1,7%), η Γαλλία (ποσοστό 1,3%) και η Ιταλία (Ολύμπιος, 2015). Η ποσοστιαία σύγκριση των παραπάνω χωρών απεικονίζεται και στο παρακάτω διάγραμμα.



Εικόνα 7: Ποσοστιαία σύγκριση των κυριότερων χωρών παραγωγής μαρουλιού

1.4.2 Βοτανικοί- Μορφολογικοί χαρακτήρες του μαρουλιού

Το μαρούλι είναι διπλοειδές φυτό με εννέα ζεύγη χρωματοσωμάτων ($2n = 18$). Τα περισσότερα από τα άλλα είδη του γένους *Lactuca* έχουν είτε οκτώ είτε εννέα ζεύγη χρωμοσωμάτων. Υπό κανονικές συνθήκες είναι φυτό «μακράς ημέρας» που απαιτεί η διάρκεια έκθεσης του φυτού στο φως, είτε φυσικό είτε τεχνητό, να ξεπερνάει κατά πολύ τις 12 ώρες, ώστε να παράγει ανθικό στέλεχος και άνθη.

Το μαρούλι είναι ετήσιο, ποώδες φυτό γρήγορης ανάπτυξης και διακρίνεται σε ποικιλίες με διαφορετικές μορφές ως προς τα χαρακτηριστικά των φύλλων και τον σχηματισμό ή όχι κεφαλής.

- Ο κύριος βλαστός είναι ανοιχτοπράσινος, κοντός κατά την βλαστική περίοδο που φέρει τα φύλλα του πολύ πυκνά υπό μορφή ροζέτας και ο οποίος αναπτύσσεται αρκετά κατά το στάδιο της αναπαραγωγικής περιόδου (δημιουργία ανθοφόρου βλαστού).
- Τα φύλλα του μαρουλιού είναι λεία, πλατιά, ωοειδή, επιμήκη και εμφανίζονται γύρω από τον βλαστό σε διάφορα μεγέθη και σχήματα. Το χρώμα ανάλογα με τον τύπο και την ποικιλία κυμαίνεται από βαθύ πράσινο ή πρασινοκίτρινο έως με κοκκινωπή απόχρωση.
- Κατά την εποχή της αναπαραγωγής σχηματίζεται ανθικό στέλεχος ύψους 60-120 εκ. όρθιο, λείο, χωρίς άκανθες, διακλαδιζόμενο και πολύφυλλο. Τα άνθη του φυτού είναι ερμαφρόδιτα, φέρονται σε ταξιανθίες γύρω από τον ανθοφόρο βλαστό σε διακλαδώσεις και κάθε κεφαλή φέρει 15-25 άνθη. Το άνθος του μαρουλιού αυτογονιμοποιείται όταν είναι ώριμο.
- Ο καρπός είναι αχαίνιο, μικρού μεγέθους (μήκους 3-4 mm) ωοειδής, επιμήκης, χρώματος πρασινωπού, λευκού ή γκριζωπού, λείος με 5-6 ραβδώσεις σε κάθε επιφάνεια και φέρει πάππο από λεπτές λευκές τρίχες.
- Το μαρούλι σχηματίζει πασσαλώδη ρίζα που μπορεί να αναπτυχθεί έως και 80-100 εκ. (Ολύμπιος, 2015).



Εικόνα 8: Σπόρος και ρίζα μαρουλιού (Πηγή: https://www.kalliergo.gr/plugins/content/jw_sigpro/jw_sigpro/includes/images/transparent.gif)

1.4.3 Θρεπτική αξία του μαρουλιού

Το μαρούλι έχει υψηλή περιεκτικότητα σε νερό και χαμηλή σε θρεπτικές ουσίες (πρωτεΐνες – υδατάνθρακες) και θερμίδες. Ο τύπος μαρουλιού Cos ή Romaine είναι πιο θρεπτικός από τους κεφαλωτούς τύπους μαρουλιού λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε βιταμίνες A και C, καθώς και τη μεγαλύτερη ποσότητα των πράσινων φύλλων. Επιπλέον, το μαρούλι είναι καλή πηγή Ca, P, Fe, K, Mn και φυλλικού οξέος. Τέλος, προτείνεται ως το ιδανικό κηπευτικό για δίαιτα, για άτομα με αυξημένη χοληστερόλη αλλά και ως καλό για την πέψη λόγω των ινών που περιέχει και οι οποίες βοηθούν στην καλύτερη απορρόφηση των τροφών που καταναλώνονται ταυτόχρονα.

1.4.4 Οικονομικά στοιχεία

Το μαρούλι είναι το σημαντικότερο φυλλώδες λαχανικό που καταναλώνεται νωπό σε σαλάτα στην Ελλάδα, κυρίως από το φθινόπωρο μέχρι την άνοιξη. Στον ελλαδικό χώρο το μαρούλι καλλιεργείται κυρίως ως υπαίθρια καλλιέργεια όλο το χρόνο, αλλά κυρίως από νωρίς το φθινόπωρο έως αργά την άνοιξη. Λόγω της μεγάλης ζήτησης όλο το χρόνο, η καλλιέργεια του τα τελευταία χρόνια γίνεται κυρίως σε θερμοκήπια στο έδαφος αλλά και σε υδροπονικά συστήματα.

Εξαγωγές μαρουλιού δεν γίνονται αν και θα μπορούσαν να γίνουν προς στις χώρες της Β. Ευρώπης το χειμώνα, λόγω του κλίματος που παρουσιάζει η χώρα.

1.4.5 Τύποι και ποικιλίες

Οι τύποι μαρουλιού που καλλιεργούνται σήμερα διακρίνονται ανάλογα με την διάταξη των φύλλων στο κοντό βλαστό και το σχηματισμό ή απουσία κεφαλής.

Οι τέσσερις βασικοί τύποι είναι :

I. *Cos* ή *Ρομάνα* (*Lactuca sativa var romana D.C*)

Είναι ο πιο γνωστός τύπος μαρουλιού που καλλιεργείται στην ελληνική γη. Φυτό όρθιο, υψηλό με λεπτή μικρή επιμήκη κεφαλή στο εσωτερικό και λεπτά μακριά φύλλα στο εξωτερικό μέρος. Το χρώμα του είναι σκούρο πράσινο εσωτερικά και πρασινοκίτρινο εξωτερικά. Αντέχει σε δύσκολες καιρικές συνθήκες .

II. *Λείο, Κεφαλωτό* (*Butterhead*) *Lactuca sativa var. capitata D.C*

Είναι ο συνηθισμένος τύπος μαρουλιού που καλλιεργείται στην Κεντρική και Βόρεια Ευρώπη . Το φυτό σχηματίζει σφαιρική κεφαλή και μαλακά φύλλα . Το χρώμα του ποικίλλει από ελαφρύ μέχρι σκούρο πράσινο. Ο τύπος αυτός μετασυλλεκτικά έχει μικρή αντοχή και δεν επιδέχεται μεγάλες μετακινήσεις.

III. *Κατσαρό κεφαλωτό* (*Crisphead* , *Iceberg* ή *Curly*) *Lactuca sativa var capitata D.C*

Το φυτό σχηματίζει σφαιρική κεφαλή και τα εσωτερικά του φύλλα είναι σγουρά με εμφανείς νευρώσεις. Το χρώμα ποικίλλει από ελαφρύ μέχρι βαθύ πράσινο. Είναι η ποικιλία που καλλιεργείται κυρίως στις Η.Π.Α.

IV. « *Χαλαρό ανοικτό φύλλωμα* » ή « *Σαλάτες* » (*Looseleaf*) *Lactuca sativa var crispa*

Τα φυτά αναπτύσσονται ελεύθερα, δεν σχηματίζουν κεφάλι και το χρώμα των φύλλων είναι κοκκινωπό.

Άλλοι τύποι μαρουλιού είναι το *Κινέζικο* (*Celtuce*) *Lactuca sativa var. Asparagina*) και το *Ινδικό* (*Lactuca indica L.*)



Εικόνα 9: Κινέζικο μαρούλι (Πηγή: https://hips.hearstapps.com/hmg-prod.s3.amazonaws.com/images/lot-of-stem-lettuce-in-the-stall-at-the-market-royalty-free-image-1134147791-1553793079.jpg?crop=0.66635xw:1xh:center,top&resize=768:*)

1.4.6 Σπορά μαρουλιού

Για το μαρούλι η σπορά ξεκινάει τον Αύγουστο ή Σεπτέμβριο και συνεχίζεται μέχρι τον Φεβρουάριο-Μάρτιο. Είναι δυνατό οι σπορές να γίνονται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, αξιοποιώντας τις κατάλληλες ποικιλίες για κάθε εποχή. Ο χρόνος από τη σπορά μέχρι τη συγκομιδή είναι περίπου 3-5 μήνες, αναλόγως την εποχή και την ποικιλία. Η σπορά μπορεί να γίνει απευθείας στον αγρό, μία μέθοδος που πραγματοποιείται σε μεγάλες εκτάσεις, είτε σε σπορεία όπου τα φυτάρια αναπτύσσονται μέχρι το στάδιο του 3ου-4ου φύλλου και στη συνέχεια μεταφυτεύονται στην τελική τους θέση.

1.4.7 Απαιτήσεις - λίπανση

Το μαρούλι είναι αρκετά απαιτητικό φυτό όσον αφορά στις εδαφικές συνθήκες. Συγκεκριμένα, το φυτό χρειάζεται εδάφη γόνιμα, πλούσια σε θρεπτικά στοιχεία, με υψηλή υδατοϊκανότητα και καλή στράγγιση. Τα αμμοπηλώδη εδάφη είναι τα πιο κατάλληλα για αυτή την καλλιέργεια και το άριστο pH κυμαίνεται από 6,0 - 7,5. Επιπλέον, η καλλιέργεια του μαρουλιού είναι ευαίσθητη απέναντι στην υψηλή συγκέντρωση αλάτων στο έδαφος. Σε τέτοιες περιπτώσεις απαιτείται ξέπλυμα του εδάφους με καλής ποιότητας νερό για την αποφυγή προβλημάτων που δημιουργεί η

αλατότητα στα φυτά, όπως η καθυστέρηση της ανάπτυξης. Σε συνθήκες αλατότητας το χρώμα των φύλλων γίνεται σκούρο πράσινο και αποκτούν δερματώδη υφή. Σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 30 °C προκαλείται στασιμότητα στην ανάπτυξη του φυτού.

Η προετοιμασία του εδάφους γίνεται όταν το έδαφος έχει την σωστή περιεκτικότητα σε υγρασία. Το φρεζάρισμα γίνεται σε βάθος 20 εκ. όπου ενσωματώνεται η βασική λίπανση και η οργανική ουσία. Λίγο πριν την μεταφύτευση γίνεται η τελευταία κατεργασία που καθιστά το έδαφος επίπεδο και κατάλληλο για καλλιέργεια.

Αναφορικά με τα κύρια χαρακτηριστικά της λίπανσης του απαιτείται για το μαρούλι, αυτά είναι τα εξής (Ανώνυμος, 2010):

- Το χρονικό διάστημα εφαρμογής της μπορεί να είναι είτε πριν τη φύτευση του μαρουλιού (όταν δηλαδή προετοιμάζεται το χωράφι) είτε κατά τη διάρκεια της φύτευσής του. Επίσης το λίπασμα μπορεί είτε να διασκορπιστεί σε όλη την επιφάνεια του χωραφιού, ώστε να ενσωματωθεί από όλο το καλλιεργούμενο έδαφος, είτε μόνο στις γραμμές καλλιέργειας.
- Οι ποσότητες των θρεπτικών στοιχείων που χορηγούνται κατά τη λίπανση είναι μικρότερες στην περίπτωση που το λίπασμα χορηγείται μόνο στις γραμμές καλλιέργειας.
- Όσον αφορά τα βασικά θρεπτικά στοιχεία, η συνιστώμενη ποσότητα αζώτου (N) κυμαίνεται από 10 – 12 έως 15 – 20 κιλά ανά στρέμμα καλλιέργειας. Αντίστοιχα, η συνιστώμενη ποσότητα φωσφόρου (P) είναι 8 – 10 κιλά πεντοξείδιο του φωσφόρου (P₂O₅) ανά στρέμμα καλλιέργειας, ενώ η συνιστώμενη ποσότητα καλίου (K) είναι 25 -30 κιλά οξείδιο του καλίου (K₂O) ανά στρέμμα καλλιέργειας. Ιδιαίτερη μέριμνα πρέπει να δίνεται στην αναλογία καλίου και αζώτου στο καλλιεργούμενο έδαφος, η οποία πρέπει να είναι περίπου στο 3 κατά τους καλοκαιρινούς μήνες και περίπου στο 4 κατά τους χειμερινούς μήνες.
- Σχετικά με άλλα θρεπτικά στοιχεία, η συνιστάμενη ποσότητα μαγνησίου που πρέπει να χορηγηθεί (όταν παρατηρείται έλλειψή του) είναι 1,5 – 2 κιλά οξείδιο του μαγνησίου (MgO) ανά στρέμμα καλλιέργειας. Επίσης κατά τη λίπανση του μαρουλιού πρέπει να χορηγούνται και τα στοιχεία βόριο (B) και

μολυβδαίνιο (Mo), εφόσον διαπιστωθεί ότι αυτά είναι σε έλλειψη, καθότι το μαρούλι είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο σε τέτοιες συνθήκες.

- Ειδικότερα, όσον αφορά τη χορήγηση του αζώτου, αυτό παρέχεται μέσω νιτρικών ενώσεων σε 4 – 5 επιφανειακές δόσεις, ίσης ποσότητας μεταξύ τους, μετά τη φύτευση του μαρουλιού σε επαναλαμβανόμενα χρονικά διαστήματα (ανά 15 – 20 ημέρες). Βέβαια, η τελευταία χορήγηση αζώτου πρέπει να είναι σε χρονικό διάστημα 15 – 20 ημερών πριν τη συγκομιδή του μαρουλιού, έτσι ώστε να μην συσσωρευτεί υπερβάλλουσα ποσότητα νιτρικών αλάτων στα φύλλα του μαρουλιού.

Η επιφανειακή λίπανση γίνεται με αζωτούχα λιπάσματα (ασβεστούχο νιτρική αμμωνία ή νιτρική αμμωνία) που προστίθενται σε περιόδους 20 ημερών περίπου. Η προσθήκη των αζωτούχων λιπασμάτων πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή και όχι σε υψηλές ποσότητες, γιατί, ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες, μπορεί να αυξηθεί η συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα. Αν δεν πραγματοποιηθεί βασική λίπανση τα κύρια θρεπτικά στοιχεία (άζωτο, φώσφορος, κάλιο) δίνονται μαζί με το νερό άρδευσης (μέχρι 1 εβδομάδα πριν τη συγκομιδή), σε συγκεντρώσεις 100 ppm αζώτου, 30-50 ppm φωσφόρου και 150-200 ppm καλίου.

1.4.8 Άρδευση

Το μαρούλι είναι μια αρδευόμενη καλλιέργεια. Έχει σχετικά αβαθές ριζικό σύστημα και απαιτεί νερό σε τακτά χρονικά διαστήματα. Το καλό αρδευτικό νερό βοηθάει στην υγιή ανάπτυξη της καλλιέργειας.

Οι κυριότερες μέθοδοι άρδευσης για το μαρούλι είναι οι εξής (Τσιάδη, 2010):

- Με αυλάκια
- Με καταιονισμό (κατανομή του νερού από ψηλά), ώστε το νερό να κατανέμεται ομοιόμορφα
- Με τη μέθοδο στάγδην (μέσω σωλήνων που βρίσκονται κάτω από το πλαστικό κάλυψης του εδάφους)

1.4.9 Ασθένειες και εχθροί

Αρκετοί και σημαντικοί είναι οι εχθροί του μαρουλιού. Το μαρούλι μπορεί να προσβληθεί από διάφορους μύκητες, έντομα, και σαλιγκάρια, ενώ ζημιές μπορεί να προκαλέσουν τα πουλιά και τα τρωκτικά.

Κυριότερες μυκητολογικές ασθένειες:

α) *Περονόσπορος (Bremia lectucae)*: Προκαλεί μεταχρωματισμό των φύλλων. κηλίδες ανοιχτού πράσινου χρώματος αναπτύσσονται στην πάνω επιφάνεια του φύλλου. Στη συνέχεια αποκτούν καστανό χρώμα και ξηραίνονται.

β) *Ωίδιο*: Προκαλείται από τον μύκητα *Erysiphe cichoracearum* και ως επακόλουθο εμφανίζονται μικρές λευκές κηλίδες στην πάνω και κάτω επιφάνεια του φύλλου.

γ) *Ανθράκωση*: Προκαλείται από τον μύκητα *Marssonina ranattoniana* και ως επακόλουθο σχηματίζονται μικρές υδατώδεις κηλίδες στα φύλλα, όπου στην συνέχεια γίνονται καστανές και ξηραίνονται.

δ) *Σκληρωτίνια*: Η ασθένεια αυτή οφείλεται στον μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*, προκαλώντας σάπισμα στη περιοχή του λαιμού του φυτού.

ε) *Τεφρά σήψη*: Προκαλείται από τον μύκητα βοτρυτή (*Botrytis cinerea*) και ως επακόλουθο τα παλιά φύλλα μαλακώνουν (αυτά που βρίσκονται κοντά στο έδαφος)



Εικόνα 10: Οι κυριότερες μυκητολογικές ασθένειες του μαρουλιού (Πηγή: <http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/index.php/%CE%91%CF%83%CE%B8%CE%AD%CE%BD%CE%B5%CE%B9%CE%B5%CF%82%CE%BC%CE%B1%CF%81%CE%BF%CF%85%CE%BB%CE%B9%CE%BF%CF%8D>)

Κυριότεροι ζωικοί εχθροί:

- α) Αφίδες: μικρά πράσινα έντομα που αναπτύσσονται στην κάτω επιφάνεια των φύλλων, παραμορφώνονται και εμφανίζουν μια κολλώδη ουσία.
- β) Αλευρώδεις: μικρά λευκά έντομα όπου μυζούν τα φύλλα.
- γ) Σαλιγκάρια: τρώνε το φύλλωμα τις βραδινές ώρες



Εικόνα 11: Εχθροί του μαρουλιού (Πηγή: <https://blog.farmacon.gr/katigories/tehniki-arthrografia/kalliergitikes-praktikes/item/2122-i-kalliergeia-tou-marouliou>)

Ιώσεις:

α) *Μωσαϊκό του μαρουλιού*: Προκαλείται από τον ιό LMV (*Lactucae Mosaic Virus*) και ως επακόλουθο τα φύλλα του μαρουλιού κιτρινίζουν και κατσαρώνουν. Επιπρόσθετα, το έλασμα των φύλλων του μαρουλιού είναι ασύμμετρο, με πιο έντονες οδοντώσεις στην περιφέρεια, και τα φυτά δεν είναι σε θέση να αναπτύξουν «κεφάλι» (Ανώνυμος, 1993)

β) *Μεγαλονεύρωση του μαρουλιού*: Προκαλείται από τον ιό LBVV (*Lettuce Big Vein Virus*) και προσβάλλει τα μαρούλια σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους. Στα νεαρά φυτά παρατηρείται μειωμένη ανάπτυξη και ξήρανσή τους, ενώ στα μεγαλύτερα φυτά διογκώνονται τα νεύρα των φύλλων, οδηγώντας στην παραμόρφωσή τους και εν τέλει στο ζάρωμά τους (Farmacon, 2018a).



Εικόνα 12: Ιώσεις μαρουλιού (Πηγή: https://proplant.gr/sporofyta/letprob_12/)

1.4.10 Συγκομιδή

Η συγκομιδή γίνεται όταν τα φυτά αποκτήσουν εμπορεύσιμο μέγεθος, ανάλογα με τον τύπο του μαρουλιού και της ποικιλίας. Μεγάλο ρόλο στο χρόνο συγκομιδής

παίζουν και οι απαιτήσεις της αγοράς όσον αναφορά στο μέγεθος αλλά και στη ζήτηση.

Οι συνθήκες συγκομιδής του μαρουλιού απεικονίζονται και παρακάτω ως εξής:



Εικόνα 13: Συγκομιδή μαρουλιού (Πηγή:

[https://www.google.com/search?q=%CF%83%CF%85%CE%B3%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%B9%CE%B4%CE%B7+%CE%BC%CE%B1%CF%81%CE%BF%CF%85%CE%BB%CE%B9%CE%BF%CF%85&sxsrf=ACYBGNTQtBMMtYue5IH2HNTjIa9CqrrM-w:1579816571106&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwj3v5-s25rnAhVPYIAKHeG3CV4Q_AUoAXoECAwQAw&biw=1366&bih=635#imgrc=H2SsmzhezdlHeM: \)](https://www.google.com/search?q=%CF%83%CF%85%CE%B3%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%B9%CE%B4%CE%B7+%CE%BC%CE%B1%CF%81%CE%BF%CF%85%CE%BB%CE%B9%CE%BF%CF%85&sxsrf=ACYBGNTQtBMMtYue5IH2HNTjIa9CqrrM-w:1579816571106&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwj3v5-s25rnAhVPYIAKHeG3CV4Q_AUoAXoECAwQAw&biw=1366&bih=635#imgrc=H2SsmzhezdlHeM:))

Κεφάλαιο 2: Υλικά και μέθοδοι πειραματικής διαδικασίας

2.1 Περιγραφή της πειραματικής εγκατάστασης

2.1.1 Το Θερμοκήπιο

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε υαλόφρακτο, αυτοματοποιημένο θερμοκήπιο, που βρίσκεται εγκατεστημένο στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Γεωπονία Ιωαννίνων στους Κωστακιούς Άρτας.

Το θερμοκήπιο, συνολικής έκτασης 700 m² (600 m² χώρος καλλιέργειας και 100 m² βοηθητικός χώρος) είναι αμφίρρικτο πολλαπλό, καλυμμένο με υαλοπίνακες. Είναι θερμαινόμενο με κεντρικό σύστημα θέρμανσης και εξοπλισμένο με σύστημα αυτόματης διαχείρισης του κλίματος. Η σπορά πραγματοποιήθηκε 21 Σεπτεμβρίου του 2018 (Εικόνα 14) και η μεταφύτευση έγινε στις 17 Οκτωβρίου του 2018 (Εικόνα 15).



Εικόνα 14: Η φύτευση των σπόρων και η προετοιμασία των γλαστρών για την μεταφύτευση

Σε κάθε γλάστρα μεταφυτεύθηκε ένα φυτό και τοποθετήθηκαν σε κανάλια καλλιέργειας με απόσταση μεταξύ τους 20 cm (εικόνα 15) και ποτίζονταν ανά δύο μέρες. Αμέσως μετά τη μεταφύτευση τα φυτά αρδεύτηκαν με θρεπτικό διάλυμα.



Εικόνα 15: Τοποθέτηση γλαστρών σε πειραματικά κανάλια πριν και μετά την μεταφύτευση

2.2 Περιγραφή του πειράματος

2.2.1 Η καλλιέργεια

Σπόροι μαρουλιού, ποικιλίας Storfighter αναπτύχθηκαν σε 120 πλαστικά γλαστράκια φυτωρίου μέχρι το τέταρτο πραγματικό φύλλο (Εικόνα 15). Κατά την διάρκεια αυτής της περιόδου τα φυτά ποτιζόταν τακτικά με νερό. Στη συνέχεια τα φυτά μεταφυτεύθηκαν σε 20 γλάστρες όγκου τριών λίτρων με διάμετρο 20 cm, οι οποίες περιείχαν μίγμα 1:1 τύρφης και περλίτη.

2.2.2 Σχεδιασμός του πειράματος

Εγκαταστάθηκαν τέσσερις πειραματικές επεμβάσεις (μεταχειρίσεις). Κάθε μεταχείριση είχε τέσσερις επαναλήψεις, τυχαία κατανεμημένες σε δύο πάγκους στο χώρο του θερμοκηπίου (Εικόνα 15). Στην πρώτη (μάρτυρας) και δεύτερη μεταχείριση τα φυτά αρδεύονταν μόνο με θρεπτικό διάλυμα, ενώ στις άλλες δύο με θρεπτικό διάλυμα με την προσθήκη NaCl. Στη δεύτερη και την τέταρτη μεταχείριση τα φυτά ψεκάζονταν κάθε 15 ημέρες με διάλυμα βιοδιεγέρτη millerplex 3-3-3 (οργανικό λίπασμα με εκχύλισμα από φύκια) (Εικόνα 16), σε συγκέντρωση 2 ml σκευάσματος/200ml νερού (Πίνακας 2). Όλες οι μεταχειρίσεις αρδεύονταν με

θρεπτικό διάλυμα κάθε 2 ημέρες περίπου (200-400ml/γλάστρα ανάλογα με τις συνθήκες). Το θρεπτικό διάλυμα παρασκευάζονταν με την ανάμειξη 0,5 g λιπάσματος 14-0-46 και 0,24g λιπάσματος 12-48-8 ανά λίτρο νερού και η τελική του συγκέντρωση ήταν 100 ppm N, 30 ppm P₂O₅ και 150 ppm K₂O, όπου στην τρίτη και την τέταρτη μεταχείριση στο θρεπτικό διάλυμα προσθέτονταν 1,46 gNaCl ανά λίτρο νερού (24 mMNaCl).



Εικόνα 16: Βιοδιεγέρτης millerplex 3-3-3 (οργανικό λίπασμα με εκχύλισμα από φύκια)

	<i>METAXEIRISEIS</i>
1η Μεταχείριση: Μάρτυρας	Άρδευση με θρεπτικό διάλυμα
2η Μεταχείριση: Βιοδιεγέρτης(B)	Άρδευση με θρεπτικό διάλυμα +βιοδιεγέρτη
3η Μεταχείριση: Μάρτυρας και διάλυμα NaCl(MA)	Άρδευση με θρεπτικό διάλυμα και διάλυμα χλωριούχου νατρίου
4η Μεταχείριση: Βιοδιεγέρτης και διάλυμα NaCl (BA)	Άρδευση με θρεπτικό διάλυμα, βιοδιεγέρτη και διάλυμα χλωριούχου νατρίου

Πίνακας 2: Οι μεταχειρίσεις του πειράματος

2.2.3 Δειγματοληψίες - αναλύσεις

Για την μέτρηση της αγωγιμότητας στο διάλυμα απορροής έγιναν 7 μετρήσεις από 2/11/2019 έως 19/12/2019. Για τη μέτρηση της αγωγιμότητας στο υπόστρωμα λαμβάνονταν 15g υποστρώματος και τοποθετούνταν σε πλαστικά φιαλίδια φυγοκέντρησης τύπου falcon, όπου στη συνέχεια προσθέτονταν 45 ml απιονισμένο νερό. Ακολουθούσε ανάδευση για 30 min σε πλάκα οριζόντιας ανακίνησης. Οι μετρήσεις της EC και του pH πραγματοποιούνταν με τη χρήση ενός φορητού αγωγιμόμετρου Cyber Scan 10 Con και ενός φορητού pH-μετρου Cyber Scan 10 pH.

Για την μέτρηση του νωπού και ξηρού βάρους πραγματοποιήθηκαν πέντε δειγματοληψίες το διάστημα από τον Νοέμβριο του 2018 μέχρι τον Ιανουάριο του 2019 και συγκεκριμένα στις ημερομηνίες 7/11/2018, 16/11/18, 30/11/18, 19/12/18, 10/1/19. Δύο φυτά, τυχαία επιλεγμένα από κάθε μεταχείριση, ξεπλένονταν ελαφρώς και έπειτα κοβόταν η ρίζα στο σημείο ένωσης με τον βλαστό. Τα υπέργεια μέρη των φυτών ζυγίζονταν, μετρούνταν η επιφάνεια των φύλλων και στη συνέχεια τοποθετούνταν σε φούρνο ξήρανσης (Memmert, model 500) στους 80° C μέχρι τη σταθεροποίηση του βάρους τους, το οποίο και καταγραφόταν. Στα συλλεχθέντα δείγματα μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις χλωροφύλλης και ολικών φαινολικών φασματοφωτομετρικά σύμφωνα με την παρακάτω πειραματική πορεία.

Τα δεδομένα που αφορούσαν στην EC, στο διάλυμα απορροής και στο υπόστρωμα, τις συγκεντρώσεις των χλωροφυλλών, των ολικών φαινολικών, στο νωπό και ξηρό βάρος των φύλλων αναλύθηκαν γραφικά. Για τη δημιουργία των γραφημάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης excel.

I. Μέθοδος προσδιορισμού φαινολικών

A. Σκεύη – Όργανα

- Ακετόνη 90% Merck
- Απιονισμένο ύδωρ από ιοντοεναλλακτική ρητίνη τύπου Dionex
- Φασματοφωτόμετρο Υπεριώδους-Ορατού τύπου HITACHI model U-1800.
- Ποτήρι ζέσεως 50 mL,

- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες με βιδωτό πώμα
- Κωνική φιάλη με γυάλινη πλάγια είσοδο 100 mL (για αφυδάτωση)
- Ογκομετρικοί κύλινδροι 25 mL, 50 mL, 100 mL, 1000 mL
- Κυψελίδες και γυάλινες οπτικής διαδρομής 1 cm και 1 mm.
- Υδροβολείς
- Χωνί
- Λαβίδα
- Δηθητικό χαρτί
- Μικροπιπέττες όγκου 1-10 μL , 5-50 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL , 200-1000 μL
- Ηλεκτρονικός ζυγός
- Γουδί λειοτρίβισης
- Γουδοχέρι

B. Αντιδραστήρια

1. 80% ακετόνη, 20% H_2O (διαλύτης εκχύλισης για τα φύλλα)
2. Απιονισμένο H_2O , ή
3. Διάφορα φύλλα
4. Na_2CO_3 περιεκτικότητας 7,5 % (3,75 gr σε 50 mL απιονισμένο νερό)
5. Αντιδραστήριο Folin Ciocalteu 0,2 N σε αραιώση 1/10 εταιρείας Sigma
6. Γαλλικό οξύ (GA, Gallic acid)

II. Μέθοδος προσδιορισμού χλωροφυλλών

A. Σκεύη – Όργανα

- Ακετόνη 90% Merck
- Απιονισμένο ύδωρ από ιοντοεναλλακτική ρητίνη τύπου Dionex
- Φασματοφωτόμετρο Υπεριώδους-Ορατού τύπου HITACHI model U-1800.
- Ποτήρι ζέσεως 50 mL,
- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες με βιδωτό πώμα
- Κωνική φιάλη με γυάλινη πλάγια είσοδο 100 mL (για αφυδάτωση)
- Ογκομετρικοί κύλινδροι 25 mL, 50 mL, 100 mL, 1000 mL
- Κυψελίδες και γυάλινες οπτικής διαδρομής 1 cm και 1 mm.
- Υδροβολείς
- Χωνί
- Λαβίδα
- Διηθητικό χαρτί
- Μικροπιπέττες όγκου 1-10 μL , 5-50 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL , 200-1000 μL
- Ηλεκτρονικός ζυγός
- Γουδί λειοτρίβισης
- Γουδοχέρι

B.Αντιδραστήρια

1. 80% ακετόνη, 20% H_2O (διαλύτης εκχύλισης για τα φύλλα)
2. Απιονισμένο H_2O , ή
3. Διάφορα φύλλα

Γ.Πορεία εργασίας

Για την μέτρηση της ολικής ποσότητας φαινολικών χρησιμοποιήσαμε το μέθοδο προσδιορισμού πολικών φαινολικών (Folin Ciocalteu, FC). Έγιναν πέντε δειγματοληψίες τις ημερομηνίες 7/11/2018, 16/11/18, 30/11/18, 19/12/18, 10/1/2019. Από τα φύλλα που επιλέχθηκαν ζυγίστηκε 0,26-0,30 g φύλλου και τοποθετήθηκε σε γουδί, προστέθηκαν 13mL ακετόνη 80:20 (v/v) και αναδεύθηκε μέχρι ομογενοποίησης του μείγματος. Στην συνέχεια το μείγμα τοποθετούνταν σε φιαλίδια

των 15mL και έπειτα στο ψυγείο για 8 ώρες στους 4oC μέχρι να ολοκληρωθεί η διαδικασία της εκχύλισης. Τέλος, διαχωρισμός των αιωρούμενων στερεών σωματιδίων γίνονταν με φυγοκέντρηση στις 1000 rpm για 2 min.

Από το υπερκείμενο μετά την φυγοκέντρηση πήραμε 100μL από κάθε δείγμα εκχυλίσματος, τα οποία τοποθετήσαμε σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Ακολούθως προσθέσαμε τα αντιδραστήρια με την ακόλουθη σειρά : 270μL απιονισμένου ύδατος 1.5 mL F.C (1:10) και 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5% w/v και η ανάμειξη γίνεται στο vortex. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 40°C για 15min ώσπου να ολοκληρωθεί η αντίδραση. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 765 nm ως προς δείγμα ελέγχου, ενώ κατασκευάστηκε και πρότυπη καμπύλη αναφοράς με γαλλικό οξύ (GA).

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ουσία γαλλικό οξύ (Gallicacid, GA). Διάλυμα γαλλικού οξέος (1 mg/L): Σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL, διαλύθηκαν 0.05 g ξηρού γαλλικού οξέος με την προσθήκη 5 mL αιθανόλης και αραιώθηκαν με απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια παρασκευάστηκαν με αραιώσεις από το πυκνό διάλυμα μια σειρά προτύπων διαλυμάτων γαλλικού οξέος (δευτερογενή πρότυπα) σε όγκο 10 mL. Η σειρά των προτύπων διαλυμάτων GA με αραιώση που παρασκευάστηκε είναι: 20, 50, 100, 150 και 200 ppm.

Η διαδικασία για την μέτρηση των προτύπων διαλυμάτων γαλλικού οξέος ήταν η ακόλουθη: από κάθε αραιωμένο πρότυπο πήραμε όγκο 100μL τα οποία τοποθετήσαμε σε δοκιμαστικούς σωλήνες έπειτα προσθέσαμε 270μL απιονισμένο νερό, 1,5 mL FC (1:10) και 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5% w/v. Ύστερα από ανάδευση στο vortex τοποθετήσαμε στο υδατόλουτρο τα δείγματα για 15min στους 40°C. Αφού έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου, φωτομετρήθηκαν στα 765 nm. Τα αποτελέσματα αναφέρονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Gallic Acidequivalent) ανά L διαλύματος.

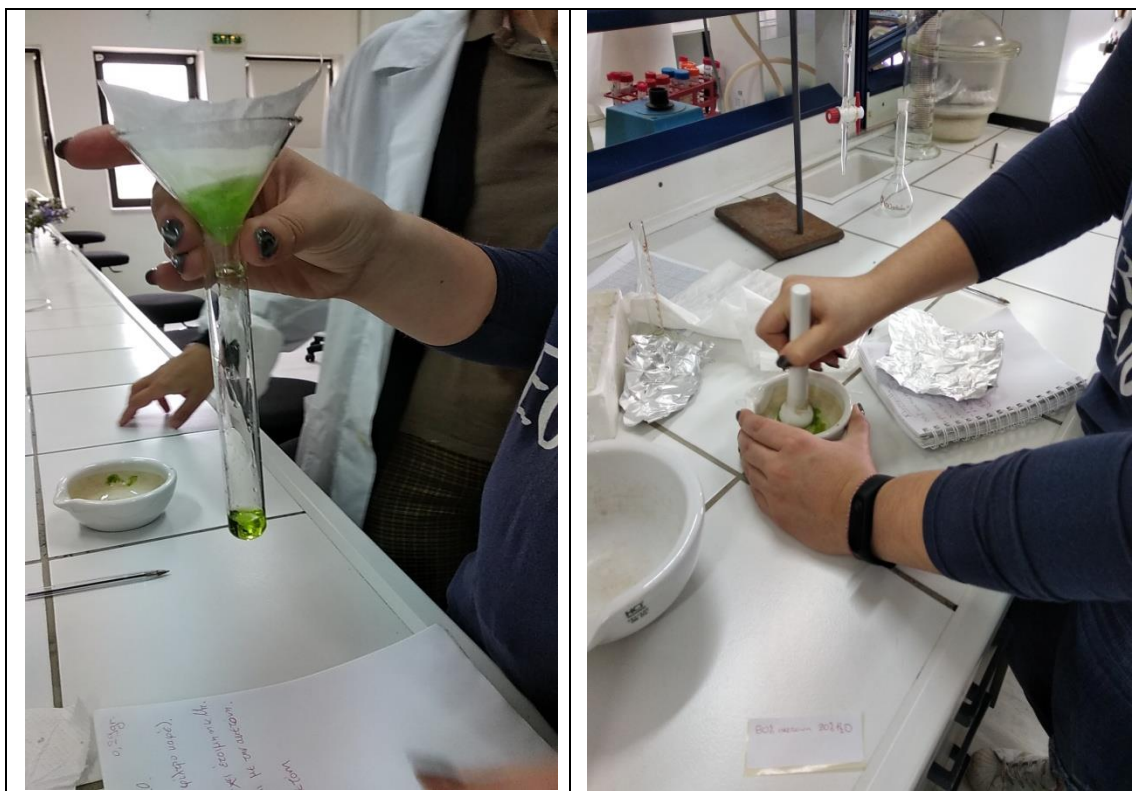
Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών έγινε μέσω της πρότυπης καμπύλης αναφοράς του γαλλικού οξέος επί την αραιώση (Ολικά φαινολικά = C x αραιώση mg/L γαλλικού οξέος). Το τελικό αποτέλεσμα εκφράστηκε σε mg GAE/g βάρους νωπών φύλλων.

Η μέτρηση της απορρόφησης για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών ουσιών στα εκχυλίσματα φύλλων μαρουλιού πραγματοποιήθηκε στα 756 nm. Η ανάλυση έγινε με τη βοήθεια της πρότυπης καμπύλης. Ο υπολογισμός των τιμών έγινε με την εξίσωση του γραφήματος $A = 0,003C - 0,020$. Κατόπιν, υπολογίστηκε ο μέσος όρος για κάθε τιμή. Τέλος, έγινε η μετατροπή των τιμών σε mg GAE/g βάρους νωπών φύλλων.

Παρασκευή εκχυλίσματος πράσινων φύλλων - Λήψη φάσματος χλωροφυλλών

Από τα φύλλα που επιλέχθηκαν ζυγίστηκε 0,26-0,30 g φύλλου και τοποθετήθηκε σε γουδί προστέθηκαν 13ml ακετόνη 80:20 (v/v) και αναδεύθηκε μέχρι ομογενοποίησης του μείγματος.

Στην συνέχεια το μείγμα τοποθετούνταν σε φιαλίδια των 15ml και έπειτα στο ψυγείο για 8 ώρες στους 4 °C μέχρι να ολοκληρωθεί η διαδικασία της εκχύλισης. Τέλος, ο διαχωρισμός των αιωρούμενων στερεών σωματιδίων γίνονταν με φυγοκέντρηση στις 1000 rpm για 2 min. Η χλωροφύλλη μετρούνταν στα 645 και 663 nm σε φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης HITACHI model U-1800.



Εικόνα 17: Παρασκευή εκχυλίσματος πράσινων φύλλων

III. Υπολογισμός της ποσότητας της χλωροφύλλης και στα δύο εκχυλίσματα.

Η ποσότητα της χλωροφύλλης σε mg/gr φύλλου προσδιορίζεται από τις σχέσεις:

$$\text{Χλωροφύλλη a} = ((12,7 \times A_{663}) - (2,6 \times A_{645})) \times \text{mL διαλύτη} / \text{mg φύλλου}$$

$$\text{Χλωροφύλλη b} = ((22,9 \times A_{645}) - (4,68 \times A_{663})) \times \text{mL διαλύτη} / \text{mg φύλλου}$$

Με βάση τις δύο εξισώσεις, που ονομάζονται εξισώσεις του Daniel Arnon, υπολογίζεται η ποσότητα της χλωροφύλλης a και της χλωροφύλλης b.

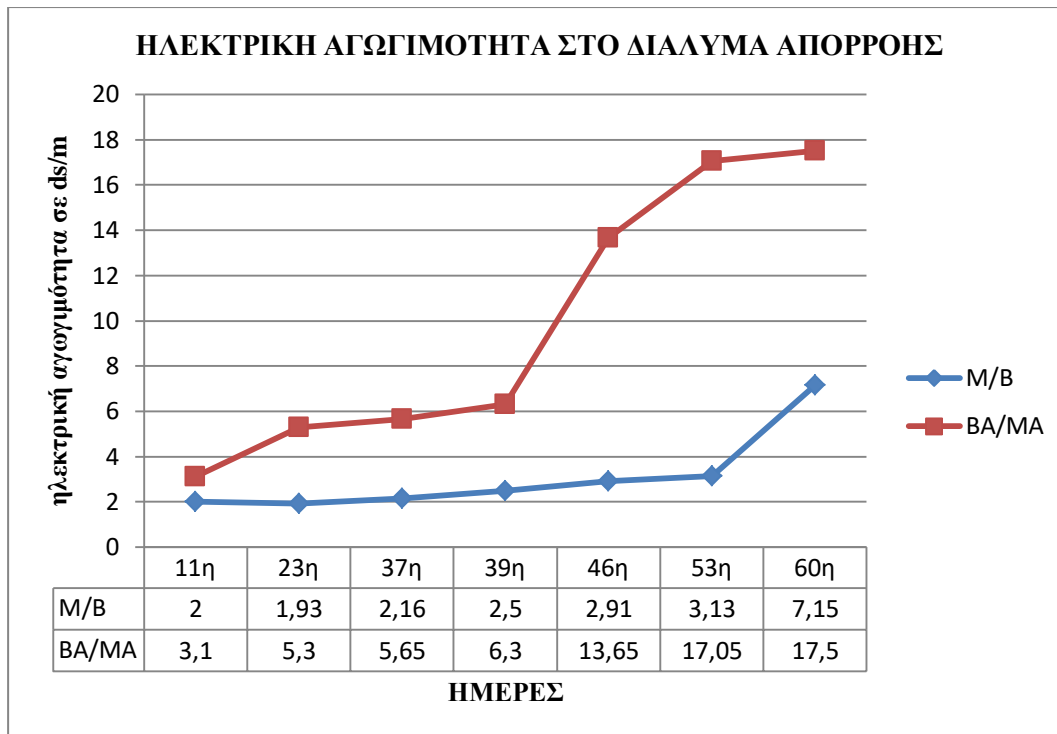
2.3 Αποτελέσματα - συζήτηση

Από το νερό που χορηγείται σε μια καλλιέργεια ένα μέρος εξατμίζεται και ένα μεγαλύτερο μέρος απορροφάται από τα φυτά. Τα διαλυτά άλατα, που περιέχει το νερό που εξατμίζεται, παραμένουν στο έδαφος. Επιπλέον, λόγω των μηχανισμών εκλεκτικής απορρόφησης και απέκκρισης που διαθέτουν τα φυτά, ένα μέρος των αλάτων που περιέχονται σε υπερβολική συγκέντρωση στο νερό που απορροφάται ή δεν είναι αναγκαία για την ανάπτυξη των φυτών, παραμένει επίσης στο έδαφος. Ως τελικό αποτέλεσμα, η συσσώρευση των αλάτων στο έδαφος αυξάνεται. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι προκαλούνται προβλήματα στην καλλιέργεια μαρουλιού από την υπερβολική συγκέντρωση NaCl ακόμη και αν χρησιμοποιηθεί βιοδιεγέρτης στο νερό άρδευσης.

Η αύξηση της EC είναι συνηθισμένο φαινόμενο κατά την διάρκεια της καλλιέργειας. Η συσσώρευση των ιόντων είναι αποτέλεσμα των μηχανισμών άμυνας που έχουν αναπτύξει τα φυτά ενάντια στην αλατότητα και οι οποίοι συνίστανται στον έλεγχο της εισόδου των ιόντων στο εσωτερικό της ρίζας και τον ενεργό αποκλεισμό αυτών που δεν είναι χρήσιμα για την θρέψη του φυτού από τους αγωγούς ιστούς (κύτταρα ενδοδερμίδας - ταινία Κάσπαρι) και στην ενεργό εξαγωγή τους στο εξωτερικό διάλυμα (Greenway and Munns 1980, Κωνσταντινίδου, 2003).

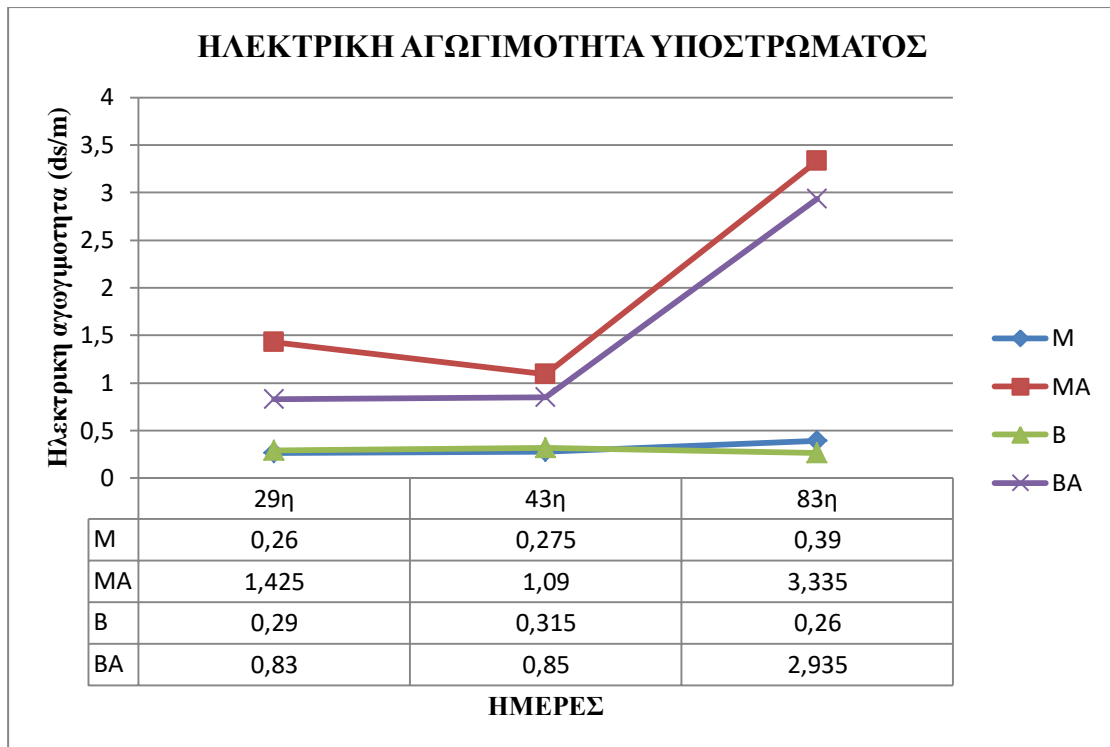
2.3.1 Ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC)

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 1, η αύξηση της EC στο διάλυμα απορροής ακολουθεί το πρότυπο της σιγμοειδούς καμπύλης για τις μεταχειρίσεις στις οποίες είχε προστεθεί διάλυμα χλωριούχου νατρίου, ενώ στις δύο που δεν χρησιμοποιήθηκε NaCl υπήρξε ήπια αύξηση της AC. Στις 20 - 25 ημέρες από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας η αύξηση ήταν σχετικά αργή, επιταχύνθηκε στη συνέχεια, για να σταθεροποιηθεί τελικά 70 - 80 ημέρες από την έναρξη σε διαφορετικά επίπεδα για κάθε επέμβαση. Έτσι, για τις μεταχειρίσεις μάρτυρας-αλατότητα (MA) και βιοδιεγέρτης-αλατότητα (BA) οι τιμές της EC κυμάνθηκαν από 3,1 έως 17,1 dSm^{-1} , για αυτές που δεν έγινε χρήση διαλύματος NaCl στο νερό άρδευσης (μάρτυρας, M και βιοδιεγέρτης, B) η αύξηση της EC στο διάλυμα απορροής, 80 περίπου ημέρες από την έναρξη του πειράματος ήταν σχετικά μικρή, 2 έως 7,15 dSm^{-1} .



Διάγραμμα 1: Ηλεκτρική Αγωγιμότητα (EC). Αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο διάλυμα απορροής, λόγω της συσσώρευσης του NaCl

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 2, η αύξηση της EC στο υπόστρωμα, συνεπώς και στο περιβάλλον των ριζών, στις 20 - 30 ημέρες από την έναρξη του πειράματος ήταν σχετικά αργή, επιταχύνθηκε στη συνέχεια, για τις μεταχειρίσεις στις οποίες είχε προστεθεί διάλυμα χλωριούχου νατρίου (MA και BA), ενώ στις δύο στις οποίες δεν χρησιμοποιήθηκε χλωριούχο νάτριο (M και B), ήταν σταθερή μετά από 70 - 80 ημέρες Έτσι, στη μεταχείριση MA οι τιμές της EC κυμάνθηκαν από 1,3 έως 3,3 dSm^{-1} , στη μεταχείριση BA την οποία εκτός από NaCl στο νερό άρδευσης έγινε χρήση βιοδιεγέρτη διαπιστώθηκε αντίστοιχη αύξηση των τιμών (από 0,80 έως 2,9 dSm^{-1}). Αντίθετα στις μεταχειρίσεις στις οποίες δεν έγινε χρήση διαλύματος NaCl στο νερό άρδευσης η αύξηση της EC στο υπόστρωμα, 80 περίπου ημέρες από την έναρξη του πειράματος ήταν σχετικά μικρή, 0,25 έως 0,30 dSm^{-1} .



Διάγραμμα 2: Ηλεκτρική Αγωγιμότητα υποστρώματος (EC). Αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο υπόστρωμα, λόγω της συσσώρευσης του NaCl

2.3.2 Συγκέντρωση χλωροφύλλης

Οι συγκεντρώσεις χλωροφύλλης στα φύλλα μαρουλιού παρουσίασαν μικρές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων και μικρές αυξομειώσεις κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας (Διάγραμμα 4). Η μεγαλύτερη αρχική συγκέντρωση 0,795mg/L παρατηρήθηκε στη μεταχείριση στην οποία χρησιμοποιήσαμε βιοδιεγέρτη και επιπλέον διάλυμα χλωριούχου νατρίου (BA), ενώ η μικρότερη συγκέντρωση 0.6255mg/l παρατηρήθηκε στη μεταχείριση στην οποία χρησιμοποιήθηκε μόνο το πρότυπο θρεπτικό διάλυμα. Η χλωροφύλλη α κυμάνθηκε σε μεγαλύτερο εύρος τιμών συγκεντρώσεων σε σχέση με τη χλωροφύλλη β. Επίσης, όσον αφορά πάντα τη χλωροφύλλη α, και στις τέσσερις μεταχειρίσεις που ξεκίνησαν από σχετικά χαμηλές τιμές, σημείωσαν ένα μέγιστο συγκέντρωσης περίπου στα φύλλα που είχαν ηλικία 35 ως 50 ημερών, και μετά μειώθηκαν. Το ίδιο περίπου ισχύει και για τη χλωροφύλλη β, όπου επίσης τα φύλλα που είχαν ηλικία 35 ως 50 ημερών εμφάνισαν αυξημένες συγκεντρώσεις, μικρότερες ωστόσο από τις αντίστοιχες της χλωροφύλλης α.

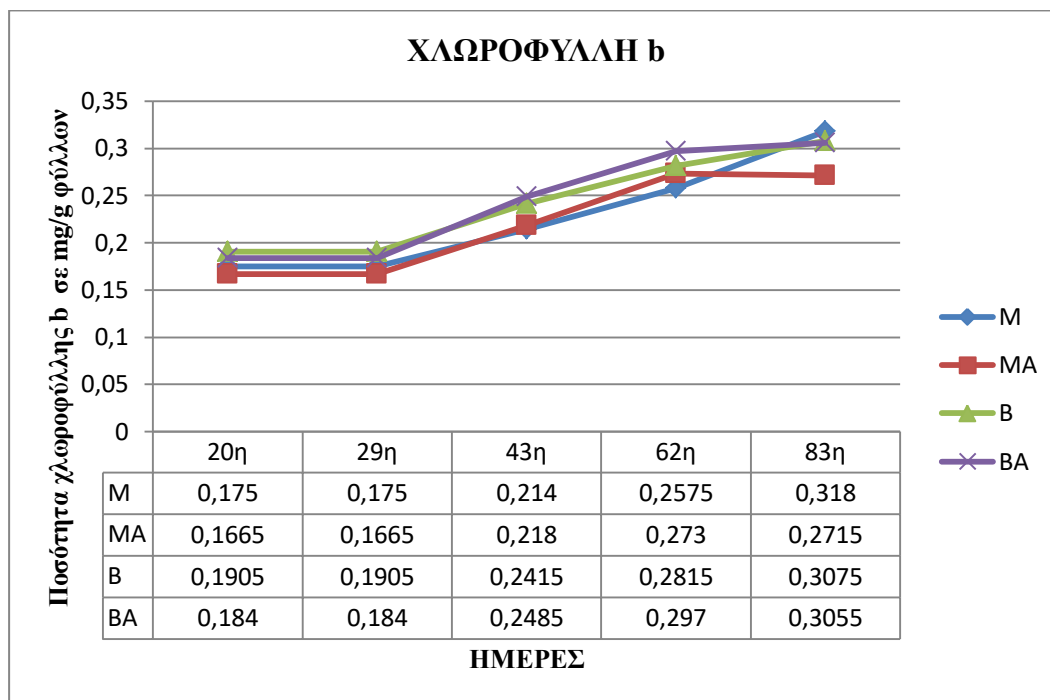
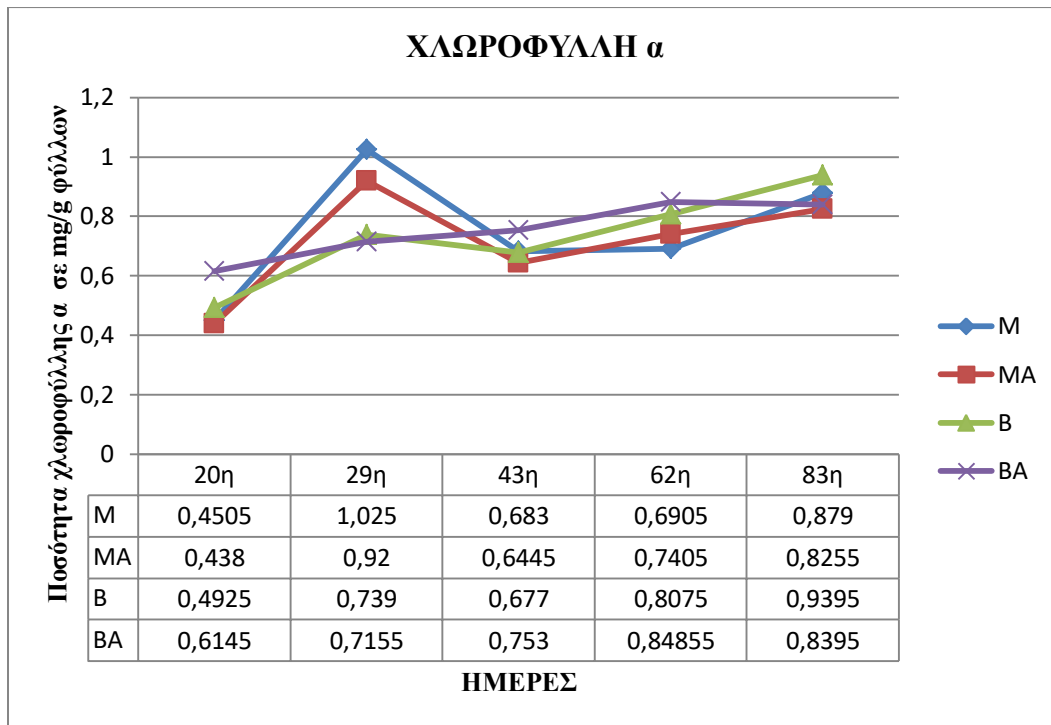
Οι συγκεντρώσεις των φωτοσυνθετικών χρωστικών στα φύλλα διαμορφώνονται από μια συνεχή διαδικασία σύνθεσης και αποδόμησης αυτών. Στα πρώτα στάδια ανάπτυξης του φύλλου, κυριαρχούν οι διεργασίες σύνθεσης, ενώ αργότερα

υπερτερούν οι αντιδράσεις αποσύνθεσης. Γενικά, οι χλωροφύλλες αυξάνουν στη διάρκεια της αύξησης του φύλλου ως μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης και μετά, καθώς τα φύλλα γηράσκουν, μειώνονται (Pessarakli, 1997). Τόσο η αυξημένη αλατότητα, όσο και η εφαρμογή του βιοδιεγέρτη δεν φαίνεται να είχαν κάποια επίδραση στη συγκέντρωση χλωροφυλλών στα φύλλα του μαρουλιού.

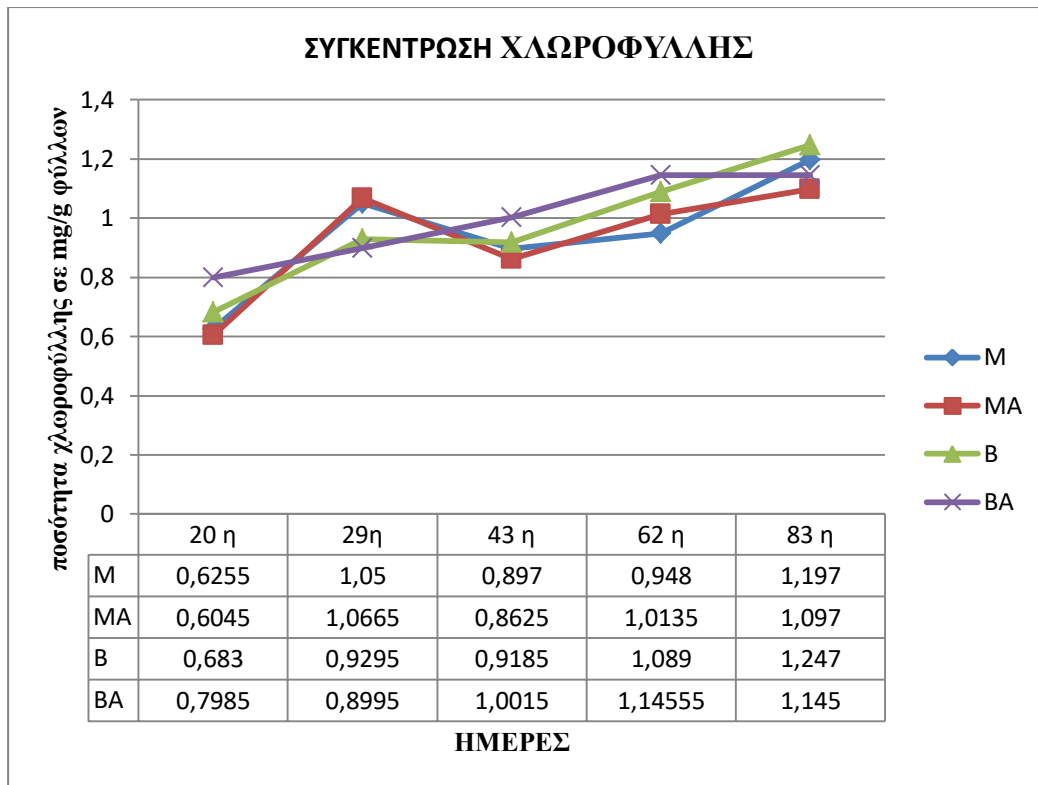
Η φωτοσύνθεση, μαζί με την κυτταρική ανάπτυξη, είναι μεταξύ των πρωταρχικών διεργασιών που επηρεάζονται από την ξηρασία (Chaves, 1991) ή από αλατότητα (Munns et al., 2006). Οι συνέπειες της ξηρασίας και της αλατότητας στη φωτοσύνθεση ποικίλουν ανάλογα με την ένταση και η διάρκεια του stress, καθώς και με την ηλικία του φύλλου (τα νεαρά φύλλα πλήττονται περισσότερο από την υψηλή αλατότητα) και το είδος του φυτού (Lawlor and Cornic, 2002; Munns, 2002; Chaves et al., 2003; Flexas et al., 2004).

Η φυτική παραγωγή βιομάζας εξαρτάται από τη συγκέντρωση των προϊόντων του άνθρακα μέσω της φωτοσύνθεσης και επηρεάζεται από την αυξημένη αλατότητα διαμέσου της αρνητικής επίδρασής της στην φωτοσύνθεση.

Παρά το γεγονός ότι οι Misra et al. (1997) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αλατότητα προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης στα φύλλα, η οποία θα μπορούσε επίσης να οφείλεται και στην αύξηση του αριθμού των χλωροπλαστών αλλά και στην μείωση της φυλλικής επιφάνειας. Οι Yeo και Flowers (1983) και Asch et al. (2000) ανέφεραν ότι το όριο της συγκέντρωσης Na θα πρέπει να αυξηθεί πάρα πολύ στα φύλλα έτσι ώστε να προκαλέσει ταχεία γήρανση και, κατά συνέπεια, μείωση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης, όπως για παράδειγμα διαπιστώνεται από μετρήσεις με το SPAD, ένα φορητό διαγνωστικό εργαλείο που μέτρα το πράσινο χρώμα (συγκέντρωσης χλωροφύλλης) των φύλλων.



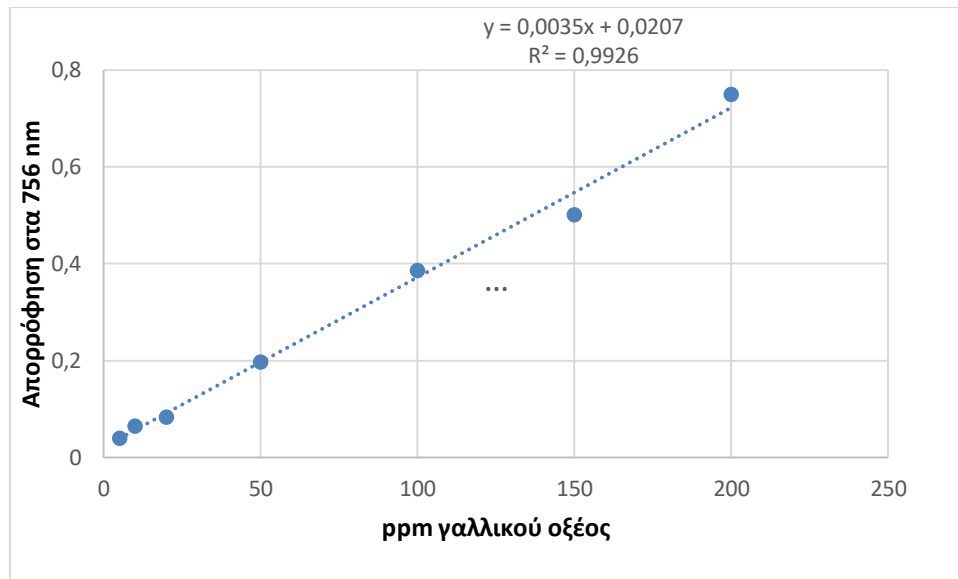
Διάγραμμα 3: Συγκεντρώσεις χλωροφύλλης α.β σε mg/g φύλλων



Διάγραμμα 4: Συνολική συγκέντρωση χλωροφύλλης σε mg/g φύλλου

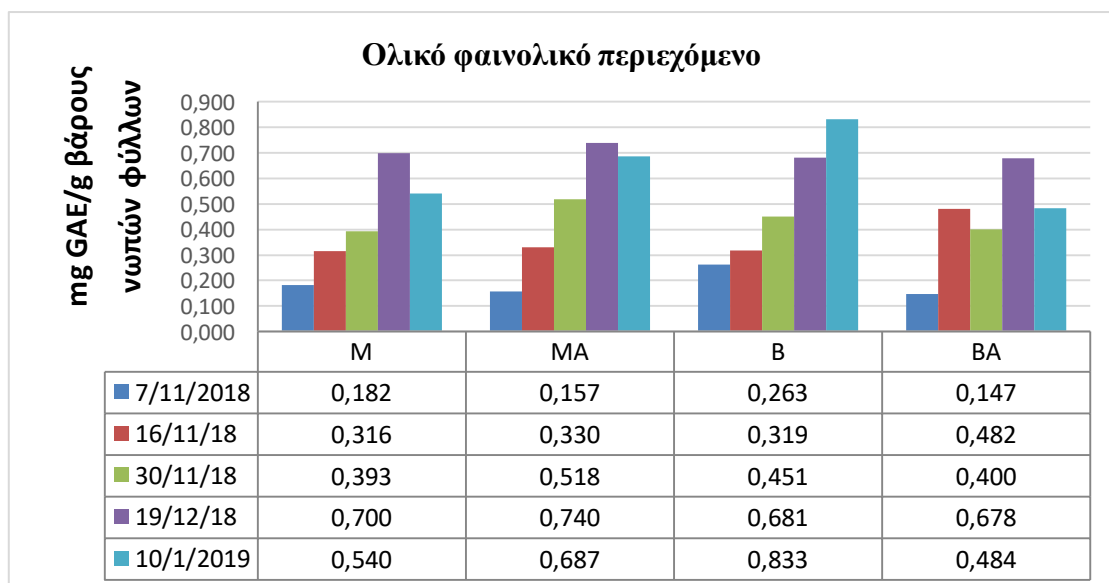
2.3.3 Ολικές φαινολικές ενώσεις - Μέθοδος Folin – Ciocalteu

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων γαλλικού οξέος στα 756 nm. Η πρότυπη καμπύλη έχει γραμμικό συντελεστή 0,992 και ακολουθεί την εξίσωση $A = 0,003C - 0,020$ (όπου A η απορρόφηση στα 756 nm – άξονας Y, και C η συγκέντρωση σε mg του γαλλικού οξέος – άξονας X).



Διάγραμμα 5: Πρότυπη καμπύλη για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών ουσιών με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται το ολικό φαινολικό περιεχόμενο για τα εκχυλίσματα φύλλων μαρουλιού. Η μεγαλύτερη αρχική συγκέντρωση 0,263 mgGAE/g φύλλων παρατηρήθηκε στη μεταχείριση στην οποία χρησιμοποιήσαμε βιοδιεγέρτη (B) ενώ η μικρότερη συγκέντρωση 0.147 mg GAE/g φύλλων παρατηρήθηκε στη μεταχείριση στην οποία χρησιμοποιήθηκε διάλυμα υψηλής αλατότητας και βιοδιεγέρτης. Ο συσχετισμός αυτός δεν άλλαξε κατά την διάρκεια του πειράματος.



Διάγραμμα 6: Οι ολικές φαινολικές ενώσεις σε mgGAE/ g νωπών φύλλων

Με βάση τα διαγράμματα, παρατηρούμε ότι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο τελικά είναι χαμηλότερο στις μεταχειρίσεις με την μεγαλύτερη αλατότητα διότι αυτές εκτέθηκαν σε έντονο στρες αντίθετα τις υψηλότερες συγκεντρώσεις ολικών φαινολικών συστατικών έχουν οι μεταχειρίσεις στις οποίες χρησιμοποιήθηκε βιοδιεγέρτης χωρίς παρουσία NaCl.

Σε υψηλή αλατότητα τα φυτά συσσωρεύουν ποικίλα ωσμωπροστατευτικά όπως : Σάκχαρα και αλκοόλες της ζάχαρης (Soussi et al., 1998; Agastian et al., 2000), Προλίνη (Mattioni et al., 1997; Soussi et al., 1998; Agastian et al., 2000), Glycine-βηταΐνης (Aspinall and Paleg ,1981; Kozlowski, 1997; Sakamoto and Murata, 2000; Agastian et al., 2000; Meloni et al., 2004; Parida and Das, 2005; Lee et al., 2008) για την προστασία και την επιβίωση των φυτών από τις βλαβερές συνέπειες της υψηλής αλατότητας, την προστασία των μεμβρανών των κυττάρων, την απομάκρυνση των δραστικών μορφών οξυγόνου, την προστασία της δομής των πρωτεϊνών, την μείωση του ωσμωτικού δυναμικού καθώς και τη σταθεροποίηση των ενζύμων (Greenway and Munns, 1980; Zhu, 2001; Schulze et al., 2002; De Pascale et al., 2003; Taiz and Zeiger, 2002; Gleeson et al., 2005; Ashraf and Foolad, 2007; Koca et al., 2007).

Η προλίνη δρα ως ωσμωλύτης για τη ρύθμιση της ωσμωτικής πίεσης. Επίσης συνεισφέρει στην σταθερότητα των υποκυτταρικών δομών (π.χ. μεμβράνες και πρωτεΐνες), αλληλεπιδρώντας με φωσφολιπίδια. Η προλίνη βοηθά στην απενεργοποίηση ελεύθερων ριζών, ως πηγή ενέργειας και αζώτου, ρυθμίζει τα εν δυνάμει δυναμικά κάτω από συνθήκες καταπόνησης και αποτελεί σημαντικό συστατικό των πρωτεϊνών στα κυτταρικά τοιχώματα.

Η αύξηση της συγκέντρωσης της προλίνης κατά τη διάρκεια της υψηλής αλατότητας είναι μοναδική σε σχέση με άλλα ελεύθερα αμινοξέα στον ίδιο ιστό (Aspinall and Paleg, 1981; Handa et al., 1983; Sivaramakrishnan et al., 1988), αν και παρόμοια με άλλες διαλυτές ουσίες μικρού μοριακού βάρους όπως σάκχαρα και οργανικά οξέα (Ford, 1984; Newton et al., 1986; Sivaramakrishnan et al., 1988). Αυτές οι ενώσεις μπορεί να ενεργούν και ως ωσμωτικές διαλυτές ουσίες (Lange et al., 1998).

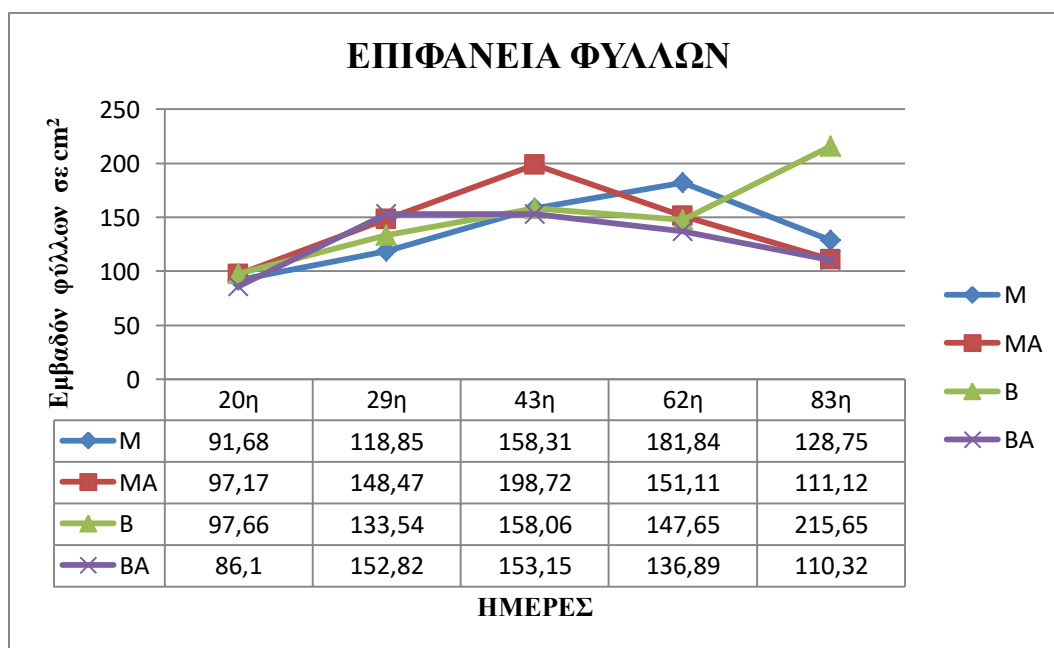
Οι Sánchez et al. (1998) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο ρόλος της προλίνης είναι να ελαχιστοποιηθούν οι ζημιές που προκαλούνται από την αφυδάτωση, η οποία

προκαλείται είτε από την έλλειψη νερού είτε από την υψηλή αλατότητα. Παρόμοια αποτελέσματα είχαν αναφερθεί και από τους Wang et al. (1999).

Ένας μεγάλος αριθμός φυτών συσσωρεύει προλίνη ως αποτέλεσμα της υψηλής αλατότητας και αυτή η συσσώρευση μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην καταπολέμηση του stress αλατότητας (Mansour et al., 2005; Barhoumi et al., 2007). Ωστόσο, τα δεδομένα δεν αναφέρουν πάντα μια θετική συσχέτιση μεταξύ της συσσώρευσης της προλίνης και της προσαρμογής των φυτών στην υψηλή αλατότητα (Lutts et al., 1996).

2.3.3 Φυλλική επιφάνεια

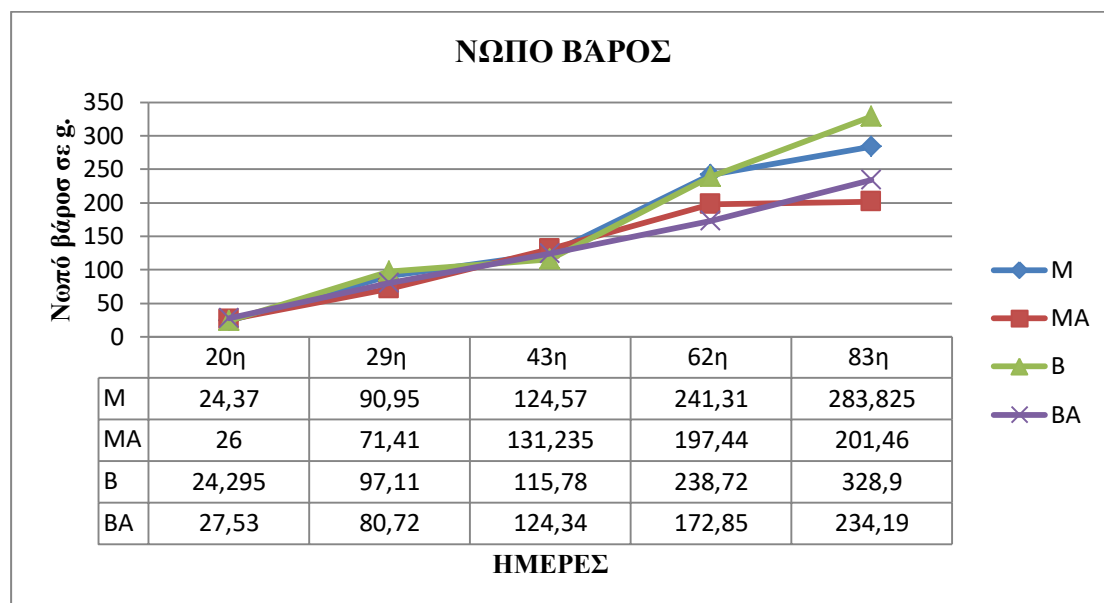
Η μέση φυλλική επιφάνεια ανά φύλλο, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 7, δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές στις διάφορες μεταχειρίσεις. Η μέση επιφάνεια ανά φύλλο σε όλες τις μεταχειρίσεις αυξάνεται μέχρι την 43η ημέρα από την έναρξη του πειράματος, ακολουθούμενη στη συνέχεια από μείωση καθώς αυξάνεται ο αριθμός των φύλλων με πολύ μικρή επιφάνεια στο κέντρο των φυτών. Στην τελευταία δειγματοληψία, (83 ημέρες από την εφαρμογή) παρατηρείται μια μεγάλη αύξηση της φυλλικής επιφάνειας στη μεταχείριση με το βιοδιεγέρτη (215,6 cm² /φύλλο). Στις άλλες μεταχειρίσεις οι τιμές επιφάνειας φύλλων που μετρήθηκαν ήταν στη 128,7cm² /φύλλο στο μάρτυρα, 111,1cm² /φύλλο σε αυτή με την αλατότητα χωρίς βιοδιεγέρτη και 110,3 cm² στη μεταχείριση με αυξημένη αλατότητα και βιοδιεγέρτη.



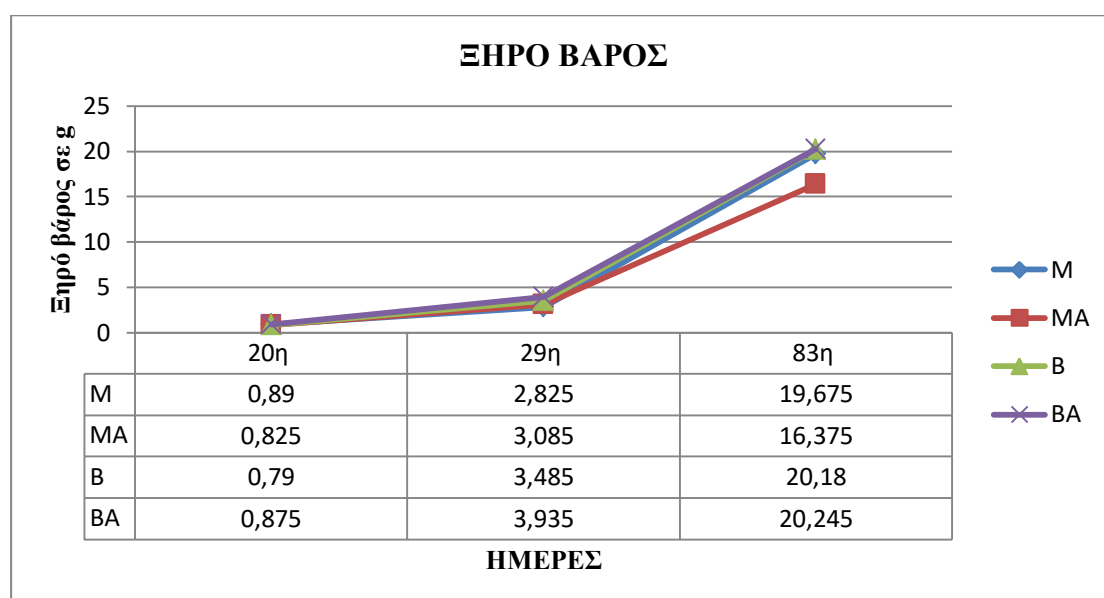
Διάγραμμα 7: Εμβαδόν επιφάνειας φύλλων σε cm²

2.3.4 Βλαστική ανάπτυξη φυτών

Το νωπό και το ξηρό βάρος των υπέργειων τμημάτων του μαρουλιού (Διάγραμμα 8) διαφοροποιήθηκαν μεταξύ των μεταχειρίσεων, με το πέρασμα του χρόνου.



Διάγραμμα 8: Νωπό βάρος υπέργειων τμημάτων φυτών μαρουλιού



Διάγραμμα 9: Ξηρό βάρος υπέργειων τμημάτων φυτών μαρουλιού

Η διαφοροποίηση στις τιμές του νωπού βάρους των φυτών (Διάγραμμα 8) μεταξύ των μεταχειρίσεων εμφανίστηκε από τη τέταρτη μέτρηση (62η ημέρα από την έναρξη). Σημαντικές διαφορές όμως παρουσιάσθηκαν από την πέμπτη δειγματοληψία

(83η ημέρα από τη αρχή του πειράματος) και μετά. Οι τελικές τιμές νωπού βάρους που μετρήθηκαν ήταν 328 g/φυτό στη μεταχείριση με τον βιοδιεγέρτη, 283 g/φυτό στο μάρτυρα, 234 g/φυτό σε αυτή με το NaCl και το βιοδιεγέρτη και 201 g/φυτό στη μεταχείριση με NaCl στο νερό άρδευσης.

Οι τιμές αυτές αντιστοιχούν σε μείωση του νωπού βάρους σε σχέση με το μάρτυρα μόνο στις μεταχειρίσεις με υψηλή αλατότητα, ενώ στην μεταχείριση στην οποία έγινε χρήση μόνο βιοδιεγέρτη παρατηρήθηκε αύξηση του νωπού βάρους.

Οι τιμές του ξηρού βάρους, των υπέργειων τμημάτων των φυτών μαρουλιού (Διάγραμμα 9), άρχισαν να διαφοροποιούνται ελαφρώς μετά την 29η ημέρα από την έναρξη του πειράματος. Το ξηρό βάρος των φυτών που εκτέθηκαν υψηλό επίπεδο αλατότητας χωρίς βιοδιεγέρτη ήταν χαμηλότερο από αυτό των υπολοίπων μεταχειρίσεων. Το ξηρό βάρος ανά φυτό στο τέλος της καλλιέργειας ήταν 20,18 g στη μεταχείριση B, 20,24 στη BA, 19,67 στη M και 16,37 στη μεταχείριση με NaCl και χωρίς βιοδιεγέρτη.

Η αύξηση της συγκέντρωσης του NaCl στο νερό άρδευσης επέφερε μείωση στην ανάπτυξη των φυτών, όπως αυτή αντικατοπτρίζεται στις μετρήσεις του νωπού (NB) και του ξηρού (XB) βάρους των φύλλων των φυτών (Διαγράμματα 8 & 9). Η μείωση της ανάπτυξης χαρακτηρίζεται ως το πιο συχνό σύμπτωμα της δυσμενούς επίδρασης της αλατότητας (Greenway and Munns, 1980). Καθώς η συγκέντρωση των αλάτων ξεπερνά ένα όριο, που μπορεί να ποικίλλει για τα διαφορετικά φυτικά είδη, τόσο ο ρυθμός ανάπτυξης των φυτών όσο και το απόλυτο μέγεθος τους μειώνεται. Το παραπάνω φαινόμενο αποδίδεται κυρίως στη μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας των φυτών. Η τελευταία είναι αποτέλεσμα της μείωσης της φυλλικής επιφάνειας, της μείωσης της χλωροφύλλης και της διατάραξης των μεταβολικών διαδικασιών. Επιπλέον στα φυτά που υπόκεινται σε καταπόνηση λόγω αλατότητας παρατηρείται μείωση του μεταβολισμού του αζώτου και της πρωτεϊνοσύνθεσης (Pesarakli et al., 1989), ενώ απαιτείται από αυτά σημαντική δαπάνη μεταβολικής ενέργειας για τον αποκλεισμό και την απέκκριση των ιόντων Na και Cl (Maas and Hoffman, 1977). Τέλος, η μείωση του υδατικού δυναμικού του υπέργειου μέρους των φυτών, κυρίως των φύλλων, και συνεπώς της σπαργής των κυττάρων λόγω της αύξησης του οσμωτικού δυναμικού του υποστρώματος μπορεί επίσης να συμβάλλει, σε μικρό όμως βαθμό, στη μείωση του NB και του XB (Chartzoulakis, 1994).

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται εδώ, όπου στις μεταχειρίσεις με αυξημένη αλατότητα δεν παρατηρείται μείωση της χλωροφύλλης ή μείωση της μέσης φυλλικής επιφάνειας, το μειωμένο νερό βάρους των φυτών και η απουσία διαφορών στο ξηρό βάρος πρέπει μάλλον να αποδοθούν στη μείωση του υδατικού δυναμικού στα φύλλα.

2.4 Συμπεράσματα

Η παρουσία NaCl στο νερό άρδευσης έχει ως αποτέλεσμα τη σταδιακή αύξηση της αλατότητας στο διάλυμα απορροής μέχρι τα 18 περίπου dSm^{-1} . Στο περιβάλλον των ριζών παρατηρήθηκε μικρότερη αύξηση ($\approx 3 \text{ dSm}^{-1}$) και μάλιστα μετά το μέσο της καλλιέργειας. Η παρατηρούμενη αύξηση της αλατότητας φαίνεται να επίδρασε αρνητικά στην εξέλιξη του νωπού βάρους των φυτών ως αποτέλεσμα, μάλλον, της μείωσης του υδατικού δυναμικού των φύλλων, ενώ δεν είχε επίδραση στο ξηρό βάρος και τη συγκέντρωση των χλωροφυλλών στα φύλλα. Η μέση φυλλική επιφάνεια μειώθηκε ελαφρώς, ενώ τέλος τα ολικά φαινολικά ήταν αυξημένα σε σχέση με τον μάρτυρα.

Γενικά η προσθήκη βιοδιεγέρτη στις μεταχειρίσεις με αυξημένη συγκέντρωση NaCl στο θρεπτικό διάλυμα άρδευσης φαίνεται ότι δεν ευνόησε ιδιαίτερα την ανάπτυξη των φυτών. Ο ψεκασμός με βιοδιεγέρτη δεν φαίνεται να επηρέασε τη συγκέντρωση χλωροφυλλών στα φύλλα, ούτε το ξηρό βάρος των φυτών. Μικρή αύξηση παρατηρήθηκε στο νωπό βάρος, στη μέση φυλλική επιφάνεια καθώς και στη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών στα φύλλα μόνο των φυτών που αναπτύχθηκαν σε περιβάλλον χαμηλής αλατότητας.

Βιβλιογραφία

Ελληνόγλωσση βιβλιογραφία

Ανώνυμος (1993), «Μαρούλι: Συμπτώματα σε φυτά-φύλλα-λαιμό-ρίζες», *Γεωργική Τεχνολογία*, 7, σελ: 106 - 109

Ανώνυμος (2010), «Λίπανση των κηπευτικών», *Γεωργία – Κτηνοτροφία*, 10, σελ: 78 – 100

Δημόπουλος, Β. (1998), *Φυτοπροστατευτικά Προϊόντα*, Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα

Καράταγλης Σ. (1999), *Φυσιολογία Φυτών (3^η Έκδοση)*, Εκδόσεις Χάρις, Θεσσαλονίκη

Κουτσούγερας Β.Ε. (2019), *Επίδραση βιοδιεγερτών στην ανάπτυξη και στις αποδόσεις δυο ποικιλιών σκληρού σιταριού (Triticum turgidum ssp. durum)* (Μεταπτυχιακή Διατριβή), Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Αθήνα

Λυκοσκούφης, Ι.Η. (2003), *Οι επιπτώσεις της υψηλής αλατότητας του θρεπτικού διαλύματος υδροπονικών καλλιεργειών στη φωτοσύνθεση και την αγωγιμότητα των στοματίων* (Μεταπτυχιακή Μελέτη), Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Ολύμπιος Χ.Μ. (2015), *Η τεχνική της καλλιέργειας των υπαίθριων κηπευτικών*, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα

Παναγιωτόπουλος, Κ. (2010), *Εδαφολογία*, Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Άγις-Σάββας Δ. Γαρταγάνης

Παυλάκη Ε. (2018), *Χρήση βιοδιεγερτικών ουσιών στη γεωργική πρακτική* (Πτυχιακή Διατριβή), ΤΕΙ Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας, Γεωπονίας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Ηράκλειο

Σάββας, Δ. (2003), *Γενική Ανθοκομία*, Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα

Τσιάδη Μ. (2010), *Πειραματική αξιολόγηση δυο ποικιλιών μαρουλιού σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια στο Νομό Μεσσηνίας* (Πτυχιακή Εργασία), ΤΕΙ Καλαμάτας, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Καλαμάτα

Τσιτσιάς, Κ. (1997), *Λιπασματολογία*, Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων, Αθήνα

Φωτάρα Π. (2018), *Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας και της αλατότητας στη βλάστηση των σπόρων αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών* (Πτυχιακή Εργασία), ΤΕΙ Καλαμάτας, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Καλαμάτα

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Asch, F., Dingkuhn, M. & Doerffling, K. (2000), “Salinity increases CO₂ assimilation but reduces growth in field-grown irrigated rice”, *Plant Soil*, 218, p. 1

Battacharyya, D., Zamani Babgohari, M., Rathor, P. & Prithiviraj, B. (2015), “Seaweed extracts as biostimulants in horticulture”, *Scientia Horticulturae*, 196, pp: 39-48

Calvo, P., Nelson, L. & Kloepper, J. (2014), “Agricultural uses of plant biostimulants”, *Plant Soil*, 383, pp: 3-41

Canellas, L., Olivares, F., Aguiar, N., Jones, D., Nebbioso, A., Mazzei, P. & Piccolo, A. (2015), “Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture”, *Scientia Horticulturae*, 196, pp: 15-27

Chartzoulakis, K. & Klapaki, G. (2000), “Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages”, *Scientia Horticulturae*, 86(3), pp: 247 – 260

Chaves, M.M. (1991), “Effects of water deficits on carbon assimilation”, *Journal of Experimental Botany*, 42, pp:1-16

Chaves, M.M., Maroco, J.P. & Pereira, J.S. (2003), “Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant”, *Functional Plant Biology*, 30, pp: 239-264

Colla, G., Roupheal, Y., Canaguier, R., Svecova, E. & Cardarelli, M. (2014), “Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis.”, *Frontiers in Plant Science*, 5, pp: 1-6.

Craigie, J.S. (2010), “Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture”, *Journal Appl Phycol*, 23, pp: 371 - 393

Du Jardin, P. (2015). "Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation", *Scientia Horticulturae*, 196, pp: 3-14

El Hadrami, A., Adam, L.R., El Hadrami, I. & Daayf, F. (2010), "Chitosan in Plant Protection", *Marine Drugs*, 8, pp: 968-987

Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G. & Sharkey, T.D. (2004), "Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants", *Plant Biology*, 6, pp: 269-279

Gizas, G., Savvas, D. & Mitsios, I. (1999), "Availability of macrocations in perlite and pumice as influenced by the application of nutrient solutions having different cation concentrations ratios", *Acta Horticulturae*, 548, pp: 277 – 284

Halpern, M., Bar-Tar, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T. & Yermiyahu. (2015), "The Use of Biostimulants for Enhancing Nutrient Uptake", *Advances in Agronomy*, 1, pp: 141-174

Khan, W., Rayirath, U., Subramanian, S., Jithesh, M., Rayorath, P., Hodges, M., Chitchley, A., Craigie, J., Norrie, J. & Prithiviraj, B. (2009), "Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development", *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(4), pp: 386-399

Lawlor D.W. & Cornic, G. (2002), "Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants", *Plant, Cell & Environment*, 25, pp: 275-294

Lopez-Bucio, J., Pelagio-Flores, R. & Herrera-Estrella, A. (2015), "Trichoderma as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus", *Scientia Horticulturae*, 196, pp: 109-123

Misra, A.N., Sahu, S.M., Misra, M., Singh, P., Meera, I., Das, N., Kar, M. & Sahu, P. (1997), "Sodium chloride induced changes in leaf growth, and pigment and protein contents in two rice cultivars", *Biologia Plantarum*, 39(2), pp: 257-262

Munns, R. (2002), "Comparative physiology of salt and water stress", *Plant, Cell & Environment*, 25, pp: 239-250

- Munns, R., James, R.A. & Läuchli, A. (2006), “Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals”, *Journal of Experimental Botany*, 57, pp: 1025-1043
- Pessaraki, M. (1997), (Ed.) *Handbook of Photosynthesis*, Marcel Dekker Inc., New York
- Pessaraki, M., Huber, J. T. & Tucker, T.C. (1989), “Protein synthesis in green beans under salt stress conditions”, *Journal of Plant Nutrition*, 12(10), pp: 1105 – 1121
- Povero, G., Mejia, J., Di Tommaso, D., Piaggese, A. & Warrior, P. (2016), “A Systematic Approach to Discover and Characterize Natural Plant Biostimulants”, *Frontiers in Plant Science*, 7, pp: 1-12
- Reid, M. S. (1995), “Ethylene in plant growth, development and senescence”, *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry, Molecular Biology 2nd edition*, pp: 486 – 508
- Shannon, M. C., Grieve, C.M., Lesch, S.M. & Draper, J.H. (2000), “Analysis of Salt Tolerance in Nine Leafy Vegetables Irrigated with Saline Drainage Water”, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125, pp: 658-664
- Sharma Shekhar, H.S., Fleming, C., Selby, C., Rao, J.R. & Martin, T. (2014), “Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses”, *J. Appl. Phycol.*, 26, pp: 465-490
- Stirk, W., Tarkowska, D., Turecova, V. & J. van Staden, M. (2014), “Abscisic acid, gibberellins and brassinosteroids in Kelpak, a commercial seaweed extract made from *Ecklonia maxima*”, *J Appl Phycol*, 26, pp: 561-567
- Tadesse, T. & Nichols, M.A. (2003), “The Effect of Conductivity on the Yield Quality of Sweet Pepper (*Capsicum annum L.*)”, *Acta Horticulture*, 609, pp: 611 -620
- Yeo, A.R. & Flowers, T.J. (1983), “Varietal differences in the toxicity of sodium ions in rice leaves”, *Physiologia Plantarum*, 59, pp: 189 - 195
- Van Oosten, M., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S. & Maggio, A. (2017), “The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants”, *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4, pp: 1-12

Διαδικτυακές πηγές

EBIC (2011), “Biostimulants Definition Agreed”,
<http://www.biostimulants.eu/2011/10/biostimulants-definition-agreed/> , [accessed 20/12/2019]

Farmacon (2017), «10 τρόποι για περισσότερο και καλύτερης ποιότητας νερό άρδευσης», <https://blog.farmacon.gr/katigories/tehniki-arthrografia/kalliergitikes-praktikes/item/1733-10-tropoi-gia-perissotero-kai-kalyteris-poiotitas-nero-ardefsis> , [πρόσβαση 22/12/2019]

Farmacon (2018), «Η καλλιέργεια του μαρουλιού»,
<https://blog.farmacon.gr/katigories/tehniki-arthrografia/kalliergitikes-praktikes/item/2122-i-kalliergeia-tou-marouliou> , [πρόσβαση 22/12/2019]

Farmacon (2018), «Οι πιο κοινές μορφές φυτικού στρες»,
<https://blog.farmacon.gr/katigories/tehniki-arthrografia/fytoprostatia/item/2022-oi-pio-koines-morfes-fytikoy-stres> , [πρόσβαση 22/12/2019]

