



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

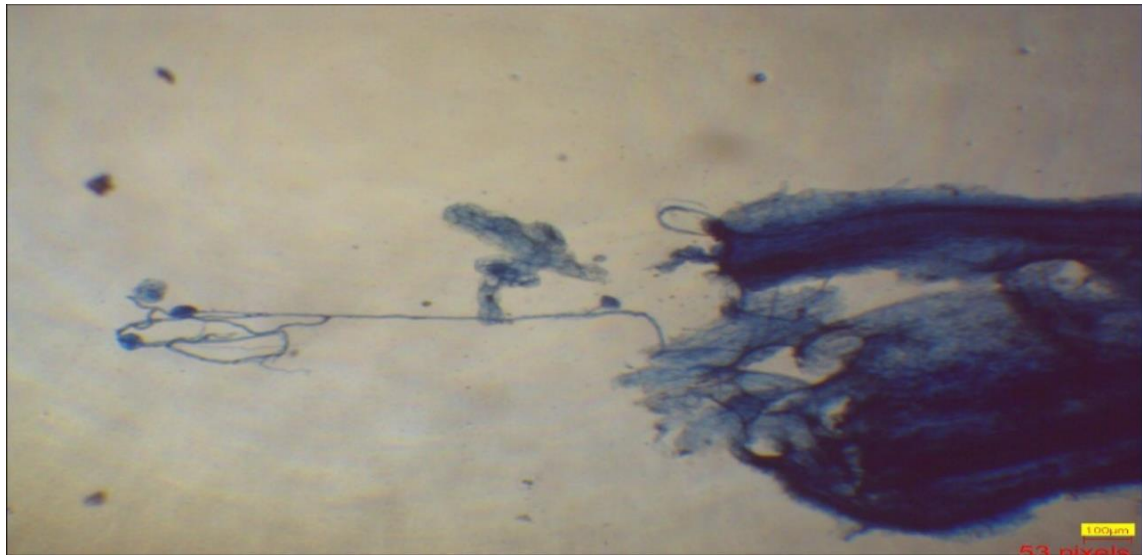
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΖΙΖΑΝΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΘΕΜΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

**«Συνδυασμός μικροκυστίνης-LR και ενδομυκκώριζων στο σέλινο: βιοχημικά
χαρακτηριστικά και αποικισμός»**

ΌΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ:

Αντωνία-Μαρία Μπαράκη



ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:

Ευθυμία Λεβίζου, Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας Φυτών

Βόλος, 2021

ΤΙΤΛΟΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

«Συνδυασμός μικροκυστίνης-LR και ενδομυκκώριζων στο σέλινο: βιοχημικά χαρακτηριστικά και αποικισμός»

«Combined effects of microcystins-LR and endomycorrhizal fungi on celery: biochemical characteristics and colonization»

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Λεβίζου Ευθυμία, (Επιβλέπουσα) Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βέλλιος Ευάγγελος, (Μέλος) Επίκουρος Καθηγητής Φυτοπαθολογίας και Σύγχρονων Μεθόδων Διαγνωστικής, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Πετούμενου Δέσποινα, (Μέλος) Επίκουρη Καθηγήτρια Αμπελουργίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βεβαιώνω ότι είμαι ο συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας, η οποία εκπονήθηκε σύμφωνα με τον Κανονισμό Εκπόνησης Πτυχιακής Εργασίας του ΤΓΦΠΑΠ.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ την καθηγήτρια μου κα. Λεβίζου Ευθυμία για την βοήθεια και την καθοδήγησή της καθώς και τον συμφοιτητή μου Κόκκαλη Κωνσταντίνο, με τον οποίο εκπονήσαμε μαζί το πείραμα, για την πολύτιμη βοήθεια και στήριξή του. Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω την Διδάκτορα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών Μυρτώ Τσικνιά με την οποία συνεργαστήκαμε για την διεξαγωγή κάποιων μετρήσεων του πειράματος. Τέλος ευχαριστώ την συμφοιτήτριά μου Γεωργία Φλωροκάπη για την στήριξη και τις πολύτιμες συμβουλές της.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	8
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Κυανοβακτήρια	10
1.1.1 Ταξινόμηση και προέλευση.....	10
1.1.3 Μορφολογία	11
1.1.4 Περιβάλλον ανάπτυξης.....	11
1.1.5 Προϊόντα μεταβολισμού	12
1.1.6 Ανθίσεις κυανοβακτηρίων (Cyanobacterial blooms)	12
1.2. Κυανοτοξίνες	13
1.2.1 Νευροτοξίνες	14
1.2.2 Ηπατοτοξίνες.....	14
1.3. Μικροκυστίνες και Μικροκυστίνη LR	15
1.4 Μυκόρριζες	16
1.5 Σέλινο	18
1.6 Σκοπός εργασίας	19
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	20
2.1 Πλάνο πειραματικής διαδικασίας	20
2.2 Υπόστρωμα	22
2.3 Στάδιο φύτευσης σπερμάτων	22

2.4 Στάδιο 1 ^{ης} Μεταφύτευσης σπερμάτων	23
2.5 Στάδιο 2 ^{ης} Μεταφύτευσης νεαρών φυτών σέλινου	24
2.6 Μέτρηση συγκέντρωσης ολικών χλωροφυλλών	25
2.7 Λήξη πειράματος και συγκομιδή.....	25
2.8 Εκτίμηση αποικισμού μυκόρριζας στις ρίζες.....	26
2.8.1 Χρώση ριζών με trypan blue	27
2.8.2 Κατασκευή αντικειμενοφόρων πλακών.....	28
2.8.3 Παρατήρηση αντικειμενοφόρων πλακών στο μικροσκόπιο	28
2.9 Κονιορτοποίηση ριζών και φύλλων	29
2.10 Προσδιορισμός ποσοτήτων των θρεπτικών στοιχείων K, Na, Ca, P (% ή ppm) στους φυτικούς ιστούς.....	30
2.10.1 Ανάπτυξη χρώματος κατά Murphy-Riley	30
2.10.2 Υπολογισμός των ποσοτήτων των θρεπτικών στοιχείων K, Na, P, Ca (% ή ppm) στους φυτικούς ιστούς.....	31
2.11 Στατιστική ανάλυση.....	31
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	32
3.1 Μορφολογικές μετρήσεις.....	32
3.2 Μέτρηση συγκέντρωσης ολικών χλωροφυλλών (Chl a+b).....	36
3.3 Μέτρηση αποικισμού του μυκορριζικού μύκητα στις ρίζες φυτών σέλινου	37
3.4 Μετρήσεις ποσοτήτων θρεπτικών στοιχείων K, Na, Ca, P (% ή ppm) στους φυτικούς ιστούς(φύλλα και ρίζες)	38
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	46
4.1 Επίδραση των πειραματικών παραγόντων και των αλληλεπιδράσεων στα αναπτυξιακά χαρακτηριστικά του σέλινου	46
4.2 Επίδραση των πειραματικών παραγόντων και των αλληλεπιδράσεων στα βιοχημικά χαρακτηριστικά του σέλινου	48

4.3 Επίδραση των μικροκυστινών και του παράγοντα επαναφοράς στον αποικισμό AMF(%) στις ρίζες φυτών σέλινου.....	49
4.4 Επίδραση των μικροκυστινών και του παράγοντα επαναφοράς στις ποσότητες των θρεπτικών στοιχείων K, Na, Ca, P στους φυτικούς ιστούς του σέλινου.....	49
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	52
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	53

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι μικροκυστίνες αποτελούν είδος κυανοτοξινών που απελευθερώνονται στα υδάτινα περιβάλλοντα από τοξικά είδη κυανοβακτηρίων, συνήθως λόγω επικράτησης ευτροφικών συνθηκών και υψηλής θερμοκρασίας. Όταν λοιπόν το εμπλουτισμένο με αυτές τις τοξικές ουσίες νερό χρησιμοποιείται για την άρδευση των καλλιεργούμενων φυτών, αυτό μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα φυτά σε πολλά επίπεδα. Έτσι στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της μικροκυστίνης (MC-LR) σε φυτά σέλινου με ή χωρίς την παρουσία ενδομυκόρριζας (AMF) με σκοπό την μελέτη των σχέσεων μεταξύ φυτού-μυκόρριζας-μικροκυστίνης. Τα φυτά ποτίστηκαν με δύο συγκεντρώσεις MC-LR (2 και 20 $\mu\text{g/L}$) από το στάδιο του σπόρου μέχρι τη συγκομιδή ενώ η προσθήκη της μυκόρριζας έγινε στην 1^η μεταφύτευση στο σπορείο. Μετά την 2^η μεταφύτευση δημιουργήθηκε και η μεταχείριση επαναφοράς (R, recovery), όπου χορηγήθηκε νερό βρύσης σε φυτά που μέχρι τότε είχαν λάβει τις δύο συγκεντρώσεις MC-LR με ή χωρίς AMF ώστε να παρατηρηθεί η ανάκαμψη των φυτών μετά από την επίδραση της μικροκυστίνης. Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε χώμα και περλίτης τα οποία είχαν αποστειρωθεί ώστε να εξασφαλιστεί η απουσία των AMF στις αντίστοιχες μεταχειρίσεις, ενώ στις υπόλοιπες προστέθηκε μόλυσμα του μυκορριζικού μύκητα (*Rhizophagus irregularis*). Το πείραμα διήρκησε 3 μήνες και διεξήχθη στο θερμοκήπιο του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας του τμήματος ΓΦΠΑΠ. Κατά την διάρκεια της αναπτυξιακής περιόδου έγιναν μετρήσεις των ολικών χλωροφυλλών για τρεις διαφορετικές ημερομηνίες, ενώ κατά την τελική συλλογή έγιναν μετρήσεις σχετικά με την μορφολογία του φυτού, τα βιοχημικά του χαρακτηριστικά, τον αποικισμό του μυκορριζικού μύκητα στις ρίζες καθώς και τις ποσότητες των ολικών θρεπτικών στις στους φυτικούς ιστούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μυκόρριζες είχαν θετικά αποτελέσματα στην αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών μετά από αξιολόγηση των μορφολογικών μετρήσεων. Στις μορφολογικές μετρήσεις αυξημένη επιφάνεια φύλλων εμφάνισαν οι μεταχειρίσεις της επαναφοράς οι οποίες όμως είχαν μειωμένη ειδική μάζα. Επιπλέον στην μέτρηση της επιφάνειας των φύλλων παρουσιάστηκε για πρώτη και μοναδική φορά στο πείραμα αλληλεπίδραση μεταξύ της AMF και MC-LR. Συγκεκριμένα ο συνδυασμός μυκόρριζας και μικροκυστίνης στην υψηλότερη συγκέντρωση (20 $\mu\text{g/L}$) προώθησε την αύξηση της επιφάνειας, ενώ είχε τα ακριβώς τα αντίθετα αποτελέσματα όταν απουσίαζε η μυκόρριζα. Όσον αφορά τον αποικισμό του

μυκορριζικού μύκητα στις ρίζες του σέλινου δεν επηρεάστηκε ούτε από την επίδραση της MC-LR ούτε από τον παράγοντα R. Οι χλωροφύλλες σημείωσαν σημαντική αύξηση παρουσία AMF αλλά και κατά την επαναφορά R στις 31/05 βελτιώνοντας έτσι την φωτοσυνθετική ικανότητα των φυτών. Σχετικά με τα θρεπτικά στοιχεία (K, Ca, P), αυτά παρουσίασαν αύξηση - κυρίως στην χαμηλότερη συγκέντρωση (2 μg/L)- κατά την επαναφορά των φυτών με άρδυσή τους με νερό βρύσης. Μόνο τα επίπεδα K στην ρίζα φάνηκε να επηρεάστηκαν δυσμενώς από την MC-LR, κυρίως στην μικρότερη συγκέντρωση (2 μg/L).

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Κυανοβακτήρια

1.1.1 Ταξινόμηση και προέλευση

Τα Κυανοβακτήρια είναι προκαρυωτικοί, φωτοαυτότροφοι μικροοργανισμοί που κατατάσσονται στην ομάδα των Gram-αρνητικών βακτηρίων και διακρίνονται για την δυνατότητά τους να πραγματοποιούν οξυγενή φωτοσύνθεση κατά τον ίδιο τρόπο που πραγματοποιείται στα φυτά (Soule and Garcia-Pichel 2019). Σε παλαιότερη ταξινόμηση κατά την οποία τα Κυανοβακτήρια κατατάσσονταν στο Βασίλειο Cyanophyta, αναφέρονταν ως green-blue algae, ονομασία η οποία αναιρέθηκε το 1960 (Percival and Williams 2014). Απολιθώματα έδειξαν ότι τα κυανοβακτήρια χρονολογούνται 3,5 δισεκατομμύρια χρόνια στη Γη, γεγονός που τα καθιστά τους αρχαιότερους μικροοργανισμού που επιτέλεσαν φωτοσύνθεση. Κατάφεραν κατ' αυτό τον τρόπο να εμπλουτίσουν με οξυγόνο την ατμόσφαιρα, ενώ αποτέλεσαν πρόγονοι των μετέπειτα πλαστιδίων που περιέχονται στα φύκη και τα ανώτερα φυτά (Soule and Garcia-Pichel 2019, Sivonen 2009).

1.1.2 Φυσιολογικές λειτουργίες

Όπως συμβαίνει σήμερα στα φυτά έτσι και τα κυανοβακτήρια με την φωτοσύνθεση ανάγουν το CO₂ σε οργανική ουσία μέσω του κύκλου του Calvin και έτσι πραγματοποιείται δέσμευση του άνθρακα. Δότης ηλεκτρονίων για την πραγματοποίηση των φωτεινών αντιδράσεων είναι το νερό, ενώ η δέσμευση της ηλιακής ενέργειας γίνεται κυρίως μέσω της Χλωροφύλλης α και των φυκοβιλίνων, υδρόφιλων πρωτεϊνικών χρωστικών (Soule and Garcia-Pichel 2019). Εκτός από την πραγματοποίηση της φωτοσύνθεσης κάποια κυανοβακτήρια είναι ικανά να πραγματοποιούν και αζωτοδέσμευση, ανάγοντας έτσι το ατμοσφαιρικό άζωτο που βρίσκεται σε αφθονία, σε μορφή αφομοιώσιμη από τα φυτά. Ωστόσο, το οξυγόνο που παράγεται από την φωτοσύνθεση παρεμποδίζει την αζωτοδέσμευση (Percival and Williams 2014). Παρ' όλα αυτά, τα κυανοβακτήρια ανέπτυξαν μηχανισμούς χάρις στους οποίους κατάφεραν να αφομοιώνουν το άζωτο είτε διαχωρίζοντας τις δύο διεργασίες σε μέρα (φωτοσύνθεση) και νύχτα (αζωτοδέσμευση), είτε απέκτησαν

αζωτοδεσμευτικά κύτταρα (ετερόκυτα) που επέτρεψαν την ταυτόχρονη πραγματοποίηση των δύο διεργασιών τη μέρα και τη νύχτα (Berman-Frank et al. 2007, Kumar et al. 2010). Μελέτες έδειξαν ότι τα γένη που διεξάγουν αζωτοδέσμευση είναι τα *Anabaena*, *Aphanizomenon* και *Gleotrichia*, ενώ τα γένη που δεν αζωτοδεσμεύουν είναι τα *Microcystis*, *Coelosphaerium* και *Oshilhtoria*. Ενώ τα περισσότερα είδη όπως αναφέρθηκε αποτελούν φωτοαυτότροφους οργανισμούς, υπάρχουν ορισμένα είδη ετεροαυτότροφων κυανοβακτηρίων που αποθηκεύουν οργανικές ουσίες όταν υπάρχουν σε μεγάλες ποσότητες στο περιβάλλον τους όπως N και P ως πηγή άνθρακα για την επιβίωσή τους σε ακραίες συνθήκες περιβάλλοντος, όπως στα ευτροφικά οικοσυστήματα (Percival and Williams 2014).

1.1.3 Μορφολογία

Πέρα από το μεγάλο μέγεθος των κυττάρων τους σε σχέση με άλλα βακτήρια, διακρίνονται μορφολογικά λόγω της μεγάλης ποικιλομορφίας τους. Οι μορφές με τις οποίες επικρατούν στην φύση είναι Α) Μονοκύτταροι, Β) Νηματοειδείς με αζωτοδεσμευτικά κύτταρα και Γ) Νηματοειδείς χωρίς αζωτοδεσμευτικά κύτταρα (Singh and Montgomery 2011).

1.1.4 Περιβάλλον ανάπτυξης

Τα Κυανοβακτήρια είναι ικανά να αναπτύσσονται σε ποικίλα οικοσυστήματα. Συνήθως επικρατούν σε υδάτινα οικοσυστήματα όπως γλυκά, υφάλμυρα, θαλασσινά νερά και θερμές πηγές αλλά και σε χερσαία όπως στο έδαφος, σε ερήμους κτλ. Επίσης πολλές φορές συμβιώνουν με κάποια φυτά και λειχήνες (Sivonen 2009). Όσον αφορά την επικράτησή τους σε υδάτινα οικοσυστήματα αποτελούν μέρος του φυτοπλαγκτού, ενώ εμφανίζονται συχνά με την μορφή βιομεμβρανών και στρωμάτων στην βενθική ζώνη (Sivonen 2009). Τελευταία δίνεται ιδιαίτερη σημασία στις ανθίσεις των κυανοβακτηρίων, δηλαδή στην εμφάνιση πυκνών μαζών κυανοβακτηρίων κυρίως στην επιφάνεια ευτροφικών λιμνών (Sivonen and Jones 1999).

Τα κυανοβακτήρια μπορούν να προσαρμοζονται σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες και γι' αυτό συναντώνται συχνά σε ερήμους, τροπικά δάση, ορεινές περιοχές, ωκεανούς ή λίμνες με ευτροφισμό κτλ. (Paerl 2014). Η ικανότητά τους να επιβιώνουν

σε ποικίλα περιβάλλοντα εντελώς διαφορετικά μεταξύ τους καθώς και σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες οφείλεται στην ικανότητα αζωτοδέσμευσης. Χάρης την αζωτοδέσμευση τα κυανοβακτήρια μπορούν να μετατρέπουν τον ανόργανο άνθρακα σε οργανικό ανεξάρτητα από τις συνθήκες του περιβάλλοντος που επικρατούν (Percival and Williams 2014).

1.1.5 Προϊόντα μεταβολισμού

Τα κυανοβακτήρια εκκρίνουν δευτερογενείς μεταβολίτες που αφορούν είτε την παραγωγή χρήσιμων ουσιών όπως βιοενεργές ουσίες, είτε επιβλαβών ουσιών που αφορούν την παραγωγή τοξινών (Sivonen and Jones 1999). Οι βιοενεργές ουσίες χρησιμοποιούνται συνήθως για την παρασκευή φαρμακευτικών προϊόντων, καλλυντικών, προϊόντων διατροφής αλλά και στον τομέα της γεωργίας και της παραγωγής ενέργεια (Percival and Williams 2014). Εκτός από αυτές τις χρήσιμες για τον άνθρωπο ουσίες, πολλά γένη τέτοιων βακτηρίων εκκρίνουν τοξίνες, τις λεγόμενες κυανοτοξίνες που είναι ικανές να προκαλέσουν προβλήματα στους υδρόβιους και χερσαίους οργανισμούς, ακόμα και στον άνθρωπο (Rastogi et al. 2014).

1.1.6 Ανθίσεις κυανοβακτηρίων (Cyanobacterial blooms)

Οι ανθίσεις των βακτηρίων εμφανίζονται ως ένα πρασινωπό ή καφέ-κόκκινο (ανάλογα την περιεχόμενη χρωστική) αφρό που επιπλέει στην επιφάνεια του νερού, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις βρίσκονται βαθύτερα μέσα στο νερό με αποτέλεσμα να μην είναι ορατές, όπως στα γένη *Cylindrospermopsis* και *Planktothrix* (Sivonen 2009). Τα κυανοβακτήρια σχηματίζουν ανθίσεις κυρίως σε ευτροφικές λίμνες και δεξαμενές όπου επικρατούν υψηλές συγκεντρώσεις N και P που αποτελούν ιδανικά περιβάλλοντα για την ανάπτυξή τους (Reichwaldt and Ghadouani 2012). Αρχικά οι ανθίσεις αυτές αποτελούσαν πρόβλημα μόνο λόγω της δυσάρεστης μυρωδιάς τους, της κακής αισθητικής που προσέθεταν στο οικοσύστημα (Bavithra et al 2020) αλλά και λόγω του ανταγωνισμού τους με το ωφέλιμο φυτοπλαγκτόν λόγω της μείωσης του οξυγόνου (Paerl 2014). Διαπιστώθηκε ότι αυτές οι ανθίσεις σε ποσοστό 75% εκκρίνουν δευτερογενείς μεταβολίτες, μερικοί από τους οποίους αποδείχθηκαν τοξικοί για τον άνθρωπο και τα ζώα (Percival and Williams 2014). Η τοξικότητα αποδείχθηκε πρώτη φορά το 1878 σε Αυστραλιανή λίμνη, όπου οι παραγόμενες τοξίνες δηλητηρίαζαν τα

ψάρια και επισήμαναν έτσι την επικινδυνότητα τους (Carmichael 1997). Έκτοτε ακολούθησαν αρκετές περιπτώσεις δηλητηρίασης που αφορούσαν κυρίως άγρια και κτηνοτροφικά ζώα μετά από πόση μολυσμένου νερού με τοξίνες, ενώ έχουν αναφερθεί λίγες περιπτώσεις που αφορούν ανθρώπους (Buratti et al. 2017).

Έχει αποδειχθεί ότι παράγοντες όπως η κλιματική αλλαγή, η αύξηση της θερμοκρασίας και η εκτεταμένη εισροή θρεπτικών όπως το N και ο P στο υδάτινο ορίζοντα από την γεωργία και την ανθρωπογενή δραστηριότητα αποτελούν κύρια αίτια της επέκτασης των ανθίσεων και της παραγωγής τοξινών (O'Neil et al. 2012).

Μελέτες έδειξαν ότι το γένος των κυανοβακτηρίων που είναι το πιο σύνηθες στην δημιουργία ανθίσεων στα υδάτινα οικοσυστήματα είναι το *Microcystis* που παράγει πληθώρα επιβλαβών τοξινών όπως οι Μικροκυστίνες (MCs), οι Ανατοξίνες (anatoxin-(a) και BMAA (O'Neil et al. 2012). Άλλα γένη βακτηρίων που είναι παρόντα στις ανθίσεις και παράγουν διάφορα είδη τοξινών είναι τα *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Oscillatoria*, *Cylindrospermopsis* και πιο σπάνια τα *Gomphosphaeria*, *Coelosphaerium*, *Gleotrichia*, *Nodularia* και *Nostos* (Sivonen and Jones 1999).

1.2. Κυανοτοξίνες

Οι κυανοτοξίνες έχουν ταξινομηθεί σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με τα ζωτικά όργανα τα οποία προσβάλλουν όταν εισέρθουν στον άνθρωπο και τα ζώα (Corbel et al. 2013). Αυτές είναι οι εξής:

A) Νευροτοξίνες (Neurotoxins) που προσβάλλουν το νευρικό σύστημα

B) Ηπατοτοξίνες (Hepatotoxins) που προσβάλλουν το συκώτι

Γ) Κυτοτοξίνες (Cytotoxins) που προσβάλλουν το συκώτι, τα νεφρά, το λεπτό έντερο και τους επινεφριδικούς αδένες.

Δ) Δερματοτοξίνες (Dermatotoxins) που προκαλούν δερματικούς ερεθισμούς

Όλα τα είδη των κυανοτοξινών αποτελούν υποχρεωτικές ενδοτοξίνες και απελευθερώνονται από τα κύτταρα είτε με κυτταρική λύση είτε μετά την εφαρμογή ειδικών σκευασμάτων στις ανθίσεις, για την θανάτωση των κυανοβακτηριακών

κυττάρων (Corbel et al. 2013). Ωστόσο από τις παραπάνω κατηγορίες σημαντικότερες είναι οι νευροτοξίνες και οι ηπατοτοξίνες καθώς είναι ικανές να προκαλέσουν θάνατο μετά από μερικά λεπτά ή μετά από μια μέρα αντίστοιχα σε ζώα που εκτέθηκαν σε υψηλές δόσεις (Percival and Williams 2014, Sivonen 2009).

1.2.1 Νευροτοξίνες

Οι νευροτοξίνες αποτελούνται με την σειρά τους από τρεις κατηγορίες (Corbel et al. 2013). Αυτές είναι οι εξής:

A) Ανατοξίνες (Anatoxins) που περιλαμβάνουν με την σειρά τους τις Ανατοξίνες-a, Ομοανατοξίνες-a και Ανατοξίνες-a(s)

B) Σαξιτοξίνες (Saxitoxins)

Γ) Νευροτοξίνες ινικού οξέος ι-β-N-μεθυλάμινο-ι-αλανίνη ή BMAA αμινικού οξέως ι-β-N-μεθυλάμινο-ι-αλανίνη ή BMAA

Οι νευροτοξίνες μιμούνται την ακετυλοχολίνη, ωστόσο δεν διασπώνται από το κατάλληλο ένζυμο, με αποτέλεσμα τα μυϊκά κύτταρα να μην παύουν να λειτουργούν και να προκαλούν εν τέλει μυϊκή παράλυση (Corbel et al. 2013).

1.2.2 Ηπατοτοξίνες

Οι ηπατοτοξίνες αποτελούνται από δύο κατηγορίες (Corbel et al. 2013). Αυτές είναι οι εξής:

A) Μικροκυστίνες (Microcystins) που πήραν το όνομά τους από το βακτήριο *Microcystis aeruginosa* (Sivonen 2009).

B) Νοντουλαρίνες (Nodularins) που πήραν το όνομά τους από το βακτήριο *Nodularia spumigena* (Sivonen 2009).

Οι ηπατοτοξίνες εισβάλλουν στα ζωικά κύτταρα με την βοήθεια των φορέων του χολικού οξέος που βρίσκεται στα κυτταρικά τοιχώματα των κυττάρων του συκωτιού, με αποτέλεσμα την δημιουργία κακώσεων στο συκώτι, την εσωτερική αιμορραγία και

τελικά το θάνατο των οργανισμών στους οποίους εισέρχονται (Sivonen 2009). Όσον αφορά τα φυτικά κύτταρα οι ηπατοτοξίνες και συγκεκριμένα οι μικροκυστίνες-LR (MC-LR) εισέρχονται με την απορρόφησης νερού από τις ρίζες και τον βλαστό ή μέσω της διάχυσης κατόπιν ψεκασμού των φύλλων (Pflugmacher et al. 2001). Και στους ζωικούς και στους φυτικούς οργανισμούς οι ηπατοτοξίνες αναστέλλουν την δράση της πρωτεϊνικής φωσφατάσης 1 και 2 A και αυτό τις καθιστά εξαιρετικά τοξικές (Corbel et al. 2013, Sivonen 2009). Επιπλέον η τοξικότητα των ηπατοτοξινών οφείλεται στο οξειδωτικό στρες που προκαλούν λόγω της αύξησης των ROS (Reactive Oxygen Species) και MDA (malondialdehyde) (Corbel et al. 2013, Puerto et al. 2010). Από τις ηπατοτοξίνες οι μικροκυστίνες είναι οι πιο διαδεδομένες στον κόσμο κατά ποσοστό 50-70% στις κυανοβακτηριακές ανθίσεις (Ettoumi et al. 2011) και έχουν διεξαχθεί πολλά πειράματα που περιγράφουν την επιβλαβή την δράση τους (Sivonen 2009).

1.3. Μικροκυστίνες και Μικροκυστίνη LR

Οι μικροκυστίνες είναι οι πιο διαδεδομένες τοξίνες που συναντήθηκαν αρχικά στις ανθίσεις κυανοβακτηρίων του είδους *Microcystis aeruginosa* και ανήκουν στις ηπατοτοξίνες (Dawson 1998). Τα γένη κυανοβακτηρίων που εκκρίνουν μικροκυστίνες είναι πάνω από 40 κάποια από τα οποία είναι τα *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Nostos* και *Planktothrix* (Pflugmacher et al. 2001). Οι τοξίνες αυτές αλλά και οι κυανοβακτηριακές ανθίσεις από τις οποίες εκκρίνονται, υποβαθμίζουν την ποιότητα του νερού, καθιστώντας το επικίνδυνο τόσο για κατανάλωση από ανθρώπους και κτηνοτροφικά ζώα όσο και για άρδευση καλλιεργούμενων φυτών και χρήση στην υδροπονία. Όσον αφορά τα καλλιεργούμενα φυτά, οι μικροκυστίνες επηρεάζουν την ανάπτυξη της ρίζας και του βλαστού των φυτών, παρεμποδίζουν την βλάστηση των σπόρων και επιδρούν στον μεταβολισμό των φυτών (Bavithra et al. 2019). Επιπλέον είναι κυκλικά πεπτίδια, με μοριακό βάρος 800-1.100 Da, που αποτελούνται από 7 αμινοξέα και χαρακτηρίζονται από την παρουσία του αμινοξέους Adda που είναι παράξενο χαρακτηριστικό για τα κυανοβακτήρια (Chorus and Bartram 1999). Η χαρακτηριστική δομή των μικροκυστινών είναι : cyclo(-D-Ala1-L-X2-DisoMeAsp3-L-Z 4-Adda5-D-isoGlu6-Mdha7), όπου το D-MeAsp είναι D-erythro-b-methylaspartic acid, το Mdha είναι N-methyldehydroalanine, το Adda είναι (2S, 3S, 8S, 9S) 3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyldeca-4,6-

dienoic acid και τα X, Y είναι αντιπροσωπευτικά των διαφόρων αμινοξέων που θα καθορίσουν και το όνομα της μικροκυστίνης (Sivonen and Jones 1999). Μέχρι πρόσφατα έχουν βρεθεί περίπου 85 διαφορετικές μικροκυστίνες με περισσότερη η λιγότερη τοξικότητα που εκκρίνονται από διάφορα γένη κυανοβακτηρίων (Rastogi et al. 2014). Από αυτές έχουν ξεχωρίσει τρία σημαντικά συγγενικά είδη: οι MC-LR, οι MC-RR και MC-YR όπου η διαφοροποίηση οφείλεται στην παρουσία διαφορετικών αμινοξέων όπως L που υποδεικνύει την λευκίνη, R που υποδεικνύει την αργινίνη και Y που υποδεικνύει την τυροσίνη στις θέσεις 2 και 4 (Buratti et al. 2017). Πιο συγκεκριμένα η Μικροκυστίνη–LR που φέρει τη λευκίνη (L) στην θέση 2 και αργινίνη(R) στην θέση 4 είναι η πιο τοξική και η πιο συνηθισμένη μικροκυστίνη, υπεύθυνη για σοβαρές αλλεργικές αντιδράσεις και θανάσιμες αιμορραγίες στο συκώτι (Bavithra et al. 2019).

1.4 Μυκόρριζες

Ο όρος μυκόρριζα αναφέρεται στις συμβιωτικές σχέσεις που αναπτύσσονται μεταξύ των μυκήτων και των ριζών των φυτών στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας, όπως υποδεικνύουν τα συνθετικά του στα ελληνικά: Mycos = Μύκητας, rhiza=ρίζα (Barman et al. 2016).

Οι συμβιωτικές αυτές σχέσεις είναι ένα σύνηθες συμβάν για τα φυτά της ξηράς καθώς έχουν παρατηρηθεί σε αυτά σε ποσοστό >90% στην φύση (Cairney 2000).

Μια βάσιμη υπόθεση υποστηρίζει ότι μετά την ταυτόχρονη εμφάνιση των φυτών της ξηράς και των μυκήτων του εδάφους στην Γη, κάποιοι από αυτούς τους μύκητες που αποτελούσαν σαπρόφυτα, συνδέθηκαν με τις ρίζες των φυτών, δίνοντάς τους την δυνατότητα για καλύτερη συλλογή θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος. Η εξέλιξη επομένως της μυκόρριζας φαίνεται να είχε σκοπό να βοηθήσει τα φυτά να εκλάβουν ανόργανα θρεπτικά συστατικά από το έδαφος, καθώς οι υφές του μύκητα που εξέρχονται από τις ρίζες των φυτών που αποικίζουν, μπορούν να εξερευνήσουν το έδαφος σε μεγαλύτερα βάθη απ' ότι τα ριζικά τριχίδια (Dighton 2009).

Έτσι μέσω αυτής της συμβιωτικής σχέσης τα φυτά χάρες τη μυκόρριζα προσλαμβάνουν με μεγαλύτερη ευκολία ανόργανα θρεπτικά στοιχεία όπως ο

φώσφορος (P) που είναι δυσκίνητος στο έδαφος, το άζωτο (N) καθώς και το νερό (Finlay 2008). Επιπλέον οι μυκόρριζες προσδίδουν ιδιότητες στο φυτό που αφορούν την ύφεση διαφόρων μορφών stress που υφίσταται, όπως η τοξικότητα των μετάλλων, η όξυνση του εδάφους, το οξειδωτικό και υδατικό stress (Colpaert 2008, Finlay 2008) αλλά και ιδιότητες που αφορούν την ανθεκτικότητα στην ξηρασία (Smith and Read 2008) και την αντοχή στα παθογόνα (Parniske 2008). Από την μεριά τους οι μύκητες επωφελούνται επίσης από αυτή τη συμβίωση καθώς προσλαμβάνουν υδατάνθρακες που είναι απαραίτητοι για την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου (Dighton 2009).

Οι μυκόρριζες ταξινομούνται σε κατηγορίες με βάση τα φυτά που χρησιμοποιούν ως ξενιστές καθώς και ως προς τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά (Finlay 2008). Οι δύο κυριότερες κατηγορίες είναι οι εκτομυκόρριζες (Ectomycorrhizae Fungi, EMF) και οι ενδομυκόρριζες (Endomycorrhizae) που χωρίζονται με την σειρά τους σε δύο υποκατηγορίες, τις Δενδριώδεις μυκόρριζες (Arbuscular Mycorrhizae Fungi, AMF) και τις Ερικοειδείς (Ericoid Mycorrhizae Fungi, ERM) (Dighton 2009).

Οι εκτομυκόρριζες (EMF) αποτελούν την πιο πρόσφατη μορφή συμβιωτών μυκήτων καθώς εμφανίστηκαν πριν 150-200 εκατομμύρια χρόνια (Barman et al. 2016). Παρατηρούνται κυρίως σε δένδρα και θάμνους σε εκτεταμένες δασικές εκτάσεις εύκρατων αλλά και αρκτικών κλιμάτων περιλαμβάνοντας συνολικά 8.000 είδη. Οι μύκητες αυτοί ταξινομούνται στα φύλλα Ascomycota και Basidiomycota και αριθμούνται σε 10.000 είδη (Finlay 2008). Στην περίπτωση αυτής της μορφής μυκόρριζας ο μύκητας δεν διεισδύει στα κύτταρα του φλοιού της ρίζας, αλλά σχηματίζει πυκνό μυκήλιο γύρω από τις ρίζες και ορισμένες υφές εισέρχονται μεταξύ των κυττάρων της επιδερμίδας ή και του φλοιού. Το δίκτυο αυτό των υφών και του πυκνού μυκηλίου ονομάζεται δίκτυο Hartig και συμβάλλει στην μεταφορά θρεπτικών στο φυτό (Taiz et al. 2017).

Στην περίπτωση των ενδομυκόρριζων, οι δενδριώδεις μυκόρριζες (AMF) από την άλλη αποτελούν την αρχαιότερη μορφή συμβιωτών μυκήτων (150-200 είδη) αλλά και αυτή που επικρατεί σε μεγαλύτερο ποσοστό (70-90%) στα φυτά της ξηράς περιλαμβάνοντας 250.000 είδη. Υπολογίζεται ότι πάνω από το 20% των φωτοσυνθετικών προϊόντων των φυτών της ξηράς, δηλαδή περίπου 5 δις τόνοι άνθρακα τον χρόνο, καταναλώνεται από

αυτή την κατηγορία των μυκορριζών, συμβάλλοντας έτσι στον κύκλο του άνθρακα στα οικοσυστήματα (Parniske 2008). Στα είδη αυτά περιλαμβάνεται μεγάλο ποσοστό αγγειόσπερμων, γυμνόσπερμων, λειχήνες και φτέρες (Smith and Read 2008). Η εμφάνισή τους στις ρίζες των φυτών χρονολογείται πάνω από 400 εκατομμύρια χρόνια μετά από εύρεση απολιθωμάτων και λόγω της ιδιομορφίας τους ταξινομήθηκαν σε ένα νέο φύλο (μονοφυλλετικό κλάδο), το Glomeromycota (Schüßler et al. 2001). Τα σπόρια αυτών των μυκήτων βλαστάνουν στο έδαφος αλλά δεν μπορούν να επιβιώσουν χωρίς την ύπαρξη φυτού-ξενιστή και γι' αυτό χαρακτηρίζονται ως υποχρεωτικοί συμβιωτές (Parniske 2008). Από τα σπόρια των μυκήτων αναπτύσσονται μυκηλιακές υφές που διεισδύουν στα κύτταρα του φλοιού της ρίζας και σχηματίζουν δομές που μοιάζουν με δένδρα και ονομάζονται δενδρία ή θύσανοι (arbuscules)–Τύπος Arum είτε σύνθετες περιελίξεις υφών (hyphal coils)–Τύπος Paris (Taiz et al. 2017). Οι δενδριώδεις μυκόρριζες σχηματίζουν συχνά, επίσης μέσα στα κύτταρα του φλοιού δομές που ονομάζονται κυστίδια (vesicles). Τα κυστίδια αυτά παίζουν τον ρόλο των οργάνων αποθήκευσης του φωσφόρου, των φωσφολιπιδίων, ενώ πολλές φορές χρησιμεύουν στην φυτική αναπαραγωγή (Amballa and Bhumi 2016). Οι ερικοειδείς μυκόρριζες από την άλλη διεισδύουν επίσης στα κύτταρα του φλοιού συνήθως των πολύ λεπτών ριζών όπου σχηματίζουν κατά κύριο λόγο περιελίξεις υφών, παρά δενδρία (Dighton 2009). Συναντώνται σε φυτά της τάξης Ericales και ταξινομούνται στο φύλλο Ascomycota των μυκήτων (Cairney 2000).

Σε κάθε περίπτωση το δίκτυο των εκτεταμένων υφών (διάμετρος 2-10 μm) των μυκορριζών αναπτύσσεται σε μεγάλη απόσταση από τις ρίζες του φυτού ξενιστή και με αυτό τον τρόπο είναι ικανό να εφοδιάσει το φυτό με απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία εκτός της ζώνης που έχει πρόσβαση η ρίζα, όπως φωσφορικά ιόντα, ενώ διεισδύει παράλληλα σε πόρους του εδάφους πολύ στενούς για την είσοδο της (Taiz et al. 2017).

1.5 Σέλινο

Το σέλινο (*Arium graveolens*) ανήκει στην οικογένεια των σκιαδανθών (Ariaceae). Είναι διετές φυτό που καλλιεργείται ως ετήσιο, ψυχρής εποχής και με ύψος 40-100 εκ. Πολλαπλασιάζεται εγγενώς με σπόρο, είτε με απευθείας σπορά στο χωράφι, είτε σε ψυχρό ή θερμαινόμενο σπορείο και κατόπιν σποράς στο χωράφι (Πετρόπουλος 2015). Από τα 30 είδη του γένους *Arium* μόνο το *Arium graveolens* μπορεί να καλλιεργηθεί.

Λόγω διαφορών στη μορφολογία των φυτών έχουν διακριθεί 4 τύποι ποικιλιών σέλινου από τους οποίους καλλιεργούνται κυρίως στην Ελλάδα ο *A. graveolens* var *Dulce* και ο *A. graveolens* var *rapaciouis*, γνωστό με το όνομα σελινόριζα στα ελληνικά (Πετρόπουλος 2015).

1.6 Σκοπός εργασίας

Πολλές ερευνητικές εργασίες έχουν μελετήσει και εξακολουθούν να μελετούν τόσο την επίδραση των μυκορριζών στα φυτά όσο και της παρουσίας των μικροκυστινών στο αρδευτικό νερό και το έδαφος. Ωστόσο, δεν υπάρχουν μελέτες που αφορούν την αλληλεπίδραση της μυκόρριζας και των μικροκυστινών στα καλλιεργούμενα φυτά. Για τον λόγο αυτό η παρούσα εργασία έχει ως στόχο να εκτιμήσει πως επιδρά η άρδευση των φυτών με διαλύματα μικροκυστινών διαφορετικών συγκεντρώσεων στα ίδια τα φυτά αλλά και στα μυκορριζικά συστήματα που συμβιώνουν με αυτά. Πιο συγκεκριμένα εξετάζεται η επίδραση των παραγόντων αυτών στα μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του φυτού, στις ποσότητες των θρεπτικών στοιχείων K, Na, Ca, P στους φυτικούς ιστούς αλλά και στο ποσοστό του αποικισμού της μυκόρριζας στις ρίζες των φυτών. Για το παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκαν φυτά σέλινου που είναι μυκορριζικά φυτά, μόλυσμα του μύκητα *Rhizophagus irregularis* και καθαρή μικροκυστίνη σε συγκέντρωσης 2 και 20 $\mu\text{g/L}$ κατόπιν αραίωσης.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Πλάνο πειραματικής διαδικασίας

Το φυτό που επιλέχθηκε για την διεξαγωγή του πειράματος ήταν το σέλινο (*Arium graveolens* var. Dulce) που ανήκει στην οικογένεια των Σκιαδανθών (Ariaceae).

Στο παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκε καθαρή μικροκυστίνη MC-LR (Cayman, Chemical, USA) σε δύο συγκεντρώσεις (2 και 20μg/L) σε φυτά σέλινου που αναπτύχθηκαν παρουσία ή απουσία AMF.

Συνοπτικά το χρονολόγιο του πειράματος είναι το εξής:

Σπέρματα σέλινου τοποθετήθηκαν μέσα σε τρυβλία και συγκεκριμένα σε χάρτινο υπόστρωμα το οποίο διαβρεχόταν με 3 διαφορετικά διαλύματα: νερό βρύσης, 2 μg/L MC-LR, 20 μg/L MC-LR. Κατόπιν τα τρυβλία τοποθετήθηκαν στο φυτότρο, μια συσκευή που συνέβαλε στην γρήγορη βλάστηση των φυτών. Μετά από 10 ημέρες αφότου είχαν βλαστήσει το περισσότερα σπέρματα, τα φυτάρια μεταφυτεύτηκαν σε θήκες φυτωρίου (χώμα: περλίτης, 2:1) μαζί με εμβόλιο AMF (1^η μεταφύτευση). Μετά από 20 ημέρες τα αρτίβλαστα που είχαν αναπτυχθεί επαρκώς μεταφυτεύτηκαν στις τελικές γλάστρες με νέο εμβόλιο AMF και τοποθετήθηκαν στο θερμοκήπιο (2^η μεταφύτευση). Οι λεπτομέρειες σε ότι αφορά τις συνθήκες ανάπτυξης και τους AMF αναλύονται παρακάτω.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε περιλάμβανε αρχικά 6 μεταχειρίσεις (treatments) έως και την 1^η μεταφύτευση, στις οποίες εξετάζονταν οι εξής παράγοντες:

1. Η παρουσία ή η απουσία της μυκόρριζας AMF
2. Η παρουσία συγκεντρώσεων 2μg/L MC-LR
3. Η παρουσία συγκεντρώσεων 20μg/L MC-LR

Ο συνδυασμός των παραπάνω 3 παραγόντων οδήγησε στις εξής μεταχειρίσεις:

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	AMF	MC 2	MC 20	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ
1	-	-	-	0-
2	-	+		2-
3	-		+	20-
4	+	-	-	0+
5	+	+		2+
6	+		+	20+

Πίνακας 1. Πλάνο Πειραματικής διαδικασίας έως 1η μεταφύτευση

- ❖ Οι μεταχειρίσεις 1, 6 αποτέλεσαν τους μάρτυρες (control) του πειράματος
- ❖ AMF: παρουσία μυκόρριζας (+) ή απουσία μυκόρριζας (-)
- ❖ MC 2: διάλυμα μικροκυστινών MC-LR συγκέντρωσης 2μg/L
- ❖ MC 20: διάλυμα μικροκυστινών MC-LR συγκέντρωσης 20μg/L

Κατά την 2^η μεταφύτευση προέκυψαν άλλες 4 μεταχειρίσεις (treatments) καθώς ορισμένα φυτά τα οποία έως εκείνη την στιγμή ποτίζονταν με διαλύματα των MC-LR όπως υποδεικνύει ο πίνακας 1, συνέχισαν να ποτίζονται με νερό βρύσης. Ο στόχος εδώ ήταν να διερευνήσουμε εάν το σταμάτημα του ποτίσματος με μικροκυστίνες και η αντικατάστασή του με νερό βρύσης θα επαναφέρει τα φυτά σε κατάσταση κοντά στο μάρτυρα. Για το λόγο αυτό τα φυτά αυτά αποτέλεσαν νέες μεταχειρίσεις έχοντας τον συμβολισμό R (Recovery). Έτσι το τελικό πειραματικό σχέδιο περιλάμβανε 10 μεταχειρίσεις όπως υποδεικνύεται παρακάτω.

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ	AMF	MC 2	MC 20	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ
1	-	-	-	0-
2	-	+		2-
3	-		+	20-
4	+	-	-	0+
5	+	+		2+
6	+		+	20+
7	-	+		2-R
8	-		+	20-R
9	+	+		2+R
10	+		+	20+R

Πίνακας 2.Τελικό πλάνο πειραματικών μεταχειρίσεων

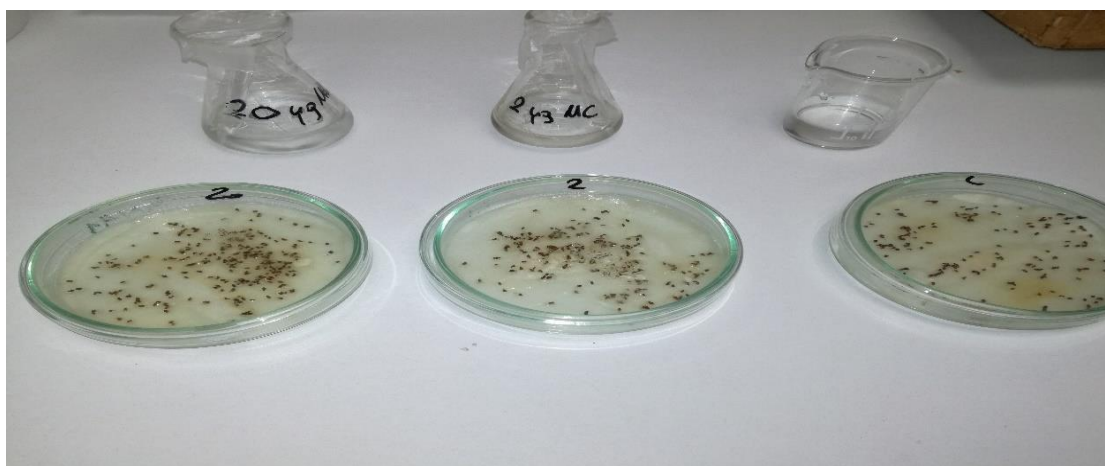
2.2 Υπόστρωμα

Για την παρασκευή κατάλληλου υποστρώματος χρησιμοποιήθηκε χώμα από το Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου που βρίσκεται στο Βελεστίνο. Το χώμα (~100L) που συλλέχθηκε, απλώθηκε για να απομακρυνθεί η υγρασία, κοσκινίστηκε (κόσκινο 4mm) για να απομακρυνθούν οι σβώλοι και τέλος αποστειρώθηκε δύο φορές με διάστημα 3 ημερών να μεσολαβούν μεταξύ τους. Το ίδιο διάστημα έγινε και μια αποστείρωση περλίτη (~100L). Πιο συγκεκριμένα η αποστείρωση διήρκησε 1h στους 121 °C σε αυτόκαυστο με πίεση 2atm και έλαβε χώρα στο εργαστήριο του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας της Λάρισας. Κατόπιν έγινε ανάμειξη του χώματος και του περλίτη και το μείγμα αυτό αποτέλεσε το υπόστρωμα της καλλιέργειας μετά την 1^η μεταφύτευση σε αναλογία χώμα: περλίτης, 2:1.

2.3 Στάδιο φύτευσης σπερμάτων

Στα μέσα Μαρτίου σπόροι σέλινου *A. graveolens* var. Dulce 3275 CELERY VERDE DA TAGLIO τοποθετήθηκαν σε 9 τρυβλία σε χάρτινο υπόστρωμα που διατηρούνταν υγρό, μετά από προσθήκη διαλυμάτων (0μg, 2μg, 20μg) κάθε μια με δύο μέρες με βοήθεια πλαστικής πιπέτας. Συγκεκριμένα από τα 9 τρυβλία, 3 από αυτά διαβρέχονταν με νερό βρύσης, άλλα 3 με διάλυμα μικροκυστινών συγκέντρωσης 2μg /L (MC2) και τα υπόλοιπα με διάλυμα μικροκυστινών συγκέντρωσης 20μg /L (MC20). Τα τρυβλία παρέμεναν σε θάλαμο ανάπτυξης σπερμάτων, με θερμοκρασία 20 °C και φωτοπερίοδο 10h φως και 14h σκοτάδι. Η διαδικασία αυτή ακολουθήθηκε για περίπου 10 ημέρες για

την επίτευξη της βλάστησης σχεδόν όλων των σπερμάτων (~80%) για την πραγματοποίηση της 1^{ης} μεταφύτευσής τους.



Εικόνα 1. Διαβροχή των νεαρών σπερμάτων με διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων ανάλογα με την μεταχείριση

2.4 Στάδιο 1^{ης} Μεταφύτευσης σπερμάτων

Στο στάδιο αυτό τα αρτίβλαστα μεταφέρθηκαν από τα τρυβλία σε θήκες φυτωρίου με την βοήθεια μεταλλικής τσιμπιδας. Πιο αναλυτικά, οι θήκες καλύφθηκαν αρχικά κατά το 1/3 με το μείγμα χώματος-περλίτη (2:1) και ψεκάστηκαν με λίγο νερό με την βοήθεια μικρού ψεκαστήρα. Στην συνέχεια προστέθηκε μείγμα χώματος-περλίτη έως ότου καλυφθεί η θήκη επαρκώς και δημιουργήθηκε μικρό άνοιγμα στο οποίο τοποθετήθηκαν τα πιο εύρωστα αρτίβλαστα από κάθε μεταχείριση. Τέλος τα αρτίβλαστα αυτά ψεκάστηκαν με νερό.

Στα αρτίβλαστα που προορίζονταν να αναπτυχθούν με μυκόρριζα (AMF) πραγματοποιήθηκε η ίδια διαδικασία με την διαφορά ότι πριν το γέμισμα της κάθε θήκης με χώμα προστέθηκε μικρή ποσότητα μολύσματος του μύκητα Φ3 (*Rhizophagus irregularis*) με την βοήθεια μεταλλικού κουταλιού.

Η 1^η μεταφύτευση πραγματοποιήθηκε στο θερμοκήπιο του εργαστηρίου Γενετικής του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής παραγωγής και Αγροτικού περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, όπου παρέμειναν τα φυτά καθ' όλη την διάρκεια ανάπτυξής τους έως την λήξη του πειράματος. Το πότισμά τους γινόταν με την βοήθεια σύριγγας, σε καθημερινή βάση και ποσότητα 25 ml/φυτό. Τα παράθυρα του θερμοκηπίου έμεναν ανοιχτά κατά την διάρκεια της ημέρας και κλειστά το βράδυ για

την προστασία των φυτών. Επιπλέον τοποθετήθηκαν στην ανατολική μεριά του θερμοκηπίου ώστε να φωτίζονται επαρκώς.

2.5 Στάδιο 2^{ης} Μεταφύτευσης νεαρών φυτών σέλινου

Στα τέλη του Απρίλη πραγματοποιήθηκε η δεύτερη μεταφύτευση κατά την οποία επιλέχθηκαν τα 14 πιο εύρωστα φυτά από κάθε μεταχείριση και μεταφέρθηκαν σε γλάστρες του 1 L.

Η διαδικασία ήταν παρόμοια με εκείνη της πρώτης μεταφύτευσης καθώς χρησιμοποιήθηκε και πάλι μείγμα αποστειρωμένου χώματος και περλίτη σε αναλογία 2:1. Παράλληλα έγινε προσθήκη εμβολίου μυκόρριζας στις ανάλογες μεταχειρίσεις με την χρήση μικρού μεταλλικού κουταλιού (ένα κοφτό κουταλάκι σε κάθε γλάστρα). Στο στάδιο αυτό κάποια από τα νεαρά φυτά που ποτίζονταν έως τότε με διαλύματα MC-LR, ποτίζονταν στο εξής με νερό βρύσης ~100ml και αποτέλεσαν τις μεταχειρίσεις επαναφοράς που αναγράφονταν στο εξής με κωδικό R(recovery): 2-R, 20-R, 2+R, 20+R (Πίν2). Συνολικά οι γλάστρες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 84 (14 φυτά * 6 μεταχειρίσεις). Αφού ολοκληρώθηκε η μεταφύτευση, τα νεαρά φυτά ποτίστηκαν με 100ml διαλύματος MC-LR ή νερό βρύσης, ανάλογα τη μεταχείριση. Τα ποτίσματα συνεχίστηκαν στο εξής με την ίδια περίπου ποσότητα διαλύματος κάθε 2-3 μέρες. Επιπλέον για την βέλτιστη ανάπτυξη των φυτών από εδώ και στο εξής μια φορά την εβδομάδα το πότισμα γινόταν με την χρήση υγρού λιπάσματος Hoagland χωρίς P (~100ml) αντί των διαλυμάτων MC-LR και του νερού βρύσης σε όλα τα φυτά. Μια φορά την εβδομάδα γινόταν αλλαγή θέσεως μεταξύ των γλαστρών και των μεταχειρίσεων, για αποφυγή της επίδρασης της μικροθέσης.

Κατά την διάρκεια της φροντίδας οι ανάγκες των φυτών σε νερό δεν ήταν πάντα οι ίδιες γεγονός που αφορά κατά κύριο λόγο περιβαλλοντικούς παράγοντες και γι' αυτό η ποσότητα των διαλυμάτων κυμαινόταν από 30-80 ml/γλάστρα. Επίσης πολλά φυτά καταστράφηκαν λόγω προσβολής από αφίδες τις τελευταίες εβδομάδες πριν την συγκομιδή, οι οποίες απομακρύνονταν καθημερινά με το χέρι.

2.6 Μέτρηση συγκέντρωσης ολικών χλωροφυλλών

Η μέτρηση της συγκέντρωσης των ολικών χλωροφυλλών (a+b) έγινε με την χρήση χλωροφυλλόμετρου SPAD, ενός φορητού οργάνου που δίνει τιμές ολικής χλωροφύλλης στο φύλλο. Το όργανο έχει ως αρχή λειτουργίας την εξής: η χλωροφύλλη έχει σχεδόν μηδενική διαπερατότητα στην περιοχή κοντά στο υπέρυθρο και επίσης έχει δύο κορυφές διαπερατότητας, στην περιοχή 400-500nm και στα 600-700nm. Το όργανο μετρά την διαπερατότητα του φύλλου στην περιοχή του ερυθρού και του υπέρυθρου και υπολογίζει το ποσοστό παρουσίας της χλωροφύλλης. Στο πείραμα επιλέχθηκαν 4-5 φύλλα από κάθε μεταχείριση, στα οποία τοποθετήθηκε η ειδική υποδοχή του οργάνου που μοιάζει με μανταλάκι και έτσι λήφθηκαν οι μετρήσεις. Η διαδικασία αυτή των μετρήσεων έγινε τρεις φορές. Η πρώτη έγινε στις 31/05, ενώ ακολούθησαν άλλες δύο στις 02/06 και 05/06 αντίστοιχα. Για την μετατροπή των τιμών SPAD που πάρθηκαν στις προαναφερόμενες ημερομηνίες σε Chl a+b σε $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη καμπύλη Chla+b ως προς SPAD που είχε προηγουμένως κατασκευαστεί από τη μέτρηση των τιμών SPAD πολλών δειγμάτων φυτών σέλινου. Για την κατασκευή της πρότυπης μετρήθηκε η απορρόφηση των δειγμάτων σε 4 διαφορετικά μήκη κύματος (470nm, 646nm, 663nm, 720nm) σε φασματοφωτόμετρο (UV-1900 Shimadzu, Japan) αφού πρώτα πάρθηκαν δύο δίσκοι από κάθε φύλλο-δείγμα με βοήθεια φελλοτρυπητήρα επιφάνειας 0.196 cm^2 . Οι απορροφήσεις μετατράπηκαν σε συγκεντρώσεις φωτοσυνθετικών χρωστικών με τη βοήθεια των εξισώσεων των Lichtenthaler and Wellburn (1983) και τις κατάλληλες αναγωγές σε όγκο διαλύματος και επιφάνεια φύλλου.

2.7 Λήξη πειράματος και συγκομιδή

Το πείραμα διήρκησε 84 ημέρες (16/3/2018-8/6/2018) έως ότου τα φυτά αποκτήσουν ικανοποιητικό μέγεθος για την πραγματοποίηση των μετρήσεων και του υπολογισμού αποτελεσμάτων. Στο τελικό αυτό στάδιο, 47 φυτά επιλέχθηκαν να αφαιρεθούν από τις γλάστρες και ακολούθησε επεξεργασία που αφορούσε:

- Το έδαφος στο οποίο αναπτύσσονταν τα φυτά
- Τη ρίζα
- Το υπέργειο τμήμα

Πιο αναλυτικά οι γλάστρες μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Ζιζανιολογίας όπου έγινε διαχωρισμός του υπόγειου από το υπέργειο μέρος.

Όσον αφορά το έδαφος, το μείγμα χώματος περλίτη απομακρύνθηκε από τις ρίζες του φυτού με την βοήθεια κόσκινου (4mm) ώστε να συλλεχθεί η ρίζα. Κατόπιν η ρίζα ξεπλύθηκε με διάλυμα χλωρίνης 20% για 2 min και αμέσως μετά με αποστειρωμένο νερό. Στην συνέχεια χωρίστηκε σε 3 κομμάτια από τα οποία το πρώτο τοποθετήθηκε στον ξηραντήρα για απομάκρυνση της υγρασίας (για 2 ημέρες), το δεύτερο στο ψυγείο στους -20° C και το τρίτο μεταφέρθηκε στην Αθήνα, στο Εργαστήριο Εντομολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για περαιτέρω μετρήσεις που αφορούν τον αποικισμό της μυκόρριζας. Τα δείγματα από τα πρώτα δύο μέρη ζυγίστηκαν σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας.

Σχετικά με το υπέργειο μέρος, ζυγίστηκε σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας για την μέτρηση του νωπού βάρους και έγινε χρήση σαρωτή για τον υπολογισμό του εμβαδού τους.

Δύο μέρες αργότερα πραγματοποιήθηκε και μέτρηση του ξηρού βάρους των ριζών και του υπέργειου μέρους των δειγμάτων.

2.8 Εκτίμηση αποικισμού μυκόρριζας στις ρίζες

Μέρος των ριζών των 47 φυτών σέλινου μεταφέρθηκε στην Αθήνα στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και χρησιμοποιήθηκε για μέτρηση του αποικισμού των ριζών με ενδομυκορριζικούς μύκητες. Η διαδικασία αυτή περιλάμβανε αρχικά τη χρώση των ριζών με τη χρήση 10% KOH, 2% HCL και του trypan blue, τη δημιουργία παρασκευασμάτων για την παρατήρηση των ριζών στο μικροσκόπιο και τέλος τη μέτρηση του αποικισμού από ενδομυκορριζικούς μύκητες (AMF). Η χρώση βασίστηκε στην αρχική μέθοδο των Phillips and Hayman (1970).

Το ποσοστό αποικισμού μυκορριζών στις ρίζες των φυτών υπολογίστηκε σύμφωνα με τον αριθμό κομμένων ριζών που εμφάνισαν αποικισμό προς τον συνολικό αριθμό των κομμένων ριζών που παρατηρήθηκαν, εκφρασμένο επί τοις %. Το ποσοστό αποικισμού προσδιορίστηκε σύμφωνα με την μέθοδο που πρότειναν αρχικά οι Giovannetti and Mosse (1980).

Πιο αναλυτικά η όλη διαδικασία περιγράφεται παρακάτω.

2.8.1 Χρώση ριζών με trypan blue

Μέρος των ριζών των φυτών σέλινου με ή χωρίς εμβόλιο ενδομυκορριζικού μύκητα μεταφέρθηκε στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου της Αθήνας όπου ξεκίνησε η διαδικασία της χρώσης. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής:

- 10% KOH (v/w)
- 2% HCL (v/w)
- Trypan blue (σε glycerol και lactic acid)

Όλα τα αντιδραστήρια παρασκευάστηκαν στον απαγωγό καθώς δημιουργούν αναθυμιάσεις.

Διαδικασία

Οι ρίζες αφού πλύθηκαν με νερό για να απομακρυνθούν τα τυχόν ξένα σώματα (εδαφικά τεμαχίδια κτλ.) τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια τύπου falcon των 50 ml και προστέθηκε 10% KOH μέχρι να καλυφθούν. Τα falcon τοποθετήθηκαν σε βάση, κουμπώθηκαν με καπάκια και στην συνέχεια παρέμειναν σε υδατόλουτρο για 45 min στους 80-90°C. Το υδατόλουτρο είχε ενεργοποιηθεί προηγουμένως ώστε να αναπτύξει θερμοκρασία καθώς το νερό έπρεπε να καλύπτει όλη την επιφάνεια των ριζών στα falcon. Συνεπώς προστέθηκε απιονισμένο νερό ώστε να καλυφθούν όλες οι ρίζες. Κατόπιν τα falcon αφαιρέθηκαν από το υδατόλουτρο, αδειάστηκε το KOH και οι ρίζες ξεπλύθηκαν με νερό βρύσης με την χρήση σουρωτηριού ώστε να συγκρατηθούν. Στην συνέχεια προστέθηκε 2% HCL έως ότου καλυφθούν και πάλι οι ρίζες στα falcon και παρέμειναν για 10 min. Έπειτα αδειάστηκε και το HCL αλλά οι ρίζες δεν ξεπλύθηκαν αυτή την φορά με νερό βρύσης. Τέλος προστέθηκε το trypan blue έως ότου καλύφθηκαν οι ρίζες εντός των falcons και τοποθετήθηκαν στο υδατόλουτρο στους 80-90 °C για 40 min με κουμπωμένα καπάκια από πάνω. Με το πέρας του χρόνου τα καπάκια βιδώθηκαν καλά από πάνω και παρέμειναν έτσι 2 μέρες μέχρι την έναρξη της διαδικασίας κατασκευής των αντικειμενοφόρων πλακών.

2.8.2 Δημιουργία Παρασκευασμάτων

Μετά την χρώση με trypan blue, οι ρίζες κόπηκαν σε μήκος περίπου 1 cm και τοποθετήθηκαν στις αντικειμενοφόρες πλάκες. Για κάθε ρίζα που επιλέχθηκε από κάθε δείγμα παρασκευάστηκε μια αντικειμενοφόρος πλάκα.

Διαδικασία

Σε πρώτο στάδιο τα falcon αδειάστηκαν σε πιάτο και οι ρίζες που περιέχονταν σε αυτά ξεπλύθηκαν με απιονισμένο νερό από την περίσσεια χρωστική και κόπηκαν με την βοήθεια λεπίδας στο επιθυμητό μήκος. Τα τμήματα της ρίζας που κόπηκαν μονιμοποιήθηκαν στις αντικειμενοφόρους πλάκες με γλυκερόλη(glycerol) και τοποθετήθηκαν σε διάταξη παράλληλων γραμμών των 3 σειρών ανά δέκα ριζίδια η σειρά. Κατόπιν καλύφθηκαν με επικαλυπτρίδα και τοποθετήθηκαν σε ειδικό φούρνο στους 35° C για 24 h όπου απομακρύνθηκε η υγρασία.



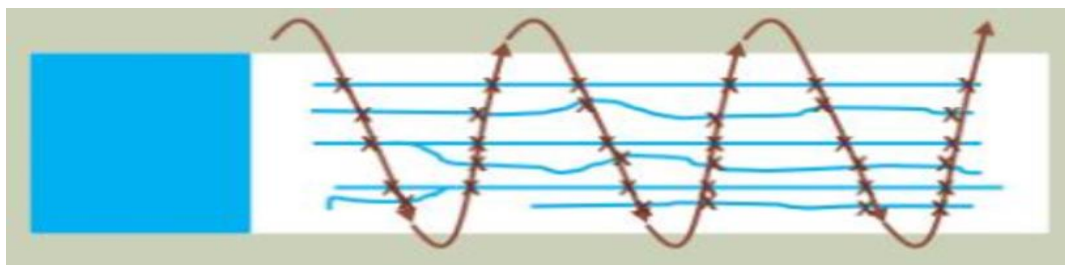
Εικόνα 2. Αντικειμενοφόρες πλάκες με ρίζες φυτών μετά από χρώση με trypan blue

2.8.3 Παρατήρηση αντικειμενοφόρων πλακών στο μικροσκόπιο

Δύο μέρες μετά την κατασκευή των αντικειμενοφόρων πλακών πραγματοποιήθηκε η παρατήρηση αυτών στο μικροσκόπιο ώστε να διερευνηθεί ο αποικισμός του ενδομυκορριζικού μύκητα *Rhizophagus irregularis* στις ρίζες των φυτών σέλιου.

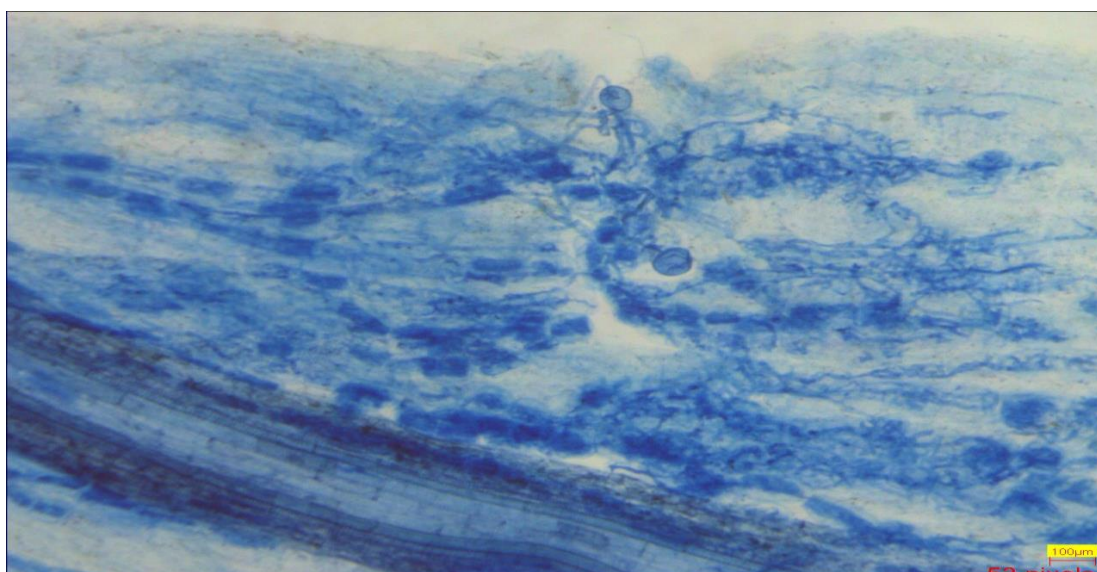
Διαδικασία

Οι αντικειμενοφόρες πλάκες τοποθετήθηκαν στο μικροσκόπιο και διερευνήθηκαν σύμφωνα με το πρωτόκολλο διερεύνησης καθώς ελέγχονταν από αριστερά προς τα κάτω και μετά από δεξιά προς τα πάνω έως ότου καλυφθεί όλη η επιφάνεια της αντικειμενοφόρου πλάκας (εικόνα 3).



Εικόνα 3. Σκαρίφημα σάρωσης της αντικειμενοφόρου πλάκας στο μικροσκόπιο.

Κατά την παρατήρηση χρησιμοποιήθηκαν και οι 3 φακοί του μικροσκοπίου (10X, 40X και ο ελαιοδυτικός 100X) και σημειώθηκε ο αποικισμός σε ειδικό χαρτί μέτρησης τύπου μιλιμετρέ όπου παρατηρούνταν (δενδρία-arbuscules, σπόρια-spores, υφές-hyphae, κύστες-vesicles).



Εικόνα 4. Αποικισμός τού ενδομυκορριζικού μύκητα *Rhizophagus irregularis* στη ρίζα του δείγματος 0+_3 μετά από χρήση του φακού 40X του μικροσκοπίου. Χρώση των υφών του μύκητα με μπλε χρώμα λόγω εφαρμογής του trypan blue.

2.9 Κονιορτοποίηση ριζών και φύλλων

Μέρος των ριζών και των φύλλων των 47 φυτών που συντηρήθηκαν στους -20 ° C στο ψυγείο τοποθετήθηκαν μετά από αρκετούς μήνες σε ξηραντήρα για 2 μέρες. Μετά την

πλήρη απομάκρυνση της υγρασίας ακολούθησε κονιορτοποίηση των αποξηραμένων φύλλων και έπειτα των ριζών με γουδί έως τον πλήρη θρυμματισμό τους και τοποθέτησή τους σε ξεχωριστό χάρτινο σακουλάκι. Τα σακουλάκια με τα δείγματα μεταφέρθηκαν στην Αθήνα, στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των ολικών ποσοτήτων των θρεπτικών στοιχείων K, Na, P σε ποσοστό % και Ca σε ppm στα φύλλα και τις ρίζες.

2.10 Προσδιορισμός ποσοτήτων των θρεπτικών στοιχείων K, Na, Ca, P (% ή ppm) στους φυτικούς ιστούς

Διαδικασία

Το κάθε δείγμα με βάρος 0,5 g τοποθετήθηκε σε πυρίμαχη κάψα πορσελάνης. Κατόπιν η κάψα τοποθετήθηκε στον φούρνο σε θερμοκρασία 550 °C για 3 ώρες έως ότου είχε ολοκληρωθεί η καύση και το δείγμα έχει μετατραπεί σε λευκόχροη τέφρα. Η παραλαβή της τέφρας έγινε με προσθήκη 5ml HNO₃ 65% και ακολούθησε ξέπλυμα της κάψας 3 φορές με απιονισμένο νερό. Στην συνέχεια το αιώρημα διηθήθηκε σε ογκομετρικές φιάλες των 100ml και ο όγκος συμπληρώθηκε με απιονισμένο νερό. Το διάλυμα που προέκυψε περιείχε όλα τα στοιχεία που έπρεπε να προσδιοριστούν, με την διαφορά ότι τα K, Na προσδιορίστηκαν στο φλογοφωτόμετρο, το Ca μετρήθηκε στην ατομική απορρόφησή σε φλόγα ακετυλενίου και υποξειδίου του αζώτου (N₂O) και ο P προσδιορίστηκε στο φασματοφωτόμετρο αφού είχε προηγηθεί ανάπτυξη χρώματος.

2.10.1 Ανάπτυξη χρώματος κατά Murphy-Riley

Σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL μεταφέρθηκαν 2 mL εκχυλίσματος και προστέθηκαν 10mL απιονισμένου νερού. Στην συνέχεια προστέθηκαν 4-5 σταγόνες του δείκτη νιτροφαινόλης και κατόπιν με προχοΐδα NaOH (1 M) έως ότου το διάλυμα απέκτησε κίτρινο χρώμα. Έπειτα προστέθηκαν 10 ml ασκορβικού οξέος και έγινε ανάδευση και συμπλήρωση του όγκο μέχρι την χαραγή με απιονισμένο νερό. Μετά από 20 λεπτά ηρεμίας αναπτύχθηκε μπλε χρώμα και έγινε μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο. Όσον αφορά τον μάρτυρα χρησιμοποιήθηκαν 10 ml απιονισμένου νερού, 10 ml ασκορβικού οξέος και ο όγκος συμπληρώθηκε μέχρι την χαραγή με απιονισμένο νερό.

2.10.2 Υπολογισμός των ποσοτήτων των θρεπτικών στοιχείων K, Na, P, Ca (% ή ppm) στους φυτικούς ιστούς

Για τον τελικό υπολογισμό των ποσοτήτων των θρεπτικών στοιχείων σε ποσοστό % στα φύλλα και στις ρίζες χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω τύποι:

$$P(\%) = \left(\frac{\text{μάρτυρας} - \text{ένδειξη}}{145,5} * \frac{\text{Τελικό V δείγματος (mL)}}{W \text{ δείγματος (g)}} \right) / 10.000$$

$$K, Na (\%) = (\text{ένδειξη φλογοφωτόμετρου} * \frac{\text{Τελικός V δείγματος (mL)}}{W \text{ δείγματος (g)}}) / 10.000$$

$$Ca (\text{ppm}) = (\text{ένδειξη ατ. απορρόφησης} * \text{αραίωση} * \frac{\text{Τελικός V δείγματος (mL)}}{W \text{ δείγματος (g)}})$$

2.11 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο Factorial ANOVA (ή Three-Way ANOVA) για τις μετρήσεις του ξηρού βάρους, της επιφάνειας και της ειδικής μάζας των φύλλων καθώς και για την μέτρηση της συγκέντρωσης των ολικών χλωροφυλλών. Οι 3 παράγοντες που εξετάστηκαν ήταν η AMF (παρουσία μυκορριζών), η MC-LR (συγκέντρωση μικροκυστινών), και η R (ανάκαμψη , recovery). Στην περίπτωση της μέτρησης του αποικισμού AMF % των ριζών πραγματοποιήθηκε Two-Way ANOVA με παράγοντες την MC-LR και R, όπως και στις μετρήσεις των ποσοτήτων θρεπτικών στοιχείων (K, Na, P σε ποσοστό % και Ca σε ppm) σε ρίζα και σε φύλλα, λόγω έλλειψης επαναλήψεων στις παρατηρήσεις που δεν έφεραν μυκόρριζα. Η σημαντικότητα των διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων ελέγχθηκε σε επίπεδο $p < 0.05$, ενώ το στατιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το JASP 0.14.0.0.

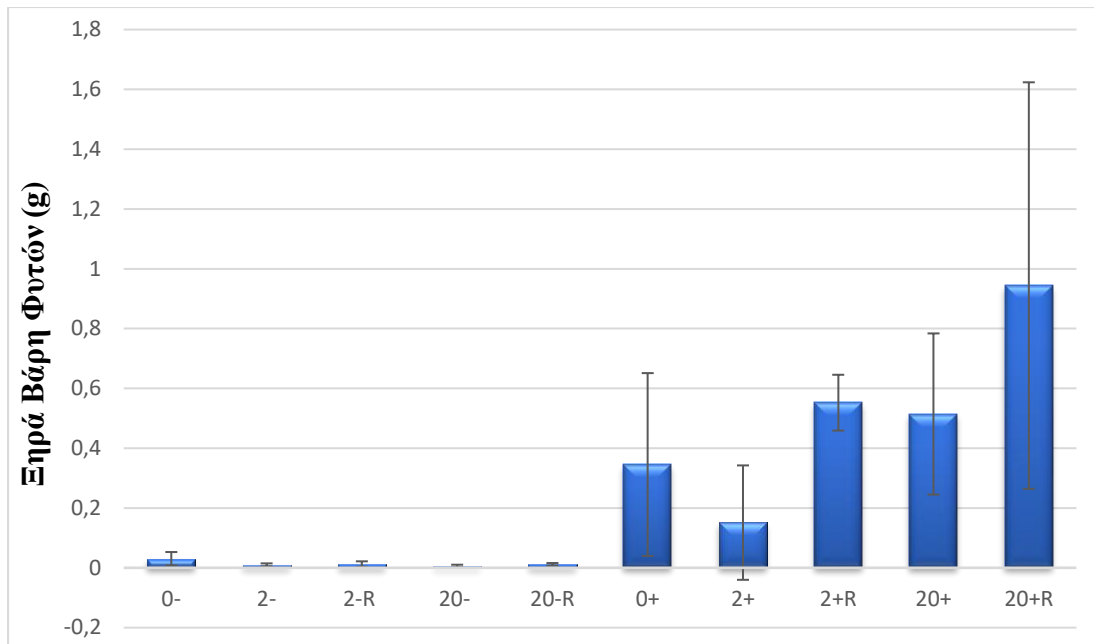
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ακολουθούν τα αποτελέσματα των μετρήσεων σχετικά με το ξηρό βάρος των φυτών, τις επιφάνειες και την ειδική μάζα των φύλλων, τη συγκέντρωση των ολικών χλωροφυλλών (a+b) στα φύλλα, τον αποικισμό της μυκόρριζας σε ποσοστό % στις ρίζες και τον προσδιορισμό των ολικών ποσοτήτων των θρεπτικών στοιχείων K, Na, P (σε ποσοστό %) και Ca (σε ppm) στη ρίζα και τα φύλλα των φυτών.

Πάνω από κάθε γράφημα βρίσκεται ένας πίνακας που υποδεικνύει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους, όπου ns (non-significant) αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές. Αναφέρεται δηλαδή: α) στην παρουσία μυκόρριζας, β) στα επίπεδα μικροκυστίνης (0μg/L, 2μg/L, 20μg/L), γ) στην ανάκαμψη των φυτών που αρδεύονταν με μικροκυστίνη και έπειτα με νερό, καθώς και στις αλληλεπιδράσεις των παραγόντων αυτών ανά δύο ή και των τριών μαζί. Στην περίπτωση των μετρήσεων του ποσοστού % του αποικισμού της μυκόρριζας και των θρεπτικών στοιχείων, ο πίνακας περιλαμβάνει μόνο τους παράγοντες της μικροκυστίνης, της περιόδου ανάκαμψης καθώς και την αλληλεπίδραση τους στις μεταχειρίσεις που ήταν παρούσα η μυκόρριζα.

3.1 Μορφολογικές μετρήσεις

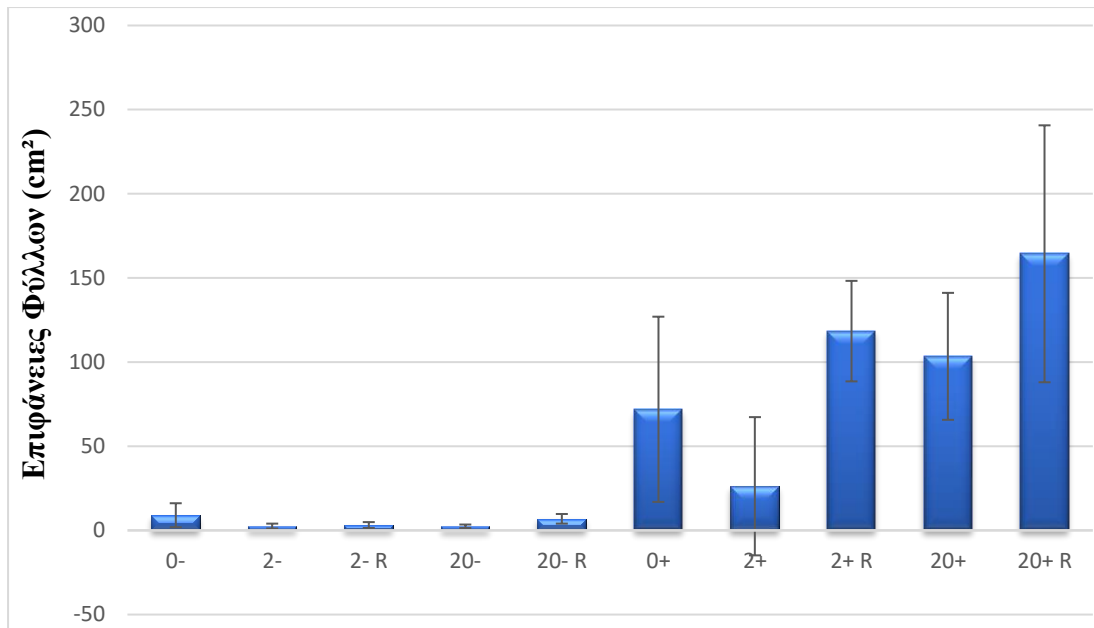
	Sig
AMF	< .001
MC-LR	ns
R	ns
AMF * MC LEVEL	ns
AMF * R	ns
MC-LR* R	ns
AMF * MC-LR* R	ns



Γράφημα 1. Ξηρό Βάρος Φυτών σε g εκφρασμένο ως M.O. \pm SD.Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικές σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 1 απεικονίζεται ο μέσος όρος του ξηρού βάρους των φυτών για κάθε μεταχείριση. Οι μεταχειρίσεις των φυτών, στις οποίες είναι παρούσα η μυκόρριζα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($p < 0.01$) από αυτές χωρίς μυκόρριζα, με αυτές που έχουν μυκόρριζα να παρουσιάζουν εμφανώς μεγαλύτερους μέσους όρους ξηρού βάρους. Η μεταχείριση 2+ έχει μία τάση για μείωση αλλά δεν παρουσιάζεται σημαντική διαφορά ως προς τον παράγοντα των μικροκυστινών. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα, οι υπόλοιποι παράγοντες και οι αλληλεπιδράσεις αυτών δεν συνέβαλαν στην εμφάνιση περεταίρω στατιστικά σημαντικών διαφορών σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

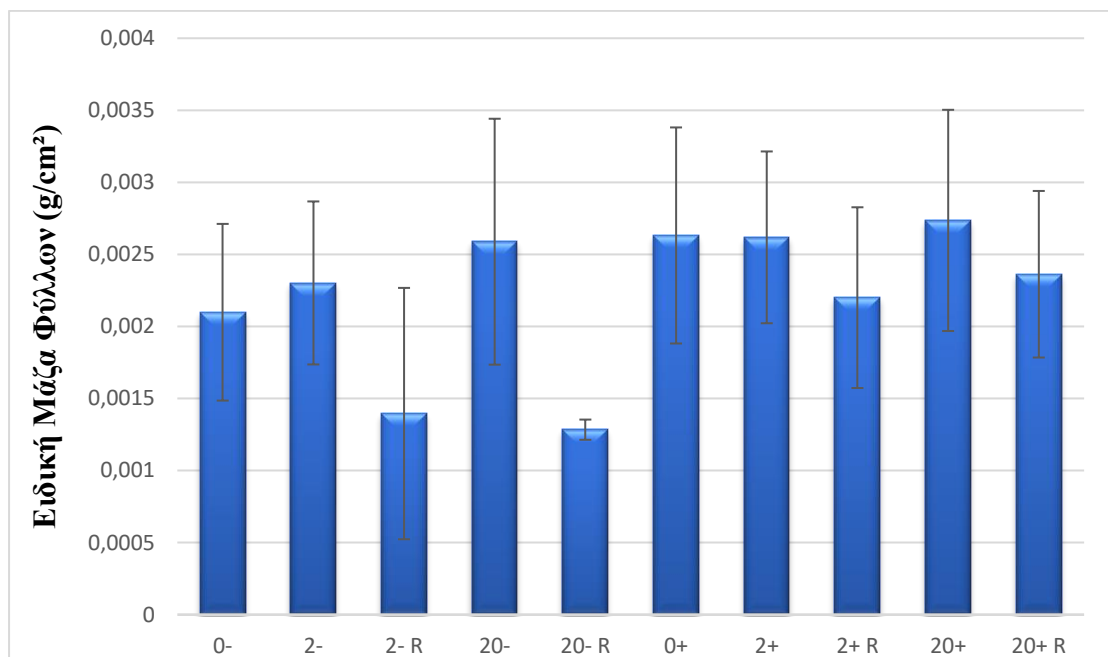
	Sig
AMF	< .001
MC-LR	0.007
R	0.001
AMF * MC-LR	0.010
AMF * R	ns
MC-LR * R	ns
AMF*MC-LR * R	ns



Γράφημα 2. Επιφάνειες Φύλλων σε cm² εκφρασμένο ως M.O. ± SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές (p<0.05) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 2 παρουσιάζεται ο μέσος όρος του αθροίσματος της επιφάνειας των φύλλων των φυτών για κάθε μεταχείριση. Όπως και στην περίπτωση του γραφήματος 1, έτσι και εδώ οι μεταχειρίσεις των φυτών με μυκόρριζα διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (p<0.05) από αυτές χωρίς μυκόρριζα, με αυτές που έχουν μυκόρριζα να έχουν εμφανώς μεγαλύτερους μέσους όρους επιφάνειας φύλλων. Επιπλέον παρουσιάζονται στατιστικώς σημαντικές διαφορές και μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς τις διαφορετικές συγκεντρώσεων των μικροκυστινών και μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς τον παράγοντα R. Οι μεταχειρίσεις 2+R και 20+R παρουσιάζονται να έχουν μεγαλύτερη επιφάνεια φύλλων από όλες τις μεταχειρίσεις, με την 20+R να φέρει την μεγαλύτερη τιμή. Ακόμα καταγράφηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων όσον αφορά την αλληλεπίδραση AMF*MC-LR (p<0.05). Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα, οι υπόλοιπες αλληλεπιδράσεις των παραγόντων δεν συνέβαλαν στην εμφάνιση περαιτέρω στατιστικά σημαντικών διαφορών σε επίπεδο σημαντικότητας p<0.05.

	Sig
AMF	0.012
MC LEVEL	ns
R	0.002
AMF * MC LEVEL	ns
AMF * R	ns
MC LEVEL * R	ns
AMF * MC LEVEL * R	ns

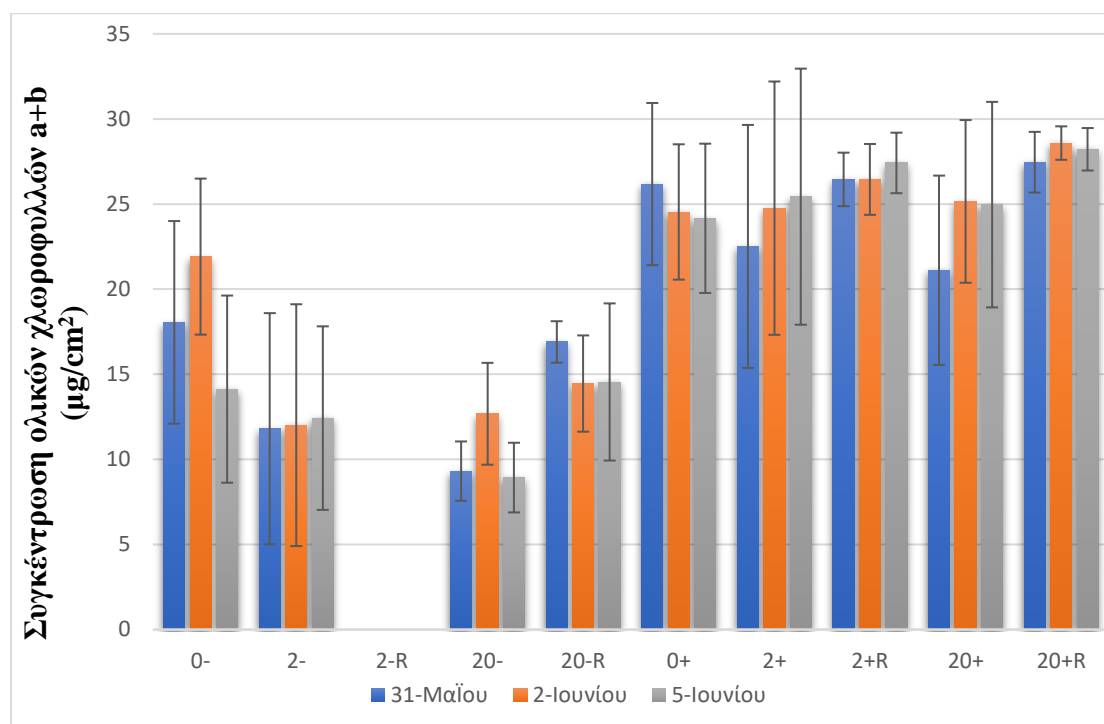


Γράφημα 3. Ειδική Μάζα Φύλλων σε g/cm^2 εκφρασμένο ως Μ.Ο. \pm SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 3 απεικονίζεται ο μέσος όρος της ειδικής μάζας των φύλλων για κάθε μεταχείριση. Στην περίπτωση αυτή, οι μεταχειρίσεις που έχουν μυκόρριζα διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($p < 0.05$) από αυτές που δεν έχουν μυκόρριζα. Οι μεταχειρίσεις που φέρουν μυκόρριζα έχουν κατά κύριο λόγο μεγαλύτερους μέσους όρους με μικρές όμως αποκλίσεις από τους μέσους όρους των μεταχειρίσεων χωρίς μυκόρριζα. Επιπλέον παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς τον παράγοντα R ($p < 0.05$). Οι R μεταχειρίσεις εμφανίζουν χαμηλότερες τιμές από τις υπόλοιπες και κυρίως οι 20-R και 2-R. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα, ο παράγοντας της μικροκυστίνης και οι αλληλεπιδράσεις των παραγόντων δεν συνέβαλαν στην εμφάνιση περεταίρω στατιστικά σημαντικών διαφορών σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

3.2 Μέτρηση συγκέντρωσης ολικών χλωροφυλλών (Chl a+b)

	Chla+b 31/5 Sig	Chla+b 02/06 Sig	Chla+b 05/06 Sig
AMF	< .001	< .001	< .001
MC-LR	ns	ns	ns
R	0.002	ns	ns
AMF * MC-LR	ns	ns	ns
AMF * R	ns	ns	ns
MC-LR * R	ns	ns	ns
AMF * MC-LR * R	ns	ns	ns



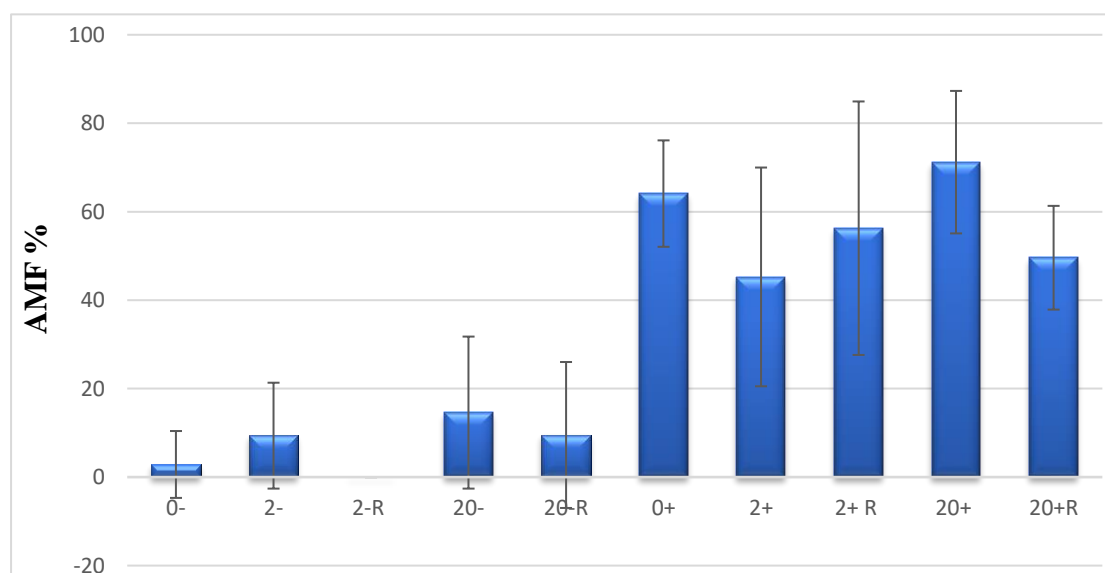
Γράφημα 4. Συγκέντρωση των ολικών χλωροφυλλών a+b σε $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ στις 31/05, 02/06, 05/06 εκφρασμένο ως M.O. \pm SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές, για κάθε μία από τις τρεις ημερομηνίες, που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non-significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 4 παρουσιάζεται ο μέσος όρος των ολικών χλωροφυλλών a+b για κάθε μεταχείριση στις 31/05, στις 02/06 και στις 05/06. Στις 31/05 εμφανίζεται στατιστικώς

σημαντική διαφορά ως προς τον παράγοντα της μυκόρριζας ($p < 0.001$) και ως προς τον παράγοντα R ($p < 0.05$), ενώ στις 02/06 και στις 05/06 σημαντική διαφορά ($p < 0.001$) παρουσιάζει μόνο ο παράγοντας της μυκόρριζας. Και στις τρεις ημερομηνίες είναι εμφανές ότι οι μέσοι όροι των μεταχειρίσεων με μυκόρριζα είναι αρκετά μεγαλύτεροι από αυτούς των μεταχειρίσεων χωρίς μυκόρριζα. Επιπλέον σχετικά με τις 31/05 που επιδρά στα αποτελέσματα και ο παράγοντας της επαναφοράς παρατηρείται ότι οι R μεταχειρίσεις είναι μεγαλύτερες από τις υπόλοιπες, κυρίως στην περίπτωση όπου είναι παρούσα η μυκόρριζα. Τέλος, σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα, οι υπόλοιποι παράγοντες και οι αλληλεπιδράσεις αυτών δεν συνέβαλαν στην εμφάνιση περεταίρω στατιστικά σημαντικών διαφορών σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$ για καμία από τις τρεις ημέρες της μέτρησης.

3.3 Μέτρηση αποικισμού του μυκορριζικού μύκητα στις ρίζες φυτών σέλινου

	Sig
MC-LR	ns
R	ns
MC-LR * R	ns

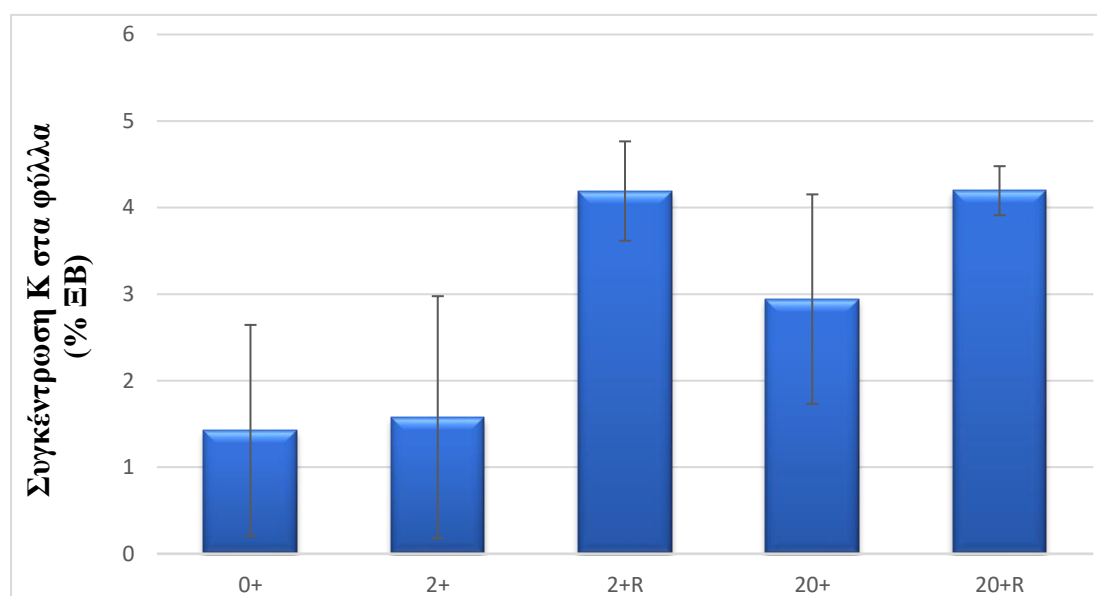


Γράφημα 5. Αποικισμός AMF σε ποσοστό % εκφρασμένο ως M.O. \pm SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 5 απεικονίζεται ο μέσος όρος του αποικισμού AMF σε ποσοστό % στις ρίζες των φυτών σέλινου για κάθε μεταχείριση. Στην περίπτωση των μεταχειρίσεων που δεν είχαν μυκόρριζα παρατηρήθηκε μια μικρή επιμόλυνση κυρίως στις μεταχειρίσεις 20-, 20-R, 2- και ελάχιστα στην 0-. Το μεγαλύτερο ποσοστό αποικισμού AMF παρουσιάστηκε στις μεταχειρίσεις 20+ και 0+ αλλά σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$

3.4 Μετρήσεις ποσοτήτων θρεπτικών στοιχείων K, Na, Ca, P (% ή ppm) στους φυτικούς ιστούς(φύλλα και ρίζες)

	Sig
MC-LR	ns
R	0.002
MC-LR * R	ns

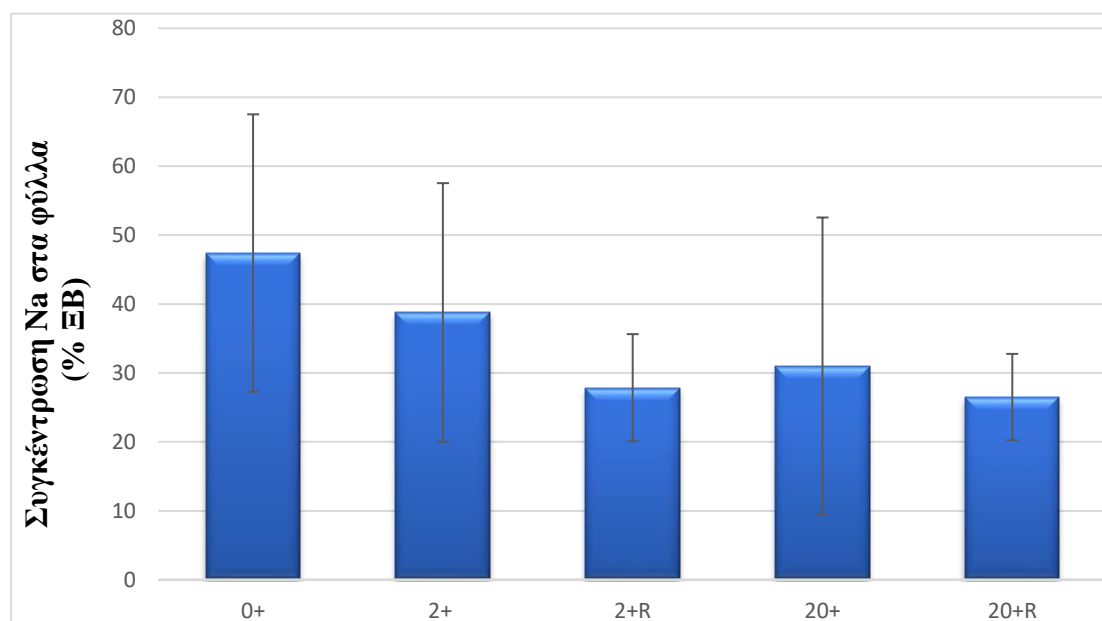


Γράφημα 6. Συγκέντρωση K στα φύλλα ως % ποσοστό του ξηρού τους βάρους (ΞΒ) (M.O. \pm SD). Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικές σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 6 παρουσιάζεται ο μέσος όρος του ποσοστού % του K στα φύλλα σε κάθε μια από τις πέντε μεταχειρίσεις. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα, υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς τον παράγοντα R ($p < 0.05$). Συγκεκριμένα οι R μεταχειρίσεις εμφανίζονται να έχουν

μεγαλύτερους μέσους όρους από τις υπόλοιπες. Ο παράγοντας των μικροκυστινών και η αλληλεπίδραση MC-LR*R δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

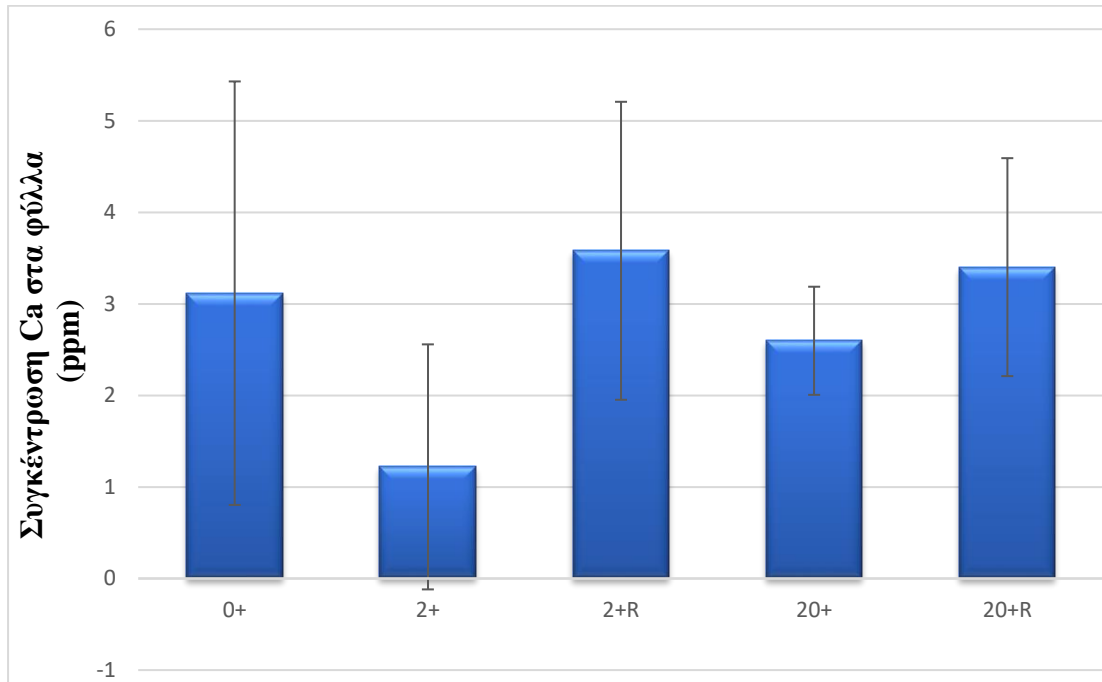
	Sig
MC-LR	ns
R	ns
MC-LR * R	ns



Γράφημα 7. Συγκέντρωση Na στα Φύλλα σε ποσοστό % επί του ξηρού βάρους εκφρασμένο ως M.O. \pm SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 7 εμφανίζεται ο μέσος όρος του ποσοστό % του Na στα φύλλα σε κάθε μία από τις πέντε μεταχειρίσεις. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

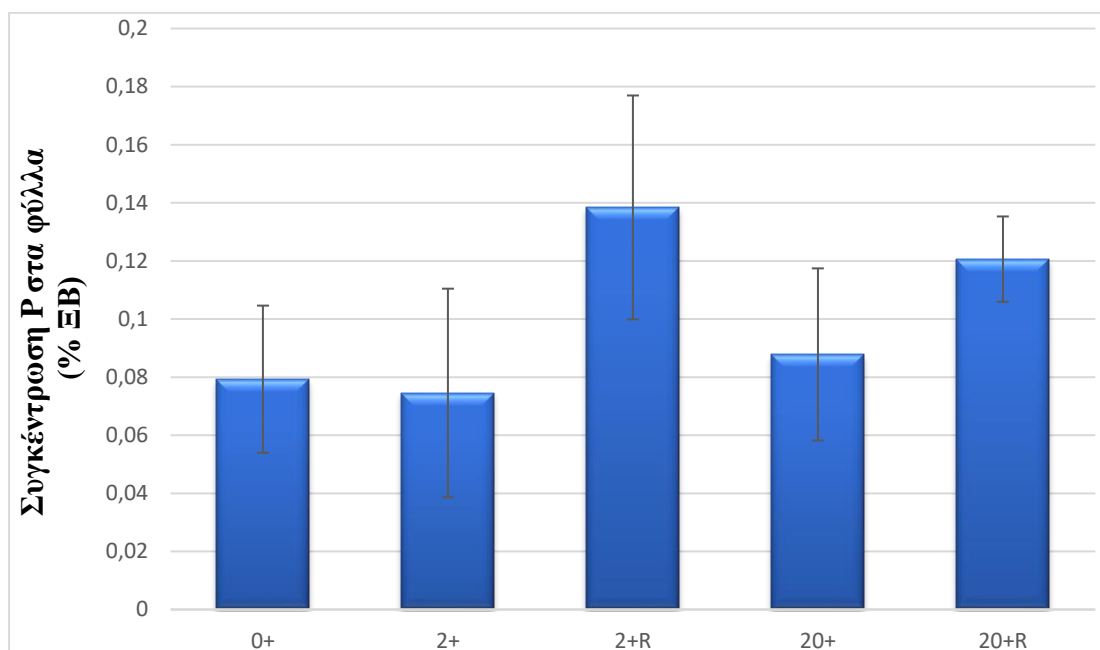
	Sig
MC-LR	ns
R	0.012
MC-LR * R	ns



Γράφημα 8. Συγκέντρωση Ca στα Φύλλα σε ppm εκφρασμένο ως M.O. \pm SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 8 παρουσιάζεται ο μέσος όρος του Ca σε ppm στα φύλλα για κάθε μια από τις πέντε μεταχειρίσεις. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα, υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς τον παράγοντα R ($p < 0.05$). Οι μεταχειρίσεις 2+R και 20+R εμφανίζουν μεγαλύτερους μέσους όρους από τις υπόλοιπες με την 2+R να έχει την μεγαλύτερη τιμή. Ο παράγοντας των μικροκυστινών και η αλληλεπίδραση MC level * R δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

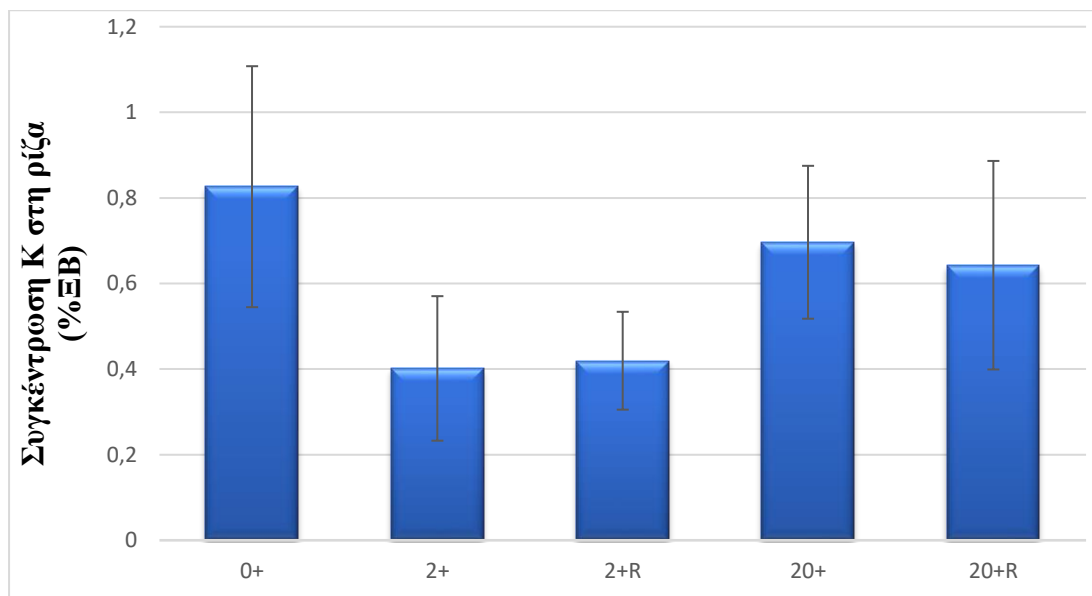
	Sig
MC-LR	ns
R	0.006
MC-LR * R	ns



Γράφημα 9. Συγκέντρωση P στα Φύλλα σε ppm εκφρασμένο ως M.O. \pm SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 9 παρουσιάζεται ο μέσος όρος του ποσοστού % του P στα φύλλα για κάθε μια από τις 5 μεταχειρίσεις. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα, υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς τον παράγοντα R ($p < 0.05$), με τις μεταχειρίσεις 2+R και 20+R να εμφανίζουν μεγαλύτερους μέσους όρους από τις υπόλοιπες και την 2+R να έχει την μεγαλύτερη τιμή. Ο παράγοντας των μικροκυστινών και η αλληλεπίδραση MC-LR*R δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

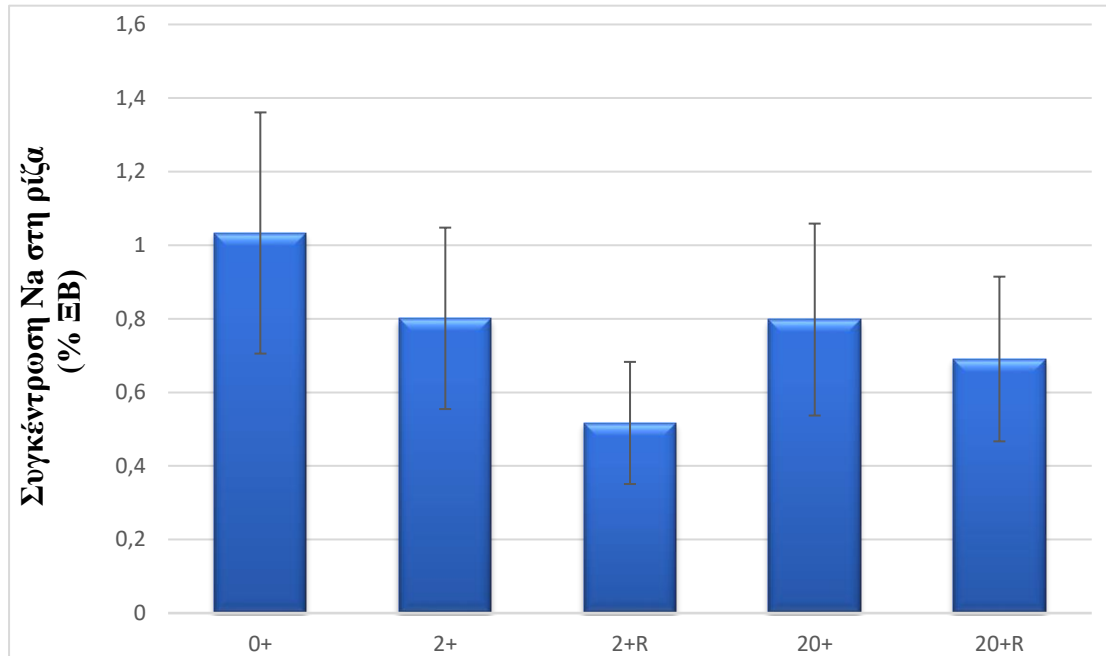
	Sig
MC-LR	0.016
R	ns
MC-LR * R	ns



Γράφημα 10. Συγκέντρωση Κ στη ρίζα σε ποσοστό % επί του ξηρού βάρους εκφρασμένο ως Μ.Ο. ± SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικές σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 10 απεικονίζεται ο μέσος όρος του ποσοστού % του Κ στη ρίζα για κάθε μια από τις 5 μεταχειρίσεις. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα, υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς τις διαφορετικές συγκεντρώσεις μικροκυστινών ($p < 0.05$) με την μεταχείριση 0+ να έχει μεγαλύτερο μέσο όρο από τις άλλες μεταχειρίσεις. Στην συνέχεια ακολουθούν οι μεταχειρίσεις 20+ και 20+R και τέλος οι μεταχειρίσεις 2+R, 2+ που έχουν τον μικρότερο μέσο όρο. Ο παράγοντας R και η αλληλεπίδραση MC-LR*R δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

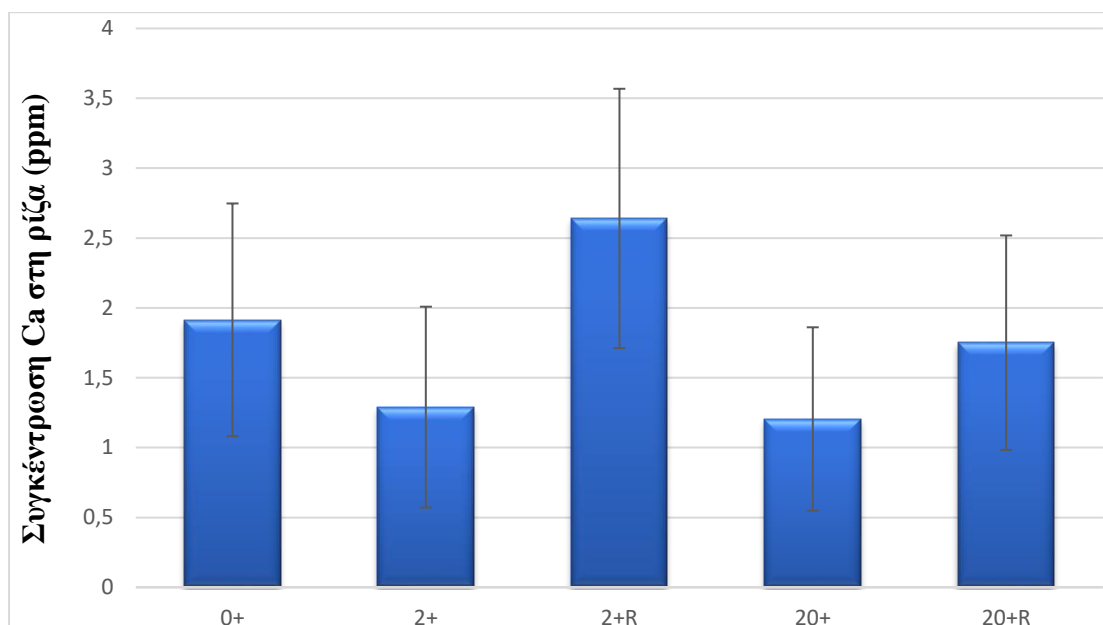
	Sig
MC-LR	ns
R	ns
MC-LR * R	ns



Γράφημα 11. Συγκέντρωση Na στη ρίζα σε ποσοστό % επί του ξηρού βάρους εκφρασμένο ως M.O. ± SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 11 παρουσιάζεται ο μέσος όρος του ποσοστού % του Na στη ρίζα για κάθε μια από τις 5 μεταχειρίσεις. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

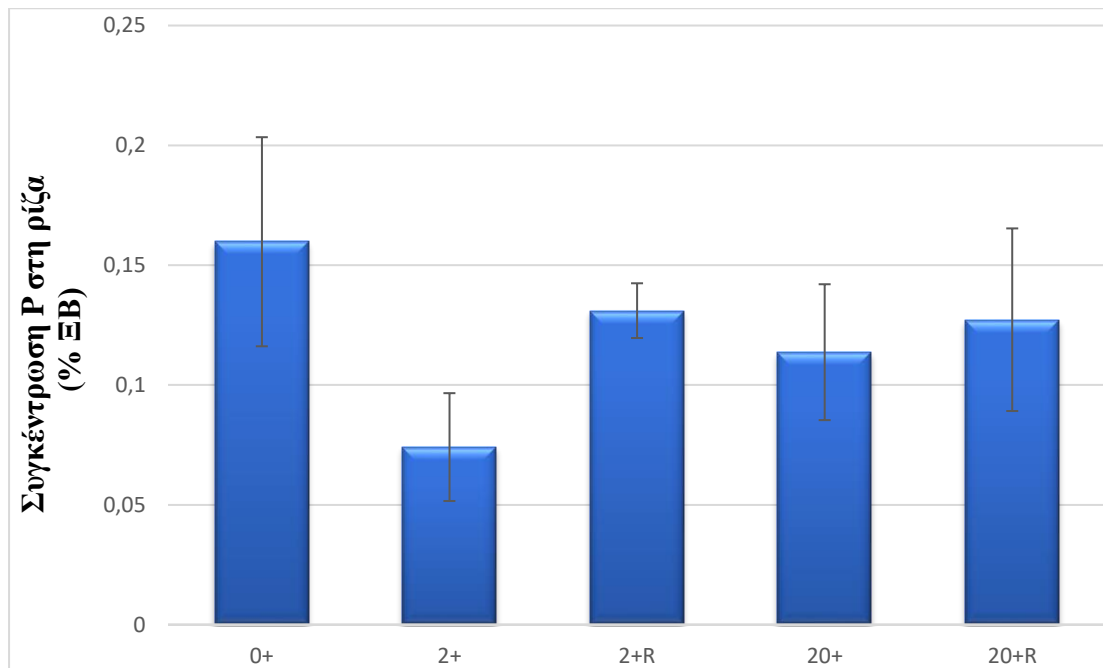
	Sig
MC-LR	ns
R	0.024
MC-LR * R	ns



Γράφημα 12. Συγκέντρωση Ca στη ρίζα σε ppm εκφρασμένο ως M.O. \pm SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 12 εμφανίζεται ο μέσος όρος σε ppm του Ca στην ρίζα για κάθε μία από τις 5 μεταχειρίσεις. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς τον παράγοντα R ($p < 0.05$), με την μεταχείριση 2+R να έχει τον μεγαλύτερο μέσο όρο. Ο παράγοντας των μικροκυστινών και η αλληλεπίδραση MC-LR*R δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

	Sig
MC-LR	ns
R	0.029
MC-LR * R	ns



Γράφημα 13. Συγκέντρωση P στη ρίζα σε ποσοστό % επί του ξηρού βάρους εκφρασμένο ως M.O. \pm SD. Ο πίνακας πάνω από το γράφημα καταγράφει τις στατιστικές σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) που προέκυψαν από τους διάφορους πειραματικούς παράγοντες, είτε μεμονωμένα είτε από τις αλληλεπιδράσεις τους (όπου ns, non significant αναφέρεται σε μη σημαντικές διαφορές).

Στο γράφημα 13 παρουσιάζεται ο μέσος όρος σε ποσοστό % στην ρίζα για κάθε μία από τις 5 μεταχειρίσεις. Σύμφωνα με την στήλη σημαντικότητας του πίνακα υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς τον παράγοντα R ($p < 0.05$), ενώ ο παράγοντας των μικροκυστινών και η αλληλεπίδραση MC-LR*R δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το πείραμα της παρούσας εργασίας διήρκησε σχεδόν 3 μήνες (16/03/2018-8/06/2018). Ξεκίνησε όταν φυτά σέλιου που βρίσκονταν στο στάδιο του σπόρου άρχισαν να ποτίζονται σε τρυβλία με νερό βρύσης (control), με νερό όπου είχαν διαλυθεί 2μg/L MC-LR και με νερό όπου είχαν διαλυθεί 20μg/L MC-LR. Αφότου έγινε η φύτευση των σπερμάτων και τα νεαρά φυτά απέκτησαν μέγεθος περίπου 1-2 cm πραγματοποιήθηκε η 1^η μεταφύτευση, όπου εντάχθηκε και ο παράγοντας AMF. Δημιουργήθηκαν έτσι 6 μεταχειρίσεις: 0-, 2-, 20-, 0+, 2+, 20+. Στην συνέχεια που τα φυτά απέκτησαν μεγαλύτερο μέγεθος ακολούθησε και η 2^η μεταφύτευση, όπου εντάχθηκε και ο παράγοντας της επαναφοράς (R, Recovery). Έτσι κάποια από τα φυτά που ποτίζονταν έως τότε με διαλύματα μικροκυστινών 2μg και 20μg/L συνέχισαν να ποτίζονται με νερό βρύσης. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα να προστεθούν άλλες 4 μεταχειρίσεις στο πείραμα και έτσι ο τελικός αριθμός ήταν 10: 0-, 2-, 2-R, 20-, 20-R, 0+, 2+, 2+R, 20+, 20+R.

Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει στην διεθνή βιβλιογραφία κάποιο πείραμα που να εξετάζει αυτές τις παραμέτρους κατά τον τρόπο που εξετάζεται στην παρούσα εργασία. Μια παρόμοια προσέγγιση της ταυτόχρονης επίδρασης της AMF και της MC-LR έχει αναφερθεί στην πτυχιακή εργασία του Παπαδημητρίου (2018).

Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα φυτά σέλιου. Συγκεκριμένα τα αποτελέσματα αυτά αφορούν την επίδραση των πειραματικών παραγόντων και των αλληλεπιδράσεων στα μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά, στο ποσοστό του αποικισμού % AMF στις ρίζες αλλά και στις ποσότητες των θρεπτικών στοιχείων K, Na, Ca, P στα φύλλα και στις ρίζες φυτών σέλιου.

4.1 Επίδραση των πειραματικών παραγόντων και των αλληλεπιδράσεων στα αναπτυξιακά χαρακτηριστικά του σέλιου

Στις μετρήσεις που αφορούν την ανάπτυξη του φυτού (Ξηρό βάρος, Επιφάνειες φύλλων, Ειδική μάζα φύλλων), παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στις μεταχειρίσεις της μυκόρριζας, την οποία επιβεβαίωσε η στατιστική ανάλυση. Το αποτέλεσμα αυτό

επιβεβαιώνεται από τον ο Dighton (2009), σύμφωνα με τον οποίο το βασικότερο αποτέλεσμα της συμβιωτικής σχέσης μεταξύ των φυτών και των μυκορριζικών μυκήτων είναι η αύξηση και η ανάπτυξη των φυτών. Πιο αναλυτικά τα αποτελέσματα για την κάθε μέτρηση παρουσιάζονται παρακάτω.

Στην μέτρηση του ξηρού βάρους διαφορά στα αποτελέσματα προκάλεσε μόνο ο παράγοντας της μυκόρριζας προκαλώντας σημαντική αύξηση στις +AMF μεταχειρίσεις. Οι μικροκυστίνες δεν επηρέασαν σημαντικά τα αποτελέσματα, αντίθετα από την μελέτη των El Khalloufi et al. (2013) όπου οι μικροκυστίνες προκάλεσαν μείωση στο ξηρό βάρος φυτών μηδικής (*Medicago sativa*) κυρίως στις υψηλότερες συγκεντρώσεις (10 και 20 $\mu\text{g/L}$).

Στην μέτρηση της επιφάνειας των φύλλων τα αποτελέσματα ήταν πιο σύνθετα από τις υπόλοιπες μετρήσεις, καθώς σημαντική ήταν η επίδραση και των τριών παραγόντων (AMF, MC-LR, R), αλλά και της αλληλεπίδρασης AMF*MC-LR. Πιο αναλυτικά η μυκόρριζα προκάλεσε αύξηση της επιφάνειας των φύλλων όπως και ο παράγοντας της επαναφοράς. Σε αντίθεση με την μέτρηση της ειδικής μάζας που ακολουθεί, οι R μεταχειρίσεις παρουσίασαν τις μεγαλύτερες επιφάνειες φύλλων και κυρίως στην υψηλότερη συγκέντρωση (20 $\mu\text{g/L}$). Οι μικροκυστίνες αν και είχαν σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα της μέτρησης, αυτή μπορεί να ερμηνευτεί καλύτερα μέσω της αλληλεπίδραση με AMF. Στο πείραμα των Levizou et al. (2017) οι μικροκυστίνες δεν επηρέασαν σημαντικά την επιφάνεια φύλλων μαρουλιού έπειτα από άρδευση με νερό από την λίμνη Κάρλα (1,5-33 $\mu\text{g/L}$ MC), σε κανένα από τα τέσσερα αναπτυξιακά στάδια του φυτού, αν και εμφανίστηκε μια τάση για αύξησή. Στην αλληλεπίδραση (AMF*MC-LR) παρατηρείται σημαντική αύξηση της επιφάνειας των φύλλων στην περίπτωση απουσίας της μυκόρριζας όταν δεν επιδρούν οι μικροκυστίνες (0-) και στην περίπτωση παρουσίας μυκόρριζας όταν επιδρούν οι μικροκυστίνες στην υψηλότερη συγκέντρωση (20+). Επομένως σε αυτή την μέτρηση όταν απουσιάζει η μυκόρριζα, οι μικροκυστίνες έχουν αρνητική επίδραση στα φυτά ειδικά στην υψηλότερη συγκέντρωση, ενώ όταν είναι παρούσα η μυκόρριζα τα αποτελέσματα είναι ακριβώς τα αντίθετα.

Στην μέτρηση της ειδικής μάζας των φύλλων η στατιστική ανάλυση υπέδειξε πως εκτός από τον παράγοντα AMF σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα είχε και ο

παράγοντας της επαναφοράς. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκαν μειωμένες τιμές στις R μεταχειρίσεις και έτσι συμπεραίνεται ότι η αλλαγή της άρδευσης από διάλυμα μικροκυστινών σε νερό είχε αρνητική επίπτωση στην ειδική μάζα των φύλλων. Οι μικροκυστίνες δεν είχαν καμία επίδραση στην μέτρηση αυτή όπως στην μελέτη των Levizou et al. (2017) όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

4.2 Επίδραση των πειραματικών παραγόντων και των αλληλεπιδράσεων στα βιοχημικά χαρακτηριστικά του σέλινου

Στην περίπτωση της μέτρησης της συγκέντρωσης των ολικών χλωροφυλλών που καταγράφηκαν για τρεις διαφορετικές ημερομηνίες, η στατιστική ανάλυση υπέδειξε σημαντική διαφορά ως προς τον παράγοντα της μυκόρριζας και στις τρεις ημερομηνίες. Πιο αναλυτικά οι μεταχειρίσεις της μυκόρριζας εμφανίζονται με περισσότερες χλωροφύλλες σε σχέση με τις μεταχειρίσεις χωρίς μυκόρριζα. Σύμφωνα με το πόρισμα αυτό είναι και οι Dhalaria et al. (2020), οι οποίοι αναφέρουν ότι ο εμβολιασμός των φυτών με AMF αυξάνει την περιεκτικότητα του φυτού σε χλωροφύλλες και κυρίως σε χλωροφύλλη a που είναι υπεύθυνη για την φωτοσύνθεση των φυτών ξενιστών. Οι Abd-Allah et al. (2015) επίσης εξηγούν ότι η AMF προκαλεί την αύξηση βιοσύνθεσης της χλωροφύλλης μέσω της αύξησης της σύνθεσης πρωτεϊνών. Αυτό έχει άμεση επίδραση στην πρόσληψη απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων όπως Mg και Fe που είναι απαραίτητα για τον σχηματισμό του μορίου της χλωροφύλλης. Επιπλέον σημαντική διαφορά υπέδειξε και ο παράγοντας της επαναφοράς μόνο στις 31/05 όπου χλωροφύλλες στις R μεταχειρίσεις εμφανίζονται αυξημένες κυρίως όταν είναι παρούσα η μυκόρριζα. Ο παράγοντας MC-LR δεν επηρέασε τα αποτελέσματα σχετικά με την ποσότητα των χλωροφυλλών κάτι που δεν συμβαδίζει με την μελέτη των Lahrouni et al. (2013). Σύμφωνα με την μελέτη αυτή η ποσότητα της χλωροφύλλης a+b μειώθηκε σημαντικά σε φυτά μηδικής (*Medicago sativa*) μετά από άρδυσή τους με διαλύματα μικροκυστινών 100μg/L για ένα μήνα. Παρόμοια αποτελέσματα είχαν και οι El Khalloufi et al. (2013) πάλι σε φυτά μηδικής, όπου οι χλωροφύλλες μειώθηκαν μετά από έκθεση των φυτών σε διαλύματα μικροκυστινών συγκέντρωσης 5, 10 και 20μg/L. Μεγαλύτερη ωστόσο ήταν η μείωση στην περίπτωση των μεγαλύτερων συγκεντρώσεων (10 και 20μg/L).

4.3 Επίδραση των μικροκυστινών και του παράγοντα επαναφοράς στον αποικισμό AMF(%) στις ρίζες φυτών σέλιου

Σχετικά με την μέτρηση του αποικισμού της μυκόρριζας σε ποσοστό % στις ρίζες του σέλιου, η στατιστική ανάλυση δεν έδειξε καμία σημαντική διαφορά στα αποτελέσματα και επομένως οι διαφορετικές συγκεντρώσεις των μικροκυστινών και ο παράγοντας της επαναφοράς δεν φάνηκε να επηρεάζουν το ποσοστό του αποικισμού. Από τα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι η ικανότητα του μυκορριζικού μύκητα να επιμολύνει τις ρίζες των φυτών δεν αναχαιτίζεται, ούτε ενισχύεται από την παρουσία μικροκυστινών ειδικά στις συγκεντρώσεις 2 και 20 μg/L που εξετάστηκαν. Επιπλέον αξίζει να αναφερθεί ότι σημειώθηκε μια μικρή επιμόλυνση των μεταχειρίσεων χωρίς μυκόρριζα και συγκεκριμένα των 20-, 20- R και 2-, το οποίο μπορεί να επηρεάσει μερικώς την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των μεταχειρίσεων που δεν είχαν μυκόρριζα.

4.4 Επίδραση των μικροκυστινών και του παράγοντα επαναφοράς στις ποσότητες των θρεπτικών στοιχείων K, Na, Ca, P στους φυτικούς ιστούς του σέλιου

Σχετικά με τις μετρήσεις των ολικών ποσοτήτων των θρεπτικών στοιχείων K, Na, Ca, P στα φύλλα και στις ρίζες των φυτών σέλιου, φάνηκε από την στατιστική ανάλυση ότι σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των μεταχειρίσεων κυρίως ως προς τον παράγοντα R τόσο στα φύλλα όσο και στις ρίζες παρά ως προς τον παράγοντα MC-LR. Αυτό κυρίως παρατηρήθηκε στην περίπτωση της μέτρησης του Ca και του P, ενώ το Na δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές ως προς κανέναν παράγοντα. Ιδιαίτερη περίπτωση αποτέλεσε το K όπου τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης υπέδειξαν σημαντική διαφορά ως προς τον παράγοντα R στα φύλλα και ως προς τον παράγοντα MC-LR στις ρίζες. Παρακάτω αναφέρονται αναλυτικά τα αποτελέσματα για κάθε θρεπτικό στοιχείο.

Κάλιο

Σχετικά με την ποσότητα του K στα φύλλα αποδείχθηκε από την στατιστική ανάλυση ότι υπάρχει σημαντική διαφορά ως προς τον παράγοντα R. Στο γράφημα 6 φαίνεται πως οι R μεταχειρίσεις υπερέχουν ποσοτικά από τις άλλες, γεγονός που οδηγεί στο

συμπέρασμα ότι αυτή η επαναφορά των φυτών που άλλοτε αρδεύονταν με διαλύματα μικροκυστινών, είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση των ποσοτήτων K στα φύλλα. Επομένως οι μικροκυστίνες δεν είχαν κάποια σημαντική επιρροή στο ποσοστό του K στα φύλλα, σε αντίθεση με την μελέτη των Llana-Ruiz-Cabello et al. (2019) όπου οι ποσότητες K βρέθηκαν μειωμένες σε φύλλα σπανακιού μετά από έκθεση των φυτών σε 10 και 50 $\mu\text{g/L}$ MC κυρίως στην περίπτωση της υψηλότερης δόσης MC (50 $\mu\text{g/L}$).

Η αρνητική επίδραση των μικροκυστινών σχετικά με το ποσοστό του K εμφανίστηκε στην περιοχή της ρίζας, όπου παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά ως προς τις διαφορετικές συγκεντρώσεις. Στην περίπτωση αυτή σύμφωνα με το γράφημα 10 επιβλαβέστερη εμφανίζεται η χαμηλότερη συγκέντρωση, των 2 $\mu\text{g/L}$ MC-LR όπου το K βρίσκεται σε πολύ χαμηλό ποσοστό, ενώ λιγότερο δυσμενής είναι η επίδραση των μικροκυστινών στην υψηλότερη συγκέντρωση των 20 $\mu\text{g/L}$. Το υψηλότερο ποσοστό σημειώνεται όταν δεν υπάρχουν μικροκυστίνες (μάρτυρας). Αυτό υποδεικνύει ότι οι χαμηλές συγκεντρώσεις μικροκυστινών πιθανόν να παρεμποδίζουν την πρόσληψη του K στην ρίζα πολύ περισσότερο από υψηλότερες συγκεντρώσεις και ότι γενικά η παρουσία μικροκυστινών έχει σαν αποτέλεσμα την μειωμένη ποσότητα του K στην ρίζα. Αντίθετα αποτελέσματα είχαν οι Machado et al. (2016), σε πείραμα φυτών καρότου. Τα καρότα που αρδεύονταν με μικροκυστίνες συγκέντρωσης 10 $\mu\text{g/L}$ και 50 $\mu\text{g/L}$ για 28 μέρες εμφάνισαν μεγαλύτερο ποσοστό K στην ρίζα σε σχέση με τους μάρτυρες και συγκεκριμένα μεγαλύτερο ποσοστό σημείωσαν φυτά που αρδεύονταν με την μεγαλύτερη συγκέντρωση μικροκυστίνης (50 $\mu\text{g/L}$).

Νάτριο

Το Na δεν παρουσίασε καμία διαφορά στα αποτελέσματα ως προς την επίδραση των μικροκυστινών και του παράγοντα επαναφοράς σχετικά με το ποσοστό συσσώρευσης του στα φύλλα και την ρίζα των φυτών. Κατά παρόμοιο τρόπο, στην μελέτη των Freitas et al. (2015), το Na ήταν το μόνο στοιχείο το οποίο δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την επίδραση των μικροκυστινών τριών διαφορετικών συγκεντρώσεις 1, 10 και 100 $\mu\text{g/L}$ σε φύλλα μαρουλιού 10 μέρες μετά την έναρξη του πειράματος. Διαφορετικά ήτα τα αποτελέσματα των Lahrouni et al. (2013) όπου το ποσοστό του Na αυξήθηκε 5-10% τόσο στον βλαστό όσο και στα φύλλα φυτών φασολιού μετά από επίδραση μικροκυστινών συγκέντρωσης 50 και 100 $\mu\text{g/L}$.

Ασβέστιο

Το Ca παρουσίασε παρόμοια αποτελέσματα στα φύλλα και τις ρίζες όπου σημαντική διαφορά στατιστικά προκάλεσε ο παράγοντας της επαναφοράς. Στα φύλλα μεγαλύτερες ποσότητες Ca φαίνεται να έχουν οι R μεταχειρίσεις και πιο συγκεκριμένα λίγο περισσότερο αυτή με την μικρότερη συγκέντρωση (2 μg/L). Έτσι οι μεταχειρίσεις που αρχικά αρδεύονταν με διάλυμα μικροκυστινών και κατόπιν με νερό εμφάνισαν μεγαλύτερη ποσότητα Ca στα φύλλα τους από ότι αν αρδεύονταν εξαρχής με νερό ή αποκλειστικά με διάλυμα μικροκυστινών. Ωστόσο ο παράγοντας των μικροκυστινών δεν είχε κάποια σημαντική επίδραση στο ποσοστό του Ca στα φύλλα αντίθετα από την μελέτη των Freitas et al. (2015), όπου το Ca ήταν από τα πρώτα στοιχεία που παρουσίασαν σημαντική μείωση στα φύλλα του μαρουλιού από τις πρώτες 5 μέρες έκθεσης των φυτών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις μικροκυστινών (1, 10 και 100 μg/L). Παρόμοια εικόνα εμφανίζεται και στις ρίζες των φυτών με την μεταχείριση 2+R να συγκεντρώνει την μεγαλύτερη ποσότητα, ενώ ο παράγοντας των μικροκυστινών και πάλι δεν επηρέασε σημαντικά τα αποτελέσματα. Οι Saqrane et al. (2009) από την άλλη αναφέρουν ότι μετά από έκθεση διάφορων καλλιεργούμενων φυτών (*Triticum durum*, *Zea mays*, *Pisum sativum*, *Lens esculentus*) σε MC 0,5-4,2 μg/l για 30 μέρες, η ποσότητα του Ca αυξήθηκε σημαντικά στην ρίζα, περισσότερα και από τα υπόλοιπα στοιχεία που εξετάστηκαν στην υψηλότερη συγκέντρωση μικροκυστίνης.

Φώσφορος

Ο P παρουσίασε παρόμοια αποτελέσματα στα φύλλα και τις ρίζες όπου σημαντική διαφορά στατιστικά προκάλεσε ο παράγοντας της επαναφοράς. Συγκεκριμένα στα φύλλα μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισαν οι R μεταχειρίσεις, με μεγαλύτερη την 2+R. Φαίνεται ότι όπως στην περίπτωση του Ca, οι μεταχειρίσεις που αρχικά αρδεύονταν με διάλυμα μικροκυστινών και κατόπιν με νερό εμφάνισαν μεγαλύτερη ποσότητα P στα φύλλα τους από ότι αν αρδεύονταν εξαρχής με νερό ή αποκλειστικά με διάλυμα μικροκυστινών. Στη ρίζα μεγαλύτερο ποσοστό P εμφάνισε η μεταχείριση 0+ που δεν δέχτηκε την επίδραση των μικροκυστινών κατά την άρδευση, ενώ ακολουθούν οι μεταχειρίσεις 2+R, 20+R με επίσης υψηλές τιμές σε σχέση με τις άλλες μεταχειρίσεις. Ο παράγοντας της μικροκυστίνης δεν επηρέασε τα αποτελέσματα σε αντίθεση με τους Freitas et al. (2015), όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, όπου η ποσότητα του P στα

φύλλα του μαρουλιού μειώθηκε σημαντικά μετά από έκθεση των φυτών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις μικροκυστινών (1, 10 και 100 $\mu\text{g/L}$) και κυρίως στην υψηλότερη δόση και χρόνο (10 μέρες). Σύμφωνα με τους Machado et al. (2017) ο P αυξήθηκε σημαντικά στις ρίζες καρότου μετά από έκθεση σε μικροκυστίνες 10 και 50 $\mu\text{g/L}$ κυρίως όμως στην υψηλότερη συγκέντρωση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Οι μυκόρριζες επηρεάζουν θετικά την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών σέλινου
- Οι R μεταχειρίσεις, που αρδεύονταν δηλαδή αρχικά με διαλύματα μικροκυστινών και κατόπιν με νερό, εμφάνισαν αυξημένη επιφάνεια φύλλων και μειωμένη ειδική μάζα.
- Η απουσία AMF σε συνδυασμό με επίδραση MC-LR στα φυτά σέλινου, είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση της επιφάνειας των φύλλων κυρίως στην συγκέντρωση των 20 $\mu\text{g/L}$
- Η παρουσία AMF σε συνδυασμό με επίδραση MC-LR στα φυτά σέλινου είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της επιφάνειας των φύλλων κυρίως στην συγκέντρωση των 20 $\mu\text{g/L}$
- Το ποσοστό του αποικισμού AMF στις ρίζες των φυτών σέλινου δεν επηρεάστηκε από την έκθεση των φυτών σε MC-LR σε καμία από τις δύο συγκεντρώσεις, ούτε από τον παράγοντα R
- Η παρουσία της μυκόρριζας είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση των ολικών χλωροφυλλών στα φυτά σέλινου, όπως και ο παράγοντας R την πρώτη μέρα της μέτρησης (31/05)
- Οι μικροκυστίνες δεν προκάλεσαν αλλαγές στην χημική σύσταση και επομένως στην θρεπτική αξία του εδάδιμου μέρους του φυτού (φύλλα).
- Ο παράγοντας R προκάλεσε αύξηση της ποσότητας των θρεπτικών στοιχείων K, Ca, P, στην ρίζα και στα φύλλα κυρίως στην χαμηλότερη συγκέντρωση μικροκυστίνης (2 $\mu\text{g/L}$).
- Ο παράγοντας MC-LR επηρέασε σημαντικά μόνο τα επίπεδα του K στη ρίζα προκαλώντας την μείωσή του κυρίως στην χαμηλότερη συγκέντρωση (2 $\mu\text{g/L}$).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη Βιβλιογραφία

1. Abd_Allah, E. F., Abeer, H., Alqarawi, A. A., & Alwathnani Hend, A. (2015). Alleviation of adverse impact of cadmium stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. *Pakistan Journal of Botany*, 47, 785–795.
2. Amballa, H., & Bhumi, N. R. (2016). Significance of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizosphere Microflora in Plant Growth and Nutrition. *Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture*, 417–452
3. Barman, J., Samanta, A., Saha, B., & Datta, S. (2016). Mycorrhiza: The oldest association between plant and fungi. *Resonance*, 21(12), 1093–1104.
4. Bavithra, G., Azevedo, J., Oliveira, F., Morais, J., Pinto, E., Ferreira, I. M. P. L. V. O., ... Almeida, C. M. R. (2020). Assessment of constructed wetlands' potential for the removal of cyanobacteria and microcystins (MC-LR). *Water* (Switzerland).
5. Berman-Frank, I., Quigg, A., Finkel, Z. V., Irwin, A. J., & Haramaty, L. (2007). Nitrogen-fixation strategies and Fe requirements in cyanobacteria. *Limnology and Oceanography*, 52, 2260–2269.
6. Buratti, F. M., Manganelli, M., Vichi, S., Stefanelli, M., Scardala, S., Testai, E., & Funari, E. (2017). Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Archives of Toxicology*.
7. Cairney, J. W. G. (2000). Evolution of mycorrhiza systems. *Naturwissenschaften*, 87, 467–475.
8. Carmichael, W. W. (1997). The Cyanotoxins. *Advances in Botanical Research*, 27, 211–256.
9. Chorus, I., Bartram, J. (1999). Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring, and management. Ed. Chorus and Bartram. World Health Organization.

10. Colpaert, J. V. (2008). Chapter 11 Heavy metal pollution and genetic adaptations in ectomycorrhizal fungi. *British Mycological Society Symposia Series*, 157–173.
11. Corbel, S., Mougín, C., & Bouaïcha, N. (2013). Cyanobacterial toxins: Modes of actions, fate in aquatic and soil ecosystems, phytotoxicity and bioaccumulation in agricultural crops. *Chemosphere*, 1–15.
12. Dawson, R. (1998). The toxicology of microcystins. *Toxicon*, 36, 953–962.
13. Dhalaria, R., Kumar, D., Kumar, H., Nepovimova, E., Kuča, K., Torequl Islam, M., & Verma, R. (2020). Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Potential Agents in Ameliorating Heavy Metal Stress in Plants. *Agronomy*, 10, 815.
14. Dighton, J. (2009). Mycorrhizae. In *Encyclopedia of Microbiology*, 153–162. Elsevier Inc.
15. El Khalloufi, F., Oufdou, K., Lahrouni, M., Faghire, M., Peix, A., Ramírez-Bahena, M. H., ... Oudra, B. (2013). Physiological and antioxidant responses of *Medicago sativa*-rhizobia symbiosis to cyanobacterial toxins (Microcystins) exposure. *Toxicon*, 76, 167–177.
16. Ettoumi, A., El Khalloufi, F. E., El Ghazali, I. E., Oudra, B., Amrani, A., Nasri, H., & Bouaïcha, N. (2011). Bioaccumulation of cyanobacterial toxins in aquatic organisms and its consequences for public health. In *Zooplankton and Phytoplankton: Types, Characteristics and Ecology*, 1–33.
17. Finlay, R. D. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: With special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. In *Journal of Experimental Botany*, 1115–1126.
18. Freitas, M., Azevedo, J., Pinto, E., Neves, J., Campos, A., & Vasconcelos, V. (2015). Effects of microcystin-LR, cylindrospermopsin and a microcystin-LR/cylindrospermopsin mixture on growth, oxidative stress and mineral content in lettuce plants (*Lactuca sativa* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59–67.
19. Giovannetti, M., Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489–500.

20. Kumar, K., Mella-Herrera, R. A., & Golden, J. W. (2010). Cyanobacterial heterocysts. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2.
21. Lahrouni, M., Oufdou, K., El Khalloufi, F., Baz, M., Lafuente, A., Dary, M., ... Oudra, B. (2013). Physiological and biochemical defense reactions of *Vicia faba* L.-Rhizobium symbiosis face to chronic exposure to cyanobacterial bloom extract containing microcystins. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 5405–5415.
22. Levizou, E., Statoris, G., Papadimitriou, T., Laspidou, C. S., & Kormas, K. A. (2017). Lettuce facing microcystins-rich irrigation water at different developmental stages: Effects on plant performance and microcystins bioaccumulation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 143, 193–200.
23. Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents, 591–592.
24. Llana-Ruiz-Cabello, M., Jos, A., Cameán, A., Oliveira, F., Barreiro, A., Machado, J., Freitas, M. (2019). Analysis of the Use of *Cylindrospermopsis* and/or Microcystin-Contaminated Water in the Growth, Mineral Content, and Contamination of *Spinacia oleracea* and *Lactuca sativa*. *Toxins*, 11.
25. Machado, J., Azevedo, J., Freitas, M., Pinto, E., Almeida, A., Vasconcelos, V., & Campos, A. (2017). Analysis of the use of microcystin-contaminated water in the growth and nutritional quality of the root-vegetable, *Daucus carota*. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 752–764.
26. Murphy, J., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31–36.
27. O'Neil, J. M., Davis, T. W., Burford, M. A., Gobler, C. J. (2012). The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae*, 14, 313–334.
28. Paerl, H. (2014). Mitigating Harmful Cyanobacterial Blooms in a Human- and Climatically-Impacted World. *Life*, 4, 988–1012.
29. Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*.

30. Percival, S. L., & Williams, D. W. (2014). Cyanobacteria. In *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition*, 79–88.
31. Pflugmacher, S., Amé, V., Wiegand, C., & Steinberg, C. (2001). Cyanobacterial toxins and endotoxins-Their origin and their ecophysiological effects in aquatic organisms. *Wasser Und Boden*, 53, 15–20.
32. Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55.
33. Puerto, M., Pichardo, S., Jos, Á., Prieto, A. I., Sevilla, E., Frías, J. E., & Cameán, A. M. (2010). Differential oxidative stress responses to pure Microcystin-LR and Microcystin-containing and non-containing cyanobacterial crude extracts on Caco-2 cells. *Toxicon*, 55, 514–522.
34. Rastogi, R. P., Sinha, R. P., & Incharoensakdi, A. (2014). *The cyanotoxin-microcystins: Current overview*. Reviews in Environmental Science and Biotechnology. Kluwer Academic Publishers.
35. Reichwaldt, E. S., & Ghadouani, A. (2012). Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate: Between simplistic scenarios and complex dynamics. *Water Research*.
36. Saqrane, S., Ouahid, Y., El Ghazali, I., Oudra, B., Bouarab, L., & del Campo, F. F. (2009). Physiological changes in *Triticum durum*, *Zea mays*, *Pisum sativum* and *Lens esculenta* cultivars, caused by irrigation with water contaminated with microcystins: A laboratory experimental approach. *Toxicon*, 53, 786–796.
37. Schüßler, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: Phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105, 1413–1421.
38. Singh, S. P., & Montgomery, B. L. (2011). Determining cell shape: Adaptive regulation of cyanobacterial cellular differentiation and morphology. *Trends in Microbiology*.
39. Sivonen, K. (2009). Cyanobacterial Toxins. In *Encyclopedia of Microbiology*. 290–307.

40. Sivonen, K., Jones, G. (1999). Cyanobacterial toxins. In: Chorus, I., Bartram, J. (Eds.), *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E and FN Spon, London, pp. 41–111.
41. Smith, S. E., & Read, D. (2008). The symbionts forming arbuscular mycorrhizas. In *Mycorrhizal Symbiosis*, 13–41. Elsevier.
42. Soule, T., & Garcia-Pichel, F. (2019). Cyanobacteria. In *Encyclopedia of Microbiology*, 799–817.
43. Taiz L., Zeiger E., Moller I. M., Murphy A., (2017). *Φυσιολογία και Ανάπτυξη Φυτών*. Εκδόσεις Utopia, Αθήνα.

Ελληνική Βιβλιογραφία

1. Παπαδημητρίου Ν., 2018. Κυανοτοξίνες στο αρδευτικό νερό : Πώς επηρεάζεται η μυκορριζική συμβίωση στα καρότα. Διδακτορική διατριβή. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.
2. Παππάς Κ., 2017. Αξιολόγηση της ποιοτικής κατάστασης των υδάτων της λεκάνης απορροής της λίμνης Κάρλα. Διπλωματική Εργασία. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Βόλος.
3. Πετρόπουλος Σ., 2015. Αρωματικά Φυτά με Λαχανοκομική Χρήση. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.