

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ & ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΠΙΘΑΝΩΝ ΕΝΔΟΜΥΚΟΡΡΙΖΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΚΑΙ
ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ ΑΖΩΤΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΛΑΧΑΝΟΚΟΜΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ:
ΦΑΣΟΛΙ ΣΥΓΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΟ ΜΕ ΑΡΑΒΟΣΙΤΟ &
ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ ΣΥΓΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΗ ΜΕ ΚΑΤΗΦΕ



Πτυχιακή εργασία των σπουδαστριών
Παπαδάκη Ελένη
Συντρίκου Ιωάννα

Καλαμάτα, Δεκέμβριος 2005

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ & ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΝΔΟΜΥΚΟΡΡΙΖΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ
ΑΖΩΤΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΥΤΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ
ΤΩΝ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΛΑΧΑΝΟΚΟΜΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ:
ΦΑΣΟΛΙ ΣΥΓΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΟ ΜΕ ΑΡΑΒΟΣΙΤΟ &
ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ ΣΥΓΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΗ ΜΕ ΚΑΤΗΦΕ

Πτυχιακή εργασία των σπουδαστριών

Παπαδάκη Ελένη

Συντρίκου Ιωάννα

Επιβλέπουσες Καθηγήτριες: Νικοπούλου Δέσποινα

Παπαδοπούλου Καλλιόπη

Καλαμάτα, Δεκέμβριος 2005

*Στους αγαπημένους μας γονείς...
Που μας βοηθούν και μας συμπαραστέκονται
σε κάθε μας βήμα.*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οφείλουμε τις θερμές ευχαριστίες και την εκτίμησή μας στις καθηγήτριές μας κ.κ Νικοπούλου Δέσποινα και Παπαδοπούλου Καλλιόπη, για την καθοδήγησή τους καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας μας, τις προτάσεις, την υποστήριξη και την ενθάρρυνση, καθώς και για όλα τα στοιχεία που μας παρείχαν.

Θερμά ευχαριστούμε τον κ. Νικόπουλο Δημήτριο, που μας επέτρεψε να χρησιμοποιήσουμε τον εξοπλισμό του εργαστηρίου Ιστοκαλλιέργειας, καθώς και τους κ.κ Μαυρομάτη Έλενα και Παναγιόπουλο Παναγιώτη, κάτω από την επίβλεψη των οποίων πετύχαμε τη σωστή χρήση του εξοπλισμού.

Επίσης, τον κ. Ζερβάκη Γεώργιο, διευθυντή του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε, ο οποίος επέτρεψε να χρησιμοποιηθεί από εμάς ο χώρος και ο εξοπλισμός του Ινστιτούτου για την εκπόνηση μέρους της εργασίας μας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλουμε στον κ. Νηφάικο Καλλίμαχο για την αμέριστη βοήθειά του όσες φορές την χρειαστήκαμε, καθώς και τον κ. Αλεξόπουλο Αλέξιο για την πολύτιμη βοήθειά του στη στατιστική ανάλυση των μετρήσεών μας.

Θέλουμε επίσης να ευχαριστήσουμε:

- Τους κ.κ Μαρκόπουλο Κυριάκο και Ξυνιά Ιωάννη, που μας έδωσαν την άδεια να χρησιμοποιήσουμε το μικροσκόπιο, χωρίς το οποίο δεν θα είχαμε το φωτογραφικό υλικό.
- Τον υπεύθυνο του εργαστηρίου της Εδαφολογίας κ. Πασχαλίδη Χρήστο και την κα Κορίκη Αντωνία.
- Τον υπεύθυνο της Υπηρεσίας Αγροκτήματος κ. Καρρά Σταύρο και τους συνεργάτες του.

Τέλος, ένα μεγάλο "ευχαριστώ" οφείλουμε στον συμφοιτητή μας Τσαούση Δημήτριο, καθώς και τους Μπουράνη Ερατώ, Νιάρο Παναγιώτη και Στραβάκου Αγγελική για την πολύτιμη βοήθειά τους στη μέτρηση του εποικισμού των ριζών.

<u>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</u>	<u>ΣΕΛΙΔΑ</u>
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

1. ΜΥΚΟΡΡΙΖΕΣ

1.1 Τι είναι οι μυκόρριζες	10
1.2 Τύποι αποικιών	10
1.3 Φυτά ξενιστές	11
1.4 Που βρίσκονται τα μυκορριζικά φυτά	12
1.5 Μυκορριζικοί μύκητες	13
1.6 Ρόλος μυκορριζών	13

2. ARBUSCULAR (ΔΕΝΔΡΟΕΙΔΕΙΣ) ΜΥΚΟΡΡΙΖΕΣ

2.1 Δομές και αναπτυξιακά στάδια	15
----------------------------------	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

1. ΑΖΩΤΟΒΑΚΤΗΡΙΑ

1.1 Γενικά	20
1.2 Τι είναι τα αζωτοβακτήρια	20

2. Η ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΒΙΩΣΗΣ ΚΑΙ Η ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΦΥΜΑΤΙΟΥ

2.1 Ο μικροσυμβιώτης	22
2.2 Ο μηχανισμός αναγνώρισης ριζοβίων - ψυχανθών	22
2.3 Μεριστωματική δραστηριότητα και ανάπτυξη του φυματίου	23
2.4 Καθορισμένα φυμάτια	23
2.5 Η μορφολογία των ωρίμων φυματίων	24

3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΟ ΦΥΜΑΤΙΟ

3.1 Ο ρόλος του οξυγόνου στο φυμάτιο	25
--------------------------------------	----

4. Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ ΣΤΑ ΦΥΜΑΤΙΑ ΤΩΝ ΨΥΧΑΝΘΩΝ

4.1 Φωτοσύνθεση και συμβιωτική δέσμευση του αζώτου	26
4.2 Η διακίνηση των προϊόντων της φωτοσύνθεσης προς τα φυμάτια	26

5. Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΣΤΑ ΦΥΜΑΤΙΑ

5.1 Η δέσμευση του αζώτου από τη νιτρογενάση	27
--	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΡΙΖΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

1. Φασόλι	28
2. Αραβόσιτος	28
3. Μελιτζάνα	29
4. Κατηφές	29

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	30
----------	----

α) ΠΕΙΡΑΜΑ ΦΑΣΟΛΙΟΥ - ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ

1. Προετοιμασία πειράματος	31
2. Σπορά στις γλάστρες	32
3. Καλλιεργητικές φροντίδες	34
4. Κοπή υπέργειου τμήματος φυτών	36
5. Ξήρανση και ζύγιση υπέργειου τμήματος φυτών	36
6. Διαδικασία χειρισμού ριζών φασολιού	37

7. Διαδικασία για την απομόνωση συμβιωτικών αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων (ριζοβίων)	37
8. Απομόνωση ριζοβίων	39
9. Διαδικασία καθαρισμού και βαφής ριζών αραβοσίτου	40
9.1 Δείγματα ρίζας	40
9.2 Καθαρισμός ριζών με ΚΟΗ	40
9.3 Βαφή ριζών με CBE	41
10. Αποθήκευση δειγμάτων	43
11. Μέτρηση εποικισμού	45
12. Αποτελέσματα	47
13. Φωτογραφικό υλικό των πειραμάτων Φασολιού - Αραβοσίτου	50
14. Συμπεράσματα - Συζήτηση	55

β) ΠΕΙΡΑΜΑ ΜΕΛΙΤΖΑΝΑΣ - ΚΑΤΗΦΕ

1. Προετοιμασία πειράματος	56
2. Φύτευση φυτών στις γλάστρες	58
3. Καλλιεργητικές φροντίδες	59
4. Κοπή υπέργειου τμήματος φυτών	61
5. Ξήρανση και ζύγιση υπέργειου τμήματος φυτών	61
6. Διαδικασία καθαρισμού και βαφής ριζών αραβοσίτου	62
6.1 Δείγματα ρίζας	62
6.2 Καθαρισμός ριζών με ΚΟΗ	62
6.3 Βαφή ριζών με CBE	64
7. Αποθήκευση δειγμάτων	65
8. Μέτρηση εποικισμού	67
9. Αποτελέσματα	69
10. Φωτογραφικό υλικό των πειραμάτων Μελιτζάνας - Κατηφέ	72
11. Συμπεράσματα - Συζήτηση	78
ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΑΠΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ	79
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	87
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	

“Εκείνο που γνωρίζουμε είναι μηδαμινό.

Εκείνο που αγνοούμε είναι άπειρο”.

Laplace

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός του πειράματός μας είναι η ανίχνευση πιθανών ενδομυκορριζικών στελεχών και συμβιωτικών αζωτοβακτηρίων και η επίδραση αυτών στην ανάπτυξη των λαχανοκομικών φυτών (φασόλι συγκαλλιεργούμενο με αραβόσιτο και μελιτζάνα συγκαλλιεργούμενη με κατηφέ).

Μετά τη φύτευση των φυτών και την πλήρη ανάπτυξή τους, διαχειριστήκαμε το ριζικό τους σύστημα ως εξής: στα φυτά αραβόσιτο, μελιτζάνα και κατηφέ οι ρίζες τεμαχίστηκαν σε συγκεκριμένο μήκος, διαχωρίστηκαν ανάλογα με το πάχος τους, καθαρίστηκαν με καυστικό κάλιο στους 90°C για διαφορετικούς χρόνους και βάφτηκαν με Chlorazol Black E. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες με διάλυμα συντήρησης και μετρήθηκε ο εποικισμός τους με τη βοήθεια στερεοσκοπίου. Από τις ρίζες των φασολιών μετρήθηκαν τα φυμάτια και ακολουθήθηκε συγκεκριμένη διαδικασία για την απομόνωση των ριζοβίων σε στερεό θρεπτικό υπόστρωμα (ΥΜΑ) χωρίς πηγή αζώτου και τη δημιουργία stock καλλιεργειών σε δοκιμαστικούς σωλήνες για περαιτέρω έρευνα.

Από τη στατιστική ανάλυση των μετρήσεων προέκυψε Ελάχιστη Σημαντική Διαφορά στον μέσο αριθμό φυματίων ανά πειραματική μονάδα και στο ξηρό βάρος του αραβοσίτου ανά φυτό. Τέλος, ανιχνεύσαμε μυκορριζικά στελέχη σε επεμβάσεις στις οποίες δεν ήταν αναμενόμενο να εντοπιστούν βάσει της υπάρχουσας βιβλιογραφίας και των ερευνητικών άρθρων που έχουν δημοσιευθεί στο διαδίκτυο.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΕΔΑΦΟΥΣ

Το έδαφος είναι ένας ζωντανός οργανισμός. Ο Jacks (1963) απέδειξε ότι, η γονιμότητα ενός εδάφους σε φυσικές συνθήκες, είναι ένα βιολογικό φαινόμενο. Ο ίδιος υποστήριξε ότι ο πληθυσμός των φυτών, ζώων και μικροοργανισμών που έχουν οποιαδήποτε σχέση με το έδαφος, το κάνουν γόνιμο με τη μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε χημική, που γίνεται με τη φωτοσύνθεση και την απορρόφηση της θερμότητας.

Η φυτική ύλη που παράγεται, χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας για τα ζώα και τα μικρόβια. Σε ένα έδαφος βρίσκονται ρίζες φυτών και κατώτεροι οργανισμοί. Οι κατώτεροι αυτοί οργανισμοί, υπάρχουν σε εξαιρετικά μεγάλες ποσότητες ειδικότερα στην ριζόσφαιρα και ανήκουν κυρίως στο φυτικό βασίλειο. Εκτός από αυτούς το έδαφος περιλαμβάνει και ζωικούς οργανισμούς όπως νηματώδεις, έντομα, ποντικούς, γαιοσκώληκες και άλλα μικρά ζώα. Εάν εξαιρέσουμε τη βλαβερή επίδραση των νηματωδών και παθογόνων μυκήτων στις ρίζες, οι ζωντανοί αυτοί οργανισμοί, σπάνια επιδρούν δυσμενώς στη διατροφή των φυτών. Σχετικές μελέτες που έγιναν στην Αγγλία, μέτρησαν σε 10 στρέμματα εδάφους 1720 κιλά ζωντανής ύλης, κατά μεγάλο μέρος αόρατης με γυμνό οφθαλμό, που βρίσκεται σε κατάσταση συνεχούς μεταβολής και αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα της γονιμότητας του εδάφους. (Τσιτσιάς, 1997)

Οι οργανισμοί του εδάφους αποτελούνται από βακτήρια, μύκητες, ακτινομύκητες, φύκη, λειχήνες, που ανήκουν στην χλωρίδα του εδάφους, αλλά και από είδη που ανήκουν στην πανίδα του εδάφους, όπως γαιοσκώληκες (earthworms), τερμίτες (termites), μυρμήγκια (ants). (Καλύβας, 2003)

	Βακτήρια
ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ	Μύκητες
	Ακτινομύκητες
	Φύκη
ΜΙΚΡΟΠΑΝΙΔΑ	Πρωτόζωα
	Νηματώδεις

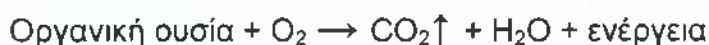
1.1 Βακτήρια (bacteria)

Τα βακτήρια είναι μονοκύτταροι οργανισμοί, έχουν σχήμα συνήθως ραβδόμορφο, σπανιότερα σφαιροειδές και μέγεθος μικρότερο του 1μm έως 10μm (συνηθέστερο έως 5μm). Είναι το πολυπληθέστερο είδος οργανισμών στο έδαφος και έχει αποδειχθεί ότι ένα γραμμάριο εδάφους μπορεί να περιέχει από ένα έως και τρία-τέσσερα δισεκατομμύρια βακτήρια. Το βάρος τους μπορεί να φθάσει, για έκταση ενός στρέμματος και βάθος 20cm, τα 130kg, ενώ γενικά αντιπροσωπεύει το 0,05% του ξηρού βάρους του εδάφους. Τα βακτήρια αποτελούνται από 80% νερό, 10% άνθρακα και 2% άζωτο.

Τα βακτήρια ταξινομούνται ανάλογα με:

α. τη μέθοδο λήψης τροφής και ενέργειας

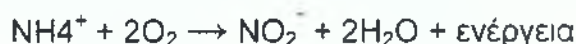
- **Ετερότροφα:** παίρνουν την απαιτούμενη ενέργεια από την οξείδωση της οργανικής ουσίας.



- **Αυτότροφα:** μπορούν να συνθέτουν οργανικές ενώσεις από τη δέσμευση του CO₂, που γίνεται με τη βοήθεια της ενέργειας που παίρνουν από τις διάφορες χημικές αντιδράσεις, στις οποίες συμπεριλαμβάνεται και η φωτοσύνθεση.

Τα βακτήρια, που χρησιμοποιούν την ενέργεια οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων, ονομάζονται **χημοσυνθετικά**, ενώ αυτά που χρησιμοποιούν το φως για ενέργεια **φωτοσυνθετικά**.

Στα αυτότροφα χημοσυνθετικά ανήκουν τα νιτροβακτήρια (*nitrosomonas* και *nitrobacter*), που οξειδώνουν το αμμωνιακό άζωτο, που παράγεται κατά τη διάσπαση των πρωτεϊνών σε νιτρώδη και νιτρικά. Η διαδικασία είναι γνωστή ως **νιτροποίηση** και περιγράφεται από τις εξισώσεις:



Επίσης αυτότροφα βακτήρια οξειδώνουν το S²⁺ σε SO₄²⁻, το Fe²⁺ σε Fe³⁺ το Mn²⁺ σε Mn⁴⁺ και το μονοξείδιο του άνθρακα σε διοξείδιο του άνθρακα.

Στα ετερότροφα βακτήρια ανήκουν οι δεσμευτές αζώτου, που ανάγουν το ατμοσφαιρικό άζωτο σε αμμωνιακό και το δεσμεύουν υπό οργανική μορφή (αμινοξέα) αλλά και βακτήρια, εκείνα τα οποία είναι και πιο διαδεδομένα, που δεν δεσμεύουν άζωτο, αλλά απαιτούν δεσμευμένο άζωτο. Αυτά κυρίως θεωρούνται υπεύθυνα για την αποσύνθεση της οργανικής ουσίας.

β. την ύπαρξη ή όχι συμβίωσης με φυτά

- Συμβιωτικά
- Μη συμβιωτικά

Οι δεσμευτές αζώτου, τα ετερότροφα βακτήρια, μπορούν να ζουν ελεύθερα ή συμβιωτικά με ορισμένα φυτά, όπως τα ψυχανθή (φασόλια, μπιζέλια κ.α). Τα τελευταία, κυρίως είδη του *Rhizobium* sp., δημιουργούν φυμάτια (εξογκώματα) στις ρίζες τους εντός των οποίων γίνεται η δέσμευση και η μετατροπή του ατμοσφαιρικού αζώτου.

γ. τις απαιτήσεις σε οξυγόνο

- αερόβια
- αναερόβια κυρίως σαπροφυτικά, που διατρέφονται δηλαδή από τα υπολείμματα φυτών και ζώων

Τα μη συμβιωτικά βακτήρια, που ζουν ελεύθερα, περιλαμβάνουν αναερόβια και αερόβια είδη, όπως το *azotobacter*.

Επίσης σε αερόβια και αναερόβια διακρίνονται και τα βακτήρια που δεν δεσμεύουν το άζωτο.

Η θερμοκρασία, η υγρασία, ο αερισμός, η οξύτητα καθώς και οι άλλες συνθήκες του εδάφους επηρεάζουν την ανάπτυξη και δραστηριότητα των βακτηρίων. Γενικά, περισσότερα βρίσκουμε στα γόνιμα εδάφη ενώ αυξάνονται πολύ γρήγορα όταν υπάρχουν επίσης αρκετά οργανικά συστατικά. Έχουν τις ίδιες απαιτήσεις με αυτές των καλλιεργειών όσον αφορά στην υγρασία (δηλαδή έδαφος στην υδατοϊκανότητα), ενώ σε θερμοκρασία οι τιμές μεταξύ 19°C και 37°C και σε pH οι τιμές μεταξύ 6 και 8 θεωρούνται ικανοποιητικές. Ως τροφή είναι δυνατόν να χρησιμοποιούν τις εύκολα αποσυντιθέμενες οργανικές ουσίες.

1.2 Μύκητες (fungi)

Είναι μονοκύτταροι και πολυκύτταροι οργανισμοί και σχηματίζουν μυκήλιο κατά την αποσύνθεση ορισμένων υλικών. Είναι πάντοτε ετερότροφοι αερόβιοι, ενώ πολλοί ζουν συμβιωτικά με τις ρίζες διαφόρων φυτικών ειδών (μυκόρριζες). Οι ρίζες μεταβιβάζουν ουσίες στους μύκητες και οι υφές των μυκήτων βοηθούν τις ρίζες να απορροφήσουν θρεπτικά στοιχεία και νερό.

Οι μύκητες διασπούν την οργανική ουσία και προμηθεύονται άνθρακα και ενέργεια (αφού στερούνται χλωροφύλλης) από τις κυτταρίνες, που απαντώνται ως συστατικό ξύλου, τις πηκτίνες, τις ημικυτταρίνες, την κερατίνη και τη λιγνίνη. Τα πολυμερή μόρια αυτών των ενώσεων διασπώνται σε μικρότερα μόρια λόγω της έκχυσης ενζύμων από τους μύκητες.

Επίσης δρουν ως συστατικά, που βοηθούν στο σχηματισμό σταθερών στο νερό εδαφικών συσσωματωμάτων.

Στους μύκητες ανήκουν οι ζύμες, οι βασιδιομύκητες και οι ευρώτες (με γνωστούς εκπροσώπους τα γένη *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Aspergillus*), που είναι εξίσου σημαντικοί, όσο και τα βακτήρια.

Η δραστηριότητα τους και ο πληθυσμός τους αυξάνει στην επιφάνεια του εδάφους, όπου αφθονούν τα συστατικά της οργανικής ουσίας που χρειάζονται, αλλά και οπουδήποτε υπάρχει καλός αερισμός. Εμφανίζονται λιγότερο απαιτητικοί σε σχέση με τα αυξημένα ποσοστά υγρασίας, που θέλουν τα βακτήρια, ενώ απαιτούν περισσότερο όξινο περιβάλλον. Ιδιαίτερα δε σε χαμηλό pH η σημασία τους είναι μεγαλύτερη, γιατί μειώνεται σημαντικά η δραστηριότητα των βακτηρίων.

1.3 Ακτινομύκητες (actinomycetes)

Σχετίζονται μορφολογικά και ταξινομικά με τους μύκητες και τα βακτήρια. Είναι μονοκύτταροι οργανισμοί και φτιάχνουν μυκήλια (όμοια με τους μύκητες), πολλοί αναπαράγονται με σπόρους, οι οποίοι μοιάζουν με τα κελιά των βακτηρίων. Είναι κυρίως ετερότροφοι, αερόβιοι και σαπροφυτικοί. Βοηθούν τη διάσπαση των συστατικών της οργανικής ουσίας και κυρίως της κυτταρίνης, επιταχύνουν παράλληλα και τον αργό ρυθμό αποσύνθεσης οργανικών ουσιών από τα βακτήρια. Δίνουν στο έδαφος χαρακτηριστική γαιώδη οσμή (ιδίως σε

εδάφη που πρόσφατα οργώθηκαν, ή που είναι υγρά) ενώ βοηθούν στην ανάπτυξη σταθερής δομής του εδάφους, όπως και οι μύκητες.

Σήμερα οι ακτινομύκητες είναι πολύ χρήσιμοι γιατί παράγουν μια σειρά χρήσιμων αντιβιοτικών, όπως streptomycin, terramycin, neomycin κ.α.

Τέλος, πριν από είκοσι περίπου χρόνια βρέθηκε ότι έχουν συμβιωτική δράση με επτά τουλάχιστον οικογένειες φυτών, ενώ τα βακτήρια *Rhizobium* sp. μόνο με τα ψυχανθή και ότι δεσμεύουν ατμοσφαιρικό άζωτο.

Αναπτύσσονται σε ποικίλα καθεστώτα εδαφικής υγρασίας προτιμώντας κυρίως τα υγρά εδάφη. Είναι περισσότεροι στα θερμά εδάφη, ενώ δεν θέλουν όξινες συνθήκες (ικανοποιητική ανάπτυξη σε pH έως 6).

1.4 Φύκη (algae)

Τα φύκη είναι μικροσκοπικά φυτά (αυτότροφοι οργανισμοί), εφοδιασμένα με χλωροφύλλη και επομένως ικανά να φωτοσυνθέτουν. Ζουν στην επιφάνεια του εδάφους, η ανάπτυξή τους ευνοείται ακόμη περισσότερο σε συνθήκες αυξημένης υγρασίας και φωτός. Δεν είναι τόσο σημαντικά ως διασπαστές της οργανικής ουσίας.

1.5 Ζωικοί εδαφικοί οργανισμοί - Ασπόνδυλα (Invertebrates)

Έχουν πολύ σημαντική δραστηριότητα, είναι αυτοί που τεμαχίζουν τα φυτικά μέρη και εκθέτουν οργανικές επιφάνειες, ώστε να δρουν πάνω τους οι εδαφικοί μικροοργανισμοί. Μετακινούν, εντός του εδάφους, τεμάχια και περιττώματα πλούσια σε βακτήρια προς όλες τις κατευθύνσεις. Γενικά δρουν προς το όφελος της ομογενοποίησης του εδαφικού σώματος. Ο πληθυσμός τους μειώνεται αισθητά από την επιφάνεια του εδάφους προς τα βαθύτερα στρώματα.

Εδώ ανήκουν τα πρωτόζωα, (η απλούστερη ίσως μορφή πανίδας), τα αρθρόποδα (π.χ. τερμίτες), οι (γαιο-) σκώληκες, που περιλαμβάνουν και τους σημαντικούς νηματώδεις, οι οποίοι έχουν και επιβλαβή δράση για τις ρίζες των φυτών. (Καλύβας, 2003)

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

1. ΜΥΚΟΡΡΙΖΕΣ

1.1 Τι είναι οι μυκόρριζες

Οι μυκόρριζες είναι ιδιαίτερα εξελιγμένες συμβιώσεις μεταξύ των εδαφολογικών μυκήτων και των ριζών των φυτών. Στις συμβιώσεις αυτές συμμετέχουν μέλη του Βασιλείου των μυκήτων (Βασιδιομύκητες, Ασκομύκητες και Ζυγομύκητες) και των περισσότερων φυτών (Harley & Smith, 1983, Brundrett, 1991, Kendrick, 1992). Στη μυκορριζική ορολογία, ο όρος "συμβίωση" χρησιμοποιείται για να περιγράψει αυτές τις ιδιαίτερα αλληλοεξαρτώμενες συμβιωτικές σχέσεις, όπου ο μύκητας παρέχει στα φυτά - ξενιστές ανόργανα συστατικά (π.χ. φώσφορο, άζωτο) καθώς και πιο πολύπλοκες οργανικές ενώσεις που συνθέτει ο ίδιος (π.χ. φυτορμόνες) και σε αντάλλαγμα παίρνει από αυτά υδατάνθρακες (Harley & Smith, 1983). Στις συμβιώσεις αυτές αλληλεπιδρούν τα φυτά - ξενιστές, οι συμβιωτικοί μύκητες και οι εδαφολογικοί παράγοντες.

1.2 Τύποι αποικιών

Έχουν αναγνωριστεί τουλάχιστον επτά διαφορετικοί τύποι μυκορριζικών αποικιών με βάση τη μορφολογία τους, στους οποίους περιλαμβάνονται διαφορετικές ομάδες μυκήτων και φυτών - ξενιστών.

1. **Κυστοειδείς - δενδρόμορφες μυκόρριζες** (Vesicular - arbuscular mycorrhizas, VAM ή AM). Είναι αποικίες που παρατηρούνται στην τάξη Glomales των Ζυγομυκήτων και οι οποίες παράγουν arbuscules, υφές και κύστες μέσα στις ρίζες. Τα σπόρια σχηματίζονται στο χώμα ή τις ρίζες. Αυτές οι αποικίες καθορίζονται από την παρουσία arbuscules. Οι μύκητες εξαπλώνονται μέσα στις ρίζες από τις γραμμικές ή τις διακλαδιζόμενες υφές.
2. **Εκτομυκόρριζες** (ECM). Σε αυτές, η κορυφή της προσβεβλημένης ρίζας καλύπτεται από ένα στρώμα υφών. Από το στρώμα αυτό υφές διαπερνούν τα εξωτερικά στρώματα του φλοιού της ρίζας και

σχηματίζουν στους μεσοκυττάριους χώρους ένα πλέγμα (Hartig net). Υφές που εκτείνονται στο έδαφος στην εξωτερική πλευρά τού μυκηλιακού στρώματος απορροφούν τα θρεπτικά συστατικά και τα μεταφέρουν στη μυκόρριζα. Η μυκόρριζα διακρίνεται εύκολα από τις υπόλοιπες ρίζες τού φυτού γιατί δεν έχει ριζικά τριχίδια, είναι κοντότερη, παχύτερη και διακλαδισμένη. Εκτομυκόρριζες σχηματίζουν κυρίως οι Βασιδιομύκητες και ορισμένοι Ασκομύκητες και απαντώνται κυρίως στα δασικά δέντρα. (Πάπυρος - Λαρούς - Μπριτάνικα, 1981)

3. **Ectendo -, arbutoid - και monotropoid μυκορριζικές αποικίες** είναι παρόμοιες με τις εκτομυκόρριζες.
4. **Οι ορχεοειδείς μυκόρριζες** αποτελούνται από ελικόμορφες υφές μέσα στις ρίζες ή τους μίσχους των φυτών στην οικογένεια Orchidaceae. Τα νεαρά σπορόφυτα της ορχιδέας και μερικά ενήλικα φυτά που στερούνται τη χλωροφύλλη εξαρτώνται εξ ολοκλήρου από τους μυκορριζικούς μύκητες για την επιβίωσή τους.
5. **Οι ericoid μυκόρριζες** έχουν ελικόμορφες υφές μέσα στα εξωτερικά κύτταρα των στενών ριζικών τριχιδίων των φυτών στην τάξη Ericales. Αυτές οι αποικίες εμφανίζονται επίσης στις παχύτερες ρίζες των αυστραλιανών μελών του Ericaceae.
6. Ο αυστραλιανός κρίνος *Thysanotus* έχει μια μοναδική μυκορριζική ένωση όπου οι υφές των μυκήτων αυξάνονται μόνο κάτω από τα επιδερμικά κύτταρα.

1.3 Φυτά ξενιστές

Πολλά Πτεριδόφυτα είναι γνωστό ότι έχουν τις αποικίες VAM, ενώ τα Γυμνόσπερμα μπορούν να έχουν τις αποικίες ECM ή VAM. Οι περισσότερες πληροφορίες για τη μυκορριζική κατάσταση των φυτών είναι από τις εύκρατες περιοχές του βόρειου ημισφαιρίου, ειδικά για τα συγκομιζόμενα φυτά και τα ζιζάνια (Trappe, 1987).

Μυκορριζικές αποικίες σε Αγγειόσπερμα φυτά



Στοιχεία που συντάσσονται από τον Garre (1987) από ένα σύνολο δεδομένων που αντιπροσωπεύει το 3% των Αγγειόσπερμων ειδών.

1.4 Πού βρίσκονται τα μυκορριζικά φυτά

Έρευνες στον αγρό έχουν αποδείξει ότι τα φυτά με μυκορριζικές αποικίες απαντώνται σε όλο τον κόσμο (Brundrett, 1991). Ο πίνακας συνοψίζει τη σημασία των μυκορριζικών ενώσεων σε όλο τον κόσμο.

Ένωση	Περιστατικό
Κυστοειδή Φυτά. Arbuscular Μυκορριζικών (VAM)	<ul style="list-style-type: none"> • Είναι κοινά στους περισσότερους βιότοπους • Είναι ευκολότερο να ειπωθεί που δεν βρίσκονται
Εκτομυκορριζικά φυτά (ECM)	<ul style="list-style-type: none"> • Είναι κυρίαρχα στα κωνοφόρα δάση, ειδικά στις κρύες βόρειες ή αλπικές περιοχές • ECM δέντρα και θάμνοι είναι κοινοί σε πολλά πυκνόφυλλα δάση στις εύκρατες ή Μεσογειακές περιοχές • Συναντώνται επίσης σε τροπικές ή υποτροπικές σαβάνες ή στους βιότοπους των δασών της βροχής
Μη μυκορριζικά φυτά (NM)	<ul style="list-style-type: none"> • Είναι τα πιο κοινά στους διαταραγμένους βιότοπους, ή τις περιοχές με ακραίες περιβαλλοντικές ή εδαφολογικές συνθήκες • Εμφανίζονται συχνότερα στην Αυστραλία

1.5 Μυκορριζικοί μύκητες

Τα μέλη του Βασιλείου των μυκήτων διατρέφονται από πολλές πηγές, συμπεριλαμβανομένης της αποσύνθεσης των οργανικών υπολειμμάτων, αλλά και μέσω της συμβίωσής τους με τα φυτά - ξενιστές (Christensen, 1989, Kendrick, 1992).

Πολλοί εδαφολογικοί μύκητες είναι σαπροφυτικοί και έχουν την ικανότητα να αφομοιώνουν τα οργανικά υπολείμματα με τη βοήθεια των ενζύμων (Wainwright, 1988). Οι μυκορριζικοί μύκητες είναι ένα σημαντικό συστατικό της εδαφολογικής μικροχλωρίδας στα φυσικά και στα ελεγχόμενα οικοσυστήματα, αλλά συνήθως έχουν περιορισμένες σαπροφυτικές ικανότητες (Harley & Smith, 1983).

Πειράματα σε εργαστήρια και σε θερμοκήπια έχουν δείξει ότι η ικανότητα των διαφόρων φύλων να χρησιμοποιούν τους πόρους, να αντεπεξέρχονται σε δυσμενείς συνθήκες κ.λπ. ποικίλλουν. Για αυτό το λόγο, η ποικιλομορφία των μυκορριζικών μυκήτων θεωρείται ότι συμβάλει στην ανθεκτικότητα των οικοσυστημάτων, αλλά υπάρχουν πολύ λίγα στοιχεία που μπορούν να αποδείξουν αυτή την υπόθεση.

1.6 Ο ρόλος των μυκορριζών

Οι μυκορριζες τροφοδοτούν τα φυτά με ανόργανες ύλες από το έδαφος, οι οποίες σε διαφορετική περίπτωση δεν θα ήταν αφομοιώσιμες. Τα προστατεύουν επίσης από παρασιτικούς μύκητες και νηματώδεις, από τη ρύπανση, ακόμη και από την ξηρασία.

Το δίκτυο των ιστών του μύκητα συγκρατεί με τέτοιο τρόπο το έδαφος, ώστε να εξασφαλίζει περισσότερη υγρασία, ενώ εμποδίζει την διάβρωση του εδάφους και την ερημοποίηση σε ξηρά κλίματα. Επίσης, στα οφέλη των μυκορριζών μπορούν να συμπεριληφθούν η βελτίωση της ικανότητας συσσώρευσης θρεπτικών στοιχείων στην περιοχή της ρίζας, καθώς και η αύξηση της παραγωγής.

Οι μυκορριζικοί μύκητες συμβάλλουν στην αποθήκευση του άνθρακα στο έδαφος, ενώ οι υφές τους αποτελούν αγωγούς, μέσω των οποίων ο άνθρακας μεταφέρεται από τις ρίζες των φυτών στους μικροοργανισμούς του εδάφους που είναι υπεύθυνοι για την αποσύνθεση.

Οι μυκόρριζες μπορούν να συμβάλλουν στην αναδάσωση περιοχών που είναι εξαιρετικά εχθρικές στα φυτά, όπως εγκαταλελειμμένα μεταλλεία, περιοχές που έχουν διαβρωθεί σοβαρά, που είναι πολύ ξηρές, ή ακόμη και εδάφη τα οποία έχουν υψηλό επίπεδο αλατότητας.

Η βιολογική γεωργία είναι ένας από τους κύριους τομείς που μπορούν να ωφεληθούν από τις μυκόρριζες, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντί των λιπασμάτων και των φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

2. ARBUSCULAR (ΔΕΝΔΡΟΕΙΔΕΙΣ) ΜΥΚΟΡΡΙΖΕΣ

Υπάρχει διαφωνία εάν οι arbuscular μυκόρριζες ή οι κυστοειδείς - arbuscular μυκόρριζες είναι το πιο κατάλληλο όνομα που χρησιμοποιείται, επειδή μερικοί μύκητες δεν παράγουν κύστες, τα arbuscules δεν είναι πάντα παρόντα στις ρίζες και ο ρόλος τους στη θρεπτική ανταλλαγή δεν έχει επιβεβαιωθεί (Smith, 1995, Walker, 1995). Οι κατασκευές που συναντώνται στις VAM ενώσεις παρατίθενται κατωτέρω:

A. Δομές στις ρίζες

- **Υφές:** διακλαδίζονται μέσα στο φλοιό και δεν χωρίζονται με διαφράγματα (septa) όταν είναι νεαρές.
- **Arbuscules:** περίπλοκα διακλαδισμένοι μυζητήρες (haustoria) στα κύτταρα του φλοιού.
- **Κύστες:** δομές αποθήκευσης που διαμορφώνονται από πολλούς μύκητες

B. Δομές στο έδαφος

- **Υφές:** στο έδαφος σχηματίζεται ένα δίκτυο παχύτερων υφών, που λειτουργούν ως αγωγοί και λεπτότερων διακλαδιζόμενων υφών, μέσω των οποίων απορροφούν τις θρεπτικές ουσίες.
- **Σπόρια:** μεγάλες (για έναν μύκητα) άφυλες σφαιρικές δομές που σχηματίζονται στις υφές του εδάφους ή των ριζών.

2.1 Δομές και αναπτυξιακά στάδια

Οι αποικίες VAM σχηματίζονται όταν οι ρίζες - ξενιστές αλληλεπιδρούν με τους συμβατούς μύκητες και οι συνθήκες του εδάφους είναι ευνοϊκές. Τα στάδια αποίκησης της ρίζας από τους VAM μύκητες και οι αποικίες που σχηματίζονται από τα είδη *Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora* και *Acaluospora* παρουσιάζονται παρακάτω.

1. Υφές του εδάφους

Οι μυκορριζικές αποικίες μπορούν να αρχίσουν από τη βλάστηση των σπορίων. Οι υφές μπορεί επίσης να προέλθουν από τεμάχια των ριζών. Σε

πολλές περιπτώσεις υπάρχει ήδη ένα δίκτυο υφών ως αποτέλεσμα προηγούμενης δραστηριότητας της ρίζας. Οι υφές που προκύπτουν από τη βλάστηση σπορίων έχουν μια περιορισμένη ικανότητα να αναπτύσσονται και εάν δεν εισβάλλουν σε μια ευπαθή ρίζα μέσα σε μια εβδομάδα “πεθαίνουν”.

Οι εδαφικές υφές, που είναι επίσης γνωστές ως εξωριζικές ή εξωτερικές, είναι ινώδεις μυκητιακές δομές που διακλαδίζονται μέσα στο έδαφος. Είναι υπεύθυνες για την πρόσληψη και αξιοποίηση των θρεπτικών ουσιών, την εξάπλωση της αποικίας, το σχηματισμό σπορίων κ.λπ. Οι VAM μύκητες παράγουν διαφορετικούς τύπους εδαφολογικών υφών και περιλαμβάνουν πυκνές ή “διανεμητικές” υφές καθώς επίσης και λεπτές “απορροφητικές” (Friese & Allen, 1991). Οι υφές των VAM μυκήτων έχει παρατηρηθεί ότι πολλαπλασιάζονται σε μικροπεριοχές του εδάφους όπου συγκεντρώνονται θρεπτικές ουσίες (St John et al, 1983).

2. Επαφή και διείσδυση ρίζας

Οι μυκορριζικές αποικίες αρχίζουν να σχηματίζονται όταν τα σπόρια του μύκητα, που βρίσκονται στο έδαφος σε λήθαργο, έρχονται σε επαφή με τη ρίζα του φυτού - ξενιστή. Έπειτα, μια ή περισσότερες υφές παράγουν διογκώσεις μεταξύ των επιδερμικών κυττάρων, που καλούνται πλάκες συγκράτησης ή προσκόλλησης (appressoria). Η διείσδυση γίνεται όταν οι υφές από τα appressoria διαπερνούν τα επιδερμικά ή φλοιώδη κύτταρα για να εισέλθουν στη ρίζα. Αυτές οι υφές διασχίζουν την υποδερμίδα (μέσω διαπερατών κυττάρων, εάν αυτά υπάρχουν στην εξωδερμίδα) και αρχίζουν να διακλαδίζονται στον εξωτερικό φλοιό.

3. Πολλαπλασιασμός των υφών στο φλοιό

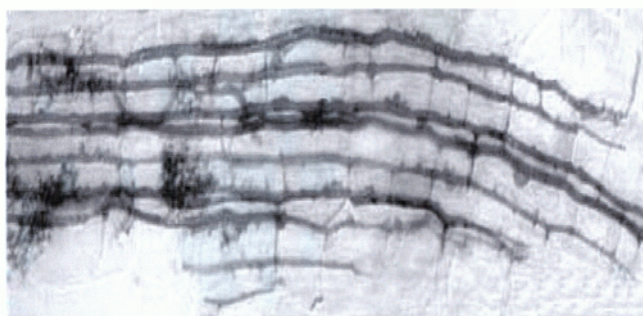
Οι υφές χωρίς σέπτα εξαπλώνονται κατά μήκος του φλοιού και στις δύο κατευθύνσεις από το σημείο εισόδου για να διαμορφώσουν μια αποικία. Οι υφές μέσα στη ρίζα είναι αρχικά χωρίς εγκάρσια τοιχώματα, αλλά αυτά μπορούν να εμφανιστούν στις παλαιότερες ρίζες. Ο Gallaud (1905) παρατήρησε ότι οι αποικίες VAM στα διάφορα είδη διαμόρφωσαν δύο ευδιάκριτους τύπους μορφολογίας, τους οποίους ονόμασε **σειρά Arum** και **σειρά Paris**. Οι διαφορές μεταξύ αυτών των δύο τρόπων διάδοσης μέσα στο φλοιό της ρίζας είναι διευκρινισμένες κατωτέρω. Οι αποικίες VAM των τύπων

Arum και **Paris** είναι εξίσου σημαντικές για τα οικοσυστήματα.

- Στις ρίζες με τις αποικίες της σειράς **Arum**, οι υφές πολλαπλασιάζονται στο φλοιό αυξανόμενες κατά μήκος μεταξύ των κυττάρων - ξενιστών. Αυτό γίνεται επειδή αυξάνονται μέσω των μεσοκυττάρων χώρων (Brundrett et al, 1985).
- Στη σειρά **Paris** οι υφές διαδίδονται σχηματίζοντας έλικες μέσα στα κύτταρα, επειδή δεν υπάρχουν συνεχείς μεσοκυττάριοι χώροι.

(i) Ο τύπος **Arum**

Σε αυτές τις αποικίες οι υφές αυξάνονται κατά μήκος των μεσοκυττάρων χώρων, μεταξύ των τοιχωμάτων των κυττάρων της ρίζας. Οι προκύπτουσες αποικίες των VAM μυκήτων έχουν μια γραμμική εμφάνιση.



(ii) Ο τύπος **Paris**

Σε αυτές τις αποικίες η εξάπλωση των υφών γίνεται πρωτίστως με ενδοκυτταρική αύξηση, αφού ακολουθήσουν μια πολύπλοκη πορεία μέσω των κυττάρων του φλοιού. Οι προκύπτουσες αποικίες των VAM μυκήτων έχουν γενικά μια συσπειρωμένη εμφάνιση



(Gallaud, 1905, Brundrett & Kendrick, 1998), αλλά μπορούν να έχουν πιο διακλαδισμένη μορφή (Widden, 1996). Τα arbuscules μπορούν να περιοριστούν σε ένα μονό στρώμα κυττάρων στο εσωτερικό του φλοιού.

4. Arbuscules

Τα arbuscules είναι περίπλοκα διακλαδισμένοι μυζητήρες που σχηματίζονται μέσα στα κύτταρα του φλοιού της ρίζας.

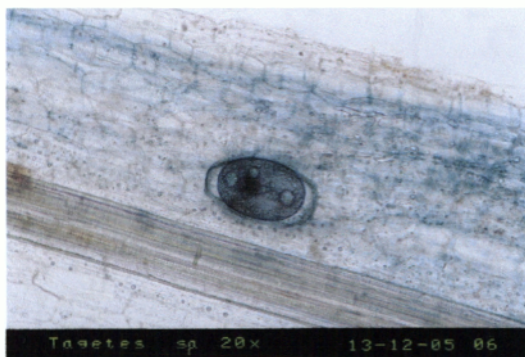


Ονομάστηκαν έτσι από τον Gallaud (1905), επειδή μοιάζουν με μικρά δέντρα. Σχηματίζονται από τις επαναλαμβανόμενες διχοτομήσεις των διακλαδώσεων των υφών και τις μειώσεις του πλάτους τους.

Τα arbuscules αρχίζουν να σχηματίζονται περίπου 2 ημέρες μετά από τη διείσδυση της ρίζας. Αυξάνονται μέσα σε συγκεκριμένα κύτταρα του φλοιού, αλλά παραμένουν έξω από το κυτταρόπλασμα τους, λόγω του ότι περιβάλλονται από την κυτοπλασματική μεμβράνη. Θεωρούνται ως η βασικότερη περιοχή της ανταλλαγής μεταξύ του μύκητα και του ξενιστή. Ο σχηματισμός τους ακολουθεί την αύξηση των υφών, αναπτυσσόμενος εξωτερικά από το σημείο εισόδου. Έχουν μικρή διάρκεια ζωής και αρχίζουν να "καταρρέουν" μετά από μερικές ημέρες, αλλά οι υφές και οι κύστει μπορούν να παραμείνουν στις ρίζες για μήνες ή και χρόνια.

5. Κύστεις

Οι κύστεις χρησιμεύουν για τη συσσώρευση των προϊόντων που παράγονται από τη φωτοσύνθεση των φυτών - ξενιστών (υδατάνθρακες) και είναι απαραίτητα για την επιβίωση του μύκητα. Εμφανίζονται αμέσως μετά τα πρώτα arbuscules,



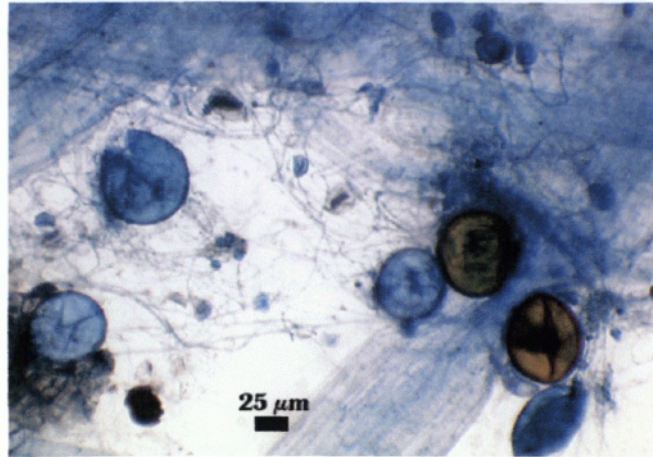
αλλά συνεχίζουν να αναπτύσσονται και όταν αυτά έχουν ωριμάσει. Είναι διογκώσεις στο φλοιό της ρίζας που περιέχουν τα λιπίδια και το κυτταρόπλασμα και μπορούν να είναι μεσοκυττάρια ή ενδοκυττάρια.

Οι κύστεις μπορούν να αναπτύξουν παχιά τοιχώματα στις παλαιότερες ρίζες και να λειτουργήσουν ως propagules (έμφυλα ή άφυλα σπόρια). (Biermann & Linderman, 1983).

6. Σπόρια

Τα σπόρια σχηματίζονται σαν διογκώσεις σε μια ή περισσότερες υφές στο έδαφος ή στις ρίζες. Περιέχουν τα λιπίδια, το κυτταρόπλασμα και πολλούς πυρήνες.

Συνήθως αναπτύσσουν παχιά τοιχώματα με περισσότερα από ένα στρώματα και μπορούν να λειτουργήσουν ως propagules. Τα σπόρια περιέχονται σε εξειδικευμένα όργανα του μύκητα που αποκαλούνται καρποφορίες και λειτουργούν κυρίως σαν αποθήκες θρεπτικών στοιχείων.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

1. ΑΖΩΤΟΒΑΚΤΗΡΙΑ

1.1 Γενικά

Το άζωτο αποτελεί τον κυριότερο περιοριστικό θρεπτικό παράγοντα για τα περισσότερα φυτικά είδη. Η αφομοίωση του αζώτου μαζί με την φωτοσύνθεση μπορεί να θεωρηθούν ως οι πλέον βασικές λειτουργίες στην ανάπτυξη των φυτών. Χαρακτηριστικό του σημαντικού ρόλου του αζώτου είναι ότι η βλάστηση και βιωσιμότητα των σπόρων συνδέεται άμεσα με την περιεκτικότητά τους σε αυτό. Κατά συνέπεια η ίδια η παραγωγή τροφών (καλής ποιότητας και υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες), σε ποσότητες ικανές να θρέψουν τον διαρκώς αυξανόμενο ανθρώπινο πληθυσμό, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την διαθεσιμότητα του θρεπτικού αυτού στοιχείου στις καλλιέργειες.

Στην φύση υπάρχει μια ποικιλία συμβιωτικών σχέσεων οι οποίες σχετίζονται με δέσμευση ατμοσφαιρικού αζώτου. Η συμβιωτική όμως σχέση ψυχανθών - *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, η οποία οδηγεί στον σχηματισμό των φυματίων, θεωρείται ως η πλέον σημαντική για την γεωργία.

Τα φυμάτια για πρώτη φορά απεικονίστηκαν σε σχέδιο ψυχανθών του 1500 μ.Χ. όπου σημειώνονται ως σύμπτωμα κάποιας ασθένειας. Η εκτίμηση του πραγματικού τους ρόλου γίνεται για πρώτη φορά το 1888 όταν οι Hellriegel και Wilfarth διατυπώνουν την άποψη ότι αυτά συνδέονται με την δέσμευση και αφομοίωση του N_2 . Μεταξύ του 1900 και του 1960 άρχισε να συνειδητοποιείται η εξειδίκευση της αλληλεπίδρασης φυτού - ριζοβίου. Τέλος μόνο τα τελευταία χρόνια έχει επιτευχθεί σημαντική πρόοδος στην κατανόηση της φυσιολογικής, βιοχημικής και μοριακής σπουδαιότητας του φαινομένου.

1.2 Τι είναι τα αζωτοβακτήρια

Με τον όρο αζωτοβακτήρια χαρακτηρίζονται πολλά είδη βακτηρίων, που ζουν μέσα στο έδαφος ή μέσα στις ρίζες ορισμένων φυτών και έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν το άζωτο της ατμόσφαιρας. Από αυτά, τα είδη του γένους Κλοστρίδιο (*Clostridium*) ζουν αναερόβια, ενώ τα γένη *Azotobacter* και *Rhizobium* ζουν αερόβια στο χώμα και εισέρχονται από τα ριζικά τριχίδια μέσα

στις ρίζες ορισμένων φυτών της οικογένειας των Ψυχανθών (φασόλια, μπιζέλια, φακές, τριφύλλι, μηδική κ.α) ή άλλων φυτών (Τζιτζιφιά, Μυρίκη, Κλήθρα κ.α). Εκεί σχηματίζουν πολυπληθείς αποικίες στο φλοιώδες παρέγχυμα του φυτού, που υπερτρέφεται, υπερπλάσσεται και σχηματίζει εξογκώματα (φυμάτια).

Τα αζωτοβακτήρια, που είναι κοκκίομορφα, άχρωα ή κιτρινωπά μέχρι υπομαλακά, ζουν σε πορώδη εδάφη όπου η κυκλοφορία του αέρα είναι άνετη. Κυρίως αφθονούν σε καλλιεργούμενα εδάφη και σε βάθος 20 - 30 εκατοστών. Δεν αναπτύσσονται σε όξινα εδάφη και απαιτούν θερμοκρασία εδάφους κάπως υψηλή (20 - 25°C), με αρκετή υγρασία και μικρή περιεκτικότητα σε άζωτο.

Τα αζωτοβακτήρια του γένους *Rhizobium* πλουτίζουν το έδαφος με αζωτούχες ουσίες. Μετά την εγκατάσταση τους στις ρίζες, δεσμεύουν το μοριακό άζωτο του αέρα, που κυκλοφορεί στους μεσοκυττάριους χώρους των ριζών, και συνθέτουν τις απαραίτητες για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό τους αζωτούχες θρεπτικές ουσίες. Από τις ουσίες αυτές τα βακτήρια ελευθερώνουν μέσα στο κυτταρόπλασμα του φυτού - ξενιστή περίπου το 90%. Έτσι τα φυτά αυτά (Ψυχανθή ή αζωτολόγα φυτά) μπορούν να αναπτυχθούν με επιτυχία και σε φτωχά σε άζωτο εδάφη. Από τη συμβίωση αυτή φυτού - βακτηρίου, τα βακτήρια επωφελούνται από το φυτό, γιατί παίρνουν την απαιτούμενη ενέργεια για να δεσμεύσουν το άζωτο, με τη χρήση των υδατανθράκων του φυτού.

Η απελευθέρωση των αζωτούχων ουσιών από τα βακτήρια γίνεται μάλλον με τη βοήθεια πρωτεϊνολυτικών ενζύμων του φυτού και στη συνέχεια με μετατροπή των αζωτούχων αυτών ουσιών σε διαλυτά και αφομοιώσιμα από το φυτό αζωτούχα προϊόντα. Δέσμευση αζώτου δεν γίνεται, αν το φυτό και το βακτήριο δεν συνυπάρχουν.

Φαίνεται ότι κάθε είδος φυτού προσβάλλεται από διαφορετική φυλή βακτηρίου.

2. Η ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΒΙΩΣΗΣ ΚΑΙ Η ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΦΥΜΑΤΙΟΥ

2.1 Ο μικροσυμβιώτης

Τα γένη *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* συνιστούν την ομάδα εκείνη των βακτηρίων τα οποία είναι ικανά στο να σχηματίζουν φυμάτια στις ρίζες των ψυχανθών. Τα γένη αυτά περιλαμβάνουν και στελέχη τα οποία, αν και αρχικά μπορούσαν να επάγουν τον σχηματισμό φυματίων, έχουν χάσει την ικανότητα τους αυτή εξαιτίας γενετικών αλλαγών. Τα ριζόβια είναι ραβδόμορφα βακτήρια, έχουν την ικανότητα να κινούνται, είναι gram-αρνητικά και οι διαστάσεις τους κυμαίνονται από 0.5-0.8μm μέχρι 1.3-3μm. Η καλλιέργεια των βακτηρίων αυτών είναι εύκολη (γίνεται στους 25-30°C) σε ειδικά θρεπτικά μέσα ουδέτερου pH και χρησιμοποιώντας μανιτόλη ως πηγή άνθρακα.

Αρχικά υπήρχε η άποψη ότι ένα είδος βακτηρίου ευθύνεται για τον σχηματισμό φυματίων στα ψυχανθή, κάτι που στην συνέχεια εγκαταλείφθηκε με την διαπίστωση της ύπαρξης εξειδίκευσης στην μόλυνση των διαφόρων ειδών ψυχανθών από τα τότε θεωρούμενα ως στελέχη *Rhizobium*. Η εξειδίκευση αυτή αποτέλεσε τη βάση για περαιτέρω ταξινομική διαφοροποίηση που οδήγησε στην αναγνώριση νέων ειδών ριζοβίων.

2.2 Ο μηχανισμός αναγνώρισης ριζοβίων - ψυχανθών

Όπως έχει ήδη αναφερθεί κάθε είδος ψυχανθών μπορεί να μολυνθεί μόνο από συγκεκριμένα είδη ριζοβίων. Τα ριζόβια θεωρείται ότι προσκολλούνται πάνω σε πρωτεΐνες των ριζικών τριχιδίων (λεκτίνες) μέσω ειδικών σακχάρων τα οποία υπάρχουν στην επιφάνεια των βακτηρίων.

Μηχανισμοί οι οποίοι καθορίζουν την παραπάνω εξειδίκευση θεωρείται ότι προϋπάρχουν ακόμα και της αρχικής επαφής μικροσυμβιώτη - μακροσυμβιώτη. Η εγκατάσταση της συμβίωσης αρχίζει με ανταλλαγή μοριακών μηνυμάτων μεταξύ των δύο συμβιωτών. Από την πλευρά του φυτού - ξενιστή τον ρόλο αυτό τον έχουν φαινορικά συστατικά, φλαβόνες, φλαβονόνες και ισοφλαβόνες που εκκρίνονται από ριζικά τριχίδια τα οποία βρίσκονται σε ορισμένο αναπτυξιακό στάδιο.

2.3 Μεριστωματική δραστηριότητα και ανάπτυξη του φυματίου

Ο σχηματισμός της καταβολής του φυματίου δεν απαιτεί την παρουσία ριζοβίων.

Στην περίπτωση των σφαιρικών καθορισμένων φυματίων, όπως αυτά στα γένη *Glycine*, *Phaseolus* και *Vigna*, η μεριστωματική δραστηριότητα επάγεται στα κύτταρα του εξωτερικού φλοιού της ρίζας. Λίγο μετά, διαιρέσεις κυττάρων παρατηρούνται και στον εσωτερικό φλοιό. Τα δύο αυτά μεριστώματα ενώνονται σχηματίζοντας το σώμα του αρχόμενου φυματίου. Μετά από τις συνεχείς διαιρέσεις τα κύτταρα διογκώνονται και το τελικό αποτέλεσμα της διαδικασίας αυτής είναι το σφαιρικό φυμάτιο. Η μεριστωματική δραστηριότητα διαρκεί σχετικά λίγο (8 έως 14 ημέρες) και το ώριμο καθορισμένο φυμάτιο δεν έχει διαιρούμενα κύτταρα.

2.4 Καθορισμένα φυμάτια

Τα φυμάτια της κατηγορίας αυτής χαρακτηρίζονται από την έλλειψη μεριστώματος όταν είναι ώριμα.

Η μεριστωματική δραστηριότητα περιορίζεται στα αρχικά στάδια του σχηματισμού του φυματίου. Το τυπικό σχήμα ενός καθορισμένου φυματίου είναι σφαιρικό, ενώ οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες, οι οποίες απαντώνται στους περιφερειακούς ιστούς, δίνουν στην επιφάνεια του μια κυματοειδή εμφάνιση.

Σχηματικά μπορούμε να διακρίνουμε τρία αναπτυξιακά στάδια στα καθορισμένα φυμάτια. Το πρώτο περιλαμβάνει τα μικρά νεοσχηματιζόμενα φυμάτια. Στο στάδιο αυτό τα φυμάτια είναι λευκά και κύριο χαρακτηριστικό τους είναι ο μεγάλος αριθμός διαιρούμενων κυττάρων. Η μεριστωματική δραστηριότητα διατηρείται για περισσότερο χρονικό διάστημα στην επάκρια περιφέρεια του κεντρικού ιστού του φυματίου. Παράλληλα λαμβάνει χώρα η απελευθέρωση των ριζοβίων από τα μολυσματικά νημάτια. Με την πάροδο των ημερών η αύξηση του όγκου του φυματίου γίνεται κυρίως εξαιτίας της διόγκωσης των κυττάρων του και λιγότερο λόγω κυτταρικών διαιρέσεων. Το δεύτερο αναπτυξιακό στάδιο είναι αυτό των ωρίμων φυματίων τα οποία πλέον είναι ενεργά. Τα φυμάτια της κατηγορίας αυτής έχουν ερυθρό χρωματισμό εξαιτίας των μεγάλων ποσοτήτων ψυχανθοαιμοσφαιρίνης ενώ τα βακτηριοειδή τους είναι συνήθως μικρότερα από αυτά των μη καθορισμένων. Το τρίτο και τελευταίο αναπτυξιακό στάδιο είναι αυτό των γηρασμένων

φυματίων των οποίων το χρώμα ποικίλει από καφέ έως μαύρο. Τα φυμάτια της κατηγορίας αυτής χαρακτηρίζονται από την παρουσία αποσυντιθέμενων βακτηρίων και φυτικών ιστών.

2.5 Η μορφολογία των ωρίμων φυματίων

Σε όλα τα είδη φυματίων, ανεξαρτήτως τύπου και είδους φυτού και ριζοβίου, είναι δυνατόν να αναγνωρισθεί η ίδια γενική διάταξη και οργάνωση ιστών. Πάντα υπάρχει μια περιοχή, ο κεντρικός ιστός, όπου απαντώνται τα βακτηριοειδή και στην οποία λαμβάνει χώρα η δέσμευση του ατμοσφαιρικού αζώτου. Ο κεντρικός ιστός περιβάλλεται από άλλους περιφερειακούς, το κύριο χαρακτηριστικό των οποίων είναι ότι τα κύτταρά τους δεν είναι μολυσμένα από ριζόβια. Οι περιφερειακοί αυτοί ιστοί διαχωρίζονται από την ενδοδερμίδα, τον εσωτερικό φλοιό (ή παρέγχυμα του φυματίου) και τον εξωτερικό φλοιό (ή παρέγχυμα της ρίζας).

2.5.1 Οι περιφερειακοί ιστοί του φυματίου

Η ενδοδερμίδα αποτελεί το όριο μεταξύ του εξωτερικού και του εσωτερικού φλοιού. Ο εξωτερικός φλοιός αναφέρεται και ως παρέγχυμα της ρίζας καθώς θεωρείται ότι προέρχεται από τον φλοιό της ρίζας με διαιρέσεις των κυττάρων του και όχι από το μερίστωμα του φυματίου. Τα κύτταρα του εσωτερικού φλοιού, ο οποίος συχνά καλείται και ως παρέγχυμα του φυματίου, εμφανίζονται πιο μικρά από αυτά του εξωτερικού φλοιού. Μάλιστα κοντά στον κεντρικό ιστό εμφανίζονται πυκνά διατεταγμένα σχηματίζοντας μια "οριακή στοιβάδα" η οποία θεωρείται ότι έχει κεντρικό ρόλο στην ρύθμιση της διάχυσης των αερίων. Ο κύριος ρόλος των περιφερειακών ιστών του φυματίου είναι δημιουργία του μικροπεριβάλλοντος εκείνου που επιτρέπει την δέσμευση του αζώτου. Δεν θα πρέπει όμως να παραγνωρισθεί ο πολύ σημαντικός ρόλος τους στον μεταβολισμό του φυματίου και ειδικότερα στην διακίνηση μεταβολιτών από και προς την συμβιωτική περιοχή. Στους περιφερειακούς ιστούς και συγκεκριμένα στο παρέγχυμα του φυματίου βρίσκονται και τα αγωγά στοιχεία. Οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες τοποθετούνται κάτωθεν των κυττάρων που έχουν διαφοροποιηθεί σε σκληρείδες και περιβάλλονται από την δικιά τους ενδοδερμίδα.

2.5.2 Ο κεντρικός ιστός του φυματίου

Ο κεντρικός ιστός αποτελεί την κυρίως συμβιωτική περιοχή του φυματίου. Παρόλα αυτά δεν είναι όλα τα κύτταρα του αποικισμένα από βακτήρια. Το μεγαλύτερο ποσοστό μη μολυσμένων κυττάρων απαντάται στα καθορισμένα φυμάτια. Τα κύτταρα αυτά χαρακτηρίζονται από τα ευμεγέθη χυμοτόπια και από τον μεγάλο αριθμό αμυλοκόκκων. Από κάποιους συγγραφείς θεωρείται ότι τα μη μολυσμένα κύτταρα έχουν κεντρικό ρόλο στην αφομοίωση και μεταφορά του δεσμευμένου αζώτου (Paradourou et al, 1995).

3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΟ ΦΥΜΑΤΙΟ

3.1 Ο ρόλος του οξυγόνου στο φυμάτιο

Τα φυμάτια των ψυχανθών θεωρούνται ότι έχουν ιδιαίτερα υψηλές απαιτήσεις σε O_2 , περισσότερες ίσως από κάθε άλλο φυτικό ιστό. Έχει βρεθεί ότι σε ένα ενεργό φυμάτιο καταναλώνεται ποσότητα οξυγόνου περίπου τέσσερις φορές μεγαλύτερη από αυτή που χρειάζεται ίδια βιομάζα ρίζας. Το O_2 αυτό είναι αναγκαίο:

- α) για την σύνθεση των μεγάλων ποσοτήτων ATP που απαιτούνται κατά την αναγωγή του αζώτου στα βακτηριοειδή (περίπου 16 ATP ανά αναγόμενο N_2),
- β) για τις ανάγκες σε ATP προκειμένου να γίνει η αφομοίωση του αναγόμενου αζώτου αλλά και
- γ) για την διατήρηση και ανάπτυξη των κυττάρων.

4. Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ ΣΤΑ ΦΥΜΑΤΙΑ ΤΩΝ ΨΥΧΑΝΘΩΝ

4.1 Φωτοσύνθεση και συμβιωτική δέσμευση του αζώτου

Το ενεργειακό τίμημα (κόστος άνθρακα) που καλούνται τα φυτά να καταβάλουν κατά την συμβιωτική δέσμευση του αζώτου (N_2) έχει υπολογιστεί περίπου στα 6mg C ανά mg N που ανάγεται. Η φωτοσυνθετική διαδικασία στα φύλλα είναι η βασική πηγή τροφοδοσίας των φυματίων σε ενέργεια και σκελετούς άνθρακα, τόσο για την ανάπτυξη και διατήρηση τους όσο και για την δέσμευση και αφομοίωση του αζώτου.

Χειρισμοί οι οποίοι προκαλούν μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας για μεγάλα χρονικά διαστήματα, όπως σκίαση, αποκοπή φύλλων και έκθεση σε περιβάλλοντα χαμηλής συγκέντρωσης σε CO_2 , έχουν ως συνέπεια τη μείωση της μάζας των φυματίων όπως και την ελάττωση του δεσμευόμενου και αφομοιούμενου αζώτου. Αντίθετα χειρισμοί οι οποίοι αυξάνουν την φωτοσυνθετική δραστηριότητα για μεγάλα χρονικά διαστήματα (π.χ. υψηλές συγκεντρώσεις CO_2) αυξάνουν την μάζα των φυματίων αλλά και την ποσότητα του αζώτου που δεσμεύεται. Αρχικά η θετική αυτή συσχέτιση αποδόθηκε στην μεγάλη διαθεσιμότητα προϊόντων φωτοσύνθεσης στα φυμάτια.

4.2 Η διακίνηση των προϊόντων της φωτοσύνθεσης προς τα φυμάτια

Τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης, κυρίως η σακχαρόζη, είναι η βασική πηγή άνθρακα ο οποίος απαιτείται τόσο για την δέσμευση όσο και για την αφομοίωση του αζώτου. Μελέτες οι οποίες έγιναν με σακχαρόζη έδειξαν ότι χρειάζονται μόνο 15min για να φτάσει από τον βλαστό στα φυμάτια, προσεγγίζοντας σε αυτά μια σταθερή συγκέντρωση 3-6mg ανά gr νωπού βάρους.

Η σακχαρόζη εκτός από την κάλυψη των τρεχουσών αναγκών του φυματίου μπορεί να αποθηκευθεί σε αυτό με την μορφή αμύλου. Απόθεση μάλιστα αμύλου, παρατηρείται πολύ νωρίς κατά τον σχηματισμό του φυματίου, στα διαιρούμενα κύτταρα του φλοιού της ρίζας σε ένα πολύ αρχικό στάδιο της φυματογένεσης.

Την νύκτα, κατά την διάρκεια της οποίας συνεχίζεται η αζωτοδέσμευση, το φυμάτιο φαίνεται να αντλεί άνθρακα από τους αποθηκευμένους υδατάνθρακες στο υπέργειο τμήμα του φυτού. Τα ίδια αποθέματα υδατανθράκων χρησιμοποιούνται, προκειμένου να παραμείνει το φυμάτιο ενεργό και στην περίπτωση που τα φυτά εκτεθούν σε σκοτάδι. Το αποθηκευμένο στη ρίζα άμυλο δείχνει να μην είναι άμεσα διαθέσιμο στην αζωτοδέσμευση.

5. Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΣΤΑ ΦΥΜΑΤΙΑ

5.1 Η δέσμευση του αζώτου από την νιτρογενάση

Σε όλους τους αζωτοδεσμευτικούς μικροοργανισμούς, συμβιωτικούς ή όχι, η αναγωγή του ατμοσφαιρικού αζώτου καταλύεται από το ενζυμικό σύμπλοκο της νιτρογενάσης. Η αναγωγή του ατμοσφαιρικού αζώτου προϋποθέτει την κατάλληλη τροποποίηση του ενζυμικού συμπλόκου. (Καβρουλάκης Ν., 2000)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΡΙΖΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

1. ΦΑΣΟΛΙ (*Dolichus* sp.)

Η ρίζα του είναι πασσαλώδης και μπορεί να αναπτυχθεί σε αρκετό βάθος. Το μεγαλύτερο ποσοστό του ριζικού συστήματος απαντάται σε βάθος 30 - 50cm. Είναι αζωτολόγο φυτό και η ρίζα του φιλοξενεί το *Bacterium radicicola* και το *Rhizobium phaseoli*. (Κανάκης Α.)

2. ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΣ (*Zea mays*)

Το ριζικό σύστημα του αραβοσίτου, όπως και στα λοιπά σιτηρά, αποτελείται από εμβρυακές και κύριες ρίζες.

Οι εμβρυακές ρίζες, των οποίων οι καταβολές ενυπάρχουν στο έμβρυο, αποτελούνται από μια κύρια εμβρυακή ρίζα και μερικές δευτερεύουσες εμβρυακές, συνήθως 3 έως 5, που εκφύονται ακριβώς πάνω από τον κόμβο του ασπιδίου.

Το κύριο ριζικό σύστημα ή αλλιώς οι κύριες ρίζες του αραβοσίτου είναι 20 έως 25 φορές περισσότερες των εμβρυακών, εκφύονται από τους κόμβους που βρίσκονται εντός του εδάφους σε βάθος 3 έως 5cm και ανεξάρτητα από το βάθος σποράς του αραβοσίτου. Οι πρώτες κύριες ρίζες εμφανίζονται από τη βάση του δεύτερου μεσογονατίου, μόλις το κολεόπτιλο φτάσει στην επιφάνεια του εδάφους. Οι κύριες ρίζες, όπως και οι εμβρυακές, στην αρχή έχουν οριζόντια κατεύθυνση και στη συνέχεια κατακόρυφη.

Η ανάπτυξη του ριζικού συστήματος είναι ταχύτατη. Οι ρίζες του απαντώνται σε βάθος 30cm, ενώ το υπέργειο μέρος δεν έχει υπερβεί ακόμα τα 10cm ύψος. Το ριζικό σύστημα εκτείνεται σε βάθος μέχρι και 2,5m. Παρ' όλα αυτά, ο κύριος όγκος της ρίζας βρίσκεται στα πρώτα 60cm. Η οριζόντια επέκταση μπορεί να φτάσει μέχρι το 1m μήκος και σταματά περίπου δύο εβδομάδες πριν την άνθηση. (Γεωργουλέα - Καλκούνη Β., 2003)

3. ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ (*Solanum melongena*)

Η ρίζα των σπορόφυτων, πριν τη μεταφύτευσή τους, είναι πασσαλώδης και μετατρέπεται σε θυσσανώδη με πολλές πλευρικές ρίζες που εκφύονται από το μέρος της κεντρικής ρίζας (εμβρυόριζας), η οποία έχει απομείνει μετά τη μεταφύτευσή τους. Έτσι το βάθος του ριζικού συστήματος κυμαίνεται από 60 - 120cm. (Κανάκης Α.)

4. ΚΑΤΗΦΕΣ (*Tagetes* sp.)

Η ρίζα των σπορόφυτων, πριν τη μεταφύτευσή τους, είναι πασσαλώδης και μετατρέπεται σε θυσσανώδη με πολλές πλευρικές ρίζες που εκφύονται από το μέρος της κεντρικής ρίζας. Έτσι το βάθος του ριζικού συστήματος κυμαίνεται από 60 - 120cm. (Ύστερα από προσωπική παρατήρηση)

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

Εισαγωγή

Οι δομές που παράγονται από τους VAM μύκητες δεν είναι συχνά ορατές όταν παρατηρούνται νεαρές ρίζες, επειδή οι εσωτερικές δομές καλύπτονται από τις φυσικές χρωστικές ουσίες και το περιεχόμενο των κυττάρων μέσα στις ρίζες. Ενώ οι ECM ρίζες μπορούν συχνά να προσδιοριστούν από την παρατήρησή τους στο στερεοσκόπιο, οι εσωτερικές λεπτομέρειες αυτών των ενώσεων αποκαλύπτονται με την αφαίρεση των χρωστικών ουσιών στα κύτταρα των ριζών και τον μανδύα των υφών.

Οι διαδικασίες καθαρισμού, στις οποίες χρησιμοποιούνται χημικά μέσα για να αφαιρεθούν το περιεχόμενο των κυττάρων και οι χρωστικές ουσίες των κυτταρικών τοιχωμάτων, είναι πολύτιμες για την παρατήρηση των εσωτερικών χαρακτηριστικών γνωρισμάτων στους φυτικούς ιστούς.

Οι μυκητιακές δομές στους φυτικούς ιστούς μπορούν να παρατηρηθούν με την χρήση χρωστικών, όπως το Chlorazol black E (CBE) που σε διάλυμα λακτογλυκερόλης χρησιμοποιείται για να βάψει τις μυκορριζικές δομές στις ρίζες που έχουν καθαριστεί με KOH (Phillips & Hayman, 1970, Brundrett et al, 1984).

α) ΠΕΙΡΑΜΑ ΦΑΣΟΛΙΟΥ - ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ

1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Συλλογή χώματος: 20/10 - 24/10/2003. Το χώμα συλλέχθηκε από το χώρο των εργαστηρίων Λαχανοκομίας του ΤΕΙ Καλαμάτας με υπεύθυνη την καθηγήτρια Εφαρμογών κ. Νικοπούλου Δέσποινα, όπου κατά το χρονικό διάστημα από το 1996 έως το 2003 χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά βιολογικές μέθοδοι καλλιέργειας.

Απολύμανση χώματος: 22/3 - 8/4/2004

Απολύμανση σπόρων: 22/3-8/4/2003. Οι σπόροι του αραβοσίτου προέρχονταν από πληθυσμό “μεξικάνικου καλαμποκιού”, καθώς και οι σπόροι του φασολιού *Dolichus* sp. οι οποίοι είχαν παραχθεί από βιολογική συγκαλλιέργεια αραβόσιτου με καλοκαιρινό φασόλι, στα πλαίσια των εργαστηρίων Λαχανοκομίας του ΤΕΙ Καλαμάτας, με υπεύθυνη την προαναφερόμενη καθηγήτρια.

Υλικά και σκεύη

- χώμα αποστειρωμένο και μη αποστειρωμένο
- σπόροι φασολιού και αραβοσίτου, απολυμασμένοι και μη απολυμασμένοι
- compost
- δίσκοι εκβλάστησης σπόρων
- ογκομετρικοί κύλινδροι των 10ml και 100ml
- ποτήρια ζέσεως των 150ml
- λεπτή σήτα (σουρωτήρι)
- αλουμινόχαρτο

Αντιδραστήρια

- απιονισμένο νερό
- κοινή χλωρίνη

Συσκευές

- αυτόκαυστο υγρού τύπου
- θάλαμος ανάπτυξης φυτών

Αφού έγινε η συλλογή του χώματος και αποφασίστηκε ο τρόπος αποστείρωσής του, διανεμήθηκε ισόποσα σε γαλακτόχρες σακούλες (3lt/σακούλα) και προστέθηκε σε αυτό ποσότητα νερού ίση με 25ml. Κάθε σακούλα σφραγίστηκε με αλουμινόχαρτο και τοποθετήθηκε στο αυτόκαυστο στους 121°C για μια ώρα. Η διαδικασία αποστείρωσης επαναλήφθηκε μετά από 24 ώρες. Η δεύτερη αποστείρωση ήταν απαραίτητη για την απαλλαγή του εδάφους από όλους τους μικροοργανισμούς, εκτός από τα σπόρια των εξεταζόμενων μυκήτων. Μετά την εξαγωγή του από το αυτόκαυστο, το αποστειρωμένο χώμα τοποθετήθηκε και σε δεύτερη σακούλα, η οποία δέθηκε καλά ώστε να αποφευχθεί η πιθανότητα μόλυνσής του από εξωγενείς παράγοντες. Ακολούθησε η αποθήκευσή του σε ντουλάπια, σε θερμοκρασία δωματίου, όπου θα παρέμενε μέχρι τη χρησιμοποίησή του.

Παράλληλα με την αποστείρωση του χώματος έγινε και η απολύμανση των σπόρων. Παρασκευάστηκε διάλυμα χλωρίνης - απιονισμένου νερού 10% (δηλαδή, σε 100ml νερού προστέθηκαν 10ml χλωρίνης). Μετά την παραμονή τους στο παραπάνω διάλυμα για μία ώρα, οι σπόροι με τη βοήθεια σήτας ξεπλύθηκαν κάτω από τρεχούμενο νερό για τουλάχιστον 10min.

Πριν και μετά από την απολύμανσή τους, έγινε δοκιμαστική σπορά σε δίσκους εκβλάστησης με compost, ώστε να ελεγχθεί η βλαστική τους ικανότητα. Στη συνέχεια οι δίσκοι τοποθετήθηκαν στο θάλαμο ανάπτυξης φυτών, σε ελεγχόμενη θερμοκρασία (25°C) και αφέθηκαν να αναπτυχθούν, ενώ ελεγχόταν συνεχώς το ποσοστό υγρασίας τους. Οι σπόροι φασολιού και αραβοσίτου διαπιστώθηκε ότι είχαν ικανοποιητική βλαστικότητα.

2. ΣΠΟΡΑ ΣΤΙΣ ΓΛΑΣΤΡΕΣ

Ημερομηνία σποράς: 17/6/2004

Ημερομηνία υποστύλωσης φασολιών: 8/7/2004

Υλικά

- γλάστρες (6lt)
- σηματοδότες
- σταλακτηφόροι σωλήνες
- κορδέλες υποστύλωσης
- προγραμματιστής ποτίσματος

Ο βασικός σχεδιασμός του πειράματος ήταν 4 επεμβάσεις, με 5 επαναλήψεις για την κάθε μια, επί δυο. Οι επεμβάσεις είχαν ως εξής:

1. Χώμα απολυμασμένο - Σπόροι απολυμασμένοι (Χα-Σα)
2. Χώμα απολυμασμένο - Σπόροι μη απολυμασμένοι (Χα-Σμα)
3. Χώμα μη απολυμασμένο - Σπόροι απολυμασμένοι (Χμα-Σα)
4. Χώμα μη απολυμασμένο - Σπόροι μη απολυμασμένοι (Χμα-Σμα)

Οι 40 πειραματικές μονάδες (γλάστρες) χωρίστηκαν με βάση τον παραπάνω σχεδιασμό και τελικά προέκυψαν:

5 Χα-Σα

5 Χα-Σμα

5 Χμα-Σα

5 Χμα-Σμα, για το πείραμα των 45 ημερών και ομοίως για το πείραμα των 3.5 μηνών.

Σε κάθε γλάστρα σπάρθηκαν 4 σπόροι φασολιού και 3 σπόροι αραβοσίτου, απολυμασμένοι ή μη απολυμασμένοι ανάλογα με το βασικό σχεδιασμό του πειράματος. Οι σπόροι φασολιού τοποθετήθηκαν ανατολικά και οι σπόροι αραβοσίτου δυτικά, έτσι ώστε τα αναπτυσσόμενα καλαμπόκια να μη σκιάσουν τα φασόλια.

Οι πειραματικές μονάδες σηματοδοτήθηκαν και τοποθετήθηκαν πλήρως τυχαιοποιημένα, ώστε να αποφευχθεί η πιθανότητα να επιδράσει κάποιος παράγοντας ευεργετικά σε κάποια επέμβαση και να περιοριστεί σημαντικά το πειραματικό σφάλμα.

Τέλος, εγκαταστάθηκαν οι σωληνώσεις του συστήματος άρδευσης και ο προγραμματιστής και ρυθμίστηκαν η ημέρα, η ώρα και η διάρκεια των ποτισμάτων.

Σύμφωνα με τον αρχικό σχεδιασμό, το πείραμα είχε χωριστεί ως εξής: Τα φυτά των 20 πειραματικών μονάδων θα συγκομίζονταν σε 45 ημέρες, ενώ των υπολοίπων 20 μετά από 3.5 μήνες, ώστε να φτάσουν σε σποροπαραγωγή. Τελικά δεν τηρήθηκε ο παραπάνω σχεδιασμός και όλα τα φυτά αφέθηκαν να αναπτυχθούν για 5.5 μήνες.

Οι μετρήσεις που αποφασίστηκε να γίνουν ήταν οι εξής:

- α) ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος φυτών ανά πειραματική μονάδα
- β) αριθμός λοβών ανά πειραματική μονάδα
- γ) αριθμός φυματίων ανά πειραματική μονάδα
- δ) ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών μικρού, μέτριου και μεγάλου μεγέθους (ως προς το πάχος) ανά πειραματική μονάδα
- ε) μέτρηση σπορίων στο έδαφος. Τελικά λόγω έλλειψης του απαραίτητου εξοπλισμού δεν μετρήθηκαν τα σπόρια στο έδαφος.

3. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΦΡΟΝΤΙΔΕΣ

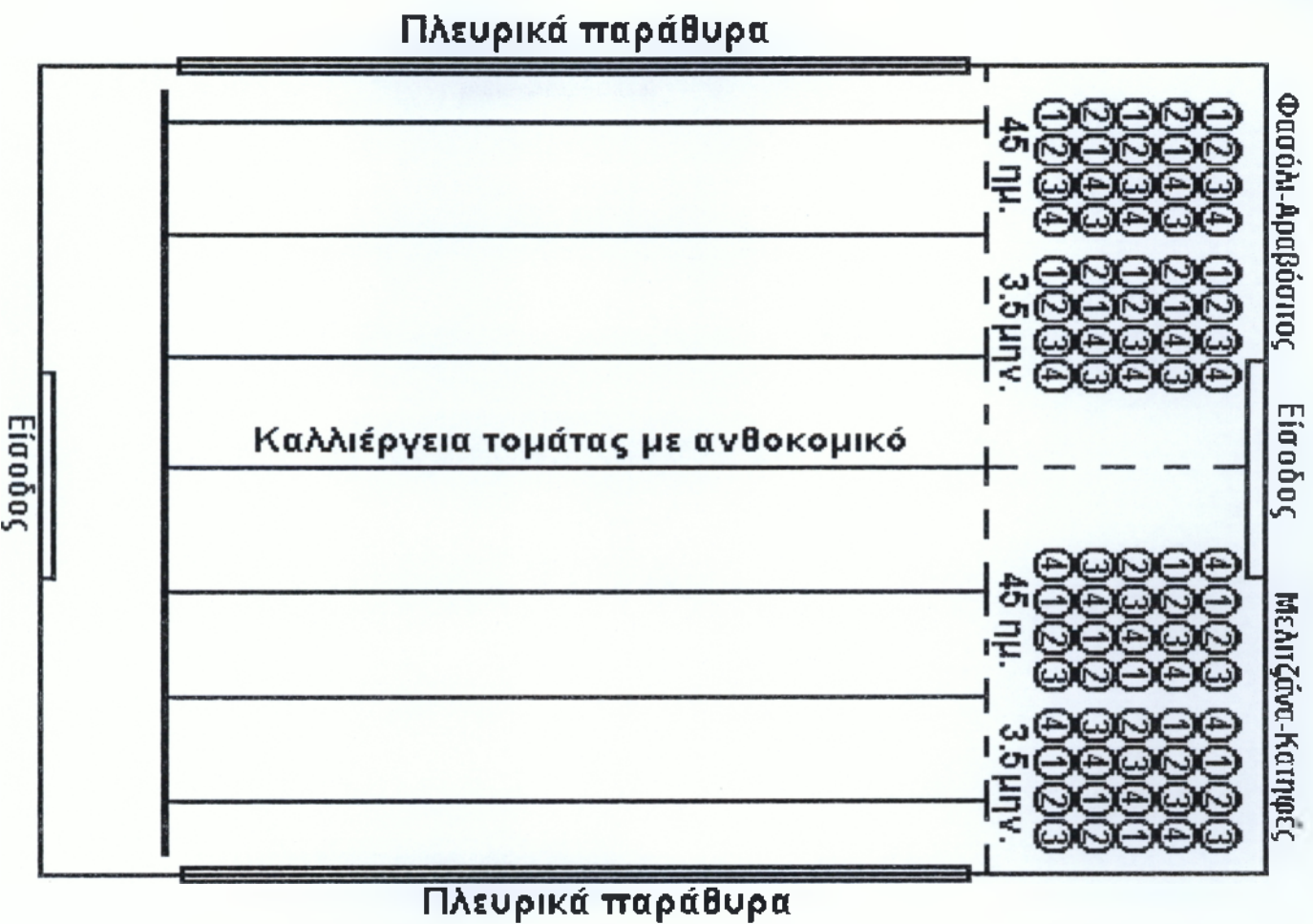
Λίπανση με Σεγελίν

Έγιναν 3 διαδοχικές λιπάνσεις με το φυκολίπασμα Σεγελίν στις 20, στις 24 και στις 27/8/2004, κατά τις οποίες σε κάθε πειραματική μονάδα προστέθηκαν 250cc του φυκολιπάσματος (σε 1500ml νερού διαλύθηκαν 15ml φυκολιπάσματος).

Λοιπές καλλιεργητικές φροντίδες

Κατά καιρούς χρειάστηκαν διάφορες φροντίδες, όπως ξεβοτανίσματα, κυρίως στις επεμβάσεις όπου, είτε το χώμα, είτε οι σπόροι δεν ήταν απολυμασμένα. Επίσης, κατά την ανάπτυξή τους τα φασόλια χρειάστηκαν υποστύλωση, η οποία έγινε με κορδέλες.

B →



Κάτοψη θερμοκηπίου όπου διεξήχθη το πείραμα

4. ΚΟΠΗ ΥΠΕΡΓΕΙΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΦΥΤΩΝ

Ημερομηνία κοπής αραβοσίτου: 1/11/2004

Ημερομηνία κοπής φασολιών / καταμέτρησης λοβών: 3/12 και 6/12/2004

Υλικά

- χάρτινες σακούλες
- ψαλίδα κοπής

Το υπέργειο τμήμα των φυτών συλλέχθηκε, τοποθετήθηκε σε χάρτινες σακούλες και φυλάχθηκε σε ντουλάπια μέχρι την ημερομηνία ξήρανόσής του.

Ταυτόχρονα με τη συλλογή του υπέργειου τμήματος των φασολιών, έγινε και η καταμέτρηση των λοβών ανά πειραματική μονάδα.

5. ΞΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΖΥΓΙΣΗ ΥΠΕΡΓΕΙΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΦΥΤΩΝ

Ημερομηνία ξήρανόσής αραβοσίτου: 2/11/2004

Ημερομηνία ζύγισης ξηρού βάρους αραβοσίτου: 4/11/2004

Ημερομηνία ξήρανόσής φασολιού: 10/12/2004

Ημερομηνία ζύγισης ξηρού βάρους φασολιού: 13/12/2004

Συσκευές

- ζυγός ακριβείας (3 δεκαδικών ψηφίων)
- πυραντήριο nüne FN 500

Οι χάρτινες σακούλες τοποθετήθηκαν στο ξηραντήριο στους 105°C για 24 ώρες. Μετά την πάροδο των παραπάνω ωρών και την εξαγωγή τους από το ξηραντήριο, τα υπέργεια μέρη των φυτών ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων και σημειώθηκε το ξηρό τους βάρος. (Νικοπούλου Δ.)

6. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΧΕΙΡΙΣΜΟΥ ΡΙΖΩΝ ΦΑΣΟΛΙΟΥ

Ημερομηνία λήψης ριζών: 11/11/2004 έως 21/12/2004

Υλικά

- σακούλες zip

Μετά την εξαγωγή τους, οι ρίζες ξεπλύθηκαν καλά κάτω από τρεχούμενο νερό και τοποθετήθηκαν σε σακούλες zip, ώστε να μεταφερθούν στο ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε όπου γινόταν η καταμέτρηση των φυματίων και ο περαιτέρω χειρισμός τους.

7. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ ΑΖΩΤΟΔΕΣΜΕΥΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ (ΡΙΖΟΒΙΩΝ)

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ - ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΥΜΑ

Για την απομόνωση των συμβιωτικών αζωτοβακτηρίων είναι απαραίτητη η παρασκευή στερεού θρεπτικού υλικού (ΥΜΑ), το οποίο χρησιμεύει για την ανάπτυξη των ριζοβίων.

Υλικά

- κωνικές φιάλες 1000ml
- σπάτουλα
- τριβλία Petri
- μη υδρόφιλο βαμβάκι
- αλουμινόχαρτο
- υδροβολέας
- φλόγιστρο
- καθαρό οινόπνευμα

Αντιδραστήρια (για την παρασκευή 1000ml ΥΜΑ)

- απιονισμένο νερό 500ml
- Mannitol 5gr
- Yeast extract 0.25gr

- K_2HPO_4 0.25gr
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05gr
- NaCl 0.1gr
- $FeCl_3$ 0.003gr
- $CaCl_2$ 0.075gr
- Άγαρ 7.5gr

Συσκευές

- ζυγός ακριβείας
- pHμετρο
- αυτόκαυστο
- θάλαμος νηματικής ροής
- συσκευή ανάδευσης με μαγνητική πλάκα

Μέθοδος

Αφού ζυγίστηκαν οι παραπάνω ποσότητες των αντιδραστηρίων, προστέθηκαν, εκτός από το άγαρ, σε κωνικές φιάλες που περιείχαν το απιονισμένο νερό, οι οποίες τοποθετήθηκαν στη συσκευή ανάδευσης, έως ότου να διαλυθούν τα υλικά και το διάλυμα να γίνει ομοιογενές. Ταυτόχρονα με την ανάδευση έγινε και η μέτρηση του pH του διαλύματος, λαμβάνοντας υπόψη ότι πριν από την προσθήκη του άγαρ, το pH πρέπει να είναι γύρω στο 7. Σε περίπτωση που είναι πάνω από 7, θα πρέπει να μειωθεί με τη χρήση διαλύματος HCl 1N.

Αφού έγινε η προσθήκη του άγαρ, οι κωνικές κλείστηκαν με μη υδρόφιλο βαμβάκι και αλουμινόχαρτο και τοποθετήθηκαν στο αυτόκαυστο για να αποστειρωθούν στους $121^\circ C$ για 20min.

Μετά την αποστείρωσή του το θρεπτικό διάλυμα ριχνόταν έως τη μέση των τριβλίων Petri με την εξής διαδικασία: ο θάλαμος νηματικής ροής πιθόταν σε λειτουργία και ο πάγκος του και τα χέρια απολυμαίνονταν με καθαρό οινόπνευμα. Με τη βοήθεια του φλόγιστρου αποστειρωνόταν το χείλος της κωνικής φιάλης, ώστε να αποφευχθεί η πιθανότητα μόλυνσης του θρεπτικού υλικού από μικροοργανισμούς.

Τα τριβλία με το YMA κλείνονταν και αφήνονταν να στερεοποιηθούν σε θερμοκρασία δωματίου. (Παπαδοπούλου Κ.)

8. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΡΙΖΟΒΙΩΝ

Υλικά

- νυστέρια
- λαβίδες με λεπτά άκρα
- τριβλία Petri
- φλόγιστρο
- μεμβράνη

Αντιδραστήρια

- αποστειρωμένο νερό
- αιθανόλη 95%
- διάλυμα χλωρίνης 5%
- στερεό θρεπτικό υπόστρωμα (ΥΜΑ)

Συσκευές

- θάλαμος επώασης
- θάλαμος νηματικής ροής
- ψυγείο

Μέθοδος

Αρχικά έγινε η καταμέτρηση και η καταγραφή των φυματίων ανά πειραματική μονάδα και η επιλογή των τεσσάρων πιο εύρωστων φυματίων.

Τα επιλεγμένα φυμάτια αποκόπηκαν από τις ρίζες με τη χρήση νυστεριού και τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένο νερό (απιονισμένο νερό που είχε αποστειρωθεί) για 1 ώρα. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε αιθανόλη 95% για 1min, σε διάλυμα χλωρίνης 5% για 3-4min και ξεπλύθηκαν καλά στο αποστειρωμένο νερό. Με τη βοήθεια της λαβίδας έγινε η σύνθλιψη των φυματίων και η εξάπλωσή τους στο στερεό θρεπτικό υλικό που περιεχόταν στα τριβλία. Τα τριβλία κλείνονταν με διάφανη μεμβράνη και τοποθετούνταν στο θάλαμο επώασης στους 28°C για 2 ημέρες. Μετά την πάροδο των 2 ημερών γινόταν έλεγχος για να διαπιστωθεί η ανάπτυξη των ριζοβίων και εφόσον είχαν αναπτυχθεί ικανοποιητικά τοποθετούνταν στο ψυγείο, με σκοπό να ανασταλεί η περαιτέρω ανάπτυξή τους. (Παπαδοπούλου Κ.)

9. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΒΑΦΗΣ ΡΙΖΩΝ ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ

9.1 Δείγματα ρίζας

Οι διαδικασίες καθαρισμού και βαφής απαιτούν δείγματα ριζών που έχουν απαλλαγεί από χώμα. Για να είναι οι ρίζες πιο ανθεκτικές στους μετέπειτα χειρισμούς εμβαπτίζονται σε διάλυμα αιθανόλης - νερού 50% v/v για τουλάχιστον μια μέρα ή και περισσότερο.

Για τον καθαρισμό των ριζών χρησιμοποιείται διάλυμα ΚΟΗ 10% w/v. Είναι βασικό, το ΚΟΗ και το διάλυμα βαφής να είναι αρκετά για την ποσότητα των υπό επεξεργασία ριζών. Είναι καλύτερα οι ρίζες να τεμαχίζονται σε τμήματα 1-2cm πριν τον καθαρισμό τους. Η διαδικασία καθαρισμού δεν λειτουργεί καλά σε δείγματα που ζυγίζουν περισσότερο από 1-2gr.

Ρίζες που καθαρίζονται ανεπαρκώς, λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας, του σύντομου χρόνου, ή της μεγάλης ποσότητας του δείγματος, θα έχουν υπολείμματα από το περιεχόμενο των κυττάρων και οι κατασκευές του μύκητα θα εμφανίζονται σκοτεινές, ενώ ρίζες που καθαρίζονται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα μπορεί να αποσυντεθούν.

9.2 Καθαρισμός ριζών με ΚΟΗ

Υλικά

- νυστέρι
- ποτήρι ζέσεως 150ml
- ογκομετρικοί κύλινδροι 25ml, 100ml
- πυρίμαχα βιδωτά φιαλίδια (universal)
- λαβίδα με λεπτά άκρα
- υδροβολέας
- σπάτουλα
- σήτα

Αντιδραστήρια

- 50% v/v αιθανόλη
- 10% w/v ΚΟΗ (υδροξείδιο καλίου) σε δισκία
- απιονισμένο νερό

Συσκευές

- ζυγός ακριβείας
- υδατόλουτρο

Μέθοδος

Μετά την εξαγωγή τους από το διάλυμα αιθανόλης, οι ρίζες τεμαχίστηκαν σε τμήματα μήκους περίπου 1cm, τα οποία διαχωρίστηκαν ανάλογα με το πάχος τους σε μικρά, μεσαία και μεγάλα. Τα δείγματα ζυγίστηκαν ώστε το βάρος τους να μην ξεπερνά τα 2gr και τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια ανθεκτικά στην υψηλή θερμοκρασία (universal), τα οποία είχαν σηματοδοτηθεί. Ταυτόχρονα παρασκευάστηκε το διάλυμα καυστικού καλίου (όπου σε 100ml απιονισμένου νερού διαλύθηκαν 10gr KOH) και 10ml από αυτό προστέθηκαν σε κάθε φιαλίδιο με τις ρίζες.

Στη συνέχεια, τα universal τοποθετήθηκαν στο υδατόλουτρο στους 90°C. Ο χρόνος που απαιτείται για το επαρκές καθάρισμα με αυτήν την μέθοδο ποικίλλει. Οι μικρές ρίζες παρέμειναν στο υδατόλουτρο για 30min, οι μεσαίες για 60min και οι μεγάλες για 120min. (Παπαδοπούλου Κ.)

Μετά την πάροδο του απαιτούμενου χρόνου και την εξαγωγή τους από το υδατόλουτρο, οι καθαρισμένες ρίζες συλλέχθηκαν σε λεπτό κόσκινο και ξεπλύθηκαν καλά με τρεχούμενο νερό, πριν μεταφερθούν με τη βοήθεια λαβίδας στα universal με το διάλυμα βαφής.

9.3 ΒΑΦΗ ΡΙΖΩΝ ΜΕ CBE

Υλικά

- ποτήρι ζέσεως 150ml
- ογκομετρικοί κύλινδροι 25ml, 100ml
- πυρίμαχα βιδωτά φιαλίδια (universal)
- λαβίδα με λεπτά άκρα
- υδροβολέας
- σπάτουλα
- σήτα
- αλουμινόχαρτο

Αντιδραστήρια

- Chlorazol Black E (CBE)
- γλυκερόλη
- γαλακτικό οξύ
- απιονισμένο νερό

Συσκευές

- ζυγός ακριβείας
- υδατόλουτρο

Μέθοδος

Παρασκευάστηκε το διάλυμα βαφής με τον εξής τρόπο: σε 40ml απιονισμένου νερού διαλύθηκαν 0.036gr CBE και προστέθηκαν 40ml γλυκερόλης και 40ml γαλακτικού οξέος. Συστήνεται, η συγκέντρωση του CBE να είναι 0.03% w/v, αλλά στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε διάλυμα συγκέντρωσης 0.036% γιατί έτσι ενισχύονται οι μορφολογικές παρατηρήσεις. (Παπαδοπούλου Κ.)

Το διάλυμα αναδεύτηκε καλά, ώστε κατά τη χρήση του να αποφευχθεί η εμφάνιση ανομοιογενούς σύστασης, λόγω του μεγάλου ιξώδους της γλυκερόλης. (Brundrett et al, 1984)

Σε κάθε universal, που πρώτα είχε σηματοδοτηθεί, προστέθηκαν 10ml από το διάλυμα βαφής και στη συνέχεια τα αντίστοιχα δείγματα ριζών που είχαν καθαριστεί με το KOH. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο υδατόλουτρο στους 90°C και οι μικρές ρίζες παρέμειναν για 20min, οι μεσαίες για 25min και οι μεγάλες για 30min.

Μετά την πάροδο του απαιτούμενου χρόνου και την εξαγωγή τους από το υδατόλουτρο, οι βαμμένες ρίζες συλλέχθηκαν σε λεπτό κόσκινο και ξεπλύθηκαν καλά με τρεχούμενο νερό, πριν μεταφερθούν με τη βοήθεια λαβίδας στους βιδωτούς σωλήνες με το διάλυμα συντήρησης.

10. ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Υλικά

- βιδωτοί σωλήνες
- στατώ
- ποτήρι ζέσεως 150ml
- ογκομετρικοί κύλινδροι 25ml, 100ml
- γυάλινη ράβδος

Αντιδραστήρια

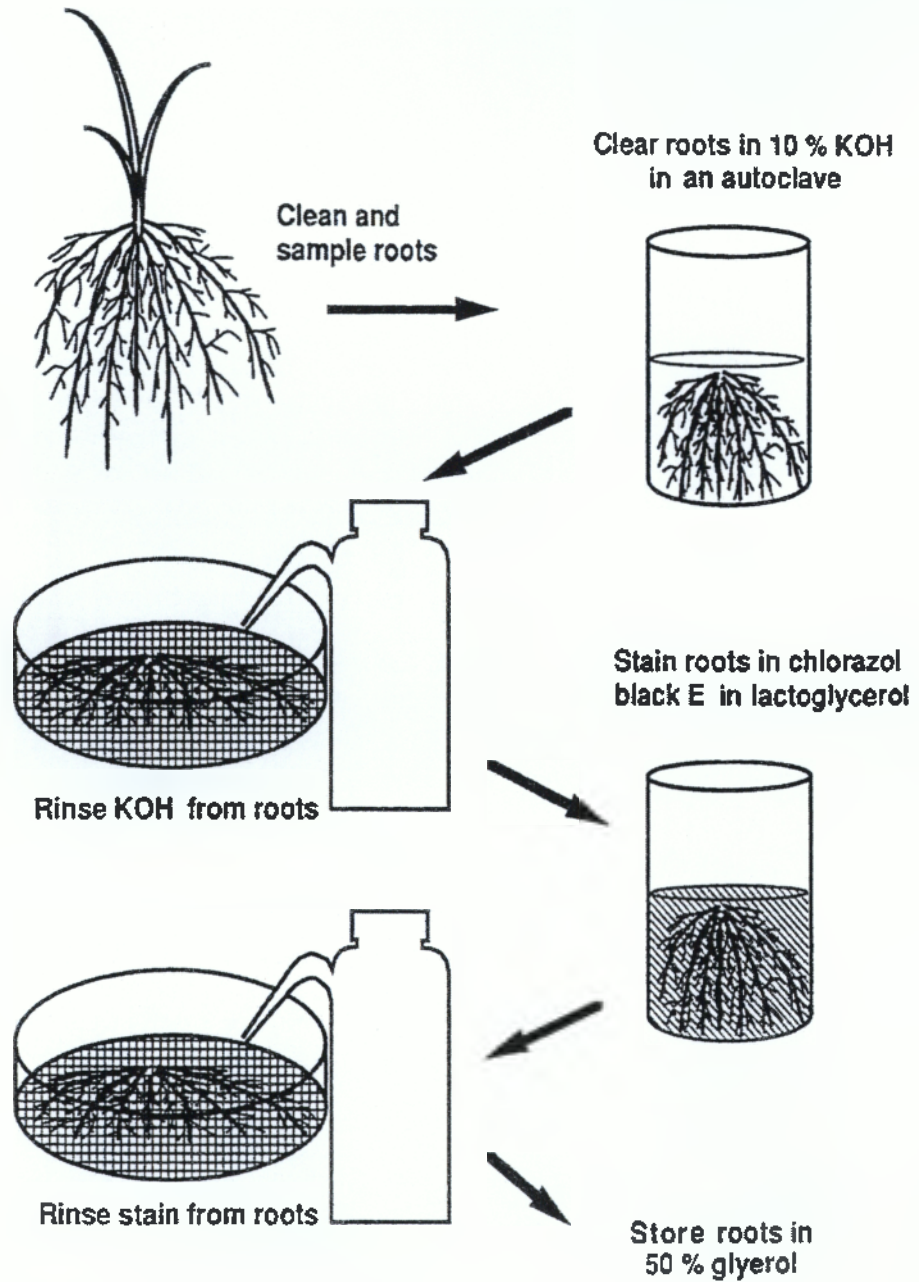
- 50% v/v διάλυμα γλυκερόλης - νερού
- 0.01% w/v διάλυμα sodium azide

Μέθοδος

Τα δείγματα ριζών που έχουν βαφεί, για να διατηρηθούν, αποθηκεύονται σε βιδωτούς σωλήνες που περιέχουν 50% διάλυμα γλυκερόλης - νερού.

Για να διατηρηθούν για ακόμη μεγαλύτερο χρονικό διάστημα τα δείγματα, στο διάλυμα γλυκερόλης προστίθενται 1-2 σταγόνες συντηρητικού sodium azide 0.01%.

Clearing and staining roots



11. ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΠΟΙΚΙΣΜΟΥ

Υλικά

- τριβλία Petri
- δείγματα βαμμένων ριζών σε διάλυμα γλυκερόλης
- χαρτί μιλιμετρέ
- λαβίδα

Συσκευές

- Στερεοσκόπιο Leica 300

Μέθοδος

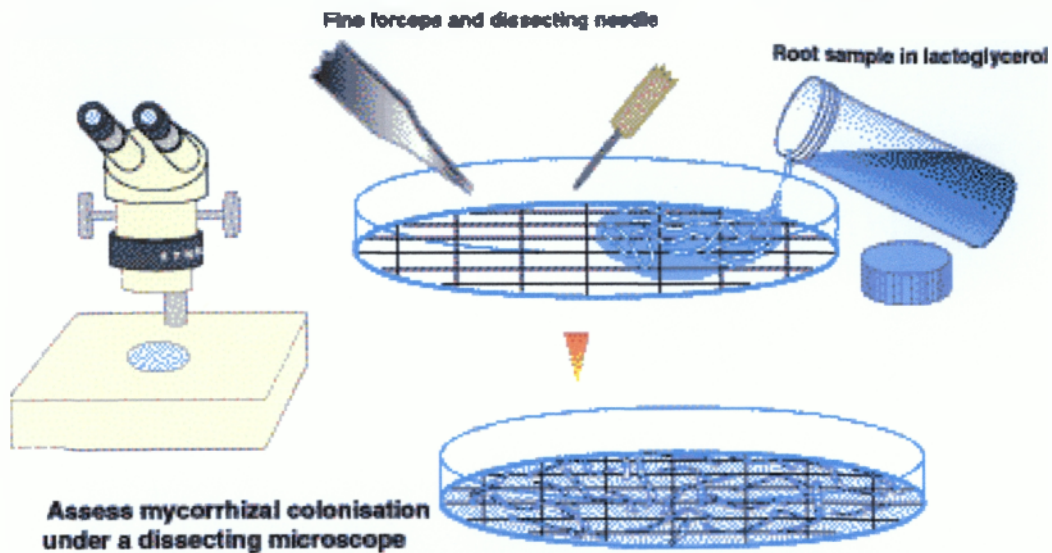
Στο τριβλίο Petri τοποθετήθηκε, με αριθμημένες τις οριζόντιες και κάθετες γραμμές του (από το 1 - 8), το χαρτί μιλιμετρέ. Στη συνέχεια αδειάζονται οι ρίζες κάθε δείγματος στο τριβλίο, μετρώνται τα σημεία όπου οι ρίζες τέμνονται με τις αριθμημένες γραμμές (οριζόντιες και κάθετες) και αθροίζονται οι τομές των οριζόντιων και κάθετων γραμμών, οπότε προκύπτει ο συνολικός αριθμός τομών ανά δείγμα.

Το τριβλίο τοποθετήθηκε στο στερεοσκόπιο, επιλέχθηκε η μεγέθυνση 4.0 και ξεκινώντας από την πρώτη οριζόντια γραμμή εξετάστηκαν προσεκτικά όλες οι τομές ώστε να παρατηρηθούν ή όχι μυκορριζικές κατασκευές και σημειώθηκαν όπου υπήρχαν.

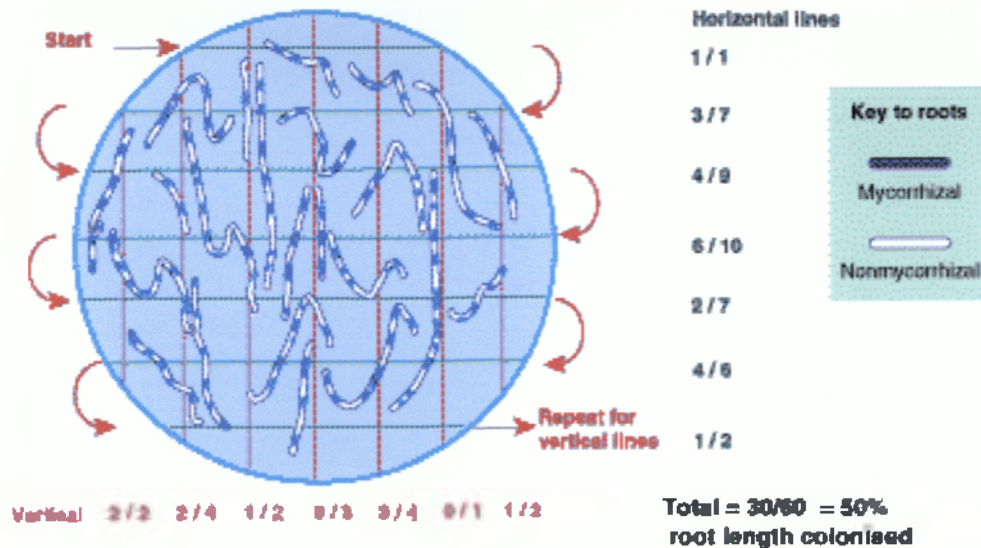
Τα αποτελέσματα των οριζόντιων και κάθετων γραμμών αθροίστηκαν χωριστά και προέκυψε κλάσμα με αριθμητή το σύνολο των τομών που είχαν μυκόρριζες και παρονομαστή το συνολικό αριθμό των τομών του δείγματος. Με αναγωγή στα 100 προέκυψε το % ποσοστό εποικισμού του εκάστοτε δείγματος. (Brundrett M, 1996)

THE GRIDLINE INTERSECTION METHOD

Randomly disperse cleared and stained roots in dish with grid lines



Follow all horizontal and vertical lines. Count intersects with roots and mycorrhizas separately



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η στατιστική ανάλυση των μετρήσεων έγινε με το κριτήριο της Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (Ε.Σ.Δ), σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$ και με τη χρήση του προγράμματος Statgraphics.

Στις μετρήσεις των πινάκων 1 - 14 που παρατίθενται στο παράρτημα, έγινε στατιστική ανάλυση από την οποία προέκυψαν οι πίνακες 31 - 38, τα στοιχεία των οποίων, συγκρινόμενα μεταξύ τους δεν φαίνεται να συνδέονται αφού δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Οι πίνακες 33 και 35 που παρατίθενται κατωτέρω παρουσιάζουν Ε.Σ.Δ. ως προς το μέσο αριθμό φυματίων ανά πειραματική μονάδα και το ξηρό βάρος του αραβοσίτου ανά φυτό και στα δύο πειράματα.

Πίνακας 33. Μέσος αριθμός φυματίων (ανά πειραματική μονάδα)

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	57.2 b	38.0 ab
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	80.6 a	59.4 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	10.0 c	18.0 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	25.8 c	27.0 ab

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Στον παραπάνω πίνακα βλέπουμε την επίδραση των χειρισμών - επεμβάσεων στο μέσο αριθμό φυματίων ανά πειραματική μονάδα. Από τα στοιχεία του πίνακα αυτού, στο πείραμα των 45 ημερών βλέπουμε ότι, όταν το χώμα είναι απολυμασμένο και ο σπόρος μη απολυμασμένος, αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά ο μέσος αριθμός φυματίων ανά πειραματική μονάδα, συγκρινόμενος με τις λοιπές επεμβάσεις.

Στο πείραμα των 3.5 μηνών του ίδιου πίνακα, βλέπουμε ότι, στην επέμβαση όπου επίσης το χώμα είναι απολυμασμένο και ο σπόρος μη απολυμασμένος, αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά ο μέσος αριθμός φυματίων ανά πειραματική μονάδα, συγκρινόμενος με την επέμβαση όπου το χώμα είναι μη απολυμασμένο και ο σπόρος απολυμασμένος.

Πίνακας 34. Ξηρό βάρος Αραβοσίτου (ανά φυτό)

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	6.68 a	9.35 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	5.34 a	6.47 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	1.93 b	0.95 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	0.65 b	0.88 b

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Στον πίνακα 34 φαίνεται η επίδραση των χειρισμών - επεμβάσεων στο ξηρό βάρος του αραβοσίτου ανά φυτό. Από αυτόν προκύπτει ότι, τόσο στο πείραμα των 45 ημερών, όσο και σε αυτό των 3.5 μηνών, στις επεμβάσεις όπου το χώμα είναι απολυμασμένο και ο σπόρος είναι απολυμασμένος ή μη, αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά το ξηρό βάρος του φυτού, συγκρινόμενο με τις επεμβάσεις όπου το χώμα είναι μη απολυμασμένο και ο σπόρος, είτε είναι, είτε δεν είναι απολυμασμένος.

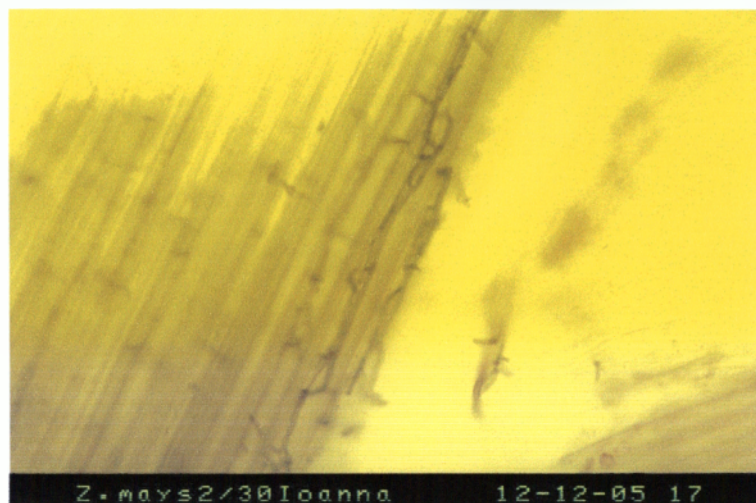
Από τα στοιχεία του πίνακα 35, που παρατίθεται κατωτέρω, προκύπτει ότι στην επέμβαση όπου το χώμα είναι απολυμασμένο και ο σπόρος είναι μη απολυμασμένος, μειώνεται στατιστικώς σημαντικά το μέσο ποσοστό (%) των εποικισμένων ριζών μικρού μεγέθους ανά πειραματική μονάδα, συγκρινόμενο με τις λοιπές επεμβάσεις. Αντίθετα, στο πείραμα των 3.5 μηνών, στην επέμβαση όπου και το χώμα και ο σπόρος είναι μη απολυμασμένα, αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά το μέσο ποσοστό (%) των εποικισμένων ριζών μικρού μεγέθους ανά πειραματική μονάδα, συγκρινόμενο με τις λοιπές επεμβάσεις.

Πίνακας 35. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών Αραβοσίτου (μικρού μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

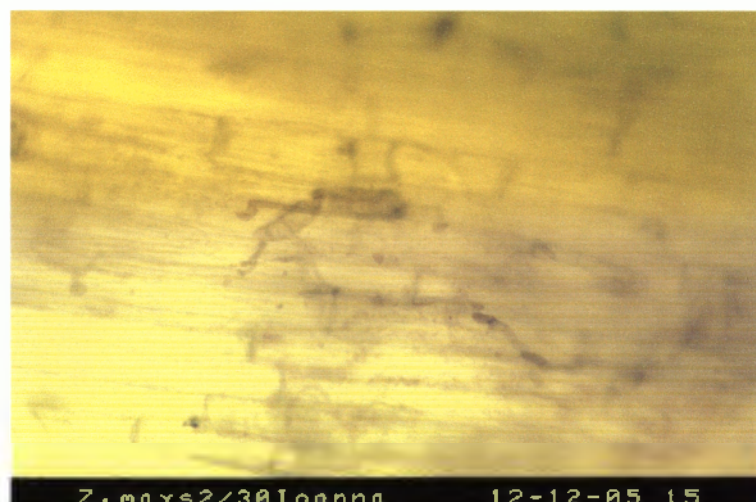
Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	48.20 a	66.60 b
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	13.28 b	70.20 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	52.10 a	74.52 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	46.70 a	88.50 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

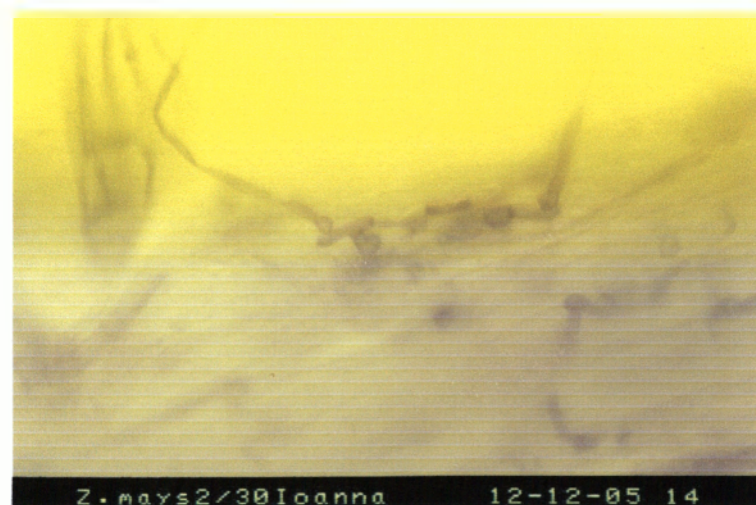
ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ
ΦΑΣΟΛΙΟΥ - ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ



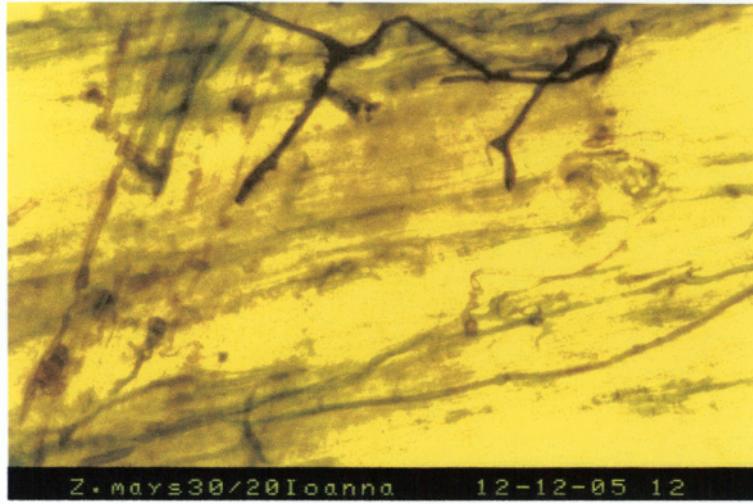
Εικόνα 1. Υφές



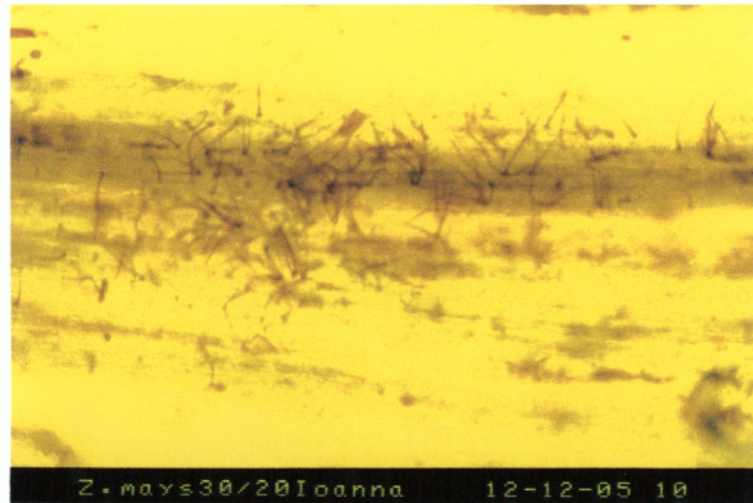
Εικόνα 2. Υφές



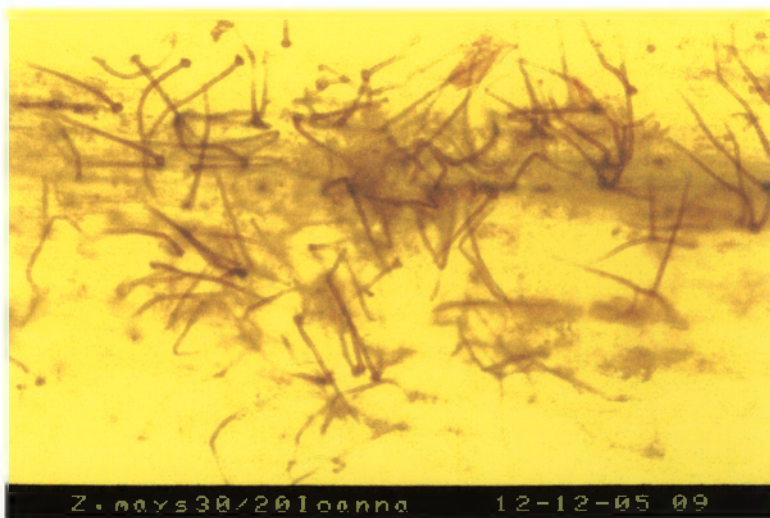
Εικόνα 3. Υφές



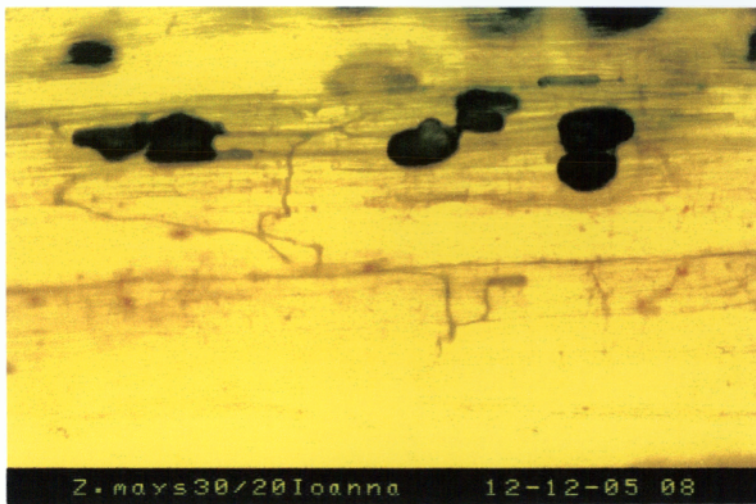
Εικόνα 4. Υφές



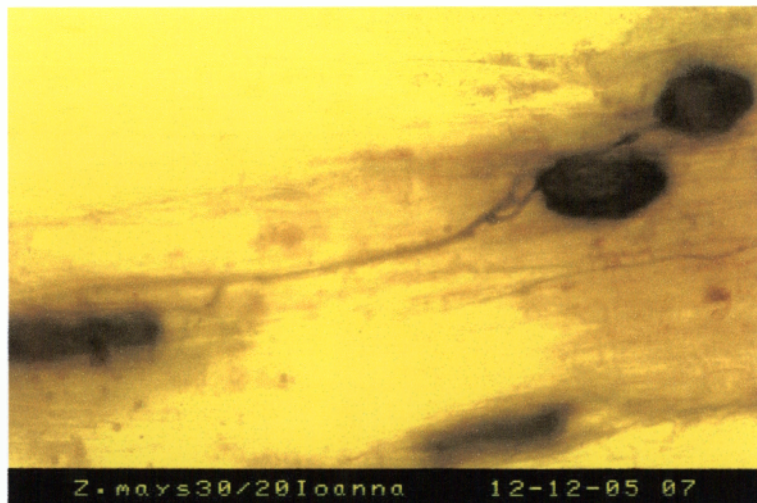
Εικόνα 5. Υφές



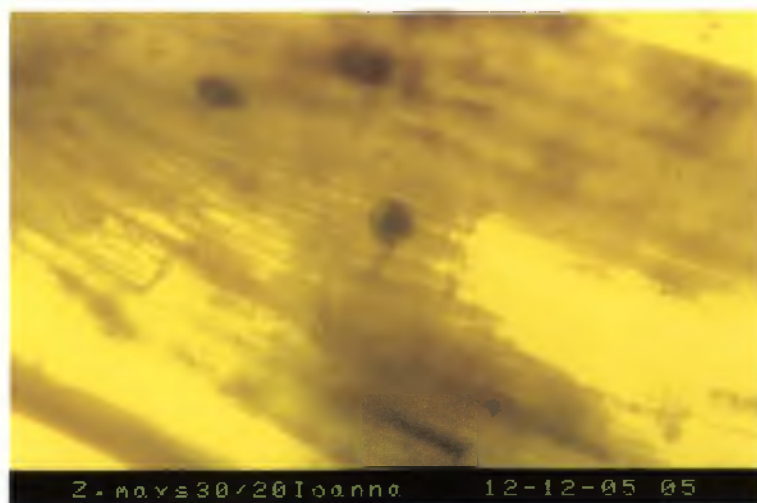
Εικόνα 6. Υφές



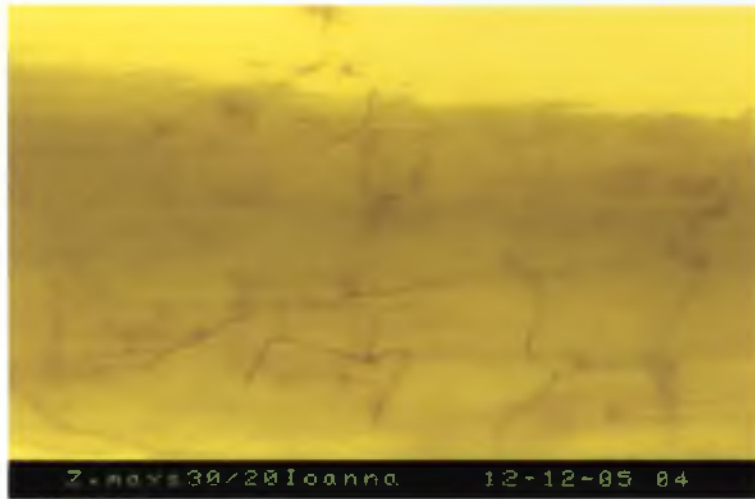
Εικόνα 7. Κύστεις



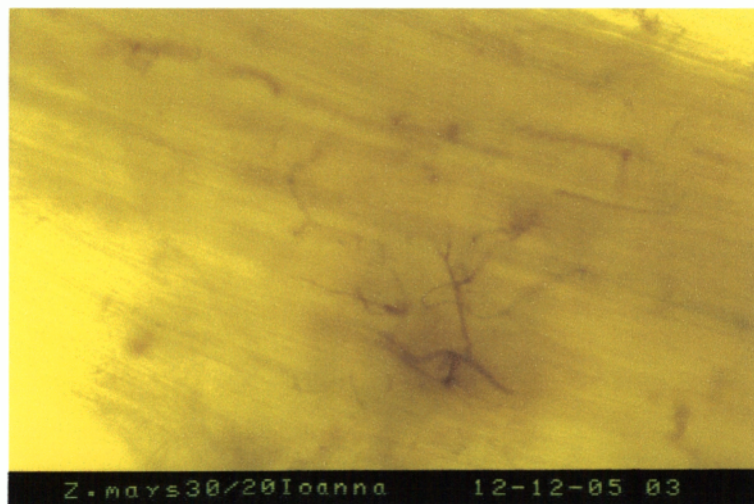
Εικόνα 8. Κύστεις



Εικόνα 9. Κύστεις



Εικόνα 10. Υφές



Εικόνα 11. Υφές



Εικόνα 12.



Εικόνα 13.

Στις εικόνες 12 και 13 παρουσιάζονται οι ζημιές στο θερμοκήπιο από ισχυρούς ανέμους, λόγω των οποίων αναγκαστήκαμε να σκεπάσουμε το εναπομείναν στις πειραματικές μονάδες (γλάστρες) ριζικό σύστημα, με νάιλον για την προστασία του.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην πειραματική διαδικασία ακολουθήθηκαν μέθοδοι συγκαλλιέργειας που εφαρμόζονται εδώ και 9 χρόνια στο Τ.Ε.Ι Καλαμάτας από την καθηγήτρια εφαρμογών κα Νικοπούλου Δέσποινα στα πλαίσια των εργαστηρίων Λαχανοκομίας.

Οι μετρήσεις που έγιναν σε πειραματικές μονάδες, στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν είτε σπόροι είτε χώμα απολυμασμένο, αναμενόταν ότι θα ήταν αρνητικές (δηλαδή δεν θα ανιχνεύονταν μυκορριζικές κατασκευές). Επειδή όμως, όταν εγκαταστάθηκε το πείραμα στο θερμοκήπιο, υπήρχε ήδη καλλιέργεια τομάτας (4 διαφορετικές ποικιλίες), σε συνδυασμό με ανθοκομικό φυτό (ζίννια ή κατηφέ), των οποίων οι σπόροι περίπου κατά το 80% είχαν παραχθεί βιολογικά, παρατηρήθηκαν μυκορριζικές κατασκευές σε όλες τις πειραματικές μονάδες. Αυτό οφείλεται στο ότι στο χώρο του θερμοκηπίου υπήρχε υψηλό φορτίο μυκορριζών τόσο στα ήδη υπάρχοντα φυτά τομάτας, όσο και στο έδαφος και τον αέρα, είτε με τη μορφή μυκηλίων, είτε σπορίων τα οποία μεταφέρονταν μέσω των εντόμων ή των βακτηρίων του αέρα. Όπως αναφέρει και ο Linderman (1994), τα βακτήρια ή οι μύκητες που ανταγωνίζονται τις μυκορριζες, μπορούν κατά περίπτωση να περιορίσουν τον εποίκισμό των φυτών - ξενιστών από τις VAM (Vesicular - Arbuscular Mycorrhizae).

Παρατηρώντας το ξηρό βάρος του αραβοσίτου (ανά φυτό) και το μέσο αριθμό φυματίων ανά πειραματική μονάδα, παρατηρήθηκε αφενός μεν ότι στις επεμβάσεις με απολυμασμένο χώμα είχαμε σταθερά αυξημένο ξηρό βάρος, αφετέρου δε ότι ο αριθμός των φυματίων που σχηματίστηκαν στις συγκεκριμένες επεμβάσεις ήταν σταθερά αυξημένος.

Στο μέλλον προτείνεται η επανάληψη του πειράματος, με καλύτερες συνθήκες απομόνωσης για τη διεξαγωγή σαφέστερων συμπερασμάτων.

β) ΠΕΙΡΑΜΑ ΜΕΛΙΤΖΑΝΑΣ - ΚΑΤΗΦΕ

1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Συλλογή χώματος: 20/10 - 24/10/2003. Το χώμα συλλέχθηκε από το χώρο των εργαστηρίων Λαχανοκομίας του ΤΕΙ Καλαμάτας με υπεύθυνη την καθηγήτρια Εφαρμογών κ. Νικοπούλου Δέσποινα όπου κατά το χρονικό διάστημα από 1996 έως το 2003 χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά βιολογικές μέθοδοι καλλιέργειας.

Απολύμανση χώματος: 22/3 - 8/4/2004

Απολύμανση σπόρων: 22/3-8/4/2003. Οι σπόροι μελιτζάνας και κατηφέ είχαν παραχθεί από βιολογική συγκαλλιέργεια μελιτζάνας με κατηφέ στα πλαίσια των εργαστηρίων Λαχανοκομίας του ΤΕΙ Καλαμάτας με υπεύθυνη την προαναφερόμενη καθηγήτρια.

Μεταφύτευση σπορόφυτων

μελιτζάνας, κατηφέ (σε ατομικά σακουλάκια): 3/6 - 4/6/2004

Υλικά και σκεύη

- χώμα αποστειρωμένο και μη αποστειρωμένο
- σπόροι μελιτζάνας και κατηφέ, απολυμασμένοι και μη απολυμασμένοι
- compost
- δίσκοι εκβλάστησης σπόρων
- ατομικά σακουλάκια μεταφύτευσης
- ογκομετρικοί κύλινδροι των 10ml και 100ml
- ποτήρια ζέσεως των 150ml
- λεπτή σήτα (σουρωτήρι)
- αλουμινόχαρτο

Αντιδραστήρια

- απιονισμένο νερό
- κοινή χλωρίνη

Συσκευές

- αυτόκαυστο υγρού τύπου

- θάλαμος ανάπτυξης φυτών
- πάγκος υδρονέφωσης

ΜΕΘΟΔΟΣ

Αφού έγινε η συλλογή του χώματος και αποφασίστηκε ο τρόπος αποστείρωσής του, διανεμήθηκε ισόποσα σε γαλακτόχρες σακούλες (3lt/σακούλα) και προστέθηκε σε αυτό ποσότητα νερού ίση με 25ml. Κάθε σακούλα σφραγίστηκε με αλουμινόχαρτο και τοποθετήθηκε στο αυτόκαυστο στους 121°C για μια ώρα. Η διαδικασία αποστείρωσης επαναλήφθηκε μετά από 24 ώρες. Η δεύτερη αποστείρωση ήταν απαραίτητη για την απαλλαγή του εδάφους από όλους τους μικροοργανισμούς, εκτός από τα σπόρια των εξεταζόμενων μυκήτων.

Μετά την εξαγωγή του από το αυτόκαυστο, το αποστειρωμένο χώμα τοποθετήθηκε και σε δεύτερη σακούλα, η οποία δέθηκε καλά ώστε να αποφευχθεί η πιθανότητα μόλυνσής του από εξωγενείς παράγοντες. Ακολούθησε η αποθήκευσή του σε ντουλάπια, σε θερμοκρασία δωματίου, όπου θα παρέμενε μέχρι τη χρησιμοποίησή του.

Παράλληλα με την αποστείρωση του χώματος έγινε και η απολύμανση των σπόρων. Απολυμάνθηκαν σε διάλυμα χλωρίνης - απιονισμένου νερού 1% (δηλαδή, σε 100ml νερού προστέθηκε 1ml χλωρίνης) για 5min και στη συνέχεια ξεπλύθηκαν καλά κάτω από τρεχούμενο νερό για τουλάχιστον 10min, με τη βοήθεια σήτας.

Πριν και μετά από την απολύμανσή τους, έγινε δοκιμαστική σπορά σε δίσκους εκβλάστησης με compost, ώστε να ελεγχθεί η βλαστική τους ικανότητα. Στη συνέχεια οι δίσκοι τοποθετήθηκαν στο θάλαμο ανάπτυξης φυτών, σε ελεγχόμενη θερμοκρασία (25°C) και αφέθηκαν να αναπτυχθούν, ενώ ελεγχόταν συνεχώς το ποσοστό υγρασίας τους.

Για τους σπόρους μελιζάνας και κατηφέ χρειάστηκαν επανειλημμένες δοκιμαστικές σπορές μέχρι να βρεθούν σπόροι με καλή βλαστική ικανότητα.

Όταν τα σπορόφυτα μελιζάνας και κατηφέ έφτασαν στο κατάλληλο στάδιο ανάπτυξης (3 - 4 πραγματικά φύλλα), μεταφυτεύτηκαν σε ατομικά σακουλάκια και τοποθετήθηκαν στον πάγκο υδρονέφωσης εντός του θερμοκηπίου.

2. ΦΥΤΕΥΣΗ ΦΥΤΩΝ ΣΤΙΣ ΓΛΑΣΤΡΕΣ

Ημερομηνία φύτευσης: 8/7/2004

Υλικά

- γλάστρες (6lt)
- σηματοδότες
- σταλακτηφόροι σωλήνες
- προγραμματιστής ποτίσματος

Ο βασικός σχεδιασμός του πειράματος ήταν 4 επεμβάσεις, με 5 επαναλήψεις για την κάθε μια, επί δυο. Οι επεμβάσεις είχαν ως εξής:

1. Χώμα απολυμασμένο - Σπόροι απολυμασμένοι (Χα-Σα)
2. Χώμα μη απολυμασμένο - Σπόροι απολυμασμένοι (Χμα-Σα)
3. Χώμα απολυμασμένο - Σπόροι μη απολυμασμένοι (Χα-Σμα)
4. Χώμα μη απολυμασμένο - Σπόροι μη απολυμασμένοι (Χμα-Σμα)

Οι 40 πειραματικές μονάδες χωρίστηκαν με βάση τον παραπάνω σχεδιασμό και τελικά προέκυψαν:

5 Χα-Σα

5 Χμα-Σα

5 Χα-Σμα

5 Χμα-Σμα, για το πείραμα των 45 ημερών και ομοίως για το πείραμα των 3.5 μηνών.

Σε κάθε γλάστρα φυτεύτηκε ένα σπορόφυτο μελιτζάνας και ένα σπορόφυτο κατηφέ, απολυμασμένο ή μη απολυμασμένο ανάλογα με το βασικό σχεδιασμό του πειράματος.

Οι πειραματικές μονάδες σηματοδοτήθηκαν και τοποθετήθηκαν πλήρως τυχαιοποιημένα, ώστε να αποφευχθεί η πιθανότητα να επιδράσει κάποιος παράγοντας ευεργετικά σε κάποια επέμβαση και να περιοριστεί σημαντικά το πειραματικό σφάλμα.

Τέλος, εγκαταστάθηκαν οι σωληνώσεις του συστήματος άρδευσης και ο προγραμματιστής και ρυθμίστηκαν η ημέρα, η ώρα και η διάρκεια των ποτισμάτων.

Σύμφωνα με τον αρχικό σχεδιασμό, το πείραμα είχε χωριστεί ως εξής: Τα φυτά των 20 πειραματικών μονάδων θα συγκομίζονταν σε 45 ημέρες, ενώ των υπολοίπων 20 μετά από 3.5 μήνες, ώστε να φτάσουν σε σποροπαραγωγή. Τελικά δεν τηρήθηκε ο παραπάνω σχεδιασμός και όλα τα φυτά αφέθηκαν να αναπτυχθούν για 5.5 μήνες. Οι μετρήσεις που αποφασίστηκε να γίνουν ήταν οι εξής:

- α) ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος φυτών ανά πειραματική μονάδα
- β) ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών μικρού, μέτριου και μεγάλου μεγέθους (ως προς το πάχος) ανά πειραματική μονάδα
- γ) μέτρηση σπορίων στο έδαφος

Τελικά λόγω έλλειψης του απαραίτητου εξοπλισμού δεν μετρήθηκαν τα σπόρια στο έδαφος.

3. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΦΡΟΝΤΙΔΕΣ

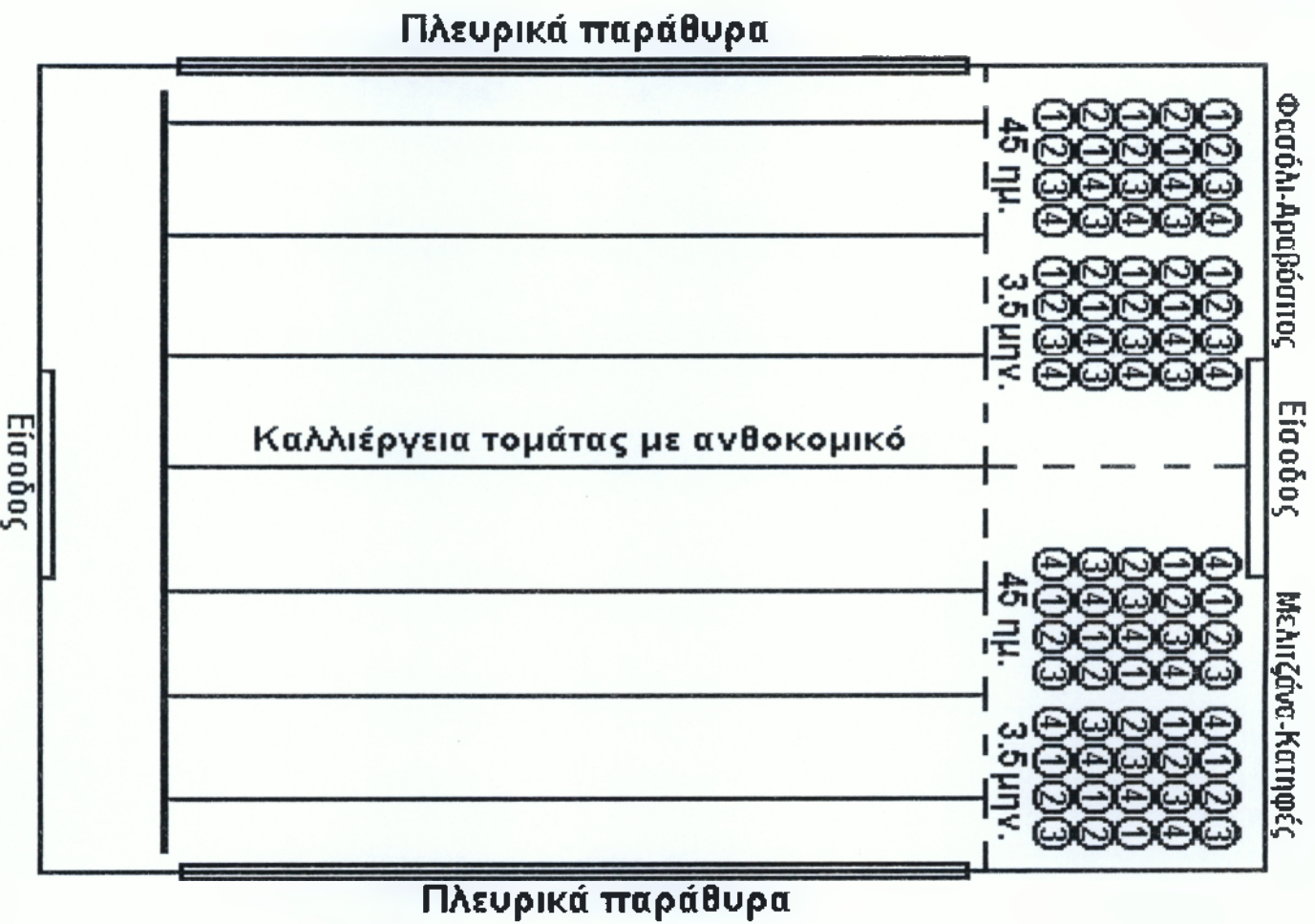
Λίπανση με Σεγελίν

Έγιναν 3 διαδοχικές λιπάνσεις με το φυκολίπασμα Σεγελίν στις 20, στις 24 και στις 27/8/2004, κατά τις οποίες σε κάθε πειραματική μονάδα προστέθηκαν 250cc του φυκολιπάσματος (σε 1500ml νερού διαλύθηκαν 15ml φυκολιπάσματος).

Λοιπές καλλιεργητικές φροντίδες

Κατά καιρούς χρειάστηκαν διάφορες φροντίδες, όπως ξεβοτανίσματα, κυρίως στις επεμβάσεις όπου, είτε το χώμα, είτε οι σπόροι δεν ήταν απολυμασμένα.

Β



Κάτωψη θερμοκηπίου όπου διεξήχθη το πείραμα

4. ΚΟΠΗ ΥΠΕΡΓΕΙΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΦΥΤΩΝ

Ημερομηνία κοπής φυτών 45 ημερών: 25/11/2004

Ημερομηνία κοπής φυτών 3.5 μηνών: 26/11/2004

Υλικά

- χάρτινες σακούλες
- ψαλίδα κοπής

Το υπέργειο τμήμα των φυτών συλλέχθηκε, τοποθετήθηκε σε χάρτινες σακούλες και φυλάχθηκε σε ντουλάπια μέχρι την ημερομηνία ξήρανόσής του.

5. ΞΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΖΥΓΙΣΗ ΥΠΕΡΓΕΙΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΦΥΤΩΝ

Ημερομηνία ξήρανόσης: 26/11/2004

Ημερομηνία ζύγισης ξηρού βάρους: 29/11/2004

Συσκευές

- ζυγός ακριβείας (3 δεκαδικών ψηφίων)
- πυραντήριο nüne FN 500

Οι χάρτινες σακούλες τοποθετήθηκαν στο ξηραντήριο στους 105°C για 24 ώρες. Μετά την πάροδο των παραπάνω ωρών και την εξαγωγή τους από το ξηραντήριο, τα υπέργεια μέρη των φυτών ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων και σημειώθηκε το ξηρό τους βάρος. (Νικοπούλου Δ.)

6. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΒΑΦΗΣ ΡΙΖΩΝ ΜΕΛΙΤΖΑΝΑΣ ΚΑΙ ΚΑΤΗΦΕ

6.1 Δείγματα ρίζας

Οι διαδικασίες καθαρισμού και βαφής απαιτούν δείγματα ριζών που έχουν απαλλαγεί από χώμα. Για να είναι οι ρίζες πιο ανθεκτικές στους μετέπειτα χειρισμούς εμβαπτίζονται σε διάλυμα αιθανόλης - νερού 50% v/v για τουλάχιστον μια μέρα ή και περισσότερο.

Για τον καθαρισμό των ριζών χρησιμοποιείται διάλυμα ΚΟΗ 10% w/v. Είναι βασικό, το ΚΟΗ και το διάλυμα βαφής να είναι αρκετά για την ποσότητα των υπό επεξεργασία ριζών. Είναι καλύτερα οι ρίζες να τεμαχίζονται σε τμήματα 1-2cm πριν τον καθαρισμό τους. Η διαδικασία καθαρισμού δεν λειτουργεί καλά σε δείγματα που ζυγίζουν περισσότερο από 1-2gr.

Ρίζες που καθαρίζονται ανεπαρκώς, λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας, του σύντομου χρόνου, ή της μεγάλης ποσότητας του δείγματος, θα έχουν υπολείμματα από το περιεχόμενο των κυττάρων και οι κατασκευές του μύκητα θα εμφανίζονται σκοτεινές, ενώ ρίζες που καθαρίζονται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα μπορεί να αποσυντεθούν.

6.2 Καθαρισμός ριζών με ΚΟΗ

Υλικά

- νυστέρι
- ποτήρι ζέσεως 150ml
- ογκομετρικοί κύλινδροι 25ml, 100ml
- πυρίμαχα βιδωτά φιαλίδια (universal)
- λαβίδα με λεπτά άκρα
- υδροβολέας
- σπάτουλα
- σήτα

Αντιδραστήρια

- 50% v/v αιθανόλη
- 10% w/v ΚΟΗ (υδροξειδίο καλίου) σε δισκία
- απιονισμένο νερό

Συσκευές

- ζυγός ακριβείας
- υδατόλουτρο

Μέθοδος

Μετά την εξαγωγή τους από το διάλυμα αιθανόλης, οι ρίζες τεμαχίστηκαν σε τμήματα μήκους περίπου 1cm, τα οποία διαχωρίστηκαν ανάλογα με το πάχος τους σε λεπτά, μέτρια και παχύτερα. Τα δείγματα ζυγίστηκαν ώστε το βάρος τους να μην ξεπερνά τα 2gr και τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια ανθεκτικά στην υψηλή θερμοκρασία (universal), τα οποία είχαν σηματοδοτηθεί. Ταυτόχρονα παρασκευάστηκε το διάλυμα καυστικού καλίου (όπου σε 100ml απιονισμένου νερού διαλύθηκαν 10gr KOH) και 10ml από αυτό προστέθηκαν σε κάθε φιαλίδιο με τις ρίζες.

Στη συνέχεια, τα universal τοποθετήθηκαν στο υδατόλουτρο στους 90°C. Ο χρόνος που απαιτείται για το επαρκές καθάρισμα με αυτήν την μέθοδο ποικίλλει. Οι λεπτές ρίζες παρέμειναν στο υδατόλουτρο για 30min, οι μέτριες για 60min και οι παχύτερες για 120min. (Παπαδοπούλου Κ.)

Μετά την πάροδο του απαιτούμενου χρόνου και την εξαγωγή τους από το υδατόλουτρο, οι καθαρισμένες ρίζες συλλέχθηκαν σε λεπτό κόσκινο και ξεπλύθηκαν καλά με τρεχούμενο νερό, πριν μεταφερθούν με τη βοήθεια λαβίδας στα universal με το διάλυμα βαφής.

6.3 ΒΑΦΗ ΡΙΖΩΝ ΜΕ CBE

Υλικά

- ποτήρι ζέσεως 150ml
- ογκομετρικοί κύλινδροι 25ml, 100ml
- πυρίμαχα βιδωτά φιαλίδια (universal)
- λαβίδα με λεπτά άκρα
- υδροβολέας
- σπάτουλα
- σήτα
- αλουμινόχαρτο

Αντιδραστήρια

- Chlorazol Black E (CBE)
- γλυκερόλη
- γαλακτικό οξύ
- απιονισμένο νερό

Συσκευές

- ζυγός ακριβείας
- υδατόλουτρο

Μέθοδος

Παρασκευάστηκε το διάλυμα βαφής με τον εξής τρόπο: σε 40ml απιονισμένου νερού διαλύθηκαν 0.036gr CBE και προστέθηκαν 40ml γλυκερόλης και 40ml γαλακτικού οξέος. Συστήνεται, η συγκέντρωση του CBE να είναι 0.03% w/v, αλλά στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε διάλυμα συγκέντρωσης 0.036% γιατί έτσι ενισχύονται οι μορφολογικές παρατηρήσεις. (Παπαδοπούλου Κ.)

Το διάλυμα αναδεύτηκε καλά, ώστε κατά τη χρήση του να αποφευχθεί η εμφάνιση ανομοιογενούς σύστασης, λόγω του μεγάλου ιξώδους της γλυκερόλης. (Brundrett et al, 1984)

Σε κάθε universal, που πρώτα είχε σηματοδοτηθεί, προστέθηκαν 10ml από το διάλυμα βαφής και στη συνέχεια τα αντίστοιχα δείγματα ριζών που είχαν καθαριστεί με το ΚΟΗ. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο υδατόλουτρο στους 90°C και οι λεπτές ρίζες παρέμειναν για 20min, οι μέτριες για 25min και οι παχύτερες για 30min.

Μετά την πάροδο του απαιτούμενου χρόνου και την εξαγωγή τους από το υδατόλουτρο, οι βαμμένες ρίζες συλλέχθηκαν σε λεπτό κόσκινο και ξεπλύθηκαν καλά με τρεχούμενο νερό, πριν μεταφερθούν με τη βοήθεια λαβίδας στους βιδωτούς σωλήνες με το διάλυμα συντήρησης.

7. ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Υλικά

- βιδωτοί σωλήνες
- στατώ
- ποτήρι ζέσεως 150ml
- ογκομετρικοί κύλινδροι 25ml, 100ml
- γυάλινη ράβδος

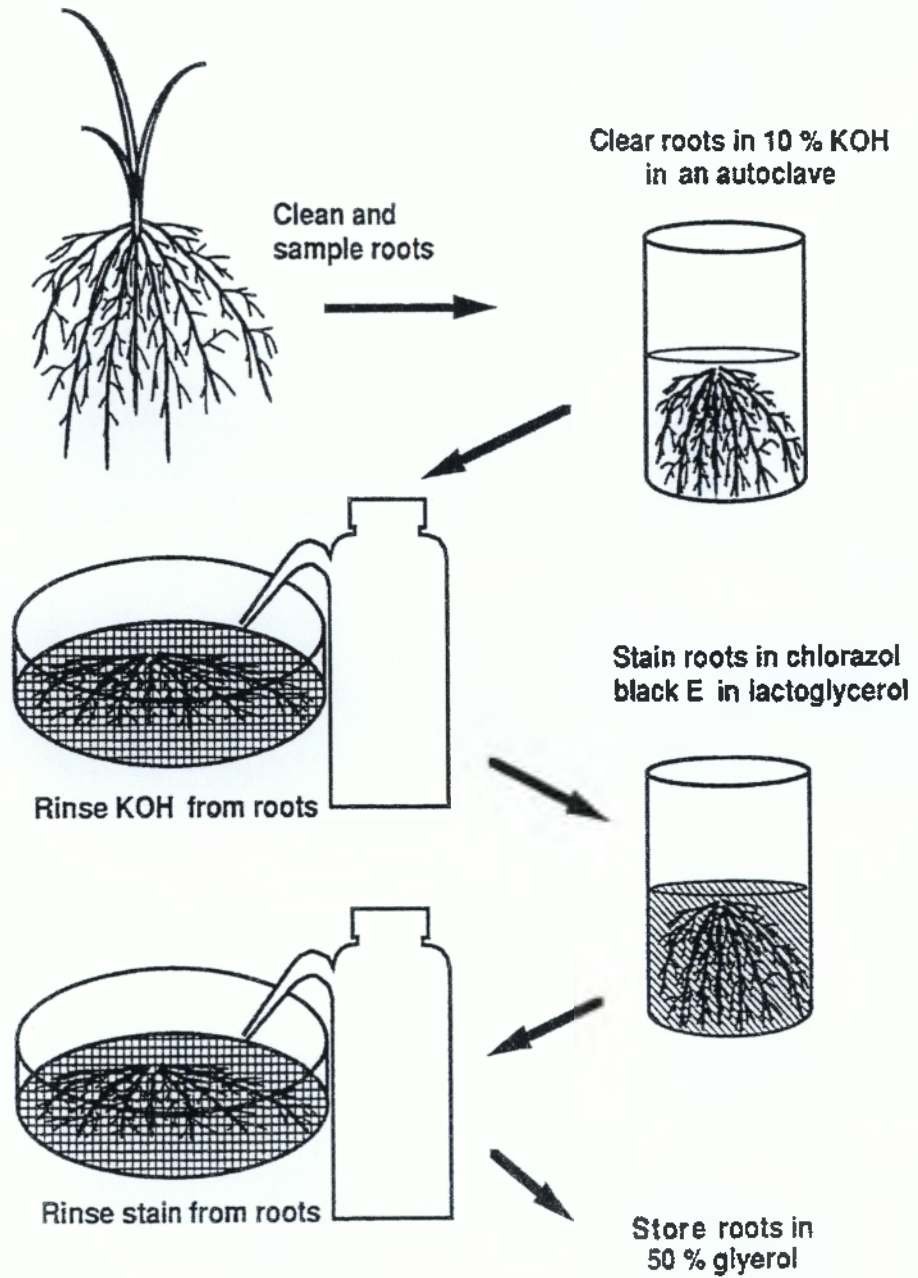
Αντιδραστήρια

- 50% v/v διάλυμα γλυκερόλης - νερού
- 0.01% w/v διάλυμα sodium azide

Τα δείγματα ριζών που έχουν βαφεί, για να διατηρηθούν, αποθηκεύονται σε βιδωτούς σωλήνες που περιέχουν 50% διάλυμα γλυκερόλης - νερού.

Για να διατηρηθούν για ακόμη μεγαλύτερο χρονικό διάστημα τα δείγματα, στο διάλυμα γλυκερόλης προστίθενται 1-2 σταγόνες συντηρητικού sodium azide 0.01%.

Clearing and staining roots



8. ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΠΟΙΚΙΣΜΟΥ

Υλικά

- τριβλία Petri
- δείγματα βαμμένων ριζών σε διάλυμα γλυκερόλης
- χαρτί μιλιμετρέ
- λαβίδα

Συσκευές

- Στερεοσκόπιο Leica 300

Μέθοδος

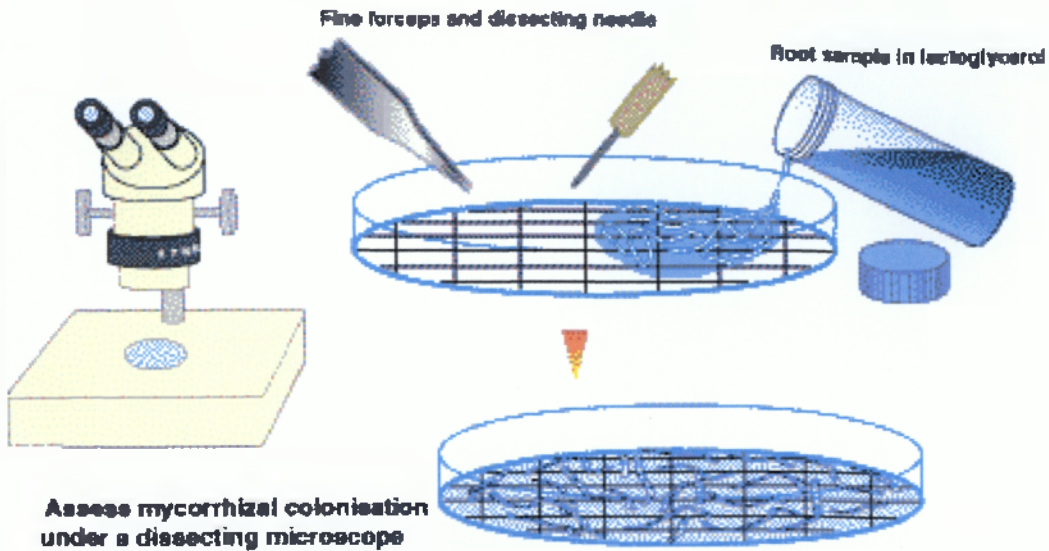
Στο τριβλίο Petri τοποθετήθηκε, με αριθμημένες τις οριζόντιες και κάθετες γραμμές του (από το 1 - 8), το χαρτί μιλιμετρέ. Στη συνέχεια αδειάζονται οι ρίζες κάθε δείγματος στο τριβλίο, μετρώνται τα σημεία όπου οι ρίζες τέμνονται με τις αριθμημένες γραμμές (οριζόντιες και κάθετες) και αθροίζονται οι τομές των οριζόντιων και κάθετων γραμμών, οπότε προκύπτει ο συνολικός αριθμός τομών ανά δείγμα.

Το τριβλίο τοποθετήθηκε στο στερεοσκόπιο, επιλέχθηκε η μεγέθυνση 4.0 και ξεκινώντας από την πρώτη οριζόντια γραμμή εξετάστηκαν προσεκτικά όλες οι τομές ώστε να παρατηρηθούν ή όχι μυκορριζικές κατασκευές και σημειώθηκαν όπου υπήρχαν.

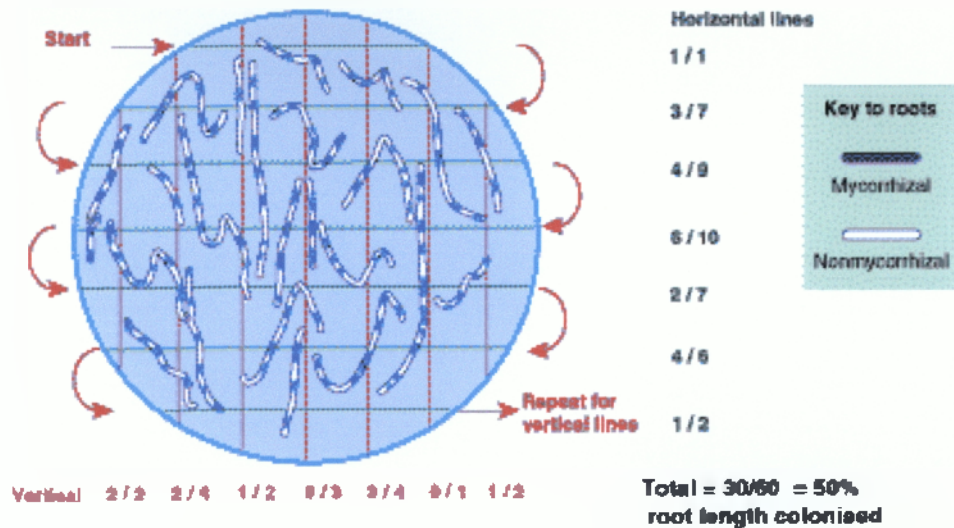
Τα αποτελέσματα των οριζόντιων και κάθετων γραμμών αθροίστηκαν χωριστά και προέκυψε κλάσμα με αριθμητή το σύνολο των τομών που είχαν μυκορριζες και παρονομαστή το συνολικό αριθμό των τομών του δείγματος. Με αναγωγή στα 100 προέκυψε το % ποσοστό εποικισμού του εκάστοτε δείγματος. (Brundrett, 1996)

THE GRIDLINE INTERSECTION METHOD

Randomly disperse cleared and stained roots in dish with grid lines



Follow all horizontal and vertical lines. Count intersects with roots and mycorrhizas separately



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η στατιστική ανάλυση των μετρήσεων έγινε με τη μέθοδο της Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (Ε.Σ.Δ), σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$ και με τη χρήση του προγράμματος Statgraphics.

Στις μετρήσεις των πινάκων 15 - 30 που παρατίθενται στο παράρτημα, έγινε στατιστική ανάλυση από την οποία προέκυψαν οι πίνακες 39 - 48, τα στοιχεία των οποίων, συγκρινόμενα μεταξύ τους δεν φαίνεται να συνδέονται αφού δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζεται η επίδραση των χειρισμών - επεμβάσεων στο ξηρό βάρος της μελιτζάνας.

Πίνακας 39. Μέσο ξηρό βάρος (g) Μελιτζάνας (ανά φυτό)

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	3.95 a	6.54 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	2.17 ab	3.19 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	3.27 ab	4.81 ab
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	1.39 b	3.75 b

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Από τα στοιχεία του ανωτέρω πίνακα προκύπτει ότι στο πείραμα των 45 ημερών, όταν τόσο ο σπόρος όσο και το χώμα είναι απολυμασμένα, αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά το ξηρό βάρος του φυτού, συγκρινόμενο με την επέμβαση, όπου και ο σπόρος και το χώμα δεν είναι απολυμασμένα. Στο πείραμα των 3.5 μηνών, στην επέμβαση όπου και ο σπόρος και το χώμα είναι απολυμασμένα, αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά το ξηρό βάρος του φυτού, συγκρινόμενο με τις επεμβάσεις, όπου ο σπόρος είναι μη απολυμασμένος.

Στον πίνακα 45 παρουσιάζεται το μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών Κατηφέ μικρού μεγέθους, ανά πειραματική μονάδα.

Πίνακας 45. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών Κατηφέ (μικρού μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	46.30 b	45.22 b
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	56.16 ab	50.80 ab
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	44.06 b	71.74 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	69.36 a	69.32 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Από τα στοιχεία του πίνακα βλέπουμε ότι στο πείραμα των 45 ημερών, όταν τόσο ο σπόρος όσο και το χώμα είναι μη απολυμασμένα, αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά το μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών μικρού μεγέθους ανά πειραματική μονάδα, συγκρινόμενο με τις επεμβάσεις, όπου ο σπόρος είναι απολυμασμένος. Στο πείραμα των 3.5 μηνών, στην επέμβαση όπου και ο σπόρος και το χώμα είναι απολυμασμένα, μειώνεται στατιστικώς σημαντικά το μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών μικρού μεγέθους ανά πειραματική μονάδα, συγκρινόμενο με τις επεμβάσεις, όπου το χώμα δεν είναι απολυμασμένο.

Στον πίνακα 46 παρουσιάζεται το μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών Κατηφέ μεσαίου μεγέθους, ανά πειραματική μονάδα.

Πίνακας 46. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών Κατηφέ (μεσαίου μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	42.36 b	27.02 b
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	48.38 b	40.70 ab
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	41.78 b	57.46 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	68.28 a	50.90 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Από τα στοιχεία του πίνακα βλέπουμε ότι στο πείραμα των 45 ημερών, όταν τόσο ο σπόρος όσο και το χώμα είναι μη απολυμασμένα, αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά το μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών μεσαίου μεγέθους ανά πειραματική μονάδα, συγκρινόμενο με τις λοιπές επεμβάσεις. Στο πείραμα των 3.5 μηνών, στην επέμβαση όπου και ο σπόρος και το χώμα είναι απολυμασμένα, μειώνεται στατιστικώς σημαντικά το μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών μεσαίου μεγέθους ανά πειραματική μονάδα, συγκρινόμενο με τις επεμβάσεις, όπου το χώμα είναι μη απολυμασμένο.

Στον πίνακα 48 παρουσιάζεται συνολικά το μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών Κατηφέ, ανά πειραματική μονάδα.

Πίνακας 48. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών (συνολικά) ανά πειραματική μονάδα.

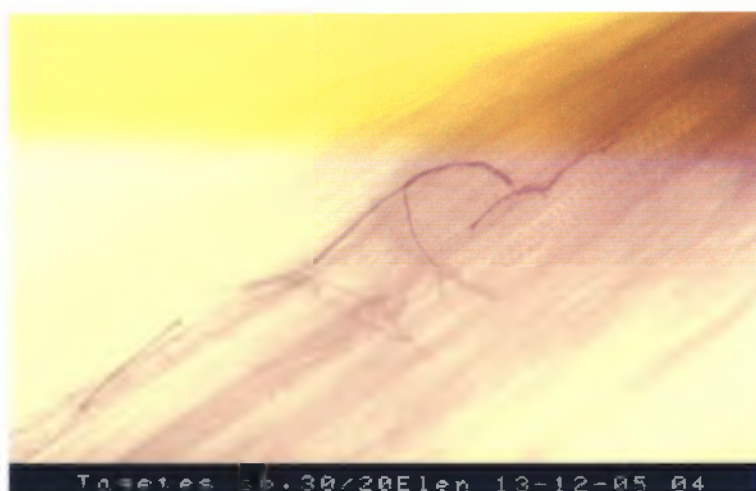
Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	47.12 a	37.55 b
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	54.76 a	49.58 ab
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	50.48 a	62.30 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	64.87 a	55.04 ab

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

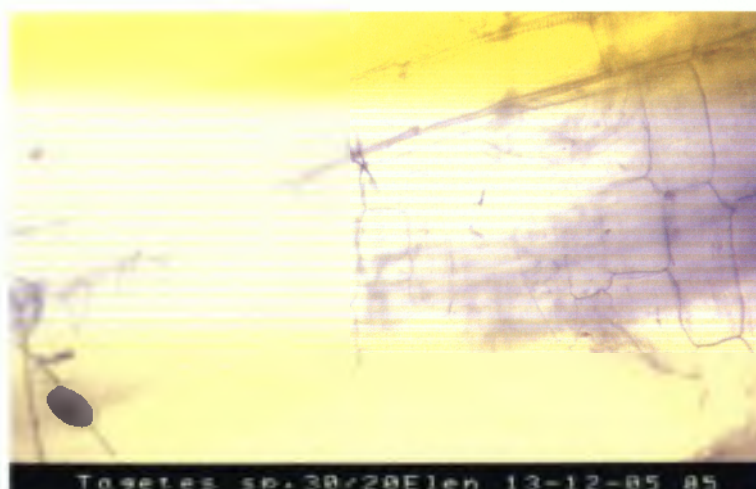
Από τον πίνακα προκύπτει ότι στο πείραμα των 45 ημερών δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

Στο πείραμα των 3.5 μηνών, στην επέμβαση όπου το χώμα είναι μη απολυμασμένο και ο σπόρος απολυμασμένος, αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά το συνολικό μέσο ποσοστό (%) των εποικισμένων ριζών ανά πειραματική μονάδα, συγκρινόμενο με την επέμβαση, όπου τόσο το χώμα όσο και ο σπόρος είναι απολυμασμένα.

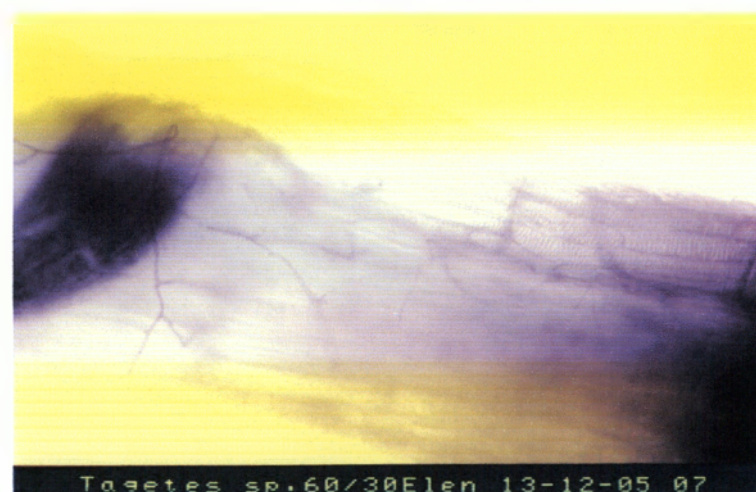
ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ
ΜΕΛΙΤΖΑΝΑΣ - ΚΑΤΗΦΕ



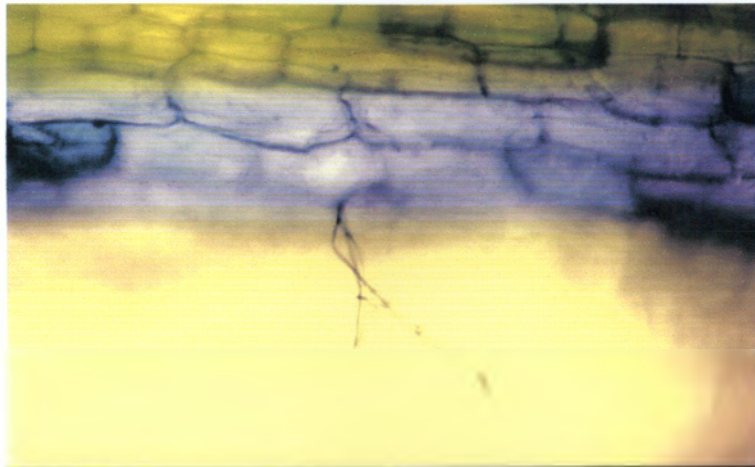
Εικόνα 1. Υφές



Εικόνα 2. Υφές και κύστη

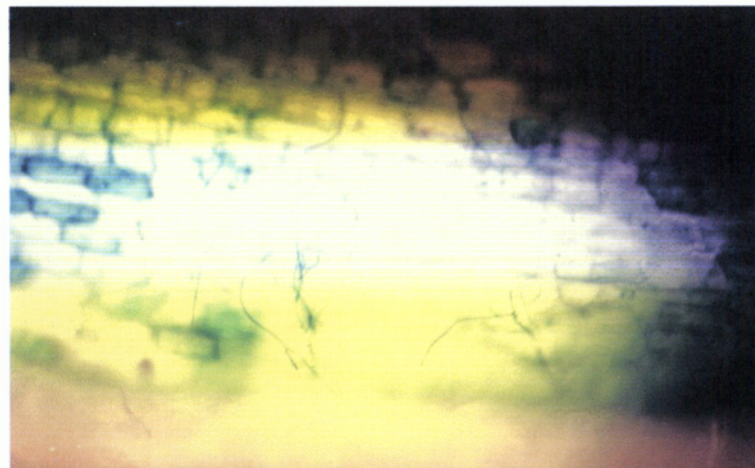


Εικόνα 3. Υφές



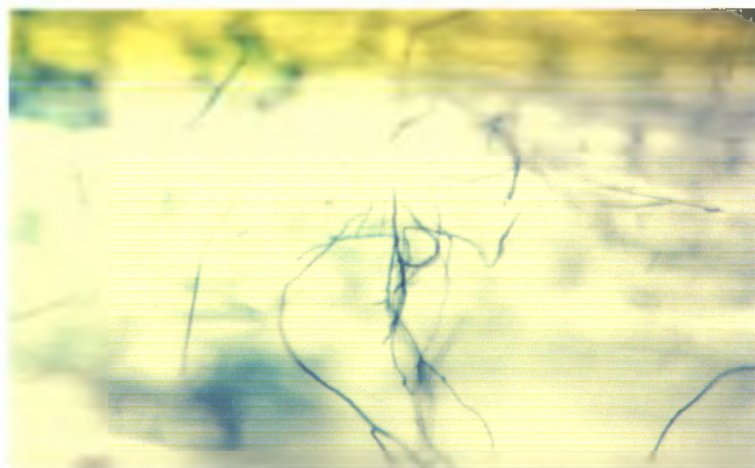
S.melonena30/20Elen 13-12-05 08

Εικόνα 4. Εξωρριζική υφή



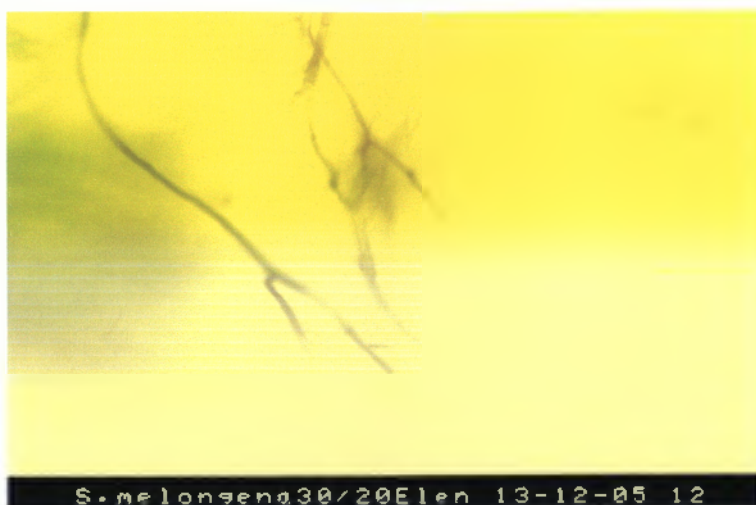
S.melonena30/20Elen 13-12-05 09

Εικόνα 5. Υφές

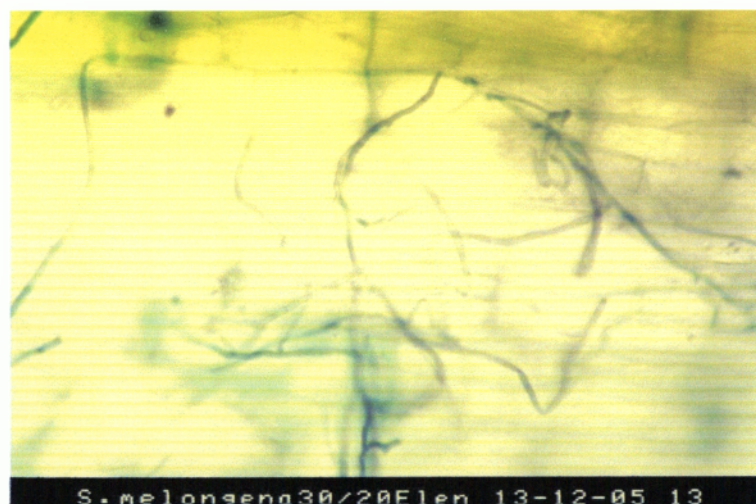


S.melonena30/20Elen 13-12-05 11

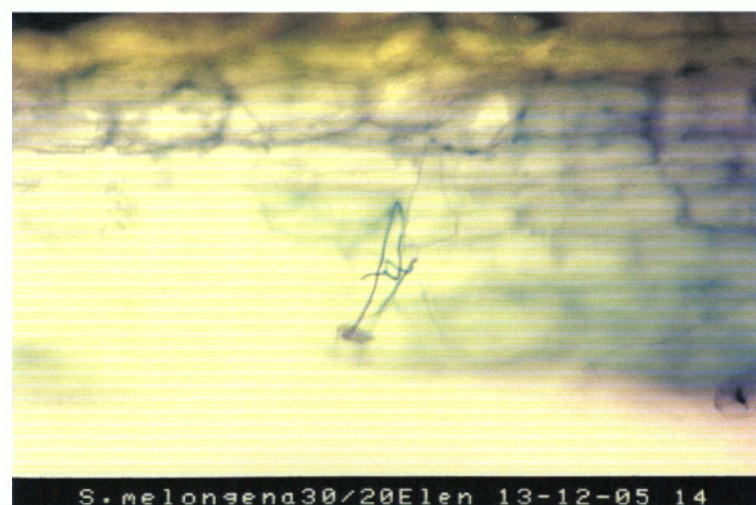
Εικόνα 6. Υφές



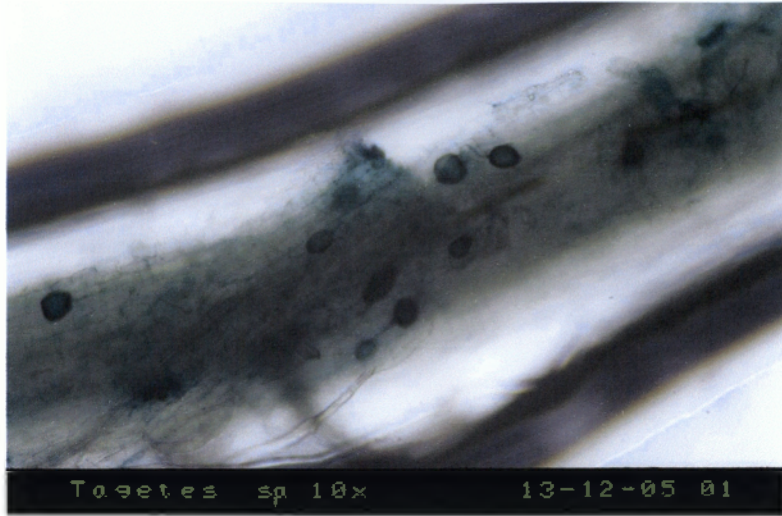
Εικόνα 7. Υφές



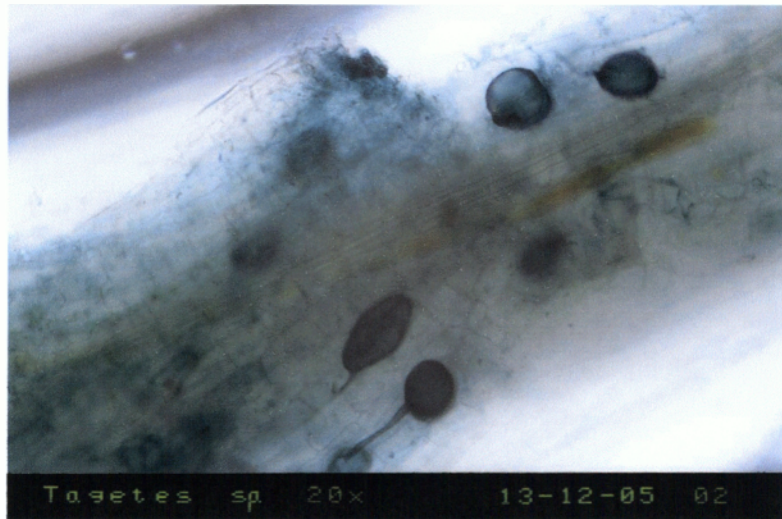
Εικόνα 8. Υφές



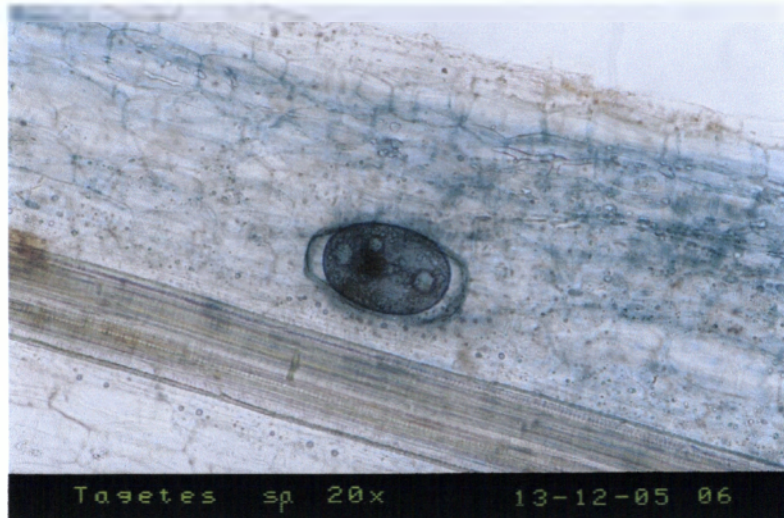
Εικόνα 9. Υφές



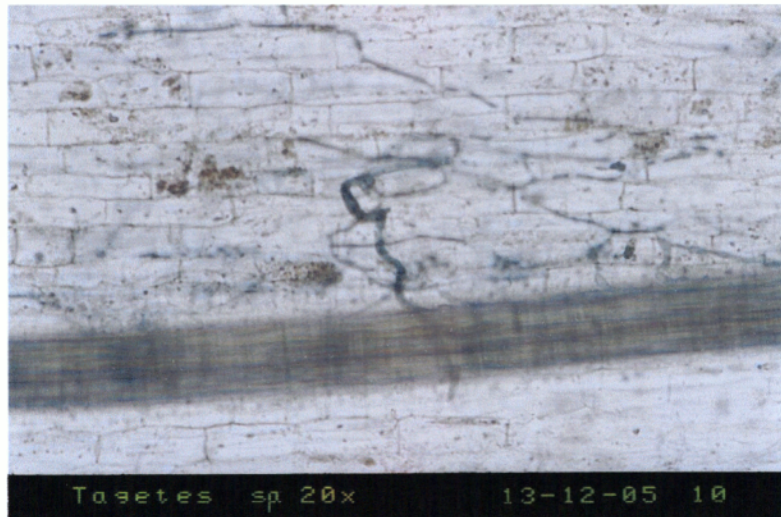
Εικόνα 10. Κύστεις



Εικόνα 11. Κύστεις



Εικόνα 12. Κύστη



Εικόνα 13. Γφές



Εικόνα 14.



Εικόνα 15.

Στις εικόνες 14 και 15 παρουσιάζονται οι ζημιές στο θερμοκήπιο από ισχυρούς ανέμους, λόγω των οποίων αναγκαστήκαμε να σκεπάσουμε το εναπομείναν στις πειραματικές μονάδες (γλάστρες) ριζικό σύστημα, με νάιλον για την προστασία του.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

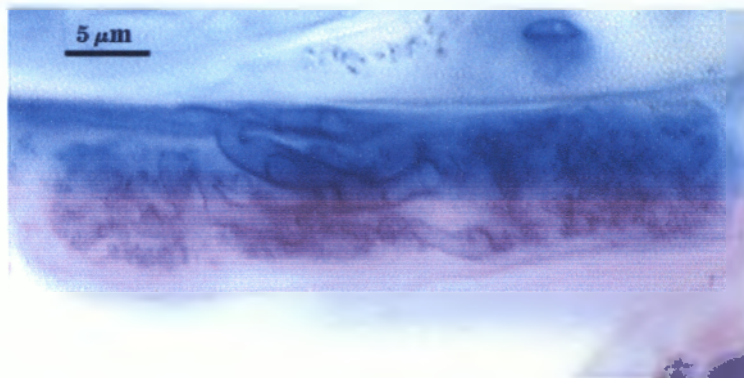
Στην πειραματική διαδικασία ακολουθήθηκαν μέθοδοι συγκαλλιέργειας που εφαρμόζονται εδώ και 9 χρόνια στο Τ.Ε.Ι Καλαμάτας από την καθηγήτρια εφαρμογών κα Νικοπούλου Δέσποινα στα πλαίσια των εργαστηρίων Λαχανοκομίας.

Οι μετρήσεις που έγιναν σε πειραματικές μονάδες, στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν είτε σπόροι είτε χώμα απολυμασμένο, αναμενόταν ότι θα ήταν αρνητικές (δεν θα ανιχνεύονταν μυκορριζικές κατασκευές). Επειδή όμως, όταν εγκαταστάθηκε το πείραμα στο θερμοκήπιο, υπήρχε ήδη καλλιέργεια τομάτας (4 διαφορετικές ποικιλίες), σε συνδυασμό με ανθοκομικό φυτό (ζίννια ή κατηφέ), των οποίων οι σπόροι κατά το 80% είχαν παραχθεί βιολογικά, παρατηρήθηκαν μυκορριζικές κατασκευές σε όλες τις πειραματικές μονάδες. Αυτό οφείλεται στο ότι στο χώρο του θερμοκηπίου υπήρχε υψηλό φορτίο μυκορριζών τόσο στα ήδη υπάρχοντα φυτά τομάτας, όσο και στο έδαφος και τον αέρα, είτε με τη μορφή μυκηλίων, είτε σπορίων τα οποία μεταφέρονταν μέσω των εντόμων ή των βακτηρίων του αέρα.

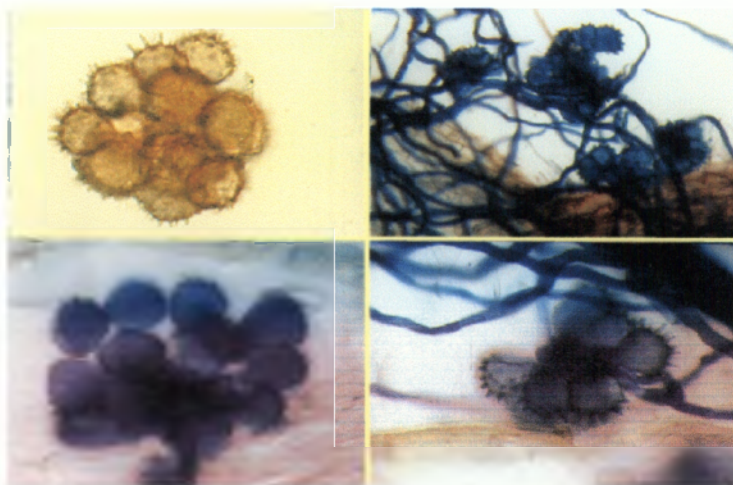
Κατά τη μικροσκοπική παρατήρηση ανιχνεύτηκαν όλα όσα αναμένονταν (δενδρόμορφες κατασκευές, υφές, κύστεις, σπόρια, βοηθητικά κύτταρα), τα οποία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε ένα μελλοντικό πείραμα για την ταυτοποίηση και το χαρακτηρισμό των μυκορριζικών ειδών.

Στο μέλλον προτείνεται η επανάληψη του πειράματος, με καλύτερες συνθήκες απομόνωσης για τη διεξαγωγή σαφέστερων συμπερασμάτων.

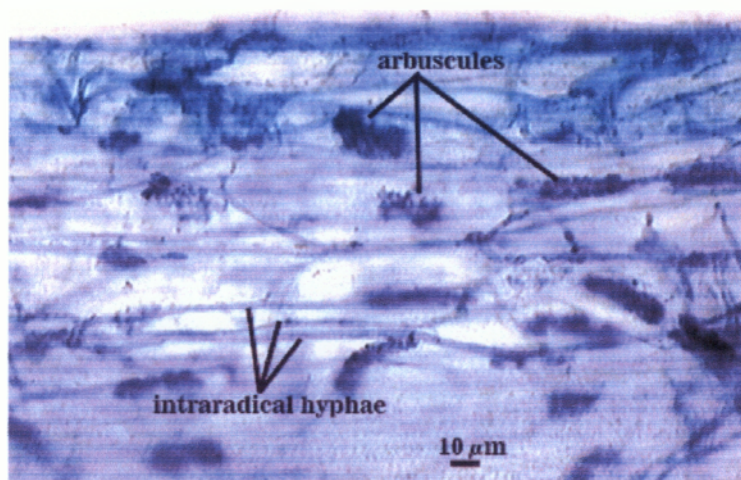
ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ ΜΥΚΟΡΡΙΖΩΝ ΑΠΟ ΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ
(που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν οδηγοί για την αναγνώριση)



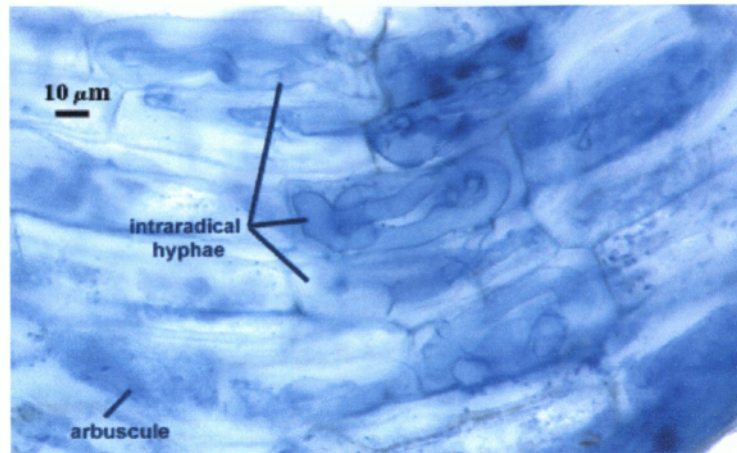
1. Arbuscules (Δενδρόμορφες κατασκευές)



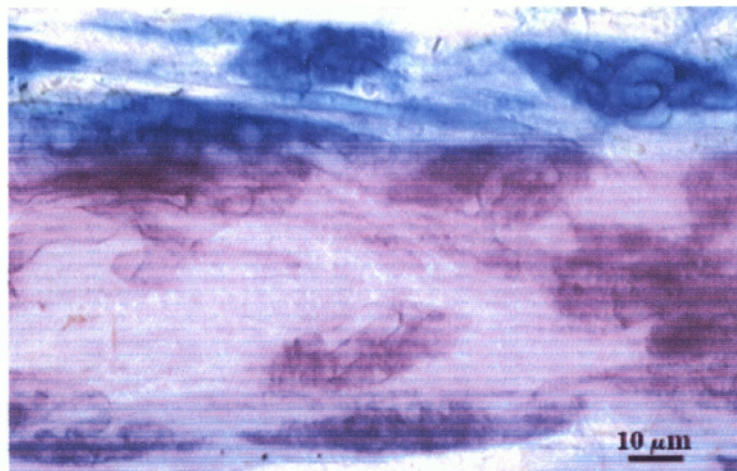
2. Auxiliary cells (Βοηθητικά κύτταρα)



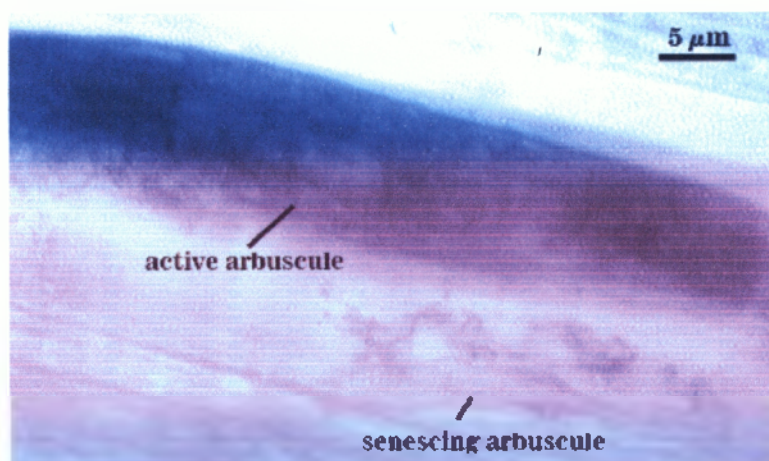
3. Branch hyphae (Διακλαδισμένες υφές)



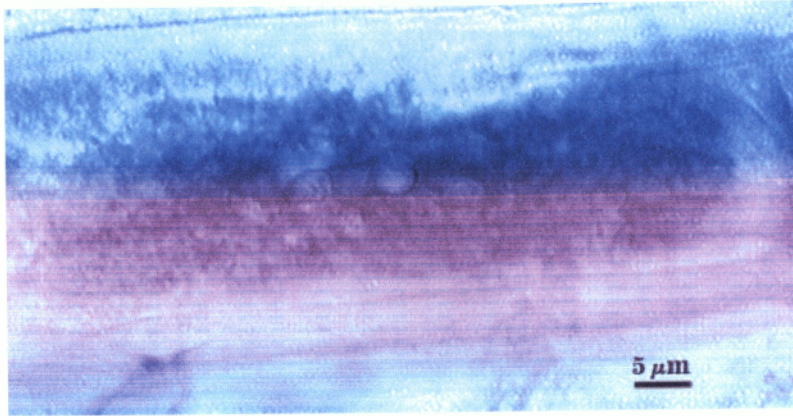
4. Coiled (Σπειρώματα)



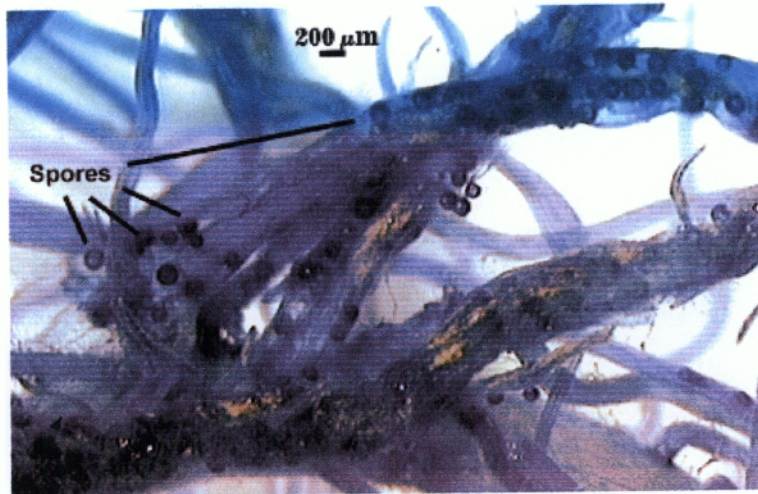
5. Coiled throughout (Συνεχή σπειρώματα)



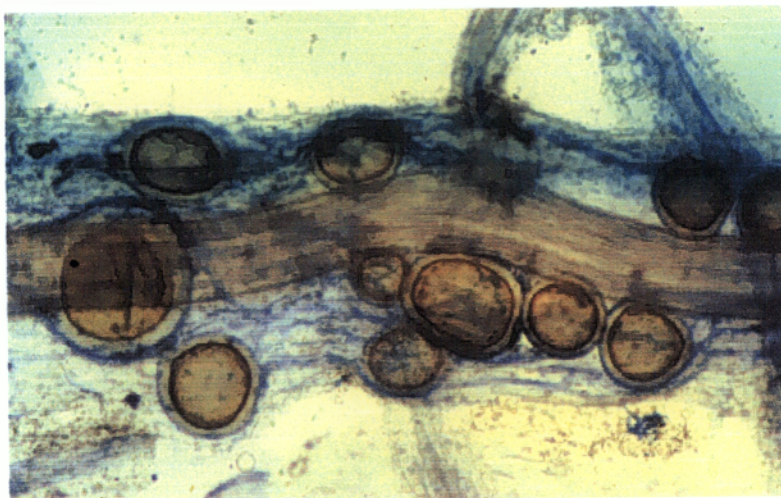
6. Ενεργή και γηρασμένη δενδρόμορφη κατασκευή



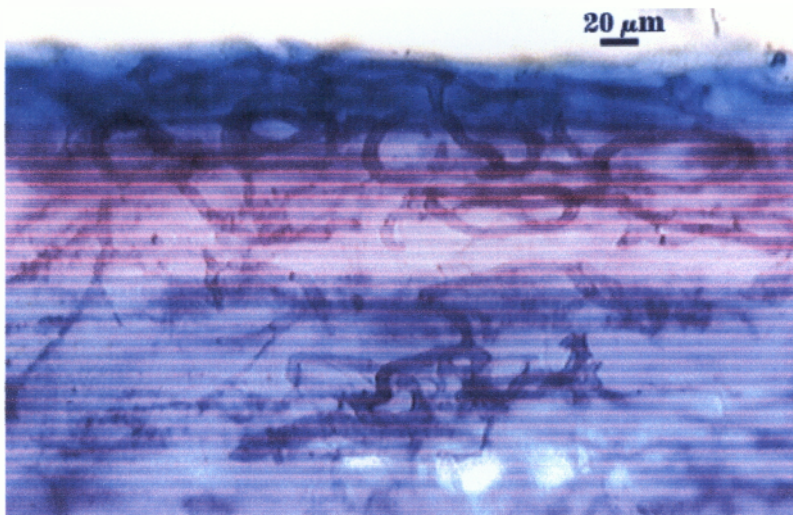
7. Corn 2 (Καλαμπόκι)



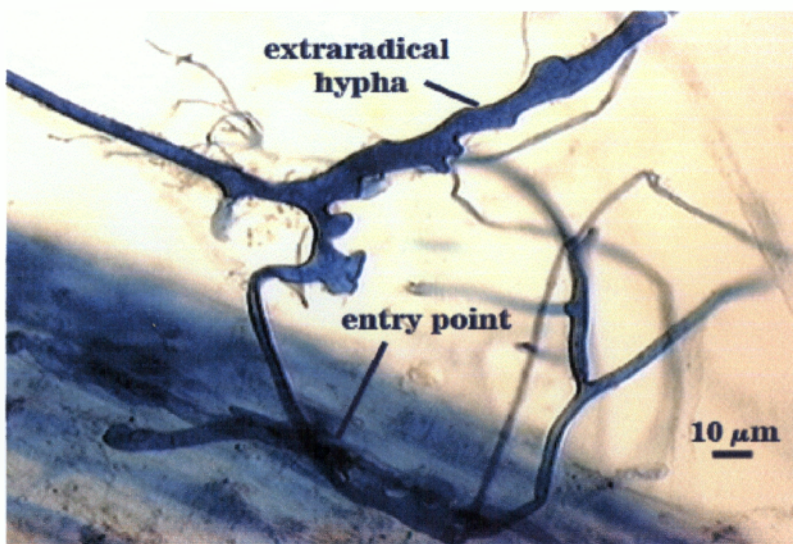
8. Σπόρια



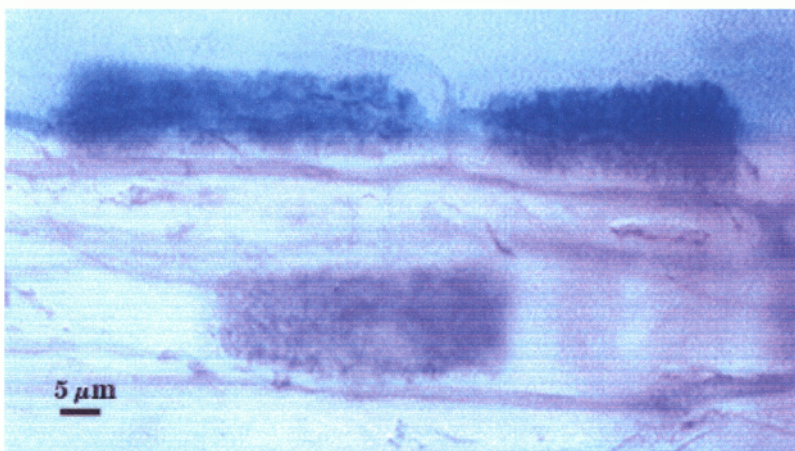
9. Σπόρια



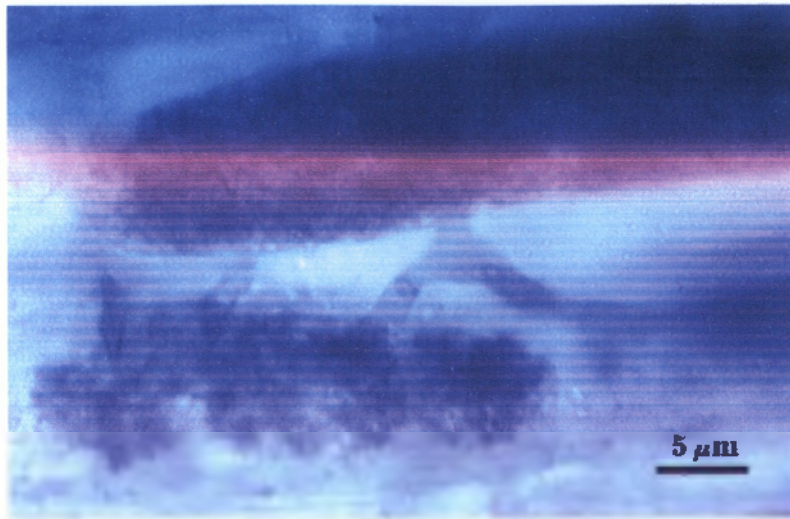
10. Entry points (Σημεία εισόδου)



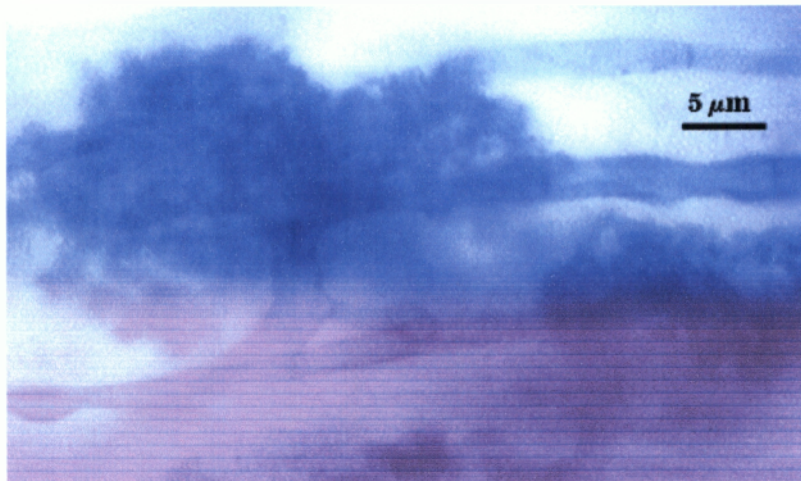
11. Extra radical hyphae (Εξωρριζικές υφές)



12. *G. diaphanum* 1



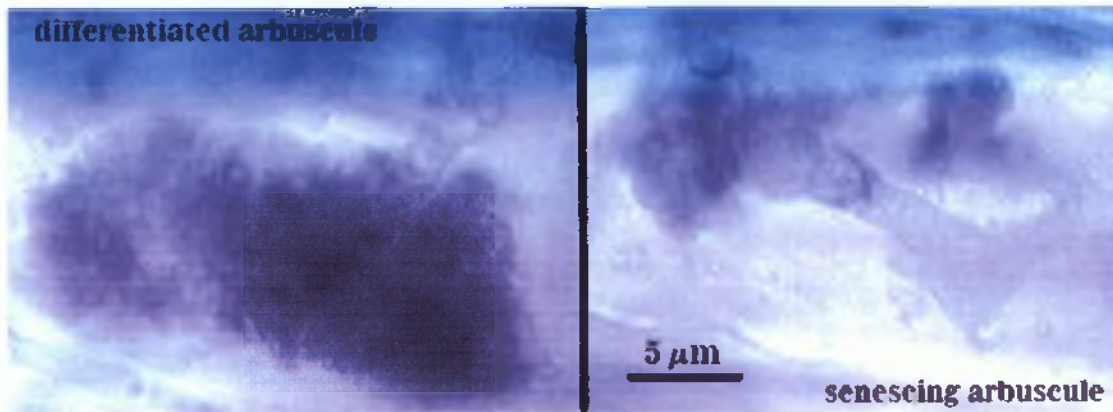
13. *G. diaphanum* 2



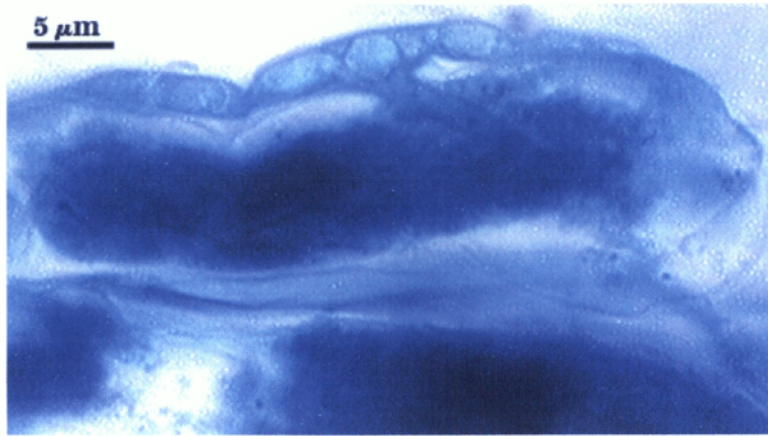
14. *G. intraradices*

Διαφοροποιημένες
δενδρόμορφες κατασκευές

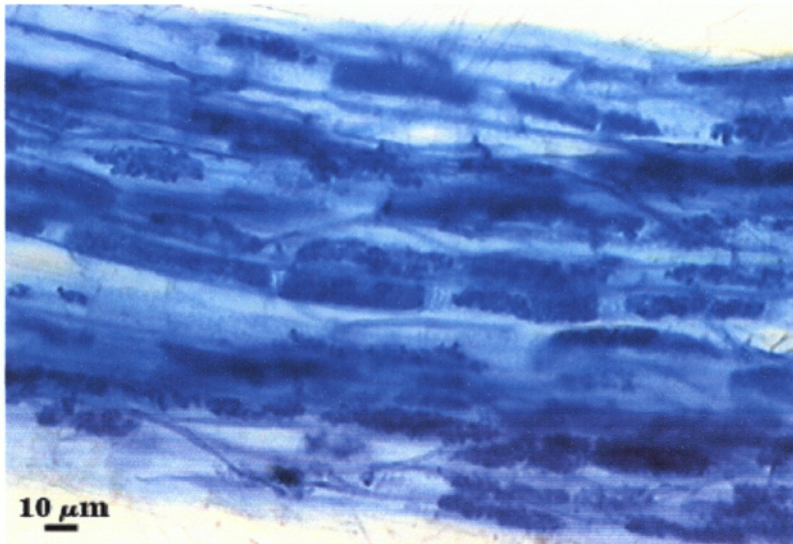
Γηρασμένες
δενδρόμορφες κατασκευές



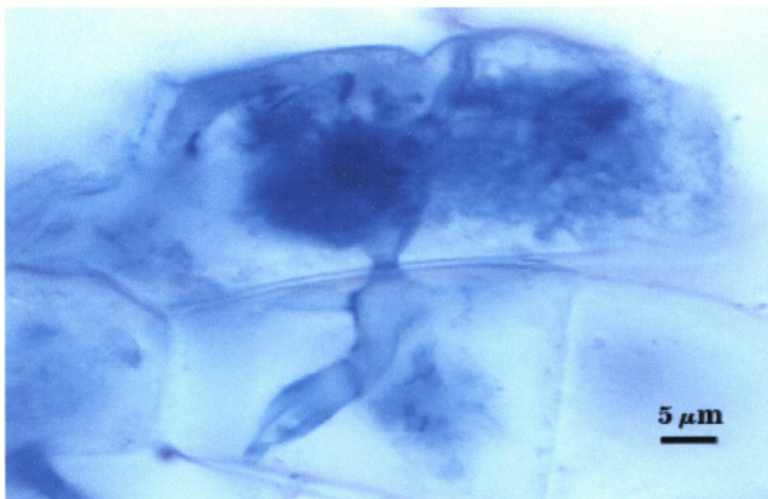
15. *G. lamellosum* 1



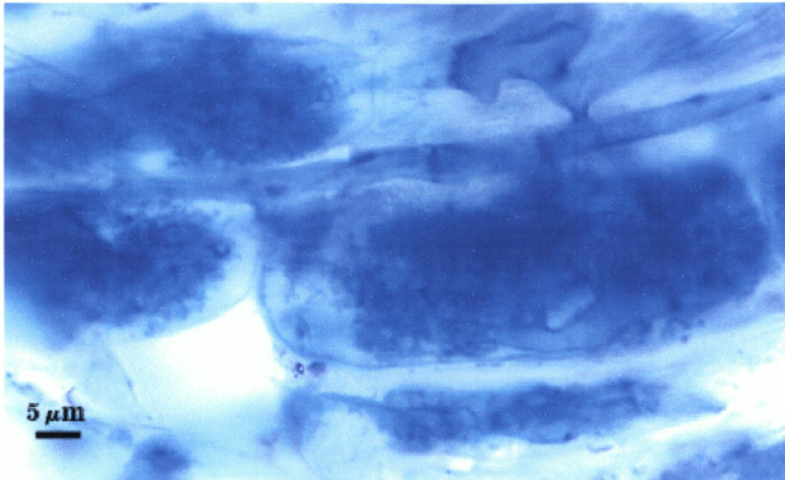
16. *G. lamellosum* 2



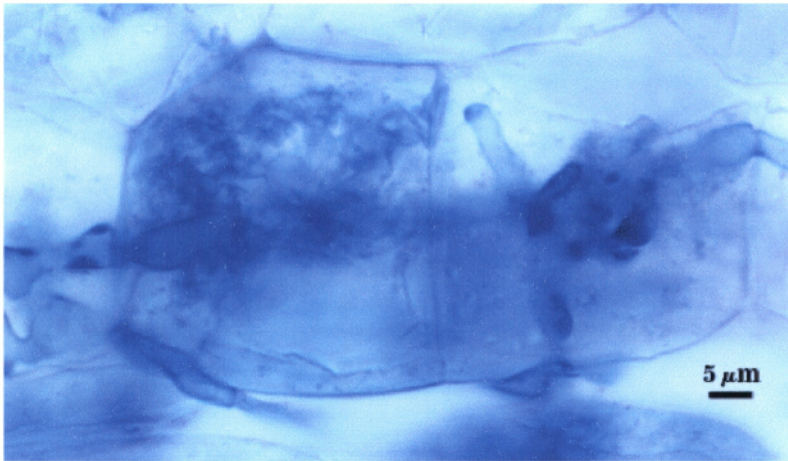
17. *G. lamellosum* 4



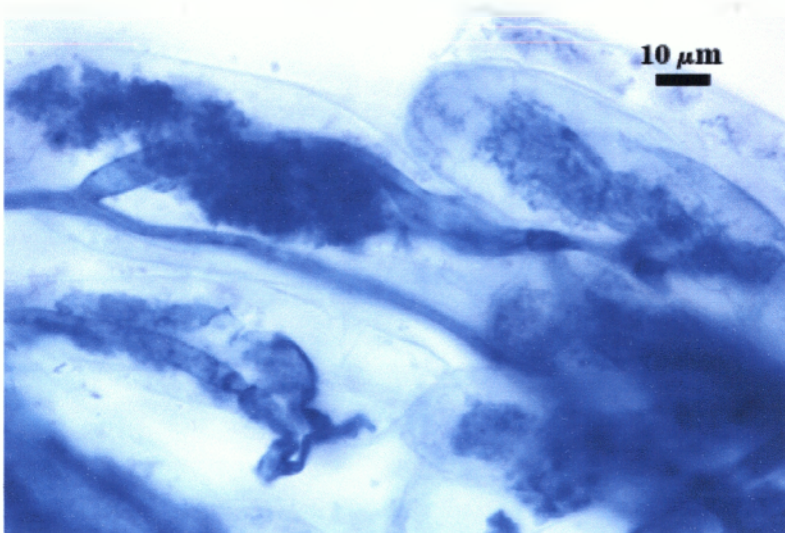
18. *G. spurcum* 1



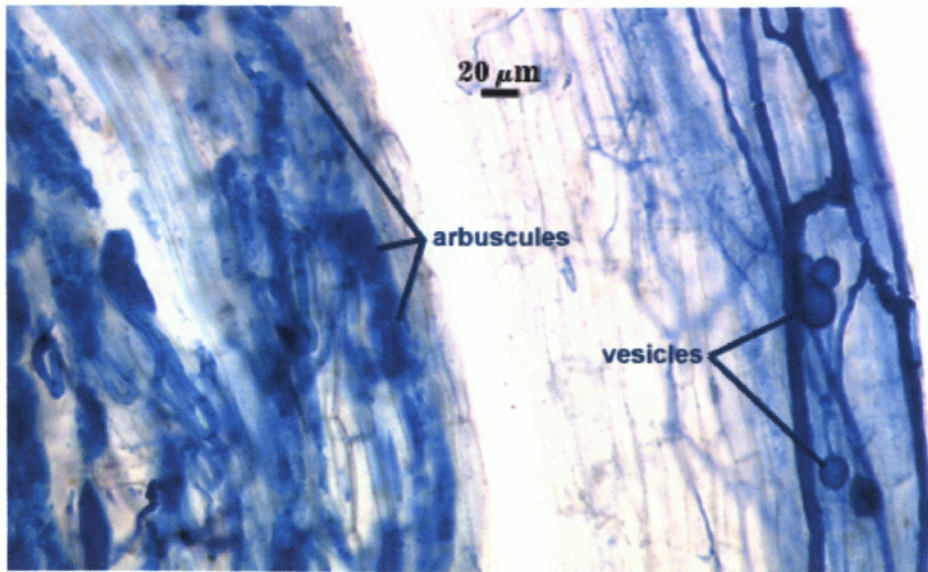
19. *G. spurcum* 2



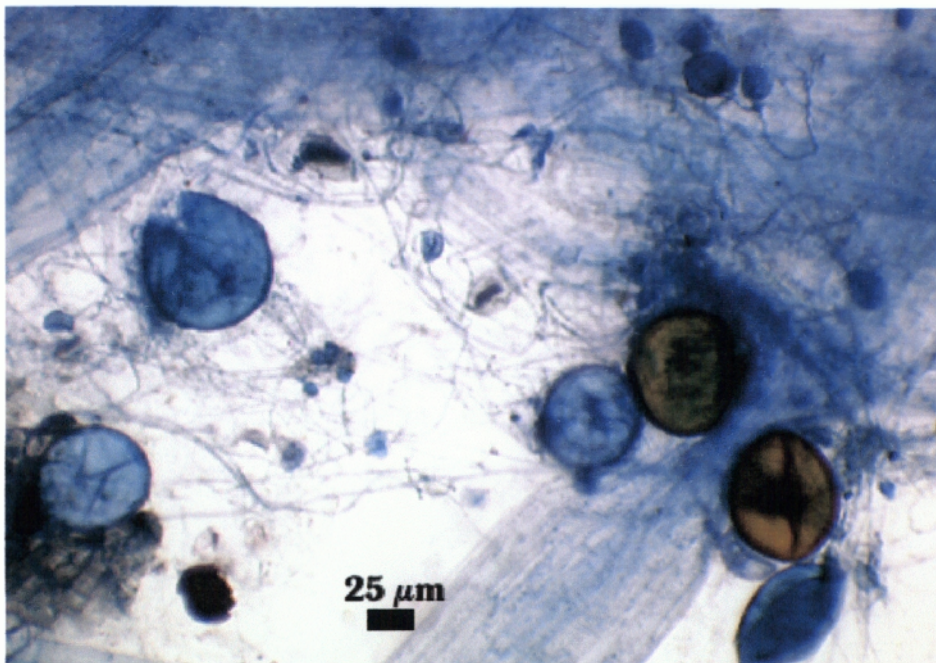
20. *G. spurcum* 3



21. *G. spurcum* 4



22. *G. spurgum* 5 (Δενδρόμορφες κατασκευές και κύστεις)



23. *Glomus* seed (Σπόρια του γένους *Glomus*)

Οι κατασκευές που παρουσιάζονται στις εικόνες, μας έγιναν περισσότερο κατανοητές με τη βοήθεια του βιβλίου "Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology", (Varma A. et al, 1998).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ◆ Ηλιόπουλος Α.Γ. (2004) "Γενική Φυτοπαθολογία", Κεφ. 4.
- ◆ Καλύβας Δ. (2003) "Εδαφολογία", σελ. 114-117.
- ◆ Καλτσίκης Π., Τσιτσίας Κ., Χολέβας Κ., Χουλιάρης Ν. "Εδαφολογία και Θρέψη Φυτών", Β' Τάξη Ε.Π.Λ., σελ. 68-77.
- ◆ Κανάκης Α.Γ. "Καλλιέργεια Λαχανικών στο Θερμοκήπιο", Τόμος Α', σελ. 278, 332.
- ◆ Πολυζόπουλου Ν.Α. (1976) "Εδαφολογία", σελ. 212-218.
- ◆ Τσιτσίας Κ.Κ. (1997) "Εδαφολογία", σελ. 227-236.



- ◆ Bago B., Azcón-Aguilar C., Goulet A. & Piché. (1998) "Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi", *New Phytologist* 139: 375-388.
- ◆ Bianciotto V. and Bonfante P. (1998) "Presymbiotic Versus Symbiotic Phase in Arbuscular Endomycorrhizal Fungi", In: Varma A. and Hock B. (eds) "Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology".
- ◆ Biermann B. & Linderman R.G. (1983) "Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum", *New Phytologist* 95: 97-105.
- ◆ Brundrett M.C. (1991) "Mycorrhizas in natural ecosystems", In: Macfayden A., Begon M. & Fitter A. (eds) *Advances in Ecological Research*, Vol. 21. Academic Press, London. pp. 171-313.
- ◆ Brundrett M.C. & Abbott L.K. (1991) "Roots of jarrah forest plants. I. Mycorrhizal associations of shrubs and herbaceous plants", *Australian Journal of Botany* 39: 445-457.
- ◆ Brundrett M., Bougher N., Dell B., Grove T. & Malajczuk N. (1996) "Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture", pp. 179-183.

- ◆ Brundrett M.C., Piché Y. & Peterson R.L. (1984) "A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae", *Canadian Journal of Botany* 62: 2128-2134.
- ◆ Christensen M. (1989) "A view of fungal ecology", *Mycologia* 81: 1-19.
- ◆ Friese C.F. & Allen M.F. (1991) "The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture", *Mycologia* 83: 409-418.
- ◆ Gallaud I. (1905) "Études sur les mycorrhizes endophytes", *Revue Général de Botanique* 17: 5-48, 66-83, 123-136, 223-239, 313-325, 425-433, 479-500.
- ◆ Harley J.L. & Smith S.E. (1983) "Mycorrhizal Symbiosis", Academic Press, London.
- ◆ Kendrick B. (1992) "The Fifth Kingdom", Mycologue Publications, Waterloo
- ◆ Linderman R.G. (1994) "Role of VAM Fungi in Biocontrol", In: Pflieger F.L. and Linderman R.G., "Mycorrhizae and Plant Health".
- ◆ Miller R.M. and Jastrow J.D. (1994) "Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae and Biogeochemical cycling", In: Pflieger F.L. and Linderman R.G., "Mycorrhizae and Plant Health".
- ◆ Phillips J.M. & Hayman D.S. (1970) "Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection", *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-160.
- ◆ Smith S.E. (1995) "Discoveries, discussions and directions in mycorrhizal research", In: Verma A. & Hock B. (eds) "Mycorrhiza", Springer-Verlag Berlin. pp. 3-24.
- ◆ St John T.V. & Hunt H.W. (1983) "Statistical treatment of VAM infection data", *Plant and Soil* 73: 307-313.
- ◆ Trappe J.M. (1987) "Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint", In: Safir G.R. (ed) *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 5-25.
- ◆ Wainwright M. (1988) "Metabolic diversity of fungi in relation to growth and mineral cycling in soil - a review", *Transactions of the British Mycological Society* 90: 159-170.

- ◆ Walker C. (1995) "AM or VAM: what's in a word?" In: Verma A. & Hock B. (eds) Mycorrhiza. Springer-Verlag Berlin. pp. 25-26.
- ◆ Widden P. (1996) "The morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Clintonia borealis* and *Medeola virginia*", *Canadian Journal of Botany* 74: 679-685.



Πτυχιακές - Διδακτορικές Μελέτες

- ◆ Γεωργουλέα-Καλκούνη Β., (2003) τμ. Φ.Π., Τ.Ε.Ι ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ, "Μηχανική Καλλιέργεια Αραβοσίτου", σελ. 7-8.
- ◆ Καβρουλάκης Ν., (2000) Γ.Π.Α., "Μελέτη της Έκφρασης των Γονιδίων των πρώιμων και όψιμων Νοντουλινών στα φυμάτια της Σόγιας", σελ. 1-40.

Εγκυκλοπαίδειες

- ◆ "Πάπυρος" (1981) - "Λαρούς" (1978) - "Μπριτάννικα" (1980), Τόμος 3, σελ. 226, Τόμος 44, σελ. 217.



Διαδίκτυο

- ◆ <http://invam.caf.wvu.edu/mycinfo.htm>
- ◆ <http://mycorrhiza.aq.utk.edu/mstain.htm>
- ◆ <http://mycorrhiza.aq.utk.edu/mmeasure.htm>
- ◆ <http://www.ffp.csiro.au/research/mycorrhiza/vam.html>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΙΝΑΚΕΣ

Χα - Σα: Χώμα απολυμασμένο - Σπόρος απολυμασμένος

Χα - Σμα: Χώμα απολυμασμένο - Σπόρος μη απολυμασμένος

Χμα - Σα: Χώμα μη απολυμασμένο - Σπόρος απολυμασμένος

Χμα - Σμα: Χώμα μη απολυμασμένο - Σπόρος μη απολυμασμένος

**ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Αριθμός λοβών ανά πειραματική μονάδα (γλάστρα)
στα φυτά φασολιού 45 ημερών**

	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	7	12	1	3
ΟΜΑΔΑ Β	6	9	7	5
ΟΜΑΔΑ Γ	4	5	12	11
ΟΜΑΔΑ Δ	11	3	7	8
ΟΜΑΔΑ Ε	9	11	15	12

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Αριθμός λοβών ανά πειραματική μονάδα (γλάστρα)
στα φυτά φασολιού 3.5 μηνών**

	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	8	10	9	8
ΟΜΑΔΑ Β	6	15	15	11
ΟΜΑΔΑ Γ	11	5	15	10
ΟΜΑΔΑ Δ	9	9	15	7
ΟΜΑΔΑ Ε	8	10	10	7

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Ξηρά βάρη υπέργειου τμήματος φυτών φασολιού (45 ημερών)

	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	8.67	8.12	5.31	2.26
ΟΜΑΔΑ Β	6.47	8.21	4.33	5.56
ΟΜΑΔΑ Γ	9.22	9.23	5.53	9.25
ΟΜΑΔΑ Δ	14.30	6.76	12.45	-
ΟΜΑΔΑ Ε	9.98	20.76	10.53	4.36

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Ξηρά βάρη υπέργειου τμήματος φυτών φασολιού (3.5 μηνών)

	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	5.52	15.10	6.83	1.84
ΟΜΑΔΑ Β	5.50	6.15	4.88	7.48
ΟΜΑΔΑ Γ	6.98	7.01	8.15	7.48
ΟΜΑΔΑ Δ	6.85	14.78	7.24	8.84
ΟΜΑΔΑ Ε	13.35	11.81	19.30	12.66

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Ξηρά βάρη υπέργειου τμήματος φυτών αραβοσίτου (45 ημερών)

	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	-	3.10	1.98	0.60
ΟΜΑΔΑ Β	18.20	2.92	1.15	-
ΟΜΑΔΑ Γ	15.39	18.25	4.42	0.37
ΟΜΑΔΑ Δ	15.81	18.50	-	-
ΟΜΑΔΑ Ε	2.01	-	0.17	0.97

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Ξηρά βάρη υπέργειου τμήματος φυτών αραβοσίτου (3.5 μηνών)

	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	8.21	2.05	1.66	1.25
ΟΜΑΔΑ Β	1.49	0.68	-	2.45
ΟΜΑΔΑ Γ	30.51	17.87	0.20	-
ΟΜΑΔΑ Δ	13.81	-	-	-
ΟΜΑΔΑ Ε	-	16.87	2.03	0.33

**ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Αριθμός φυματίων ανά πειραματική μονάδα (γλάστρα)
στις ρίζες των φυτών φασολιού 45 ημερών**

	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	48	45	11	34
ΟΜΑΔΑ Β	54	82	6	39
ΟΜΑΔΑ Γ	70	95	3	14
ΟΜΑΔΑ Δ	41	76	15	20
ΟΜΑΔΑ Ε	73	105	15	22

**ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Αριθμός φυματίων ανά πειραματική μονάδα (γλάστρα)
στις ρίζες των φυτών φασολιού 3.5 μηνών**

	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	20	93	23	19
ΟΜΑΔΑ Β	96	10	0	3
ΟΜΑΔΑ Γ	7	72	4	44
ΟΜΑΔΑ Δ	21	65	21	18
ΟΜΑΔΑ Ε	15	57	24	130

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών αραβοσίτου

Χρόνος καθαρισμού: 30min

Χρόνος βαφής: 20min

45 ημερών	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	36	6.4	45	30
ΟΜΑΔΑ Β	50	10	70	40
ΟΜΑΔΑ Γ	40	20	67	77.7
ΟΜΑΔΑ Δ	44	15	41	23
ΟΜΑΔΑ Ε	71	15	37.5	62.8

ΠΙΝΑΚΑΣ 10. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών αραβοσίτου

Χρόνος καθαρισμού: 60min

Χρόνος βαφής: 25min

45 ημερών	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	69	40	87	62.5
ΟΜΑΔΑ Β	80	83.3	64.7	72
ΟΜΑΔΑ Γ	56.5	59	68	100
ΟΜΑΔΑ Δ	58.6	56	52	72
ΟΜΑΔΑ Ε	80.6	50	28.5	56

ΠΙΝΑΚΑΣ 11. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών αραβοσίτου

Χρόνος καθαρισμού: 120min

Χρόνος βαφής: 30min

45 ημερών	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	72.2	56	100	25
ΟΜΑΔΑ Β	85	70	82.3	30
ΟΜΑΔΑ Γ	70.5	69	52	80
ΟΜΑΔΑ Δ	70.5	58	74	28
ΟΜΑΔΑ Ε	62.8	52	62.7	45

ΠΙΝΑΚΑΣ 12. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών αραβοσίτου**Χρόνος καθαρισμού: 30min****Χρόνος βαφής: 20min**

3.5 μηνών	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	62	80	62	88
ΟΜΑΔΑ Β	53	71.4	74.5	87.5
ΟΜΑΔΑ Γ	71.4	59.6	80	93.5
ΟΜΑΔΑ Δ	80	70	74.5	83.5
ΟΜΑΔΑ Ε	66.6	70	81.6	90

ΠΙΝΑΚΑΣ 13. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών αραβοσίτου**Χρόνος καθαρισμού: 60min****Χρόνος βαφής: 25min**

3.5 μηνών	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	52	72.7	61.9	80
ΟΜΑΔΑ Β	52.6	43.7	51.3	58.9
ΟΜΑΔΑ Γ	86.6	60	41.3	68.9
ΟΜΑΔΑ Δ	77	53.7	61.3	78.9
ΟΜΑΔΑ Ε	67	82	92	96.8

ΠΙΝΑΚΑΣ 14. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών αραβοσίτου**Χρόνος καθαρισμού: 120min****Χρόνος βαφής: 30min**

3.5 μηνών	1 (Χα - Σα)	2 (Χα - Σμα)	3 (Χμα - Σα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	50	35.7	76	81
ΟΜΑΔΑ Β	58.3	0	56	0
ΟΜΑΔΑ Γ	71.4	0	0	55.2
ΟΜΑΔΑ Δ	0	27.8	56	55.2
ΟΜΑΔΑ Ε	44.9	75.7	92	84.6

ΠΙΝΑΚΑΣ 15. Ξηρά βάρη υπέργειου τμήματος φυτών μελιτζάνας (45 ημερών)

	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	6.57	3.27	2.56	3.02
ΟΜΑΔΑ Β	5.07	2.01	0.54	1.25
ΟΜΑΔΑ Γ	5.02	4.46	8.09	4.87
ΟΜΑΔΑ Δ	7.45	2.76	5.39	4.24
ΟΜΑΔΑ Ε	8.57	3.43	7.48	5.37

ΠΙΝΑΚΑΣ 16. Ξηρά βάρη υπέργειου τμήματος φυτών μελιτζάνας (3.5 μηνών)

	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	1.75	0.86	3.40	0.58
ΟΜΑΔΑ Β	3.46	2.84	0.88	1.04
ΟΜΑΔΑ Γ	3.15	0.78	4.92	1.52
ΟΜΑΔΑ Δ	4.93	3.14	2.12	1.78
ΟΜΑΔΑ Ε	6.45	3.24	5.00	2.05

ΠΙΝΑΚΑΣ 17. Ξηρά βάρη υπέργειου τμήματος φυτών κατηφέ (45 ημερών)

	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	8.33	6.79	14.07	13.10
ΟΜΑΔΑ Β	10.98	11.44	13.84	10.24
ΟΜΑΔΑ Γ	6.94	10.72	5.76	6.85
ΟΜΑΔΑ Δ	11.47	7.56	4.81	6.79
ΟΜΑΔΑ Ε	8.74	10.90	6.71	3.90

ΠΙΝΑΚΑΣ 18. Ξηρά βάρη υπέργειου τμήματος φυτών κατηφέ (3.5 μηνών)

	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	15.90	7.12	10.72	16.64
ΟΜΑΔΑ Β	11.70	5.30	14.45	9.28
ΟΜΑΔΑ Γ	12.36	11.52	9.62	6.65
ΟΜΑΔΑ Δ	8.02	8.74	13.10	13.45
ΟΜΑΔΑ Ε	9.99	9.83	11.78	13.77

ΠΙΝΑΚΑΣ 19. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών μελιτζάνας**Χρόνος καθαρισμού: 30min****Χρόνος βαφής: 20min**

45 ημερών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	43.5	28.5	23.4	29.5
ΟΜΑΔΑ Β	20	27.7	45.6	44.6
ΟΜΑΔΑ Γ	17.4	17.9	51.6	37.4
ΟΜΑΔΑ Δ	24	27.2	18.9	35
ΟΜΑΔΑ Ε	44.1	16.6	60	40.6

ΠΙΝΑΚΑΣ 20. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών μελιτζάνας**Χρόνος καθαρισμού: 60min****Χρόνος βαφής: 30min**

45 ημερών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	40	16	28.8	12.7
ΟΜΑΔΑ Β	17.9	27.9	60.5	55.1
ΟΜΑΔΑ Γ	26.8	14.3	26.2	49.5
ΟΜΑΔΑ Δ	27.5	31.1	21	61.7
ΟΜΑΔΑ Ε	36	34.1	60.5	68.7

ΠΙΝΑΚΑΣ 21. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών μελιτζάνας**Χρόνος καθαρισμού: 120min****Χρόνος βαφής: 40min**

45 ημερών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	28.7	30	34.7	44.4
ΟΜΑΔΑ Β	16.2	48.3	48.3	33.3
ΟΜΑΔΑ Γ	45.8	35.8	45.8	47
ΟΜΑΔΑ Δ	85.7	61.1	25	35.5
ΟΜΑΔΑ Ε	52.6	39.5	66	75

ΠΙΝΑΚΑΣ 22. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών μελιτζάνας**Χρόνος καθαρισμού: 30min****Χρόνος βαφής: 20min**

3.5 μηνών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	52	66.6	49.2	16.6
ΟΜΑΔΑ Β	66.6	62.1	60.4	12.9
ΟΜΑΔΑ Γ	56.2	26.3	45.1	52.2
ΟΜΑΔΑ Δ	60.4	30.6	41.6	47.5
ΟΜΑΔΑ Ε	26.6	64.7	22.4	36.1

ΠΙΝΑΚΑΣ 23. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών μελιτζάνας**Χρόνος καθαρισμού: 60min****Χρόνος βαφής: 30min**

3.5 μηνών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	46.5	61.9	35.8	18.1
ΟΜΑΔΑ Β	40	68.5	56.7	33.3
ΟΜΑΔΑ Γ	69.5	60.7	41.4	37.7
ΟΜΑΔΑ Δ	46.6	44.8	15.1	53.1
ΟΜΑΔΑ Ε	60.9	50	46.6	64.2

ΠΙΝΑΚΑΣ 24. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών μελιτζάνας**Χρόνος καθαρισμού: 120min****Χρόνος βαφής: 40min**

3.5 μηνών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	58.8	57.1	42.3	75
ΟΜΑΔΑ Β	55	67.6	48	25
ΟΜΑΔΑ Γ	43.7	23.6	34.4	58.3
ΟΜΑΔΑ Δ	63.6	66.6	28.5	40.6
ΟΜΑΔΑ Ε	29.2	43.3	42.5	39.2

ΠΙΝΑΚΑΣ 25. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών κατηφέ

Χρόνος καθαρισμού: 30min

Χρόνος βαφής: 20min

45 ημερών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	65.9	55.5	56.2	57.5
ΟΜΑΔΑ Β	48.2	37.5	68.1	50
ΟΜΑΔΑ Γ	55.1	77.7	72.9	69.3
ΟΜΑΔΑ Δ	33.3	54.8	100	78.9
ΟΜΑΔΑ Ε	23.6	28.5	61.5	90.9

ΠΙΝΑΚΑΣ 26. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών κατηφέ

Χρόνος καθαρισμού: 60min

Χρόνος βαφής: 30min

45 ημερών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	63.1	25	54.8	41.3
ΟΜΑΔΑ Β	13.6	42.8	44.8	41.9
ΟΜΑΔΑ Γ	27	53	65.4	50.9
ΟΜΑΔΑ Δ	20	41.6	91.6	45.4
ΟΜΑΔΑ Ε	11.4	41.1	30.7	75

ΠΙΝΑΚΑΣ 27. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών κατηφέ

Χρόνος καθαρισμού: 120min

Χρόνος βαφής: 40min

45 ημερών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	78	50	63.3	65.5
ΟΜΑΔΑ Β	40.7	53.8	50	31.2
ΟΜΑΔΑ Γ	40.4	57.9	82.4	44.9
ΟΜΑΔΑ Δ	20	39.3	42.8	30
ΟΜΑΔΑ Ε	23	85.2	50	52.9

ΠΙΝΑΚΑΣ 28. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών κατηφέ

Χρόνος καθαρισμού: 30min

Χρόνος βαφής: 20min

3.5 μηνών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	54.5	66.6	25	65.3
ΟΜΑΔΑ Β	41.6	58	32.1	83.3
ΟΜΑΔΑ Γ	57.6	54.5	72.9	75
ΟΜΑΔΑ Δ	38.2	67.7	70.3	71.1
ΟΜΑΔΑ Ε	39.6	34	20	52.1

ΠΙΝΑΚΑΣ 29. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών κατηφέ

Χρόνος καθαρισμού: 60min

Χρόνος βαφής: 30min

3.5 μηνών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	40.6	55.5	43.4	37.5
ΟΜΑΔΑ Β	50	57.1	40.7	68.3
ΟΜΑΔΑ Γ	44	39.1	52.1	96.2
ΟΜΑΔΑ Δ	38.2	53.1	50	87.8
ΟΜΑΔΑ Ε	39	37.1	22.7	51.6

ΠΙΝΑΚΑΣ 30. Ποσοστό εποικισμού (%) δειγμάτων ριζών κατηφέ

Χρόνος καθαρισμού: 120min

Χρόνος βαφής: 40min

3.5 μηνών	1 (Χα - Σα)	2 (Χμα - Σα)	3 (Χα - Σμα)	4 (Χμα - Σμα)
ΟΜΑΔΑ Α	84	45.4	45.8	46.6
ΟΜΑΔΑ Β	45	82.6	100	57
ΟΜΑΔΑ Γ	61.2	56.5	86.1	96.8
ΟΜΑΔΑ Δ	40	82.8	50	54.5
ΟΜΑΔΑ Ε	33.3	31.4	46.1	30

ΦΑΣΟΛΙ

Πίνακας 31. Μέσο ξηρό βάρος (g) φασολιού (ανά φυτό)

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	3.03 a	3.99 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	3.15 a	3.79 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	3.19 a	3.41 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	2.44 a	2.91 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 32. Μέσος αριθμός λοβών ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	7.4 a	8.4 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	8.0 a	9.8 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	8.4 a	12.8 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	7.8 a	8.6 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 33. Μέσος αριθμός φυματίων ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	57.2 b	38.0 ab
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	80.6 a	59.4 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	10.0 c	18.0 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	25.8 c	27.0 ab

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΣ

Πίνακας 34. Ξηρό βάρος καλαμποκιού (ανά φυτό)

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	6.68 a	9.35 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	5.34 a	6.47 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	1.93 b	0.95 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	0.65 b	0.88 b

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 35. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών (μικρού μεγέθους)
ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	48.20 a	66.60 b
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	13.28 b	70.20 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	52.10 a	74.52 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	46.70 a	88.50 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 36. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών (μεσαίου μεγέθους)
ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	68.94 a	67.04 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	57.66 a	62.42 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	60.04 a	61.56 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	72.50 a	76.70 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 37. Μέσο ποσοστό (%) εποίκισμένων ριζών (μεγάλου μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	72.2 a	44.92 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	61.00 ab	47.84 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	74.20 a	56.00 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	41.6 b	55.20 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 38. Μέσο ποσοστό (%) εποίκισμένων ριζών (συνολικά) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	60.44 a	59.52 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	37.56 b	53.48 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	60.46 a	64.02 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	53.74 ab	73.46 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ

Πίνακας 39. Μέσο ξηρό βάρος (g) μελιτζάνας (ανά φυτό)

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	3.95 a	6.54 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	2.17 ab	3.19 b
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	3.27 ab	4.81 ab
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	1.39 b	3.75 b

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 40. Μέσο ποσοστό (%) ετοικισμένων ριζών (μικρού μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	52.36 a	29.80 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	50.06 a	23.58 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	43.74 a	39.90 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	33.06 a	37.42 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 41. Μέσο ποσοστό (%) ετοικισμένων ριζών (μεσαίου μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	52.70 a	29.64 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	57.18 a	24.68 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	39.12 a	39.40 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	41.28 a	49.54 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 42. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών (μεγάλου μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	50.06 a	45.80 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	51.64 a	42.94 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	39.14 a	43.96 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	47.62 a	47.04 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 43. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών (συνολικά) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	51.71 a	35.08 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	52.96 a	30.40 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	40.67 a	41.09 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	40.64 a	44.67 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

ΚΑΤΗΦΕΣ

Πίνακας 44. Μέσο ξηρό βάρος (g) κατηφέ (ανά φυτό)

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	11.59 a	9.29 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	8.50 a	9.48 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	11.93 a	9.04 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	11.96 a	8.18 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 45. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών (μικρού μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	46.30 b	45.22 b
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	56.16 ab	50.80 ab
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	44.06 b	71.74 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	69.36 a	69.32 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 46. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών (μεσαίου μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	42.36 b	27.02 b
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	48.38 b	40.70 ab
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	41.78 b	57.46 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	68.28 a	50.90 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 47. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών (μεγάλου μεγέθους) ανά πειραματικό τεμάχιο.

Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	52.70 a	40.42 a
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	59.74 a	57.24 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	65.60 a	57.70 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	56.98 a	44.90 a

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

Πίνακας 48. Μέσο ποσοστό (%) εποικισμένων ριζών (συνολικά) ανά πειραματικό τεμάχιο.

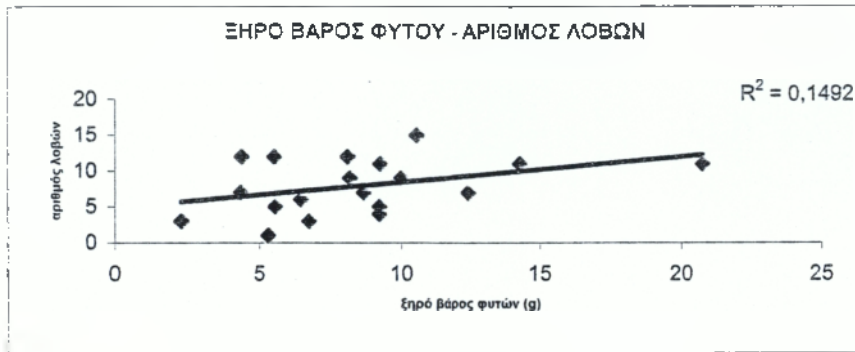
Επέμβαση	45 ημερών	3.5 μηνών
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	47.12 a	37.55 b
Χώμα απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	54.76 a	49.58 ab
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος απολυμασμένος	50.48 a	62.30 a
Χώμα μη απολυμασμένο - σπόρος μη απολυμασμένος	64.87 a	55.04 ab

Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο λατινικό γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με το κριτήριο της Ε.Σ.Δ. σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.

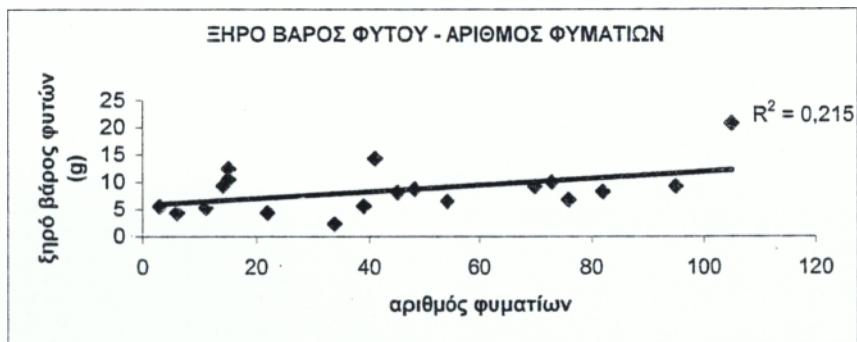
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (r)

ΦΑΣΟΛΙ (45 ημερών)

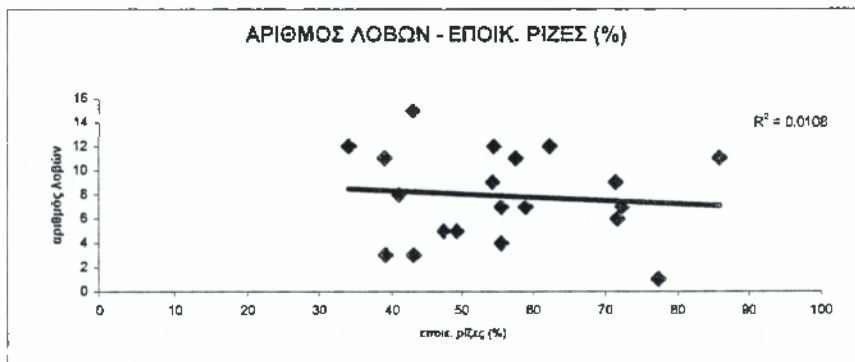
Διάγραμμα 1.



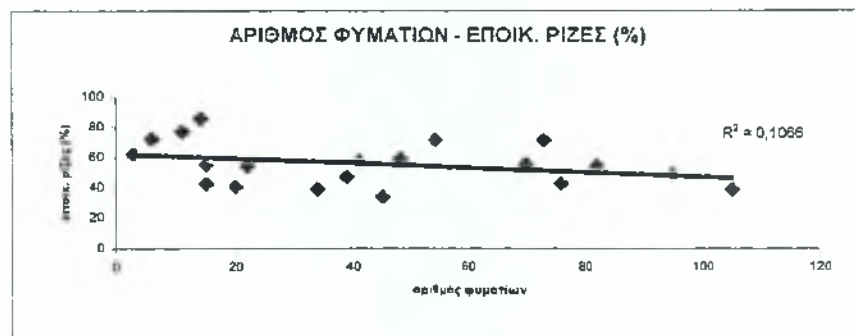
Διάγραμμα 2.



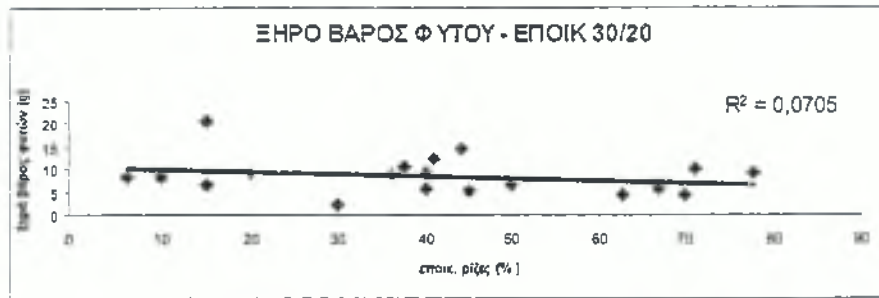
Διάγραμμα 3.



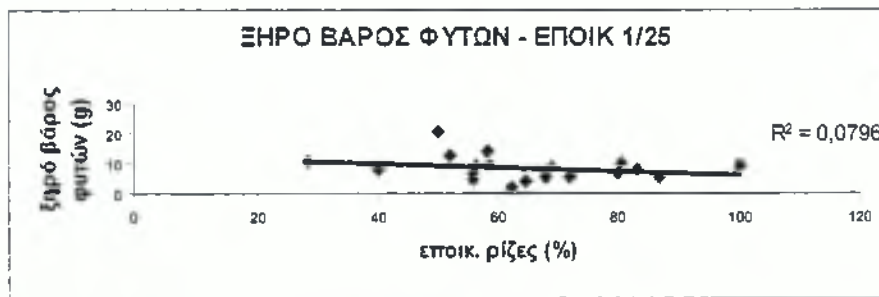
Διάγραμμα 4.



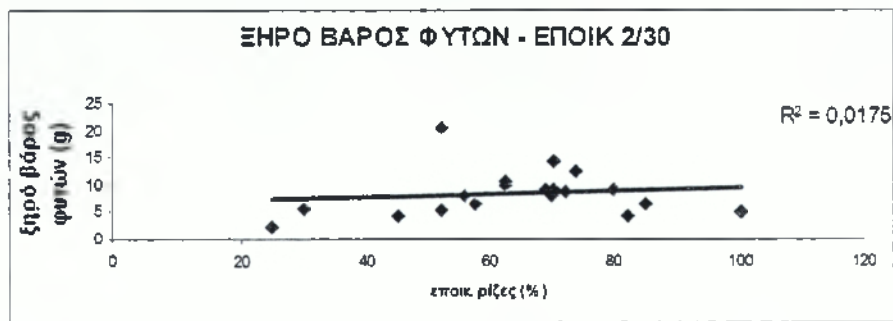
Διάγραμμα 5.



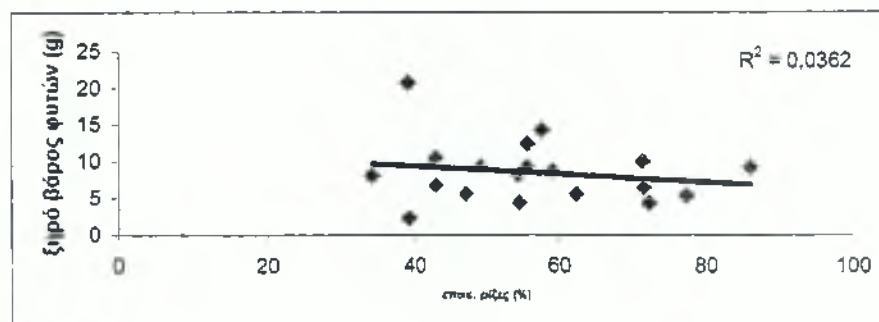
Διάγραμμα 6.



Διάγραμμα 7.

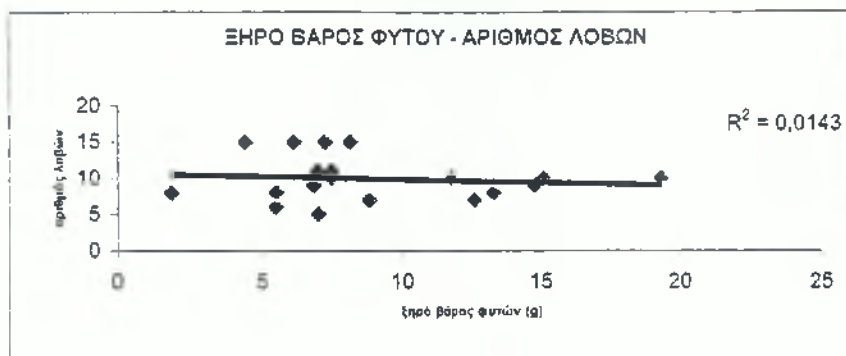


Διάγραμμα 8

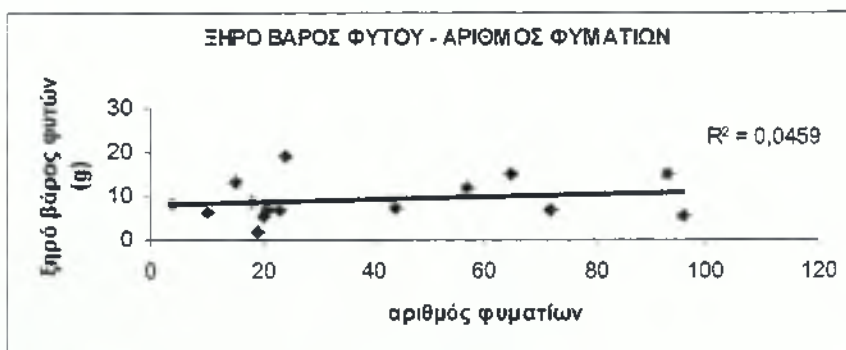


ΦΑΣΟΛΙ (3.5 μηνών)

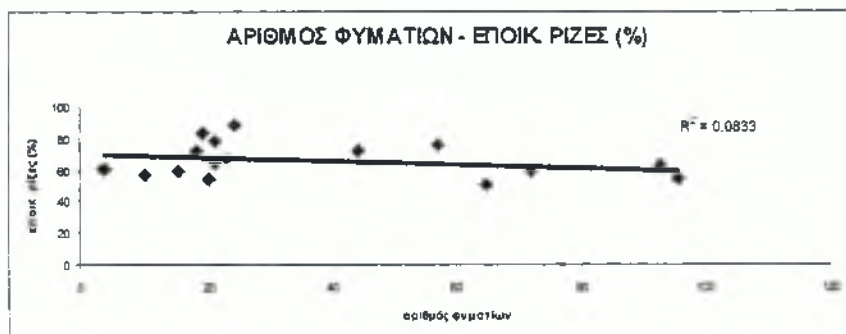
Διάγραμμα 9.



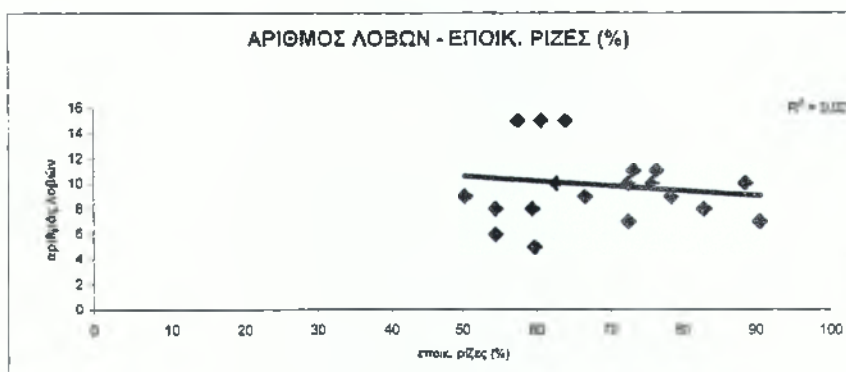
Διάγραμμα 10.



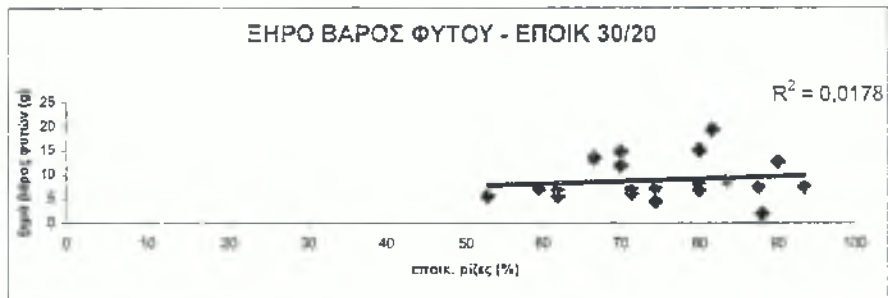
Διάγραμμα 11.



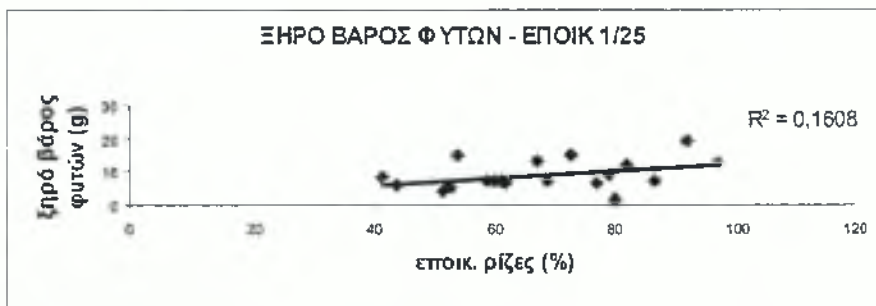
Διάγραμμα 12.



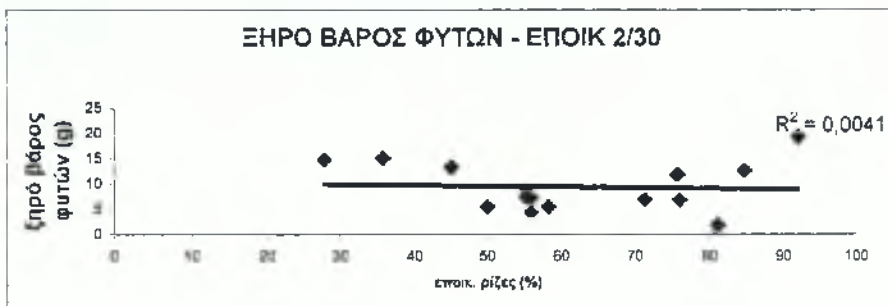
Διάγραμμα 13.



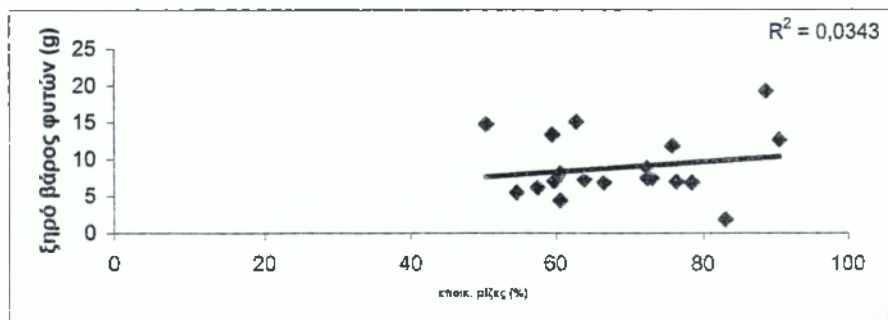
Διάγραμμα 14.



Διάγραμμα 15.

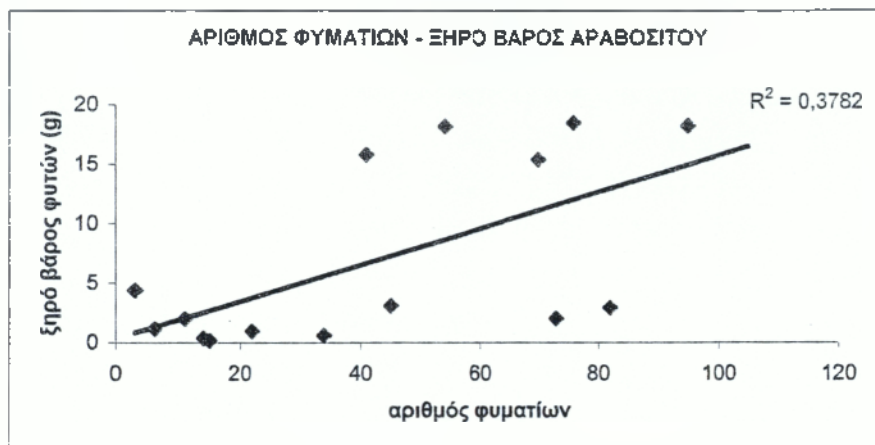


Διάγραμμα 16.

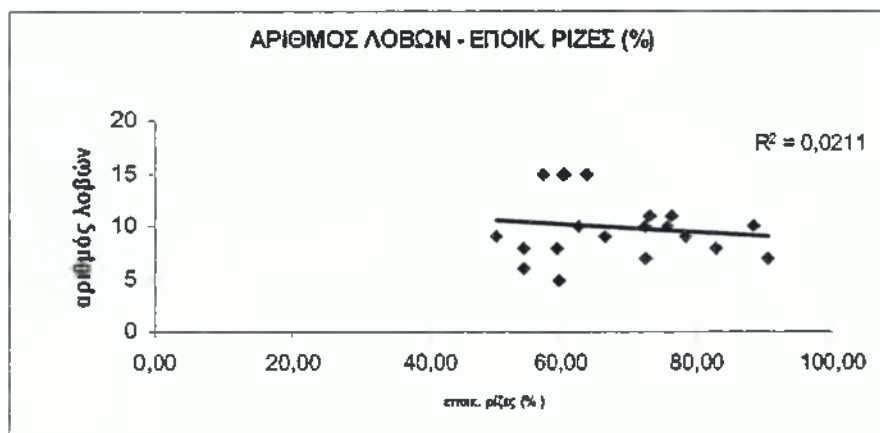


ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΣ (45 ημερών)

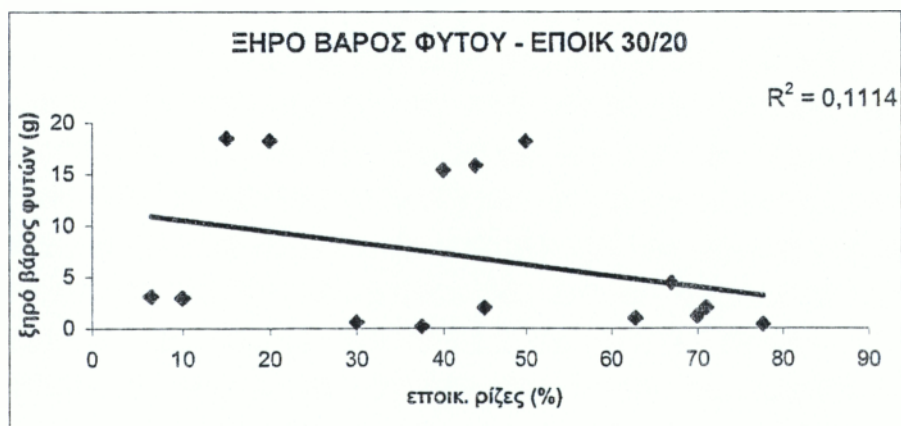
Διάγραμμα 17.



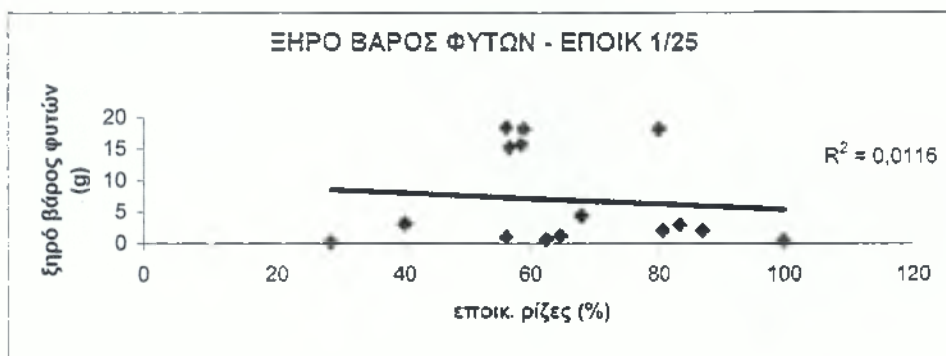
Διάγραμμα 18.



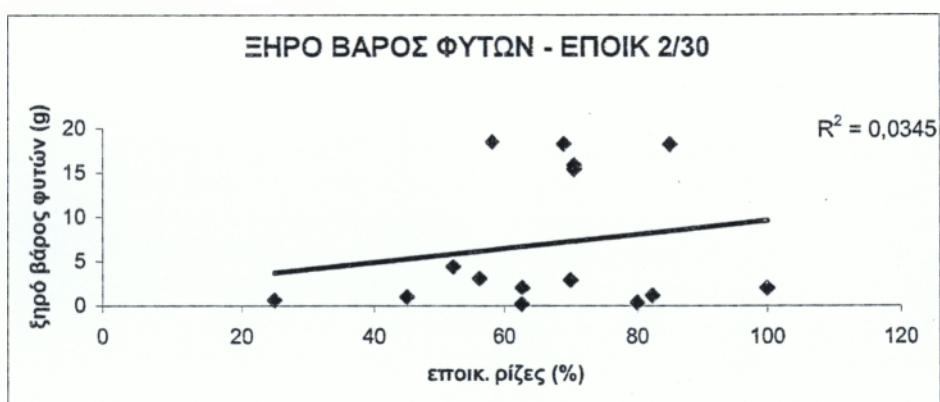
Διάγραμμα 19.



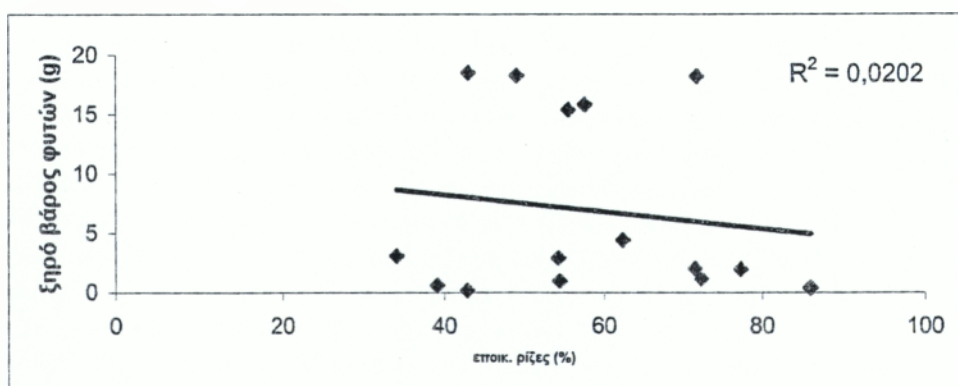
Διάγραμμα 20.



Διάγραμμα 21.

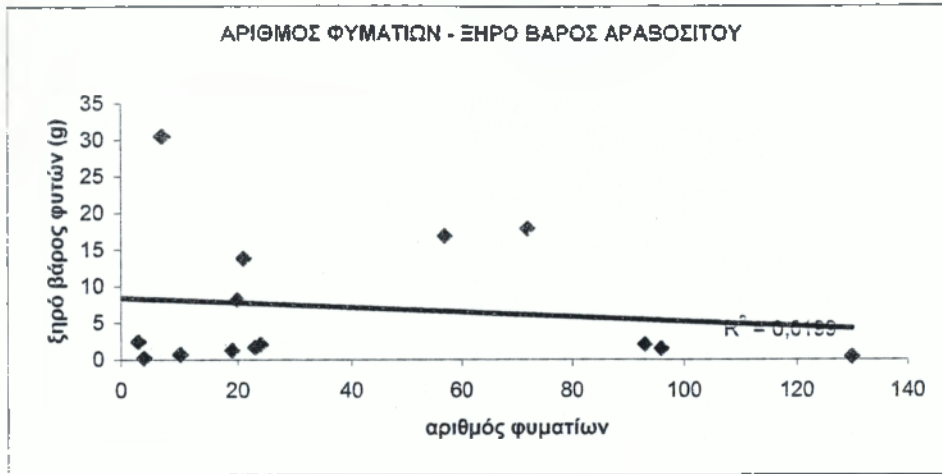


Διάγραμμα 22.

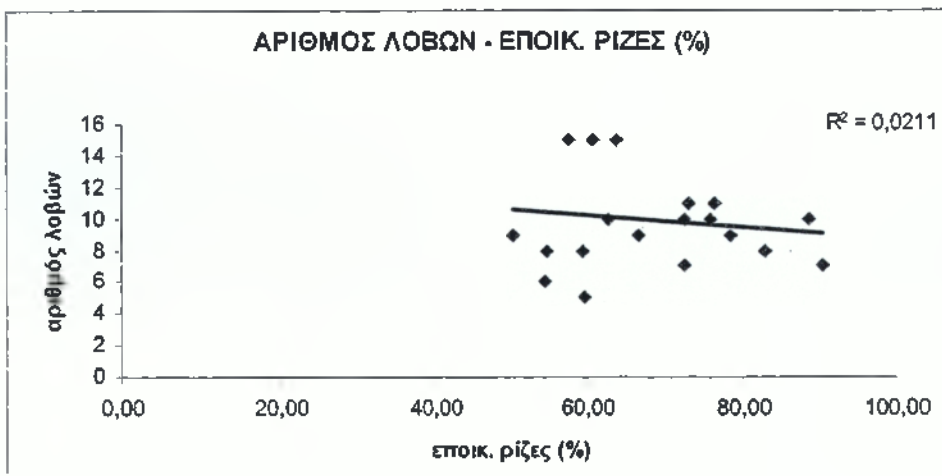


ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΣ (3.5 μηνών)

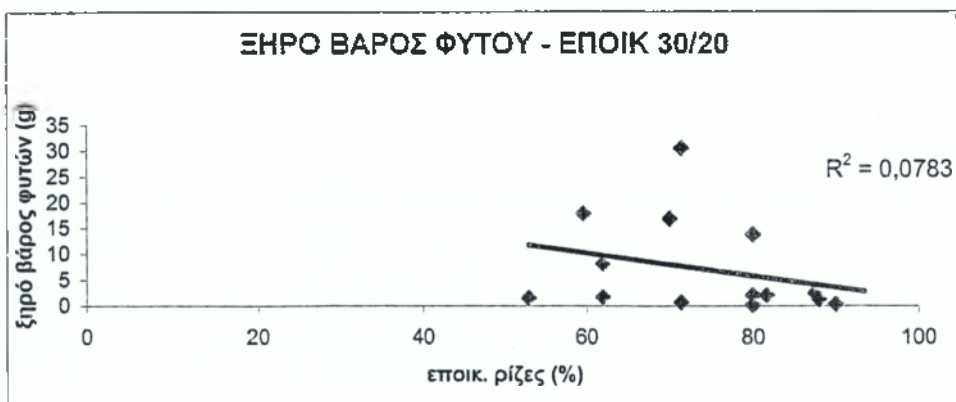
Διάγραμμα 23.



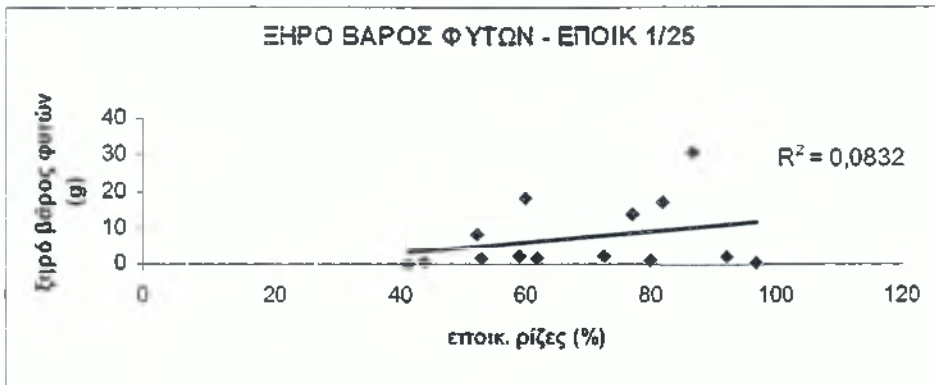
Διάγραμμα 24.



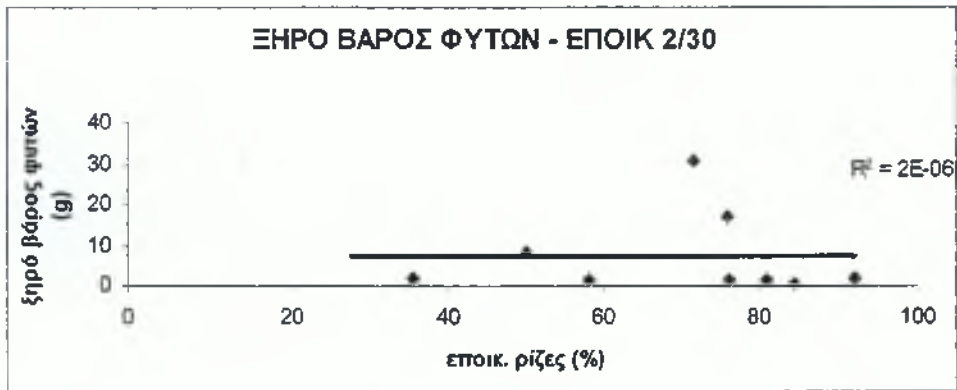
Διάγραμμα 25.



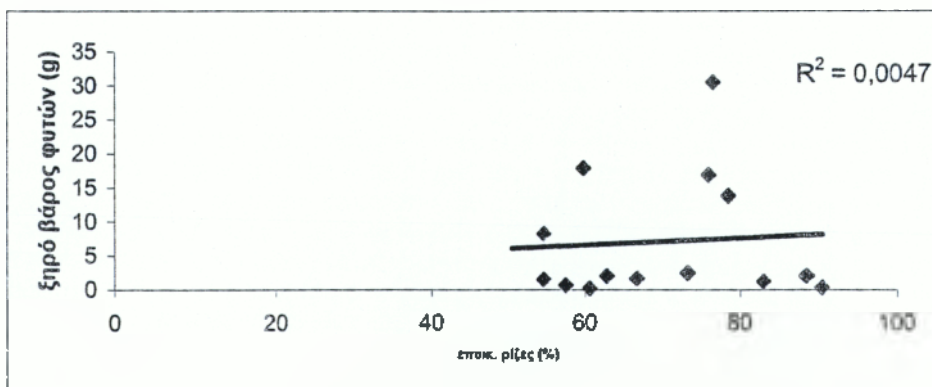
Διάγραμμα 26.



Διάγραμμα 27.

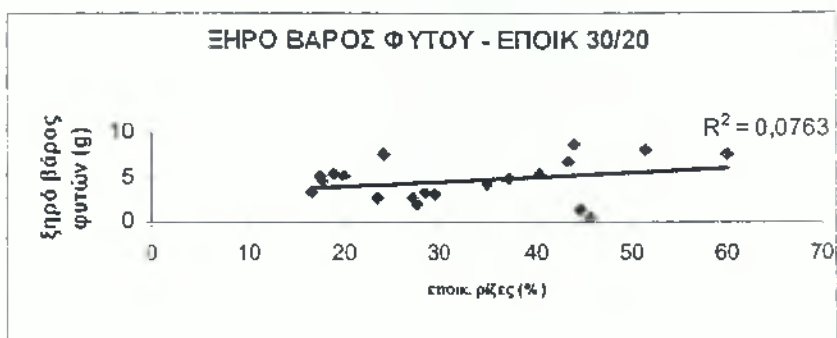


Διάγραμμα 28.

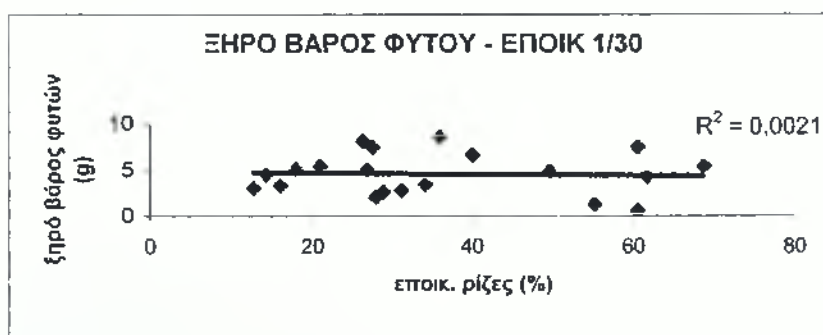


ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ (45 ημερών)

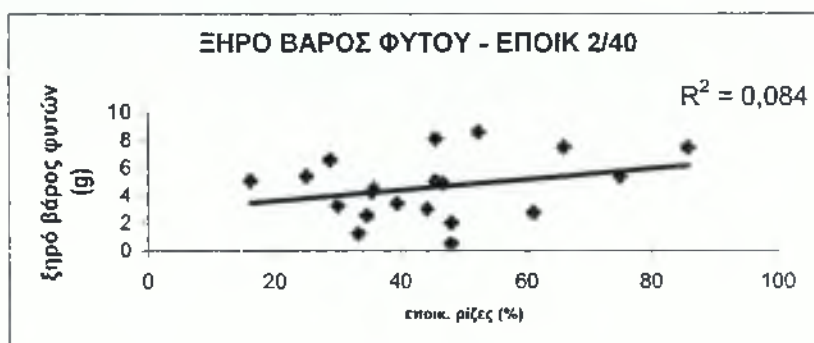
Διάγραμμα 29.



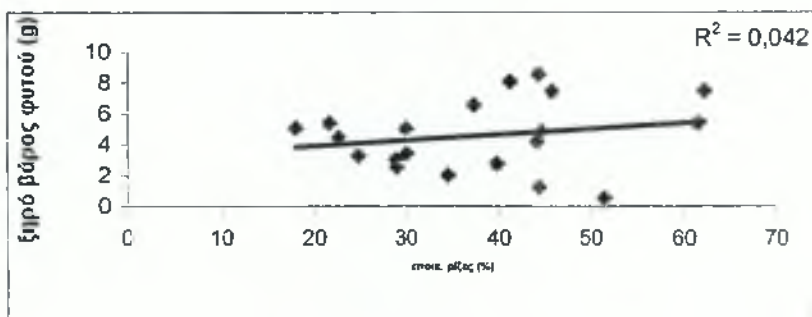
Διάγραμμα 30.



Διάγραμμα 31.

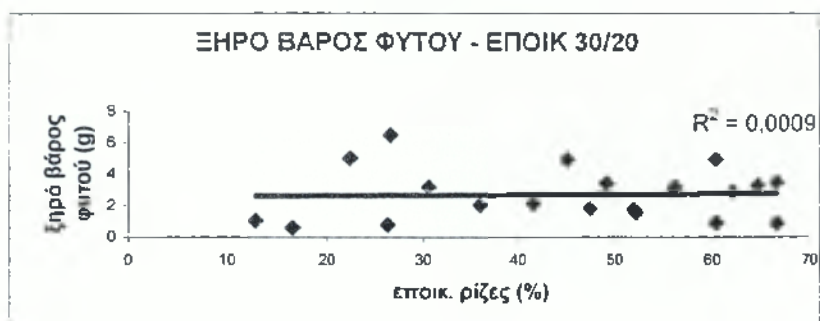


Διάγραμμα 32

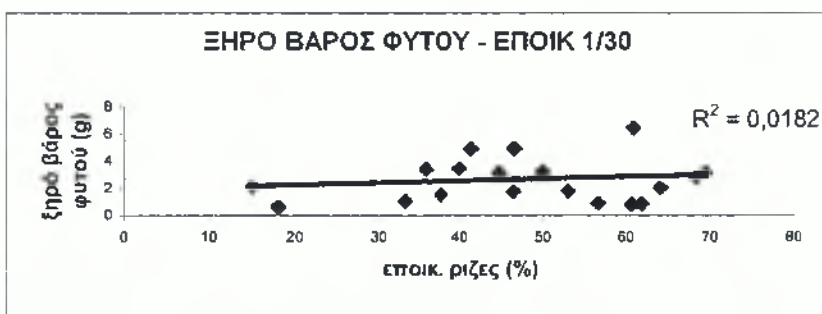


ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ (3.5 μηνών)

Διάγραμμα 33.



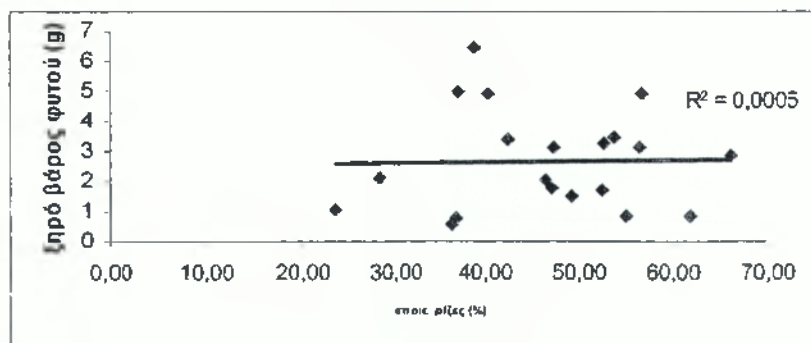
Διάγραμμα 34.



Διάγραμμα 35.

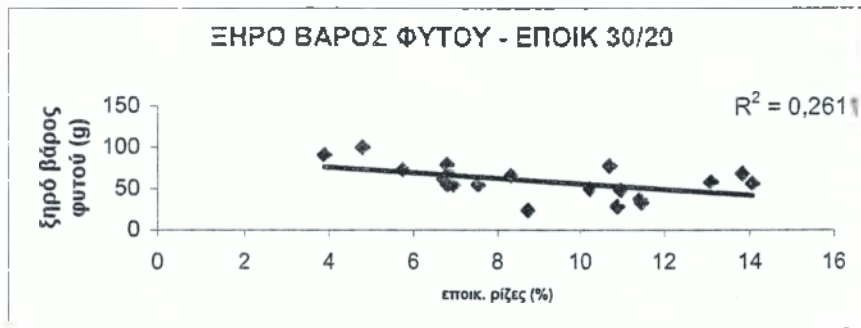


Διάγραμμα 36.

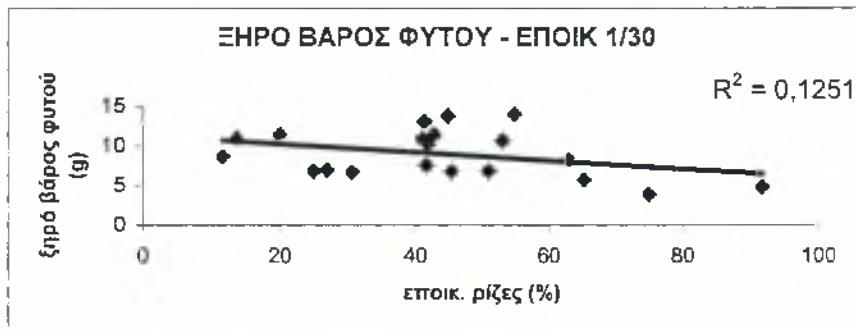


ΚΑΤΗΦΕΣ (45 ημερών)

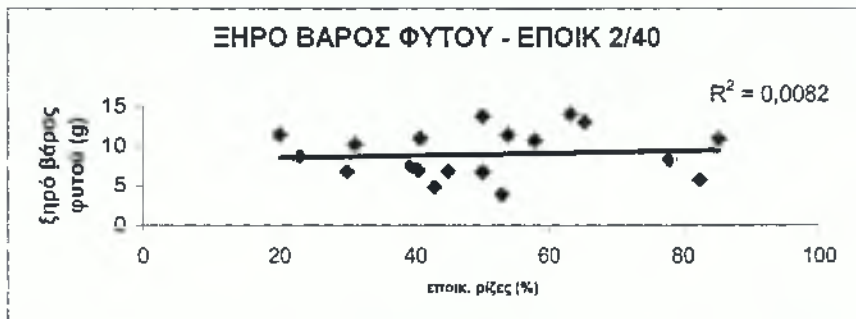
Διάγραμμα 37.



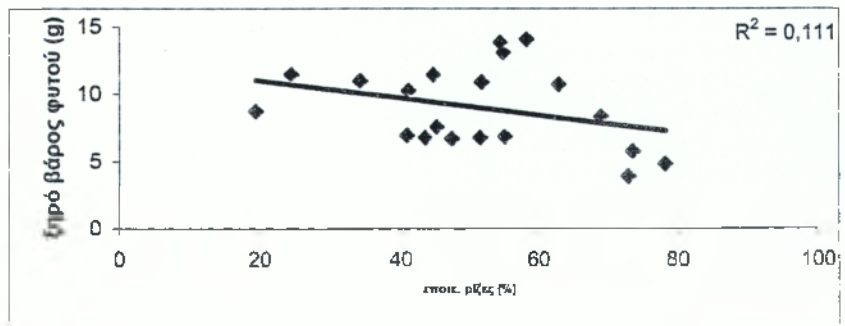
Διάγραμμα 38.



Διάγραμμα 39.

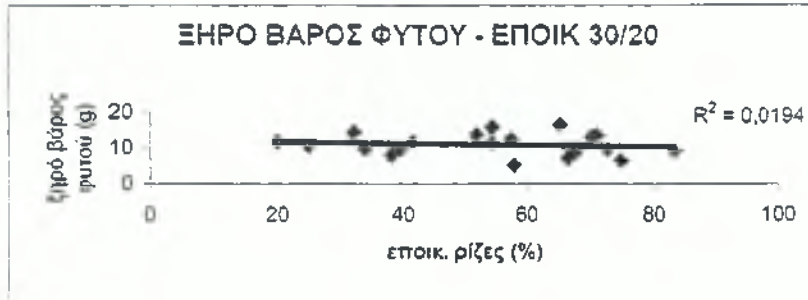


Διάγραμμα 40.

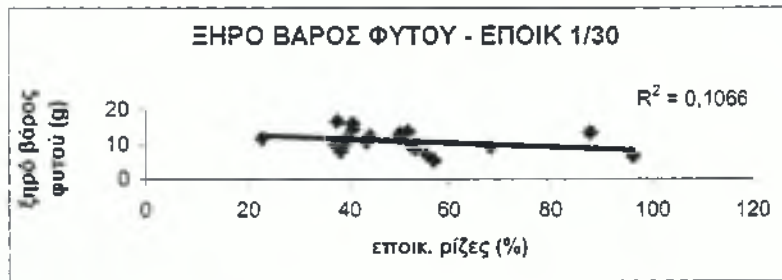


ΚΑΤΗΦΕΣ (3.5 μηνών)

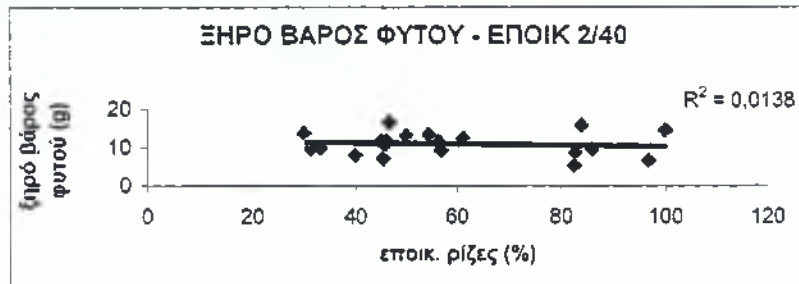
Διάγραμμα 41.



Διάγραμμα 42.



Διάγραμμα 43.



Διάγραμμα 44.

