

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
& ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Μ. Μ. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΟΥ

**«ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΝΕΑΡΩΝ
ΦΥΤΩΝ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ, ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ, ΣΟΡΓΟΥ ΚΑΙ ΤΕΥΤΛΩΝ, ΑΠΟ
ΤΗΝ ΕΚΘΕΣΗ ΤΟΥΣ ΣΕ ΥΨΗΛΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΟΖΟΝΤΟΣ (O₃)»**

ΒΟΛΟΣ 2004



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 4209/1
Ημερ. Εισ.: 16-12-2004
Δωρεά: Συγγραφέα
Ταξιθετικός Κωδικός: Δ
581.7
ΔΗΜ

«Επιπτώσεις στη Μορφολογία και τη Φυσιολογία νεαρών φυτών βαμβακιού, καλαμποκιού, σόργου και τεύτλων, από την έκθεσή τους σε υψηλές συγκεντρώσεις Όζοντος (O₃)»

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Γαλανοπούλου – Σενδουκά Στέλλα, Καθηγήτρια Τμήματος Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Σχολής Γεωπονικών Επιστημών Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γαλανοπούλου – Σενδουκά Στέλλα, Καθηγήτρια Τμήματος Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Σχολής Γεωπονικών Επιστημών Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ζερεφός Χρήστος, Καθηγητής Φυσικής της Ατμόσφαιρας στο Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Δρογούδη Παυλίνα, Ερευνήτρια Δ' στο Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Φυτών Νάουσας, ΕΘΙΑΓΕ.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οφείλω να ευχαριστήσω αρχικά και ιδιαίτερα την καθηγήτριά μου κα Στέλλα Γαλανοπούλου - Σενδουκά, καθηγήτρια της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Π.Θ. που από την αρχή με τις γνώσεις της και την ηθική της συμπαράσταση μου στάθηκε, ώστε να αντεπεξέλθω στις απαιτήσεις της μεταπτυχιακής μου διατριβής.

Στη συνέχεια πρέπει να ευχαριστήσω την κα Παυλίνα Δρογούδη, Ερευνήτρια στο Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Φυτών Νάουσας για όλη την πολύτιμη βοήθεια που μου παρείχε, καθώς και τον κο Ζερεφό Χρήστο, καθηγητή του Τμήματος Φυσικής της Ατμόσφαιρας του Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Πολλές ευχαριστίες στον κο Ιωάννη Τσιάλτα, Γεωπόνο, Δρ. Φυσιολογίας, από την EBZ, εργοστάσιο Λάρισας, ο οποίος με βοήθησε αρκετά με την εύρεση βιβλιογραφικών αναφορών καθώς και τη γνώση του πάνω στο αντικείμενο της Φυσιολογίας των Φυτών.

Θα ήθελα, ακόμη, να ευχαριστήσω τον κο Δημήτριο Βελισσαρίου, καθηγητή των ΤΕΙ Καλαμάτας, ο οποίος βοήθησε στο στήσιμο των πειραματικών θαλάμων και την εύρεση του απαραίτητου εξοπλισμού.

Επίσης ευχαριστώ τους κ.κ. Λόλα Πέτρο, Κοσμήτορα και Καθηγητή της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Π.Θ., Νάνο Γεώργιο, Επίκουρο Καθηγητή της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Π.Θ. και Βαρδαβάκη Εμμανουήλ, Λέκτορα της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Π.Θ., γιατί με την παροχή της βοήθειάς τους μπόρεσε να περατωθεί ομαλά η πορεία της έρευνας που αφορούσε την μεταπτυχιακή διατριβή.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω τους εργαζόμενους στο εργαστήριο Γεωργίας και ειδικά την κα Έλπη Σκουφογιάννη, Γεωπόνο ΕΔΤΠ, τον κο Δημήτριο Μπαρτζιάλη, Περιβαλλοντολόγο Δρ. Γεωπονίας και τον κο Μηνά Πολυχρονίδη, Γεωπόνο - Υποψήφιο Διδάκτορα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
II. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
1. Γενικά - Το ανθρωπογενές όζον	8
2. Δράση του όζοντος στα φυτά	10
3. Προβλήματα από το όζον στις καλλιέργειες	15
4. Τρόποι και μέθοδοι μέτρησης της ζημιάς	20
5. Τρόποι αντιμετώπισης του προβλήματος	22
III. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	26
IV. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	
1. Θάλαμοι ανάπτυξης με ελεγχόμενη εκπομπή O ₃	27
2. Φυτικό υλικό και συνθήκες ανάπτυξης	28
3. Παρατηρήσεις- Μετρήσεις	
i. Ορατά συμπτώματα	31
ii. Μέτρηση χλωροφύλλης	32
iii. Μέτρηση ύψους και φυλλικής επιφάνειας	33
iv. Μέτρηση υδατικού δυναμικού	33
v. Στατιστική ανάλυση των δεδομένων	33
V. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
1. Μακροσκοπικά συμπτώματα	34
2. Αποτελέσματα μέτρησης χλωροφύλλης	37
3. Αποτελέσματα μέτρησης φυλλικής επιφάνειας	41
4. Αποτελέσματα μετρήσεων υδατικού δυναμικού	45
VI. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
1. Βαμβάκι	49
2. Ζαχαρότευτλα	51
3. Καλαμπόκι - Σόργο	51
VII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	53
VIII. SUMMARY	60
IX. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	62

I. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εργασία αυτή ασχολείται με την επίδραση των υψηλών συγκεντρώσεων όζοντος (O_3) σε φυτά μεγάλης καλλιέργειας που έχουν οικονομική σημασία για την Ελλάδα, όπως : βαμβάκι, καλαμπόκι, σόργο και ζαχαρότευτλα. Τα φυτά αυτά αποτελούν εαρινές καλλιέργειες για τη χώρα μας, επομένως βρίσκονται εκτεθειμένα στο όζον κατά το μεγαλύτερο τμήμα του βιολογικού τους κύκλου, αφού το όζον είναι ιδιαίτερα αυξημένο κατά τις θερμές, ηλιόλουστες, καλοκαιρινές ημέρες.

Στο εισαγωγικό τμήμα της εργασίας γίνεται αρχικά αναφορά στη βιβλιογραφία που είναι σχετική με τη φυσική της ατμόσφαιρας και την παραγωγή του όζοντος στην τροπόσφαιρα. Στη συνέχεια αναφέρεται η βιβλιογραφία για τον τρόπο δράσης του αέριου ρύπου – όζοντος μέσα στα φυτά, μετά την εισαγωγή του από τα στόματα. Τελικά γίνεται ανασκόπηση στη βιβλιογραφία που αφορά ειδικά στην ζημία που παρουσιάζεται στις καλλιέργειες από το όζον και στους τρόπους διερεύνησης της και αντιμετώπισης ή αποκατάστασής της. Από την βιβλιογραφία γίνεται προφανές το ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον σε θέματα που αφορούν στην επίδραση αερίων ρύπων και ιδιαίτερα του O_3 στα φυτά.

Στην παρούσα εργασία γίνεται προκαταρκτική έρευνα για την επίδραση του O_3 στα φυτά που μελετώνται (βαμβάκι, ζαχαρότευτλα, καλαμπόκι και σόργο) καθώς και την αντίδραση τους στον ρύπο. Συγκεκριμένα η μελέτη έγινε στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών (δεύτερο ζεύγος μονίμων φύλλων στο βαμβάκι, και τρίτη εβδομάδα μετά τη σπορά για τα υπόλοιπα φυτά). Τα φυτά εκτέθηκαν σε δύο συγκεντρώσεις O_3 σε κλειστούς θαλάμους με ελεγχόμενη ροή του αερίου ενώ λειτουργούσε και θάλαμος – μάρτυρας με φίλτρο ενεργού άνθρακα.

Τα συμπτώματα που εξετάστηκαν περιελάμβαναν ορατά – μακροσκοπικά καθώς και μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά (χλωροφύλλη, φυλλική και ενεργός φυλλική επιφάνεια, υδατικό δυναμικό των φυτών).

Κυρίως από την παρατήρηση των μακροσκοπικών συμπτωμάτων βρέθηκε ότι τα δικοτυλήδονα – πλατύφυλλα (βαμβάκι, ζαχαρότευτλα) είναι πιο ευαίσθητα από τα μονοκοτυλήδονα κάτι το οποίο επιβεβαιώνει τη μέχρι σήμερα έρευνα. Από τις μετρήσεις των υπολοίπων χαρακτηριστικών βρέθηκε ότι τα φυτά αντέδρασαν στον αέριο ρύπο (O_3) με διαφορετική συμπεριφορά, ανάλογα το είδος, ακόμα και την ποικιλία.

Οι πληροφορίες που αποκομίστηκαν από τη συγκεκριμένη έρευνα ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες και αποτελούν κίνητρο για περαιτέρω διερεύνηση της επίπτωσης του O_3 στα φυσιολογικά κυρίως χαρακτηριστικά κάτω από συνθήκες υψηλών συγκεντρώσεων του ρύπου, σε διαφορετικά στάδια του βιολογικού κύκλου των φυτών.

II. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Γενικά - Το τροποσφαιρικό όζον

Το όζον (O_3) στο επίπεδο της στρατόσφαιρας λειτουργεί προστατευτικά στη βιόσφαιρα απορροφώντας την βλαβερή υπεριώδη ακτινοβολία, αντίθετα στην τροπόσφαιρα αποτελεί φυτοτοξικό ρύπο. Το τροποσφαιρικό, αποκαλούμενο όζον, αποκτά σημασία ως ρύπος σε πολλές περιοχές του κόσμου. Η μέση ετήσια συγκέντρωση στο Βόρειο Ημισφαίριο αυξήθηκε από 0,01 $\mu\text{mol/mol}$ σε 0,02 $\mu\text{mol/mol}$ τα τελευταία 100 χρόνια. Τις τελευταίες δεκαετίες καταγράφηκε αύξηση της συγκέντρωσης κατά 1% το χρόνο ακόμα και στις πιο απομακρυσμένες περιοχές του βορείου ημισφαιρίου (Khan and Soja, 2003).

Αναλύσεις που έγιναν σε ιστορικά δεδομένα συγκεντρώσεων O_3 , όπως τα στοιχεία του Montsouris στο Παρίσι από το 1876 ως το 1900 και του Moncalieri στην Β. Ιταλία από το 1868 ως το 1893, αποδεικνύουν ότι οι συγκεντρώσεις του O_3 στην επιφάνεια της ατμόσφαιρας έχουν τουλάχιστον διπλασιαστεί τα τελευταία 100 χρόνια (Volz and Kley, 1988, Anfossi *et al*, 1991). Βασισμένοι σε μετρήσεις συγκεντρώσεων O_3 που ξεκίνησαν στις αρχές της δεκαετίας του 1950, οι Feister και Warmbt (1987) συμπέραναν ότι παρουσιάζεται μια σημαντική αύξηση του 1 ως 3% ανά έτος στη συγκέντρωση όζοντος της ατμόσφαιρας στο ανατολικό τμήμα της Γερμανίας. Σύμφωνα με ορισμένα στοιχεία οι συγκεντρώσεις του όζοντος στην τροπόσφαιρα αυξήθηκαν κατά περίπου 10% ανά δεκαετία στην Ευρώπη κατά την 20ετία από το 1970 ως 1990 και ότι από την αρχή του 20^{ου} αιώνα μέχρι και το 1990 η συγκέντρωση όζοντος έχει διπλασιαστεί (Houghton *et al*, 1992).

Ο Fowler και οι συνεργάτες του (1999a,b) υποδεικνύουν ότι σχεδόν το ένα τέταρτο της επιφάνειας της γης βρίσκεται σε κίνδυνο από αυξημένο τροποσφαιρικό O_3 που μπορεί να υπερβαίνει τα 60 ppb

την καλοκαιρινή περίοδο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα επιπτώσεις στις καλλιέργειες και τη φυσική βλάστηση.

Συγκεκριμένα σε πολλές περιοχές με υψηλό πληθυσμό οι υδρογονάνθρακες και τα καυσαέρια που εκπέμπονται από τις μηχανές των κινητήρων είναι οι πρόδρομοι για την φωτοχημική παραγωγή τροποσφαιρικού όζοντος (Unsworth and Hogsett, 1996). Το τροποσφαιρικό O₃ αντίθετα με άλλους ρύπους δεν εκλύεται άμεσα στην ατμόσφαιρα αλλά είναι δευτερογενής ρύπος από την αντίδραση των οξειδίων του αζώτου (NO_x), των υδρογονανθράκων και του ηλιακού φωτός. Τα αέρια αυτά μεταφέρονται από την πηγή εκπομπής τους, που είναι οι μηχανές εσωτερικής καύσης (οχήματα, εργοστάσια, καυστήρες, κ.α.) που βρίσκονται σε πόλεις, στην ύπαιθρο όπου με τη παροχή της ηλιακής ενέργειας μετατρέπονται σε O₃ (<http://www.aeat.co.uk>).

Επειδή αυτές οι αντιδράσεις μετατροπής εξαρτώνται θετικά από τη θερμοκρασία και την ηλιοφάνεια, τα επεισόδια όζοντος (φωτοχημικά επεισόδια) είναι εξαιρετικά έντονα κατά τις θερμές, ηλιόλουστες, καλοκαιρινές ημέρες (Munn and Maarouf, 1997). Για τον ίδιο λόγο οι συγκεντρώσεις του O₃ παρουσιάζουν ετήσιες και ημερήσιες διακυμάνσεις κατά την καλλιεργητική περίοδο, (υψηλότερες από τον Απρίλιο μέχρι τον Σεπτέμβριο και κατά τις απογευματινές ώρες). Η ποσοτικοποίηση σε τοπικό επίπεδο του φορτίου O₃ είναι ιδιαίτερα δύσκολη εξαιτίας των μεγάλων εναλλαγών στις συγκεντρώσεις των πρόδρομων του αερίων στην ατμόσφαιρα και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που οδηγούν στην δημιουργία του (Dammgen and Weigel, 1998). Οι συγκεντρώσεις του O₃ στην ατμόσφαιρα, κυμαίνονται από 20 ως 60 ppb (nl/l) με έντονα επεισόδια που μπορεί να φτάνουν στα 250 ppb (Sandermann, 1996).

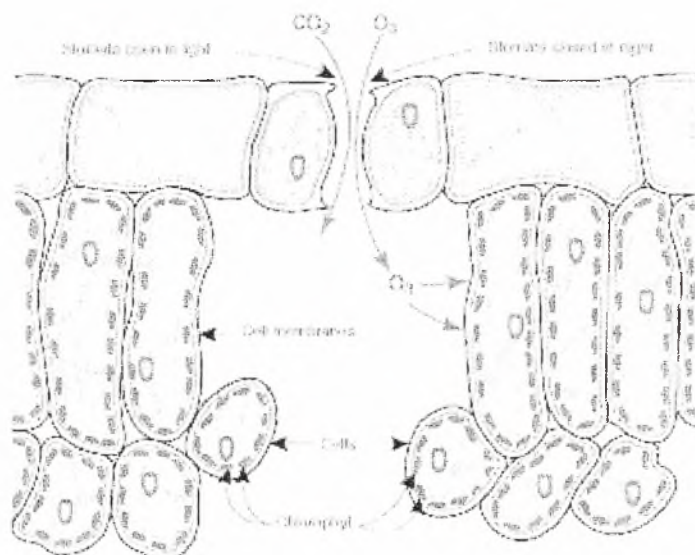
Οι συγκεντρώσεις του όζοντος παρουσιάζουν μεγαλύτερη διακύμανση στην ύπαιθρο, σε αντίθεση με τις αστικές περιοχές όπου οι μεταβολές είναι μικρού εύρους. Εκτός από μεμονωμένα επεισόδια

οι μέσες συγκεντρώσεις όζοντος είναι υψηλότερες σε αστικές περιοχές από ότι στην ύπαιθρο, όπου οι ημερήσιες και ετήσιες διακυμάνσεις είναι πιο διακριτές (Dammgen and Weigel, 1998). Έχει αποδειχθεί ότι οι αλλαγές αυτές στις συγκεντρώσεις του O₃ ήταν υπεύθυνες για τη μείωση στην αύξηση-ανάπτυξη και απόδοση αρκετών καλλιεργειών (Unsworth and Hogsett, 1996). Οι συγκεντρώσεις του O₃ στην ατμόσφαιρα εκτιμήθηκε ότι μειώνουν την απόδοση πολλών καλλιεργειών από 5-30% αν και αναφέρονται μειώσεις και πάνω από 50% (Van de Geijn *et al*, 1993).

2. Δράση του όζοντος στα φυτά

Η αντίδραση των φυτών στο O₃ μπορεί να χαρακτηριστεί ως το αποτέλεσμα μιας σειράς φυσικών, βιοχημικών και φυσιολογικών διεργασιών. Το O₃ διαχέεται από τον αέρα στο φυτό μέσα από τα στόματα, για το λόγο αυτό τα στόματα αποτελούν σημείο ελέγχου της εισόδου του όζοντος στο φυτό (Unsworth and Hogsett, 1996). Μετά από την διάχυση του όζοντος στο φυτό (Εικ.1) η συγκέντρωση στους ενδοκυττάριους χώρους μειώνεται απότομα. Αν και αυτό καταδεικνύει αποτοξίνωση, τελικά παράγονται δευτερογενώς προϊόντα από την διάσπαση του όζοντος (οξειδωτικές ουσίες), ή δευτερεύοντα μόρια διαβιβαστές, που μπορούν να επιδράσουν στην φωτοσύνθεση ή στην έκφραση των γονιδίων για το πώς θα αντιδράσει το φυτό στο περιβαλλοντικό O₃ (Sandermann, 1996). Συγκεκριμένα το όζον μετά την εισαγωγή του από τα στόματα διασπάται στο νερό που περιέχεται στους μεσοκυττάριους χώρους όπου και συμμετέχει σε διάφορες αντιδράσεις παραγωγής οξειδωτικών ουσιών (ενεργά ιόντα οξυγόνου, ελεύθερες ρίζες) (Morgan *et al*, 2003). Το όζον, καθώς και οι δευτερογενώς παραγόμενες ενώσεις, όπως οι ελεύθερες ρίζες, είναι ισχυρά οξειδωτικά και προκαλούν συμπτώματα διάφορων τύπων (χλώρωση η νέκρωση που συγχέονται με την πρόωρη γήρανση) (Agricultural Research Service, 1998). Οι ουσίες αυτές, αν δεν αποτοξινωθούν από το φυσικό μηχανισμό του φυτού, επιδρούν στις μεμβράνες και

διαταράσσουν αρκετές λειτουργίες τους. Εισέρχονται στο κύτταρο όπου και παρεμβαίνουν σε πολλές μεταβολικές διαδικασίες, όπως μείωση της φωτοσύνθεσης και της ποσότητας της Rubisco (πολύ-ένζυμο με οξειδωτική και αναγωγική δράση, καρβοξυλάση της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης), που είναι από τα αρχικά συμπτώματα έκθεσης στο όζον. Οι μεταβολικές αυτές διαδικασίες ακολουθούνται από επιταχυνόμενη γήρανση, μείωση της φυλλικής επιφάνειας, της αφομοίωσης άνθρακα, του μεταβολισμού των υδατανθράκων και του αζώτου, μεταβολές στην αναπνοή που επιφέρουν μεταβολές στην κατανομή (partitioning) των μεταβολιτών με τελικό αποτέλεσμα τη χαμηλότερη συσσώρευση βιομάζας (Van de Geijn *et al*, 1993, Morgan *et al*, 2003, Grantz *et al*, 2003).



Εικόνα 1. Η είσοδος του όζοντος από τα στόματα (Agriculture and Agrifood –Canada, 2001)

Σε πειράματα που έγιναν σε φυτά βαμβακιού και καρπουζιού παρουσιάστηκε αύξηση της αναπνοής των ριζών και μείωση της αφομοίωσης του διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) στα φύλλα, όταν αυτά εκτέθηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος (Grantz *et al*, 2003). Η αναστολή και διακοπή της φωτοσύνθεσης και η καταστροφή των χρωστικών φωτοσύνθεσης είναι δευτερεύοντα συμπτώματα. Αρχικά το όζον εισέρχεται από τα στόματα και ο πρώτος στόχος του είναι οι μεμβράνες του πρωτοπλάσματος με

αποτέλεσμα την καθυστέρηση μεταφοράς των σακχάρων από τα φύλλα (Meyer *et al*, 1997).

Από έρευνα που έγινε σε φυτά φράουλας διαπιστώθηκε ότι όσον αφορά την επίδραση της αυξημένης συγκέντρωσης όζοντος στην απόδοση αυτή σχετίζεται περισσότερο με μείωση του ρυθμού φωτοσύνθεσης και λιγότερο στην επίδραση στην κατανομή των φωτοσυνθετικών προϊόντων (Drogoudi and Ashmore, 2000 & 2001).

Επομένως ο ρόλος της αγωγιμότητας των στομάτων είναι σημαντικός για την είσοδο του όζοντος στα φυτά (Εικ.1) και τελικά επηρεάζει τα φυτά όσο και η συγκέντρωση του όζοντος στον περιβάλλοντα χώρο (Panek *et al*, 2002). Τα στόματα σε υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος (πάνω από 200 ppb) αντιδρούν με μερικό κλείσιμο. Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις έχουν καταγραφεί ερεθίσματα για άνοιγμα ή κλείσιμο, ανάλογα με το είδος του φυτού και τις συνθήκες περιβάλλοντος. Η υδατική κατάσταση του φυτού είναι ιδιαίτερα σημαντική (Van de Geijn *et al*, 1993).

Γενικά το όζον προκαλεί ζημιά στα φύλλα, μειώνει τη διαπνοή, το σχετικό ρυθμό ανάπτυξης, την αύξηση της φυλλικής επιφάνειας, τον λόγο βιομάζας ρίζας/ βλαστό, την παραγωγή βιομάζας και αναπαραγωγικών οργάνων και επιταχύνει τη γήρανση (Temple *et al*, 1988). Τα παλαιότερα φύλλα είναι πιο ευαίσθητα (Myhre *et al*, 1988 & Taylor *et al*, 2002). Η σχέση της ζημιάς στα φύλλα και της παραγωγής βιομάζας είναι χαρακτηριστική για κάθε είδος (Van de Geijn *et al*, 1993).

Το όζον μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα φύλλα με μια ευρεία σειρά συμπτωμάτων σε πολλά φυτά. Τα συμπτώματα διαφέρουν ανάλογα με το φυτό και την έκθεση στον ρύπο (αν είναι για βραχείας ή μακράς διάρκειας). Η έκθεση για βραχύ χρονικό διάστημα στο ρύπο προκαλεί οξεία βλάβη η οποία περιλαμβάνει νέκρωση των κυττάρων που εμφανίζεται μετά από κάποιες ώρες ή λίγες ημέρες έκθεσης σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος (>120ppb)

(Morgan *et al*, 2003). Η οξεία βλάβη εκφράζεται ως στίγματα, κηλίδες, λεύκανση και νέκρωση (Εικ.2) και των δύο επιφανειών του φύλλου. Η μακράς διάρκειας έκθεση προκαλεί χρόνια βλάβη η οποία παρουσιάζεται μετά από αρκετές ημέρες ή και εβδομάδες έκθεσης στο όζον, σε συγκεντρώσεις σχετικά χαμηλότερες, και μπορεί να εμφανιστεί ως χλώρωση (Εικ.3), αλλαγή χρωματισμού του φύλλου, πρόωρη γήρανση και νέκρωση (Velissariou *et al*, 1996, Morgan *et al*, 2003) και μείωση της παραγωγής και της ποιότητας των καρπών. Ωστόσο, οι μηχανισμοί που σχετίζονται με την αντίδραση των φυτών στην βραχείας διάρκειας έκθεση στο O₃ είναι γνωστό ότι είναι διαφορετικοί από εκείνους που σχετίζονται με την μακράς διάρκειας έκθεση.



Εικόνα 2. Ορατά συμπτώματα από όζον σε φύλλα καρπουζιάς (Benjamin *et al*, 1999)



Εικόνα 3. Χλώρωση σε φύλλα φασολιάς λόγω επίδρασης όζοντος

Η εμφάνιση ορατών συμπτωμάτων ως αντίδραση στην έκθεση σε O_3 , δεν συμπίπτει πάντα με μετρήσιμη επίδραση σε χαρακτηριστικά της ανάπτυξης και αυτό δυσχεραίνει το να χρησιμοποιηθεί η ζημιά στα φύλλα ως απόδειξη της ζημιάς από την έκθεση στο O_3 (Taylor *et al.*, 2002).

Τα φυτά έχουν κάποιους μηχανισμούς με τους οποίους μπορούν να αποτοξινωθούν από το όζον, ή τους μεταβολίτες του, όταν είναι σε χαμηλές συγκεντρώσεις και να διορθώσουν ή αναπληρώσουν τις ανεπιθύμητες επιδράσεις από την είσοδό του σε αυτά. Όταν οι αποθησαυριστικές ουσίες του φυτού διατίθενται για να διορθώσουν ή αναπληρώσουν τις ζημιές από το όζον, ή όταν η εισερχόμενη συγκέντρωση όζοντος στο φυτό είναι αρκετά υψηλή και χρειάζεται πλήρης αποκατάσταση, η ανάπτυξη και η απόδοση του φυτού μπορεί να μειωθούν χωρίς να παρουσιαστούν ορατά συμπτώματα (Unsworth and Hogsett, 1996).

Σε πειράματα που έγιναν σε σιτάρι διαπιστώθηκε ότι μετά από την έκθεση σε υψηλή συγκέντρωση όζοντος η αρνητική επίπτωση του O_3 στη ρίζα ήταν μεγαλύτερη από αυτή στο βλαστό. Αυτή η αντίδραση είναι χαρακτηριστική φυτών που εκτίθενται σε επίδραση αέριων ρύπων. Η ανισομερής ανάπτυξη του βλαστού έναντι της ρίζας και η πιθανή μείωση της ικανότητας των προσβεβλημένων φύλλων

να ελέγξουν την ικανότητα απώλειας του ύδατος (water loss efficiency) οδηγούν σε αυξημένη ευαισθησία των εκτιθέμενων φυτών-στην ξηρασία (Velissariou *et al*, 1992).

Η διαφορά μεταξύ των φυτών ως προς την ευαισθησία στο όζον μπορεί να οφείλεται στη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ουσιών στο συμπλάστη ή αποπλάστη (Sanmartin *et al.*, 2003), στην αγωγιμότητα των στομάτων, το μέγεθος του ενδοκυττάριου χώρου του φύλλου, και τα διαλυτά σάκχαρα (Sandermann, 1996).

Τα φυτά που βρίσκονταν σε πρώιμο στάδιο δεν έδειξαν σημαντική αντίδραση στο όζον ως προς τη φωτοσύνθεση, έντονη, όμως, επίδραση στη φωτοσύνθεση και την συσσώρευση υδατανθράκων μετρήθηκε όταν τα φυτά εκτέθηκαν κατά την άνθηση, ειδικά μετά από καταπόνηση υψηλής θερμοκρασίας (Meyer *et al*, 1997).

Η φυτοτοξικότητα από το O₃ είναι, όπως προαναφέρθηκε, σχετική με τις συγκεντρώσεις στις οποίες εκτίθενται τα φυτά καθώς επίσης και με μετεωρολογικές και φυσιολογικές μεταβλητές. Επομένως η πρόσληψη O₃ είναι καλύτερος δείκτης της φυτοτοξικότητας από ότι η έκθεση. Η προσλαμβανόμενη ποσότητα O₃ έχει μέτρο τη συνολική συσσωρευμένη δόση O₃ (total cumulative O₃ uptake - CUMFO₃ - μονάδες mmol/m²) που είναι διαφορετικό για κάθε γονότυπο και στην οποία συνυπολογίζεται η στοματική αγωγιμότητα (g_s) και η συγκέντρωση όζοντος της ατμόσφαιρας (Bermejo *et al*, 2002).

3. Προβλήματα από το όζον στις καλλιέργειες

Οι δυσμενείς επιπτώσεις του όζοντος και άλλων φωτοχημικών ρύπων στις καλλιέργειες διαπιστώθηκαν αρχικά στις ΗΠΑ στα τέλη της δεκαετίας του 1940. Τα προβλήματα ήταν ιδιαίτερα έντονα στη Νότια Καλιφόρνια εξαιτίας της υψηλής έκλυσης των πρόδρομων αερίων για την παραγωγή του όζοντος (οξειδία του αζώτου και υδρογονάνθρακες) και των κλιματολογικών συνθηκών που

ευνοούσαν τη δημιουργία του O₃. Παρατηρήθηκε ζημιά στα φύλλα σε αρκετά φυτικά είδη, όπως ετήσιες καλλιέργειες (π.χ. σιτηρά), φρούτα και διακοσμητικά φυτά (Sellden and Pleijel, 1993).

Οι πληροφορίες που αφορούν στις επιδράσεις του όζοντος στην ανάπτυξη και την παραγωγικότητα σε συνθήκες αγρού προέρχονται από πειράματα που έγιναν με θαλάμους ανοικτής οροφής (open top chambers). Αν και από πολλούς έχει αμφισβητηθεί η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από τη χρήση των θαλάμων, ακόμη και οι ενδείξεις που προέκυψαν με τη χρήση τους σε πειράματα ελέγχου της φυτοτοξικότητας του ατμοσφαιρικού όζοντος ήταν ιδιαίτερα χρήσιμες στην έρευνα (Krupa and Jager, 1996). Κατά καιρούς χρησιμοποιήθηκαν και άλλες μέθοδοι για τη μέτρηση της ζημίας που προκαλείται από το όζον στα φυτά όπως : κλειστοί θάλαμοι ελεγχόμενης εκπομπής όζοντος, χρήση EDU και σύστημα εκπομπής όζοντος με σωλήνες σε αγρό. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν ιδιαίτερα σημαντικά για κάθε περίπτωση και έδωσαν πληροφορίες για την επίδραση του όζοντος στα φυτά.

Αποδείχθηκε, από πειράματα με διάφορα φυτά και διαφορετικές συνθήκες έκθεσης, όπως και από παρατηρήσεις στον αγρό, ότι τα υπάρχοντα επίπεδα όζοντος στην Ευρώπη κατά το καλοκαίρι είναι ικανά να επηρεάσουν αρνητικά την απόδοση και ανάπτυξη καλλιεργειών, την ανάπτυξη των δέντρων και της φυσικής βλάστησης. Η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης όζοντος και της ανάπτυξης των φυτών είναι πολύπλοκη και εξαρτάται από τον τρόπο και την διάρκεια της έκθεσης στο όζον, τις συνθήκες ανάπτυξης και τη σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας. Επειδή οι αρνητικές επιδράσεις στην απόδοση επέρχονται όταν κάποιος συγκεκριμένος ρυθμός υπερβεί ένα καθορισμένο όριο και με βάση τη μεταβολή των συγκεντρώσεων όζοντος κατά την καλλιεργητική περίοδο, ορίστηκαν κρίσιμα επίπεδα πάνω από τα οποία παρουσιάζονται αρνητικές επιπτώσεις από την έκθεση στο όζον. Τα επίπεδα αυτά, όμοια για βραχυχρόνια ή μακροχρόνια έκθεση, βασίζονται στη «συσσωρευμένη δόση» (για περίοδο 5 ημερών ή 3 μηνών) πάνω από μια οριακή

συγκέντρωση 40 ppb κατά τις ώρες της ημέρας (accumulated O₃ threshold dose 40ppb - AOT 40) (Dammgen and Weigel, 1998).

Αρχικά στις ΗΠΑ εφάρμοσαν το άθροισμα όλων των συγκεντρώσεων όζοντος ανά ώρα, σε διάστημα 14 ωρών ημέρας, εκφράζεται σε ppb-ώρα (the sum of all daytime O₃ concentration - SUM0). και ονομάστηκε LEVEL I approach. Χρησιμοποιείται επίσης το SUM60 (το άθροισμα συγκεντρώσεων >60 ppb), το SUM80 (αντίστοιχα για συγκεντρώσεις >80 ppb). Αργότερα βρέθηκε πως οι επιπτώσεις σχετίζονται με την έκθεση κατά τη διάρκεια της ημέρας και πάνω από 40 ppb (ο δείκτης AOT40) και εφαρμόζεται το LEVEL II approach. Ο δείκτης AOT40 είναι το σταθερό μέτρο σύγκρισης και δικαιολογείται από το γεγονός ότι τα περισσότερα φυτά (εκτός από τα ευαίσθητα) παρουσιάζουν ζημία (ορατή ή μη) πάνω από το όριο των 40 ppb (Panek *et al.*, 2002).

Σε γενικές γραμμές τα δημητριακά, ως μονοκοτυλήδονα, είναι λιγότερο ευαίσθητα από άλλες καλλιέργειες, αλλά εντός του είδους η διακύμανση ως προς την ευαισθησία είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη μεταξύ των ειδών (Unsworth and Hogsett, 1996). Στα μονοκοτυλήδονα επειδή η διάταξη των φύλλων είναι πιο όρθια (ορθόφυλλα) δεν είναι το έλασμα τους τόσο εκτεθειμένο στο O₃ όσο είναι των δικοτυλήδονων - πλατύφυλλων, επομένως η ζημία είναι λιγότερο έντονη. Σύμφωνα με τους Krupa και Kickert (1989) τα κρεμμύδια, το σπανάκι, η πατάτα, η μηδική και το βαμβάκι φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες καλλιέργειες, αν και μπορούν να βρεθούν ανθεκτικές ποικιλίες εντός των ειδών. Τα όσπρια κυμαίνονται μεταξύ των ευαίσθητων και μέτρια ευαίσθητων καλλιεργειών και τα σιτηρά ενώ γενικά τα αγρωστώδη (φυτά λειμώνων, κ.α.) φαίνεται να είναι σχετικά ανθεκτικά.

Όσον αφορά τα σιτηρά και ιδιαίτερα τις ποικιλίες ανοιξιάτικου τύπου σιταριού (αυτές δηλαδή που καλλιεργούνται στην Ελλάδα κατά τη χειμερινή περίοδο) έγινε έρευνα για το αν οι νέες, βελτιωμένες ως προς την απόδοση, ποικιλίες είναι πιο ανθεκτικές ως προς το όζον έναντι των παλαιότερων (Barnes *et al.*, 1990,

Velissariou *et al*, 1992). Διαπιστώθηκε ότι οι νεώτερες ποικιλίες σε συνθήκες αυξημένου όζοντος ήταν πιο ευαίσθητες έναντι των παλαιών. Η επικρατέστερη από τις εξηγήσεις που δόθηκαν ήταν ότι οι νέες ποικιλίες χρειάζονται περισσότερο CO₂ για να επιτύχουν υψηλότερο ρυθμό φωτοσύνθεσης, επομένως οι νεώτερες ποικιλίες έχουν αυξημένη αγωγιμότητα στομάτων και απορροφούν περισσότερο όζον (O₃). Άλλη πιθανή αιτία είναι ότι οι νεώτερες ποικιλίες επιλέγηκαν κάτω από συνθήκες χρήσης αγροχημικών κάποια από τα οποία έχουν αντιοξειδωτική δράση με αποτέλεσμα να προλαμβάνονται και να αποκαθίστανται οι αρνητικές επιδράσεις του όζοντος.

Έχει αναφερθεί ότι φυτά με χαμηλότερο ρυθμό ανάπτυξης μπορεί να παρουσιάσουν μειωμένη ευαισθησία στο O₃ (Taylor *et al*, 2002). Επομένως οι παλαιότερες ποικιλίες οι οποίες είχαν μειωμένη αγωγιμότητα στομάτων, χαμηλότερο ρυθμό φωτοσύνθεσης και άρα χαμηλότερο ρυθμό ανάπτυξης έναντι των νέων ποικιλιών, είναι λιγότερο ευαίσθητες σε σύγκριση με τις νεώτερες ποικιλίες ως προς το O₃.

Υπάρχει αρκετά εκτενής βιβλιογραφία που ασχολείται με την αλληλεπίδραση άλλων βιοτικών ή αβιοτικών παραγόντων με το όζον και το πώς τελικά επηρεάζονται τα φυτά (US EPA, 1995):

➤ *Όζον και θερμοκρασία.*

Από μελέτες διαπιστώθηκε ότι η επίδραση της αύξησης της θερμοκρασίας δεν είναι άμεση αλλά έμμεση και συνδέεται με την αλλαγή που παρουσιάζεται στη διαβάθμιση του υδατικού δυναμικού (VPD-vapour pressure deficit) από τους μεσοκυττάριους χώρους προς την ατμόσφαιρα (τάση ατμών), όταν η σχετική υγρασία παραμένει σταθερή. Εφόσον το υδατικό δυναμικό επηρεάζει την αγωγιμότητα των στομάτων, τη διαπνοή και την αύξηση της φυλλικής επιφάνειας τότε

υπάρχει έμμεση αρνητική αλληλεπίδραση της θερμοκρασίας ως προς το όζον (US EPA, 1995, Tonneijck. and van Dijk, 1997b).

➤ *Όζον και νερό.*

Αποδείχθηκε μέσα από μελέτες ότι η καταπόνηση των φυτών λόγω έλλειψης νερού μειώνει τα αρνητικά αποτελέσματα από την έκθεση των φυτών στο όζον, λόγω της μείωσης του ανοίγματος των στομάτων (ως και κλείσιμο), που κατά συνέπεια μειώνει την ποσότητα εισερχόμενου όζοντος στο φύλλο. Όμως τα αποτελέσματα δεν είναι θετικά για όλες τις περιπτώσεις αφού όπως φάνηκε εξαρτάται από το μέγεθος και τη χρονική στιγμή που υποβάλλεται το φυτό σε «στρες» νερού (US EPA, 1995). Όταν η καταπόνηση είναι για μεγάλο χρονικό διάστημα η ζημιά από την έλλειψη υγρασίας είναι μεγαλύτερη από εκείνη που θα συνέβαινε λόγω της υψηλής συγκέντρωσης όζοντος.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό που έχει μελετηθεί είναι η WUE (water use efficiency-ικανότητα χρήσης νερού) και η μεταβολή της σε υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος. Από πειράματα που έγιναν σε σόγια και μηδική βρέθηκε ότι μειώνονταν η WUE των καλλιεργειών που εκτίθονταν σε υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος (Reich *et al*, 1985, Temple *et al*, 1988, Tingey *et al*, 1994). Επιπλέον σύμφωνα με τον Tingey και τους συνεργάτες του (1994) βρέθηκε ότι επηρεάστηκε η αφομοίωση του CO₂ και μειώθηκε η ικανότητα χρήσης τόσο του νερού όσο και του άνθρακα με επίπτωση στην παραγωγή φυλλικής επιφάνειας. Αντίθετα με τα παραπάνω βρέθηκε (Greitner and Winner, 1988) ότι η WUE αυξήθηκε σε σόγια και ραπανάκια.

Επομένως σχετική μείωση της υγρασίας μπορεί να μειώσει την ένταση των αρνητικών επιδράσεων από το όζον στην απόδοση, αλλά γενικά η μείωση της απόδοσης που προκύπτει από την έλλειψη υγρασίας υπερτερεί έναντι της προστασίας που παρέχει κατά του όζοντος. Σε καλά ποτισμένες καλλιέργειες η έκθεση σε όζον μεταβάλλει την WUE, αλλά η

κατεύθυνση (αρνητικά ή θετικά) και το μέγεθος εξαρτάται από περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες (Unsworth and Hogsett , 1996, Van de Geijn *et al*, 1993).

➤ Όζον και CO₂

Ιδιαίτερη σημασία έχει η αλληλεπίδραση του O₃ με το CO₂ της ατμόσφαιρας του οποίου οι συγκεντρώσεις αυξάνονται σημαντικά τα τελευταία χρόνια. Συγκεκριμένα παρουσιάστηκε ότι η αύξηση του CO₂ μπορεί να «αναπληρώσει» μερικώς τις αρνητικές επιπτώσεις στα φυτά από το αυξημένο O₃ και άλλους αέριους ατμοσφαιρικούς ρύπους (Miller *et al*, 1998). Η συγκεκριμένη συμπεριφορά των φυτών αιτιολογείται από το γεγονός ότι λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης CO₂ μειώνεται η στοματική αγωγιμότητα άρα δεν εισέρχονται μεγάλες ποσότητες όζοντος από τα στόματα. Μια άλλη εξήγηση είναι ότι πιθανόν να υπάρχει στα φυτά μηχανισμός που σχετίζεται με την αύξηση στην καθαρή φωτοσύνθεση (παραγωγή υδατανθράκων) και οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή μεταβολιτών και ενέργειας, με αποτέλεσμα το φυτό να προλαμβάνει και αποκαθιστά τη ζημιά από το όζον (Heagle *et al*, 1998).

4. Τρόποι και μέθοδοι μέτρησης της ζημιάς

Διάφορες μέθοδοι και πειραματικές προσεγγίσεις χρησιμοποιούνται για να εκτιμηθεί η ζημιά που προκαλείται από το όζον στα φυτά. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγεται η έκθεση των φυτών στο χωράφι αφού έχουν δεχτεί σκευάσματα όπως η αιθυλική διουρία (Ethylenediurea – EDU) το Benomyl κ.α., τα οποία βρέθηκε πως προσφέρουν προστασία από το O₃. Πειράματα έκθεσης των φυτών σε φιλτραρισμένο αέρα σε κλειστούς θαλάμους στο εργαστήριο ή σε θερμοκήπιο και θαλάμους ανοικτής οροφής (open – top – chambers) ή σε θερμοκήπια με εξαερισμό (Fumagalli *et al*, 1997).).

Η ευαισθησία των φυτών στην επίδραση της ρύπανσης διαφέρει από είδος σε είδος. Ορισμένα φυτά είναι τόσο ευαίσθητα που χρησιμοποιούνται και ως βιολογικοί δείκτες (ποικιλίες τριφυλλίου και καπνού). Τα φυτά δείκτες χρησιμοποιούνται σε πολλές βιολογικές εφαρμογές, αλλά ειδικότερα στον τομέα της ρύπανσης είναι πολύτιμα εργαλεία. Η ποικιλία του Αλεξανδρινού τριφυλλίου «Λητώ» αποδείχθηκε από πειράματα που έγιναν από τους Βελισσαρίου και Κυριαζή (1994) στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο στην Κηφισιά ότι είναι φυτό δείκτης του όζοντος και σε αρκετά χαμηλές συγκεντρώσεις (50ppb για 12 ώρες). Δύο υπερευαίσθητες ποικιλίες καπνού που δημιουργήθηκαν με ιστοκαλλιέργεια αντιδρούν και σε συγκεντρώσεις 30 ppb όζοντος για έκθεση τεσσάρων ωρών σε θαλάμους ή σε εξωτερικό χώρο. Ο τρόπος της δημιουργίας υπερευαίσθητων δεικτών όζοντος με ιστοκαλλιέργεια φαίνεται να εξυπηρετεί στην περίπτωση που χρησιμοποιούνται για έλεγχο του αέρα (Sun and Kang, 2003).

Η χρήση μηχανικών μετρητών και παθητικών δεικτών βοήθησαν να υπολογιστούν οι συγκεντρώσεις όζοντος σε εκτεταμένες περιοχές και να δημιουργήσουν σταθερές της ποιότητας του αέρα όπως τις AOT40 και SUM60. Καταγεγραμμένα στοιχεία σχετικά με το όζον και οι δείκτες AOT40 και SUM60 χρησιμοποιούνται επίσης για να προβλεφθεί πιθανή ζημία σε τοπικό και περιφερειακό επίπεδο. Στις μετρήσεις και στους παραπάνω δείκτες δεν περιλαμβάνονται ούτε υπολογίζονται περιβαλλοντικές και βιολογικές μεταβλητές που επηρεάζουν την πρόσληψη του όζοντος και την επίπτωση στο φυτό (Manning, 2003).

Για να εκτιμηθεί αν σε κάποια συγκεκριμένη περιοχή τα επίπεδα του όζοντος είναι υψηλά (φυτοτοξικά) παρατηρούνται τα ορατά συμπτώματα στα ευαίσθητα φυτά. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση ενεργών ή παθητικών δεικτών. Οι παθητικοί δείκτες είναι ενδημικά φυτά ευαίσθητα στο όζον που φύονται στον φυσικό τους χώρο και οι ενεργητικοί είναι φυτά με γνωστή ευαισθησία που

καλλιεργούνται σε περιοχές που ζητείται να διευκρινιστεί αν τα επίπεδα του όζοντος είναι φυτοτοξικά (Velissariou *et al*, 1996).

Εκτός από τους μετρητές, οι μετρήσεις σε εγκατεστημένες φυτείες φυτών δεικτών (surveys) βοηθούν στο να προβλεφθεί ικανοποιητικότερα η τελική ζημία από τη συγκέντρωση του όζοντος. Ιδιαίτερα χρήσιμα ήταν σε περιπτώσεις εκτεταμένων περιοχών, όπως απομακρυσμένα δάση ή μέρη με άγρια βλάστηση. Με τον τρόπο αυτό δημιουργήθηκαν χάρτες από τους οποίους φαίνεται ποιες περιοχές έχουν υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος. Έτσι δημιουργήθηκαν οι σταθερές AOT40 και SUM60 που σχετίζονται με τις συγκεντρώσεις όζοντος που είναι επιβλαβείς για τα φυτά. Φυσικά η δημιουργία σταθερών που θα περιλαμβάνουν και την αγωγιμότητα των στομάτων θα ήταν πιο αντιπροσωπευτική (όπως ο δείκτης CUMFO₃ που αναφέρθηκε παραπάνω). Αυτό μπορεί να γίνει σε τοπική ή περιφερειακή έκταση. Η χαρτογράφηση των αθροιστικών συγκεντρώσεων όζοντος είναι σημαντική για να εντοπιστούν περιοχές στις οποίες μπορεί να παρουσιαστεί ζημιά στα φυτά. (Manning, 2003).

Η προσέγγιση της εκτίμησης της ζημιάς στα φυτά με τον δείκτη AOT40 είναι ανεπαρκής για να επιβληθούν περιοριστικά μέτρα με σκοπό την προστασία της χλωρίδας. Η ποσότητα όζοντος που ενδιαφέρει από τοξικολογικής απόψεως είναι εκείνη που απορροφάται από τα στόματα. Σημαντικό είναι το μικροκλίμα που υπάρχει είτε αυτό είναι μέσα στους πειραματικούς θαλάμους είτε στον αγρό, γιατί είναι αυτό που καθορίζει την αντίδραση των φυτών (αγωγιμότητα στομάτων) (Grunhage and Jager, 2003).

5. Τρόποι αντιμετώπισης του προβλήματος

Η αντιοξειδωτική ουσία EDU μπορεί να παρέχει προστασία σε αρκετά φυτά από το όζον. Η αναλογική απόδοση αυξάνεται σε φυτά φασολιών στα οποία είχε προστεθεί EDU συγκρινόμενα με φυτά που δεν είχε προστεθεί EDU. Τα φυτά με EDU είχαν περισσότερα φύλλα

από τα μη-EDU. Φάνηκε επίσης ότι η EDU επιβραδύνει την εμφάνιση πρόωρης γήρανσης. Σε υψηλά επίπεδα O_3 τα φυτά φασολιών που δέχθηκαν EDU έδωσαν μεγαλύτερη απόδοση από εκείνα στα οποία δεν είχε προστεθεί EDU. Αντιθέτως, απουσία υψηλού επιπέδου O_3 η EDU μείωσε την απόδοση στο υπόγειο τριφύλλι (*Trifolium subterraneum*) (Tonneijck and Van Dijk, 1997a, b).

Σε πείραμα που έγινε από τους Βελισσαρίου και Κυριαζή (1996) χρησιμοποιήθηκε εκτός από την EDU και το Benomyl (ως αντιοξειδωτικό) και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χρήση του για προστασία των φυτών από τις δυσμενείς επιπτώσεις του O_3 μπορεί να εφαρμοστεί με ικανοποιητικά αποτελέσματα, σε μερικές μάλιστα περιπτώσεις καλύτερα από εκείνα που προέκυψαν με τη χρήση της EDU (ειδικά στην εφαρμογή ως ριζοπότισμα).

Μετρήθηκε η αντίδραση του συστήματος άμυνας ενάντια στις οξειδωτικές ουσίες, που προκύπτουν από την επίδραση του όζοντος, στους ιστούς του φύλλου σημαία (flag leaf) σε δύο ποικιλίες σιταριού, κατά την συνδυασμένη έκθεση σε όζον και υποβολή σε συνθήκες μειωμένης υγρασίας. Παρατηρήθηκε ότι το υδατικό δυναμικό του φύλλου της ανθεκτικής ποικιλίας ήταν σημαντικά χαμηλότερο από εκείνο της ευαίσθητης ποικιλίας. Η ξηρασία μείωσε το σύνολο των αντιοξειδωτικών ουσιών (ασκορβικό) και τη συνολική χλωροφύλλη, αύξησε τα καροτενοειδή και τις ξανθοφύλλες καθώς επίσης και τη συνολική συγκέντρωση γλουταθιόνης και τοκοφερόλης (Herbinger *et al*, 2002).

Επίσης σε πείραμα με συνδυασμό έκθεσης σε όζον και σε διοξείδιο του άνθρακα σιταριού, το αυξημένο όζον προκάλεσε ελάττωση της Rubisco και μείωση στο ρυθμό αφομοίωσης φωτοσυνθετικών ουσιών και ανάπτυξης του φύλλου σημαία (flag leaf). Το αυξημένο διοξείδιο του άνθρακα βελτίωσε τη ζημιά από το όζον. Οι μηχανισμοί βελτίωσης περιελάμβαναν προστατευτικό περιορισμό του ανοίγματος των στομάτων με σκοπό τη μείωση της διάχυσης του όζοντος στο μεσόφυλλο και επίδραση αποκατάστασης αυξημένου υποστρώματος για τον έλεγχο της φωτοαφομοίωσης και

φωτοσύνθεσης. Ο ρυθμός βελτίωσης και αποκατάστασης επηρεαζόταν από τις φυσικές - εποχικές συνθήκες και τις ημερήσιες εναλλαγές στο φως, τη θερμοκρασία και την υδατική κατάσταση του φυτού (Mc Kee *et al*, 2000).

Η λίπανση έχει σημαντική επίδραση στην έκφραση των επιδράσεων από το όζον σε βιοχημικό επίπεδο. Η δράση της οξειδάσης του πυρουβικού οξέος (PEP οξειδάση) και της Rubisco τριπλασιάστηκαν στα φυτά με υψηλή λίπανση. Σημαντική επίδραση από το όζον εμφανίστηκε στα παλαιότερα φύλλα φυτών με χαμηλή λίπανση. Εκεί αυξήθηκαν τα επίπεδα της σακχαρόζης, γλυκόζης και φρουκτόζης. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν ότι το O₃ μειώνει την αναλογία βιομάζας ρίζας / βλαστού. Επιπλέον η λίπανση είναι σημαντική για την διαφοροποίηση των επιπτώσεων από το όζον σε βιοχημικό επίπεδο. Τα επαρκώς λιπασμένα φυτά φαίνεται ότι αντιμετωπίζουν καλύτερα την επίδραση του όζοντος στον μεταβολισμό (Landlot *et al*, 1997). Τα φυτά που ήταν λιγότερο λιπασμένα ήταν πιο ευαίσθητα στο όζον από εκείνα που είχαν δεχθεί υψηλή λίπανση, παρόλο που τα χαμηλής λίπανσης μείωσαν της αγωγιμότητα των στομάτων και την διάχυση όζοντος (Whitfield *et al*, 1998).

Όταν τα φυτά υποβάλλονται σε συνθήκες έλλειψης υγρασίας (μειωμένη άρδευση) μειώνονται οι αρνητικές επιπτώσεις από την έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος. Σύμφωνα με το πείραμα των Khan και Soja (2003) το όζον μείωσε σημαντικά την απόδοση καλλιέργειας σιταριού όταν αυτή αρδεύονταν επαρκώς, ενώ στην περίπτωση που η άρδευση ήταν μειωμένη (έλλειψη υγρασίας) η μείωση της απόδοσης λόγω του όζοντος ήταν σχεδόν μηδενική. Η μείωση της απόδοσης θα μπορούσε να εκτιμηθεί καλύτερα αν χρησιμοποιούνταν μοντέλα συνδιακύμανσης που θα λάμβαναν υπόψη την απορρόφηση του όζοντος από το φυτό και όχι την έκθεσή του σε αυτό σε συνδυασμό με την υδατική κατάσταση του εδάφους (Khan and Soja, 2003).

Επειδή το όζον μειώνει, όπως αναφέρθηκε, το λόγο ρίζας/βλαστού μπορεί με ανάλογο χειρισμό στην ποσότητα της παρεχόμενης αζωτούχου λίπανσης να αντιστραφεί αυτό το αποτέλεσμα. Επιλέγοντας ένα σύστημα περιορισμένης αζωτούχου λίπανσης όταν υπάρχουν υψηλές συγκεντρώσεις O_3 το φυτό αναγκάζεται να αναπτύξει περισσότερο το ριζικό σύστημα και επομένως δεν μεταβάλλεται αρνητικά ο λόγος ρίζας/βλαστού (Grantz and Yang, 1996).

Ο Nakajima και οι συνεργάτες του (2002) πέτυχαν να βελτιωθεί η ανθεκτικότητα φυτών καπνού στο O_3 με τη χρήση της βιοτεχνολογίας (χρήση antisense DNA από φυτό ντομάτας). Τα διαγονιδιακά φυτά δεν είχαν ιδιαίτερες διαφορές ως προς τη μορφολογία και ανάπτυξη σε σύγκριση με τα αρχικά φυτά καπνού. Η αγωγιμότητα των στομάτων κατά την έκθεση των φυτών στο όζον ήταν μεγαλύτερη στα διαγονιδιακά φυτά από ότι στα αρχικά φυτά καπνού. Επομένως δεν παρουσιάστηκε μεταβολή στην πρόσληψη των αερίων της φωτοσύνθεσης άρα και της παραγωγής βιομάζας. Η τεχνολογία αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να βελτιωθεί η ανθεκτικότητα στο O_3 πολλών καλλιεργούμενων φυτών.

III. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Η παρούσα εργασία έχει ως αντικείμενό τη μελέτη της ύπαρξης ή μη ευαισθησίας στο O₃ σε διάφορες ποικιλίες καλλιεργούμενων φυτών με οικονομική σημασία για τη χώρα μας, όπως βαμβάκι, ζαχαρότευτλα, καλαμπόκι και σόργο. Τα παραπάνω φυτά επιλέγηκαν εκτός της οικονομικής τους σημασίας και για ιδιαίτερους λόγους το καθένα. Συγκεκριμένα για το βαμβάκι υπάρχουν ενδείξεις ότι ενώ δεν παρουσιάζει ορατά μακροσκοπικά συμπτώματα ζημιάς, εντούτοις είναι φυτό το οποίο παρουσιάζει μείωση στην τελική απόδοση του προϊόντος. Το καλαμπόκι συγκρίνεται με το σόργο γιατί ανήκουν στην ίδια οικογένεια και μελετάται η διαφοροποίηση τους και εξαιτίας των ανατομικών διαφορών των φύλλων τους (που προδικάζουν διαφορές ευαισθησίας στο όζον), του διαφορετικού τρόπου καλλιέργειας τους (σόργο με μειωμένες εισροές σε σχέση με το καλαμπόκι) αλλά και γιατί το σόργο παρουσιάζει ενδιαφέρον ως ενεργειακή καλλιέργεια, περισσότερο φιλική στο περιβάλλον. Τα ζαχαρότευτλα έχουν επίσης ερευνηθεί αλλά παρουσιάζει ενδιαφέρον για τη συγκεκριμένη μελέτη να ερευνηθεί αν υπάρχει διαφοροποίηση ανάλογα με την ποικιλία.

Η έρευνα αποσκοπεί επίσης στην παρατήρηση ορατών συμπτωμάτων από την επίδραση του O₃, μέτρηση φυσιολογικών χαρακτηριστικών και ερμηνεία των επιπτώσεων του ρύπου με βάση τις φυσιολογικές διεργασίες και αντιδράσεις του φυτού. Τελικός στόχος της έρευνας είναι μια πρώτη αξιολόγηση νεαρών φυτών σημαντικών καλλιεργειών για την Ελλάδα ως προς την αντίδρασή τους σε αυξημένη συγκέντρωση όζοντος

IV. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Θάλαμοι ανάπτυξης με ελεγχόμενη εκπομπή O_3

Οι θάλαμοι που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος είναι κύβοι, διαστάσεων 1m x 1m x 1,5 m (μήκος x πλάτος x ύψος) που ήταν τοποθετημένοι σε κλειστό μη θερμαινόμενο χώρο (εικ. 4). Οι θάλαμοι είναι κατασκευασμένοι από γυαλί στη οροφή και τη πρόσοψη και από αλουμίνιο στις υπόλοιπες πλευρές. Ο αέρας εισέρχεται στους θαλάμους με ανεμιστήρες παροχής αέρα 1m³/min. και σωληνώσεις PVC διαμέτρου 15 cm. Στο άνω μέρος του εσωτερικού των δύο θαλάμων στους οποίους διοχετεύεται όζον, αμέσως μετά την είσοδο του αέρα, συνδέεται διαφανής σωλήνας διαμέτρου 15cm από plexiglass με διάσπαρτες τρύπες για την ομοιόμορφη διάχυση του αέρα στο εσωτερικό του θαλάμου (εικ.5). Στους δύο θαλάμους όπου δέχτηκαν O_3 , πριν από την είσοδο του αέρα στο θάλαμο παρεμβάλλεται σωλήνας PVC μικρής διαμέτρου (2,5mm) που συνδέεται με πηγή παραγωγής όζοντος (T-Series, Trio Industries Inc., Florida, USA – εικ.6) και η συγκέντρωση O_3 στο εσωτερικό του θαλάμου ρυθμιζόταν με ειδική βαλβίδα ελεγχόμενης ροής. Στον τρίτο θάλαμο (μάρτυρας) πριν από την είσοδο του αέρα παρεμβάλλεται φίλτρο ενεργού άνθρακα (εικ.7) ώστε να απομακρύνονται τυχόν αέριοι ρύποι από τον εισερχόμενο ατμοσφαιρικό αέρα. Η συγκέντρωση O_3 στο εσωτερικό των θαλάμων καταγραφόταν με τη χρήση αναλυτή όζοντος (TXgard-IS, Crowcon, UK-εικ.8) που συνδεόταν με καταγραφέα δεδομένων (datalogger). Οι θάλαμοι φωτιζόνταν για 12 ώρες καθημερινά (7π.μ. – 7μ.μ.) με ειδικές λάμπες ανάπτυξης (metal halide floodlamps - Philips) τοποθετημένες σε ύψος 0,5m πάνω από κάθε θάλαμο.

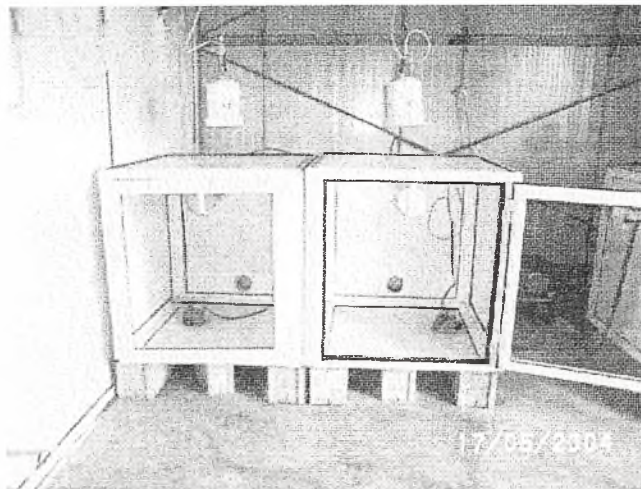
Στη συνέχεια τα φυτά, μετά από την έξοδο τους από τους θαλάμους, παρέμειναν για μία ημέρα στον χώρο του Εργαστηρίου πριν γίνουν οι απαραίτητες μετρήσεις.

2. Φυτικό υλικό και συνθήκες ανάπτυξης

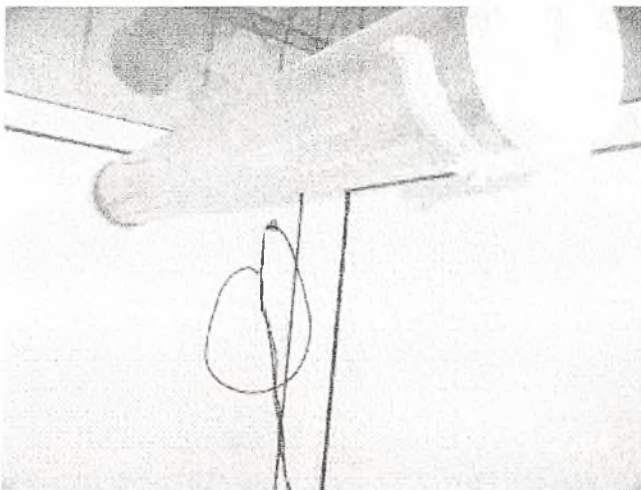
Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στους χώρους του Εργαστηρίου Γεωργίας του Τμήματος Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος στις εγκαταστάσεις της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Φυτόκο Ν. Ιωνίας, Ν. Μαγνησίας, το καλοκαίρι του 2003. Σπόροι από τέσσερις ποικιλίες βαμβακιού (*Gossypium hirsutum* L.) Midas, Celia, Sandra και Carmen, τριών ποικιλιών ζαχαροτεύλων (*Beta vulgaris* L.) Corsica, Europa και Rival, μίας ποικιλίας καλαμποκιού (*Zea mays* L.) Costanza, και μίας ποικιλίας σόργου (*Sorghum bicolor* L.) Κρόκιο σπάρθηκαν σε πλαστικούς δίσκους σαράντα θέσεων (εικ. 9) που περιείχαν τύρφη και περλίτη σε αναλογία 3:1 και φύτεψαν σε συνθήκες κλειστού δωματίου με κυμαινόμενη θερμοκρασία σε ημερήσια βάση ανάμεσα 26°C (μέγιστη) και 15°C (ελάχιστη). Όταν τα φυτά βρίσκονταν στο στάδιο του δεύτερου ζεύγους μονίμων φύλλων (20 ημέρες μετά τη σπορά για το βαμβάκι και 15 ημέρες από τη σπορά για τα υπόλοιπα φυτά) οι δίσκοι μεταφέρθηκαν στους τρεις κλειστούς θαλάμους, με ελεγχόμενη εκπομπή O₃. Τοποθετήθηκε ένας δίσκος ανά ποικιλία μέσα στον οποίο είχαν σπαρθεί σαράντα σπόροι και είχαν φυτρώσει ισάριθμα φυτά με ομοιόμορφη ανάπτυξη.

Τα φυτά δέχτηκαν τρία επίπεδα O₃, 0 ppb O₃ (μάρτυρας-θάλαμος που δέχτηκε φιλτραρισμένο αέρα), 50 ppb και 100 ppb O₃ για έξι ώρες την ημέρα (από 10:00 μέχρι 16:00) και επί τρεις συνεχόμενες ημέρες.

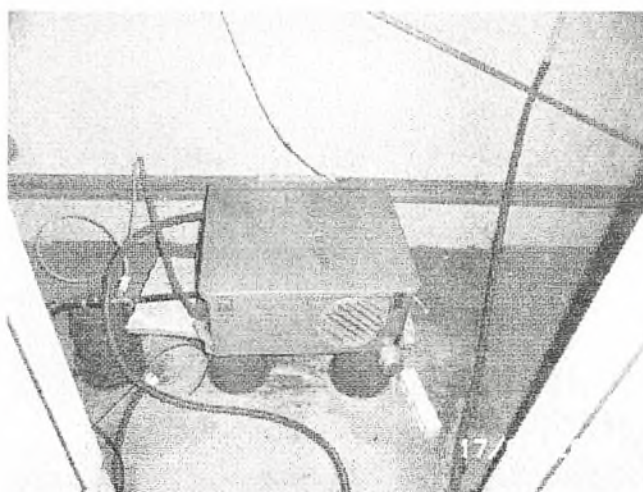
Μετά το τέλος του πειράματος τα φυτά βγήκαν από τους θαλάμους και παρέμειναν για μία ημέρα στον χώρο του Εργαστηρίου πριν γίνουν οι απαραίτητες μετρήσεις. Τα φυτά ποτίζονταν κανονικά σε όλη τη διάρκεια του πειράματος.



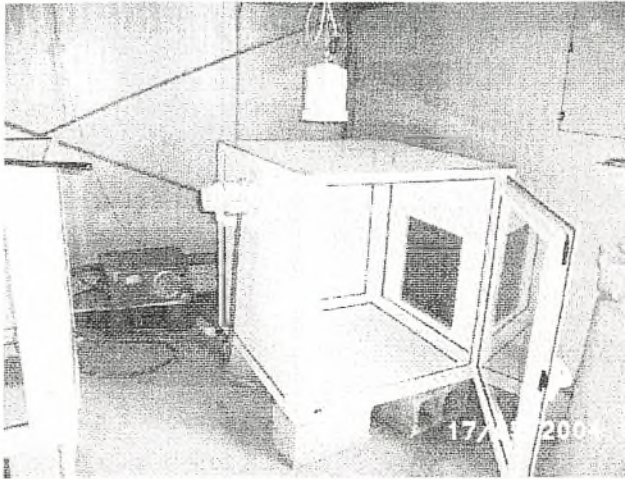
Εικόνα 4. Οι δύο θάλαμοι με το όζον



Εικόνα 5. Διάτρητος σωλήνας plexiglass για τη διάχυση του αέρα



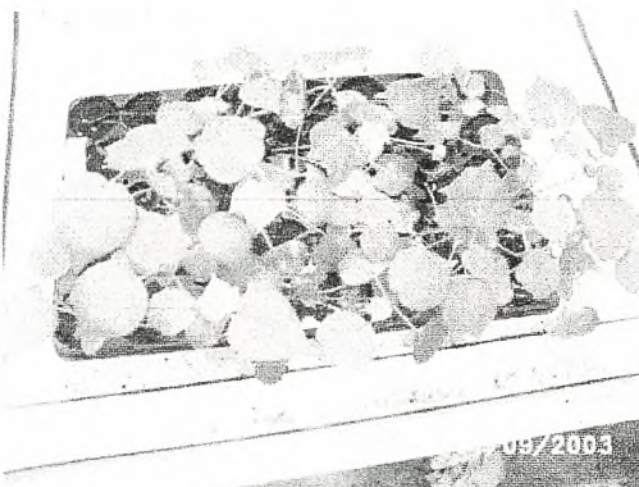
Εικόνα 6. Γεννήτρια παραγωγής όζοντος



Εικόνα 7. Ο θάλαμος με το φίλτρο άνθρακα
(μάρτυρας)



Εικόνα 8. Αισθητήρας όζοντος



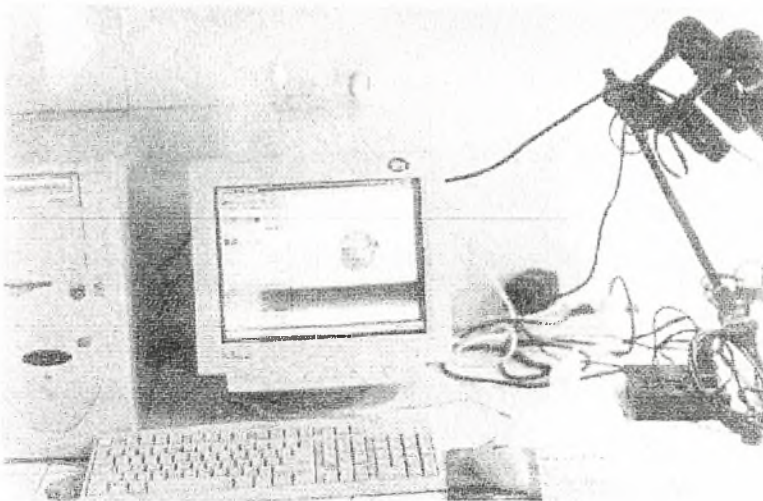
Εικόνα 9. Διάταξη φυτών σε δισκάκια
πολλαπλών θέσεων

3. Παρατηρήσεις- Μετρήσεις

ι. Ορατά συμπτώματα

Την αμέσως επόμενη ημέρα από το τέλος του πειράματος καταγράφηκε η έκταση των ορατών συμπτωμάτων τοξικότητας O_3 που παρουσιάστηκαν στα φύλλα, χρησιμοποιώντας την κλίμακα που περιγράφεται από τους Astorino και συνεργάτες (1995), όπου 0= 0% ορατή ζημία, 1 = 1-3% ορατή ζημία, 2=4-10% ορατή ζημία, 3 = 11-25 % ορατή ζημία, 4 = 26-50% ορατή ζημία, 5 = 51-75% ορατή ζημία και 6 = 76-100% ορατή ζημία.

Εκτός από τη μέθοδο της οπτικής παρατήρησης χρησιμοποιήθηκε και σύστημα μέτρησης της ενεργού φυλλικής επιφάνειας για την αντικειμενική εκτίμηση του ποσοστού ορατής ζημίας στα φύλλα. Τα φυτά μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο της Ελληνικής Βιομηχανίας Ζάχαρης στη Λάρισα όπου με Ανάλυση Εικόνας (Image Analyser) εκτιμήθηκε το ποσοστό της ορατής ζημίας και η ενεργός φωτοσυνθετική επιφάνεια σε πέντε φυτά ανά ποικιλία και επίπεδο όζοντος (3επίπεδα όζοντος x 4ποικιλίες x 5 φυτά = 60 φυτά συνολικά) (εικ.10).



Εικόνα 10. Εκτίμηση της ορατής ζημίας με Image Analyser

ii. Μέτρηση χλωροφύλλης

Μια ημέρα μετά την έξοδο των φυτών από τους θαλάμους επιλέγηκαν τυχαία 10 φυτά από κάθε δίσκο των 40 φυτών στα οποία μετρήθηκε η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη με χλωροφυλλόμετρο Minolta SPAD- 502 (Monsanto, High Wycombe, Bucks., UK) (φωτ.11). Με το συγκεκριμένο όργανο γίνεται εκτίμηση της ποσότητας χλωροφύλλης στο φύλλο μετρώντας το φως που εκπέμπεται από το φύλλο. Ουσιαστικά εκτιμά «πόσο πράσινο είναι το φύλλο» (Stevens and Hefner, 1999). Αποτελέσματα έρευνας έδειξαν ότι η χρήση του SPAD παρουσίασε θετική σημαντική συσχέτιση με την εκχυλιζόμενη χλωροφύλλη, επομένως η μέτρηση της χλωροφύλλης με αυτό είναι σχετικά αξιόπιστη (Sibley *et al*, 1996).



Εικόνα 11. Χλωροφυλλόμετρο τύπου SPAD-502

iii. Μέτρηση φυλλικής επιφάνειας

Λήφθηκαν τυχαία 10 φυτά από κάθε δίσκο 40 φυτών και μετρήθηκε η φυλλική επιφάνεια κάθε φυτού. Η μέτρηση έγινε με LI-3000A Portable Area Meter της LI-COR. Inc.(Nebraska USA)

iv. Μέτρηση υδατικού δυναμικού

Μέτρηση του υδατικό δυναμικό των φύλλων έγινε μια ημέρα μετά την έξοδο των φυτών από τους θαλάμους , σε φυτά όπου μετρήθηκε η συνολική φυλλική τους επιφάνεια, με σκοπό την εκτίμηση της υγρασιακής τους κατάστασης. Η μέτρηση έγινε με το υγρασιόμετρο Plant Moisture Vessel SKPM 1400 (Skye, Instr. Ltd Ddole Industrial Estate, Llandrindod Wells, UK) Με το συγκεκριμένο όργανο μετράται η πίεση που εφαρμόζεται σε μίσχους φύλλων των φυτών για να βγει σταγόνα νερού και επομένως όσο πιο μεγάλη η πίεση τόσο μικρότερη η σπαργή του φυτού.

v. Στατιστική ανάλυση των δεδομένων

Τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε παραγοντική ανάλυση ενός ή δύο παραγόντων, ανάλογα το φυτό (στο βαμβάκι και το ζαχαρότευτλο παράγοντες είναι το επίπεδο όζοντος και η ποικιλία για το καλαμπόκι και το σόργο είναι μόνο το επίπεδο όζοντος) χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο MSTAT (Michigan State University, USA).

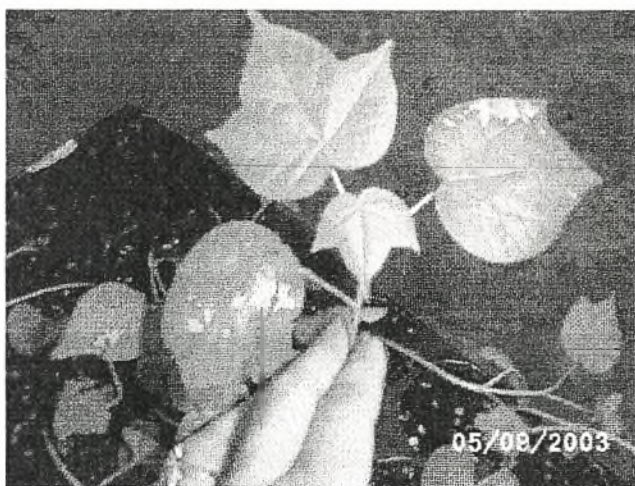
V. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Μακροσκοπικά συμπτώματα

Η μεταχείριση των 100 ppb O₃ για 3 ημέρες και διάρκεια 6 ώρες/ημέρα προκάλεσε μακροσκοπικά συμπτώματα σε όλες τις ποικιλίες βαμβακιού και τεύτλου ενώ δεν προκάλεσε συμπτώματα στα φυτά καλαμποκιού και σόργου. Η μεταχείριση των 50ppb O₃ (3 ημέρες και διάρκεια 6 ώρες/ημέρα) δεν προκάλεσε μακροσκοπικά συμπτώματα σε κανένα είδος φυτού.

Τα συμπτώματα φυτοτοξικότητας O₃ σε φύλλα βαμβακιού ήταν υπό μορφή μικρών κηλίδων (προσβολή μικρής έντασης), πιο μεγάλες κηλίδες που κάλυπταν το μεγαλύτερο μέρος του φύλλου και που μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως ολική καταστροφή του μεσοφύλλου στα σημεία της προσβολής και παραμονή μόνο της εφυμενίδας (εικ.11 & 12 και παράρτημα).

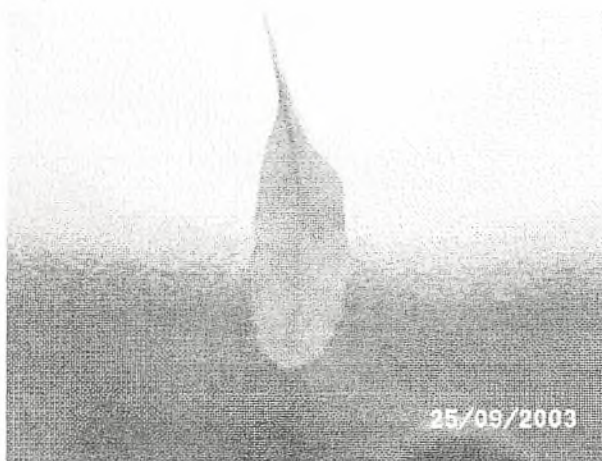
Στα ζαχαρότευτλα επίσης ήταν ορατή η ζημιά στα φύλλα και παρουσιάζοταν ως καταστροφή του παρεγχύματος του μεσοφύλλου σε σημείο που το φύλλο να παρουσιάζεται κατά θέσεις ως «διαφανές» (σε μεγάλη ένταση) και ως απλή χλώρωση (στη μικρή ένταση) (εικ.13 & 14 και παράρτημα).



Εικόνα 11. Φυτό βαμβακιού με ορατά συμπτώματα στα φύλλα



Εικόνα 12. Ζημιά μεγάλης έντασης σε φύλλα βαμβακιού (χαρακτηριστικό η παρουσία μόνο της εφυμενίδας)



Εικόνα 13. Υγιές φύλλο ζαχαροτεύτλου από φυτό που βρισκόταν σε θάλαμο με φιλτραρισμένο αέρα



Εικόνα 14. Φύλλο ζαχαροτεύτλου από φυτό που δέχτηκε 100ppb O_3 , που φαίνεται ως «διαφανές» στα σημεία που έχει ζημιά.

Συγκεκριμένα για το βαμβάκι όπως φαίνεται και από τον πίνακα 1 έπειτα από εκτίμηση της ζημιάς ανά ποικιλία, προέκυψε ότι οι ποικιλίες Midas και Sandra ήταν πιο ευαίσθητες στην έκθεσή τους στην υψηλή συγκέντρωση όζοντος (100 ppb) έναντι των άλλων δύο, Carmen, Celia, οι οποίες παρουσίασαν, τουλάχιστον μακροσκοπικά, χαμηλότερη ευαισθησία στον ρύπο (οι εκτιμήσεις του ποσοστού ανά δίσκο είναι εμπειρική, οι τιμές για τη ζημιά στα φύλλα είναι από μετρήσεις με τον αναλυτή της ενεργής επιφάνειας φύλλου – Image Analyser, και είναι ποσοστό κατεστραμμένης φυλλικής επιφάνειας από πέντε φυτά ανά ποικιλία).

Πίνακας 1. Ποσοστά ορατής ζημιάς σε φυτά και φύλλα βαμβακιού

A/A	ΠΟΙΚΙΛΙΑ	% Προσβ. Φυτά /Δίσκο	% Μείωση ενεργού φυλλικής επιφάνειας
1	MIDAS	60	18,5
2	CARMEN	10	1,6
3	CELIA	20	5,9
4	SANDRA	80	38,4

Στα ζαχαρότευτλα η ζημιά στα φυτά, όπως αξιολογήθηκε μόνο με οπτική – εμπειρική εκτίμηση, ήταν σε ποσοστό από 30-50% των συνολικών φυτών στο δίσκο. Το μεγαλύτερο ποσοστό παρουσίασε η ποικιλία Europa (~50%) ακολουθούσε η Rival (~40%) και πιο ανθεκτική αποδείχθηκε η Corsica (~30%).

2. Αποτελέσματα μέτρησης χλωροφύλλης

Οι μέσοι όροι των μετρήσεων των φυτών βαμβακιού παρουσιάζονται στον πίνακα 2 ενώ στοιχεία της ανάλυσης παραλλακτικότητας δίδονται στον πίνακα 3. Αντιστοίχως για τα ζαχαρότευτλα δίδονται στους πίνακες 4 και 5, για το καλαμπόκι στους πίνακες 6 και 7 και για το σόργο στους πίνακες 8 και 9.

Στο βαμβάκι προέκυψε ότι η αρνητική επίδραση του παράγοντα O_3 στη χλωροφύλλη, δεν παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική διαφορά για $P=0,05$, αν και φαίνεται μια μικρή τάση αρνητικής επίδρασης, όμως φαίνεται να υπάρχει σημαντική συσχέτιση της αλληλεπίδρασης του όζοντος με την ποικιλία. Σημαντικές επίσης διαφορές παρουσίασαν οι ποικιλίες (πίνακες 2 & 3).

Πίνακας 2. Μέσοι όροι των μετρήσεων χλωροφύλλης (SPAD) στο βαμβάκι

ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ (SPAD)			
ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ	ΕΠΙΠΕΔΑ O_3		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
<i>Midas</i>	30,4	29,1	25,8
<i>Carmen</i>	29,7	30,1	29,7
<i>Celia</i>	29,6	30,2	29,9
<i>Sandra</i>	27,6	29,5	26,5
<i>M.O.</i>	29,3	29,7	28,0
$E\Sigma\Delta=1,5$			

Πίνακας 3. Σημαντικότητα μετρήσεων χλωροφύλλης (spad) στο Βαμβάκι

ΒΑΜΒΑΚΙ-ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,07(ns)
ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,007(**)
ΟΖΟΝ x ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,046(*)
CV=9,35%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

Στα ζαχαρότευτλα η επίδραση του όζοντος στη χλωροφύλλη, όπως αυτή μετρήθηκε με το spad, φαίνεται να είναι στατιστικώς σημαντική και αρνητική. Αλλά παρουσιάζεται διαφοροποίηση και μεταξύ των ποικιλιών, ως προς την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη. Επιπλέον σύμφωνα με την ανάλυση των δεδομένων δεν παρουσιάζεται ως στατιστικώς σημαντική η αλληλεπίδραση του όζοντος με την ποικιλία (πίνακες 4 & 5).

Πίνακας 4. Μέσοι όροι των μετρήσεων χλωροφύλλης (spad) στα ζαχαρότευτλα

ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ (SPAD)			
ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΖΑΧΑΡΟΤΕΥΤΛΩΝ	ΕΠΙΠΕΔΑ O₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
<i>Corsica</i>	21,4	22,5	20,7
<i>Rival</i>	20,0	22,1	17,9
<i>Europa</i>	19,5	19,6	17,5
<i>M.O.</i>	20,3	21,4	18,7
ΕΣΔ=1,1			

Πίνακας 5. Σημαντικότητα μετρήσεων χλωροφύλλης (spad) στα ζαχαρότευτλα

ΖΑΧΑΡΟΤΕΥΤΛΑ-ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,0005(***)
ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,0001(***)
ΟΖΟΝ x ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,3373(ns)
CV=10,82%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

Στο καλαμπόκι η επίδραση του όζοντος στη χλωροφύλλη δεν είναι στατιστικώς σημαντική, αν και παρουσιάζεται μια αρνητική τάση της επίδρασης του ρύπου στην περιεκτικότητα των φυτών σε χλωροφύλλη (μέτρηση με spad) (πίνακες 6 & 7)).

Πίνακας 6. Μέσοι όροι των μετρήσεων χλωροφύλλης (spad) στο καλαμπόκι

ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ (SPAD)			
	ΕΠΙΠΕΔΑ O₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ	24,1	21,8	19,8
ΕΣΔ=3,4			

Πίνακας 7. Σημαντικότητα μετρήσεων χλωροφύλλης (spad) στο καλαμπόκι

ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ-ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,07(ns)
CV=17,53%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

Αντίστοιχα στο σόργο η επίδραση είναι στατιστικώς σημαντική, και αρνητική του ρύπου ως προς την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη (πίνακες 8 & 9).

Πίνακας 8. Μέσοι όροι των μετρήσεων χλωροφύλλης (spad) στο σόργο

ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ (SPAD)			
	ΕΠΙΠΕΔΑ O ₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
ΣΟΡΓΟ	20,2	18,9	17,2
ΕΣΔ=1,9			

Πίνακας 9. Σημαντικότητα μετρήσεων χλωροφύλλης (spad) στο σόργο

ΣΟΡΓΟ-ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,02(*)
CV=11,70%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

3. Αποτελέσματα μέτρησης φυλλικής επιφάνειας

Από τους μέσους όρους (πίνακας 10) και από την ανάλυση παραλλακτικότητας (πίνακας 11) φαίνεται ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ως προς τη φυλλική επιφάνεια δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των επιπέδων O₃ και ότι υπάρχουν σημαντικές αλληλεπιδράσεις. Οι Midas και Celia σε αντίθεση με τις δύο άλλες αύξησαν τη φυλλική επιφάνεια τους στο υψηλό επίπεδο όζοντος. Οι μετρήσεις έγιναν σχετικά σύντομα μετά την έκθεση των φυτών στο O₃ επομένως οι μετρήσεις είναι ενδεικτικές και θα χρειαστεί περαιτέρω διερεύνηση για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό.

Πίνακας 10. Μέσοι όροι μετρήσεων φυλλικής επιφάνειας σε φυτά βαμβακιού

ΦΥΛΛΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ (σε cm²)			
ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ	ΕΠΙΠΕΔΑ O₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
<i>Midas</i>	37,5	45,6	58,4
<i>Carmen</i>	50,8	42,8	35,4
<i>Celia</i>	59,1	45,5	63,8
<i>Sandra</i>	22,0	61,2	46,8
<i>M.O</i>	42,4	48,8	51,1
ΕΣΔ=8,1			

Πίνακας 11. Σημαντικότητα μετρήσεων φυλλική επιφάνειας σε φυτά βαμβακιού

ΒΑΜΒΑΚΙ-ΦΥΛΛΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,11(ns)
ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,002(***)
ΟΖΟΝ x ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,000(***)
CV=30,23%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

Οι μετρήσεις στα φυτά ζαχαροτεύτλων δείχνουν στατιστικώς σημαντική επίδραση του όζοντος στο χαρακτηριστικό της φυλλικής επιφάνειας, χωρίς να υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές αλληλεπιδράσεις. Γενικώς το υψηλό επίπεδο O₃ φαίνεται, παρ' όλες τις αδυναμίες, ότι ευνόησε την αύξηση της φυλλικής επιφάνειας. η οποία είναι θετική όπως φαίνεται από τους μέσους όρους των μετρήσεων (πίνακες 12 & 13).

Πίνακας 12. Μέσοι όροι μετρήσεων φυλλικής επιφάνειας σε φυτά ζαχαροτεύτλων

ΦΥΛΛΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ (σε cm²)			
ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΖΑΧΑΡΟΤΕΥΤΛΩΝ	ΕΠΙΠΕΔΑ O₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
<i>Corsica</i>	21,4	14,2	23,7
<i>Rival</i>	8,9	9,8	14,2
<i>Europa</i>	16,8	16,3	19,9
M.O	15,7	13,4	19,3
ΕΣΔ=2,3			

Πίνακας 13. Σημαντικότητα μετρήσεων φυλλική επιφάνειας σε φυτά ζαχαροτεύτλων

ΖΑΧΑΡΟΤΕΥΤΛΑ-ΦΥΛΛΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,0003(***)
ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,0000(***)
ΟΖΟΝ x ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,098(ns)
CV=31,25%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

Στα φυτά καλαμποκιού η επίδραση του όζοντος στη φυλλική επιφάνεια ήταν αρνητική και στατιστικώς σημαντική για $p=0,05$ (πίνακες 14 & 15). Όσον αφορά το σόργο η επίδραση παρουσιάζεται ως στατιστικώς μη σημαντική (πίνακες 16 & 17).

Πίνακας 14. Μέσοι όροι μετρήσεων φυλλικής επιφάνειας σε φυτά καλαμποκιού

ΦΥΛΛΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ(σε cm²)			
	ΕΠΙΠΕΔΑ O₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ	39,0	30,7	25,9
ΕΣΔ=8,3			

Πίνακας 15. Σημαντικότητα μετρήσεων φυλλική επιφάνειας σε φυτά καλαμποκιού

ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ-ΦΥΛΛΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,02(*)
CV=29,14%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

Πίνακας 16. Μέσοι όροι μετρήσεων φυλλικής επιφάνειας σε φυτά ζαχαροτεύλων

ΦΥΛΛΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ(σε cm²)			
	ΕΠΙΠΕΔΑ O₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
ΣΟΡΓΟ	6,0	6,2	5,6
EΣΔ=0,9			

Πίνακας 17. Σημαντικότητα μετρήσεων φυλλικής επιφάνειας σε φυτά σόργου

ΣΟΡΓΟ-ΦΥΛΛΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,3(ns)
CV=11,70%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

4. Αποτελέσματα μετρήσεων υδατικού δυναμικού

Από τις μετρήσεις του υδατικού δυναμικού φάνηκε στο βαμβάκι ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική επίδραση από τον παράγοντα όζον. Αυτό το στοιχείο επηρεάστηκε λιγότερο από τον περιορισμένο χρόνο μετά από την έκθεση ως την μέτρηση, άρα είναι πιο αξιόπιστο. Οι μέσοι όροι των τιμών δείχνουν να υπάρχει διαφοροποίηση ανάλογα την ποικιλία. Σε όλες τις ποικιλίες η αντίδραση στη συγκέντρωση των 50 ppb δεν ήταν ιδιαίτερα διαφορετική από το μάρτυρα. Στη συγκέντρωση των 100 ppb οι τρεις από τις ποικιλίες (Midas, Celia και Carmen) έδειξαν να αυξάνουν τη σπαργή τους. (πίνακες 18 & 19).

Πίνακας 18. Μέσοι όροι μετρήσεων υδατικού δυναμικού σε φυτά βαμβακιού

ΠΙΕΣΗ ΠΟΥ ΕΦΑΡΜΟΣΤΗΚΕ ΣΕ ΦΥΛΛΑ (σε bars)			
ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ	ΕΠΙΠΕΔΑ O₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
<i>Midas</i>	7,8	4,6	4,1
<i>Carmen</i>	10,3	3,9	7,3
<i>Celia</i>	8,2	8,3	5,2
<i>Sandra</i>	7,5	7,0	9,1
<i>M.O.</i>	8,5	6,0	6,4
<i>EΣΔ=1,2</i>			

Πίνακας 19. Σημαντικότητα μετρήσεων υδατικού δυναμικού σε φυτά βαμβακιού

ΒΑΜΒΑΚΙ-ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,0012(***)
ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,0011(***)
ΟΖΟΝ x ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,0000(***)
CV=32,65%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

Οι μετρήσεις του υδατικού δυναμικού για τα φυτά των ζαχαροτεύτλων έδειξαν μια τάση αύξησης υδατικού δυναμικού στα 50 ppb ενώ στα 100 ppb το υδατικό δυναμικό (και επομένως η σπαργή) μειώθηκε σε σχέση με τον μάρτυρα στις ποικιλίες Corsica και Europa και αυξήθηκε στη Rival (πίνακες 20 & 21).

Πίνακας 20. Μέσοι όροι μετρήσεων υδατικού δυναμικού σε φυτά ζαχαροτεύτλων

ΠΙΕΣΗ ΠΟΥ ΕΦΑΡΜΟΣΤΗΚΕ ΣΕ ΦΥΛΛΑ (σε bars)			
ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΖΑΧΑΡΟΤΕΥΤΛΩΝ	ΕΠΙΠΕΔΑ O₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
<i>Corsica</i>	3,5	3,1	6,1
<i>Rival</i>	3,5	1,9	2,3
<i>Europa</i>	3,4	2,9	6,0
<i>M.O.</i>	3,5	2,6	4,8
ΕΣΔ=0,5			

Πίνακας 21. Σημαντικότητα μετρήσεων υδατικού δυναμικού σε φυτά ζαχαροτεύτλων

ΖΑΧΑΡΟΤΕΥΤΛΑ-ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,0000(***)
ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,0001(***)
ΟΖΟΝ x ΠΟΙΚΙΛΙΑ	0,0010(***)
CV=42,15%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

Η επίδραση του όζοντος στο υδατικό δυναμικό των φυτών καλαμποκιού βρέθηκε στατιστικώς σημαντική και παρουσιάστηκε μείωση του υδατικού δυναμικού με την αύξηση της συγκέντρωσης του όζοντος (πίνακες 22 & 23). Όσον αφορά το σόργο η επίδραση δεν βρέθηκε ως στατιστικώς σημαντική, φάνηκε όμως μια τάση μείωσης στις αυξημένες συγκεντρώσεις (πίνακες 24 & 25).

Πίνακας 22. Μέσοι όροι μετρήσεων υδατικού δυναμικού σε φυτά καλαμποκιού

ΠΙΕΣΗ ΠΟΥ ΕΦΑΡΜΟΣΤΗΚΕ ΣΕ ΦΥΛΛΑ (σε bars)			
	ΕΠΙΠΕΔΑ O₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ	1,7	2,9	5,7
ΕΣΔ=0,25			

Πίνακας 23. Σημαντικότητα μετρήσεων υδατικού δυναμικού σε φυτά καλαμποκιού

ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ-ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,0000(***)
CV=8,28%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

Πίνακας 24. Μέσοι όροι μετρήσεων υδατικού δυναμικού σε φυτά σόρνου

ΠΙΕΣΗ ΠΟΥ ΕΦΑΡΜΟΣΤΗΚΕ ΣΕ ΦΥΛΛΑ (σε bars)			
	ΕΠΙΠΕΔΑ O ₃		
	Μάρτυρας (CF)	50 ppb	100 ppb
ΣΟΡΓΟ	1,0	1,0	1,4
ΕΣΔ=0,94			

Πίνακας 25.Σημαντικότητα μετρήσεων υδατικού δυναμικού σε φυτά σόργο

ΣΟΡΓΟ-ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ	
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ (p)
ΟΖΟΝ	0,3(ns)
CV=47,71%	
ns= μη σημαντική, *=σημαντικότητα για 5%, **=σημαντικότητα για 1%	

VI. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα εργασία έδειξε πως τα φυτά αντέδρασαν στις υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος (100ppb), ενώ ήταν ασαφής ή περιορισμένη η αντίδραση των φυτών στο χαμηλό επίπεδο (50 ppb). Ο τρόπος με τον οποίο αντέδρασαν στη υψηλή συγκέντρωση των 100 ppb O₃ ήταν διαφορετικός για κάθε είδος αλλά και μεταξύ των ποικιλιών.

1. Βαμβάκι.

Στο βαμβάκι παρουσιάστηκαν πολύ έντονα ορατά συμπτώματα από την επίδραση του όζοντος στην συγκέντρωση των 100ppb. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι η πρώτη φορά που παρουσιάζονται μακροσκοπικά συμπτώματα σε βαμβάκι. Η ζημιά στα φύλλα ήταν χαρακτηριστική ως καταστροφή του παρεγχύματος του μεσοφύλλου. Η ζημιά αυτή είναι χαρακτηριστική της επίδρασης του όζοντος στα φυτά όπως αναφέρεται από τους Wohlgemuth et al (2002) σε αντίστοιχη δουλειά που έγινε στον καπνό Bel W3. Όπως αναφέρουν η ζημιά από το όζον ξεκινά από το δριφακτοειδές παρέγχυμα. Επιπλέον έπειτα από ιστοχημική ανάλυση βρέθηκε ότι στο δριφακτοειδές παρέγχυμα υπήρχε συσσώρευση H₂O₂ (έντονα οξειδωτικό), που εξηγεί τη ζημιά σε αυτό. Από τις εκτιμήσεις παρατηρήθηκε αρκετά μεγάλο ποσοστό ζημίας στα φυτά των δύο ποικιλιών (60% και 80% για τις ποικιλίες Midas και Sandra αντίστοιχα) ενώ στις άλλες δύο η ζημιά ήταν σε μικρότερο ποσοστό (Carmen 10% και Celia 20%). Η επίδραση του όζοντος στη χλωροφύλλη των φύλλων βρέθηκε να μην είναι στατιστικώς σημαντική για $p=0,05$. Όμως από τις ενδείξεις που προκύπτουν από τους μέσους όρους παρατηρήθηκε μείωση στην ποσότητα χλωροφύλλης στις ποικιλίες Midas και Sandra και σταθερή τιμή στις ποικιλίες Celia και Carmen. Αντίστοιχες αντιδράσεις παρουσίασαν δύο είδη τριφυλλιού (*Trifolium repens*, *Trifolium pratense*) όπου

το *T. pratense* βρέθηκε ευαίσθητο από την επίδραση για μικρό χρονικό διάστημα υψηλής συγκέντρωσης όζοντος (τρεις ώρες σε 150 ppb) έναντι του *T. repens* που φάνηκε πιο ανθεκτικό (Scebba *et al*, 2003). Σύμφωνα με τους Degl'Innocenti *et al* (2003) η μείωση της χλωροφύλλης και των άλλων χρωστικών είναι μια από τις επιπτώσεις που προκαλούνται από το όζον. Όσον αφορά τη φυλλική επιφάνεια αυτή δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά για $p=0,05$, αλλά υπήρχε μια μικρή τάση αύξησής της με την αύξηση της συγκέντρωσης του ρύπου στις ποικιλίες Midas, Celia, Sandra και στην ποικιλία Carmen παρουσιάστηκε μείωση, και ως προς αυτό το χαρακτηριστικό τα αποτελέσματα είναι ενδεικτικά γιατί τα φυτά δεν είχαν τα χρονικά περιθώρια να δείξουν αντίδραση το όζον. Σύμφωνα με τους Elagöz και Manning (2002) η φυλλική επιφάνεια σε φυτά φασολιού που εκτέθηκαν σε υψηλή συγκέντρωση (120 και 140 ppb) όζοντος μειώθηκε. Άλλοι ερευνητές (Finnan *et al*, 1998) αναφέρουν ότι παρουσιάζεται και αύξηση της φυλλικής επιφάνειας ως αντίδραση στο όζον, που δικαιολογείται από τη συνολική συμπεριφορά των φυτών και την αύξηση του βλαστικού τμήματος σε αντίθεση με τη ρίζα η οποία συνήθως είναι πιο ευαίσθητη. Επιπλέον από τις μετρήσεις με τον Αναλυτή Εικόνας βρέθηκε αρκετά υψηλή μείωση της ενεργού φυλλικής επιφάνειας από την επίδραση της υψηλής συγκέντρωσης (100ppb) στις ποικιλίες Sandra και Midas (μείωση 38,4% και 18,5% αντίστοιχα) ενώ οι άλλες δύο ποικιλίες και σ' αυτό το χαρακτηριστικό φάνηκε να μην παρουσιάζουν μεγάλη ζημία (Celia 5,9% και Carmen 1,6%). Τα συμπεράσματα από τις μετρήσεις του υδατικού δυναμικού, αν και παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά, δεν είναι ιδιαίτερα αιτιολογημένα (αύξηση σπαργής σε αύξηση όζοντος για τις : Midas, Carmen, Celia και μείωση στην Sandra). Σύμφωνα με τη μέχρι σήμερα έρευνα τα στόματα αντιδρούν με κλείσιμο στις υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος άρα περιορίζεται

η διαπνοή με αποτέλεσμα την αύξηση της σπαργής (Panek *et al*, 2002), αντίδραση που παρουσιάστηκε και στην παρούσα εργασία.

2. Ζαχαρότευτλα.

Τα ορατά συμπτώματα ήταν αρκετά εμφανή και στα φυτά των ζαχαροτεύτλων. Η ζημία στο σύνολο των φυτών ανά ποικιλία ήταν αρκετά μεγάλη στη υψηλή συγκέντρωση (100ppb) σε ποσοστά 30% για την Corsica, 40% για την Rival και 50% για την Eurora. Η ζημία στα φύλλα ήταν παρόμοια με εκείνη στα φύλλα βαμβακιού, καταστροφή του δριφακτοειδούς παρεγχύματος. Η χλωροφύλλη παρουσίασε στατιστικώς σημαντική μείωση, στην υψηλή συγκέντρωση όζοντος σε όλες τις ποικιλίες. Η φυλλική επιφάνεια έδειξε στατιστικώς σημαντική αύξηση, όμως όπως αναφέρθηκε είναι ένα χαρακτηριστικό του οποίου οι μετρήσεις δεν είναι αντιπροσωπευτικές γιατί έγιναν αρκετά σύντομα μετά από την έκθεση στο όζον. Όσον αφορά το υδατικό δυναμικό και στα ζαχαρότευτλα παρουσιάστηκε παρόμοια ιδιομορφία όπως στο βαμβάκι, που μάλλον έρχεται σε αντίθεση με αποτελέσματα άλλων ερευνητών.

3. Καλαμπόκι- Σόργο.

Τα αποτελέσματα που αφορούν στα δύο αυτά φυτά σχολιάζονται από κοινού για τον λόγο ότι ανήκουν στα μονοκοτυλήδονα και επίσης γιατί οι αντιδράσεις τους στο συγκεκριμένο ρύπο ήταν παρόμοιες. Στο καλαμπόκι και το σόργο δεν υπήρξαν ορατά συμπτώματα. Αναμενόμενο σύμφωνα με την μέχρι σήμερα έρευνα ότι τα μονοκοτυλήδονα πιο ανθεκτικά (Unsworth and Hogsett, 1996). Η χλωροφύλλη παρουσίασε τάση μείωσης από την επίδραση του ρύπου. Η τάση αυτή ήταν ισχυρότερη στο σόργο και αποδείχθηκε στατιστικώς σημαντική. Το ύψος φαίνεται να μειώνεται χωρίς να είναι στατιστικώς σημαντική η μείωση αυτή και για τα δύο φυτά. Η επίδραση του ρύπου στη φυλλική επιφάνεια και των

δύο φυτών ήταν αρνητική (στατιστικώς σημαντική για το καλαμπόκι – χωρίς στατιστική σημαντικότητα για το σόργο). Το υδατικό δυναμικό παρουσίασε μείωση και στις δύο περιπτώσεις, όπως ήταν αναμενόμενο σύμφωνα με την δράση του όζοντος στην αγωγιμότητα των στομάτων που καταλήγει σε μερικό κλείσιμο. Σύμφωνα με την αρχική υπόθεση θα έπρεπε το σόργο να φανεί πιο ανθεκτικό εξαιτίας των μορφολογικών του χαρακτηριστικών (λιγότερα στόματα στα φύλλα), όμως η υπόθεση αυτή δεν επαληθεύτηκε στην παρούσα εργασία. Τα φυτά του καλαμποκιού και του σόργου τα οποία είναι φυτά τύπου C_4 είναι αναμενόμενο να είναι σχετικά ανθεκτικότερα στο όζον έναντι των υπολοίπων φυτών που είναι C_3 . Τα φυτά του τύπου C_4 έχουν χαμηλότερο σημείο αντιστάθμισης ως προς το CO_2 κι επομένως μπορούν να φωτοσυνθέτουν και με μικρότερο άνοιγμα στομάτων (μικρότερη ποσότητα εισερχόμενου CO_2 , άρα και O_3), όταν το φυτό αντιδρά με μερικό κλείσιμο των στομάτων στο ρύπο (Gifford *et al.*, 1993).

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της έρευνας, παρ' όλες τις αδυναμίες κατά τη λήψη των μετρήσεων, αποτελούν ένδειξη της σχετικής ευαισθησίας και προσέθεσαν νέα στοιχεία για την αντίδραση των φυτών που μελετήθηκαν στην έκθεσή σε συγκεντρώσεις όζοντος 50 και 100 ppb, δηλαδή σε μέτρια και υψηλή συγκέντρωση. Ιδιαίτερα αξιόλογες μπορούν να θεωρηθούν οι πληροφορίες ως προς τα ορατά συμπτώματα, σ' αυτή τη φάση. Το αντικείμενο χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση που να περιλαμβάνει και μεταγενέστερα στάδια έκθεσης των φυτών στον ρύπο και πληρέστερη αξιολόγηση των επιπτώσεων μέχρι το πέρας του βιολογικού κύκλου των φυτών, ενώ απαιτείται έκθεση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (τουλάχιστον ενός μηνός) για να προκύψουν σαφή και εμπεδωμένα αποτελέσματα.

VII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anfossi et al., 1991. Tropospheric ozone in the nineteenth century: the Montcalieri series. In: J. Geophys. Res. 96:17349-17352
- Astorino G et al, 1995. The response of *Phaseolus vulgaris* L. cv. Lit. to different dosages of the anti-ozonant ethylenediurea (EDU) in relation to chronic treatment with ozone. In : Plant Sci 111:237-248
- Barnes et al, 1990. Comparative ozone sensitivity of old and modern Greek cultivars of spring wheat. In: New Phytol. 116:707-714
- Βελισσαρίου και Κυριαζή, 1994. Μια ελληνική ποικιλία τριφυλλιού δείκτης τοξικότητας όζοντος. Γεωργία και Ανάπτυξη, Νοέμβριος-Δεκέμβριος 1994
- Βελισσαρίου και Κυριαζή, 1996. A sensitive clover variety-bioindicator for ozone. Responses to antioxidant protection. In: Critical Levels for Ozone in Europe, UN-ECE: 351-354
- Benjamin et al, 1999. Adverse effects of ambient ozone on watermelon yield and physiology at a rural site in Eastern Spain. In: New Phytol 144: 245-260
- Bermejo et al, 2002. Investigating indices to explain the impacts of ozone on the biomass of white clover (*Trifolium repens* L. cv. Regal) at inland and coastal sites in Spain. In: New Phytologist 156: 43-55
- Dammgén and Weigel, 1998. Trends in atmospheric composition (nutrients and pollutants) and their interaction with agroecosystems. In: Sustainable Agriculture for Food, Energy and Industry : 85-93
- Degl'Innocenti et al , 2003. CO₂ photoassimilation and chlorophyll fluorescence in two clover species showing different response to O₃. In : Plant Physiology and Biochemistry 41:485-493

- Drogoudi and Ashmore, 2000. Does elevated ozone have differing effects in flowering and deblossomed strawberry? In : *New Phytol.* 147:561-569
- Drogoudi PD & Ashmore MR, 2001. ¹⁴C assimilate allocation responses of fruiting and deblossomed strawberry to ozone *New Phytologist* 152: 455-461.
- Elagoz και Manning, 2002. Ozone and bean plants: morphology matters. In: *Environmental Pollution* 120:521-524
- Feister και Warmbt, 1987. Long term measurements of surface ozone in the German Democratic Republic. In: *J.Atmosph. Chem.* 5:1-21
- Finnan et al, 1998. A time-concentration study on the effects of ozone on spring wheat (*Triticum aestivum* L.). 3 Effects on leaf area and flag leaf senescence. In: *Agriculture, Ecosystems and Environment* 69: 27-35
- Fowler et al, 1999a. The global exposure of forests to air pollutants. In: *Water Air and Soil Pollution* 116:5-32
- Fowler et al, 1999b. Modelling photochemical oxidant formation, transport, deposition and exposure of terrestrial ecosystems. In: *Environmental Pollution* 100:43-55
- Fumagalli et al, 1997. Effects of tropospheric ozone on white clover plants exposed in open-top chambers or protected by antioxidant ethylene-diurea (EDU). In: *Agronomie* 17:271-281
- Gifford et al, 1993. Plant Physiology Responses to the Atmosphere – Discussion. In : *International Crop Science I* : 339-341
- Grantz and Yang, 1996. Mineral Nutrition and ozone damage to pima cotton. In : *Beltwide Cotton Conferences* 1996:1203-1204

- Grantz et al, 2003. Ozone increases root respiration but decreases leaf CO₂ assimilation in cotton and melon. In: *Journal of Experimental Botany* 54: 2375-2384
- Greitner and Winner, 1988. Increases in delta 13C values of radish and soybean plants caused by ozone. In: *New phytologist* 108:489-494
- Grunhage and Jager, 2003 From critical levels to critical loads for ozone: a discussion of a new experimental and modelling approach for establishing flux-response relationships for agricultural crops and native plant species In : *Environmental Pollution* 125: 99-110
- Heagle et al, 1998. Influence of ozone stress on soybean response to carbon dioxide enrichment:foliar properties. In: *Crop Science* 38:113-121
- Herbinger et al, 2002 Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars In: *Plant Physiol. Biochem.* 40: 691-696
- Houghton et al., 1992. *Climate Change 1992*. Cambridge University Press, Cambridge extractable chlorophyll for red maple selections. *HortScience*, 31(3): 468-470
- Khan and Soja, 2003. Yield responses of wheat to ozone exposure as modified by drought-induced differences in ozone uptake. In *Water, Air and Soil Pollution* 147:299-315
- Krupa and Kickert, 1989. The greenhouse effect: impacts of ultraviolet-B (UV-B) radiation, carbon dioxide, and ozone on vegetation. In: *Environmental Pollution* 61: 263-393
- Krupa and Jager, 1996. Adverse effects of elevated levels of ultra violet radiation and ozone on crop growth and productivity. In: *Global climate change and agricultural production*, FAO, Italy
- Landlot, et al, 1997 Effect of fertilization on ozone-induced changes in the metabolism of birch (*Betula pendula*) leaves In: *New Phytol.* , 137, 389-397

- Manning , 2003 Detecting plant effects is necessary to give biological significance to ambient ozone monitoring data and predictive ozone standards In: Environmental Pollution 126:375-379
- Mc Kee et al, 2000. Elevated concentrations of atmospheric CO₂ protect against and compensate for O₃ damage to photosynthetic tissues of field-grown wheat In: RESEARCH New Phytol. 146: 427-435
- Meyer et al., 1997 Physiological changes on agricultural crops induced by different ambient ozone exposure regimes I. Effects on photosynthesis and assimilate allocation in spring wheat. In:New Phytol. , 136, 645-652
- Miller et al, 1998. Influence of ozone stress on soybean response to carbon dioxide enrichment: biomass and development. In: Crop Science 38: 122-128
- Morgan et al, 2003. How does elevated ozone impact soybean? A meta-analysis of photosynthesis, growth and yield. In: Plant, Cell and Environment 26: 1317-1328
- Munn and Maarouf, 1997. Atmospheric issues in Canada. In The science of the total Environment 203:1-11
- Myhre et al., 1988. Reduction of net photosynthesis in oats after treatment with low concentrations of ozone. In: Environ. Pollution 53:265-271
- Nakajima et al, 2002. Improvement in ozone tolerance of tobacco plants with an antisense DNA for 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase. In: Plant, Cell and Environment 25:727-735
- Panek et al, 2002 An evaluation of ozone exposure metrics for a seasonally drought-stressed ponderosa pine ecosystem. In : Environmental Pollution 117 : 93-100
- Reich et al., 1985. Effects of low concentrations of O₃ leaf age and water stress on leaf diffusive conductance and water-use efficiency in soybean. In: Physiologia Plantarum 63:58-64

- Sanmartin M, Drogoudi PD, Lyons T, Pateraki I., Barnes J & Kanellis A. 2003. Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone. *Planta* 216: 918-928
- Sandermann, 1996. Ozone and plant health. In: Annu, Rev. Phytopathol., 34: 347-366
- Sellden and Pleijel, 1993. Influence of Atmospheric Ozone on Agricultural Crops. In: International Crop Science I: 315-319
- Sibley et al, 1996. Foliar SPAD-502 meter values, nitrogen levels, and extractable chlorophyll for red maple selections. *HortScience*, 31(3): 468-470.
- Stevens and Hefner, 1999. Use of a Portable Chlorophyll Meter to Manage Crop Nitrogen In Rice Agricultural publication MP729 — New March 15
- Sun and Kang, 2003 Tobacco clones derived from tissue culture with supersensitivity to ozone In: Environmental Pollution 125 :111-115
- Taylor et al., 2002. The impact of ozone on a salt marsh cordgrass (*Spartina alterniflora*) In: Environmental Pollution 120: 701-705
- Temple et al., 1988. Cotton yield responses to ozone as mediated by soil moisture and evapotranspiration. In: J Environmental Quality 14:55-60
- Tingey et al., 1994. The impact of O₃ on leaf construction cost and carbon isotope discrimination. In: Immissionsokologische Forschum im Wnael der Zeit:195-206
- Tonneijck and Vandijk, 1997a Effects of ambient ozone on injury and yield of *Phaseolus vulgaris* at four rural sites in the Netherlands as assessed by using ethylenediurea (EDU).In: *New Phytol.* 135: 93-100
- Tonneijck and van Dijk, 1997b. Assessing effects of ambient ozone on injury and growth of *Trifolium subterraneum* at four

- ryral sites in the Netherlands with Ethylenediurea (EDU). In: Agriculture, Ecosystems and Environment 65: 79-88
- Unsworth and Hogsett, 1996. Combined effects of changing CO₂, temperature, UV-B radiation and O₃ on crop growth. In Global climate change and agricultural production, FAO, Italy
 - US EPA, 1995. Air quality criteria for ozone and other photochemical oxidants
 - Van de Geijn et al.,1993. Problems and Approaches to Integrating the Concurrent Impacts of Elevated Carbon Dioxide, Temperature, Ultraviolet-B Radiation, and Ozone on Crop Production. In: International Crop Science I:333-338
 - Velissariou et al, 1992. Has inadvertent selection by plant breeders affected the O₃ sensitivity of modern Greek cultivars of spring wheat? In: Agriculture, Ecosystems and Environment 38:79-89
 - Velissariou et al, 1996.Records of O₃ visible injury in the ECE Mediterranean region. In: Critical Levels for Ozone in Europe, UN-ECE: 343-350
 - Volz and Kley, 1988. Evaluation of the Montsouris series of ozone measurements made in the nineteenth century. In: Nature 332:240-242
 - Wohlgemuth et al, 2002. Activation of an oxidative burst is a general feature of sensitive plants exposed to the air pollutant ozone. In: Plant, Cell and Environment 25:717-726
 - Whitfield et al, 1998 The effects of nutrient limitation on the response of *Plantago major* to ozone In: New Phytol. 140: 219-230

ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ ΣΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

- The chemistry of atmospheric pollutants, 1998
<http://www.aeat.co.uk/netcen/airqual/kinetics/#o3>
- Agricultural Research Service, 1998.
[http://www.ces.ncsu.edu/depts/pp/notes/Ozone/ozone.html#
Top](http://www.ces.ncsu.edu/depts/pp/notes/Ozone/ozone.html#Top)
- Agriculture and Agrifood - Canada, 2001.
[http://res2.agr.ca/research-
recherche/science/Healthy_Air/3d.html](http://res2.agr.ca/research-recherche/science/Healthy_Air/3d.html)

VIII. SUMMARY

This thesis is dealing with the effects of high ozone (O_3) concentrations in agricultural crops which are economically significant in Greece, such as : cotton, corn, sorghum and sugarbeets. These crops are cultivated in Greece during the spring-summer season. That means they are exhibited to the air-pollutant ozone (O_3) during the major part of their biological cycle, since ozone is elevated in the hot, sunny, summer days.

At the introductory part of this thesis there are firstly reported the references from literature which are relevant to the physics of atmosphere and the reactions they take place for the production of ozone in the troposphere. Afterwards there is a reference at the literature which is relevant to the damages ozone's high concentrations cause to the crops and the ways they are diagnosed. There are also mentioned the ways these damages are confronted and restored in the plants. According to the literature there is evidence, that there is a raising interest in subjects relative to the effects of gas pollutants and especially ozone (O_3) in plants.

This report is a preliminary research in the effects ozone causes to the plants they are studied (cotton, corn, sorghum and sugarbeets). Particularly, the study took place at the first steps of the plants' growth (second pair of permanent leaves in cotton and third week after sowing in the other plants). The plants were exposed in two ozone concentrations in closed chambers with controlled gas flow and a chamber with carbon-filtered air which was used as control (zero - ozone).

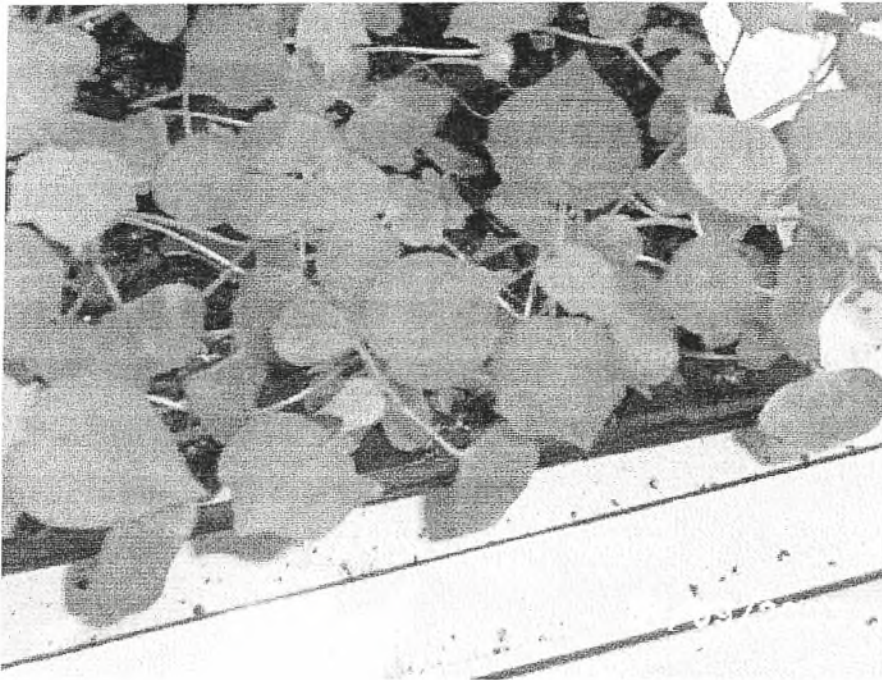
The symptoms that were examined contained visible injury and morphological and physiological characteristics (chlorophyll, leaf area and active leaf area, plants' water potential).

Mainly from the examination of visible injury it was concluded that dicotyledons - broadleaved (cotton, sugarbeets) are more sensitive to ozone than monocotyledons. That is agreed to the

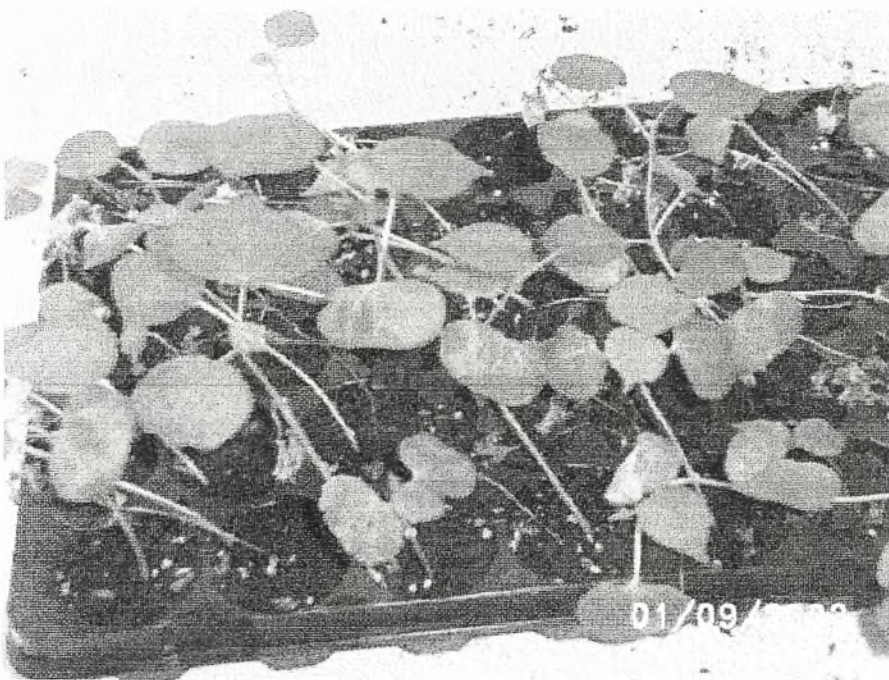
results of the up-to-day research. From the results of the other characteristics it was found that the plants reacted differently to ozone accordingly to their species or their variety.

The information that was derived from this research was very interesting and it gave a motive for further research of ozone effects in physiological characteristics under ozone's high concentration conditions, in different growth stages of the plants.

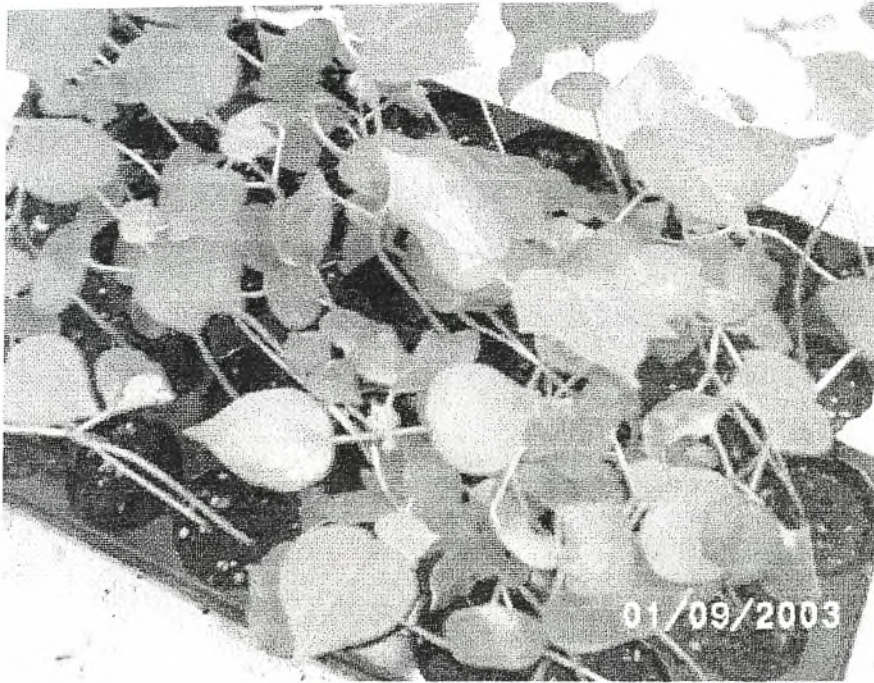
ΙΧ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Celia από το θάλαμο του μάρτυρα



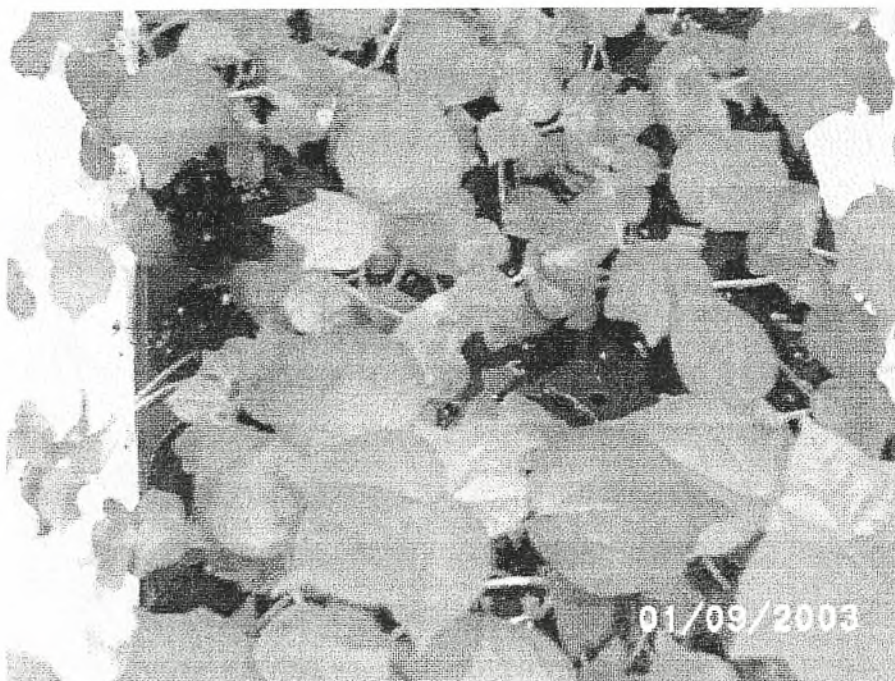
Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Celia από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 50 ppb



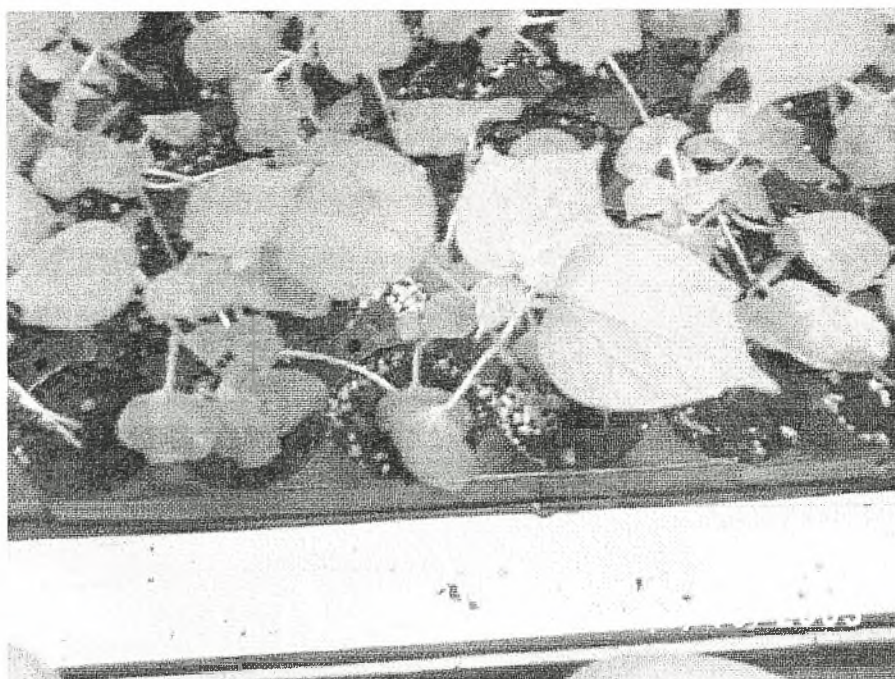
Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Celia από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 100 ρρb



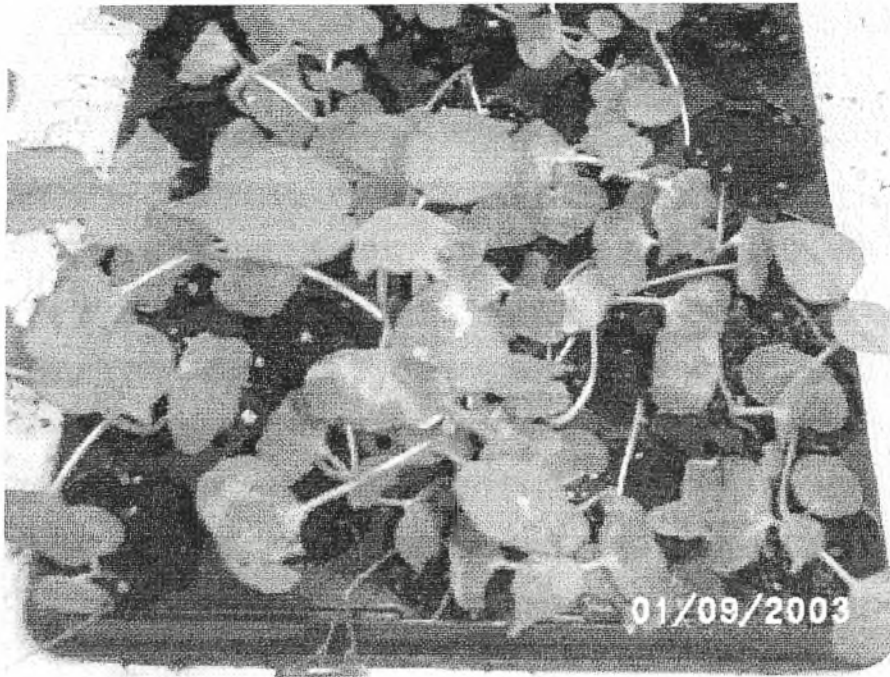
Φύλλα βαμβακιού ποικιλίας Celia από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 100 ρρb



Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Karmen από το θάλαμο του μάρτυρα



Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Karmen από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 50 ppb



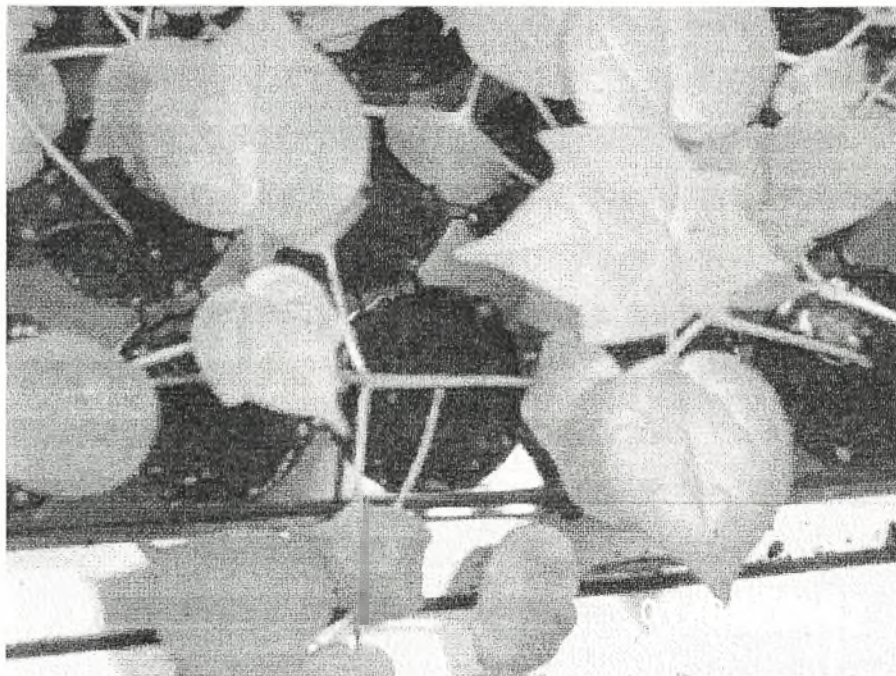
Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Karman από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 100 ppb



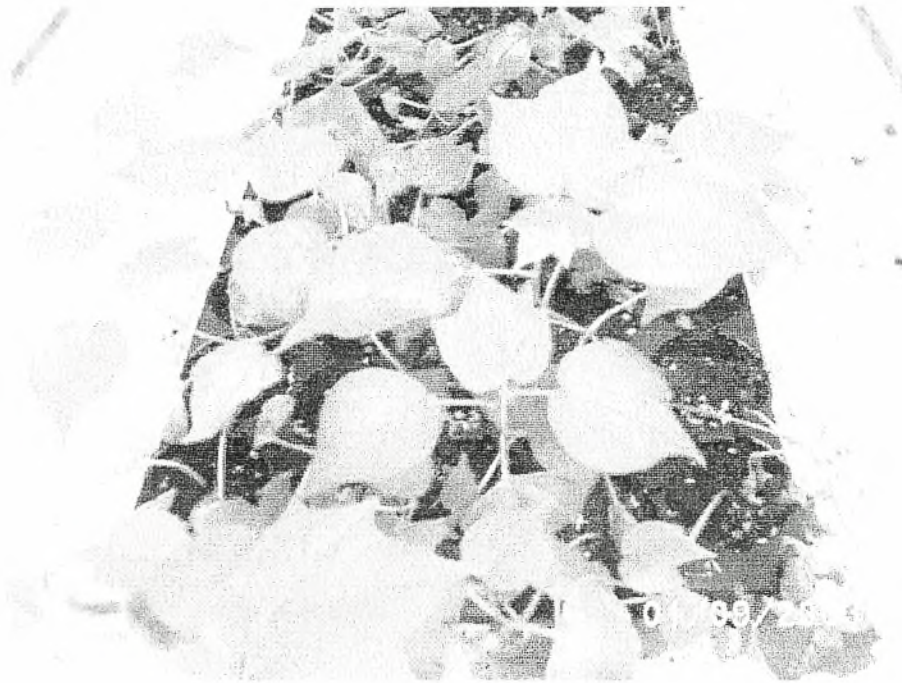
Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Midas από το θάλαμο του μάρτυρα



Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Midas από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 50 ppb



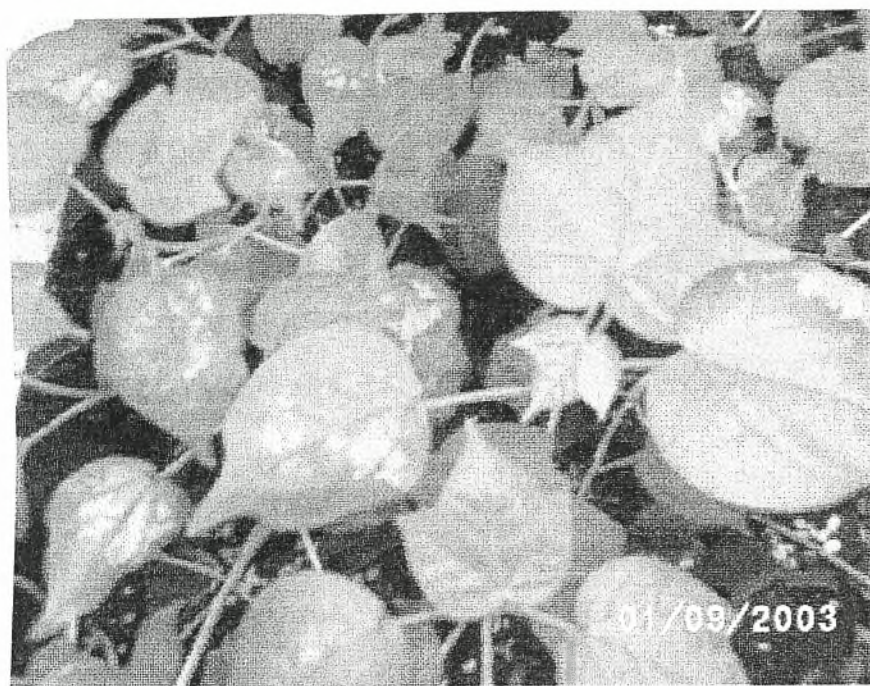
Φύλλα βαμβακιού ποικιλίας Midas από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 50 ppb



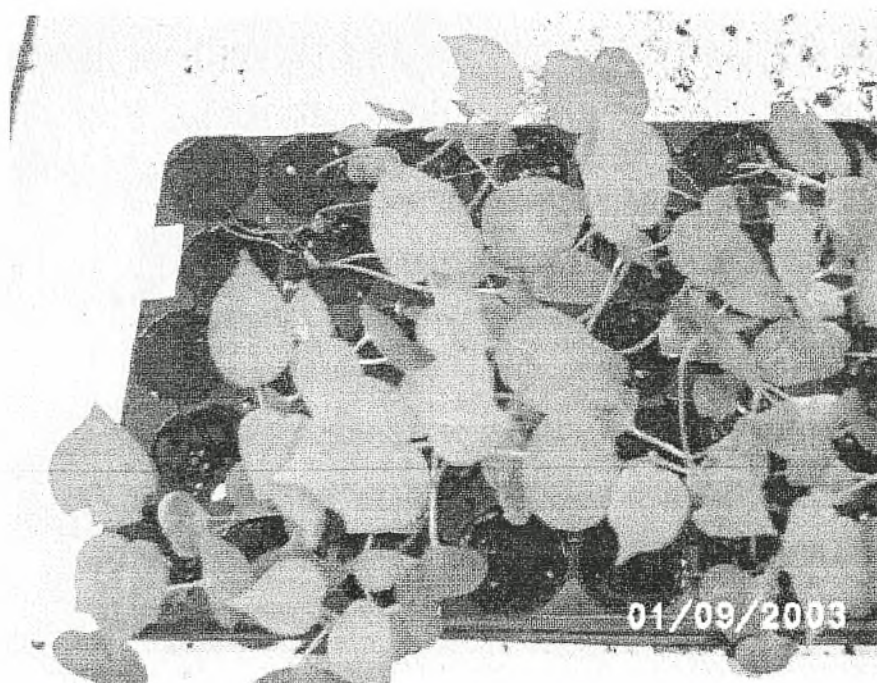
Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Midas από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 100 ppb



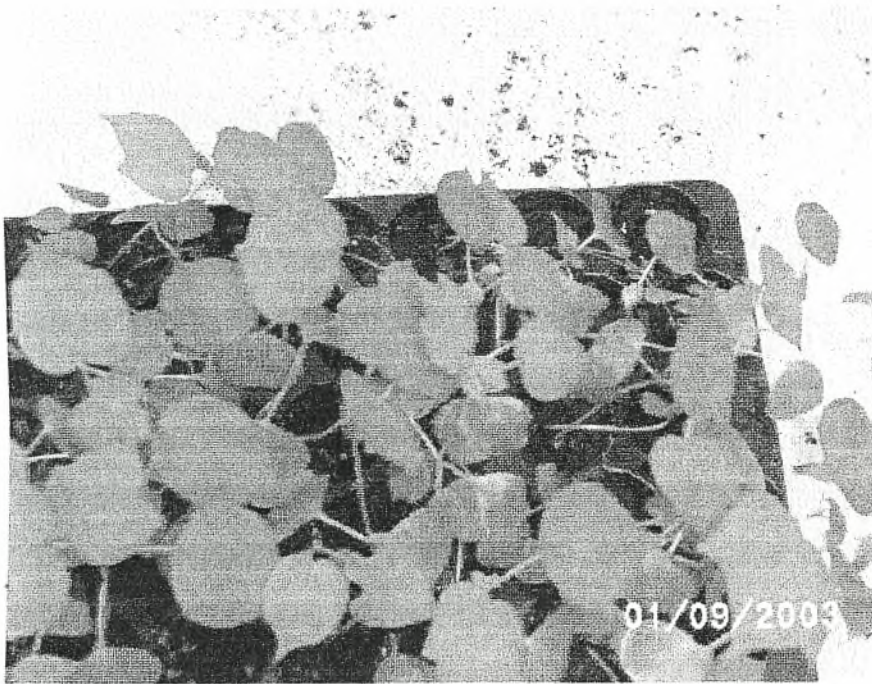
Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Midas από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 100 ppb



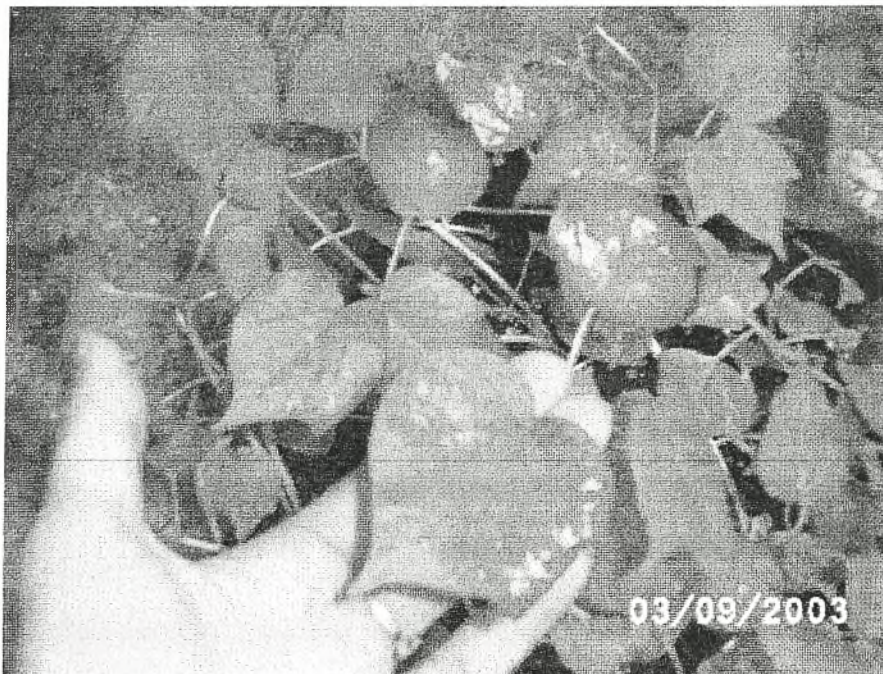
Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Midas από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 100 ppb



Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Sandra από το θάλαμο του μάρτυρα



Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Sandra από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 50 ρρb



Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Sandra από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 100 ρρb



Φυτά βαμβακιού ποικιλίας Sandra από το θάλαμο της συγκέντρωσης των 100 ppb



Φύλλα βαμβακιού με ζημιά σε μορφή στιγμάτων (στα 100 ppb)



Φύλλα βαμβακιού με ζημιά υπό μορφή μεγαλύτερων κηλίδων
(στα 100 ppb)



Φύλλα βαμβακιού με ζημιά από τη μεγαλύτερη συγκέντρωση
των 100 ppb



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000074292