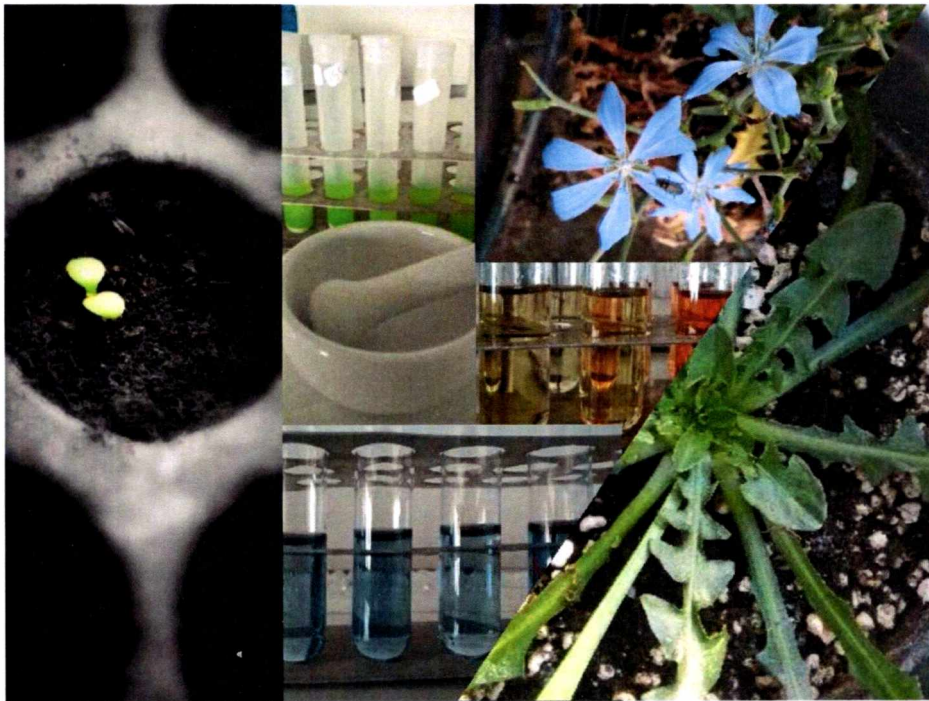


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ & ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΖΙΖΑΝΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Επίδραση της αυξημένης αλατότητας του εδάφους στην φυσιολογία
και την ανάπτυξη του *Cichorium spinosum* L.»



Καρούσου Δήμητρα

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Λεβίζου Ευθυμία

Βόλος, 2016



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ & ΚΕΝΤΡΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 16336/1
Ημερ. Εισ.: 13/06/2017
Δωρεά: Συγγραφέα
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ-ΦΠΑΠ
2016
ΚΑΡ

**«Επίδραση της αυξημένης αλατότητας του εδάφους στην φυσιολογία
και την ανάπτυξη του *Cichorium spinosum* L.»**

Καρούσου Δήμητρα

Επιβλέπουσα καθηγήτρια

Λεβίζου Ευθυμία

Λέκτορας Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και
Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Μέλη επιτροπής

Πετρόπουλος Σπυρίδων

Επίκουρος Καθηγητής Λαχανοκομίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και
Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Αντωνιάδης Βασίλειος

Επίκουρος καθηγητής Εφαρμοσμένης Εδαφολογίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής
Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή διατριβή πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Ζιζανιολογίας, υπό την επίβλεψη της κυρίας Λεβίζου Ευθυμίας. Για τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, βοηθώντας και καθοδηγώντας με, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, για τη προτροπή της για νέες μεθόδους και εμπλουτισμό της αρχικής ιδέας του πειράματος αυτού, είναι ο πρώτος άνθρωπος που θα ήθελα να ευχαριστήσω.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον κύριο Πετρόπουλο Σπυρίδων, ο οποίος, έχοντας ξαναδουλέψει με το συγκεκριμένο φυτό, βοήθησε τόσο με την εμπειρία του, όσο και με τη παρουσία του σε όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Ακόμη, ευχαριστώ, τον κύριο Αντωνιάδη Βασίλειο, για τις συμβουλές του όποια στιγμή τις αναζήτησα.

Θέλω να ευχαριστήσω σ' αυτό το σημείο και τον κύριο Τσιρόπουλο Νικόλαο, Καθηγητή Χημείας, και υπεύθυνο του εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, για την εμπιστοσύνη του και τις συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια των χημικών αναλύσεων του πειραματικού μέρους.

Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω τον συμφοιτητή και φίλο Στατήρη Γεώργιο, με τον οποίο συνυπήρχαμε στο εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών και συνεργαστήκαμε σε όλη τη διάρκεια των μετρήσεων και αναλύσεων. Ευχαριστώ επίσης, τους συμφοιτητές και φίλους Αντωνιάδη Δημήτριο, Μούρτζη Καλυψώ-Δήμητρα, Χουρδάκη-Καπνιά Ιωάννη, για την πολύτιμη βοήθεια και υποστήριξή τους, κατά τη διεξαγωγή του πειράματος.

Τέλος, ευχαριστώ όλους εκείνους, που αφιέρωσαν χρόνο, είπαν τη γνώμη τους, διόρθωσαν, έδειξαν κατανόηση, βοήθησαν οικιοθελώς, και δε σταμάτησαν να βρίσκονται δίπλα μου.

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή.....	6
1.1 Αλατότητα.....	6
1.2 Η αυξημένη αλατότητα ως καταπόνηση.....	6
1.3 Επιδράσεις της αυξημένης αλατότητας στα φυτά.....	8
1.4 Στρατηγικές αντιμετώπισης της αυξημένης αλατότητας.....	9
1.5 Αποκρίσεις των καλλιεργούμενων φυτών στην αυξημένη αλατότητα.....	12
1.6 Εγκλιματισμός στην αλατότητα.....	13
1.7 <i>Cichorium spinosum L.</i>	13
1.8 Σκοπός της παρούσας εργασίας.....	15
2. Υλικά & Μέθοδοι.....	16
2.1 Ημερολόγιο πειράματος.....	16
2.2 Πρότυπη καμπύλη επιφάνειας.....	18
2.3 Προσδιορισμός χλωροφυλλών.....	20
2.3.1 Πρότυπη καμπύλη χλωροφυλλών.....	22
2.4 Προσδιορισμός προλίνης.....	22
2.4.1 Πρότυπη καμπύλη προλίνης.....	25
2.5 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών.....	25
2.5.1 Πρότυπη καμπύλη ολικών φαινολικών.....	27
2.6 Τελική Συλλογή	28
2.7 Στατιστική επεξεργασία.....	29
3. Αποτελέσματα.....	30
3.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά.....	30
3.2 Βιοχημικά χαρακτηριστικά.....	36
4. Συζήτηση.....	39
5. Συμπεράσματα.....	42
6. Βιβλιογραφία.....	43
6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....	43
6.2 Ελληνική βιβλιογραφία.....	45
6.3 Διαδικτυακές πηγές.....	45

Περίληψη

Το σταμναγκάθι (*Cichorium spinosum* L.) είναι αυτοφυές φυτό στις παράκτιες περιοχές της Μεσογείου. Η παρουσία του σε αντίστοιχα ενδιαιτήματα παραπέμπει σε μια ανθεκτικότητα σε συνθήκες καταπόνησης, ιδιαίτερα στην υψηλή αλατότητα. Η υψηλή εδαφική αλατότητα είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες υποβάθμισης των καλλιεργούμενων εδαφών. Στην παρούσα πτυχιακή διατριβή, μελετώνται παράμετροι της ανθεκτικότητας και της προσαρμοστικότητας του σταμναγκαθιού σε συνθήκες μέτριας έως υψηλής αλατότητας (4, 6 και 8 dS/m). Από τις αναπτυξιακές μετρήσεις φάνηκε ότι τα φυτά σε μέτρια επίπεδα αλατότητας (4 dS/m) είχαν παρόμοια συμπεριφορά με τα φυτά μάρτυρες, ενώ σε υψηλά επίπεδα καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές μειώσεις (6 και 8 dS/m). Οι βιοχημικές μετρήσεις δεν έδειξαν διαφορές μεταξύ των φυτών των διαφόρων μεταχειρίσεων στα ολικά φαινολικά και τη συγκέντρωση των φωτοσυνθετικών χρωστικών, ενώ εμφανίστηκε μια σημαντική αύξηση στο περιεχόμενο σε προλίνη αυξανομένης της εδαφικής αλατότητας. Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν τόσο την ανθεκτικότητα του *C. spinosum* σε μέτρια επίπεδα αλατότητας, όσο και το όριο αντοχής του, πέραν του οποίου εμφανίζονται σημαντικές μειώσεις στην ανάπτυξη, άρα και στη βρώσιμη βιομάζα.

Summary

Spiny chicory (*Cichorium spinosum* L.) is a native plant in the Mediterranean coastal areas. The presence of the species in these habitats renders it tolerant to harsh conditions, especially to high salinity. High soil salinity is one of the most important factors causing degradation of cultivated soils. The present work investigates the tolerance and acclimation capacity of stamnagathi grown under medium to high salinity levels. Under medium salinity level (4 dS/m) plant growth was similar to control plants, while statistically significant growth reduction was recorded under higher salinity levels (6 and 8 dS/m). Concerning biochemical parameters, no significant difference was observed in phenolic and chlorophyll content, while a significant increase occurred in proline's concentration, completely following the profile of increasing salinity levels. The results demonstrate the tolerance of *C. spinosum* under medium salinity and indicate the tolerance and acclimation limit, beyond which significant growth reductions are evident.

1. Εισαγωγή

1.1 Αλατότητα

Η αυξημένη αλατότητα του εδάφους αποτελεί ένα συνεχώς εντεινόμενο πρόβλημα και επηρεάζει τη παγκόσμια γεωργία προκαλώντας σοβαρές απώλειες παραγωγής και υποβάθμιση των εδαφών (Maggio et al. 2011). Ο όρος αλατότητα αναφέρεται κυρίως στην ύπαρξη υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων (κατά κανόνα Na^+ και Cl^-) στο περιβάλλον της ρίζας (Καραμπουρνιώτης 2012). Παρουσιάζεται σχεδόν στο 20% των καλλιεργούμενων εδαφών του πλανήτη και είναι ένας απ' τους πιο κοινούς αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης (Maggio et al. 2011, Καραμπουρνιώτης 2012). Τα εδάφη μπορεί να εμφανίσουν υψηλή αλατότητα για διάφορους λόγους και μπορούν να χωριστούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες σύμφωνα με τον Καραμπουρνιώτη (2012) :

A. Αλίπεδα ή υφάλμυρα έλη, χαρακτηριστικό των οποίων είναι ότι διαβρέχονται από θαλασσινό νερό

B. Ερημικές περιοχές, στις οποίες ο ρυθμός εξάτμισης είναι μεγαλύτερος του ρυθμού της βροχόπτωσης

και Γ. Υπεραρδευόμενες εκτάσεις, στις οποίες πραγματοποιείται συσσώρευση ιόντων λόγω της εξαιρετικά υψηλής εξατμισοδιαπνοής. Οι τελευταίες είναι και οι εκτάσεις που ενδιαφέρουν περισσότερο τον γεωργικό τομέα.

Στην Ευρώπη έχει αναφερθεί υψηλή αλατότητα σε 26 χώρες, ενώ οι περισσότερες καταγραφές αφορούν τις μεσογειακές περιοχές (Maggio et al. 2011).

1.2 Η αυξημένη αλατότητα ως καταπόνηση

Καταρχάς ας ορίσουμε τι σημαίνει αυξημένη αλατότητα. Συνήθως η αλατότητα μετράται σε μονάδες ηλεκτρικής αγωγιμότητας του εδαφικού διαλύματος. Στο δείγμα του εδάφους επέρχεται κορεσμός με νερό, στη συνέχεια διηθείται και στο εκχύλισμα που προκύπτει, προσδιορίζεται η ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC_e). Οι συνήθεις μονάδες της ηλεκτρικής αγωγιμότητας είναι deciSiemens ανά μέτρο (dS m^{-1}). Αλατούχα θεωρούνται τα εδάφη που παρουσιάζουν $\text{EC}_e > 4 \text{ dS m}^{-1}$. Η τιμή αυτή

αντιστοιχεί με μια συγκέντρωση περίπου 2560 mgL^{-1} συνολικών διαλυτών αλάτων (TDS) και με περίπου 40 mM NaCl . Η σχέση αυτή, βέβαια, δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί για υπολογισμό TDS με $EC_e > 5 \text{ dS m}^{-1}$ (Rhoades 1993, Shannon and Grieve 1999, Καραμπουρνιώτης 2012). Εντούτοις, πειραματικά αποτελέσματα έχουν δείξει ότι αλατότητες μεγαλύτερες από $2,5 \text{ dS m}^{-1}$ (οριακή αλατότητα π.χ. για τα φυτά της τομάτας) μπορούν να επιφέρουν πολυδιάστατες αλλαγές του μεταβολισμού.

Η καταπόνηση ως συνέπεια της αυξημένης αλατότητας του εδάφους, μπορεί να επιδράσει αρνητικά σε πολλά επίπεδα. Μια από τις δυσμενείς επιδράσεις της είναι η αλλοίωση των χαρακτηριστικών των εδαφών, αφού υφίστανται μεταβολές στο πορώδες του εδάφους, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα τον κακό αερισμό, όπως επίσης και μεταβολές στην ηλεκτρική αγωγιμότητα του εδαφικού διαλύματος (Καραμπουρνιώτης 2012). Επιπλέον, η αυξημένη συγκέντρωση ιόντων στα αλατούχα εδάφη καταπονεί τα φυτά μειώνοντας το δυναμικό (Ψ) του νερού. Με τη μείωση του δυναμικού λαμβάνει χώρα μια οσμωτική καταπόνηση που παραπέμπει σε αδυναμία του φυτού να προσλάβει τις αναγκαίες ποσότητες νερού.

Η ικανότητα του νερού να κινείται καθορίζεται από το δυναμικό Ψ του νερού. Το Ψ είναι ένα μέτρο της ελεύθερης ενέργειας του νερού και μετράται συνήθως σε μονάδες Pascal (Pa). Το νερό κινείται κατά μήκος διαβαθμίσεων του δυναμικού, από υψηλό δυναμικό Ψ προς χαμηλό ή αλλιώς από διαλύματα αραιά σε συγκέντρωση προς πυκνά. Έτσι, η αυξημένη συγκέντρωση αλάτων στο εδαφικό διάλυμα έχει ως αποτέλεσμα την πτώση του εδαφικού Ψ δυσχεραίνοντας έτσι την απορρόφηση του νερού από τη ρίζα. Ουσιαστικά η αλατότητα δημιουργεί μια έμμεση έλλειψη νερού (Μανέτας 2005).

Ταυτόχρονα συνήθως με την οσμωτική καταπόνηση και για τον ίδιο λόγο υψηλής συγκέντρωσης ιόντων, τα φυτά αντιμετωπίζουν και ιοντική καταπόνηση, κατά την οποία υπάρχει δυσχέρεια ή αδυναμία στην απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Παράδειγμα αποτελεί ο ανταγωνισμός Na^+ με K^+ . Ακόμη, η επικράτηση ιόντων Na^+ και Cl^- συνεπάγεται διαταραχή της κυτταρικής ομοιόστασης, απορρυθμίζοντας τα κύτταρα από τις φυσιολογικές λειτουργίες τους, όπως είναι η διατήρηση των διαφορών ηλεκτροχημικού δυναμικού και pH.

Η μεγαλύτερη διαταραχή, που εμφανίζεται με την επικράτηση ιόντων Na^+ και Cl^- , είναι η τοξικότητα που προκαλείται, δημιουργώντας ποικίλα ζητήματα για το

φυτό: ανωμαλίες στη περατότητα των κυτταρικών μεμβρανών, παρεμπόδιση της δράσης διαφόρων ενζύμων, δυσκολότερη αφομοίωση του άνθρακα λόγω της παρεμπόδισης της φωτοσυνθετικής λειτουργίας. Παρεμπόδιση της φωτοσύνθεσης μπορεί επίσης να συμβεί λόγω μείωσης της στοματικής αγωγιμότητας που προκαλείται από την ελάττωση της απορρόφησης νερού από το έδαφος και με τη σειρά της συντελεί σε μειωμένη τροφοδοσία σε διοξείδιο του άνθρακα (CO₂). Υπό αυτές τις συνθήκες δημιουργούνται ενεργές ρίζες οξυγόνου (ROS) και τελικά **οξειδωτική καταπόνηση**. Σ' αυτού του είδους τη καταπόνηση τα φυτά απαντούν με δημιουργία αντιοξειδωτικών στοιχείων όπως είναι η καταλάση και διάφορες περοξειδάσες (Parida and Das 2005, Καραμπουρνιώτης 2012).

1.3 Επιδράσεις της αυξημένης αλατότητας στα φυτά

Αναπτυξιακά, μια από τις πρώτες εμφανείς μεταβολές είναι η αλλαγή διάταξης του ριζικού συστήματος, αφού παρεμποδίζεται η αύξηση της κύριας ρίζας και επάγεται η δημιουργία μικρότερων πλευρικών ριζών. Στη μεταβολή αυτή εμπλέκεται το αμπισικό οξύ (ABA), το οποίο έχει βρεθεί να αμβλύνει το ανασταλτικό αποτέλεσμα του NaCl στη φωτοσύνθεση, την ανάπτυξη και την κατανομή των θρεπτικών στοιχείων. Ταυτόχρονα, το ABA προάγει το κλείσιμο των στομάτων σε συνθήκες καταπόνησης (Parida and Das 2005).

Αυτόματη σχεδόν απόκριση στην καταπόνηση λόγω υψηλής αλατότητας είναι η μείωση της φυλλικής επιφάνειας και το σταμάτημα της επιμήκυνσης του φύλλου. Η καταπόνηση προκαλεί επίσης μείωση του νωπού και ξηρού βάρους των φύλλων, των μίσχων και των ριζών (Parida and Das 2005). Σημαντικές μειώσεις έχουν καταγραφεί, από πειράματα σε φυτά ντομάτας, στο βάρος βλαστού, στο ύψος φυτού, στον αριθμό φύλλων ανά φυτό και στην επιφάνεια της ρίζας, κάτω από συνθήκες αυξημένης αλατότητας (Mohammad et al. 1998). Σε φυτά φασολιού και βαμβακιού όπου πραγματοποιήθηκαν αντίστοιχα πειράματα, βρέθηκε αύξηση του πάχους της επιδερμίδας και του μεσοφύλλου, επιμήκυνση και αύξηση διαμέτρου περιφερειακών κυττάρων (Longstreth and Nobel 1979). Η αύξηση του πάχους των φύλλων, αλλιώς παχυμορφισμός, αποτελεί σύνηθες χαρακτηριστικό εγκλιματισμού και λειτουργεί σαν μηχανισμός αραίωσης του διαλύματος των αλάτων εντός του φυτού, έτσι ώστε να παραμένει σχετικά σταθερή η συγκέντρωσή τους παρά το ότι η ποσότητά τους

αυξάνεται. Διατηρείται έτσι το δυναμικό του νερού των κυττάρων σε ανεκτά επίπεδα (Καραμπουρνιώτης 2012).

Σύμφωνα με τους Mitsuya et al. 2000, η καταπόνηση λόγω υψηλής αλατότητας προκάλεσε αύξηση του χυμοτοπίου και μερικό φούσκωμα του ενδοπλασματικού δικτύου και των μιτοχονδρίων, σχηματισμό φυσαλίδων και καταστροφή του τονοπλάστη καθώς και χημική αποδόμηση του κυτταροπλάσματος σε φυτά γλυκοπατάτας.

Σχετικά με τις φωτοσυνθετικές χρωστικές, οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή των φύλλων έχει φανεί ότι μειώνονται υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας (Parida and Das 2005).

Σε επίπεδο ιόντων, η ύπαρξη αυξημένων συγκεντρώσεων Na^+ και Cl^- οδηγεί σε ανταγωνισμό με ιόντα όπως K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , κάτι που καταλήγει σε έλλειψη των τελευταίων από το φυτό και πιθανότατα εμφάνιση τροφοπενιών (Parida and Das 2005, Μανέτας 2005). Επιπλέον, συγκεκριμένα για το Ca^{2+} , έρευνες έδειξαν ότι στις καταπονήσεις σε αλατούχα περιβάλλοντα, λειτουργεί υπέρ της προσαρμογής στην αλατότητα μειώνοντας τις τοξικές επιδράσεις του NaCl , πιθανότατα διευκολύνοντας την επιλογή Na^+/K^+ και κάνοντας πιο αποτελεσματική τη μετάδοση σήματος καταπόνησης (Knight et al. 1997).

1.4 Στρατηγικές αντιμετώπισης της αυξημένης αλατότητας

Τα φυτά στη διάρκεια της ζωής τους είναι συνεχώς εκτεθειμένα σε αβιοτικές καταπονήσεις (στρες). Η αλατότητα, η οσμωτική καταπόνηση, η πολύ χαμηλή ή πολύ υψηλή θερμοκρασία είναι γνωστές αβιοτικές καταπονήσεις οι οποίες μπορούν να καθυστερήσουν την αύξηση και ανάπτυξη του φυτού ή να επιφέρουν ακόμα και το θάνατο (Apse and Blumwald 2007).

Για την επιβίωσή τους τα φυτά ακολουθούν κάποιες στρατηγικές, μέσω των οποίων καθίσταται δυνατή η αντιμετώπιση των ποικίλων καταπονήσεων.

Κάποια γλυκόφυτα, φυτά πολύ ευαίσθητα ακόμα και σε χαμηλά επίπεδα αλατότητας, ακολουθούν τη στρατηγική της διαφυγής κι έτσι επιβιώνουν μόνο σε εδάφη με πολύ μικρή συγκέντρωση αλάτων.

Οι δύο πιο κοινές στρατηγικές, όμως, είναι αυτές που θα αναφερθούν παρακάτω. Η στρατηγική της αποφυγής ακολουθείται από φυτά τα οποία δεν επιτρέπουν την είσοδο των ιόντων στο εσωτερικό των κυττάρων που σχετίζονται με φωτοσυνθετικούς ιστούς, μέσω κάποιων ρυθμιστών αλατότητας. Η στρατηγική αυτή πραγματοποιείται με διάφορους μηχανισμούς. Ένας απ' αυτούς είναι η απομόνωση του αλατιού, ενεργητικά, στο εξωτερικό περιβάλλον των ριζών. Άλλα φυτά, επιτρέπουν την είσοδο αλατιού, οδηγώντας το όμως σε αλατούχους αδένες στα φύλλα τους και απομακρύνοντάς το στην επιφάνεια των φύλλων τους, όπως το *Rhizophora mangle* (Εικόνα 1, Καραμπουρνιώτης 2012). Υπάρχουν επίσης κάποια γλυκόφυτα τα οποία σαν στρατηγική αντιμετώπισης, απορροφούν το αλάτι στις ρίζες τους, αποτρέποντάς το όμως από τη μεταφορά του προς το υπέργειο -και πιο ευαίσθητο- τμήμα του φυτού.



Εικόνα Ε1: Φύλλο θάμνου *Rhizophora mangle*

Η στρατηγική της ανθεκτικότητας παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον. Την ακολουθούν φυτά που ο μεταβολισμός τους είναι κατάλληλα προσαρμοσμένος ώστε να μη παρουσιάζονται δυσλειτουργίες παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων. Λειτουργούν λοιπόν κατά μια έννοια ως συσσωρευτές άλατος (Καραμπουρνιώτης 2012).

Γενικά για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης κάτω από υψηλά επίπεδα αλατότητας, τα φυτικά κύτταρα στηρίζονται σε δύο τύπους ανταλλαγής κατιόντων. Ο ένας σχετίζεται με τον SOS_1 μεταφορέα, ο οποίος βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη, είναι υπερευαίσθητος στην αλατότητα και ουσιαστικά αντλεί τα ιόντα Na^+ έξω απ' το φυτικό κύτταρο (Shi et al. 2003). Ο άλλος τρόπος είναι η χρήση των Na^+/H^+ αντιμεταφορέων (NHXs) από το κύτταρο, οι οποίοι βρίσκονται στη μεμβράνη του τονοπλάστη και συγκρατούνε τα ιόντα Na^+ στο χυμοτόπιο (Apse et al. 1999). Η ικανότητα των φυτών να επιβιώσουν σε υψηλές συγκεντρώσεις $NaCl$ είναι

συνυφασμένη με την ικανότητά τους να μεταφέρουν, να εξωθήσουν και να κινητοποιήσουν τα ιόντα Na^+ στο κύτταρο (Apse and Blumwald 2007).

Τα φυτά που ακολουθούν τη στρατηγική ανθεκτικότητας, προσλαμβάνουν υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού εντός των κυττάρων ώστε να αντισταθμίσουν το χαμηλό δυναμικό νερού του εδάφους. Τα ιόντα συγκεντρώνονται στο χυμοτόπιο μέσω των Na^+/H^+ αντιμεταφορέων του τονοπλάστη, επομένως παραμένουν σε χαμηλά επίπεδα στο κυτταρόπλασμα. Η λειτουργία αυτή του χυμοτοπιακού αντιμεταφορέα NHX είναι χαρακτηριστική της εκδήλωσης ανθεκτικότητας (Apse et al. 1999, Liang 2015, Καραμπουρνιώτης 2012). Ο αποκλεισμός του Na^+ στο χυμοτόπιο μειώνει τις τοξικές του συνέπειες για το φυτό και οι NHXs φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία αυτή. NHXs έχουν απομονωθεί από διάφορα φυτά όπως: *Arabidopsis thaliana*, φυτό μοντέλο για τη γενετική βελτίωση φυτών, ρύζι (*Oryza sativa*), βαμβάκι (*Gossypium hirsutum*), σιτάρι (*Triticum aestivum*) και χρυσάνθεμο (*Dendranthema morifolium*), κάτι που σημαίνει πολλά για την εξέλιξη των ειδών (Liang 2015).

Η συσσώρευση, όμως, των ιόντων στο χυμοτόπιο προκαλεί πτώση του οσμωτικού δυναμικού και υπάρχει κίνδυνος αφυδάτωσης του κυτταροπλάσματος. Γι' αυτό το λόγο το δυναμικό εξισορροπείται μέσω μηχανισμών οσμωρύθμισης. Παράδειγμα αποτελεί η σύνθεση συμβατών οσμωλυτών, όπως η προλίνη, η μαννιτόλη, ακόμα και η σακχαρόζη σε κάποιες περιπτώσεις, οι οποίοι και παρουσιάζουν εξειδίκευση για κάθε φυτικό είδος (Καραμπουρνιώτης 2012, Μανέτας 2005). Οι συμβατοί οσμωλύτες, όπως η προλίνη, λειτουργούν ως μη τοξικοί και προστατευτικοί παράγοντες και έχουν την ικανότητα να διατηρούν τη λειτουργία των ενζύμων στα φυσιολογικά επίπεδα σε αλατούχα περιβάλλοντα. Δεν μεταβάλλουν το pH του κυττάρου, ούτε συμμετέχουν σε διαδικασίες συγκέντρωσης ιόντων Na^+ στο χυμοτόπιο. Η σύνθεσή τους πραγματοποιείται μετά από αλλαγή στη δομή βασικών μεταβολιτών μέσω ξεχωριστών βιοχημικών αντιδράσεων. Οι συνθήκες καταπόνησης προκαλούν τη μεταβολική αυτή αλλαγή (Parida and Das 2005).

Μέσω της εξισορρόπησης οσμωτικού δυναμικού αντιμετωπίζεται η οσμωτική καταπόνηση και μέσω της συσσώρευσης/αποκλεισμού ιόντων στο χυμοτόπιο αντιμετωπίζεται η ιοντική καταπόνηση. Βέβαια, με τις πιο πρόσφατες επιστημονικές εξελίξεις, έχει γίνει γνωστό ότι η γενετική παραλλακτικότητα καθορίζει διαφορετικά

επίπεδα αντοχής για τις τέσσερις μεγαλύτερες φυσιολογικές διαδικασίες: α) την ιοντική ομοιόσταση, β) την ορμονική ρύθμιση και τη ρύθμιση του μεταβολισμού, γ) τον έλεγχο της ανάπτυξης και δ) την αντιμετώπιση των τραυματισμών. Γονίδια που εμπλέκονται σ' αυτές τις τέσσερις διαδικασίες έχουν απομονωθεί και μεταφερθεί, μέσω γενετικής μηχανικής, για τη βελτίωση των αποκρίσεων των φυτών στις διάφορες καταπονήσεις. Παρά τη πολυγονιδιακή φύση της αλατότητας και των αβιοτικών καταπονήσεων γενικότερα, έχει φανεί ότι η αντοχή στην αλατότητα μπορεί να βελτιωθεί με μια απλή μονογονιδιακή αλλαγή. Η υπερέκφραση του SOS_1 (Shi et al. 2003) και NHX_1 , δύο γονιδίων που συνδέονται με τον έλεγχο και ομοιόσταση των ιόντων Na^+ , επέτρεψε την φυσιολογική ανάπτυξη φυτών μέχρι και τη συγκέντρωση των 200 mM NaCl, συγκέντρωση θανατηφόρα για τα περισσότερα καλλιεργούμενα είδη (Maggio et al. 2011).

1.5 Αποκρίσεις των καλλιεργούμενων φυτών στην αυξημένη αλατότητα

Υπάρχουν σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των διαφόρων φυτών όσον αφορά την απόκρισή τους στην αυξημένη αλατότητα. Τα περισσότερα καλλιεργούμενα είδη έχει φανεί ότι έχουν ευαισθησία στην αλατότητα, κάποια αγρωστώδη εντούτοις όπως το κριθάρι δείχνουν να είναι περισσότερο ανθεκτικά σε σχέση με τα δικότυλα φυτά.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η ποσοστιαία πτώση της παραγωγικότητας σε διάφορα καλλιεργούμενα είδη για αύξηση της αλατότητας του περιβάλλοντός τους μόλις 1 dS m^{-1} . Φυτά όπως η βερικοκιά εμφάνισαν μείωση παραγωγής της τάξης του 23% κάτι που συνδέεται με την ευαισθησία του φυτού στην αλατότητα. Άλλα φυτά, κυρίως σιτηρά και βαμβάκι, εμφάνισαν μεγαλύτερη αντοχή αφού οι παραγωγές τους δεν είχαν τόσο μεγάλες απώλειες (Καραμπουρνιώτης 2012).

Καλλιεργούμενο φυτό	Πτώση παραγωγικότητας (%) για αύξηση αλατότητας κατά 1 dS m^{-1}
Βερικοκιά	23
Φασόλι	18,9

Κρεμμύδι	16,1
Αγγούρι	13
Πατάτα	12
Τομάτα	9,9
Αμπέλι	9,5
Σιτάρι	7,1
Ζαχαρότευτλο	5,9
Βαμβάκι	5,2
Κριθάρι	5

(Καραμπουρνιώτης 2012)

1.6 Εγκλιματισμός στην αλατότητα

Παρά την προσαρμοστικότητα που μπορεί να χαρακτηρίσει ένα φυτό ή τη στρατηγική που ακολουθεί έναντι των καταπονήσεων, ο εγκλιματισμός ενός φυτού είναι ίσως η σημαντικότερη απόκριση που μπορεί να έχει σε μια προσπάθεια για διατήρηση της βιολογικής του ισορροπίας και τελικά της επιβιώσής του (Καραμπουρνιώτης 2012). Ο εγκλιματισμός ενός φυτού αναφέρεται στις διάφορες αλλαγές που πραγματοποιεί το ίδιο το φυτό κατά τη διάρκεια του βιολογικού του κύκλου στις δομές και λειτουργίες του, ερχόμενο αντιμέτωπο με την καταπόνηση. Μερικές πτυχές του εγκλιματισμού είναι η αλλαγή της αρχιτεκτονικής του ριζικού συστήματος, μορφοανατομικές αλλαγές (π.χ. παχύτερα φύλλα) και ενεργοποίηση αντιοξειδωτικών μηχανισμών (Καραμπουρνιώτης 2012).

1.7 *Cichorium spinosum* L.

Το γένος *Cichorium* περιλαμβάνει έξι είδη και ανήκει στην οικογένεια Asteraceae. Το *Cichorium spinosum* L. συγκεκριμένα, είναι ένα αυτοφυές, φυλλώδες, βρώσιμο φυτό και εντοπίζεται σε παράκτιες περιοχές της ευρύτερης περιοχής της Μεσογείου, ιδιαίτερα σε Ελλάδα, Ιταλία και Ισπανία (Michalska and Kisiel 2007). Πληθυσμοί έχουν καταγραφεί και σε Σικελία, Κύπρο, Τουρκία και Λιβύη (Papaflippaki et al. 2015). Ευδοκμεί σε περιοχές κοντά σε θάλασσα, φαίνεται λοιπόν

να είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό φυτό σε υψηλή εδαφική αλατότητα και άγονα περιβάλλοντα.

Το σταμναγκάθι, όπως είναι η κοινή ονομασία του *Cichorium spinosum*, φέρει φύλλα που σχηματίζουν ροζέτα όπως και όλα τα είδη *Cichorium* (Papafileppaki et al. 2015). Είναι φυτό πολυετές και χαρακτηρίζεται από αγκαθωτά κλαδιά που αναπτύσσονται από μεριστώματα στη μασχάλη των φύλλων της ροζέτας κατά τη πρώτη περίοδο ανθοφορίας (Papafileppaki et al. 2015).

Το υπέργειο τμήμα του φυτού έχει χρησιμοποιηθεί κατά παράδοση στη μεσογειακή διατροφή, είναι ιδιαίτερα δημοφιλές λαχανικό στη Κρήτη και θεωρείται ότι συμβάλει σημαντικά στη διατήρηση της καλής υγείας και στη πρόληψη σοβαρών χρόνιων ασθενειών, χάρη στις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες (Klados and Tzortzakis 2014, Mendoni et al. 2014, Papafileppaki et al. 2015). Χρησιμοποιείται για αιώνες ως βρώσιμο, ωμό ή βρασμένο και κοστολογείται αρκετά ακριβά λόγω της μεγάλης θρεπτικής του αξίας και της υψηλής περιεκτικότητας αντιοξειδωτικών που περιέχονται στα φύλλα του, όπως ασκορβικό οξύ, β-καροτένιο και τοκοφερόλες, γλουταθειόνη, ολικές φαινόλες και ω-3 λιπαρά οξέα. (Klados and Tzortzakis 2014, Papafileppaki et al. 2015). Η υψηλή θρεπτική αξία σε συνδυασμό με μια λεπτή γεύση κάνουν το σταμναγκάθι ένα δημοφιλές φυτό στις προτιμήσεις των καταναλωτών, σε σύγκριση με άλλα βρώσιμα χόρτα (Papafileppaki et al. 2015).

Η καλλιέργεια του σταμναγκαθιού ξεκίνησε τα τελευταία χρόνια στην περιοχή της Μεσογείου προκειμένου να καλυφθούν οι αυξημένες απαιτήσεις της αγοράς. Εκτός από τη μεγάλη θρεπτική αξία του, εξασφαλίζει και ένα ικανοποιητικό εισόδημα για τους αγρότες λόγω της υψηλής τιμής του και της αυξανόμενης ζήτησής του (Papafileppaki et al. 2015).

Ενώ υπάρχουν μελέτες για τις επιπτώσεις της αυξημένης αλατότητας σε είδη του γένους *Cichorium*, λίγα στοιχεία υπάρχουν στη παγκόσμια βιβλιογραφία συγκεκριμένα για το σταμναγκάθι. Αυτό αφορά τόσο τις αντοχές και τον εγκλιματισμό του σε διάφορες καταπονητικές συνθήκες, όσο και τις βέλτιστες συνθήκες για τη καλλιέργειά του (Mendonni et al. 2014, Papafileppaki et al. 2015).

Πολλές παράκτιες περιοχές έχουν σοβαρά προβλήματα με την εδαφική αλατότητα. Ένα φυτό σα το σταμναγκάθι θα μπορούσε να αποτελέσει λύση για

τέτοιες περιοχές και εδάφη, αφού ούτε η καλλιέργειά του εμφανίζεται απαιτητική, ούτε οι συνθήκες δείχνουν να το καταπονούν σε σύγκριση με άλλα καλλιεργούμενα φυτά που πιθανότατα δεν θα επιβίωναν σε παρόμοια περιβάλλοντα (Klados and Tzortzakis 2014).

Η αξιολόγηση της χρήσης αλόφυτων ως πιθανών μελλοντικών καλλιεργειών για ιδιαίτερα επιβαρυσμένα περιβάλλοντα αποτελεί αντικείμενο έντονης έρευνας καθώς τα φυτά αυτά δείχνουν να προσαρμόζονται πολύ καλύτερα σε νέα παραγωγικά συστήματα καλλιέργειας (Rozema and Flowers 2008).

1.8 Σκοπός της παρούσας εργασίας

Το σταμναγκάθι φαίνεται να έχει αναπτύξει μια ανθεκτικότητα σε αντίξοες συνθήκες και ιδιαίτερα σε συνθήκες υψηλής αλατότητας, λόγω κυρίως του ενδιαίτηματος στο οποίο απαντάται. Η αυξημένη εδαφική αλατότητα αποτελεί έναν από τους μεγαλύτερους παράγοντες υποβάθμισης των εδαφών. Στο πλαίσιο αυτό και με δεδομένη την έναρξη ευρείας κλίμακας εμπορικής καλλιέργειας του σταμναγκαθιού, σκοπός της παρούσας πτυχιακής διατριβής ήταν η μελέτη των επιδράσεων της μέτριας έως υψηλής εδαφικής αλατότητας στην ανάπτυξη και σε διάφορα βιοχημικά χαρακτηριστικά του φυτού, προκειμένου να εκτιμηθούν έως ένα βαθμό τα όρια αντοχής του στην συγκεκριμένη καταπόνηση.

2. Υλικά & Μέθοδοι

2.1 Ημερολόγιο πειράματος

Η πειραματική διαδικασία ξεκίνησε 10 Οκτωβρίου 2014 με τη σπορά 5 δίσκων 8x13 θέσεων. Οι πρώτες φυτρώσεις σπόρων σταμναγκαθιού καταγράφηκαν την εβδομάδα 13-17 Οκτωβρίου, δηλαδή μέσα στη πρώτη εβδομάδα από τη σπορά. Η έκπτυξη του τρίτου φύλλου καταγράφηκε την εβδομάδα 20-27 Οκτωβρίου. Στο διάστημα αυτό πραγματοποιούνταν καθημερινά ποτίσματα με στόχο την αποφυγή της ξήρανσης της τύρφης λόγω αυξημένων θερμοκρασιών.

Στις 12 Νοεμβρίου πραγματοποιήθηκε η μεταφύτευση σε γλάστρες 2 λίτρων. Επιλέχθηκαν τα πιο εύρωστα φυτά και φυτεύτηκαν τελικά σε 90 γλάστρες. Το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν μείγμα τύρφη:περλίτη σε αναλογία 1:1.

Ακολούθησε πότισμα με διάλυμα αφύπνισης, το οποίο περιείχε λίπασμα 20-20-20 σε αναλογία 1 g/L νερού (το οποίο αντιστοιχεί σε 300 ppm N), 200 mL ανά γλάστρα.

Τα ποτίσματα συνεχίστηκαν με νερό βρύσης με τον ίδιο ρυθμό και σε ίσες δόσεις των 200 mL σε κάθε γλάστρα. Στις 11 Δεκεμβρίου παρασκευάστηκαν τα αλατούχα διαλύματα και οι γλάστρες χωρίστηκαν σε τέσσερες διαφορετικές μεταχειρίσεις με 22 γλάστρες ανά μεταχείριση (treatment). Οι γλάστρες χωρίστηκαν με τυχαίο τρόπο.

Τα διαλύματα που παρασκευάστηκαν προέκυψαν από τη διάλυση NaCl στο διάλυμα αφύπνισης που αποτέλεσε και το νερό ποτίσματος των φυτών-μαρτύρων. Τα τελικά διαλύματα ήταν τριών επιπέδων αλατότητας:

- 1) S1 με ηλεκτρική αγωγιμότητα 4 dS/m,
- 2) S2 με 6 dS/m,
- 3) S3 με 8 dS/m και
- 4) Control το οποίο ήταν το προαναφερθέν διάλυμα αφύπνισης, με ηλεκτρική αγωγιμότητα 1,8 dS/m.

Στις 11 Δεκεμβρίου έγινε και το πρώτο πότισμα με τα αντίστοιχα για κάθε μεταχείριση αλατούχα διαλύματα, το οποίο συνεχίστηκε ανά τακτά διαστήματα (3-4 ημερών) και σε ίσες δόσεις των 150 mL σε κάθε γλάστρα.



Εικόνα Y1



Εικόνα Y2

Από τις 16 Δεκεμβρίου μέχρι τις 10 Ιανουαρίου, τα φυτά ποτίζονταν με 150 mL ανά γλάστρα και ανά τακτά διαστήματα (3-4 ημερών). Τα ποτίσματα συνεχίστηκαν μέχρι τις 9 Φεβρουαρίου, με τον ίδιο τρόπο και ποσότητα. Η τελική συλλογή πραγματοποιήθηκε στις 10 Φεβρουαρίου 2015.

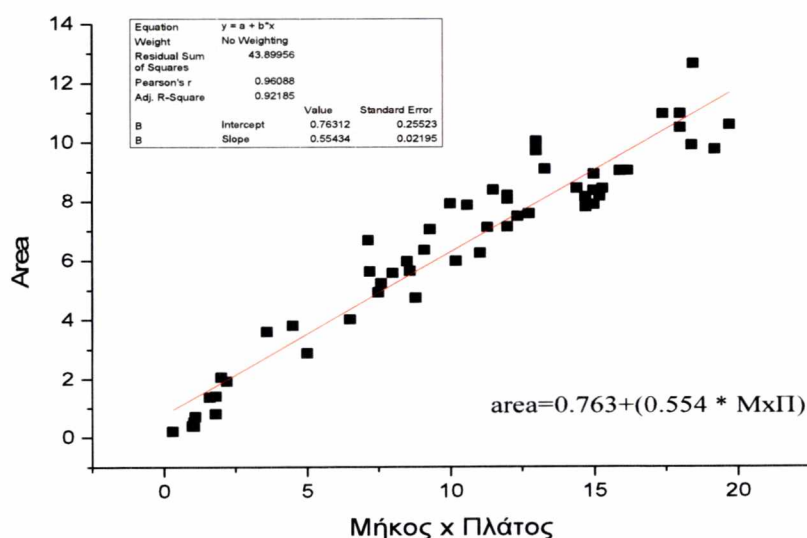
Πραγματοποιήθηκε μέτρηση μορφολογικών χαρακτηριστικών και αναπτυξιακών παραγόντων. Καταγράφηκε το μήκος και το πλάτος των φύλλων, με σκοπό να υπολογιστεί η μέση και η συνολική επιφάνεια κάθε φυτού, που θα ανάγονταν τελικά στη κάθε μεταχείριση. Μετρήθηκε ακόμη το πάχος των φύλλων και η διάμετρος της ροζέτας.

Το πάχος των φύλλων σε mm, μετρήθηκε με παχύμετρο (Mitutoyo, UK), όπως φαίνεται στην Εικόνα Υ2, για κάποια συγκεκριμένα φύλλα κάθε φυτού που επιλέχθηκαν τυχαία. Η μέτρηση πραγματοποιούνταν για όλα τα φυτά κάθε μεταχείρισης. Το μήκος της ροζέτας, μετρήθηκε με χάρακα (Εικόνα Υ1).

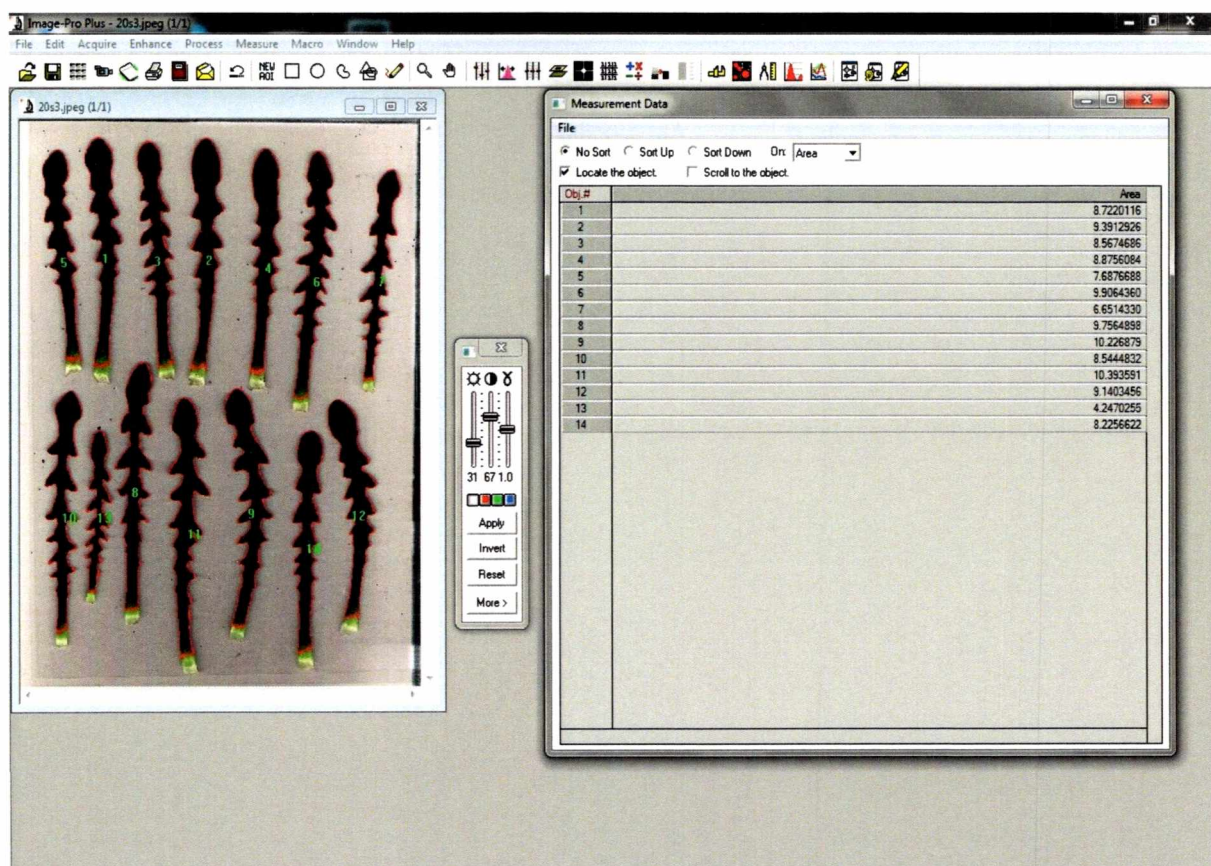
Για να υπολογιστεί η επιφάνεια του κάθε φυτού, χρειάστηκε να γίνει συσχέτιση του μεγέθους μήκος x πλάτος κάποιων τυχαίων φύλλων όλων των treatment με την Επιφάνειά τους, ώστε να προκύψει μια πρότυπη καμπύλη επιφάνειας (βλ. παρακάτω). Από την εξίσωση της καμπύλης αυτής μπορεί να υπολογιστεί η επιφάνεια ολόκληρων των φυτών από κάθε μεταχείριση.

2.2 Πρότυπη καμπύλη Επιφάνειας

Σε μία ομάδα φύλλων που είχαν αποκοπεί από τη βάση τους μετρήθηκε το μήκος και το πλάτος τους και στη συνέχεια φωτογραφήθηκαν. Με τη χρήση ενός προγράμματος ανάλυσης εικόνας (*Image-ProPlus*) έγινε ο υπολογισμός της επιφάνειας των συγκεκριμένων φύλλων. Στη συνέχεια τα δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης επιφάνειας, η οποία ακολουθεί.



Με τη πρότυπη εξίσωση: $Area=0.763+ 0.554* (M*\Pi)$ υπολογίστηκαν τελικά η συνολική και η μέση επιφάνεια κάθε φυτού για όλες τις ενδιάμεσες μετρήσεις ανάπτυξης, καθώς σε όλα τα φύλλα κάθε φυτού είχε καταγραφεί το μήκος και το πλάτος τους σε cm.



Εικόνα Y3

Στην *Εικόνα Y3*, φαίνεται η λειτουργία του *Image-ProPlus* σε ένα τυχαίο φυτό με κωδικό 20S3.

2.3 Προσδιορισμός χλωροφυλλών

Καταγράφηκαν τα επίπεδα των περιεχόμενων χρωστικών (χλωροφύλλη a+b) μη καταστροφικά με τη χρήση του μετρητή χλωροφύλλης CCM-200 (OPTI-Sciences Inc).

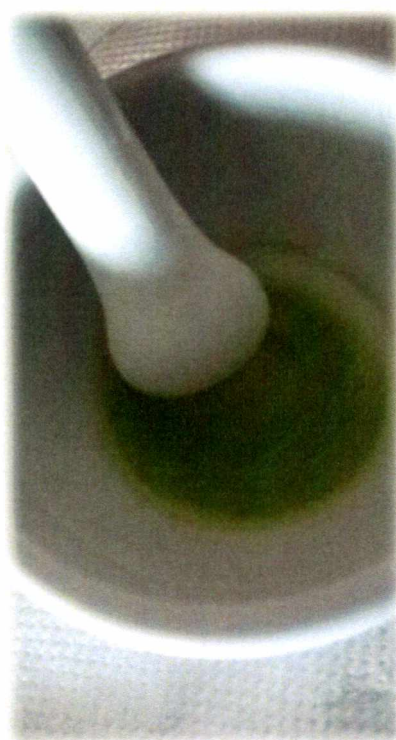
Για να συσχετιστούν οι τιμές του CCM-200 με την πραγματική συγκέντρωση των χλωροφυλλών σε $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ του φυτού, χρειάστηκε να γίνει ποσοτικός προσδιορισμός των φωτοσυνθετικών χρωστικών και δημιουργία πρότυπης καμπύλης.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φωτοσυνθετικών χρωστικών, χρησιμοποιήθηκαν φύλλα που είχαν διατηρηθεί σε βαθιά κατάψυξη για να συντηρηθούν όσο το δυνατόν καλύτερα οι ιστοί του φυτού. Από κάθε φυτό χρησιμοποιήθηκαν 3 δίσκοι που απομονώθηκαν από τα φύλλα του με τη βοήθεια φελλοτρυπητήρα. Κάθε δίσκος είχε εμβαδό $0,385 \text{ cm}^2$, οπότε από κάθε φυτό (δείγμα) χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό χλωροφυλλών **$1,155 \text{ cm}^2$** .

Το δείγμα τοποθετήθηκε σε πορσελάνινο γουδί μαζί με μικρή ποσότητα καθαρής άμμου και ανθρακικού ασβεστίου (CaCO_3). Ο ρόλος του ανθρακικού ασβεστίου είναι ποιοτικός και έχει νόημα για να προληφθεί η φαιοφυτινοποίηση των χλωροφυλλών. Η άμμος βοηθάει στη λειοτρίβηση.



Εικόνα Υ4



Εικόνα Υ5

Τα φύλλα εκχυλίστηκαν με **4 mL** μεθανόλης, τα οποία προστέθηκαν σταδιακά για να διευκολυνθεί η ομογενοποίηση. Το εκχύλισμα μεταγγίστηκε σε σωλήνα φυγοκέντρου και φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά στα 4000 rpm (rounds per

minute). Το διαυγές υπερκείμενο χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα για τη φωτομέτρηση, αφού σημειώθηκε ο ακριβής όγκος του (πιθανές απώλειες λόγω πτητικότητας της ακετόνης) σε ογκομετρικό κύλινδρο.

Το δείγμα φωτομετρήθηκε **στα 470, 646, 663 και 720 nm**. Η απορρόφηση στα 720 nm οφείλεται σε πιθανό σκεδασμό και όχι σε φωτοσυνθετικές χρωστικές, οπότε αφαιρέθηκε απ' τις υπόλοιπες μετρήσεις.

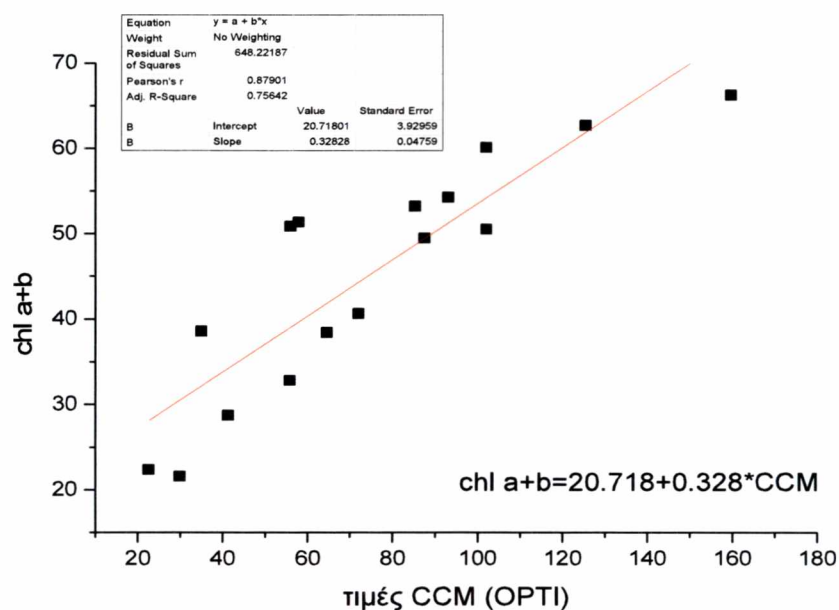
Το δείγμα είναι μείγμα χλωροφύλλης a, b και καροτενοειδών, οπότε το φάσμα απορρόφησης προέρχεται απ' όλες τις χρωστικές. Με τη χρήση των εξισώσεων Lambert-Beer και τις τιμές απορρόφησης που συγκεντρώθηκαν στα διάφορα μήκη κύματος, υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης a, χλωροφύλλης b και των καροτενοειδών. Οι εξισώσεις έδωσαν τιμές σε $\mu\text{g/ml}$ διαλύματος. Για να εκφραστεί κάθε χρωστική ανά g νεπού βάρους φυτού έγιναν αναγωγές με βάση το βάρος των φύλλων, τον όγκο του εκχυλίσματος και τις τυχόν αραιώσεις.

Οι εξισώσεις Lambert-Beer έχουν ως εξής:

- ✓ $c_a = 12.21A_{663} - 2.81A_{646}$
- ✓ $c_b = 20.13A_{646} - 5.03A_{663}$
- ✓ $c_{x+c} = (1000A_{470} - 3.27c_a - 104c_b) / 229$

Η πρότυπη καμπύλη που προέκυψε φαίνεται παρακάτω.

2.3.1 Πρότυπη καμπύλη χλωροφυλλών



Με την εξίσωση που προέκυψε: **chl a+b=20.718+0.328*CCM**, που πρακτικά είναι μια αντιστοίχιση της τιμής οργάνου με τις πραγματικές συγκεντρώσεις, υπολογίστηκαν οι χλωροφύλλες σε κάθε φυτό.

2.4 Προσδιορισμός προλίνης

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης προλίνης στα φύλλα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος όξινης νινυδρίνης, που προτάθηκε από τους Bates et al. (1973).

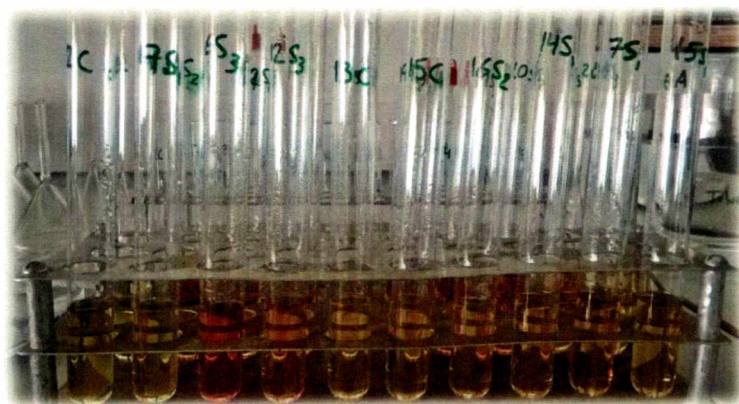
Τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν ανά δείγμα ήταν τα εξής: Αιθανόλη 80% (10 mL), 6M ορθοφωσφορικό οξύ, διάλυμα όξινης νινυδρίνης (2 mL), οξικό οξύ (2 mL), τολουόλιο (4 mL), ενώ χρειάστηκαν ακόμη πάγος, χωνιά και φίλτρα διήθησης.

Το αντιδραστήριο ορθοφωσφορικού οξέος βρίσκεται σε συγκέντρωση 14,8 M, οπότε υπόκειται την κατάλληλη αραιώση για να φτάσει τα 6 M (MB=98).

Το διάλυμα όξινης νινυδρίνης παρασκευάστηκε με 1,25 g νινυδρίνη, 30 mL οξικό οξύ και 20 mL 6 M ορθοφωσφορικό οξύ. Ακολούθησε ανάδευση και ελαφριά θέρμανση.

Στη συνέχεια ζυγίστηκαν 100 mg νωπού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Προστέθηκαν 10 mL υδατικού διαλύματος αιθανόλης 80%. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο 60 °C για 30' λεπτά. Ακολούθησε διήθηση σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες μέσω του χωνιού και του χάρτινου φίλτρου.

Από τους δοκιμαστικούς σωλήνες με το διήθημα, ελήφθησαν 2 mL διαλύματος και μεταφέρθηκαν σε νέους μεγάλους δοκιμαστικούς σωλήνες όπου και προστέθηκαν επιπλέον 2 mL αντιδραστηρίου όξινης νινυδρίνης και 2 mL οξικού οξέος (Εικόνα Υ6).



Εικόνα Υ6

Οι τελευταίοι σωλήνες σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο 100°C για 1 ώρα. Στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε πάγο (Εικόνα Υ7). Προστέθηκαν 4ml τολουολίου (Εικόνα Υ8) και πραγματοποιήθηκε ανάδευση για 15 δευτερόλεπτα. Έπειτα τα δείγματα αφέθηκαν να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου.



Εικόνα Y7

Ακολούθησε διαχωρισμός φάσεων: το χρωμοφόρο το οποίο περιέχει τολουόλιο διαχωρίζεται από την υδατική φάση του διαλύματος (Εικόνα Y9). Στη συνέχεια παραλήφθηκε το υπερκείμενο και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 520 nm με τυφλό τολουόλιο.

Οι απορροφήσεις μετατράπηκαν σε συγκέντρωση προλίνης σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη που δημιουργήθηκε με διαλύματα L-προλίνης γνωστών συγκεντρώσεων.

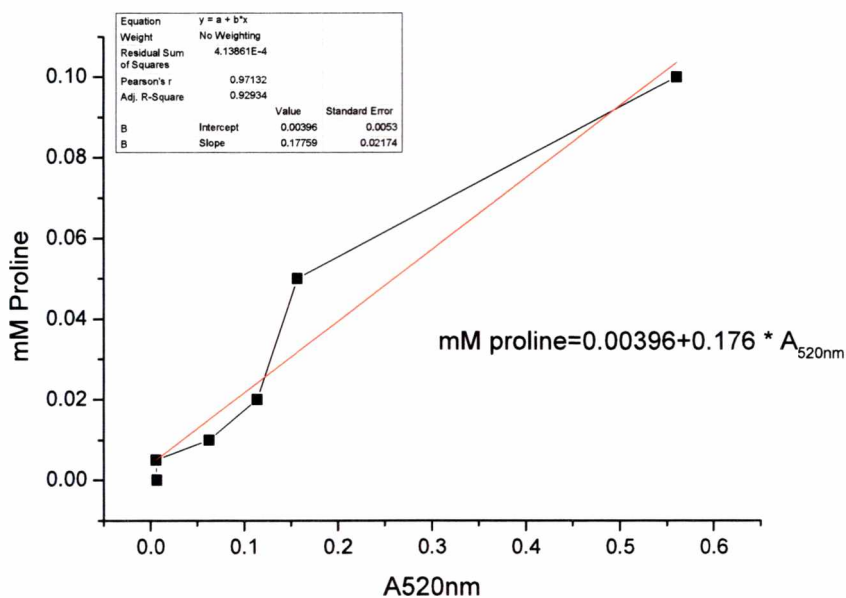


Εικόνα Y8



Εικόνα Y9

2.4.1 Πρότυπη καμπύλη προλίνης



Η εξίσωση που προέκυψε από την πρότυπη καμπύλη είναι η εξής:

$$\text{mM προλίνης} = 0,00396 + 0,176 * A_{520\text{nm}}$$

Η εξίσωση δίνει mM, δηλαδή mmol/L, άρα μmol/mL. Αυτά πολλαπλασιάζονται με τα mL εκχύλισης (10 mL) και ακολουθεί αναγωγή στα γραμμάρια (g) νωπού βάρους, έτσι ώστε η τελική έκφραση να είναι mM προλίνης ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου.

2.5 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών

Για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών των φύλλων ακολουθήθηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu (Waterman & Mole, 1994).

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: μεθανόλη, αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (Εικόνα Y11), διάλυμα Na₂CO₃ το οποίο παρασκευάζεται με 20 g σε 100 mL νερού.



Εικόνα Y11



Εικόνα Y12

Ζυγίστηκαν 150 mg κονιορτοποιημένου ξηρού δείγματος και τοποθετήθηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Προστέθηκαν 6 mL υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50%. Τα δείγματα σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 40 °C για 1 ώρα (Εικόνα Y12), υπό ήπια ανάδευση. Στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά στις 4000 rpm. Έπειτα παραλήφθηκε το υπερκείμενο και μεταφέρθηκε σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες.

Σε μεγαλύτερου μεγέθους δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν: 3,95 mL απιονισμένου νερού, 0,05 mL του υπερκειμένου, 0,25 mL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu. (Εικόνα Y13). Στο τυφλό διάλυμα σε αντικατάσταση των 0,05 mL του υπερκειμένου, προστίθενται 0,05 mL υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50%.



Εικόνα Y13

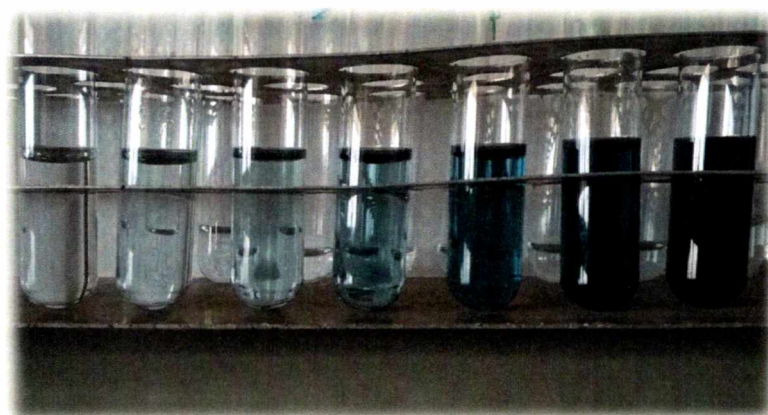
Τα διαλύματα ανακινούνται έντονα και σε διάστημα 1-8 λεπτών προστίθενται 0,75 mL διαλύματος ανθρακικού ασβεστίου (Εικόνα Υ14). Ανακινούνται και πάλι και αφήνονται για επώαση σε θερμοκρασία δωματίου, με συχνές ανακινήσεις, για 2 ώρες.

Σε χρονικό διάστημα 1-8 λεπτών μετράται η απορρόφηση στα 760 nm.



Εικόνα Υ14

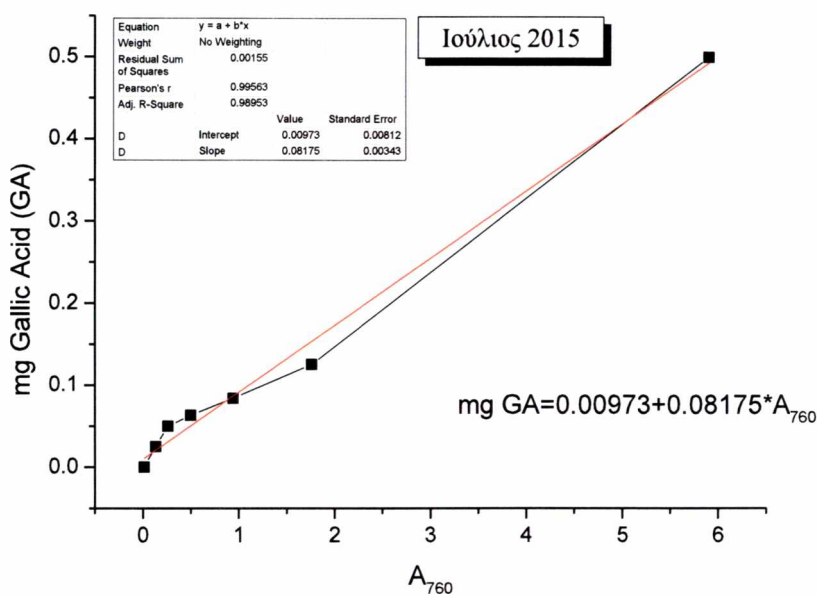
Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών εκφράζεται σε mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος ανά g ξηρής ουσίας. Επομένως, αναγκαίο ήταν να δημιουργηθεί μια πρότυπη καμπύλη για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις **γαλλικού οξέος** (gallic acid, $C_7H_6O_5$). Δημιουργήθηκε ένα stock διάλυμα με 100 mg γαλλικού οξέος σε 10ml νερό, στο οποίο πραγματοποιήθηκαν διάφορες αραιώσεις προκειμένου να επιτευχθούν οι κατάλληλες συγκεντρώσεις. Έτσι δημιουργήθηκε μία διαβάθμιση στο χρώμα που αναπτύχθηκε (Εικόνα Υ10) με το πιο σκούρο να είναι η μέγιστη συγκέντρωση.



Εικόνα Υ10

Παρακάτω φαίνεται η καμπύλη αναφοράς όπως προέκυψε. Η εξίσωση $\text{mgGA}=0.00973+0.08175+A760$ συσχέτισε ουσιαστικά τη περιεκτικότητα σε γαλλικό οξύ με τις απορροφήσεις στα 760 nm.

2.5.1 Πρότυπη καμπύλη φαινολικών



2.6 Τελική συλλογή

Έπειτα από δύο μήνες ανάπτυξης των φυτών του σταμναγκαθιού υπό συνθήκες αυξημένης αλατότητας, πραγματοποιήθηκε η τελική συλλογή. Την ημέρα της τελικής συλλογής έγινε η μέτρηση της συνολικής επιφάνειας των φύλλων και στη συνέχεια έγινε διαχωρισμός των φύλλων για τις διάφορες μετρήσεις που θα ακολουθούσαν.

Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν μορφολογικές (πάχος φύλλου, διάμετρος ροζέτας, νωπό βάρος φυτού, συνολική επιφάνεια φυτού, μέση επιφάνεια φυτού, αριθμός φύλλων, ξηρό βάρος φυτού) και βιοχημικές (προσδιορισμός φαινολικών ουσιών, προλίνης, φωτοσυνθετικών χρωστικών).

Κάποια φύλλα, που επιλέχθηκαν τυχαία, συντηρήθηκαν σε βαθιά κατάψυξη για τους χημικούς προσδιορισμούς των φωτοσυνθετικών χρωστικών και της προλίνης και κάποια άλλα, επίσης μετά από τυχαία επιλογή, αποξηράνθηκαν για το χημικό προσδιορισμό των φαινολικών ουσιών.

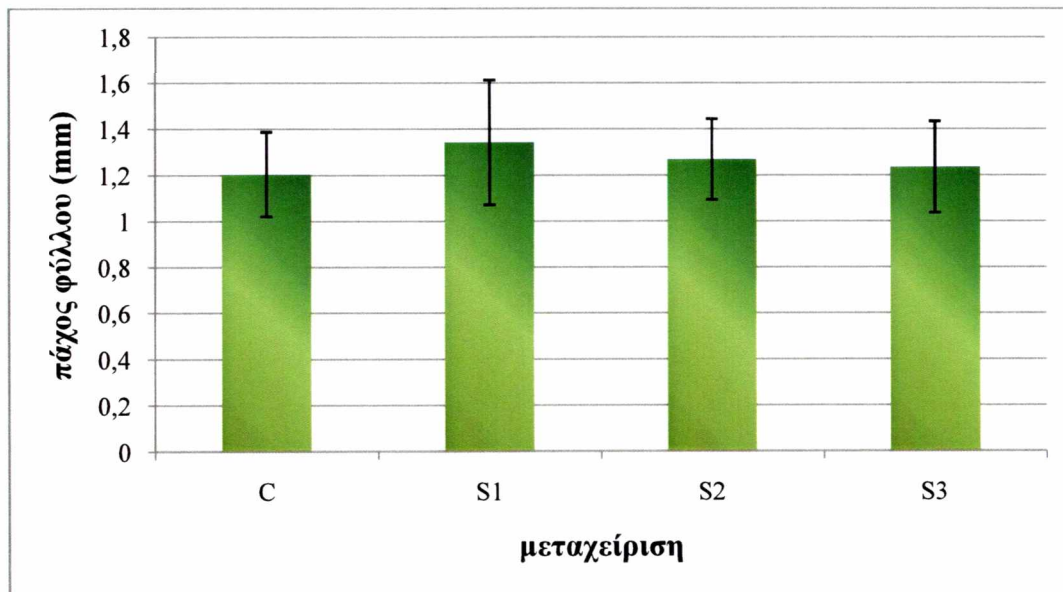
2.7 Στατιστική επεξεργασία

Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο IBM SPSS Statistics version 21.0 for Windows (IBMCorp.). Ο έλεγχος των στατιστικώς σημαντικών διαφορών έγινε με One-way ANOVA και Tuckey HSD προκειμένου να προσδιοριστούν οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.

3. Αποτελέσματα

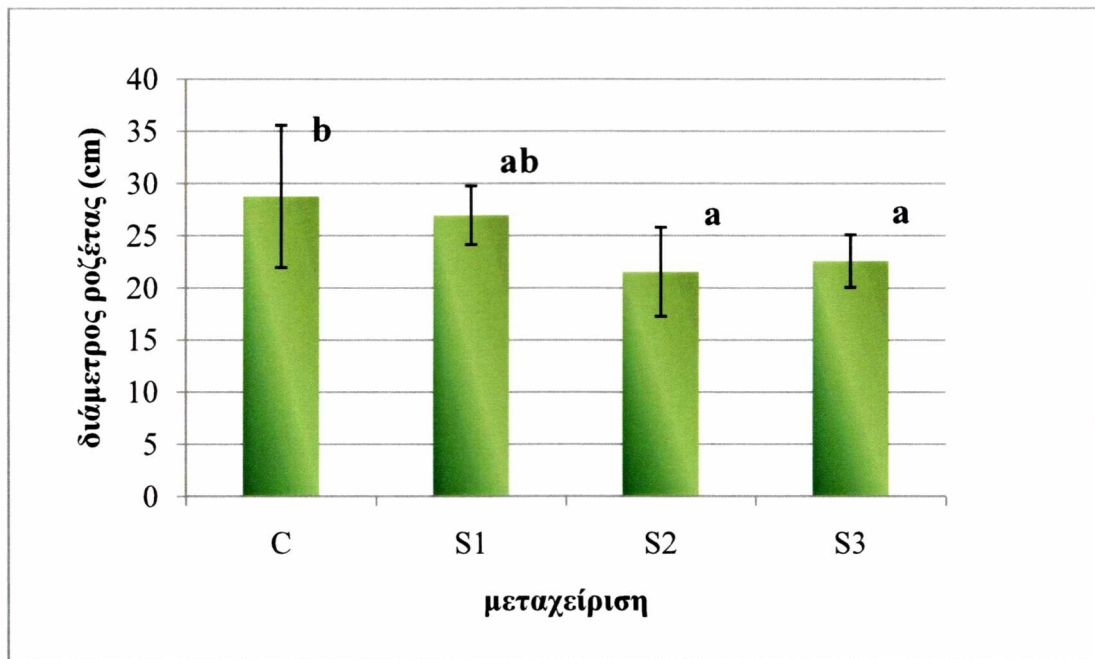
Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα γραφήματα που προέκυψαν από τις διάφορες μετρήσεις κατά την συγκομιδή των φυτών μετά από δύο μήνες υπό συνθήκες αυξημένης αλατότητας. Παρουσιάζονται αρχικά οι μορφολογικές παρατηρήσεις και στη συνέχεια τα αποτελέσματα των βιοχημικών αναλύσεων.

3.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά



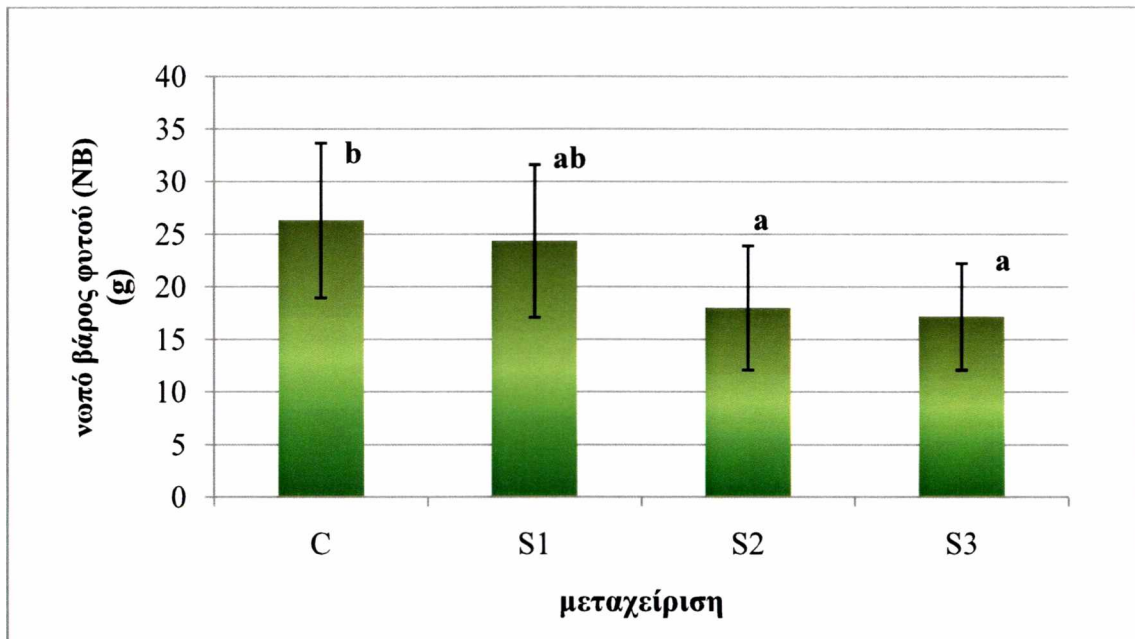
Σχήμα 1: Πάχος φύλλων των διαφόρων μεταχειρίσεων (Μ.Ο.±SD).

Σε ότι αφορά το πάχος του φύλλου όπως αυτό μετρήθηκε κατά την τελική συλλογή, δεν καταγράφηκε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων. Μία μικρή τάση για παχύτερα φύλλα παρουσιάστηκε στα φυτά της ομάδας S1.



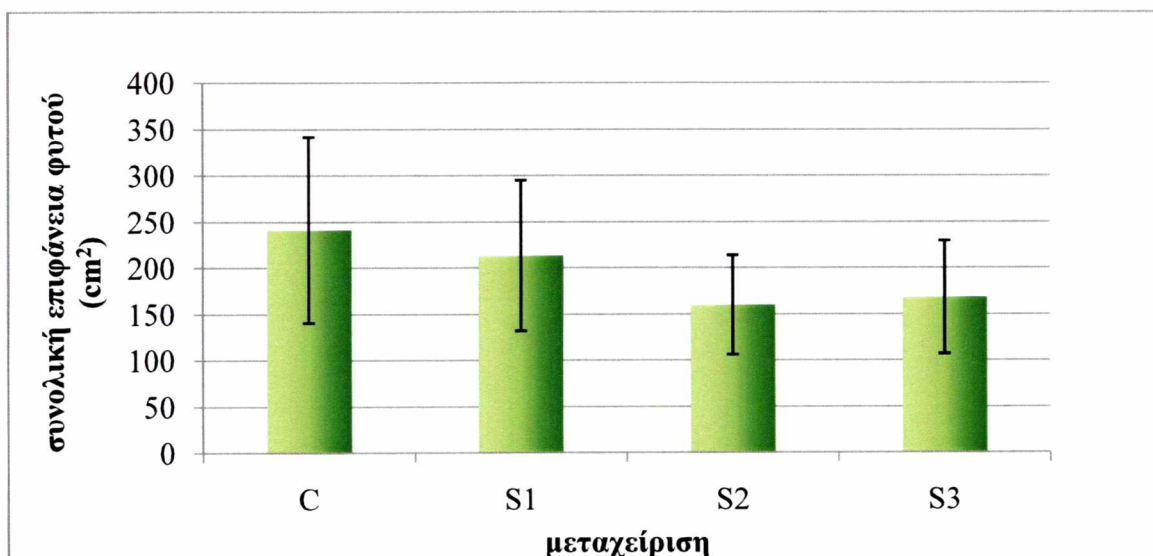
Σχήμα 2: Διάμετρος ροζέτας διαφόρων μεταχειρίσεων (M.O.±SD). Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο $p < 0.05$.

Από την One-way ANOVA και τον Tuckey HSD έλεγχο, προέκυψε ότι στατιστικά σημαντικές διαφορές εμφανίζονται ανάμεσα στις μεταχειρίσεις C (μάρτυρας) και S2, και ανάμεσα σε C και S3. Τα φυτά των μεταχειρίσεων S2 και S3 εμφάνισαν μικρότερη διάμετρο ροζέτας από τα φυτά μάρτυρες.



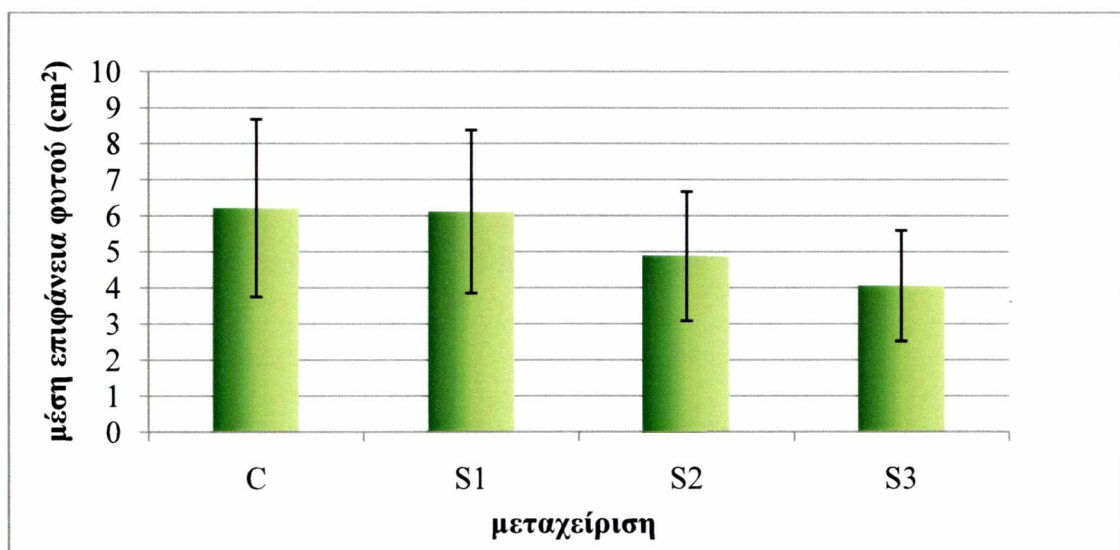
Σχήμα 3: Νωπό βάρος φυτού διαφόρων μεταχειρίσεων (M.O.±SD). Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο $p < 0.05$.

Στατιστικά σημαντικές διαφορές στο νωπό βάρος των φυτών, εμφανίστηκαν ανάμεσα στις μεταχειρίσεις C και S2, και ανάμεσα σε C και S3, με τις μεταχειρίσεις S2 και S3 να εμφανίζουν σημαντική μείωση του νωπού βάρους του φυτού.



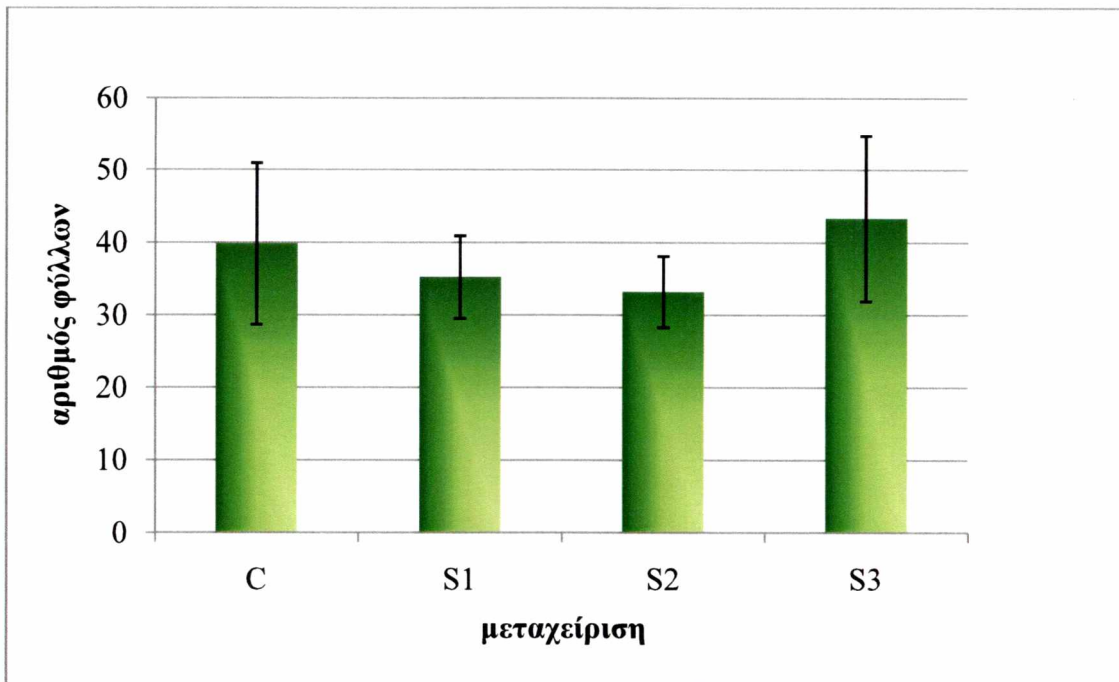
Σχήμα 4: Συνολική επιφάνεια φύλλων των φυτών διαφόρων μεταχειρίσεων (M.O.±SD).

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συνολική επιφάνεια του φυτού στις διάφορες μεταχειρίσεις. Μία πτωτική τάση, όμως, εμφανίζεται στις μεταχειρίσεις όπου χορηγήθηκαν αλατούχα διαλύματα (S1, S2, S3) σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες (C).



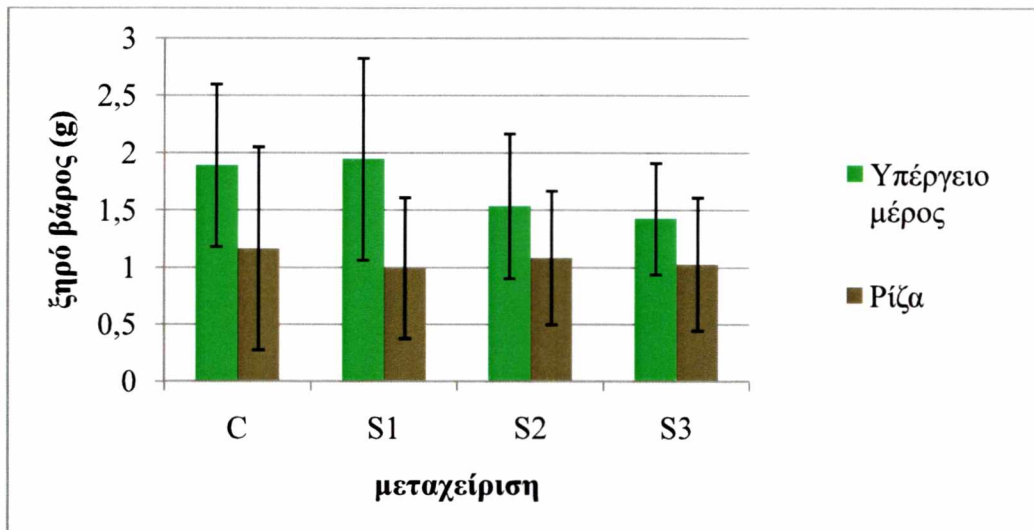
Σχήμα 5: Μέση επιφάνεια φύλλων των φυτών διαφόρων μεταχειρίσεων (M.O.±SD).

Δεν παρατηρήθηκε καμιά στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέση επιφάνεια των φύλλων των φυτών που προσδιορίστηκαν στις διάφορες μεταχειρίσεις, παρότι μία τάση για μικρότερα φύλλα είναι εμφανής στη μέτρια και την υψηλή αλατότητα.



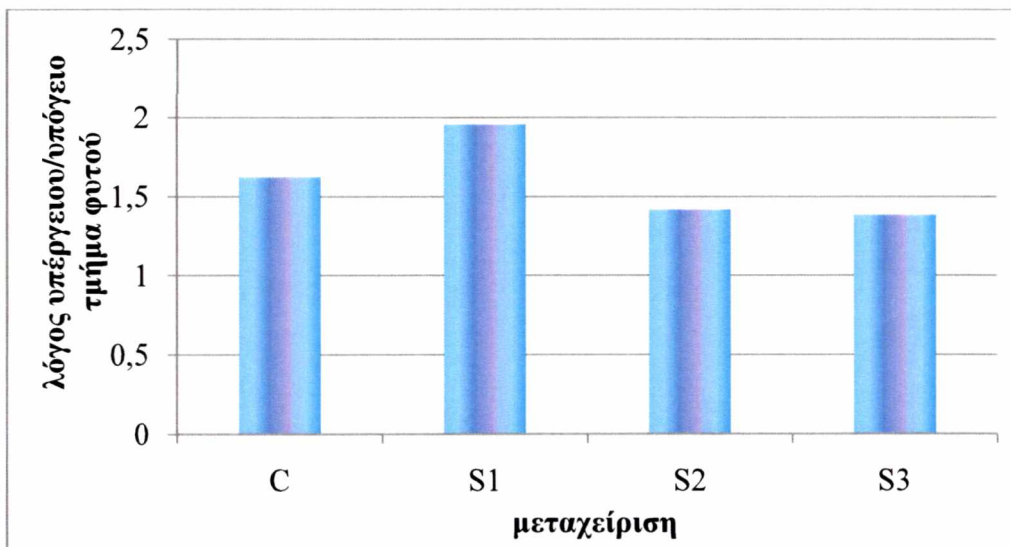
Σχήμα 6: Αριθμός φύλλων φυτού στις διάφορες μεταχειρίσεις (M.O.±SD).

Σχετικά με τον αριθμό των φύλλων του φυτού, δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις μεταχειρίσεις. Στη μεταχείριση S3, όμως, φαίνεται μία τάση για αύξηση του αριθμού των φύλλων σε υψηλές συγκεντρώσεις αλατότητας, σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις.



Σχήμα 7: Ξηρό βάρος φυτού, υπέργειου τμήματος και ριζικού, στις διάφορες μεταχειρίσεις (M.O.±SD).

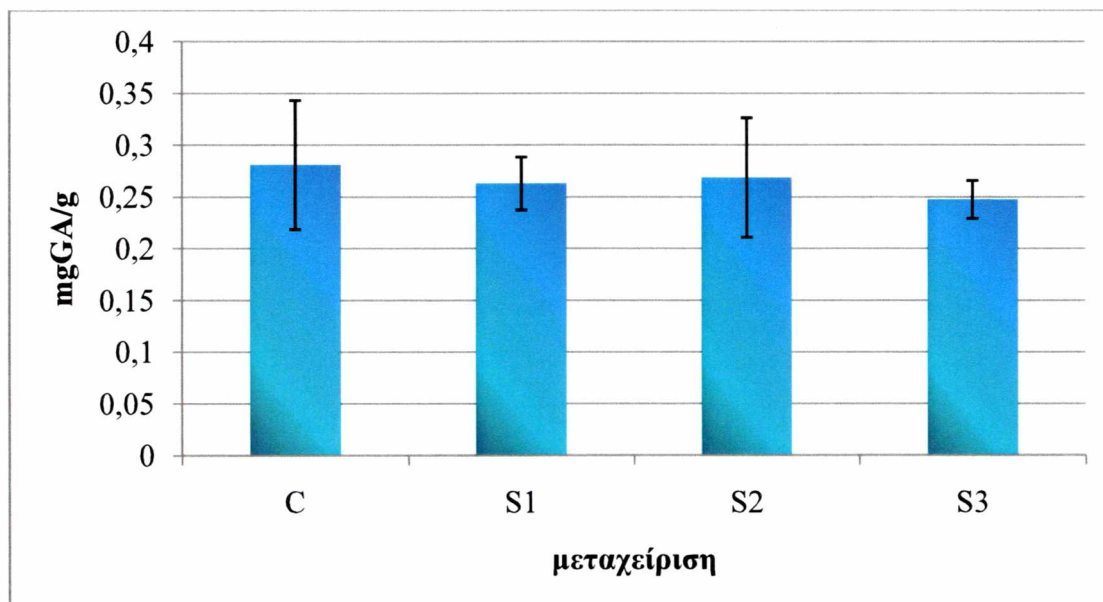
Στα δείγματα φυτών των διαφόρων μεταχειρίσεων που αποξηράνθηκαν και προσδιορίστηκε το ξηρό τους βάρος, δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ούτε στο υπέργειο τμήμα του φυτού, ούτε στο υπόγειο.



Σχήμα 8: Λόγος υπέργειου τμήματος προς υπόγειο τμήματος, στις διάφορες μεταχειρίσεις.

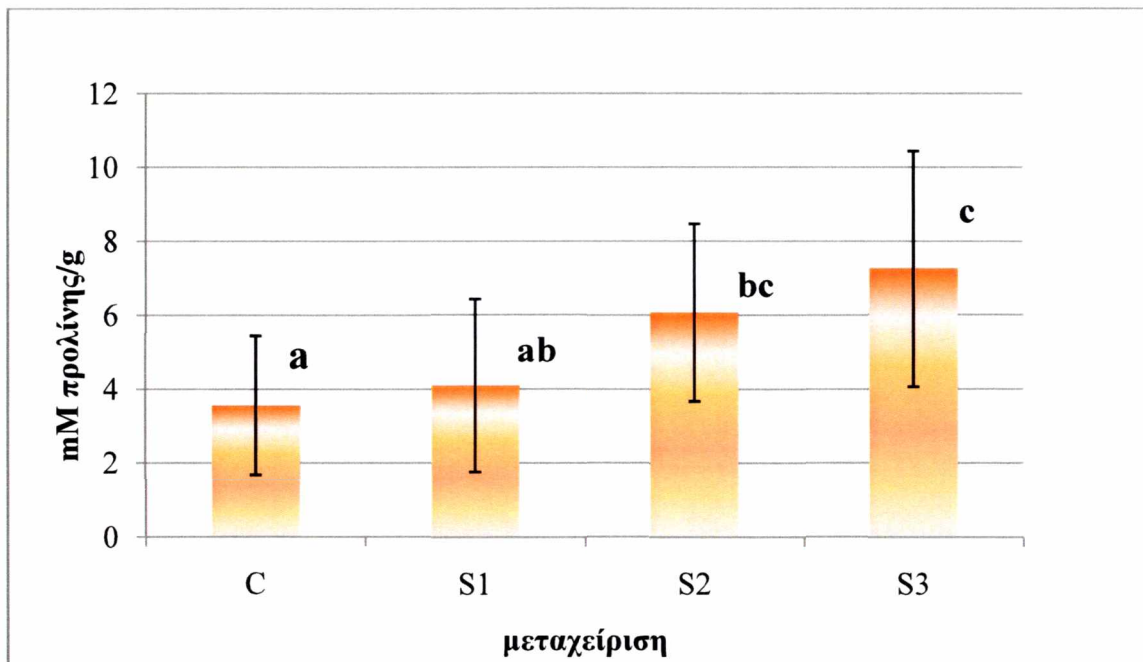
Από το λόγο υπέργειου τμήματος προς ριζικό, φαίνεται ότι ενώ στη μεταχείριση S1 το φυτό προτίμησε να επενδύσει σε υπέργειο μέρος, στις μεταχειρίσεις S2 και S3 ο λόγος υπέργειας/υπόγεια βιομάζα είναι μειωμένος.

3.2 Βιοχημικά χαρακτηριστικά



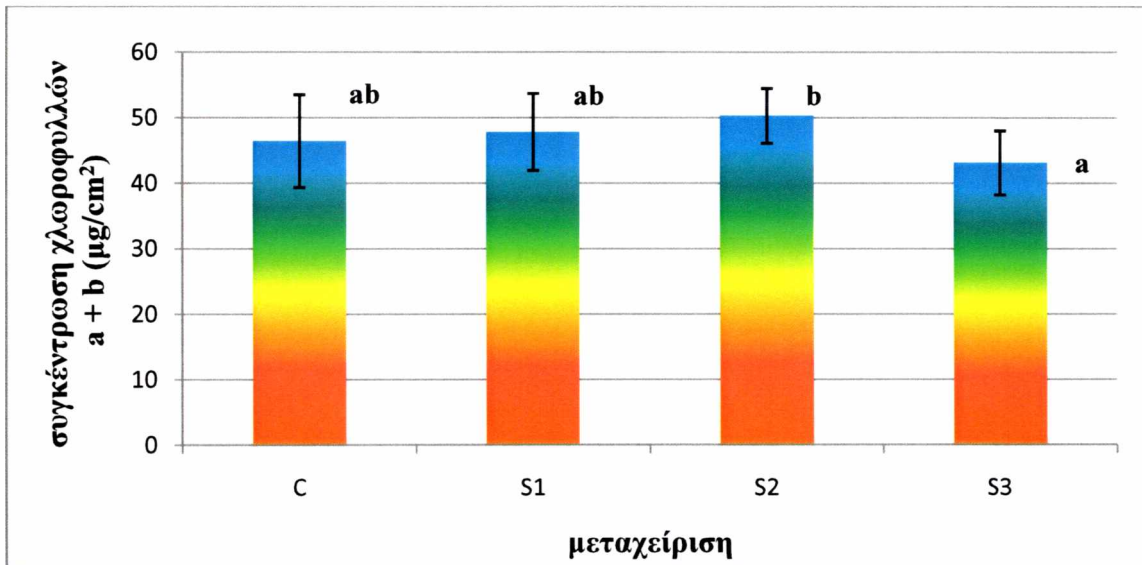
Σχήμα 9: Συγκέντρωση φαινολικών ουσιών των φύλλων, εκφρασμένη ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mg GA) ανά g ξηρού βάρους φύλλου (M.O. ±SD).

Οι συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών ουσιών των φύλλων δεν επηρεάστηκαν από την αυξημένη αλατότητα του εδάφους.



Σχήμα 10: Συγκέντρωση προλίνης των φύλλων, εκφρασμένη ανά g νωπού βάρους φύλλων (M.O.±SD). Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο $p < 0.05$.

Στατιστικά σημαντικές διαφορές βρέθηκαν ανάμεσα στα φυτά μάρτυρες και τα φυτά της μεταχείρισης S3 και ανάμεσα στα φυτά S1 και S3. Γενικώς όμως, παρατηρείται μια ανοδική πορεία της συγκέντρωσης προλίνης, όσο αυξάνεται η αλατότητα.



Σχήμα 11: Συγκεντρώσεις φωτοσυνθετικών χρωστικών: χλωροφυλλών a+b των φύλλων, εκφρασμένες σε $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (M.O. \pm SD). Τα διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην παράμετρο χλωροφύλλες a+b, σε επίπεδο $p < 0.05$.

Οι μόνες στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν ανάμεσα στις μεταχειρίσεις S2 και S3. Καμία άλλη στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε.

4. Συζήτηση

Παρά το γεγονός ότι το σταμναγκάθι (*Cichorium spinosum* L.) έχει δείξει μια ιδιαίτερη ανθεκτικότητα σε καταπονητικές συνθήκες, λίγες εκτενείς μελέτες έχουν γίνει για το συγκεκριμένο είδος. Αντίθετα, για το *Cichorium indybus*, είδος πολύ συγγενικό με το σταμναγκάθι, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες για την ανθεκτικότητα του στην αλατότητα και για τον τρόπο προσαρμογής του. Η αλατότητα ως καταπονητικός παράγοντας, πάντως, έχει απασχολήσει πολύ τα τελευταία χρόνια τόσο τους καλλιεργητές όσο και την επιστημονική κοινότητα.

Στη συνέχεια θα πραγματοποιηθεί αναλυτικότερη παρουσίαση των αποτελεσμάτων της συγκεκριμένης μελέτης, καθώς και σύγκριση τους με αποτελέσματα άλλων ερευνών σχετικά με το σταμναγκάθι, με το συγγενικό *C. indybus* και με την απόκριση διαφόρων καλλιεργούμενων φυτών στη ύπαρξη αλατούχου εδαφικού περιβάλλοντος.

Σχετικά με το πάχος των φύλλων, θα ήταν ίσως αναμενόμενο να παρατηρηθεί κάποια αύξηση πάχους φύλλου, με δεδομένο το φαινόμενο του παχυμορφισμού των φύλλων, προσαρμογή πολύ συχνή σε αλατούχα περιβάλλοντα. Παρ' όλ' αυτά, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις διάφορες μεταχειρίσεις, παρά μόνο μία τάση για αύξηση του πάχους των φύλλων στα φυτά της μεταχείρισης S1 (4 dS/m). Το αποτέλεσμα αυτό, συμφωνεί με τους Mendoni et al. 2014, οι οποίοι πραγματοποίησαν αντίστοιχο πείραμα σε φυτά σταμναγκαθίου και παρατήρησαν ότι το πάχος των φύλλων αυξήθηκε στα φυτά που αναπτύχθηκαν σε αλατότητες 4 dS/m σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Σε φυτά φασολιού και βαμβακιού όπου πραγματοποιήθηκαν αντίστοιχα πειράματα, βρέθηκε αύξηση του πάχους της επιδερμίδας (Longstreth and Nobel 1979).

Η διάμετρος της ροζέτας του φυτού παρουσίασε μία στατιστικά σημαντική μείωση στις μεταχειρίσεις S2 (6 dS/m) και S3 (8 dS/m) σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες, κάτι που συμφωνεί με τους Mendoni et al. 2014, οι οποίοι παρατήρησαν επίσης, ότι η διάμετρος της ροζέτας μειώθηκε κατά την αύξηση της αλατότητας. Ταυτόχρονα, πρέπει να σημειωθεί ότι σε μέτρια αλατότητα (4 dS/m) τα φυτά δε παρουσίασαν σημαντική διαφορά στη διάμετρο της ροζέτας τους σε σχέση με τους

μάρτυρες, κάτι που καταδεικνύει την ανθεκτικότητα και προσαρμοστικότητα του σταμναγκαθιού.

Στο νωπό βάρος του φυτού καταγράφηκε σημαντική μείωση στις μεταχειρίσεις S2 και S3. Στη συνολική και μέση επιφάνεια φύλλων του φυτού, όμως, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά, εκτός από μία εμφανή τάση στα φυτά των μεταχειρίσεων S2 και S3 για σχηματισμό μικρότερων φύλλων. Σχετικά με τον αριθμό των φύλλων, δεν βρέθηκε να υπάρχει καμία στατιστικά σημαντική διαφορά, μία τάση για αύξηση όμως των φύλλων συνόδευε τα φυτά της μεταχείρισης S3. Επομένως, το πρότυπο που αναδύεται για τα φυτά της υψηλής αλατότητας είναι ότι ανέπτυξαν μικρότερα και περισσότερα φύλλα εξισορροπώντας έτσι τη συνολική τους επιφάνεια στα επίπεδα των άλλων μεταχειρίσεων. Τα παραπάνω δεδομένα συμφωνούν με τους Mendoni et al. 2014 οι οποίοι σε μέτριες αλατότητες (4 dS/m) βρήκαν υψηλότερες τιμές στον αριθμό των φύλλων, στο νωπό βάρος φυτού και στη συνολική του επιφάνεια σε σχέση με τα φυτά που αναπτύχθηκαν σε αλατότητα 8dS/m, ενώ επίσης στις αλατότητες 8 dS/m παρατηρήθηκε μείωση του νωπού βάρους του φυτού σε σχέση με το μάρτυρα.

Μία πρόσφατη έρευνα των Klados and Tzortzakis (2014), έδειξε επίσης ότι η φυτική βιομάζα σε υψηλές αλατότητες υπέστη μείωση σε όλα τα υποστρώματα υδροπονικής καλλιέργειας που δοκιμάστηκαν (περλίτης, ελαφρόπετρα, πετροβάμβακας και άμμο) για το φυτό του σταμναγκαθιού. Επιπλέον, στην ίδια εργασία η υψηλή αλατότητα μείωσε τον αριθμό φύλλων του φυτού, το μέγεθος των φύλλων και τη βιομάζα σε φυτά με υπόστρωμα περλίτη, αλλά καμία διαφορά δεν καταγράφηκε στον αριθμό των φύλλων σε φυτά με υπόστρωμα άμμο.

Σε πειράματα με τομάτα, σημαντικές μειώσεις καταγράφηκαν στο βάρος βλαστού, στο ύψος φυτού, στον αριθμό φύλλων ανά φυτό και στην επιφάνεια της ρίζας κάτω από συνθήκες αυξημένης αλατότητας (Mohammad et al. 1998). Οι διαφορετικές παρατηρήσεις σε σχέση με τον αριθμό φύλλων οφείλονται ίσως στο διαφορετικό είδος φυτού και τους μηχανισμούς του για την αντιμετώπιση των καταπονήσεων.

Το ξηρό βάρος των φυτών της παρούσας μελέτης δεν έδειξε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των παρατηρήσεων. Ο λόγος, όμως, υπέργειου/υπόγειου τμήματος του φυτού, είχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον, αφού έδειξε ότι στη μεταχείριση S1

το φυτό επένδυσε σε υπέργεια βιομάζα, ενώ στις μεταχειρίσεις S2 και S3, ο λόγος μειώθηκε σημαντικά. Πιθανότατα το φυτό λόγω καταπόνησης, επένδυσε στο ριζικό σύστημα, σε μια προσπάθεια να αποφύγει την έλλειψη νερού, που έμμεσα προκαλεί η εδαφική αλατότητα. Ο λόγος υπέργειο/υπόγειο μέρος του φυτού μειώθηκε και σε πειράματα σε μαρούλι, σέλερυ και *Cichorium indybus* L., όσο αυξάνονταν τα επίπεδα αλατότητας (Pardosi et al. 1999).

Οι Klados and Tzortzakis 2014, έκαναν λόγο για αύξηση έως 42% στα ολικά φαινολικά σε φυτά σταμναγκαθιού που καλλιεργήθηκαν υδροπονικά με υπόστρωμα περλίτη σε αυξημένη αλατότητα (120 mmol/L αλατούχου διαλύματος NaCl), κάτι που δε συμφωνεί με τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης πτυχιακής διατριβής, αφού δεν φάνηκε να επηρεάστηκαν τα επίπεδα φαινολικών ουσιών από την αυξημένη αλατότητα. Η διαφορά των αποτελεσμάτων μπορεί να οφείλεται είτε στον τρόπο καλλιέργειας, είτε στο υπόστρωμα που επιλέχθηκε, είτε ακόμα και στη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για το χημικό προσδιορισμό των ολικών φαινολικών ουσιών.

Σε ότι αφορά το περιεχόμενο των φύλλων σε προλίνη, παρατηρήθηκε μία ανοδική πορεία στη συγκέντρωση της προλίνης όσο αυξάνονταν η αλατότητα. Συγκεκριμένα, εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές των μεταχειρίσεων C (μάρτυρες) και S1 σε σχέση με τα φυτά της μεταχείρισης S3. Το αποτέλεσμα αυτό ήταν αναμενόμενο αφού η προλίνη έχει ωσμορυθμιστική και αντιοξειδωτική δράση επομένως η σύνθεσή της επάγεται σε συνθήκες καταπόνησης. Έρευνες έδειξαν ότι τα επίπεδα προλίνης στα φύλλα αυξήθηκαν στο φυτό *Bruguiera parviflora* (χωρίς αλατούχους αδένες) και στο φυτό *Aegiceras corniculatum* (με αλατούχους αδένες) σε αυξημένες αλατότητες. (Parida and Das 2005). Επίσης, οι El-Shintinawy and El-Shourbagy (2001), σε μελέτες για την αλατότητα, παρατήρησαν ότι αμινοξέα όπως βαλίνη, ισολευκίνη, ασπαρτικό οξύ και προλίνη αυξήθηκαν σε φυτά που αναπτύχθηκαν σε αλατούχο περιβάλλον σε σχέση με τους μάρτυρες.

Τέλος, καμία σχεδόν στατιστικά σημαντική διαφορά δεν φάνηκε να υπάρχει στις φωτοσυνθετικές χρωστικές. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με Mendoni et al. 2014 και Klados and Tzortzakis 2014, οι οποίοι μετά από αντίστοιχα πειράματα στο σταμναγκαθί κατέληξαν ότι οι συγκεντρώσεις χλωροφυλλών δεν επηρεάστηκαν από την αλατότητα.

5. Συμπεράσματα

Μετά από μια πειραματική διαδικασία έντονης καταπόνησης του σταμναγκαθιού, βρέθηκε ότι σε αυξημένες αλατότητες της τάξης των 6-8 dS/m, η διάμετρος της ροζέτας του φυτού δέχτηκε έντονη μείωση. Αντίστοιχη μείωση καταγράφηκε και στο νωπό βάρος του φυτού, ενώ οι συγκεντρώσεις προλίνης έδειξαν να έχουν μια ανοδική πορεία όσο αυξάνονταν η αλατότητα.

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο πάχος των φύλλων, στην επιφάνεια και στον αριθμό των φύλλων στη ξηρή βιομάζα του φυτού, στη συγκέντρωση φαινολικών ουσιών, καθώς και φωτοσυνθετικών χρωστικών στις διάφορες μεταχειρίσεις.

Όλα τα παραπάνω δείχνουν όχι απλά την αντοχή του *C. spinosum* σε συνθήκες μέτριας αλατότητας, αφού δε φάνηκαν σχεδόν καθόλου διαφορές στις μέτριες αλατότητες σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες, αλλά και τον έντονο εγκλιματισμό του φυτού σε αυξημένες αλατότητες. Με μηχανισμούς δημιουργίας μικρότερων και περισσότερων φύλλων στο φυτό και με τη προτίμηση σε επένδυση υπόγειας βιομάζας, το σταμναγκαθί αντιμετώπισε τις συνθήκες αυτές, της έντονης καταπόνησης, επιτυχώς.

Φαίνεται, τέλος, να αποτελεί μια ιδιαίτερη, εναλλακτική καλλιέργεια σε εδάφη υποβαθμισμένα λόγω υπερβολικής άρδευσης, σε εδάφη κοντά σε παράκτιες περιοχές με αλατούχο νερό στα υπόγεια στρώματα και σε καταπονημένα εδάφη. Με την καλλιέργειά του, που έχει αρχίσει να εντείνεται τα τελευταία χρόνια, οι αποδόσεις και οι τιμές του στις αγορές εξασφαλίζουν στους αγρότες ικανοποιητικό εισόδημα, από ένα, άλλοτε άγονο, έδαφος.

6. Βιβλιογραφία

6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Apse M.P., Aharon G.S., Snedden W.A., Blumwald E., 1999. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. *Science*, 285:1256-1258.

Apse M.P., Blumwald E., 2007. Na⁺ transport in plants. *FEBS*, 581:2247-2254.

Bates L., Waldren R.P., Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

Boyd D.C., Rogers M.E., 2004. Effect of salinity on the growth of chicory (*Cichorium intybus* cv. Puna)- a potential dairy forage species for irrigation areas. *Animal Production Science* 44:189-192.

El-Shintinawy F., El-Shourbagy M.N., 2001. Alleviation of changes in protein metabolism in NaCl-stressed wheat seedlings by thiamine. *Biologia Plantarum* 44:541-545.

Klados E., Tzortzakis N., 2014. Effects of substrate and salinity in hydroponically grown *Cichorium spinosum*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14:211-222.

Knight H., Trewavas A., Knight M.R., 1997. Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. *The Plant Journal* 12:1067-1078.

Li J.Y., Jiang G.Q., Huang P., Ma J., Zhang F.C., 2007. Overexpression of the Na⁺/H⁺ antiporter gene from *Suaeda salsa* confers cold and salt tolerance to transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 90:41-48.

Liang M., Lin M., Lin Z., Zhao L., Zhao G., Li Q., Yin X., 2015. Identification, functional characterization, and expression pattern of a NaCl- inducible vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter in chicory (*Cichorium intybus* L.). *Plant Growth Regulation*, 75: 605-614.

Longstreth D.J., Nobel P.S., 1979. Salinity effects on leaf anatomy. *Plant physiology* 63:700-703.

- Maggio A., De Pascale S., Fagnano M., Barbieri G., 2011. Saline agriculture in Mediterranean environments. *Italian Journal of Agronomy* 6:36-43.
- Mendonzi E., Salonikioti A., Petropoulos S., Antoniadis V., Levizou E., 2014. *Cichorium spinosum* as a phytoremediation species. 11th International Phytotechnologies Conference at Heraclion, Crete.
- Michalska K., Kisiel W., 2007. Further sesquiterpene lactones and phenolics from *Cichorium spinosum*. *Biochemical Systematics and Ecology* 35: 714-716.
- Mitsuya S., Takeoka Y., Miyake H., 2000. Effects of sodium chloride on foliar ultrastructure of sweet potato (*Ipomoea batatas Lam.*) plantlets grown under light and dark conditions *in vitro*. *Journal of Plant Physiology* 157:661-667.
- Mohammad M., Shibli R., Ajlouni M., Nimri L., 1998. Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition. *Journal of plant nutrition* 21:1667-1680.
- Papafilippaki A., Paranychianakis N., Nikolaidis N.P., 2015. Effects of soil type and municipal solid waste compost as soil amendment on *Cichorium spinosum* (spiny chicory) growth. *Scientia Horticulturae* 195: 195-205.
- Pardossi A., Bagnoli G., Malorgio F., Campiotti C.A., Tognoni F., 1999. NaCl effects on celery (*Apiumgraveolens L.*) grown in NFT. *Scientia Horticulturae* 81:229-242.
- Parida A.K., Das A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60:324-349.
- Rhoades J.D., 1993. Electrical conductivity methods for measuring and mapping soil salinity. *Advances in Agronomy* 49: 201-251.
- Rozema J., Flowers T., 2008. Crops for a salinized world. *Science* 322:1478-1480.
- Shannon M.C., Grieve C.M., 1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae* 78:5-38.
- Shi H.Z., Lee B.H., Wu S.J., Zhu J.K., 2003. Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Biotechnology* 21:81-85.

6.2 Ελληνική βιβλιογραφία

Καραμπουρνιώτης Γ., Λιακόπουλος Γ., Νικολόπουλος Δ., 2012. Φυσιολογία Καταπονήσεων των Φυτών – οι Λειτουργίες των Φυτών κάτω από Αντίξοες Συνθήκες του Περιβάλλοντος, Εκδόσεις Έμβρυο.

Μανέτας Γ., (επιμελητής) 2005. Φυσιολογία Φυτών, Εκδόσεις Ιών.

6.3 Διαδικτυακές πηγές

ΕικόναE1:en.wikipedia.org/wiki/Mangrove#/media/File:Saltcrystals_on_avicennia_marina_var_resinifera_leaves.JPG



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



004000134368