

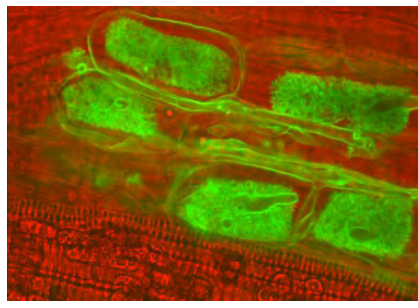


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

## ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επίδραση ενός πιθανού βιολιπάσματος με βάση ενδοφυτικούς  
μύκητες σε αναπτυξιακές και φυσιολογικές παραμέτρους  
καλλιεργούμενων φυτών»**

***«Effect of a possible biofertiliser based on endophytic fungi on growth  
and physiological parameters of cultivated plants»***



**Δήμητρα Σταύρου Μουλιού**

**Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Παπαδοπούλου Καλλιόπη  
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια (Φυσιολογία Φυτών)**

**ΛΑΡΙΣΑ, 29.10.2020**

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

### **ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ ΚΑΛΛΙΟΠΗ**

*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας φυτών στο τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

### **ΤΣΙΚΟΥ ΔΑΝΙΕΛΑ**

*Επίκουρος Καθηγήτρια Μοριακής και Αναπτυξιακής Φυσιολογίας Φυτών στο τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

### **ΚΑΡΠΟΥΖΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ**

*Καθηγητής Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας στο τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

*«Η φύση υφίσταται χωρίς τον άνθρωπο· ο άνθρωπος δεν υφίσταται  
χωρίς την φύση»*

*...στην Καθηγήτριά μου,  
κ. Καλλιόπη Παπαδοπούλου*

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Βιοτεχνολογίας Φυτών και Περιβάλλοντος του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια κ. Παπαδοπούλου, για την συμβολή της τόσο σε επιστημονικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας, σε μία δύσκολη χρονικά περίοδο και με πολλούς περιορισμούς, που προέκυψαν λόγω της πανδημίας του covid-19. Οι ποικίλες επιστημονικές γνώσεις και οι αμέριστες συμβουλές της, στάθηκαν πολύτιμες στην ολοκλήρωση και στην συγγραφή της εργασίας.

Ευχαριστώ όλους τους διδακτορικούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές και ερευνητές του εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας Φυτών και Περιβάλλοντος, για την αγαστή συνεργασία, τις γνώσεις, την καθοδήγηση και τις συμβουλές τους σε ό,τι χρειάστηκα, κατά την υλοποίηση της εργασίας και της παραμονής μου στο εργαστήριο.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ.....</b>	<b>2</b>
<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....</b>	<b>4</b>
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....</b>	<b>5</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>10</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>11</b>
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>12</b>
1.1. ΣΥΓΧΡΟΝΟΣ ΤΡΟΠΟΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΑ.....	12
1.2. ΛΙΠΑΣΜΑΤΑ.....	13
1.2.1. Ιστορία των Λιπασμάτων.....	13
1.2.2. Λιπάσματα και Βιολιπάσματα.....	13
1.2.3. Βιολιπάσματα έναντι των τεχνητών λιπασμάτων.....	14
1.3. ΜΥΚΗΤΕΣ.....	15
1.3.1. Ορισμός και κατηγορίες Μυκήτων.....	15
1.3.2. Χαρακτηριστικά των μυκήτων.....	16
1.3.3. Οι μύκητες ως ενδόφυτα.....	17
1.3.4. Το γένος Fusarium.....	18
1.3.5. Ο μύκητας Fusarium solani strain K.....	19
1.4. ΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΑ ΦΥΤΑ.....	20
1.4.1. Τα Ψυχανθή.....	21
1.4.1.1. Η φακή.....	22
1.4.1.2. Το ρεβίθι.....	23
1.4.1.3. Το λούπινο.....	23
1.4.1.4. Ο βίκος.....	23
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>24</b>

2.1. ΣΠΟΡΑ ΦΥΤΩΝ.....	24
2.1.1. Τα είδη των καλλιεργούμενων φυτών του πειράματος.....	24
2.1.2. Αποστείρωση σπόρων.....	25
2.1.2.1. Σπόροι φακής.....	25
2.1.2.2. Σπόροι Ρεβιθιού, Λούπινου και Βίκου.....	25
2.2. ΕΚΒΛΑΣΤΗΣΗ ΣΠΟΡΩΝ.....	26
2.2.1. Το υπόστρωμα.....	26
2.3. ΜΕΤΑΦΥΤΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΦΥΤΩΝ.....	26
2.3.1. Το μέσο καλλιέργειας.....	26
2.3.2. Το θρεπτικό υλικό.....	27
2.4. ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΦΥΤΩΝ ΜΕ FSK.....	27
2.4.1. Το διάλυμα με FSK.....	27
2.4.2. Εμβολιασμός φυτών.....	28
2.5. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ.....	28
2.6. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΥ DNA.....	29
2.7. ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ DNA.....	30
2.8. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΑΠΟΙΚΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ FSK.....	30
<b>3. ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ.....</b>	<b>31</b>
3.1. ΟΙ ΕΙΚΟΝΕΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ.....	31
3.1.1. Η εικόνα του Βίκου.....	31
3.1.2. Η εικόνα του Λούπινου.....	33
3.1.3. Η εικόνα του Ρεβιθιού.....	34
3.1.4. Η εικόνα της Φακής.....	36
3.1.5. Γενική αξιολόγηση του φαινοτύπου των φυτών.....	36
3.2. Η ΡΙΖΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ.....	38
3.2.1. Η ρίζα του Βίκου.....	38

3.2.2. Η ρίζα του Λούπινου.....	39
3.2.3. Η ρίζα του Ρεβιθιού.....	40
3.2.4. Η ρίζα της Φακής.....	41
<b>3.3. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΥ DNA.....</b>	<b>42</b>
3.3.1. Ηλεκτροφόρηση Βίκος.....	42
3.3.2. Ηλεκτροφόρηση Λούπινο.....	43
3.3.3. Ηλεκτροφόρηση Ρεβίθι.....	44
3.3.4 Ηλεκτροφόρηση Φακή.....	45
<b>4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>46</b>
4.1. ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΕ.....	46
4.1.1. Βίκος.....	46
4.1.2. Λούπινο.....	47
4.1.3. Ρεβίθι.....	48
4.1.4. Φακή.....	49
4.2. ΟΛΙΚΗ PCR ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ FsK.....	50
<b>5. ΣΧΟΛΙΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>52</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>53</b>

## **EΙΚΟΝΕΣ**

Εικόνα 1: Τα γλαστράκια με το μέσο καλλιέργειας.....	27
Εικόνα 2: Η πλάκα Neubauer και τα δεδομένα της μικροσκοπίας για την ποσότητα των κωνιδίων του Fsk.....	28
Εικόνα 3: Το φυτό Βίκος αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα του εμβολιασμού.....	30
Εικόνα 4: Το φυτό Βίκος αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό.....	32
Εικόνα 5: Το φυτό Βίκος αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας.....	32
Εικόνα 6: Το φυτό Λούπινο αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα του εμβολιασμού.....	33
Εικόνα 7: Το φυτό Λούπινο αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό.....	33
Εικόνα 8: Το φυτό Λούπινο αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας.....	34
Εικόνα 9: Το φυτό Ρεβίθι αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα του εμβολιασμού.....	34
Εικόνα 10: Το φυτό Λούπινο αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό.....	35
Εικόνα 11: Το φυτό Λούπινο αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας.....	35
Εικόνα 12: Το φυτό Φακή αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα του εμβολιασμού.....	36
Εικόνα 13: Το φυτό Φακή αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό.....	36
Εικόνα 14: Το φυτό Φακή αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας.....	37



Εικόνα 15: Η ρίζα του φυτού Βίκος αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας.....	38
Εικόνα 16: Η ρίζα του φυτού Λούπινο αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας.....	39
Εικόνα 17: Η ρίζα του φυτού Ρεβίθι αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας.....	40
Εικόνα 18: Η ρίζα του φυτού Φακή αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας.....	41
Εικόνα 19: Αποτελέσματα ηλεκτροφόρησης στο βίκο.....	42
Εικόνα 20: Αποτελέσματα ηλεκτροφόρησης στο λούπινο.....	43
Εικόνα 21: Αποτελέσματα ηλεκτροφόρησης στο ρεβίθι.....	44
Εικόνα 22: Αποτελέσματα ηλεκτροφόρησης στη φακή.....	45
Εικόνα 23: Αποτελέσματα τελικής ηλεκτροφόρησης στο βίκο.....	50
Εικόνα 24: Αποτελέσματα τελικής ηλεκτροφόρησης στο λούπινο.....	50
Εικόνα 25: Αποτελέσματα τελικής ηλεκτροφόρησης στο ρεβίθι.....	51
Εικόνα 26: Αποτελέσματα τελικής ηλεκτροφόρησης στη φακή.....	51

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σύγχρονος ρυθμός ζωής επιδρά περισσότερο από κάθε άλλοτε στον ρου της σχέσης του ανθρώπου με τη φύση. Η απόκτηση προϊόντων ποσότητας και ποιότητας είναι αδήριτη ανάγκη για την σημερινή κοινωνία, με τον τομέα της γεωργίας να δεσπόζει στην επίτευξη αυτής. Αρκετό καιρό παρατηρείται μια προσπάθεια βελτίωσης της ανθεκτικότητας και της παραγωγικότητας των φυτών, με ποικίλα μέσα, όπως τα λιπάσματα. Μια καινοτόμα ιδέα που εξελίσσεται ταχύτατα, είναι τα βιολιπάσματα, ή συντηρητικά εδάφους, και στηρίζονται σε ζωντανούς οργανισμούς ή/και προϊόντα των. Εξασφαλίζουν γόνιμο έδαφος και φυτική παραγωγική ενίσχυση, και είναι οικολογικά συγκριτικά με τα χημικά λιπάσματα που μπορούν να καταστούν βλαβερά. Ορισμένοι μύκητες μπορούν να έχουν συμπεριφορά λιπάσματος ως προς τα φυτά. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι το στέλεχος K του *Fusarium solani*, ένας ενδοφυτικός μύκητας, που απομονώθηκε από ιστούς ριζών φυτών τομάτας που είχαν αναπτυχθεί σε κομποστ κατασταλτικό ενάντια σε παθογόνους οργανισμούς. Ο FsK έχει βρεθεί πως αποικίζει ιστούς ριζών και προστατεύει τα φυτά από τα παθογόνα των ριζών και των φυλλωμάτων. Στην παρούσα εργασία, μελετάται η επίδραση του στελέχους FsK σε αναπτυξιακές και μορφολογικές παραμέτρους τεσσάρων ειδών ψυχανθών φυτών, και ερευνάται, τέλος, μέσα από πειραματικές διαδικασίες εάν μπορεί να καταστεί ως βάση σε βιολογικό λίπασμα για φυτά αυτά.

## ***ABSTRACT***

The contemporary pace of life has a greater than ever before effect on the course of the relationship between man and nature. The acquiring of quantitative and qualitative products is an imperative necessity for the modern society, with the field of agriculture being the ruler in the accomplishment of it. For a long period of time, there has been observed an attempt at ameliorating the resilience and the productivity of the plants, through various means, like by using fertilizers. An innovative idea, which is rapidly developing, are the biofertilizers, or soil preservatives, which are based on living organisms or/and their derivatives. They ensure a fertile soil and herbal production reinforcement and they are eco-friendly if compared to the chemical fertilizers that can become harmful. A number of fungi can behave like fertilizers towards plants. One said example is the K stem of the *Fusarium solani*, an endophytic fungus, which was isolated from connective tissue from the roots of tomato plants, that had been developed in a repressive against pathogens compost. It has been found that the FsK inhabits the connective tissues of roots as well as in the foliage. In this particular thesis is being studied the effect of the FsK stem in developmental and morphological parameters of four species of papilionoideae and, in the end, is being examined, through experimental processes, whether it can be rendered as the basis in an organic fertilizer for said plants.

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1. ΣΥΓΧΡΟΝΟΣ ΤΡΟΠΟΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΑ

Είναι κοινώς ομολογούμενο, πως τα τελευταία χρόνια παρατηρείται έντονα το φαινόμενο του υπερπληθυσμού στον πλανήτη μας, το οποίο, σε συνδυασμό με τις τελευταίες καταϊγιστικές εξελίξεις στην τεχνολογία, έχει επιφέρει ριζικές αλλαγές στον τρόπο ζωής του ανθρώπου. Αρκετές παράμετροι του ανθρωπίνου βίου έχουν επηρεαστεί για να υπηρετήσουν στο μέγιστο τον σύγχρονο άνθρωπο, με δεσπόζουσα την ελαφρά βιομηχανία, τον πρωτογενή τομέα και ειδικότερα τις δραστηριότητες καλλιέργειας της γης, για την παραγωγή και τη συλλογή προϊόντων από τους φυτικούς οργανισμούς.

Άμεσα ή έμμεσα, τα φυτά είναι ο λόγος ύπαρξης του ανθρώπου, επειδή βασίζεται στο γεγονός ότι αυτά μπορούν να μεταβολίσουν το άζωτο, το οποίο αποτελεί περίπου το 78% του εισπνεόμενου αέρα, ενώ αυτός όχι. Το άζωτο είναι από τα ζωτικά στοιχεία που χρειάζεται ο οργανισμός, καθώς αποτελεί συστατικό του DNA και των πρωτεϊνών, αλλά χρησιμοποιείται αφού διασπαστεί το ατμοσφαιρικό άζωτο και ενωθεί σε κάποια οργανική ένωση, όπως τα αμινοξέα. Την διαδικασία αυτή διενεργούν μόνο οι φυτικοί οργανισμοί και γι αυτό θα πρέπει να προστατευθούν μαζί με το περιβάλλον όπου ζουν.

Όσον αφορά τον κλάδο της γεωργίας και της αγροτικής ανάπτυξης, είναι σαφές, πλέον, πως γεννιέται η ανάγκη απόκτησης προϊόντων υψηλής ποιότητας αλλά και μέγιστης ποσότητας, εις όφελος του ανθρώπου. Όπως στο παρελθόν αν και σε μικρότερη κλίμακα, έτσι και σήμερα γίνονται προσπάθειες βελτίωσης της αντοχής και της απόδοσης των φυτών, αλλά και της διασφάλισης της ποιότητας των τελικών προϊόντων προς κατανάλωση, με ποικίλους τρόπους, όπως οι γενετικά τροποποιημένοι φυτικοί οργανισμοί, τα ζιζανιοκτόνα, τα παρασιτοκτόνα, τα λιπάσματα, κλπ.

Βέβαια, σήμερα αρκετές τεχνικές βελτίωσης της ανάπτυξης των φυτών και της απόδοσής τους επιφέρουν συνέπειες τόσο στο έδαφος και στο περιβάλλον κατ' επέκτασιν, όσο και στον ίδιο τον άνθρωπο. Είναι επιτακτική, λοιπόν, η ανάγκη προστασίας και διατήρησης της συνοχής του περιβάλλοντος και των φυτικών οργανισμών, και ταυτοχρόνως συνυφασμένη με την ανάγκη μιας πλήρους κάλυψης των βιοποριστικών προαπαιτούμενων για την επιβίωση της σύγχρονης κοινωνίας.

## 1.2. ΛΙΠΑΣΜΑΤΑ

### 1.2.1. Ιστορία των λιπασμάτων

Το άζωτο και άλλα βασικά θρεπτικά συστατικά όπως ο φώσφορος φαίνεται να αποτελούν το κομβικό στοιχείο στην ιστορία των λιπασμάτων. Οι αγρότες στο παρελθόν προσπάθησαν να αντικαταστήσουν το άζωτο που πήραν από το έδαφος με έξυπνες παρατηρήσεις και εφευρέσεις. Άφηναν μίσχους, ενσίρωμα και περιπτώματα ζώων στο έδαφος να σαπίσουν ώστε να εμπλουτιστεί με άζωτο.

Τον 19<sup>ο</sup> αιώνα, όταν αυξήθηκαν οι πληθυσμοί στην Ευρώπη και στις Η.Π.Α. οι επιστήμονες βρήκαν τεράστιες ποσότητες αζώτου στο γκουανό το οποίο οι αυτόχθονες χρησιμοποιούσαν ως πηγή εμπλουτισμού του εδάφους. Το γκουανό είναι ένα μείγμα αποσυντεθειμένων περιπτώματων και πτωμάτων θαλασσιών πουλιών που συναντάται κυρίως σε απομονωμένες ακτές και νησιά των ξερών κλιμάτων. Στο τέλος του περασμένου αιώνα ο Γερμανός χημικός Fritz Haber ανακάλυψε μια μέθοδο μετατροπής του ατμοσφαιρικού αζώτου σε υγρή αμμωνία, και αυτό σήμανε την απαρχή της εποχής των τεχνητών λιπασμάτων, βελτιώνοντας έτσι την αντοχή και την παραγωγή των φυτικών οργανισμών και την εξασφάλιση περισσότερης διατροφής στους ανθρώπους.

Παρ' όλ' αυτά, μόνο ένα 17% περίπου του αζώτου φτάνει στον άνθρωπο από τα φυτά, μέσω της διατροφικής αλυσίδας, ενώ το υπόλοιπο συσσωρεύεται στο έδαφος και στο νερό, συνεισφέροντας στην ανάπτυξη των βακτηρίων και των φυκών. Έτσι ξεκινά το παγκόσμιο πρόβλημα της μόλυνσης των θαλασσών και των λιμνών, όπου η αύξηση των κόκκινων και των πράσινων φυκών, και η συνακόλουθη δέσμευση του οξυγόνου από αυτά, είναι επιζήμια για άλλα είδη του περιβάλλοντος. Επιπλέον, σήμερα ο άνθρωπος καταναλώνει δέκα φορές περισσότερο άζωτο από όσο πραγματικά είναι αναγκαίο, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση του στα περιπτώματα, αυξάνοντας, έτσι, δραματικά τις συγκεντρώσεις του αζώτου στο έδαφος.

### 1.2.2. Λιπάσματα και Βιολιπάσματα

Τα λιπάσματα είναι ένας τρόπος βελτίωσης της ανάπτυξης, της ανθεκτικότητας και της παραγωγικής διαδικασίας των φυτών. Υπάρχουν αρκετές

κατηγορίες λιπασμάτων, όπως φυσικά, χημικά, οργανικά, ανόργανα, τεχνητά ή βιολιπάσματα. Ο βασικότερος, όμως, διαχωρισμός μεταξύ των λιπασμάτων, είναι τα τεχνητά (χημικά) συγκριτικά με τα βιολιπάσματα.

Τα τεχνητά λιπάσματα δημιουργούνται από ανόργανα στοιχεία που ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών. Είναι μοναδικά και με συγκεκριμένη σύσταση, και δρουν γρηγορότερα από κάθε άλλο λίπασμα επειδή διαλύονται στο νερό, αλλά έχουν σύντομη διάρκεια δράσης. Εφ' όσον προστίθεται κάτι ανόργανο στο έδαφος, δεν βελτιώνεται η ζωή των μικροοργανισμών του εδάφους και ακόμη τα άλατα των λιπασμάτων αυτών δεσμεύουν την υγρασία του εδάφους. Τα τεχνητά λιπάσματα αποτελούν πηγή αζώτου, φωσφόρου, ασβεστίου και άλλων ωφέλιμων στοιχείων για τα φυτά και είναι προβλέψιμη και επαρκής πηγή θρεπτικών συστατικών γι αυτά. Είναι φθηνά προϊόντα, συμβάλλουν στη ρύθμιση παραμέτρων του εδάφους όπως το pH, και μπορούν σε μικρό χρονικό διάστημα να φανούν εξαιρετικά αποδοτικά.

Τα βιολιπάσματα είναι οργανικά λιπάσματα, είναι ένας πιο φιλικός προς το περιβάλλον τρόπος βελτίωσης των ικανοτήτων των φυτών, αφού ουσιαστικά προέρχονται από τη χλωρίδα και την πανίδα του περιβάλλοντος, γι αυτό και τα περισσότερα από αυτά πωλούνται ως 'συντηρητικά εδάφους' και όχι σαν λιπάσματα. Ενισχύουν τόσο τους φυτικούς οργανισμούς όσο και το έδαφος και το μικροβίωμά του, με το να αυξάνουν την ικανότητά του να συγκρατεί περισσότερο νερό και θρεπτικά συστατικά. Συμβάλλουν στην ανάπτυξη των φυτών και στην άμυνά του σε έντομα, με έναν πιο ανθεκτικό τρόπο σε βάθος χρόνου, όμως απαιτούν περισσότερο χρονικό διάστημα για να μεταβολιστούν από το φυτό. Είναι μη τοξικά, ανανεώσιμα, βιοδιασπώμενα και διατηρήσιμα προϊόντα.

### 1.2.3. Βιολιπάσματα έναντι των τεχνητών λιπασμάτων

Τα χημικά λιπάσματα είναι ανόργανα και ξένα προς το περιβάλλον συγκριτικά με τα βιολιπάσματα, που είναι οργανικά και βιοδιασπώμενα. Ακόμη, τα χημικά λιπάσματα δρουν σαν 'στεροειδή' στα φυτά, δηλαδή αναπτύσσεται βεβιασμένα το υπέργειο τμήμα σε σχέση με την ρίζα που ατροφεί και τα φυτά είναι περισσότερο επιρρεπή σε ασθένειες. Ακόμη, δεν είναι ικανά να αντικαταστήσουν την χαμένη οργανική ύλη στο έδαφος (κυρίως τον άνθρακα), ενώ η εκροή τους σε ποταμούς και λίμνες και τελικά στη θάλασσα επιφέρει αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον.

Η συνεχής χρήση τους, μπορεί να είναι ευεργετική για κάποιους μικροοργανισμούς στο έδαφος, και να βλάψει κάποιους άλλους που είναι απαραίτητοι για την διατήρηση της ισορροπίας της υγρασίας και του αερισμού του εδάφους.

Επιπλέον, επιδρούν στην κλιματική αλλαγή, με το φαινόμενο του θερμοκηπίου, αφού η αντίδραση του Haber απελευθερώνει τελικά διοξείδιο του άνθρακα στην ατμόσφαιρα, ενώ πολλές φορές περιέχουν και τοξίνες που μπορεί να καταστούν βλαβερές προς το έδαφος και το θαλάσσιο οικοσύστημα.

Εξίσου σημαντικό -πέρα από την διατάραξη της ομαλής λειτουργίας των οικοσυστημάτων- είναι και το γεγονός πως μερικά στοιχεία των τεχνητών λιπασμάτων είναι ικανά να περάσουν μέσα στην τροφική αλυσίδα και να επηρεάσουν ζωικούς οργανισμούς, και τελικά τον ίδιο τον άνθρωπο. Φυσικά και η ίδια η μέθοδος εφαρμογής τους στον αγρό μπορεί να βλάψει την υγεία του αγρότη.

Τα βιολιπάσματα, σε αντίθεση με τα χημικά λιπάσματα, διασφαλίζουν ένα καλά αεριζόμενο, υγιές και γόνιμο έδαφος, έχουν περισσότερη διάρκεια δράσης από τα τεχνητά λιπάσματα, δεν περιέχουν άλατα που κατακρατούν την υγρασία του εδάφους και ενισχύουν τους φυτικούς οργανισμούς με φυσικό τρόπο. Ακριβώς επειδή είναι οργανικής σύστασης, αργής αποικοδόμησης και δράσης, δεν μπορεί να συμβεί κορεσμός και να καταστούν βλαβερά.

Πέρα από τα φυσικά περιπτώματα ζωικών οργανισμών και τα νεκρά τμήματα φυτικών, στα βιολιπάσματα θα μπορούσαν να ανήκουν και προϊόντα με βάση τη δράση ζωντανών μικροοργανισμών, όπως βακτήρια και μύκητες, που μπορούν και αναπτύσσουν συμβιωτικές σχέσεις με τους φυτικούς οργανισμούς. Στην περίπτωση αυτή, ο μικροοργανισμός αποικίζει το φυτό εξωτερικά ή εσωτερικά, και συμβάλλει στην ανάπτυξη, την αντοχή και την ανθεκτικότητά του, σε μεταβολικά μονοπάτια και τελικά στην παραγωγή απαραίτητων προϊόντων για το φυτό.

## 1.3. ΜΥΚΗΤΕΣ

### 1.3.1. Ορισμός και κατηγορίες Μυκήτων

Ο κόσμος των έμβιων όντων διαιρείται σε τρεις μεγάλες επικράτειες: τα Αρχαία, τα Βακτήρια, και τα Ευκάρια. Στα τελευταία ανήκουν τα βασίλεια των φυτών, των ζώων, των πρωτίστων και των μυκήτων (Woese et al., 1990).

Οι μύκητες είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί, μονοκύτταροι ή πολυκύτταροι. Ορισμένοι από αυτούς μοιάζουν με φυτά, όμως στερούνται την ικανότητα φωτοσύνθεσης (Ζίφα Α. et al., 2011). Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται οργανισμοί όπως οι ζύμες, οι μούχλες, οι τρούφες και τα μανιτάρια (αρχαία ελληνική λέξη: ο μύκης, δηλαδή το μανιτάρι, το παράσιτο). Τα κύτταρά τους έχουν κυτταρική μεμβράνη, αναπτύσσονται σε οποιοδήποτε περιβάλλον υπάρχει υγρασία και θεωρούνται ετερότροφοι οργανισμοί. Τα φύλα που απαρτίζουν το βασίλειο των μυκήτων είναι τα παρακάτω:

1. Μικροσπορίδια (*Microsporidia*)
2. Βλαστοκλαδιομύκητες (*Blastocladiomycota*)
3. Νεοκαλλιμαστιγομύκητες (*Neocallimastigomycota*)
4. Χυτριομύκητες (*Chytridiomycota*)
5. Γκλομερομύκητες (*Glomeromycota*)
6. Βασιδιομύκητες (*Basidiomycota*)
7. Ασκομύκητες (*Ascomycota*)

Οι δύο τελευταίες κατηγορίες αποτελούν το υποβασίλειο των Δικάρυων μυκήτων (Hibbett et al., 2007).

### 1.3.2. Χαρακτηριστικά των μυκήτων

Οι μύκητες, με εξαίρεση τις ζύμες και τους μονοκύτταρους μύκητες, έχουν μια νηματώδη δομή. Αποτελούνται από πολλά μικρά λεπτά νημάτια, που ονομάζονται υφές και έτσι σχηματίζεται η τελική μορφή του μύκητα, το μυκήλιο. Το κυτταρικό τοίχωμά τους σχηματίζεται κυρίως από χιτίνη (την οποία και βιοσυνθέτουν) και πολυσακχαρίτες, ενώ μέσα στο κύτταρο υπάρχει ένας μικρός πυρήνας με πυκνή χρωματίνη, κυτταρικά οργανίδια και κυτταρόπλασμα. Δεν διαθέτουν χλωροφύλλη και συνεπώς δεν φωτοσυνθέτουν. Τα κύτταρα επικοινωνούν μεταξύ τους μέσω πόρων. Κάποιοι μύκητες παρασιτούν σε άλλους οργανισμούς και κάποιοι άλλοι ζουν μόνοι τους στο περιβάλλον.

Με βάση το πρότυπο διατροφής, οι μύκητες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

1. τους *σαπροφυτικούς* μύκητες, οι οποίοι τρέφονται με νεκρή οργανική ύλη,
2. τους *παρασιτικούς* μύκητες, που χρησιμοποιούν ζωντανούς ζωικούς ή φυτικούς οργανισμούς ως ξενιστές και έτσι προσλαμβάνουν πολύτιμες οργανικές ενώσεις για την τροφή τους (δηλαδή αναπτύσσονται εις βάρος τους), και



3. τους *συμβιωτικούς* μύκητες, οι οποίοι αναπτύσσουν σχέσεις αλληλεξάρτησης με τους οργανισμούς στους οποίους φιλοξενούνται, και οι σχέσεις αυτές είναι κοινώς αναγκαίες για την επιβίωση και των δυο οργανισμών.

Δεν παρατηρείται κάποια εμβρυονική φάση στους μύκητες. Η αναπαραγωγική διαδικασία είναι αγενής ή εγγενής, και παράγεται το 'σπόριο' που είναι η αναπαραγωγική μονάδα τους και στους δυο τρόπους. Κατά την αγενή παραγωγή δημιουργούνται και εκβλαστήματα και σπόρια, με τα τελευταία να είναι πιο συνηθισμένα (Ζίφα Α. et al., 2011).

Οι μύκητες διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην αποσύνθεση και στην ανακύκλωση της νεκρής οργανικής ύλης στο περιβάλλον, ενώ εξίσου σημαντικοί είναι και στην ανακύκλωση οργανικής ύλης της καθημερινότητας του ανθρώπου, με οικονομικές μεθόδους. Ακόμη, μερικοί από αυτούς είναι καλλιεργήσιμοι, διατροφικά άριστοι και ενεργειακά πλούσιοι για τον ανθρώπινο οργανισμό. Τέλος, είναι αναγκαίοι στον τομέα της ιατρικής, αφού μερικοί παράγουν αντιβιοτικά και αντιμετωπίζονται ασθένειες στους ανθρώπους και στα ζώα (πχ πενικιλίνη), αλλά και στον τομέα της γεωπονίας, όπου προστατεύουν τα φυτά καταπολεμώντας έντομα και σκουλήκια, και βρίσκουν εφαρμογή όταν ψεκαστούν σε καλλιέργειες.

### 1.3.3. Οι μύκητες ως ενδόφυτα

«Αυτό που ξέρουμε σίγουρα είναι πως τα ενδόφυτα είναι παρόντα σε κάθε υγιή φυτικό ιστό!» (Sieber 2007). Ο ορισμός των ενδοφύτων δώθηκε από τον *de Bary* το 1866, για να τα διαχωρίσει από τα επίφυτα, τα οποία ζουν στην επιφάνεια του φυτού. (J. Ahora et al., 2017). Τα ενδόφυτα ως μικροοργανισμοί μπορούν να είναι βακτήρια, αρχαία, μύκητες κ.λπ., και δρουν τις περισσότερες φορές ευεργετικά στο φυτό, προσφέροντάς του στήριξη και προστασία, ενώ μπορούν να εμφανίσουν παθογόνο δράση κάτω από ορισμένες συνθήκες.

Οι ενδοφυτικοί μύκητες, ανήκουν κυρίως στην κατηγορία των ασκομυκήτων, υπάρχουν ασυμπτωματικά στο φυτό και εντοπίζονται σε πολλές ποικιλίες φυτών. Συμβάλλουν στην ανάπτυξη του φυτού, στην αντοχή του στο βιοτικό/αβιοτικό στρες και στην άμυνα ενάντια σε εχθρούς του (αντιμικροβιακή δράση). Επηρεάζουν θετικότερα το μεταβολισμό ενός φυτού, ενισχύουν την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και μπορούν να συνθέτουν δευτερογενείς μεταβολίτες (πχ έκκριση τοξικών αλκαλοειδών στην αντιμετώπιση εχθρών του φυτού).

### 1.3.4. Το γένος *Fusarium*

Το γένος *Fusarium* ανήκει στην κατηγορία των ασκομυκήτων. Περιλαμβάνει φυτικά παθογόνα με γεωργική σημασία, ενδόφυτα και σαπρόφυτα, ικανά να μεταβολίζουν διάφορα υποστρώματα και παθογόνους μικροοργανισμούς με κλινική σημασία για τα φυτά. Η μοριακή φυλογενετική ανάλυσή του έχει αποκαλύψει ότι περιλαμβάνει τουλάχιστον 20 κλάδους ή 'σύμπλοκα ειδών' και προέρχεται από τη μεσαία Κρητιδική περίοδο περίπου 91,3 εκατομμύρια χρόνια πριν (O'Donnell et al., 2013).

Αρκετές ασθένειες προκαλούνται από το γένος *Fusarium*, το οποίο μολύνει μια ποικιλία φυτών. Προσβάλλει συγκεκριμένα μέρη του φυτού, όπως ρίζες, σπόροι κεφαλές και μίσχοι, και προκαλεί μειωμένη απόδοση και ποιότητα των τελικών φυτικών προϊόντων, της ξήρανσης και της σηψηριζίας. Τοξικοί δευτερογενείς μεταβολίτες, οι μυκοτοξίνες, (πχ τριχοθηκένια και φουμονισίνες) παράγονται από τα παθογόνα του γένους αυτού, και εάν βρεθούν στα προϊόντα των φυτών που προσβάλλουν τα καθιστούν απαγορευτικά για κατανάλωση (Tulin Askun 2018).

Το σύμπλεγμα *FSSC* (*Fusarium Solani Species Complex*) υπολογίζεται ότι περιλαμβάνει τουλάχιστον 60 διαφορετικά φυλογενετικά είδη (Nalim et al., 2011; O'Donnell, 2000; O'Donnell et al., 2008; Zhang et al., 2006). Το είδος *Fusarium Solani* κάποτε ήταν το μοναδικό σε αυτό που τώρα αναγνωρίζεται ως *FSSC* (Snyder et al., 1941). Στις νέες μελέτες του συμπλέγματος αυτού, πλέον εξετάζεται η επιλεκτικότητα των ειδών ως προς το φυτό-ξενιστή τους και οι δευτερογενείς μεταβολίτες που αυτό παράγει.

Τα φυτά για να αντιμετωπίσουν τα παθογόνα του συμπλέγματος αυτού, αμύνονται απελευθερώνοντας μικρές αντιμικροβιακές ενώσεις. Οι ουσίες αυτές είτε προσχηματίζονται και διαμερίζονται αδρανοποιημένες στο φυτικό κύτταρο (φυτοαντισιμπίνες), είτε συντίθενται στη *de novo* αντίδραση του φυτού στη μόλυνση (φυτοαλεξίνες) (VanEtten et al., 1994). Ο παθογόνος μύκητας εμφανίζει ανεκτικότητα και στις δυο περιπτώσεις, με τους παρακάτω τρόπους:

1. αποικοδομώντας ή τροποποιώντας την ουσία σε λιγότερο τοξική,
2. εκκρίνει αντιμικροβιακά που απαγορεύουν την ενδοκυτταρική συγκέντρωση της ουσίας, και
3. τροποποιεί τη θέση-στόχο της ουσίας

Από τους τρόπους δράσης αυτούς, ο πρώτος κυρίως έχει εντοπιστεί σε δράση του FSSC (Coleman and Mylonakis, 2009; Morrissey and Osbourn, 1998; VanEtten et al., 2001).

Τα είδη *Fusarium* προκαλούν ποικίλες λοιμώξεις στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως επιφανειακές, τοπικές και διαδεδομένες. Η κλινική εικόνα και βαρύτητά τους εξαρτάται από το ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού και την πύλη εισόδου της τοξίνης. Η διεισδυτική ασθένεια επηρεάζει περισσότερο τους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Ο κίνδυνος είναι μέγιστος για σοβαρή φουζαρίωση, όταν υπάρχει παρατεταμένη ουδετεροπενία και ανεπάρκεια Τ-κυττάρων, ειδικά κατά την μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων. Η νόσος παρουσιάζεται κυρίως δερματικά (κεντρική νέκρωση δέρματος και περικυκλική ερυθρότητα, ουχομυκητίαση, κ.λπ.), μπορεί να επιβεβαιωθεί και εργαστηριακά με βιοχημικές αναλύσεις, υπάρχει φαρμακευτική ίαση ενώ συνιστάται η πρόληψη σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (Marcio N et al., 2007).

### 1.3.5. Ο μύκητας *Fusarium Solani Strain K*

Το στέλεχος FsK (*Fusarium Solani Strain K*) είναι ένας μη παθογόνος μύκητας που απομονώθηκε το 2007 από τους ερευνητές Kamnroulakis et al., από ρίζες φυτών τομάτας, τα οποία είχαν αναπτυχθεί σε ένα συγκεκριμένο compost, από στέμφυλα σταφυλιού και στερεά παραπροϊόντα παραγωγής λαδιού ανεμειγμένο με τύρφη. Ο μύκητας αυτός βρέθηκε να επάγει διασυστηματική ανθεκτικότητα ενάντια στον *Septoria lycopersici* (παθογόνος μύκητας) που προσβάλλει τα φύλλα της τομάτας και δρα ανταγωνιστικά ως προς τον παθογόνο μύκητα του εδάφους *Fusarium Oxysporum Radicis-Lycopersici* (FORL), είτε για το ίδιο υπόστρωμα είτε δρώντας αντιμικροβιακά (Kamnroulakis et al., 2005). Αρχικά παρατηρήθηκε ότι τα φυτά που μεγάλωναν σε αυτό το υπόστρωμα είχαν αυξημένη προστασία έναντι σε παθογόνα του εδάφους και του φυλλώματος, ενώ αργότερα βρέθηκε ότι υπαίτιος για αυτήν την προστασία ήταν ο FsK (Kamnroulakis, et al., 2005; 2006).

Σε επόμενο πείραμα, σε φυτά *L. Japronicus*, βρέθηκε ότι τα φυτά μπόρεσαν να ολοκληρώσουν τον κύκλο ζωής τους ακόμη και εάν δεν παρατηρήθηκε κάποιο φανερά ευεργετικό αποτέλεσμα στην ανάπτυξη τους κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, ενώ παράλληλα φάνηκε ότι ο FsK είναι ικανός να αποικίσει και το υπέργειο τμήμα του φυτού (Skiada et al., 2019).

## 1.4. ΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΑ ΦΥΤΑ

### 1.4.1. Τα ψυχανθή

Με περίπου 20.000 είδη, τα ψυχανθή είναι η τρίτη μεγαλύτερη οικογένεια υψηλότερων φυτών και ανήκουν στην οικογένεια των Κυαμοειδών και στην τάξη των Κυαμωδών. Σε σύγκριση με άλλες οικογένειες με μοντέλα ειδών, οι Gramineae έχουν μόνο περίπου 10.000 είδη και οι Brassicaceae περίπου 3.500 είδη (Paul G. Et al.,2005). Έχουν σύνθετο φύλλωμα, τα άνθη τους παρομοιάζονται με ‘πεταλούδα’ και τα σπέρματα αυτών ωριμάζουν σε ειδικούς λοβούς. Είναι δικοτυλήδονα φυτά, ζουν έναν, δυο ή και πολλά χρόνια, και είναι σημαντικά στην διατροφή του ανθρώπου και στην παρασκευή ζωοτροφών για τη διατροφή αγροτικών ζώων.

Τα ψυχανθή (faboideae) είναι υψηλής σημαντικότητας φυτά, διότι τα είδη τους έχουν μια μοναδική ικανότητα: να δεσμεύουν το ατμοσφαιρικό (μοριακό) άζωτο, που είναι απαραίτητο για τον μεταβολισμό των φυτών. Συμβιώνουν με αζωτοδεσμευτικά βακτήρια του γένους *Rhizobium/ Bradyrhizobium* –που αυτά ουσιαστικά δεσμεύουν το ατμοσφαιρικό άζωτο-, και αυτό είναι μία από τις πολυτιμότερες λειτουργίες της φύσης. Διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην οικονομία του αζώτου και τον κύκλο του στο περιβάλλον, αφού ουσιαστικά εμπλουτίζουν το έδαφος με άζωτο. Συμμετέχουν έτσι σημαντικά στη διατήρηση της γονιμότητας του εδάφους, στην αιφορία της παραγωγής και στην εξοικονόμηση δαπανών από τον περιορισμό της αζωτούχου λίπανσης (Αυγουλας, 2013) (Skoufogianni E. and Danalatos N., 2010).

Τα είδη των ψυχανθών είναι πολύτιμα για τον άνθρωπο και την γεωργία ειδικά λόγω της δράσης τους ως προς το άζωτο. Τα προϊόντα τους είναι μεγίστης διατροφικά αξίας, σε ανθρώπινο και ζωοτροφικό επίπεδο, έχουν άριστη συνεισφορά στα εδάφη των οικοσυστημάτων ρυθμίζοντας εδαφικές παραμέτρους, ενώ αρκετά σημαντική είναι και η συμβολή τους στην επιστήμη της οικολογίας, όπως, παραδείγματος χάριν με τα βιοδιασπώμενα πλαστικά (προερχόμενα από προϊόντα ψυχανθών).

Είναι χαρακτηριστικό πως λόγω της αζωτοδεσμευτικής τους ικανότητας συμμετέχουν τόσο σε συγκαλλιέργειες όσο σε συστήματα αμειψισποράς. Επίσης είναι πολύτιμα τα προϊόντα που παράγουν σε βιομηχανικό επίπεδο, αλλά και στον τομέα της ιατρικής, αφού παράγουν πολύτιμες ουσίες, όπως οι ισοφλαβόνες και τα

φυτοοιστρογόνα, που έχουν θεραπευτική σημασία και είναι φυσικά φάρμακα. (Carroll P. et al., 2003).

Τα ψυχανθή είναι πανάκεια λύση συγκριτικά με τις εισαγόμενες ζωοτροφές που είναι απίστευτα ακριβές και υπεύθυνες για την ακριβή παραγωγή στην κτηνοτροφία. Ακόμη, η καλλιέργειά αυτών προσφέρει σταθερό εισόδημα με μηδαμινό κόστος, ενώ θα υποστηρίζονται με αγροτικές επιδοτήσεις στο πλαίσιο της νέας Κοινής Αγροτικής Πολιτικής 2014-2020.

Παρ' όλα αυτά, παραφράζοντας ένα σχόλιο των Catroux et al. (2001) «μπήκαμε στην εποχή της βιοτεχνολογίας γνωρίζοντας περισσότερα και περισσότερα για την ανάπτυξη των ψυχανθών σε επίπεδο γονιδίων, εκτός από ορισμένους παραγωγούς στις ανεπτυγμένες χώρες, που δεν μπορούν να τα μεταφράσουν αποτελεσματικά σε μεγάλα κέρδη στην παραγωγικότητα. " (Carroll P. et al., 2003).

#### 1.4.1.1. Η φακή

Η φακή (*Lens culinaris Medicus subsp.culinaris*) ανήκει στο γένος *Lens* της τάξης των Κυαμωδών της οικογένειας των Κυαμοειδών, και είναι από τα πρώτα φυτικά είδη που καλλιέργησε και αξιοποίησε ο άνθρωπος και από τις σημαντικότερες καλλιέργειες ψυχανθών που γίνονται στον πλανήτη. Οι σπόροι φακής είναι πλούσιες σε πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, βιταμίνες και μεταλλικά στοιχεία πηγές, όχι μόνο για τον άνθρωπο αλλά και για διάφορα ζώα.

Τα αρχαιότερα δείγματα σπόρων φακής έχουν βρεθεί περίπου το 11.000 π.Χ. στην Ελλάδα, και έπειτα και σε άλλα μέρη στον κόσμο. Οι φακές είναι αυτογονιμοποιούμενο, διπλοειδές είδος, ανήκουν στα όσπρια και έχουν σχετικά μεγάλο γονιδίωμα με 4.063 Mbp (Arumugahathan and Earle, 1991). Το είδος *Lens culinaris* φαίνεται να έχει καταγωγή από την εγγύ Ανατολή (Zohary, 1972).

Οι σπόροι φακής έχουν καλλιεργηθεί σε διαφορετικά γεωγραφικά μέρη, υπάρχουν διαφορετικές ποικιλίες και παραλλαγές παραδοσιακών φυτών, κυρίως όσον αφορά την μορφή του σπόρου, την ωρίμανσή του, το ύψος και την ανάπτυξη του φυτού κ.α. (Bejiga et al., 1996). Τα παραπάνω δεδομένα σε συνδυασμό με τις απόψεις πως διαφορετικοί αγρότες την καλλιεργούν με ποικίλους τρόπους, συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για ένα είδος που εμφανίζει τεράστια γενετική ποικιλομορφία αλλά και εξαιρετική προσαρμοστικότητα.

Λόγω των ποικίλων χρήσεων των σπόρων φακής, σε πολλές διατροφικές συνιστώσες αλλά και της γενετικής παραλλακτικής της έκτασης και του τρόπου καλλιέργειάς της, θεωρείται ως ένα είδος που θα μπορούσε να βελτιωθεί και να ενισχυθεί παραγωγικά, με φυσικό τρόπο. Τα βιολιπάσματα είναι προτιμότερα για ένα τέτοιο φυτό, ώστε να μην επηρεαστούν οι φυσικές παραδοσιακές ποικιλίες αλλά και να μην επηρεαστεί με τεχνικές μεθόδους.

#### 1.4.1.2. Το ρεβίθι

Το ρεβίθι (*Cicer arietinum* L.) ανήκει στο γένος *Cicer*, στην τάξη Fabales της οικογένειας Fabaceae, και είναι το μοναδικό ψυχανθές είδος μεταξύ των υπολοιπίπων 42, που καλλιεργείται από το γένος *Cicer*. Το ρεβίθι είναι το τρίτο σπουδαιότερο αποδοτικό ψυχανθές φυτό σε παγκόσμιο επίπεδο μετά το φασόλι και το μπιζέλι (Nadim T. et al., 2015).

Η καταγωγή του είναι από τα Μικρασιατικά παράλια και την γειτονική Συρία, και σήμερα καλλιεργείται σε χώρες της Μεσογείου, της Ν. και Δ. Ασίας, της Β. Αφρικής, στην Αυστραλία και στην κεντρική Αμερική. Η Ινδία σήμερα παράγει το 60% του ρεβιθιού στον πλανήτη. Η καλλιέργεια ρεβιθιού στην Ελλάδα είναι περιορισμένη αρκετά και καλλιεργείται στους νομούς Έβρο, Ροδόπη, Βοιωτίας, Γρεβενών, Ευβοίας, Πιερίας και Χαλκιδικής (Δαλιάνης, 1993).

Η ρίζα του ρεβιθιού είναι πασσαλώδης, φτάνει μέχρι 1,5μ. σε βάθος και εμφανίζει εξογκώματα, τα γνωστά φυμάτια. Το φυτό μπορεί να φτάσει από 60 μέχρι 130 εκατοστά, και μπορεί να είναι θάμνος, όρθιο ή ομπρελοειδές. Οι κυριότερες ασθένειες στην καλλιέργεια του ρεβιθιού είναι η ασκοχύτωση και η φουζαρίωση, το ωίδιο, η σκωρίαση, η ριζοκτονία κ.α..

Η καλλιέργεια του ρεβιθιού είναι σε πολλές χώρες περιορισμένη, και στα κτηνοτροφικά προϊόντα χρησιμοποιείται και ο καρπός και ο σανός του φυτού (Yadav et al., 2007). Από τους καταναλωτές προτιμώνται οι ποικιλίες με μεγάλους ή μέτριους σπόρους με χρώμα λευκό ή ανοιχτό κιτρινοκαφέ (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2005).

Για να υπάρξουν καλλιέργειες με πιο ευρεία γεωγραφική έκταση αλλά και φυτά ανθεκτικότερα και περισσότερο ανεπτυγμένα, θα ήταν καλό να βρεθεί ένας οικονομικός και φιλικός προς το περιβάλλον τρόπος ώστε να ενισχυθεί η παραγωγή του ρεβιθιού, όπως τα βιολιπάσματα.

### 1.4.1.3. Το λούπινο

Το λούπινο ανήκει στην τάξη Fabales, στην οικογένεια των Leguminosae και στο γένος των *Lupinus*, όπου περιλαμβάνονται 280 φυτά, δικοτυλήδονα, με διαφορές στον μέγιστο χρόνο ζωής και στην φυσιολογία τους. Οι παλαιότερες ιστορικές ενδείξεις για την ύπαρξη του συναντώνται γύρω στα 3.500 π.Χ., χωρίς να μαρτυρούν κάποια καλλιέργεια αυτού. Σπόροι από *Lupinus digitatus* βρέθηκαν σε τάφο Φαραώ ηλικίας 4.000 χρονών (Zohary et al., 2012), ενώ στην Ελλάδα έχει υπάρξει περιγραφή από τον Ιπποκράτη.

Πρόκειται για ένα αυτοφυές φυτό, με τα περισσότερα είδη να συναντώνται στην Αμερική, ενώ μερικά υπάρχουν και στη βόρεια Αφρική και στη Μεσόγειο. Στην χώρα μας σύμφωνα με στοιχεία του FAO, τα τελευταία χρόνια φαίνεται μια άνοδος στην καλλιέργειά του στην βόρεια Ελλάδα.

Τα είδη της Αμερικής είναι συνήθως ποώδη πολυετή φυτά, με ένα αρκετά σκληρό-ξυλώδες στέλεχος διακλαδιζόμενου βλαστού, και πασσαλώδες ριζικό σύστημα (Gresta et al., 2017). Συνήθως τα λούπινα που καλλιεργούνται είναι αυτογονιμοποιούμενα και σε μικρό βαθμό.

Το *Lupinus albus* var. *albus* είναι το πρώτο είδος που καλλιεργήσε ο άνθρωπος για διατροφικά οφέλη. Είναι πολύτιμο και για την διατροφή ζωντανών, ενώ διαθέτει μια ελκυστική εμφάνιση και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και ως καλλωπιστικό φυτό. Το λευκό λούπινο δεν απαιτεί την ποσότητα φωσφόρου που απαιτούν τα υπόλοιπα ψυχανθή και μάλιστα έχει αναπτύξει ικανότητες προσαρμογής και επιβίωσης ακόμα και σε μειωμένες ποσότητες φωσφόρου (Muller et al., 2015).

Το είδος των λούπινων λόγω της μεγάλης αξίας του σε επίπεδο διατροφής, αλλά και λόγω του γεγονότος ότι προσβάλλεται εύκολα από μικροοργανισμούς όπως μύκητες (λοιμώξεις), ιοί, αφίδες κ.α., προτείνεται να βρεθεί κάποιος τρόπος ενίσχυσης της ανάπτυξης και της αντοχής του, και μιας και αντέχει χωρίς πολλά χημικά, θα ήταν προτιμότερο να βρεθεί μια φυσική μέθοδος, όπως τα βιολιπάσματα.

### 1.4.1.4. Ο βίκος

Ο κοινός βίκος (*Vicia sativa*) ανήκει στο γένος *Vicia*, της οικογένειας Fabaceae της τάξης Fabales. Είναι ψυχανθές φυτό και στο γένος του υπάρχουν 140 είδη. Πηγές μαρτυρούν την καλλιέργειά του στην Εγγύς Ανατολή 9,500 χρόνια πριν, ενώ

εκτιμάται ότι υπάρχει ήδη σαν φυτό από την Προκεραμική Νεολιθική Α' εποχή. Δείγματα από την Νεολιθική εποχή βρέθηκαν στην Βουλγαρία και τη Σλοβακία, ενώ παράλληλα καλλιεργούνταν στην Ευρασία, την Ταυλάνδη κ.α. ( Zohary D. et al., 2012) Στην χώρα μας ο βίκος καλλιεργείται στην Θεσσαλία και στην Μακεδονία λόγω των πεδινών εκτάσεων και της συσσώρευσης των κτηνοτροφικών μονάδων στις περιοχές αυτές. Ως ψυχανθές, καλλιεργείται και σε προγράμματα αμειψισποράς με σκοπό την παραγωγή σανό αλλά και για τον φυσικό εμπλουτισμό των χωραφιών με άζωτο.

Το φυτό βίκος είναι ένα αναρριχώμενο φυτό με ύψος μέχρι το πολύ 70 εκατοστά, με λεπτή πασσαλώδη ρίζα με τελικό μήκος έως και 150 εκατοστά. Οι βλαστοί είναι λεπτοί και κοίλοι εσωτερικά, τα φύλλα είναι λεία, και τα άνθη του μπλέ μωβ. Το μέγεθος των καρπών κυμαίνεται μεταξύ 25-70mm με χρώμα κιτρινωπό καφεμαύρο (NatureGate, 2014). Το φυτό είναι αυτογονιμοποιούμενο και ευδοκιμεί κυριότερα σε τροπικά κλίματα και μέτριες θερμοκρασίες.

Σαν φυτό έχει την ικανότητα τέλει αμειψισποράς ειδικά σε χωράφια που έχουν εξαντληθεί τα εδάφη τους έπειτα από καλλιέργεια σιτηρών και προσαρμόζεται ταχύτατα στο κλίμα της φθινοπωρινής καλλιέργειας. Κυρίως παράγει σανό και σε δεύτερη φάση προτιμάται για τους καρπούς του, ενώ είναι κατάλληλο για βόσκη – αξιόλογη πηγή πρωτεϊνών και ενέργειας για τα ζώα-, αλλά και για συγκαλλιέργεια σε χωράφια (Γρηγοράκης- Ποδηματάς, 1986).

Τα πιο σημαντικά έντομα που προσβάλλουν το βίκο είναι οι αφίδες και ο φυτονόμος, ενώ από ασθένειες οι κυριότερες που έχουν εντοπιστεί είναι η σκωρίαση, το ωίδιο και ο περονόσπορος (John Frame, 2014).

## **2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1. ΣΠΟΡΑ ΦΥΤΩΝ**

#### **2.1.1. Τα είδη των καλλιεργούμενων φυτών του πειράματος**

Στο παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκαν σπόροι φυτών από το Ινστιτούτο Βιομηχανικών & Κτηνοτροφικών Φυτών Λάρισας, ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ. Οι ποικιλίες των φυτών που μελετήθηκαν ήταν οι εξής:

1. Φακή Δήμητρα (*lens culinaris*)



2. Ρεβίθι Γλαύδος (*cicer arietinum*)
3. Λούπινο (*lupinus albus*)
4. Βίκος (*vicia sativa*)

## 2.1.2. Αποστείρωση σπόρων

### 2.1.2.1 Σπόροι φακής

Στους σπόρους φακής έγινε η εξής διαδικασία αποστείρωσης σε 3 στάδια, τοποθετώντας τους σπόρους από το ένα διάλυμα στο επόμενο:

Δ.1	70% EtoH	15'	ανάδευση
Δ.2	1,2% Χλωρίνη + 0,2% Tween20	8'	ανάδευση
Δ.3	dH <sub>2</sub> O	5 πλύσεις με dH <sub>2</sub> O	

Έπειτα, οι σπόροι τοποθετήθηκαν σε falcon και σε αποστειρωμένο νερό, σκεπάστηκαν με αλουμινόχαρτο (σκοτάδι) και μπήκαν στους 4°C στην ψύξη για περίπου 24 ώρες. Ο σκοπός ήταν η διάσπαση του εξωτερικού περιβλήματος των σπόρων ώστε να βλαστήσουν ευκολότερα.

### 2.1.2.2. Σπόροι Ρεβιθιού, Λούπινου και Βίκου

Στους σπόρους ρεβιθιού, λούπινου και βίκου έγινε η εξής κοινή διαδικασία αποστείρωσης –εφ' όσον μορφολογικά μοιάζουν εφαρμόστηκε η ίδια μέθοδος-, τοποθετώντας τους σπόρους από το ένα διάλυμα στο επόμενο:

Δ.1	70% EtoH	1'	ανάδευση
Δ.2	1,2% Χλωρίνη + 0,2% Tween20	5'	ανάδευση
Δ.3	dH <sub>2</sub> O	5 πλύσεις με dH <sub>2</sub> O	

Έπειτα, και αυτοί οι σπόροι τοποθετήθηκαν σε falcon και σε αποστειρωμένο νερό, σκεπάστηκαν με αλουμινόχαρτο (σκοτάδι) και μπήκαν στους 4°C στην ψύξη για περίπου 24 ώρες, μαζί με τους σπόρους φακής.

Ο σκοπός ήταν η διάσπαση του εξωτερικού περιβλήματος των σπόρων ώστε να βλαστήσουν ευκολότερα. Την επόμενη ημέρα συμπληρώθηκε ποσότητα νερού, στις ίδιες συνθήκες.

## 2.2. ΕΚΒΛΑΣΤΗΣΗ ΣΠΟΡΩΝ

### 2.2.1. Το υπόστρωμα

Για την εκβλάστηση των σπόρων του ρεβιθιού, του λούπινου και του βίκου, το θρεπτικό μέσο που τοποθετήθηκαν μόλις φάνηκε η ρίζα, ήταν το μέσο MS. Το μέσο MS παρασκευάστηκε με σύσταση 2,2gr/Lt MS, 0,5% σουκρόζη, 0,9% άγαρ, και έπειτα ακολούθησε ανάδευση, υδατόλουτρο και αποστείρωσή του. Οι σπόροι το δεύτερο 24ωρο τοποθετήθηκαν στα τρυβλία με το MS και σε σκοτάδι στους 23 βαθμούς κελσίου. Την τρίτη ημέρα που φάνηκε η απαρχή ρίζας τοποθετήθηκαν στο φως.

Επειτα από το πρώτο 24ωρο, περίπου, οι σπόροι φακής στρώθηκαν σε τρυβλία με διηθητικό χαρτί εμποτισμένο με αποστειρωμένο νερό. Στο τέλος του δεύτερου 24ωρου παρατηρήθηκαν να έχουν βγάλει ριζίδιο μήκους 1 εκατοστό, και την επόμενη ακριβώς ημέρα μεταφυτεύτηκαν σε γλαστράκια με άμμο/βερνικουλίτη, ποτισμένα με διάλυμα Hoagland, ενώ σε 2 ημέρες μεταφυτεύτηκαν και τα υπόλοιπα φυτά. Σε κάθε είδος φυτού, υπήρχαν 10 φυτά control, 10 φυτά τα οποία θα επιμολύνονταν με FsK, και τελικά υπήρχαν 20 φυτά για κάθε είδος, συνολικά 80 φυτά.

## 2.3. ΜΕΤΑΦΥΤΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΦΥΤΩΝ

### 2.3.1. Το μέσο καλλιέργειας

Για την καλλιέργεια σε γλαστράκια το μέσο ήταν άμμος ανάμειξη με βερνικουλίτη. Για την ακρίβεια, έγινε ανάμειξη άμμου 2(χοντρή):1(λεπτή) και τελικά το μείγμα χοντρής-λεπτής άμμου έγινε 2(βερνικουλίτης):1(χοντρή-λεπτή άμμος) και ακολούθησε αποστείρωση στους 121°C για 25 λεπτά.

Έπειτα, το μέσο τοποθετήθηκε στα γλαστράκια όπου έγινε η μεταφύτευση και η καλλιέργεια των φυτών.

Στα γλαστράκια στον πάτο τους τοποθετήθηκε διηθητικό χαρτί και μάλιστα αποστειρωμένο.



**Εικόνα 1:** Τα γλαστράκια με το μέσο καλλιέργειας

### 2.3.2. Το θρεπτικό υλικό

Τα φυτά ποτίζονταν ανά δύο ημέρες με απιονισμένο νερό και θρεπτικό υλικό διάλυμα Hoagland εναλλάξ. Το διάλυμα αυτό, παρασκευάστηκε με την εξής σύσταση:

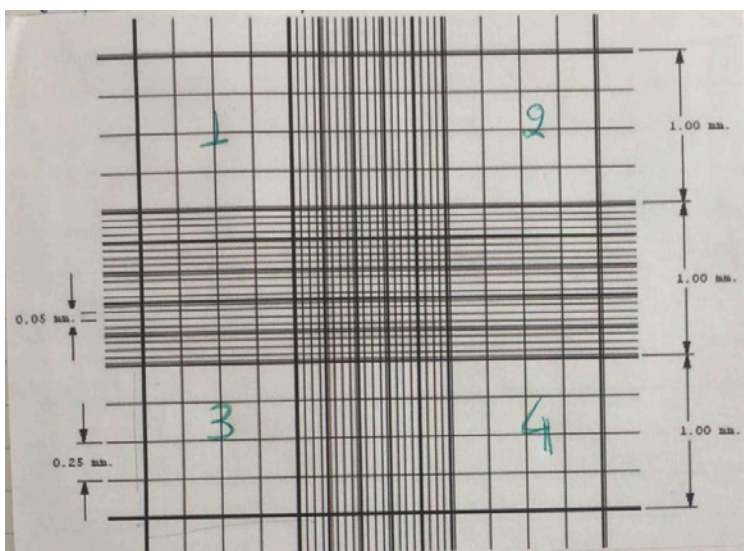
<b><i>Hoagland solution 1lt with Nitrogene</i></b>	
MgSO <sub>4</sub>	2ml
KHPO <sub>4</sub>	1ml
FeEDTA	1ml
MicroElements	1ml
KNO <sub>3</sub>	5ml
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	5ml

## 2.4. ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΦΥΤΩΝ ΜΕ FSK

### 2.4.1. Το διάλυμα με Fsk

Χρησιμοποιήθηκε καλλιέργεια 3 ημερών μύκητα Fsk (με GFP) σε PDA με συνθήκες 26°C και 180rpm. Για την απομόνωση των κονιδίων από τα μυκκήλια του αρχικού δ/τος, έγινε διήθηση σε 3 φύλλα τουλουπάνης, η οποία κατακράτησε τα μυκκήλια, και τα τελικά κονίδια αναμείχθηκαν σε διάλυμα NaCl, ώστε να έχουν καλύτερη κινητικότητα. Η όλη διαδικασία πραγματοποιήθηκε στο Laminar του εργαστηρίου.

Έπειτα και αφού παρατηρήθηκε ο αριθμός των κονιδίων με την χρήση οπτικού μικροσκοπίου και της πλάκας Neubauer όπου τοποθετήθηκαν 10μl από το αραιωμένο εμβόλιο, έγινε αναγωγή στο 1ml και υπολογίστηκε η συγκέντρωση των κονιδίων λαμβάνοντας υπ' όψιν και τον παράγοντα διαλυτοποίησης (1/500 για τα συγκεκριμένα κονίδια), έγιναν διαδοχικές αραιώσεις (πολλ/ζόμενες έκαστες εις την 1<sup>10</sup>) σε NaCl 0,85% ώστε να υπάρξει τελικό διάλυμα 100



κονίδια/ml, και να εμβολιαστούν με αυτό τα φυτά. Όλα τα εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν (γυάλινο χωνί, φλάσκες και λαβίδα) ήταν αποστειρωμένα ώστε να αποφευχθεί η πιθανότητα επιμόλυνσης.

**Εικόνα 2:** Η πλάκα Neubauer και τα δεδομένα της μικροσκοπίας για την ποσότητα των κονιδίων του Fsk

### 2.4.2. Εμβολιασμός φυτών

Ο εμβολιασμός των φυτών με το αραιωμένο δ/μα με το στέλεχος Fsk έγινε στο θερμοκήπιο του εργαστηρίου, όπου στα φυτά προστέθηκε 1ml δ/τος περιεκτικότητας 100 κονίδια/ml. Τα φυτά ήταν μιας εβδομάδας -από την πρώτη μέρα ένδειξης ρίζας.

## 2.5. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Την έβδομη ημέρα μετά την ημέρα του εμβολιασμού (μια βδομάδα μετά) έγινε η δειγματοληψία. Ετοιμάστηκαν erpendorf tubes και falcon αριθμήθηκαν ακριβώς για 160 δείγματα, όπου τα 80 ήταν ρίζες και τα άλλα 80 βλαστός. Σε κάθε 80άδα σετ, οι 20άδες ήταν για τα 4 είδη φυτών, τα 10 με Fsk και τα άλλα 10 control.

Σε κάθε φυτό έγινε προσεκτική μεταχείριση ώστε να αφαιρεθεί πλήρως η άμμος, και το κάθε φυτό μεταφέρθηκε σε νερό για να καθαρίσει εντελώς από κόκκους άμμου. Έπειτα το κάθε φυτό μεταφέρθηκε σε δ/μα χλωρίνης για 5' για να γίνει αποστείρωση της εξωτερικής επιφάνειας της ρίζας για να μπορέσουν κατόπιν να εξαχθούν οι πληροφορίες για τον αποκισμό της ρίζας από Fsk, και ακολούθησαν 5 πλύσεις με απιονισμένο νερό.

Στη συνέχεια τα φυτά μεταφέρθηκαν σε χαρτί και στέγνωσαν καλά, έγινε τομή στο σημείο του υποκοτύλιου με νυστέρι και διαχωρίστηκε η ρίζα από το βλαστό, και τοποθετήθηκαν προσεκτικά στα ήδη αριθμημένα falcon και erpendorf tubes. Τα πλέον δείγματα του πειράματος μεταφέρθηκαν αμέσως σε υγρό άζωτο για να μην καταστραφούν οι ιστοί και τέλος στην κατάψυξη στους -80°C.

## 2.6. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΥ DNA

Η απομόνωση του γονιδιωματικού DNA έγινε με την μέθοδο CTAB. Παρατίθεται παρακάτω το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε:

1. προθέρμανση CTAB στους 65°C (ειχα 7 ml)
2. προσθήκη 70μl β-μερκαπτοαιθανόλης στο CTAB buffer
3. προσθήκη 500μl buffer στα erpendorf με τα δείγματά και vortex
4. θέρμανση στους 65°C για 15' και έπειτα vortex
5. προσθήκη 550μl από το δ/μα 24:1 chloroform:isoamyl και vortex
6. φυγοκέντρηση σε 13.000rpm για 5'
7. συλλογή υπερκείμενου σε νέα erpendorf
8. προσθήκη 0,7x ισοπροπανόλη και ανάμειξη με την βοήθεια της πιπέτας
9. επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 10'
10. ψύξη 70% αιθανόλης
11. φυγοκέντρηση σε 13.000rpm για 15'

12. απομάκρυνση υπερκειμένου και προσθήκη αιθανόλης
13. φυγοκέντρωση σε 13.000rpm για 15'
14. απομάκρυνση υπερκειμένου και επώαση στους 50°C για 15' (προετοιμασία RNase)
15. επαναιώρηση σε 50μl ddH<sub>2</sub>O με RNase (1μl σε 50μl ddH<sub>2</sub>O)
16. τοποθέτηση στον πάγο για 10', vortex, spin και τοποθέτηση στους 4°C

## 2.7. ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ DNA

Η οπτικοποίηση του DNA που απομονώθηκε μέσω της προηγούμενης διαδικασίας με CTAB αλλά και στο τέλος της ανίχνευσης, έγινε σε 100ml Agarose Jel 0,8% με 1x TAE, ενώ τα δείγματα επεξεργάστηκαν με loading dye με αναλογία 1:6 (χρωστική: δείγμα DNA).

## 2.8. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΑΠΟΙΚΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ FsK

Η ανίχνευση του αποικισμού του στελέχους FsK έγινε μέσω PCR με Kappa Taq πολυμεράση σε ποσότητα 1μl που περιείχε 50ng DNA.

Σύσταση για 25μl total: (το mastermix έγινε 45x)

<b>KtaqBufferA 10X</b>	2,5μl
<b>dNTPs (10 mM each)</b>	0,5μl
<b>F (Fs-GFP-f1) 10 μM</b>	1μl
<b>R (Fs-GFP-R1) 10 μM</b>	1μl
<b>template</b>	1μl
<b>Ktaq (5 U/μL)</b>	0,1μl
<b>ddH<sub>2</sub>O</b>	18,9μl

Για θετικό control χρησιμοποιήθηκε pCambia-sGFP και για αρνητικό control ddH<sub>2</sub>O. Τα δείγματα ετοιμάστηκαν σε eppendorfs, φυγοκεντρήθηκαν, και ακολούθησε η διαδικασία της αντίδρασης στις παρακάτω θερμοκρασίες και χρόνους: (γκρι x35)

<b>95°C</b>	3min
<b>95°C</b>	30sec
<b>56°C</b>	30sec
<b>72°C</b>	30sec
<b>72°C</b>	2min
<b>4°C</b>	∞

### 3. ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

#### 3.1. ΟΙ ΕΙΚΟΝΕΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

Οι πρώτες παρατηρήσεις -που έγιναν δια οφθαλμού- αφορούν τις μεταβολές τόσο στα μορφολογικά όσο στα φυσιολογικά χαρακτηριστικά και των τεσσάρων ειδών φυτών, από την στιγμή του εμβολιασμού, μέχρι και την στιγμή της δειγματοληψίας (μια εβδομάδα μετά τον εμβολιασμό). Δηλαδή σε έναν χρονοάξονα έγινε ο εμβολιασμός, έπειτα 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό (2 ημέρες πριν τη δειγματοληψία) έγινε οπτική παρατήρηση, και μετά η δειγματοληψία.

##### 3.1.1. Η εικόνα του Βίκου

Στις παρακάτω εικόνες φαίνεται το φυτό Βίκος, λίγα λεπτά αμέσως μετά τον εμβολιασμό, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό και την ημέρα της δειγματοληψίας, αντίστοιχα.



**Εικόνα 3:** Το φυτό Βίκος αριστερά με FSK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα του εμβολιασμού



**Εικόνα 4:** Το φυτό Βίκος αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό



**Εικόνα 5:** Το φυτό Βίκος αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας

Όσον αφορά τον βίκο, δεν μπορούμε να έχουμε σαφή συμπεράσματα για τον φαινότυπό του συγκριτικά με τον εμβολιασμένο με Fsk, αλλά ενδέχεται το φυτό που δεν έλαβε το εμβόλιο να εμφανίσει καλύτερη ανάπτυξη ως προς το ύψος. Αυτό διότι φαίνεται μια βελτιωμένη ανάπτυξη του βλαστού σε μήκος, από το εμβολιασμένο φυτό.



### 3.1.2. Η εικόνα του Λούπινου

Στις παρακάτω εικόνες φαίνεται το φυτό Λούπινο, λίγα λεπτά αμέσως μετά τον εμβολιασμό, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό και την ημέρα της δειγματοληψίας, αντίστοιχα.



**Εικόνα 6:** Το φυτό Λούπινο αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα του εμβολιασμού



**Εικόνα 7:** Το φυτό Λούπινο αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό



**Εικόνα 8:** Το φυτό Λούπινο αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας

Τα λούπινα αναπτυξιακά δεν εμφάνισαν αξιοσημείωτη διαφορά στον φαινότυπο των εμβολιασμένων φυτών συγκριτικά με αυτά που δεν έλαβαν το εμβόλιο με τον FsK. Ενδεχομένως απαιτούνται περισσότερες ημέρες εμφάνισης διαφορετικού φαινοτύπου στο είδος αυτό, και εάν εμφανισθεί διαφορετική ανάπτυξη με το εμβόλιο.

### 3.1.3. Η εικόνα του Ρεβιθιού

Στις παρακάτω εικόνες φαίνεται το φυτό Ρεβίθι, λίγα λεπτά αμέσως μετά τον εμβολιασμό, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό και την ημέρα της δειγματοληψίας, αντίστοιχα.



**Εικόνα 9:** Το φυτό Ρεβίθι αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα του εμβολιασμού



**Εικόνα 10:** Το φυτό Ρεβίθι αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό



**Εικόνα 11:** Το φυτό Ρεβίθι αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας

Στα ρεβίθια επίσης αναπτυξιακές διαφορές σημαντικές δεν υπήρξαν τη στιγμή της δειγματοληψίας. Η φαινοτυπική εικόνα των δύο φυτών, αυτών που έλαβαν το εμβόλιο με τον FsK και αυτών που δεν το έλαβαν, ήταν παρόμοια σε ανάπτυξη και ύψος φυτών.

### 3.1.4. Η εικόνα της Φακής

Στις παρακάτω εικόνες φαίνεται το φυτό Βίκος, λίγα λεπτά αμέσως μετά τον εμβολιασμό, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό και την ημέρα της δειγματοληψίας, αντίστοιχα.



**Εικόνα 12:** Το φυτό Φακή αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα του εμβολιασμού



**Εικόνα 13:** Το φυτό Φακή αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό



**Εικόνα 14:** Το φυτό Φακή αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας

Στην φακή, η μόνη παρατήρηση σε φαινότυπο, είναι πως τα φυτά που δεν δέχθηκαν το εμβόλιο αναπτύχθηκαν περισσότερο σε ύψος, συγκριτικά με όσα έλαβαν τον μύκητα FsK. Όμως είναι πολύ νωρίς η στιγμή της δειγματοληψίας και της παρατήρησης των φυτών αναπτυξιακά για να αναφερθεί κάτι μετά βεβαιότητας.

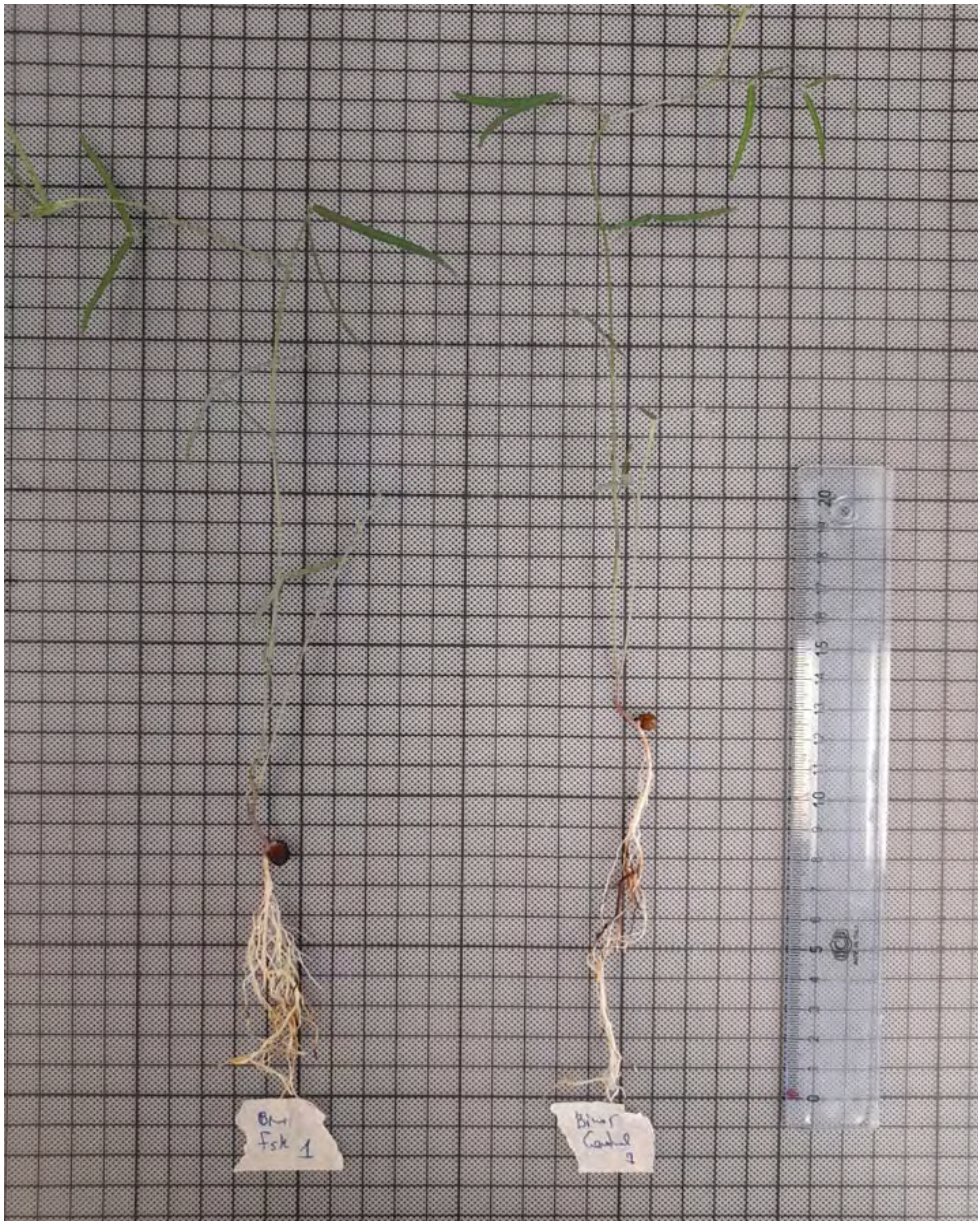
### 3.1.5. Γενική αξιολόγηση του φαινοτύπου των φυτών

Η στιγμή της δειγματοληψίας ήταν αρκετά νωρίς και έτσι δεν μπορεί να φανεί ή να προβλεφθεί η ακριβής φαινοτυπική ανάπτυξη και των τεσσάρων ειδών φυτών. Παρ' όλ' αυτά, φαίνεται μια διαφορά στα φυτά της φακής και του βίκου, όπου το φυτό χωρίς το εμβόλιο του FsK δείχνει να αναπτύσσεται καλύτερα σε ύψος, ενώ για το λούπινο και το ρεβίθι η εικόνα είναι σχεδόν όμοια στα φυτά που έλαβαν το εμβόλιο, και σε αυτά που δεν το έλαβαν.

## 3.2. Η ΡΙΖΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

### 3.2.1. Η ρίζα του Βίκου

Εδώ φαίνεται η ρίζα του βίκου που έλαβε το εμβόλιο με τον FsK συγκριτικά με αυτό που δεν εμβολιάστηκε, την στιγμή της δειγματοληψίας:



**Εικόνα 15:** Η ρίζα του φυτού Βίκος αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας

Όσον αφορά τις ρίζες των φυτών βίκου, φαίνεται μια επιμήκης (περίπου 16εκ.) και πασσαλώδης κεντρική πρωτογενής ανάπτυξη ρίζας στο φυτό που δεν εμβολιάστηκε με Fsk, ενώ το φυτό που δέχθηκε το εμβόλιο εμφανίζει βραχεία ανάπτυξη πρωτογενούς ρίζας με πυκνή μορφή και αρκετές δευτερογενείς ριζικές αποφυάδες (περίπου 8εκ). Η αναλογία των ριζών είναι σχεδόν  $\frac{1}{2}$ !

### 3.2.2. Η ρίζα του Λούπινου

Εδώ φαίνεται η ρίζα του λούπινου που έλαβε το εμβόλιο με τον Fsk συγκριτικά με αυτό που δεν εμβολιάστηκε, την στιγμή της δειγματοληψίας:



**Εικόνα 16:** Η ρίζα του φυτού Λούπινου αριστερά με Fsk και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας

Όσον αφορά τις ρίζες των φυτών λούπινου, φαίνεται μια επιμήκης (περίπου 20εκ.) και πασσαλώδης κεντρική πρωτογενής ανάπτυξη ρίζας στο φυτό που δεν εμβολιάστηκε με Fsk, ενώ το φυτό που δέχθηκε το εμβόλιο εμφανίζει ίδια ανάπτυξη πρωτογενούς ρίζας με λιγότερες αποδυσάδες δευτερογενών ριζιδίων από το άλλο φυτό. (περίπου 15εκ.).

### 3.2.3. Η ρίζα του Ρεβιθιού

Εδώ φαίνεται η ρίζα του ρεβιθιού που έλαβε το εμβόλιο με τον FsK συγκριτικά με αυτό που δεν εμβολιάστηκε, την στιγμή της δειγματοληψίας:



**Εικόνα 17:** Η ρίζα του φυτού Ρεβίθι αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας

Όσον αφορά τις ρίζες των φυτών ρεβιθιού, φαίνεται μια πυκνή (περίπου 12εκ.) και θυσσανώδης κεντρική πρωτογενής ανάπτυξη ρίζας στο φυτό που δεν εμβολιάστηκε με FsK, ενώ είναι πλούσια σε δευτερογενή ριζικά τριχίδια, ενώ το φυτό που δέχθηκε το εμβόλιο εμφανίζει την ίδια ανάπτυξη πρωτογενούς ρίζας με λιγοστές δευτερογενείς ριζικές αποφυάδες (περίπου 10εκ). Η αναλογία των ριζών είναι σχεδόν ίδια.



### 3.2.4. Η ρίζα της φακής

Εδώ φαίνεται η ρίζα της φακής που έλαβε το εμβόλιο με τον FsK συγκριτικά με αυτή που δεν εμβολιάστηκε, την στιγμή της δειγματοληψίας:



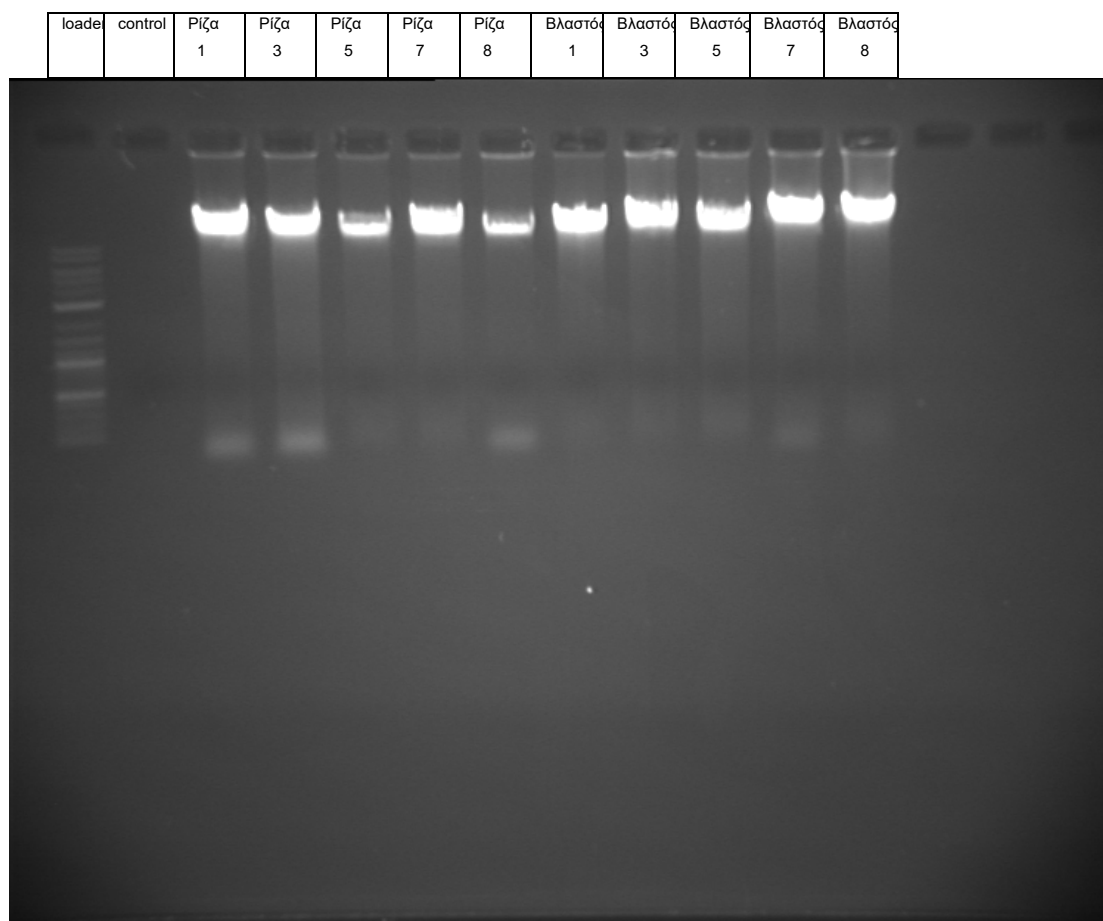
**Εικόνα 18:** Η ρίζα του φυτού Φακή αριστερά με FsK και δεξιά ο μάρτυρας, την ημέρα της δειγματοληψίας

Όσον αφορά τις ρίζες των φυτών φακής, φαίνεται μια βραχεία και επιμήκης (περίπου 10εκ.) και πασσαλώδης κεντρική πρωτογενής ανάπτυξη ρίζας στο φυτό που δεν εμβολιάστηκε με FsK, ενώ το φυτό που δέχθηκε το εμβόλιο εμφανίζει εξαιρετικά μεγάλη πρωτογενή ρίζα εις μήκος (περίπου 18εκ). Δεν παρατηρείται αξιοσημείωτη ανάπτυξη δευτερογενούς ρίζας και στα δυο φυτά. Η αναλογία των ριζών είναι σχεδόν 2/1!

### 3.3. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΥ DNA

#### 3.3.1. Βίκος

Επιλέχθηκαν τυχαία 5 φυτά από τα μολυσμένα με το εμβόλιο FsK και ελέγχθηκε η ποσότητα DNA στα δείγματα ρίζας και βλαστού τους. Τα φυτά ήταν με τυχαία επιλογή τα 1,3,5,7, και 8. Χρησιμοποιήθηκαν 60mg από κάθε δείγμα ιστού, απομονώθηκε και συλλέχθηκε το γενετικό τους υλικό, λήφθηκαν τελικά 10μl DNA που επεξεργάστηκαν με αναλογία χρωστικής 1:6, και φορτώθηκαν στο τζελ. Τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης ήταν τα εξής:

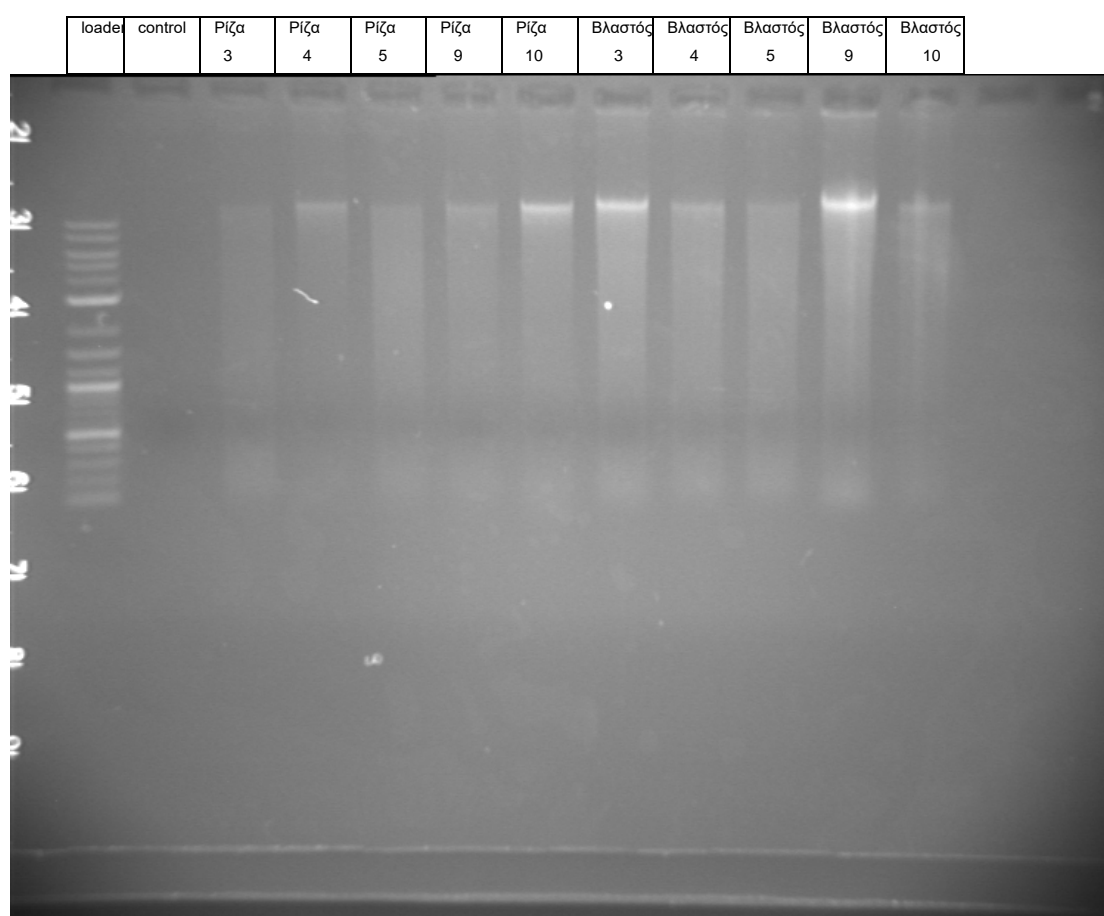


**Εικόνα 19:** Αποτελέσματα ηλεκτροφόρησης στο βίκο

Το γενετικό υλικό που απομονώθηκε από τον βίκο, αν και με λιγότερη ποσότητα φυτικού ιστού λόγω ανάπτυξης των φυτών, φαίνεται αρκετά καθαρό και σημαντικής ποσότητας, ισόποσης σχεδόν σε ρίζες και βλαστούς, ως προς τα υπόλοιπα είδη φυτών.

### 3.3.2. Λούπινο

Επιλέχθηκαν τυχαία 5 φυτά από τα μολυσμένα με το εμβόλιο FsK και ελέγχθηκε η ποσότητα DNA στα δείγματα ρίζας και βλαστού τους. Τα φυτά ήταν με τυχαία επιλογή τα 3,4,5,9, και 10. Χρησιμοποιήθηκαν 100mg από κάθε δείγμα ιστού, απομονώθηκε και συλλέχθηκε το γενετικό τους υλικό, λήφθηκαν τελικά 5μl DNA που αραιώθηκαν σε 5μl ddH<sub>2</sub>O με αναλογία χρωστικής 1:6, και φορτώθηκαν στο τζελ. Τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης ήταν τα εξής:

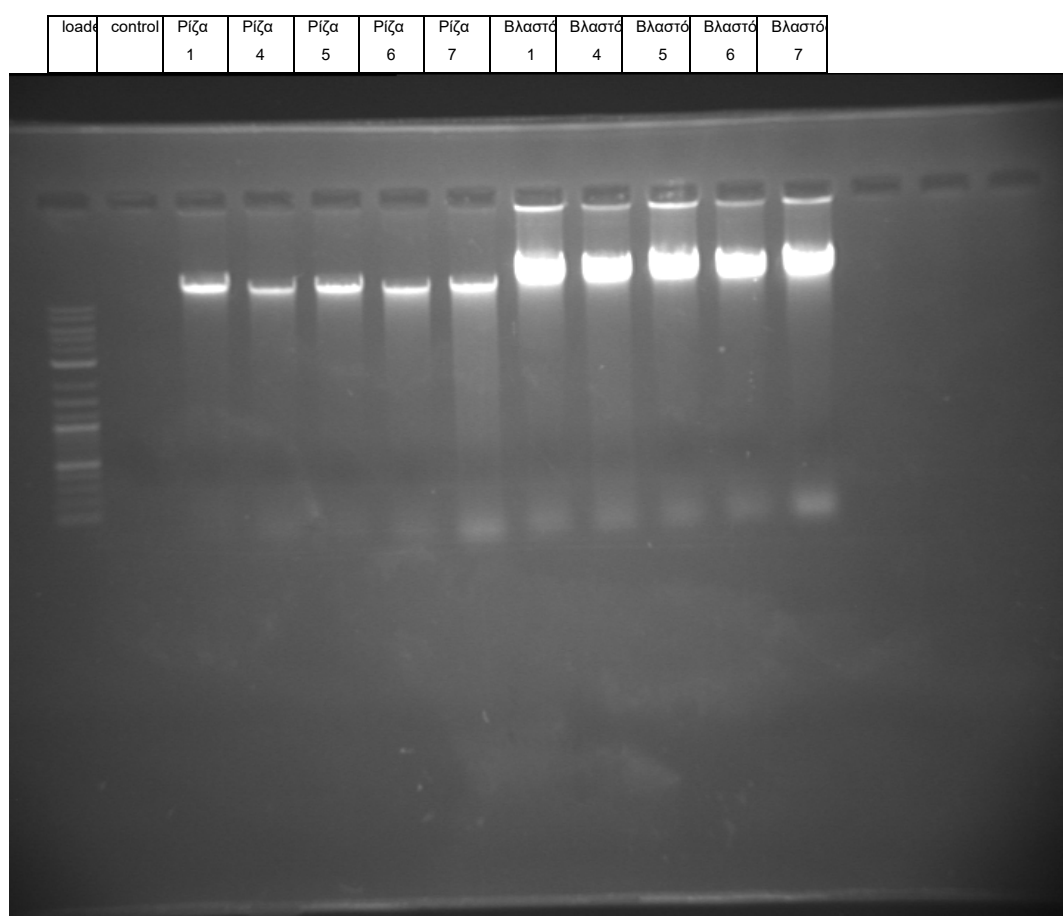


**Εικόνα 20:** Αποτελέσματα ηλεκτροφόρησης στα λούπινα

Το γονιδιωματικό υλικό δεν φαίνεται αρκετά καθαρό, και παρατηρήθηκε μια ελάχιστα σημαντικά περισσότερη ποσότητα στους βλαστούς των φυτών, συγκριτικά με την ποσότητα που παρατηρήθηκε στα δείγματα των άλλων ειδών φυτών.

### 3.3.3. Ρεβίθι

Επιλέχθηκαν τυχαία 5 φυτά από τα μολυσμένα με το εμβόλιο FsK και ελέγχθηκε η ποσότητα DNA στα δείγματα ρίζας και βλαστού τους. Τα φυτά ήταν με τυχαία επιλογή τα 1,4,5,6 και 7. Χρησιμοποιήθηκαν 100mg από κάθε δείγμα ιστού, απομονώθηκε και συλλέχθηκε το γενετικό τους υλικό, λήφθηκαν τελικά 10μl DNA που αραιώθηκαν σε 5μl ddH<sub>2</sub>O με αναλογία χρωστικής 1:6, και φορτώθηκαν στο τζελ. Τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης ήταν τα εξής:

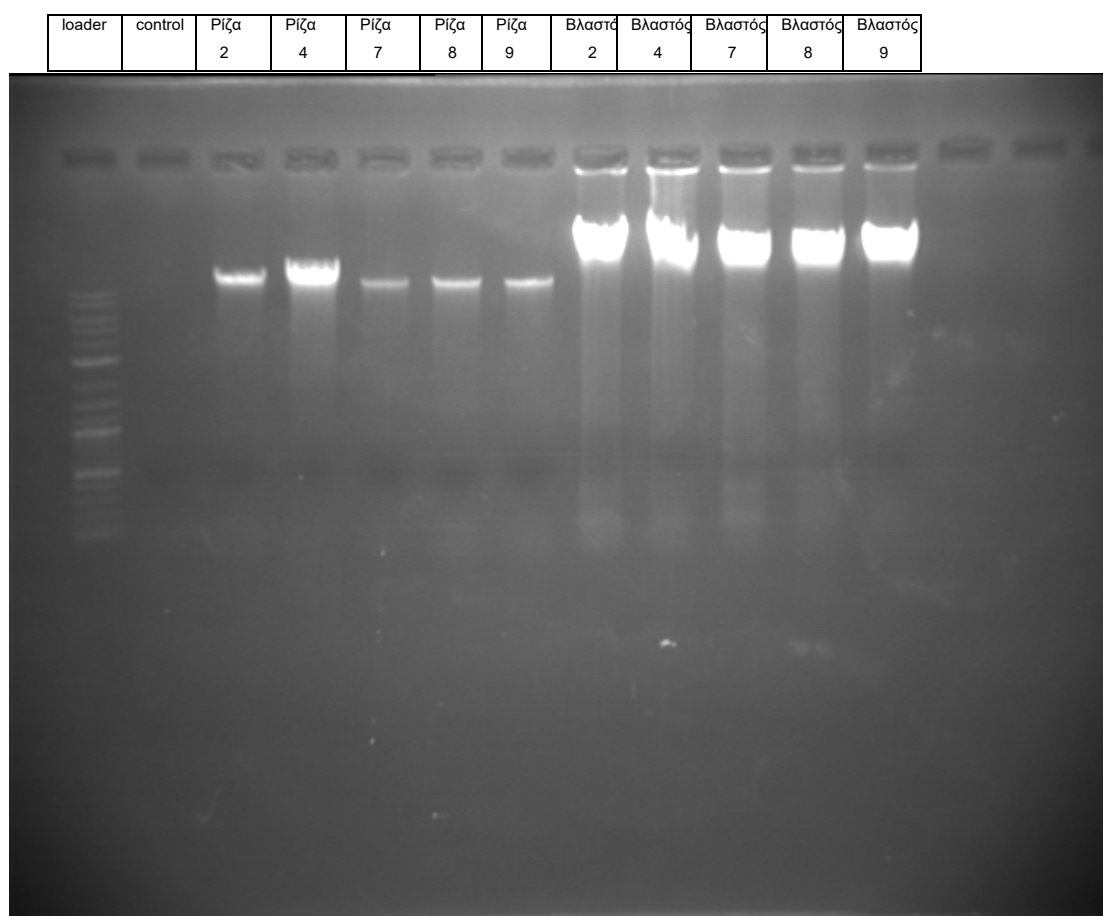


**Εικόνα 21:** Αποτελέσματα ηλεκτροφόρησης στα ρεβίθια

Το γονιδιωματικό υλικό φαίνεται περισσότερο καθαρό στα φυτά εδώ, και παρατηρήθηκε περισσότερη ποσότητα αυτού στους βλαστούς των ρεβιθιών, συγκριτικά με την ποσότητα που παρατηρήθηκε στα δείγματα των ριζών των φυτών. Η εικόνα της ηλεκτροφόρησης των δειγμάτων των ρεβιθιών φαίνεται αρκετά καλή συγκριτικά με τα λούπινα, και το γενετικό υλικό που απομονώθηκε φαίνεται αρκετά περισσότερο ως προς τα προηγούμενα.

### 3.3.4. Φακή

Επιλέχθηκαν τυχαία 5 φυτά από τα μολυσμένα με το εμβόλιο FsK και ελέγχθηκε η ποσότητα DNA στα δείγματα ρίζας και βλαστού τους. Τα φυτά ήταν με τυχαία επιλογή τα 2,4,7,8, και 9. Χρησιμοποιήθηκαν 60mg από κάθε δείγμα ιστού, απομονώθηκε και συλλέχθηκε το γενετικό τους υλικό, λήφθηκαν τελικά 10μl DNA που επεξεργάστηκαν με αναλογία χρωστικής 1:6, και φορτώθηκαν στο τζελ. Τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης ήταν τα εξής:



**Εικόνα 22:** Αποτελέσματα ηλεκτροφόρησης στη φακή

Στη φακή, τέλος, φάνηκε επίσης καθαρό γενετικό υλικό, και σε αρκετή ποσότητα, στους βλαστούς κυρίως, αλλά και στα δείγματα των ριζών, και μάλιστα ίσως είναι και η καλύτερη απομόνωση DNA αυτή της φακής, συγκριτικά με τις φωτογραφίες των υπολοίπων φυτών.

## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1. ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΕ

#### 4.1.1. Βίκος

Το γενετικό υλικό που απομονώθηκε από τους βίκους μετρήθηκε σε nanodrop και τα αποτελέσματα ήταν τα παρακάτω:

Δείγματα	Ποσότητα (ng/μl)	Λόγος καθαρότητας
<i>Ρίζα 1</i>	641	1,8
<i>Ρίζα 3</i>	1236	1,9
<i>Ρίζα 5</i>	467	1,8
<i>Ρίζα 6</i>	932,9	1,9
<i>Ρίζα 8</i>	516	1,86
<i>Βλαστός 1</i>	1215,5	1,85
<i>Βλαστός 3</i>	1497,7	1,8
<i>Βλαστός 5</i>	1647	1,7
<i>Βλαστός 6</i>	2784	1,9
<i>Βλαστός 8</i>	2255	1,88

Τα αποτελέσματα αυτά συσχετίζονται και με το αποτέλεσμα της ηλεκτροφόρησης στα δείγματα των φυτών, και έτσι επιβεβαιώνεται η καλή ποσότητα στο γενετικό υλικό που απομονώθηκε από τα τους βίκους. Και με αυτή την μέτρηση, φαίνεται πως στα δείγματα των ριζών υπάρχει λιγότερη συγκριτικά με τους βλαστούς ποσότητα DNA, στα δείγματα των φυτών. Ο λόγος καθαρότητας είναι σχετικά καλός, με τα δείγματα των ριζών και των βλαστών να εμφανίζουν παρόμοια καθαρότητα.

#### 4.1.2. Λούπινο

Το γενετικό υλικό που απομονώθηκε από τα λούπινα μετρήθηκε σε nanodrop και τα αποτελέσματα ήταν τα παρακάτω:

Δείγματα	Ποσότητα (ng/μl)	Λόγος καθαρότητας
<i>Ρίζα 3</i>	943,3	1,7
<i>Ρίζα 4</i>	982,7	1,5
<i>Ρίζα 5</i>	978,3	1,7
<i>Ρίζα 9</i>	773,3	1,6
<i>Ρίζα 10</i>	1.009,6	1,65
<i>Βλαστός 3</i>	1.262,8	1,87
<i>Βλαστός 4</i>	931,9	1,88
<i>Βλαστός 5</i>	857,6	1,86
<i>Βλαστός 9</i>	1.747,8	1,8
<i>Βλαστός 10</i>	1.699,4	1,85

Τα αποτελέσματα αυτά συσχετίζονται και με το αποτέλεσμα της ηλεκτροφόρησης στα δείγματα των φυτών, και έτσι επιβεβαιώνεται η λίγη ποσότητα στο γενετικό υλικό που απομονώθηκε από τα λούπινα. Και με αυτή την μέτρηση, φαίνεται πως στα δείγματα των ριζών υπάρχει λιγότερη συγκριτικά με τους βλαστούς ποσότητα DNA, στα δείγματα των φυτών. Ο λόγος καθαρότητας είναι σχετικά καλός, με τα δείγματα των βλαστών να εμφανίζουν υψηλότερη καθαρότητα από τα αντίστοιχα των ριζών.

### 4.1.3. Ρεβίθι

Το γενετικό υλικό που απομονώθηκε από τα ρεβίθια μετρήθηκε σε nanodrop και τα αποτελέσματα ήταν τα παρακάτω:

Δείγματα	Ποσότητα (ng/μl)	Λόγος καθαρότητας
<i>Ρίζα 1</i>	753	1,9
<i>Ρίζα 4</i>	703,9	1,8
<i>Ρίζα 5</i>	886,9	1,9
<i>Ρίζα 6</i>	769,4	1,8
<i>Ρίζα 7</i>	1.064,7	1,8
<i>Βλαστός 1</i>	3.013	2
<i>Βλαστός 4</i>	2.313,8	2
<i>Βλαστός 5</i>	2.697,2	2
<i>Βλαστός 6</i>	2.525,2	2
<i>Βλαστός 7</i>	3.453,2	2

Τα αποτελέσματα αυτά συσχετίζονται και με το αποτέλεσμα της ηλεκτροφόρησης στα δείγματα των φυτών, και έτσι επιβεβαιώνεται η καλή και μεγάλη ποσότητα στο γενετικό υλικό που απομονώθηκε από τα ρεβίθια. Και με αυτή την μέτρηση, φαίνεται πως στα δείγματα των ριζών υπάρχει λιγότερη συγκριτικά με τους βλαστούς ποσότητα DNA, στα δείγματα των φυτών. Ο λόγος καθαρότητας είναι πολύ καλός, με τα δείγματα των βλαστών να εμφανίζουν απόλυτη καθαρότητα σε σχέση με τα αντίστοιχα των ριζών, που επίσης εμφανίζουν καλή καθαρότητα.



#### 4.1.4. Φακή

Το γενετικό υλικό που απομονώθηκε από τη φακή μετρήθηκε σε nanodrop και τα αποτελέσματα ήταν τα παρακάτω:

<b>Δείγματα</b>	<b>Ποσότητα (ng/μl)</b>	<b>Λόγος καθαρότητας</b>
<b><i>Ρίζα 2</i></b>	354,6	1,76
<b><i>Ρίζα 4</i></b>	636,3	1,79
<b><i>Ρίζα 7</i></b>	260	1,5
<b><i>Ρίζα 8</i></b>	542,9	1,5
<b><i>Ρίζα 9</i></b>	409	1,5
<b><i>Βλαστός 2</i></b>	1033	1,88
<b><i>Βλαστός 4</i></b>	626	1,9
<b><i>Βλαστός 7</i></b>	1061,6	1,9
<b><i>Βλαστός 8</i></b>	1349	1,9
<b><i>Βλαστός 9</i></b>	1360	1,85

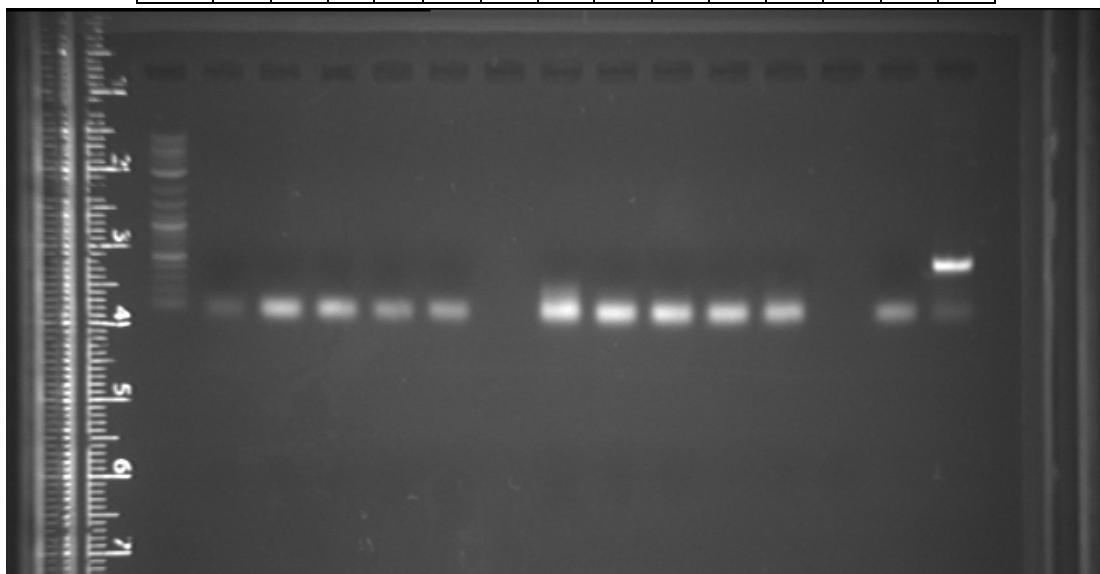
Τα αποτελέσματα αυτά συσχετίζονται και με το αποτέλεσμα της ηλεκτροφόρησης στα δείγματα των φυτών, και έτσι επιβεβαιώνεται η σχετικά καλή ποσότητα στο γενετικό υλικό που απομονώθηκε από τη φακή. Και με αυτή την μέτρηση, φαίνεται πως στα δείγματα των ριζών υπάρχει αρκετά λιγότερη συγκριτικά με τους βλαστούς ποσότητα DNA, στα δείγματα των φυτών. Ο λόγος καθαρότητας είναι σχετικά καλός στα δείγματα των βλαστών, ενώ στις ρίζες ελάχιστα μικρότερος, και συγκριτικά με τα υπόλοιπα φυτά ο πιο μικρός λόγος για δείγμα ρίζας.

## 4.2. ΟΛΙΚΗ PCR ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ FSK

Πραγματοποιήθηκε, στο τέλος, ηλεκτροφόρηση στα δείγματα μετά την PCR, για την ανίχνευση του FSK, και τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης φαίνονται παρακάτω:

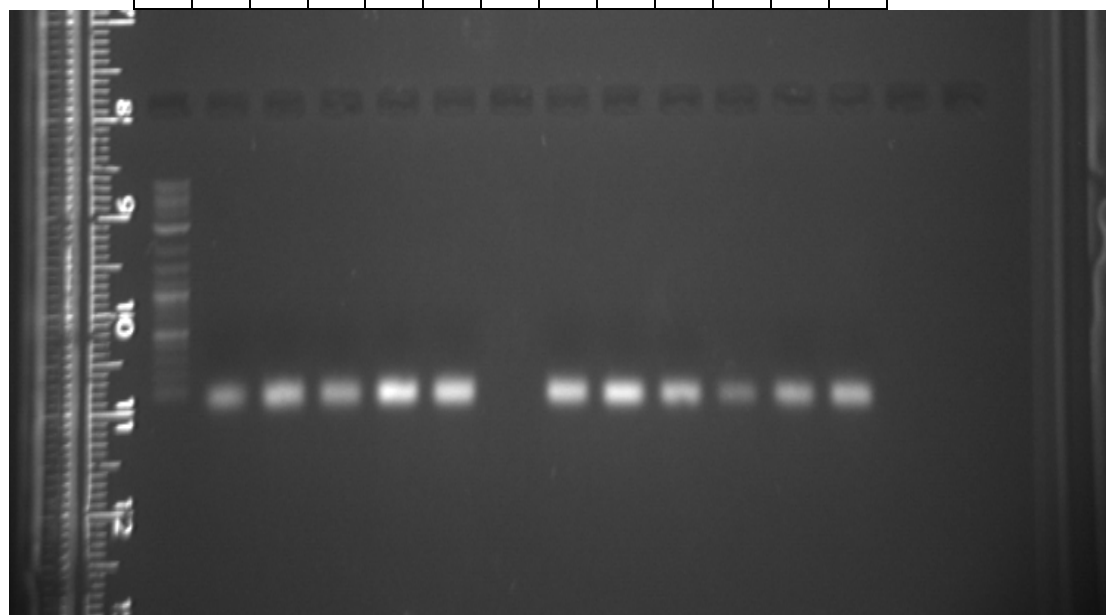
(η πρώτη εικόνα είναι ο βίκος, έπειτα το λούπινο, κατόπιν το ρεβίθι και τέλος η φακή)

loader	Ρίζα	Ρίζα	Ρίζα	Ρίζα	Ρίζα		Βλαστ	Βλαστ	Βλαστ	Βλαστ	Βλαστ		Negat	Positi
	1	3	5	7	8		1	3	5	7	8		contr	contr

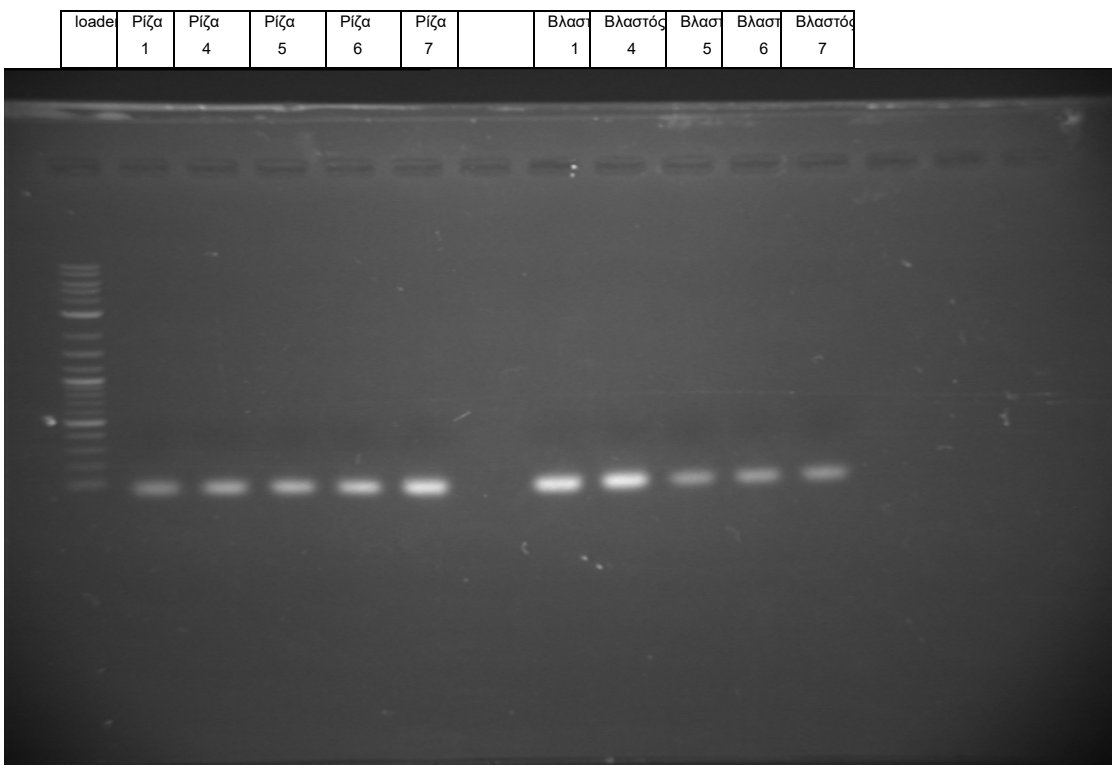


**Εικόνα 23:** Αποτελέσματα τελικής ηλεκτροφόρησης στο βίκος

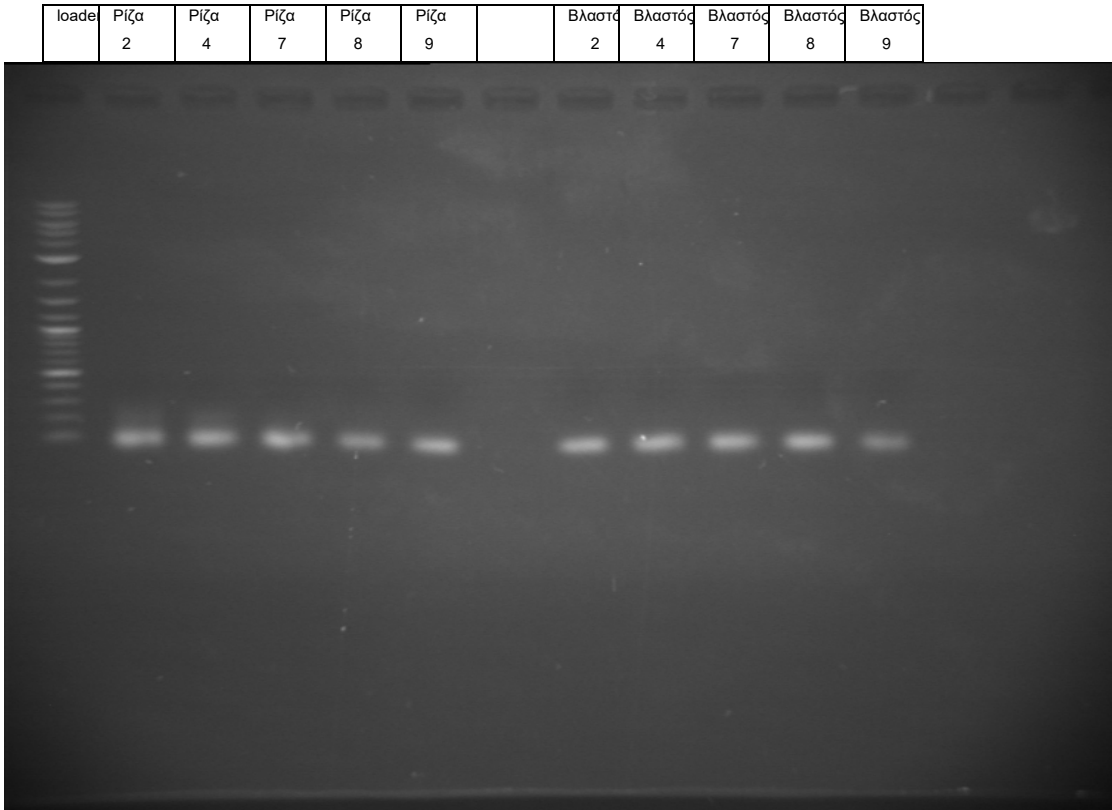
loader	Ρίζα	Ρίζα	Ρίζα	Ρίζα	Ρίζα		Βλαστ	Βλαστ	Βλαστ	Βλαστ	Βλαστ	Βλαστ
	3	4	5	9	10		3	4	5	5	9	10



**Εικόνα 24:** Αποτελέσματα τελικής ηλεκτροφόρησης στο λούπινο



**Εικόνα 25:** Αποτελέσματα τελικής ηλεκτροφόρησης στο ρεβίθι



**Εικόνα 26:** Αποτελέσματα τελικής ηλεκτροφόρησης στη φακή

Δεν παρατηρήθηκε ανίχνευση του Fsk σε κανένα δείγμα.

## 5. ΣΧΟΛΙΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Είναι εξαιρετικά δύσκολο, αρχικά, λόγω της πρώιμης χρονικής στιγμής της δειγματοληψίας και της μοναδικότητάς της, να κατασθεί ακριβές αποτέλεσμα όσον αφορά την συνολική δράση του στελέχους FsK ως προς τα είδη φυτών που μελετήθηκαν. Υπάρχουν μερικές αρχικές φαινοτυπικές ενδείξεις, παρ' όλα ταύτα, που ίσως δεν μαρτυρούν κάποια επίδρασή του στο ριζικό σύστημα των φυτών που μελετήθηκαν, και επιβεβαιώθηκαν με την τελική ηλεκτροφόρηση, όπου δεν φάνηκε να υπάρχει γενετικό υλικό του FsK τόσο στα δείγματα των ριζών, όσο και σε αυτά των βλαστών.

Έπειτα, ενώ και τα τέσσερα είδη των καλλιεργούμενων φυτών που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία, ανήκουν στην κοινή υποοικογένεια των ψυχανθών, θα πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν πως το κάθε είδος φυτού διαφέρει ως προς τα υπόλοιπα και σε πολλές παραμέτρους. Δηλαδή, κάθε είδος φυτού χαρακτηρίζεται από τις δικές του αναπτυξιακά και μορφολογικά χαρακτηριστικά, και σαφώς κάθε είδος εμφανίζει ξεχωριστές αλληλεπιδράσεις με τον ίδιο μικροοργανισμό σε κοινό παρονομαστή. Οι σχέσεις με μικροοργανισμούς διαφέρουν και το κάθε είδος ενδέχεται να αντιμετωπίσει έναν εξωτερικό μικροοργανισμό ως συμβιώτη ή ως παθογόνο. Κάθε είδος φυτού έχει διαφορετικούς μηχανισμούς ανοσιακής απόκρισης και αναγνωρίζει διαφορετικούς τελεστές αυτής από ένα άλλο είδος φυτού.

Ακόμη, δεν έχει υπάρξει κάποια προηγούμενη μελέτη της δράσης του στελέχους FsK συγκεκριμένα στα είδη *lens culinaris*, *cicer arietinum*, *lupines albus*, και *vicia sativa* ή στα γένη των. Η μελέτη στα είδη αυτά συμβαίνει για πρώτη φορά με αυτή την εργασία, και προφανώς δεν υπάρχει κάποια βάση ή κάτι δεδομένο μέσω άλλης έρευνας, ώστε να γίνει κάποιος παραλληλισμός και συσχέτιση των αποτελεσμάτων.

Ενδεχομένως, εάν τα φυτά αφήνονταν περισσότερο χρόνο και συνέβαινε και δεύτερη δειγματοληψία, ή μια μοναδική αλλά σε μεταγενέστερο χρόνο, να υπήρχε κάποια ένδειξη αποικισμού του FsK ή/και διαφορά όσον αφορά τους φαινοτύπους, ίσως και πάλι όμως να μην υπήρχε αποικισμός αυτού.

Τελικά, λόγω και των τριών παραμέτρων που αναφέρθηκαν προηγουμένως, είναι αρκετά δύσκολο να εξαχθεί σαφές αποτέλεσμα για την γενική απόκριση των φυτών στο μύκητα, όμως στην παρούσα εργασία το αποτέλεσμα και στο συγκεκριμένο χρονικό διάστημα είναι αρνητικό.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ζίφα, Α., Μαμούρης, Ζ., Μούτου Κ. (2011). 'Βιολογία'. 2nd edition. Βόλος, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλία.
2. David S. Hibbett, Manfred Binder, Joseph F. Bischoff, Meredith Blackwell, Paul F. Cannon, Ove E. Eriksson, Sabine Huhndorf, Timothy James, Paul M. Kirk, Robert Lücking, H. Thorsten Lumbsch, François Lutzoni, P. Brandon Matheny, David J. McLaughlin, Martha J. Powell, Scott Redhead, Conrad L. Schoch, Joseph W. Spatafora, Ning Zhang (2007) 'A higher-level phylogenetic classification of the Fungi'. Volume 111, Issue 5, Pages 509-547.
3. C R Woese, O Kandler, and M L Wheelis (1990). 'Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya.' *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87(12): 4576–4579
4. David Moore, Geoffrey D. Robson and Anthony P. J. Trinci (2020). '21st Century Guidebook to Fungi'. 2<sup>nd</sup> edition, Chapter 13.19, Format: Kindle Edition
5. Jaya Arora, Kishan Gopal Ramawat (2017). 'An Introduction to Endophytes' *Endophytes: Biology and Biotechnology* (pp.1-23), DOI: 10.1007/978-3-319-66541-2\_1
6. Coleman, J. J. (2016). The *Fusarium solani* species complex: Ubiquitous pathogens of agricultural importance. *Molecular Plant Pathology*, 17(2), 146– 158.
7. Tulin Askun (2018). 'Fusarium: Pathogenicity, Infections, Diseases, Mycotoxins and Management', edited volume, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.76507
8. Marcio Nucci, Elias Anaissie (2007) *Fusarium* infections in immunocompromised patients, *Clin Microbiol Rev.* 2007 Oct;20(4):695-704. doi: 10.1128/CMR.00014-07.
9. Kavroulakis, N., Ntougias, S., Zervakis, G. I., Ehaliotis, C., Haralampidis, K., & Papadopoulou, K. K. (2007). Role of ethylene in the protection of tomato plants against soilborne fungal pathogens conferred by an endophytic *Fusarium solani* strain. *Journal of Experimental Botany*, 58(14), 3853–3864.
10. Kavroulakis, N., Ehaliotis, C., Ntougias, S., Zervakis, G. I., & Papadopoulou, K. K. (2005). Local and systemic resistance against fungal pathogens of tomato plants elicited by a compost derived from agricultural residues. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 66(5), 163–174.
11. Paul Gepts, William D. Beavis, E. Charles Brummer, Randy C. Shoemaker, H. Thomas Stalker, Norman F. Weeden, and Nevin D. Young (2005). Legumes as a Model Plant Family. *Genomics for Food and Feed Report of the Cross-Legume Advances through Genomics Conference.* *Plant Physiol.* 137(4): 1228–1235. doi: 10.1104/pp.105.060871
12. Αυγουλας, Χ. Ε. (2013). 'Μία πρώτη Γνωριμία με τα κτηνοτροφικά ψυχανθή'. Retrieved August, 2014
13. Skoufogianni E. and N.G. Danalatos. 2010. Maize and sunflower productivity as affected by crop rotation with *Pisum sativum* in central Greece. *Proceedings European Biomass Conference held in Lyon, France, May 2010.*

14. Peter H. Graham and Carroll P. Vance (2003). Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. University of Minnesota, 1991 Upper Buford Circle, St. Paul, Minnesota 55108. Article in Plant physiology · April 2003, DOI: 10.1104/pp.017004 · Source: PubMed
15. Zohary D. (1972). The wild progenitor and the place of origin of the cultivated lentil: *Lens culinaris*. Economic Botany. Volume 26, Number 4, pages 326-332.
16. Bejiga G., S. Tsegaye, A. Tullu & W. Erskine (1996). Quantitative evaluation of Ethiopian landraces of lentil (*Lens culinaris*). Genetic Resources and Crop Evolution 43: 293-301.
17. Fabio Gresta, Michael Wink, U. Prins, Michael Abberton (2017). Lupins in European cropping systems, CAB international 2017
18. Julia Müller, Victoria Gödde, Karsten Niehaus, and Christian Zörb (2015). Metabolic Adaptations of White Lupin Roots and Shoots under Phosphorus Deficiency, Front Plant Sci. 2015; 6: 1014. Published online 2015 Nov 24. doi: 10.3389/fpls.2015.01014
19. Nadim Tayeh, Grégoire Aubert, Marie-Laure Pilet-Nayel, Isabelle Lejeune-Hénaut, Thomas D. Warkentin, and Judith Burstin. (2015). Genomic Tools in Pea Breeding Programs: Status and Perspectives. Front Plant Sci. 2015; 6: 1037. Published online 2015 Nov 27. doi: 10.3389/fpls.2015.01037
20. Δαλιάνης, Κ.Δ. (1993). 'Ψυχανθή για Καρπό και Σανό'. Εκδόσεις Α. Σταμουλής
21. Παπακώστα-Τασσοπούλου Δ., (2005). 'Ειδική Γεωργία Ι' (Τεύχος Β). Ψυχανθή (Καρποδοτικά – Χορτοδοτικά). Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία
22. Yadav, S.S., Longnecker, N., Dusunceli, F., Bejiga, G., Yadav, M., Rizvi, A.H., Manohar, M., Reedy, A.A., Xaxiao, Z., Chen, W. (2007). Uses, consumption and utilisation in Chickpea Breeding and Management (Yadav, S.S., Redden, R., Chen, W. Sharma, B., eds). CAB International, Wallingford, UK, pp. 72-100.
23. Daniel Zohary; Maria Hopf & Ehud Weiss (2012). 'Domestication of Plants in the Old World: The Origin and Spread of Domesticated Plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin' (4th ed.). Oxford University Press. ISBN 978-0-19-954906-1.
24. Γρηγοράκης Χ. – Ποδηματάς Κ., (1986). 'Κτηνοτροφικά Φυτά Βοσκής', Οργανισμός Εκδόσεως Διδακτικών Βιβλίων