

**Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων / Κατ. Ανθοκομία – Αρχιτεκτονική τοπίου**



**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΤΙΤΛΟΣ:**

**«Διερεύνηση της εφαρμογής συμβιωτικών μικροοργανισμών στα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά του φαρμακευτικού φυτού *Crithmum maritimum* L.»**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

**ΠΑΤΑΚΙΟΥΤΑΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ**

**ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ**

**ΤΣΟΥΛΚΑΝΑΚΗ ΟΥΡΑΝΙΑ**

**ΑΡΤΑ 2015**

**ΤΣΟΥΛΚΑΝΑΚΗ ΟΥΡΑΝΙΑ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΜΕ ΤΙΤΛΟ:**

**«Διερεύνηση της εφαρμογής συμβιωτικών μικροοργανισμών στα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά του φαρμακευτικού φυτού *Crithmum maritimum* L.»**

**ΥΠΕΥΘΗΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

**κ. ΠΑΤΑΚΙΟΥΤΑΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ**

**ΑΡΤΑ 2015**

**Ευχαριστίες:**

## Πίνακας περιεχομένων

Ευχαριστίες.....	2
Περιεχόμενα.....	3
Περίληψη.....	7
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ: Κρίταμος (<i>Crithmum maritimum</i> L.).....</b>	<b>8</b>
<b>1.1 Ονομασία – Καταγωγή - Ιστορία.....</b>	<b>8</b>
<b>1.2 Βοτανική Ταξινόμηση - Περιγραφή .....</b>	<b>9</b>
1.1.1. Βοτανική Ταξινόμηση.....	9
1.1.2. Περιγραφή.....	9
1.1.3. Λίγα λόγια για την οικογένεια Apiaceae.....	9
<b>1.3 Απαιτήσεις σε κλίμα – έδαφος – θρεπτικά συστατικά και νερό.....</b>	<b>11</b>
1.3.1. Άρδευση.....	11
1.3.2. Λίπανση.....	12
<b>1.4. Προετοιμασία αγροτεμαχίων για την εγκατάσταση της καλλιέργειας.....</b>	<b>12</b>
<b>1.5. Τρόπος πολλαπλασιασμού – Καλλιέργειας.....</b>	<b>13</b>
Α) Εγγενής πολλαπλασιασμός.....	13
Β) Αγενής πολλαπλασιασμός.....	14
Γ) Ιστοκαλλιέργεια (in vitro).....	15
<b>1.6. Εγκατάσταση καλλιέργειας Κριτάμου.....</b>	<b>15</b>
<b>1.7. Ασθένειες – Εχθροί.....</b>	<b>16</b>
<b>1.8. Καταπολέμησης ζιζανίων.....</b>	<b>17</b>
<b>1.9. Επεξεργασία και Μεταποίηση.....</b>	<b>17</b>
1.9.1. Γενικά για την συγκομιδή των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών.....	17
1.9.2. Συγκομιδή Κριτάμου.....	18
1.9.3. Περίοδος συγκομιδής Κριτάμου.....	18
1.9.4. Μέθοδος Συλλογής.....	19
1.9.5. Απόδοση Συγκομιδής Κριτάμου.....	19
<b>1.10. Αποξήρανση/Ξήρανση Φυτικού Υλικού.....</b>	<b>19</b>
<b>1.11. Αποθήκευση και Συντήρηση Δρόγης.....</b>	<b>20</b>
<b>1.12. Μεταποίηση.....</b>	<b>21</b>
1.12.1. Ξηρή Δρόγη.....	21

1.12.2. Παραλαβή αιθέριου ελαίου με απόσταξη.....	22
1.12.3. Παραλαβή αιθέριου ελαίου με εκχύλιση.....	22
1.12.5. Ποιότητα και ασφάλεια των μεταποιημένων προϊόντων.....	24
<b>1.13. Το Κρίταμο στη φαρμακολογία.....</b>	<b>24</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: Χρήση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στη γεωργία.....</b>	<b>26</b>
<b>2.1. Γενικά στοιχεία για τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς.....</b>	<b>26</b>
<b>2.2. Μυκόρριζες.....</b>	<b>26</b>
2.2.1. Τύποι μυκόρριζας.....	29
A) Εκτομυκόρριζες.....	29
B) Ενδομυκόρριζες.....	30
2.2.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά του AM μύκητα.....	31
2.2.3. Εμβολιασμός των φυτών με AM μυκόρριζα.....	31
2.2.4. Μυκόρριζες στο έδαφος.....	32
2.2.5. Εφαρμογή μυκόρριζας σε καλλιέργεια θερμοκηπίου.....	33
<b>2.4. Βακτήρια (PGPR) .....</b>	<b>33</b>
<b>2.5. Συμβιωτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα.....</b>	<b>35</b>
2.5.1. Συστηματική ταξινόμηση του Μύκητα <i>Glomus intraradices</i> .....	36
2.5.2. Σκεύασμα Mycosym: Tri-Ton <i>Glomus intraradices</i> .....	36
2.5.3. Συστηματική ταξινόμηση του PGPR <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	38
2.5.4. Σκεύασμα Greener: <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> το στέλεχος FZB42.....	39
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ: Πειραματικός Σχεδιασμός.....</b>	<b>40</b>
<b>3.1. Σκοπός του πειράματος.....</b>	<b>40</b>
<b>3.2. Υλικά και Μέθοδοι.....</b>	<b>42</b>
3.2.1. Εισαγωγικά του Πειράματος.....	42
A) Θερμοκήπιο.....	42
3.2.2. Εγκατάσταση του Πειράματος.....	43
A) Βλαστικότητα των σπόρων.....	43
B) Προεργασία του θερμοκηπίου.....	44

3.2.3. Μεταφύτευση των νεαρών φυτών <i>C.maritimum</i> σε πολλαπλούς δίσκους σποράς.....	45
3.2.4. Εμβολιασμός των φυτών.....	45
A) Με τον συμβιωτικό μικροοργανισμό <i>Glomus intraradices</i> .....	45
B) Με το ριζοβακτήριο (PGPR) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> Το στέλεχος FZB42.....	45
Γ) Με συνδυασμό των δύο συμβιωτικών μικροοργανισμών <i>G.intraradices</i> + <i>B.amyloliquefaciens</i> το στέλεχος FZB42.....	46
3.2.5. Μεταχειρίσεις.....	46
3.2.6. Διαδικασία μεταφύτευσης των νεαρών φυτών <i>C.maritimum</i> .....	47
A) Φυτά Control (Μάρτυρας).....	47
B) Φυτά με <i>B.amyloliquefaciens</i> το στέλεχος FZB42.....	48
Γ) Φυτά με <i>G.intraradices</i> .....	49
Δ) Φυτά με συνδυασμό <i>G.intraradices</i> + <i>B.amyloliquefaciens</i> .....	50
E) Χρόνος παραμονής των φυτών στους πολλαπλούς δίσκους σποράς.....	51
3.2.7. Μεταφύτευση των φυτών <i>C.maritimum</i> σε γλάστρες 2Lt.....	51
3.2.8. Δειγματοληψία.....	53
A) Βλάστηση των σπόρων.....	54
B) Αποικισμός.....	55
Γ) Ανάπτυξη πραγματικών φύλλων και ύψους των φυτών.....	55
Δ) Νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος και της ρίζας των φυτών.....	56
E) Ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος και της ρίζας των φυτών.....	56
<b>3.3. Αποτελέσματα – Συμπεράσματα.....</b>	<b>57</b>
A) Αποικισμός.....	57
B) Αριθμός ανάπτυξης του ύψους των φυτών <i>C.maritimum</i> .....	58
Γ) Αριθμός ανάπτυξης πραγματικών φύλλων.....	60
Δ) Διάμετρος των φυτών.....	61
E) Νωπό/Ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών.....	62
ΣΤ) Νωπό/Ξηρό βάρος της ρίζας των φυτών.....	64
Η) Άνθιση.....	64
<b>ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.....</b>	<b>65</b>

<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.....</b>	<b>70</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>72</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση δύο διαφορετικών συμβιωτικών μικροοργανισμών, μίας μυκόρριζας και ενός ριζοβακτηρίου στο φυτό ***Crithmum maritimum* L.**, σε συνθήκες θερμοκηπίου στην περιοχή του ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ όπου εδρεύει στην Άρτα, και η ενδεχόμενη ευεργετική τους δράση στην ανάπτυξη των φυτών.

Ως δείκτες αύξησης θεωρήθηκαν: το ύψος των φυτών, η ανάπτυξη των πραγματικών φύλλων τους, το νωπό και το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος και της ρίζας του φυτού. Επίσης πραγματοποιήθηκε σύγκριση του αποικισμού των συμβιωτικών μικροοργανισμών στις ρίζες των φυτών σε σχέση με την ανάπτυξη που προέκυψε στα φυτά.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

### Κρίταμος (*Chrithmum maritimum* L.

#### 1.1. Ονομασία – Καταγωγή - Ιστορία

Το Κρίταμο (*Chrithmum maritimum* L.) ή Κρίθμον το παραθαλάσσιο είναι γνωστό ως Κρίταμο. Πήρε το όνομά του από τους αρχαίους Έλληνες οι οποίοι, θέλοντας να δείξουν την ομοιότητα που έχουν οι σπόροι του φυτού με το κριθάρι, το ονόμασαν “κρίθμον”. Το Κρίταμο είναι γνωστό και ως σαλάτα ή σέλινο της θάλασσας γιατί βρίσκεται κυρίως σε παραθαλάσσιες περιοχές.

Πρόκειται για ένα χαρακτηριστικό, πολυετές παχύφυτο, αλόφυτο αρωματικό φυτό που το βρίσκει κανείς στις ακτές της Μεσογείου, της Μαύρης Θάλασσας, του Ατλαντικού, της Βρετανίας, Ιρλανδίας καθώς και της Αυστραλίας.( Discover Life 2014). Στην Ελλάδα φυτρώνει σε παραθαλάσσιες περιοχές και στα αμμουδερά εδάφη, όπως στα κοιλάματα των θαλασσινών απότομων βράχων και στις διαβρωμένες πέτρες της ακτής.

Σύμφωνα με την μυθολογία ο Δίας θύμωσε πολύ με τον Προμηθέα, ο οποίος είχε το θράσος να του προσφέρει ένα πιάτο γεμάτο κόκαλα με λίπος, αντί για ένα καλό κομμάτι κρέας. Έτσι ο Δίας αφαίρεσε τα προνόμια της φωτιάς από την Γη, τιμωρώντας έτσι τους ανθρώπους πολύ σκληρά.

Στη συνέχεια ο Προμηθέας με πονηριά κατόρθωσε να κλέψει τη φωτιά πίσω από τον Όλυμπο, κρύβοντάς την στο εσωτερικό μιας σχισμής ενός Κρίταμου, προκειμένου να την δώσει πίσω στην ανθρωπότητα. Για τις ενέργειές του ο Προμηθέας τιμωρήθηκε αυστηρά από τον Δία, ο οποίος τον έδεσε σε ένα βράχο, ενώ ένας αετός έτρωγε το συκώτι του κάθε μέρα. Έκτοτε το Κρίταμο συνδέεται με τον άνθρωπο και την χρήση της φωτιάς για να επιβιώσει και να εκπολιτιστεί.

Όμως η ιστορία του Κρίταμου χρονολογείται από την αρχαιότητα κυρίως για τις θεραπευτικές του ιδιότητες. Από την εποχή του Ιπποκράτη (4<sup>ος</sup> αιώνας π.Χ.), το Κρίταμο θεωρείται ένα από τα πιο σημαντικά φάρμακα με αποτέλεσμα μέχρι σήμερα να χρησιμοποιείται για τις διουρητικές και αποτοξινωτικές του ιδιότητες. Επίσης ο Ιπποκράτης το συνιστούσε ως εμμηναγωγό. Το ίδιο έπραξαν και άλλοι μεταγενέστεροι διάσημοι γιατροί της αρχαίας Ελλάδας, όπως ο Διοσκουρίδης ο πατέρας της φαρμακολογίας και ο περίφημος βοτανολόγος Πλίνιος, οι οποίοι το είχαν σε μεγάλη εκτίμηση διότι περιέχει αιθέρια έλαια, μεταλλικά άλατα, ιώδιο και βιταμίνες, συστατικά ορεκτικά και τονωτικά.

Χαρακτηριστική είναι η περιγραφή, την οποία κάνει ο Διοσκουρίδης (2,129): «...θαμνώδες βοτάνιον, που απλώνεται σε πλάτος και έχει ύψος ενός πήχη.

Φυτρώνει σε παραθαλάσσιους τόπους και έχει πολύ στιλπνά φύλλα υπόλευκα, σαν της γλιστρίδας, πιο πλατιά και πιο επιμήκη με αλμυρή γεύση...». Αναφέρει επίσης (1,129): « λαχανεύεται εφθόν τε και ωμόν εσθιόμενον, και ταριχεύεται εν άλμη».

## 1.2. Βοτανική Ταξινόμηση και Περιγραφή

### 1.2.1.Βοτανική Ταξινόμηση

**Kingdom/Βασίλειο:** Plantae

**Division/Διαίρεση:** Angiosperms

**Class/Κλάση:** Eudicots

**Υπόταξη:** Asterids

**Order/Τάξη:** Apiales

**Family/Οικογένεια:** Apiaceae

**Genus/Γένος:** *Crithmum*

**Species/Είδος:** *C. maritimum*

**Binomial name/Επιστημονικό όνομα:** *Crithmum maritimum* L.

**Κοινό Όνομα:** Κρίταμο ή Κρίθμον το παραθαλάσσιο ή αλμύρα



### 1.2.2.Περιγραφή

Το Κρίταμο, ανήκει στην οικογένεια των Σκιαδοφόρων Apiaceae ( Umbelliferae) της τάξης Apiales, στο είδος των Αγγειόσπερμων Δικότυλων φυτών, που ανήκει στην τάξη Κορκώδη. Δεν έχει άλλες ποικιλίες και περιλαμβάνει μόνο το είδος *Crithmum maritimum* L. Η οικογένεια Apiaceae περιλαμβάνει ετήσια, διετή ή πολυετή φυτά, κυρίως ποώδη και σπάνια φρύγανα ή θαμνώδη. Ορισμένα είδη της οικογένειας αυτής καλλιεργούνται σαν εδώδιμα, ενώ άλλα είναι φαρμακευτικά, δηλητηριώδη ή ζιζάνια.

Είναι ένα γηγενές αυτόχθονο είδος, πολυετές – ποώδες φυτό (παχύφυτο) και ριζοματώδες. Κατατάσσεται στην κατηγορία των αλοφύτων διότι ευδοκιμεί σε εδάφη με πολύ υψηλή αλατότητα. Έτσι έχει αναπτύξει συστήματα άμυνας και προσαρμογής, προκειμένου να επιβιώνει στα σκληρά οικοσυστήματα όπου φύτευται και αναπτύσσεται. Ανήκει στην κατηγορία των φαρμακευτικών φυτών καθώς και των εδωδιμων.

Το Κρίταμο έχει ξυλώδη βάση και σχετικά μικρή ανάπτυξη η οποία καλύπτει σταδιακά το γύρο του εδάφους όπου το περιβάλλει. Οι βλαστοί του φτάνουν σε ύψος 20- 60 cm. και το χρώμα τους όπως και των φύλλων του είναι γλαυκοπράσινο. Ο γραμμωτοί ανορθωμένοι ή πλάγιοι βλαστοί είναι αποξυλωμένοι στη βάση τους και διακλαδίζονται στο πάνω τμήμα τους. Τα φύλλα είναι στιλπνά και λεία όπως της γλιστρίδας, αλλά πιο πλατιά και επιμήκη και με πιο αλμυρή γεύση. Είναι σαρκώδη και πτεροσχιδή ή πολυσχιδή. Τα άνθη του είναι μικρά με κιτρινοπράσινα πέταλα και αναπτύσσονται σε ταξιανθία τύπου σκιάδιο με 8-36 ακτίνες. Ο καρπός του αποτελείται από δύο μερικάρπια. Ο βλαστός και τα φύλλα του αν τριφτούν, αναδίδουν μια ευχάριστη μυρωδιά. Τέλος η περίοδος ανθοφορίας του *C.maritimum* ξεκινά από τον Ιούνιο και τελειώνει τον Σεπτέμβριο.



Εικόνα 1. Απεικόνιση των στελεχών του φυτού *C. maritimum* (πηγή: [www.herbierimages.be](http://www.herbierimages.be))

### 1.2.3. Λίγα λόγια για την οικογένεια *Apiaceae*

Όλα τα μέρη των φυτών της οικογένειας αυτής φέρουν εκκριματοφότους πόρους, οι οποίοι περιέχουν αιθέρια έλαια και κομμεορητίνες, που τους προσδίδουν έντονη οσμή. Ο βλαστός των φυτών αυτών είναι αυλακωτός εξωτερικά και σχηματίζει γόνατα ή κόμβους, που είναι συμπαγή, ενώ τα μεσογονάτια διαστήματα είναι εσωτερικά κοίλα. Τα φύλλα συνοδεύονται από παράφυλλα, καμιά φορά ετερόμορφα και ξεκινούν από τα γόνατα όπου είναι επιφυή ή έμμισχα. Στην τελευταία περίπτωση ο μίσχος διαπλατύνεται στον κολεό. Το έλασμα των φύλλων σπάνια είναι απλό. Συνήθως είναι πτερωτό, πτεροσχιδές ή πολυσχιδές. Τα φύλλα τις περισσότερες φορές φέρονται κατ' εναλλαγή και σπανιότερα αντίθετα.

Τα άνθητων φυτών αυτών είναι πολλά μαζί σε ταξιανθία απλού, διπλού ή σύνθετου σκιάδιου και σε μερικά γένη βρίσκονται σε ταξιανθία κεφαλίου. Στην

τελευταία περίπτωση οι ακτίνες των σκιαδίων είναι κοντές. Τα άνθη είναι κυρίως αρσενικοθήλυκα ή μονογενή (είδη μονόικα, δίκλινα, ή δίοικα ή πολυγαμοδίοικα) και συχνά φέρουν προστατευτικά βράκτεια. Ο κάλυκας είναι 5 μερής και σχεδόν αφανής. Η στεφάνη αποτελείται από 5 πέταλα, τα οποία έχουν κυρτώμενη κορυφή και συνήθως πέφτουν νωρίς. Οι στήμονες είναι 5 εναλλασσόμενοι με τα πέταλα και τοποθετούνται πάνω σ' ένα επίγυνο δίσκο. Σε μερικά γένη όμως παρατηρούνται και στημονώδη. Η ωθήκη είναι υποφυής με θυλακοειδή νεκταριοφόρο δίσκο στην κορυφή της, από τον οποίο εκφύονται οι στύλοι. Η ωθήκη αποτελείται από δύο καρπόφυλλα και είναι χωρισμένη σε 2 χώρους. Σε κάθε χώρο υπάρχει μια ανάτροπη σπερμοβλάστηση τοποθετημένη αξονικά. Οι στύλοι και τα στίγματα είναι 2 στον αριθμό και κάτω από το στίγμα υπάρχει ο νεκταριοφόρος δίσκος.

Ο καρπός είναι ισχιζοκάρπιο ή διπλό αχαίνιο και αποτελείται από 2 μονόσπερμα καρπίδια ή μερικάρπια, τα οποία συγκρατούνται κατά την ωρίμανση από το καρποφόρο. Το τελευταίο είναι ένας μίσχος διακλαδιζόμενος σε 2 βραχίονες, από τα άκρα των οποίων συγκρατούνται τα μερικάρπια. Πρέπει να σημειωθεί ότι στο περικόριο υπάρχουν προεξέχουσες ραβδώσεις, οι οποίες πολλές φορές είναι πτερόμορφες, αγκαθωτές ή τριχωτές, που συνοδεύονται από αυλάκια.

Τα σπουδαιότερα γένη της οικογένειας αυτής είναι τα παρακάτω: *Apium*, *Anethum*, *Petroselinum*, *Foeniculum*, *Crithmum*, *Conium*, *Daucus*, *Cicuta*, *Pimpinella*, *Orlaya*, *Eryngium*, *Bupleurum*, *Pastinaca*, *Scandix*, *Tordylium*, *Smyrniium* και *Coriandrum*.

Κάποια από τα φυτά που βρίσκονται στην οικογένεια αυτή είναι: Καρότο, σέλινο, κύμινο, μαϊντανός, γλυκάνισος κ.α.

### **1.3. Απαιτήσεις σε κλίμα – έδαφος – θρεπτικά στοιχεία και νερό**

Το Κρίταμο είναι φυτό ανθεκτικό σε εξαιρετικά θερμές περιοχές και έχει περιορισμένη ανάγκη σε υγρασία, υψηλές αντοχές στην αλατότητα και προτιμά βραχώδη, παραθαλάσσια και αμμουδερά εδάφη. Είναι κατάλληλο να επιλεγθεί για να καλλιεργηθεί σε περιοχές όπου τα εδάφη είναι χαμηλής γονιμότητας και υποβαθμισμένα, αλατούχα, αρκεί να έχουν καλή στράγγιση.

Έτσι δίνεται η δυνατότητα στον καλλιεργητή να αξιοποιήσει με καλλιέργειες Κρίταμου, χωράφια και περιοχές που θεωρούνται άγονες και υποβαθμισμένες, με κύριο παράγοντα την αλατότητα και σημαντικό ρόλο την ανάπτυξη των φυτών.

#### **1.3.1. Άρδευση**

Η άρδευση δεν είναι απαραίτητη. Όταν όμως εφαρμοστεί η ανάπτυξη του φυτού είναι μεγαλύτερη. Ωστόσο δεν απαιτείται μεγάλη ποσότητα νερού στις καλλιέργειες Κρίταμου. Η άρδευση γίνεται κυρίως με την μέθοδο στάγδην.

### **1.3.2.Λίπανση**

Η λίπανση είναι απαραίτητη να πραγματοποιηθεί με ψιλοχωμάτισμα (ελαφρύ εμπλουτισμό) ενός οργανικού λιπάσματος πριν το φυτό τοποθετηθεί στον αγρό.

### **1.4. Προετοιμασία αγροτεμαχίων για την εγκατάσταση της καλλιέργειας**

Για να πραγματοποιηθεί η εγκατάσταση των φυτών στο αγροτεμάχιο θα πρέπει να πραγματοποιηθεί αρχικά κάποια προεργασία του εδάφους. Αρχικά επιδιώκεται το σπάσιμο τυχόν αδιαπέραστων από το νερό βαθύτερων στρωμάτων του εδάφους, βαθύ όργωμα αν το αγροτεμάχιο δεν έχει ξανά καλλιεργηθεί, η καταπολέμηση ζιζανίων, η καταστροφή υπολειμμάτων της προηγούμενης καλλιέργειας αν υπήρχε και η αύξηση της οργανικής ουσίας με προσθήκη εδαφοβελτιωτικών καθώς και η ισοπέδωση της επιφάνειας του αγροτεμαχίου.

Σε αγροτεμάχια τα οποία υπήρχαν ήδη καλλιεργημένα με αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, δεν χρειάζεται βαθύ όργωμα καθώς, τα περισσότερα από αυτά αναπτύσσουν τις ρίζες τους σε βάθος 50-60cm, δηλαδή επιφανειακά σε σχέση με άλλες πολυετείς καλλιέργειες. Ωστόσο αν υπάρχει η δυνατότητα να γίνει και σε αυτά το βαθύ όργωμα, πάντα βοηθάει.

Στην καλλιέργεια Κρίταμου απαιτείται το βαθύ όργωμα. Πραγματοποιείται την περίοδο του καλοκαιριού ή του φθινοπώρου και είναι ο κύριος τρόπος καταστροφής των ζιζανίων καθώς παραχώνει τα υπολείμματα προηγούμενων καλλιεργειών. Στην συνέχεια και πριν πραγματοποιηθεί η φύτευση των φυτών, μπορεί το χωράφι να ισοπεδωθεί με ‘καλλιεργητή’ και να ψιλοχωματιστεί με τη φρέζα.

Η προσθήκη των εδαφοβελτιωτικών στο αγροτεμάχιο γίνεται νωρίς το χειμώνα. Στη περίπτωση συμβατικής καλλιέργειας απαιτείται λίπανση με λίπασμα σύστασης σε N-P-K (11-15-15).

Για τις βιολογικές καλλιέργειες όμως, μπορεί να χρησιμοποιηθεί καλά χωνεμένη κοπριά ή κάποια σκευάσματα εγκεκριμένα για βιολογικές καλλιέργειες. Πριν την φύτευση θα πρέπει να προηγηθεί το ψιλοχωμάτισμα.

Επίσης μπορεί να πραγματοποιηθεί καλλιέργεια σε πετροβάμβακα και σε γλάστρες.



**Εικόνα 2. Καλλιέργεια *C. maritimum* σε πετροβάμβακα.**



**Εικόνα 3. Καλλιέργεια *C.maritimum* σε γλάστρες.**



**Εικόνα 4. *C.maritimum* σε πήλινη γλάστρα.**

## **1.5. Τρόπος πολλαπλασιασμού – Καλλιέργεια**

Για να πραγματοποιηθεί ο πολλαπλασιασμός του Κριτάμου υπάρχουν 3 τρόποι πολλαπλασιασμού:

### **A) Εγγενής πολλαπλασιασμός**

Στον εγγενή πολλαπλασιασμό κατατάσσεται η διαδικασία του πολλαπλασιασμού με σπόρο. Ο τρόπος αυτός αποτελεί την κύρια μέθοδο αναπαραγωγής των φυτών στη φύση καθώς και τον αποτελεσματικότερο και ευρέως διαδεδομένο τρόπο πολλαπλασιασμού των φυτών.

Η μέθοδος αυτή είναι αρκετά δύσκολη διότι θα πρέπει να δημιουργηθούν μητρικές φυτείες προκειμένου να γίνει η συλλογή των σπερμάτων, με σκοπό να πραγματοποιηθεί η αγενής αναπαραγωγή. Αν δεν πραγματοποιηθεί το παραπάνω δεν

είναι καθόλου εύκολη υπόθεση η εύρεση μεγάλου αριθμού σπόρων που απαιτούνται για την εγκατάσταση ενός αγροτεμαχίου.

Είναι φθηνή και μαζική μέθοδος και δίνει πλεονεκτήματα όπως γρήγορη ανάπτυξη των σποριόφυτων καθώς και τη ζωηρότητα – νεανικότητά τους στην μορφολογία της ρίζας με αποτέλεσμα οι σπόροι να δίνουν την ικανότητα γρηγορότερης ανάπτυξης από τα πρώτα στάδια ζωής τους.

Είναι σημαντικό λοιπόν να γνωρίζουμε, πως η σύγχρονη γεωργία απαιτεί την καλλιέργεια απόλυτα όμοιων φυτών και για τον λόγο αυτό αποτελεί και το κυριότερο μειονέκτημα της μεθόδου αυτής. Η χρήση του σπόρου για τα αυτοφυή αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά δεν συνίσταται σε μεγάλες καλλιέργειες παρόλο το χαμηλό κοστολόγιο, διότι δεν μπορεί να προσφέρει την σταθερότητα του παραγόμενου προϊόντος.

## **B) Αγενής πολλαπλασιασμός**

Στον αγανέ πολλαπλασιασμό κατατάσσεται η μέθοδος του πολλαπλασιασμού με μοσχεύματα. Ο πολλαπλασιασμός με μοσχεύματα είναι περισσότερο εφικτός και πιο σίγουρος. Είναι ευρέως χρησιμοποιούμενος τρόπος αγενούς αναπαραγωγής στο σύνολο των παραγόμενων φυτών. Το χαρακτηριστικό γνώρισμα του, είναι η γενετική σταθερότητα. Έτσι προκύπτουν γενετικά ομοιόμορφα φυτά που προέρχονται από ένα κοινό πρόγονο, δίνοντας έτσι ομοιομορφία στο παραγόμενο υλικό.

Ωστόσο όμως η μέθοδος παρουσιάζει και αρκετά μειονεκτήματα:

1) καθώς το περιορισμένο αρχικό υλικό και το σχετικά μεγάλο κόστος διατήρησης των μητρικών φυτειών, αυξάνει το κόστος παραγωγής του πολλαπλασιαστικού υλικού. Έτσι το κόστος παραγωγής των νεαρών φυτών είναι υψηλότερο, καθώς απαιτούνται εξειδικευμένες εγκαταστάσεις ή ειδικές τεχνικές, πολλές φορές μέσα σε θερμοκήπια ή άλλους ειδικά διαμορφωμένους χώρους.

2) είναι αυξημένη η πιθανότητα μετάδοσης ασθενειών καθώς και προσβολών που μπορούν να συμβούν στις μητρικές φυτείες αν δεν γίνουν σύντομα αντιληπτές.

3) πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η υγιεινή κατάσταση των μητρικών φυτειών και η όλη διαδικασία για την παραγωγή άριστης ποιότητας πολλαπλασιαστικού υλικού.

Έτσι ο τρόπος πολλαπλασιασμού με μοσχεύματα επιτυγχάνει τη διατήρηση του γενοτύπου, δηλαδή μειώνεται σημαντικά η παραλλακτικότητα στις νέες φυτείες.

Η κατάλληλη περίοδος για τη βέλτιστη απόδοση των μοσχευμάτων προκειμένου να πραγματοποιηθεί η κοπή τους, είναι η περίοδος της άνοιξης. Αρχικά κόβονται κατά προτίμηση κορυφαία τμήματα του φυτού, μήκους 15εκ. Οι άκρες τους εμβαπτίζονται σε σκόνη ριζοβολίας και στη συνέχεια τοποθετούνται στο υπόστρωμα.

Από διάφορα πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί, υπολογίζεται ότι η ριζοβολία των μοσχευμάτων *C.maritimum*, ολοκληρώνεται μέσα σε 40 ημέρες. Έτσι στη συνέχεια τα νεαρά μοσχεύματα μεταφυτεύονται είτε στο έδαφος είτε σε γλάστρες. Τέλος το ποσοστό ριζοβολίας με την χρήση της ορμόνης ριζοβολίας για πλώδη μοσχεύματα, κυμαίνεται γύρω στο 60-70% (Μαλούπα Ε, Γρηγοριάδου Κ. κ.α., 2008)

### **Γ) Ιστοκαλλιέργεια (in vitro)**

Η ιστοκαλλιέργεια θεωρείται η ακριβότερη μέθοδος για την δημιουργία μεγάλης ποσότητας πολλαπλασιαστικού υλικού των αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών. Οι καλλιέργειες in vitro επιλεγμένων αυτοφυών ειδών, διατηρούνται σε θρεπτικά υποστρώματα και ανά τακτά χρονικά διαστήματα ανανεώνονται είτε με επανακαλλιέργεια του ίδιου φυτικού υλικού, είτε με εγκατάσταση νέου. Με αυτό τον τρόπο προσφέρεται η δυνατότητα διατήρησης ειδών που προέρχονται από εντελώς διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες και η άμεση χρησιμοποίηση του φυτικού υλικού όποτε αυτό χρειαστεί.

Επίσης προσφέρεται η δυνατότητα διατήρησης διαφόρων ειδών, των οποίων τα σπέρματα παρουσιάζουν μειωμένη φυτρωτική ικανότητα. Στη περίπτωση αυτή, όταν υπάρχει περιορισμός της έκτασης των μητρικών φυτών λήψης μοσχευμάτων, μπορούν ανά πάσα ώρα να χρησιμοποιηθεί φυτικό υλικό όπου υπάρχει στην ιστοκαλλιέργεια και έτσι να δημιουργηθούν νέα φυτά.

Το Κρίταμο αναπαράγεται επιτυχώς με την μέθοδο της ιστοκαλλιέργειας. Την μέθοδο αυτή την χρησιμοποιούμε σύμφωνα με κάποια πρωτόκολλα σε είδη που είναι δύσκολο να ριζολογίσουν και είναι σπάνια.

Με τον τρόπο αυτό δίνεται η δυνατότητα να υπάρξει παραγωγή μεγάλου αριθμού φυτών σε σύντομο χρονικό διάστημα, απόλυτα υγιή για την εγκατάστασή τους στον αγρό εφόσον έχουν αναπτυχθεί σε ελεγχόμενες συνθήκες. Η δημιουργία τέτοιου φυτικού υλικού δίνει υψηλή ποιότητα (elite) στο πολλαπλασιαστικό υλικό. Ωστόσο λόγω του υψηλού κόστους τις περισσότερες φορές είναι ασύμφορο για τον καλλιεργητή, ο οποίος θα χρειαστεί να προμηθευτεί μεγάλη ποσότητα. Επομένως η μέθοδος αυτή δεν ενδείκνυται για πολλαπλασιαστικό υλικό που θα χρησιμοποιηθεί σε μεγάλες καλλιέργειες λόγω υψηλού κόστους.

### **1.6. Εγκατάσταση καλλιέργειας Κριτάμου**

Η πραγματοποίηση της εγκατάστασης της καλλιέργειας Κριτάμου στο αγροτεμάχιο, γίνεται το φθινόπωρο ή την άνοιξη με το κατάλληλο πολλαπλασιαστικό υλικό. Ο προσδιορισμός του χημειότυπου των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών είναι τελείως απαραίτητος αφού βρίσκουν ποικίλες εφαρμογές είτε ως τρόφιμα, αρτύματα, φάρμακα ή και καλλυντικά.



Είναι γνωστό, ότι οι παράγοντες που επιδρούν στην ποσότητα και την ποιότητα των παραγόμενων συστατικών από κάθε φυτό, είναι α) ο γενότυπος του φυτού, β) οι κλιματολογικοί παράγοντες και γ) οι εδαφικοί παράγοντες. Επομένως, η επιλογή συγκεκριμένων αποδοτικών ειδών, πλούσιων σε συγκεκριμένες φυσικές ουσίες, διαθέτουν καλά εμπορικά χαρακτηριστικά.

Όταν υπάρχει δυνατότητα άρδευσης και τα φυτά διατίθενται με την μορφή έρριζων με «μπάλα» χώματος, μπορούν να εγκατασταθούν και νωρίς ή αργά το καλοκαίρι. Καλό είναι να αποφεύγεται η εγκατάσταση κατά την διάρκεια υψηλών θερμοκρασιών κατά την καλοκαιρινή περίοδο, καθώς μπορεί να προκληθεί μεταφυτευτικό στρες στα νεαρά φυτά.

Οι εργασίες φύτευσης μπορούν να πραγματοποιηθούν με φυτευτικές μηχανές, όταν πρόκειται για μεγάλες εκτάσεις όπως επίσης και με το χέρι. Μετά την φύτευση ακολουθεί απαραίτητη άρδευση όταν οι καιρικές συνθήκες είναι καλές εκτός βέβαια αν ακολουθήσουν βροχοπτώσεις.

Μετά την άρδευση επιτυγχάνεται α) η παροχή της απαραίτητης για το φυτό υγρασίας, και β) η στενότερη επαφή των ριζών με το νέο έδαφος με αποτέλεσμα να γίνεται καλύτερη και γρηγορότερη προσαρμογή του φυτού σε αυτό.

Πιο συγκεκριμένα για την εγκατάσταση των νεαρών φυτών Κριτάμου πραγματοποιείται την άνοιξη με φυτά τουλάχιστον δύο μηνών και σε αμμουδερά εδάφη. Η απόσταση όπου φυτεύονται τα φυτάρια είναι 0,30 m μεταξύ των γραμμών και 0,60 - 0,70 m επί της γραμμής. Στη συνέχεια ποτίζονται αμέσως μόλις τοποθετηθούν στο έδαφος.

Μετά την εγκατάσταση της καλλιέργειας, εφόσον αφηθεί για κάποιο χρονικό διάστημα και έχει μεγαλώσει, ο παραγωγός μπορεί να δημιουργήσει από την δικιά του καλλιέργεια ‘μητρικές φυτείες’ καινούργια φυτά συλλέγοντας τον σπόρο και δημιουργώντας έτσι καινούργια φυτάρια είτε με σπόρο, είτε με παραφυάδες.

Η **άνθιση** του Κριτάμου αρχίζει κατά το τέλος Ιουνίου με αρχές Ιουλίου και διαρκεί όλο το καλοκαίρι.

### **1.7. Ασθένειες – Εχθροί**

Το Κρίταμο είναι ένα φυτό στο οποίο δεν παρουσιάζονται κάποιες ιδιαίτερες προσβολές από εχθρούς και ασθένειες. Συνήθως παρατηρούνται: α) περιστασιακές προσβολές από τις αφίδες

β) περιστασιακές προσβολές από θρίπα και

γ) κάποιες μυκητολογικές ασθένειες, οι οποίες όμως οφείλονται στις υγρές περιοχές όπου μπορεί να είναι το φυτό.

Τα παραπάνω αντιμετωπίζονται κατά περίπτωση ανάλογα με τον τρόπο καλλιέργειας στην οποία βρίσκονται, αν είναι δηλαδή βιολογική η καλλιέργεια ή μη βιολογική.

## **1.8. Καταπολέμηση ζιζανίων**

Μετά την φύτευση ή την σπορά του Κριτάμου, οι κύριες καλλιεργητικές φροντίδες για την καταπολέμηση των ζιζανίων είναι σκάλισμα – ξεβοτάνισμα με μηχανήματα, με το χέρι ή την τσάπα, η άρδευση και οι επεμβάσεις φυτοπροστασίας αν χρειαστούν κατά περίπτωση, και ανάλογα με τον τρόπο καλλιέργειας που εφαρμόζεται.

Η καταστροφή των ζιζανίων ειδικά τα πρώτα χρόνια της καλλιέργειας είναι ίσως η πιο σπουδαία καλλιεργητική φροντίδα για την σωστή ανάπτυξη των φυτών. Η εργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί με μικρό φρεζάκι μεταξύ των γραμμών. Σε αυτή την περίπτωση όμως θα πρέπει να ληφθεί υπόψη η επιφανειακή ανάπτυξη των ριζών των νεαρών φυτών και η πιθανή καθυστέρηση της εξέλιξης της καλλιέργειας λόγω καταστροφής τους.

Η καλύτερη πρακτική καταπολέμηση των ζιζανίων, φαίνεται να είναι η καλλιέργεια του εδάφους με ειδικά πολύ μικρά τρακτέρ μεταξύ των σειρών, κυρίως όμως με καλλιεργητή και σπάνια με τη φρέζα. Εναλλακτικά στις προτείνεται η σπορά μεταξύ των γραμμών με διάφορα ψυχανθή (τριφύλλι έρπον) το οποίο από την μία δρά ανταγωνιστικά στα ζιζάνια, τα οποία δεν αφήνει να αναπτυχθούν και δημιουργεί χαμηλό «χορτοτάπητα», και από την άλλη δεσμεύει το άζωτο, εμπλουτίζοντας έτσι το έδαφος. Μία φορά το χρόνο ή τα δύο χρόνια μπορεί να γίνει και ενσωμάτωσή τους για την αύξηση της οργανικής ουσίας.

Σε αυτή την περίπτωση με καλλιέργεια Κριτάμου μπορεί να στρωθεί το ειδικό πανί μόνο για το πρώτο ή και το δεύτερο χρόνο, και στη συνέχεια να αφαιρεθεί και να τοποθετηθεί σε άλλο αγροτεμάχιο με νέα καλλιέργεια. Δεν θα πρέπει να εφαρμόζεται εδαφοκάλυψη με διαφανές πλαστικό (παρά μόνο το μαύρο πανί ειδικής πλέξης) καθώς ζεσταίνει υπερβολικά το έδαφος και δεν επιτρέπει την αναπνοή του, με συνέπεια τη μείωση της βιολογικής του δραστηριότητας.

Η καταπολέμηση των ζιζανίων πραγματοποιείται κυρίως με το ξεβοτάνισμα και με τη χρήση προφυτρωτικών και μεταφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων. Επίσης η εδαφοκάλυψη είναι ένα μέσο καταπολέμηση των ζιζανίων.

## **1.9. Επεξεργασία και Μεταποίηση**

### **1.9.1. Γενικά για την συγκομιδή των Αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών**

Στα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά η συγκομιδή παίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην ποσότητα και την ποιότητα του παραγόμενου προϊόντος, δηλαδή νωπής και ξηρής δρόγης αλλά ιδιαίτερα του αιθέριου ελαίου. Στην συγκομιδή θα πρέπει να λαμβάνονται ιδιαίτερα υπόψη τα ακόλουθα:

**A)** Να συγκομίζεται μόνο το εμπορεύσιμο μέρος του φυτού, με μηχανές ή χειρωνακτικά, γιατί στη συνέχεια ο διαχωρισμός είναι χρονοβόρος, δαπανηρός και μερικές φορές αδύνατος.

**B)** Τα φυτά να συγκομίζονται στο σωστό στάδιο ανάπτυξης τους. Η χρονική περίοδος της συγκομιδής παίζει πολύ σημαντικό ρόλο για την απόδοση σε φυτική μάζα και την περιεκτικότητα σε ορισμένα συστατικά των αιθέριων ελαίων, που καθορίζουν την ποιότητά του. Έτσι εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού. Θα πρέπει να σημειωθεί ακόμη ότι σε περίπτωση διπλής συγκομιδής η καθυστέρηση της έχει επίπτωση όχι μόνο στην συγκεκριμένη συγκομιδή αλλά και στην επόμενη καθώς ο χρόνος δεν επαρκεί για να αναπτυχθούν σωστά τα φυτά στη συνέχεια.

**Γ)** Να συγκομίζονται στη σωστή ώρα της ημέρας. Υπάρχουν κάποια που θα πρέπει να συγκομίζονται πρωινές ώρες και κάποια άλλα το μεσημέρι.

**Δ)** Και να υπάρχει σωστή μεταχείριση κατά την μεταφορά και κατά την ξήρανση του φυτικού υλικού.

Σε ορισμένα είδη ο καλλιεργητής δεν επεμβαίνει σχεδόν καθόλου από την εγκατάσταση της καλλιέργειας μέχρι και την συγκομιδή. Ωστόσο υπάρχουν και κάποια φυτά στα οποία θα πρέπει να γίνεται εντατική φροντίδα της καλλιέργειας για να παραχθεί όσο το δυνατό πιο ποιοτικό προϊόν.

### **1.9.2. Συγκομιδή του Κριτάμου**

Ποιο συγκεκριμένα η συγκομιδή του Κριτάμου γίνεται σε δύο τμήματα του φυτού, αναλόγως με την χρήση που το θέλουμε.

- I. Για κονσερβοποίηση ή νωπή κατανάλωση συλλέγονται οι τρυφερές κορυφές, που αποτελούν το εδώδιμο τμήμα του φυτού.
- II. Όταν πρόκειται για την παραγωγή εκχυλίσματος, συλλέγουμε όλο το υπέργειο τμήμα με τις ανθικές κεφαλές (ταξιανθίες) του φυτού.

### **1.9.3. Περίοδος Συγκομιδής Κριτάμου**

Η περίοδος συγκομιδής είναι εφικτή σε δύο ή πολλές φορές και τρεις περιόδους.

- I. πρώτη περίοδος είναι τον Μάιο – Ιούνιο,
- II. δεύτερη του Ιούλιο – Αύγουστο και τέλος,
- III. τρίτη το φθινόπωρο.

#### **1.9.4. Μέθοδοι Συλλογής του φυτικού υλικού**

Τα περισσότερα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά συλλέγονται με το χέρι και ιδιαίτερα στις περιπτώσεις που αφορούν τα άγρια φυτά. Η χρήση διάφορων μηχανημάτων συγκομιδής είναι δυνατή σε περίπτωση εκτεταμένων καλλιεργειών ή και σε ειδικές περιπτώσεις όπως η συγκομιδή φλοιών δένδρων. Η συλλογή με το χέρι είναι αναπόφευκτη, καθώς το κόστος παραγωγής της δρόγης, αφορά στο μεγαλύτερο μέρος του την αμοιβή της εργασίας συλλογής.

#### **1.9.5. Απόδοση συγκομιδής Κριτάμου**

Η απόδοση της συγκομιδής σε νωπό βάρος μπορεί να φτάσει τα 1.000 – 1.300 kg/στρ, (335 g/φυτό κατά μέσο όρο) για μία συγκομιδή. Αν στη συνέχεια πραγματοποιηθεί και δεύτερη ή τρίτη συγκομιδή, η στρεμματική απόδοση είναι μεγαλύτερη. Η σχέση νωπού/ξηρού βάρους είναι 1:4. Ο αριθμός ταξιανθιών μπορεί να φτάσει τις 40% ανά φυτό (Μαλούπα Ε, Γρηγοριάδου Κ. κ.α., 2008).

#### **1.10. Αποξήρανση/Ξήρανση Φυτικού Υλικού**

Μετά την συγκομιδή του φυτικού υλικού και τον καθαρισμό του, η συνηθέστερη μέθοδος συντήρησης του φυτικού υλικού είναι η ξήρανση ή η αφυδάτωση. Η διαδικασία της ξήρανσης είναι ιδιαίτερα σημαντική για την παραγωγή προϊόντος υψηλής ποιότητας. Είναι λοιπόν γνωστό ότι επειδή οι ενζυμικές διεργασίες του φυτού γίνονται σε υδάτινο περιβάλλον, η γρηγορότερη απομάκρυνση του νερού από τα κύτταρα θα βοηθούσε στην αποικοδόμηση των κυτταρικών συστατικών αλλά θα είχε και ως αποτέλεσμα να ελαττώνονται οι κίνδυνοι ανάπτυξης διάφορων μικροοργανισμών όπως μύκητες.

Είναι γνωστό, πως τα φυτά περιέχουν μεγάλα ποσοστά υγρασίας, η οποία πρέπει να μειωθεί όσο το δυνατόν πιο γρήγορα αμέσως μετά την συγκομιδή τους. Έτσι θα διατηρηθούν τα δραστικά συστατικά, το άρωμα, το οργανοληπτικά και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους.

Για να πραγματοποιηθεί όμως αυτό θα πρέπει να γίνει η αναστολή των ενζυμικών διεργασιών στο φυτό και το νερό θα πρέπει να ελαττωθεί στο 10%. Για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία αυτή θα πρέπει να γίνεται άμεσα και απαιτεί υψηλές θερμοκρασίες και άμεση αποτελεσματική απομάκρυνση των υδρατμών.

Η ξήρανση του φυτικού υλικού θα πρέπει να γίνεται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες για την αποφυγή διαφόρων χημικών αλλαγών των συστατικών κατά την διάρκειά της. Για τον λόγο αυτό η ξήρανση θα πρέπει να πραγματοποιείται όσο το δυνατόν γρηγορότερα γίνεται, χωρίς να χρησιμοποιούνται υψηλές θερμοκρασίες. Αν και η διαδικασία ξήρανσης επιτυγχάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας, πολλές φορές όμως τα συστατικά των φυτικών ιστών που μας ενδιαφέρουν είναι αρκετά ευαίσθητα σε αυτές.

Οι κυριότεροι μέθοδοι ξήρανσης είναι οι εξής:

- i. Ξήρανση με έκθεση στον αέρα
- ii. Ξήρανση με θέρμανση,
- iii. Λυοφιλίωση (κρυοαφυδάτωση)

Για τον Κρίταμο οι τρόποι ξήρανσης που χρησιμοποιούνται είναι οι παρακάτω όπου και πραγματοποιείται η περιγραφή τους:

- i. **Ξήρανση με έκθεση στον αέρα:** Η μέθοδος αυτή είναι η πιο απλή. Το υλικό απλώνεται σε λεπτές στρώσεις με καλό αερισμό, προκειμένου να διευκολύνεται η διαδικασία της ξήρανσης. Η έκθεση του φυτικού υλικού στον αέρα ή η παραμονή του στη σκιά, επιλέγεται με κριτήριο την ευαισθησία των συστατικών στο φως. Όταν η ξήρανση πραγματοποιείται σε σκιά, ή σε κατάλληλα διαμορφωμένα και απολυμασμένα δωμάτια, αρκετές φορές υποβοηθείται με αύξηση των υδρατμών.
- ii. **Ξήρανση σε ξηραντήρες:** Είναι ο καλύτερος και ο συνηθέστερος τρόπος ξήρανσης του φυτικού υλικού. Υπάρχουν διάφοροι τύποι ξηραντήρων όπως απλοί φούρνοι, καθώς και ξηραντήρες τύπου σήραγγας. Και στις δύο περιπτώσεις το φυτικό υλικό τοποθετείται σε λεπτές στρώσεις πάνω σε ιδιικά ταψιά που φέρουν μικρές οπές έτσι ώστε να επιτρέπεται η κυκλοφορία του θερμού αέρα εντός του φούρνου και να επιτυγχάνεται η ξήρανση της δρόγης σε χαμηλές θερμοκρασίες και σε σύντομο χρονικό διάστημα. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγετε η απώλεια των δραστικών συστατικών ή ακόμα και η αλλοίωσή τους

### 1.11. Αποθήκευση και Συντήρηση Δρόγης

Μετά λοιπόν την ξήρανση το φυτικό υλικό θα πρέπει να φυλαχθεί σε έως ότου χρησιμοποιηθεί. Για να διατηρηθεί και να διατηρήσει τα απαραίτητα συστατικά το φυτικό υλικό είναι αναγκαία η διατήρηση του σε καλά κλεισμένα δοχεία, με αποκλεισμό της υγρασίας προκειμένου να τα προφυλάξουμε από διάφορες προσβολές εντόμων. Επίσης συνίσταται και ο αποκλεισμός του φωτός, ακόμη και στην περίπτωση που δεν υπάρχει άμεση επίδραση στα άνεργα συστατικά, διότι πάντοτε προκαλούνται αλλαγές στην εμφάνιση της δρόγης με συνηθέστερο αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό της.

**Χώροι αποθήκευσης:** Ιδιαίτερα λοιπόν για το υλικό το οποίο προορίζεται για απόσταξη, οι χώροι αποθήκευσης πρέπει να πληρούν κάποιες προϋποθέσεις για την καλύτερη αποξήρανση του φυτικού υλικού. Να είναι στεγνοί και καλά αεριζόμενοι και να παρακολουθείται κατά περίπτωση η θερμοκρασία και η υγρασία καθώς και οι παρτίδες παραλαβής ανά ημερομηνία συγκομιδής και προμηθευτή. Οι χώροι αυτοί πρέπει να σχεδιάζονται και να διατάσσονται, έτσι ώστε να επιτρέπουν τον διαχωρισμό των πρώτων υλών οι οποίοι δεν πρέπει να είναι σε κοινό χώρο με την

επεξεργασία των προϊόντων ή να υπάρχει επαρκής απόσταση που να καλύπτει την απαίτηση του προτύπου για φυσικό διαχωρισμό και τον τέλος τον χώρο για την επεξεργασία των τελικών προϊόντων.

Πρέπει επίσης να ληφθεί υπόψη πως η κατασκευή των αποθηκευτικών χώρων δεν πρέπει να επιτρέπει την είσοδο ξένων ουσιών και παρασίτων ή την πιθανή επιμόλυνση του φυτικού υλικού των αποθηκευμένων φυτών. Όλα τα υλικά είναι καλό να αποθηκεύονται σε παλέτες και να αποφεύγεται η άμεση επαφή με το πάτωμα. Φυτά τα οποία προορίζονται για απόσταξη καλό θα ήταν η αποθήκευση να γίνεται σε συσκευασίες σακιδίων ανά παρτίδες και με κατάλληλη σήμανση.

Σε περίπτωση παραγωγής βιολογικών αιθέριων ελαίων απαιτείται επιπλέον χωροταξικά διακριτή αποθήκευση των βιολογικών φυτών από τα συμβατικά και επιβάλλεται ο χρονικός διαχωρισμός της διαδικασίας παραγωγής.

Ο χώρος αποθήκευσης πρέπει να είναι σχεδιασμένος έτσι ώστε να επιτρέπει τη συντήρηση και τον καθαρισμό, την πρόληψη της επιμόλυνσης και την ελαχιστοποίηση της φθοράς. Στη βιομηχανική παραγωγή αιθέριων ελαίων πρέπει να προβλέπεται ένα ξεχωριστός ασφαλής χώρος αποθήκευσης για τα καθαρά υλικά καθαρισμού, χημικά και άλλες επικίνδυνες ουσίες που μπορεί να έρθουν σε επαφή με τα φυτά ή τα αιθέρια έλαια.

Επίσης χρειάζεται ψυκτικός θάλαμος με τα κατάλληλα ράφια προκειμένου να φυλαχθούν και να αποθηκευθούν τα παραγόμενα αιθέρια έλαια και εκχυλίσματα προκειμένου να διατηρηθούν χωρίς να υπάρξουν αλλοιώσεις στα συστατικά τα οποία περιέχουν.

## **1.12. Μεταποίηση**

Από την δεκαετία του 70', παρατηρείται κυρίως στις ανεπτυγμένες χώρες ένα αυξημένο ενδιαφέρον για την έρευνα, παραγωγή και κατανάλωση Α/Φ φυτών και έχει εφαρμογή ως πρώτη ύλη τόσο στην βιομηχανία τροφίμων και στη φαρμακοβιομηχανία όσο και στην αρωματοθεραπεία. Λόγω των ιδιοτήτων που παρουσιάζουν τα φυτά, είναι χρήσιμο να καταστεί δυνατή η αξιοποίησή του. Αυτό επιτυγχάνεται με την μεταποίηση των προϊόντων σε τρεις κατηγορίες: α) Ξηρή δρόγη β) Αιθέρια έλαια και γ) Εκχυλίσματα

### **1.12.1. Ξηρή δρόγη**

Μετά την συγκομιδή του φυτικού υλικού ακολουθεί η συντήρησή του. Η συνηθέστερη μέθοδος για να πραγματοποιηθεί είναι η ξήρανση ή αφυδάτωση. Η διαδικασία της ξήρανσης πρέπει να γίνει σε σύντομο χρονικό διάστημα και απαιτεί αφενός μεν υψηλές θερμοκρασίες αφετέρου δε άμεση και αποτελεσματική απομάκρυνση των υδρατμών από το υλικό.

Το Κρίταμο όμως, δεν είναι σύνηθες προς το παρών, τουλάχιστον για ξηρή δρόγη. Τα σαρκώδη φύλλα του χρησιμοποιούνται ως καρύκευμα. Το βρίσκει κανείς σε διάφορες συνταγές κυρίως όμως χλωρό όπως τουρσί, και διάφορα άλλα.

**Φαρμακευτική αξία:** Χρησιμοποιείται ως ορεκτικό, διουρητικό, καθαριστικό του αίματος και θεωρείται ευεργετικό για το συκώτι. Το βρίσκουμε με την μορφή εγχύματος, χυμού, βάμματος, αιθέριου ελαίου, σιροπιού, ακόμη και φαρμακευτικού οίνου. Έχει ήπιες αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Το εκχύλισμα και το αιθέριο έλαιο βρίσκουν πολλές εφαρμογές στην κοσμετολογία

Για να πραγματοποιηθεί η παραλαβή των αιθέριων ελαίων μπορεί να γίνει με τους εξής τρόπους:

### **1.12.2. Παραλαβή αιθέριου ελαίου Κριτάμου με απόσταξη**

Η παραλαβή του αιθέριου ελαίου επιτυγχάνετε με διάφορες μεθόδους όπως την απόσταξη, εκχύλιση, σύνθλιψη κ.λ.π. ανάλογα με το είδος του κάθε τμήματος του φυτικού υλικού και την περιεκτικότητά του σε αιθέρια έλαια.

Η απόσταξη είναι διαδεδομένη μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων. Υπάρχουν διάφορα είδη απόσταξης προκειμένου να πραγματοποιείται η σωστή διαδικασία παραλαβής αιθέριου ελαίου. Το αιθέριο έλαιο παραλαμβάνεται από τα άνθη, τους σπόρους, το φλοιό, τα φύλλα ή τις ρίζες των φυτών. Οι μέθοδοι απόσταξης είναι οι ακόλουθοι:

- Απόσταξη με νερό
- Απόσταξη με ατμό
- Αποστάξεις με διαλύτες
- Απόσταξη με χρήση του διοξειδίου του άνθρακα

Το Κρίταμο δεν παράγει όμως μεγάλη ποσότητα αιθέριου ελαίου με τον τρόπο της απόσταξης. Παρόλα αυτά όμως, η ποσότητά του χρησιμοποιείται για να προστατεύει και να λειαίνει το δέρμα. Επίσης το χρησιμοποιούν οι φαρμακοβιομηχανίες για την παραγωγή διαφόρων σκευασμάτων, καλλυντικών κ.τ.λ.

### **1.12.3. Παραλαβή αιθέριου ελαίου με εκχύλιση**

Η εκχύλιση και ιδιαίτερα η εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες, είναι η κύρια μέθοδος που προτιμάται όταν η πρώτη ύλη είναι λουλούδια με αιθέριο έλαιο μεγάλης αξίας. Σε αυτό το είδος εκχύλισης περιλαμβάνεται όλο το αιθέριο έλαιο που αντιπροσωπεύει το πραγματικό άρωμα του φυτού, από όπου προέρχεται. Έτσι με την εκχύλιση μπορούμε να πάρουμε διάφορα συστατικά από το αποξηραμένο φυτικό υλικό.

Για να πραγματοποιηθεί σωστά η εκχύλιση του αποξηραμένου φυτικού υλικού, θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στους διαλύτες, οι οποίοι θα πρέπει να είναι καθαροί και ιδιαίτερα οι αιθέρες να περιέχουν αντιοξειδωτικά, όπως βουτυλο-υδροξυ-τολουένιο.

Η εκχύλιση και ο ακριβής τρόπος της μεθόδου, εξαρτάται από το φυτικό υλικό, το νερό που περιέχει και το είδος των συστατικών που θα πρέπει να απομονωθούν. Ένας καλός διαλύτης και για προκαταρκτική εκχύλιση είναι η αλκοόλη.

Οι τρόποι εκχύλισης και οι συνηθέστεροι για τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά είναι:

**α) Εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες:** Αποτελεί την πιο εύχρηστη μέθοδο για την παραλαβή αιθέριων ελαίων αν και χρειάζεται πολυδάπανες εγκαταστάσεις και ειδικευμένο προσωπικό. Κατά την εφαρμογή της χρησιμοποιείται ως πτητικός διαλύτης ο πετρελαϊκός αιθέρας καθώς και το βενζόλιο, η αιθυλική αλκοόλη, κλπ. Με την χρήση κατάλληλων εκφυλιστικών συγκροτημάτων, το προϊόν που λαμβάνεται μετά την αφαίρεση του πτητικού διαλύτη ονομάζεται σύγκριμα ή κονκρέτα και περιέχει εκτός από το αιθέριο έλαιο και διάφορες άλλες ουσίες. Από αυτό, μετά από ειδική κατεργασία με αλκοόλη λαμβάνεται το τελικό προϊόν ή απόλυτο που είναι το καθαρό αιθέριο έλαιο.

**β) Εκχύλιση με ψυχρό λίπος:** Είναι η πιο παλιά μέθοδος εκχύλισης η οποία είναι αποτέλεσμα του βελτιωμένου τρόπου παρασκευής αρωματικών αλοιφών που χρησιμοποιούνταν στην αρχαιότητα, όταν τοποθετούσαν τα άνθη ή τις ρίζες μέσα σε γυάλινα δοχεία που περιείχαν λίπος. Χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στο παρελθόν ενώ σήμερα έχει εγκαταλειφθεί. Ως φυτικό υλικό χρησιμοποιούνταν άνθη που συνεχίζουν και μετά τη συλλογή τους να διασκορπίζουν στο περιβάλλον το άρωμά τους ενώ σχετικά με το λίπος απαιτείται αυτό να είναι ημίσκληρο και καθαρό. Μετά την εκχύλιση το λίπος και το αιθέριο έλαιο κατεργάζονται με αλκοόλη, οπότε αφαιρείται το λίπος και λαμβάνεται το καθαρό αιθέριο έλαιο.

**γ) Εκχύλιση με θερμό λίπος:** Η μέθοδος αυτή μοιάζει με την προηγούμενη και εφαρμόζεται για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από τα άνθη τα οποία δε συνεχίζουν τη φυσιολογική δράση της παραγωγής και διαχύσεως στο περιβάλλον αρώματός τους. Το λίπος με τα άνθη τοποθετούνται σε δοχεία γύρω στους 80 °C. Όταν το λίπος κορεσθεί με αιθέριο έλαιο τότε με ειδική κατεργασία λαμβάνεται το καθαρό αιθέριο έλαιο. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή έχει εγκαταλειφθεί και δε χρησιμοποιείται ευρύτερα.

**δ) Εκχύλιση με υδρόφιλους διαλύτες:** Η χρήση υδατοδιάλυτων ως εκφυλιστικά μέσα ή σε ανάμειξη με νερό για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων εφαρμόζεται στον κλάδο της κοσμετολογίας. Πιθανοί διαλύτες είναι αιθυλενογλυκόλη και βουτυλενογλυκόλη. Απαραίτητη προϋπόθεση για την χρήση τέτοιων εκχυλισμάτων ως έχουν, είναι ο έλεγχος του τίτλου δραστικών ουσιών, δεδομένου ότι οι περισσότερες από αυτές είναι ιδιαίτερα ασταθείς όταν βρίσκονται σε διάλυμα.



Η μέθοδος εκχύλισης που χρησιμοποιείται κυρίως για την παραλαβή αιθέριου ελαίου Κριτάμου είναι η εκχύλιση με υδρόφιλους διαλύτες και κυρίως με αλκοόλη. Το αιθέριο έλαιο Κριτάμου που προκύπτει μετά από 15-20 μέρες χρησιμοποιείται κυρίως στη κοσμετολογία και στη παραγωγή καλλυντικών.

#### **1.12.4. Ποιότητα και ασφάλεια των μεταποιημένων προϊόντων**

Για να είναι ένα προϊόν το οποίο τυποποιείται αξιόπιστο η διαπίστευση της ποιότητας ενός φυτικού τελικού προϊόντος είναι ιδιαίτερος σημαντική καθώς μπορεί να διασφαλιστεί μόνο με την τυποποίηση της όλης διαδικασίας. Δηλαδή να γίνεται έλεγχος ποιότητας των παραγόμενων προϊόντων από το σπόρο μέχρι το τελικό προϊόν. Να γίνεται η πλήρης καθετοποίηση και η συνεχής παρακολούθηση της παραγωγής και στην συνέχεια να τυποποιείται.

#### **1.13. Το Κρίταμο στην φαρμακολογία**

Στο τομέας της φαρμακολογίας υπάρχουν διάφορες επιχειρήσεις που τα τελευταία χρόνια ζητούν προς μεταποίηση μεγάλο αριθμό Α/Φ φυτών προκειμένου να πραγματοποιήσουν μέσω της μεταποίησης αυτών διάφορα προϊόντα φαρμακευτικά και παραφαρμακευτικά από τα αιθέρια έλαια και τα εκχυλίσματα των Α/Φ φυτών.

Κάποια από τα προϊόντα αυτά είναι: η παρασκευή καλλυντικών, αποσμητικά, στοματικά διαλύματα, οδοντόπαστες, αφρόλουτρα, σαπούνια κρέμες, λοσιόν καθαρισμού και λοιπά ελιξίρια ομορφιάς αλλά ακόμη και αποσμητικά χώρου και καθαριστικά. Τα τελευταία χρόνια η ζήτηση αυτών των εταιρειών έχει αυξηθεί κατακόρυφα λόγω μεγάλης ζήτησης φυσικών προϊόντων από τους καταναλωτές. Επίσης, τα αιθέρια έλαια ή τα εκχυλίσματα χρησιμοποιούνται στην παραγωγή υψηλής ποιότητας αρωμάτων.

Πιο συγκεκριμένα το Κρίταμο, όπως αναφέρθηκε είναι φυτό γνωστό από την αρχαιότητα για τις θεραπευτικές του ιδιότητες. Εθνοφαρμακολογικά δεδομένα υποδηλώνουν την χρήση του στην λαϊκή θεραπευτική ως αντισκορβουτικό και διουρητικό, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς του σε βιταμίνη C, καροτενοειδή και φαινολικές ενώσεις (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα). Έχει υψηλή περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο. Το υδατικό εκχύλισμα του Κριτάμου περιέχει μεταξύ άλλων φαινολικές ουσίες κυρίως χλωρογενικό οξύ (υδροξυκιναμικό οξύ) και παράγωγά του. Μάλιστα θεωρείται ότι είναι μια σημαντική πηγή της αντιοξειδωτικής αυτής ουσίας, η οποία έχει επιπλέον αντι-ιοικές, αντιφλεγμονώδεις και ανοσολογικές ιδιότητες.

Τέλος το αιθέριο έλαιο όπως και το εκχύλισμα του Κριτάμου βρίσκουν πολλές εφαρμογές στην κοσμετολογία Το Κρίταμο είναι ιδανικό σκεύασμα σε μορφή γέλης για μασάζ στο πρόσωπο και τον λαιμό, ως καθαριστικό και αναζωογονητικό του

δέρματος. Σε μορφή κρέμας είναι εξαιρετικό για την περιοχή των ματιών. Βοηθά στη μείωση των λεπτών ρυτίδων και των σκοτεινών κύκλων γύρω από τα μάτια. Σε μορφή αιθέριου ελαίου λειαίνει και προστατεύει το δέρμα και με μορφή εκχυλίσματος έχει βακτηριοκτόνο και αντιπιτυρδική δράση (π.χ. σαμπουάν).

Τέλος τα σπέρματά του περιέχουν αξιόλογες ποσότητες λάδι, δυνητικώς βρώσιμο, λόγω του ότι η σύστασή του σε λιπαρά οξέα είναι παρόμοια με του ελαιολάδου.



Εικόνα 5. Κρέμα προσώπου από εκχύλισμα *C.maritimum* (πηγή: Δρ. Ελένη Μαλούπα).



Εικόνα 6. Μεξεδάκι για τσάι με *C.maritimum* (πηγή: Αρώματα και Γεύσεις από τον Βοτανικό Κήπο).



Εικόνα 7. Τουρσί *C.maritimum* από την Ικαρία (πηγή: [www.spame.gr](http://www.spame.gr)).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

### Χρήση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στη γεωργία

#### 2.1. Γενικά στοιχεία για τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς

Είναι γνωστό πως οι μύκητες χωρίστηκαν για πρώτη φορά το 1969 από τον Whittaker ο οποίος τους έδωσε την λατινική ονομασία Fungi. Οι μύκητες είναι ένα από τα πέντε ξεχωριστά βασίλεια των εμβρύων όντων με κυτταρική δομή. Τα υπόλοιπα είναι: τα Ζώα (Animalia), τα Φυτά (Plantae), τα πρώτιστα (Protista), και τα Μονήρη (Monera).

Οι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί σπανίως ζουν σε απομόνωση. Αρκετοί στηρίζονται σε άλλα πλάσματα, όπως θρεπτικά συστατικά ή πηγές τροφίμων. π.χ. τα φωτοσυνθετικά φυτά και μικρόβια παρέχουν οξυγόνο που χρειάζονται οι άνθρωποι, τα δένδρα προσφέρουν καταφύγιο σε άλλα φυτά ή και ζώα. Όμως μερικές σχέσεις μεταξύ των διαφόρων οργανισμών είναι αρκετά πιο περίπλοκες. Σε αρκετές περιπτώσεις υπάρχουν οργανισμοί που εξαρτώνται από κάποιους άλλους προκειμένου να επιβιώσουν. Έτσι στις περιπτώσεις αυτές ο ένας χρειάζεται τον άλλο. Η σχέση αυτή των δύο οργανισμών ονομάζεται συμβίωση.

Συχνά παρατηρούμε έναν οργανισμό να ζει μέσα σε κάποιον άλλο – τον ξενιστή. Αυτό συμβαίνει ιδιαίτερα στα μικρόβια. Στη περίπτωση αυτή προκύπτουν δύο σχέσεις. 1) η σχέση αμοιβαιότητας, δηλαδή έχουμε και τους δύο μικροοργανισμούς να επωφελούνται από την συμβίωση και 2) η σχέση commensalism, όπου ο ένας από τους δύο μικροοργανισμούς ωφελείται από την συμβίωση και ο άλλος βλάπτεται.

Αν και αυτή η μικροβιακή συμβίωση συμβαίνει μεταξύ δύο μικροβίων, ωστόσο τα μικρόβια σχηματίζουν ενώσεις και με άλλα είδη οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των φυτών και των ζώων. Η συμβίωση μπορεί να πραγματοποιηθεί επίσης και στα βακτήρια, στους μύκητες και τα φυτά όπου αποτελούν μία αμοιβαία σχέση την ονομαζόμενη μυκόρριζα, στις λειχήνες (μύκητα και φύκη) και τέλος στα πρώτιστα.

Στο κεφάλαιο αυτό θα αναφερθεί στη συνέχεια πιο αναλυτικά η σχέση του μύκητα με τα φυτά και η σχέση του βακτηρίου στην ρίζα του φυτού.

#### 2.2. Μυκόρριζες

Μυκόρριζα είναι η συμβίωση ριζών των ανώτερων φυτών στην πλειονότητά τους με μύκητες. Αρχικά ο όρος «συμβίωση» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Frank το 1887 (Smith και Read 1999) ως ένας ουδέτερος όρος ο οποίος δεν δήλωνε παρασιτισμό, αλλά βασιζόταν στην συνύπαρξη ανόμοιων οργανισμών. Το 1887 ο De Barry χρησιμοποίησε τον όρο προκειμένου να δείξει την κοινή ζωή παράσιτου και

ξενιστή καθώς προφανώς και την σχέση των οργανισμών οι οποίοι βοηθούν ο ένας τον άλλο (Smith και Read 1997, Brundrett 2004, Govindarajulu κ.α. 2005).

Ο όρος «μυκόρριζα» αναφέρεται στο δομικό και λειτουργικό σύμπλεγμα που δημιουργείται ανάμεσα στη ρίζα και έναν μύκητα. Προέρχεται από την σύνθετη λέξη μυκο- (μύκητας) και ρίζα. Είναι γνωστό λοιπόν, πως οι ρίζες ανώτερων φυτών στην πλειονότητά τους αναπτύσσουν συμβιωτικές σχέσεις με τους μύκητες.

Παλαιοντολογικά ευρήματα δείχνουν πως οι μυκόρριζες σχημάτιζαν και τα πρώτα φυτικά είδη, τα οποία εμφανίσθηκαν στη Γη. Πολλά από τα είδη των αυτότροφων οργανισμών τα οποία δεν σχηματίζουν ριζικά τριχίδια ή ρίζες, μπορούν να υπάρξουν σε κάποιες περιοχές διότι τα ίδια έχουν την ιδιότητα να σχηματίζουν μυκόρριζες (Βερέσογλου 2002).

Ο Allen, (1991) περιέγραψε την αλληλεπίδραση μεταξύ του μύκητα – φυτού (μυκόρριζα) σαν μία συμβίωση του φυτού και του μύκητα η οποία λαμβάνει χώρα μέσα στη ρίζα του φυτού και στην οποία η ενέργεια κινείται κυρίως από το φυτό στο μύκητα και τα ανόργανα συστατικά κινούνται από το μύκητα προς το φυτό. Σε αυτή την επωφελείς σχέση, όταν ο μύκητας προμηθεύει το φυτό-ξενιστή με ανόργανα ιόντα, κυρίως φώσφορο, στη συνέχεια το φυτό-ξενιστής τροφοδοτεί τον μύκητα με φωτοσυνθετικά προϊόντα δηλαδή οργανικό άνθρακα.

Στην περίπτωση όμως κατά την οποία δεν υπάρχει επαρκής παροχή των απαραίτητων στοιχείων και ειδικά του φωσφόρου, τότε αρκετά φυτά αναπτύσσονται χωρίς την παρουσία μυκορριζικών μυκήτων. Όταν λοιπόν υπάρχει έλλειψη ανόργανων ιόντων και τα φυτά δεν συμβιώσουν με μυκορριζικούς μύκητες είναι αρκετά δύσκολο να αναπτυχθούν.

Έτσι πολλές μυκόρριζες αναπτύσσονται σε φυτά τα οποία ζουν σε εδάφη με χαμηλότερη διαθεσιμότητα σε θρεπτικά στοιχεία. Στη συνέχεια δημιουργείται ένα εκτεταμένο δίκτυο από ελεύθερες υφές που επεκτείνεται από την επιφάνεια της ρίζας. Οι μυκηλιακές υφές αντικαθιστούν τα ριζικά τριχίδια, και έτσι σχηματίζουν μεγαλύτερη απορροφητική επιφάνεια από εκείνη της ρίζας. Το μυκήλιο αναπτύσσεται γύρο από την ρίζα και επεκτείνεται μέσα στο έδαφος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα μυκήλια να μπορούν να εκμεταλλεύονται μεγαλύτερο όγκο εδάφους.

Αρκετοί μύκητες που ζουν στο έδαφος αποικίζουν τις ρίζες του φυτού ξενιστή και έτσι επεκτείνουν το ριζικό του σύστημα, επιτρέποντάς του να απορροφήσει νερό και θρεπτικά συστατικά από το χώμα σε ανταλλαγή των σακχάρων (Andersen, 2013 από Parniske 2008; Smith & Smith 2011).

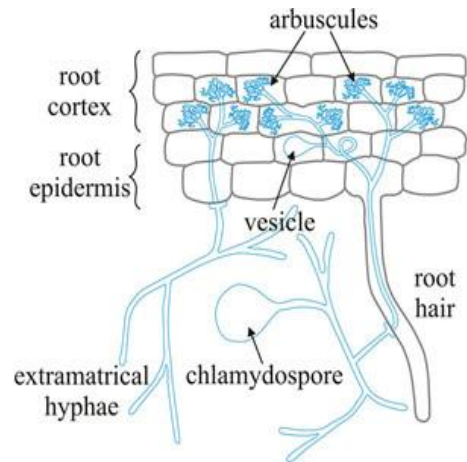
Η προσφορά του μύκητα σε αυτήν την συμβίωση είναι αρκετά σημαντική διότι οι μύκητες οι οποίοι σχηματίζουν μυκόρριζα αυξάνουν όχι μόνο την μεταφορά θρεπτικών από το έδαφος στο φυτό, αλλά έχουν την δυνατότητα να πραγματοποιείται και αύξηση της μεταφοράς θρεπτικών μεταξύ των φυτών. Αυτή είναι μία γέφυρα που πραγματοποιείται μεταξύ όχι μόνο του ίδιου είδους φυτών αλλά και διαφορετικών.

Έτσι όταν υπάρχουν φυτά που δεν βρίσκονται σε ευνοϊκά σημεία μπορούν να επωφεληθούν από την φωτοσυνθετική δραστηριότητα των άλλων φυτών καθώς και να πάρουν θρεπτικά από το σύστημα σύνδεσης των υφών.

Παρατηρείται όμως, ότι σε όλα τα εδαφικά συστήματα κάθε αναπτυσσόμενο φυτό σχηματίζει κάποιου είδους μικροβιακής αλληλεπίδρασης στην περιοχή της ριζόσφαιρας. Οι περισσότεροι μύκητες σχηματίζουν μυκόρριζες οι οποίοι συντελούν στην αύξηση της διαθεσιμότητας των θρεπτικών στοιχείων για τα φυτά, σε οικοσυστήματα όπου υπάρχει έλλειψη αυτών. Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έχουν δείξει την βελτίωση της μεταφοράς των θρεπτικών στοιχείων στους φυτικούς ιστούς, μέσω της αύξησης της επιφάνειας απορρόφησης των ριζών και λόγω της επέκτασης του μυκηλίου του μύκητα σε σημεία αρκετά πιο μακριά από την ριζόσφαιρα.

Με την χρήση της μυκόρριζας αυξάνεται η απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων από την ρίζα έως και 20%, με αποτέλεσμα να βοηθά στην απορρόφηση συγκεκριμένων στοιχείων όπως P, Cu, Zn από το φυτό ξενιστή και εφόσον πραγματοποιηθεί η εισχώρηση στο μικροπορώδες στη συνέχεια απορροφά νερό. Το φυτό μέσω της διαδικασίας αυτής διαθέτει ενέργεια στο μύκητα αλλά και άνθρακα μέσω των φωτοσυνθετικών ουσιών. Η συμβιωτική δράση των ειδών μυκόρριζας είναι γνωστή για την αποτελεσματικότητά της στην πρόσληψη φωσφόρου και στην αύξηση της εισροής φωσφόρου στα φυτά (Sandes & Tinker, 1971; Jakobsen, 1986). Οι ωφέλειες όμως που προσφέρει στον αυτότροφο οργανισμό είναι ποικίλες και εξαρτώνται σε κάποιο βαθμό από τον τύπο των μυκόρριζων που σχηματίζονται. Έτσι λοιπόν αυτού του είδους η συμβίωση αποτελεί ένα από τα πιο διαδεδομένα και ενδιαφέροντα παραδείγματα παρασιτισμού που συμβαίνει στην φύση.

Η μυκόρριζα έχει επίσης την ικανότητα να προστατεύει το φυτό από την ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών, είτε μειώνοντας τις πιθανότητες προσβολής ή ακόμα και να τις αποτρέπει. Έτσι μέσω της μυκόρριζας διεγείρεται το αμυντικό σύστημα του φυτού, μέσω της δικής του προσβολής στο ριζικό ιστό, εμποδίζοντας την αύξηση του πληθυσμού των μικροβίων. Τα είδη μυκόρριζας είναι πιθανότατα οι πιο άθφονοι μύκητες στα καλλιεργούμενα εδάφη και υπολογίζονται περίπου μεταξύ 5% έως και 50% της βιομάζας των εδαφικών μικροβίων. Κάποια είδη μυκόρριζας έχουν την ικανότητα να ενισχύουν την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και πιο συγκεκριμένα σε P και Zn. Τέλος είναι απαραίτητο να αναφερθεί, πως εκτός από την αυξημένη πρόσληψη θρεπτικών συστατικών, η συμβίωση μεταξύ φυτού και μύκητα δεν εξασφαλίζει μόνο την κατάλληλη ανάπτυξη του φυτού, αλλά τα καθιστά και ιδιαίτερα



Εικόνα 8. Δενροειδής μυκόρριζα (πηγή: [www.davidmoore.org.uk](http://www.davidmoore.org.uk)).

ανθεκτικά ενάντια στους παθογόνους μικροοργανισμούς, αλλά ακόμη και στο στρες του περιβάλλοντος π.χ. την ψήξη, την αλατότητα (BARBAS E., 2011).

Οι μυκόρριζες παράγουν ένζυμα τα οποία όπως προαναφέρθηκε, μπορούν να προστατεύουν τις ρίζες των φυτών από συγκεκριμένα παθογόνα και να βελτιώνουν τις υδατικές σχέσεις, ιδιαίτερα κάτω από συνθήκες περιορισμού θρεπτικών στοιχείων.

Τέλος ο αποικισμός του ριζικού συστήματος με είδη μυκόρριζας πραγματοποιείται με ειδικού τύπου μύκητες όπου εισχωρούν στα εσωτερικά κύτταρα των φυτικών ιστών, και έτσι εξαπλώνονται και στο εξωτερικό τμήμα της ρίζας στη λεγόμενη ριζόσφαιρα, με αποτέλεσμα να δημιουργείται έτσι ένας ουσιαστικότερος σύνδεσμος ανάμεσα στο ριζικό σύστημα και το έδαφος.

Η ποσοτικοποίηση της αποικίας των μυκήτων στη ρίζα γίνεται πολύ απλά με την χρήση βιοχημικών ή μικροσκοπικών (Philips & Hayman, 1970) τεχνικών. Η τελευταία μπορεί να συνδυαστεί με μορφομετρικές μεθόδους που αυξάνουν την ανάλυση των μετρήσεων.

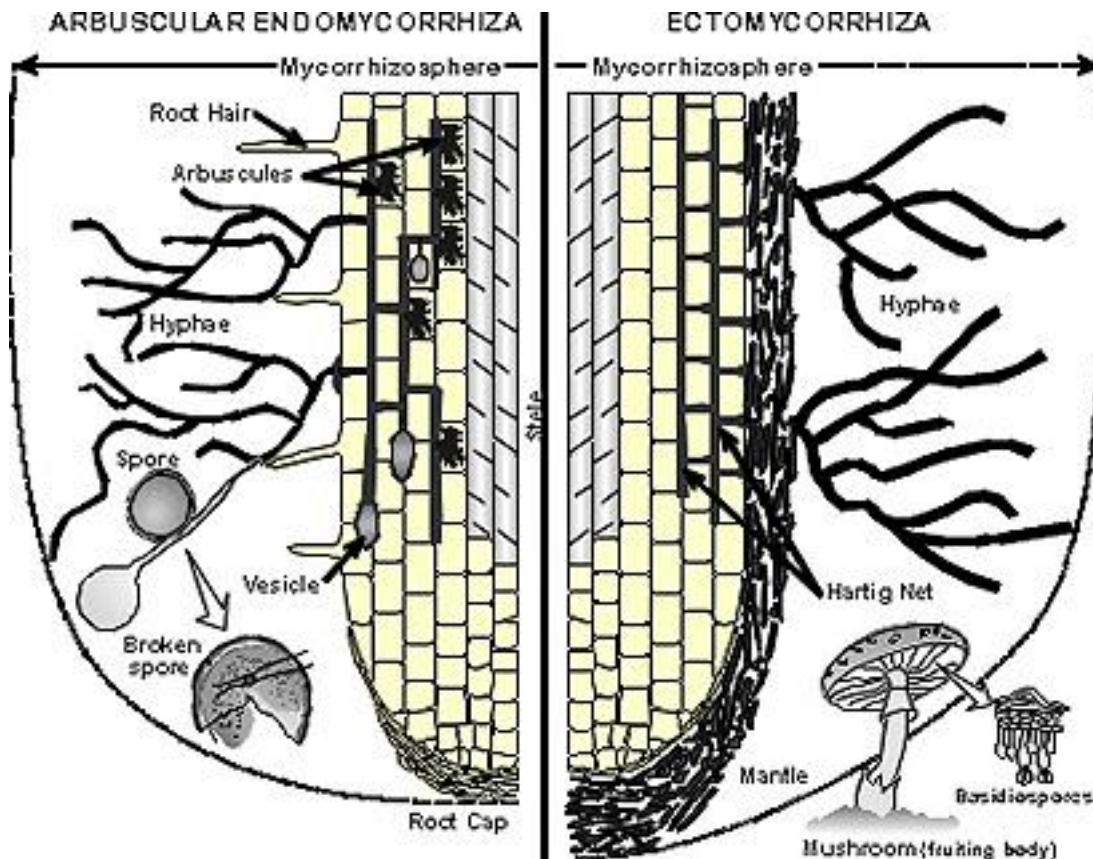
### **2.2.1. Τύποι Μυκόρριζας**

Τα είδη μυκόρριζας που είναι πιο γνωστά σήμερα είναι δύο και διακρίνονται στις εκτομυκόρριζες (EcM) και τις ενδομυκόρριζες (VAM) (Kottke 2002, Brundrett 2004).

#### **A) Εκτομυκόρριζες:**

Ο μύκητας δημιουργείται εκτός της ρίζας. Οι εκτομυκόρριζες παρουσιάζουν ιδιαίτερη χαρακτηριστική δομή. Γύρω από τις κορυφές των ριζών του φυτού σχηματίζεται ένα περίβλημα από μυκηλιακό ιστό που λέγεται μανδύας. Οι ρίζες συνήθως είναι κοντές και χωρίς να έχουν ριζικά τριχίδια. Οι υφές του μύκητα που βρίσκονται κάτω από τον μανδύα, δεισδύουν στους μεσοκυττάριους χώρους των κυττάρων του φλοιού της ρίζας, δημιουργώντας έτσι ένα χαρακτηριστικό δίκτυο γύρω από αυτά που ονομάζεται δίκτυο Hartig, χωρίς όμως να εισχωρούν στα κύτταρα. Το δίκτυο Hartig προσφέρει την επιφάνεια που απαιτείται προκειμένου να πραγματοποιηθεί η ανταλλαγή των θρεπτικών στοιχείων μεταξύ φυτού και μύκητα. Στη συνέχεια από την εξωτερική επιφάνεια του μανδύα ξεκινά να απλώνεται στο έδαφος ένα εκτεταμένο δίκτυο μεμονωμένων υφών ή ριζόμορφων του μύκητα, το οποίο στη συνέχεια ενώνει διαφορετικά φυτά μεταξύ τους τα οποία μπορούν να είναι και από διαφορετικά είδη και τέλος ένα εκτεταμένο μυκήλιο. Βέβαια αυτό επιτυγχάνεται μόνο όταν ο μύκητας δεν σχηματίζει κάποια εξειδικευμένη μυκορριζική σχέση. Τέλος το εκτεταμένο δίκτυο των υφών που προκύπτει στο έδαφος, προσφέρει την δυνατότητα να αναζητά και να εκμεταλλεύεται τα θρεπτικά στοιχεία και το νερό (Smith & Read 1997, Deacon 2006). Οι εκτομυκόρριζες

συνδέονται κυρίως με ξυλώδη δασικά είδη, με μεγάλη εξάπλωση, όπως π.χ. είδη των οικογενειών Pinaceae και Fagaceae. Τέλος τα είδη που σχηματίζουν τους εκτομυκορριζικούς μύκητες ανήκουν κυρίως στους Βασιδιομύκητες, σε κάποιους Ασκομύκητες, αλλά και σε ένα μικρό αριθμό Ζυγομυκήτων και συχνά ταξινομούνται στα δάση σαν άγρια μανιτάρια. Η σπουδαιότητά τους είναι μεγάλη για τα δάση των κωνοφόρων καθώς η ύπαρξή τους θεωρείται απαραίτητη για την εγκατάσταση και



την επιβίωσή τους.

Εικόνα 9. Σύγκριση ενδομυκορριζας και εκτομυκορριζας (πηγή: <http://invam.wvu.edu>).

## B) Ενδομυκορριζες

Οι ενδομυκορριζες περιλαμβάνουν τρεις τύπους. Οι δύο είναι αρκετά εξειδικευμένες και συναντώνται στα φυτικά είδη της τάξης Ericales και της οικογένειας Orchidaceae. Ο τρίτος τύπος ενδομυκορριζών είναι ο δενδρόμορφος (arbuscular) ο οποίος στην διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται με τα αρχικά AMF (Arbuscular Mycorrhiza Fungi). Η ενδομυκορριζα ή κυστοειδής – θυσανοειδής μυκορριζα (versicular-arbuscular mycorrhizas, VAM) είναι η πιο συνηθισμένη κατηγορία μυκορριζών στη φύση δεδομένου ότι απαντά στις περισσότερες οικογένειες των φυτών (Trappe 1987) όπως και στις πτέριδες αλλά και στα βρυόφυτα (Βερεσόγλου 2002). Μία από τις ελάχιστες εξαιρέσεις αποτελούν τα φυτά της οικογένειας Brassicaceae τα οποία δεν σχηματίζουν μυκορριζες.

Όμως υπάρχουν και αρκετές ακόμη κατηγορίες όχι όμως τόσο γνωστές όπως είναι: οι Μυκόρριζες Ορχιδοειδών (OrM), Ερικοειδείς μυκόρριζες (ErM), οι Μονοτροποδιακές μυκόρριζες (MtM), οι Εκτενδομυκόρριζες (EeM) και οι Αρμπουτοειδείς μυκόρριζες (AbM).

Τις δενδρόμορφες ενομυκόρριζες τις σχηματίζουν κυρίως τα είδη της τάξης Glomales (Morton και Benny 1990). Η ανάπτυξη του μύκητα πραγματοποιείται στο εσωτερικό της ρίζας. Ο μύκητας διαμορφώνει ειδικούς σχηματισμούς στα κύτταρα της ρίζας οι λεγόμενες δενδρόμορφες υφές (arbuscular) οι οποίες διαπερνούν τα κύτταρα των ριζικών τριχιδίων και έτσι σχηματίζει μέσα στο φλοιό μεγάλα κυστίδια (vesicles) και θυσάνους. Από τις υφές είναι μεταφέρονται τα θρεπτικά στοιχεία μεταξύ του μύκητα και του φυτού (Smith και Gianinazzi-Pearson 1988). Οι υφές της μυκόρριζας υπάρχουν και στη ρίζα – ξενιστή (εσωτερικό μυκήλιο) και έξω από αυτό (εξωτερικό μυκήλιο).

Η μόλυνση που μπορεί να προκύψει από τις μυκόρριζες, είναι δυνατό να μεταβάλλει τόσο τη λειτουργία και το ρυθμό ανάπτυξης της ρίζας, όσο και την εκκριτική δραστηριότητα μέσω του εκτεταμένου μυκηλίου τους. Οι υφές της AMF έχουν την δυνατότητα να επεκτείνονται αρκετά εκατοστά από την επιφάνεια της ρίζας και με αυτό τον τρόπο αυξάνουν τη πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών. Δεν επιφέρουν μεγάλη αλλοίωση στις εξωτερικές μορφές της ρίζας, διότι οι υφές τους είναι λεπτεπίλεπτες με αποτέλεσμα να μην σχηματίζουν παχύ στρώμα πάνω στην ρίζα.

### **2.2.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά του AM μύκητα**

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του AMF είναι οι δενδρόμορφες υφές που διαπερνούν τα κύτταρα των ριζικών τριχιδίων και έτσι σχηματίζουν μέσα στο φλοιό μεγάλα κυστίδια και θυσάνους. Από τις υφές μεταφέρονται τα θρεπτικά στοιχεία μεταξύ του μύκητα και του φυτού (Smith και Gianinazzi-Pearson 1988). Οι υφές της μυκόρριζας υπάρχουν και στη ρίζα – ξενιστή (εσωτερικό μυκήλιο) και έξω από αυτό (εξωτερικό μυκήλιο).

### **2.3.3. Εμβολιασμός φυτών με AM μύκητες**

Έχει παρατηρηθεί τα τελευταία χρόνια, αρκετό ενδιαφέρον για τη χρήση AM μυκόρριζας στη γεωργική παραγωγή. Είναι αξιοσημείωτο και πολύ σπουδαίο για την αξιολόγηση των ενδομυκορριζικών μυκήτων ότι δεν έχουν κάποιο συγκεκριμένο ξενιστή. Επομένως, ο εμβολιασμός διαφόρων καλλιεργούμενων ειδών με μύκητα που σχηματίζει AMF πραγματοποιείται πολύ εύκολα είτε μέσω του ίδιου του φυτού, είτε μέσω των υπολειμμάτων του εδάφους, από φυτά που είχαν καλλιεργηθεί και έφεραν μυκορριζικούς μύκητες, ακόμη όμως και με πολλαπλασιαστικά όργανα του μύκητα,



όπως υφές ή σπόρια. Ένας άλλος τρόπος εμβολιασμού που είναι αρκετά δυνατός, είναι ο εμβολιασμός σπορόφυτων, πριν την μεταφύτευσή τους.

Υπάρχει η περίπτωση όπου το καλλιεργούμενο έδαφος έχει υποστεί απολύμανση, και οι περισσότεροι παλαιοί μύκητες έχουν εξολοθρευτεί. Στην περίπτωση αυτή αν πραγματοποιηθεί εμβολιασμός με μυκόρριζα έχει μεγάλα ποσοστά επιτυχίας. Για να υπάρχει καλύτερη εξαφάνιση του ιθαγενούς πληθυσμού μυκήτων η μέθοδος που ενδείκνυται και θεωρείται η καλύτερη είναι η εφαρμογή ζεστού ατμού και όχι η απολύμανση με καπνό. Η χρήση του ατμού θα μπορούσε να εμποδίσει και την μελλοντική μόλυνση με μυκόρριζες των μεταφυτευμένων και εμβολιασμένων σπορόφυτων.

Η ανάπτυξη της μυκόρριζας εξαρτάται κυρίως από τη ταχεία εγκατάσταση του μύκητα. Παρόλα αυτά η πυκνότητα του πολλαπλασιαστικού υλικού, η βιωσιμότητά του και η τοποθεσία όπου βρίσκεται είναι κάποιιοι παράγοντες που βοηθούν στην ταχεία εγκατάσταση του μύκητα.

Ανάλογα με το βαθμό ανάπτυξης των ριζών του φυτού, εξαρτάται και η εξάπλωση του μύκητα. Είναι δυνατό να υπάρχει συμβίωση και με περισσότερους από ένα μύκητα οι οποίοι να σχηματίζουν ΑΜ μέσα στο καλλιεργητικό μέσο. Στην περίπτωση αυτή η κατάληψη των ριζών παίζει σημαντικό ρόλο από το σημείο τοποθέτησης του εμβολίου και το ποσοστό επιθετικότητας του κάθε μύκητα. Έρευνες έχουν δείξει πως μία ρίζα μπορεί να καταληφθεί από περισσότερους από ένα μύκητα.

Είναι βέβαιο πως η χρήση και η εφαρμογή των μυκορριζών έχει ως αποτελέσματα στην Γεωργία και στην παραγωγή την αύξηση της παραγωγικότητας, την αύξηση της ομοιομορφίας της παραγωγής που παίρνουμε. Επίσης υπάρχει συντόμευση του χρόνου ωρίμανσης, μείωση των απωλειών κατά την μεταφύτευση. Εν συνεχεία περιορίζεται η εφαρμογή λίπανσης και φυτοπροστασίας και υπάρχει αύξηση της ανθεκτικότητας σε διάφορες ασθένειες. Είναι αξιόλογη η βελτίωση της εμπορικότητας των παραγόμενων προϊόντων. Τέλος επιταχύνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των φυτών αλλά παρουσιάζεται και επίσπευση της έκπτυξης των οφθαλμών και της άνθησης.

#### **2.3.4. Μυκόρριζες στο έδαφος**

Έρευνες έχουν δείξει πως η εφαρμογή μυκόρριζας στο έδαφος έχει δώσει αρκετά αποτελέσματα στην παραγωγή. Κάποια από αυτά είναι:

- Η αύξηση της παραγωγικότητας
- Η αύξηση της ομοιομορφίας της παραγωγής
- Υπάρχει μείωση των απωλειών κατά την μεταφύτευση
- Υπάρχει περιορισμός των εφαρμογών λίπανσης και φυτοπροστασίας
- Αύξηση της ανθεκτικότητας στις ασθένειες

- Βελτίωση της εμπορικότητας των παραγόμενων προϊόντων
- Επιτάχυνση του ρυθμού ανάπτυξης
- Επίσπευση της έκπτυξης των οφθαλμών και της άνθηση

### 2.3.5. Εφαρμογή μυκόρριζας σε καλλιέργειες θερμοκηπίου

Είναι απαραίτητο στα θερμοκήπια τα φυτά να εμβολιάζονται με μυκορριζικούς μύκητες και αυτό διότι παρατηρούνται τα εξής:

- Τα φυτά αναπτύσσονται καλύτερα
- Τα φυτά με μυκόρριζα έχουν χαμηλή ανάγκη σε λίπασμα
- Μειώνεται το υδατικό στρές μα αποτέλεσμα την μείωση των τραυματισμών του φυτού κατά την μεταφύτευση
- Είναι ανθεκτικότερα τα φυτά στην μεταφύτευση σε εδάφη απολυμασμένα, φτωχά ή διαταραγμένα οικολογικά εδάφη
- Είναι καλύτερο τα φυτά να εμβολιαστούν, παρά να αφαιθούν στον τυχαίο αποικισμό από μυκορριζικά φυτά
- Είναι ανθεκτικότερα στις φυτικές ασθένειες
- Και τέλος Σε καλλιέργειες in vitro μπορεί να πραγματοποιηθεί εμβολιασμός του υποστρώματος με μυκορριζικούς μύκητες σε όλες τις φάσεις.

### 2.4. Βακτήρια (PGPR)

Τα βακτήρια του γένους *Bacillus* sp. είναι θετικά κατά Gram και έχουν ραβδόμορφα κύτταρα με στρογγυλεμένα ή τετραγωνισμένα άκρα και κυμαίνονται από 0,5X1,2 έως 2,5X10μm σε μέγεθος εμφανίζονται μεμονωμένα ή σε αλυσίδες. Η σταθερότητα των αλυσίδων καθορίζει την μορφή της αποικίας η οποία μπορεί να ποικίλει από στέλεχος σε στέλεχος (Logan and De Vos 2009? Rooney et. al., 2009). Οι περισσότεροι των ειδών του γένους αυτού είναι αερόβιοι ή προαιρετικά ή αυστηρά αερόβιοι (Logan and De Vos 2009? Murray et. al., 1995) .



Εικόνα 10. Απεικόνιση *Bacillus* sp. (πηγή: <http://electrofanatic.deviantart.com>).

Έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε G/C, τα οποία είναι καταναμεμημένα στο έδαφος, στον αέρα αλλά και στο νερό και σχηματίζουν οβάλ ενδοσπόρια και περιλαμβάνουν περισσότερα από 60 είδη με σχετικά διαφορετικούς φαινότυπους. Χρησιμοποιούνται σε ένα ευρύ φάσμα βιομηχανικών διεργασιών κυρίως όμως λόγω της ικανότητάς τους να παράγουν εξωκυτταρικά ένζυμα, αντιβιοτικά και εντομοκτόνα, τα οποία εκκρίνουν υψηλές συγκεντρώσεις (Koumoutsis, 2007).

Το γένος είναι αρκετά μεγάλο και αποτελείται από 11 φυλογενετικούς subclusters και πάνω από 140 είδη (Logan and De Vos 2009).

Η θερμοκρασία ανάπτυξής τους κυμαίνεται γύρω στους 30 °C.

Πολλά είδη που απαρτίζουν το γένος *Bacillus* sp. , διαθέτουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά γνωρίσματα που τα κάνουν ισχυρούς παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης των ασθενειών των φυτών:

- Σχηματίζουν ενδοσπόρια, που είναι ανθεκτικές μορφές, με τις οποίες μπορούν να επιβιώνουν για μεγάλα χρονικά διαστήματα στους φυτικούς ιστούς (Claus D., Berkeley R.C.W., 1986).
- Λόγω της προσαρμοστικότητάς τους αποτελούν βασικό συστατικό της μικροχλωρίδας των καλλιεργήσιμων εδαφών (Stabb W.V., Jacobson L.M., Handelsman J., 1994).
- Παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες, οι οποίοι διαθέτουν αντιβιοτικές ιδιότητες κατά διαφόρων παθογόνων μυκήτων και βακτηρίων και επιπρόσθετα συμβάλλουν στην καλύτερη ανάπτυξη των φυτών (Wulff E.G., Mguni C.M, et. al., 2002).
- Και τέλος δεν έχουν την ικανότητα ενδοφυτικού αποικισμού (Klooserber J.W., Rodriguez-Kabana R., et. al., 1999). Δηλαδή την ικανότητα να παραμένουν στο αγγειακό σύστημα του φυτού και να ανταγωνίζονται αποτελεσματικά τα παθογόνα που μολύνουν διασυστηματικά τα φυτά, τα οποία συνήθως είναι περισσότερο ανθεκτικά εξαιτίας της θέσης που αναπτύσσονται (Wulff E.G., Mguni C.M, et. al., 2002).

Κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί κάποια είδη *Bacillus* ως βιολογικοί παράγοντες π.χ. για την καταπολέμηση του βακτηρίου έλκους στην τομάτα. Από κάποιες διαφορές στον μηχανισμό άμυνας ενός φυτού που ενεργοποιείται μετά την εφαρμογή των βακίλων προκύπτει ότι μείγματα στελεχών *Bacillus* sp. που ενεργοποιούν διάφορους μηχανισμούς άμυνας μπορεί να είναι πιο αποτελεσματικό, ενώ σε κάποιες άλλες περιπτώσεις έχει διαπιστωθεί πως η άμεση εμπλοκή των βακτηρίων με ενεργοποίηση διαφόρων ορμονών ή την παραγωγή αντιβιοτικών ή έμμεση εμπλοκή ως επαγωγών της λεγόμενης διασυστηματικής ανθεκτικότητας (ISR). Συνήθως τα στελέχη *Bacillus* sp. που προκαλούν την εκδήλωση της ISR προάγουν και την ανάπτυξη των φυτών. (Utkhede R., Koch C., 2004).

Μια ειδική κατηγορία η οποία μας ενδιαφέρει είναι τα ριζοβακτήρια. Σχετίζονται με τις ρίζες των φυτών και ασκούν τις ευεργετικές επιδράσεις στη ανάπτυξη των

φυτών. Τα ριζοβακτήρια είναι αυτά που αποικίζουν ανταγωνίστηκα στις ρίζες των φυτών και μπορούν ταυτόχρονα να ενεργούν ως βιολογικά λιπάσματα και βιολογικά φάρμακα, τα λεγόμενα ανταγωνιστές των αναγνωρισμένων παθογόνων των ριζών, συμπεριλαμβανομένων των βακτηριδίων, των μυκήτων και των νηματωδών.

Τα ριζοβακτήρια λοιπόν που βοηθούν την ανάπτυξη των φυτών εφαρμόζονται σε ένα ευρύ φάσμα των γεωργικών ειδών για την ενίσχυση και την ανάπτυξή τους, για την βιομάζα των φυτών και τον έλεγχο των ασθενειών. Επίσης ανταγωνίζονται τα παθογόνα του εδάφους για την εξεύρεση πόρων όπως ο σίδηρος, ή με την παραγωγή αντιβιοτικών ή λυτικών ενζύμων (Chen κ.α.,2007). Τέτοια ριζοβακτήρια που βοηθούν την ανάπτυξη των φυτών είναι τα *Bacillus* sp. και τα *Pseudomonas*.

Κάποια είδη βακτηρίων που ευδοκιμούν στην ριζόσφαιρα των φυτών, τα οποία αναπτύσσονται μέσα, πάνω και γύρω από τους φυτικούς ιστούς, μπορούν να διεγείρουν την ανάπτυξη των φυτών από μία πληθώρα μηχανισμών. Τα βακτήρια αυτά είναι γνωστά ως PGPR (βακτήρια των ριζών που προωθούν την ανάπτυξη των φυτών. Η αναζήτηση των βακτηρίων αυτών και η διερεύνηση των τρόπων δράσης τους, αυξάνονται με πολύ γρήγορο ρυθμό, όπως και οι προσπάθειες για την εκμετάλλευσή τους ως βιολογικά λιπάσματα(Vessey,2003).

Η ανάπτυξη του φυτού που προάγει ριζοβακτήρια στη ριζόσφαιρα (PGPR) είναι ετερογενής ομάδα των βακτηρίων που σχετίζονται με την ριζόσφαιρα του φυτού που οφείλεται στην ανάπτυξη (Vesey 2003).

Τέλος το *Bacillus*, έχει τη δυνατότητα:

- i. Να παράγει φυτικές ορμόνες (Idris et, al. 2007)
- ii. Να καθορίζει ασυμβιωτικό άζωτο (Kennedy et. Al., 1997)
- iii. Διαλυτοποιεί αδιάλυτο φωσφορικό, καθιστώντας το φωσφορο διαθέσιμο στα φυτά (Irish et. Al., 2002)
- iv. Και είναι φυτοπαθογόνο ελέγχου (Chen et al., 2009)

## **2.5. Συμβιωτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα**

Οι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να πραγματοποιηθεί το πείραμα ήταν από τους μύκητες το *Glomus intraradices* και από τα ριζοβακτήρια το *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. Στη συνέχεια αναφέρονται αναλυτικά οι συγκεκριμένοι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί και τα σκευάσματα τους όπου χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση του πειράματος.

### 2.5.1. Συστηματική ταξινόμηση του *Glomus intraradices*

**Kingdom/Βασίλειο:** Fungi

**Division/Διαίρεση:** Glomeromycota

**Class/Κλάση:** Glomeromycetes

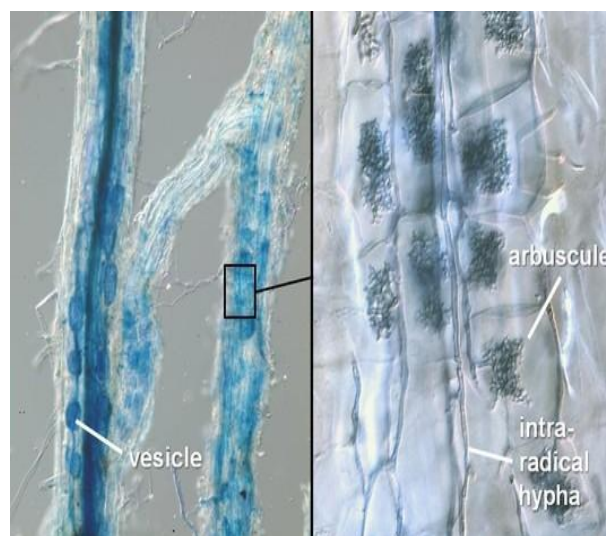
**Order/Τάξη:** Glomerales

**Family/Οικογένεια:** Glomeraceae

**Genus/Γένος:** *Glomus*

**Species/Είδος:** *G. intraradices*

**Binomial name/Κοινό όνομα:** *Glomus intraradices*



Εικόνα 11. Απεικόνιση *Glomus intraradices* (πηγή: <http://genetik.bio.lmu.de>).

### 2.5.2. Σκεύασμα Mycosym: Tri-Ton *Glomus intraradices*

Το σκεύασμα: Mycosym: Tri-Ton *Glomus intraradices* είναι είδος μυκόρριζας που η συμβίωση η οποία προκύπτει μεταξύ του ξενιστή και του μικροοργανισμού είναι πανίσχυρη. Το συγκεκριμένο σκεύασμα προτείνεται για την χρήση του σε δένδρα, θάμνους, καλλωπιστικά φυτά, φρούτα, λαχανικά, βότανα, φαρμακευτικά φυτά, αλλά και χλοοτάπητες. Η σύνθεση του σκευάσματος είναι:

- τύπος δενδροειδούς μυκόρριζας.
- περιέχει > 150σπόρια/g IMP (Infective Mycorrhizal Propagules)> 650/g.
- Είναι αδρανές υπόστρωμα και περιέχει διογκωμένη άργιλο 2-4mm.
- Φαινόμενο ειδικό βάρος: ~300kg/m<sup>3</sup>



Εικόνα 12. Σκεύασμα που χρησιμοποιήθηκε *G.intraradices* (πηγή: <http://controlbio.es>).

**Οφέλη:** Κάποια από τα οφέλη που προκύπτουν από την χρήση του MYCOSYM:Tri-Ton είναι η ταχεία ανάπτυξη πυκνού και ογκώδους ριζικού συστήματος, έχει μεγάλα ποσοστά επιτυχίας κατά την σπορά ή την μεταφύτευση, επίσης υπάρχει μεγάλη ανθεκτικότητα και ανάκαμψη σε συνθήκες στρες και τέλος μετά την εγκατάσταση τα αποτελέσματα που προκύπτουν είναι η ισχυρή ανάπτυξη του φυτού, βελτιωμένη παραγωγή και επίσης γίνεται καλύτερη η καλλιέργεια.

### **Χαρακτηριστικά του Mycosym: Tri-Ton *Glomus intraradices***

- Είναι φυσικό προϊόν με αξιόπιστα αποτελέσματα
- Προάγει το μέγιστο παραγωγικό δυναμικό του φυτού
- Αποκαθιστά και βελτιώνει τις συνθήκες βλάστησης και το παραγωγικό δυναμικό του εδάφους
- Αυξάνει την απορρόφηση του νερού και των λιπασμάτων ειδικά σε συνθήκες στρες π.χ. ξηρασία, αλατότητα, ανισορροπία θρεπτικών στοιχείων.
- Είναι βασικό σκεύασμα για τα προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης και βιολογικής καλλιέργειας
- Είναι ασφαλές για τον άνθρωπο και το περιβάλλον
- Είναι εύκολο στη χρήση και την εφαρμογή του, όπως και πολύ σταθερό στην αποθήκευση

### **Συνθήκες Χρήσης**

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε

- φυτώρια, γλάστρες, υποστρώματα: Αναμιγνύεται το προϊόν με το υπόστρωμα σε αναλογία 2% (20ml ή 6g ανά λίτρο)
- Στη μεταφύτευση: Τοποθετείτε το Mycosym Tri-Ton σε κάθε θέση φύτευσης:  
Για μπάλα ριζών: 0,25-1 λίτρο: 1,5g (5ml)  
Για μπάλα ριζών: 1-2,5 λίτρα: 2-3g (7-10ml)  
Για μπάλα ριζών: 2,5-5 λίτρα: 4-10g (13-3ml)

Για την χρήση σε χλοοτάπητες και ποώδη γίνεται καθολική εφαρμογή με 15g/m<sup>2</sup> (50ml/m<sup>2</sup>). Κατά την περίπτωση σποράς ή μεταφύτευσης πραγματοποιείται καθολική εφαρμογή και ενσωμάτωση του σκευάσματος σε βάθος 2-3 εκ.

Εφαρμογή μετά τον αερισμό: Μετά την διάνοιξη οπών στο έδαφος με μηχανικό τρόπο ή την χρήση μηχανημάτων αερισμού και χαλάρωσης του εδάφους (dethatching). Έτσι πραγματοποιείται καθολική εφαρμογή και στη συνέχεια γίνεται κάλυψη των οπών με άμμο.

### 2.5.3. Συστηματική ταξινόμηση *Bacillus amyloliquefaciens*

**Kingdom/Βασίλειο:** Bacteria

**Phylum/Διαίρεση:** Firmicutes

**Class/Κλάση:** Bacilli

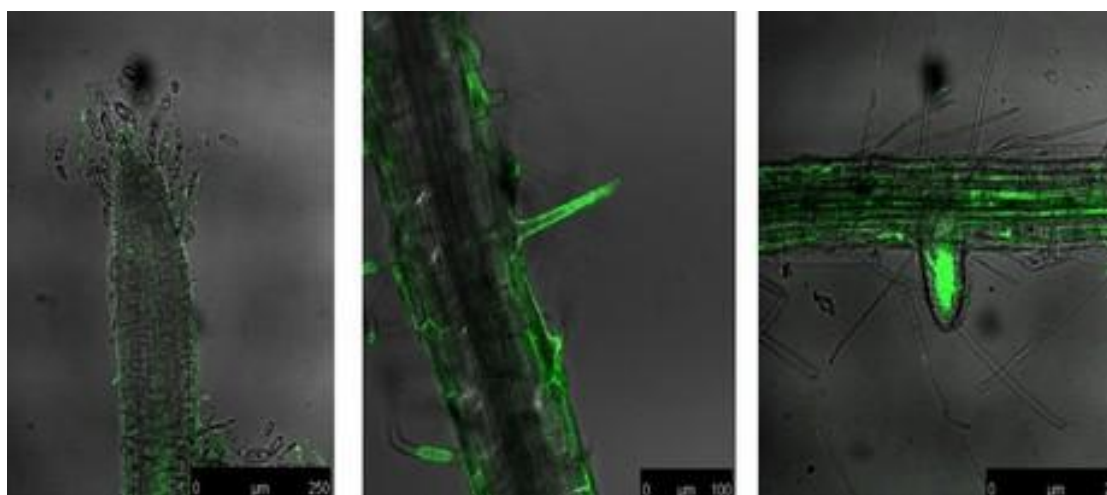
**Order/Τάξη:** Bacillales

**Familly/Οικογένεια:** Bacillaceae

**Genus/Γένος:** *Bacillus*

**Species/Είδος:** *B. amylolyquefaciens*

**Binomial name/Κοινό όνομα:** *Bacillus amyloliquefaciens*



Εικόνα 13. *Bacillus amyloliquefaciens* (πηγή: [www.hortidaily.com](http://www.hortidaily.com)).

Το *Bacillus amyloliquefaciens* είναι ευρέως κατανεμημένο στη φύση δε μία ποικιλία οικοτόπων-ενδηαιτημάτων. Ορισμένα στελέχη, έχουν κυκλοφορήσει στα γεωργικά οικοσυστήματα, στα βιολογικά φυτοφάρμακα για τον έλεγχο των παθογόνων μυκήτων των φυτών και κάποια άλλα έχουν κυκλοφορήσει για τους υδροβιότοπους, για την επεξεργασία νερού/conditioner (Advancedwater Technologies 2012).

Παρά τη φυσική του παρουσία και την απελευθέρωσή του στο περιβάλλον, μια περιεκτική αναζήτηση στην βιβλιογραφία και σε πολλές πηγές, δεν αναφέρεται σε περιπτώσεις μόλυνσης ή στοιχεία δυσμενών επιπτώσεων στα υδάτινα ή χερσαία φυτά. Αν και κάποιες μελέτες για τα παραπάνω δεν έχουν αναφερθεί σε

φυτοφάρμακα τα οποία περιέχουν τα στελέχη του *Bacillus amyloliquefaciens*, που εφαρμόζονται σκόπιμα στα χειρσαία φυτά για τον έλεγχο των μυκήτων και των βακτηρίων παθογόνων των φυτών, δεν έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στα μη επεξεργασμένα φυτά που έχουν αναφερθεί στη επιστημονική βιβλιογραφία. Έτσι η σοβαρότητα των περιβαλλοντικών κινδύνων για το *B. amyloliquefaciens* εκτιμάται πως είναι χαμηλή.

#### 2.5.4. Σκεύασμα Greener: *Bacillus amyloliquefaciens* το στέλεχος FZB42

Το σκεύασμα Greener: *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 είναι ένα βιολογικό σκεύασμα-βιοδιεγέρτης της ανάπτυξης των φυτών. Το FZB42 χρησιμοποιείται ως ενισχυτικό των ριζών και βοηθά στην καλύτερη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος. Το ωφέλιμο βακτήριο που περιέχει το σκεύασμα (*Bacillus amyloliquefaciens*) αποικίζει στο ριζικό σύστημα των φυτών ταχύτατα μετά την εφαρμογή και αναπτύσσεται μία συμβιωτική σχέση μαζί με το φυτό. Διαμέσου της σχέσης αυτής το ριζικό σύστημα εφοδιάζεται άμεσα με παράγοντες αύξησης τους οποίους δεν μπορεί από μόνο



Εικόνα 14. Σκεύασμα *B. amyloliquefaciens* (πηγή: [www.abitep.de](http://www.abitep.de)).

του το φυτό να συνθέσει. Η σχέση αυτή οδηγεί σε εύρωστο και δυνατό ριζικό σύστημα, το οποίο είναι σε θέση να εκμεταλλευθεί καλύτερα τα θρεπτικά στοιχεία και το νερό στην ευρύτερη ριζόσφαιρα. Είναι καλό να αναφερθεί πως φυτό με καλό ριζικό σύστημα σημαίνει, πως το φυτό έχει μεγαλύτερη αντοχή σε αντίξοες συνθήκες περιβάλλοντος όπως ψύχος, καύσωνα ή ακόμη και έλλειψη νερού), μεγαλύτερη παραγωγή καθώς και πρόιμη παραγωγή. Το συγκεκριμένο σκεύασμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε εξωτερικές καλλιέργειες όσο και σε καλλιέργειες υπό κάλυψη.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

### Πειραματικό Μέρος

#### 3.1. Σκοπός του πειράματος

Ο Κρίταμος *Crithmum maritimum* L. , όπως αναφέρθηκε αναλυτικότερα σε προηγούμενο κεφάλαιο, είναι ένα γηγενή αυτόχθονο φυτό, φαρμακευτικό, παχύφυτο με αντοχή, που ανήκει στην οικογένεια *Apiaceae*. Είναι φυτό που ευδοκιμεί σε εδάφη χαμηλής γονιμότητας και το συναντάμε σε παραθαλάσσιες περιοχές δίπλα στην θάλασσα.

Η αύξηση και η ανάπτυξη των καλλιεργούμενων φυτών εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Είναι αρκετά σημαντικό λοιπόν ο καλλιεργητής να γνωρίζει αλλά και να φροντίζει να παρέχει στο φυτό τα απαραίτητα, ώστε να καλύπτονται οι ανάγκες του, προκειμένου να επιτύχει στο άριστο της ανάπτυξής του. Αυτό αφορά λοιπόν κυρίως την τροφή του φυτού.

Από την βιβλιογραφία γνωρίζουμε , πως ο αποικισμός ενδομυκκοριζικών μυκήτων σε φυτά που αναπτύσσονται σε εδάφη χαμηλής γονιμότητας, βοηθούν σημαντικά την ανάπτυξη των φυτών, συγκριτικά με φυτά τα οποία δεν φέρουν μύκητες. Επίσης έχει μελετηθεί πως και η χρήση αρκετών βακτηρίων βοηθούν και προωθούν την ανάπτυξη των φυτών, με αποτέλεσμα να αποτελούν μια αρκετά σημαντική κατηγορία βακτηρίων που αποικίζουν την ριζόσφαιρα με αποτελέσματα βρίσκονται σε θέση να ασκήσουν ευεργετική επίδραση στην ανάπτυξη των φυτών μέσω άμεσων και έμμεσων μηχανισμών (Klopper κ.α., 1989). Έτσι λοιπόν αναφέρετε πως έχουν πραγματοποιηθεί σημαντικές αυξήσεις και αποδόσεις γεωπονικών σημαντικών καλλιεργειών, μετά τον εμβολιασμό των φυτών (Balaes και Tanase, 2011). Επίσης, είναι λιγιστές οι σχετικές εργασίες, οι οποίες αναφέρονται στη συμβίωση κάποιων ορισμένων αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών με ενδομυκκοριζικούς μύκητες ή ριζοβακτήρια και την επίδρασή τους στα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των φυτών (Fernandez κ.α., 2012). Στη δικιά μας περίπτωση είναι λίγα τα στοιχεία που αναφέρονται πιο συγκεκριμένα στη συμβίωση μικροοργανισμών με το *Crithmum maritimum*.

Το Κρίταμο θεωρήθηκε ένα ιδανικό φυτό για την έρευνά μας λόγω των χαμηλών απαιτήσεων που παρουσιάζει στα θρεπτικά συστατικά του εδάφους εφόσον ευδοκιμεί σε εδάφη χαμηλής γονιμότητας και παρουσιάζει ιδιαίτερες αντοχές στις υψηλές θερμοκρασίες και στην υγρασία.

Ο σκοπός λοιπόν της παρούσας εργασίας, είναι να μελετηθεί η ικανότητα αποικισμού της ρίζας από δύο συμβιωτικούς μικροοργανισμούς σ *Glomus intraradices* και *Bacillus amyloliquefaciens* το στέλεχος FZB42 και ο συνδυασμός τους στην ανάπτυξη του φυτού *Crithmum maritimum* σε συνθήκες θερμοκηπίου

καθώς επίσης το ενδιαφέρον μας επικεντρώνεται στην ανάπτυξη του φυτού σε σχέση με τους μικροοργανισμούς δηλ στα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά του, γεγονός που μελλοντικά μπορεί να οδηγήσει τους καλλιεργητές σε μειωμένη χρήση λιπασμάτων.

Η παρούσα εργασία λοιπόν, είναι πρώτη σχετικά με την συμβίωση κάποιου γηγενή (αυτόχθονου) ελληνικού είδους με συμβιωτικούς μικροοργανισμούς *G.intraradices* και *B.amyloliquefaciens*.

## 3.2. Υλικά και Μέθοδοι

### 3.2.1. Εισαγωγικά του Πειράματος

#### Α) Θερμοκήπιο

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε από τον Απρίλιο 2012 έως και τον Δεκέμβριο του 2012, στο γυάλινο θερμοκήπιο με E-W προσανατολισμό που βρίσκεται στο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα της Ηπείρου, στους Κωστακιούς Άρτας, στην παράκτια περιοχή της Δυτικής Ελλάδας. Το θερμοκήπιο έχει διαστάσεις ως εξής:

- Πλάτους: 23,4m
- Μήκος: 43,3m
- Ύψος: 5m



**Εικόνα 24. Πανοραμική φωτογραφία Θερμοκήπιου στο ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ.**

Η συνολική του έκταση είναι  $700\text{m}^2$ , από τα οποία τα  $100\text{m}^2$  αποτελούν τον εργαστηριακό χώρο και τα υπόλοιπα  $600\text{m}^2$  τον χώρο καλλιέργειας.

Το θερμοκήπιο όπου πραγματοποιήθηκε το πείραμά μας, είναι πλήρως αυτοματοποιημένο και εξοπλισμένο. Διαθέτει σύστημα αυτόματης διαχείρισης του κλίματος, της υδρολίπανσης αλλά και της ανακύκλωσης των απορροών. Όλα τα παραπάνω ελέγχονται μέσω ενός προγράμματος στον υπολογιστή της εταιρίας AUTONET, και μέσω του συγκεκριμένου προγράμματος αυτού γίνεται αυτόματα η παρασκευή των θρεπτικών διαλυμάτων, καθώς επίσης μπορούν να γίνουν και οι επιθυμητές ρυθμίσεις στις τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας του θερμοκηπίου.

### 3.2.2. Εγκατάσταση του Πειράματος

#### A) Βλαστικότητα του Κριτάμου

Οι σπόροι του φυτού *Crithmum maritimum* (500 σπόροι) όπου χρησιμοποιήθηκαν, για την διεξαγωγή του πειράματος, παράχθηκαν προμηθεύτηκαν από το Εργαστήριο Προστασίας και Αξιοποίησης Αυτοφυών και Ανθοκομικών Ειδών του ‘ΕΛΓΟ–ΔΗΜΗΤΡΑ’ , όπου εδρεύει στη Θέρμη Θεσσαλονίκης. Απόγονοι των σπόρων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν από μητρικά φυτά που καλλιεργούνται στο Εργαστήριο Προστασία και Αξιοποίησης Αυτοφυτών και Ανθοκομικών Ειδών, που συλλέχθηκαν κατά την περίοδο του 1997 από τη βραχώδη περιοχή του Αγίου Όρους στο τρίτο πόδι της Χαλκιδικής.



Εικόνα 15. Μητρικά φυτά στο Εργαστήριο Προστασίας και Αξιοποίησης Αρωματικών και Ανθοκομικών φυτών.



Εικόνα 16. Σπόροι *C.maritimum*.

Πριν πραγματοποιηθεί η έναρξη της δοκιμής βλάστησης, οι σπόροι απολυμάνθηκαν χρησιμοποιώντας διάλυμα NaOCl (Υδροχλωριώδες Νατρίου) με περιεκτικότητα 0,4% (v/v) για 2 λεπτά και ξεπλύθηκαν τρεις (3) φορές επί 2 λεπτά με dH<sub>2</sub>O (αποστειρωμένο νερό) σε περιστρεφόμενο αναδευτήρα (vortex).

Η δοκιμή βλάστησης περιελάμβανε 4επαναλήψεις X 100σπόρους και πραγματοποιήθηκε σε αποστειρωμένα τριβλία Petri 7cm. Όπου αντιστοιχούσαν 20σπόροι/τριβλίο. Κάθε τριβλίο ήταν επενδυμένο με δύο αποστειρωμένους δίσκους διυθητικού χαρτιού και οι σπόροι ποτίζονταν με 3ml. αποιονισμένου νερού.

Το πείραμα βλάστησης πραγματοποιήθηκε σε θάλαμο επώασης-ανάπτυξης, υπό σταθερές θερμοκρασίες 21°C και 13/11 ώρες φωτοπεριόδου (φώς/σκοτάδι). Η πηγή φωτός αποτελούνταν από λαμπτήρες φθορισμού.

Η παραπάνω μέθοδος χρησιμοποιήθηκε με βάση την τροποποιημένη μέθοδο του Thanos et al. (1991).

## **B) Προεργασία του θερμοκηπίου**

Πριν την τοποθέτηση των σποριόφυτων σε πολλαπλούς δίσκους σποράς προκειμένου να τοποθετηθούν στο θερμοκήπιο, οι πρώτες ενέργειες που πραγματοποιήθηκαν για την διεξαγωγή του πειράματος ήταν η προετοιμασία του θερμοκηπίου, η οποία περιελάμβανε τα εξής:

1. Τον καθαρισμό των πάγκων καλλιέργειας με χλωρίνη και νερό,
2. Τον καθαρισμός του θερμοκηπίου και
3. Την απολύμανση των πολλαπλών δίσκων σποράς με εμβάπτιση τους σε διάλυμα υδροχλωριώδους νατρίου περιεκτικότητας 2% για 15 min.

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν και για τις δύο μεταφυτεύσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν τα εξής:

1. Τύρφη
2. Βερμικουλίτης
3. Περλίτης
4. Πολλαπλοί δίσκοι σποράς
5. Γλάστρες 2 Lt.



**Εικόνα 17. Τύρφη (πηγή: [www.naturam.gr](http://www.naturam.gr)).**



**Εικόνα 18. Βερμικουλίτης (πηγή: [www.planty.gr](http://www.planty.gr)).**



**Εικόνα 19. Περλίτης (πηγή: [www.planty.gr](http://www.planty.gr)).**



**Εικόνα 20. Πολλαπλός δίσκος σποράς (πηγή: [www.planty.gr](http://www.planty.gr)).**



**Εικόνα 21. Γλάστρα (πηγή: [www.planty.gr](http://www.planty.gr)).**

### **3.2.3. Μεταφύτευση των νεαρών φυτών *C.maritimum* σε πολλαπλούς δίσκους σποράς.**

Η 1<sup>η</sup> μεταφύτευση των νεαρών φυτών Κριτάμου, πραγματοποιήθηκε στις 30 Απριλίου του 2012, δηλαδή μετά από εικοσιτέσσερις (24) μέρες που βρίσκονταν στον θάλαμο επώασης-ανάπτυξης, όπου πραγματοποιηθεί η ανάπτυξη των φυτών σε ικανοποιητικό επίπεδο και προέκυψαν ομοιόμορφα φυτά.

Κατά την μεταφύτευση πραγματοποιήθηκε και ο πρώτος εμβολιασμός των φυτών με τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς *Glomus intraradices* και *Bacillus amyloliquefaciens*. Τα φυτά κατά τον εμβολιασμό βρίσκονταν στο στάδιο των 2 κοτυληδόνων. Στη συνέχεια προέκυψαν τέσσερις μεταχειρίσεις, όπου κάθε πειραματική μονάδα-κατεργασία αποτελούνταν από τριάντα (30) φυτά και κάθε φυτό αποτελούσε μονάδα δειγματοληψίας.

### **3.2.4. Εμβολιασμός των φυτών**

#### **A) Με τον συμβιωτικό μικροοργανισμό *Glomus intraradices***

Το εμπορικό σκεύασμα MYCOSYM:Tri-Ton, (Vioryl Hellas), είναι εμβόλιο που περιέχει τα σπόρια των μυκήτων. Το σκεύασμα περιέχει 150σπόρια/gr. Εφαρμόστηκε με δοσολογία 0,5gr του εμπορικού σκευάσματος Mycosym Tri-Ton και προστέθηκε σε κάθε θέση φύτευσης προκειμένου να επιτευχθεί καλύτερη επαφή μεταξύ του μύκητα και του φυτού.

#### **B) Με το ριζοβακτήριο (PGPR) *Bacillus amyloliquefaciens* το στέλεχος FZB42**

Το εμπορικό σκεύασμα Greener (Intrachem Hellas), είναι εμβολίασμα που περιέχει βιομηχανικά διαμορφωμένα ενδοσπόρια *B.amyloliquefaciens* το στέλεχος FZB42. Εφαρμόστηκε με ριζοπότισμα υπό μορφή αιωρήματος ενδοσπορίων, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Είναι διάλυμα με περιεκτικότητα 0,02%. Χρησιμοποιήθηκαν 400ml για 2lt H<sub>2</sub>O του αρχικού διαλύματος και η τελική συγκέντρωση που είχε το διάλυμα *B. amyloliquefaciens* FZB42 ήταν ( 10<sup>7</sup> cfu/ml -1). Πρέπει να αναφερθεί πως 10ml του αιωρήματος ενδοσπορίων εφαρμόστηκαν όπως θα αναφερθεί παρακάτω , λίγο πριν την μεταφύτευση των νεαρών φυτών.

### **Γ) Με συνδυασμό των δύο συμβιωτικών μικροοργανισμών *G. intraradices* και *B. amyloliquefaciens* το στέλεχος FZB42**

Η εφαρμογή του εμβολιασμού στα νεαρά φυτά με συνδυασμό των δύο μικροοργανισμών *G. intraradices* και *B. amyloliquefaciens* FZB42, εφαρμόστηκε χρησιμοποιώντας τις ίδιες δοσολογίες όπως και για την μονάδα εμβολιασμού, αρχίζοντας από την εφαρμογή του *G. intraradices* και συνεχίζοντας με το *B. amyloliquefaciens* FZB42.

#### **3.2.5. Μεταχειρίσεις**

Οι μεταχειρίσεις του φυτού *Crithmum maritimum* που περιελάμβανε το πείραμα ήταν οι εξής:

- Control (χωρίς εμβολιασμό)
- *Glomus intraradices* (φυτά εμβολιασμένα με *Glomus intraradices*)
- *Bacillus amyloliquefaciens* (φυτά εμβολιασμένα με *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42)
- *Glomus intraradices* + *Bacillus amyloliquefaciens* (και φυτά εμβολιασμένα με συνδυασμό των δύο)

### 3.2.6. Διαδικασία Μεταφύτευση των νεαρών φυτών

#### A) Φυτά Control (Μάρτυρας)

Αρχικά τοποθετήθηκε στον δίσκο σποράς το αποστειρωμένο υπόστρωμα ανάπτυξης μίγμα: τύρφη-βερμικουλίτη-περλίτη (1:1:1) και στη συνέχεια σε κάθε θέση σποράς προστέθηκαν σταδιακά 10ml H<sub>2</sub>O. Στην συνέχεια με αρκετή προσοχή φυτεύτηκαν τριάντα (30) νεαρά φυτά *C. maritimum* όπου αντιστοιχούσε 1 φυτό/θέση σποράς. Στο τέλος προστέθηκαν περίπου 2,5ml H<sub>2</sub>O προκειμένου η ρίζα του νεαρού φυτού να έρθει σε καλύτερη επαφή με το υπόστρωμα.



Εικόνα 42. Φυτά Control στο δίσκο σποράς. 5/5/2012



Εικόνα 33. Φυτά Control στο δίσκο σποράς. 22/5/2012



Εικόνα 24. Φυτά Control στο δίσκο σποράς. 14/6/2012



Εικόνα 25. Φυτά Control στο δίσκο σποράς. 29/6/2012



## Β) Φυτά με *B. amyloliquefaciens* με το στέλεχος FZB42

Αρχικά τοποθετήθηκε στον δίσκο σποράς το αποστειρωμένο υπόστρωμα ανάπτυξης μίγμα: τύρφη-βερμικουλίτη-περλίτη (1:1:1) και στη συνέχεια σε κάθε θέση σποράς προστέθηκαν σταδιακά 10ml H<sub>2</sub>O. Πιο συγκεκριμένα προστέθηκαν 30ml H<sub>2</sub>O + 10ml αιωρήματος ενδοσπορίων *B. amyloliquefaciens* FZB42. Στην συνέχεια με αρκετή προσοχή μεταφυτεύθηκαν τα νεαρά φυτά *C.maritimum* όπου αντιστοιχούσε 1 φυτό/θέση σποράς. Στο τέλος προστέθηκαν περίπου 2,5ml H<sub>2</sub>O προκειμένου η ρίζα του νεαρού φυτού να έρθει σε καλύτερη επαφή με το υπόστρωμα.



Εικόνα 26. Φυτά με *B. amyloliquefaciens* στο δίσκο σποράς, 5/5/2012



Εικόνα 27. Φυτά με *B. amyloliquefaciens* στο δίσκο σποράς, 22/5/2012



Εικόνα 28. Φυτά με *B. amyloliquefaciens* στο δίσκο σποράς, 14/6/2012



Εικόνα 29. Φυτά με *B. amyloliquefaciens* στο δίσκο σποράς, 29/6/2012

### Γ) Φυτά με *G. intraradices*

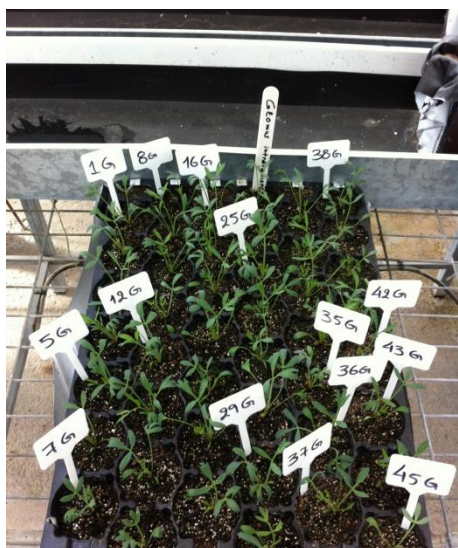
Αρχικά το σκεύασμα αναμείχθηκε με το αποστειρωμένο υπόστρωμα ανάπτυξης μίγμα: τύρφη-βερμικουλίτη-περλίτη (1:1:1) και στη συνέχεια τοποθετήθηκε στους αποστειρωμένους δίσκους σποράς. Εν συνεχεία με αρκετή προσοχή μεταφυτεύτηκαν τα νεαρά φυτά *C.maritimum* όπου αντιστοιχούσε 1φυτό/θέση σποράς και προστέθηκαν περίπου 2,5ml H<sub>2</sub>O προκειμένου η ρίζα του νεαρού φυτού να έρθει σε καλύτερη επαφή με το υπόστρωμα.



Εικόνα 30. Φυτά με *G. intraradices* στο δίσκο σποράς. 5/5/2012



Εικόνα 31. Φυτά με *G.intraradices* στο δίσκο σποράς. 22/5/2012



Εικόνα 32. Φυτά με *G.intraradices* στο δίσκο σποράς. 14/6/2012



Εικόνα 33. Φυτά με *G.intraradices* στο δίσκο σποράς. 29/6/2012

#### Δ) Φυτά με συνδυασμό *G. intraradices* και *B. amyloliquefaciens* FZB42

Στη μεταφύτευση αυτή πραγματοποιήθηκε ο συνδυασμός των δύο μικροοργανισμών. Χρησιμοποιήθηκαν τόσο για το *G. intraradices* όσο και για το *B. amyloliquefaciens* οι ίδιες δοσολογίες και τεχνικές με αρχική μέθοδο του *G. intraradices* και εν συνεχεία του *B. amyloliquefaciens* FZB42. Αρχικά τοποθετήθηκε το στους δίσκους σποράς το υπόστρωμα ανάπτυξης τύρφη-βερμικουλίτη-περλίτη (1:1:1) όπου είχε ήδη αναμειχθεί με τον μικροοργανισμό *G. Intraradices* στη συνέχεια σε κάθε θέση σποράς προστέθηκαν σταδιακά 10ml H<sub>2</sub>O. Πιο συγκεκριμένα προστέθηκαν 30ml H<sub>2</sub>O + 10ml αιωρήματος ενδοσπορίων *B. amyloliquefaciens* FZB42. Εν συνεχεία με αρκετή προσοχή μεταφυτεύθηκαν τα νεαρά φυτά *C.maritimum* όπου αντιστοιχούσε 1 φυτό/θέση σποράς και τέλος προστέθηκαν περίπου 2,5ml H<sub>2</sub>O προκειμένου η ρίζα του νεαρού φυτού να έρθει σε καλύτερη επαφή με το υπόστρωμα.



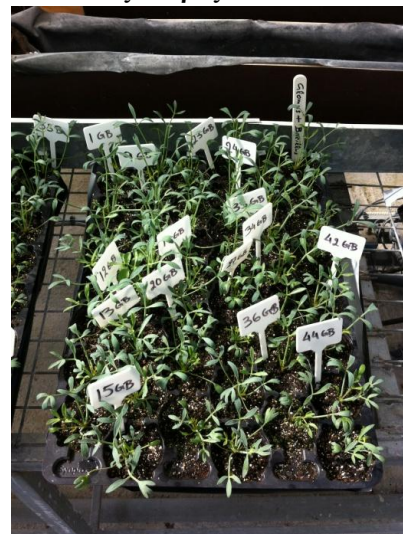
Εικόνα 34. Φυτά με *G.intraradices*+*B.amyloliquefaciens* σε δίσκους σποράς. 5/5/2012



Εικόνα 35. Φυτά με *G.intraradices*+*B.amyloliquefaciens* σε δίσκους σποράς. 22/5/2012



Εικόνα 36. Φυτά με *G.intraradices*+*B.amyloliquefaciens* σε δίσκους σποράς. 14/6/2012



Εικόνα 37. Φυτά με *G.intraradices*+*B.amyloliquefaciens* σε δίσκους σποράς. 29/6/2012

## **E) Χρόνος παραμονής των φυτών στους πολλαπλούς δίσκους σποράς**

Η χρονική περίοδος κατά την οποία παρέμειναν τα νεαρά φυτά *C. maritimum* στους πολλαπλούς δίσκους σποράς ήταν από της 30 Απριλίου 2012 έως και της 3 Ιουλίου 2012, όπου πραγματοποιήθηκε η μεταφύτευση των φυτών σε γλάστρες 2Lt και τοποθετήθηκαν στην τελική τους θέση.

Κατά την περίοδο αυτή τα φυτά παρέμειναν τοποθετημένα στο προθάλαμο του θερμοκηπίου μέχρι και τις 7 Μαΐου 2012 με σκοπό να προσαρμοστούν στις συνθήκες και θερμοκρασίες περιβάλλοντος όπου και να μην στρεσαριστούν λόγω της μεταφοράς τους από τον θάλαμο επώασης-ανάπτυξης στο θερμοκήπιο. Από τις 8 Μαΐου 2012, τα φυτά εγκαταστάθηκαν στο εσωτερικό τμήμα του θερμοκηπίου, στους πάγκους καλλιέργειας μέχρι και τις 3 Ιουλίου 2012 όπου πραγματοποιήθηκε η 2<sup>η</sup> μεταφύτευση των φυτών σε γλάστρες 2 Lt.

**Πότισμα:** Τα πότισμα των φυτών κατά την περίοδο που βρίσκονταν στον προθάλαμο του θερμοκηπίου, πραγματοποιούνταν χειροκίνητα και η ποσότητα του νερού ήταν 3-5ml/rot. Από την στιγμή όπου οι δίσκοι σποράς εγκαταστάθηκαν στο εσωτερικό του θερμοκηπίου και αναπτύσσονταν τα φυτά άλλα και λόγω υψηλότερων θερμοκρασιών το ποσό του νερού αυξήθηκε στα 10-15ml/rot, αλλά και 20ml/rot. Και σε αυτή την περίπτωση τα φυτά ποτίζονταν χειροκίνητα.

**Εχθροί και Ασθένειες:** Στο στάδιο, όπου τα φυτά ήταν ακόμη μικρά, παρατηρήθηκε ένας μικρός αριθμός αφίδων. Καταπολεμήθηκε με βιολογική καταπολέμηση, δηλαδή αρπακτικά όπου βρέθηκαν στο θερμοκήπιο.

**Λίπανση:** Λίπανση πραγματοποιήθηκε από την αρχή όπου τα φυτά τοποθετήθηκαν στους πολλαπλούς δίσκους σποράς έως και το τέλος του πειράματος. Η λίπανση πραγματοποιούνταν 1φορά/μήνα. Χρησιμοποιήθηκε σύνθετο λίπασμα N-P-K (20-5-30) χαμηλής περιεκτικότητας σε P όπου περιείχε:

- Nitrogen (N): 20%
- Phosphorus (P): 5%
- Potassium (K): 30%
- Καθώς και Ιχνοστοιχεία.

### **3.2.7. Μεταφύτευση φυτών *C. maritimum* σε γλάστρες 2Lt.**

Αρχικά απολυμάνθηκαν οι γλάστρες και οι σταλάκτες σε διάλυμα χλωρίνης. Η μεταφύτευση των φυτών *C. maritimum* πραγματοποιήθηκε στις 3 Ιουλίου του 2012, αφού προέκυψαν ομοιόμορφα φυτά και μεταφυτεύθηκαν σε γλάστρες των 2Lt. όπου αντιστοιχούσε 1 φυτό/γλάστρα. Το μίγμα που χρησιμοποιήθηκε κατά την μεταφύτευση, ήταν τύρφη-βερμικουλίτης-περλίτης (1:1:1). Και σε αυτή την περίπτωση το υπόστρωμα πριν την χρήση του αποστειρώθηκε σε θερμοκρασία 121°C, στις 1,2 atm για 20 λεπτά.

Ο εμβολιασμός και στις τρεις περιπτώσεις, 1) *G.intraradices*, 2) *B.amyloliquefaciens* και 3) ο συνδιασμός των δύο: *G.intraradices* και *B.amyloliquefaciens*, πραγματοποιήθηκαν με την σειρά και τον τρόπο που εφαρμόστηκε κατά την 1<sup>η</sup> μεταφύτευση των σποριόφυτων στον πολλαπλούς δίσκους σποράς όπου και αναφέρεται αναλυτικά.

Στη συνέχεια αφού πραγματοποιήθηκε η μεταφύτευσή τους στις γλάστρες 2 Lt. τα φυτά *C.maritimum* μεταφέρθηκαν και εγκαταστάθηκαν στην τελική τους θέση έως και την ολοκλήρωση του πειράματος.

Τα φυτά παρέμειναν στο θερμοκήπιο έως και το Δεκέμβριο του 2012 σε συνθήκες θερμοκηπίου 26 ώρες ημέρας, 17 ώρες νύχτας και 75-80% σχετική υγρασία.

**Άρδευση:** Από την στιγμή όπου τα φυτά εγκαταστάθηκαν στην τελική τους θέση μέσα στο θερμοκήπιο, αρδεύονταν καθημερινά αυτόματα με την μέθοδο σταγόνα/θέση φυτού.

**Το pH του υποστρώματος:** Το pH του υποστρώματος ανάπτυξης των φυτών αρχικά ήταν όξινο κατά την μεταφύτευση των σποριόφυτων (pH: 5.85), όμως ρυθμίστηκε και ανορθώθηκε με την προσθήκη  $\text{CaCO}_3$  και διατηρήθηκε μεταξύ 6.2 έως και 6.5.



Εικόνα 38. Το μίγμα τύρφη-βερμικουλίτη-περλίτη (1:1:1) τοποθετείται στις σακούλες για να απολυμανθεί πριν χρησιμοποιηθεί για την μεταφύτευση.



Εικόνα 39. Το υπόστρωμα μετά την απολύμανση τοποθετείται στις γλάστρες για την πραγματοποίηση της μεταφύτευσης.



Εικόνα 40. Οι γλάστρες στην τελική τους θέση.



Εικόνα 41. Τελική θέση των φυτών Control μετά την μεταφύτευσή τους. 5/7/2012



Εικόνα 52. Τελική θέση των φυτών με *B.amyloliquefaciens* μετά την μεταφύτευσή τους. 5/7/2012



Εικόνα 43. Τελική θέση των φυτών με *G.intraradices* μετά την μεταφύτευσή τους. 5/7/2012



Εικόνα 44. Τελική θέση των φυτών με *G.intraradices*+*B.amyloliquefaciens* μετά την μεταφύτευσή τους. 5/7/2012

### 3.2.8. Δειγματοληψία

Προκειμένου να εξεταστεί ο αποικισμός από τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς στη ρίζα του φυτού, ελήφθησαν δείγματα εδαφικού υποστρώματος από την περιοχή της ριζόσφαιρας μαζί με ριζικά τριχίδια.

Επίσης πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών των φυτών όπως:

- Προβλάστηση των σπόρων
- Αριθμός πραγματικών φύλλων
- Ύψος φυτών

- Διάμετρος φυτών
- Νωπό/ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος και της ρίζας

### A) Βλάστηση των σπόρων

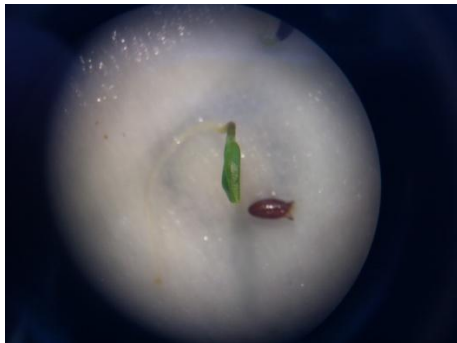
Το κριτήριο για την μέτρηση της βλάστησης ήταν το ορατό ριζίδιο που προεξείχε και οι μετρήσεις λαμβάνονταν καθημερινά ή σε ορισμένες περιπτώσεις κάθε δύο (2) μέρες. Μετά από 25 μέρες όπου αναπτύχθηκαν τα φυτά το ποσοστό βλάστησης των σπόρων % ήταν  $91.22 \pm 1.32$ . (Βλέπετε Παράρτημα 1).



Εικόνα 45. Οι σπόροι στο θάλαμο επώασης. Παρατήρηση: 16/4/2012



Εικόνα 46. Οι σπόροι στο θάλαμο επώασης. Παρατήρηση: 20/4/2012



Εικόνα 47. Παραμονή των σπόρων στο θάλαμο επώασης. Παρατήρηση: 22/4/2012



Εικόνα 48. Παραμονή των σπόρων στο θάλαμο επώασης. Παρατήρηση: 26/4/2012



Εικόνα 49. Παραμονή των σπόρων στο θάλαμο επώασης. Παρατήρηση: 28/4/2012



Εικόνα 50. Παραμονή και ανάπτυξη των σπόρων στο θάλαμο επώασης και ανάπτυξη ριζιδίων. Παρατήρηση: 28/4/2012

## **B) Αποικισμός**

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η παρακολούθηση του πληθυσμού *B.amyloliquifaciens* στην περιοχή της ριζόσφαιρας, πραγματοποιήθηκαν τρεις δειγματοληψίες οι οποίες ήταν στις 65, 90 και 226 ημέρες μετά τον 1<sup>ο</sup> εμβολιασμό των φυτών με *B.amyloliquifaciens*. Έτσι λοιπόν σε κάθε δειγματοληψία και για κάθε μεταχείριση ελήφθησαν δείγματα ριζόσφαιρας από τρία φυτά. Ο πληθυσμός λοιπόν του *B.amyloliquifaciens* καθώς και των υπόλοιπων βακτηρίων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο καταμέτρησης Βιώσιμων Αναπαραγωγικών Μονάδων (Olga Kostoula, Dimitra Dimou et. al., 2014). Η διάκριση ανάμεσα στο *B.amyloliquifaciens* και στα υπόλοιπα βακτήρια της ριζόσφαιρας πραγματοποιήθηκε με βάση: α) την τυπική μορφή όπου εμφανίζουν οι αποικίες του βακτηρίου αυτού στην επιφάνεια πλήρους θρεπτικού μέσου ανάπτυξης και β) την ανάπτυξη σε αιματόχο άγαρ( Nohorimbere κ.α., 2012).

Για την παρακολούθηση και εκτίμηση του αποικισμού του συμβιωτικού μικροοργανισμού *Glomus intraradices* πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες ριζών στις 45 ημέρες και στον 5<sup>ο</sup> μήνα μετά τον εμβολιασμό των φυτών. Εφαρμόστηκε η μέθοδος των Mc Gonigle κ.α., 1990 και Brundrett κ.α., 1996) (Olga Kostoula, Dimitra Dimou et. al., 2014). Η ανίχνευση του αποικισμού πραγματοποιήθηκε μέσω μικροσκοπικής παρατήρησης με νωπών και κεχρωσμένων παρασκευασμάτων ριζών με την βοήθεια απτικού μικροσκοπίου διέλευσης. Το υπέργειο τμήμα των παραπάνω δειγματοληψιών είτε από το *B.amyloliquifaciens* είτε του *G.intraradices* χρησιμοποιήθηκαν για την μέτρηση νωπού και ξηρού βάρους.

## **Γ) Ανάπτυξη πραγματικών φύλλων και ύψους των φυτών**

Προκειμένου να παρακολουθηθεί η ανάπτυξη των πραγματικών φύλλων και το ύψος των φυτών, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις και στις τέσσερις μεταχειρίσεις σε δεκαέξι (16) φυτά από τα τριάντα (30) που αποτελούσαν την κάθε μεταχείριση και επιλέχθηκαν τυχαία και για τις δύο περιπτώσεις. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν 1 φορά/εβδομάδα, από τις 17 Μαΐου 2012, έως και τις 20 Δεκεμβρίου 2012.

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν για την μέτρηση του ύψους των φυτών με απλό χάρακα. Αρχικά από τις 6/6/2012 έως και τις 21/6/2012 οι μετρήσεις γίνονταν μέχρι την κορυφή των φύλλων. Στη συνέχεια από τις 29/6/2012 έως και 5/7/2012 οι μετρήσεις του ύψους γίνονταν μέχρι το μίσχο του φυτού η όπου και τελικά διαπιστώθηκε πως πραγματοποιούνταν λάθος η μέτρηση, και τέλος από τις 12/7/2012 ως και την τελευταία μέτρηση στις 20/12/2012 η μέτρηση του ύψους των φύλλων γίνονταν μέχρι την κορυφή των φύλλων του φυτού.



#### **Δ) Νωπό Βάρος υπέργειου τμήματος και της ρίζας των φυτών**

Πραγματοποιήθηκαν τρεις (3) δειγματοληψίες σε φυτά που επιλέχθηκαν για την δειγματοληψία του αποικισμού. Για κάθε δειγματοληψία επιλέχθηκε 1φυτό/μεταχείριση. Αρχικά πραγματοποιήθηκε η μέτρηση του ύψους των φυτών και των πραγματικών φύλλων, στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η εξαγωγή των δειγμάτων από τις γλάστρες, και στη συνέχεια απομακρύνθηκε το έδαφος από τις ρίζες των φυτών με ανακίνηση. Πλύνουμε τις ρίζες των φυτών όπου υπήρχαν υπολείμματα χώματος και στη συνέχεια αποκόψαμε το υπέργειο τμήμα του φυτού από τις ρίζες. Τέλος πραγματοποιήθηκε η μέτρηση του νωπού βάρους των υπέργειων τμημάτων των φυτών και το νωπό βάρος των ριζών από κάθε μεταχείριση με τη χρήση ζυγαριάς ακριβείας. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε και για τις επόμενες δύο δειγματοληψίες.

#### **Ε) Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος και της ρίζας των φυτών**

Μετά την μέτρηση του νωπού βάρους των υπέργειων τμημάτων των φυτών και των ριζών τους, όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε πυραντήριο στους 70°C έως ότου τα φυτά φτάσουν στο επίπεδο να έχει πραγματοποιηθεί η αφαίρεση των προϊόντων της φωτοσύνθεσης από αυτά και παραμένει μόνο το βάρος της μάζας των φυτών. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μέτρηση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος των δειγμάτων και του ξηρού βάρους της ρίζας αυτών με ζυγαριά ακριβείας.

Όλα τα δεδομένα μεταβλητής που προέκυψαν όπως ύψος των φυτών, νωπά και ξηρά βάρη υποβλήθηκαν σε ανάλυση μεταβλητής και τα μέσα διαχωρίστηκαν με την διαδικασία πολλαπλού εύρους του Duncan σε  $p < 0,05$ .



**Εικόνα 50. Δείγμα για την μέτρηση νωπού/ ξηρού βάρους υπέργειου τμήματος και ρίζας.**



**Εικόνα 51. Μέτρηση νωπού βάρους του υπέργειου τμήματος.**

### 3.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

#### A) Αποικισμός

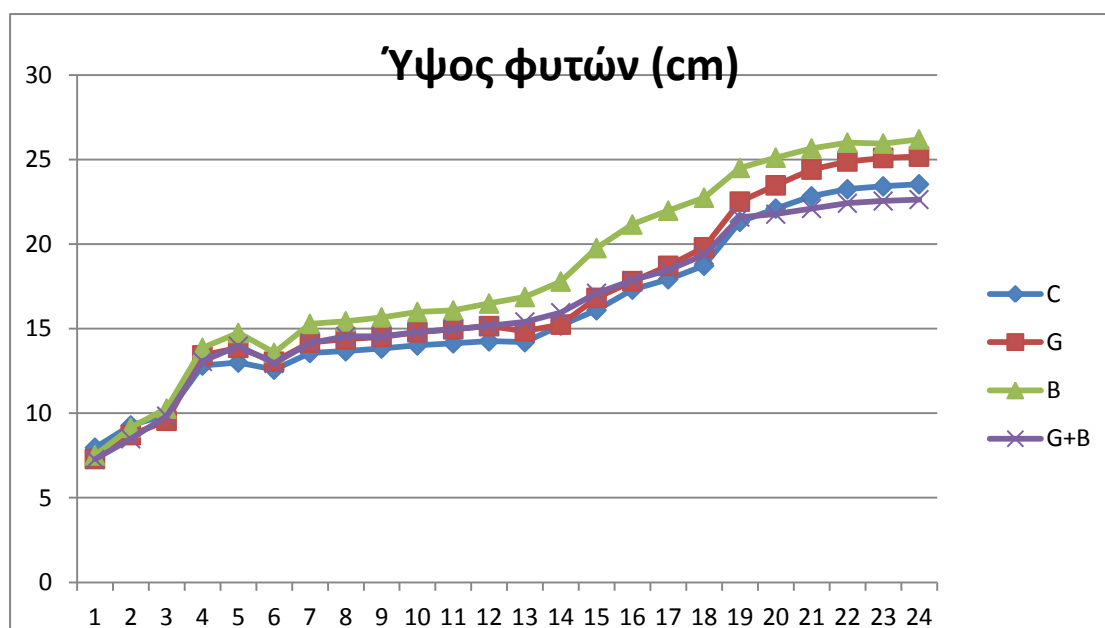
Η μελέτη του αποικισμού των φυσαλωδών υφών (VA) και η μορφολογία της μυκόρριζα, έδειξε στο δείγμα των 45 ημερών μετά τον εμβολιασμό των φυτών με *G.intraradices* έδειξε πως άρχισαν να αποικίζουν τα κύτταρα του φλοιού όχι σε όλα αλλά μόνο σε περιορισμένο αριθμό τοποθεσιών. Μετά από τρεις μήνες από τον εμβολιασμό, ο μύκητας αναπτύχθηκε ενδοκυτταρικά ενδοκυτταρικά και με δομές οι οποίες προοδευτικά διαμορφώνονταν σαν σφουγγάρι. Τα κυστίδια arbuscules δεν βρέθηκαν από το τέλος του τρίτου μήνα. Όλα τα δείγματα δείγματα που εξετάστηκαν βρέθηκαν να έχουν αποικιστεί από *G. Intraradices* σε πολύ μικρό ποσοστό 3-7%. Στα κύτταρα δεν υπήρχαν στατιστικώς μεγάλες διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Στη επόμενη δειγματοληψία μετά από 8 μήνες παρατηρήθηκαν πως έχουν αποικιστεί σε υψηλά ποσοστά 95-100%. Τύποι Parris και Arum βρέθηκαν στην ρίζα με το πρώτο να υπερέχει. Πολλοί arbuscular έχουν αναπτυχθεί ελάχιστα ή έχουν εκφυλιστεί ανεξάρτητα από τον εμβολιασμένο φυτό.

Υψηλότερα ποσοστά arbuscular (περίπου 50% υψηλότερα) παρατηρήθηκαν σε φυτά που ήταν εμβολιασμένα μόνο με *G.intraradices* σε σύγκριση με τα φυτά που είχαν εμβολιαστεί και με τους δύο συμβιωτικούς μικροοργανισμούς, ενώ κυστίδια και σπόρια βρέθηκαν ελάχιστα στη ρίζα και στις δύο μεταχειρίσεις. Δεν βρέθηκε διαμόρφωση αποικιών στις ρίζες στα φυτά ελέγχου (Olga Kostoula, Dimitra Dimou, et. al., 2014).

Στη μεταχείριση *B.amyloliquefaciens* βρέθηκαν πληθυσμοί να συγκρίνουν και να βοηθούν προοδευτικά στη σταθεροποίηση του ξηρού εδάφους στη ριζόσφαιρα του φυτού. Ωστόσο υπήρχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις βακτηρίου από τον εμβολιασμό των φυτών. Η διαδικασία αποικισμού στο *B.amyloliquefaciens* είναι σαν των ριζοβακτηρίων. Υπήρξε μετά την δεύτερη δειγματοληψία μια πρώτη αύξηση του πληθυσμού αλλά στη συνέχεια διατηρήθηκαν σε ένα σταθερό επίπεδο. Η σταθερή φάση μπορεί να αντιστοιχεί σε κάποια φάση όπου περιορίζεται η διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών. Η μείωση συνοδεύτηκε και από σημαντική μείωση του συνολικού αριθμού των βακτηρίων της ριζόσφαιρας. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στην επικράτηση δυσμενών συνθηκών για την ανάπτυξη του μικροβιακού πληθυσμού της ριζόσφαιρας, όπως οι χαμηλές θερμοκρασίες που επικρατούσαν την περίοδο αυτή. Η παρουσία του *G.intraradices* δεν είχε σημαντική επίδραση για τον αποικισμό στη ριζόσφαιρα από το *B.amyloliquefaciens* FZB42. Ωστόσο παρουσίασε ελαφρώς χαμηλότερο πληθυσμό *B.amyloliquefaciens* σε φυτά που εμβολιάστηκαν και με τους δύο μικροοργανισμούς (Olga Kostoula, Dimitra Dimou, et. al., 2014).

## Β) Αριθμός ανάπτυξης ύψος των φυτών *C.maritimum*

Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε απλή ανάλυση διασποράς (Ανοva) και για τον διαχωρισμό των μέσων όρων χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο Duncan. Υπάρχουν περιπτώσεις που οι τιμές εκφράζουν ποσοστά %, όπου μετασχηματίστηκαν σε Log10 και στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε στατιστική ανάλυση.



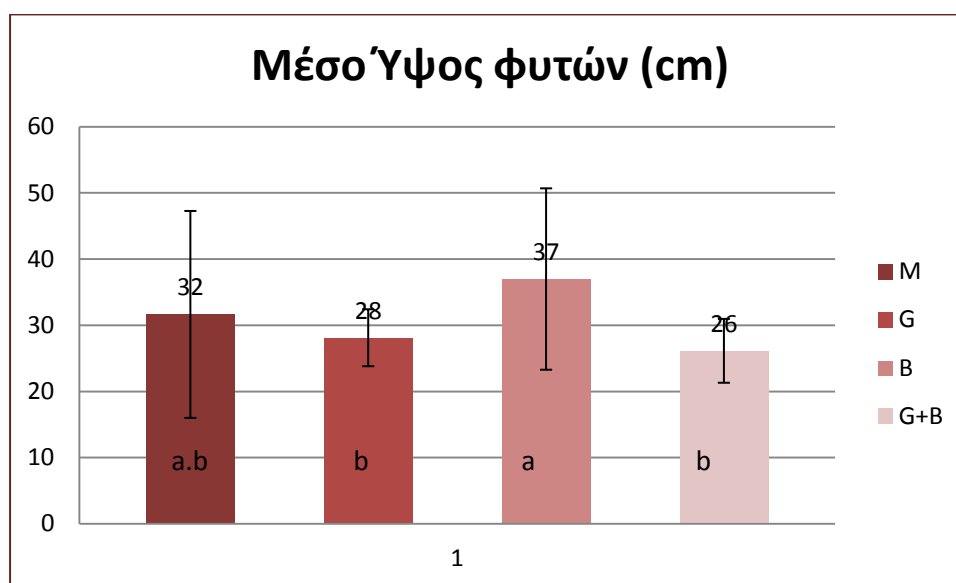
**Γράφημα 1:** Μέσος όρος ύψους φυτών στις διάφορες μεταχειρίσεις ανά εβδομάδα.

Στο (Γράφημα 1) παρατηρείται ο μέσος όρος του ύψους των φυτών ανά εβδομάδα και στις τέσσερις μεταχειρίσεις. Πιο συγκεκριμένα μας δίνει μία συγκριτική παρουσίαση μεταξύ της σχέσης των συμβιωτικών μικροοργανισμών με το ύψος των φυτών. Αρχικά παρατηρούμε μία σταδιακή ανάπτυξη όλων των μεταχειρίσεων έως και την 14<sup>η</sup> εβδομάδα. Επίσης από τη 5<sup>η</sup> εβδομάδα έως και την 13<sup>η</sup> παρατηρούμε ότι ο ρυθμός ανάπτυξης των φυτών είναι σχετικά σταθερός, όπου οι τιμές υπολογίζονται από 12,5 έως και 13,5cm.

Από το διάγραμμα προκύπτει, πως η μεταχείριση με το *B.amyloliquefaciens* παρουσιάζει σημαντικά μεγαλύτερο ρυθμό ανάπτυξης κατά την 13<sup>η</sup> έως και 19<sup>η</sup> εβδομάδα. Στην ίδια περίοδο οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις βλέπουμε πως δείχνουν να έχουν περίπου τον ίδιο ρυθμό ανάπτυξης. Να επισημανθεί βέβαια πως η μεταχείριση *G.intraradices* έχει μεγαλύτερο ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με την μεταχείριση *G.intraradices+B.amyloliquefaciens*.

Η από κοινού συμβίωση των μικροοργανισμών φαίνεται να μην δρα με ευνοϊκό τρόπο στο ύψος των φυτών σε σύγκριση με την διακριτή δράση των δύο μικροοργανισμών στο φυτό. Αυτό φαίνεται και από τις τελικές τιμές ύψους που είχαν οι μεταχειρίσεις. G+B=26, C=32, G=28 και B= 37. Φαίνεται ότι η μεταχείριση του *B.amyloliquefaciens* έχει μεγαλύτερη ανάπτυξη του ύψους, στη συνέχεια παρατηρείται το *G.intraradices* και ακολουθούν το *G.intraradices*+*B.amyloliquefaciens*.

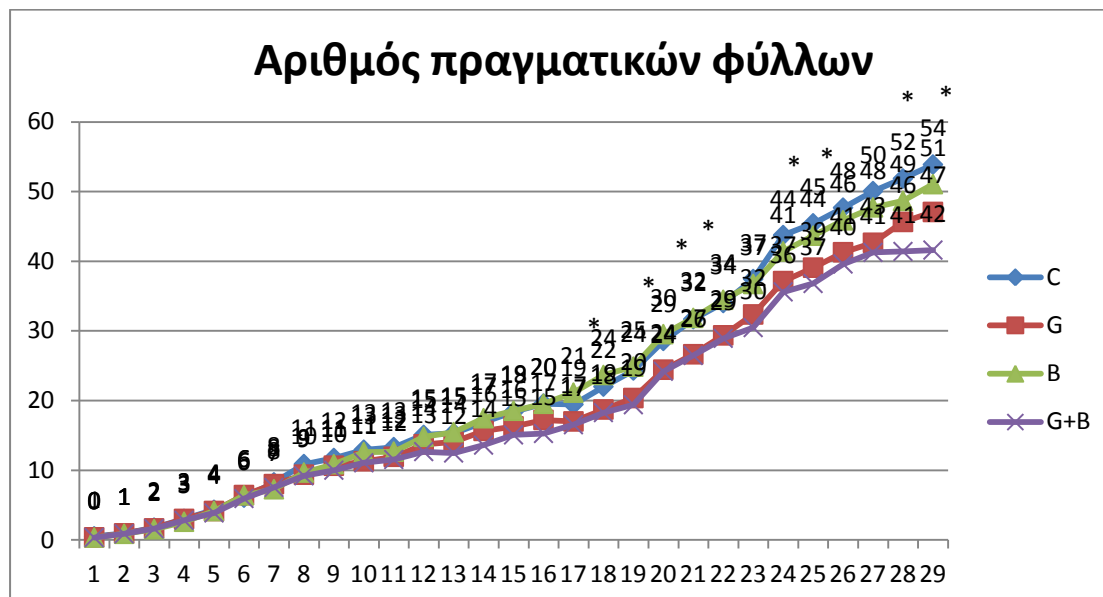
Έτσι λοιπόν προκύπτει πως η επίδραση του *B.amyloliquefaciens* δρα ευνοϊκά για το ύψος των φυτών σε σχέση με τις άλλες τρεις μεταχειρίσεις.



Ύψος φυτών (cm)				
	M	G	B	G+B
MO	32	28	37	26
	16	4	14	5

Πιο συγκεκριμένα λοιπόν αναφορικά με το ύψος των φυτών *C.maritimum* παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στις 4 μεταχειρίσεις του πειράματος για επίπεδο σημαντικότητας 5% (Ανονα  $p=0.000$ ). Το μέσο ύψος των φυτών που αναπτύχθηκαν σε εμβολιασμένο με τους επιλεγμένους μικροοργανισμούς υπόστρωμα δεν παρουσίασε σημαντική διαφορά ρυθμού ανάπτυξης συγκριτικά με το μάρτυρα. Διαπιστώθηκε όμως ότι το μέσο ύψος των φυτών της μεταχείρισης *Bacillus* ( $37 \pm 13.7$  cm) ήταν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερο συγκριτικά με εκείνο των φυτών που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα εμβολιασμένο με *Glomus* ( $28.1 \pm 4.3$  cm) και του συνδυασμού *Glomus* και *Bacillus* ( $26.1 \pm 4.8$  cm). Η διαφορά ως προς το μέσο ύψος των φυτών οφείλεται στο γεγονός ότι μόνο τα φυτά της μεταχείρισης *Bacillus* (20 %) και του μάρτυρα (19%) είχαν αναπτυχθεί ανθικά στελέχη. Τα φυτά που εμβολιάστηκαν είτε με *Glomus* είτε με *Glomus* και *Bacillus* δεν ανέπτυξαν ανθικά στελέχη.

## Δ) Αριθμός ανάπτυξης των πραγματικών φύλλων



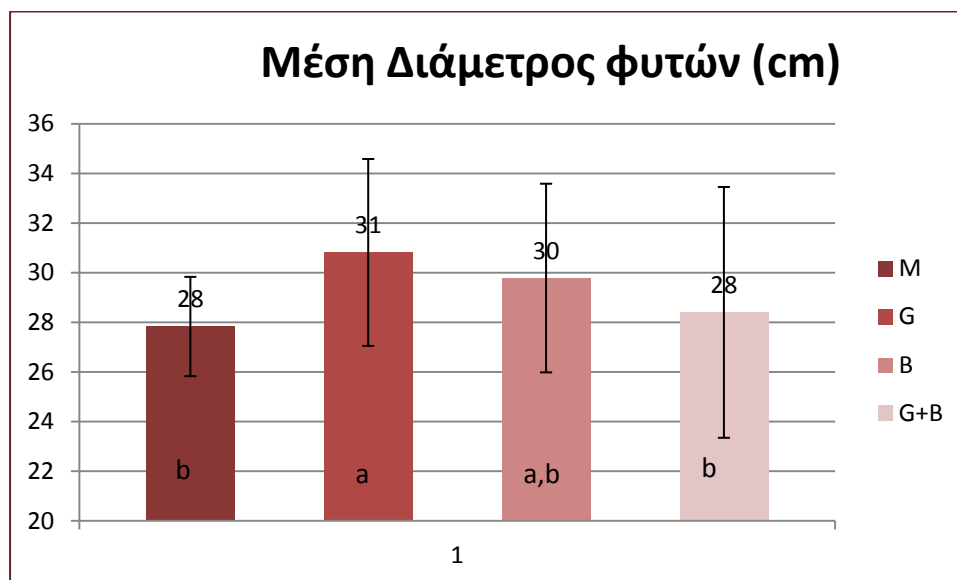
**Γράφημα 2:** Μέσος όρος αριθμού φύλλων στις διάφορες μεταχειρίσεις ανά εβδομάδα. Τις εβδομάδες που παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ( $P \leq 0,05$ ) οι τιμές συνοδεύονται από αστεράκι.

Αρχικά παρατηρούμε πως η μορφή του Γραφήματος 1 και Γραφήματος 2 είναι παραπλήσιοι. Ο μεγαλύτερος αριθμός ανεπτυγμένων φύλλων παρουσιάζεται από την 19<sup>η</sup> εβδομάδα έως και την 29<sup>η</sup> όπου είναι το τέλος του πειράματος. Βλέπουμε πως περισσότερα φύλλα έχει η μεταχείριση του Control στη συνέχεια το *G.intraradices* μετά το *B.amyloliquefaciens* και τέλος ο συνδυασμός των δύο συμβιωτικών μικροοργανισμών. Ο αριθμός ανεπτυγμένων φύλλων διαπιστώθηκε πως παρουσιάζει σημαντική διαφορά στις μεταχειρίσεις *G.intraradices* σε σχέση με το συνδυασμό *G.intraradices+B.amyloliquefaciens*.

Έτσι λοιπόν κάνοντας μια σύγκριση της πορείας και της κατάληξης των δύο διαγραμμάτων, πραγματικών φύλλων και ύψους των φυτών, συμπεραίνουμε πως η μεταχείριση του Control η οποία δεν έχει συμβιωτικούς μικροοργανισμούς έχει αρκετή φυλλική επιφάνεια και μικρό ύψος. Αντίθετα τα φυτά που περιέχουν συμβιωτικούς μικροοργανισμούς οποία παρουσιάζουν μεγαλύτερο ύψος και μικρότερη φυλλική επιφάνεια. Μπορεί να συμπεράνει κανείς λοιπόν, πως οι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί βοηθούν περισσότερο την ανάπτυξη του μίσχου και των ριζών του φυτού παρά στην φυλλική επιφάνεια. Αυτό παρατηρείται από την 13<sup>η</sup> έως και την 19<sup>η</sup> εβδομάδα όπου βλέπουμε να ευνοείται περισσότερο η ανάπτυξη του βλαστού του φυτού σε όλες τις μεταχειρίσεις σε σχέση με την φυλλική επιφάνεια. Από την 19<sup>η</sup> εβδομάδα έως και το τέλος του πειράματος παρατηρείται η αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης των πραγματικών φύλλων και στις τέσσερις μεταχειρίσεις. Αν και

η μεταχείριση με τον *B.amyloliquefaciens* έχει μεγαλύτερο ρυθμό ανάπτυξης στο ύψος, στην ανάπτυξη των εκπτυγμένων φύλλων υστερεί.

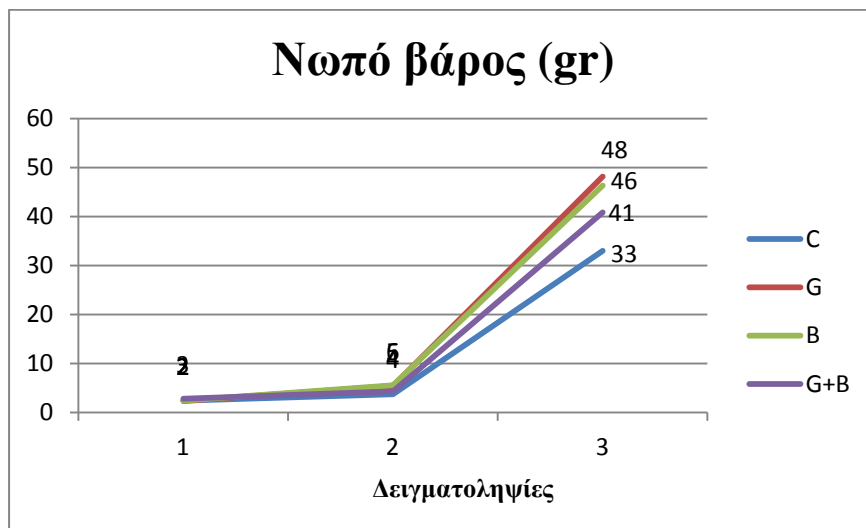
### Ε) Διάμετρος των φυτών



Διάμετρος φυτών (cm)				
	M	G	B	G+B
MO	28	31	30	28
TA	3	4	4	5

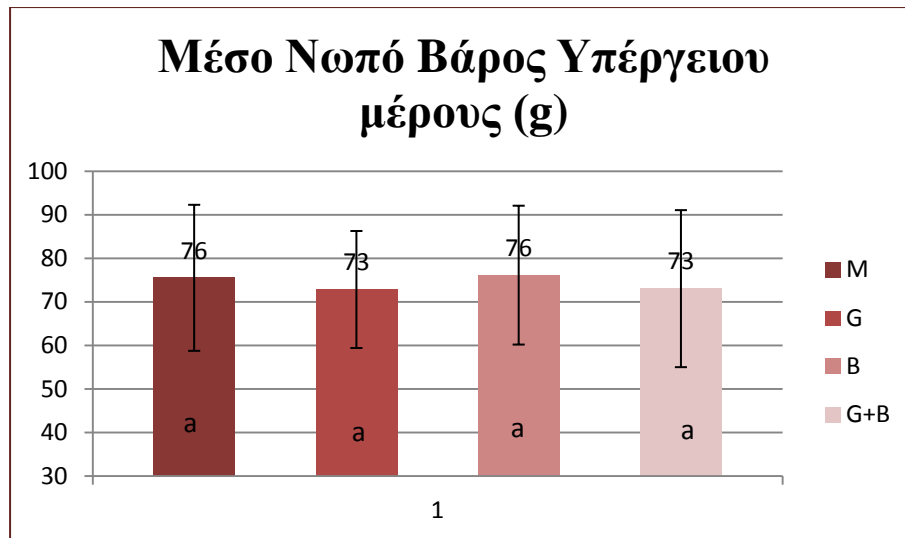
Η διάμετρος του υπέργειου μέρους των φυτών παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά στις 4 μεταχειρίσεις (Ανοva  $p=0,018$ ). Η μέση διάμετρος των φυτών της μεταχείρισης Glomus ( $30.8 \pm 3.8$  cm) ήταν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερη συγκριτικά τα φυτά του μάρτυρα ( $27.8 \pm 3.2$  cm) και της μεταχείρισης Glomus και Bacillus ( $27.8 \pm 3.2$  cm).

### ΣΤ) Νωπό/ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών



3η δειγματοληψία	Νωπό βάρος			
	C	G	B	G+B
ΜΟ	32.98	48.14	46.34	40.83
Τυπική απόκλιση	18.80012	22.16441	25.64436	14.51267

Αρχικά, αναφορικά με το νωπό ξηρό βάρος του υπέργειου μέρους ανά φυτό φαίνεται ότι τα φυτά του μάρτυρα παρουσίασαν στη δεύτερη και τρίτη δειγματοληψία μικρότερες τιμές συγκριτικά με τα φυτά που εμβολιάστηκαν με τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς. Στην τρίτη δειγματοληψία τα φυτά της μεταχείρισης *Glomus* παρουσίασαν μεγαλύτερο νωπό – ξηρό βάρος. Ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση ήταν  $48.14 \pm 22.2$  -  $5.98 \pm 3.1$  gr ανά φυτό αντίστοιχα. Παρόλα αυτά οι διαφορές που σημειώθηκαν δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές.



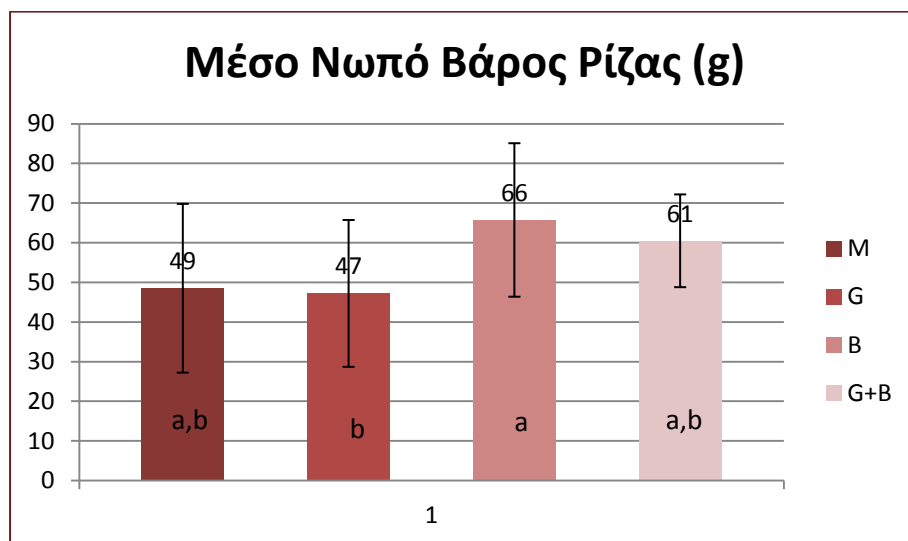
#### Νωπό Βάρος (gr)

	M	G	B	G+B
MO	75.5	72.8	76.1	73.0
TA	16.8	13.4	15.9	18.0

Ο μέσος όρος υπολογίστηκε με τη μέτρηση 4 τεσσάρων φυτών / μεταχείριση. Ο εμβολιασμός με τους επιλεγμένους μικροοργανισμούς δεν επηρέασε το μέσο νωπό βάρος της υπέργειας φυτικής μάζας όπου ήταν  $74.3 \pm 16$  gr ανά φυτό (Ανονα  $p=0.82$ ). Αντίθετα το μέσο νωπό βάρος της ρίζας των φυτών της μεταχείρισης *Bacillus* ( $65.8 \pm 19.4$  gr) παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με εκείνο της μεταχείρισης *Glomus* ( $47.2 \pm 18.5$  gr).



## ΣΤ) Νωπό/ξηρό βάρος της ρίζας



**Νωπό βάρος ρίζας (g)**

	M	G	B	G+B
MO	49	47	66	61
TA	21	19	19	12

Η μέτρηση του νωπού βάρους της ρίζας πρέπει να επισημανθεί ότι δεν ήταν ακριβής, λόγω της απώλειας λεπτών ριζών όπου πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της πλύσης και τον καθαρισμό τους από το υπόστρωμα ανάπτυξης. Όμως το ριζικό σύστημα των φυτών της μεταχείρισης *Bacillus* ήταν πολύ καλύτερα ανεπτυγμένο συγκριτικά με τις άλλες τρεις μεταχειρίσεις.

## Η) Ανθοση

Τόσο στο μάρτυρα όσο και στη μεταχείριση με *Bacillus* άνθισαν το 19 και 20 % των φυτών αντίστοιχα. Τα φυτά που δέχθηκαν την επίδραση *Glomus* και εκείνα της μεταχείρισης *Glomus* και *Bacillus* δεν άνθισαν. Το μήκος του ανθικού στελέχους στα φυτά του μάρτυρα και της μεταχείρισης *Bacillus* ήταν κατά μέσο όρο  $29.8 \pm 5.97$  cm και  $24.57 \pm 8.31$  cm αντίστοιχα. Η διάμετρος των ανθέων του μάρτυρα και της μεταχείρισης *Bacillus* ήταν  $4.94 \pm 2.12$  cm και  $4.07 \pm 2.54$  cm

## ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ



Εικόνα 52. Μεταχείριση Control στην τελική του Θέση. 7/10/2012



Εικόνα 53. Φυτό δειγματοληψίας της μεταχείρισης Control. Περίοδος Οκτωβρίου 2012.



Εικόνα 54. Ριζικό σύστημα φυτού Control πριν καθαριστεί με νερό



Εικόνα 55. Ριζικό σύστημα φυτού Control αφού πραγματοποιήθηκε ο καθαρισμός του.



Εικόνα 56. Μεταχείριση *B.amyloliquefaciens* στην τελική του θέση. Περίοδος Οκτωβρίου του 2012.



Εικόνα 57. Φυτό μεταχείρισης *B.amyloliquefaciens* που δεν άνθισε.



Εικόνα 58. Κάτω πλευρά του ριζικού συστήματος της μεταχείρισης *B.amyloliquefaciens* κάτω πλευρά.



Εικόνα 59. Άνω πλευρά του ριζικού συστήματος όπου κόπηκε το υπέργειο τμήμα, της μεταχείρισης *B.amyloliquefaciens* .



Εικόνα 60. Φυτό μεταχειρίζεις *B.amyloliquefaciens* που έχει ανθίσει.



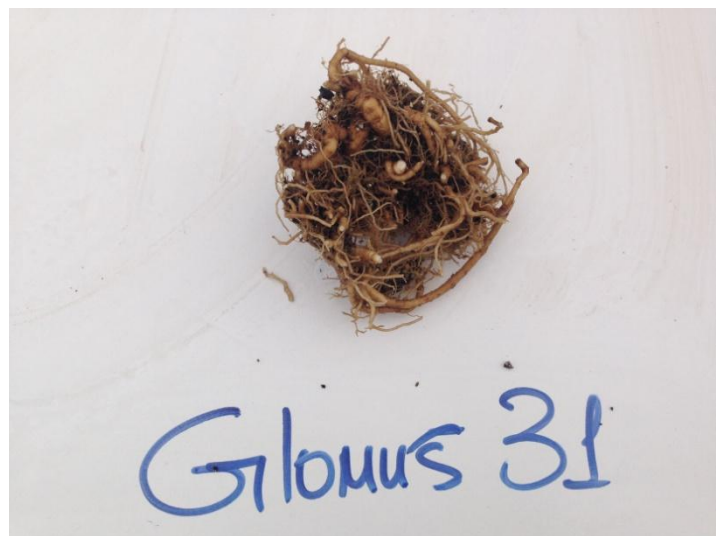
Εικόνα 61. Κάτω πλευρά του ριζικού συστήματος του φυτού που άνθισε της μεταχείρισης *B.amyloliquefaciens*.



Εικόνα 62. Ανω πλευρά του ριζικού συστήματος όπου κόπηκε το υπέργειο τμήμα του της μεταχείρισης *B.amyloliquefaciens*.



Εικόνα 63. Φυτά της μεταχείρισης *G.intraradices* στην τελική του θέση. Περίοδος Οκτωβρίου 2012.



Εικόνα 65. Κάτω πλευρά του ριζικού συστήματος της μεταχείρισης *G.intraradices*.



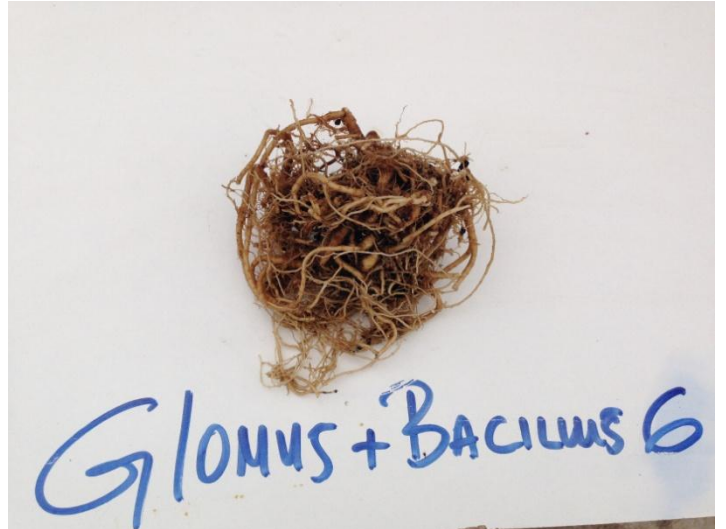
Εικόνα 64. Φυτό μεταχείρισης *G.intraradices*.



Εικόνα 66. Άνω πλευρά του ριζικού συστήματος της μεταχείρισης *G.intraradices* όπου κόπηκε το υπέργειο τμήμα του.



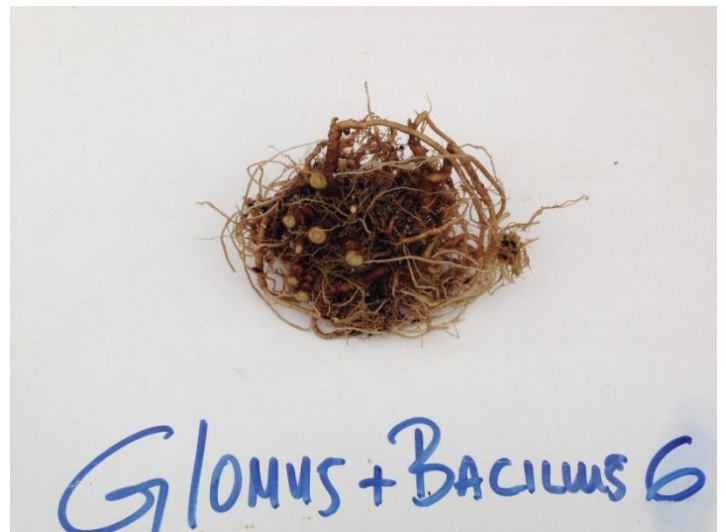
Εικόνα 67. Φυτά της μεταχείρισης *G.intraradices+B.amyloliquefaciens* στην τελική τους θέση. Περίοδος Οκτώβριος 2012.



Εικόνα 69. Κάτω πλευρά του ριζικού συστήματος της μεταχείρισης *G.intraradices+B.amyloliquefaciens*.



Εικόνα 68. Φυτό της μεταχείρισης *G.intraradices+B.amyloliquefaciens*.



Εικόνα 70. Άνω πλευρά του ριζικού συστήματος της μεταχείρισης *G.intraradices+B.amyloliquefaciens* όπου κόπηκε το υπέρονο τυήμα του.

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

κα. Δούμα Δήμητρα

### Seed germination of *Crithmum maritimum*

Four replicates were used to identify the germination percentage. The seed germination was accounting every 1 or 2 days after seed sown till no more seeds were germinated. For each replication, germination percentage was calculated as (number of germinated seeds/number of sampled seeds)×100. The mean germination capacity ( $G_{\%}$ ) was estimated using the formula:

$$G_{\%} = \frac{\sum_{i=1}^{n=4} G_i}{n} \quad (1)$$

where  $G_i$  is the germination percentage of (i) replication and (n) is the number of replicates.

The time course of germination of *C. maritimum* seeds is represented by Verhulst logistic sigmoid function (1838). According to this function the number of seeds germinated at any instant of time (t), are:

$$Y_t = Y_{\text{asympt}} / (1 + \exp(-k(t - t_m))) \quad (2)$$

where ( $Y_t$ ) is the number of seeds germinated at time (t), ( $Y_{\text{asympt}}$ ) is the theoretical maximum germination that the curve tents asymptotically, ( $t_m$ ) is the inflection point of time at which the germination rate is maximized and (k) is a coefficient that controls the steepness of the curve (Archontoulis and Miguez, 2014). The values of  $Y_{\text{asympt}}$ , k and  $t_m$  were determined by fitting the observed values to the above function using the non-linear regression subroutine of the Microcal<sup>(TM)</sup>Origin<sup>®</sup> (6<sup>th</sup> version) program.

The mean germination time was calculated by the formula (Matthews et al, 2006, Salehzade et al, 2009, Sikder et al, 2009):

$$\bar{t} = \frac{\sum_{i=1}^{k=4} n_i t_i}{\sum_{i=1}^{k=4} n_i} \quad (3)$$

where  $t_i$  signifies the time from the start of the experiment to the (i) observation,  $n_i$  signifies the number of seeds that germinated for (i) observation and k is the number of replications (4 in this experiment).

## RESULTS

Germination characteristics of *C. maritimum* seeds that used in this experiment are presented in table 1.

Table 1. Germination characteristics of *C. maritimum* seeds.

Germination %	91.22±1.32
$\bar{t}$	20.59
$Y_{\text{asyp}}$	89.5±1.2
$t_m$	10.7±0.1
k	0.655±0.044

Replacing the parameters of germination kinetics of table 1, in function (2), the time course of *C. maritimum* seed germination is represented by the below equation:

$$Y_t = \frac{89.5}{1 + \exp(-0.655(t - 10.7))}$$

which explains the  $R^2=99.5\%$  of total variation of seed germination (figure 1

(Fig. 1: Time course of germination of *Crithmum maritimum* seeds. Results are mean ± SE of four replicates).



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ❖ Abdallah, A., Zouhaier, B., Rabhi, M., Chedly, A and Abderrazak, S. 2011. Environmental eco-physiology and economical potential of the halophyte *Crithmum maritimum* L. (Apiaceae). Journal of Medicinal Plants Research 5: 3564-3571.
- ❖ Andersen T.E., 2013. Effects of root zone composition and nitrogen and phosphorus rates on mycorrhizal colonization in different turfgrass species on sand-based golf greens in Scandinavia. Norwegian University of Life Sciences.
- ❖ Balaes, T. and Tanase C., 2011. Interrelations between the mycorrhizal systems and soil organisms. J. Plant Develop. 18:1855-69.
- ❖ Barbas E., Hassiotis C.N., Tavernad R. and Strullu D.G., 2011.
- ❖ Βαρδαβάκης Μανώλης, «Συστηματική Βοτανική (Κρυπτόγυμα-Σπερματόφυτα)», Εκδόσεις Σαλονικίδης, Τομος Ι.
- ❖ Βερεσόγλου , Δ.Σ. 2002. Οικολογία. Β. έκδοση, Εκδόσεις “έλλα”, Λάρισα
- ❖ Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. and Malajczuk, N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph 32. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.
- ❖ Brundrett, M.C. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. Biological Review 79:473-495.
- ❖ Chen, X.H., Scholz, R., Borriss M., Junge H., Mogel, G., Kunz, S., Borriss, R. 2009. Difficidin and bacilysin produced by plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* are efficient in controlling fire blight disease. J. Bacteriol. 140:38-44.
- ❖ Chen X., Koumoutsi A., Scholz A., Eisenreich A., Schneider K., Heinemeyer I., Morgenstern B., Voss B., Hess W.R, Reva R., Junge H., Voigt B., Jungblut P.R., Vater J., Sussmuth J., Liesegang H., Strittmatter A., Gottschalk G. & Borriss R.. 2007. Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. Nature Publishing Group.
- ❖ Claus D., Berkeley R.C.W., 1986. Genus *Bacillus* Cohn 1872. In: Sneath P.H.A, ed. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Section 13, Vol. 2 Baltimore, MD, USA: Williams & Wilkins Co, 1105-39.

- ❖ Deacon JW. 2006. Fungal Biology. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- ❖ Discover life 2014. [www.discoverlife.org](http://www.discoverlife.org).
- ❖ Fernández, D.A., Roldán, A., Azcón, R., Caravaca, F. and Bååth E. 2012. Effects of water stress, organic amendment and mycorrhizal inoculation on soil microbial community structure and activity during the establishment of two heavy metal-tolerant native plant species. *Microb. Ecol* 63(4): 794-803.
- ❖ Govindarajulu, M., P.E. Pregger., H. Jin, J. Abubaker, D.D. Douds, J.W. Allen, H.Bucking, P.J. Lammers and Y. Shachar-Hill. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* 435:819-823.
- ❖ Grigoriadou, K. and Maloupa, M.E. (2008). Micropropagation and salt tolerance of in vitro grown *Crithmum maritimum*. L. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 94: 209–217.
- ❖ Jakobsen, I. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in field grown crops. III. Mycorrhizal infection and rates of phosphorus inflow in pea plants. *New Phytologist* 104:573-581.
- ❖ Idris, E.E., Iglesias, D.J., Talon, M. and Borriss, R. 2007. Tryptophan-dependent production of indole-3-Acetic Acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 20: 619-626.
- ❖ Irish, E., Makarewich, O., Faraouk, A., Rosner, K., Greiner, R., Bochow, H., Ritcher, T. and Borriss, R. 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant – growth – promoting effect. *Microbiol.*, 148: 2097-2109.
- ❖ Kennedy, I.R., Pereg-Gerk, L.L., Wood, C., Deaker, R., Gilchrist, R. and Katupitiya, S. 1997. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: facilitating the evolution of an effective association between *Azospirillum* and wheat. *Plant. Soil.*, 194:65-79.
- ❖ Κλαράκη Α. 2009, Αξιολόγηση διαφόρων στελεχών του γένους *Bacillus* για την καταπολέμηση του *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε σπόρο τομάτας.
- ❖ KlooPPER J.W., Rodriguez-Kabana R., Zehnder G.W., Murhy J.F., Sikora E., Fernandez C., 1999. Plant root- bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Australian Plant Pathology* 28, 21-6.

- ❖ Koumoutsis A., 2006. Functional genome analysis of the plant-growth promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42; characterizing its production and regulation of nonribosomal peptide synthetases.
- ❖ Logan, N.A., and De Vos, P. (2009). In Genus I. *Bacillus*; Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3: The Firmicutes, De Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. -H and Whitman, W. B. Eds eds., (New York: Springer) pp. 21-127.
- ❖ Μαλούπα Ε., Γρηγοριάδου Κ., Λάζαρη Δ., Κρίγκας Ν., «Καλλιέργεια, μεταποίηση και διασφάλιση ποιότητας των ελληνικών Αρωματικών φαρμακευτικών φυτών. Βασικές αρχές καθετοποιημένης παραγωγής».
- ❖ Μαλούπα Ε., Μαρία Στικούδη, Θεσσαλονίκη 2009. «Αρώματα και Γεύσεις από το Βοτανικό Κήπο»
- ❖ Mc Gonigle, Mc., Miller, T.P., Evans, M.H., Fairchild, D.G. and Swan, G.L. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular fungi. *New Phytol.* 115:495-501.
- ❖ Morton, J.B. and G.L. Benny. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Zygomycetes*): a new order, *Glomales*, two new suborders, *Glomineae* and *Gigasporineae*, and two new families, *Acaulosporaceae* and *Gigasporaceae*, with an emendation of *Glomaceae*. *Mycotaxonomy* 37:471-491.
- ❖ Μπαλτζώη Π., 2006. Η επίδραση των βαρέων μετάλλων (Cd, Ni, Pb) στη δράση των μυκόρριζων.
- ❖ Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., and Pfaller, M.A. (1995). *Bacillus*. In *Manual of Clinical Microbiology*. ASM 8-349-356.
- ❖ Olga Kostoula, Dimitra Dimou, Paraskevi Ifanti, Dimitra Douma, Charalampos Karipidis, Andreas Kritsimas, Dimitrios Kyrkas and Georgios Patakioutas (2014). *Crithmum maritimum* L. in co-existence with *Glomus intraradices* and a growth promoting bacterium. Department of Agricultural Technological, Faculty of Agricultural, Food and Nutrition Technology, Technological Education Institute of Epirus, Arta, Greece.
- ❖ Phillips, J. M., and Hayman, D. S., 1970, Improved procedures for clearing roots and staining parasite and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **55**:158-160.
- ❖ Rooney, A.P., Price, N.P.J., Ehrhardt, C., Sewzey, J.L., and Bannan, J.D. (2009). Phylogeny and molecular taxonomy of the *Bacillus subtilis* species complex and description of *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum* subsp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **59**, 2429-2436.

- ❖ Sandes, F.E. and P.B. Tinker. 1971. Mechanism of absorption of phosphate from soil by *Endogone mycorrhizas*. *Nature* 233:278-279.
- ❖ Smith, S.E., and V. Gianinazzi-Pearson. 1988. Physiological interactions between symbionts in vesicular arbuscular mycorrhizal plants. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* 39:221-244.
- ❖ Smith, S.E. and D.J. Read. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. 2<sup>nd</sup> edition. Academic Press, London.
- ❖ Smith SE, Read DJ. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London, UK.
- ❖ Stabb W.V., Jacobson L.M., Handelsman J., 1994. Zwittermicin A producing strains of *Bacillus Cereus* from diverse soils. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 4404-12.
- ❖ Thanos, C.A., Georghiou, K., Douma, D.J. and Marangaki, C.J. 1991. Photoinhibition of Seed Germination in Mediterranean Plants, *Annals of Botany* 68, 469-475, 199.
- ❖ Τριανταφύλλου Μ. 2012, Εκτομυκορριζικοί μύκητες του γένους *Lactarius* Pers. Στην Ελλάδα.
- ❖ Τσάμη Ε., 2013. Η επίδραση εφαρμογής συμβιωτικών μικροοργανισμών στην ανάπτυξη ανθοκομικών φυτών και χλοοτάπητα, καλλιεργούμενα στο έδαφος ή εκτός εδάφους σε συνθήκες βιοτικής ή αβιοτικής καταπόνησης.
- ❖ Utkhede R., Koch C., 2004. Biological treatments to control bacterial canker of greenhouse tomatoes. *Biocontrol* 49:305-314
- ❖ Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*. 255: 571-586.
- ❖ Wulff E.G., Mguni C.M, Mansfeld- Giese K., Fels J. Lubeck M., Hockenhull J., 2002. Biochemical and molecular characterization of *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis* and *B. pumilus* isolates with distinct antagonistic potential against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Plant Pathology* 51,574-584.

## ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

- ❖ <http://www.agr.gc.ca/>
- ❖ <http://www.jstor.org/>
- ❖ <http://en.wikipedia.org/wiki/Bacteria>
- ❖ <http://www.tgw1916.net/Bacillus/amyloliquefaciens.html>
- ❖ <http://femsec.oxfordjournals.org/content/48/2/249>
- ❖ [http://www.ec.gc.ca/ese-ees/E35B18C1-E940-4204-9500-DAF41BA56F79/DSAR\\_Micro-organisms\\_Bacillus\\_EN.pdf](http://www.ec.gc.ca/ese-ees/E35B18C1-E940-4204-9500-DAF41BA56F79/DSAR_Micro-organisms_Bacillus_EN.pdf)
- ❖ [http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/index.php/%CE%9A%CF%81%CE%AF%CF%84%CE%B1%CE%BC%CE%BF\\_%CF%86%CF%85%CF%84%CF%8C](http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/index.php/%CE%9A%CF%81%CE%AF%CF%84%CE%B1%CE%BC%CE%BF_%CF%86%CF%85%CF%84%CF%8C)

## ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

- ❖ <http://electrofanatic.deviantart.com/art/Bacillus-Bacteria-113921625>
- ❖ [http://genetik.bio.lmu.de/research/schuessler/am\\_intro/index.html](http://genetik.bio.lmu.de/research/schuessler/am_intro/index.html)
- ❖ <http://www.hortidaily.com/article/1474/Switzerland-Residue-issues-drive-increasing-demand-for-biological-IPM-controls>
- ❖ <http://www.abitep.de/de/rhizovital.html>
- ❖ [http://www.davidmoore.org.uk/assets/mostly\\_mycology/diane\\_howarth/am.htm](http://www.davidmoore.org.uk/assets/mostly_mycology/diane_howarth/am.htm)
- ❖ [http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n4/fig\\_tab/ncomms1046\\_F1.html](http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n4/fig_tab/ncomms1046_F1.html)
- ❖ [http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n4/fig\\_tab/ncomms1046\\_F1.html](http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n4/fig_tab/ncomms1046_F1.html)
- ❖ <http://invam.wvu.edu/collection/publications/abstract-mcgrawhill>
- ❖ <http://www.spame.gr/sites/default/files/%CF%80%CF%81%CE%BF%CE%B9%CF%8C%CE%BD%CF%84%CE%B1%20%CF%83%CF%80%CE%B1%CE%BC%CE%B5-21.jpg>
- ❖ <http://archive.constantcontact.com/fs075/1104773284429/archive/1105094114871.html>
- ❖ [http://www.herbierimages.be/index\\_fichiers/crithmum\\_maritimum.jpg](http://www.herbierimages.be/index_fichiers/crithmum_maritimum.jpg)
- ❖ [http://www.planty.gr/vermiculite\\_perlite.php](http://www.planty.gr/vermiculite_perlite.php)
- ❖ <http://controlbio.es/es/247-glomus-intraradices>
- ❖ <http://www.naturam.gr/?section=product&cat=11&prod=571>