



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Σχολή Γεωπονικών Επιστημών

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«Επίδραση βιοδιεγερτών στην ανάπτυξη, φυσιολογία και στην
ανθεκτικότητα έναντι του παθογόνου μύκητα *Botrytis cinerea*
σε γενετικό υλικό μαρουλιού (*Lactuca sativa* L.)»**

ΦΩΤΕΙΝΗ ΚΟΚΟΝΑΚΗ



Επιβλέπουσα: Ουρανία Παυλή, Αναπλ. Καθηγήτρια, Π.Θ.

ΒΟΛΟΣ 2023

«Επίδραση βιοδιεγερτών στην ανάπτυξη, φυσιολογία και στην ανθεκτικότητα έναντι του παθογόνου μύκητα *Botrytis cinerea* σε γενετικό υλικό μαρουλιού (*Lactuca sativa* L.)»

«Effect of biostimulants on growth, physiology and resistance against the fungal pathogen *Botrytis cinerea* in lettuce (*Lactuca sativa* L.) germplasm»

Φωτεινή Κοκονάκη

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Παυλή Ουρανία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, ΠΘ
2. Βέλλιος Ευάγγελος, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, ΠΘ
3. Ζαμπούνης Αντώνιος, Ερευνητής, Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών Πόρων, ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του ΠΘ κα. Ουρανία Παυλή, επιβλέπουσα της παρούσας πτυχιακής εργασίας, για την καθοδήγηση, την στήριξη και την εμπιστοσύνη της. Ακόμα, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην κα. Ευαγγελία Παναγιωτάκη για τη βοήθεια κατά τη διάρκεια του πειράματος και την καθοδήγηση κατά την διάρκεια συγγραφής της διατριβής. Η επιλογή του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών ήταν η καλύτερη που θα μπορούσα να κάνω, καθώς κατά την εκπόνηση του πειράματος κατάφερα να δω στην πράξη διαδικασίες που γνώριζα μόνο σε θεωρητικό επίπεδο.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Ευάγγελο Βέλλιο, Επίκουρο Καθηγητή στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, για τη χορήγηση του μικροοργανισμού που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, την καθοδήγηση κατά τις σχετικές διαδικασίες μόλυνσης των φυτών καθώς και για την κριτική ανάγνωση του κειμένου. Σε ανάλογο πλαίσιο, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αντώνιο Ζαμπούνη για τις γόνιμες συζητήσεις κατά τις πειραματικές διαδικασίες καθώς και την κριτική ανάγνωση του κειμένου.

Από τις ευχαριστίες δεν θα μπορούσα να παραλείψω την μεταπτυχιακή φοιτήτρια Χριστίνα Τούμπου, που ήταν δίπλα μου καθόλη την πειραματική διαδικασία και η βοήθεια της συνέβαλε στην ορθή διεξαγωγή της.

Τέλος, ένα τεράστιο ευχαριστώ στην κολλητή μου Μαρία για την στήριξη και την συμπαράσταση της όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι βιοδιεγέρτες αποτελούν καινοτομία στην γεωργία, καθώς αφορούν χημικές ουσίες και μικροοργανισμούς που ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών. Υπάρχουν πολλές κατηγορίες βιοδιεγερτών και ανάλογα με τα συστατικά τους μπορούν να ενισχύσουν την πρόληψη θρεπτικών συστατικών, την αντοχή σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις ή να επιδράσουν ευεργετικά στην ανάπτυξη των φυτών. Το μαρούλι αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα λαχανικά της οικογένειας Asteraceae, καθώς η χρησιμοποιείται ευρέως τόσο για νωπή κατανάλωση όσο και μαγειρεμένο. Ο μύκητας *B. cinerea* είναι σημαντικότερη ασθένεια που προσβάλλει το μαρούλι. Στο συγκεκριμένο πείραμα, μελετήθηκε η απόκριση δύο ποικιλιών μαρουλιού, Green Towers και Asturion, σε διάφορους βιοδιεγέρτες ή μείγματα αυτών. Οι δύο αυτές ποικιλίες μαρουλιού αξιολογήθηκαν ως προς την απόκριση στις εφαρμογές Signum, Max Kelp, Antistress, Signum - Antistress, Max Kelp - Antistress. Ως παράγοντες αξιολόγησης για τα υγιή φυτά χρησιμοποιήθηκαν ο αριθμός φύλλων, το ύψος φυτών, το ξηρό, το νωπο βάρος και η % περιεκτικότητα σε ξηρά ουσία, η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη a, b, καροτενοειδή και η συνολική περιεκτικότητα χλωροφύλλης καθώς και ο λόγος χλωροφύλλης a προς b. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ποικιλία παίζει ρόλο στην δράση των βιοδιεγερτών. Μετά την μόλυνση των φυτών με τον μύκητα *B. cinerea* οι δύο ποικιλίες αξιολογήθηκαν ως προς την δράση των Signum, Max Kelp, Antistress, Signum - Antistress, Max Kelp - Antistress απέναντι στην προσβολή. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ύστερα από στατιστική ανάλυση των δεδομένων από την μόλυνση με μυκηλιακούς δίσκους έδειξαν πως υπάρχει συσχέτιση της ποικιλίας με τη δράση του βιοδιεγέρτη. Ωστόσο, για την μόλυνση με αιώρημα σπορίων δεν παρουσιάστηκε συσχέτιση.

Πίνακας περιεχομένων

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1. Η καλλιέργεια του μαρουλιού	1
1.1 Ταξινόμηση - Καταγωγή-Ιστορία	2
1.2 Θρεπτική αξία και χρήσεις	3
1.3 Βοτανικά Χαρακτηριστικά	4
1.4 Κλιματικές και Εδαφικές Απαιτήσεις	5
1.5 Λίπανση και Άρδευση	6
1.6 Πολλαπλασιασμός	7
2. Ο παθογόνος μύκητας <i>Botrytis cinerea</i>	8
2.1 Μορφολογία και συμπτωματολογία του μύκητα <i>Botrytis cinerea</i>	8
2.2 Βιολογικός κύκλος του μύκητα	9
2.3 Τρόποι αντιμετώπισης της ασθένειας	10
3. Βιοδιεγέρτες	11
3.1 Υλικά από τα οποία παράγονται βιοδιεγερτικές ουσίες	13
3.2 Κατηγορίες βιοδιεγερτών	13
3.3 Τρόποι δράσης βιοδιεγερτών	17
3.4 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα βιοδιεγερτών	18
Σκοπός του πειράματος	21
2.Υλικά και Μέθοδοι	22
2.1 Φυτικό Υλικό	22
2.2. Παρασκευή των μειγμάτων των βιοδιεγερτών	22
2.3 Πειραματικό Σχέδιο - Εφαρμογές βιοδιεγερτών	23
2.4 Αξιολόγηση της επίδρασης των βιοδιεγερτών σε αναπτυξιακές και βιοχημικές παραμέτρους των φυτών	24
2.4.1 Αναπτυξιακές παράμετροι	25
2.4.1.1 Ύψος φυτών – Αριθμός φύλλων	25
2.4.1.2 Νωπό και ξηρό βάρος φυτών	25
2.4.2 Βιοχημικές παράμετροι αξιολόγησης	25
2.4.2.1 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη a, χλωροφύλλη b και καροτενοειδή	25
2.5 Αξιολόγηση της επίδρασης των βιοδιεγερτών στην προσβολή από τον παθογόνο μύκητα <i>Botrytis cinerea</i>	26
2.5.1 Απομόνωση του μύκητα	26
2.5.2 Παρασκευή υποστρώματος Potato Dextrose Agar (PDA)	27
2.5.3 Δοκιμές ανάπτυξης μυκηλίου	27
2.5.4 Δοκιμές βλάστησης σπορίων	28
2.5.5. Προσδιορισμός περιεκτικότητας προλίνης	29
2.5.5.1 Δείγματα φυτικού ιστού	29
2.5.5.2 Εκχύλιση φυτικού ιστού	29
2.5.5.3 Δείγματα για μέτρηση απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο	29
2.5.5.4 Κατασκευή καμπύλης αναφοράς	30
3. Αποτελέσματα	32
3.1 Επίδραση των βιοδιεγερτών στον αριθμό των φύλλων	32
3.2 Επίδραση των βιοδιεγερτών στο ύψος των φυτών	36
3.3 Επίδραση των βιοδιεγερτών στην % ξηρά ουσία	40

3.4 Επίδραση των βιοδιεγερτών στην ποσότητα χλωροφύλλης	44
3.4.1 Περιεκτικότητα δειγμάτων φύλλων σε χλωροφύλλη a	44
3.4.2 Περιεκτικότητα δειγμάτων φύλλων σε χλωροφύλλη b	48
3.4.3 Συνολική περιεκτικότητα χλωροφύλλης a και b των φύλλων	51
3.4.4 Λόγος χλωροφύλλης a προς b των φύλλων	57
3.4.5 Περιεκτικότητα δειγμάτων φύλλων σε καρετονοειδή	60
3.5 Επίδραση των βιοδιεγερτών στην εξάπλωση της προσβολής με μυκηλιακό δίσκο	64
3.6 Επίδραση των βιοδιεγερτών στην εξάπλωση της μόλυνσης με αιώρημα σπορίων του μύκητα	65
3.7 Επίδραση των βιοδιεγερτών στην ποσότητα προλίνης	66
Συζήτηση	68
Βιβλιογραφία	71

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1.1 Διαφορές χουμικών και φουλβικών οξέων

Πίνακας 2.1 Παρασκευή μειγμάτων βιοδιεγερτών

Πίνακας 2.2 Χρονοδιάγραμμα εφαρμογών βιοδιεγερτών, λήψης παρατηρήσεων και λήψης ιστών για επιμέρους εργαστηριακές μετρήσεις

Πίνακας 2.3 Δεδομένα για παρασκευή διαλυμάτων προλίνης που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς

Πίνακας 3.1 Προσδιορισμός αριθμού φύλλων ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.2 Προσδιορισμός ύψους φυτών ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.3 Προσδιορισμός νωπού, ξηρού βάρους (g) και % ξηρά ουσία ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.4 Προσδιορισμός περιεκτικότητας χλωροφύλλης (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.5 Προσδιορισμός περιεκτικότητας χλωροφύλλης b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.6 Προσδιορισμός συνολικής περιεκτικότητας χλωροφύλλης (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.7 Λόγος χλωροφύλλης a προς b ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.8 Προσδιορισμός περιεκτικότητας καροτενοειδών (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.9 Μέτρηση διαμέτρου κηλίδας ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.10 Ποσοστό % προσβεβλημένης επιφάνειας ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Πίνακας 3.11 Προσδιορισμός προλίνης (mg/100g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ)

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1.1 Το είδος *Lactuca sativa* L.

Εικόνα 1.2 Το είδος *Lactuca serriola*

Εικόνα 1.3 Το είδος *Lactuca virosa* L.

Εικόνα 1.4 Μορφολογία του *Botrytis cinerea*

Εικόνα 1.5 Προσβολή από *B. cinerea* σε μαρούλι

Εικόνα 1.6 Βιολογικός κύκλος του *B. cinerea*

Εικόνα 1.7 Κατηγορίες ουσιών με βιοδιεγερτικές ουσίες για τα φυτά

Εικόνα 2.1 Μεταφύτευση σπορόφυτων σε γλάστρες

Εικόνα 2.2 Διαφυλλικός ψεκασμός με βιοδιεγέρτες

Εικόνα 2.3 Φυτικά εκχυλίσματα για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη a, χλωροφύλλη b και καροτενοειδή

Εικόνα 2.4 Μόλυνση φύλλων μαρουλιού με μυκηλιακό δίσκο

Εικόνα 2.5 Απεικόνιση φυτών αμέσως μετά την τεχνητή μόλυνση με αιώρημα σπορίων

Κατάλογος γραφημάτων

Διάγραμμα 2.1 Καμπύλη αναφοράς για τη μετατροπή της απορρόφησης στα 520 nm σε mM προλίνης

Γράφημα 3.1 Αριθμός φύλλων ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 08/12/2022

Γράφημα 3.2 Αριθμός φύλλων ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 15/12/2022

Γράφημα 3.3 Αριθμός φύλλων ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 21/12/2022

Γράφημα 3.4 Αριθμός φύλλων ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 05/01/2023

Γράφημα 3.5 Ύψος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 08/12/2022

Γράφημα 3.6 Ύψος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 15/12/2022

Γράφημα 3.7 Ύψος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 21/12/2022

Γράφημα 3.8 Ύψος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 05/01/2023

Γράφημα 3.9 Νωπό βάρος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση

Γράφημα 3.10 Ξηρό βάρος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση

Γράφημα 3.11 % ξηρά ουσία φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση

Γράφημα 3.12 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 08/12/2022.

Γράφημα 3.13 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 15/12/2022.

Γράφημα 3.14 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 21/12/2022.

Γράφημα 3.15 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 08/12/2022.

Γράφημα 3.16 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 15/12/2022.

Γράφημα 3.17 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 21/12/2022.

Γράφημα 3.18 Συνολική περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 08/12/2022.

Γράφημα 3.19 Συνολική περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 15/12/2022.

Γράφημα 3.20 Συνολική περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 21/12/2022.

Γράφημα 3.21 Λόγος χλωροφύλλης a προς b των φυτικών ιστών στις 08/12/2022

Γράφημα 3.22 Λόγος χλωροφύλλης a προς b των φυτικών ιστών στις 15/12/2022

Γράφημα 3.23 Λόγος χλωροφύλλης a προς b των φυτικών ιστών στις 21/12/2022

Γράφημα 3.24 Περιεκτικότητα των φυτικών ιστών σε καροτενοειδή στις 08/12/2022

Γράφημα 3.25 Περιεκτικότητα των φυτικών ιστών σε καροτενοειδή στις 15/12/2022

Γράφημα 3.26 Περιεκτικότητα των φυτικών ιστών σε καροτενοειδή στις 21/12/2022

Γράφημα 3.27 Ιάμετρος κηλίδας προσβολής ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 21/12/2022.

Γράφημα 3.28 Ποσοστό % προσβεβλημένης επιφάνειας ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

Γράφημα 3.29 Περιεκτικότητα προλίνης των προσβεβλημένων φυτών (mg/100g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

1. Εισαγωγή

1.1 Ταξινόμηση και Καταγωγή του μαρουλιού

Το μαρούλι ανήκει στην οικογένεια των σύνθετων (Asteraceae) (Kim et al., 2016; Wei et al., 2021). Το καλλιεργούμενο μαρούλι, *Lactuca sativa* L., είναι από τα πρώτα λαχανικά με τα οποία ασχολήθηκε ο άνθρωπος με σκοπό την εξημέρωση του (Kesseli et al., 1991) (Εικόνα 1.1). Το γένος *Lactuca* περιλαμβάνει πάνω από 100 είδη μαρουλιού, από τα οποία πολλά καταναλώνονται από τον άνθρωπο ενώ άλλα αποτελούν ζιζάνια.



Εικόνα 1.1 Το είδος *Lactuca sativa* L.

Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες μαρουλιού διακρίνονται σε διάφορους τύπους, ανάλογα με τον τύπο κεφαλής που σχηματίζουν (Lebeda et al., 2007; Kristkova et al., 2008).

Το είδος *Lactuca serriola* αποτελεί τον πρόγονο του καλλιεργούμενου μαρουλιού (DeVries, 1997), και κατάγεται από την νοτιοδυτική Ασία (Zohari and Hopf, 2000) (Εικόνα 1.2). Η πρώτη αναφορά του *Lactuca serriola* έγινε στο Νείλο το 4500 π.Χ. , καθώς απεικονίζεται σε επιγραφή τάφου (Kim et al., 2016; Wei et al., 2021). Κατά την ίδια εποχή, υπάρχουν ευρήματα και στη Μεσόγειο. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί από αρχαιολογικές ανασκαφές, ένα είδος μαρουλιού που απεικονίζεται σε αιγυπτιακούς τάφους το 2500 π.Χ. (Kim et al., 2016; Wei et al., 2021). Αργότερα, το 550 π.Χ, το μαρούλι εξαπλώθηκε στην Ελλάδα και στη Ρώμη και χρησιμοποιούνταν αρχικά ως φαρμακευτικό φυτό (De Vries, 1997; Lindqvist, 1960). Η εξάπλωση στην Κίνα έγινε τον 8ο αιώνα μ.Χ. Οι καλλιεργούμενοι τύποι μαρουλιού στην Κίνα χαρακτηρίζονταν από λίγα φύλλα, τα οποία ήταν παχιά, και πικρό στέλεχος, το οποίο αποτέλεσε και την αιτία που η εξάπλωσή τους στην Ευρώπη δεν ευδοκίμησε. (Oost, 1980).

Οι ποικιλίες Κινέζικων μαρουλιών που είναι γνωστές σήμερα αναπτύχθηκαν τον 19ο αιώνα μ.Χ. (De Vries, 1997)



Εικόνα 1.2 Το είδος *Lactuca serriola* L.

Το μαρούλι ως φυλλώδες λαχανικό καλλιεργείται κυρίως για τα τρυφερά του φύλλα που καταναλώνονται είτε ωμά είτε μαγειρεμένα (Lebeda et al, 2007). Χρησιμοποιείται σε κάποιες περιπτώσεις για την παρασκευή καπνού χωρίς νικοτίνη ή βρώσιμου ελαίου από τους σπόρους, ενώ αποτελεί συστατικό για την παραγωγή λάτεξ. Η ονομασία *Lactuca* προέρχεται από τη λέξη lac, που στα ρωμαϊκά σημαίνει γάλα, εξαιτίας του γαλακτώδους χυμού που εκκρίνεται από τους βλαστούς του όταν αυτοί κοπούν (Ryder, 1986). Τέλος, ο γαλακτώδης χυμός που παράγεται από το άγριο είδος *Lactuca virosa* L. (Εικόνα 1.3) έχει αναλγητική και αναισθητική δράση και ως εκ τούτου χρησιμοποιείται για την παρασκευή ηρεμιστικών φαρμάκων.



Εικόνα 1.3 Το είδος *Lactuca virosa* L.

Το μαρούλι είναι το σημαντικότερο λαχανικό σε σαλάτες και, σύμφωνα με τον FAO, η παγκόσμια παραγωγή το 2021 ανήλθε στους 27.011.747.55 τόνους (FAOSTAT, 2021).

Στο μαρούλι παρατηρείται υψηλή γενετική παραλλακτικότητα. Το γεγονός αυτό σχετίζεται με τη διαδικασία εξημέρωσης του μαρουλιού και τα κέντρα καταγωγής του (Kesseli et al. 1991). Οι διαφορές στους φαινοτύπους των εδώδιμων μαρουλιών οδήγησαν στην ανάγκη ταξινόμησής τους στους ακόλουθους βοτανικούς τύπους:

1. **Butterhead:** Η κεφαλή είναι χαλαρή με μαλακά, σφαιροειδή φύλλα. Το κεντρικό νεύρο δημιουργεί διακλαδώσεις στην κορυφή του ελάσματος.
2. **Crisphead (iceberg, batavia):** Τα φύλλα είναι σγουρά, παχιά με λευκά εύθραυστα νεύρα.
3. **Cos (romana):** Η κεφαλή είναι χαλαρή με επικήκη, ορθοστέλεχα φύλλα.
4. **Cutting (loose-leaf):** Σχηματίζουν πυκνή μάζα φύλλων στο κέντρο ή δεν σχηματίζουν κεφαλή και συγκομίζονται σαν ροζέτες. Συναντάται πολύ μεγάλη φαινοτυπική ετερογένεια.
5. **Stalk (asparagus):** Δεν σχηματίζουν κεφαλή ενώ τα φύλλα μπορεί να είναι γκριζα ανοιχτόχρωμα ή μεγάλα λογχοειδή με μυτερή κορυφή.
6. **Latin:** Η κεφαλή είναι χαλαρή με δερματοειδή, σκούρα πράσινα φύλλα.
7. **Oilseed:** Οι σπόροι περιέχουν 35 % έλαιο, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη μαγειρική αλλά και στη φαρμακευτική (Křístková et al., 2008).

1.2 Θρεπτική αξία και χρήσεις

Το μαρούλι είναι ίσως το λαχανικό με τη μεγαλύτερη παγκόσμια κατανάλωση, αφού καταναλώνεται κυρίως φρέσκο αλλά και μαγειρεμένο, ωστόσο η κατανάλωσή τους ως νοπό προϊόν παρέχει σαφώς περισσότερα θρεπτικά συστατικά (Moreno & Fereres, 2012).

Η περιεκτικότητα του μαρουλιού σε νερό είναι 95.1 %. Αποτελεί πηγή βιταμινών και αντιοξειδωτικών ουσιών, με κυριότερες την A, C και β-καροτένιο, καθώς και θρεπτικών στοιχείων με κυριότερα το κάλιο και τον φώσφορο (Kim et al., 2016). Η περιεκτικότητα του σε θρεπτικά στοιχεία ανά 100 g βάρους είναι Ca 35 mg, P 26 mg, Fe 2 mg, Na 9 mg, K 264 mg (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 2021).

Η θερμιδική του αξία είναι χαμηλή, γεγονός που το καθιστά κατάλληλο προς κατανάλωση για απώλεια βάρους (Kim et al., 2016). Επιπρόσθετα, η κατανάλωσή του συνίσταται για τη

διατήρηση της ισορροπημένης διατροφής (Baslam et al., 2011) και για πρόληψη παθήσεων, λόγω της υψηλής θρεπτικής αξίας του και των αυξημένων φυτικών ινών που περιέχει. Οι φυτικές ίνες είναι πολύ σημαντικές για την ανθρώπινη υγεία, καθώς συμβάλλουν στην μείωση της χοληστερόλης και της αρτηριακής πίεσης (Hansen et al., 2012). Τέλος, με την κατανάλωση λαχανικών προλαμβάνονται η γήρανση, οι καρδιακές παθήσεις και ο σακχαρώδης διαβήτης, μέσω των βιοδραστικών ενώσεων που διαθέτουν (Boeing et al., 2012; Hung et al., 2004).

Ωστόσο, δεν έχουν όλοι οι τύποι μαρουλιού την ίδια θρεπτική αξία. Ο βοτανικός τύπος με τη χαμηλότερη θρεπτική αξία είναι το Crisphead (iceberg), καθώς περιέχει μικρό αριθμό μετάλλων, βιταμινών και βιοδραστικών ενώσεων. Αντίθετα, ο βοτανικός τύπος με τη μεγαλύτερη θρεπτική αξία είναι το Cos (romana), καθώς περιέχει αυξημένη ποσότητα φυλλικού οξέος. Συγκεκριμένα, η ποικιλία baby green romana χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα υψηλή περιεκτικότητα σε βιταμίνη C (Kim et al., 2016).

Ένα μειονέκτημα του μαρουλιού είναι ότι απορροφά μεγάλη ποσότητα νιτρικών από το έδαφος, όταν αυτά απαντώνται σε μεγάλη συγκέντρωση. Τα νιτρικά μετατρέπονται σε νιτρώδη εντός του ανθρώπινου οργανισμού. Εν συνεχεία τα νιτρώδη, ενώνονται με αμίνες και σχηματίζουν τις νιτροζαμίνες, ουσίες που είναι καρκινογόνες για τον άνθρωπο. Για τον παραπάνω λόγο, η συγκέντρωση νιτρικών στο μαρούλι πρέπει να ελέγχεται και να προλαμβάνεται. Παράγοντες που εντείνουν την απορρόφηση νιτρικών από την καλλιέργεια είναι η ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας, η ποσότητα και ο τρόπος εφαρμογής του αζώτου, η θερμοκρασία, η υδατική ισορροπία, ο γονότυπος και η συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα στην περίπτωση της θερμοκηπιακής καλλιέργειας (Finch et al., 2014). Σύμφωνα με τον FAO/WHO, τα όρια των νιτρικών είναι 0-3,65 μg/Kg νωπού βάρους, ενώ των νιτρωδών 0-0,13 μg/Kg νωπού βάρους.

1.3 Βοτανικά Χαρακτηριστικά

Το μαρούλι είναι ένα ετήσιο, ποώδες φυτό με όρθια ή πλάγια ανάπτυξη, ανάλογα με την ποικιλία. Όλες οι καλλιεργούμενες ποικιλίες έχουν διπλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων $2n = 18$. Το μαρούλι έχει μικρό βιολογικό κύκλο, που ορίζεται μεταξύ των 65 και 130 ημερών, ανάλογα με τον τύπο μαρουλιού και την εποχή σποράς.

Το κύριο ριζικό σύστημα είναι επιφανειακό πλευρικό και αναπτύσσεται στα 15-20 cm από το έδαφος, ενώ σχηματίζει κεντρική πασσαλώδη ρίζα μήκους 50-60 cm από το έδαφος που καταστρέφεται με τη μεταφύτευση. Το επιφανειακό πλευρικό ριζικό σύστημα ευθύνεται για την απορρόφηση του περισσότερου νερού και των θρεπτικών συστατικών. Τα φύλλα διατάσσονται σπειροειδώς στο βλαστό και σχηματίζουν ροζέτα κατά τη βλαστική περίοδο. Το μέγεθος, σχήμα, χρώμα και η εμφάνιση αποτελούν χαρακτηριστικά της κάθε ποικιλίας. Γενικά, τα φύλλα του μαρουλιού είναι λεία, από ωοειδή έως επιμήκη, με ακέραια έως οδοντωτά περιθώρια. Κάποιες ποικιλίες μαρουλιού έχουν μεγάλη ποσότητα ανθοκυανών και σχηματίζουν ερυθρά έως μωβ φύλλα.

Ο βλαστός είναι μικρός κατά τη βλαστική περίοδο με πολλά μεσογονάτια διαστήματα, ενώ κατά την αναπαραγωγική περίοδο που δημιουργείται το ανθικό στέλεχος δύναται να πλησιάσει το 1 m. Σχεδόν σε όλες τις ποικιλίες μαρουλιού ο βλαστός είναι μικρός με πυκνά φύλλα.

Τα άνθη περιβάλλονται από βράκτια, είναι διατεταγμένα πάνω στο ανθικό στέλεχος και σχηματίζουν ταξιανθία φόβη ή κορυμβόμορφο βότρυ με πολλές κεφαλές αποτελούμενες από 10-25 ανθίδια η καθεμία. Τα ανθίδια είναι αυτογονιμοποιούμενα, σε ποσοστό 99 %, ερμαφρόδιτα και ανοίγουν για 1-2 ώρες το πρωί αλλά όχι όλα ταυτόχρονα. Ακόμα, είναι κίτρινα με μικρό μέγεθος, η στεφάνη αποτελείται από 5 πέταλα και 5 στήμονες ενωμένα μεταξύ τους και ο στύλος καταλήγει σε δίλοβο στίγμα. Κατά τη γονιμοποίηση, η ανάπτυξη των σπόρων στην ίδια κεφαλή οδηγεί τα ανθίδια στην παραγωγή καρπού.

Ο καρπός είναι αχαίνιο, μονόσπερμος, επικήμες, μήκους 3-4 εκ. Το χρώμα μπορεί να είναι λευκό, κίτρινο, γκρίζο έως και μαύρο. Οι καρποί που συγκομίστηκαν πρόσφατα έχουν μία σύντομη φάση ληθάργου. Στους καρπούς ορισμένων ποικιλιών παρατηρείται φωτοχημικός λήθαργος, ενώ σε όλες τις ποικιλίες παρατηρείται θερμολήθαργος σε μεγαλύτερο ή μικρότερο ποσοστό (Finch et al., 2014).

1.4 Κλιματικές και Εδαφικές Απαιτήσεις

Το μαρούλι καλλιεργείται σε εδάφη με ελαφριά αμμώδη έως βαριά αργιλώδη σύσταση (Finch et al., 2014), ωστόσο ιδανικά θεωρούνται τα πηλώδη εδάφη, με μεγάλη περιεκτικότητα οργανικής ουσίας, καλή ικανότητα συγκράτησης και στράγγισης νερού και τιμές pH μεταξύ 6 και 7. Τα εδάφη θα πρέπει επίσης να έχουν μικρή περιεκτικότητα σε

άλατα καθώς η καλλιέργεια είναι ευαίσθητη στην εδαφική αλατότητα και παρατηρούνται συμπτώματα φυτοτοξικότητας. Για την πρωίμηση της παραγωγής επιβάλλεται φύτευση σε αμμώδη, ζεστά εδάφη, ενώ για οψίμηση προτιμάται η φύτευση σε πηλώδη εδάφη (Rubatzky and Yamaguchi, 1997).

Το μαρούλι καλλιεργείται από το φθινόπωρο μέχρι τον χειμώνα, καθώς είναι φυτό ψυχρής εποχής. Αυτό σημαίνει ότι μπορεί να αναπτυχθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες και αντέχει μέχρι $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Οι ιδανικές θερμοκρασίες είναι $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ την ημέρα και $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ τη νύχτα. Πολύ χαμηλές θερμοκρασίες για μεγάλα χρονικά διαστήματα είναι δυνατόν να προκαλέσουν τραυματισμούς στα εξωτερικά φύλλα ενώ πολύ υψηλές μπορούν να προκαλέσουν κάψιμο της κορυφής (Smith et al., 2011). Κατά το σχηματισμό της κεφαλής, επιβάλλεται η επικράτηση χαμηλών θερμοκρασιών, καθώς σε υψηλές θερμοκρασίες παρατηρούνται χαλαρές κεφαλές ή μη αδυναμία σχηματισμού τους. Όσον αφορά τις απαιτήσεις σε φως, είναι φυτό μεγάλης ημέρας, ωστόσο οι νέες ποικιλίες τείνουν να είναι φωτοπεριοδικά ουδέτερες (Rubatzky and Yamaguchi, 1997).

1.5 Λίπανση και Άρδευση

Για τη σωστή εκτίμηση των ποσοτήτων λιπασμάτων που θα προστεθούν στο έδαφος με βασική και επιφανειακή λίπανση κρίνεται απαραίτητη η διεξαγωγή φυλλοδιαγνωστικής και εδαφολογικής ανάλυσης (Finch et al., 2014). Ακόμα, λαμβάνεται υπόψη ότι για κάθε τόνο νωπού μαρουλιού αντλούνται από το έδαφος : 3 kg N, 1,5 kg P_2O_5 , 5 kg K_2O , 1,5 kg CaO, 0,5 kg MgO και SO_3 . Με βασική λίπανση χορηγούνται στο έδαφος K και P και με επιφανειακή N_2 . Η ποσότητα N_2 εφαρμόζεται με μείγμα νιτρικού και αμμωνιακού N_2 και συνιστάται να είναι μικρή, καθώς η υπερβολική αζωτούχος λίπανση δημιουργεί χαλαρές κεφαλές με υδαρή εμφάνιση και φυτά επιρρεπή σε ασθένειες. Προσοχή επίσης χρειάζεται στην επιλογή σκευασμάτων κατά τη βασική λίπανση, καθώς δεν πρέπει να προκαλούν οξίνιση του εδάφους. Η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών επηρεάζεται από το πλευρικό ριζικό σύστημα του μαρουλιού. Στους παράγοντες που συμβάλλουν στην απορρόφηση των θρεπτικών, συμπεριλαμβάνεται η ποσότητα και ο χρόνος εφαρμογής του λιπάσματος.

Η άρδευση της καλλιέργειας είναι απαραίτητη, καθώς απαιτείται μεγάλη ποσότητα νερού. Ωστόσο, πρέπει να γίνεται προσεκτικά διότι το πλευρικό ριζικό σύστημα των φυτών τα καθιστά ευπαθή στην υδατική καταπόνηση. Η άρδευση γίνεται με καταιονισμό ή στάγδην

και το νερό που χρησιμοποιείται πρέπει να έχει μικρή περιεκτικότητα σε άλατα, καθώς όπως προαναφέρθηκε η υψηλή αλατότητα προκαλεί προβλήματα στην ανάπτυξη του φυτού (Rubatzky and Yamaguchi, 1997). Ακόμα, είναι σημαντικό να γίνονται αρδεύσεις ανά τακτά χρονικά διαστήματα με μικρή ποσότητα νερού κάθε φορά, καθώς η υδατική καταπόνηση προκαλεί φυσιολογικές ασθένειες, όπως το κάψιμο των φύλλων. Από την άλλη πλευρά, η υπερβολική άρδευση συμβάλλει στη δημιουργία χαλαρών κεφαλών. Οι μεγαλύτερες ποσότητες νερού χορηγούνται στην καλλιέργεια μετά τη μεταφύτευση καθώς και ένα μήνα πριν τη συγκομιδή που αποτελεί και την έντονη ανάπτυξη του φυτού (Finch et al., 2014).

1.6 Πολλαπλασιασμός

Ο πολλαπλασιασμός του φυτού γίνεται εγγενώς με σπόρο. Η βλάστηση λαμβάνει χώρα εντός 1-4 ημερών, όταν η θερμοκρασία είναι μεταξύ 15-21 °C. Όταν η θερμοκρασία είναι άνω των 25 °C, οι σπόροι εισέρχονται σε λήθαργο με αποτέλεσμα να βλαστήσουν σε μικρό ποσοστό ή και καθόλου. Ωστόσο, υπάρχουν αρκετοί τρόποι επίλυσης του συγκεκριμένου προβλήματος, όπως η κατάβρεξη και ψύξη των σπόρων για 1-3 ημέρες. Εναλλακτικά, μπορεί να γίνει ωσμωβελτίωση των σπόρων, πότισμα με κρύο νερό ή ψεκάσμος των σπόρων με νερό στο σπορείο ή κάλυψη του σπορείο με δίχτυα ώστε να εξασφαλιστούν συνθήκες ελεγχόμενης σκίασης.

Οι σπόροι που χρησιμοποιούνται πρέπει να τουλάχιστον τριών μηνών, ενώ απαιτείται ποσότητα 50g σπόρου/στρ. Βέβαια, η συνηθέστερη τακτική είναι η σπορά σε σπορείο και στη συνέχεια μεταφύτευση στον αγρό σε βάθος 0,5-1 cm.

Για τον πολλαπλασιασμό με σπόρο μπορεί να εφαρμοστεί η σπορά καλυμμένων σπόρων σε κύβους εδάφους με τη βοήθεια μηχανών. Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται σε μεγάλα φυτώρια, όπου η παραγωγή μεγάλου αριθμού φυταρίων είναι απαραίτητη. Άλλες τεχνικές που εφαρμόζονται είναι η σπορά με το χέρι σε κύβους εδάφους, όταν αφορά μικρότερη ποσότητα φυταρίων, καθώς και η σπορά σε κιβώτια και μεταφύτευση τους σε κύβους εδάφους. Όταν τα φυτά βρίσκονται ακόμα στο σπορείο, περνούν το στάδιο της μικρής ημέρας για δύο εβδομάδες μέχρι την εμφάνιση δυο πραγματικών φύλλων.

Το όργωμα, η ενσωμάτωση κοπριάς και βασικής λίπανσης, ο ψιλοχωματισμός και η ισοπέδωση του εδάφους πρέπει να προηγούνται της μεταφύτευσης. Η μεταφύτευση υπολογίζεται ότι λαμβάνει χώρα 4-6 εβδομάδες μετά τη σπορά, όταν τα φυτά σχηματίσουν 3-

5 πραγματικά φύλλα, είτε με το χέρι είτε με τη βοήθεια μηχανών. Οι αποστάσεις φύτευσης διαφέρουν ανάλογα με την ποικιλία, αλλά ένας μέσος όρος είναι 30-50 cm μεταξύ των γραμμών και 25-30 cm επί των γραμμών. Μετά τη μεταφύτευση, η καλλιέργεια πρέπει να ποτιστεί και να συνεχίσει το πότισμα ανά τακτά χρονικά διαστήματα (Rubatzky and Yamaguchi, 1997)

1.7 Ο παθογόνος μύκητας *Botrytis cinerea*

1.7.1 Μορφολογία και συμπτωματολογία του μύκητα *Botrytis cinerea*

Ο μύκητας *B. cinerea* ανήκει στους Hyphomycetes των Αδηλομυκήτων. Σχηματίζει κονιδιοφόρους, αποτελούμενους από ένα μακρύ καστανό ποδίσκο. Στην κορυφή του ποδίσκου, συναντώνται επί μακρών κατ' εναλλαγή εκφυόμενων διακλαδώσεων, υαλώδη κονίδια κατά κεφαλές με μορφή βότρυος. Τα κονίδια βρίσκονται πάνω σε μικρά στηρίγματα και είναι ωοειδή ή σφαιρικά, μονοκύτταρα και λεία (Τζάμος, 2007). Η μορφολογία του μύκητα στο μικροσκόπιο παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.4.

Η τέλεια μορφή του μύκητα είναι το *Botryotinia fuckeliana* (συν. *Sclerotinia fuckeliana*) και ανήκει στην οικογένεια Sclerotiniaceae της τάξης Helotiales. Σχηματίζει σκληρώτια του παθογόνου, τα οποία όταν βλαστάνουν δίνουν αποθήκια. Από τα σκληρώτια που βλαστάνουν, δημιουργείται μυκήλιο ή κονιδιοφόροι (Παναγόπουλος, 2007).



Εικόνα 1.4 Μορφολογία του μύκητα *Botrytis cinerea*.

Ο μύκητας *B. cinerea* προσβάλλει κηπευτικά, καλλωπιστικά φυτά και προκαλεί σήψη των προσβεβλημένων οργάνων. Είναι παμφάγο φυτοπαθογόνο και προσβάλλει φυτά κάθε

ηλικίας. Ανάλογα με το είδος και την ηλικία του φυτού, συναντώνται διαφορετικά συμπτώματα. Συγκεκριμένα, στο μαρούλι προκαλεί ζημιές το φθινόπωρο και την άνοιξη, σε οποιοδήποτε στάδιο ανάπτυξης. Η προσβολή ξεκινά με καστανά στίγματα στα κατώτερα φύλλα, εξελίσσεται σε μαλακή και υδαρή σήψη και, εφόσον οι συνθήκες είναι κατάλληλες, εμφανίζονται οι καρποφορίες του μύκητα ως γκρίζα εξάνθιση (Τζάμος, 2007). Ένα τυπικό σύμπτωμα προσβολής παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.5.

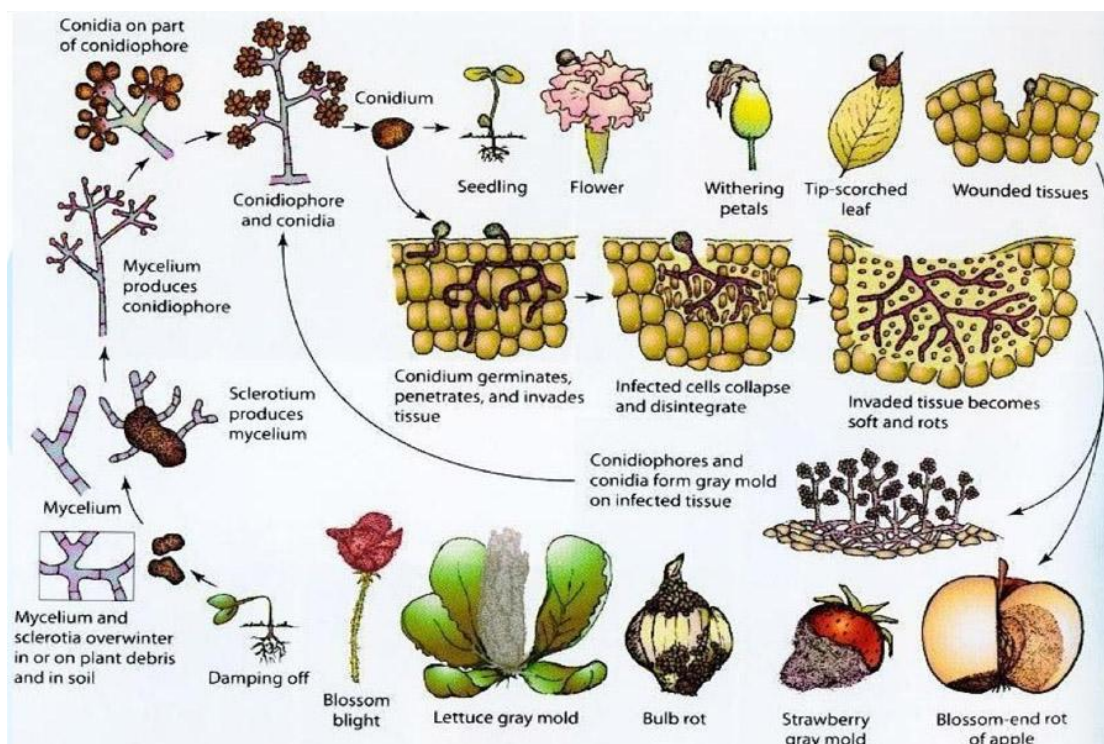


Εικόνα 1.5 Προσβολή από *B. cinerea* σε φυτό μαρουλιού.

1.7.2 Βιολογικός κύκλος του μύκητα

Ο βιολογικός κύκλος του *B. cinerea* παρουσιάζεται σχηματικά στην Εικόνα 1.6. Ο μύκητας διαχειμάζει στα νεκρά φυτικά υπολείμματα σαν σαπροφυτικό μυκήλιο ή με τη μορφή σκληρωτίων. Η προσβολή ξεκινά μέσω των κονιδίων που μολύνουν το φυτό από θέσεις πληγών ή από νεκρούς ιστούς. Στην ταχεία ανάπτυξη του μύκητα συμβάλλουν η υψηλή σχετική υγρασία και η χαμηλή θερμοκρασία. Ωστόσο, μπορεί να αναπτυχθεί σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών από 1 έως 30 °C, με άριστη θερμοκρασία τους 18 °C.

Όταν επικρατούν οι κατάλληλες συνθήκες σχετικής υγρασίας, το μυκήλιο του βοτρυτή αναπτύσσεται ταχύτατα και σχηματίζονται κονιδιοφόροι με κονίδια. Όταν η σχετική υγρασία είναι υψηλή, τα κονίδια βλαστάνουν και προκαλούν εκ νέου μολύνσεις, μέσω πληγών που υπάρχουν στο φυτό ή με διάτρηση της εφυμενίδας. Η διασπορά των κονιδίων γίνεται μέσω του ανέμου αλλά και μέσω των εργαλείων που χρησιμοποιούνται κατά τις καλλιεργητικές φροντίδες και τη συγκομιδή (Παναγόπουλος, 2007).



Εικόνα 1.6 Βιολογικός κύκλος του μύκητα *B. cinerea*.

1.7.3 Τρόποι αντιμετώπισης της ασθένειας

Για την χημική αντιμετώπιση της ασθένειας μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα παρακάτω σκευάσματα:

1. Μείγμα fludioxonil 25% w/w και cyprodinil 37,5% w/w.(Switch 25/37.5 WG): Το fludioxonil είναι μυκητοκτόνο επαφής και προκαλεί βλάβη των κυτταρικών μεμβρανών του παθογόνου, ενώ το cyprodinil είναι διασυστηματικό με προστατευτική και θεραπευτική δράση, παρεμποδίζοντας την έκκριση λυτικών ενζύμων του μύκητα.
2. Μείγμα 40.0 % w/v Pyrimethanil και 62.4 % w/w Βοηθητικές ουσίες (Scala 40 SC): Το pyrimethanil είναι διελασματικό μυκητοκτόνο επαφής και παρεμποδίζει την έκκριση υδρολυτικών ενζύμων του μύκητα. Συνιστώνται ψεκασμοί καλύψεως πριν την κύρια βλαστική ανάπτυξη με δόση 200 ml/ στρέμμα, δύο φορές ανά δύο εβδομάδες.
3. Μείγμα 26.7 % w/w Boscalid, 65.3 % w/w Βοηθητικές ουσίες, 6.7 % w/v Pyraclostrobin (Signum 26,7/6,7 WG): Το boscalid είναι διασυστηματικό μυκητοκτόνο, ενώ το pyraclostrobin είναι διελασματικό και βοηθά στην ομοιόμορφη κατανομή της δραστικής ουσίας στους ιστούς του φυτού. Συνιστώνται ψεκασμοί καλύψεως κατά την έντονη

ανάπτυξη του φυτού με δόση 60-75 g/ στρέμμα έως τρεις φορές ανά δέκα μέρες (BASF SE, 2023).

Όσον αφορά τη βιολογική αντιμετώπιση, τα βιολογικά σκευάσματα ανταγωνίζονται τον μύκητα στην φυλλόσφαιρα και αυτό συμβαίνει διότι παραλαμβάνει θρεπτικά συστατικά από εξωτερικές πληγές του φυτού. Ο ανταγωνισμός είναι αποτελεσματικός ως προς την παρεμπόδιση της ασθένειας, καθώς μειώνει τη σαπροφυτική ανάπτυξη, τη διασπορά των κονιδίων και επάγει τους μηχανισμούς άμυνας των φυτών (Elad and Steward, 2007). Το πρώτο εμπορικό βιολογικό σκεύασμα που χρησιμοποιήθηκε επιτυχώς είναι το Botry – Zen, το οποίο περιέχει τον σαπροφυτικό μύκητα *Ulocladium oudemansii* (Elmer et al., 2005). Ένα άλλο αποτελεσματικό βιολογικό σκεύασμα είναι το Trichodex, το οποίο περιέχει τον ανταγωνιστικό μύκητα *Trichoderma harzianum*. Οι ψεκασμοί γίνονται μόλις εμφανιστούν τα πρώτα συμπτώματα. Η αποτελεσματικότητα είναι μεγαλύτερη όταν εφαρμόζεται σε θερμοκήπια, λόγω των ελεγχόμενων περιβαλλοντικών συνθηκών. Ακόμα, χρησιμοποιούνται βακτήρια του γένους *Bacillus* και *Pseudomonas*, ζύμες όπως η *Candida oleophila* ή σκευάσματα *Serenade*, *Sonata* και η ουσία Laminarin (Kulakiotu et al., 2004). Ωστόσο, επισημαίνεται ότι τα βιολογικά σκευάσματα δεν διατηρούν την αποτελεσματικότητά τους πέρα από κάποια όρια θερμοκρασίας και υγρασίας, γι' αυτό πρέπει να συνδυάζονται με άλλους τρόπους αντιμετώπισης (Shtienberg, 2007).

1.8 Βιοδιεγέρτες

Η ανάγκη μείωσης των εισροών που ρυπαίνουν το περιβάλλον, σε συνδυασμό με τις επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής, οδήγησαν στην αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων που δύνανται να συμβάλλουν στην ενίσχυση της απόδοσης των καλλιεργούμενων φυτικών ειδών. Με δεδομένο ότι η παραγωγικότητα των καλλιεργειών πλήττεται σημαντικά λόγω βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων αλλά και της χρήσης υποβαθμισμένης ποιότητας νερού και θρεπτικών, τα τελευταία χρόνια δίνεται έμφαση στην αύξηση της αποδοτικότητας μέσω της χρήσης ποικίλων σκευασμάτων που δρουν συμπληρωματικά σε οργανικές ή ανόργανες ουσίες (Corsi et al., 2022). Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν οι βιοδιεγέρτες, οι οποίοι δε συνιστούν θρεπτικά συστατικά *per se* αλλά η πρόσληψή τους συμβάλλει στην ενίσχυση της ανάπτυξης των φυτών. Η εφαρμογή τους γίνεται είτε διαφυλλικά είτε από το έδαφος. Σύμφωνα με την άποψη ορισμένων επιστημόνων, η διάκριση των βιοδιεγερτών είναι ορθό να γίνεται με βάση τις μεταβολικές οδούς που επηρεάζουν, ωστόσο αναφέρεται ότι ο ίδιος

βιοδιεγέρτης είναι δυνατόν να επιφέρει διαφορετικές αποκρίσεις στα διαφορετικά φυτικά είδη (Calvo et al., 2014).

Ο όρος “βιοδιεγέρτης” αναφέρθηκε αρχικά το 1997 από το Κρατικό Πανεπιστήμιο της Βιρτζίνια. Σύμφωνα με τον αρχικό ορισμό, ως βιοδιεγέρτης ορίζεται κάθε υλικό που σε μικρές ποσότητες μπορεί να έχει επίδραση στην ανάπτυξη των φυτών. Έκτοτε, χρησιμοποιήθηκαν κι άλλοι ορισμοί όπως, ως βιοδιεγέρτες ορίζονται ουσίες, μικροοργανισμοί ή συνδυασμός των δύο, που εφαρμόζονται στα φυτά και προκαλούν αύξηση της αποδοτικότητας και της ποιότητας τους. Παράλληλα, στις επιδράσεις των βιοδιεγερτών περιλαμβάνεται και η βελτίωση της απόκρισης των φυτών σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις, χωρίς τη χρήση χημικών (du Jardin et al., 2015). Σύμφωνα με τον κανονισμό 2019/1009 της Ευρωπαϊκής Ένωσης, οι βιοδιεγέρτες ορίζονται ως εξής: " Ένας βιοδιεγέρτης φυτών είναι προϊόν λίπανσης που έχει ως λειτουργία να διεγείρει τις διαδικασίες θρέψης των φυτών, ανεξάρτητα από την περιεκτικότητα του προϊόντος σε θρεπτικά στοιχεία, με μοναδικό σκοπό τη βελτίωση ενός ή περισσότερων από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά του φυτού ή της ριζόσφαιρας του φυτού: i) βελτιωμένη αποτελεσματικότητα χρήσης θρεπτικών στοιχείων, ii) αντοχή έναντι αβιοτικών καταπονήσεων, iii) χαρακτηριστικά της ποιότητας, iv) διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων που συγκεντρώνονται στο έδαφος ή τη ριζόσφαιρα" (Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2019).

Οι βιοδιεγέρτες είναι ευεργετικοί για τα φυτά καθώς συμβάλλουν στην ενδυνάμωση, αύξηση και ανάπτυξή τους, συμβάλλοντας παράλληλα στη βελτίωση της εδαφικής δομής, κυρίως μέσω των επιδράσεων στη μικροβιακή δραστηριότητα. Η καλή εδαφική δομή βοηθά τα φυτά να προσλαμβάνουν και να αξιοποιούν μεγαλύτερη ποσότητα θρεπτικών. Με αυτόν τον τρόπο, αυξάνεται η αντοχή των φυτών στην καταπόνηση από βιοτικούς ή αβιοτικούς παράγοντες και, συγχρόνως, επιτυγχάνεται βελτίωση της απόδοσης και ποιότητας της παραγωγής (Du Jarbin, 2015).

1.8.1 Υλικά από τα οποία παράγονται βιοδιεγερτικές ουσίες

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία βιοδιεγερτικών προϊόντων μπορεί να είναι αυτούσια ή επεξεργασμένα ώστε να φτάσουν σε μία αξιοποιήσιμη μορφή. Τα πιο συνηθισμένα υλικά είναι τα φύκια, φυτικά ή ζωικά υπολείμματα, πετρώματα και οικιακά απορρίμματα. Τα φυτικά υπολείμματα μπορεί να προέρχονται από οποιοδήποτε φυτικό

τιμήμα. Ακόμα, υλικά μπορούν να αποτελέσουν και διάφοροι μικροοργανισμοί όπως μύκητες, βακτήρια και ριζοβακτήρια. Επιπρόσθετα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν χουμικά και φουλβικά οξέα που απομονώνονται από πετρώματα και από την αποσύνθεση φυτικής και ζωικής ύλης. Τέλος, άλλο ένα υλικό από το οποίο παράγονται βιοδιεγερτικά προϊόντα είναι τα προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και αμινοξέων, τα οποία παραλαμβάνονται από φυτικά και ζωικά απορρίμματα και υποπροϊόντα (du Jarbin, 2015).

1.8.2 Κατηγορίες βιοδιεγερτών

1. Χουμικά και φουλβικά οξέα: Πρόκειται για ουσίες που προέρχονται από την αποσύνθεση φυτικών, ζωικών και μικροβιακών υπολειμμάτων και αποτελούν το κύριο συστατικό της οργανικής ουσίας του εδάφους (du Jarbin, 2015). Υπάρχουν σε αφθονία στη γη και είναι ανανεώσιμες. Δεν αποσυντίθενται εύκολα εξαιτίας της πολυπλοκότητας της χημικής δομής τους και της ισχυρής αλληλεπίδρασης με ανόργανα συστατικά του εδάφους. Τα χουμικά και φουλβικά οξέα αποτελούνται από άνθρακα, οξυγόνο, άζωτο, θείο και υδρογόνο. Ο διαχωρισμός των χουμικών ουσιών γίνεται με κλασμάτωση, δηλαδή πραγματοποιείται διαχωρισμός με βάση τη διαλυτότητα των συστατικών που υπάρχουν στο χούμο. Ο χούμος επεξεργάζεται και δημιουργούνται τα χουμικά και φουλβικά οξέα. Οι διαφορές των δύο αυτών κατηγοριών αναφέρονται στον Πίνακα 1.1.

Πίνακας 1.1 Διαφορές χουμικών και φουλβικών οξέων.

ΧΟΥΜΙΚΑ ΟΞΕΑ	ΦΟΥΛΒΙΚΑ ΟΞΕΑ
Μεγαλύτερο μοριακό βάρος	Μικρότερο μοριακό βάρος
Μικρότερη συνολική οξύτητα	Μεγαλύτερη συνολική οξύτητα
Λιγότερες καρβοξυλικές ομάδες	Περισσότερες καρβοξυλικές ομάδες
Μικρότερη ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων	Μεγαλύτερη ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων
Χαμηλότερη περιεκτικότητα σε οξυγόνο	Υψηλότερη περιεκτικότητα σε οξυγόνο
Αποτελούνται από αρωματικούς δακτυλίου	Αποτελούνται από φαινολικά και βενζενοκαρβοξυλικά οξέα

Και οι δύο κατηγορίες οξέων συμβάλλουν στη διατήρηση της συνοχής και γονιμότητας του εδάφους, καθώς βελτιώνουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων, αυξάνουν

την ικανότητα ανταλλαγής ιόντων, μειώνουν την κατακράτηση νερού και την τοξικότητα του εδάφους από βαρέα μέταλλα. Μέσω των ανωτέρω θετικών επιδράσεων σχετικά με τη γονιμότητα του εδάφους, τα φυτά εμφανίζουν καλύτερη ανάπτυξη. Παράλληλα, δρουν στη φυσιολογία και το μεταβολισμό των φυτών, ενώ ορισμένες από τις δράσεις τους συνίστανται στο ότι βελτιώνουν τη θρέψη μέσω των ριζών, καθώς αλλάζουν τη μορφολογία τους, προκαλώντας διαφοροποίηση των πλευρικών ριζών και ριζικών τριχιδίων. Επίσης, επηρεάζουν την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν μεταφορείς θρεπτικών στοιχείων. Τέλος, συμβάλλουν στην ενίσχυση της ανθεκτικότητας των φυτών έναντι βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων (Du Jardin, 2015).

- 2. Εκχυλίσματα φυκιών:** τα φύκια είναι πολυκύτταρα και χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: τα πράσινα (Chlorophyta), τα κόκκινα (Rhodophyta) και τα καφέ (Phaeophyta) φύκια, τα οποία χρησιμοποιούνται στη γεωργία (Khan et al., 2009). Τα σημαντικότερα Phaeophyta είναι τα *Ascophyllum nodosum*, *Ecklonia maxima* και *Durvillea potatorum*. (Du Jardin, 2015). Οι νομοθεσίες σχετικά με τη συγκομιδή των φυκιών ποικίλλουν από χώρα σε χώρα. Η συγκομιδή μπορεί να γίνει είτε χειρωνακτικά, πρακτική η οποία συχνά προτιμάται καθώς επιφέρει μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων, είτε μηχανικά, που εξασφαλίζει βελτιωμένη ταχύτητα και απόδοση (Shekhar Sharma et al., 2014). Τα εκχυλίσματα φυκιών μπορούν να ληφθούν μέσω εκχύλισης με νερό ή οξέα, ρήξης κυττάρων υπό υψηλή πίεση. (Michalak et. al., 2016). Η διάθεσή τους στην αγορά γίνεται είτε σε υγρή είτε σε στερεή μορφή και η εφαρμογή τους γίνεται τόσο διαφυλλικά όσο και μέσω του νερού άρδευσης. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι διαφυλλικοί ψεκασμοί συνιστώνται να γίνονται το πρωί, καθώς τότε είναι ανοιχτά τα στομάτια των φύλλων των φυτών. Τα εκχυλίσματα φυκιών έχουν θετική επίδραση στα φυτά, καθώς περιέχουν οργανικές και ανόργανες ενώσεις, ρυθμιστές αύξησης, πολυφαινόλες, πολυσακχαρίτες, ιχνοστοιχεία, τερπενοειδή και στεροειδή που έχουν αντιμικροβιακή δράση. Επιπρόσθετα, περιέχουν βεταΐνες που προάγουν τη φωτοσύνθεση και καθυστερούν τη γήρανση (Krasensky και Jonak 2012). Όλες οι ανωτέρω ουσίες βοηθούν στην ανάπτυξη των φυτών, στη βελτίωση της ανθοφορίας και της καρπώδεσης, στην αύξηση της ποιότητας των προϊόντων και στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων. Ακόμα, επιδρούν θετικά στη δομή και στον αερισμό του εδάφους, συμβάλλοντας παράλληλα στη διατήρηση της υγρασίας του. Αυτό συμβαίνει αφενός μεν λόγω της αυξημένης δραστηριότητας των μικροοργανισμών και αφετέρου λόγω της βελτιωμένης ανάπτυξης

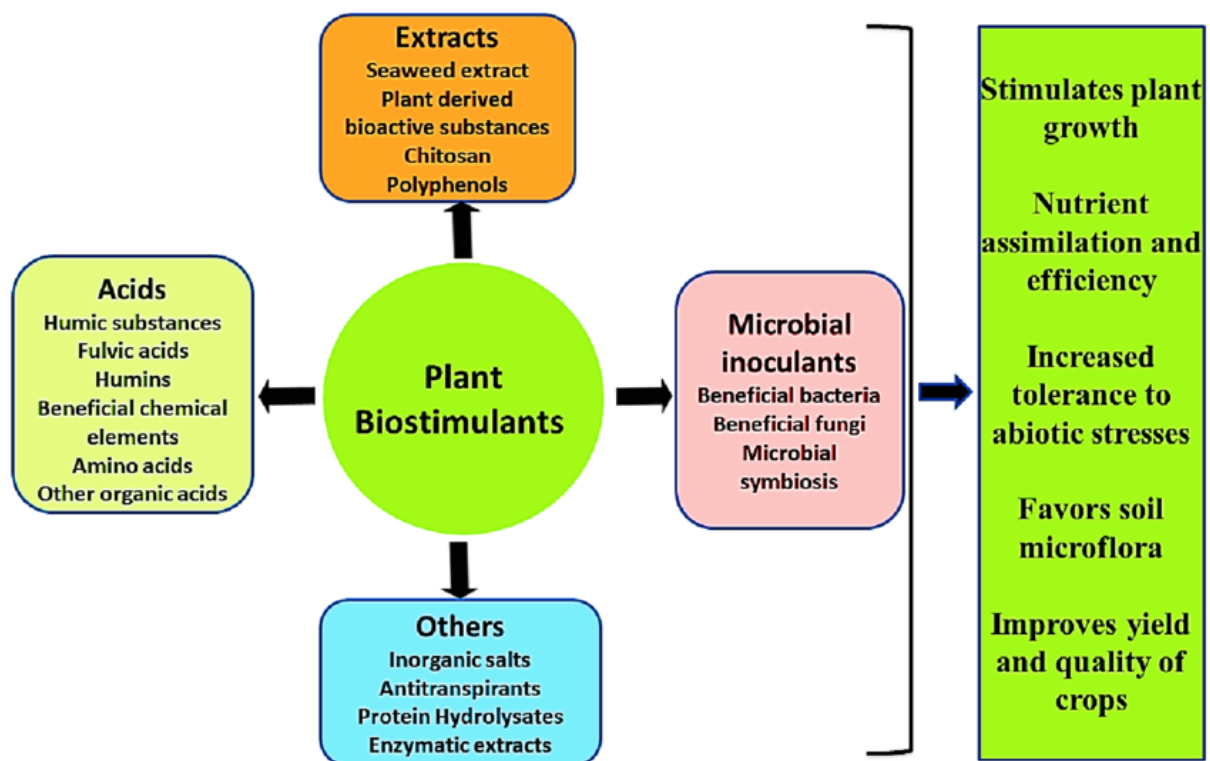
του ριζικού συστήματος, η οποία συμβάλλει στην ενίσχυση της πρόσληψης νερού και θρεπτικών συστατικών (Paradikovic et al., 2018).

3. Προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και αμινοξέα: για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκαν το 1969 σε φύλλα τομάτας και αραβόσιτου στην Ιταλία και αφορούσαν ένα προϊόν από επιθηλιακό ιστό ζώου. Διαπιστώθηκε ότι βελτιώνουν την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών και αυξάνουν την απόδοση των καλλιεργειών και, έκτοτε, η χρήση τους διαδόθηκε διεθνώς (Colla et al., 2014). Τα προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών είναι ολιγοπεπτίδια και πολυπεπτίδια που δημιουργούνται με μερική υδρόλυση υποπροϊόντων ζωικής ή φυτικής προέλευσης ή κομπόστ. Ορισμένα αμινοξέα έχει αποδειχθεί ότι δρουν ευεργετικά για τα φυτά καθώς επηρεάζουν τις μεταβολικές διεργασίες τους και παρέχουν προστασία από αβιοτικές καταπονήσεις. Για την παραλαβή των προϊόντων υδρόλυσης πρωτεϊνών και των αμινοξέων, διενεργείται ενζυματική, χημική ή θερμική υδρόλυση. Η εφαρμογή του σκευάσματος γίνεται είτε διαφυλλικά είτε με ριζοπότισμα. Η χρήση των βιοδιεγερτικών αυτών ουσιών έχει ευεργετικές ιδιότητες για τα φυτά καθώς επιτυγχάνεται βελτίωση της εδαφικής γονιμότητας, μέσω της αύξησης της δραστηριότητας των μικροβίων και της βελτιωμένης ανάπτυξης των ριζών. Ακόμα, η συνεισφορά τους οφείλεται στη ρύθμιση γονιδίων που σχετίζονται με την απορρόφηση ιχνοστοιχείων καθώς και μεταβολικών οδών που εμπλέκονται στις αμυντικές αποκρίσεις των φυτών. Βάσει των ανωτέρω, οι ουσίες αυτές συμβάλλουν στη βελτίωση της απόδοσης και ποιότητας της παραγωγής (Du Jardin, 2015).

4. Ωφέλιμοι μικροοργανισμοί: αφορούν σε μυκόρριζες, μύκητες, όπως το *Trichoderma* spp., ριζοβακτήρια που απαντώνται στο έδαφος, στο νερό, σε υποπροϊόντα φυτικής ή ζωικής προέλευσης (Ali et al., 2022). Εφόσον αφορούν σε ζωντανούς οργανισμούς, η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής τους εξαρτάται άμεσα από το είδος του φυτού αλλά και τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Calvo et al., 2014). Οι μύκητες και τα βακτήρια δρουν ευεργετικά για τα φυτά, μέσω της παραγωγής φυτορμονών και οργανικών οξέων, ενίσχυσης της εδαφικής γονιμότητας και βελτιωμένης μεταφοράς θρεπτικών ουσιών στην περιοχή των ριζών. Οι μύκητες που συμβιώνουν με φυτά σχηματίζουν μορφώματα που ονομάζονται μυκόρριζες και έχει διαπιστωθεί ότι βελτιώνουν την ικανότητα πρόσληψης θρεπτικών συστατικών, διατήρησης του υδατικού δυναμικού και προστασίας από βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις (Ma et al., 2022; Stratton et al., 2022). Ακόμα, βακτήρια όπως αυτά του γένους *Rhizobium*, που βρίσκονται στις ρίζες, βελτιώνουν την θρέψη και την ανάπτυξη των φυτών, παρέχοντας παράλληλα προστασία υπό συνθήκες βιοτικής ή αβιοτικής καταπόνησης (Du Jardin, 2015).

- 5. Χιτοζάνη και άλλα βιοπολυμερή:** Η χιτοζάνη είναι είναι μια μορφή αποακετυλιωμένης χιτίνης που παράγεται από αποκαρβοξυλίωση της χιτίνης είτε φυσικά είτε τεχνητά. Η χιτίνη και η χιτοζάνη ενεργοποιούν μηχανισμούς στα φυτά κατά τη διάρκεια βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων. Η εφαρμογή της χιτοζάνης στα φυτά αυξάνει τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα, ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται σε μηχανισμούς άμυνας έναντι ασθενειών και έχει εντομοκτόνες και αντικές ιδιότητες (Du Jardin, 2015).
- 6. Ανόργανες ενώσεις:** τα στοιχεία που βοηθούν στην ανάπτυξη των φυτών λέγονται θρεπτικά, τέτοια στοιχεία είναι τα αργίλιο, κοβάλτιο, νάτριο, σελήνιο και πυρίτιο, και συναντώνται σαν αδιάλυτες μορφές ή ανόργανα άλατα τόσο στο έδαφος όσο και στα φυτά.

Γενικά, οι βιοδιεγέρτες βοηθούν στην ανάπτυξη των φυτών, παρέχουν προστασία σε συνθήκες βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων, βελτιώνουν την ικανότητα απορρόφησης θρεπτικών συστατικών μέσω των ριζών, αυξάνουν την φωτοσυνθετική ικανότητα των φυτών και παρεμβαίνουν σε διάφορες διεργασίες τους (Du Jardin, 2015). Οι κατηγορίες ουσιών που μπορούν να αποτελέσουν βιοδιεγέρτες συνοψίζονται στην Εικόνα 1.7.



Εικόνα 1.7 Κατηγορίες ουσιών με βιοδιεγερτικές ουσίες για τα φυτά.

1.8.3 Τρόποι δράσης βιοδιεγερτών

Η χρήση βιοδιεγερτών στις καλλιέργειες επιδρά σε διάφορες διεργασίες, οι οποίες αφορούν κυρίως στα ακόλουθα:

1. **Πρόσληψη θρεπτικών συστατικών:** οι βιοδιεγέρτες που προέρχονται από προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών επεμβαίνουν στην απορρόφηση του αζώτου, καθιστώντας το περισσότερο διαθέσιμο για την καλλιέργεια. Ακόμα, η εφαρμογή στο έδαφος βιοδιεγερτών, που προέρχονται από χουμικά οξέα, ευνοεί την εισχώρηση των ριζών στο έδαφος, συμβάλλοντας σε βελτιωμένη ικανότητα απορρόφησης νερού και θρεπτικών συστατικών και μείωση της εδαφικής διάβρωσης. Τα χουμικά οξέα, σχηματίζουν ισχυρά σύμπλοκα με μόρια σιδήρου και ψευδαργύρου, ουσίες πολύ σημαντικές για τα φυτά. Τέλος, οι βιοδιεγέρτες που προέρχονται από χουμικά οξέα προκαλούν μείωση του pH στην περιοχή της ριζόσφαιρας, καθιστώντας τα ιχνοστοιχεία πιο υδατοδιαλυτά, λόγω της αυξημένης δραστηριότητας που προκαλούν στην πλασματική μεμβράνη των φυτών.
2. **Επίδραση στο έδαφος και δραστηριότητα των μικροβίων:** οι βιοδιεγέρτες που προέρχονται από προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και αμινοξέων οδηγούν σε αύξηση των οργανικών θρεπτικών συστατικών στο έδαφος, μέσω ενίσχυσης της μικροβιακής δραστηριότητας λόγω αποικοδόμησής τους. Οι βιοδιεγέρτες που προέρχονται από εκχυλίσματα φυκιών εμπλουτίζουν το έδαφος με μικροοργανισμούς και βελτιώνουν τη δομή του. Συγκεκριμένα, τα καφέ φύκη που χρησιμοποιούνται ευρέως στη γεωργία συμβάλλουν στη διατήρηση της υγρασίας και στη βελτίωση της εδαφικής δομής, λόγω ένωσης των αλγινικών και φουκοιδανών ιόντων τους με μεταλλικά ιόντα στο έδαφος. Επιπλέον, οι μικροοργανισμοί που περιέχουν, αποικίζουν τη ριζόσφαιρα και προσελκύουν πρόσθετους μικροοργανισμούς, του ίδιου ή διαφορετικού είδους. Επιπλέον, συνθέτουν φυτορμόνες, οι οποίες συμβάλλουν στη ρύθμιση των φυσιολογικών διεργασιών του φυτού καθώς και στην αποκατάσταση των υποβαθμισμένων ή μολυσμένων εδαφών.
3. **Συνεισφορά στις αμυντικές αποκρίσεις σε αβιοτική και βιοτική καταπόνηση:** οι βιοδιεγέρτες που περιέχουν χιτοζάνη, ουσία που δεσμεύει τα συστατικά των κυττάρων και διεγείρει τα γονίδια που ευθύνονται για την άμυνα, παρέχουν προστασία όχι μόνο στην

είσοδο παθογόνων στα φυτικά κύτταρα αλλά και σε συνθήκες έλλειψης νερού, αυξημένης αλατότητας ή δυσμενών συνθηκών ανάπτυξης. Παράλληλα, οι μυκόρριζες, που είναι συμβιωτικοί μύκητες, εμπλουτίζουν τα φυτά με θρεπτικά συστατικά κατά τη διάρκεια βιοτικών ή αβιοτικών καταπονήσεων. Οι βιοδιεγέρτες που προέρχονται από προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών προστατεύουν τα φυτά κατά τη διάρκεια δυσμενών συνθηκών ανάπτυξης μέσω της επαγωγής καίριων ενζύμων. Ακόμα, οι βιοδιεγέρτες που προέρχονται από εκχυλίσματα φυκιών αυξάνουν τη συγκέντρωση ουσιών, όπως η προλίνη, στα φυτά παρέχοντας προστασία κατά την επικράτηση αβιοτικών καταπονήσεων.

4. Επίδραση στην ανάπτυξη των ριζών: οι βιοδιεγέρτες που περιέχουν βακτήρια προκαλούν αύξηση της πυκνότητας των ριζών, λόγω των αυξινών που απελευθερώνουν. Οι βιοδιεγέρτες που προέρχονται από χουμικά οξέα προκαλούν επιμήκυνση των ριζών, η οποία οφείλεται είτε σε χαλάρωση των κυτταρικών τοιχωμάτων, λόγω της δράσης ενζύμων που επάγονται, είτε σε ενίσχυση της κυτταρικής διαίρεσης λόγω των αυξινών. Οι βιοδιεγέρτες που προέρχονται από εκχυλίσματα φυκιών περιέχουν ουσίες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, όπως αυξίνες ή κυτοκινίνες. Η καλύτερη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος είναι σημαντική καθώς βελτιώνεται η ικανότητα πρόσληψης θρεπτικών συστατικών και νερού, συμβάλλοντας θετικά στην ενίσχυση της παραγωγικότητας και της ποιότητας του προϊόντος.
5. Επίδραση στην απόδοση και στην ποιότητα των προϊόντων: όπως προαναφέρθηκε, οι βιοδιεγέρτες βοηθούν στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, επιδρώντας θετικά στην ικανότητα πρόσληψης θρεπτικών και νερού. Ακόμα, έχει διαπιστωθεί ότι βοηθούν στην βελτίωση της ποιότητας των προϊόντων (Du Jardin 2012).

1.8.4 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα που φέρει η χρήση βιοδιεγερτών

Η χρήση βιοδιεγερτών στις καλλιέργειες επιφέρει μία σειρά θετικών επιδράσεων που σχετίζονται με τα ακόλουθα:

1. Ενίσχυση της ανάπτυξης των φυτών: επιτυγχάνεται μέσω της βελτιωμένης πρόσληψης θρεπτικών συστατικών, της ενίσχυσης της ανάπτυξης των ριζών και της ρύθμισης των ορμονών. Η χρήση τους σχετίζεται με αύξηση της απόδοσης των φυτών, μέσω βελτίωσης της υγείας και ευρωστίας τους καθώς και της ικανότητας αντίστασης σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις.

2. Βελτίωση της αποτελεσματικότητας χρήσης θρεπτικών συστατικών: ενισχύουν την απορρόφηση και την αφομοίωση των θρεπτικών συστατικών εντός των φυτών, με αποτέλεσμα τη μείωση των απωλειών τους και τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας χρήσης τους, επιφέροντας τόσο οικονομικά όσο και περιβαλλοντικά οφέλη.
3. Αντοχή σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις: η χρήση τους συμβάλλει σε επαγωγή των αμυντικών μηχανισμών των φυτών, ενίσχυση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας και της ικανότητας αντίστασης σε αντίξοες συνθήκες.
4. Μείωση χρήσης χημικών φυτοφαρμάκων: οι βιοδιεγέρτες δρουν ευεργετικά για το φυτό, συμβαλοντας στη μείωση της εξάρτησης από λιπάσματα, φυτοφάρμακα και άλλα χημικά. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε εξοικονόμηση κόστους, μείωση της περιβαλλοντικής ρύπανσης και μείωση του κινδύνου υπολλειματικότητας στο έδαφος.
5. Χρήση στη βιολογική γεωργία: οι βιοδιεγέρτες προέρχονται από φυσικές πηγές, γεγονός που τα καθιστά κατάλληλα για τα συστήματα βιολογικής γεωργίας.
6. Βιωσιμότητα της παραγωγής: η βιωσιμότητα εξασφαλίζεται καθώς οι βιοδιεγέρτες βελτιώνουν την υγεία των φυτών, την αποδοτικότητα των θρεπτικών στοιχείων και την αντοχή σε βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες. Έτσι, διασφαλίζεται η υψηλή παραγωγή με μικρό περιβαλλοντικό αποτύπωμα (Du Jardin 2015).

Παρά την πληθώρα θετικών επιδράσεων που φέρει η χρήση βιοδιεγερτών, η εφαρμογή τους συνοδεύεται από ορισμένα μειονεκτήματα:

1. Έλλειψη κανονισμών τυποποίησης: περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα προϊόντων με διαφορετικές συνθέσεις, τρόπους δράσης και αποτελεσματικότητα. Υπάρχει έλλειψη τυποποιημένων κανονισμών, γεγονός που καθιστά δύσκολη την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητάς τους και τη σύγκριση διαφορετικών προϊόντων.
2. Περιορισμένη επιστημονική τεκμηρίωση: Παρά το αυξανόμενο ενδιαφέρον, εξακολουθεί να υπάρχει ανάγκη έρευνας και κατανόησης του τρόπου δράσης τους.
3. Ασταθής απόδοση: η αποτελεσματικότητα των βιοδιεγερτών ποικίλλει καθώς διαφέρει ανάλογα με το είδος του φυτού, το αναπτυξιακό στάδιο, τις συνθήκες του περιβάλλοντος και το έδαφος.
4. Αδυναμία πρόβλεψης αποτελεσμάτων: λόγω των πολύπλοκων σχέσεων των βιοδιεγερτών και των φυτών, τα αποτελέσματα που φέρει η εφαρμογή τους συχνά χαρακτηρίζεται από

ιδιαίτερα περιορισμένη επαναληψιμότητα. Παράγοντες όπως η δοσολογία, ο χρόνος και οι μέθοδοι εφαρμογής μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα.

5. Ποιότητα των προϊόντων: Η ποιότητα μπορεί να διαφέρει μεταξύ των κατασκευαστών. Ενδέχεται να υπάρχουν ζητήματα με την ποιότητα και την καθαρότητα των προϊόντων (Du Jardin 2015).

Σκοπός της μελέτης

Με δεδομένο ότι το μαρούλι αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα καλλιεργούμενα είδη, αντικείμενο της παρούσας διατριβής αποτέλεσε η μελέτη της επίδρασης διαφόρων τύπων βιοδιεγερτών σε δύο ποικιλίες μαρουλιού. Ειδικότερα, η επίδραση των βιοδιεγερτών εκτιμήθηκε αναφορικά με αναπτυξιακές και βιοχημικές παραμέτρους. Περαιτέρω, προκειμένου να διερευνηθεί η επίδρασή τους ως προς τις αμυντικές αποκρίσεις των φυτών, πραγματοποιήθηκε μόλυνση με τον μύκητα *Botrytis cinerea* και ακολούθησε συγκριτική αξιολόγηση της απόκρισης των μολυσμένων φυτών σε σχέση με μη-μολυσμένα φυτά. Στην παρούσα μελέτη, αξιολογήθηκαν συγκριτικά οι επιδράσεις ενός εύρους βιοδιεγερτών που διαφέρουν ως προς τη σύστασή τους. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες εφαρμογές: i) φυτά-μάρτυρες, που δε δέχθηκαν καμία μεταχείριση, ii) Signum, που αξιοποιήθηκε ως μάρτυρας κατά τις διαδικασίες αξιολόγησης της ανθεκτικότητας των φυτών έναντι του μύκητα *Botrytis cinerea*, iii) Max Kelp, iv) Antistress, v) Signum - Antistress, vi) Max Kelp - Antistress. Πέραν των επιδράσεων των βιοδιεγερτών σε αναπτυξιακό και βιοχημικό επίπεδο, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση της επίδρασής τους αναφορικά με την εξάπλωση της προσβολής και την περιεκτικότητα των φύλλων σε προλίνη.

2.Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Φυτικό Υλικό

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές εμπορικές ποικιλίες μαρουλιού. Η πρώτη ποικιλία ήταν η Green Towers, η οποία ανήκει στον τύπο Romana. Τα φυτά της ποικιλίας σχηματίζουν πυκνές κεφαλές, αποτελούμενες από πράσινα ίσια φύλλα με νευρώσεις που φτάνουν σε ύψος έως 20 cm. Η δεύτερη ποικιλία ήταν η Asturion, η οποία ανήκει στον τύπο Batavia. Τα φυτά της εν λόγω ποικιλίας σχηματίζουν πυκνές κεφαλές, αποτελούμενες από πράσινα κατσαρά φύλλα και φτάνουν σε ύψος έως 20 cm.

Τα φυτά αρχικά αναπτύχθηκαν σε σπορείο και, έπειτα από το φύτευμα, ακολούθησε μεταφύτευση των νεαρών σποροφύτων σε απολυμασμένες γλάστρες, οι οποίες περιείχαν μείγμα τύρφης- περλίτη σε αναλογία 3:1 (Εικόνα 2.1). Η διαδικασία αυτή έλαβε χώρα στις 24 Νοεμβρίου 2022. Από την μεταφύτευση και έπειτα, τα φυτά ποτίζονταν με 100 ml νερό ανά δύο ημέρες. Καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της πειραματικής διαδικασίας, τα φυτά παρέμειναν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών σε θερμοκρασία 25 °C και φωτοπερίοδο 16 ώρες φως / 8 ώρες σκοτάδι.



Εικόνα 2.1 Μεταφύτευση σποροφύτων σε γλάστρες.

2.2. Παρασκευή των μειγμάτων των βιοδιεγερτών

Στον Πίνακα 2.1 περιγράφονται τα μείγματα των βιοδιεγερτών που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη καθώς και η περιεκτικότητά τους.

Πίνακας 2.1: Παρασκευή μειγμάτων βιοδιεγερτών

Βιοδιεγέρτης	Περιεκτικότητα
Signum	0.0012 w/v
Max Kelp	0.001 w/v
Antistress	0.05 v/v
Max Kelp + Antistress	0.0007 w/v και 0.05 v/v
Signum + Antistress	0.0012 w/v και 0.05 v/v

Συγκεκριμένα, η παρασκευή των διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος πραγματοποιήθηκε ως ακολούθως :

- Signum: Προσθήκη 1,2 g προϊόντος και dH₂O έως τελικού όγκου 1 L διαλύματος.
- Max Kelp (μορφή πούδρας): Προσθήκη 1 g προϊόντος και dH₂O έως τελικού όγκου 1 L διαλύματος.
- Antistress (υγρή μορφή): Προσθήκη 50 μl προϊόντος και dH₂O έως τελικού όγκου 1 L διαλύματος.
- Max Kelp + Antistress: Προσθήκη 0,7 g Max Kelp και 50 μl Antistress και dH₂O έως τελικού όγκου 1 L διαλύματος.
- Signum + Antistress: Προσθήκη 1,2 g Signum και 50 μl Antistress και dH₂O έως τελικού όγκου 1 L διαλύματος.

2.3 Πειραματικό Σχέδιο - Εφαρμογές βιοδιεγερτών

Το πειραματικό σχέδιο ήταν πλήρως τυχαιοποιημένο. Περιλάμβανε τις δύο υπό μελετη ποικιλίες (Green Towers και Asturion) και 6 μεταχειρίσεις, που συνίστατο στις 5 εφαρμογές των βιοδιεγερτών καθώς και του μάρτυρα. Για κάθε συνδυασμό ποικιλίας και μεταχείρισης, πραγματοποιήθηκαν 8 επαναλήψεις, που αφορούν σε ατομικά φυτά. Συνεπώς, συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 96 φυτά. Η εφαρμογή όλων των βιοδιεγερτών έγινε διαφυλλικά.



Εικόνα 2.2 Διαφυλλικός ψεκασμός με βιοδιεγέρτες.

Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζεται συνοπτικά i) το χρονοδιάγραμμα εφαρμογής των βιοδιεγερτών, ii) το χρονοδιάγραμμα λήψης παρατηρήσεων κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας και iii) το χρονοδιάγραμμα λήψης ιστών για τις περαιτέρω εργαστηριακές μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν.

Πίνακας 2.2 Χρονοδιάγραμμα εφαρμογής βιοδιεγερτών, λήψης παρατηρήσεων και λήψης ιστών για επιμέρους εργαστηριακές αναλύσεις.

Ημερομηνία	Χρόνος εφαρμογής βιοδιεγερτών	Μέτρηση ύψους φυτών	Μέτρηση αριθμού φύλλων	Χρόνος λήψης ιστών
02/12/2022	1 ^{η*}			
05/12/2022	1 ^η			
08/12/2022		1 ^η	1 ^η	1 ^η
15/12/2022	2 ^η	2 ^η	2 ^η	2 ^η
21/01/2022		3 ^η	3 ^η	3 ^η
05/01/2022		4 ^η	4 ^η	4 ^η

* εκτός Signum

2.4 Αξιολόγηση της επίδρασης των βιοδιεγερτών σε αναπτυξιακές και βιοχημικές παραμέτρους των φυτών

Η αξιολόγηση της επίδρασης των υπό μελέτη βιοδιεγερτών στις δύο ποικιλίες μαρουλιού, βασίστηκε σε αναπτυξιακές παραμέτρους καθώς και σε επιμέρους βιοχημικές παραμέτρους,

οι οποίες θεωρείται ότι αποτελούν κατάλληλοι δείκτες για την αξιολόγηση της απόκρισης των φυτών στην εφαρμογή βιοδιεγερτών.

2.4.1 Αναπτυξιακές παράμετροι

Ως παράμετροι αξιολόγησης της επίδρασης των υπό μελέτη βιοδιεγερτών αξιοποιήθηκαν το ύψος των φυτών, ο αριθμός των φύλλων, το νωπό και ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών καθώς και η περιεχόμενη ποσότητα ξηράς ουσίας (%).

2.4.1.1 Ύψος φυτών – Αριθμός φύλλων

Κατά την παραμονή των φυτών στο θάλαμο ανάπτυξης, πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση του ύψους των φυτών και του αριθμού των φύλλων σε τέσσερις διαφορετικές χρονικές περιόδους. Οι ημερομηνίες λήψης μετρήσεων στο θάλαμο ανάπτυξης παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.2.

2.4.1.2 Νωπό και ξηρό βάρος φυτών

Με το πέρας των εφαρμογών των βιοδιεγερτών, και μετά την πάροδο 2 μηνών, από την τελευταία εφαρμογή πραγματοποιήθηκε κοπή του υπέργειου τμήματος του φυτού στο σημείο του λαιμού. Ακολούθησε τοποθέτηση του υπέργειου τμήματος σε καταλλήλως αριθμημένες χάρτινες σακούλες και ζύγισμα σε ζυγό ακριβείας για τον προσδιορισμό του νωπού βάρους. Εν συνεχεία, τα φυτά τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο, σε θερμοκρασία 70 °C όπου και παρέμειναν για χρονικό διάστημα 48 ωρών. Με την πάροδο της περιόδου επώασης, ακολούθησε εκ νέου ζύγιση σε ζυγό ακριβείας για την καταγραφή του ξηρού βάρους των φυτών και προσδιορίστηκε το επί τοις % ξηρό βάρος τους.

2.4.2 Βιοχημικές παράμετροι αξιολόγησης

Για την αξιολόγηση της τυχόν θετικής επίδρασης των βιοδιεγερτών στα φυτά των δύο ποικιλιών μαρουλιού προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη a, χλωροφύλλη b, ολική χλωροφύλλη και καροτενοειδή.

2.4.2.1 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη a, χλωροφύλλη b και καροτενοειδή

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη a και χλωροφύλλη b, έγινε σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφεται από τους Winternans and Mots (1965). Αρχικά, λήφθηκε ιστός υγιών φύλλων από τρία διαφορετικά φυτά. Ο ιστός ζυγίσθηκε σε ζυγό ακριβείας και τοποθετήθηκε εντός δοκιμαστικών σωλήνων, οι οποίοι περιείχαν 15 mL αιθανόλης 98 %. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία 80 °C εντός υδατόλουτρου, όπου και παρέμειναν μέχρις αποχρωματισμού των φυτικών ιστών. Ακολούθησε τοποθέτηση αυτών στο σκοτάδι για 30 λεπτά.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε μέτρηση της απορρόφησης του φυτικού εκχυλίσματος στο φασματοφωτόμετρο σε 3 μήκη κύματος: i) 665 nm, όπου είναι το μέγιστο της απορρόφησης για τη χλωροφύλλη a, ii) 649 nm, που αποτελεί το μέγιστο της απορρόφησης για τη χλωροφύλλη b και iii) 470 nm ,για τον προσδιορισμό των καροτενοειδών. Τα αποτελέσματα καταγραφήκαν και ακολούθησε υπολογισμός της περιεκτικότητας των ιστών στις επιμέρους χρωστικές, σύμφωνα με τους τύπους που αναφέρονται στη σχετική μελέτη του Lichtenthaler (1987).



Εικόνα 2.3 Φυτικά εκχυλίσματα για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη a, χλωροφύλλη b και καροτενοειδή.

2.5 Αξιολόγηση της επίδρασης των βιοδιεγερτών στην προσβολή από τον παθογόνο μύκητα *Botrytis cinerea*

2.5.1 Απομόνωση του μύκητα

Η απομόνωση του μύκητα *B. cinerea* που χρησιμοποιήθηκε για τις τεχνητές μολύνσεις προήλθε από φυτά μαρουλιού τα οποία έφεραν εμφανή συμπτώματα της ασθένειας στη

βάση του στελέχους τους. Η καλλιέργεια της παραπάνω απομόνωσης διατηρήθηκε σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

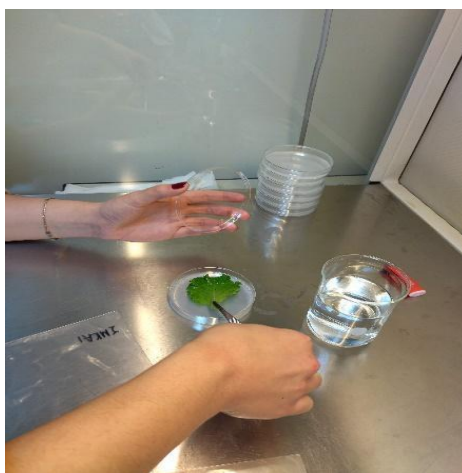
2.5.2 Παρασκευή υποστρώματος Potato Dextrose Agar (PDA)

Για την παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος PDA χρησιμοποιήθηκε ξεφλουδισμένη και τεμαχισμένη πατάτα βάρους 200 g, η οποία τοποθετήθηκε σε δοχείο ζέσεως που περιείχε 500 mL dH₂O. Ακολούθησε βρασμός για 35 – 40 min και μεταφορά της υγρής φάσης σε κωνική φιάλη, όπου και έγινε πλήρωση του όγκου έως τα 1000 mL. Στην υγρή φάση προστέθηκαν 15 g άγαρ και 15 g σουκρόζη και το μείγμα που δημιουργήθηκε τοποθετήθηκε και πάλι σε ηλεκτρική εστία ώσπου να γίνει διαυγές. Το θρεπτικό υλικό μετά την παρασκευή αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο στους 121 °C για 15 min.

2.5.3 Δοκιμές ανάπτυξης μυκηλίου

Τριβλία με θρεπτικό υπόστρωμα PDA εμβολιάστηκαν με την απομόνωση του μύκητα και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ανάπτυξης στους 25 °C για 3 ημέρες. Παράλληλα, φύλλα μέσης ηλικίας αποκόπηκαν από τα φυτά. Ακολούθησε απολύμανση των φύλλων με εμβάπτισή τους σε αιθυλική αλκοόλη για 5 sec, υποχλωριώδες νάτριο 0,5 % (NaClO) για 2 min και αποστειρωμένο dH₂O για 5 min. Έπειτα από την επιφανειακή απολύμανση, τα φύλλα αφέθηκαν για να στεγνώσουν σε αποστειρωμένο διηθητικό χαρτί και ακολούθησε τοποθέτησή τους σε τριβλία που περιείχαν θρεπτικό υπόστρωμα PDA. Η τοποθέτησή τους έγινε με τρόπο ώστε η κάτω επιφάνεια των φύλλων να βρίσκεται σε επαφή με το υπόστρωμα. Μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5 mm αφαιρούνταν με φελοτρυπητή από την περιφέρεια των καλλιεργειών του παθογόνου και τοποθετούνταν στην επάνω επιφάνεια των φύλλων κοντά στο κεντρικό νεύρο. Τα τριβλία σφραγίσθηκαν με parafilm και μεταφέρθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών σε θερμοκρασία 25 °C και φωτοπερίοδο 16 ώρες φως / 8 ώρες σκοτάδι.

Την τρίτη ημέρα μετά την τεχνητή μόλυνση των φύλλων, πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση της διαμέτρου της καλλιέργειας του μύκητα. Για κάθε συνδυασμό ποικιλίας μεταχείρισης, πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις. Προς αποφυγή μολύνσεων, όλη η διαδικασία πραγματοποιήθηκε σε τράπεζα νηματικής ροής υπό ασηπτικές συνθήκες.



Εικόνα 2.4 Μόλυνση φύλλων μαρουλιού με μυκηλιακό δίσκο.

2.5.4 Δοκιμές βλάστησης σπορίων

Τριβλία με θρεπτικό υπόστρωμα PDA εμβολιάσθηκαν με την απομόνωση του μύκητα και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ανάπτυξης στους 25 °C για 5 ημέρες. Όγκος 10 mL αποστειρωμένου dH₂O προστίθεντο σε κάθε τριβλίο της καλλιέργειας του μύκητα. Με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου τα σπόρια απελευθερώνονταν από τις κονιδιοφόρους και βρίσκονταν πλέον εντός του νερού. Το αιώρημα συλλέγονταν σε ογκομετρική φιάλη 50 mL αφού διαπερνούσε αποστειρωμένη μουσελίνα για την κατακράτηση των τμημάτων του μυκηλίου. Οι ογκομετρικές φιάλες πωματίζονταν με αποστειρωμένο βαμβάκι και μεταφέρονταν σε τράπεζα ανακίνησης όπου και παρέμεναν για χρονικό διάστημα 24 ωρών. Η όλη διεργασία έγινε σε τράπεζα νηματικής ροής υπό ασηπτικές συνθήκες.

Μετά την πάροδο των 24 ωρών, ακολούθησε μέτρηση της συγκέντρωσης των σπορίων με τη χρήση αιματοκυτταρόμετρου, η οποία και προσδιορίστηκε σε 30.000 σπόρια ανά mL. Η τεχνητή μόλυνση των φυτών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια πιπέτας. Σε τρία υγιή φύλλα κάθε φυτού τοποθετούνταν από 20 μL του αιωρήματος σπορίων σε δύο διαφορετικές θέσεις. Την τρίτη μέρα μετά την μόλυνση (21 Δεκεμβρίου 2022) πραγματοποιήθηκε συλλογή ιστού για προσδιορισμό της περιεκτικότητας των ιστών σε προλίνη. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε φαινοτυπική αξιολόγηση των φυτών που μολύνθηκαν τεχνητά με αιώρημα σπορίων, συγκριτικά με μη-μολυσμένα φυτά (μάρτυρες), και καταγραφή των συμπτωμάτων της ασθένειας.



Εικόνα 2.5 Απεικόνιση φυτών αμέσως μετά την τεχνητή μόλυνση με αιώρημα σπορίων.

2.5.5. Προσδιορισμός περιεκτικότητας προλίνης

Για τον προσδιορισμό της προλίνης εκτελέστηκε η διαδικασία των Carillo and Gibon (2011).

2.5.5.1 Δείγματα φυτικού ιστού

Την τρίτη ημέρα μετά την μόλυνση των φυτών με αιώρημα σπορίων από κάθε μεταχείριση και ποικιλία λήφθηκε φυτικός ιστός σε τρεις επαναλήψεις. Τα φυτικά δείγματα ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας και έπειτα διατηρήθηκαν σε βαθιά κατάψυξη -80°C μέχρι την ημερομηνία πραγματοποίησης των μετρήσεων για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των ιστών σε προλίνη.

2.5.5.2 Εκχύλιση φυτικού ιστού

Αρχικά, στα φιαλίδια τύπου Falcon που χρησιμοποιήθηκαν στη διαδικασία έγινε αναγραφή της ποικιλίας, της μεταχείρισης και του αριθμού της επανάληψης. Εν συνεχεία, οι φυτικοί ιστοί λειοτριβήθηκαν σε γουδί με 4 mL διαλύματος αιθυλικής αλκοόλης 70 %, που συμπληρώνονταν σε 2 δόσεις των 2 mL έκαστη, και τοποθετήθηκαν στα φιαλίδια τύπου Falcon. Τέλος, πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση για δέκα λεπτά στις 4000 στροφές.

2.5.5.3 Δείγματα για μέτρηση απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο

Για τη μέτρηση της απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο, αρχικά πραγματοποιήθηκε παρασκευή διαλύματος νινυδρίνης 0,5 w/v. Για το σκοπό αυτό, σε ογκομετρικό κύλινδρο με 60 ml οξικού οξέος προστέθηκαν 0,5 g νινυδρίνης, και αφού έγινε διάλυσή της, προστέθηκε αιθανόλη 98 % έως τελικού όγκου 100 mL.

Στη συνέχεια, σε δοκιμαστικούς σωλήνες, όπου αναγράφονταν οι ποικιλίες, οι μεταχειρίσεις και ο αριθμός της επανάληψης, προστέθηκαν 2 mL διαλύματος νινυδρίνης και 1 mL από το υπερκείμενο του φυτικού εκχυλίσματος. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες, αφού πωματίστηκαν και ανακινήθηκαν σε Vortex, τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 95 °C για 25 λεπτά. Ακολούθησε τοποθέτησή τους σε παγόλουτρο και μέτρηση της απορρόφησης σε φασματοφωτόμετρο, σε μήκος κύματος 520 nm.

2.5.5.4 Κατασκευή καμπύλης αναφοράς

Απαραίτητη για την μέτρηση της απορρόφησης είναι η καμπύλη αναφοράς, η οποία παρασκευάστηκε με διάλυση 115,13 mg L-proline σε διάλυμα αιθανόλης 70 % σε dH₂O με τελικό όγκο 100 mL. Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες επιπλέον διαλύματα προλίνης, όπως αναγράφονται στον Πίνακα 2.3. Δεδομένα για παρασκευή διαλυμάτων προλίνης που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς.

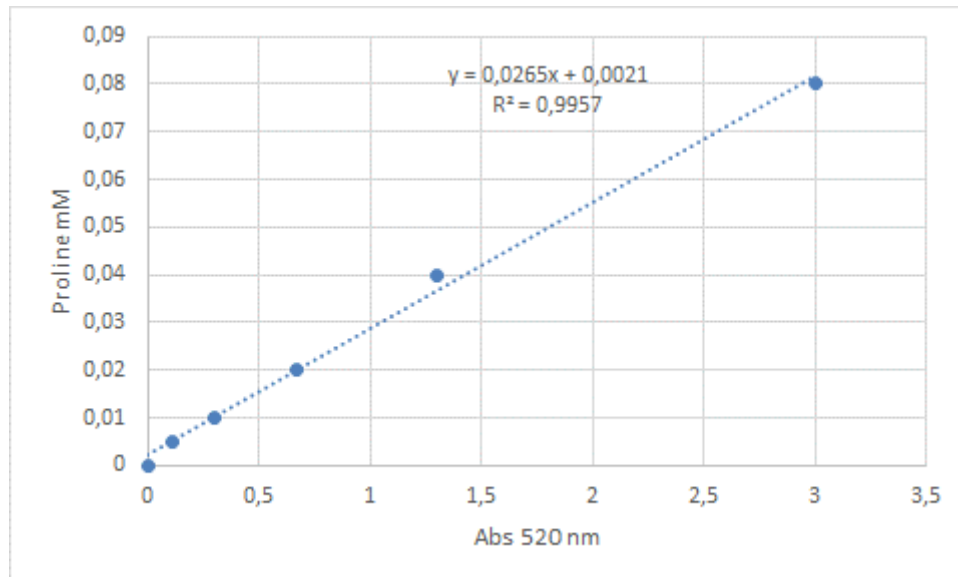
Πίνακας 2.3

Όγκος (mL) από το αρχικό διάλυμα προλίνης	Όγκος (mL) διαλύματος αιθανόλης 70%	Τελική συγκέντρωση προλίνης (mM)
0	10	0
0,25	9,75	0,025
0,50	9,50	0,05
1	9	0,1
2	8	0,2
4	6	0,4
8	2	0,8

Τα διαλύματα προλίνης, τα οποία μετρήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 520 nm και χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα, παρασκευάστηκαν τοποθετώντας σε δοκιμαστικούς σωλήνες 0,2 mL διαλύματος προλίνης, 0,8 mL διαλύματος αιθανόλης 40 % και 2 mL διαλύματος νινυδρίνης. Τα πρότυπα διαλύματα είχαν συγκέντρωση 0 - 0,005 - 0,01 - 0,02 - 0,04 - 0,08 - 0,16 mM και, αφού πωματίστηκαν και ανακινήθηκαν σε Vortex, μετρήθηκαν

στο φασματοφωτόμετρο (Πίνακας 2.3). Από τα αποτελέσματα της μέτρησης, προέκυψε η πρότυπη καμπύλη του Διαγράμματος 2.1.

Η μετατροπή της απορρόφησης με προλίνη έγινε με την πρότυπη καμπύλη σύμφωνα με τη συνάρτηση $Y = 0,0154X + 0,0016$. Οι τιμές της προλίνης αντιστοιχούν σε mM.



Διάγραμμα 2.1 Καμπύλη αναφοράς για τη μετατροπή της απορρόφησης στα 520 nm σε mM προλίνης.

3. Αποτελέσματα

3.1 Επίδραση των βιοδιεγερτών στον αριθμό των φύλλων

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων σχετικά με τον αριθμό των φύλλων σε 4 διαφορετικά χρονικά διαστήματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.1. Η πρώτη μέτρηση έγινε στις 08/12/2022, δηλαδή 7 ημέρες μετά την πρώτη εφαρμογή. Η δεύτερη μέτρηση έγινε την ημέρα της δεύτερης εφαρμογής, στις 15/12/2022. Η τρίτη και η τέταρτη μέτρηση πραγματοποιήθηκαν 7 ημέρες μετά τον δεύτερο ψεκασμό, στις 21/12/2022, και 20 ημέρες μετά τον δεύτερο ψεκασμό, στις 05/01/2023, αντίστοιχα.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανάλυσης, την πρώτη ημέρα των μετρήσεων, πριν την εφαρμογή των βιοδιεγερτών (8/12/2022), παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των ποικιλιών, με την ποικιλία Asturion να αναπτύσσει μεγαλύτερο αριθμό φύλλων από την ποικιλία Green Towers. Σε επίπεδο μεταχειρίσεων, για την ποικιλία Asturion διαπιστώθηκε υπεροχή των φυτών του μάρτυρα και της εφαρμογής Signum - Antistress, ενώ για την ποικιλία Green Towers δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 3.1.

Στις 15/12/2022, παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των ποικιλιών, με την ποικιλία Asturion να αναπτύσσει μεγαλύτερο αριθμό φύλλων από την ποικιλία Green Towers. Σε επίπεδο μεταχειρίσεων, για την ποικιλία Green Towers δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές, ενώ για την ποικιλία Asturion σημειώθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων Signum - Antistress και Max Kelp. Συνεπώς, το μείγμα Max Kelp στην ποικιλία Asturion αποδείχθηκε το λιγότερο αποτελεσματικό σε σχέση με τα υπόλοιπα σκευάσματα. Σύμφωνα με τις μέσες τιμές των μεταχειρίσεων, υπήρξε σημαντική διαφορά μεταξύ των Signum – Antistress και Max Kelp, καθώς και των Max Kelp – Antistress με το σκεύασμα Max Kelp, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι μικτές εφαρμογές με το σκεύασμα Antistress επιδρούν θετικά στον αριθμό των φύλλων. Το αποτελεσματικότερο δε σκεύασμα στην ανωτέρω ημερομηνία ήταν το μείγμα Signum – Antistress. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 3.2.

Κατά την τρίτη μέτρηση του αριθμού των φύλλων (21/12/2022) δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των ποικιλιών, αλλά και μεταξύ των μεταχειρίσεων και για τις δύο ποικιλίες. Ο μέσος όρος των μεταχειρίσεων Antistress και Max Kelp - Antistress διέφεραν σημαντικά από τη μεταχείριση Max Kelp, υποδεικνύοντας ότι οι εφαρμογές των

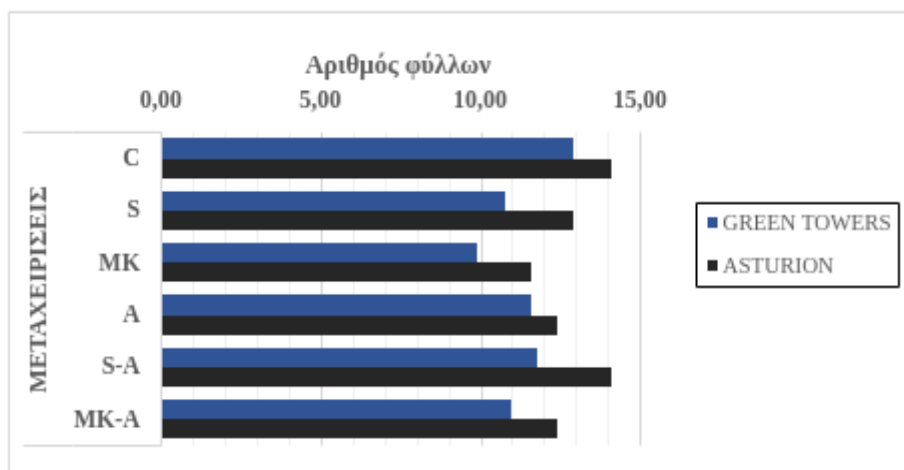
Antistress και Max Kelp - Antistress εμφανίζουν μια υπεροχή ως προς τον αριθμό των φύλλων έναντι των υπολοίπων. Τα αποτελέσματα για την ανωτέρω ημερομηνία συνοψίζονται στο Γράφημα 3.3. Την τελευταία ημερομηνία καταγραφής του αριθμού των φύλλων (05/01/2023) δεν παρατηρήθηκαν διαφορές τόσο μεταξύ των ποικιλιών όσο και μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ομοίως, οι μέσες τιμές των μεταχειρίσεων και για τις δύο ποικιλίες δεν εμφάνισαν σημαντική διαφορά. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 3.4.

Από το σύνολο των παρατηρήσεων προκύπτει η ευνοϊκή επίδραση των βιοδιεγερτών στον αριθμό των φύλλων και για τις δυο ποικιλίες, η οποία υπήρξε εμφανής 7 ημέρες έπειτα από την δεύτερη εφαρμογή των βιοδιεγερτών. Η επίδραση αυτή είναι σαφής αφού τα φυτά του μάρτυρα κατά την έναρξη των εφαρμογών είχαν το μεγαλύτερο αριθμό φύλλων, ενώ στη συνέχεια εμφάνισαν σαφώς μειωμένο αριθμό φύλλων συγκριτικά με τα φυτά που δέχθηκαν την εφαρμογή βιοδιεγερτών. Μοναδική εξαίρεση στη παρατηρούμενη θετική επίδραση των βιοδιεγερτών αποτέλεσε το σκεύασμα Max Kelp, το οποίο υπερτερεί από τον μάρτυρα μόνο κατά την τελευταία μέτρηση. Μεταξύ των σκευασμάτων, ως πλέον αποτελεσματικό σχετικά με τον αριθμό φύλλων αναδείχθηκε το Antistress, τόσο στην απλή εφαρμογή όσο και στις μικτές εφαρμογές με τα σκευάσματα Signum και Max Kelp.

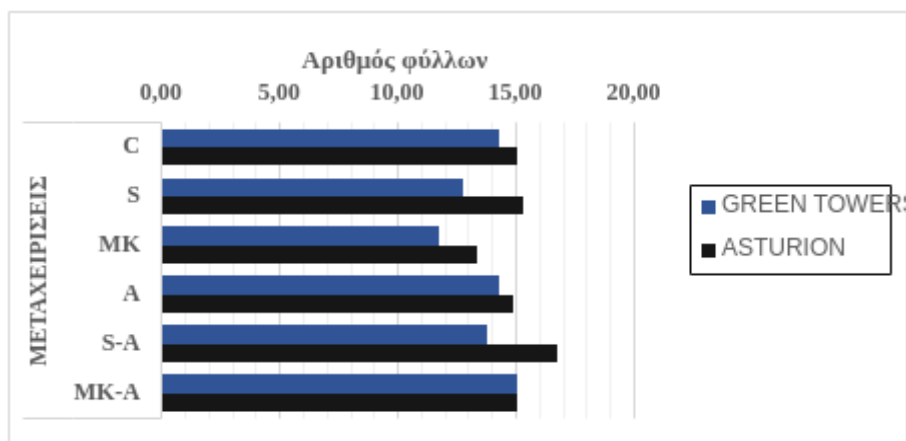
Πίνακας 3.1 Προσδιορισμός αριθμού φύλλων ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

Η Μ Ε Ρ Α 0 8 / 1 2 / 2 0 2 2	ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ		Μ.Ο. (Μ)
		Green Towers	Asturion	
	Μάρτυρας	12,9a	14,1a	13,5a
	Signum	10,8a	12,9ab	11,8ab
	Max Kelp	9,9a	11,6b	10,8b
	Antistress	11,6a	12,4ab	12ab
	Signum - Antistress	11,8a	14,1a	12,9a
	Max Kelp - Antistress	11,0a	12,4ab	11,7ab
	Μ.Ο. (Π)	11,3b	12,9a	

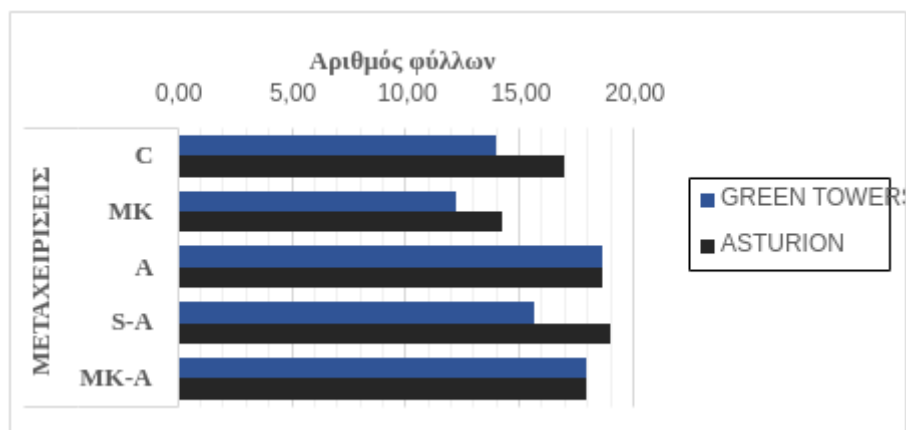
1 5 / 1 2 / 2 0 2 2 2	Μάρτυρας	14,3a	15,1ab	14,7ab
	Signum	12,8a	15,3ab	14ab
	Max Kelp	11,8a	13,4b	12,6b
	Antistress	14,3a	14,9ab	14,6ab
	Signum - Antistress	13,8a	16,8a	15,3a
	Max Kelp - Antistress	15,1a	15,1ab	15,1a
	M.O. (II)	13,7b	15,1a	
2 1 / 1 2 / 2 0 2 2 2	Μάρτυρας	14,0a	17,0a	15,5ab
	Signum	-	-	-
	Max Kelp	12,3a	14,3a	13,3b
	Antistress	18,7a	18,7a	18,7a
	Signum - Antistress	15,7a	19,0a	17,3ab
	Max Kelp - Antistress	18,0a	18,0a	18,0a
	M.O. (II)	15,7a	17,4a	
0 5 / 0 1 / 2 0 2 3	Μάρτυρας	19,0a	19,7a	19,3a
	Signum	17,3a	23,7a	20,5a
	Max Kelp	17,7a	21,3a	19,5a
	Antistress	24,0a	23,0a	23,5a
	Signum - Antistress	20,0a	25,3a	22,7a
	Max Kelp - Antistress	18,0a	21,7a	19,8a
	M.O. (II)	19,3a	22,4a	



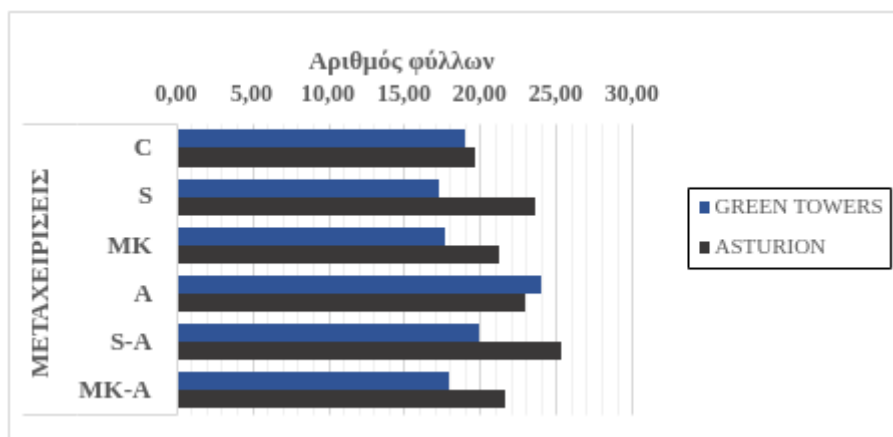
Γράφημα 3.1 Αριθμός φύλλων ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 08/12/2022.



Γράφημα 3.2 Αριθμός φύλλων ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 15/12/2022.



Γράφημα 3.3 Αριθμός φύλλων ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 21/12/2022.



Γράφημα 3.4 Αριθμός φύλλων ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 05/01/2023.

3.2 Επίδραση των βιοδιεγερτών στο ύψος των φυτών

Τα αποτελέσματα σχετικά με το ύψος των φυτών σε 4 διαφορετικά χρονικά διαστήματα εμφανίζεται στον Πίνακα 2.2. Η πρώτη μέτρηση έγινε στις 08/12/2022, δηλαδή 7 ημέρες μετά τον πρώτο ψεκασμό. Η δεύτερη μέτρηση έγινε την ημέρα του δεύτερου ψεκασμού στις 15/12/2022, η τρίτη 7 ημέρες μετά τον δεύτερο ψεκασμό στις 21/12/2022 και η τέταρτη 20 ημέρες μετά τον δεύτερο ψεκασμό στις 05/01/2023.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανάλυσης, στις 08/12/2022 δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά ως προς το ύψος φυτών. Σχετικά με την ποικιλία Green Towers, μεγαλύτερο ύψος φυτών καταγράφηκε στα φυτά που επρόκειτο να δεχθούν τα σκευάσματα Antistress, Signum – Antistress και Max Kelp - Antistress ενώ για την ποικιλία Asturion όλα τα φυτά εμφάνισαν παρόμοιο ύψος. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 3.5.

Στις 15/12/2022 παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά σε επίπεδο ποικιλιών, με την ποικιλία Green Towers να εμφανίζει μεγαλύτερο ύψος από την ποικιλία Asturion, ενώ μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές. Εντός των ποικιλιών, υπεροχή εμφάνισαν τα φυτά της ποικιλίας Green Towers που δέχθηκαν το σκεύασμα Signum – Antistress, ενώ στην ποικιλία Asturion μεγαλύτερο ύψος φυτών καταγράφηκε στα φυτά που εφαρμόσθηκε το σκεύασμα Signum. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 3.6.

Στις 21/12/2022, παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο ποικιλιών, με την ποικιλία Green Towers να έχει μεγαλύτερη αύξηση του ύψους συγκριτικά με την ποικιλία Asturion. Σε ότι αφορά τις μεταχειρίσεις, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά. Στην ποικιλία Green Towers, μεγαλύτερο ύψος φυτών καταγράφηκε στα φυτά που δέχθηκαν το σκεύασμα Signum – Anistress, ενώ στην ποικιλία Asturion μεγαλύτερο ύψος φυτών

καταγράφηκε στα φυτά που εφαρμόστηκε το σκεύασμα Max Kelp - Antistress Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 3.7.

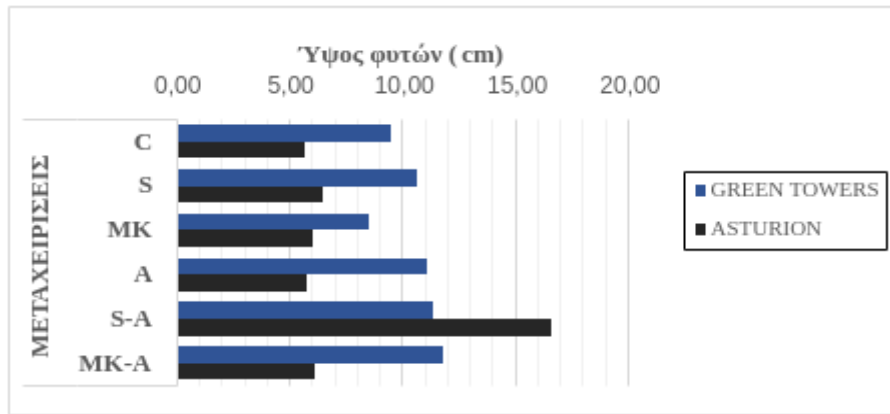
Κατά την τέταρτη μέτρηση (05/01/2023), παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά σε επίπεδο ποικιλιών, με την Green Towers να εμφανίζει μεγαλύτερο ύψος σε σχέση με την ποικιλία Asturion. Σε επίπεδο μεταχειρίσεων, για την ποικιλία Green Towers προκύπτει υπεροχή της μεταχείρισης Signum, η οποία διαφέρει στατιστικώς σημαντικά από τις μεταχειρίσεις Max Kelp και Max Kelp - Antistress. Για την ποικιλία Asturion, τα αποτελέσματα ανέδειξαν την απουσία σημαντικών διαφορών ως προς τις μεταχειρίσεις, ωστόσο μεγαλύτερο ύψος καταγράφηκε στα φυτά της μεταχείρισης Signum – Antistress. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 3.8.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν την ευνοϊκή επίδραση της εφαρμογής βιοδιεγερτών, η οποία είναι εμφανής την 7^η ημέρα από την δεύτερη εφαρμογή και καθίσταται ιδιαίτερα έκδηλη κατά την 14^η ημέρα από την δεύτερη εφαρμογή. Μοναδική εξαίρεση στην τάση αυτή αφορά στην εφαρμογή με το σκεύασμα Max Kelp. Σχετικά με την επίδραση των βιοδιεγερτών στις διαφορετικές ποικιλίες, η ποικιλία Green Towers έδειξε μεγαλύτερη απόκριση στην αύξηση του ύψους των φυτών, συγκρινόμενη με την ποικιλία Asturion. Μάλιστα, η υπεροχή αυτή αφορούσε στο σύνολο των μεταχειρίσεων, με εξαίρεση και πάλι το Max Kelp.

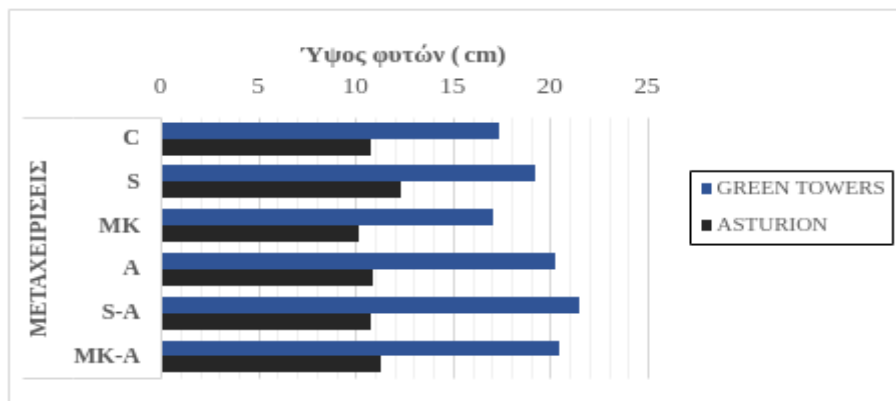
Πίνακας 3.2 Προσδιορισμός του ύψους των φυτών ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

Η Μ Ε Ρ Α	ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ		Μ.Ο. (Μ)
		Green Towers	Asturion	
0 8 / 1 2	Μάρτυρας	9,5a	5,7a	7,6a
	Signum	10,6a	6,5a	8,6a
	Max Kelp	8,6a	6,1a	7,3a
	Antistress	11,1a	5,7a	8,4a
	Signum - Antistress	11,4a	6,6a	9,0a
	Max Kelp - Antistress	11,9a	6,2a	9,0a
	Μ.Ο. (Π)	10,5a	7,8a	

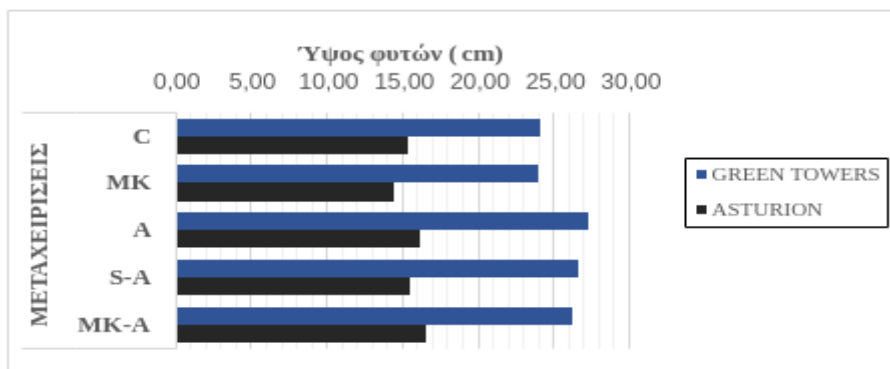
1 2 0 2 2				
1 5 / 1 2 / 2 0 2 2	Μάρτυρας	17,4a	10,9a	14,1a
	Signum	19,2a	12,4a	15,8a
	Max Kelp	17,1a	10,2a	13,6a
	Antistress	20,3a	10,9a	15,6a
	Signum - Antistress	21,5a	10,8a	16,2a
	Max Kelp - Antistress	20,4a	11,4a	15,9a
	M.O. (II)	19,3a	11,1b	
2 1 / 1 2 / 2 0 2 2	Μάρτυρας	24,2a	15,5a	19,9a
	Signum	-	-	-
	Max Kelp	24,0a	14,5a	19,3a
	Antistress	27,3a	16,2a	21,8a
	Signum - Antistress	26,7a	15,5a	21,1a
	Max Kelp - Antistress	26,3a	16,6a	21,4a
	M.O. (II)	25,7a	15,6b	
0 5 / 0 1 / 2 0 2 3	Μάρτυρας	32,6ab	16,9a	24,8a
	Signum	43,4a	17,3a	30,3a
	Max Kelp	31,3b	19,8a	25,6a
	Antistress	35,7ab	17,9a	26,8a
	Signum - Antistress	37,3ab	21,1a	29,2a
	Max Kelp - Antistress	31,4b	16,8a	24,1a
	M.O. (II)	35,3a	18,3b	



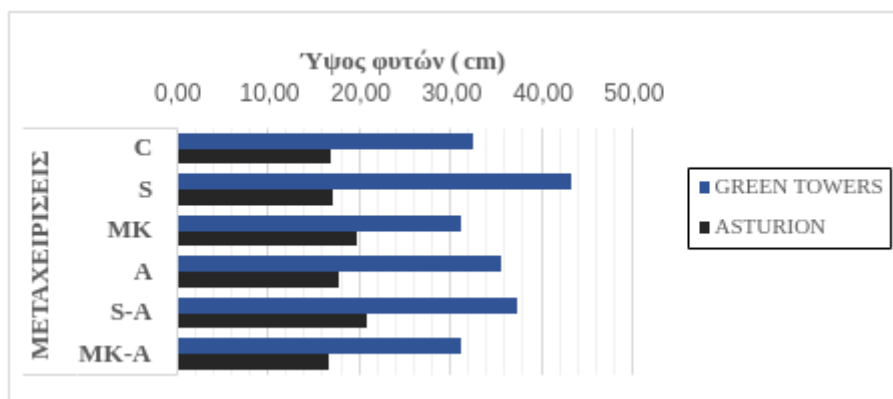
Γράφημα 3.5 Ύψος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 08/12/2022.



Γράφημα 3.6 Ύψος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 15/12/2022.



Γράφημα 3.7 Ύψος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 21/12/2022.



Γράφημα 3.8 Ύψος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 05/01/2023.

3.3 Επίδραση των βιοδιεγερτών στο νωπό βάρος στο ξηρό βάρος και στην % ξηρά ουσία

Οι μετρήσεις του νωπού και του ξηρού βάρους καθώς και ο υπολογισμός της % ξηράς ουσίας αναφέρονται στον Πίνακα 3.3. Σε ότι αφορά το νωπό βάρος, δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά τόσο μεταξύ των ποικιλιών όσο και μεταξύ των μεταχειρίσεων. Μεγαλύτερο νωπό βάρος καταγράφηκε στην ποικιλία Green Towers, ενώ το μεγαλύτερο νωπό βάρος είχαν τα φυτά και των δύο ποικιλιών που δέχθηκαν την εφαρμογή με το μείγμα Signum – Antistress. Από την άλλη πλευρά, φυτά και των δύο ποικιλιών που δέχθηκαν την εφαρμογή του μείγματος Max Kelp – Antistress εμφάνισαν το χαμηλότερο νωπό βάρος συγκρινόμενα με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις. Είναι αξιοσημείωτο ότι και στις δύο ποικιλίες τα φυτά που δέχθηκαν την εφαρμογή των βιοδιεγερτών παρουσίασαν υψηλότερο νωπό βάρος συγκρινόμενα με τα φυτά του μάρτυρα. Τα αποτελέσματα του νωπού βάρους συνοψίζονται στο Γράφημα 3.9.

Αναφορικά με το ξηρό βάρος, σε επίπεδο ποικιλιών δεν προέκυψαν σημαντικές διαφορές. Μεταξύ των μεταχειρίσεων, η εφαρμογή Max Kelp – Antistress καθώς και Antistress υπερέιχαν των υπολοίπων στα φυτά και των δύο ποικιλιών. Μεταξύ των μεταχειρίσεων, εντός των ποικιλιών δε προέκυψαν σημαντικές διαφορές. Αξίζει ωστόσο να αναφερθεί ότι οι μέσες τιμές των μεταχειρίσεων Max Kelp – Antistress και Antistress υπερέιχαν σημαντικά έναντι της μεταχείρισης Signum και του μάρτυρα. Όπως και στο νωπό βάρος, το ξηρό βάρος των φυτών που είχαν δεχθεί εφαρμογές βιοδιεγερτών ήταν μεγαλύτερο σε σχέση με το αντίστοιχο των φυτών του μάρτυρα, με εξαίρεση την εφαρμογή Signum. Τα αποτελέσματα του ξηρού βάρους συνοψίζονται στο Γράφημα 3.10.

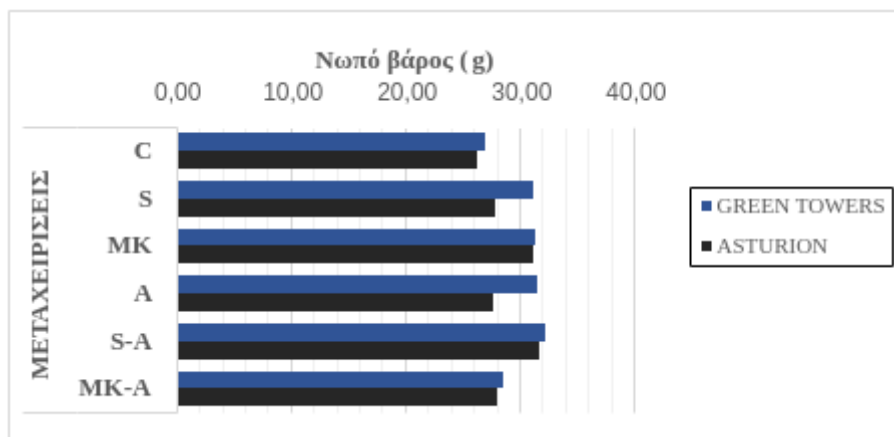
Αναφορικά με την ξηρά ουσία δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των ποικιλιών. Σε επίπεδο μεταχειρίσεων, η εφαρμογή Max Kelp – Antistress υπερέιχε των υπολοίπων και στις δύο ποικιλίες, ενώ στους γενικούς μέσους όρους η εν λόγω εφαρμογή διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις. Η ανωτέρω μεταχείριση στην ποικιλία Green Towers διέφερε σημαντικά σε σχέση με τις μεταχειρίσεις Signum, Max Kelp και Signum – Antistress. Το μικρότερο ποσοστό ξηράς ουσίας καταγράφηκε στην εφαρμογή Max Kelp για την ποικιλία Green Towers και στον μάρτυρα για την ποικιλία Asturion. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 3.11.

Πίνακας 3.3: Προσδιορισμός νωπού, ξηρού βάρους (g) και % ξηρά ουσία ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

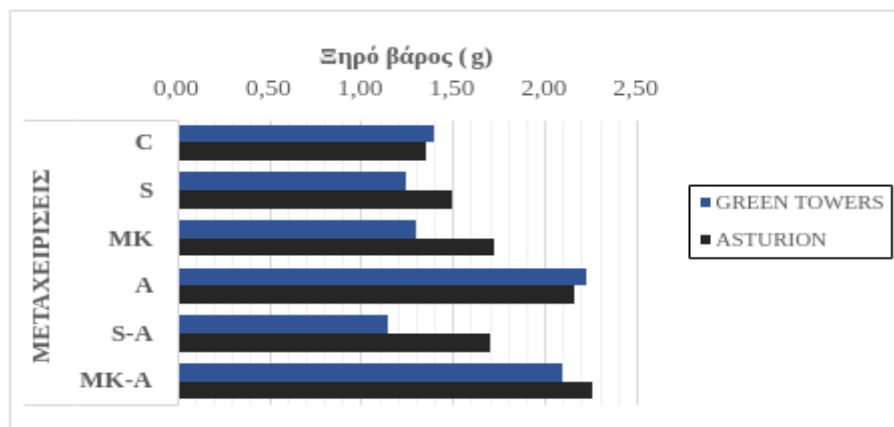
ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ		ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ		Μ
				· Ο · (Μ)
Νωπό Βάρος		Green Towers	Asturion	
	Μάρτυρας	27,0a	26,3a	2 6 , 6 a
	Signum	31,2a	27,9a	2 9 , 2 a
	Max Kelp	31,4a	31,3a	3 1 , 4 a
	Antistress	31,6a	27,7a	2 9 , 7 a
	Signum - Antistress	32,3a	31,8a	3 2 , 0

				a
	Max Kelp - Antistress	28,6a	28,0a	28,3a
	M.O. (II)	30,4a	28,8a	
Ξηρό βάρος	Μάρτυρας	1,4a	1,4a	1,4b
	Signum	1,3a	1,5a	1,4b
	Max Kelp	1,3a	1,7a	1,5ab
	Antistress	2,2a	2,2a	2,2a
	Signum - Antistress	1,2a	1,7a	1,5ab
	Max Kelp – Antistress	2,1a	2,3a	2,2a
	M.O.(II)	1,6a	1,8a	
	Μάρτυρας	5,2ab	5,2a	5,2b
	Signum	4,0bc	5,6a	4,9c
% Ξηρά Ουσία	Max Kelp	4,1bc	5,5a	4,8c
	Antistress	7,0ab	7,8a	7,4

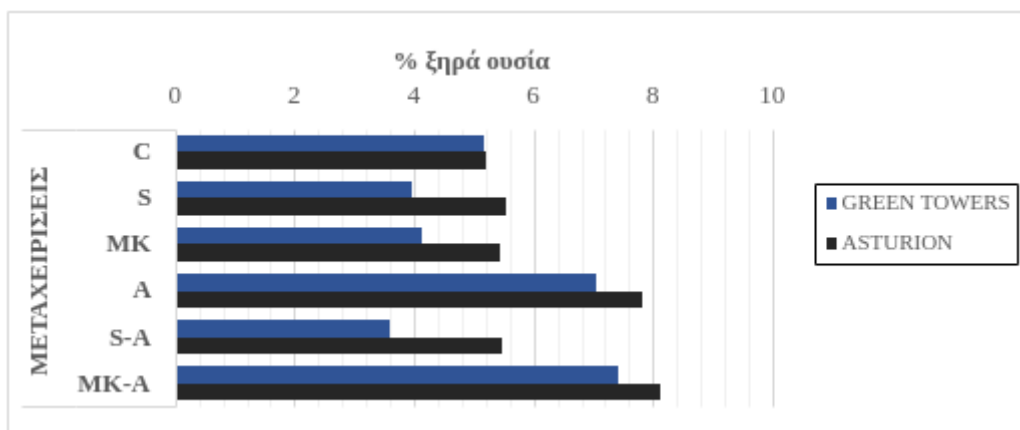
				a
				b
	Signum - Antistress	3,60c	5,5a	4
				, 7
	Max Kelp - Antistress	7,4a	8,1a	c
				7
				, 8
				a
	M.O. (II)	5,4a	6,3a	



Γράφημα 3.9 Νωπό βάρος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση.



Γράφημα 3.10 Ξηρό βάρος φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση.



Γράφημα 3.11 % ξηρά ουσία φυτών ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση.

3.4 Επίδραση των βιοδιεγερτών στην ποσότητα χλωροφύλλης

3.4.1 Περιεκτικότητα δειγμάτων φύλλων σε χλωροφύλλη a

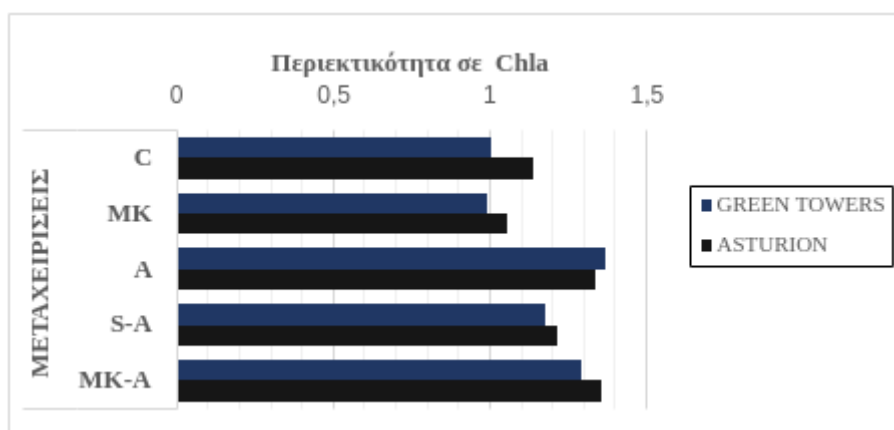
Στον Πίνακα 3.4 παρουσιάζονται τα δεδομένα αναφορικά με τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των φυτών σε χλωροφύλλη a στα 3 χρονικά διαστήματα που πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία ιστού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας, στην ποικιλία Green Towers και για τους τρεις διαφορετικούς χρόνους η περιεκτικότητα των φυτών που δέχθηκαν τις εφαρμογές των βιοδιεγερτών ήταν μεγαλύτερη συγκρινόμενη με την αντίστοιχη των φυτών του μάρτυρα. Εξαίρεση αποτέλεσε η μεταχείριση Max Kelp, όπου τα αντίστοιχα φυτά εμφάνισαν παρόμοιες ή/και μικρότερες τιμές συγκριτικά με το μάρτυρα. Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη a, των φυτών της ποικιλίας Asturion που δέχθηκαν εφαρμογή με τους βιοδιεγέρτες ήταν μεγαλύτερη στο πλείστο των περιπτώσεων συγκρινόμενη με την αντίστοιχη του μάρτυρα για τους δύο χρόνους μετρήσεων.

Από την άλλη πλευρά, την εικοστή όγδοη ημέρα μετά την πρώτη εφαρμογή των βιοδιεγερτών τα φυτά του μάρτυρα είχαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη a συγκρινόμενη με την αντίστοιχη περιεκτικότητα των φυτών που είχαν δεχθεί τις εφαρμογές των βιοδιεγερτών, με τις διαφορές ωστόσο να μην κρίνονται ως στατιστικώς σημαντικές. Εντός των ποικιλιών, επίσης δεν προέκυψαν σημαντικές διαφορές στις επιμερους μεταχειρίσεις. Η μόνη σημαντική διαφορά αφορά στις μέσες τιμές των ποικιλιών, βάσει των οποίων η ποικιλία Green Towers εμφάνισε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη a την εικοστή όγδοη ημέρα. Τα αποτελέσματα παριστάνονται στα γραφήματα 3.12 – 3.14.

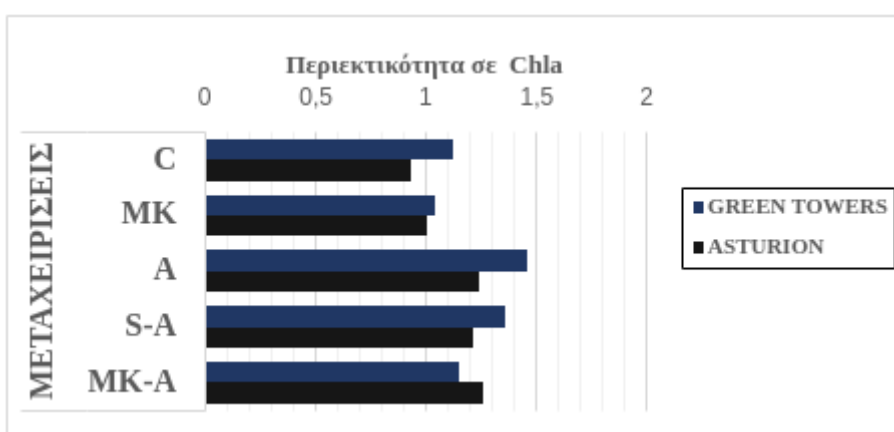
Πίνακας 3.4: Προσδιορισμός περιεκτικότητας χλωροφύλλης a (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

Η Μ Ε Ρ Α	ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ		ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ		Μ Ο · (Μ)
		Green Towers	Asturion		
0 8 / 1 2 / 2 0 2 2	Μάρτυρας	1,0a	1,1a	1 , 1 a	
	Signum	1,6a	0,7a	1 , 1 a	
	Max Kelp	1,0a	1,1a	1 , 0 a	
	Antistress	1,4a	1,3a	1 , 4 a	
	Signum - Antistress	1,2a	1,2a	1 , 2 a	
	Max Kelp - Antistress	1,3a	1,4a	1 , 3 a	
	M.O. (Π)	1,2a	1,1a		
	Μάρτυρας	1,1a	0,9a	1 , 0 a	
1 5 / 1 2 / 2	Signum	1,3a	1,2a	1 , 2 a	
	Max Kelp	1,0a	1,0a	1	

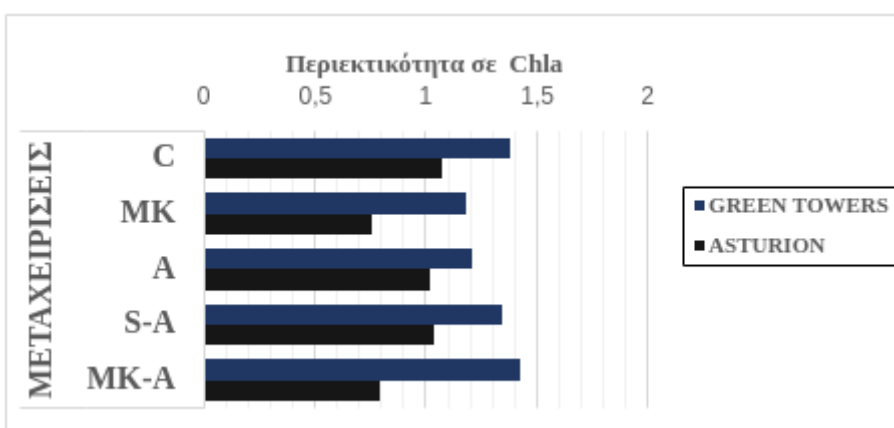
0 2 2				, 0 a
	Antistress	1,5a	1,2a	1 , 4 a
	Signum - Aantistress	1,4a	1,2a	1 , 3 a
	Max Kelp - Antistress	1,2a	1,3a	1 , 2 a
	M.O. (II)	1,2a	1,1a	
2 1 / 1 2 / 2 0 2 2 2	Μάρτυρας	1,4a	1,1a	1 , 2 a
	Max Kelp	1,2a	0,8a	1 , 0 a
	Antistress	1,2a	1,0a	1 , 1 a
	Signum - Antistress	1,4a	1,0a	1 , 2 a
	Max Kelp - Antistress	1,4a	0,8a	1 , 1 a
	M.O. (II)	1,3a	0,9b	



Γράφημα 3.12 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη a (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 08/12/2022.



Γράφημα 3.13 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη a (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 15/12/2022.



Γράφημα 3.14 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη a (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 21/12/2022.

3.4.2 Περιεκτικότητα δειγμάτων φύλλων σε χλωροφύλλη b

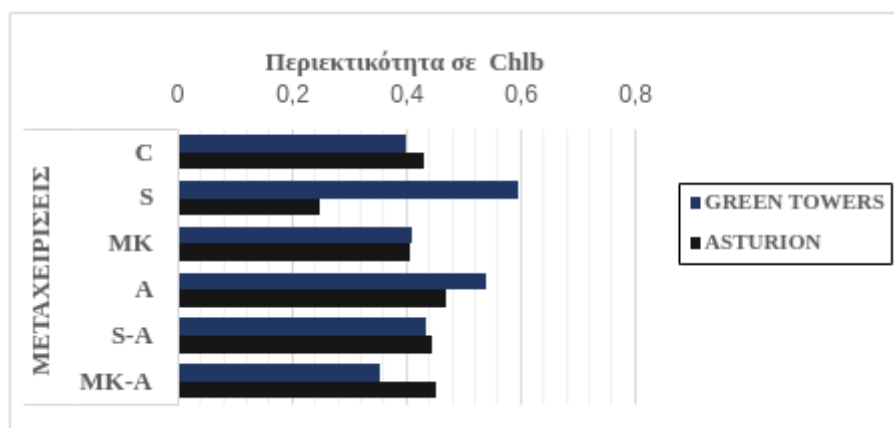
Στον Πίνακα 3.5 παρουσιάζεται ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των φυτών σε χλωροφύλλη b για τους τρεις διαφορετικούς χρόνους κατά τους οποίους συλλέχθηκε ιστός. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας, η εφαρμογή των βιοδιεγερτών σε φυτά της ποικιλίας Green Towers δεν επηρέασε σημαντικά την περιεκτικότητα αυτών σε χλωροφύλλη b, με εξαίρεση τη μεταχείριση Antistress, η οποία οδήγησε σε μία τάση αύξησης της χλωροφύλλης που σημειώθηκε ωστόσο μόνο κατά τις δύο πρώτες μετρήσεις. Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη b σε φυτά της ποικιλίας Asturion επηρεάστηκε θετικά με την εφαρμογή των βιοδιεγερτών. Παρά την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών, η παρατηρηθείσα θετική επίδραση αφορούσε τις μεταχειρίσεις Antistress και Max Kelp - Antistress κατά την πρώτη μέτρηση, ενώ κατά τη δεύτερη μέτρηση αυτή αφορούσε το σύνολο των βιοδιεγερτών. Ωστόσο, η τάση αυτή δεν διατηρήθηκε την εικοστή όγδοη ημέρα μετά την πρώτη εφαρμογή καθώς στα φυτά που είχαν δεχθεί εφαρμογές με βιοδιεγέρτες προσδιορίστηκε μικρότερη περιεκτικότητα χλωροφύλλης b σε σχέση με τα φυτά του μάρτυρα. Από τους μέσους όρους δεν προκύπτουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ούτε μεταξύ των ποικιλιών ούτε μεταξύ των μεταχειρίσεων. Η ποικιλία Green Towers είχε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη b, με εξαίρεση την τελευταία μέτρηση όπου και καταγράφηκε υψηλότερη τιμή στα φυτά στις ποικιλίας Asturion. Τα αποτελέσματα παριστάνονται στα γραφήματα 3.15- 3.17.

Πίνακας 3.5 Προσδιορισμός περιεκτικότητας χλωροφύλλης b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

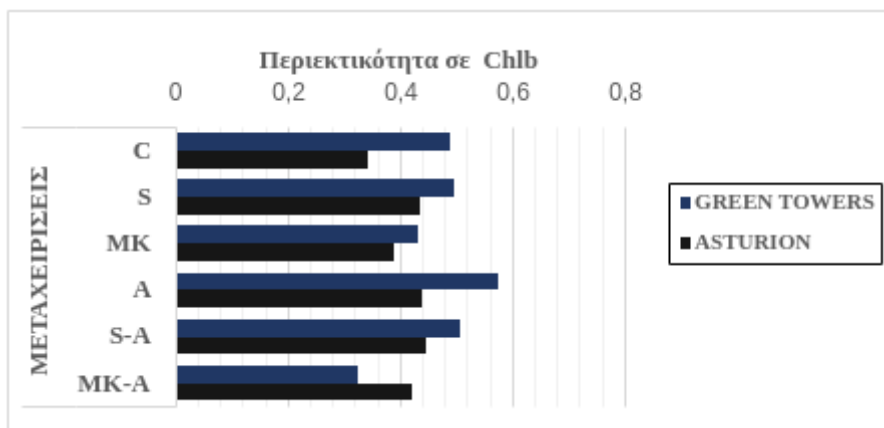
ΗΜΕΡΑ	ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	M.O. (M)
08/12/2022		Asturion	
	Μάρτυρας	0,4a	0,4a

	Signum	0 , 6 a	0,3a	0,4a
	Max Kelp	0 , 4 a	0,4a	0,4a
	Antistress	0 , 5 a	0,5a	0,5a
	Sign-m - Antistress	0 , 4 a	0,4a	0,4a
	Max Kelp - Antistress	0 , 4 a	0,5a	0,4a
	M.O. (II)	0 , 5 a	0,4a	
15/12/2022	Μάρτυρας	0 , 5 a	0,3a	0,4a
	Signum	0 , 5 a	0,4a	0,5a
	Max Kelp	0 , 4 a	0,4a	0,4a
	Antistress	0 , 6 a	0,4a	0,5a
	Sign-m - Antistress	0 , 5 a	0,4a	0,5a

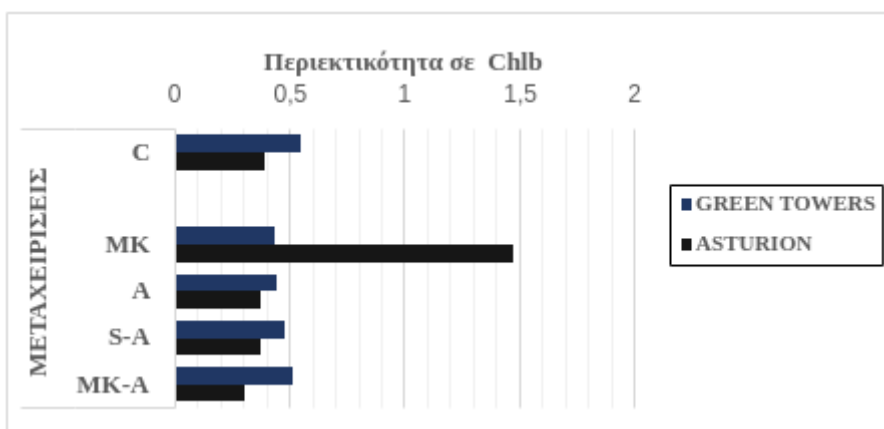
	Max Ke-p - Antistress	0,3a	0,4a	0,4a
	M.O. (II)	0,5a	0,4a	
21/12/2022	Μάρτυρας	0,6a	0,4a	0,5a
	Max Kelp	0,4a	1,5a	1,0a
	Antistress	0,4a	0,4a	0,4a
	Sign-m - Antistress	0,5a	0,4a	0,4a
	Max Ke-p - Antistress	0,5a	0,3a	0,4a
	M.O. (II)	0,5a	0,6a	



Γράφημα 3.15 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 08/12/2022.



Γράφημα 3.16 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 15/12/2022.



Γράφημα 3.17 Περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη b (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 21/12/2022.

3.4.3 Συνολική περιεκτικότητα χλωροφύλλης a και b των φύλλων

Στον Πίνακα 3.5 παρουσιάζεται ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των φυτών σε ολική χλωροφύλλη για τους τρεις διαφορετικούς χρόνους κατά τους οποίους συλλέχθηκε ιστός. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας, στην ποικιλία Green Towers, η περιεκτικότητα σε ολική χλωροφύλλη ήταν μεγαλύτερη στα φυτά που δέχθηκαν τις εφαρμογές των βιοδιαθεγερτών, συγκρινόμενη με την αντίστοιχη του μάρτυρα, και στους τρεις διαφορετικούς χρόνους. Εξαίρεση αποτέλεσε η μεταχείριση Max Kelp, που συνοδεύτηκε από τιμές ολικής χλωροφύλλης που ήταν παρόμοιες ή/και μικρότερες σε σχέση με το μάρτυρα.

Αναφορικά με την ποικιλία Asturion, η περιεκτικότητα σε ολική χλωροφύλλη ήταν στο πλείστο των περιπτώσεων μεγαλύτερη στα φυτά που δέχθηκαν εφαρμογή με τους βιοδιεγέρτες συγκρινόμενη με του μάρτυρα και στους δύο χρόνους μετρήσεων.

Την εικοστή όγδοη ημέρα μετά την πρώτη εφαρμογή των βιοδιεγερτών, τα φυτά του μάρτυρα εμφάνισαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολική χλωροφύλλη συγκρινόμενη με την αντίστοιχη των φυτών που δέχθηκαν τις εφαρμογές των βιοδιεγερτών. Μοναδική εξαίρεση αποτέλεσαν τα φυτά που εφαρμόστηκε ο βιοδιεγέρτης Max Kelp. Ωστόσο, οι διαφορές δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές. Εντός των ποικιλιών, ομοίως δεν υπήρξαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Ωστόσο, βάσει τις μέσης τιμές των ποικιλιών σε όλες τις μεταχειρίσεις τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολική χλωροφύλλη εμφάνισε η ποικιλία Green Towers. Τα αποτελέσματα απεικονίζονται στα γραφήματα 3.18 – 3.20.

Πίνακας 3.6 Προσδιορισμός συνολικής περιεκτικότητας χλωροφύλλης (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

Η Μ		ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ		M.O. (Μ)
0 8 / 1 2 / 2 0 2 2	Μ			
	Ε			
	Τ			
	Α			
	Χ			
	Ε			
	Ι			
	Ρ			
	Ι			
	Σ			
	Ε			
	Ι			
	Σ			
		Green Towers	Asturion	
	Μ	1,4a	1,6a	1,5a
	ά			
	ρ			
	τ			
	υ			
	ρ			
	α			
	ς			
	S	2,1a	0,9a	1,5a
	i			
	g			
	n			
	u			

	m			
	M a x K e l p	1,4a	1,5a	1,4a
	A n t i s t r e s s	1,9a	1,8a	1,9a
	S i g n u m - A n t i s t r e s s	1,6a	1,7a	1,6a
	M a x K e l p - A n t i s t r e s s	1,6a	1,9a	1,7a
	M · O · (	1,7a	1,6a	

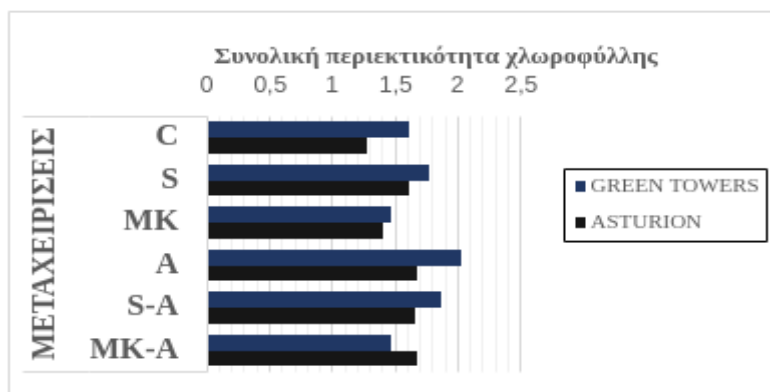
	Π			
1 5 / 1 2 / 2 0 2 2	M á ρ τ υ ρ α ς	1,6a	1,3a	1,5a
	S i g n u m	1,8a	1,6a	1,7a
	M a x K el p	1,5a	1,4a	1,4a
	A n t i s t r e s s	2,0a	1,7a	1,9a
	S i g n u m - A n t i s t r e s s	1,9a	1,7a	1,8a
	M a x K el	1,5a	1,7a	1,6a

	P - A n t i s t r e s s			
	M · O · (Π)	1,7a	1,6a	
	M ά ρ τ υ ρ α ς	1,9a	1,5a	1,7a
2 1 / 1 2 / 2 0 2 2	M a x K e l p	1,6a	2,2a	1,9a
	A n t i s t r e s s	1,7a	1,4a	1,5a
	S i g n u m - A n t i s t	1,8a	1,4a	1,6a

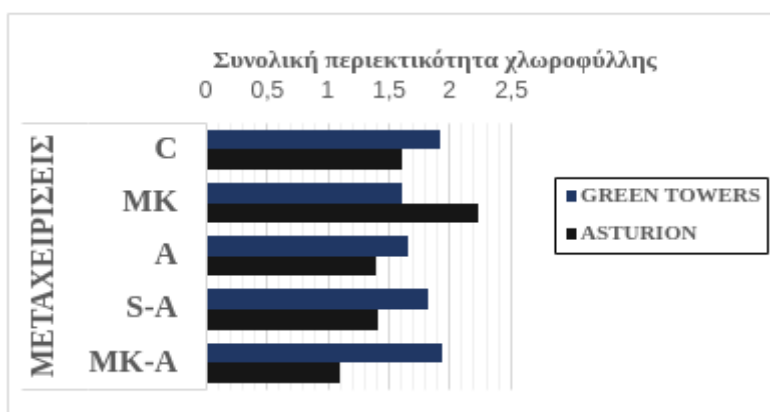
r e s s			
M a x K el p - A n ti st r e s s	1,9a	1,1a	1,5a
M · O · (Π)	1,8a	1,5a	



Γράφημα 3.18 Συνολική περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 08/12/2022.



Γράφημα 3.19 Συνολική περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 15/12/2022.



Γράφημα 3.20 Συνολική περιεκτικότητα φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ) στις 21/12/2022.

3.4.4 Λόγος χλωροφύλλης a προς b των φύλλων

Στον Πίνακα 3.5 παρουσιάζονται τα δεδομένα που αφορούν το λόγο χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b στους τρεις διαφορετικούς χρόνους κατά τους οποίους συλλέχθηκε ιστός. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, κατά την πρώτη μέτρηση δεν προέκυψε σημαντική διαφορά μεταξύ των ποικιλιών. Σε επίπεδο μεταχειρίσεων, και στις δύο ποικιλίες μεγαλύτεροι λόγοι προέκυψαν στα φυτά που είχαν δεχθεί την εφαρμογή των βιοδιεγερτών σε σχέση με τα φυτά του μάρτυρα, ενώ και για τις δύο ποικιλίες ο μεγαλύτερος λόγος καταγράφηκε σε φυτά που είχαν δεχθεί το μείγμα Max Kelp – Antistress.

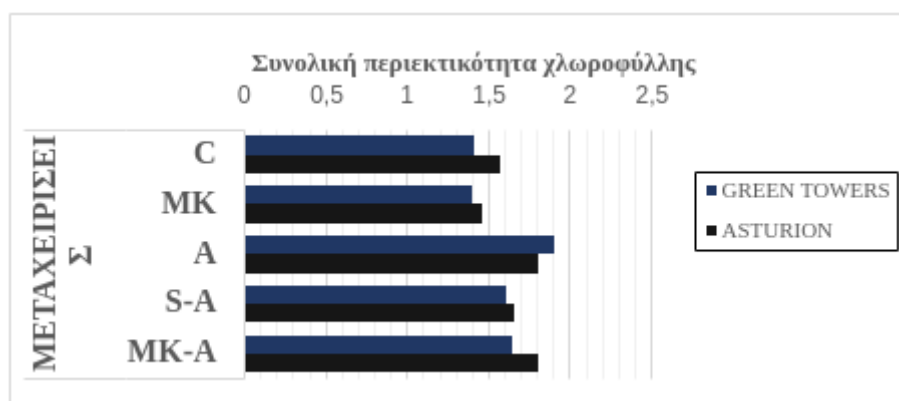
Κατά τη δεύτερη μέτρηση, καταγράφηκε για την ποικιλία Green Towers μεγαλύτερος λόγος στα φυτά που είχαν εφαρμοσθεί οι βιοδιεγέρτες σε σχέση με τα φυτά του μάρτυρα. Η μεταχείριση Max Kelp – Antistress εμφάνισε υπεροχή, σημειώνοντας το μεγαλύτερο λόγο

χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b και στις δύο ποικιλίες. Ωστόσο, στα φυτά της ποικιλίας Green Towers δεν παρουσιάστηκαν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Σε ότι αφορά στην ποικιλία Asturion, ο μικρότερος λόγος καταγράφηκε στα φυτά όπου εφαρμόστηκε το σκεύασμα Max Kelp. Παράλληλα, στατιστικώς σημαντική ήταν και η διαφορά μεταξύ των ποικιλιών για την εν λόγω παράμετρο.

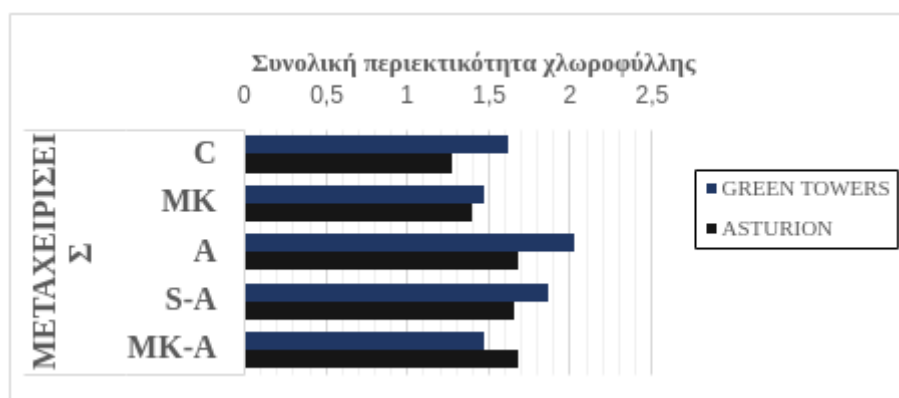
Κατά την τρίτη μέτρηση, στα φυτά της ποικιλίας Green Towers διατηρήθηκε η τάση αύξησης του λόγου χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b στις μεταχειρίσεις, συγκριτικά με το μάρτυρα, με τις διαφορές μάλιστα να είναι στατιστικώς σημαντικές. Ο μεγαλύτερος λόγος καταγράφηκε στις εφαρμογές των μειγμάτων Signum – Antistress και Max Kelp – Antistress. Αντίθετα, οι εφαρμογές των βιοδιεγερτών φαίνεται να μείωσαν το λόγο χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b στα φυτά της ποικιλίας Asturion σε σχέση με τα φυτά του μάρτυρα. Εξαίρεση στα ανωτέρω αποτέλεσε η εφαρμογή του μείγματος Signum - Antistress. Τόσο μεταξύ των ποικιλιών όσο και μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές και την τρίτη μέτρηση. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στα γραφήματα 3.21-3.23.

Πίνακας 3.7 Λόγος χλωροφύλλης a προς b ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

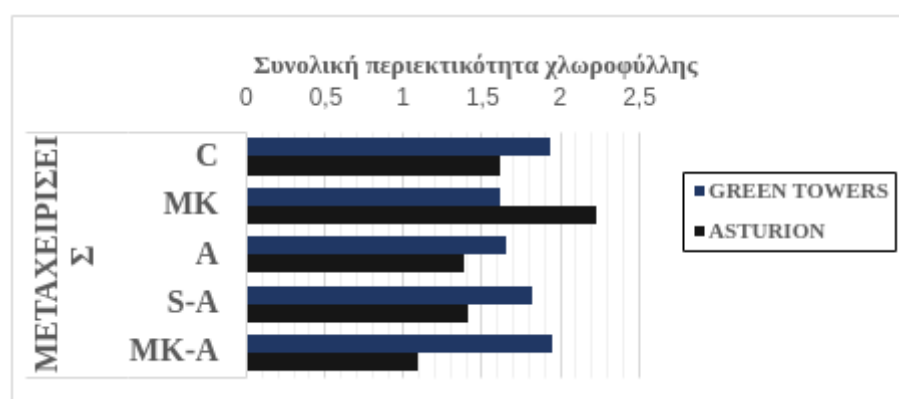
ΗΜΕΡΑ	ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ		Μ.Ο. (Μ)
08/12/2022		Green Towers	Asturion	
	Μάρτυρας	2,5a	2,6b	2,6a
	Signum	2,6a	2,7ab	2,7a
	Max Kelp	2,5a	2,6b	2,5a
	Antistress	2,5a	2,8ab	2,7a
	Signum - Antistress	2,7a	2,8ab	2,7a
	Max Kelp - Antistress	4,4a	3,0a	3,7a
15/12/2022	Μ.Ο. (Π)	2,9a	2,8a	
	Μάρτυρας	2,3a	2,7ab	2,5a
	Signum	2,6a	2,7ab	2,6a
	Max Kelp	2,5a	2,6b	2,5a
	Antistress	2,5a	2,8ab	2,7a
	Signum - Antistress	2,7a	2,8ab	2,7a
	Max Kelp - Antistress	4,4a	3,0a	3,7a
21/12/2022	Μ.Ο. (Π)	2,8a	2,7b	
	Μάρτυρας	2,5b	2,7a	2,6a
	Signum			
	Max Kelp	2,7ab	1,9a	2,3a
	Antistress	2,7ab	2,7a	2,7a
	Signum - Antistress	2,8a	2,8a	2,8a
	Max Kelp - Antistress	2,8a	2,6a	2,7a



Γράφημα 3.21 Λόγος χλωροφύλλης a προς b των φυτικών ιστών στις 08/12/2022.



Γράφημα 3.22 Λόγος χλωροφύλλης a προς b των φυτικών ιστών στις 15/12/2022.



Γράφημα 3.23 Λόγος χλωροφύλλης a προς b των φυτικών ιστών στις 21/12/2022.

3.4.5 Περιεκτικότητα δειγμάτων φύλλων σε καρετοννοειδή

Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας καροτενοειδών, πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία ιστού σε 3 διαφορετικούς χρόνους. Τα αποτελέσματα συνοψίστηκαν στον Πίνακα 3.8.

Κατά την πρώτη μέτρηση (8/12/2022), δηλαδή μία εβδομάδα μετά την πρώτη εφαρμογή, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές είτε σε επίπεδο ποικιλιών είτε σε επίπεδο μεταχειρίσεων, όπως προκύπτει τόσο από τις επιμέρους τιμές όσο και από τις μέσες τιμές των ποικιλιών για όλες τις μεταχειρίσεις και τις μέσες τιμές των μεταχειρίσεων για τις δύο ποικιλίες.

Τόσο κατά τη δεύτερη μέτρηση (15/12/2022) όσο και την τρίτη μέτρηση (21/12/2022), η ανάλυση κατέδειξε την απουσία σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων. Ωστόσο, μεταξύ των ποικιλιών, παρατηρήθηκε υπεροχή της ποικιλίας Green Towers αναφορικά με την περιεκτικότητα σε καροτενοειδή, όπως προκύπτει από τις μέσες τιμές των ποικιλιών για το σύνολο των μεταχειρίσεων. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στα γραφήματα 3.24 – 3.26.

Πίνακας 3.8: Προσδιορισμός περιεκτικότητας καροτενοειδών ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

ΗΜΕΡΑ	ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	M.O. (M)
08/12/2022		Asturion	
	Μάρτυρας	0,10a	0,09a
	Signum	0,06a	0,08a

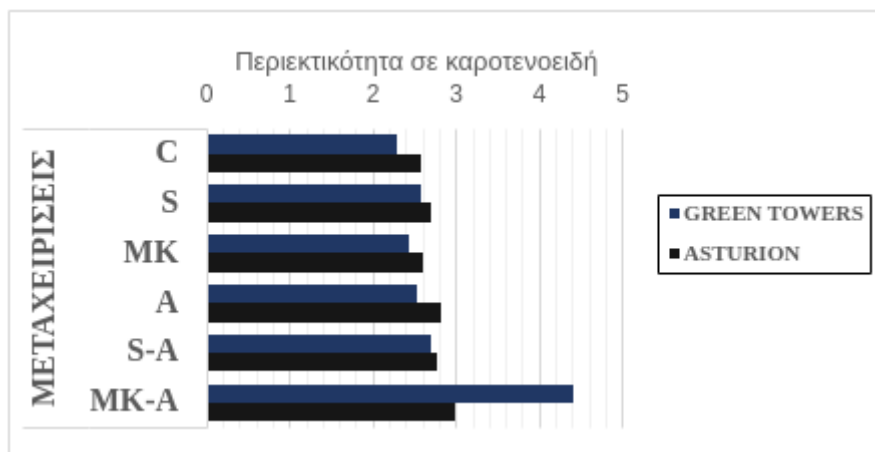
		a		
	Max Kelp	0,09a	0,09a	
	Antistress	0,11a	0,11a	
	Signum - Antistress	0,10a	0,10a	
	Max Kelp - Antistress	0,11a	0,11a	
	M.O. (II)	0,10a		
15/12/2022	Μάρτυρας	0,08a	0,10a	
	Signum	0,10a	0,11a	
	Max Kelp	0,08a	0,09a	
	Antistress	0,10a	0,11a	

		2 a		
	Signum - Antistress	0 , 1 2 a	0,10a	0,11a
	Max Kelp - Antistress	0 , 0 9 a	0,11a	0,10a
	M.O. (II)	0 , 1 1 a	0,10b	
	Μάρτυρας	0 , 1 2 a	0,09a	0,11a
21/12/2022	Signum			
	Max Kelp	0 , 1 1 a	0,09a	0,10a
	Antistress	0 , 1 1 a	0,09a	0,10a
	Signum - Antistress	0 , 1 1 a	0,09a	0,10a
	Max Kelp - Antistress	0 , 1 2 a	0,07a	0,10a
	M.O. (II)	0 ,	0,08b	

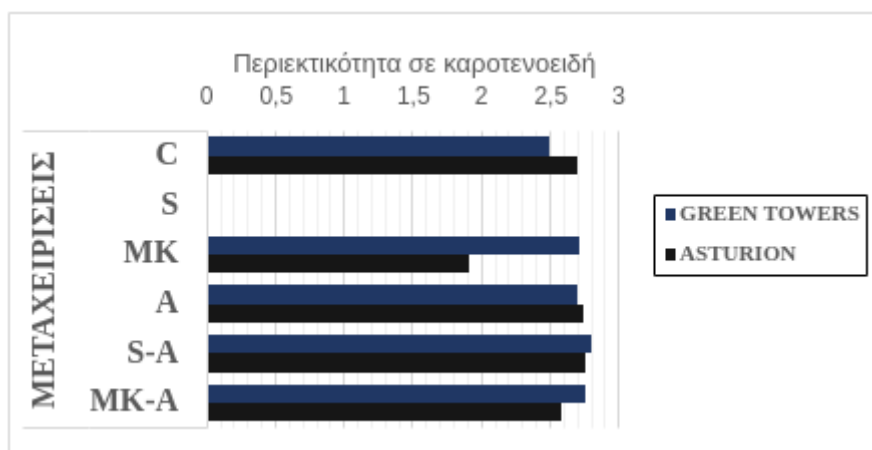
		1	
		1	
		a	



Γράφημα 3.24 Περιεκτικότητα των φυτικών ιστών σε καροτενοειδή, στις 08/12/2022.



Γράφημα 3.25 Περιεκτικότητα των φυτικών ιστών σε καροτενοειδή, στις 15/12/2022.



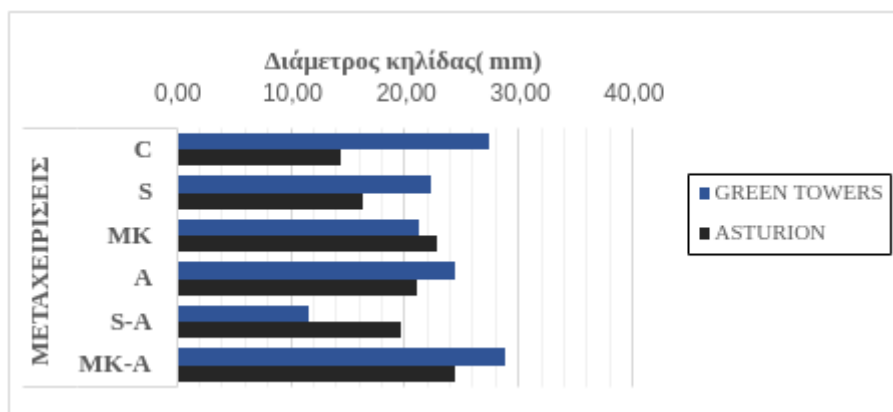
Γράφημα 3.26 Περιεκτικότητα των φυτικών ιστών σε καροτενοειδή, στις 21/12/2022.

3.5 Επίδραση των βιοδιαθεγερτών στις δοκιμές ανάπτυξης μυκηλίου του μύκητα *Botrytis cinerea*

Στον Πίνακα 3.9 καταγράφεται η διάμετρος του αναπτυγμένου μυκηλίου, τρεις ημέρες έπειτα από την πραγματοποίηση της τεχνητής μόλυνσης των φύλλων με μυκηλιακό δίσκο του παθογόνου. Σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία των καταγεγραμμένων παρατηρήσεων, στην ποικιλία Green Towers η εφαρμογή όλων των βιοδιαθεγερτών, πλην του μείγματος Max Kelp – Antistress, είχε θετική επίδραση στον περιορισμό της εξάπλωσης του παθογόνου επί του φυτικού ιστού συγκρινόμενη με την αντίστοιχη εξάπλωση σε φυτικό ιστό του μάρτυρα. Είναι δε αξιοσημείωτο ότι η εφαρμογή του μείγματος Signum – Antistress οδήγησε σε σημαντικό περιορισμό της εξάπλωσης της προσβολής, επιφέροντας σημαντική μείωση αυτής σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις. Ωστόσο, στα φυτά της ποικιλίας Asturion παρατηρήθηκε αντίθετη ακριβώς τάση, με τη μικρότερη εξάπλωση του παθογόνου να αφορά σε φυτά του μάρτυρα, τα οποία διέφεραν σημαντικά σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις. Η εφαρμογή του μείγματος Max Kelp – Antistress, όπως και στην ποικιλία Green Towers, ήταν η λιγότερο αποτελεσματική, επιφέροντας τη μεγαλύτερη διάμετρο προσβολής. Μεταξύ των ποικιλιών, η μεγαλύτερη εξάπλωση του παθογόνου καταγράφηκε στην ποικιλία Green Towers, χωρίς ωστόσο να διαφέρει σημαντικά με την ποικιλία Asturion. Σε επίπεδο μεταχειρίσεων, η εφαρμογή του μείγματος Signum- Antistress ήταν η πλέον αποτελεσματική, σημειώνοντας σημαντική διαφορά σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις και το μάρτυρα. Τα αποτελέσματα σχετικά με τη διάμετρο της κηλίδας προσβολής συνοψίζονται στο Γράφημα 3.27.

Πίνακας 3.9 Μέτρηση διαμέτρου κηλίδας (mm) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ		Μ.Ο. (Μ)
	Green Towers	Asturion	
Μάρτυρας	27,5a	14,5b	21,0ab
Signum	22,4a	16,5ab	19,5ab
Max Kelp	21,4a	22,9a	22,2ab
Antistress	24,6a	21,2ab	22,9ab
Signum - Antistress	11,6b	19,8ab	15,7b
Max Kelp - Antistress	28,9a	24,5a	26,7a
Μ.Ο. (Π)	22,7a	19,9a	



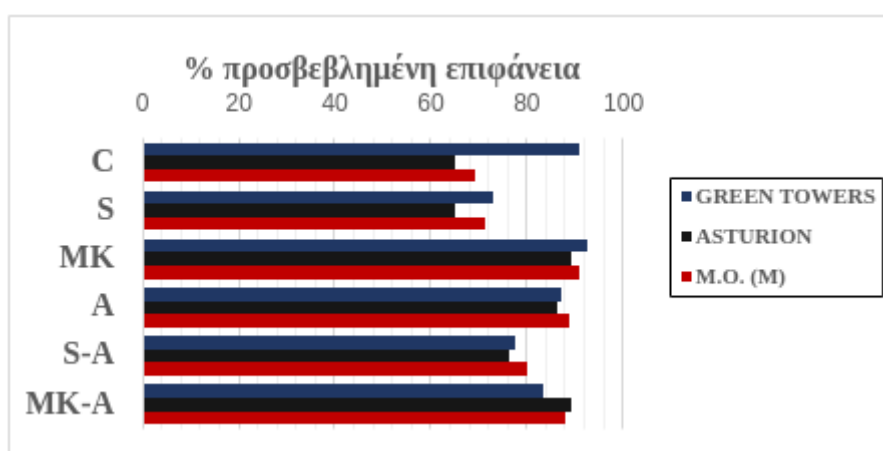
Γράφημα 3.27 Διάμετρος κηλίδας προσβολής ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση στις 21/12/2022.

3.6 Επίδραση των βιοδιεγερτών στις δοκιμές βλάστησης σπορίων

Στον Πίνακα 3.10 καταγράφεται το ποσοστό της προσβεβλημένης επιφάνειας σε φυτά που είχαν μολυνθεί τεχνητά με 20 μ L αιωρήματος σπορίων του παθογόνου *Botrytis cinerea*, 3 ημέρες έπειτα από την τεχνητή μόλυνση. Σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία του προσδιορισμένου ποσοστού μόλυνσης, στην ποικιλία Green Towers η εφαρμογή όλων των βιοδιεγερτών, πλην του μείγματος Max Kelp – Antistress, είχαν θετική επίδραση στον περιορισμό της εξάπλωσης του παθογόνου επί του φυτού συγκρινόμενη με την αντίστοιχη εξάπλωση σε φυτικό ιστό του μάρτυρα. Όπως ήταν αναμενόμενο, η εφαρμογή του σκευάσματος Signum ήταν η πλέον αποτελεσματική στο περιορισμό της εξάπλωσης του παθογόνου, ενώ ο συνδυασμός Signum – Antistress περιόρισε επίσης την εξάπλωση της προσβολής, χωρίς ωστόσο να επιφέρει σημαντική μείωση αυτής συγκρινόμενη με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις και το μάρτυρα. Στα φυτά της ποικιλίας Asturion, δεν παρατηρήθηκε θετική επίδραση των βιοδιεγερτών αφού η μικρότερη εξάπλωση του παθογόνου καταγράφηκε σε φυτά του μάρτυρα και σε αυτά που δέχθηκαν εφαρμογή με το σκεύασμα Signum. Εντός της ποικιλίας Asturion, δε σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Επίσης, τα αποτελέσματα κατέδειξαν την απουσία διαφορών μεταξύ των ποικιλιών ως προς την εξάπλωση του παθογόνου, όπως προκύπτει από τις μεσες τιμές των ποικιλιών για όλες τις μεταχειρίσεις. Ωστόσο, μεγαλύτερη εξάπλωση του παθογόνου καταγράφηκε στην ποικιλία Green Towers. Η εφαρμογή του Max Kelp ήταν η λιγότερο αποτελεσματική και για τις δύο ποικιλίες, ενώ για την ποικιλία Asturion περιορισμένη αποτελεσματικότητα καταγράφηκε και για το μείγμα Max Kelp – Antistress. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 3.28.

Πίνακας 3.10 Ποσοστό % προσβεβλημένης επιφάνειας ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

ΗΜΕΡΑ	ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ		M.O. (M)
		Green Towers	Asturion	
	Μάρτυρας	91,3a	65,3a	69,3c
	Signum	73,4a	65,3a	71,6bc
	Max Kelp	93,0a	89,3a	91,1a
	Antistress	87,4a	86,6a	88,98ab
	Signum - Antistress	78,0a	76,6a	80,1abc
	Max Kelp - Antistress	83,6a	89,3a	88,3abc
	M.O. (Π)	84,5a	78,7a	



Γράφημα 3.28 Ποσοστό % προσβεβλημένης επιφάνειας ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

3.7 Περιεκτικότητα των προσβεβλημένων με το μύκητα *Botrytis cinerae* φυτών σε προλίνη

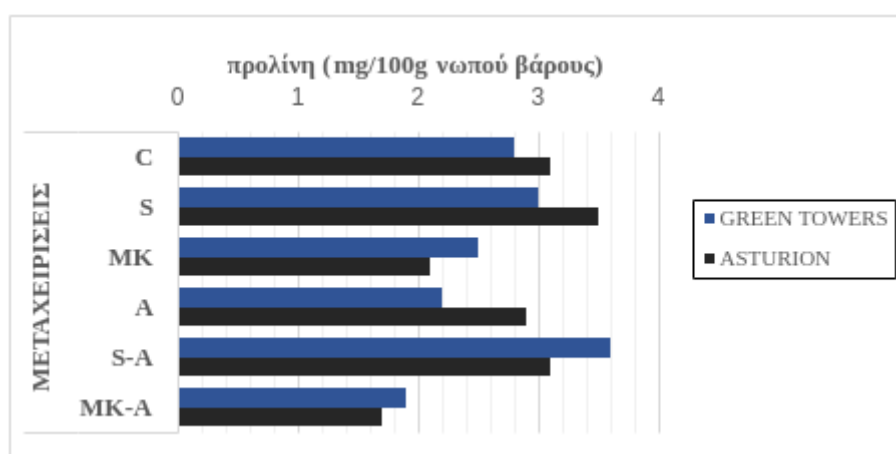
Στον Πίνακα 3.11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της περιεκτικότητας των φυτικών ιστών που προέρχονταν από μολυσμένα φυτά με αιώρημα σπορίων, την τρίτη ημέρα μετά την τεχνητή μόλυνση. Στα φυτά της ποικιλίας Green Towers, η πλέον αυξημένη περιεκτικότητα σε προλίνη καταγράφηκε σε φυτά που είχαν δεχθεί εφαρμογή με το μείγμα Signum - Antistress, ακολουθούμενων από αυτά που εφαρμόστηκε το σκεύασμα Signum. Αντίθετα, η μικρότερη περιεκτικότητα καταγράφηκε στα φυτά που είχαν δεχθεί την εφαρμογή Max Kelp - Antistress. Στην ποικιλία Asturion, η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε προλίνη καταγράφηκε στα φυτά που είχαν δεχθεί την εφαρμογή Signum και, ακολούθως, στα φυτά που προηγήθηκε

εφαρμογή με το μείγμα Signum – Antistress, τα οποία εμφάνισαν όμοιες τιμές με τα φυτά του μάρτυρα.

Παρά την απουσία διαφορών, αναφορικά με την περιεκτικότητα σε προλίνη, τόσο μεταξύ των μεταχειρίσεων όσο και μεταξύ των ποικιλιών, είναι αξιοσημείωτο ότι οι μεταχειρίσεις που εμφάνισαν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα προλίνης αναδείχθηκαν ως οι πλέον αποτελεσματικές κατά της εξάπλωσης του παθογόνου, γεγονός που υπογραμμίζει τη θετική συσχέτιση μεταξύ της περιεκτικότητας των ιστών σε προλίνη και της άμυνας του φυτού έναντι βιοτικών καταπονήσεων. Τα αποτελέσματα σχετικά με την περιεκτικότητα των φυτικών ιστών σε προλίνη συνοψίζονται στο Γράφημα 3.29.

Πίνακας 3.11 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε προλίνη των προσβεβλημένων φυτών (mg/100g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ		Μ.Ο. (Μ)
	Green Towers	Asturion	
Μάρτυρας	2,8a	3,1a	2,9a
Signum	3,0a	3,5a	3,3a
Max Kelp	2,5a	2,1a	2,3a
Antistress	2,2a	2,9a	2,5a
Signum - Antistress	3,6a	3,1a	3,4a
Max Kelp - Antistress	1,9a	1,7a	1,8a
Μ.Ο. (Π)	2,7a	2,7a	



Γράφημα 3.29 Περιεκτικότητα προλίνης των προσβεβλημένων φυτών (mg/100g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (Μ).

4. Συζήτηση

Αντικείμενο της παρούσας διατριβής αποτέλεσε η μελέτη της απόκρισης δύο ποικιλιών μαρουλιού ως προς την επίδραση διάφορων βιοδιεγερτών, μηκυτοκτόνου και μείγματα αυτών. Η απόκριση των φυτών μελετήθηκε με βάση αναπτυξιακές και βιοχημικές παραμέτρους που έχουν αναδειχθεί ως κατάλληλοι δείκτες για την αξιολόγηση της επίδρασης των βιοδιεγερτών. Παράλληλα, προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση των βιοδιεγερτών ως προς την ανθεκτικότητα των ποικιλιών έναντι βιοτικών καταπονήσεων, πραγματοποιήθηκε τεχνητή μόλυνση των φυτών, που είχαν προηγουμένως δεχθεί εφαρμογές με βιοδιεγέρτες, με το μύκητα *Botrytis cinerea* και ακολούθησε συγκριτική αξιολόγηση της απόκρισής τους.

Στο πλαίσιο της πειραματικής διαδικασίας, αξιοποιήθηκαν οι ποικιλίες Green Towers και Asturion, οι οποίες δέχθηκαν εφαρμογή με τους βιοδιεγέρτες Max Kelp, Antistress καθώς και τα μείγματα Max Kelp-Antistress και Signum-Antistress. Στο πείραμα συμπεριλήφθηκαν ως μάρτυρες φυτά που δε δέχθηκαν καμία εφαρμογή καθώς και φυτά που εφαρμόστηκε το εμπορικό σκεύασμα Signum με μυκητοκτόνο δράση. Η απόκριση των φυτών στις ανωτέρω μεταχειρίσεις βασίστηκε σε αναπτυξιακές παραμέτρους, όπως το ύψος των φυτών, ο αριθμός των φύλλων, το νωπό και ξηρό βάρος των φυτών, η % περιεκτικότητα σε ξηρά ουσία, καθώς και βιοχημικές παραμέτρους, όπως η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη a, b, ολική χλωροφύλλη και καροτενοειδή καθώς και ο λόγος χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b. Με στόχο την αξιολόγηση της απόκρισης στο μύκητα *B. cinerea*, έπειτα από μόλυνση με μυκηλιακό δίσκο και με αιώρημα σπορίων, αξιοποιήθηκαν ως παράμετροι αξιολόγησης η διάμετρος κηλίδας και η περιεκτικότητα των φύλλων σε προλίνη και το ποσοστό της προσβεβλημένης επιφάνειας των φύλλων, αντίστοιχα.

Σχετικά με τον αριθμό των φύλλων, η ποικιλία Asturion παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές, όπως προκύπτει από τις μέσες τιμές των ποικιλιών σε όλες τις μεταχειρίσεις. Ακόμα, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων, με το βιοδιεγέρτη Max Kelp να παρουσιάζει τον μικρότερο αριθμό φύλλων, σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις και τον μάρτυρα. Αναφορικά με το ύψος των φυτών, η ποικιλία Green Towers παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές, όπως προκύπτει από τις μέσες τιμές των ποικιλιών σε όλες τις μεταχειρίσεις. Σε επίπεδο μεταχειρίσεων, παρά την απουσία σημαντικών διαφορών, αναδείχθηκε η θετική επίδραση της εφαρμογής βιοδιεγερτών, με εξαίρεση την εφαρμογή Max Kelp και του μείγματος Max Kelp - Antistress που συνοδεύτηκαν από ύψος παρόμοιο

ή/και μικρότερο από αυτό του μάρτυρα. Σε ευθυγράμμιση με τα ανωτέρω δεδομένα σχετικά με το ύψος των δύο ποικιλιών, η προηγμένη ανάπτυξη της ποικιλίας Green Towers αναδείχθηκε και σε σχέση με το νωπό βάρος των φυτών, εμφανίζοντας σαφώς μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με την ποικιλία Asturion. Μεταξύ των υπό μελέτη μεταχειρίσεων, αναδείχθηκε η υπεροχή του μείγματος Signum – Antistress, ενώ το μείγμα Max Kelp – Antistress οδήγησε σε χαμηλότερες τιμές νωπού βάρους, οι οποίες ωστόσο ήταν υψηλότερες συγκριτικά με το μάρτυρα. Αντίθετα, τα αποτελέσματα της ανάλυσης κατέδειξαν τη θετική επίδραση του σκευάσματος Antistress καθώς και του μείγματος Max Kelp – Antistress στο ξηρό βάρος φυτών, επιφέροντας τιμές που υπερέχουν σημαντικά έναντι του μάρτυρα. Τέλος, σε αναπτυξιακό επίπεδο αναδείχθηκε η υπεροχή της συνδυασμένης εφαρμογής Max Kelp – Antistress, η οποία διέφερε σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις.

Η χλωροφύλλη αποτελεί σημαντικό παράγοντα της ανάπτυξης των φυτών, καθώς παίζει καθοριστικό ρόλο στη φωτοσύνθεση. Όσον αφορά στην χλωροφύλλη a, η ποικιλία Green Towers εμφάνισε την μεγαλύτερη περιεκτικότητα. Επίσης, τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν τη θετική επίδραση των βιοδιεγερτών καθώς το σύνολο των φυτών που δέχθηκαν τις εφαρμογές βιοδιεγερτών εμφάνισαν υψηλότερη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη a συγκριτικά με το μάρτυρα, με την υπεροχή αυτή ωστόσο να αφορά στο πρώτο διάστημα έπειτα από την εφαρμογή τους. Αναφορικά με την περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη b, ο ρόλος της οποίας σχετίζεται με τη συλλογή φωτονίων και την προστασία της χλωροφύλλης a, η επίδραση των βιοδιεγερτών υπήρξε περισσότερο έκδηλη στα φυτά της ποικιλίας Asturion. Η πλέον θετική επίδραση αφορά στην εφαρμογή Antistress και στη συνδυασμένη εφαρμογή Max Kelp – Antistress. Ωστόσο, σε ευθυγράμμιση με το προφίλ συσσώρευσης χλωροφύλλης a, οι διαφορές σε σχέση με το μάρτυρα αφορούν στο πρώτο διάστημα έπειτα από την εφαρμογή των βιοδιεγερτών. Σε συνάρτηση με τα ανωτέρω δεδομένα, η εφαρμογή βιοδιεγερτών οδήγησε σε αύξηση των τιμών ολικής χλωροφύλλης, με εξαίρεση την εφαρμογή του σκευάσματος Max Kelp, που συνοδεύτηκε από τιμές ολικής χλωροφύλλης που ήταν παρόμοιες ή/και μικρότερες συγκριτικά με το μάρτυρα. Τέλος, σχετικά με την περιεκτικότητα σε καροτενοειδή, τα αποτελέσματα κατέδειξαν την απουσία διαφορών μεταξύ των ποικιλιών και των υπό μελέτη μεταχειρίσεων, ωστόσο η ποικιλία Green Towers χαρακτηρίστηκε από αυξημένη ποσότητα καροτενοειδών συγκριτικά με την ποικιλία Asturion.

Περαιτέρω, στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής μελετήθηκε η επίδραση της εφαρμογής βιοδιεγερτών στην απόκριση των φυτών στην τεχνητή μόλυνση με το μύκητα *B. cinerea*.

Έπειτα από μόλυνση των φυτών με μυκηλιακό δίσκο, μελετήθηκε συγκριτικά η διάμετρος της κηλίδας καθώς και η περιεκτικότητα των φύλλων σε προλίνη. Αναφορικά με τη διάμετρο της κηλίδας, είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι οι δύο ποικιλίες εμφάνισαν εκ διαμέτρου αντίθετη απόκριση. Ειδικότερα, η ποικιλία Green Towers, η οποία χαρακτηρίστηκε από περισσότερο εκτεταμένη προσβολή εν συγκρίσει με την ποικιλία Asturion, φάνηκε να ευνοείται από την εφαρμογή του συνόλου των βιοδιογερτών, εμφανίζοντας περιορισμό της εξάπλωσης του παθογόνου. Μοναδική εξαίρεση στην τάση αυτή αποτέλεσε η εφαρμογή του μείγματος Max Kelp – Antistress. Παραδόξως, τα φυτά της ποικιλίας Asturion εμφάνισαν την πλέον μειωμένη εξάπλωση στα φυτά του μάρτυρα, ενώ η εφαρμογή του μείγματος Max Kelp – Antistress υπήρξε η λιγότερο αποτελεσματική. Τα συνολικά δεδομένα αναφορικά με την εξάπλωση του παθογόνου παρέχουν ενδείξεις σχετικά με τη θετική επίδραση του μείγματος Signum- Antistress. Σε συμφωνία με τα ανωτέρω δεδομένα, η ανάλυση ανέδειξε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε προλίνη στην εφαρμογή του μείγματος Signum - Antistress, ακολουθούμενη από την εφαρμογή με το σκεύασμα Signum, υποδεικνύοντας την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ της περιεκτικότητας των ιστών σε προλίνη και της άμυνας του φυτού έναντι του μύκητα.

Τέλος, η ανάλυση σχετικά με το ποσοστό προσβεβλημένης επιφάνειας ανέδειξε τη θετική επίδραση της εφαρμογής βιοδιογερτών στα φυτά της ποικιλίας Green Towers, με την πλέον υπερέχουσα επίδοση να αφορά στα φυτά όπου έγινε εφαρμογή των σκευασμάτων Signum και του συνδυασμού Signum – Antistress. Αντίθετα, στα φυτά της ποικιλίας Asturion, δεν παρατηρήθηκε θετική επίδραση των βιοδιογερτών.

Βιβλιογραφία

Agrios GN, 2005, Plant Pathology 5th edn. Elsevier. New York

Baslam, M., Garmendia, I., & Goicoechea, N. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved growth and nutritional quality of greenhouse-grown Lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10). <https://doi.org/10.1021/jf200501c>

Calvo, P., Nelson, L., and Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* 383, 3–41. doi: 10.1007/s11104-014-2131-8

Corsi, S., Ruggeri, G., Zamboni, A., Bhakti, P., Espen, L., Ferrante, A., et al. (2022). A bibliometric analysis of the scientific literature on biostimulants. *Agronomy*, 12(6):1257. doi: 10.3390/agronomy12061257

De Vries, I. M. (1997). Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44(2), 165–174. <https://doi.org/10.1023/A:1008611200727/METRICS>

Dookie, M., Ali, O., Ramsubhag, A., Jayaraman, J. (2021). Flowering gene regulation in tomato plants treated with brown seaweed extracts. *Sci. Hortic.* 276, 109715. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109715

Döös, B. R. (2002). Population growth and loss of arable land. *Global Environmental Change*, 12(4), 303–311. [https://doi.org/10.1016/S0959-3780\(02\)00043-2](https://doi.org/10.1016/S0959-3780(02)00043-2)

Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic.* 196, 3–14. doi: 10.1016/j.scienta.2015.09.021

Finch, H. J. S., Samuel, A. M., & Lane, G. P. F. (2014). Lockhart & Wiseman's crop husbandry including grassland (9th ed.). Woodhead Publishing. <http://www.sciencedirect.com:5070/book/9781782423713/lockhart-and-wisemans-crop-husbandry-including-grassland>

Hansen, L., Skeie, G., Landberg, R., Lund, E., Palmqvist, R., Johansson, I., Dragsted, L. O., Egeberg, R., Johnsen, N. F., Christensen, J., Overvad, K., Tjønneland, A., & Olsen, A. (2012). Intake of dietary fiber, especially from cereal foods, is associated with lower incidence of colon cancer in the HELGA cohort. *International Journal of Cancer*, 131(2). <https://doi.org/10.1002/ijc.26381>

Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., et al. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* 28 (4), 386–399. doi: 10.1007/s00344-009-9103-x

Kim, M. J., Moon, Y., Tou, J. C., Mou, B., & Waterland, N. L. (2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 19–34. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2016.03.004>

Křístková, E., Doležalová, I., Lebeda, A., Vinter, V., & Novotná, A. (2008). Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. In *Horticultural Science* (Vol. 35, Issue 3). <https://doi.org/10.17221/4/2008-hortsci>

Lebeda, A., Ryder, E. J., Grube, R., Dolezalova, I., and Kristkova, E. (2007). Lettuce (*Asteraceae*; *Lactuca* spp.). Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement series, 3, 377-472.

Paradikovic, N., Teklic, T., Zeljokovic, S., Lisjak, M., Spoljarevic, M. (2018). Biostimulants research in some horticultural plant species- A review. *Food and Energy Security*, DOI: 10.1002/fes3.162.

Rubatzky, V., & Yamaguchi, M. (1997). *World vegetables: principles, production, and nutritive values*. Springer US.

Ryder, E.J. (1986). Lettuce breeding. In: M.J. Basset (Ed.). *Breeding Vegetable Crops*. The AVI Publishing Company, Inc., Westport, 433-474

Παναγόπουλος ΧΓ, 2007, Ασθένειες καρποφόρων δέντρων και αμπέλου, Εκδόσεις ΑΘ. Σταμούλης

Τζάμος Ε., 2007, Φυτοπαθολογία, Εκδόσεις ΑΘ. Σταμούλης, Αθήνα

Διαδικτυακές πηγές

FAOSTAT

Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2019