



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ-ΑΓΡΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΙΑΧ. ΦΥΤΟΥΓΕΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«Αξιολόγηση της δράσης στελεχών του μύκητα *Trichoderma* και
περιττωμάτων του εντόμου *Zophobas morio* στην ανάπτυξη της
καλλιέργειας του μαρουλιού»**



ΒΕΛΕΝΤΖΑ ΔΗΜΗΤΡΑ

ΛΑΡΙΣΑ, ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2025



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ-ΑΓΡΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΙΑΧ. ΦΥΤΟΥΓΕΙΑΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«Αξιολόγηση της δράσης στελεχών του μύκητα *Trichoderma* και
περιττωμάτων του εντόμου *Zorhobas morio* στην ανάπτυξη της
καλλιέργειας του μαρουλιού»**



ΒΕΛΕΝΤΖΑ ΔΗΜΗΤΡΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ

ΛΑΡΙΣΑ, ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2025

Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, στο Τμήμα Γεωπονίας Αγροτεχνολογίας και συγκεκριμένα στο Εργαστήριο Διαχείρισης Φυτοϋγείας, κατά το έτος 2024.

Θα ήθελα να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη στους δύο καθηγητές μου, κ. Ηλιόπουλο Παναγιώτη (Καθηγητή Γεωργικής Εντομολογίας) και κ. Νατσιόπουλο Δημήτριο (Καθηγητή Φυτοπαθολογίας), οι οποίοι στάθηκαν δίπλα μου με κάθε τρόπο καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης αυτής της εργασίας.

Ο κ. Ηλιόπουλος Παναγιώτης υπήρξε σταθερό στήριγμα σε κάθε στάδιο της προσπάθειάς μου. Με την καθοδήγησή του και την πολύτιμη βοήθειά του, τόσο στον εργαστηριακό χώρο όσο και στον θερμοκηπιακό, κατάφερα να αντιμετωπίσω τις προκλήσεις της έρευνάς μου. Η διαρκής του παρουσία και η εποικοδομητική μας επικοινωνία έπαιξαν καθοριστικό ρόλο στην ολοκλήρωση αυτής της μελέτης.

Αντίστοιχα, ο κ. Νατσιόπουλος Δημήτριος προσέφερε σημαντική υποστήριξη, με τις εξειδικευμένες γνώσεις του στο αντικείμενο της φυτοπαθολογίας. Η προθυμία του να αφιερώσει χρόνο για την παροχή διευκρινίσεων και βοήθειας, καθώς και η καθοδήγησή του στην ανάλυση των φυτικών ιστών, αποτέλεσαν πολύτιμο εφόδιο για την εργασία μου.

Και οι δύο καθηγητές, με την εμπειρία, τη διάθεση για συνεργασία και την υποστήριξή τους, συνέβαλαν καθοριστικά στην ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας. Τους ευχαριστώ θερμά για όλα όσα μου προσέφεραν σε αυτήν τη διαδρομή.

Επίσης, ευχαριστώ την οικογένειά μου που στάθηκε δίπλα μου σε κάθε βήμα αυτής της διαδρομής.

Περιεχόμενα

Περίληψη	6
Abstract	8
Εισαγωγή	Error! Bookmark not defined.
Κεφάλαιο Πρώτο: Βιοδιγέρτες	12
1.1 Χαρακτηριστικά και Λειτουργία	12
1.2 Μηχανισμοί Βιοδιεγερτών και Διάκριση	13
1.3 Διαθέσιμα Εμπορικά Σκευάσματα Βιοδιεγερτών	17
1.4 Frass Fertilizer: Χαρακτηριστικά και Εφαρμογές	19
1.5 Εφαρμογή Βιοδιεγερτών στο Μαρούλι (<i>Lactuca sativa</i> L.)	23
1.6 Απαιτήσεις Ανάπτυξης Μαρουλιού	25
1.7 Βιολογικά Κηπευτικά στην Ε. Ε.	26
1.8 Το έντομο <i>Zophobas Morio</i>	28
1.9 Περιβαλλοντικά Οφέλη από την εκτροφή εντόμων	35
2. Κεφάλαιο Δεύτερο : <i>Trichoderma</i> : Ένας Βιολογικός Σύμμαχος στη Γεωργία	36
2.1 Ταξινόμηση μύκητα	36
2.2 Φυτοπροστατευτικά Προϊόντα	43
2.3 Εφαρμογή Τριχοδέρματος στα φυτά και η σχέση μεταξύ τους	44
3. Πειραματικό Μέρος	47
3.1 Εισαγωγή πειραματικού μέρους	47
3.2 Υλικά και Μέθοδοι	50
3.2.1 Εισαγωγή	50
2.2 Παρασκευή Potato Dextrose Agar (θρεπτικό υπόστρωμα)	50
2.1 Απομόνωση του <i>Trichoderma simmonsii</i>	54
2.3 Εκτροφή <i>Zophobas Morio</i> και συλλογή frass	56
2.4 Πειράματα Θερμοκηπίου	58
2.6 Φύτευση	62
4. Αποτελέσματα Ανάλυσης	69
4.1 Στατιστική Ανάλυση	69
4.2 Διαγράμματα	70
5. Συμπεράσματα-προτάσεις	75
Παράρτημα – Φωτογραφικό υλικό	78
Βιβλιογραφικές Αναφορές	82

Περίληψη

Στην σημερινή εποχή παρατηρείται αυξημένη ζήτηση για προϊόντα βιολογικής γεωργίας που θεωρούνται ασφαλέστερα για την υγεία των καταναλωτών και προσφέρουν ανώτερη γευστική ποιότητα σε σύγκριση με τα συμβατικά. Η βιολογική γεωργία και τα προϊόντα της αποτελούν σημαντική επιλογή για τη βιώσιμη ανάπτυξη, συμβάλλοντας στη μείωση της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης και προωθώντας έναν πιο υγιεινό τρόπο ζωής.

Ειδικότερα η χρήση βιοδιεγερτικών σκευασμάτων αποτελεί καίρια λύση για την βιολογική καλλιέργεια και συνεπώς την αξιοποίηση των φυσικών πηγών του περιβάλλοντος. Έπειτα από πειραματικές μελέτες αποδείχτηκε σπουδαία γη χρήση περιττωμάτων από έντομα (insect frass) και η χορήγηση παράγωγων υποπροϊόντων από ωφέλιμους μικροοργανισμούς (μύκητες *Trichoderma*) που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιολογικά λιπάσματα προσφέροντας μεγάλες ποσότητες θρεπτικών συστατικών και βελτιώνοντας τη δομή του εδάφους, την ικανότητα συγκράτησης υγρασίας και τη βιολογική του δραστηριότητα. Με αυτόν τον τρόπο, μειώνεται η εξάρτηση της παγκόσμιας γεωργίας από ορυκτά και συνθετικά λιπάσματα, που συχνά είναι περιβαλλοντικά επιβαρυντικά, ενώ παράλληλα επιτυγχάνεται μείωση του κόστους παραγωγής μέσω της πιο αποδοτικής χρήσης των φυσικών πόρων και της ενίσχυσης της αειφορίας των καλλιεργητικών πρακτικών.

Στην παρούσα πτυχιακή έρευνα εξετάστηκε η χρήση του μύκητα *Trichoderma simmonsii*, σε συνδυασμό με insect frass (IF) από το έντομο *Zophobas morio*, ως βιοδιεγέρτες στην ανάπτυξη της καλλιέργειας μαρουλιού. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκήπιο, χρησιμοποιώντας γλάστρες, όπου μετρήθηκαν το μήκος και το νωπό βάρος του στελέχους, η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη, καθώς και το νωπό βάρος της ρίζας. Εφαρμόστηκαν και αξιολογήθηκαν διαφορετικές ποσότητες IF (1% και 2%), σε μία ή δύο δόσεις, χρησιμοποιώντας υποστρώματα εμπλουτισμένης τύρφης (RS) και τύρφης χωρίς πρόσθετα (PS), ενώ πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός με *T. simmonsii* μέσω εναιωρήματος κονιδίων (20 ml).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χρήση του Insect Frass (IF) είχε σημαντική θετική επίδραση στην αύξηση του μήκους του στελέχους, με τις ομάδες που χρησιμοποιούσαν εμπλουτισμένη τύρφη (RS) να εμφανίζουν υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με εκείνες που χρησιμοποιούσαν τύρφη χωρίς πρόσθετα (PS). Η εφαρμογή

του *T. simmonsii* από μόνη της δεν έδειξε αξιοσημείωτα αποτελέσματα, ενώ ο συνδυασμός του *T. simmonsii* με IF οδήγησε σε μεγαλύτερη ανάπτυξη των φυτών. Επιπλέον, οι επεμβάσεις με IF σε συγκέντρωση 2% παρουσίασαν καλύτερα αποτελέσματα από αυτές με συγκέντρωση 1%. Ωστόσο, η εφαρμογή δεύτερης δόσης IF 2% δεν προκάλεσε επιπλέον ανάπτυξη, δείχνοντας ότι η υπερβολική ποσότητα IF δεν έχει σημαντική επίδραση πέρα από ένα συγκεκριμένο όριο.

Abstract

In today's world, there is an increased demand for organic agricultural products that are considered safer for the health of consumers and offer superior taste quality compared to conventional products. . Organic agriculture and its products are an important option for sustainable development, contributing to reducing environmental pollution and promoting a healthier lifestyle.

In particular, the use of biostimulant formulations is a key solution for organic farming and therefore the exploitation of natural resources of the environment. Experimental studies have shown that the use of insect frass and the administration of by-products of beneficial micro-organisms (*Trichoderma* fungi), which can be used as biological fertilisers, providing large quantities of nutrients and improving the soil structure, moisture retention capacity and biological activity, are important. In this way, the dependence of global agriculture on fossil and synthetic fertilisers, which are often environmentally harmful, is reduced, while at the same time production costs are reduced through more efficient use of natural resources and the enhancement of sustainable farming practices.

In this thesis research, the use of the fungus *Trichoderma simmonsii*, , in combination with insect frass (IF) from the insect *Zophobas morio*, as biostimulants in the growth of lettuce crop was investigated. Experiments were conducted in a greenhouse using pots, where stem length and fresh weight, leaf chlorophyll content, and fresh weight of the root were measured. Different amounts of IF (1% and 2%) were applied and evaluated, in one or two doses, using enriched peat (RS) and peat without additives (PS) substrates, and inoculation with *T. simmonsii* was carried out by means of a conidial suspension (20 ml).

The results showed that the use of Insect Frass (IF) had a significant positive effect on stem length increase, with the groups using enriched peat (RS) showing higher values compared to those using peat without additives (PS). The application of *T. simmonsii* alone did not show remarkable results, while the combination of *T. simmonsii* with IF resulted in higher plant growth. Moreover, treatments with IF at a concentration of 2% showed better results than those with a concentration of 1%. However, the application of a second dose of 2% IF did not induce additional growth, indicating that an excessive amount of IF does not have a significant effect beyond a certain threshold.

Εισαγωγή

Στη σύγχρονη εποχή, ο υπερπληθυσμός της Γης και η συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση για τρόφιμα οδηγούν σε μεγαλύτερες απαιτήσεις στον αγροτικό τομέα. Παράλληλα, οι καταναλωτές απαιτούν τρόφιμα υψηλής ποιότητας, γεγονός που καθιστά αναγκαία την επέκταση των καλλιεργήσιμων εκτάσεων και τη χρήση μεγάλων ποσοτήτων λιπασμάτων. Στη βιολογική γεωργία, όμως, η χρήση χημικών λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων περιορίζεται σημαντικά (Pascual et al., 2018), δημιουργώντας την ανάγκη για εναλλακτικές φυτικές προσαρμογές κατάλληλες για τέτοιου είδους παραγωγή. Λαμβάνοντας υπόψη την υποβάθμιση των γεωργικών εκτάσεων και τις αβεβαιότητες που προκαλεί η κλιματική αλλαγή, η εφαρμογή βιοδιεγερτικών αναδεικνύεται ως μια ενδιαφέρουσα επιλογή. Οι αγρότες, οι επενδυτές, οι ρυθμιστικές αρχές, οι καταναλωτές, οι επιστήμονες και άλλοι εμπλεκόμενοι φορείς εξακολουθούν να ενημερώνονται για τη χρήση και τη σημασία των βιοδιεγερτικών στη βιώσιμη γεωργία (EBIC, 2018). Ιδιαίτερα στον τομέα της βιολογικής γεωργίας, η οικονομικότερη και πιο αποδοτική προσέγγιση αφορά τις βιολογικές αντιδράσεις των εντόμων, οι οποίες συμβάλλουν στη μείωση της ρύπανσης των υδάτων και στη σημαντική μείωση του κόστους παραγωγής. Επίσης, η χρήση των βιοδιεγερτικών συμβάλλει στη σωστή ανάπτυξη του ριζικού συστήματος και στην παραγωγή ουσιών που υποστηρίζουν τη θρέψη και τη μεταφορά θρεπτικών στοιχείων στο φυτό. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται οι ενδοφυτικοί μύκητες του γένους *Trichoderma*, οι οποίοι έχουν μελετηθεί εκτενώς σε επιστημονικές έρευνες. Η δράση τους θεωρείται καθοριστικής σημασίας, καθώς μπορούν να διεισδύσουν στα φυτικά κύτταρα και να ενισχύσουν την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος μέσω της παραγωγής ινδολο οξικού οξέος (IAA). Παράλληλα, συμβάλλουν στην ανάπτυξη του βλαστού και των φύλλων του φυτού. Επιπλέον, ένα οικολογικό και πολλά υποσχόμενο φυτοβελτιωτικό είναι το insect frass (αποχωρήματα εντόμων - IF), το οποίο παράγεται από ωφέλιμα έντομα μετά από συγκεκριμένες εργαστηριακές επεξεργασίες και προσαρμογές. Η χρήση του frass ως εδαφοβελτιωτικού μειώνει το κόστος καλλιέργειας κατά το ήμισυ, προσφέροντας μια οικονομική και βιώσιμη εναλλακτική αντί των ακριβών χημικών λιπασμάτων.

Στην παρούσα πτυχιακή διατριβή μελετήθηκε η χρήση του μύκητα *Trichoderma simmonsii* σε συνδυασμό με την προσθήκη frass του εντόμου *Zophobas molitor*, στην ανάπτυξη της καλλιέργειας μαρουλιού. Πραγματοποιήθηκαν πειράματα θερμοκηπίου σε

γλαστρικά φυτά και μετρήθηκε το μήκος στελέχους, το νωπό βάρος στελέχους, η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη και το νωπό βάρος ρίζας. Εφαρμόστηκαν και μελετήθηκαν διαφορετικές ποσότητες IF 1% και 2% σε μία η δύο δόσεις, σε φυτά με υπόστρωμα εμπλουτισμένης τύρφης (RS) και τύρφης χωρίς πρόσθετα (PS) και εμβολιασμός με *T. simmonsii* με 20ml κονιδιακού εναιωρήματος. Ως αποτέλεσμα η εφαρμογή IF αύξησε σημαντικά το τελικό μήκος και βάρος στελέχους και το νωπό βάρος ρίζας, τόσο στις επεμβάσεις με RS και PS, όσο και σε συνδυασμό με *Trichoderma simmonsii*. Η δεύτερη δόση IF 2% δεν ευνόησε περισσότερο το τελικό μήκος στελέχους, σε σχέση με τη δεύτερη δόση IF 1% , σε αντίθεση με την αύξηση που σημειώθηκε στο νωπό βάρος στελέχους με την προσθήκη δυο δόσεων frass 2%. Όσον αφορά το ρυθμό φωτοσύνθεσης, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διάφορων επεμβάσεων, παρά σε λίγες περιπτώσεις. Στις επεμβάσεις που έγινε εμβολιασμός με *T. simmonsii* δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, σε καμία από τις παραμέτρους που μελετήθηκαν, παρόλο που βρέθηκε να αποικεί επιτυχημένα τόσο τη ρίζα, όσο και το στέλεχος σε όλα τα φυτά που εμβολιάστηκαν. Τα παραπάνω αποτελέσματα αποτελούν ερέθισμα περαιτέρω έρευνας σε ότι αφορά την εφαρμογή στον αγρό, των ποσοτήτων και δόσεων IF αλλά και τη δράση του *T. simmonsii*.

Κεφάλαιο Πρώτο: Βιοδιεγέρτες

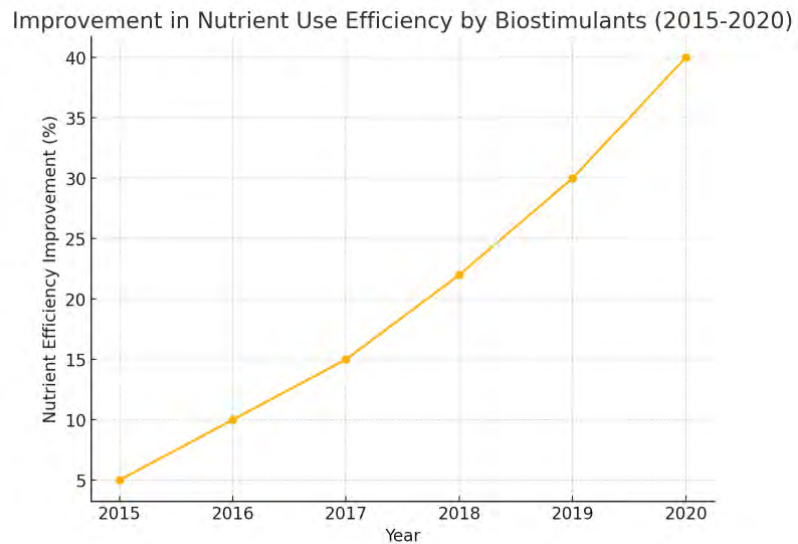
1.1 Χαρακτηριστικά και Λειτουργία

Τα τελευταία χρόνια, η παραγωγή κηπευτικών καλείται να ανταποκριθεί στις αυξανόμενες προκλήσεις της επίτευξης υψηλής παραγωγικότητας, ενώ παράλληλα ικανοποιεί τις παγκόσμιες απαιτήσεις για περιβαλλοντικά βιώσιμες πρακτικές καλλιέργειας. Σύμφωνα με τους Vernieri, Borghesi, Ferrante και Magnani (2005), ο συνδυασμός βιοδιεγερτικών αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική φιλική προς το περιβάλλον, ειδικά για την παραγωγή κηπευτικών σε θερμοκήπια.

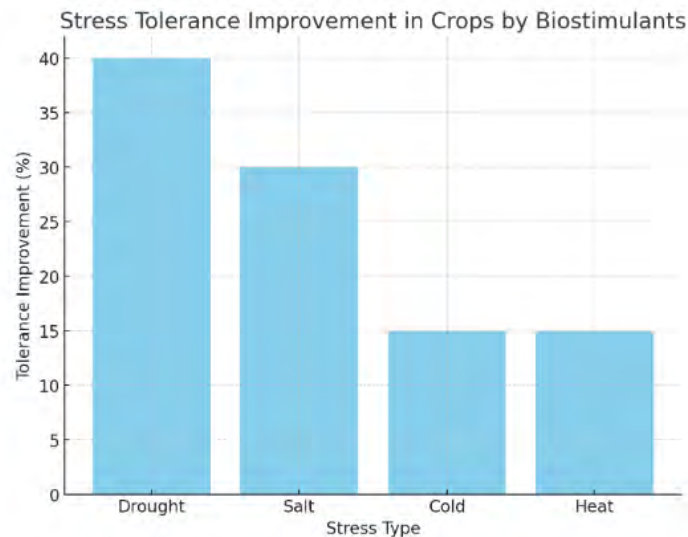
Ο όρος «βιοδιεγέρτες» εισήχθη από τους Zhang και Schmidt το 1997 στο Κρατικό Πανεπιστήμιο της Βιρτζίνια και αρχικά αναφερόταν σε ουσίες που εφαρμόζονται σε μικρές ποσότητες στα φυτά για να υποστηρίξουν την ανάπτυξή τους (du Jardin, 2015). Σήμερα, σύμφωνα με το Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Βιομηχανίας Βιοδιεγερτών, βιοδιεγέρτης θεωρείται κάθε ουσία ή μικροοργανισμός που, όταν εφαρμόζεται σε φυτά, σπόρους, έδαφος ή θρεπτικό υπόστρωμα σε συνδυασμό με το πρόγραμμα θρέψης, συμβάλλει στη βελτίωση της ανάπτυξης, της ποιότητας της παραγωγής και της ανθεκτικότητας στις καταπονήσεις από βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες, όπως η ξηρασία ή η αλατότητα. Ο ορισμός των βιοδιεγερτών εξελίσσεται συνεχώς και προσαρμόζεται στις νέες ανάγκες (du Jardin, 2015).

Σε γενικές γραμμές, οι βιοδιεγέρτες προορίζονται να επηρεάζουν φυσικές διεργασίες των φυτών, ανεξάρτητα από το θρεπτικό τους περιεχόμενο, σε αντίθεση με τα λιπάσματα και τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Δρουν είτε άμεσα στη φυσιολογία και το μεταβολισμό των φυτών είτε έμμεσα, βελτιώνοντας τις συνθήκες του εδάφους. Έχουν υποστηρικτικό ρόλο, ενισχύουν την ικανότητα των φυτών να απορροφούν θρεπτικά συστατικά και τα βοηθούν να αντέχουν καλύτερα στις καταπονήσεις (Shekhar Sharma et al., 2014; du Jardin, 2015; Povero et al., 2016; van Oosten et al., 2017).

Σε κατάλληλες συγκεντρώσεις, οι βιοδιεγέρτες είναι εξαιρετικά αποτελεσματικοί, ευνοώντας τις ζωτικές διεργασίες των φυτών και μειώνοντας τις απώλειες καλλιέργειας υπό συνθήκες έντονου στρες. Ο συνδυασμός τους με μακροστοιχεία, μικροστοιχεία και ιχνοστοιχεία μπορεί να βελτιώσει τόσο την ποσότητα όσο και την ποιότητα της παραγωγής, καθώς μειώνει την αναστολή της ανάπτυξης και επιτρέπει τη συνεχή ανάπτυξη της καλλιέργειας.



Διάγραμμα 1: Η αύξηση της αποτελεσματικότητας χρήσης θρεπτικών ουσιών λόγω της εφαρμογής βιοδιεγερτών από το 2015 έως το 2020 (Laurent et al., 2020)



Διάγραμμα 2: Παρουσίαση της αύξησης της αντοχής των καλλιεργειών σε διάφορους τύπους στρες (π.χ. ξηρασία, αλατότητα, ψύχος, θερμότητα) μέσω των βιοδιεγερτών (περιοδικό *Agriculture, Ecosystems & Environment*)

1.2 Μηχανισμοί Βιοδιεγερτών και Διάκριση

Η διάκριση των βιοδιεγερτών γίνεται βάσει της σύστασής τους και οι κατηγορίες είναι οι εξής:

Πίνακας 1: Διάκριση βιοδιεγερτών και βασική περιγραφή τους

Κατηγορία Βιοδιεγερτών	Περιγραφή
Βιοδιεγέρτες φυτικής προέλευσης	Προέρχονται από φυτικά εκχυλίσματα ή παράγωγα (π.χ. αμινοξέα, πεπτίδια, πολυσακχαρίτες).
Βιοδιεγέρτες μικροβιακής προέλευσης	Περιλαμβάνουν μικροοργανισμούς, όπως βακτήρια (π.χ. ριζόβια) και μύκητες (π.χ. Trichoderma).
Ουσίες από φύκια και θαλάσσιους οργανισμούς	Περιλαμβάνουν εκχυλίσματα φυκιών, πλούσια σε φυσικές ορμόνες και ιχνοστοιχεία.
Βιοδιεγέρτες οργανικής προέλευσης	Προέρχονται από οργανικά υλικά, όπως κομπόστ, χουμικά και φουλβικά οξέα.
Χημικές ουσίες	Περιλαμβάνουν συνθετικά ή φυσικά μόρια, όπως το ινδολοξικό οξύ (IAA) και άλλες φυσικές ορμόνες.
Εντομογενείς βιοδιεγέρτες	Προέρχονται από προϊόντα που παράγονται από έντομα (π.χ. insect frass) και χρησιμοποιούνται ως εδαφοβελτιωτικά.

Πιο αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται οι διαφορές μεταξύ των βιοδιεγερτών καθώς και τα κύρια χαρακτηριστικά τους

Πίνακας 2: Κύρια χαρακτηριστικά βιοδιεγερτών βάση επιστημονικών ερευνών

	Χουμικές ενώσεις	Εκχυλίσματα φυκών	Προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και αμινοξέα	Ωφέλιμοι μικροοργανισμοί
Προέλευση	Αποσύνθεση φυτικών και μικροβιακών υπολειμμάτων, βρίσκονται στην οργανική ουσία του εδάφους (Stevenson, 1994 , Canellas et al., 2024, Nardi et al., 2016)	Φυτικοί οργανισμοί που ανήκουν στα θαλλόφυτα, καφέ φύκια γένους Ascophyllum, Fucus, Laminaria. Τα φύκια δρουν στο έδαφος και στα φυτά (Craigie et al., 2008, Khan et al., 2009).	-υδρόλυση πρωτεϊνών φυτικών και ζωικών αποβλήτων -εργαστηριακή σύνθεση μετά από χημική, θερμική, ή ενζυματική υδρόλυση (Colla et al., 2014).	Μύκητες και βακτήρια: ενδομυκκορίζες, (είδη glomeromycota), ριζοβακτήρια του εδάφους και του νερού αλλά και ενδοσυμβιωτικά βακτήρια . - Trichoderma spp (Ali et al., 2022)
Επίδραση στο έδαφος	Σταθεροποίηση της δομής του εδάφους, συνεισφορά στη γονιμότητα	- καλύτερος αερισμός των πόρων του εδάφους και	Ρύθμιση της αφομοίωσης του αζώτου , επιτυγχάνεται με την	Ανάλογα το είδος του μύκητα μπορεί να αξιοποιηθεί ως συμβίωση του μύκητα και του

	(Trevisan et al., 2010).	κατακράτηση του νερού -ανταλλαγή χρήσιμων στοιχείων μέσω της μικροχλωρίδας του εδάφους	παραγωγή των ειδικών ενζύμων που αφορούν την αζωτοδέσμευση ενεργώντας στο μονοπάτι σηματοδότησης της πρόσληψης N στις ρίζες.	φυτού με τη μορφή του παρασιτισμού (Behie and Bidochka, 2014)
Επίδραση στους φυτικούς ιστούς	-Ανάπλαση ριζικού συστήματος, κατακόρυφη αύξηση του κεντρικού ριζικού συστήματος, διαφοροποίηση πλευρικών ριζικών τριχιδίων (Zandonadi et al., 2013)	Επάγουν την διεύρυνση των ριζών, την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών, την σύνθεση χλωροφυλλών στα φυλλικά μέρη του φυτού . Επιπρόσθετα , επικουρούν στην ανθεκτικότητα τους ενάντια σε αβιοτικούς και βιοτικούς παράγοντες καταπόνησης (Calvo et al., 2014; Jannin et al., 2013; Deolu-Ajayi et al., 2022).	Το ενζυματικό υδρόλυμα πρωτεϊνών σε μηδική (<i>Medicago sativa</i>) διεγείρει το ένζυμο φαινυλαλανίνη αμμωνία-λυάση (PAL), την έκφραση γονιδίων και την παραγωγή φλαβονοειδών υπό στρες άλατος	-Ανάπτυξη και θρέψη φυτού -Άμεση ανταπόκριση σε βιοτικό και αβιοτικό stress -Αλληλεπίδραση με άλλους οργανισμούς στα αγροοικοσυστήματα (Ahmad et al., 2008, Babalola , 2010 , Berendsenet, 2012, Berg et al., 2014, Bhattacharyya and Jha, 2012, Gaiero et al., 2013 , Philippot et al., 2013 , Vacheron et al., 2013)
Ρόλος	- αύξηση της ανταλλακτικής ικανότητας του εδάφους μέσω των πολυαμινικών οξέων. Τα χουμικά και φουλβικά οξέα προστατεύουν το φυτό από παράγοντες καταπόνησης	-βελτίωση της ποσότητας και της ποιότητας των παραγόμενων προϊόντων. -δρουν ως εδαφοβελτιωτικά λιπάσματα (Ali et al., 2016; Shukla et al., 2019; Battacharyya et al., 2015)	Η προλίνη που παράγεται φέρει χηλικοποιητικές ικανότητες, που προστατεύουν το φυτό από βαρέα μέταλλα.	-πρόσληψη θρεπτικών συστατικών από τα φυτά -διατήρηση υδατικού δυναμικού -ενίσχυση της ανθεκτικότητας έναντι βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων (Ma et al., 2022 , Stratton et al., 2022)

Ταξινόμηση :

Η ταξινόμηση των βιοδιεγερτών μπορεί να γίνει σε δύο κύριες κατηγορίες , φυτικοί και φυσικοί . Οι βιοδιεγέρτες αυτοί διαφέρουν ως προς την προέλευσή τους και τη φύση των συστατικών τους, ωστόσο όλοι συμβάλλουν στην ενίσχυση της ανάπτυξης των φυτών, βελτιώνοντας τις φυσιολογικές διαδικασίες τους και αυξάνοντας την αντοχή τους σε αβιοτικούς και βιοτικούς παράγοντες καταπόνησης. Οι φυτικοί βιοδιεγέρτες περιλαμβάνουν μία ποικιλία ουσιών και μικροοργανισμών που ενισχύουν τις φυσικές διεργασίες των φυτών. Αυτοί οι βιοδιεγέρτες προέρχονται κυρίως από φυσικές πηγές, όπως φυτικά εκχυλίσματα και οργανικές ενώσεις, που μπορούν να ενισχύσουν την ανάπτυξη, τη μεταφορά θρεπτικών συστατικών και την αντίσταση σε ασθένειες. Ειδικότερα , τα φυτικά εκχυλίσματα, που περιέχουν φυσικές ορμόνες ή άλλες θρεπτικές ουσίες, ενισχύουν τη ριζοβολία και τη βλάστηση του φυτού, επιταχύνοντας την ανάπτυξή του. Επίσης, οργανικές ενώσεις όπως αμινοξέα, πολυσακχαρίτες και πεπτίδια συμβάλλουν στην ενίσχυση της φυσικής αντοχής των φυτών. Σημαντική κρίνεται η συμβολή κάποιων ειδικών μικροοργανισμών , όπως τα βακτήρια του γένους *Rhizobium* ή τα μυκητοειδή του γένους *Trichoderma*, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να ενισχύσουν τη θρεπτική απορρόφηση από τις ρίζες και να προσφέρουν προστασία από παθογόνους οργανισμούς, βελτιώνοντας έτσι τη συνολική υγεία των φυτών (Shekhar Sharma et al. , 2014).

Οι φυσικοί βιοδιεγέρτες προέρχονται από ανανεώσιμες πηγές ή βιομηχανικά απόβλητα, και περιέχουν ωφέλιμους μικροοργανισμούς ή οργανικές ουσίες που ενισχύουν τη γονιμότητα του εδάφους και τη βιωσιμότητα των καλλιεργειών. Συγκεκριμένα, η κατηγορία των ανανεώσιμων πηγών περιλαμβάνει οργανικές ύλες που προέρχονται από φυτικά υποπροϊόντα ή άλλες ανανεώσιμες πηγές, οι οποίες επαναχρησιμοποιούνται για την ενίσχυση της ανάπτυξης των φυτών. Παράλληλα, τα βιομηχανικά απόβλητα που έχουν υποστεί επεξεργασία και περιέχουν θρεπτικά συστατικά για το έδαφος μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φυσικοί βιοδιεγέρτες, μειώνοντας έτσι την ανάγκη για χημικά λιπάσματα. Τέλος, οι μικροοργανισμοί που φυσιολογικά ενδημούν στο έδαφος, όπως οι μύκητες και τα βακτήρια, ενισχύουν τη βιοποικιλότητα του εδάφους και επιτρέπουν τη φυσική βελτίωση των εδαφικών συνθηκών, προσφέροντας θρεπτικά συστατικά και αυξάνοντας τη διαθέσιμη υγρασία.

Συμπερασματικά, η χρησιμοποίηση αυτών των βιοδιεγερτών, είτε φυτικής είτε φυσικής προέλευσης, προσφέρει μια βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική προσέγγιση στη γεωργία. Η εφαρμογή τους μπορεί να οδηγήσει σε βελτιωμένη παραγωγή και ποιότητα των καλλιεργειών, μειώνοντας ταυτόχρονα την ανάγκη για χημικές ουσίες και ενισχύοντας τη μακροπρόθεσμη υγεία του εδάφους. Με αυτό τον τρόπο, οι βιοδιεγέρτες βοηθούν επίσης στη διακοπή του ληθάργου, αυξάνουν το μέγεθος των καρπών, ενισχύουν την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, αυξάνουν τις δραστηριότητες των φωτοσυνθετικών και άλλων φυτικών ιστών, ενισχύουν το σφρίγος και την ομοιομορφία των φυτών, ρυθμίζουν την ανθοφορία και διεγείρουν την καρπόδεση και την ωρίμανση. Όλα αυτά τα αποτελέσματα προστίθενται στη βελτιωμένη και ισορροπημένη ανάπτυξη και παραγωγικότητα των καλλιεργειών.

Στην παρούσα πτυχιακή διατριβή εφαρμόσαμε φυσικούς βιοδιεγέρτες και τα αποτελέσματα ήταν αρκετά ικανοποιητικά. Σε σύγκριση με τα φυτά που δεν υπήρξε επέμβαση βιοδιεγέρτη, η ανάπτυξη τους ήταν φανερά ορατή και μειώθηκαν σημαντικά οι ασθένειες και η προσβολή από έντομα.

1.3 Διαθέσιμα Εμπορικά Σκευάσματα Βιοδιεγερτών

Όλο και πιο συχνά οι παραγωγοί στρέφονται σε βιολογικές στρατηγικές προκειμένου να έχουν ποιοτικά και αγνά προϊόντα. Συμπερασματικά, με την ζήτηση στα βιολογικά λιπάσματα να αυξάνεται η Παρασκευή τέτοιων διαλυμάτων θεωρείται αναγκαία. Παρακάτω αναφέρονται κάποια εμπορικά σκευάσματα βιοδιεγερτών που μπορούν να προμηθευτούν οι αγρότες για τον εμπλουτισμό του εδάφους και των φυτών από θρεπτικά συστατικά.

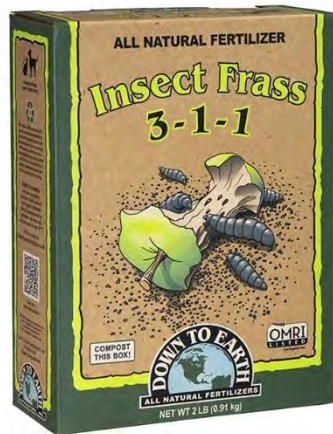
Πίνακας 3: Εμπορικά σκευάσματα βιοδιεγερτών (διαθέσιμα στην ελληνική αγορά)

Προϊόν εταιρείας	Σύνθεση	Δράση
BM86 (UPL)	Οργανικό λίπασμα με Εκχύλισμα θαλασσινών φυκιών 23-28% β/ο, βόριο 2,6%, μολυβδαίνιο 0,03% β/ο, οξείδιο του μαγνησίου 6,2%, θειικός ανυδριτής 12,3% β/ο	βοηθάει την ανάπτυξη των φυτών σε συνδυασμό με ανόργανη λίπανση δευτερευόντων στοιχείων και ιχνοστοιχείων. Κατάλληλο για τις καλλιέργειες μηλιάς, αχλαδιάς, αμπελιού, ελιάς, ακτινιδίου, λαχανικών(τομάτας, μελιτζάνας, πιπεριάς) και κολοκυνθοειδών. https://agro-net.gr/

Bombardier Protein	Συμπυκνωμένο από αμινοξέα, φουλβικά οξέα, οργανική ύλη, πολυσακχαρίδια, ένζυμα, αυξίνες, βεταΐνες, πρωτεΐνες και βιταμίνες.	Επιφέρει ανάπτυξη πράσινων μερών φυτού Περισσότερη αντίσταση στις συνθήκες στρες Αυξάνει την ποιότητα και την ποσότητα των καρπών. https://e-geoprostasia.gr/
Trainer (Italpollina S.p.A)	υγρό οργανικό αζωτούχο λίπασμα, Ολικό Άζωτο 5% Ξηρή ουσία 46% Πεπτίδια οργανικής προέλευσης 31% pH 4,2	Ενισχύει την παραγωγή ορμονών, αυξάνει την φωτοσυνθετική ικανότητα και περιέχει φυτικά πεπτίδια τα οποία είναι άμεσα απορροφήσιμα από το φυτό. Αυξάνει την ριζική επιφάνεια του φυτού. Αντιμετώπιση καταστάσεων stress που μπορούν να οφείλονται σε καύσιμα, παγετό, ξηρασία. https://fytopro.gr/
Tytanit (Agriside crop care)	οργανική, άμεσα βιοδιαθέσιμη μορφή τιτανίου, με μοναδικές βιοδιεγερτικές ιδιότητες. Με 0,8% β/β Τιτάνιο (Ti).	Βελτιώνει την επικονίαση και την καρπόδεση, με πολλά γόνιμα σπέρματα ανά καρπό. Ενισχύει τη φωτοσύνθεση, την παραγωγή χλωροφύλλης(https://agriside.gr)
YaraVita BIOTRAC (Yara)	Συνολική οργανική ουσία 20% β/ο Άζωτο (N) 6.5 % β/ο Οξείδιο του καλίου (K ₂ O) 2.7 % β/ο Βόριο (B) 1.3 % β/ο Ψευδάργυρος (Zn) 1.3 % β/ο	βοηθάει το φυτό να ξεπεράσει τις επιπτώσεις από αβιοτικές συνθήκες στρες (π.χ. κρύο και ξηρασία), Βελτιώνει την άνθηση, την καρπόδεση και την ανάπτυξη των φυτών, μεγιστοποιώντας την ποιότητα και ποσότητα παραγωγής. https://agroefodia-serres.gr/
MC Cream (valagro)	από τα φύκια <i>Ascophyllum nodosum</i> , περιέχει μπεταΐνες, αμινοξέα και φυσιικούς παράγοντες ανάπτυξης	διεγείρουν την ανάπτυξη του φυτού αυξάνοντας τις μεταβολικές και φωτοσυνθετικές δραστηριότητες (www. agroefodia-serres.gr)
MycoUp (Symborg)	βασίζεται στα μοναδικά είδη του μυκορριζικού μύκητα <i>Glomus iranicum var. tenuihypharum</i> .	προάγει μεγαλύτερη ανάπτυξη ριζών, μεγαλύτερη απορρόφηση νερού και θρεπτικών συστατικών, καθώς και μεγαλύτερη απόδοση και ευρωστία των καλλιεργειών. Καλύτερη ποιότητα φρούτων και εμπορικά μεγέθη. Καλύτερες φυσικές, χημικές και μικροβιολογικές ιδιότητες του εδάφους https://www.agroplace.gr

1.4 Frass Fertilizer: Χαρακτηριστικά και Εφαρμογές

Η παραγωγή χορτοδοτικών φυτών γενικά απαιτεί μεγάλες ποσότητες ανόργανων λιπασμάτων για να επιτευχθεί η σωστή ανάπτυξη και θρέψη (Swiader και Ware, 2002). Η παραγωγή εντόμων, ωστόσο, συμβάλλει στην αύξηση των πρωτεϊνών στα φυτά. Συγκεκριμένα, τα έντομα παράγουν περιττώματα που συλλέγονται από εξειδικευμένα προσωπικό για τη δημιουργία του frass fertilizer, ενός βιολογικού λιπάσματος. Τα βιολιπάσματα αποτελούν μια ιδανική λύση για τη γονιμότητα του εδάφους στην εναλλακτική γεωργία, προσφέροντας μια πιο βιώσιμη επιλογή για τους αγρότες που επιθυμούν να βελτιώσουν την ποιότητα του εδάφους και να ενισχύσουν την παραγωγικότητά τους (Xiao et al., 2018).



Εικόνα 1: εμπορικό σκεύασμα insect frass που προέρχεται από τα περιττώματα των προνυμφών και τους εξωσκελετούς των μαύρων μυγών στρατιωτών (διαδικτυακή πηγή : <https://downtoearthfertilizer.com>)

Επιπλέον, το frass εντόμων μπορεί να αξιοποιηθεί ως θρεπτικό υπόστρωμα, αντικαθιστώντας την τύρφη. Πολλές επιστημονικές μελέτες έχουν διεξαχθεί προκειμένου να εξεταστεί η χρήση των βιολογικών αποβλήτων εντόμων για την εφαρμογή τους σε κηπευτικά φυτά. Το Insect Frass αποτελείται κυρίως από περιττώματα εντόμων, ωστόσο συχνά περιέχει και υπολείμματα τροφών που δεν έχουν καταναλωθεί από τα έντομα, καθώς και θραύσματα από το εξωτερικό τους περίβλημα, τα οποία είναι πλούσια σε χιτίνη, μια οργανική ουσία που προσφέρει προστασία στα έντομα. Οι εν λόγω προσθήκες προκύπτουν από τη διαδικασία διαχωρισμού των

εντόμων από το frass, η οποία πραγματοποιείται με μηχανικό κόσκινο, το οποίο δεν έχει τη δυνατότητα να διαχωρίσει αποκλειστικά τα περιττώματα (Blakstad, 2021).

Το frass διαφόρων εντόμων έχει υποβληθεί σε αναλύσεις για τον προσδιορισμό του θρεπτικού του προφίλ. Συγκεκριμένα, οι Putra et al. (2017) παρατήρησαν διαφορές στη μελέτη των θρεπτικών συστατικών ανάμεσα σε διάφορα είδη περιττωμάτων εντόμων, όπως της μύγας *Parastratiophocomyia stratiophomyioides* και της κοινής ακατέργαστης κοπριάς ζώων. Στην ακατέργαστη κοπριά παρατηρήθηκε υψηλότερη συγκέντρωση αζώτου, ενώ στα περιττώματα της μύγας βρέθηκαν μεγαλύτερες ποσότητες φωσφόρου και καλίου.

Σύμφωνα με τη μελέτη των Katuwal et al. (2023), η οποία πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις παραγωγής του Πανεπιστημίου του Αρκάνσας (University of Arkansas Agricultural Research Station, Fayetteville, AR), οι συνθήκες παραγωγής περιλάμβαναν νεοσσούς πτηνοπαραγωγής και προνύμφες του εντόμου *Tenebrio molitor*, οι οποίες εκτράφηκαν για 42 ημέρες. Σκοπός της μελέτης ήταν η ανάλυση των περιττωμάτων αυτών σε θρεπτικά στοιχεία σε σύγκριση με τα περιττώματα εντόμων. Τα τελικά αποτελέσματα έδειξαν ότι το frass εντόμων είχε χαμηλότερο pH από τα αποχωρήματα των πτηνών (βλ. Πίνακα 1), το οποίο συνδέεται με την αυξημένη περιεκτικότητα σε βασικά κατιόντα, όπως ασβέστιο (Ca), κάλιο (K) και νάτριο (Na) (Ashworth et al., 2020).

Η συνολική περιεκτικότητα σε άνθρακα (C) και άζωτο (N) στα έντομα ήταν υψηλότερη από τα πτηνά. Συγκεκριμένα, το frass είχε 93% και 60% υψηλότερη περιεκτικότητα σε C και N αντίστοιχα σε σχέση με τους νεοσσούς, παρουσιάζοντας ενδιάμεση αναλογία C:N. Η περιεκτικότητα σε αμμώνιο ήταν υψηλότερη στα πτηνά, ενώ η περιεκτικότητα σε άζωτο ήταν μεγαλύτερη στα έντομα. Ως εκ τούτου, τόσο το frass των εντόμων όσο και τα περιττώματα των πτηνών αποτελούνται κυρίως από οργανικές μορφές αζώτου (97% και 73%, αντίστοιχα). Η περιεκτικότητα σε φώσφορο ήταν υψηλότερη στα πτηνά σε σχέση με το frass των εντόμων, ενώ η περιεκτικότητα σε μαγνήσιο (Mg) ήταν μεγαλύτερη στο frass. Επίσης, τα επίπεδα καλίου (K), ασβεστίου (Ca) και θείου (S) ήταν υψηλότερα στο frass σε σύγκριση με τα αποχωρήματα των πτηνών.

Graphical Abstract

Food waste and
organic by-products

Insect farming

36-40% C
49% more N than poultry litter



Εικόνα 2: Σύνθεση περιττωμάτων από το αρχικό στάδιο, τα έντομα τρέφονται με οργανικά υπολείμματα και μετατρέπουν τις τροφές αυτές μέσω των περιττωμάτων τους σε μεγάλο ποσοστό άνθρακα (Δημοσιεύτηκε από την Oxford University Press για λογαριασμό της Entomological Society of America, 2024)



Εικόνα 3: insect frass από το έντομο *zophobas morio* , σε δοσολογία 10 γραμ. και 20 γραμ , η παρασκευή έγινε στο εργαστήριο ζωολογίας και εντομολογίας του πανεπιστημίου Γαιόπολις

Σύμφωνα με τις τελευταίες μελέτες, παρατηρείται ότι ένα σημαντικό ποσοστό θετικών προτάσεων αφορά τη χρήση φυσικών εδαφοβελτιωτικών, σε σύγκριση με τις χημικά επεξεργασμένες μορφές, καθώς συμβάλλουν στην εμπλουτισμένη διαχείριση του εδαφικού υποστρώματος με οργανικές ουσίες και πληθώρα θρεπτικών στοιχείων (Shaji et al., 2021). Αυτά τα εδαφοβελτιωτικά έχουν την ικανότητα να βελτιώνουν το παραγωγικό προφίλ των καλλιεργειών, δεδομένου ότι περιέχουν σημαντικές ποσότητες αζώτου, ενός στοιχείου το οποίο συνήθως παρουσιάζει αυξημένη ζήτηση στα γεωπονικά καταστήματα σε σχέση με τα υπόλοιπα θρεπτικά συστατικά που απαιτούνται για την ανάπτυξη των καλλιεργειών (Beesigamukama et al., 2020).

Συλλογή περιττωμάτων :

Η διαδικασία συλλογής του frass πραγματοποιείται από εκτροφές με διάρκεια άνω των 8 εβδομάδων. Κατά τη διαδικασία, το περιεχόμενο των εκτροφών αδειάζεται

σταδιακά στη μηχανή κοσκίνισης, η οποία είναι εξοπλισμένη με σειρά κόσκινων. Τα κόσκινα που χρησιμοποιούνται έχουν διάμετρο 500 μm έως 1,4 mm. Το υλικό που περνά από το κόσκινο των 500 μm συλλέγεται και χρησιμοποιείται ως frass για το πείραμα. Όλες οι διαδικασίες ακολουθήθηκαν σύμφωνα με τα πρότυπα και τα πρωτόκολλα που προτείνει η Ιδρυματική Μέριμνα Ζώων και Επιτροπή Χρήσης (IACUC)

Μεταχείριση frass πριν το πείραμα - Αμεταποίητο (untreated frass – UF).

Το frass τοποθετείται αμέσως μετά τη συλλογή σε αεροστεγή βάζα 1 λίτρου στο ψυγείο (4-7 °C) για 5-7 μήνες .

Αρκετές μελέτες έχουν προτείνει την αποτελεσματική χρήση του IF ως λίπασμα, όμως πολλές επικεντρώνονται στην ικανότητα του να λειτουργεί ως βιοδιεγέρτης, στην επαγωγή άμυνας των φυτών σε αβιοτικές και βιοτικές καταπονήσεις, καθώς και στη βελτίωση των χαρακτηριστικών του εδάφους. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά έρευνες της τελευταίας δεκαετίας.

Πίνακας 4: Πρόσφατες έρευνες της χρήσης του *Insect Frass* στη γεωργία. (Poveda, 2021).

Έντομο	Είδος καλλιέργειας	Αποτέλεσμα πειράματος	Ερευνητική επιμέλεια
<i>Zophobas morio</i>	Κάκτος	Προώθηση της ανάπτυξης των φυτών	Koh et al.,2020
<i>Chlorophorus annularis</i>	Μαρούλι	Αυξημένη βλάστηση και ανάπτυξη φυτών	Khan et al. ,2016
<i>Tenebrio molitor</i>	Φασόλι	Αυξημένη ανοχή σε αβιοτικά στρες, Παρουσία μικροοργανισμών που προάγουν την ανεκτικότητα των φυτών	Poveda et al. ,2019
<i>Hermetia illucens</i>	Ζαχαρότευτλα,Κάρδαμο	μειώνει τη νόσο που προκαλείται από παθογόνα <i>Rhizoctonia solani</i> και <i>Pythium ultimum</i>	Elissen et al. ,2019
<i>Mamestra brassicae</i>	Λάχανο	Αυξημένη περιεκτικότητα σε άζωτο στους φυτικούς ιστούς, Προώθησή της ανάπτυξης των	Kagata και Ohgushi ,2011,2012α

		φυτών, Παροχή αζώτου στο έδαφος	
<i>Ostrinia nubilalis</i>	Αραβόσιτος	Ενεργοποίηση της άμυνας των φυτών έναντι παθογόνων και παρασίτων	Ray et al. , 2016β
<i>Spodoptera frugiperda</i>	Αραβόσιτος	Ενεργοποίηση της άμυνας των φυτών έναντι των παθογόνων, Παρουσία χιτινασών, Παρουσία βακτηρίων που προκαλούν την άμυνα των φυτών	Ray et al. ,2016β, Acevedo et al., 2017
<i>Phthorimaea operculella</i>	Πατάτα	Μείωσε την ωστοκία του εντόμου παρασίτου	Zhang et al. ,2019

1.5 Εφαρμογή Βιοδιεγερτών στο Μαρούλι (*Lactuca sativa* L.)



Εικόνα 4: μαρούλι στον αγρό στην τελικό στάδιο ανάπτυξης της καλλιέργειας (διαδικτυακή πηγή : www.stepagro.gr)

ΜΑΡΟΥΛΙ:

Γενικά:

Το μαρούλι (*Lactuca sativa*) είναι ένα ετήσιο, ποώδες φυτό που ανήκει στην τάξη Asterales και στην οικογένεια Asteraceae. Η ποικιλία που καλλιεργείται σήμερα προέρχεται από το άγριο μαρούλι (*Lactuca serriola* ή *scariola* L), το οποίο είναι

αυτοφυές σε πολλές Ευρωπαϊκές χώρες. Το μαρούλι διαθέτει διάφορες ποικιλίες, οι οποίες διαφοροποιούνται ανάλογα με χαρακτηριστικά όπως το χρώμα, η πρώιμη ανάπτυξη, η εποχή καλλιέργειας, η ανθεκτικότητα σε ασθένειες, έντομα κ.λπ.

Ιστορική αναδρομή:

Το μαρούλι άρχισε να καλλιεργείται για πρώτη φορά από τους Αιγύπτιους στην αρχαιότητα. Στη συνέχεια, η καλλιέργεια του διαδόθηκε στους αρχαίους Έλληνες και Ρωμαίους, ενώ στην κεντρική και βόρεια Ευρώπη έγινε γνωστό γύρω στο 800 μ.Χ. Σήμερα, το μαρούλι καλλιεργείται σε όλο τον κόσμο και συγκαταλέγεται στις πιο σημαντικές ποικιλίες φυλλωδών λαχανικών. (Δημητράκης, 1998).

Βοτανικά χαρακτηριστικά:

Η ρίζα του μαρουλιού είναι πασσαλώδης με μήκος που φτάνει έως τα 0,5 m. Τα φύλλα εξέρχονται από τον βλαστό, ο οποίος είναι κοντός και δεν αναπτύσσεται σε ύψος, με αποτέλεσμα αρχικά το φυτό να μοιάζει με ροζέτα. Τα φύλλα είναι λεία, διαφόρου μεγέθους, επιμήκη και εμφανίζονται σε σπειροειδή διάταξη. Τα πρώτα φύλλα είναι σχεδόν επίπεδα, ενώ στη συνέχεια τα φύλλα εμφανίζονται με μια κύρτωση. Τα άνθη είναι ερμαφρόδιτα και οργανώνονται σε ταξιανθίες (15-25 άνθη).



εικόνα 6: φυτό μαρουλιού πειράματος



Εικόνα 5: Ρίζα μαρουλιού

1.6 Απαιτήσεις Ανάπτυξης Μαρουλιού

Έδαφος:

Γενικά, το μαρούλι είναι ευαίσθητο φυτό και απαιτεί γόνιμο έδαφος, πλούσιο σε θρεπτικά στοιχεία, με καλή στράγγιση και υψηλό βαθμό υδατοϊκανότητας. Επιπλέον, το έδαφος της καλλιέργειας θα πρέπει να έχει χαμηλή συγκέντρωση σε άλατα. Τα πιο κατάλληλα εδάφη για καλλιέργεια θεωρούνται τα αμμοπηλώδη με άριστο pH από 6 έως 7.

Θερμοκρασία:

Το μαρούλι θεωρείται φυτό ψυχρής εποχής και απαιτεί σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες για να αναπτυχθεί ικανοποιητικά. Οι άριστες συνθήκες θερμοκρασίας εξαρτώνται από ποικίλους παράγοντες όπως είναι ο τύπος και η ποικιλία του μαρουλιού, η εποχή καλλιέργειας και το επίπεδο του CO₂. Στο σπορείο, η άριστη θερμοκρασία για τη βλάστηση των σπόρων κυμαίνεται μεταξύ 15-21 °C. Γενικά, συνιστάται η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της νύχτας να διατηρείται 5-7 °C χαμηλότερα σε σχέση με τη θερμοκρασία που επικρατεί κατά τη διάρκεια της ημέρας.

Φως:

Ως φυτό μεγάλης ημέρας, ο φωτισμός είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες, ειδικά στις θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Το φως επηρεάζει σημαντικά τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα, συνεπώς και τον ρυθμό ανάπτυξης. Επίσης, η ένταση του φωτισμού σε συνδυασμό με τη σύσταση του θρεπτικού διαλύματος, επηρεάζουν την απορρόφηση του αζώτου. Έτσι, σύμφωνα με τον Wheeler (Wheeler, 1994) η απορρόφηση του αζώτου από τα φυτά αυξάνεται ανάλογα με την αύξηση της έντασης του φωτός.

CO₂:

Έχει αποδειχθεί ότι η τεχνική αύξηση της συγκέντρωσης του CO₂ στο χώρο του θερμοκηπίου σε επίπεδα υψηλότερα από τα κανονικά (γύρω στα 1000-1500 ppm) έχουν μία θετική επίδραση στην ανάπτυξη, την πρωίμιση και την παραγωγή του μαρουλιού (Walls, 1993).

Άρδευση και Λίπανση:

Το μαρούλι έχει σημαντικές ανάγκες σε νερό, ειδικά όταν η καλλιεργείται κατά τις θερμές εποχές του έτους. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι κατά τους θερμούς μήνες, η κατανάλωση νερού ανά στρέμμα καλλιέργειας ανέρχεται σε 2-3 m³. Στην Ελλάδα και άλλες Μεσογειακές χώρες στο σύστημα άρδευσης που ακολουθείται είναι κατά κανόνα στάγδην. Συνήθως, γίνεται υδρολίπανση, κατά την οποία τα θρεπτικά παρέχονται στα φυτά μέσω του νερού άρδευσης. Οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών αλλάζουν, ανάλογα με το είδος του εδάφους. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα στα θρεπτικά διαλύματα θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ των 2,2-2,6 dS m⁻¹ (Σάββας, 2011).

Συγκομιδή:

Ο χρόνος της συγκομιδής εξαρτάται από την ποικιλία, την εποχή μεταφύτευσης και την εποχή της καλλιέργειας. Σε γενικές γραμμές στην Ελλάδα απαιτούνται 1,5-3 μήνες από τη μεταφύτευση έως την συγκομιδή. Σημαντικό είναι να γίνεται όταν επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες και τα φυτά είναι στεγνά.

Αποθήκευση:

Διατηρούνται σε καλή ποιότητα για 10-14 ημέρες σε θερμοκρασία 1 °C και σε σχετική υγρασία 95-97%.

Συμπερασματικά, η εφαρμογή βιοδιεγερτικών στην καλλιέργεια μαρουλιού μπορεί να βοηθήσει στην επίτευξη καλύτερης θρεπτικής ποιότητας του μαρουλιού και να βοηθήσει τα φυτά να ξεπεράσουν πιθανές αγχωτικές συνθήκες ανάπτυξης.

1.7 Βιολογικά Κηπευτικά στην Ε. Ε.

Η συνεχώς αυξανόμενη εισροή γενετικά τροποποιημένων και χημικά επεξεργασμένων τροφίμων οδηγεί όλο και περισσότερους ανθρώπους στην επιλογή βιολογικών φρούτων και λαχανικών. Το κλίμα της Ευρώπης, και ιδιαίτερα το μεσογειακό, προσφέρει ιδανικές συνθήκες για την ανάπτυξη αυτών των καλλιεργειών.

Σε σύγκριση με άλλα τρόφιμα, τα λαχανικά και τα φρούτα αποτελούν πολύτιμες πηγές βιταμινών, μετάλλων, ιχνοστοιχείων, διαιτητικών ινών, καθώς και πλήθους ευεργετικών φυτοχημικών ουσιών. Παρά τη γενική αντίληψη ότι είναι υγιεινά, οι συστάσεις για κατανάλωση τουλάχιστον πέντε μερίδων φρούτων και λαχανικών ημερησίως παραμένουν ανεκπλήρωτες για σημαντικό μέρος του πληθυσμού σε πολλές

χώρες, σύμφωνα με στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (2003) και σχετικών ερευνών (Pomerleau et al., 2004).

Ωστόσο, εκτός από τα θρεπτικά συστατικά, αυτά τα τρόφιμα μπορεί να περιέχουν και ανεπιθύμητες ουσίες, όπως περιβαλλοντικούς ρύπους (π.χ. νιτρικά άλατα, υπολείμματα φυτοφαρμάκων) ή παθογόνους μικροοργανισμούς και τους μεταβολίτες τους.



Εικόνα 7: Βιολογικά λαχανικά (διαδίκτυακή πηγή :www.syrafresca.gr)

Οι ολοένα αυξανόμενες ανησυχίες των καταναλωτών για την ποιότητα και την ασφάλεια των τροφίμων, λόγω της παρουσίας επιβλαβών μολυσματικών ουσιών, αποτελούν έναν από τους βασικούς παράγοντες που οδηγούν στη μεγαλύτερη ζήτηση για βιολογικά τρόφιμα

(Magkos et al., 2003). Η αυξημένη δημοτικότητα των βιολογικών προϊόντων αντικατοπτρίζεται στην ανάπτυξη της αγοράς βιολογικών τροφίμων τόσο στο Βέλγιο όσο και σε άλλες ευρωπαϊκές χώρες (Abando and Rohner-Thielen, 2007, Samborski et al., 2007).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η καλλιέργεια βιολογικών κηπευτικών λαχανικών θεωρείται, σε μεγάλο βαθμό, μια αξιόπιστη λύση για τη διασφάλιση της ποιότητας και της ασφάλειας στην κατανάλωση.

Πίνακας 4: Τα πλεονεκτήματα που κάνουν τα βιολογικά κηπευτικά ιδιαίτερα δημοφιλή στην Ευρώπη και συντελούν στην ενίσχυση της αγοράς τους, τόσο σε τοπικό όσο και σε διεθνές επίπεδο (Tuomisto, HL, et al. ,2012)

Κατηγορία	Περιγραφή
Περιβαλλοντική Βιωσιμότητα	- Μείωση χρήσης χημικών λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων: Περιορίζει τη ρύπανση υδάτων και εδαφών. - Προστασία της βιοποικιλότητας: Ενισχύει την ισορροπία οικοσυστημάτων μέσω βιώσιμων πρακτικών. - Μείωση εκπομπών αερίων θερμοκηπίου

	Οι πρακτικές βιολογικής καλλιέργειας περιορίζουν τα αέρια θερμοκηπίου με την απορρόφησης άνθρακα.
Οικονομική Ανάπτυξη	-Πλήρης ευθυγράμμιση: Εφαρμογή αυστηρών προδιαγραφών της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τη βιολογική γεωργία. -Στήριξη τοπικών αγροτών: Ενίσχυση αγροτικών κοινοτήτων και παραγωγών.
Θρεπτική Αξία	- Υψηλότερες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών και φυτοθρεπτικών συστατικών τα βιολογικά προϊόντα περιέχουν περισσότερα θρεπτικά συστατικά, όπως βιταμίνες C και E. - Μειωμένα επίπεδα βαρέων μετάλλων: Ασφαλέστερα τρόφιμα για κατανάλωση. - Υποστήριξη θρεπτικής αξίας μέσω φυσικών μεθόδων καλλιέργειας.
Ασφάλεια Τροφίμων	- Μικρότερη έκθεση σε υπολείμματα φυτοφαρμάκων: Ελαχιστοποιεί τους κινδύνους για τους καταναλωτές. - Αποκλεισμός γενετικά τροποποιημένων οργανισμών (ΓΤΟ): Ενισχύεται η εμπιστοσύνη στη βιολογική παραγωγή.
Υγεία Καταναλωτών	-Προώθηση υγιεινής διατροφής: Ενθάρρυνση κατανάλωσης φυσικών και μη επεξεργασμένων τροφίμων. -Μείωση κινδύνου ασθενειών: Συμβολή στη μείωση χρόνιων ασθενειών όπως καρδιαγγειακές παθήσεις.
Κατανάλωση & Συνείδηση	- Αύξηση καταναλωτικής εμπιστοσύνης: Τα βιολογικά προϊόντα γίνονται η πρώτη επιλογή για τους καταναλωτές. - Ενίσχυση τοπικών παραγωγών: Υποστήριξη της τοπικής οικονομίας μέσω βιώσιμων πρακτικών. - Ευαισθητοποίηση για περιβαλλοντικά ζητήματα

1.8 TO ENTOMO ZOPHOBAS MORIO

Τα περιττώματα που λήφθηκαν για την διεξαγωγή του πειραματικού μέρους της πτυχιακής διατριβής για την παραγωγή frass ανήκουν στο σκαθάρι zophobas morio. Το έντομο Zophobas morio ο γνωστός υπέρ-σκώληκας, το σκουλήκι γίγαντας, σκουλήκι morio ή zophobas, το Zophobas morio είναι ένα σημαντικό έντομο στον τομέα της εντομοφαγίας (Rumbos & Athanassiou, 2021). Είναι ένα από τα μεγαλύτερα σκαθάρια και ανήκει στην Τάξη Coleoptera και στην Οικογένεια Tenebrionidae, το

οποίο εκτρέφεται κυρίως ως τροφή για ερπετά , ψάρια και πτηνά (Rumbos & Athanassiou, 2021).

Το σκαθάρι αυτό έχει καταγωγή από την Κεντρική και Νότια Αφρική (Hangstrum & Subramanyam, 2009). Το *Zophobas morio* αποτελεί μία άριστη διατροφική επιλογή, αφού οι προνύμφες του περιέχουν μεγάλα ποσά αζώτου , λιπιδίων, σημαντικών αμινοξέων, κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών καθώς και πολλών μετάλλων και βιταμινών (Rumbos & Athanassiou, 2021).

Το «γιγαντιαίο σκουλήκι» ή << υπερσκώληκας >> είναι ένα εκτρεφόμενο σκαθάρι με μακρύ, στενό σώμα που φτάνει σε μήκος τα 38-58 mm, αποτελείται από νηματοειδείς κεραίες (Rumbos & Athanassiou, 2021) και μπορεί να ζήσει έως και 6 μήνες (Bukkens, 1997) (Fursov & Cherney, 2018).



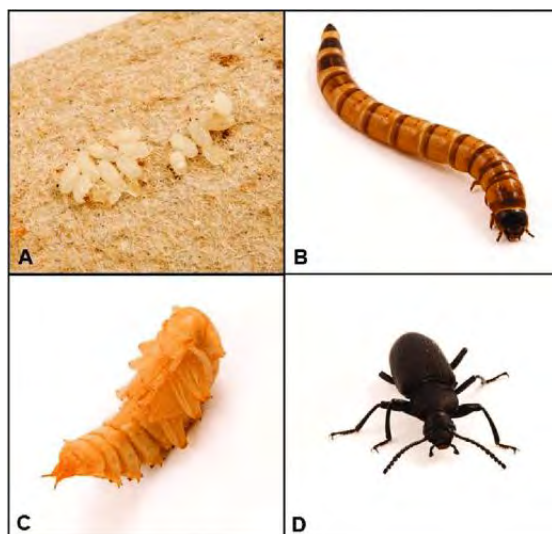
Εικόνα 8: Διαδικτυακή Πηγή (διαδικτυακή πηγή : www.bugguide.net)

Ταξινόμηση

Πίνακας 5: Ταξινόμηση του εντόμου *zophobas morio* (Fabricius , 1776)

Κατηγορία	Επιστημονική Κατάταξη
Βασίλειο	<i>Animalia</i>
Φύλο	<i>Arthropoda</i>
Κλάση	<i>insecta</i>
Τάξη	<i>coleoptera</i>
Οικογένεια	<i>tenebrionidae</i>
Γένος	<i>zophobas</i>
Είδος	<i>z. morio</i>
Κοινή ονομασία	<i>Superworm, giant mealworm, Morio worm , zophobas, Υπερσκώληκας</i>

Μορφολογία – Βιολογία



Εικόνα 9: Κύκλος ζωής του *zophobas morio* :Α) αυγά , Β) Προνύμφη ώριμης ηλικίας , Γ) Νύμφη ,Δ) Ενήλικο έντομο (Πηγή : Furson and Cherney 2018)

Αυγά :

Τα θηλυκά σκαθάρια έχουν την δυνατότητα να γεννήσουν πάνω από 2200 αυγά κατά τη διάρκεια της ζωής τους (Tschinkel, 1993). Τα αυγά τους έχουν οβάλ σχήμα με στρογγυλεμένες άκρες μεγέθους 1,7mm x 0.7mm και υπόλευκου χρώματος (Furson & Cherney, 2018). Σε 8 ημέρες μετά την εκκόλαψη τους και σε ιδανική θερμοκρασία 25°C (Kim, et al., 2015), εμφανίζονται οι προνύμφες μήκους 55mm και μπορούν να μεταμορφωθούν έως και 2-4cm όταν πλησιάζει η «συγκομιδή» τους (Friederich & Volland, 2004; Jabir, et al., 2012).

Προνύμφες :

Οι προνύμφες του *zophobas morio* έχουν κίτρινο και σκούρο καφέ χρώμα στο πάνω μέρος του σώματος τους (Furson & Cherney, 2018).

Διαθέτουν κυλινδρικό, έντονα σκληροποιημένο εξωσκελετό, κωνικά στενωμένο από τη βάση του έβδομου στο ένατο κοιλιακό τμήμα.



Εικόνα 10: προνύμφες *zophobas morio* (Νταλάκας Ιωάννης, 2021)

Σε αυτό το σημείο, οι συγγραφείς εντόμου (Tschinkel & Willson, 1971; Quennedey, et al., 1995) αναφέρουν ότι οι προνύμφες δεν μεταμορφώνονται σε νύμφες όταν βρίσκονται σε κατάσταση

υπερπληθυσμού , παρότι οι εκδύσεις συνεχίζονται μέχρι την απεβίωση του σκαθαριού. Επομένως , στη μαζική παραγωγή εντόμων η απομόνωση των προνυμφών κρίνεται αναγκαία , για την συνέχιση των εξελικτικών σταδίων και την μελέτη τους (Rumbos & Athanassiou, 2021).

Πίνακας 6:Περιεκτικότητα σε αμινοξέα (%) των προνυμφών *Zophobas morio*, Οι τιμές δείχνουν το εύρος των μέσων τιμών από δημοσιευμένες πηγές (Finke 2002 ,2007 , 2015 ,Bosch et al. , 2014).

Αμινοξέα	Περιεκτικότητα σε αμινοξέα σε ποσοστό %
Αργινίνη	2,2 – 3,5
ιστιδίνη	1,4 - 2,3
Λευκίνη	3,4 -4,5
λυσίνη	2,4 -2,9
Ισολευκίνη	2,2 - 2,4
φαινυλαλανίνη	1,6 - 2,2
μεθειονίνη	0,5 - 1,0
θρεονίνη	1,9 - 2,0
Τρυπτοφάνη	0,4 - 0,5
Βαλίνη	2,4 - 3,4
Αλανίνη	3,4 - 4,0
Ασπαρτικό οξύ	3,8 - 4,7
Γλυκίνη	2,3 - 3,0
Σερίνη	2,2 - 2,7
Προλίνη	2,6 - 3,7
Κυστίνη	0,4 - 0,5
Γλουταμινικό οξύ	5,7 - 6,6
τυροσίνη	3,3 - 3,9

Νύμφες:

Εφόσον οι προνύμφες μετατραπούν σε νύμφες, παραμένουν σε αυτό το στάδιο για 13-15 ημέρες (25°C), ενώ άριστη θερμοκρασία ανάπτυξής τους είναι 29°C (Quennedey, et al., 1995).Ομοίως με άλλα είδη tenebrionidae, όπως το T.

molitor και το *A. diaperinus* , τα άτομα μπορούν εύκολα να διαχωριστούν σε φύλο σε αυτό το στάδιο της ζωής σημειώνοντας δύο διακριτά προεξέχοντα πυγόποδα στο ένατο κοιλιακό τμήμα των θηλυκών χρυσαλλίδων κοντά στον ουρογόμοφο, οι οποίες απουσιάζουν από τις αρσενικές (Fursov and Cherney 2018)



Εικόνα 11: Ενήλικο σκαθάρι σε συνθήκες εκτροφείου



Εικόνα 12: Συνοπτικά , τα στάδια ανάπτυξης του εντόμου (Nagdalian Andrey Ashotovitch et al., “*Zophobas Morio Semi Industrial Cultivation Peculiarities*”, 2018)

Συνθήκες ανάπτυξης

Υπάρχουν αρκετοί περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη αυτού του εντόμου, αλλά και το ρυθμό της ανάπτυξής του. Μερικοί από αυτούς είναι η θερμοκρασία, η σχετική υγρασία, η φωτοπερίοδος, η διατροφή τους και τα θρεπτικά συστατικά που προσλαμβάνουν (Spang, 2013).

Η ανάπτυξη του *Zophobas morio* εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διατροφή, η οποία επηρεάζει τόσο τον ρυθμό ανάπτυξης όσο και την τελική μορφολογία και την υγεία των προνυμφών. Παράγοντες όπως η ποιότητα, η ποσότητα, η ποικιλία και η υγρασία της τροφής διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον κύκλο ζωής του εντόμου.

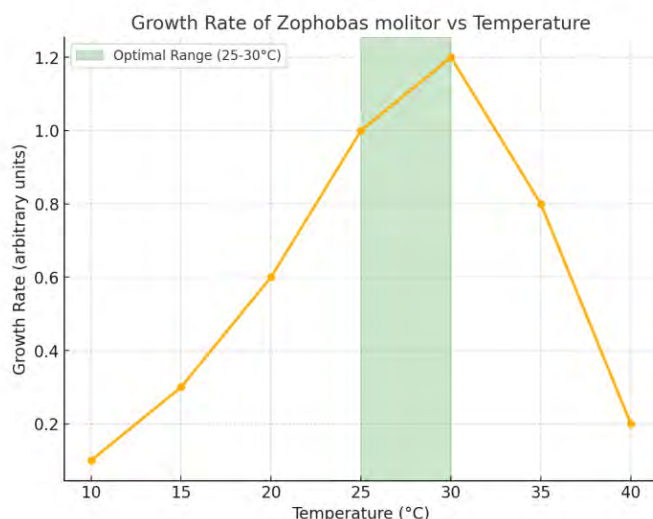
Η ποιότητα της τροφής είναι κρίσιμη για την ανάπτυξη των προνυμφών. Οι τροφές πλούσιες σε πρωτεΐνες, όπως το πίτουρο σιταριού και η σκόνη ψαριού, προάγουν την ταχεία ανάπτυξη και τη μετατροπή σε νύμφες και ενήλικα έντομα. Εντούτοις, οι υδατάνθρακες, που βρίσκονται σε τρόφιμα όπως οι πατάτες και τα

καρότα, παρέχουν την ενέργεια για τις μεταβολικές λειτουργίες. Αντίθετα, η ανεπάρκεια θρεπτικών συστατικών οδηγεί σε επιβράδυνση της ανάπτυξης και μπορεί να αυξήσει τη θνησιμότητα.

Φρέσκα τρόφιμα, όπως καρότα και αγγούρια, υγρασία, η οποία διευκολύνει την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών και μειώνει την αφυδάτωση. Αντίθετα, η αποκλειστική χρήση τροφών μπορεί να προκαλέσει προβλήματα που δεν συνδυαστούν με πηγές ξηρών τροφών.

Η διατροφή αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την ανάπτυξη του *Zophobas morio*. Η ισορροπημένη παροχή ποιοτικής και ποικίλης τροφής με επαρκή υγρασία προάγει τον ρυθμό ανάπτυξης, μειώνει τη θνησιμότητα και εξασφαλίζει υψηλής ποιότητας έντομα, κατάλληλα για βιομηχανικές και ερευνητικές εφαρμογές.

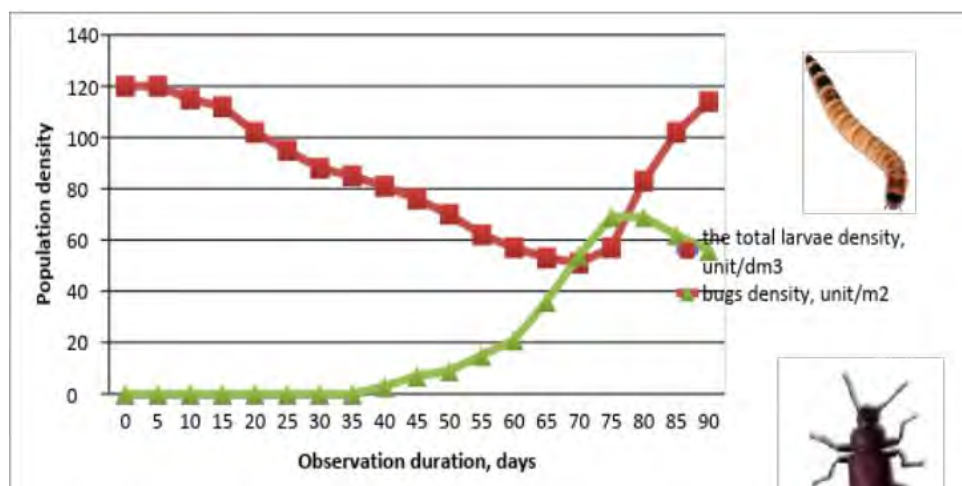
Το *Z. morio* αναπτύσσεται βέλτιστα σε θερμοκρασίες μεταξύ 25-28°C και με σχετική υγρασία 60-70% (Rumbos & Athanassiou, 2021). Οι συνθήκες αυτές θεωρούνται ιδανικές τόσο για την ανάπτυξη όσο και για την αναπαραγωγή του εντόμου. Ωστόσο, παρατηρείται ότι ο υπερπληθυσμός και η κανιβαλιστική συμπεριφορά επιδρούν αρνητικά στην ανάπτυξη και τη συνολική παραγωγικότητα των εντόμων αυτών (Tschinkel, 1981; Ichikawa & Kurauchi, 2009; VandenBrooks et al., 2020).



Διάγραμμα 3: Παρουσιάζεται ο ρυθμός ανάπτυξης του εντόμου *Zophobas morio* σε σχέση με τη μεταβλητή της θερμοκρασίας (Rueda, LM, & Axtell, 1996)

Η μαζική εκτροφή *Z. morio* μπορεί να επηρεαστεί από μολυσματικούς μικροβιακούς παράγοντες, οι οποίοι μεταδίδονται μέσω της κανιβαλιστικής

συμπεριφοράς, παρέχοντας οδούς εισόδου για παθογόνα (Maciel-Vergara et al., 2018). Παρά τη σημασία αυτών των παραγόντων, οι πληροφορίες σχετικά με τις ασθένειες αυτού του είδους είναι περιορισμένες. Αναφορές από μελέτες έχουν αρχίσει να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τους μικροβιακούς παράγοντες που επηρεάζουν το *Z. morio* (Liu et al., 2012; Bakonyi et al., 2015; Maciel-Vergara et al., 2018; Tokarev et al., 2019).



Διάγραμμα 4: Απεικονίζει τη διακύμανση του πληθυσμού του *Zophobas morio* βάση πειραματικών δεδομένων μετρημένων σε μέρες (Nagdalian Andrey Ashotovich et al., *Zophobas Morio Semi Industrial Cultivation Peculiarities*, 2018)

Κατά την εμπορική παραγωγή *Z. morio*, οι βέλτιστες συνθήκες εκτροφής περιλαμβάνουν θερμοκρασίες 25-28°C και μέση σχετική υγρασία 60-70%. Παρά τους υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης που έχουν καταγραφεί για τις προνύμφες (Zaelor & Kitthawee, 2018), συνθήκες συνωστισμού μειώνουν την απόδοση και επηρεάζουν τη συνολική βιομάζα. Η κανιβαλιστική συμπεριφορά είναι συχνό φαινόμενο σε πυκνές καλλιέργειες, επηρεάζοντας αρνητικά την παραγωγή, ανεξαρτήτως της πυκνότητας (Tschinkel, 1981; Ichikawa & Kurauchi, 2009).

Υπάρχουν λίγες αναφορές για τη μαζική και βιώσιμη παραγωγή *Z. morio* παραμένει περιορισμένη σε σύγκριση με άλλα έντομα, όπως το *T. molitor* και το *H. illucens*, των οποίων οι μέθοδοι παραγωγής έχουν αναπτυχθεί εκτενώς. Οι υπάρχουσες μέθοδοι παραγωγής για το *Z. morio* θεωρούνται παρόμοιες με εκείνες που χρησιμοποιούνται για το *T. molitor* (Zaelor & Kitthawee, 2018).

Η έλλειψη ολοκληρωμένων πληροφοριών και συστημάτων παραγωγής για το *Z. morio* υποδεικνύει την ανάγκη περαιτέρω ερευνών για τη βελτιστοποίηση της εκτροφής του, με έμφαση στη μείωση των επιπτώσεων του συνωστισμού, της κανιβαλιστικής συμπεριφοράς και των μικροβιακών παραγόντων.

1.9 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΟΦΕΛΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΚΤΡΟΦΗ ΕΝΤΟΜΩΝ

Για να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα των εντόμων, είναι απαραίτητο να εξεταστούν άλλα πλεονεκτήματα όπως περιβαλλοντικά οφέλη (Εικόνα 11). Τα έντομα μπορούν να τραφούν με απόβλητα που παράγονται από τον άνθρωπο, έχοντας σημαντικό ρόλο στην ανακύκλωση υλικών στην επίγεια βίοςφαιρα (Katayama et al., 2008).



Εικόνα 13: Βιώσιμες λύσεις για την οικονομία των εντόμων (Πηγή: Natural Resources Institute Finland, 2016)

2. Κεφάλαιο Δεύτερο : Trichoderma: Ένας Βιολογικός Σύμμαχος στη Γεωργία

Στην βιολογική γεωργία αξιοποιείται ένα μεγάλο μέρος ωφέλιμων μικροοργανισμών και μυκήτων για την ανάπτυξη των φυτών και την βελτίωση του εδάφους έναντι των χημικών λιπασμάτων. Η χρήση *Trichoderma* spp. στα αγροτικά προϊόντα μειώνει ικανοποιητικά την μετάδοση φυτικών παθογόνων μικροοργανισμών και ρυθμίζει το ρυθμό θρέψης των φυτών.

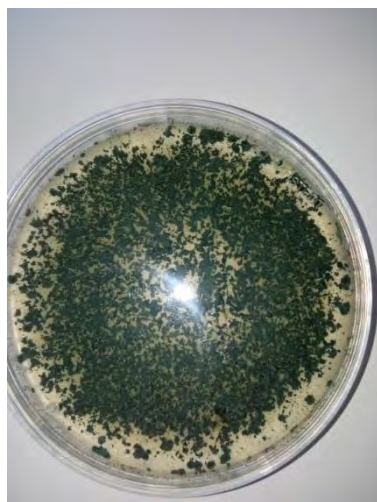
Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι γνωστές ασθένειες των φυτών, όπως η σήψη των ριζών, ο μααρασμός, η σήψη των καρπών και άλλες φυτικές ασθένειες μπορούν να αποφευχθούν από το *Trichoderma* spp. (Begum et al., 2010, El Komy et al., 2015, Howell, 2002, Mbarga et al., 2012)

Το *Trichoderma* spp. παράγει ένα μεγάλο μέρος δευτερογενών μεταβολιτών. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες που εκκρίνονται προάγουν την καταστολή της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών (Contreras- Cornejo et al., 2015, Kubicek et al., 2001). Η αλληλοβοήθεια του φυτού και του μύκητα έχει σημαντικό ρόλο στην σταθερή ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, δηλαδή στην αύξηση του μήκους της πλευρικής και της πρωτογενούς ρίζας και της αποτελεσματικής μεταφοράς των θρεπτικών φυτών από την ρίζα στο βλαστό και στα φύλλα. (cai et al., 2013., Naseby et al., 2000, Yedidia et al., 2001)

Στο παρόν πείραμα αξιοποιήθηκε ένας σημαντικός μύκητας για τα φυτά, ο *Trichoderma simmonsii*.

2.1 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΜΥΚΗΤΑ

***Trichoderma simmonsii*:**



Εικόνα 14:ανάπτυξη *Trichoderma simmonsii* σε τρυβλίο του εργαστηρίου

Πίνακας 7:Ταξινόμηση μύκητα *Trichoderma simmonsii*

Κατηγορία	Επιστημονική Κατάταξη
Κοινή ονομασία	Trichoderma simmonsii
Βασίλειο	Fungi
Φύλο	Ascomycota
Τάξη	Sordariomycetes
Οικογένεια	Hypocreaceae
Γένος	Trichoderma
Είδος	Trichoderma simmonsii

Πίνακας 8: Ο πίνακας παρουσιάζει τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του *Trichoderma simmonsii* (Νατσιόπουλος, Δ., Τζιόλιας, Α., Λαγογιάννης, Ι. , Μαντζούκας, Σ. , Ηλιόπουλος, ΡΑ Growth-Promoting and Protective Effect of *Trichoderma atrobrunneum* and *T. Simmonsii*

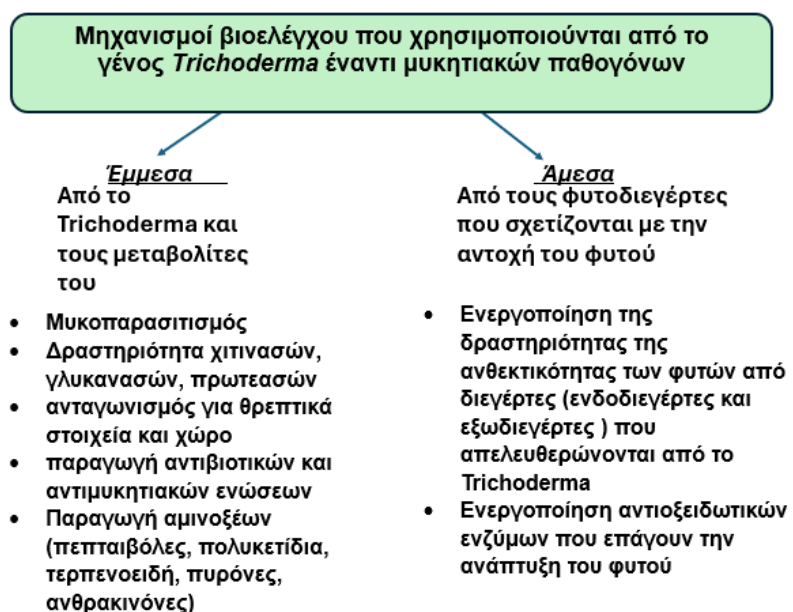
Χαρακτηριστικό	Περιγραφή
Αποικίες	Οι αποικίες του <i>Trichoderma simmonsii</i> εμφανίζουν χρώμα πράσινο έως βαθύ πράσινο στην επιφάνεια, με λευκή ή ελαφρώς κιτρινωπή βάση. Η υφή τους ποικίλλει από βαμβακώδη έως κοκκώδη, ενώ χαρακτηρίζονται από ταχεία ανάπτυξη σε θρεπτικά υποστρώματα.

Κονιδιοφόρα	Τα κονιδιοφόρα είναι κλαδωτά, διακλαδιζόμενα σε δύο ή περισσότερα επίπεδα. Έχουν μήκος που κυμαίνεται από 50 έως 150 μm και είναι διαφανή ή υποκίτρινα.
Κονίδια	Τα κόνidia είναι σφαιρικά έως ελαφρώς ωοειδή, με διαστάσεις 3-5 μm σε διάμετρο. Η επιφάνειά τους είναι λεία ή ελαφρώς τραχιά και το χρώμα τους είναι πράσινο κατά την ωρίμανση.
Χλαμυδοσπόρια	Τα χλαμυδοσπόρια είναι στρογγυλά έως ελαφρώς επιμήκη, με διαστάσεις που κυμαίνονται από 6 έως 12 μm . Εμφανίζονται συχνότερα σε παλαιότερες αποικίες ή υπό στρεσογόνες συνθήκες και έχουν λεία επιφάνεια.
Υφές	Οι υφές είναι διακλαδιζόμενες, με διάμετρο 3-5 μm . Είναι διαφανείς ή υποκίτρινες, ανάλογα με την ηλικία της αποικίας.
Αναπαραγωγή	Η ασεξουαλική αναπαραγωγή πραγματοποιείται με σχηματισμό κονιδίων σε κονιδιοφόρα. Η σεξουαλική αναπαραγωγή (teleomorph) δεν έχει αναφερθεί συχνά για αυτό το είδος.
Χρώμα Υποστρώματος	Η βάση των αποικιών εμφανίζει χρώμα λευκό ή ελαφρώς κιτρινωπό, που διαφοροποιείται με την πάροδο του χρόνου.
Μικροσκοπική Εμφάνιση	Η μικροσκοπική παρατήρηση αποκαλύπτει τα χαρακτηριστικά κονιδιοφόρα και κόνidia, τα οποία είναι διακριτά λόγω της ιδιαίτερης μορφολογίας και διάταξής τους.



Εικόνα 15: εικόνα μικροσκοπίου που απεικονίζει τα μυκήλια (διακλαδιζόμενες υφές), τα κόνidia (μικρές, σφαιρικές ή οβάλ δομές που εμφανίζονται στις άκρες των κονιδιοφόρων) και τους κονιδιοφόρους (διακλαδιζόμενες δομές που στηρίζουν τα κόνidia. Αυτές οι δομές είναι χαρακτηριστικές του *Trichoderma* και συχνά φαίνονται σαν μικρές «ψαλιδωτές» διακλαδώσεις.) (διαδικτυακή πηγή : Revista THC. ,2025, . *Trichodermas, los hongos aliados de las raíces: cómo funcionan y cómo aplicarlos.*)

Ο οργανισμός αναπτύσσεται και διακλαδώνεται με τυπικές μυκηλιακές υφές, διαμέτρου 5 έως 10 μm . Η αγενής σποροποίηση εμφανίζεται ως μονοκύτταρα, συνήθως πράσινα, κονίδια (συνήθως διαμέτρου 3 έως 5 μm) που απελευθερώνονται σε μεγάλους αριθμούς. Σχηματίζονται επίσης ενδιάμεσα χλαμυδοσπόρια, τα οποία είναι επίσης μονοκύτταρα, αν και δύο ή περισσότερα χλαμυδοσπόρια μπορεί να συνταχθούν μεταξύ τους.



Εικόνα 16: Μηχανισμοί βιοελέγχου που χρησιμοποιούνται από το γένος *Trichoderma* έναντι μυκητιακών παθογόνων. (Tyśkiewicz et al., 2022)

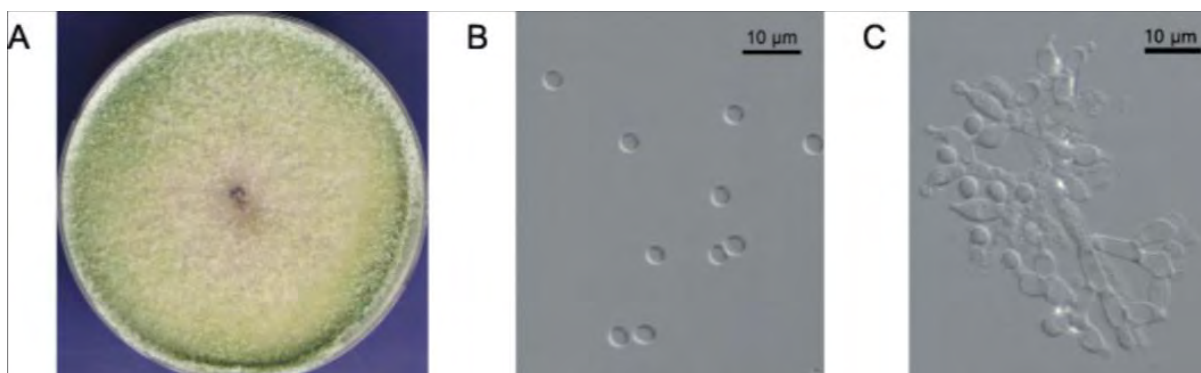
Βιολογία και Οικολογία

Το *Trichoderma simmonsii* αποτελεί μέλος του γένους *Trichoderma* και ανήκει στην οικογένεια Hypocreaceae. Είναι ένας σαπροφυτικός μύκητας, γνωστός για τις βιολογικές του ιδιότητες και τη χρησιμότητά του σε εφαρμογές γεωργίας, βιοτεχνολογίας και οικολογίας. Τα χαρακτηριστικά της βιολογίας και της οικολογίας του αναδεικνύουν τη σημασία του ως παράγοντα βιολογικής καταπολέμησης και ενίσχυσης της υγείας του εδάφους.

Αναφορικά με τη βιολογία του, οι αποικίες του *T. simmonsii* εμφανίζονται με πράσινο έως βαθύ πράσινο χρώμα, βαμβακώδη ή κοκκώδη υφή, και αναπτύσσονται ταχέως σε θρεπτικά υποστρώματα. Η αναπαραγωγή του πραγματοποιείται κυρίως μέσω ασεξουαλικής διαδικασίας, κατά την οποία σχηματίζονται κονίδια σε διακλαδιζόμενα κονιδιοφόρα. Τα κονίδια του είναι σφαιρικά έως ωοειδή, με λεία ή ελαφρώς τραχιά επιφάνεια και διάμετρο που κυμαίνεται μεταξύ 3 και 5 μm . Παράλληλα, το *T. simmonsii* παράγει ένζυμα όπως πρωτεϊνάσες, χιτινάσες και

κυτταρινάσες, που του επιτρέπουν να αποδομεί οργανική ύλη αποτελεσματικά. Επιπλέον, μέσω της παραγωγής δευτερογενών μεταβολιτών, εκδηλώνει ισχυρή ανταγωνιστική δράση έναντι άλλων μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων φυτοπαθογόνων μυκήτων.

Ένα από τα πιο αξιοσημείωτα χαρακτηριστικά του *T. simmonsii* είναι ο ρόλος του στη βιολογική καταπολέμηση. Ο μύκητας καταστέλλει αποτελεσματικά φυτοπαθογόνους οργανισμούς, όπως τα *Fusarium* spp., *Pythium* spp., και *Rhizoctonia solani*, μέσω της αποικοδόμησης των κυτταρικών τοιχωμάτων τους και της παραγωγής αντιμικροβιακών ενώσεων. Παράλληλα, προάγει την ανάπτυξη των φυτών, συμβάλλοντας στη σύνθεση φυτορμονών όπως το ινδολ-3-οξικό οξύ (IAA), που ενισχύουν τη ριζική ανάπτυξη και τη συνολική υγεία των φυτών.



Εικόνα 17: Χαρακτηρισμός μορφολογίας *Trichoderma simmonsii* GH-Sj1. (A) Αποικία GH-Sj1 που καλλιεργήθηκε σε PDA στους 25 °C για 7 ημέρες. (B) Μικροσκοπικές εικόνες κονιδίων (T) Μια εικόνα κονιδιοφόρου του GH-Sj1 (Dawoon Chung, 2021)

Οικολογικά, το *T. simmonsii* απαντάται σε εδάφη πλούσια σε οργανική ύλη, όπως γεωργικά εδάφη, δάση και κομπόστ. Προτιμά περιβάλλοντα με θερμοκρασίες μεταξύ 25 και 30°C και υγρασία που κυμαίνεται από 60% έως 80%. Στη ριζόσφαιρα των φυτών, λειτουργεί ως συμβιωτικός οργανισμός, ενισχύοντας την απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων και προστατεύοντας τις ρίζες από παθογόνα. Επιπλέον, συμμετέχει ενεργά στην ανακύκλωση των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους, αποδομώντας οργανική ύλη και ενισχύοντας τη γονιμότητα και τη δομή του εδάφους.

Η σημασία του *T. simmonsii* είναι ιδιαίτερα εμφανής στις εφαρμογές του. Στη γεωργία, χρησιμοποιείται ως παράγοντας βιολογικής καταπολέμησης για την προστασία των καλλιεργειών από παθογόνους μύκητες. Στη βιοτεχνολογία, αξιοποιείται για την παραγωγή ενζύμων και βιοδραστικών ενώσεων με πολλές χρήσεις στη βιομηχανία. Η δυνατότητά του να ενισχύει τη φυτική ανάπτυξη και να συμβάλλει

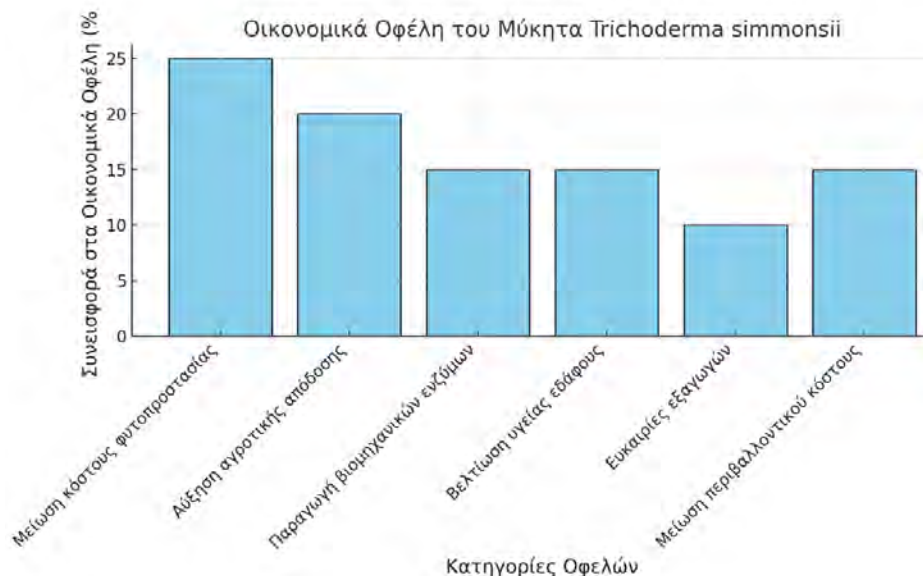
στη διατήρηση της υγείας του εδάφους τον καθιστά πολύτιμο εργαλείο για την αειφόρο γεωργία.

Συμπερασματικά, το *Trichoderma simmonsii* αποτελεί έναν εξαιρετικά χρήσιμο μύκητα με πολλαπλές εφαρμογές και σημαντική οικολογική συνεισφορά. Η βιολογική του δραστηριότητα και η οικολογική του λειτουργία το κατατάσσουν στους πιο σημαντικούς μικροοργανισμούς για τη βιώσιμη διαχείριση γεωργικών συστημάτων και φυσικών πόρων. Η περαιτέρω έρευνα και αξιοποίησή του μπορούν να προσφέρουν νέες λύσεις σε περιβαλλοντικές και γεωργικές προκλήσεις.

Οικονομικά Οφέλη από τη Χρήση του *Trichoderma simmonsii*

Η αξιοποίηση του *Trichoderma simmonsii* σε γεωργικές, βιομηχανικές και βιοτεχνολογικές εφαρμογές προσφέρει σημαντικά οικονομικά οφέλη, τα οποία απορρέουν από τη μείωση του κόστους παραγωγής, την αύξηση της αποδοτικότητας και τη βιώσιμη διαχείριση πόρων. Οι ιδιότητές του το καθιστούν έναν πολύτιμο μικροοργανισμό για την υποστήριξη βιώσιμων πρακτικών και την ενίσχυση της οικονομικής βιωσιμότητας.

Ένα από τα κύρια οφέλη του *T. simmonsii* αφορά τη μείωση του κόστους φυτοπροστασίας. Ως φυσικός βιολογικός παράγοντας καταπολέμησης, το *T. simmonsii* μειώνει την εξάρτηση από συνθετικά φυτοφάρμακα, τα οποία έχουν υψηλό κόστος αγοράς και εφαρμογής. Επιπλέον, η χρήση του συμβάλλει στη μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων που συνδέονται με τα χημικά φυτοφάρμακα, αποτρέποντας τη μόλυνση του εδάφους και του νερού, γεγονός που συχνά συνεπάγεται πρόσθετο κόστος αποκατάστασης.



Διάγραμμα 5: παρουσίαση των πλεονεκτημάτων της χρήσης του μύκητα *Trichoderma simmonsii* σε οικονομικό επίπεδο

Παράλληλα, το *T. simmonsii* ενισχύει την αγροτική παραγωγή, προάγοντας την ανάπτυξη των φυτών. Μέσω της βελτίωσης της απορρόφησης θρεπτικών στοιχείων και της ενίσχυσης του ριζικού συστήματος, αυξάνει την παραγωγικότητα και την ποιότητα των καλλιεργειών. Επιπλέον, η δράση του ενισχύει την ανθεκτικότητα των φυτών σε ασθένειες και περιβαλλοντικό στρες, μειώνοντας τις απώλειες της παραγωγής και ενισχύοντας την οικονομική αποδοτικότητα των γεωργικών εκμεταλλεύσεων.

Στον βιομηχανικό τομέα, το *T. simmonsii* αποτελεί πηγή ενζύμων υψηλής αξίας, όπως κυτταρινάσες, πρωτεϊνάσες και χιτινάσες, τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων, στη βιοενέργεια και στην παραγωγή βιοδιασπώμενων υλικών. Η καλλιέργεια του μύκητα για την παραγωγή αυτών των ενζύμων προσφέρει μια οικονομικά αποδοτική λύση για τη δημιουργία προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας, ανοίγοντας νέες αγορές και ευκαιρίες ανάπτυξης.

Επιπλέον, η εφαρμογή του *T. simmonsii* συμβάλλει στη βελτίωση της υγείας του εδάφους. Μέσω της αποδόμησης οργανικών υπολειμμάτων και της ενίσχυσης της οργανικής ύλης, το *T. simmonsii* βελτιώνει τη γονιμότητα και τη δομή του εδάφους. Αυτό οδηγεί στη μείωση της ανάγκης για χημικά λιπάσματα, επιφέροντας σημαντική εξοικονόμηση κόστους για τους αγρότες, ενώ παράλληλα διασφαλίζεται η μακροπρόθεσμη παραγωγικότητα του εδάφους.

Η χρήση του μύκητα ενισχύει επίσης τη βιωσιμότητα των γεωργικών συστημάτων. Ως συστατικό βιολογικών προσεγγίσεων, το *T. simmonsii* συμβάλλει στη

μείωση της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης και δημιουργεί προϊόντα που είναι συμβατά με τις απαιτήσεις των βιολογικών αγορών. Η υιοθέτηση βιώσιμων πρακτικών γεωργίας ενισχύει τη φήμη των παραγωγών, ενώ ταυτόχρονα προσφέρει πρόσβαση σε αγορές που εκτιμούν τα βιολογικά προϊόντα, συχνά με υψηλότερες τιμές πώλησης.

Τέλος, τα προϊόντα που βασίζονται στο *T. simmonsii*, όπως τα σκευάσματα βιολογικής καταπολέμησης και τα ένζυμα, έχουν μεγάλη ζήτηση στις διεθνείς αγορές. Η εξαγωγή αυτών των προϊόντων αποτελεί πηγή σημαντικών εσόδων, ενώ οι ευκαιρίες ανάπτυξης νέων αγορών ενισχύουν την οικονομική βιωσιμότητα εταιρειών που επενδύουν στη βιοτεχνολογία.

Συνοψίζοντας, η χρήση του *Trichoderma simmonsii* προσφέρει πολλαπλά οικονομικά οφέλη, μειώνοντας το κόστος παραγωγής, αυξάνοντας την αποδοτικότητα και υποστηρίζοντας τη μετάβαση σε βιώσιμες γεωργικές και βιομηχανικές πρακτικές. Η περαιτέρω έρευνα και ανάπτυξη του μύκητα μπορούν να οδηγήσουν σε ακόμη μεγαλύτερη οικονομική αξία, καθιστώντας τον έναν από τους πιο υποσχόμενους μικροοργανισμούς της εποχής μας.

2.2 ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ

Πίνακας 9: Το *Trichoderma spp.* ως μικροβιακό μυκητοκτόνο, φυτοπροστατευτικό προϊόν και βελτιωτικό απόδοσης σε διάφορες χώρες σε όλο τον κόσμο. (Andrzejak, R.; Janowska, B., 2022)

Όνομα προϊόντος	Είδη μυκήτων του γένους <i>Trichoderma</i>	Πηγή
Asperello T34	<i>T. asperellum</i>	Biopartner. https://biopartner.com
BINAB T	<i>T. polysporum</i> <i>T. harzianum</i>	Woo, S.L.; Ruocco, M.; Vinale, F.; Nigro, M.; Marra, R.; Lombardi, N.; Pascale, A.; Lanzuise, S.; Manganiello, G.; Lorito, M. <i>Trichoderma</i> -based products and their widespread use in agriculture. <i>Open Mycol. J.</i> 2014 , 8, 71–126
Remedier WP	<i>T. asperellum</i> <i>T. gamsii</i>	LambrouAgroLtd. https://www.lambrouagro.com.cy/?pageid=ES&sub_action=details&sa=p&pid=50455&l_act=chnglng&lng=6
RootShield®-WP	<i>T. harzianum</i>	Abricoorganics. https://www.arbico-organics.com/product/rootshield-wp-trichoderma-harzianum-strain-T22-

		fungicide/natural-organic-plant-disease-control
T-Gro	<i>T. asperellum</i>	Andermat. https://www.anderstattuk.com/t-gro
Triatum-P	<i>T. harzianum</i>	Koppert. https://www.koppert.co.uk/content/uk/Documents/General_Terms_and_Conditions/Triatum-P_UK_label_050520.pdf
Trichopel	<i>T. Harzianum</i>	Agrimm. http://agrimm.co.nz/trichopel/
Tusal	<i>T. harzianum</i> <i>T. viride</i>	Certis. https://www.certiseurope.com/news-media/news/articles/news/biological-soil-fungicide-tusal
Binab TF WP	<i>T. harzianum</i> <i>T. polysporum</i>	Middeldatabasen. https://middeldatabasen.dk/product.asp?productID=70131
Esquive WP	<i>T. atroviride</i>	Agrauxine by Lesaffre. https://agrauxine.com/fr/produit/esquive-wp/

2.3 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΡΙΧΟΔΕΡΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΚΑΙ Η ΣΧΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ

Το Trichoderma θεωρείται ενδοφυτικός μύκητας, καθώς μπορεί να διεισδύει και να αποικίζει τις ρίζες των φυτών και τον ενδοκυτταρικό τους χώρο. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχει συμβιωτική σχέση ανάμεσα στα στελέχη Trichoderma spp. και τις ρίζες του φυτού, η οποία αποτελείται από κάποιες αλληλεπιδράσεις όπως την αναγνώριση, την προσκόλληση, την διείσδυση, τον αποικισμό και την μεταφορά θρεπτικών στοιχείων από την ρίζα (Prasun K. Mukherjee, 2013). Το ριζικό σύστημα του φυτού προσελκύει το Trichoderma μέσω των χημικών σημάτων που απελευθερώνονται από αυτό. Υπεύθυνη για την προσκόλληση των μυκήτων είναι η κυστεΐνη πρωτεΐνη του κυτταρικού τοιχώματος, βοηθώντας άμεσα την επιμήκυνση και τη πλευρική ανάπτυξη των ριζών και έμμεσα τη πρόσληψη και μετατόπιση των θρεπτικών προς τους βλαστούς, αυξάνοντας έτσι την ανάπτυξη και τη βιομάζα των φυτών (Salmolski et al., 2012). Η εφαρμογή του Trichoderma σε καλλιέργεια φιστικιάς, αύξησε την SPAD για

τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης στα φύλλα της καλλιέργειας και βελτίωσε τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του καρπού (Kovacs et al., 2021). Ειδικότερα, εφαρμόστηκαν κάποιες μετρήσεις από τις οποίες προέκυψε πως όταν εφαρμόστηκε *Trichoderma* σε δοσολογία 1,5 kg/666,7 m⁻² τότε ο αριθμός των λοβών/ φυτό αυξήθηκε κατά 24%, το βάρος του κάθε λοβού 63%, το βάρος του πυρήνα 20,22%, η ποιότητα 100 καρπών κατά 14,10%, η ποιότητα του πυρήνα αυτών σε ποσοστό 4,86% και τέλος η απόδοση κάθε φυτού αυξήθηκε κατά 12.56% σχετικά με τους μάρτυρες (Al-Askar et al., 2022). Επιπλέον το *Trichoderma* μέσω της διαδικασίας της αποσύνθεσης είναι υπεύθυνο για τη δημιουργία ριζικών τριχιδίων, επιτρέποντας στα φυτά την μεγαλύτερη απορρόφηση νερού και θρεπτικών που είναι διαθέσιμα μακριά από το κεντρικό ριζικό σύστημα (Harman et al., 2006). Η αλληλεπίδραση φυτών και μυκήτων διέπτετε μέσω σημάτων επικοινωνίας, έτσι και το *Trichoderma* παράγει πάνω από 250 μεταβολικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων ενζύμων αποικοδόμησης του κυτταρικού τοιχώματος, πεπτιδίων και δευτερογενών μεταβολιτών που συμβάλλουν στη προώθηση ανάπτυξης των φυτών και στην αύξηση της αντοχής των φυτών σε αβιοτικές καταπονήσεις που οφείλονται στη θερμοκρασία, την αλατότητα του εδάφους και στην έλλειψη νερού και θρεπτικών (Woo et al., 2014). Το στέλεχος *T. harzianum* SQR-TO37 απελευθέρωσε harzianolide, ο οποίος είναι ένας δευτερογενής μεταβολίτης που βοήθησε στην ανάπτυξη των δενδρυλλίων τομάτας καθώς επίσης προήγαγε το μήκος της ρίζας και το άκρο αυτής (Cai et al., 2013). Το *Trichoderma* συνθέτει και παράγει ινδολοοξικό οξύ (IAA) το οποίο είναι ζωτικής σημασίας για τις περισσότερες από τις διαδικασίες που είναι υπεύθυνες για τη σωστή ανάπτυξη των φυτών (Gueye et al., 2018). Συγκεκριμένα το IAA σε χαμηλές συγκεντρώσεις διεγείρει τη επιμήκυνση της ρίζας, ενώ σε υψηλές είναι υπεύθυνο για το σωστό σχηματισμό των πλάγιων και τυχαίων ριζών (Jaroszuk-Ścisiel et al., 2019). Ειδικότερα το *T. virens* και το *T. atroviride* βρέθηκαν να παράγουν IAA και ουσίες που σχετίζονται με την αυξίνη, προωθώντας την ανάπτυξη δενδρυλλίων *Arabidopsis* και αυξάνοντας την παραγωγή βιομάζας των ριζών και των βλαστών (ContrerasCornejo et al., 2009). Η ενίσχυση της διαλυτοποίησης και της πρόσληψης ορυκτών είναι επίσης μια σημαντική ικανότητα του *Trichoderma*, που οφείλεται στη μείωση του PH του εδάφους και κατ' επέκταση στη διαλυτοποίηση των δεσμευμένων μετάλλων, μέσω της απελευθέρωσης οξέων εξωκυτταρικά, που επιτρέπουν τη διάλυση των φωσφορικών, καθώς και άλλων

μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών που είναι απαραίτητα για τον μεταβολισμό των φυτών (Harman, 2011).

Βιοδιεγερτικές επιδράσεις των εφαρμογών *Trichoderma* σε διάφορες καλλιέργειες :

Πίνακας 10:ο μύκητας Trichoderma spp. συμβάλλει στον βιοέλεγχο των φυτοπαθογόνων και στην προώθηση της ανάπτυξης των φυτών (Swati Sachdev & Rana Pratap Singh, 2020 , Πανεπιστήμιο Babasaheb Bhimrao Ambedkar, Λάκναου, Ινδία)

ΣΤΕΛΕΧΟΣ TRICHODERMA	ΕΙΔΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	ΟΦΕΛΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ TRICHODERMA ΣΤΑ ΦΥΤΑ	ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
<i>Trichoderma</i> spp.	Κρεμμύδι	Ανταγωνισμός έναντι του μύκητα <i>Fusarium oxysporum</i>	Bunbury-Blanchette and Walker (2019)
<i>T. lixii</i>	Σπανάκι	Προώθηση της ανάπτυξης των φυτών	Sachdev et al. (2018)
<i>T. harzianum</i>	Ηλιοτρόπιο	Μυκοπαρασιτισμός	Mathews et al. (2019)
<i>T. viride</i>	Σιτάρι	Παραγωγή αντιοξειδωτικών και ανακούφιση από το οξειδωτικό στρες	Mohapatra and Mittra (2017)
<i>T. longibrachiatum</i>	Κρεμμύδι	Ενισχυμένη ανάπτυξη των φυτών και συσσώρευση σημαντικών μεταβολιτών που παρείχαν προστασία μέσω της επαγόμενης συστηματικής αντίστασης	Abdelrahman et al. (2016)
<i>T. harzianum</i>	Ντομάτα	Οι μεταβολίτες ισο-χαρζιανικό οξύ (iso-HA) και harzianic acid ανέστειλαν την ανάπτυξη μυκηλίων των παθογόνων σε συνθήκες <i>in vitro</i> και βελτίωσαν τη βλάστηση των σπόρων και το μήκος των ριζών και των βλαστών και προκάλεσαν αντοχή σε ασθένειες της τομάτας σε συνθήκες <i>in vivo</i>	Vinale et al. (2014)

<i>T. harzianum</i> T39	Ντομάτα, καπνός, πιπεριά και μαρούλι	Η ενεργοποίηση της επαγόμενης από μηχανισμό συστηματικής αντίστασης (ISR) είχε ως αποτέλεσμα 25-100% έλεγχο της νόσου	De Meyer et al. (1998)
<i>T. atroviride</i>	Πιπεριά και ντομάτα	Μεταβολίτες που παρουσιάζουν αντιβίωση στη φυτόφθορα, επάγουν γονίδια συστηματικής αντίστασης και φυτικές ορμονικές αλλαγές	Bae et al. (2016)
<i>T. asperellum</i>	Αγγούρι	παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών μυκοπαρασιτισμός μείωση της νόσου <i>Fusarium oxysporum</i> με αυξημένη ανάπτυξη των φυτών	Saravanakumar et al. (2016)
<i>T. harzianum</i> / <i>T. atroviride</i>	σταφύλι	Οι δευτερογενείς μεταβολίτες harzianic acid και 6PP κατέστειλαν την ανάπτυξη παθογόνου <i>Uncinula necator</i> στο θερμοκήπιο ενίσχυσαν την απόδοση των καλλιεργειών, την αντιοξειδωτική δράση και τη συγκέντρωση πολυφαινόλων	Pascale et al. (2017)

3. Πειραματικό Μέρος

3.1 Εισαγωγή πειραματικού μέρους

Η γεωργία, ως θεμέλιος λίθος της ανθρώπινης επιβίωσης, βρίσκεται στο επίκεντρο των παγκόσμιων προσπαθειών για την κάλυψη των αυξανόμενων διατροφικών αναγκών του πλανήτη. Η ταχεία αύξηση του πληθυσμού, οι μεταβολές στις διατροφικές συνήθειες και οι κλιματικές προκλήσεις καθιστούν απαραίτητη την εξέλιξη της γεωργίας από μια παραδοσιακή δραστηριότητα σε έναν σύγχρονο, τεχνολογικά προηγμένο τομέα (Poveda, J., et al., 2021). Η ανάπτυξη της τεχνολογίας

στη γεωργία, γνωστή και ως "γεωργία ακριβείας," και η εντατικοποίηση των γεωργικών πρακτικών αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για τη μεγιστοποίηση της παραγωγικότητας, τη μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων και την προώθηση της βιώσιμης ανάπτυξης.

Η ενσωμάτωση καινοτόμων τεχνολογιών, όπως η χρήση αισθητήρων, drones, αυτοματοποιημένων μηχανημάτων και συστημάτων ανάλυσης δεδομένων, επιτρέπουν την αποτελεσματικότερη διαχείριση των γεωργικών πόρων. Παράλληλα, οι επιστημονικές εξελίξεις στη βιοτεχνολογία, συμπεριλαμβανομένων των βιοδιεγερτών και των μικροοργανισμών, δημιουργούν νέες προοπτικές για τη βελτίωση της απόδοσης των καλλιεργειών και τη μείωση της εξάρτησης από χημικά σκευάσματα. Οι εξελίξεις αυτές προσανατολίζουν τη γεωργία προς ένα μοντέλο παραγωγής που συνδυάζει την αποδοτικότητα με τη βιωσιμότητα, συμβάλλοντας στη διατήρηση του περιβάλλοντος και στην κάλυψη των διατροφικών αναγκών της ανθρωπότητας και την βελτίωση της υγείας (Kumar et al., 2019).

Οι βιολογικές μέθοδοι καλλιέργειας βασίζονται στη χρήση φυσικών διεργασιών και μικροοργανισμών, οι οποίοι ενισχύουν τη γονιμότητα του εδάφους, την ανάπτυξη των φυτών και την ανθεκτικότητά τους σε παθογόνους οργανισμούς. Ειδικότερα, οι μύκητες του γένους *Trichoderma* έχουν αναγνωρισθεί ως εξαιρετικοί σύμμαχοι στη γεωργία λόγω των πολλαπλών τους λειτουργιών. Λειτουργούν ως βιοδιεγέρτες, βελτιώνοντας την απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά, και ως βιοπαρασιτοκτόνα, περιορίζοντας την ανάπτυξη επιβλαβών παθογόνων στο έδαφος (Harman et al., 2004). Επιπλέον, παράγουν φυτοορμόνες, όπως οι αυξίνες και οι γιββερελίνες, που προάγουν την ανάπτυξη των ριζών και των βλαστών, ενώ ενισχύουν τη φυσική άμυνα των φυτών μέσω της ενεργοποίησης του μηχανισμού *induced systemic resistance*. (Woo et al., 2014)

Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο των βιολογικών πρακτικών είναι η χρήση οργανικών υπολειμμάτων, όπως τα περιττώματα εντόμων (Insect Frass - IF). Τα αποχωρήματα αυτά περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις θρεπτικών συστατικών, όπως φώσφορο, κάλιο και άζωτο τα οποία είναι χρήσιμα στοιχεία για την ολοκλήρωση σημαντικών διαδικασιών όσον αφορά την ανάπτυξη του φυτού. Πιο συγκεκριμένα, σημαντική κρίνεται η παρουσία της χιτοζάνης, μίας βιοδραστικής ουσίας που ενεργοποιεί τον αμυντικό μηχανισμό των φυτικών κυττάρων και ενισχύει τη μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους (Poveda, 2021). Η εφαρμογή IF έχει

αποδειχθεί ιδιαίτερα αποτελεσματική στη βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους μέσω της προσθήκης ωφέλιμων συστατικών από την ανοργανοποίηση των στοιχείων . Επιπρόσθετα, παρατηρείται αύξηση της ανθεκτικότητάς των φυτών απέναντι σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις του περιβάλλοντος και στρεσογόνους παράγοντες.

Σύμφωνα με τις τελευταίες μελέτες έχει αποδειχθεί ότι η χορήγηση κονιδιακών διαλυμάτων του γένους *Trichoderma* spp οδήγησε σε ραγδαία ανάπτυξη των φυτικών ιστών και μείωσε κατά πολύ την χορήγησή χημικών λιπασμάτων στα κηπευτικά. Με αυτό τον τρόπο, τα στελέχη αυτών των μυκήτων, μέσω της δράσης τους ως βιοδιεγέρτες και βιοπαρασιτοκτόνα, ενισχύουν την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών από τις ρίζες και αυξάνουν το νωπό βάρος τόσο των ριζών όσο και των βλαστών . Επιπλέον, οι βιοδιεγέρτες συμβάλλουν στη φυσική ανθεκτικότητα των φυτών μέσω της επαγωγής συστημικής αντίστασης (*induced systemic resistance*), μειώνοντας την ευπάθεια σε παθογόνους μικροοργανισμούς όπως οι *Fusarium oxysporum* και *Rhizoctonia solani* (Harman et al., 2004).

επιτυχώς σε πολλές καλλιέργειες, όπως η τομάτα, το παντζάρι, η σόγια και το κριθάρι. Τα στελέχη αυτών των μυκήτων, μέσω της δράσης τους ως βιοδιεγέρτες και βιοπαρασιτοκτόνα, ενισχύουν την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών από τις ρίζες και αυξάνουν το νωπό βάρος τόσο των ριζών όσο και των βλαστών. Επιπλέον, συμβάλλουν στη φυσική ανθεκτικότητα των φυτών μέσω της επαγωγής συστημικής αντίστασης (*induced systemic resistance*), μειώνοντας την ευπάθεια σε παθογόνους μικροοργανισμούς όπως οι *Fusarium oxysporum* και *Rhizoctonia solani* (Harman et al., 2004). Το συγκεκριμένο πείραμα στο θερμοκήπιο το οποίο πραγματοποιήθηκε σε φυτά τομάτας έδειξε ότι η χρήση *Trichoderma simmonsii* οδήγησε στην μεγάλη αλλαγή του νωπού βάρους των φυταρίων καθώς και στην ανάπτυξη του τελικού ύψους παρότι είχαν προσβληθεί τα φυτά από τα παθογόνα *Fusarium oxysporum* και *Rhizoctonia solani* (Natsiopoulos et al., 2022). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί σε καλλιέργειες πιπεριάς και σόγιας, όπου παρατηρήθηκε ενίσχυση της βλάστησης των σπόρων και βελτίωση της ανάπτυξης των φυταρίων (Bakhshandeh et al., 2020; Rokni et al., 2021).

Το παρόν πείραμα εστιάζει στη μελέτη της συνδυαστικής εφαρμογής του μύκητα *Trichoderma simmonsii* και των περιττωμάτων εντόμων (*Insect Frass, IF*) που προέρχονται από το έντομο *Zophobas morio*, με σκοπό την βελτίωση της ανάπτυξης της καλλιέργειας μαρουλιού. Ο συγκεκριμένος μύκητας, παρά τη δυνητική του αξία ,

έχει ερευνηθεί λιγότερο συγκριτικά με άλλα στελέχη του γένους *Trichoderma*. Παράλληλα, η χρήση του IF αποτελεί μια πρωτοποριακή μέθοδο, καθώς συνδυάζει την ενίσχυση της γονιμότητας του εδάφους με την ενεργοποίηση των φυσικών αμυντικών μηχανισμών των φυτών.

Για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας αυτού του συνδυασμού, πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε συνθήκες θερμοκηπίου, με τη χρήση γλαστρών ως σύστημα καλλιέργειας. Οι μετρήσεις επικεντρώθηκαν σε κρίσιμες μορφολογικές και φυσιολογικές παραμέτρους, όπως το μήκος και το νωπό βάρος του στελέχους, το νωπό βάρος της ρίζας, καθώς και την συγκέντρωση χλωροφύλλης στα φύλλα. Οι συγκεκριμένοι δείκτες επιλέχθηκαν για να παρέχουν μια συνολική εκτίμηση της επίδρασης των εφαρμοζόμενων βιολογικών παραγόντων στην ανάπτυξη και την απόδοση της καλλιέργειας.

Κύριος στόχος του πειράματος ήταν να εξεταστεί εάν ο συνδυασμός του *Trichoderma simmonsii* με το IF μπορεί να δράσει συνεργιστικά, προσφέροντας αξιοσημείωτα οφέλη τόσο στη φυτική ανάπτυξη όσο και στη βιωσιμότητα των γεωργικών πρακτικών. Τα αναμενόμενα αποτελέσματα θα συμβάλουν στην καλύτερη κατανόηση του τρόπου δράσης αυτών των βιολογικών παραγόντων, ανοίγοντας τον δρόμο για την εφαρμογή τους σε ευρύτερες εμπορικές καλλιέργειες.

3.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.2.1 Εισαγωγή

Βασική προϋπόθεση για την διεκπεραίωση του πειράματος ήταν η παρασκευή του θρεπτικού υποστρώματος σε τρυβλίο Petrie προκειμένου να δημιουργηθεί η βάση για την ανάπτυξη του μύκητα *Trichoderma simmonsii* και μετέπειτα η Παρασκευή του κονιδιακού εναιωρήματος .

2.2 Παρασκευή Potato Dextrose Agar (θρεπτικό υπόστρωμα)

Η παρασκευή του θρεπτικού υλικού Potato Dextrose Agar (PDA) πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα εργαστηριακά πρωτόκολλα ακολουθώντας συγκεκριμένα στάδια και τηρήθηκε αυστηρά η αποστείρωση του εργαστηριακού χώρου και των μέσων που χρησιμοποιήθηκαν. Αρχικά, για τη διασφάλιση της



Εικόνα 19: απιονισμένο νερό σε υδροβολέα



Εικόνα 20: τρυβλία Petrie



Εικόνα 21: Κωνική φιάλη 500 ml



Εικόνα 22: ζυγός ακριβείας (εικόνες εργαστηρίου



Εικόνα 23: τελικό διάλυμα rda πριν την τοποθέτηση στον κλίβανο υγρής

αποστείρωσης



Εικόνα 24: κλίβανος υγρής αποστείρωσης



Εικόνα 25: τοποθέτηση σε σκιερό και υγρό μέρος ώστε να κρυώσουν τα

διαλύματα



Εικόνα 26: διανομή του υγρού διαλύματος rda σε τρυβλία petrie



Εικόνα 27: τρυβλία Petrie με θρεπτικό υπόστρωμα pda έτοιμα προς χρήση

2.1 Απομόνωση του *Trichoderma simmonsii*

Η απομόνωση του μύκητα *Trichoderma simmonsii* πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας καθιερωμένα εργαστηριακά πρωτόκολλα, με σκοπό την εξασφάλιση καθαρών καλλιεργειών που θα χρησιμοποιούνταν σε περαιτέρω πειραματικές μελέτες. Τα δείγματα εδάφους συλλέχθηκαν από γεωργικές εκτάσεις που παρουσίαζαν υψηλή μικροβιακή δραστηριότητα. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε από βάθος 5-10 cm, όπου η συγκέντρωση μικροοργανισμών είναι αυξημένη, χρησιμοποιώντας αποστειρωμένα εργαλεία για την αποφυγή επιμολύνσεων. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένα δοχεία και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο για περαιτέρω επεξεργασία.

Στο εργαστήριο, τα δείγματα εδάφους αναμίχθηκαν με αποστειρωμένο φυσιολογικό ορό (0,85% NaCl) και αναδεύτηκαν έντονα ώστε να απελευθερωθούν οι μικροοργανισμοί. Το εναιώρημα που προέκυψε υποβλήθηκε σε σειριακές αραιώσεις (10^{-3} έως 10^{-6}) για τη μείωση της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών, και από κάθε αραιώση έγινε επικάλυψη σε τρυβλία Petrie που περιείχαν PDA εμπλουτισμένο με χλωραμφενικόλη (0,1 g/L). Η χρήση του αντιβιοτικού αποσκοπεί στην αναστολή της ανάπτυξης βακτηρίων, διευκολύνοντας την ανάπτυξη των μυκήτων.

Τα τρυβλία επώαστηκαν σε συνθήκες σκοταδίου, σε θερμοκρασία 25°C, για 3-5 ημέρες. Κατά τη διάρκεια της επώασης, αναπτύχθηκαν αποικίες μυκήτων, από τις οποίες επιλέχθηκαν αυτές που παρουσίαζαν μορφολογικά χαρακτηριστικά συμβατά με το γένος *Trichoderma*. Οι αποικίες αυτές χαρακτηρίζονταν από πράσινο χρώμα, ταχεία ανάπτυξη και πυκνή υφή. Για την εξασφάλιση καθαρών καλλιεργειών, οι επιλεγμένες

αποικίες υποβλήθηκαν σε επαναλαμβανόμενες υποκαλλιέργειες σε φρέσκο PDA, μέχρι να απομακρυνθούν τυχόν επιμολυντές.



Εικόνα 28: Απομόνωση του μύκητα τριχόδεσμα σε εργαστηριακό τρυβλίο (Grzegorz Skaradzinski, 2018, www.alamy.com)

Η ταυτοποίηση του *Trichoderma simmonsii* πραγματοποιήθηκε τόσο με μικροσκοπική παρατήρηση όσο και με μοριακές τεχνικές. Μικροσκοπικά, εξετάστηκαν οι χαρακτηριστικές δομές του μύκητα, όπως οι κονιδιοφόροι και τα κονίδια. Για τη μοριακή επιβεβαίωση της ταυτότητας, εξήχθη DNA από τις καθαρές αποικίες και ακολούθησε PCR με τη χρήση ειδικών εκκινητών για το γονίδιο ITS (Internal Transcribed Spacer), το οποίο αποτελεί αξιόπιστο δείκτη για τη διαφοροποίηση στελεχών του γένους *Trichoderma*.

Οι καθαρές καλλιέργειες του *Trichoderma simmonsii* συντηρήθηκαν σε υγρό άζωτο (-196°C) και σε διάλυμα γλυκερόλης (15%) στους -80°C για μακροχρόνια αποθήκευση. Για βραχυπρόθεσμη χρήση, οι καλλιέργειες διατηρήθηκαν σε τρυβλία PDA σε θερμοκρασία 4°C. Η παραπάνω διαδικασία εξασφάλισε την απομόνωση καθαρών καλλιεργειών του μύκητα, παρέχοντας τη βάση για περαιτέρω μελέτες που αφορούν την αξιοποίηση του *Trichoderma simmonsii* στη γεωργία.

Παρασκευή κονιδιακού εναιωρήματος

Αρχικά, ο μύκητας *Trichoderma simmonsii* καλλιεργήθηκε σε τρυβλία Petri με θρεπτικό μέσο Potato Dextrose Agar (PDA Biolife). Τα τρυβλία επώστηκαν σε θερμοκρασία 25°C για 5-7 ημέρες, υπό συνθήκες σκοταδίου, μέχρι να εμφανιστούν πλήρως ανεπτυγμένες αποικίες, ικανές να παράγουν επαρκή ποσότητα κονιδίων.

Για την παρασκευή του εναιωρήματος, προστέθηκαν 5-10 mL αποστειρωμένου απιονισμένου νερού ή φυσιολογικού ορού (0,85% NaCl) σε κάθε τρυβλίο. Στο υγρό

μέσο προστέθηκε 0,01% Tween 20, το οποίο δρα ως επιφανειοδραστικός παράγοντας, διευκολύνοντας την αποκόλληση των κονιδίων από την επιφάνεια του άγαρ. Στη συνέχεια, με τη χρήση αποστειρωμένης σπάτουλας, η επιφάνεια των αποικιών ξύστηκε απαλά, ώστε τα κονίδια να αποκολληθούν και να σχηματίσουν ένα ομοιογενές αιώρημα.

Το εναιώρημα συλλέχθηκε προσεκτικά και μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένα σωληνάρια, ενώ, όπου κρίθηκε απαραίτητο, διηθήθηκε μέσω αποστειρωμένης γάζας για την απομάκρυνση υπολειμμάτων μυκηλίου. Η συγκέντρωση των κονιδίων στο εναιώρημα μετρήθηκε με τη χρήση αιμοκυτταρόμετρου Neubauer (TIEFE 0,100 mm 1/400 9 mm). Για τις πειραματικές ανάγκες, το εναιώρημα ρυθμίστηκε σε συγκέντρωση $6,8 \times 10^7$ κονίδια/mL, ανάλογα με την εφαρμογή. Το τελικό εναιώρημα διατηρήθηκε στους 4°C σε ειδικό θάλαμο του εργαστηρίου.

Η διαδικασία παρασκευής του κονιδιακού εναιωρήματος πραγματοποιήθηκε υπό αποστειρωμένες συνθήκες, σε θάλαμο νηματικής ροής, ώστε να διασφαλιστεί η καθαρότητα του δείγματος και να αποφευχθούν επιμολύνσεις. Η ποιότητα του παραγόμενου εναιωρήματος ελέγχθηκε μικροσκοπικά, διασφαλίζοντας την απουσία ανεπιθύμητων μικροοργανισμών και την ομοιομορφία της συγκέντρωσης των κονιδίων.



Εικόνα 29: παρασκευή κονιδιακού εναιωρήματος στο εργαστήριο του Πανεπιστημίου (Κατσογιάννη Ηλιάννα , 2023)

2.3 ΕΚΤΡΟΦΗ ZOPHOBAS MORIO ΚΑΙ ΣΥΛΛΟΓΗ FRASS

Η εκτροφή του εντόμου *Zophobas morio* και η συλλογή του *Insect Frass* πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Εντομολογίας του Τμήματος Γεωπονίας – Αγροτεχνολογίας στο Γαίοπολις με στόχο τη χρήση του *Frass* ως οργανικό λίπασμα

και βιοδιεγέρτη στα γλαστρικά φυτά των φοιτητών. Η διαδικασία περιλαμβάνει τη συστηματική εκτροφή των εντόμων σε ελεγχόμενες συνθήκες και τη συλλογή του *Frass*, που αποτελείται κυρίως από περιττώματα ενός συγκεκριμένου εντόμου, του *Zophobas morio*.

Η εκτροφή πραγματοποιήθηκε σε πλαστικά δοχεία εκτροφής με διαστάσεις 40cm x 30cm x 25cm , τα οποία διέθεταν καλό αερισμό. Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε πίτουρο σίτου, ενώ ως πηγές τροφής και υγρασίας χρησιμοποιήθηκαν φρέσκα λαχανικά και φρούτα, όπως καρότα, μήλα και πατάτες . Για τη συλλογή του *Frass* χρησιμοποιήθηκαν αποστειρωμένα εργαλεία, όπως σίτες διαλογής και λαβίδες.

Η εκτροφή ξεκίνησε με την τοποθέτηση του υποστρώματος στο δοχείο εκτροφής, δημιουργώντας μια στρώση πάχους 3-5 cm. Οι προνύμφες *Zophobas morio* εισήχθησαν στο υπόστρωμα σε αναλογία περίπου 100-150 εντόμων ανά δοχείο. Τα έντομα τροφοδοτήθηκαν με φρέσκα λαχανικά και φρούτα, τα οποία ανανεώνονταν κάθε 2-3 ημέρες για να διασφαλιστεί η διατήρηση της υγρασίας και να αποφευχθεί η ανάπτυξη μούχλας.

Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος διατηρήθηκε στους 25°C, με σχετική υγρασία 50-65 % , συνθήκες που είναι ιδανικές για την ανάπτυξη των εντόμων. Κάθε 2-3 εβδομάδες, μέρος του υποστρώματος αντικαταστάθηκε για τη διατήρηση καθαρού περιβάλλοντος εκτροφής.

Μετά από 4-6 εβδομάδες εκτροφής, το υπόστρωμα περιείχε ικανοποιητική ποσότητα *Frass*. Για τη συλλογή του, το υπόστρωμα διαχωρίστηκε από το *Frass* με τη χρήση ειδικών κοσκίνων (4mm- 500μm) σε μηχανή κοσκίνισης (Endecotts Octagon Sieve Shaker). Το Insect Frass αποτελούνταν μόνο από το περιεχόμενο που έμενε στο κόσκινο διατομής 0,5mm. Έπειτα , το IF τοποθετήθηκε σε μεγάλα αεροστεγή δοχεία στο ψυγείο ψυγείο στους 4°C, για την καλύτερη συντήρηση και αποθήκευση .



Εικόνα 30: ενήλικα σκαθάρια *zophobas morio* (www.entomologytoday.org)

2.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ

Το πείραμα διήρκεσε συνολικά 80 ημέρες και διεξήχθη υπό ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκηπίου, με στόχο τη μελέτη της επίδρασης του *Trichoderma simmonsii* και του *Insect Frass* στη φωτοσυνθετική ικανότητα, την ανάπτυξη και την παραγωγικότητα φυτών μαρουλιού (*Lactuca sativa*). Κατά τη διάρκεια του πειράματος, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη και του μήκους των στελεχών, ενώ τα πειραματικά τεμάχια χωρίστηκαν σε ομάδες βάσει των επεμβάσεων που εφαρμόστηκαν.

Η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη μετρήθηκε χρησιμοποιώντας το όργανο KONICA MINOLTA SPAD-502, το οποίο παρέχει γρήγορες και αξιόπιστες ενδείξεις του σχετικού δείκτη χλωροφύλλης (*Soil Plant Analysis Development*). Συνολικά πραγματοποιήθηκαν τέσσερις μετρήσεις, με συχνότητα μία κάθε 20 ημέρες. Κατά τη διάρκεια κάθε μέτρησης, λαμβάνονταν δεδομένα από 6 διαφορετικά σημεία και φύλλα του κάθε φυτού, εξασφαλίζοντας την αντιπροσωπευτικότητα και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων.

Το μήκος των στελεχών μετρήθηκε ανά 16 ημέρες με τη χρήση μετροταινίας. Η μέτρηση πραγματοποιούνταν από τον λαιμό του φυτού έως την κορυφή του υψηλότερου φύλλου. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν πέντε μετρήσεις για κάθε πειραματικό τεμάχιο, επιτρέποντας την καταγραφή της δυναμικής ανάπτυξης των φυτών.

αξιολόγηση του *Trichoderma simmonsii* και του *Insect Frass* ως βιοδιεγέρτες πραγματοποιήθηκε σε 96 γλάστρες οι οποίες τοποθετήθηκαν σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκηπίου. Τα πειραματικά τεμάχια χωρίστηκαν σε 9 ομάδες, κάθε μία από τις οποίες περιλάμβανε 6 γλάστρες. Οι ομάδες χωρίστηκαν ανάλογα με την επέμβαση που

εφαρμόστηκε και η κάθε επέμβαση αποτελείται από 6 γλάστρες 4 λίτρων στις οποίες περιέχεται 1 κιλό χώματος σε κάθε μία .

Πίνακας 11: Οι επεμβάσεις που διενεργήθηκαν στο πείραμα

	ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ	ΓΛΑΣΤΡΕ Σ	ΧΩΜΑ	FRASS		TRICHODERMA
1.	<i>Μάρτυρας Φτωχό Χώμα (PS)</i>	6	1000 gr			
2.	+ Frass 1,0% + 1,0%	6	990 gr	10	10	
3.	3 + Frass 2,0% + 2,0%	6	980 gr	20	20	
4.	+ Frass 1,0%	6	990 gr	10		
5.	+ Frass 2,0	6	980 gr	20		
6.	+Trichoderma	6	1000 gr			20 ml κονιδιακού δμς
7.	+ Trichoderma + frass 1,0%	6	990 gr	10		20 ml κονιδιακού δμς
8.	+ Trichoderma + frass 2,0%	6	980 gr	20		20 ml κονιδιακού δμς
9.	<i>Μάρτυρας πλούσιο χώμα (RS)</i>	6	1000 gr			
10.	+ Frass 1,0% + 1,0%	6	990 gr	10	10	
11.	+ Frass 2,0% + 2,0%	6	980 gr	20	20	
12.	+ Frass 1,0%	6	990 gr	10		
13.	+ Frass 2,0	6	980 gr	20		
14.	+Trichoderma	6	1000 gr			20 ml κονιδιακού δμς
15.	+ Trichoderma + frass 1,0%	6	990 gr	10		20 ml κονιδιακού δμς
16.	+ Trichoderma + frass 2,0%	6	980	20		20 ml κονιδιακού δμς
		96		180	60	

Προετοιμασία Υποστρώματος

Η προετοιμασία του υποστρώματος πραγματοποιήθηκε με ανάμιξη τύρφης και περλίτη σε αναλογία 1:3, εξασφαλίζοντας κατάλληλη αερότητα και κατακράτηση υγρασίας. Σε κάθε γλάστρα προστέθηκε 1 kg υποστρώματος, το οποίο ζυγίστηκε με

ζυγό υψηλής ακρίβειας. Οι γλάστρες τοποθετήθηκαν στον χώρο του θερμοκηπίου και κατανεμήθηκαν σε ομάδες, σύμφωνα με τις εφαρμογές των βιοδιεγερτών.

Για το πειραματικό μέρος της μελέτης, χρησιμοποιήθηκαν γλάστρες χωρητικότητας 5 λίτρων, με διαστάσεις 23 cm διάμετρος στο πάνω μέρος, 17,4 cm βάθος και 17,5 cm διάμετρος στη βάση. Σε κάθε γλάστρα τοποθετήθηκε 1 kg υποστρώματος, το οποίο αποτελούνταν από μείγμα τύρφης και περλίτη σε αναλογία 3:1 κατ' όγκο. Η ακριβής ποσότητα υποστρώματος μετρήθηκε με τη χρήση ζυγού υψηλής ακρίβειας, προκειμένου να διασφαλιστεί η ομοιομορφία μεταξύ των γλαστρών.

Το υπόστρωμα παρασκευάστηκε με τη χρήση δύο ειδών τύρφης, ώστε να καλυφθούν οι απαιτήσεις του πειράματος. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε μαύρη τύρφη χωρίς πρόσθετα συστατικά (Klasmann, Base Substrate, τύρφη με ισορροπημένο pH), η οποία παρέχει σταθερό υπόβαθρο για τη μελέτη των εξωτερικών επεμβάσεων. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε εμπλουτισμένη τύρφη που περιείχε μακροστοιχεία (NPK) και ιχνοστοιχεία (HAWITA professional, super terra ST1), η οποία εξασφάλισε τη βασική θρεπτική υποστήριξη για την ανάπτυξη των φυτών.

Η επιλογή της συγκεκριμένης σύστασης υποστρώματος έγινε με βάση την ικανότητά του να προσφέρει κατάλληλες συνθήκες αερισμού, κατακράτησης υγρασίας και παροχής θρεπτικών συστατικών. Ο περλίτης χρησιμοποιήθηκε για τη βελτίωση της δομής του υποστρώματος, εξασφαλίζοντας την επαρκή αποστράγγιση και αποφυγή συμπίεσης του εδάφους στις γλάστρες.

Η ομοιομορφία του υποστρώματος στις γλάστρες θεωρήθηκε κρίσιμη για τη διασφάλιση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων, επιτρέποντας την αντικειμενική αξιολόγηση των εφαρμοζόμενων επεμβάσεων, όπως η χορήγηση βιοδιεγερτών ή οργανικών λιπασμάτων, και τη σύγκριση της ανάπτυξης των φυτών μεταξύ των πειραματικών ομάδων.



Εικόνα 31: τοποθέτηση γλαστρών στο θερμοκήπιο και γέμισμα μείγματος τύρφης- περλίτη 3:1 κατ' όγκο.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε προσθήκη και ενσωμάτωση του *Insect Frass* (IF) στην επιφάνεια του υποστρώματος. Το IF προστέθηκε σε ποσοστά 1% και 2% του συνολικού βάρους του υποστρώματος, ανάλογα με την επέμβαση. Το υλικό αναμείχθηκε προσεκτικά με την επιφάνεια του εδάφους και στη συνέχεια εφαρμόστηκε νερό, ώστε να επιτευχθεί ομοιόμορφη ενσωμάτωση του IF στο υπόστρωμα. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε αποκλειστικά στους μάρτυρες RSF1, RSF11, RSTF1, PSF1, PSF11, PSTF1, RSF2, RSF22, RSTF2, PSF22, PSTF2 και PSF2.

Στις ομάδες φυτών RSF11, PSF11, RSF22 και PSF22 πραγματοποιήθηκε επαναληπτική χορήγηση IF, ίση με την ποσότητα της αρχικής δόσης. Η επαναληπτική εφαρμογή έλαβε χώρα τρεις εβδομάδες μετά τη μεταφύτευση, ώστε να ενισχυθεί η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών κατά τη φάση της ανάπτυξης των φυτών.

Το υπόστρωμα τοποθετήθηκε στις γλάστρες στον χώρο του θερμοκηπίου και ποτίστηκε κάθε δύο ημέρες, με ποσότητα νερού 1-2 λίτρα ανά γλάστρα, ώστε να διατηρηθεί η υγρασία στο 80% της χωρητικότητας κατακράτησης νερού (*Water Holding Capacity - WHC*). Παράλληλα, χορηγήθηκαν και οι αντίστοιχες δόσεις IF σύμφωνα με το πρωτόκολλο.

Δύο εβδομάδες μετά την προετοιμασία του υποστρώματος και την εφαρμογή του IF, πραγματοποιήθηκε η μεταφύτευση των φυτών μαρουλιού, διασφαλίζοντας τη σταθεροποίηση του υποστρώματος και τη βέλτιστη ανάπτυξη των φυτών κατά τις αρχικές φάσεις της καλλιέργειας.



Εικόνα 32: Προσθήκη του frass στην επιφάνεια του υποστρώματος.

2.6 ΦΥΤΕΥΣΗ



Εικόνα 33: Μεταφύτευση σπορόφυτων μαρουλιού

Αφού δόθηκε ο απαραίτητος χρόνος στο υπόστρωμα να απορροφήσει πλήρως τα χορηγούμενα θρεπτικά συστατικά και να εξισορροπηθεί η θρεπτική του σύσταση, ξεκίνησε η διαδικασία παραλαβής των φυτών μαρουλιού για τη φύτευση. Το στάδιο αυτό διασφαλίζει ότι τα θρεπτικά στοιχεία, όπως άζωτο, φώσφορο και κάλιο, είναι διαθέσιμα στη ριζόσφαιρα, προάγοντας την άμεση προσαρμογή των φυτών στο περιβάλλον καλλιέργειας.

Η μεταφύτευση πραγματοποιήθηκε 7 ημέρες μετά την αρχική προετοιμασία του υποστρώματος. Τα σπορόφυτα μαρουλιού (*Lactuca sativa* var. Romana), τα οποία είχαν αναπτυχθεί υπό ελεγχόμενες συνθήκες φυτωρίου, βρίσκονταν σε στάδιο ανάπτυξης 7-8 cm σε ύψος και διέθεταν 3-4 πλήρως ανεπτυγμένα πραγματικά φύλλα. Η επιλογή του συγκεκριμένου σταδίου ανάπτυξης κρίθηκε κατάλληλη, καθώς τα φυτά

παρουσίαζαν ισορροπημένη σχέση μεταξύ βλαστικού και ριζικού συστήματος, εξασφαλίζοντας βέλτιστη εγκατάσταση στο υπόστρωμα.

Κατά τη μεταφύτευση, δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή στην τοποθέτηση του ριζικού συστήματος, ώστε να αποφευχθεί η μηχανική καταπόνηση και να διασφαλιστεί η σωστή επαφή με το υπόστρωμα. Οι γλάστρες διατηρήθηκαν σε συνθήκες θερμοκηπίου, όπου η θερμοκρασία και η υγρασία ελέγχονταν για την υποστήριξη της αρχικής φάσης της βλαστικής ανάπτυξης. Η διαδικασία αυτή ενίσχυσε τη φυσιολογική προσαρμογή των φυτών, δημιουργώντας τις προϋποθέσεις για ομαλή ανάπτυξη και βέλτιστη απόδοση στην επόμενη φάση του πειράματος.

Λήψη μετρήσεων χλωροφύλλης:

Κατά τη διάρκεια του πειράματος, πραγματοποιήθηκαν συστηματικές μετρήσεις της φυσιολογικής κατάστασης των φυτών με τη χρήση εξειδικευμένων οργάνων, του χλωροφυλλόμετρου SPAD-502 (KONICA MINOLTA) και του MINI-PAM. Οι μετρήσεις διενεργήθηκαν ταυτόχρονα, την ίδια ημέρα και στα ίδια φύλλα, επιλέγοντας 2-3 πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα ανά φυτό, ώστε να εξασφαλιστεί η αντιπροσωπευτικότητα των δεδομένων για κάθε φυτό του πειράματος. Η συλλογή δεδομένων πραγματοποιήθηκε κατά την έναρξη κάθε σταδίου ανάπτυξης του φυτού, ακολουθώντας τις φυσιολογικές φάσεις της καλλιέργειας. Τα δεδομένα κατεγράφησαν αρχικά σε χειρόγραφες φόρμες και στη συνέχεια εισήχθησαν σε αρχείο Excel για επεξεργασία και στατιστική ανάλυση.

Για κάθε μέτρηση, τοποθετήθηκαν οι αισθητήρες του οργάνου σε 6 διαφορετικά σημεία και φύλλα ανά φυτό, επιλέγοντας θέσεις που αντιπροσωπεύουν ομοιόμορφα την κόμη. Η προσέγγιση αυτή διασφαλίζει τη μεγαλύτερη ακρίβεια στα αποτελέσματα, μειώνοντας την επίδραση τοπικών διαφορών στην περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη. Τα δεδομένα από κάθε φύλλο συλλέχθηκαν ακολουθώντας τα διεθνώς αναγνωρισμένα πρωτόκολλα για τη μέτρηση φυσιολογικών παραμέτρων.

Παράλληλα με τις μετρήσεις χλωροφύλλης, κάθε 16 ημέρες πραγματοποιούνταν μετρήσεις του μήκους των στελεχών των φυτών. Η μέτρηση γινόταν με ακρίβεια χρησιμοποιώντας μετροταινία, καταγράφοντας την απόσταση από τον λαιμό του φυτού (ζώνη επαφής με το υπόστρωμα) έως την κορυφή του υψηλότερου πλήρως ανεπτυγμένου φύλλου. Συνολικά, πραγματοποιήθηκαν πέντε μετρήσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος, εξασφαλίζοντας την καταγραφή της δυναμικής ανάπτυξης των φυτών σε τακτά διαστήματα.

Οι μετρήσεις με το SPAD και το MINI-PAM εξασφάλισαν τη συλλογή ποσοτικών δεδομένων υψηλής ακρίβειας, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της φυσιολογικής κατάστασης των φυτών και της απόδοσης των επεμβάσεων βιοδιεγερτών.



Εικόνα 34: Μέτρηση φωτοσυνθετικής ικανότητας με spad

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΚΟΝΙΔΙΑΚΟΥ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ TRICHODERMA ΣΤΟ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟ

Πέντε ημέρες μετά τη μεταφύτευση των φυτών, κάθε γλάστρα εμβολιάστηκε με 20 mL κονιδιακού εναιωρήματος του μύκητα *Trichoderma simmonsii*. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 200 mL αποστειρωμένου νερού σε κάθε γλάστρα, προκειμένου να εξασφαλιστεί η πλήρης ενσωμάτωση του εναιωρήματος στο υπόστρωμα και να αποτραπεί η παραμονή του στην επιφάνεια, η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει σε άνιση κατανομή των κονιδίων.

Η δεύτερη εφαρμογή Insect Frass πραγματοποιήθηκε 30 ημέρες μετά τη μεταφύτευση, σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό. Οι ποσότητες που χορηγήθηκαν ήταν 1% και 2% του συνολικού βάρους του υποστρώματος, ανάλογα με την πειραματική ομάδα. Η συγκεκριμένη εφαρμογή σχεδιάστηκε για να διατηρηθεί η σταθερή διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών και να υποστηριχθεί η βιοδιεγερτική δράση του Frass κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φυτών.

Το κονιδιακό εναιώρημα παρασκευάστηκε στο εργαστήριο υπό αποστειρωμένες συνθήκες, ακολουθώντας το πρωτόκολλο ανάπτυξης του *Trichoderma simmonsii* σε θρεπτικό μέσο Potato Dextrose Agar (PDA). Το εναιώρημα περιείχε κονίδια σε συγκέντρωση $6,8 \times 10^7$ κονίδια/mL, εξασφαλίζοντας την αποτελεσματική εγκατάσταση του μύκητα στο ριζόσφαιρα των φυτών.

Το παρασκευασμένο διάλυμα μεταφέρθηκε προσεκτικά στον χώρο του θερμοκηπίου και εφαρμόστηκε στο υπόστρωμα των πειραματικών ομάδων PST, PSTF1, PSTF2, RST, RSTF1 και RSTF2. Σε κάθε ομάδα περιλαμβάνονταν 6 γλάστρες, στις οποίες το κονιδιακό εναιώρημα εφαρμόστηκε μέσω εμποτισμού.



Εικόνα 35.: Εμβολιασμός με *Trichoderma simmonsii* και προσθήκη δεύτερης δόσης *Insect Frass*.

Συγκομιδή μαρουλιών



Εικόνα 36: μέτρηση του νωπού βάρους στελέχους μαρουλιών

Η διαδικασία συγκομιδής των μαρουλιών πραγματοποιήθηκε με προσεκτική κοπή του φυτού από τη βάση του, ώστε να διασφαλιστεί η ακεραιότητα του στελέχους και των φύλλων. Κάθε μαρούλι τοποθετήθηκε σε ξεχωριστό σακουλάκι, το οποίο φέρει ευκρινή επισήμανση που περιλαμβάνει την επέμβαση και την επανάληψη στην οποία ανήκει, εξασφαλίζοντας την ταυτοποίηση των πειραματικών δεδομένων.

Μετά τη συγκομιδή, πραγματοποιήθηκε μέτρηση του νωπού βάρους του στελέχους κάθε φυτού με τη χρήση ζυγαριάς ακριβείας (KERN & Sohn GmbH, D-72336 Balingen, Germany), η οποία παρέχει υψηλή ακρίβεια και αξιοπιστία στα αποτελέσματα. Η μέτρηση έγινε αμέσως μετά τη συλλογή, ώστε να αποφευχθεί η απώλεια υγρασίας που θα μπορούσε να επηρεάσει τα δεδομένα.

Η διαδικασία αυτή επέτρεψε την καταγραφή του νωπού βάρους ως σημαντικής φυσιολογικής παραμέτρου, παρέχοντας χρήσιμες πληροφορίες για την επίδραση των πειραματικών επεμβάσεων στην παραγωγικότητα και την ανάπτυξη των φυτών.



Εικόνα 37: Ρίζα μαρουλιού, εικόνα πειράματος

Η απομόνωση του ριζικού συστήματος των φυτών πραγματοποιήθηκε με ήπια και προσεκτική διαδικασία, ώστε να διατηρηθεί η ακεραιότητά του. Αρχικά, η μπάλα χώματος που περιβάλλει τη ρίζα βυθίστηκε σε δοχείο με νερό, διευκολύνοντας την αποκόλληση της πλειονότητας του υποστρώματος. Στη συνέχεια, το ριζικό σύστημα ξεπλύθηκε προσεκτικά με νερό υπό πίεση, εξασφαλίζοντας την πλήρη απομάκρυνση του υπολείμματος χώματος χωρίς να προκληθεί μηχανική καταπόνηση στις ρίζες.

Το καθαρισμένο ριζικό σύστημα τοποθετήθηκε σε διακριτά σακουλάκια, στα οποία αναγράφεται η πειραματική επέμβαση και η επανάληψη, εξασφαλίζοντας την ορθή ταυτοποίηση των δειγμάτων. Στη συνέχεια, τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο, όπου τοποθετήθηκαν σε διηθητικό χαρτί για 24 ώρες, προκειμένου να απομακρυνθεί η περίσσεια υγρασίας.

Μετά την προετοιμασία, πραγματοποιήθηκε μέτρηση του νωπού βάρους του ριζικού συστήματος με ζυγαριά υψηλής ακρίβειας (KERN & Sohn GmbH, D-72336 Balingen, Germany), διασφαλίζοντας την αξιοπιστία και την επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων. Αυτή η διαδικασία κατέγραψε σημαντικές πληροφορίες για τη φυσιολογική ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, συμβάλλοντας στην αξιολόγηση της επίδρασης των πειραματικών παραγόντων.

Εντοπισμός και Απομόνωση Ενδοφυτικών Μικροοργανισμών σε Φυτικούς Ιστούς

Οι μετρήσεις για τον ενδοφυτικό αποικισμό πραγματοποιήθηκαν στο τέλος του πειράματος, χρησιμοποιώντας δείγματα από φύλλα, λαιμούς και ρίζες των φυτών που ανήκαν στις πειραματικές ομάδες που είχαν εμβολιαστεί με τον μύκητα *Trichoderma simmonsii*. Η διαδικασία διεξήχθη υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε θάλαμο νηματικής ροής (Equip Vertical Air Laminar Flow Cabinet Clean Bench), εξασφαλίζοντας την αποτροπή επιμολύνσεων.

Κάθε δείγμα κόπηκε σε δίσκους διαμέτρου 5 mm και πάχους 0,5 mm, χρησιμοποιώντας αποστειρωμένα εργαλεία (νυστέρια και λαβίδες), τα οποία είχαν προηγουμένως απολυμανθεί με καμινέτο και αιθανόλη.

Διαδικασία Μετρήσεων Ενδοφυτικού Αποικισμού

Οι μετρήσεις για τον ενδοφυτικό αποικισμό πραγματοποιήθηκαν στο τέλος του πειράματος, χρησιμοποιώντας δείγματα από φύλλα, λαιμούς και ρίζες των φυτών που ανήκαν στις πειραματικές ομάδες που είχαν εμβολιαστεί με τον μύκητα *Trichoderma simmonsii*. Η διαδικασία διεξήχθη υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε θάλαμο νηματικής ροής (Equip Vertical Air Laminar Flow Cabinet Clean Bench, Mechanical Application LTD, Αθήνα, Ελλάδα), εξασφαλίζοντας την αποτροπή επιμολύνσεων.

Κάθε δείγμα κόπηκε σε δίσκους διαμέτρου 5 mm και πάχους 0,5 mm, χρησιμοποιώντας αποστειρωμένα εργαλεία (νυστέρια και λαβίδες), τα οποία είχαν προηγουμένως απολυμανθεί με καμινέτο και αιθανόλη.

Διαδικασία Επιφανειακής Απολύμανσης

Η επιφανειακή απολύμανση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας συγκεκριμένο πρωτόκολλο πολλαπλών σταδίων:

1. Αρχικό Ξέπλυμα: Τα δείγματα εμβάπτιστηκαν σε απιονισμένο νερό για 5 δευτερόλεπτα.
2. Χρήση Υποχλωριώδους Νατρίου: Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 6% για 30 δευτερόλεπτα, το οποίο αφαιρεί επιφανειακούς μικροοργανισμούς.
3. Ξέπλυμα και Επανάληψη: Ακολούθησε εμβάπτιση εκ νέου σε απιονισμένο νερό, επαναλαμβάνοντας τη διαδικασία με υποχλωριώδες νάτριο και τελικό ξέπλυμα με απιονισμένο νερό.
4. Χρήση Polysorbate 80: Τα δείγματα εμβάπτιστηκαν σε διάλυμα 10% Polysorbate 80 (Umake cosmetics) για 5 δευτερόλεπτα, για να διασφαλιστεί η πλήρης απομάκρυνση λιπαρών υπολειμμάτων και μικροοργανισμών.



Εικόνα 38: Απολύμανση και απομόνωση δειγμάτων στον θάλαμο νηματικής ροής

Μετά την απολύμανση, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε απορροφητικό χαρτί για να αφαιρεθεί η περίσσεια υγρασίας.

Καλλιέργεια σε Θρεπτικό Μέσο

Κάθε ένα από τα τέσσερα δείγματα που λήφθηκαν ανά επανάληψη τοποθετήθηκε με αποστειρωμένη μεταλλική λαβίδα σε τρυβλίο Petri (διαστάσεων 90×15 mm) που περιείχε PDA (Potato Dextrose Agar, Biolife). Τα τρυβλία σφραγίστηκαν με μεμβράνη παραφίνης (Parafilm) για να αποφευχθεί η απώλεια υγρασίας και η εισαγωγή ανεπιθύμητων μικροοργανισμών.



Εικόνα 39: Ανάπτυξη των απομονωμένων φυτικών ιστών σε θρεπτικό υπόστρωμα pda

Επώαση

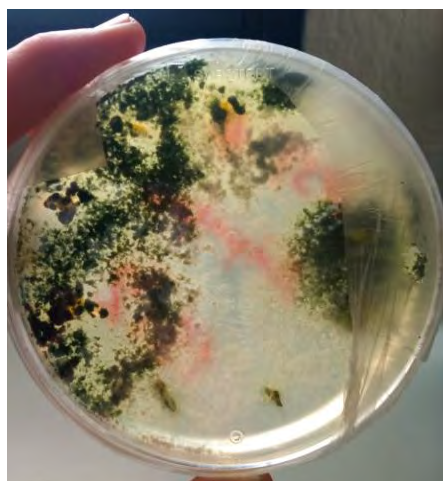
Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε θάλαμο επώασης υπό ελεγχόμενες συνθήκες: θερμοκρασία 25°C, σκοτάδι, και σχετική υγρασία 80%. Η επώαση συνεχίστηκε για χρονικό διάστημα 5-7 ημερών, επιτρέποντας την ανάπτυξη των ενδοφυτικών μικροοργανισμών.

Μέτρα Ασφάλειας και Καθαριότητας

Όλα τα εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν στη διαδικασία απολυμαίνονταν πριν από τη χρήση και μετά από κάθε δείγμα, εφαρμόζοντας φλόγα καμινέτου και εμβάπτιση σε αιθανόλη 70%. Η σχολαστική τήρηση των κανόνων αποστείρωσης διασφάλισε την αξιοπιστία και την εγκυρότητα των αποτελεσμάτων.

Αυτή η προσέγγιση επιτρέπει την απομόνωση ενδοφυτικών μικροοργανισμών από φυτικούς ιστούς και τη μελέτη της συμβιωτικής τους σχέσης με τα φυτά υπό πειραματικές συνθήκες.

Η ανάπτυξη των κονιδίων διήρκησε 14 ημέρες και η βλάστηση των κονιδίων στα φύλλα, στους λαιμούς και στις ρίζες αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας οπτικό μικροσκόπιο (CETI, 3100.5000-Triton II). Το ποσοστό απομόνωσης στις ρίζες ήταν 100%, στους λαιμούς 75% και στα φύλλα 8,3%.



Εικόνα 40: Ορατή εμφάνιση αποικιών *Trichoderma simmonsii* έπειτα από την απομόνωση των φυτικών μερών και καλλιέργεια σε θρεπτικό υπόστρωμα.

4. Αποτελέσματα Ανάλυσης

4.1 Στατιστική Ανάλυση

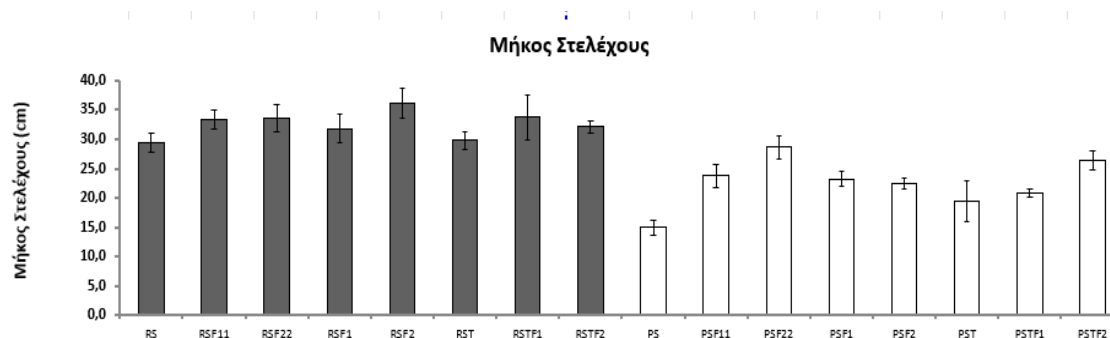
Τα πειραματικά δεδομένα που συλλέχθηκαν, όπως η ανάπτυξη του φυτού, το μήκος του στελέχους, το νωπό βάρος του στελέχους, το νωπό βάρος της ρίζας και οι φωτοσυνθετικές παράμετροι, αναλύθηκαν στατιστικά μέσω της ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA). Εφαρμόστηκε μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) για την αξιολόγηση της σημαντικότητας των διαφορών μεταξύ των πειραματικών επεμβάσεων. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η επίδραση: α) της χορήγησης Insect Frass (IF), β) του εμβολιασμού με *Trichoderma simmonsii*, γ) του τύπου υποστρώματος, δ) της δόσης IF και ε) της συχνότητας χορήγησης του IF.

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό SPSS (έκδοση 27.0), εξασφαλίζοντας την αξιοπιστία και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων.

4.2 Διαγράμματα

Η εφαρμογή του *Trichoderma simmonsii* ή και του Insect Frass (IF) βρέθηκε να επηρεάζει θετικά τις περισσότερες εξεταζόμενες παραμέτρους ανάπτυξης των φυτών. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση στην ανάπτυξη των φυτών στις πειραματικές επεμβάσεις που περιλάμβαναν αυτούς τους παράγοντες, με στατιστικά σημαντικές διαφορές σε αρκετές περιπτώσεις σε σύγκριση με τις ομάδες μάρτυρα.

Έπειτα από εργαστηριακούς ελέγχους βρέθηκε ότι ο μύκητας *Trichoderma simmonsii* ανιχνεύθηκε επιτυχώς να αποικεί τόσο το ριζικό σύστημα όσο και το στέλεχος των φυτών που είχαν εμβολιαστεί με τον μύκητα. Τα αποτελέσματα αυτά τεκμηριώνουν την αποτελεσματικότητα του *T. Simmonsii* και την συμβολή των περιττωμάτων στην ανάπτυξη του φυτού.

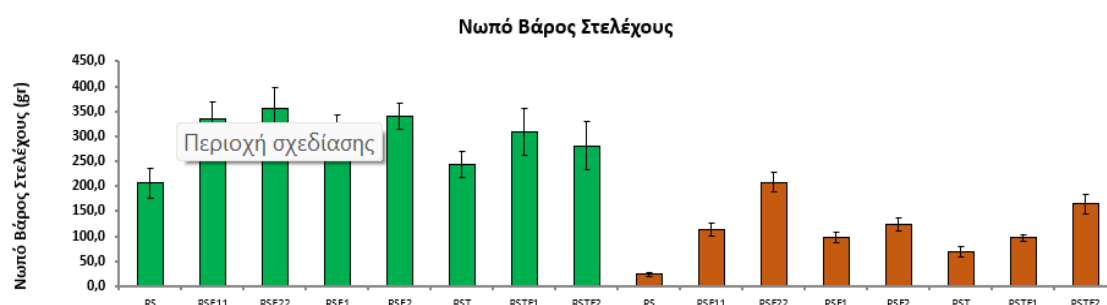


Διάγραμμα 6: Επίδραση του μύκητα *Trichoderma simmonsii* και Insect Frass στο τελικό μήκος στελέχους. Οι στήλες του γραφήματος που δεν συνδέονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά (Turkey – Kramer HSD Test, $p < 0,05$).

Το παραπάνω γράφημα παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές στο τελικό μήκος στελέχους μεταξύ των φυτών μάρτυρα και των φυτών που υπέστησαν επεμβάσεις ($df = 15, 95$; $F = 52,5275$; $p < 0,001$). Οι επεμβάσεις που περιλάμβαναν την εφαρμογή Insect Frass (IF) παρουσίασαν σαφώς μεγαλύτερη αύξηση στο τελικό μήκος του στελέχους σε σύγκριση με τις ομάδες μάρτυρα. Αυτή η αύξηση ήταν εμφανής τόσο στις ομάδες με εμπλουτισμένη τύρφη (RS) όσο και στις ομάδες με τύρφη χωρίς πρόσθετα (PS). Ωστόσο, οι ομάδες RS (εμπλουτισμένη τύρφη) εμφάνισαν υψηλότερες τιμές μήκους από τις αντίστοιχες PS (τύρφη χωρίς πρόσθετα), γεγονός που

υποδεικνύει την επίδραση του υποστρώματος. Οι επεμβάσεις που περιελάμβαναν μόνο τον εμβολιασμό με *T. simmonsii* (RST, PST) δεν έδειξαν σημαντική βελτίωση στο μήκος του στελέχους σε σύγκριση με τις ομάδες μάρτυρα (RS, PS). Αυτό υποδεικνύει ότι το *T. simmonsii* από μόνο του δεν συνέβαλε σημαντικά στην ανάπτυξη των φυτών. Όπου εφαρμόστηκαν συνδυαστικά το *T. simmonsii* και το IF, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αύξηση στο μήκος του στελέχους. Ειδικότερα, οι επεμβάσεις RSTF1, RSTF2, PSTF1 και PSTF2 εμφάνισαν σαφώς μεγαλύτερες τιμές μήκους σε σύγκριση με τις ομάδες που περιείχαν μόνο *T. simmonsii*. Οι επεμβάσεις με IF 2% (RSF22, PSTF2) παρουσίασαν μεγαλύτερη ανάπτυξη στο μήκος του στελέχους συγκριτικά με τις αντίστοιχες επεμβάσεις με IF 1% (RSF11, PSTF1). Ωστόσο, η εφαρμογή δεύτερης δόσης IF 2% δεν φάνηκε να προάγει περαιτέρω την ανάπτυξη του στελέχους σε σχέση με τη δεύτερη δόση IF 1%, γεγονός που υποδεικνύει ότι η πρόσθετη ποσότητα IF πέρα από ένα ορισμένο όριο δεν έχει σημαντική επίδραση.

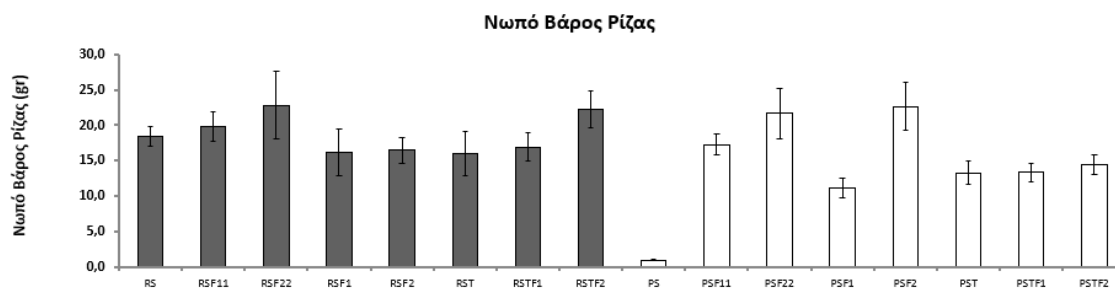
Το διάγραμμα επιβεβαιώνει ότι οι επεμβάσεις με IF και ο συνδυασμός του με *T. simmonsii* έχουν θετική επίδραση στο μήκος του στελέχους, με το υπόστρωμα και τη δόση IF να παίζουν σημαντικό ρόλο.



Διάγραμμα 7: Επίδραση του μύκητα *T. simmonsii* και του IF στο νωπό βάρος στελέχους. Οι στήλες του γραφήματος που δεν συνδέονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά (Turkey – Kramer HSD Test, $p < 0,05$).

Το παραπάνω διάγραμμα παρουσιάζει στατιστικές σημαντικές διαφορές στο νωπό βάρος του στελέχους μεταξύ των φυτών μάρτυρα και των πειραματικών επεμβάσεων ($df = 15, 95$; $F = 96,0007$; $p < 0,001$). Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι ο συνδυασμός IF και *Trichoderma simmonsii* είχε συνεργιστική επίδραση, με τις ομάδες RSTF2 και PSTF2 να καταγράφουν τις υψηλότερες τιμές. Οι επεμβάσεις με το *Insect Frass* (IF) είχαν σημαντική επίδραση στην αύξηση του νωπού βάρους, με τις δόσεις IF 2% να αποδειχθούν πιο αποτελεσματικές από τις IF 1%. Το *T. simmonsii* όταν μόνο του (RST, PST) δεν παρουσίασε σημαντικό βάρος στην αύξηση του νωπού.

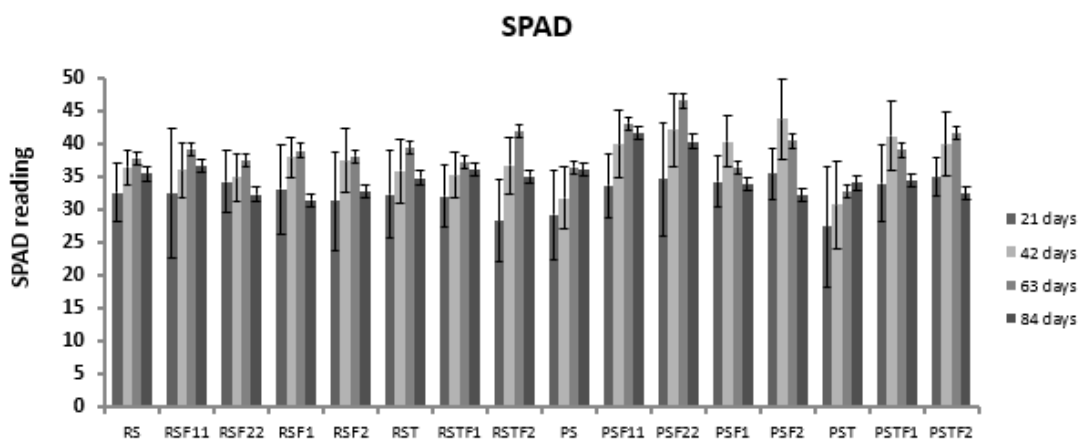
Οι ομάδες μάρτυρα (RS, PS) παρουσιάζουν χαμηλότερο βάρος σε σύγκριση με τις ομάδες που υποβλήθηκαν σε πειραματικές επεμβάσεις. Παρατηρούνται στατιστικές σημαντικές διαφορές στο νωπό βάρος στελέχους ανάμεσα στα φυτά μάρτυρα και στις επεμβάσεις, με τις επεμβάσεις να εμφανιστούν αυξημένα αποτελέσματα. Οι ομάδες που περιλαμβάνουν Insect Frass (RSF11, RSF22, PSF11, PSF22) έχουν υψηλότερες τιμές νωπού βάρους σε σχέση με τα φυτά μάρτυρα (RS, PS). Η ομάδα RSF22 (IF 2%, εμπλουτισμένη τύρφη) παρουσιάζει ιδιαίτερα αυξημένο νωπό βάρος, ξεπερνώντας τις άλλες επεμβάσεις στην κατηγορία RS. Παρομοίως, η ομάδα PSF22 (IF 2%, τύρφη χωρίς πρόσθετα) έχει μεγαλύτερες τιμές από την PSF11 (IF 1%), υποδεικνύοντας τη δοσοεξαρτώμενη θετική επίδραση του IF. Οι επεμβάσεις που συνδυάζουν IF και *T. simmonsii* (RSTF1, RSTF2, PSTF1, PSTF2) δείχνουν ακόμη υψηλότερες τιμές νωπού βάρους σε σύγκριση με τις ομάδες που περιλαμβάνουν μόνο IF. Η ομάδα RSTF2 (IF 2% με *T. simmonsii*) ξεχωρίζει με τη μέγιστη τιμή βάρους στελέχους, επιβεβαιώνοντας τη συνεργιστική δράση του συνδυασμού. Οι ομάδες που περιλαμβάνουν μόνο *T. simmonsii* (RST, PST) δεν παρουσιάζουν σημαντική αύξηση του νωπού βάρους σε σχέση με τις ομάδες μάρτυρα. Αυτό δείχνει ότι το *T. simmonsii* από μόνο του δεν έχει ιδιαίτερη σημασία στην αύξηση του βάρους των στελεχών.



Διάγραμμα 8: Επίδραση του μύκητα *T. simmonsii* και του IF στο νωπό βάρος ρίζας. Οι στήλες του γραφήματος που δεν συνδέονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά (Turkey – Kramer HSD Test, $p < 0,05$).

Στο παραπάνω γράφημα οι διαφορές στο τελικό μήκος στελέχους μεταξύ των φυτών μάρτυρα και των επεμβάσεων ήταν στατιστικά σημαντικές ($df = 15, 95$; $F = 29,2511$; $p < 0,001$). Υπάρχουν σαφείς διαφορές στο νωπό βάρος της ρίζας μεταξύ των ομάδων μάρτυρα (RS, PS) και των πειραματικών επεμβάσεων. Οι ομάδες με IF (RSF11, RSF22) εμφανίστηκαν υψηλότερες τιμές νωπού βάρους ρίζας σε σύγκριση με τον Μάρτυρα RS. Η ομάδα RSF22 (IF 2%) ξεπέρασε την RSF11 (IF 1%), δείχνοντας ότι η μεγαλύτερη δόση IF είχε πιο έντονη θετική επίδραση. Οι ομάδες PSF11 και PSF22 παρουσίασαν παρόμοια τάση, με την PSF22 (IF 2%) δεν υπερβαίνει σημαντικά τις

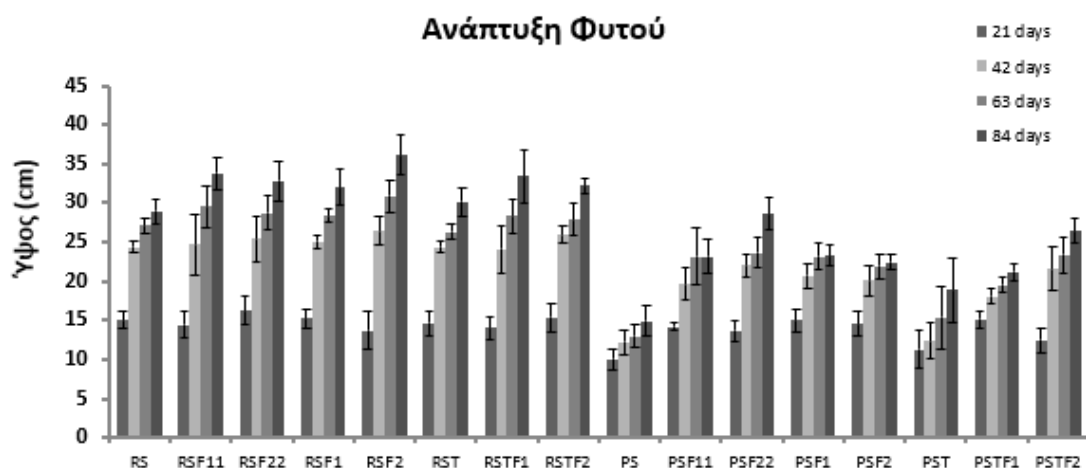
τιμές της PSF11 (IF 1%). Το PSF22 είχε υψηλότερες τιμές νωπού βάρους από τον Μάρτυρα PS, καταδεικνύοντας την αποτελεσματικότητα του IF ακόμη και σε μη εμπλουτισμένο υπόστρωμα. Οι ομάδες που περιλάμβαναν μόνο *T. simmonsii* δεν έδειξαν σημαντική αύξηση του νωπού βάρους της ρίζας σε σχέση με τις ομάδες μάρτυρα. Αυτό υποδεικνύει ότι το *T. simmonsii* από μόνο του δεν έχει σημαντική επίδραση στη βιομάζα της ρίζας. Οι ομάδες που συνδυάζουν το IF με το *T. simmonsii* (RSTF1, RSTF2, PSTF1, PSTF2) παρουσίασαν βελτιωμένες τιμές νωπού βάρους ρίζας σε σύγκριση με τις ομάδες που περιλάμβαναν μόνο IF ή μόνο *T. simmonsii*. Η ομάδα RSTF2 (IF 2% και *T. simmonsii*) καταγράφει τη μέγιστη τιμή, αποδεικνύοντας τη συνεργιστική δράση του συνδυασμού. Οι ομάδες με εμπλουτισμένη τύρφη (RS) εμφανίστηκαν υψηλότερες τιμές νωπού βάρους σε σχέση με τις αντίστοιχες ομάδες με τύρφη χωρίς πρόσθετα (PS). Αυτό καταδεικνύει τη σημασία του υποστρώματος στη βελτίωση της ριζικής βιομάζας.



Διάγραμμα 9: Επίδραση του μύκητα *T. simmonsii* και των περιττωμάτων του IF στη περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη.

Το παραπάνω διάγραμμα παρουσιάζει τη μέση τιμή των μετρήσεων SPAD (δείκτης περιεκτικότητας χλωροφύλλης) σε διάφορες πειραματικές επεμβάσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος. Οι ομάδες μάρτυρα (RS, PS) εμφανίζουν σταθερά χαμηλότερες τιμές SPAD σε όλες τις χρονικές στιγμές, συγκριτικά με τις επεμβάσεις που περιλαμβάνουν Insect Frass (IF) ή/και *Trichoderma simmonsii*. Αυτό δείχνει ότι η απουσία βιοδιεγερτών περιορίζει την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη. Οι ομάδες που περιλαμβάνουν IF (RSF11, RSF22, PSF11, PSF22) παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές SPAD σε όλες τις χρονικές στιγμές. Η βελτίωση είναι πιο έντονη στις ομάδες με δόση IF 2% (RSF22, PSF22), υποδεικνύοντας μια δοσοεξαρτώμενη επίδραση του IF στην αύξηση της χλωροφύλλης. Καθώς το πείραμα προχωρά, οι ομάδες αυτές διατηρούν

σταθερές ή αυξημένες τιμές SPAD, δείχνοντας ότι η εφαρμογή του IF υποστηρίζει τη φωτοσυνθετική ικανότητα σε βάθος χρόνου. Οι συνδυαστικές επεμβάσεις RSTF1, RSTF2, PSTF1, PSTF2 παρουσιάζουν τις υψηλότερες τιμές SPAD, ιδιαίτερα στις τελευταίες μετρήσεις (63 και 84 ημέρες). Αυτό καταδεικνύει τη συνεργιστική δράση του IF και του *Trichoderma simmonsii* στη βελτίωση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη. Οι ομάδες που περιλαμβάνουν μόνο το *T. simmonsii* (RST, PST) παρουσιάζουν μέτριες τιμές SPAD, ελαφρώς υψηλότερες από τους μάρτυρες αλλά χαμηλότερες από τις επεμβάσεις με IF. Αυτό υποδεικνύει ότι το *T. simmonsii* μόνο του έχει περιορισμένη επίδραση στη συγκέντρωση χλωροφύλλης. Συμπερασματικά, οι επεμβάσεις με το Insect Frass (IF) αυξάνουν σημαντικά την περιεκτικότητα χλωροφύλλης, όπως καταδεικνύεται από τις υψηλότερες τιμές SPAD, με τις δόσεις IF 2% να υπερτερούν σε απόδοση έναντι των IF 1%.



Διάγραμμα 10: Επίδραση του μύκητα *T. simmonsii* και των περιττωμάτων του IF στην ανάπτυξη του φυτού.

Καθώς το πείραμα εξελίσσεται η πιο απότομη αύξηση παρατηρείται μεταξύ των μετρήσεων από την 42^η έως και την 63^η μέρα. Η τελική μέτρηση την 84^η ημέρα δείχνει τις μέγιστες τιμές ύψους, υπογραμμίζοντας τη μεγάλη επίδραση των πειραματικών επεμβάσεων. Οι ομάδες μάρτυρα (RS, PS) εμφανίζουν τις χαμηλότερες τιμές σε όλες τις χρονικές στιγμές και αυτό καταδεικνύει ότι η απουσία βιοδιεγερτών περιορίζει την ανάπτυξη των φυτών. Οι ομάδες με IF (RSF11, RSF22, PSF11, PSF22) παρουσιάζουν σημαντικά μεγαλύτερο ύψος σε σχέση με τους μάρτυρες. Επίσης, οι επεμβάσεις με δόση IF 2% (RSF22, PSF22) υπερέχουν έναντι των αντίστοιχων με δόση IF 1% (RSF11, PSF11), υποδεικνύοντας ότι η μεγαλύτερη δόση IF έχει δοσοεξαρτώμενη θετική επίδραση στην ανάπτυξη του ύψους. Οι ομάδες με την επέμβαση *T. simmonsii*

(RST, PST) δείχνουν μέτρια αύξηση, υψηλότερη από τους μάρτυρες αλλά χαμηλότερη από τις επεμβάσεις με IF ή με τον συνδυασμό IF/ *T. simmonsii*. Αυτό δείχνει ότι ο μύκητας *T. simmonsii* από μόνος του έχει περιορισμένη επίδραση στον παράγοντα του ύψους.

5. Συμπεράσματα-προτάσεις

Συμπερασματικά, η επιτακτική ανάγκη της χρήσης βιοδιεγερτών στα ολοκληρωμένα συστήματα καλλιέργειας ολοένα και αυξάνεται. Η χρήση βιοδιεγερτών κερδίζει έδαφος σε παγκόσμιο επίπεδο, καθώς ενισχύουν την αποδοτικότητα των καλλιεργειών και μειώνουν την ανάγκη για χημικά λιπάσματα και φυτοφάρμακα. Παράλληλα, προωθούν τη βιωσιμότητα και τη φιλικότητα προς το περιβάλλον, καθιστώντας τους βασικό εργαλείο στη σύγχρονη γεωργία. Ως απόδειξη, στο πλαίσιο της παρούσας έρευνας γίνονται φανερά τα αποτελέσματα της επίδρασης του *Insect Frass* του εντόμου *Zophobas morio* και του μύκητα *Trichoderma simmonsii* ως βιοδιεγερτών στα γλαστρικά φυτά μαρουλιού που υποβλήθηκαν στο πείραμα και δίνουν εξαιρετικά θετικά αποτελέσματα. Διευκρινιστικά, Οι επεμβάσεις με IF βελτίωσαν το μήκος του στελέχους, το νωπό βάρος και τη ριζική βιομάζα, με τις υψηλότερες αποδόσεις να παρατηρούνται στις δόσεις IF 2%. Ο συνδυασμός του IF με *T. simmonsii* έδειξε συνεργιστική δράση, επιτυγχάνοντας τις μέγιστες τιμές σε όλους τους παράγοντες ανάπτυξης. Οι ομάδες μάρτυρα είχαν τις χαμηλότερες τιμές, ενώ το *T. simmonsii* μόνο του παρουσίασε περιορισμένη επίδραση. Επιπλέον, οι ομάδες με εμπλουτισμένη τύρφη (RS) ξεπέρασαν αυτές με τύρφη χωρίς πρόσθετα (PS), καταδεικνύοντας τη σημασία του υποστρώματος. Τέλος, η εφαρμογή IF αύξησε τη συγκέντρωση χλωροφύλλης (SPAD), ενώ οι συνδυαστικές επεμβάσεις IF και *T. simmonsii* έδειξαν τη μεγαλύτερη βελτίωση στη φωτοσυνθετική ικανότητα και την ανάπτυξη των φυτών.

Τα παραπάνω αποτελέσματα παρουσιάζουν ομοιότητες με την επιστημονική μελέτη των Sun et al. ,(2022) η οποία εξέτασε τη χρήση του IF από το έντομο *Zophobas morio* σε ποσοστό 2%. Τα ευρήματα έδειξαν αυξημένη περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ύλη και βελτίωση της ανάπτυξης των φυτών, ιδιαίτερα μέσω της ενεργοποίησης μικροοργανισμών με ικανότητες διάσπασης σύνθετων οργανικών ενώσεων. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι το IF συνέβαλε στην αποδόμηση πλαστικών, όπως το πολυστυρένιο, αποδεικνύοντας τις δυνατότητές του για περιβαλλοντική

αποκατάσταση. Η μελέτη ανέδειξε την πολύπλευρη χρήση του IF τόσο στη γεωργία όσο και στην προστασία του περιβάλλοντος. Μία άλλη σημαντική έρευνα είναι αυτή των Barragán-Fonseca et al. (2021), στην οποία χρησιμοποιήθηκαν περιττώματα από διάφορα είδη εντόμων ως οργανικό λίπασμα σε ποσοστά 1%-5%. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική βελτίωση της ανάπτυξης των φυτών και ενίσχυση των μικροοργανισμών του εδάφους. Ειδικότερα, η εφαρμογή του IF αύξησε την ικανότητα συγκράτησης υγρασίας στο έδαφος και προώθησε τη βιολογική του δραστηριότητα, παρέχοντας θρεπτικά στοιχεία όπως το άζωτο και το φώσφορο. Η μελέτη αυτή υπογραμμίζει τη δυνατότητα του IF να βελτιώσει την υγεία του εδάφους και να μειώσει την ανάγκη για συνθετικά λιπάσματα, ενισχύοντας τη βιωσιμότητα των καλλιεργητικών συστημάτων.

Όσο αναφορά τα αποτελέσματα της εφαρμογής κονιδιακού διαλύματος του μύκητα *Trichoderma Simmondsii* αναφορικά οι ομοιότητες υπάρχουν και στην μελέτη των Khan et al., (2023) οι οποίοι ανακάλυψαν ότι η εφαρμογή του IF από το έντομο *Tenebrio molitor* σε ποσοστά 1%-2% σε συνδυασμό με τον μύκητα *Trichoderma simmondsii* έδειξε αλληλοβοηθητική δράση, αυξάνοντας σημαντικά το μήκος του στελέχους, το νωπό βάρος και τη βιομάζα της ρίζας. Η μελέτη έδειξε ότι ο συνδυασμός IF και *Trichoderma* βελτίωσε τη δομή του εδάφους, την απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων και την αντοχή των φυτών σε αβιοτικές καταπονήσεις. Οι ομάδες με IF και *Trichoderma* παρουσίασαν τις μέγιστες τιμές ανάπτυξης, υπογραμμίζοντας τη σημασία της ενσωμάτωσης ωφέλιμων μικροοργανισμών για τη μεγιστοποίηση της απόδοσης στις καλλιέργειες.

Παρόμοια, οι επεμβάσεις με Insect Frass (IF) και *Trichoderma simmondsii* αυξάνουν σημαντικά την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη (SPAD) σε σχέση με τις ομάδες μάρτυρα, με τις δόσεις IF 2% (RSF22, PSF22) να υπερτερούν έναντι των IF 1%. Οι συνδυαστικές επεμβάσεις IF και *T. simmondsii* (RSTF1, RSTF2, PSTF1, PSTF2) παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές SPAD, υποδεικνύοντας ενεργό δράση. Αντίθετα, το *T. simmondsii* μόνο του (RST, PST) είχε περιορισμένη επίδραση. Συνολικά, το IF βελτιώνει τη φωτοσυνθετική ικανότητα και την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη, με έντονη δοσοεξαρτώμενη επίδραση. Οι Koh et al. (2020) στις μετρήσεις SPAD κατέδειξαν σημαντική αύξηση στην περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη, με τη δόση IF 2% να υπερτερεί έναντι της IF 1%. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το IF βελτιώνει τη φωτοσυνθετική ικανότητα των φυτών μέσω της παροχής θρεπτικών

συστατικών όπως το άζωτο και η χιτίνη, ενώ παρατηρήθηκε δοσοεξαρτώμενη επίδραση στην ανάπτυξη της φυλλικής επιφάνειας. Παρόμοια, οι Barragán-Fonseca et al. (2021), παρατήρησαν ότι οι μετρήσεις SPAD έδειξαν υψηλότερες τιμές στις επεμβάσεις που περιλάμβαναν IF, είτε μόνο του είτε σε συνδυασμό με ωφέλιμους μικροοργανισμούς. Η εφαρμογή IF συνέβαλε στην αύξηση της φωτοσυνθετικής ικανότητας, βελτιώνοντας παράλληλα τη δομή του εδάφους και ενισχύοντας τη δραστηριότητα μικροοργανισμών. Στο ίδιο μοτίβο κινήθηκαν οι Beesigamukama et al. (2023), οι οποίοι απέδειξαν ότι η χρήση λιπάσματος από περιττώματα της μαύρης στρατιωτόμυγας (Black Soldier Fly Frass Fertilizer, BSFFF) σε καλλιέργειες φασολιών οδήγησε σε σημαντική αύξηση του SPAD, επιβεβαιώνοντας την επίδραση του BSFFF στη βελτίωση της φωτοσύνθεσης. Εφαρμόζοντας δόσεις 45 kg N ha^{-1} , η απόδοση των φυτών αυξήθηκε κατά 43% σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, καταδεικνύοντας τη συμβολή του IF στη βελτιστοποίηση της γεωργικής παραγωγής. Τέλος οι Sun et al. (2022), σε αυτή τη μελέτη, οι προνύμφες του *Zophobas morio* χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή IF, το οποίο εφαρμόστηκε σε ποσοστό 2%. Οι μετρήσεις SPAD αποκάλυψαν ότι η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη αυξήθηκε σημαντικά, ενώ η βελτίωση αποδόθηκε στην ενίσχυση της θρεπτικής απορρόφησης από τα φυτά και στην αυξημένη φωτοσύνθεση.

Παράρτημα – Φωτογραφικό υλικό

Παρακολούθηση ανάπτυξης μαρουλιών

Φωτογραφικό υλικό και σύγκριση της ανάπτυξης των μαρουλιών ανα εβδομάδα.

1^η εβδομάδα:



2^η εβδομάδα



3^η εβδομάδα



4^η εβδομάδα



5^η εβδομάδα



6^η εβδομάδα



7^η εβδομάδα



8^η εβδομάδα



Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Abando, L.L. and Rohner-Thielen, E. (2007), “*Different organic farming patterns within EU-25 – an overview of the current situation*”, *Statistics in Focus*, 69/2007, Eurostat, Luxembourg.
- Abbott, LK, Macdonald, LM, Wong, MTF, Webb, MJ, Jenkins, SN, & Farrell, M. (2018). Πιθανοί ρόλοι βιολογικών τροποποιήσεων για κερδοφόρα παραγωγή σιτηρών – Ανασκόπηση. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **256**, 34 – 50
- Abdelrahman M, Abdel-Motaal F, El-Sayed M, Jogaiah S, Shigyo M, Ito SI, Tran LSP (2016) Dissection of *Trichoderma longibrachiatum* -induced Defense in onion (*Allium cepa* L.) ενάντια στο *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepa* με το προφίλ του μεταβολίτη στόχου. *Plant Sci* 246:128–138
- Andrzejak, R.; Janowska, B. *Trichoderma* spp. Improves Flowering, Quality, and Nutritional Status of Ornamental Plants. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 15662. <https://doi.org/10.3390/ijms232415662>
- Aribi, A., A. Quennedey, N. Pitoizet, J.-P. Delbecque. 1997. Ecdysteroid titres in a tenebrionid beetle, *Zophobas atratus*: effects of grouping and isolation. *J. Insect Physiol.* 43: 815–821.
- Ashworth AJ, Chastain JP, Moore PA. Nutrient characteristics of poultry manure and litter. In: Heidi M. Waldrip, Paulo H. Pagliari, and Zhongqi He, editors. *Animal manure: production, characteristics, environmental concerns, and management*. Madison, WI: Wiley; 2020. p. 63–87.
- Bae SJ, Mohanta TK, Chung JY, Ryu M, Park G, Shim S, Hong SB, Seo H, Bae DW, Bae I, Kim JJ (2016) Μεταβολίτες *Trichoderma* ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου έναντι παθογόνων *Phytophthora*. *Biol Control* 92:128–138
- Bakonyi, T., P. Forgach, S. Marton, R. L. Bercic, L. Vida, and M. Rusvai. 2015. Identification of a novel densovirus in the darkling beetle *Zophobas morio*. *Acta Microbiol. Immunol. Hungar.* 62: 130–131.
- Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., & Prithiviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, **196**, 39–48.
- Beesigamukama, D., Mochoge, B., Korir, N., Musyoka, M. W., Fiaboe, K. K. M., Nakimbugwe, D., Khamis, F. M., Subramanian, S., Dubois, T., Ekesi, S., & Tanga, C. M. (2020). Nitrogen Fertilizer Equivalence of Black Soldier Fly Frass Fertilizer and Synchrony of Nitrogen Mineralization for Maize Production. *Agronomy*, 10(9), 1395. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091395>
- Bhattacharya, A. K., J. J. Ameel, and G. P. Waldbaue. 1970. A method for sexing living pupal and adult yellow mealworms. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1783.
- Blakstad, J. I. (2021). The utilization of frass from the yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) as a plant fertilizer and immune stimulant (Master’s thesis, NTNU). <https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/handle/11250/2782494?localeattribute=en>
- Bukkens, S., 1997. The nutritional value of edible insects. *Ecology of Food and Nutrition*, 36(2-4), pp. 287-319.
- Bunbury-Blanchette AL, Walker AK (2019) Τα είδη *Trichoderma* δείχνουν δυναμικό βιοελέγχου σε διπλή καλλιέργεια και βιοδοκιμές θερμοκηπίου κατά της βασικής σήψης του κρεμμυδιού *Fusarium*. *Biol Control* 130:127-135
- Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, **383**, 3–41.

Canellas, L. P., da Silva, R. M., Busato, J. G., & Olivares, F. (2024). Humic substances and plant abiotic stress adaptation. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 11(1), 66.

Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Picollo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 15–17.

Carvalho, M. E. A., Castro, P. R. C., Gaziola, S. A., & Azevedo, R. A. (2018). Is seaweed extract an elicitor compound? Changing proline content in drought-stressed bean plants. *Comunicata Scientiae*, 9(2), 292–297.

Chung D, Kwon YM, Yang Y. Telomere-to-telomere genome assembly of asparaginase-producing *Trichoderma simmonsii*. *BMC Genomics*. 2021 Nov 17;22(1):830. doi: 10.1186/s12864-021-08162-4. PMID: 34789157; PMCID: PMC8600724.

Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2015). Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 28–38.

Craigie, J. S. (2011). Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*, 23, 371–393.

De Meyer G, Bigirimana J, Elad Y, Hofte M (1998) Προκαλούμενη συστημική αντίσταση σε βιοέλεγχο *Trichoderma harzianum* T39 του *Botrytis cinerea* . *Eur J Plant Pathol* 104:279–286

De Pascale, S., Rouphael, Y., & Colla, G. (2017). Plant biostimulants: innovative tool for enhancing plant nutrition in organic farming. *European Journal of Horticultural Science*, 82, 277–285.

Dudaš, S., Šola, I., Sladonja, B., Erhatic, R., Ban, D., & Poljuha, D. (2016). The effect of biostimulants and fertilizer on “low input” lettuce production. *Acta Botanica Croatica*, 75, 253–259.

EBIC (2018). <http://www.biostimulants.eu/> (accessed 14.05.2018)

Esquivel, J. F., T. L. Crippen, and L. A. Ward. 2012. Improved visualization of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae): I. Morphological features for sex determination of multiple stadia. *Psyche* 328478: 7.

Friederich, U. & Volland, W., 2004. Breeding food animals: live food for vivarium animals. Malabar: Krieger Publishing Company, pp. 20-35.

Fursov, V. & Cherney, L., 2018. *Zophobas atratus* (Fabricius, 1775) – new genus and species of darkling beetles (Coleoptera, Tenebrionidae) for the fauna of Ukraine. *Ukrainian Entomological Journal*, 14(1), pp. 10-24.

Hagstrum, D. W., and B. Subramanyam. 2009. Stored-product insect resource. AACC International Inc., St. Paul, MN.

Harsányi, E., C. Juhász, E. Kovács, L. Huzsvai, R. Pintér, G. Fekete, Z. I. Varga, L. Aleksza, and C. Gyuricza. 2020. Evaluation of organic wastes as substrates for rearing *Zophobas morio*, *Tenebrio molitor*, and *Acheta domesticus* larvae as alternative feed supplements. *Insects* 11: 604.

Ichikawa, T. & Kurauchi, T., 2009. Larval cannibalism and pupal defense against cannibalism in two species of tenebrionid beetles. *Zoological Science*, 26(8), pp. 525-529.

Ichikawa, T., and H. Sakamoto. 2013, 2012a, 2012b A third type of defensive behavior in the tenebrionid beetle *Zophobas atratus* pupae. *J. Insect Sci.* 13: 33.

Jabir, R., Jabir, R. & Vikineswary, S., 2012. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African Journal of Biotechnology*, 11(24), pp. 6592-6598.

Katuwal S, Rafsan N-A-S, Ashworth AJ, Kolar P. Poultry litter physiochemical characterization based on production conditions for circular systems. *Bioresources*. 2023;18(2):3961–3977. <https://doi.org/10.15376/biores.18.2.3961-3977>

Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., ... Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28, 386–399.

Kim, S., Kim, H., Song, S. & Kim, N., 2015. Developmental characteristics of *Zophobas atratus* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae in different instars. *International Journal of Industrial Entomology*, 30(2), pp. 45-49.

Kotaki, T., H. Nakakita, and M. Kuwahara. 1993. Crowding inhibits pupation in *Tribolium freemani* (Coleoptera: Tenebrionidae): effects of isolation and juvenile hormone analogues on development and pupation. *Appl. Entomol. Zool.* 28: 43–52.

Kraan. (2012). Algal Polysaccharides, Novel Applications and Outlook, *Carbohydrates - Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology*. Chuan-Fa Chang, IntechOpen.

Kunicki, E., Grabowska, A., Sękara, A., & Wojciechowska, R. (2010). The effect of cultivar type, time of cultivation, and biostimulant treatment on the yield of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Folia Horticulturae*, 22, 9–13.

Kurauchi, T., T. Nakamura, Y. Toh, and T. Ichikawa. 2011. Distribution of mechanoreceptive sensilla and their functions in the defensive behaviors of tenebrionid beetle *Zophobas atratus* pupae. *Open Access Insect Physiol.* 3: 13–25.

Kuzetsova et. al. (2020). Marine algae Polysaccharides as Basis for Wound Dressings, Drug Delivery, and Tissue Engineering. A review. *J. Mar. Sci. Eng.*,

Laurent EA, Ahmed N, Durieu C, Grieu P, Lamaze T. Τα θαλάσσια και μυκητιακά βιοδιεγερτικά βελτιώνουν την απόδοση των σπόρων, την απορρόφηση και την κατανομή αζώτου στα φυτά σκληρού σίτου. *The Journal of Agricultural Science*. 2020; 158 (4): 279-287. doi:10.1017/S0021859620000660

Liu, H., B. Lu, J. Tang, C. Wang, H. Li, Y. Yan, and L. Zhan. 2012. The separation and identification and drug resistance analysis of the *Pseudomonas aeruginosa* of *Zophobas morio*. *China Animal Health* 10: 012.

Maciel-Vergara, G., A. B. Jensen, and J. Eilenberg. 2018. Cannibalism as a possible entry route for opportunistic pathogenic bacteria to insect hosts, exemplified by *Pseudomonas aeruginosa*, a pathogen of the giant mealworm *Zophobas morio*. *Insects* 9: 88.

Magkos, F., Arvaniti, F. and Zampelas, A. (2003a), “Putting the safety of organic food into perspective”, *Nutrition Research Reviews*, Vol. 16 No. 2, pp. 211-22.

Marcuzzi, G. 1984. A catalogue of Tenebrionid beetles (Coleoptera: Heteromera) of the West Indies. *Folia Ent. Hung.* 45: 69–108.

Mathews JR, Sivparsad BJ, Laing MD (2019) Αξιολόγηση θερμοκηπίου του *Trichoderma harzianum* για τον έλεγχο του μαρασμού *Sclerotinia* (*Sclerotinia sclerotiorum*) του ηλιανθού. *S Afr J Plant Soil* 36(1):69–72

Milton. (1964). Liquid seaweed as a fertilizer. In *Proc Int Seaweed Symp*

Mohapatra S, Mittra B (2017) Μετριασμός του οξειδωτικού στρες που προκαλείται από *Fusarium oxysporum* στο σιτάρι από το *Trichoderma viride*. Arch Phytopathol Plant Protect 50(1–2):4–96. <https://doi.org/10.1080/03235408.2016.1263052>

Nagdalian Andrey Ashotovich¹, Pushkin Sergey Viktorovich¹, Rzhepakovsky Igor Vladimirovich¹, Povetkin Sergey Nikolaevich¹, Simonov Alexander Nikolaevich², Verevkina Marina Nikolaevna², Ziruk Irina Vladimirovna, “Zophobas Morio Semi Industrial Cultivation Peculiarities”, 2018

Nakakita, H. 1982. Effect of larval density on pupation of *Tribolium freemani* Hinton (Coleoptera: Tenebrionidae). Appl. Entomol. Zool. 17: 209–215.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., & Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Science in Agriculture*, **73**, 18–23.

Pascale A, Vinale F, Manganiello G, Nigro M, Lanzuise S, Ruocco M, Marra R, Lombardi N, Woo SL, Lorito M (2017) Το *Trichoderma* και οι δευτερογενείς μεταβολίτες του βελτιώνουν την απόδοση και την ποιότητα των σταφυλιών. Crop Prot 92:176–181

Pascual, JA, Ceglie, F., Tuzel, Y., Koller, M., Koren, A., Hitchings, R., & Tittarelli, F. (2018). Οργανικό υπόστρωμα για παραγωγή μοσχευμάτων σε βιολογικά φυτώρια. Μια κριτική. *Agronomy for Sustainable Development*, **38**, 35.

Pomerleau, J., Lock, K., McKee, M. and Altmann, D. (2004), “The challenge of measuring global fruit and vegetable intake”, *Journal of Nutrition Education*, Vol. 134 No. 5, pp. 1175-80.

Poveda, J. Insect frass in the development of sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **41**, 5 (2021).

Quennedey, A., N. Aribi, C. Everaerts, and J. -P. Delbecque. 1995. Postembryonic development of *Zophobas atratus* Fab. (Coleoptera: Tenebrionidae) under crowded or isolated conditions and effects of juvenile hormone analogue applications. *J. Insect Physiol.* 41: 143–152.

Revista THC. (2025, Ιανουάριος 10). *Trichodermas, los hongos aliados de las raíces: cómo funcionan y cómo aplicarlos*. <https://www.revistathc.com>

Rouphael, Y., Cardarelli, M., Bonini, P., & Colla, G. (2017). Synergistic action of a microbial-based biostimulant and a plant derived-protein hydrolysate enhances lettuce tolerance to alkalinity and salinity. *Frontiers in Plant Science*, **8**, 131.

Rumbos, C.I., Oonincx, D.G.A.B, Karapanagiotidis, I.T., M. Vrontaki, M. Gourgouta, A. Asimaki, E. Mente, & Athanassiou, C.G. 2021. Agricultural by-products from Greece as feed for yellow mealworm larvae: circular economy at a local level. *Journal of Insects as Food and Feed*, 0, pp. 1-14.

Sachdev S, Singh A, Singh RP (2018) Βελτιστοποίηση των συνθηκών καλλιέργειας για μαζική παραγωγή και βιο-συνταγοποίηση του *Trichoderma* χρησιμοποιώντας μεθοδολογία επιφάνειας απόκρισης. 3 Biotech 8(8):360

Samborski, V., Carels, K. and Van Gijsegheem, D. (2007), *De biologische landbouw in 2006*, available at: www2.vlaanderen.be/landbouw/downloads/volt/55.pdf (accessed 22 January 2008).

Saravanakumar K, Yu C, Dou K, Wang M, Li Y, Chen J (2016) Συνεργική επίδραση των αντιμυκητιασικών μεταβολιτών που προέρχονται από το *Trichoderma* και των ενζύμων αποικοδόμησης του κυτταρικού τοιχώματος στον ενισχυμένο βιοέλεγχο του *Fusarium oxysporum* f. sp. *κουκουμάνιο*. Biol Control 94:37–46

Shah, Z. H., Rehman, H. M., Akhtar, T., Alsamadany, H., Hamooh, B. T., Mujtaba, T., ... Chung, G. (2018). Humic substances: Determining potential molecular regulatory processes in plants. *Frontiers in Plant Science*, **9**, 1–12.

Shaji, H., Chandran, V., & Mathew, L. (2021). Organic fertilizers as a route to controlled release of nutrients. In *Controlled release fertilizers for sustainable agriculture* (pp. 231-245). Academic Press.

Sharma, H. S. S., Fleming, C., Selby, C., Rao, J. R., & Martin, T. (2014). Plant biostimulants: A review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *Journal of Applied Phycology*, **26**, 465–490.

Stevenson, F.J. (1994) Organic Forms of Soil Nitrogen. In: Stevenson, F.J., Ed., *Humic Chemistry: Genesis, Composition, Reaction*, 2nd Edition, Wiley, New York.

Tokarev, Y. S., S. M. Malysh, Y. V. Volodartseva, A. V. Gerus, and M. V. Berezin. 2019. Molecular Identification of a Dengue virus in Healthy and Diseased *Zophobas morio* (Coleoptera, Tenebrionidae). *Intervirology*. 62: 222–226.

Traon, D., Laurence, A., Ferdinand, Z., & Du Jardin, P. (2014). A legal framework for plant biostimulants and agronomic fertilizer additives in the EU.

Trevisan, Sara, et al. "Humic substances affect Arabidopsis physiology by altering the expression of genes involved in primary metabolism, growth and development." *Environmental and Experimental Botany* 74 (2010): 45-55.

Tschinkel, W. R. 1981. Larval dispersal and cannibalism in a natural population of *Zophobus atratus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Anim. Behav.* 29: 990–996.

Tuomisto, HL, et al. (2012). "Η βιολογική γεωργία μειώνει τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις; Μια μετα-ανάλυση της ευρωπαϊκής έρευνας." *Περιοδικό Περιβαλλοντικής Διαχείρισης*.

Tyskiewicz, R.; Nowak, A.; Ozimek, E.; Jaroszek-Ścisł, J. *Trichoderma* : Η τρέχουσα κατάσταση της εφαρμογής του στη γεωργία για τον βιοέλεγχο των μυκητιακών φυτοπαθογόνων και τη διέγερση της ανάπτυξης των φυτών. *Int. J. Mol. Sci.* **2022** , *23* , 2329. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>

Van Broekhoven, S., D. G. Oonincx, A. van Huis, and J. J. van Loon. 2015. Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *J. Insect Physiol.* 73: 1–10.

VandenBrooks, J., Ford, C. & Harrison, J., 2020. Responses to Alteration of Atmospheric Oxygen and Social Environment Suggest Trade-Offs among Growth Rate, Life Span, and Stress Susceptibility in Giant Mealworms (*Zophobas morio*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 93(5), pp. 358-368.

Vernieri, P., Borghesi, E., Ferrante, A., & Magnani, G. (2005). Application of biostimulants in floating system for improving rocket quality. *Journal of Food, Agriculture and Environment* **3**: 86–88.

Vinale F, Manganiello G, Nigro M, Mazzei P, Piccolo A, Pascale A, Ruocco M, Marra R, Lombardi N, Lanzuise S, Varlese R, Cavallo P, Lorito M, Woo SL (2014b) Ένας νέος μεταβολίτης μυκήτων με ευεργετική ιδιότητα για γεωργικές εφαρμογές. *Molecules* 19:9760-9772. <https://doi.org/10.3390/molecules19079760>

Walls. (1993). *The Greenhouse*. London: Edition Wardlock.

Wheeler. (1994). Plant growth and nitrogen uptake. USA: Asae paper No. 947506,.

WHO (2003), “*Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation*”, WHO Technical Report Series 916, Geneva.

Woo, S.L.; Ruocco, M.; Vinale, F.; Nigro, M.; Marra, R.; Lombardi, N.; Pascale, A.; Lanzuise, S.; Manganiello, G.; Lorito, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Open Mycol. J.* **2014**, *8*, 71–126

Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: A global perspective. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 2049

Yuan, J., Z. Yinan, M. Ling, W. Hui, H. Liyu, and H. Jie. 2012. Identification of alive female and male adult of *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Scientia Silvae Sinicae* *48*: 175–177.

Zaelor, J., and S. Kitthawee. 2018. Growth response to population density in larval stage of darkling beetles (Coleoptera; Tenebrionidae) *Tenebrio molitor* and *Zophobas atratus*. *Agric. Nat. Resour* *52*: 603–606.

Zandonadi, Daniel Basilio, et al. "Plant physiology as affected by humified organic matter." *Theoretical and Experimental Plant Physiology* *25* (2013): 13-25.

Νατσιόπουλος, Δ.; Τζιόλιας, Α.; Λαγογιάννης, Ι.; Μαντζούκας, Σ.; Ηλιόπουλος, ΠΑ Growth-Promoting and Protective Effect of *Trichoderma atroviride* and *T. simmonsii* on Tomato κατά των Εδαφογενών Μυκητιασικών Παθογόνων. *Καλλιέργειες* **2022** , *2* , 202-217. <https://doi.org/10.3390/crops2030015>

Σάββας. (2011). Καλλιέργειες εκτός εδάφους: Υδροπονία, Υποστρώματα. Αθήνα: Εκδόσεις Αγρότυπος