



ΔΙΕΘΝΕΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΟΣ

ΔΙΕΘΝΕΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΕΛΛΑΔΟΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΕΙΦΟΡΟΥ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ
ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ: ΟΡΘΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΦΥΤΙΚΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ
ΚΑΙ ΕΛΑΦΟΪΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ

«Η επίδραση των βιομορίων στην αύξηση του σπανακιού (*Spinacia oleraceae* L.) μετά από αβιοτικές καταπονήσεις»

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΜΟΥΡΑΤΙΔΗΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΓΕΩΠΟΝΟΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΓΙΑΝΝΑΚΟΥΛΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2019



ΔΙΕΘΝΕΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΟΣ

ΔΙΕΘΝΕΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΕΛΛΑΔΟΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΕΙΦΟΡΟΥ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ
ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ: ΟΡΘΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΦΥΤΙΚΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ
ΚΑΙ ΕΔΑΦΟΪΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ

«Η επίδραση των βιομορίων στην αύξηση του σπανακιού (*Spinacia oleracea* L.) μετά από αβιοτικές καταπονήσεις»

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΜΟΥΡΑΤΙΔΗΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΓΕΩΠΟΝΟΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΓΙΑΝΝΑΚΟΥΛΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2019

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας τη μεταπτυχιακή μου διατριβή, θα ήθελα να ευχαριστήσω και δημόσια όλους εκείνους που συνέβαλλαν στην υλοποίησή της.

Καταρχάς, ευχαριστώ ιδιαίτερα την καθηγήτρια εφαρμογών και επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κ. Αναστασία Γιαννακούλα για την ανάθεση της διατριβής καθώς και για τη συνεχή και αμέριστη συμπαράστασή και καθοδήγησή της καθ'όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής μου.

Επίσης, εκφράζω τις ευχαριστίες μου στον επίκουρο καθηγητή Εδαφολογίας κ. Στέφανο Στεφάνου καθώς και στην κ. Αγάπη Τσανακτσίδου, τεχνικό προσωπικό του εργαστηρίου Εδαφολογίας, για την πολύτιμη καθοδήγησή τους στην εδαφολογική ανάλυση των δειγμάτων μου και στον προσδιορισμό της συγκέντρωσης θρεπτικών στοιχείων στο φυτικό υλικό του σπανακιού.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην οικογένειά μου, για την στήριξή τους κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

Αφιερώνεται στο φίλο μου Αθανάσιο Μπράτσα.....

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη της επίδρασης δύο συγκεντρώσεων βορίου (5 και 10 mg L⁻¹) σε φυτά σπανακιού καθώς και η συμβολή του σαλικυλικού οξέος στην αντιμετώπιση των δυσμενών επιδράσεων της τοξικότητας βορίου. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε πείραμα πεδίου χρησιμοποιώντας την ποικιλία σπανακιού (*Spinacia oleraceae* L. var. Viroflay) και εφαρμόζοντας πειραματικό σχέδιο πλήρως τυχαιοποιημένων ομάδων, με έναν μάρτυρα και οκτώ διαφορετικές μεταχειρίσεις.

Από τα αποτελέσματα του πειράματος προέκυψε ότι η υπερεπάρκεια βορίου προκαλεί συμπτώματα τοξικότητας στο σπανάκι επηρεάζοντας τις φυσιολογικές και βιοχημικές λειτουργίες του. Η αύξηση της συγκέντρωσης του εφαρμοζόμενου βορίου στα φύλλα αύξησε τις δυσμενείς επιπτώσεις επηρεάζοντας αρνητικά τη φωτοσυνθετική λειτουργία, τη συγκέντρωση της συνολικής χλωροφύλλης στα φύλλα και τη συγκέντρωση απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων σε αυτά, όπως P, K, Ca, Mg και Mn. Η υψηλή συγκέντρωση του B προκάλεσε, επίσης, οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά αυξάνοντας τη συγκέντρωση της μηλοναλδεϋδης (MDA) καθώς και της προλίνης στα φύλλα, σε αντίθεση με τη χαμηλότερη συγκέντρωση. Τέλος, η εφαρμογή της χαμηλότερης συγκέντρωσης του βορίου στα φύλλα αύξησε τη συγκέντρωση βορίου στους φυτικούς ιστούς των φυτών περισσότερο από ότι η εφαρμογή της υψηλής συγκέντρωσης. Η αύξηση αυτή, όμως, δεν έφτασε σε τοξικά, για τα φυτά, επίπεδα.

Οι δυσμενείς επιπτώσεις της υπερεπάρκειας του βορίου στη φωτοσυνθετική λειτουργία περικλείονται στη στατιστικώς σημαντική μείωση της τιμής της μέγιστης φωτοχημικής απόδοσης (Fv/Fm), του δείκτη φωτοσυνθετικής απόδοσης (PI), του ρυθμού αφομοίωσης του CO₂ (A) και της αποτελεσματικότητας χρήσης νερού (WUE). Στατιστικώς σημαντική μείωση στην υψηλή συγκέντρωση B παρουσίασαν ο ρυθμός διαπνοής (E) και η συγκέντρωση της συνολικής χλωροφύλλης (chl_a+b) στα φύλλα ενώ δεν επηρεάστηκαν από τη χαμηλότερη συγκέντρωση του B.

Η εφαρμογή του σαλικυλικού οξέος (3.5 και 4.5 mg L⁻¹) προκάλεσε, επίσης, κάποιου είδους καταπόνηση στα φυτά καθώς επηρέασε δυσμενώς τις περισσότερες φωτοσυνθετικές παραμέτρους. Η εφαρμογή της υψηλής συγκέντρωσης του SAL επηρέασε δυσμενώς τις συγκεντρώσεις της συνολικής χλωροφύλλης, της προλίνης

και της MDA στα φύλλα των φυτών, δείχνοντας ότι η εξωγενής εφαρμογή του σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να καταστεί τοξική για το σπανακι.

Ωστόσο, η προσθήκη σαλικυλικού οξέος στις μεταχειρίσεις όπου εφαρμόστηκε υψηλή συγκέντρωση βορίου περιορίσε αλλά δεν εκμηδένισε τις τοξικές επιδράσεις του βορίου στα φυτά του σπανακιού. Μάλιστα, η υψηλή συγκέντρωση του εφαρμοζόμενου SAL έδειξε, στις περισσότερες περιπτώσεις, καλύτερα αποτελέσματα. Αντίθετα, στις μεταχειρίσεις όπου εφαρμόστηκε η χαμηλότερη συγκέντρωση του βορίου, η προσθήκη του σαλικυλικού οξέος διεύρυνε τα συμπτώματα τοξικότητας του βορίου. Τέλος, η εφαρμογή του SAL αυξάνει ή μειώνει τις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα του σπανακιού, ανάλογα με τη συγκέντρωσή του και το θρεπτικό στοιχείο.

ABSTRACT

The purpose of this dissertation was to study the effect of two boron concentrations (5 and 10 mg L⁻¹) on spinach plants and the contribution of salicylic acid in the treatment of adverse effects of boron toxicity. For this purpose, a field experiment was conducted using the spinach variety (*Spinacia oleraceae* L. var. Viroflay) and applying a completely randomized experimental design with one control and eight different treatments.

The results of the experiment showed that boron overexpression causes toxicity symptoms in spinach by affecting its physiological and biochemical functions. Increasing the concentration of applied boron in the leaves increased the adverse effects by adversely affecting the photosynthetic function, the concentration of the total chlorophyll in the leaves and the concentration of essential nutrients in them, such as P, K Ca, Mg and Mn. The high concentration of B also caused oxidative stress in the plants by increasing the concentration of malonaldehyde (MDA) and proline in the leaves, unlike to the lower concentration. Finally, the application of the lower boron concentration in leaves increased the concentration of boron in the plant tissues of plants more than the application of the high concentration. However, this increase did not reach toxic levels for the plants.

The adverse effects of boron overexpression on photosynthetic function are included in the statistically significant decrease in the value of maximum photochemical performance (Fv/Fm), photosynthetic performance index (PI), CO₂ assimilation rate (A) and water use efficiency (WUE). The transpiration rate (E) and total chlorophyll (chl_a+b) concentration in leaves showed a statistically significant decrease while they were not affected by the lower concentration of B.

Application of salicylic acid (3.5 and 4.5 mg L⁻¹), also, caused some stress on the plants as it adversely affected most photosynthetic parameters. Application of the high concentration of SAL adversely affected the concentrations of total chlorophyll, proline and MDA in plant leaves, indicating that its exogenous application at high concentrations may become toxic to spinach.

However, the addition of salicylic acid to treatments where a high concentration of boron was applied, reduced but did not eliminated the toxic effects of boron on spinach plants. Indeed, the high concentration of applied SAL showed,

in most cases, better results. In contrast, in treatments where the lower concentration of boron was applied, the addition of salicylic acid increased the symptoms of boron toxicity. Finally, the application of SAL increases or decreases the concentrations of nutrients in the spinach leaves, depending on its concentration and the nutrient.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ
Περίληψη	i
Abstract	iii
Περιεχόμενα	v
Ευρετήριο σχημάτων	ix
Ευρετήριο πινάκων	xiv
Ευρετήριο εικόνων	xiv
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	1
1.1 Γενικά στοιχεία για το φυτό	1
1.2 Βοτανικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά	2
1.2.1 Ριζικό σύστημα	2
1.2.2 Βλαστός – Φύλλα	3
1.2.3 Ανθικός άξονας – Άνθη	3
1.2.4 Καρπός	4
1.3 Ποικιλίες και υβρίδια σπανακιού	4
1.3.1 Ποικιλίες	5
1.3.2 Υβρίδια	6
1.4 Κλιματικές απαιτήσεις	7
1.5 Εδαφικές απαιτήσεις	8
1.6 Καλλιεργητικές απαιτήσεις	9
1.6.1 Προετοιμασία εδάφους – Σπορά	9
1.6.2 Λίπανση	10
1.6.3 Άρδευση	11
1.6.4 Ζιζανιοκτονία	12
1.6.5 Συγκομιδή – Αποδόσεις	13
1.7 Αποθήκευση – Συντήρηση	14
1.8 Εχθροί και ασθένειες	14
1.9 Το Βόριο (B)	17
1.9.1 Μορφές του B στο έδαφος	18
1.9.2 Πηγές και διαθεσιμότητα του B στο έδαφος	19
1.9.3 Ο ρόλος του B σε διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες του φυτού	20

1.9.4	Απαιτήσεις των φυτών σε Β	25
1.9.5	Τροφοπενία Β	26
1.9.6	Τοξικότητα Β	28
1.9.7	Επίδραση του Β στη φωτοσύνθεση, στο φθορισμό της χλωροφύλλης και στην υπεροξειδωση των λιπιδίων	30
1.9.8	Η προλίνη	32
1.9.9	Οξειδωτική καταπόνηση και υπεροξειδωση λιπιδίων	34
1.10	Το Σαλικυλικό οξύ (SA)	36
1.10.1	Βιοσύνθεση και μεταβολισμός του σαλικυλικού οξέος στα φυτά	37
1.10.2	Ο ρόλος του σαλικυλικού οξέος στα φυτά	37
1.10.3	Επιδράσεις του εξωγενούς σαλικυλικού οξέος στα φυτά	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ		44
2.1	Εγκατάσταση του πειράματος	44
2.1.1	Καλλιεργητικές εργασίες	45
2.1.2	Πειραματικό σχέδιο	46
2.1.3	Επεμβάσεις στο πείραμα	47
2.1.4	Εδαφολογική ανάλυση	49
2.2	Εργαστηριακές μετρήσεις	61
2.2.1	Προσδιορισμός της συγκέντρωσης προλίνης στα φύλλα	61
2.2.2	Εκτίμηση του ρυθμού φωτοσύνθεσης	62
2.2.2.1	Μέτρηση του φθορισμού της χλωροφύλλης	63
2.2.2.2	Μέτρηση της ανταλλαγής αερίων	66
2.2.3	Προσδιορισμός της υπεροξειδωσης των λιπιδίων των φύλλων	69
2.2.4	Προσδιορισμός της συνολικής χλωροφύλλης των φύλλων	70
2.2.5	Προσδιορισμός βορίου στο σπανάκι	71
2.2.6	Προσδιορισμός Ρ, Κ, Ca, Mg και Mn στο σπανάκι	71
2.3	Στατιστική ανάλυση	72
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ		74
3.1	Εδαφολογική ανάλυση	74
3.1.1	Μηχανική ανάλυση και κατάταξη του εδάφους	74

3.1.2 Η αντίδραση (pH) του εδάφους	74
3.1.3 Η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC) του εδάφους	74
3.1.4 Η οργανική ουσία του εδάφους	75
3.1.5 Το ανθρακικό ασβέστιο του εδάφους (CaCO ₃)	75
3.1.6 Η περιεκτικότητα του εδάφους σε Ca ²⁺ και Mg ²⁺	75
3.1.7 Η περιεκτικότητα του εδάφους σε K ⁺	76
3.1.8 Η περιεκτικότητα του εδάφους σε NO ₃ ⁻	76
3.1.9 Η περιεκτικότητα του εδάφους σε P	77
3.2 Η επίδραση του B και του SAL στη λειτουργία της φωτοσύνθεσης με τη μέθοδο φθορισμού της χλωροφύλλης	78
3.2.1 Ελάχιστη (Fo), μέγιστη (Fm) και μεταβαλλόμενη (Fv) τιμή φθορισμού	78
3.2.2 Μέγιστη φωτοχημική απόδοση του PSII (Fv/Fm)	82
3.2.3 Η Επιφάνεια (Area) και ο Δείκτης Απόδοσης (Performance index, PI)	84
3.3 Η επίδραση του B και του SAL στη λειτουργία της φωτοσύνθεσης με τη μέθοδο της ανταλλαγής αερίων	87
3.3.1 Ο Ρυθμός Αφομοίωσης του CO ₂ (A) και ο Ρυθμός Διαπνοής (E)	88
3.3.2 Η Στοματική Αγωγιμότητα (gs) και η Αποτελεσματικότητα Χρήσης Νερού (WUEins)	92
3.4 Η επίδραση του B και του SAL στη συγκέντρωση προλίνης στα φύλλα σπανακιού	95
3.5 Η επίδραση του B και του SAL στις συγκεντρώσεις μηλονικής διαλδεΰδης στα φύλλα σπανακιού	96
3.6 Η επίδραση του B και του SAL στις σχετικές συγκεντρώσεις χλωροφύλλης στα φύλλα σπανακιού	99
3.7 Συγκέντρωση βορίου στους φυτικούς ιστούς του σπανακιού	104
3.8 Συγκέντρωση φωσφόρου, καλίου, ασβεστίου, μαγνησίου και μαγγανίου στους φυτικούς ιστούς του σπανακιού	106
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	116
4.1 Η επίδραση του B και του SAL στη λειτουργία της φωτοσύνθεσης με τη μέθοδο φθορισμού της χλωροφύλλης	116

4.2 Η επίδραση του Β και του SAL στη λειτουργία της φωτοσύνθεσης με τη μέθοδο της ανταλλαγής αερίων	119
4.3 Η επίδραση του Β και του SAL στη συγκέντρωση προλίνης στα φύλλα σπανακιού	123
4.4 Η επίδραση του Β και του SAL στις συγκεντρώσεις μηλονικής διαλδεΰδης στα φύλλα σπανακιού	125
4.5 Η επίδραση του Β και του SAL στις σχετικές συγκεντρώσεις χλωροφύλλης στα φύλλα σπανακιού	127
4.6 Συγκέντρωση βορίου στους φυτικούς ιστούς του σπανακιού	129
4.7 Συγκέντρωση φωσφόρου, καλίου, ασβεστίου, μαγνησίου και μαγγανίου στους φυτικούς ιστούς του σπανακιού	131
4.8 Συμπεράσματα	136
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	139
1. Διεθνής βιβλιογραφία	139
2. Εθνική βιβλιογραφία	167
3. Διαδικτυακή βιβλιογραφία	169

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 3.1 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στην ελάχιστη (Fo) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	78
Σχήμα 3.2 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στην ελάχιστη (Fo) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	79
Σχήμα 3.3 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη μέγιστη (Fm) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	79
Σχήμα 3.4 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη μέγιστη (Fm) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	80
Σχήμα 3.5 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη μεταβαλλόμενη (Fv) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	81
Σχήμα 3.6 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη μεταβαλλόμενη (Fv) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	81
Σχήμα 3.7 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού Fv/Fm της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	82
Σχήμα 3.8 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού Fv/Fm της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	83

Σχήμα 3.9 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού <<Επιφάνεια (Area)>> της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	84
Σχήμα 3.10 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού «Επιφάνεια (Area)» της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	85
Σχήμα 3.11 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στην παράμετρο φθορισμού «Δείκτης απόδοσης (Performance index, PI) » της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	86
Σχήμα 3.12 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού «Δείκτης απόδοσης (Performance index, PI)» της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού	87
Σχήμα 3.13 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στο ρυθμό αφομοίωσης CO ₂ (A) σε φύλλα σπανακιού	88
Σχήμα 3.14 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στο ρυθμό αφομοίωσης CO ₂ (A) σε φύλλα σπανακιού	89
Σχήμα 3.15 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στο ρυθμό διαπνοής H ₂ O (E) σε φύλλα σπανακιού	90
Σχήμα 3.16 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στο ρυθμό διαπνοής H ₂ O (E) σε φύλλα σπανακιού	91
Σχήμα 3.17 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹)	

και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στην στοματική αγωγιμότητα (gs) σε φύλλα σπανακιού	92
Σχήμα 3.18 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στην στοματική αγωγιμότητα (gs) σε φύλλα σπανακιού	93
Σχήμα 3.19 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στην αποτελεσματικότητα χρήσης του νερού (WUE) σε φύλλα σπανακιού	93
Σχήμα 3.20 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στην αποτελεσματικότητα χρήσης του νερού (WUE) σε φύλλα σπανακιού	94
Σχήμα 3.21 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση προλίνης σε φύλλα σπανακιού	95
Σχήμα 3.22 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση προλίνης σε φύλλα σπανακιού	96
Σχήμα 3.23 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στην υπεροξείδωση των λιπιδίων φύλλων σπανακιού, μα βάση τη συγκέντρωση μηλονικής διαλδεΰδης σε αυτά	97
Σχήμα 3.24 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στην υπεροξείδωση των λιπιδίων φύλλων σπανακιού, μα βάση τη συγκέντρωση μηλονικής διαλδεΰδης σε αυτά	98
Σχήμα 3.25 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση χλωροφύλλης a (chl _a) σε φύλλα σπανακιού	99
Σχήμα 3.26 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹)	

και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση χλωροφύλλης a (chl _a) σε φύλλα σπανακιού	100
Σχήμα 3.27 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση χλωροφύλλης b (chl _b) σε φύλλα σπανακιού	101
Σχήμα 3.28 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση χλωροφύλλης b (chl _b) σε φύλλα σπανακιού	101
Σχήμα 3.29 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συνολική συγκέντρωση χλωροφύλλης (chl _a +b) σε φύλλα σπανακιού	102
Σχήμα 3.30 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συνολική συγκέντρωση χλωροφύλλης (chl _a +b) σε φύλλα σπανακιού	103
Σχήμα 3.31 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση βορίου (B) σε φύλλα σπανακιού	104
Σχήμα 3.32 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση βορίου (B) σε φύλλα σπανακιού	105
Σχήμα 3.33 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση φωσφόρου (P) σε φύλλα σπανακιού	106
Σχήμα 3.34 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση φωσφόρου (P) σε φύλλα σπανακιού	107
Σχήμα 3.35 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση	

καλίου (K) σε φύλλα σπανακιού	108
Σχήμα 3.36 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση καλίου (K) σε φύλλα σπανακιού	109
Σχήμα 3.37 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση ασβεστίου (Ca) σε φύλλα σπανακιού	110
Σχήμα 3.38 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση ασβεστίου (Ca) σε φύλλα σπανακιού	111
Σχήμα 3.39 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση μαγνησίου (Mg) σε φύλλα σπανακιού	112
Σχήμα 3.40 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση μαγνησίου (Mg) σε φύλλα σπανακιού	113
Σχήμα 3.41 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση μαγγανίου (Mn) σε φύλλα σπανακιού	114
Σχήμα 3.42 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L ⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L ⁻¹) στη συγκέντρωση μαγγανίου (Mn) σε φύλλα σπανακιού	115

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1 Η συστηματική ταξινόμηση σπανακιού	2
Πίνακας 2.1 Το πειραματικό σχέδιο	47

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1 Φυτά σπανακιού από τον πειραματικό αγρό	2
Εικόνα 2.1 Ο αγρός όπου εγκαταστάθηκε το πείραμα στο Κ. Σχολάρι Θεσσαλονίκης. Νοέμβριος 2017	44
Εικόνα 2.2 Φυτό σπανακιού από το πείραμα. Ιανουάριος 2018	45
Εικόνα 2.3 Φυτά σπανακιού από το πείραμα λίγο πριν τις επεμβάσεις. Φεβρουάριος 2018	46
Εικόνα 2.4 Ο πειραματικός αγρός κατά την έναρξη των επεμβάσεων. Μάρτιος 2018	48
Εικόνα 2.5 Φυτό σπανακιού από το πείραμα. Φεβρουάριος 2018	49
Εικόνα 2.6 Αντλία κενού και συστοιχία χωνιών διήθησης Buchner για την παραλαβή του εκχυλίσματος κορεσμού στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του ΑΤΕΙΘ	51
Εικόνα 2.7 pH-μετρο και αγωγιμόμετρο (κυρίως όργανο, ηλεκτρόδιο και πρότυπα διαλύματα για τη ρύθμιση του οργάνου) στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του ΑΤΕΙΘ	52
Εικόνα 2.8 Φλογοφωτόμετρο στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του ΑΤΕΙΘ	58
Εικόνα 2.9 Φασματοφωτόμετρο UV – Vis στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του ΑΤΕΙΘ	59

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΦΥΤΟ

Το σπανάκι (*Spinacia oleracea* L.) ανήκει στην οικογένεια Chenopodiaceae. Είναι φυλλώδες πράσινο λαχανικό και καταναλώνεται αφού μαγειρευτεί. Εν τούτοις όμως χρησιμοποιείται και νωπό σε σαλάτες. Διατίθεται στην αγορά νωπό, κονσερβοποιημένο ή κατεψυγμένο. Καλλιεργείται σε πολλές χώρες του κόσμου σε εποχές κατά την διάρκεια των οποίων το κλίμα είναι ψυχρό και υγρό, δηλ. οι θερμοκρασίες είναι χαμηλές (Ολύμπιος, 1994). Η καλλιέργειά του σήμερα επικεντρώνεται στην Ευρώπη (Κάτω Χώρες) και τη Βόρειο Αμερική (Η.Π.Α.) ενώ στη χώρα μας καλλιεργούνται περίπου 25.000 στρέμματα και η ετήσια παραγωγή ανέρχεται στους 36.000 τόνους, σύμφωνα με το ΥΠΑΑΤ.

Θεωρείται ότι έλκει την καταγωγή του από την Ασία και συγκεκριμένα από την αρχαία Περσία (Ιράν) όπου το γνώρισαν οι Ισπανοί τον 11^ο αιώνα και έτσι έγινε γνωστό στην Ευρώπη (Σπάρτσης, 1991). Σύμφωνα με τον Vavilon, άρχισε να καλλιεργείται στην περιοχή αυτή κατά την περίοδο του Ελληνικού και Ρωμαϊκού πολιτισμού.

Το σπανάκι έχει υψηλή θρεπτική και διαιτητική αξία καθώς είναι πλούσιο σε βιταμίνες και ανόργανα άλατα, ιδιαίτερα σε φολικό οξύ, βιταμίνη Κ, βιταμίνη Α, ασβέστιο, φώσφορο, κάλιο, μαγνήσιο, μαγγάνιο ενώ είναι πλουσιότερο σε πρωτεΐνη από τα περισσότερα λαχανικά (Σπάρτσης, 1991). Επίσης, είναι πλούσιο σε σίδηρο (2,1 mg/100 g νωπού προϊόντος) και σε βιταμίνη C (52mg/100g). Για όλα τα παραπάνω στοιχεία του θεωρείται ευεργετικό για παθήσεις όπως η οστεοπόρωση, η αρθρίτιδα και οι καρδιακές παθήσεις ενώ θεωρείται ότι συμβάλλει θετικά στη λειτουργία του εντέρου και δρα κατά της αναιμίας λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε σίδηρο. Ακόμη, συμβάλλει στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού και του νευρικού συστήματος (el.wikipedia.org).

1.2 ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το σπανάκι είναι ετήσιο ποώδες φυτό, ψυχρής εποχής και μεγάλης ημέρας (Ολύμπιος, 1994). Ανήκει, όπως προαναφέρθηκε, στην οικογένεια Chenopodiaceae και έχει $2x=12$ ή $2x=24$ χρωμοσώματα (Σπάρτσης, 1991).



Εικόνα 1.1 Φυτά σπανακιού από τον πειραματικό αγρό

Η συστηματική ταξινόμηση του φυτού είναι η εξής (Στεφανάκη-Νικηφοράκη, 1999):

Πίνακας 1.1 Η συστηματική ταξινόμηση σπανακιού

ΒΑΣΙΛΕΙΟ:	ΦΥΤΑ (PLANTAE)
ΦΥΛΟ:	ΑΓΓΕΙΟΣΠΕΡΜΑ (MAGNOLIOPHYTA)
ΟΜΟΤΑΞΙΑ:	ΔΙΚΟΤΥΛΗΔΟΝΑ (MAGNOLIOPSIDA)
ΤΑΞΗ:	ΚΑΡΥΟΦΥΛΛΩΔΗ (CARYOPHYLLALES)
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ:	ΧΗΝΟΠΟΔΙΔΕΣ (CHENOPODIACEAE)

1.2.1 Ριζικό σύστημα

Το σπανάκι αναπτύσσει βαθιά κεντρική ρίζα και μεγάλο αριθμό πλαγίων δευτερευουσών επιφανειακών ριζών (Ολύμπιος, 1994). Το ριζικό σύστημα του

σπανακιού προσλαμβάνει μόνο το 1-6% του φωσφορικού λιπάσματος που προστίθεται.

1.2.2 Βλαστός – Φύλλα

Τα φύλλα είναι σαρκώδη και μπορεί να έχουν επιφάνεια λεία ή κυματοειδή (τύπος Savoy) ανάλογα με την ποικιλία. Το σχήμα τους μπορεί να είναι ωοειδές, στρογγυλεμένο ή τριγωνοειδές και φέρονται πάνω σε κοντό μίσχο ο οποίος είναι εδώδιμος και λίγο πιο σκληρός (Σπάρτσης, 1991). Αρχικά το φυτό σχηματίζει εμφανή ροζέτα από τα φύλλα τα οποία βρίσκονται πολύ πυκνά τοποθετημένα, εναλλασσόμενα, πάνω σε υποτυπώδες μη ανεπτυγμένο βλαστό (Ολύμπιος, 1994). Ο βλαστός του σπανακιού έχει ύψος 30-60 εκατοστά, είναι αυλακωτός και κενός εσωτερικά.

1.2.3 Ανθικός άξονας – Άνθη

Κατά το δεύτερο στάδιο ανάπτυξης, το αναπαραγωγικό, ο βλαστός επιμηκώνεται και σχηματίζεται ανθικό στέλεχος που φέρει λεπτά επιμήκη οξύληκτα φύλλα. Ο ανθικός άξονας (στέλεχος) αναπτύσσεται όταν η διάρκεια της ημέρας περάσει τις 13 ώρες και καταλήγει στην ταξιανθία των χηνοποδιωδών.

Το σπανάκι είναι δίοικο φυτό, δηλ. τα αρσενικά και θηλυκά άνθη φέρονται σε διαφορετικά φυτά και τα σπέρματα παράγονται από το θηλυκό φυτό (Ολύμπιος, 1994). Η αναλογία εμφάνισης αρσενικών και θηλυκών φυτών είναι 1:1. Η γύρη μεταφέρεται με τον άνεμο, είναι δηλ. ανεμόφιλο φυτό. Τα αρσενικά άνθη διατηρούν τη γύρη τους αρκετό διάστημα, όπως και τα θηλυκά είναι υποδεκτικά για 2-3 βδομάδες. Η γονιμοποιημένη ωοθήκη αναπτύσσεται σε καρπό που φέρει μόνο ένα σπόρο (σπέρμα). (Ολύμπιος, 1994).

Σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά της άνθησης τα φυτά διακρίνονται σε εξαιρετικά αρσενικά, βλαστητικά αρσενικά, θηλυκά και σπάνια εμφανίζονται φυτά με ερμαφρόδιτα άνθη καθώς και μόνονικα δίκλινα δηλαδή φυτά στα οποία υπάρχουν αρσενικά και θηλυκά άνθη στο ίδιο φυτό. Στην καλλιέργεια προτιμώνται τα βλαστητικά αρσενικά και τα θηλυκά φυτά γιατί έχουν μεγαλύτερα φύλλα ενώ τα εξαιρετικά αρσενικά φυτά έχουν μικρότερα φύλλα (Σπάρτσης, 1995).

Το φύλο των φυτών αναγνωρίζεται μετά την έκπτυξη των ανθοφόρων στελεχών, τα οποία φτάνουν σε ύψος το 1m. Τα καθαρά αρσενικά φυτά σχηματίζουν στο ψηλότερο τμήμα των ανθοφόρων στελεχών μικρά φύλλα, ενώ τα θηλυκά ή τα αρρενοθήλυκα φέρουν μέχρι το άκρο των στελεχών φύλλα πλήρως ανεπτυγμένα. Σε κάθε ανθοφόρο κλάδο παρατηρείται διαδοχική άνθηση. Γενικά, τα αρσενικά φυτά ανθίζουν ταχύτερα από τα θηλυκά και ξηραίνονται σύντομα μετά την άνθηση (Ζερλέντης, 1980, Σάββας, 1995).

Το θηλυκό άνθος είναι μικρό, υποπράσινο, στερείται στεφάνης και αποτελείται από απλή ωοθήκη με 4-5 στύλους, οι οποίοι φέρονται πάνω σε οδοντωτό κάλυκα με 2-4 δόντια και στη βάση είναι συμφυείς. Το αρσενικό άνθος έχει 4-5 σέπαλα και 4-5 στήμονες που φέρονται πάνω σε τετράλοβο ή πεντάλοβο κάλυκα. Τόσο τα θηλυκά όσο και τα αρσενικά άνθη στερούνται πετάλων (Σπάρτσης, 1995).

1.2.4 Καρπός

Ο καρπός στο σπανάκι ονομάζεται σπόρος και είναι μονόσπερμος, σκληρός σφαιροειδής ή με ανώμαλη επιφάνεια και περιβάλλεται από τον κάλυκα, του οποίου τα βράκτια φύλλα σχηματίζουν αγκάθια στις αγκαθωτές ποικιλίες (Σπάρτσης, 1991).

Με βάση το τελευταίο χαρακτηριστικό διακρίνονται δύο βοτανικές ποικιλίες σπανακιού (Σπάρτσης, 1991).

(α) *Spinacea oleracea* var. *tipica* : με καρπό (σπόρο) ακανθώδη.

(β) *Spinacea oleracea* var. *glabra*: με καρπό (σπόρο) χωρίς άκανθες.

Σήμερα καλλιεργούνται, κατά κύριο λόγο, ποικιλίες που ανήκουν στη δεύτερη βοτανική ποικιλία.

1.3 ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΚΑΙ ΥΒΡΙΔΙΑ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Υπάρχουν πάρα πολλές ποικιλίες που χαρακτηρίζονται από το σχήμα, το χρώμα, το πάχος και την υφή του φυλλώματος.

Ανάλογα με την υφή του φυλλώματος, οι ποικιλίες του σπανακιού μπορούν να χωριστούν σε τρεις ομάδες. Στις ποικιλίες ανώμαλης επιφάνειας, ημι-ανώμαλης επιφάνειας και στις επίπεδες. Διακρίνονται επίσης σε αυτές που χρησιμοποιούνται

για νωπή κατανάλωση στην αγορά και αυτές που καλλιεργούνται για μεταποίηση (Ολύμπιος, 1994). Το σπανάκι που προορίζεται για την αγορά ανήκει κυρίως σε αυτές που έχουν ανώμαλη επιφάνεια φύλλου (savoy), ενώ για μεταποίηση χρησιμοποιούνται ποικιλίες επίπεδου φύλλου (smooth). Οι ποικιλίες ημι-ανώμαλης επιφάνειας φύλλου (semi-savoy) χρησιμοποιούνται τόσο για την αγορά όσο και για μεταποίηση (Σπάρτσης, 1995).

Οι ποικιλίες μπορεί να διαχωριστούν σε αυτές που σχηματίζουν γρήγορα ανθικά στελέχη και σε αυτές που εμφανίζουν ανθικά στελέχη πιο αργά. Συνήθως προτιμώνται πρώιμες ποικιλίες με αντοχή στις ασθένειες και καθυστέρηση στην εμφάνιση του ανθικού στελέχους (Σπάρτσης, 1995, Ολύμπιος, 1994). Διακρίνονται, ακόμη, ποικιλίες με λείο ή αγκαθωτό σπέρμα, από τις οποίες επιλέγονται, κυρίως, οι ποικιλίες με λείο σπόρο. Κατηγοριοποιούνται, επίσης, στις ποικιλίες ελεύθερης γονιμοποίησης (open- pollinated) και στα υβρίδια F1, τα οποία προσφέρουν υψηλές αποδόσεις. Οι ελεύθερης γονιμοποίησης περιλαμβάνουν ποικιλίες μόνοικες και δίοικες (Δημητράκης, 1998).

Τέλος, μερικές ποικιλίες έχουν την τάση να αναπτύσσονται πλαγίως και χαμηλά στο έδαφος, σε αντίθεση με άλλες που έχουν την τάση να αναπτύσσονται κατακόρυφα. Οι τελευταίες προσφέρονται για μηχανική συγκομιδή (Σπάρτσης, 1995).

1.3.1 Ποικιλίες

Οι κυριότερες ποικιλίες σπανακιού που κυκλοφορούν στην αγορά είναι οι εξής (Ολύμπιος, 1994, Σπάρτσης, 1991, Παρασκευόπουλος, 2006, Κανάκης, 1997):

- 1) **Viroflay:** Πολύ παραγωγική ποικιλία, κατάλληλη για συγκομιδή το φθινόπωρο, τον χειμώνα και νωρίς την άνοιξη. Τα φυτά είναι ζωηρά, ογκώδη, με ελαφρά πλάγια βλάστηση και πλατειά, λεία και σκούρου πράσινου χρώματος φύλλα. Ο σπόρος είναι λείος.
- 2) **Nobel:** Ποικιλία ταχείας ανάπτυξης, κατάλληλη για φθινοπωρινή καλλιέργεια. Έχει φύλλα μεγάλα, πλατειά και λείο σπόρο.
- 3) **Achille:** (Αχιλλεύς): Πλατύφυλλη ποικιλία γαλλικής προέλευσης, παραγωγική με σκούρο πράσινο φύλλωμα, ανθεκτική στην παραγωγή ανθικών στελεχών και στην υγρασία.

- 4) **Geant d' Hiver:** Γαλλικής προέλευσης, με πολύ μεγάλο φύλλωμα σκούρου χρώματος, ανθεκτικό στο κρύο και στις ασθένειες, κατάλληλη για καλλιέργεια σε υγρές περιοχές τον χειμώνα.
- 5) **Agatha:** Πολύ πρώιμη ποικιλία (40 ημερών) με αγκαθωτό σπόρο. Το φύλλωμά του είναι ορθόκλαδο με λεία επιδερμίδα και πολύ καλό πράσινο χρώμα. Κατάλληλη για ψυχρές εποχές. Είναι ποικιλία παραγωγική αντίστοιχη της ελληνικής Αμυνταίου υπερτερεί δε απέναντί της λόγω της ομοιομορφίας που παρουσιάζει στον αγρό καθώς και λόγω καθαρότητας της επιλογής.
- 6) **Πλατύφυλλο Άργους:** Έχει λείο σπέρμα και κυματοειδή φύλλα. Συγκομίζεται σε 50 ημέρες.
- 7) **Principessa Giuliana:** Φέρει φύλλα κυματοειδή, αρκετά μεγάλα και σπόρο λείο. Είναι ποικιλία ιδιαίτερος κατάλληλη για ανοιξιιάτικη σπορά, γιατί αργεί να εκπύξει ανθοφόρο βλαστό.
- 8) **America:** Έχει κυματοειδή φύλλα και είναι ανθεκτική στο κρύο. Ωριμάζει σε 50 ημέρες. Είναι κατάλληλη και για κονσερβοποίηση και κατάψυξη.

1.3.2 Υβρίδια

Τα κυριότερα υβρίδια (F1) σπανακιού που δημιουργήθηκαν είναι τα κάτωθι (Ολύμπιος, 1994, Σπάρτσης, 1991, Παρασκευόπουλος, 2006, Κανάκης, 1997):

- 1) **Parys F1:** Πρώιμο υβρίδιο κατάλληλο για καλλιέργεια το φθινόπωρο και την άνοιξη. Πολύ ανθεκτικό στις χαμηλές θερμοκρασίες. Έχει παχιά, σκούρου πράσινου χρώματος και λεία φύλλα, με πολύ μεγάλους μίσχους. Αποδίδει ικανοποιητικά. Είναι ανθεκτικό στις φυσιολογικές μορφές A και B του περονόσπορου και στο μωσαϊκό της αγγουριάς.
- 2) **Correnta F1:** Έχει φύλλα χρώματος σκούρου πράσινου και σφαιρικό σπόρο. Ανθεκτικό στον περονόσπορο και όψιμο, κατάλληλο για ανοιξιιάτικη σπορά. Επίσης, είναι ανθεκτικό στην παραγωγή ανθικού στελέχους, επομένως κατάλληλο και για καλοκαιρινή παραγωγή.
- 3) **Melody F1:** Υβρίδιο τύπου semi-savoy, με φύλλωμα ελαφρά κυματοειδές. Σκούρο πράσινο πλατύ φύλλωμα, ανθεκτικό στον περονόσπορο και στην

παραγωγή ανθικού στελέχους, κατάλληλο για ανοιξιάτικη και καλοκαιρινή παραγωγή. Καλλιεργείται για νωπή κατανάλωση και για κατάψυξη.

- 4) **Polka F1:** Το πρώτο σε πωλήσεις υβρίδιο της αγοράς. Έχει ταχεία ανάπτυξη, πολύ παραγωγικό, με φύλλα μεγάλα, πλατιά και λεία. Είναι ανθεκτικό σε όλες τις φυλές του περονόσπορου. Κατάλληλο για νωπή κατανάλωση και για τη βιομηχανία. Σπέρνεται από φθινόπωρο μέχρι άνοιξη.
- 5) **LASKA F1:** Το κορυφαίο χειμωνιάτικο υβρίδιο, το οποίο καλλιεργείται από φθινόπωρο μέχρι άνοιξη. Δίνει φυτά με υψηλά στελέχη και πλατιά, σκουροπράσινα φύλλα. Πολύ ανθεκτικό στον περονόσπορο.

Σημαντικά υβρίδια που κυκλοφορούν στην αγορά είναι και τα παρακάτω (Ολύμπιος, 1994, Σπάρτσης, 1991, Παρασκευόπουλος, 2006, Κανάκης, 1997):

- **FLAMENCO F1** (ΦΘΙΝΟΠΩΡΟ-ΑΝΟΙΞΗ)
- **COBRA F1**(ΦΘΙΝΟΠΩΡΟ-ΑΝΟΙΞΗ)
- **FALCON F1** (ΠΡΩΙΜΟ)
- **DOUGLAS F1** (ΜΕΣΟΠΡΩΙΜΟ)
- **BALLET F1** (ΑΝΟΙΞΗ, ΚΑΛΟΚΑΙΡΙ, ΦΘΙΝΟΠΩΡΟ)

1.4 ΚΛΙΜΑΤΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ

Το σπανάκι είναι ψυχροαπαιτητικό φυτό, αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (5-24°C) και η παραγωγή φυλλώματος ευνοείται σε θερμοκρασίες 15-18°C (ΥΠΑΑΤ, 2014) αλλά αποδίδει ικανοποιητικά και σε χαμηλότερες μέσες θερμοκρασίες, γύρω στους 10°C. Νεαρά φυτά μπορούν να ανεχθούν θερμοκρασίες μέχρι και -9°C, χωρίς να υποστούν σημαντικές ζημιές. Η άριστη θερμοκρασία εδάφους για τη βλάστηση του σπόρου κυμαίνεται από 10-15°C. Ο σπόρος του σπανακιού εισέρχεται σε λήθαργο σε θερμοκρασίες πάνω από 30°C και συνεπώς η βλάστησή του είναι αδύνατη ή πολύ περιορισμένη σε υψηλές θερμοκρασίες (Ολύμπιος, 1994).

Όσον αφορά την αντίδραση στον φωτοπεριοδισμό, το σπανάκι είναι φυτό μεγάλης ημέρας, δηλ. για να σχηματίσει ανθικό στέλεχος και άνθη θα πρέπει η διάρκεια της ημέρας (φωτοπερίοδος) να είναι μεγάλη. Συνεπώς, όταν καλλιεργείται για το φύλλωμά του, απαιτείται η φωτοπερίοδος να είναι μικρή προκειμένου να

αποφευχθεί ο πρόωμος σχηματισμός του ανθοφόρου βλαστού πριν ακόμη τα φύλλα αποκτήσουν ικανοποιητικό μέγεθος, κάτι το οποίο οδηγεί σε πρωιμότερη συγκομιδή των φυτών και μείωση της παραγωγής (Ολύμπιος, 1994).

Η κριτική φωτοπερίοδος του σπανακιού κυμαίνεται από 12.5-15.0 ώρες. Όταν επικρατούν μεγαλύτερες ημέρες από την κριτική ελάχιστη, η παρουσία υψηλών θερμοκρασιών προκαλεί πρόωμη εμφάνιση ανθικών στελεχών. Η εμφάνιση αυτή των ανθικών στελεχών επιταχύνεται με την αύξηση του μήκους της ημέρας και μάλιστα τα μεγαλύτερης ηλικίας φυτά είναι πιο ευαίσθητα, σε σύγκριση με τα νεαρά φυτά (Σπάρτσης, 1995). Γενικότερα, σε υψηλές θερμοκρασίες, ιδιαίτερα όταν αυτές συνδυάζονται με μεγάλης διάρκειας ημέρες, ευνοείται η πρόωρη ανάπτυξη του ανθοφόρου βλαστού (ΥΠΑΑΤ, 2014).

Θα πρέπει, επίσης, να τονιστεί ότι έκθεση των φυτών σε χαμηλές θερμοκρασίες, και στη συνέχεια η παρουσία υψηλών θερμοκρασιών και μεγάλου μήκους ημερών, οδηγεί στη ταχύτερη άνθηση του σπανακιού. Σε πλούσιο έδαφος οι χαμηλές θερμοκρασίες συντελούν σε πλουσιότερη άνθηση και σε βαθύ πράσινο χρωματισμό (Σπάρτσης, 1995). Σύμφωνα με τον Knott (1939), όσο πιο χαμηλή είναι η θερμοκρασία τον πρώτο μήνα ανάπτυξης του φυτού, τόσο γρηγορότερα αναπτύσσεται το ανθικό στέλεχος στη συνέχεια, σε όλα τα υψηλότερα επίπεδα θερμοκρασίας.

1.5 ΕΛΑΦΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ

Το σπανάκι καλλιεργείται σε μεγάλη ποικιλία εδαφών, αλλά τα αμμοπηλώδη, μέσης σύστασης εδάφη, είναι τα πλέον κατάλληλα. Για πρώιμες χειμωνιάτικες καλλιέργειες και σε περιοχές με πολλές βροχοπτώσεις προτιμώνται τα γόνιμα ελαφρά αμμώδη, καλώς στραγγιζόμενα εδάφη. Γενικά, το σπανάκι προτιμά εδάφη πολύ πλούσια σε θρεπτικά στοιχεία (N:K 1:5) και ιδιαίτερα σε οργανική ουσία πάνω από 2%.

Απαιτεί ζεστά εδάφη καθώς στα βαριά, υγρά και κρύα δεν βλαστάνει καλά (Σπάρτσης, 1991, Παρασκευόπουλος, 2006).

Το άριστο pH κυμαίνεται μεταξύ 6-7 αλλά μπορεί να αναπτυχθεί ικανοποιητικά και σε χαμηλότερο pH (μέχρι 5,5) καθώς και σε ελαφρά αλκαλικό εδαφικό περιβάλλον (Ολύμπιος, 1994). Πιο όξινα εδάφη πρέπει να αποφεύγονται ή

να διορθώνονται με προσθήκη ενώσεων ασβεστίου καθώς πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι το σπανάκι είναι πολύ ευαίσθητο σε όξινα εδάφη με pH μικρότερο του 5,5. Δοκιμές με 250kg ασβέστη ανά στρέμμα ευνόησαν πάρα πολύ την καλλιέργεια σπανακιού σε εδάφη με pH 4,6 ή 4,7.

Επιπρόσθετα, το σπανάκι είναι ευαίσθητο στην παρουσία αλάτων στο έδαφος και η μείωση της παραγωγής (μέσος ρυθμός μείωσης 8% ανά 1 dS/μ) ξεκινά όταν η ηλεκτρική αγωγιμότητα κυμαίνεται περίπου στα 2 dS/μ (ΥΠΑΑΤ, 2014).

1.6 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ

1.6.1 Προετοιμασία εδάφους – Σπορά

Η προετοιμασία του εδάφους για την εγκατάσταση της καλλιέργειας εξαρτάται, χρονικά, από την εποχή σποράς του σπανακιού (φθινοπωρινή, χειμερινή, ανοιξιάτικη). Αρχικά γίνεται όργωμα με άροτρο ή δισκάροτρο, τουλάχιστον 20 - 30 ημέρες πριν τη σπορά και ακολουθεί μία πρώτη κατεργασία του εδάφους με δισκοσβάρνα ή καλλιεργητή, προκειμένου να ψιλοχωματιστεί και να ισοπεδωθεί το έδαφος. Εν συνεχεία γίνεται, προαιρετικά, η προσθήκη του βασικού λιπάσματος και ο ψεκασμός με ζιζανιοκτόνο εδάφους. Ακολουθεί η ενσωμάτωση του λιπάσματος και του ζιζανιοκτόνου, και ταυτόχρονα το τελικό ψιλοχωμάτισμα του εδάφους, με τη χρήση καλλιεργητή, προετοιμαστή εδάφους ή ακόμα καλύτερα, σβολοκόπτη. Στο τέλος γίνεται διαμόρφωση του εδάφους ανάλογα με τη μέθοδο φύτευσης.

Η σπορά του σπανακιού μπορεί να γίνει με διάφορες μεθόδους, τρεις όμως είναι οι επικρατέστερες. Η σπορά στα "πεταχτά", η σπορά με σπαρτικές μηχανές, απλές ή ακριβείας, σε γραμμές που απέχουν μεταξύ τους 30 – 40 cm και η σπορά σε αναχώματα, όπως συμβαίνει συνήθως σε φθινοπωρινές-χειμερινές καλλιέργειες, ιδιαίτερα σε εδάφη τα οποία συγκρατούν υγρασία (ΥΠΑΑΤ, 2014).

Στη χώρα μας η σπορά γίνεται από τον Αύγουστο μέχρι και αργά την άνοιξη. Ωστόσο, για ανοιξιάτικες σπορές θα πρέπει να επιλέγονται ποικιλίες που δεν ανθίζουν νωρίς, ενώ για πιο όψιμες σπορές την άνοιξη θα πρέπει, εκτός από την ποικιλία, να επιλέγονται και περιοχές στις οποίες οι θερμοκρασίες δεν είναι υπερβολικά υψηλές (ΥΠΑΑΤ, 2014).

Το βάθος σποράς είναι περίπου 1,5 - 3 εκ., ανάλογα με τον τύπο του εδάφους. Αν η σπορά γίνει σε αμμώδες έδαφος ή σε περίοδο ξηρασίας, τότε οι σπόροι μπαίνουν σε διπλάσιο βάθος από το κανονικό. Για τη σπορά ενός στρέμματος απαιτούνται 1-3 κιλά σπόρου, ανάλογα με τον τρόπο σποράς και τις αποστάσεις φύτευσης. Συνήθως απαιτείται μικρότερη ποσότητα σπόρου όταν η σπορά γίνεται με σπαρτική μηχανή ακριβείας αλλά σε καλλιέργειες που προορίζονται για μεταποίηση (βιομηχανικό σπανάκι) όπου η συγκομιδή γίνεται μηχανικά, η σπορά γίνεται σε μικρότερες αποστάσεις (π.χ. σπορά σε δίπλες ή τετραπλές σειρές) και χρησιμοποιείται μεγαλύτερη ποσότητα σπόρου (ΥΠΑΑΤ, 2014). Γενικά, η ποσότητα του σπόρου στις αραιές φυτεύσεις κυμαίνεται στα 450-700 γρ/στρέμμα και φτάνει στα 1700 γρ. σε πυκνές φυτεύσεις. Για σπορά στα πεταχτά εφαρμόζεται ποσότητα σπόρου μεταξύ 1200-1700 γρ/στρ (Ολύμπιος, 1994). Οι αποστάσεις των φυτών πάνω στις γραμμές πρέπει να είναι 5-10 εκ (Σπάρτσης, 1995).

Οι σπόροι βλαστάνουν σε 5-12 ημέρες όταν η θερμοκρασία του εδάφους είναι μεγαλύτερη από τους 10-12°C. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι όταν η θερμοκρασία του εδάφους κυμαίνεται στους 15-30°C η βλάστηση των σπόρων γίνεται σε 5-7 ημέρες, ενώ στους 10°C γίνεται σε 12 ημέρες και στους 5°C σε 23 ημέρες. Η βλαστική ικανότητα του σπόρου πρέπει να κυμαίνεται σε επίπεδα μεγαλύτερα του 60% και οι καλής ποιότητας σπόροι έχουν βλαστική ικανότητα που κυμαίνεται στο 75%. Η βλαστική ικανότητα των σπόρων μετράται ως το ποσοστό των σπόρων που φυτρώνουν σε θερμοκρασία 20-30°C μέσα σε 7 ημέρες (ΥΠΑΑΤ, 2014).

1.6.2 Λίπανση

Σε γενικές γραμμές και εφόσον δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία για την θρεπτική κατάσταση του εδάφους προτείνεται η προσθήκη χωνεμένης κοπριάς (περίπου 2-4 τόνοι/στρέμμα) πριν τη σπορά. Η κοπριά είναι προτιμότερο να προστίθεται στην προηγούμενη καλλιέργεια, αν όμως δοθεί στο σπανάκι θα πρέπει να είναι καλά χωνευμένη και να ενσωματωθεί στο έδαφος αρκετά πριν από τη σπορά με μια βαθιά άροση (ΥΠΑΑΤ, 2014).

Όσον αφορά την προσθήκη ανόργανων λιπασμάτων, σύμφωνα με τον Σπάρτση (1995), για την παραγωγή 3.000 kg προϊόντος ανά στρέμμα αφαιρούνται από το έδαφος 14,4 kg N, 5,4 kg P₂O₅ και 15 kg K₂O. Οι απαιτήσεις αυτές μιας

καλλιέργειας σπανακιού υπερκαλύπτονται με την προσθήκη στο έδαφος των παρακάτω λιπαντικών στοιχείων και λιπασμάτων κατά στρέμμα:

- P₂O₅ 8-10 kg = 40-50Kg 0-20-0
- K₂O 15-20 kg = 30-40Kg 0-0-50
- N 15-20 kg = 60-80Kg 26-0-0

Τα φωσφοροκαλιούχα λιπάσματα ενσωματώνονται πριν τη σπορά, ενώ τα αζωτούχα προστίθενται κυρίως ή αποκλειστικώς με επιφανειακές λιπάνσεις και με λίπασμα νιτρικής μορφής. Η τελευταία αζωτούχος λίπανση συνιστάται να εφαρμόζεται τουλάχιστον 15 ημέρες πριν από τη συγκομιδή. Η εφαρμογή αζωτούχου λίπανσης μπορεί να γίνει και με τον ψεκάσμο του φυλλώματος των φυτών με ουρία (συγκέντρωση 1,5%) 15 ημέρες μετά την ανάδυση των νεαρών φυταρίων (ΥΠΑΑΤ, 2014). Για αύξηση παραγωγής και καλύτερη πρωιμότητα, εφαρμόζονται ψεκασμοί με γιββερελλικό οξύ (10-20 mg/l) και προσκολλητικό, 20 – 30 ημέρες πριν τη συγκομιδή (Παρασκευόπουλος, 2006). Ανάλογα με τον τύπο του εδάφους και τις συνθήκες ανάπτυξης, το σπανάκι μπορεί να εμφανίσει κατά καιρούς τροφopenία μαγνησίου και κυρίως σε εδάφη πλούσια σε κοπριά, τροφopenίες βορίου ή μολυβδαινίου.

Επισημαίνεται ότι θα πρέπει να αποφεύγονται οι υπερβολικές ποσότητες αζωτούχων λιπασμάτων γιατί παρατηρείται συσσώρευση νιτρικών στα φύλλα. Επιπρόσθετα, θα πρέπει η εφαρμογή των αζωτούχων λιπάνσεων να προσαρμόζεται λαμβάνοντας υπόψη τις βροχοπτώσεις και την εφαρμογή της άρδευσης ώστε να αποφεύγεται η έκπλυση του αζώτου σε βαθύτερα στρώματα του εδάφους (ΥΠΑΑΤ, 2014).

1.6.3 Άρδευση

Η άρδευση μπορεί να γίνει με τέσσερις τρόπους: α) Με στάγδην άρδευση (αν το έδαφος είναι επίπεδο) β) Με αυλάκια (αν τα φυτά είναι σε αναχώματα) γ) με καταιονισμό και δ) με κατάκλυση. Ξεκινά αμέσως μετά τη σπορά όπου πραγματοποιούνται ελαφρά ποτίσματα, ανάλογα και με τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Για τη διατήρηση της υγρασίας του εδάφους σε επιθυμητά για τα φυτά επίπεδα πραγματοποιούνται ποτίσματα κάθε 10-12 ημέρες σε φθινοπωρινές-χειμερινές καλλιέργειες και κάθε 4-6 ημέρες σε ανοιξιάτικες - καλοκαιρινές καλλιέργειες (ΥΠΑΑΤ, 2014).

Η ποσότητα και η συχνότητα εφαρμογής των ποτισμάτων θα πρέπει να προσδιορίζονται με ιδιαίτερη προσοχή λαμβάνοντας υπόψη τον τύπο του εδάφους, τις περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία, φωτοπερίοδος, ένταση φωτός, σχετική υγρασία, κατακρημνίσεις) και τον τρόπο εφαρμογής (συνήθως κατάκλιση ή καταιονισμός). Γενικά, επειδή το σπανάκι έχει βαθιά κεντρική ρίζα και επιπόλαιο ριζικό σύστημα (επιφανειακό), η ποσότητα άρδευσης πρέπει να είναι τόση, ώστε το νερό να φτάσει σε βάθος 20 - 30 cm (Δημητράκης, 1998). Επίσης, η άρδευση θα πρέπει να πραγματοποιείται τις ώρες με χαμηλή ένταση φωτός και θερμοκρασία (βράδυ) για να αποφεύγεται η έντονη εξατμισοδιαπνοή και η εξάπλωση ασθενειών (περονόσπορος, κ.α.).

Η ποιότητα του νερού άρδευσης επηρεάζει την παραγωγή και όταν χρησιμοποιείται νερό με ηλεκτρική αγωγιμότητα 2,2 dS/μ. η απόδοση μειώνεται περίπου κατά 10%, ενώ όταν χρησιμοποιείται νερό με ηλεκτρική αγωγιμότητα 3,5 dS/μ. ή 5,7 dS/μ. οι απώλειες ανέρχονται στο 25% και 50%, αντίστοιχα (ΥΠΑΑΤ, 2014).

1.6.4 Ζιζανιοκτονία

Η αντιμετώπιση των ζιζανίων είναι πολύ σημαντική στη καλλιέργεια του σπανακιού καθώς το φυτό δεν είναι ιδιαίτερα ανταγωνιστικό εναντίον τους, με άμεση επίπτωση τη μεγάλη μείωση της παραγωγής. Η μείωση του πληθυσμού των ζιζανίων μπορεί να γίνει, αρχικά με την εφαρμογή καλλιεργητικών και μηχανικών μέτρων και στη συνέχεια, αν κριθεί απαραίτητο και δεν πρόκειται για βιολογική καλλιέργεια, με την εφαρμογή εγκεκριμένων χημικών σκευασμάτων. Φυσικά, η εφαρμογή των χημικών μέσων μπορεί να γίνει εξ' αρχής προσπαρτικά αν και αποφεύγεται όταν δεν υπάρχει σοβαρή αιτία.

Στα καλλιεργητικά και μηχανικά μέτρα περιλαμβάνονται το βοτάνισμα, η πυκνή σπορά (μικρότερες αποστάσεις μεταξύ των γραμμών), η προσαρμογή του χρόνου σποράς, η εδαφοκάλυψη με διάφορα αδρανή υλικά ή με υπολείμματα φυτικών ειδών, η ηλιοαπολύμανση, η θερμική αντιμετώπιση (φλόγα, υπέρυθρη ακτινοβολία) και τα σκαλίσματα με κατάλληλα μηχανήματα.

Η χημική ζιζανιοκτονία διακρίνεται σε προφυτρωτική και μεταφυτρωτική, αν και στο σπανάκι μας ενδιαφέρει περισσότερο ο έλεγχος των ζιζανίων προφυτρωτικά. Η καταπολέμηση των ζιζανίων προφυτρωτικά γίνεται όταν το έδαφος

έχει προετοιμαστεί και είναι καθαρό από ζιζάνια. Τα ζιζανιοκτόνα που συνιστώνται είναι το Cycloate και το Lenacil. Το Cycloate εφαρμόζεται λίγο πριν τη σπορά σε καλά κατεργασμένο και ψιλοχωματισμένο έδαφος και πρέπει να ενσωματώνεται σε βάθος 3-5cm (330-470gr/στρέμμα). Το Lenacil εφαρμόζεται σε ποσότητα 80-100gr/στρέμμα μετά τη σπορά και πριν φυτρώσει η καλλιέργεια και πρέπει να ενσωματώνεται σε βάθος σποράς 1,5cm. Τα ζιζανιοκτόνα αυτά όμως δεν συνιστώνται σε αμμώδη εδάφη (Ολύμπιος, 1994). Σε περίπτωση που εμφανιστούν, μεταφυτρωτικά, στενόφυλλα - αγροστόδη ζιζάνια, χρησιμοποιούμε σκεύασμα με δραστική ουσία το Flusifop butyl (π.χ. FUSILADE). Τέλος, πάλι μεταφυτρωτικά για την καταπολέμηση πλατύφυλλων ζιζανίων, μπορούμε να εφαρμόσουμε BETANAL (με δραστική ουσία Fenmedifan), το οποίο είναι εκλεκτικό στα φυτά της οικογένειας Chenopodiaceae (Σπάρτσης, 1995).

1.6.5 Συγκομιδή – Αποδόσεις

Η συγκομιδή αρχίζει όταν τα φυτά αποκτήσουν εμπορεύσιμο μέγεθος και γίνεται τμηματικά. Το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από τη σπορά μέχρι τη συγκομιδή διαρκεί από 35-70 ημέρες, ανάλογα με τον ρυθμό ανάπτυξης της καλλιέργειας, που επηρεάζεται από την εποχή και τις κλιματικές συνθήκες που επικρατούν. Οι περισσότερες φυτείες είναι έτοιμες για συγκομιδή μετά από 40-50 ημέρες όταν το φυτό έχει αναπτύξει πλήρως 5-6 μεγάλα φύλλα. Εάν παραμείνει στον αγρό συνεχίζει να παράγει φύλλα ενώ τα ώριμα φύλλα γερνούν και ξηραίνονται (Ολύμπιος, 1994).

Κατά τη συγκομιδή, το φυτό κόβεται ολόκληρο κάτω από τη ροζέτα, πλένεται και μεταφέρεται στην αγορά. Όταν η καλλιέργεια προορίζεται για κονσερβοποίηση, η συγκομιδή γίνεται με μηχανικά μέσα και η κοπή γίνεται στη βάση των φύλλων. Στη περίπτωση αυτή, το φυτό αναβλαστάνει και ακολουθεί δεύτερη συγκομιδή. Καλής ποιότητας προϊόν θεωρείται αυτό που δεν έχει αναπτύξει ανθικό στέλεχος και δεν έχει κιτριτισμένα, ξερά και μωλωπισμένα φύλλα. Πρώιμες ποικιλίες σπανακιού, οι οποίες φυτεύονται για πρώιμη συγκομιδή κινδυνεύουν να σχηματίσουν ανθικά στελέχη καθώς οι ημέρες μεγαλώνουν αργά την άνοιξη και τις αρχές του καλοκαιριού (Ολύμπιος, 1994, Σπάρτσης, 1991).

Η συγκομιδή γίνεται το απόγευμα και το προϊόν μεταφέρεται την ίδια νύχτα ή πολύ νωρίς την επόμενη ημέρα στην αγορά. Για να διατηρηθεί η ποιότητά του, θα

πρέπει η θερμοκρασία του προϊόντος να μειωθεί αμέσως μετά τη συγκομιδή για να αποφευχθεί η μάρανση και απώλεια βάρους. Για να γίνει αυτό εφαρμόζεται ψύξη υπό κενό (vacuum cooling), όπου η θερμοκρασία από 19.5°C κατέρχεται στους 2.8°C σε 10 λεπτά ή ψύξη με βεβιασμένο ψυχρό αέρα όπου χρειάζονται 4 ώρες για να μειωθεί η θερμοκρασία του προϊόντος από 16.7°C μέχρι -1.1 °C (Ολύμπιος, 1994).

Οι αποδόσεις ποικίλλουν σημαντικά, ανάλογα με την περιοχή και την εποχή καλλιέργειας από 1.000-3.000 kg/στρέμμα. Οι φθινοπωρινές καλλιέργειες δίνουν υψηλότερες αποδόσεις (2000-3000 kg/στρ.), ενώ οι ανοιξιάτικες χαμηλότερες (1000-1500 kg/στρ.). Η παραγωγή είναι μειωμένη όταν οι θερμοκρασίες είναι πολύ χαμηλές, όπως επίσης όταν επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες και μεγάλη φωτοπερίοδος κατά την ανάπτυξη της καλλιέργειας, γιατί ενθαρρύνουν την ανάπτυξη ανθοφόρων βλαστών σε βάρος του σχηματισμού φύλλων (Ολύμπιος, 1994).

1.7 ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ – ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

Οι άριστες συνθήκες για την αποθήκευση του σπανακιού είναι η θερμοκρασία των 0°C και πολύ υψηλά επίπεδα σχετικής υγρασίας 90 - 95%. Σε αυτές τις συνθήκες διατηρείται σε πολύ καλή κατάσταση για 10 - 14 ημέρες (Sackett, 1975). Μεγάλο πρόβλημα δημιουργείται από την βακτηριδιακή μαλακή σήψη, εάν επικρατήσουν υψηλότερες θερμοκρασίες. Για να περιοριστεί το πρόβλημα στο ελάχιστο, επιβάλλεται αμέσως μετά τη συλλογή και διαλογή, να ακολουθήσει πρόψυξη, αφαίρεση της περισσευούσης υγρασίας από τα φύλλα και προσεκτική μεταχείριση, ώστε να αποφεύγονται μηχανικές ζημιές (Ολύμπιος, 1994).

1.8 ΕΧΘΡΟΙ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Το σπανάκι προσβάλλεται από αρκετούς εχθρούς και ασθένειες, οι οποίοι αν δεν περιοριστούν, μπορούν να προκαλέσουν σημαντική ζημιά στην ανάπτυξη του φυτού αλλά και στα ποιοτικά του χαρακτηριστικά.

Οι σημαντικότεροι εχθροί της καλλιέργειας είναι οι παρακάτω (Θανόπουλος, 2008, ΥΠΑΑΤ, 2014):

- 1) **Οι διάφορες Αφίδες** (*Nasonovia ribisnigri* (αφίδα του Σπανακιού), *Hyperomyzus lactucae*, *Aulacorthum solani*, *Myzus persicae* (πράσινη αφίδα της ροδακινιάς) και *Macrosiphum euphorbiae*, με πιο κοινή και σημαντική την *N. Ribisnigri*). Αρχικά αναπτύσσονται στα κατώτερα φύλλα και στη συνέχεια μετακινούνται προς τα πάνω. Προκαλούν μεγάλη καταστροφή καθώς απομυζούν τους χυμούς, προκαλώντας μάρανση στα φύλλα, εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες μελιτωδών ουσιών και μεταδίδουν τον ιό της αγγουριάς. Αντιμετωπίζονται με κατάλληλα εντομοκτόνα (Comfidor) αλλά και με βιολογικές μεθόδους, όπως εισαγωγή παρασίτων και αρπακτικών (*Aphidoletes aphidimyza*, *Chrysoperla carnea*, *Aphidius colemani*, *Aphidius ervi*).
- 2) **Ο φυλλορύκτης** (*Pegomyia hyoscyami*). Είναι ο σημαντικότερος εχθρός του σπανακιού. Δημιουργεί πολλές μικρές τρύπες στα φύλλα, που εμφανίζονται στο τέλος της άνοιξης. Καταπολεμάται δύσκολα με εντομοκτόνα, συχνά σκαλίσματα το χειμώνα και ωφέλιμους νηματώδεις.
- 3) **Ο κοινός τετράνυχος** (*Tetranychus urticae*). Κατασκευάζει πλούσιο μετάξινο ιστό. Καταπολεμάται είτε με το αρπακτικό άκαρι *Prytoseiulus persimilis*, είτε με ακαρεοκτόνα.
- 4) **Τα διάφορα έντομα εδάφους όπως σιδηροσκώληκες** (*Agriotes* spp.), **καραφατμέ** (*Agrotis segetum*, *A. ypsilon*) **και πρασάγγουρας ή κρεμμυδοφάγος** (*Gryllotalpa gryllotalpa*). Προκαλούν ζημιές στο ριζικό σύστημα των φυτών, με αποτέλεσμα αυτά να μαραίνονται και να σπάζουν εύκολα. Ευνοούνται σε υγρά εδάφη και αντιμετωπίζονται με εντομοκτόνα εδάφους.
- 5) **Ο αλευρώδης** (*Trialeurodes vaporariorum*, *Bemisia tabaci*). Προκαλεί μερική φυλλόπτωση, κάλυψη των φυτικών οργάνων με άφθονα μελιτώματα, ανάπτυξη καπνιάς στα φύλλα και συνεπώς ποιοτική υποβάθμισή τους. Αντιμετωπίζεται με εντομοκτόνα και με βιολογικές μεθόδους, όπως εξαπόλυση παρασίτων (*Encarsia Formosa*), αρπακτικών (*Macrolophus caliginosus*) και ψεκασμό με σκεύασμα του μύκητα (*Beauveria bassiana*).
- 6) **Οι νηματώδεις των ριζών** (*Meloidogyne* spp., *Heterodera* spp.) όπως (*Frankliniella occidentalis*) *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* και άλλα είδη. Προσβάλλουν το υπέργειο τμήμα του φυτού αλλά προκαλούν και σαπίσματα στις ρίζες, των οποίων τα συμπτώματα

εκδηλώνονται στο υπέργειο τμήμα (μαρασμός, χλωρώσεις φυλλώματος, καχεξία). Η καταπολέμησή τους είναι ιδιαίτερα δύσκολη, για αυτό λαμβάνονται προληπτικά και καλλιεργητικά μέτρα όπως απολύμανση εργαλείων, χρήση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού, αμειψισπορά, αγρανάπαυση, συστηματική καταπολέμηση ζιζανίων ξενιστών, κ.α. Επίσης, εφαρμόζονται κατάλληλα νηματωδοκτόνα με μεγάλο, όμως, κόστος.

Οι κυριότερες ασθένειες, οι οποίες προσβάλλουν την καλλιέργεια του σπανακιού παρατίθενται παρακάτω (Ολύμπιος, 1994, Θανόπουλος, 2008, ΥΠΑΑΤ, 2014).

- 1. Περονόσπορος του σπανακιού (*Bremia lactucae*).** Ο μύκητας προκαλεί χλωρωτικές κηλίδες στα κάτω φύλλα, όταν επικρατούν συνθήκες υψηλής υγρασίας και στη συνέχεια σήψη των φύλλων. Για τον σχηματισμό των κονιδίων απαιτείται πολύ υψηλή υγρασία. Σε περιόδους υψηλής υγρασίας εμφανίζονται οι καρποφορίες του μύκητα, αρχικά λευκές και αργότερα ιώδεις μάζες από κονιδιοφόρους και κονίδια. Δευτερογενείς προσβολές γίνονται με τα κονίδια που μεταφέρονται με τον αέρα. Οι άριστες συνθήκες για βλάστηση σπορίων του μύκητα είναι 9°C και υψηλή υγρασία. Γενικά, υγρός, ομιχλώδης και σχετικά ψυχρός (6-11°C) καιρός ευνοεί την ασθένεια. Ο έλεγχος της ασθένειας επιτυγχάνεται με την καλλιέργεια ανθεκτικών ποικιλιών και υβριδίων και με την εφαρμογή διασυστηματικών (Ripost, Alliet) και μυκητοκτόνων επαφής.
- 2. Ανδρομυκώσεις (*Fusarium spp.*, *Verticillium spp.*).** Τα παθογόνα ζουν στο έδαφος και εγκαθίστανται στα αγγεία του ξύλου με αποτέλεσμα τα φυτά να γίνονται καχεκτικά ή να αποξηραίνονται. Στα αρχικά στάδια η ασθένεια εκδηλώνεται με μαρασμό μεμονωμένων φυλλιδίων ή φύλλων, ενώ αργότερα στα ανώτερα φύλλα εμφανίζεται χλώρωση μεταξύ των νευρώσεων και εν συνεχεία νέκρωση των χλωρωτικών ιστών, μαρασμός και πτώση των φύλλων. Χαρακτηριστικό σύμπτωμα των αδρομυκώσεων είναι καστανός ή βαθύς καστανός μεταχρωματισμός των αγγείων του ξύλου που εμφανίζεται σε επιμήκη ή εγκάρσια τομή του στελέχους. Η άριστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη του μύκητα είναι 21°C, δηλ. δημιουργεί προβλήματα τέλος άνοιξης έως αρχές φθινοπώρου. Η αντιμετώπιση είναι πολύ δύσκολη και θα πρέπει να λαμβάνονται προληπτικά και καλλιεργητικά μέτρα όπως αποφυγή

υπερβολικής υγρασίας στο έδαφος, εφαρμογή 3-4ετούς αμειψισποράς, απομάκρυνση προσβεβλημένων φυτών, καταστροφή υπολειμμάτων της καλλιέργειας, καλλιέργεια σε ψυχρή εποχή και απολύμανση του εδάφους στα πρώτα στάδια ανάπτυξης με κατάλληλα μυκητοκτόνα.

3. **Σκληρωτινίαση** (*Sclerotinia sclerotiorum*). Προκαλεί σήψη του λαιμού του φυτού όπου σχηματίζεται περιοχή λευκού χρωματισμού (μυκήλιο) με μαύρα στίγματα (σκληρώτια). Η ασθένεια ευνοείται από υψηλή υγρασία εδάφους και για αυτό θα πρέπει να αποφεύγεται. Πρέπει να λαμβάνονται προληπτικά μέτρα όπως 3-4ετής αμειψισπορά, απομάκρυνση προσβεβλημένων φυτών και απολύμανση του εδάφους. Σε μεγάλη προσβολή εφαρμόζεται χημική καταπολέμηση με κατάλληλα μυκητοκτόνα.
4. **Τήξη σπορείων** (*Pythium spp.*, *Rhizoctonia solani*). Καταστρέφει τα νεαρά φυτάρια στα σπορεία, προκαλώντας σήψη στο λαιμό τους. Καταπολεμείται με προληπτικά και καλλιεργητικά μέτρα καθώς και με ψεκασμό με Thiram και Captan.
5. **Μωσαϊκό**. Η ασθένεια αυτή οφείλεται στον ιό του μωσαϊκού της αγγουριάς. Τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται σαν στικτός χρωματισμός στα νεαρά φύλλα, τα οποία στη συνέχεια κιτρινίζουν και ξηραίνονται. Ο ιός εξαπλώνεται στα παλαιά φύλλα και προκαλείται νανισμός του φυτού. Ο ιός μεταδίδεται με την πράσινη αφίδα. Δεν υπάρχει χημική καταπολέμηση παρά μόνο προληπτικά μέτρα όπως η χρήση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού, η καλλιέργεια ανθεκτικών ποικιλιών και υβριδίων και η καπολέμηση των αφίδων που μεταδίδουν τον ιό.

1.9 ΤΟ ΒΟΡΙΟ (B)

Το βόριο είναι ένα ξεχωριστό χημικό στοιχείο τόσο για τις χημικές του ιδιότητες όσο και για το βιολογικό του ρόλο στα φυτά. Είναι μέλος της ομάδα V των μεταλλοειδών στοιχείων και έχει ενδιάμεσες ιδιότητες μεταξύ μεταλλικών και μη μεταλλικών στοιχείων (Marschner, 1995). Είναι βασικό ιχνοστοιχείο για τα φυτά, τα οποία έχουν χαμηλές απαιτήσεις σε αυτό, σε σχέση με τα υπόλοιπα θρεπτικά στοιχεία εκτός από το Mo και τον Cu. Επίσης, είναι μοναδικό ως ιχνοστοιχείο γιατί τα όρια μεταξύ έλλειψης και τοξικότητας είναι κοντινά (Mortvedt κ.α., 1991). Είναι

ευρέως διαδεδομένο τόσο στη λιθόσφαιρα όσο και στην υδρόσφαιρα και η συγκέντρωση του κυμαίνεται από 5-10 mg/kg στα πετρώματα, 3-30 μg/kg στα ποτάμια και 4,5 mg/L στον ωκεανό (Mayuki και Toru, 2008). Στα βιολογικά συστήματα, συμπεριλαμβανομένων των φυτικών κυττάρων, απαντάται με τη μορφή του βορικού οξέος (H_3BO_3). Πρόκειται για ένα πολύ ασθενές οξύ κατά Lewis, με $K_a = 6 \times 10^{-10}$, ενώ η δισταμένη μορφή του είναι το τετραϋδρόξυ-βορικό ανιόν (H_4BO_4). Αυτές οι δύο χημικές μορφές του βορίου είναι και οι μοναδικές που απαντώνται στα φυτικά κύτταρα εξαιτίας των χαμηλών συγκεντρώσεων και των τιμών pH που επικρατούν (Power and Woods, 1997). Συγκεκριμένα, στο κυτταρόπλασμα, όταν το pH είναι σε φυσιολογικά επίπεδα (περίπου 7,5), η επικρατούσα μορφή του B είναι το αδιάστατο μόριο (βορικό οξύ) κατά περίπου 98%, ενώ λιγότερο από το 2% ανιχνεύεται ως βορικό ανιόν (Brown et al., 2002, Woods, 1996).

Οι κύριες λειτουργίες του B σχετίζονται με τη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος, την απόθεση λιγνίνης και τη δομή του κυτταρικού τοιχώματος, καθώς και την ακεραιότητα των βιομεμβρανών (Hänsch και Mendel, 2009).

1.9.1 Μορφές του B στο έδαφος

Το βόριο βρίσκεται σε τέσσερις μορφές στο έδαφος: 1) ως συστατικό διαφόρων ορυκτών, 2) προσροφημένο στα κολλοειδή της αργίλου και στις επιφάνειες των ένυδρων οξειδίων του σιδήρου (Fe^{2+} , Fe^{3+}) και του αργιλίου (Al^{3+}), 3) δεσμευμένο στην εδαφική οργανική ύλη και 4) ως ελεύθερο βορικό οξύ αλλά και ως βορικό ανιόν στο εδαφικό διάλυμα. Το αδιάστατο βορικό οξύ αποτελεί την κύρια μορφή στο εδαφικό διάλυμα και ταυτόχρονα τη βασική μορφή με την οποία το βόριο απορροφάται από τις ρίζες, σε τιμές pH από 5-7 ενώ σε pH ανώτερο του 7 το βορικό οξύ προσλαμβάνει υδροξύλια από το νερό και σχηματίζει το βορικό ανιόν, το οποίο είναι απορροφάται δύσκολα από τις ρίζες. Γενικά, το εδαφικό pH επηρεάζει σημαντικά τη διαθεσιμότητα του B στο έδαφος (Δροσόπουλος, 1992).

Το βορικό οξύ έχει μεγάλη πτητικότητα ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες, είναι πολύ ευκίνητο κυρίως σε εδάφη που είναι φτωχά σε κολλοειδή της αργίλου και βρίσκεται σε μεγαλύτερες ποσότητες σε διαλύματα παρά σε ορυκτά (Μήτσιος, 2004).

1.9.2 Πηγές και διαθεσιμότητα στο έδαφος

Οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαθεσιμότητα του Βορίου στο έδαφος είναι οι παρακάτω (Μήτσιος, 2004):

- Η μηχανική σύσταση του εδάφους και ο τύπος της αργίλου.
- Η αντίδραση του εδάφους (pH).
- Η οργανική ουσία του εδάφους.
- Η αλληλεπίδραση του Βορίου με άλλα θρεπτικά στοιχεία.
- Οι κλιματικές συνθήκες.
- Φυτικοί παράγοντες.

Η διαθεσιμότητα του βορίου στο έδαφος είναι περιορισμένη σε πολλές περιοχές του κόσμου. Η κύρια αιτία έλλειψης βορίου σε αυτές τις περιοχές είναι η υψηλή βροχόπτωση. Στο εδαφικό διάλυμα το βόριο απαντάται κυρίως ως ουδέτερο μόριο (βορικό οξύ) που μπορεί εύκολα να εκπλυθεί λόγω της υψηλής του διαλυτότητας και της μη συγκράτησής του από τα αρνητικά φορτία των κολλοειδών της αργίλου (Shorrocks, 1997, Yan et al., 2006). Αντίθετα, σε ξηρές και ημίξηρες περιοχές, το υπόγειο νερό ανέρχεται στην επιφάνεια του εδάφους μέσω της τριχοειδούς ανύψωσης και εξατμίζεται συσσωρεύοντας τις διαλυτές ουσίες στο έδαφος. Όταν, επιπλέον, τα υπόγεια ύδατα έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε βόριο, τότε η συγκέντρωσή του στην επιφάνεια του εδάφους φτάνει σε τοξικά επίπεδα για τα φυτά και μειώνει την απόδοση των καλλιεργειών (Yau, 1995). Ελαφρά αμμώδη εδάφη, όπου η έκπλυση και οι συνεχείς καλλιεργείες έχουν μειώσει σημαντικά τα αποθέματα βορίου στο έδαφος, αλλά και εδάφη που έχουν βελτιωθεί για την οξύτητά τους, εμφανίζουν πολύ συχνά συμπτώματα έλλειψης βορίου (Στυλιανίδης κ.ά., 2002).

Το Β βρίσκεται στο έδαφος κυρίως σε γρανιτικά ορυκτά παρά σε βασαλτικά. Εκτός από τα κοινά ορυκτά των ιζηματογενών πετρωμάτων, οι μαρμαρυγίες έχουν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε Β. Άλλα ορυκτά που περιέχουν Βόριο είναι τα εξής (Μήτσιος, 2004):

- Κερνίτης, ένυδρο άλας βορικού οξέος ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)
- Κολεμανίτης, ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

- Κοτοΐτης, σύμπλοκα με Mg και Fe, Mg_2FeBO_5 και $Mg_3(BO_3)_2$
- Τουρμαλίνης, με πυριτικά σύμπλοκα του Βορίου.

Ο τουρμαλίνης είναι το κυριότερο ορυκτό που βρίσκεται στα εδάφη και περιέχει B (3-4%). Το ορυκτό αυτό είναι αδιάλυτο και ανθεκτικό στις κλιματικές μεταβολές (αποσάθρωση), με αποτέλεσμα η απελευθέρωση του μικροστοιχείου να είναι βραδεία (Halvin et al., 1999). Κατά την αποσάθρωσή του, το Βόριο απελευθερώνεται ως βορικό ανιόν ή ως βορικό οξύ (Παναγιωτόπουλος, 2008).

Στα πυριγενή, μεταμορφωσιγενή, ιζηματογενή πετρώματα, το βόριο εμφανίζεται με την μορφή πυριτικών ορυκτών, τα οποία είναι ανθεκτικά στην αποσάθρωση και δεν είναι άμεσα διαθέσιμα για τα φυτά. Η κινητοποίηση των δυσκίνητων μορφών βορίου προκύπτει κατά την αποσάθρωση, που περιλαμβάνει αντιδράσεις οξέος-βάσης, μείωσης της οξειδωσης και διάλυσης-κατακρήμνισης. Η κυρίαρχη μορφή βορίου που διαχέεται από τα πρωτογενή ορυκτά στο εδαφικό διάλυμα είναι το βορικό οξύ (H_3BO_3). Αυτή η μορφή βορίου είναι ευκίνητη και εκπλύνεται εύκολα (Ross et al., 1997).

Το ολικό Βόριο που περιέχεται στα διάφορα εδάφη κυμαίνεται από 20 μέχρι 200 ppm (Μήτσιος, 1997). Το περισσότερο από αυτό δεν μπορεί να προσληφθεί από τα φυτά, καθώς το διαθέσιμο (υδατοδιαλυτό) κυμαίνεται από 0,4 μέχρι 5 ppm (Gurta, 1979). Αυτό οφείλεται στη συγκράτησή του από τα κολλοειδή της αργίλου αλλά και από τα οργανικά κολλοειδή.

Τα εδάφη μπορούν να χωριστούν σε δύο τύπους, με βάση τη συνολική συγκέντρωση του βορίου. Εδάφη με χαμηλή περιεκτικότητα σε βόριο (<10 mg B/Kg) ή εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε βόριο (10-100 mg B/Kg) (Power and Woods, 1997).

1.9.3 Ο ρόλος του B σε διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες του φυτού

Σύμφωνα με τους Fageria και Gheyi (1999) οι πιο σημαντικές λειτουργίες του βορίου στα φυτά είναι οι ακόλουθες:

- Είναι απαραίτητο για τη βλάστηση των γυρεόκοκκων και την αύξηση του γυρεοσωλήνα
- Είναι απαραίτητο για τον σχηματισμό σπόρων και κυτταρικού τοιχώματος

- Είναι σημαντικό στον σχηματισμό πρωτεϊνών
- Όταν είναι ανεπαρκές αναστέλλεται η σύνθεση των κυτοκινινών
- Παίζει μεγάλο ρόλο στην σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων
- Σε συνθήκες έλλειψης συσσωρεύεται $\text{NO}_3\text{-N}$ στις ρίζες, τα φύλλα και τα στελέχη, δείχνοντας ότι αναστέλλεται η αναγωγή NO_3^- και η σύνθεση αμινοξέων
- Διευκολύνει τη μεταφορά σακχάρων
- Φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά θρεπτικών στοιχείων μέσω των μεμβρανών
- Αυξάνει τον αριθμό των λοβών ανά ταξιανθία στα όσπρια
- Επηρεάζει την κυτταρική αύξηση και επιμήκυνση
- Εμπλέκεται στον μεταβολισμό N και P
- Βελτιώνει τη βλάστηση των σπόρων και τη ζωνρότητα των σποροφύτων
- Σχετίζεται κυρίως με την πηκτίνη του κυτταρικού τοιχώματος και τα φυσικά χαρακτηριστικά του αναπτυσσόμενου κυτταρικού τοιχώματος.

Θεωρείται, επίσης, ότι εμπλέκεται στην κυτταρική διαίρεση, στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και του ινδολυλοξικού οξέος, καθώς επίσης στο μεταβολισμό των φαινολών. Ωστόσο, η μοριακή βάση αυτών των ρόλων είναι ως επί τον πλείστον άγνωστη (Loomis και Durst, 1992, Marschner, 1995, Goldbach, 1997, Goldbach et al., 2001).

Το βόριο συμμετέχει στη δομή της πηκτίνης του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος (το δευτερογενές κυτταρικό τοίχωμα περιέχει ελάχιστη πηκτίνη) (Kaneko et al., 1996; Kobayashi et al., 1996). Άλλες εργασίες αποσαφήνισαν ότι το βορικό οξύ λειτουργεί ως συνδετικό μόριο μεταξύ των αλυσίδων ραμνογαλακτουρονάνης II (RG-II) της πηκτίνης και συγκεκριμένα μεταξύ των υπολειμμάτων της απιόζης των πηκτινικών αλυσίδων (O'Neill et al., 1996) και ότι η απουσία των παραπάνω διαδεσμών, λόγω έλλειψης βορίου, έχει δραματικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη των φυτών (O'Neill et al., 2001). Η συμμετοχή του βορίου στην πηκτίνη επηρεάζει όχι μόνο τη σταθερότητα και ελαστικότητα των κυτταρικών τοιχωμάτων, διαμορφώνοντας έτσι τα μηχανικά τους χαρακτηριστικά, αλλά σχετίζεται και με το μέγεθος των πόρων του κυτταρικού τοιχώματος, διαδραματίζοντας έτσι και λειτουργικό ρόλο (Fleischer et al., 1998; Fleischer et al., 1999). Τα αποτελέσματα πολλών μελετών έχουν δείξει ότι η έλλειψη βορίου αλλάζει

τη δομή του κυτταρικού τοιχώματος, προκαλώντας μειωμένη αντίσταση στη μηχανική καταπόνηση, μεγέθυνση των κυτταρικών τοιχωμάτων και απώλεια της επαφής μεταξύ των κυττάρων (Loomis and Durst, 1992). Όσο μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πηκτίνες έχουν τα κυτταρικά τοιχώματα ενός φυτικού είδους τόσο μεγαλύτερες είναι οι απαιτήσεις του σε βόριο προκειμένου να σχηματιστούν σωστά τα κυτταρικά τους τοιχώματα (Hu et al., 1996). Έτσι εξηγούνται οι μεγαλύτερες απαιτήσεις σε Β των δικοτυλήδων σε σχέση με τα μονοκοτυλήδων φυτά.

Υπάρχει πλήθος πειραματικών δεδομένων σύμφωνα με τα οποία το βόριο σχετίζεται τόσο με τη δομική όσο και τη λειτουργική ακεραιότητα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (Blevins and Lukaszewski, 1998). Ο ρόλος του Β στη λειτουργία της κυτταροπλασματικής μεμβράνης φαίνεται να σχετίζεται με την ικανότητά του να σχηματίζει σύμπλοκα με συστατικά των μεμβρανών με δομή *cis*-διόλης, όπως οι γλυκοπρωτεΐνες και τα γλυκολιπίδια. Η τροφοπενία βορίου αλλάζει την περατότητα των κυτταροπλασματικών μεμβρανών (Robertson and Loughman, 1974; Pollard et al., 1977; Wang et al., 1999; Alpaslan and Gunes, 2001), επηρεάζει τη ροή ιόντων μέσω της δραστηριότητας των μεμβρανικών αντλιών πρωτονίων (Ferrol et al., 1993; Obermeyer et al., 1996) και της δραστηριότητας άλλων μεμβρανικών ενζύμων (Goldbach et al., 1990; Barr and Crane, 1991; Lawrence et al., 1995; Cara et al., 2002). Οι επιδράσεις αυτές ίσως να οφείλονται στην οξειδωτική καταστροφή και στις δομικές μετατροπές των κυτταροπλασματικών μεμβρανών που προκαλούνται από ενεργές ρίζες οξυγόνου (Tanada, 1995). Ο σχηματισμός των ενεργών ριζών οξυγόνου οφείλεται στην υπερβολική συσσώρευση φαινολικών ουσιών λόγω έλλειψης βορίου. Αυτές ενεργοποιούν ένζυμα που καταλύουν τις αντιδράσεις τους και παρουσία φωτός παράγουν τις ενεργές ρίζες οξυγόνου.

Το Βόριο σχετίζεται με την συγκέντρωση μίας εκ των πλέον σημαντικών φυτοορμονών, του ινδολο-3-οξικού οξέως (ΙΑ), ευρύτατα γνωστού ως αυξίνη. Από διάφορες συγκλίνουσες αναφορές τεκμηριώνεται η άποψη ότι η τροφοπενία Β συνδέεται με ισχυρή συγκέντρωση της αυξίνης, η οποία προκαλεί αναστολή της ανάπτυξης των αυξανόμενων μερών του φυτού. Η νέκρωση των ακραίων μεριστωμάτων, που αποτελεί χαρακτηριστικό σύμπτωμα τροφοπενίας Β, μπορεί σύμφωνα με έρευνες να οφείλεται σε συσσώρευση αυξίνης και φαινολών. Η συσσώρευση φαινολικών ενώσεων είναι μία από τις άμεσες συνέπειες της τροφοπενίας Βορίου. Οι φαινόλες υπό κανονικές συνθήκες αδρανοποιούνται λόγω σχηματισμού βορικών συμπλοκών, ενώ κατά μία άποψη η συσσώρευση φαινολών

εξουδετερώνει το ένζυμο ΠΑ-οξειδάση με τελική συνέπεια την πλεονασματικότητα της αυξίνης. Η ΠΑ-οξειδάση είναι το ένζυμο που ρυθμίζει την συγκέντρωση της αυξίνης στο φυτό. Η περίσσεια αυξίνης είναι υπεύθυνη για όλες τις φυσιολογικές και μορφολογικές αλλοιώσεις του φυτού που προκαλούνται από την τροφοπενία Βορίου. Ωστόσο, δεν έχει αποδειχθεί επαρκώς αν τα αυξημένα επίπεδα αυξίνης στις ρίζες των φυτών σε περιπτώσεις τροφοπενίας Β, οφείλονται στην έλλειψη Β ή στην υπερσυσσώρευση φαινολών.

Μία από τις ταχύτερες αντιδράσεις των φυτών στην έλλειψη βορίου είναι η αναστολή της αύξησης του ριζικού συστήματος, με αποτέλεσμα αυτό να αποκτά συμπαγή και θαμνώδη μορφή (Marschner, 1995). Η έλλειψη Β επηρεάζει αρνητικά κατά κύριο λόγο την τάνυση και δευτερευόντως τη διαίρεση των κυττάρων που βρίσκονται στη μεριστωματική ζώνη της ρίζας, με συνέπεια τη μείωση του μήκους της (Dell and Huang, 1997). Οδηγεί, επίσης, σε περιορισμένη αύξηση (μήκος και πλάτος) των νεοεκπυσσόμενων φύλλων καθώς επηρεάζει σημαντικά τη δομή και την πλαστικότητα των κυτταρικών τοιχωμάτων (Hu and Brown, 1994).

Η τροφοπενία βορίου προκαλεί ορισμένες δευτερογενείς επιδράσεις στη φωτοσύνθεση. Σε αυτές περιλαμβάνεται η παρεμπόδιση της ανάπτυξης των φύλλων, η αυξημένη αγωγιμότητα των στοματίων, η μεταβολή της κατάστασης των φωτοσυνθετικών χρωστικών, η αποδιοργάνωση των θυλακοειδών μεμβρανών του χλωροπλάστη και η αυξημένη ευαισθησία στη φωτοπαρεμπόδιση (Cakmak et al., 1995; Kastori et al., 1995; Dell and Huang, 1997; El-Shintinawy, 1999). Εξαιτίας της έμμεσης εμπλοκής του βορίου στη φωτοσύνθεση, οι επιδράσεις της έλλειψής του ποικίλλουν και εξαρτώνται από το φυτικό είδος και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Η παρατηρούμενη μείωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας πιθανόν να οφείλεται στον περιορισμό της ανάπτυξης νέων οργάνων και τον περιορισμό της ολικής φυλλικής επιφάνειας (Cakmak and Römheld, 1997; Blevins and Lukaszewski, 1998). Σε ορισμένες περιπτώσεις η έλλειψη βορίου προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών και οδηγεί σε αποδιοργάνωση των μεμβρανών των θυλακοειδών, μειώνοντας έτσι τη φωτοχημική ικανότητα του PSII (Goldbach et al., 1991; Kastori et al., 1995; El-Shintinawy, 1999; Cakmak and Römheld, 1997; Blevins and Lukaszewski, 1998).

Το βόριο συσχετίζεται θετικά τόσο με τη σύνθεση λιγνίνης όσο και με την απόθεση λιγνίνης στα κυτταρικά τοιχώματα ενώ συμβάλλει στην περιορισμένη συσσώρευση φαινολών εντός του κυττάρου (Dell και Malajczuk, 1994). Ιδιαίτερο

ρόλο διαδραματίζει επίσης στη διαφοροποίηση των ανθέων αλλά και στη ρύθμιση της σχέσης K/Ca καθώς διαλυτοποιεί το ασβέστιο μέσα στο φυτό (Wallace, 1951). Έχει αποδειχθεί ότι είναι απαραίτητο στο σχηματισμό αζωτούχων βάσεων όπως η ουρακίλη, η οποία είναι βασικό συστατικό του RNA. Επιπρόσθετα, διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση του νερού στους ιστούς του φυτού και στο πρωτόπλασμα, ευνοεί την πρόσληψη κατιόντων και επιβραδύνει την πρόσληψη των ανιόντων (Μήτσιος, 1997). Θεωρείται βασικό και για την ανάπτυξη φυματίων στις ρίζες των ψυχανθών (Bolaños et al., 1994), η λειτουργία των οποίων δεν είναι ικανοποιητική όταν η παροχή βορίου είναι περιορισμένη και τα κυτταρικά τοιχώματα δεν είναι επαρκώς οργανωμένα.

Το B παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αναπαραγωγής των φυτών, γεγονός που καταδεικνύεται από τη μεγιστοποίηση των αναγκών σε B κατά το στάδιο της ανθοφορίας. Ιδιαίτερα αυξημένη είναι η περιεκτικότητα Βορίου στα αναπαραγωγικά όργανα των φυτών, ήτοι τους στήμονες και τον ύπερο. Σύμπλοκα βορίου-πηκτίνης επιταχύνουν το άνοιγμα των γυρεόσακκων ενισχύοντας τη διαδικασία της επικονίασης. Το B ασκεί επίσης θετική επίδραση στην καρπόδεση και τη σπορογονία (τεύτλα, ελαιοκράμβη), αποτρέπει την απόρριψη της ωοθήκης (βαμβάκι, σόγια), μειώνει το ποσοστό των άγονων σπόρων (αραβόσιτος, ηλιάνθος) και αποτρέπει την ανθόρροια (Αναλογίδης, 2007). Μετά τη γονιμοποίηση, το βόριο επηρεάζει την εμβρυογένεση και, ως εκ τούτου, έλλειψη του συμβάλλει στην κακή ανάπτυξη ή ακόμα και στον εκφυλισμό των εμβρύων, με αποτέλεσμα τη δημιουργία κακοσχηματισμένων καρπών (Dell και Huang, 1997).

Επιπρόσθετα, αυξάνει την αντοχή των φυτών στις χαμηλές θερμοκρασίες λόγω της θετικής του επίδρασης στο μεταβολισμό των υδατανθράκων και των πρωτεϊνών. Περιορίζει, επίσης, τις προσβολές από εχθρούς και ασθένειες όπως *Plasmodiophora brassicae*, *Erysiphae graminis*, *Tetranychus ulmi*, μύκητες των γενών *Fusarium* και *Botrytis* και tobacco mosaic virus (TMV) (Bergmann, 1992). Οι περισσότερες από τις επιδράσεις αυτές οφείλονται στην επίδραση του B στο μεταβολισμό των φαινολών, η οποία επηρεάζει στη συνέχεια τη σχέση φυτού-ξενιστή σε διάφορα επίπεδα, όπως προσέλκυση, αναγνώριση, επαφή, προσβολή επώαση. Σύμφωνα με τον Bergmann (1992), φυτά με έλλειψη B δεν παράγουν ικανοποιητικές ποσότητες λευκοκυανιδίνης, με συνέπεια να αυξάνεται η ευαισθησία τους σε εχθρούς και ασθένειες.

Αντιθέτως, δεν έχει αποδειχθεί επαρκώς ο ρόλος του βορίου στην δραστηριότητα των ενζύμων (Mahmoud, 2010). Σύμφωνα με τους Clarkson και Hanson (1980) και τον Marshner (1995), το βόριο δεν επιδρά στις λειτουργίες των ενζύμων στα φυτά, ενώ ο Bergmann (1992) αναφέρει ότι το B πιθανόν να ενισχύει έμμεσα τη δράση ενζύμων, όπως η περοξειδάση, η καταλάση, διάφορες οξειδάσες, η αμυλάση και η σακχαράση.

1.9.4 Απαιτήσεις των φυτών σε B

Το κρίσιμο όριο συγκέντρωσης B για το έδαφος κυμαίνεται μεταξύ 0,5 και 1,0 ppm (Κεραμίδας, 1989), ενώ σύμφωνα με το Ινστιτούτο Εδαφολογίας Θεσσαλονίκης το όριο επάρκειας του Βορίου είναι τα 0,5 ppm για όλα τα εδάφη. Οι Smith and Clark (1988) και οι Τσαντήλας κ.α. (1992) αναφέρουν ότι συγκεντρώσεις εδαφικού Βορίου μεγαλύτερες από 0,5 ppm προκαλούν τοξικές συγκεντρώσεις στα φύλλα της ακτινιδιάς, ενώ για τα ανθεκτικά στο B φυτά, το όριο είναι γύρω στο 1,0 ppm (Αναφ. Τσαπικούνης, 2004). Σύμφωνα με τους Θεοδώρου - Πασχαλίδη (1999), αν η συγκέντρωση του εκχυλίσματος κορεσμού του B είναι μεγαλύτερη του 1,5 ppm τότε είναι τοξικό για όλες τις καλλιέργειες, ενώ συγκεντρώσεις μικρότερες από 0,7 ppm είναι αβλαβείς ακόμα και για τις ευαίσθητες καλλιέργειες.

Όπως προαναφέρθηκε, οι ανάγκες των φυτών σε Βόριο είναι μέγιστες κατά το αναπαραγωγικό στάδιο ενώ παρατηρείται σημαντική διαφορά στις απαιτήσεις μεταξύ των μονοκοτυλήδων και των δικοτυλήδων, η οποία αποδίδεται σε διαφορές του μεταβολισμού της φαινόλης των φυτών αυτών. Η περιεκτικότητα των μονοκοτυλήδων σε B είναι ιδιαίτερα χαμηλή (2-6 mg/ kg ξηράς ουσίας) και αρκετά μικρότερη από αυτή των δικοτυλήδων (20-200 mg B/kg ξηράς ουσίας (Μήτσιος, 2004).

Ευαίσθητα φυτά στην έλλειψη Βορίου είναι τα ζαχαρότευτλα, το σέλινο, ο ηλιάνθος, το κουνουπίδι, η μηδική, τα οπωροφόρα και ειδικότερα τα μηλοειδή (Μήτσιος, 2004), καθώς και το αμπέλι, η τομάτα και ο καπνός (Θεοδώρου - Πασχαλίδης, 1999). Όπως συμβαίνει και με άλλα θρεπτικά στοιχεία των φυτών, οι διαφορετικές ποικιλίες του ίδιου είδους δεν αντιδρούν με το ίδιο τρόπο στην έλλειψη βορίου (Μήτσιος, 2004).

Τα καρότα, το μαρούλι, το λάχανο, τα κουκιά, το κρεμμύδι, τα φασόλια (Brad bean), ο γλαδίολος, η μηδική, τα τεύτλα, η χουρμαδιά και το σπαράγγι είναι

ανθεκτικά στο Β (Αλεξιάδης, 1980). Μετρίως ανθεκτικά είναι τα φασόλια (Lima bean), η γλυκοπατάτα, η πιπεριά, το αμπέλι, η τομάτα, τα κολοκυθάκια, η βρώμη, το καλαμπόκι, το σιτάρι, το κριθάρι, η ελιά, το μπιζέλι, το ραπάνι, το βαμβάκι, η πατάτα και ο ηλίανθος, ενώ ευπαθή, σε σχέση με την ανθεκτικότητά τους στο Β, είναι η λεμονιά, η πορτοκαλιά, το αβοκάντο, η βερικοκιά, η ροδακινιά, η κερασιά, η μηλιά, η αχλαδιά, η δαμασκηλιά, η αγκινάρα και η καρυδιά (Αναφ. Τσαπικούνης, 2004).

1.9.5 Τροφοπενία Β

Οι συνθήκες που ευνοούν την τροφοπενία βορίου είναι αρκετές, με σημαντικότερη την έκπλυσή του στα εδάφη ελαφράς σύστασης, ιδιαίτερα όταν αυτά έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε Ca και οργανική ουσία. Επίσης, εδάφη με χαμηλό pH (< 5,5) έχουν την ιδιότητα να δεσμεύουν το Β στην άργιλο. Επιπρόσθετα, η εδαφική υγρασία επηρεάζει την πρόσληψη του Β. Μία ακόμη συνθήκη που ευνοεί την τροφοπενία Β είναι οι πολύ χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια του χειμώνα, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα τα φυτά να έχουν χαμηλά επίπεδα Β την άνοιξη. Τέλος, έλλειψη Β μπορεί να υπάρξει λόγω ανταγωνισμού του με άλλα θρεπτικά στοιχεία, όπως N, K και Fe. Επιπλέον ο γενότυπος της ποικιλίας και του υποκειμένου μπορεί να συμβάλλει στην ανεπάρκεια Β (Στυλιανίδης κ.α., 2002). Αντίθετα, τροφοπενία Βορίου σπάνια συναντάται σε εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα άργιλου και αλκαλικό pH, διότι αυτές οι συνθήκες εμποδίζουν την έκπλυση του Β (Αναλογίδης, 2007).

Η τροφοπενία Β είναι ένα πολύ σημαντικό πρόβλημα των καλλιεργειών παγκοσμίως καθώς η ανεπάρκειά του έχει αναφερθεί σε τουλάχιστον 80 χώρες και σε 132 είδη καλλιεργειών (Shorrocks, 1997). Κυρίως, η τροφοπενία Β είναι συνηθισμένη σε περιοχές με υψηλές βροχοπτώσεις, όπως η Ιαπωνία, η Κίνα, η Ταϊλάνδη, το Λάος κ.λπ. Η έλλειψη Β παρατηρείται σε πολλά φυτά όταν η συγκέντρωση του στα πλήρως ώριμα φύλλα είναι μικρότερη από 15 mg/kg ξ.β. (Mortvedt κ.α., 1991). Γενικά, τα φυτά με υψηλή ικανότητα παραγωγής σακχάρων αντέχουν στην έλλειψη Β (Tanaka και Fujiwara, 2008).

Η έλλειψη Β δημιουργεί ευρύ φάσμα ανατομικών συμπτωμάτων τόσο στο βλαστικό όσο κυρίως στο αναπαραγωγικό στάδιο των καλλιεργειών. Στο βλαστικό στάδιο, τα βασικότερα συμπτώματα είναι η αναστολή αύξησης και επιμήκυνσης των

βλαστών, η χλώρωση των φύλλων, η μειωμένη αύξηση των φύλλων, η νέκρωση των μεριστωμάτων των βλαστών και των ριζών καθώς και το σχίσσιμο και η αποφέλλωση μίσχων και στελεχών (Gupta, 1993; Goldbach, 1997; Fageria και Gheyi, 1999). Στο αναπαραγωγικό στάδιο, τα συμπτώματα έλλειψης Β είναι η αναστολή αύξησης του άνθους, η πτώση των ανθοφόρων οφθαλμών, η μειωμένη καρπόδεση, καθώς και η πρόωρη ανθόπτωση και καρπόπτωση. Η έλλειψη Β καταλήγει επίσης σε κακή ποιότητα των σπερμάτων, αρρενοστεριότητα, πήρωση του υπέρου καθώς και μεταβολές στο φύλο (Brown κ.α., 2002).

Γενικά, τα συμπτώματα τροφопενίας βορίου είναι αποτέλεσμα δύο σημαντικών χαρακτηριστικών της φυσιολογίας του βορίου. Αρχικά, του δομικού ρόλου του βορίου στην αύξηση του κυτταρικού τοιχώματος (Hu και Brown, 1994; Matoh κ.α., 1992; Kobayashi κ.α., 1996; O'Neil κ.α., 1996, Ishii και Matsunaga, 1996; Findelee και Goldbach, 1996) και δεύτερον, της περιορισμένης κινητικότητας του βορίου στην πλειονότητα των καλλιεργούμενων φυτών (Brown και Shelp, 1997, Hu κ.α., 1997).

Όπως σημειώθηκε παραπάνω, η ανεπάρκεια του βορίου προκαλεί, επίσης, ένα ευρύ φάσμα φυσιολογικών και βιοχημικών μεταβολών, συμπεριλαμβανομένης (α) της μεταβολής της δομής του κυτταρικού τοιχώματος, (β) της μεταβολής της ακεραιότητας και λειτουργικότητας των μεμβρανών, (γ) μεταβολές στην δραστηριότητα των ενζύμων και (δ) μεταβολές σε ένα ευρύ φάσμα μεταβολιτών των φυτών όπως φαινόλες, ασκορβικό οξύ και γλουταθειόνη (Goldbach, 1997). Η αύξηση της παραγωγής φαινολικών ενώσεων υπό συνθήκες έλλειψης βορίου προκαλεί οξειδωτικό στρες. Αυτό προκύπτει ως αποτέλεσμα της οξείδωσης των φαινολικών ενώσεων και του σχηματισμού κινονών και ελεύθερων ριζών οξυγόνου (Shkol'nik κ.α., 1981, Cakmak και Romheld, 1997).

Συγκεκριμένα στο σπανάκι, οι κορυφές των φύλλων συστρέφονται, αποκτούν καστανό χρώμα και σταδιακά νεκρώνονται. Τα παλαιότερα φύλλα γίνονται παχιά και εύθρυπτα, η κορυφή δεν αναπτύσσεται, ενώ τα νεαρά φύλλα είναι πολύ μικρά και γρήγορα ξηραίνονται. Ο βλαστός νεκρώνεται στην περιοχή του λαιμού και το ριζικό σύστημα όπως και το υπέργειο μέρος του φυτού καταρρέει (A.Scaife and M.Tumer, 1983).

Η αντιμετώπιση της τροφопενίας του βορίου ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο του εδάφους, το είδος της καλλιέργειας και τις επικρατούσες κλιματολογικές

συνθήκες. Γενικά, υπάρχουν τρεις τρόποι αντιμετώπισης, οι οποίοι είναι (Ahmed et al., 2007):

1. Η εφαρμογή λιπασμάτων που περιέχουν βόριο, στο έδαφος ή διαφυλλικά. Χρησιμοποιούνται τόσο τα απλά λιπάσματα Β, όσο και λιπάσματα κύριων θρεπτικών στοιχείων (NPK) εμπλουτισμένα με Β. Μεταξύ των απλών βοριούχων λιπασμάτων συνηθέστερα χρησιμοποιούνται από εδάφους ο βόρακας και το πενταβορικό νάτριο, κατά προτίμηση σε κοκκώδη μορφή. Τα εμπλουτισμένα με Β υδατοδιαλυτά λιπάσματα NPK, στα οποία το Β προστίθεται σε κατάλληλη μορφή (Solubor ή βορικό οξύ), χρησιμοποιούνται κυρίως σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες απαιτητικές σε βόριο (Αναλογίδης, 2007).
2. Η χρήση αποτελεσματικών στην απορρόφηση Β γενοτύπων και
3. Η χρήση αποδοτικών στο βόριο ποικιλιών, που αποτελεί και την αποτελεσματικότερη επιλογή για την αντιμετώπιση της τροφопενίας.

1.9.6 Τοξικότητα Β

Τα τοξικά επίπεδα Β στα εδάφη αποτελούν παγκόσμιο πρόβλημα στην παραγωγή τροφίμων, ειδικά σε περιοχές με αλκαλικά και αλατούχα εδάφη, χαμηλή βροχόπτωση και περιορισμένη έκπλυση (Leyshon και Jame, 1993; Marschner, 1995). Επίσης, η τοξικότητα Β μπορεί να οφείλεται σε εδάφη πλούσια σε Β, σε νερό άρδευσης ή λιπάσματα με υψηλή περιεκτικότητα σε Β αλλά και σε Β που περιέχεται στη λυματολάσπη ή την αιωρούμενη τέφρα (Nable κ.α., 1997; Parks και Edwards, 2005).

Οι φυσιολογικές επιδράσεις της τοξικότητας Β περιλαμβάνουν μεταβολές στο μεταβολισμό, μείωση της κυτταροδιαίρεσης των ριζών, μείωση της χλωροφύλλης των φύλλων, αναστολή της φωτοσύνθεσης, μειωμένη στοματική αγωγιμότητα, μικρότερες συγκεντρώσεις λιγνίνης και σουβερίνης στα κύτταρα, αυξημένη διαπερατότητα μεμβράνης, υπεροξειδωση λιπιδίων και μεταβολή της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών οδών (Reid κ.α., 2004). Κατά συνέπεια, η μειωμένη αύξηση είναι χαρακτηριστικό των φυτών που εκτίθενται σε υψηλά επίπεδα βορίου (Nable κ.α., 1990). Σύμφωνα με τους Reid κ.α. (2004), είναι δύσκολο να προσδιοριστεί ποια από τις παραπάνω επιδράσεις είναι περισσότερο υπεύθυνη για τη μείωση της συνολικής αύξησης των φυτών υπό συνθήκες τοξικότητας Β.

Παρόλο που δεν είναι ξεκάθαρη η φυσιολογική βάση της τοξικότητας Β, έχουν προταθεί τρεις κύριες αιτίες (Camacho-Cristobal κ.α., 2008): i) μεταβολή της δομής του κυτταρικού τοιχώματος, ii) διαταραχή του μεταβολισμού μέσω της δέσμευσης μορίων της ριβόζης όπως η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), νικοτιναμίδο-αδενίνο δινουκλεοτίδιο (ανηγμένη μορφή) (NADH) ή νικοτιναμίδο-αδενίνο-φωσφορικό δινουκλεοτίδιο(ανηγμένη μορφή) (NADPH) και iii) διαταραχή της κυτταρικής διαίρεσης και της αύξησης με δέσμευση της ριβόζης, είτε ως ελεύθερο σάκχαρο είτε εντός RNA.

Μεταξύ μιας μεγάλης ποικιλίας φυτικών ειδών, τα ορατά συμπτώματα της τοξικότητας Β είναι η χλώρωση ή η νέκρωση των κορυφών και των περιθωρίων των ώριμων φύλλων (Gupta 1993; Papadakis et al., 2004a). Αυτά τα συμπτώματα αντανακλούν την κατανομή του Β στα περισσότερα είδη, με το Β να συσσωρεύεται στο τέλος του ρεύματος της διαπνοής (περιθώρια φύλλων). Ωστόσο, άλλα είδη παρουσιάζουν διαφορετικά συμπτώματα όπως εκροή κόμμεος στα φύλλα και τους οφθαλμούς, εμφάνιση καφέ αποφελλώσεων κατά μήκος των βλαστών και των μίσχων και σχίσσιμο του φλοιού (Woodbridge, 1955, Brown και Hu, 1998b). Αυτός ο διαφορετικός τύπος συμπτωμάτων τοξικότητας Β προκαλείται από την υψηλή ευκινησία του Β στην ηθμώδη μοίρα (Brown και Hu, 1996) που συμβαίνει ως αποτέλεσμα της χρήσης πολυολών (σύνθετα σάκχαρα), όπως η σορβιτόλη. Γενικά, τα τοξικά συμπτώματα στα φύλλα των φυτών εμφανίζονται όταν η συγκέντρωση βορίου σε αυτά υπερβεί τα 250-300 mg/kg ξηράς ουσίας (Μήτσιος, 2004).

Τα τοξικά επίπεδα του Β προκαλούν, επίσης, αναστολή της αύξησης βλαστών και ριζών (Lovatt και Bates, 1984; Nable κ.α., 1990; Reid κ.α., 2004), μειώνοντας την ικανότητα του φυτού να απορροφά τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία και το νερό, ενώ η νέκρωση στα φύλλα περιορίζει τη φωτοσυνθετική ικανότητα κατά την ανάπτυξη καρπών, σπόρων και οργάνων αποθήκευσης. Επιπλέον ορατό σύμπτωμα τοξικότητας Β σε ορισμένα είδη είναι η συστρόφη προς τα πάνω των φύλλων, η οποία οφείλεται στην αναστολή τάνυσης του κυτταρικού τοιχώματος (Loomis και Durst, 1992).

Η αντιμετώπιση των προβλημάτων που δημιουργεί η τοξικότητα του Β στις καλλιέργειες είναι, γενικά, μία δύσκολη διαδικασία. Μπορεί να επιτευχθεί, ανάλογα με την έκτασή της, με τους παρακάτω τρόπους (Papadakis, 2003): (α) με γενετική βελτίωση των καλλιεργούμενων φυτών, με σκοπό την αύξηση της αντοχής τους στο Β, (β) με εφαρμογή αζωτούχων λιπασμάτων και ιδιαίτερα νιτρικού ασβεστίου, (γ) με

επιλογή κατάλληλων υποκειμένων που απορροφούν λιγότερο Β από το έδαφος, (δ) με ασβέστωση του εδάφους σε όξινα εδάφη, (ε) με χρήση νερού άρδευσης καλύτερης ποιότητας ή επιλογή ανθεκτικότερης στο Β ποικιλίας και (ζ) με έκπλυση του εδάφους με νερό καλής ποιότητας σε αλατούχα εδάφη, όπου η τιμή του pH είναι συνήθως υψηλή.

1.9.7 Επίδραση του Β στη φωτοσύνθεση, στο φθορισμό της χλωροφύλλης και στην υπεροξειδωση των λιπιδίων

Η φωτεινή ενέργεια που απορροφάται από τις χρωστικές του φωτοσυνθετικού μηχανισμού χρησιμοποιείται κατά ένα μέρος στις φωτοχημικές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης. Η περίσσεια ενέργεια, όμως, πρέπει να απελευθερωθεί αποτελεσματικά με μη φωτοχημικές διαδικασίες. Έτσι, λοιπόν, είτε εκλύεται ως θερμότητα είτε επανεκπέμπεται ως μεγαλύτερου μήκους κύματος φωτεινή ενέργεια. Αυτή η επανεκπομπή του φωτός καλείται φθορισμός της χλωροφύλλης (Krause and Weis, 1991). Η επαγωγή του φθορισμού από τα φυτά πραγματοποιείται σε δύο φάσεις, εκ των οποίων η πρώτη είναι ταχεία και η δεύτερη αργή. Σήμερα, η μελέτη της καμπύλης του επαγωγικού φθορισμού έχει εξελιχθεί σε πολύτιμο ερευνητικό μέσο για τη μελέτη της δραστηριότητας, αλλά και της απόδοσης του φωτοσυνθετικού μηχανισμού. Ο φθορισμός αυξάνεται όταν η φωτοχημική απόδοση της φωτοσύνθεσης παρεμποδίζεται για οποιοδήποτε λόγο, για παράδειγμα όταν δεν υπάρχει διαθέσιμος οξειδωμένος δέκτης ηλεκτρονίων σε κάποιο σημείο στην πορεία της ηλεκτρονιακής μεταφοράς. Το μεγαλύτερο μέρος του φθορισμού εκπέμπεται από τις χρωστικές της κεραίας του Φωτοσυστήματος II, κι αυτό γιατί το PSII έχει ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό: όταν τα κέντρα του είναι «κλειστά», τότε αυτά τα ίδια τα κέντρα επάγουν αρκετά αποτελεσματικά τον φθορισμό. Όταν ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός, μετά από την προσαρμογή του στο σκοτάδι, δεχτεί την επίδραση συνεχούς φωτισμού, τότε ο φθορισμός του αυξάνεται από το αρχικό του επίπεδο (F_0) σε ένα μέγιστο επίπεδο (F_m) και στη συνέχεια μειώνεται βαθμιαία μέχρις ένα σταθερό επίπεδο (F_s) (Krause and Weis, 1991).

Κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης, τα κέντρα αντίδρασης στο PSII είναι ανοικτά και υπάρχει μια ελεύθερη ροή ηλεκτρονίων. Κάθε φωτόνιο που απορροφάται από ένα μόριο χλωροφύλλης μετατοπίζει ένα ηλεκτρόνιο από την θεμελιώδη σε μία διεγερμένη κατάσταση. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας

τα κέντρα αντίδρασης στο PSII είναι ανοιχτά διότι η μεταφορά ηλεκτρονίων είναι ταχεία έτσι ώστε να επιτρέπεται η είσοδος περαιτέρω ηλεκτρονίων. Υπάρχει μια σταθερή ροή ηλεκτρονίων και εμφανίζεται ένας ελάχιστος φθορισμός (F_0).

Όταν ένας παλμός κορεσμού φωτός στέλνεται σε ένα φωτοσυνθετικό δείγμα τότε προκαλείται σε αυτό ο μέγιστος φθορισμός. Το οξειδωμένο κέντρο αντίδρασης ανοίγει εντελώς με την αύξηση της μεταφοράς των ηλεκτρονίων (περισσότερο φως). Τα κέντρα αντίδρασης είναι τώρα κλειστά και ο αποδέκτης ηλεκτρονίων (QA) ανάγεται πλήρως. Η ροή των ηλεκτρονίων εμποδίζεται επειδή η ποσότητα των QA δεν μπορεί να μεταφέρει τα ηλεκτρόνια αρκετά γρήγορα έτσι ώστε να συμβαδίσει με την εισροή των φωτονίων με αποτέλεσμα να εμφανίζεται η μέγιστη κβαντική απόδοση του PSII (F_m). Σε αυτή τη κατάσταση, ο φθορισμός της χλωροφύλλης είναι μέγιστος.

Η διαφορά μεταξύ των διαφορετικών εντάσεων φθορισμού, με τα κλειστά και ανοικτά κέντρα αντίδρασης, καλείται μεταβλητός φθορισμός της χλωροφύλλης ($F_v = F_m - F_0$). Η διαφορά αυτή αντιστοιχεί στο ποσοστό της απορροφημένης φωτεινής ενέργειας που θα χρησιμοποιούταν στη φωτοσύνθεση εάν όλα τα κέντρα αντίδρασης βρίσκονταν στην ανοικτή κατάσταση.

Ο λόγος του φθορισμού F_v/F_m είναι ανάλογος του κβαντικού επιπέδου της φωτοχημείας της φωτοσύνθεσης. Η μείωση του λόγου F_v/F_m είναι ενδεικτική του αποτελέσματος κάποιων περιβαλλοντικών εξωτερικών παραγόντων και αυτή η μεταβολή δείχνει τη μείωση της φωτοχημικής απόδοσης. Η ευνοϊκότερη τιμή του λόγου F_v/F_m για τα περισσότερα είδη φυτών είναι $0,83 \pm 0,05$ (Krause and Weis, 1991). Τιμές χαμηλότερες από αυτή δείχνουν ότι το φυτό είναι εκτεθειμένο σε κάποιου είδους καταπόνηση.

Ο λόγος F_v/F_m (μέγιστη κβαντική απόδοση του φθορισμού της χλωροφύλλης) μειώθηκε σημαντικά σε πολλά φυτικά είδη παρουσία τοξικότητας B (Larsson κ.α., 1998). Η μείωση F_v/F_m σχετίζεται μερικές φορές με αύξηση του F_0 (ελάχιστος φθορισμός χλωροφύλλης), ο οποίος σχετίζεται στενά με τη δομική βλάβη των θυλακοειδών των μεμβρανών (Havaux και Lannoye, 1985). Είναι φανερό ότι η μείωση του λόγου F_v/F_m δείχνει ότι τα φύλλα είναι φωτοκαταστροφικά και είναι γνωστό ότι σε αυτές τις συνθήκες το μοριακό οξυγόνο μπορεί να αποτελέσει εναλλακτικό δέκτη ηλεκτρονίων για ασύνδετα ηλεκτρόνια και φως (Velez-Ramirez κ.α., 2011) που οδηγεί στη δημιουργία ROS. Αυτό το γεγονός μπορεί επίσης να εξηγήσει την παρατηρούμενη μείωση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης στα

φύλλα (Paradakis κ.α., 2004b; Han κ.α., 2009; Chen κ.α., 2012) και τη βλάβη στους χλωροπλάστες (Paradakis κ.α., 2004a; 2004b) σε φυτά που καλλιεργούνται υπό συνθήκες τοξικότητας Β.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, σε συνθήκες τοξικότητας Β, προκαλείται αναστολή της φωτοσύνθεσης. Η μείωση της αφομοίωσης CO₂ σε συνθήκες περίσσειας Β φαίνεται να σχετίζεται με έναν συνδυασμό διαφορετικών παραγόντων: οξειδωτική καταπόνηση, μείωση στις φωτοσυνθετικές ενζυμικές δραστηριότητες και μειωμένο ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων (Han κ.α., 2009). Ωστόσο, δεν έχουν διευκρινιστεί ακόμη οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη μείωση της φωτοσύνθεσης λόγω τοξικότητας Β. Οι Pereira κ.α. (2000) υπέθεσαν ότι μια από τις πιθανές αιτίες μείωσης της φωτοσύνθεσης λόγω περίσσειας Β είναι η δομική βλάβη των θυλακοειδών της χλωροφύλλης, η οποία με τη σειρά της άλλαξε τον ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων και επηρέασε την αφομοίωση του CO₂ η οποία μπορεί επίσης να περιοριστεί από μείωση των διαστάσεων των στοματίων.

Η περίσσεια Β μπορεί να προκαλέσει μεταβολές στα κύτταρα του μεσόφυλλου, που με τη σειρά τους μειώνουν την ταχύτητα μεταφοράς ηλεκτρονίων και την αξιοποίηση του φωτός. Από την άλλη πλευρά, η μειωμένη δραστηριότητα ορισμένων ενζύμων που εμπλέκονται στην αφομοίωση του CO₂ (ριβουλόζη-1,5-διφωσφορική καρβοξυλάση/οξυγενάση και φρουκτόζη-1,6-διφωσφορική φωσφατάση) (Han et al., 2009) καθορίζει επίσης μια μείωση στη χρήση NADPH και ATP, αναστέλλοντας έτσι τον ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων. Συνεπώς, η μείωση του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων οδηγεί σε οξειδωτική καταπόνηση, που παράγει ROS στον χλωροπλάστη. Αυτές οι ROS οξειδώνουν οργανικά μόρια, όπως χλωροφύλλη και λιπίδια (υπεροξείδωση λιπιδίων) και, πιθανώς, προκαλούν κυτταρικό θάνατο. Οι συνέπειες αυτών των αντιδράσεων είναι τα ορατά συμπτώματα ζημιάς που συνήθως βρίσκονται στο περιθώριο των φύλλων, όπου το Β συσσωρεύεται σε μεγάλο βαθμό (Guidi κ.α., 2011).

1.9.8 Η προλίνη

Η προλίνη είναι αμινοξύ το οποίο συναντάται στα ανώτερα φυτά και συσσωρεύεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις ως αντίδραση σε πολλές περιβαλλοντικές καταπονήσεις όπως ξηρασία, αλατότητα, υψηλές θερμοκρασίες και υψηλή ένταση

φωτός (Rains, 1989; Ali et al., 1999; Rhodes et al., 1999; Ozturk και Dewir, 2002; Hsu et al., 2003; Kishor et al., 2005).

Πρόδρομη ένωση στη βιοσύνθεση της προλίνης είναι το L-γλουταμικό οξύ. Τα ένζυμα που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο μονοπάτι βιοσύνθεσης της προλίνης είναι η 5-καρβοξυλική συνθετάση της πυρολλίνης (P5CS) και η 5-καρβοξυλική αναγωγή της πυρολλίνης (P5CR) (Delauney και Verma, 1993). Η σημαντικότερη περιοχή σύνθεσης της προλίνης είναι οι χλωροπλάστες (Rayapati et al., 1989). Διαγονιδιακά φυτά καπνού με υπερέκφραση P5CS αύξησαν τη συγκέντρωση της προλίνης και την αντοχή στην ξηρασία και την αλατότητα (Kishor et al., 1995).

Η προλίνη δρα ως οσμωλύτης για τη ρύθμιση της οσμωτικής πίεσης και συμβάλλει στη σταθερότητα των υπο-κυτταρικών δομών (π.χ μεμβράνες και πρωτεΐνες), αλληλεπιδρώντας με φωσφολιπίδια. Επιπλέον, βοηθά στην απενεργοποίηση ελεύθερων ριζών ως πηγή ενέργειας και αζώτου, ρυθμίζει τα εν δυνάμει δυναμικά κάτω από συνθήκες καταπόνησης και αποτελεί σημαντικό συστατικό των πρωτεϊνών στα κυτταρικά τοιχώματα.

Επίσης, συμβάλλει στη διατήρηση της κατάλληλης αναλογίας NADP⁺/NADPH, που προάγει το μεταβολισμό (Hare και Cress, 1997) και επάγει την έκφραση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την αντοχή στην αλατότητα (Sato et al., 2002, Oono et al., 2003, Chinusammy et al., 2005). Τα φυτά ως αντίδραση στην αλατότητα και στην ξηρασία συσσωρεύουν προλίνη στο κυτόπλάσμα τους, η οποία συμβάλλει στην οσμωρύθμιση (Leigh et al., 1981; Binzel et al., 1987; Ketchum et al., 1991).

Η συσσώρευση προλίνης στο κυτόπλασμα σχετίζεται με μείωση της συγκέντρωσης τοξικών ιόντων (Cayley et al., 1992). Όμως, η υπερπαραγωγή προλίνης, υπό φυσιολογικές περιβαλλοντικές συνθήκες, μπορεί να εμποδίσει τη σύνθεση πρωτεϊνών και RNA που είναι απαραίτητα για την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών (Su και Wu, 2004) και, ως εκ τούτου, επηρεάζει αρνητικά την αύξηση και τον κυτταρικό μεταβολισμό (Ehsanpour and Fatahian, 2003; Nanjo et al., 2003). Το ποσοστό συγκέντρωσης προλίνης εξαρτάται από την ένταση και τη διάρκεια της καταπόνησης.

Οι Sanchez et al. (1998) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο ρόλος της προλίνης είναι να ελαχιστοποιηθούν οι ζημιές που προκαλούνται από την αφυδάτωση, η οποία προκαλείται είτε από την έλλειψη νερού είτε από την υψηλή

αλατότητα (Βλάχου, 2011). Παρόμοια αποτελέσματα είχαν αναφερθεί και από τους Wang et al. (1999).

1.9.9 Οξειδωτική καταπόνηση και υπεροξειδωση λιπιδίων

Ο όρος οξειδωτικό στρες περιγράφει την κατάσταση ανισορροπίας ανάμεσα στις συγκεντρώσεις των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και των αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών ενός οργανισμού (Halliwell & Gutteridge, 1990; Dotan, 2004). Το οξειδωτικό στρες προκαλείται συνήθως από:

- 1) Μειωμένη δράση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Αυτό μπορεί να συμβεί είτε εξαιτίας μεταλλάξεων ή τοξικών παραγόντων που επηρεάζουν τη δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων είτε από τη μείωση των διατροφικών αντιοξειδωτικών ουσιών.
- 2) Αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών (ROS). Αυτό συμβαίνει είτε λόγω της έκθεσης των κυττάρων σε υψηλά επίπεδα ROS είτε λόγω της ύπαρξης παραγόντων που οδηγούν στην αυξημένη παραγωγή σε ROS.

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδράσουν με σημαντικά βιομόρια, βασικά συστατικά του κυττάρου (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια, νουκλεϊκά οξέα) και να προκαλέσουν την έναρξη αλυσιδωτών αντιδράσεων που μπορούν να οδηγήσουν στην ολοκληρωτική καταστροφή του βιολογικού υποστρώματος. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδράσουν με το DNA, και να προκαλέσουν βλάβες τόσο στις βάσεις (πουρίνες, πυριμιδίνες) όσο και στη D-ριβόζη του DNA με αποτέλεσμα τη δημιουργία μεταλλάξεων. Πρωτεΐνες, που περιέχουν αμινοξέα όπως μεθειονίνη, κυστεΐνη, τρυπτοφάνη, τυροσίνη, φαινυλαλανίνη και ιστιδίνη αντιδρούν εύκολα με ελεύθερες ρίζες, προσβάλλονται και μετουσιώνονται (Lyras et al, 1977). Επίσης οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν λιπιδική υπεροξειδωση (Halliwell, 2001; Halliwell & Gutteridge, 1998).

Η υπεροξειδωση των λιπιδίων είναι αποτέλεσμα της οξειδωτικής καταστροφής των κυτταρικών μεμβρανών. Η έναρξη της υπεροξειδωσης των λιπιδίων προκαλείται με την αφαίρεση ενός ατόμου υδρογόνου από μια ομάδα μεθυλενίου (-CH₂-). Τα λιπαρά οξέα με έναν ή κανέναν διπλό δεσμό είναι ανθεκτικότερα σε μια τέτοια επίθεση από ό,τι τα PUFAs (ακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα), τα οποία βρίσκονται σε πολλές μεμβράνες και λιποπρωτεΐνες. Δεδομένου ότι το άτομο υδρογόνου έχει μόνο ένα ηλεκτρόνιο, η

αφαίρεση ενός $H\cdot$ από μια ομάδα $-CH_2-$ αφήνει πίσω ένα αζεργάρωτο ηλεκτρόνιο στον άνθρακα ($-C\cdot H-$) (Τσίτση, 2011).

Η ρίζα άνθρακα σταθεροποιείται συνήθως από μια μοριακή αναδιοργάνωση διαμορφώνοντας ένα συζευγμένο διένιο. Οι ρίζες άνθρακα μπορούν να συμμετέχουν σε διάφορες αντιδράσεις όπως π.χ. εάν δύο από αυτές έρθουν σε επαφή μεταξύ τους μέσα σε μία μεμβράνη τότε μπορούν να συνδεθούν μεταξύ τους. Ωστόσο, υπό αερόβιες συνθήκες οι ρίζες άνθρακα αντιδρούν με το οξυγόνο (O_2), καθώς το O_2 ως υδρόφοβο μόριο συγκεντρώνεται στο εσωτερικό των μεμβρανών. Η αντίδραση με το O_2 δίνει ρίζες περοξυλίου, $ROO\cdot$ (ή $RO_2\cdot$). Οι ρίζες περοξυλίου είναι ικανές να αφαιρέσουν ένα H από ένα άλλο γειτονικό λιπιδικό μόριο (Τσίτση, 2011).

Αυτό είναι το στάδιο διάδοσης της υπεροξειδωσής των λιπιδίων. Οι ρίζες άνθρακα που σχηματίζονται μπορούν να αντιδράσουν επίσης με O_2 και να δημιουργήσουν νέες ρίζες περοξυλίου και έτσι η αλυσιδωτή αντίδραση της υπεροξειδωσής των λιπιδίων συνεχίζεται. Η ρίζα περοξυλίου ενώνεται με ένα άτομο υδρογόνου που αποσπά για να δώσει ένα λιπιδικό υδροπεροξειδίο ($LOOH$). Αυτό μερικές φορές αναφέρεται και ως υπεροξειδίο λιπιδίων, αν και αυτός ο όρος περιλαμβάνει και τα κυκλικά υπεροξειδία. Έτσι, η έναρξη της υπεροξειδωσής λιπιδίων μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό πολλαπλών μορίων υπεροξειδωσής, ως αποτέλεσμα της αλυσιδωτής αντίδρασης. Οι κυκλικές αυτές αντιδράσεις, εάν δεν τερματιστούν με κάποιον τρόπο, έχουν καταστρεπτικά αποτελέσματα, καθώς προκαλούν τελικά την ολική οξειδωσής των μεμβρανών και τον θάνατο των κυττάρων (Γαλάρης, 2015).

Η μηλονική διαλδεΐδη (MDA) και η 4-υδροξυ-2-νονενάλη έχουν μελετηθεί κατά κόρον ως τελικά προϊόντα της λιπιδιακής υπεροξειδωσής, κυρίως λόγω του ότι αποτελούν σχετικά σταθερά τελικά προϊόντα και είναι εύκολα ανιχνεύσιμες στα βιολογικά υγρά. Η MDA σχηματίζεται μόνο σε μικρές ποσότητες κατά τη διάρκεια της υπεροξειδωσής των περισσότερων λιπιδίων (Γαλάρης, 2015).

Η MDA προκύπτει κατά ένα μεγάλο μέρος από την υπεροξειδωσής των $PUFAs$ με περισσότερους από δύο διπλούς δεσμούς. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η MDA προσβάλλει τις πρωτεΐνες ενώ επίσης αντιδρά με βάσεις (γουανίνη και η αδενίνη) του DNA και θεωρείται πιθανό ότι μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις (Τσίτση, 2011).

Σε γενικές γραμμές, τα αποτελέσματα της υπεροξειδωσής των λιπιδίων στις κυτταρικές μεμβράνες συνίστανται κυρίως στη μείωση της ρευστότητας και στην αύξηση της διαπερατότητάς τους σε μόρια όπως το Ca^{2+} και τα H^+ , καθώς και στην απενεργοποίηση μεμβρανικών ενζύμων (Γαλάρης, 2015).

Ο κύριος φυσιολογικός παράγοντας που έχει την ικανότητα να αναστέλλει τη διαδικασία της λιπιδιακής υπεροξειδωσής είναι η βιταμίνη E. Η βιταμίνη E δεν είναι μια απλή χημική ένωση, αλλά μια ομάδα παρεμφερών ενώσεων που αποκαλούνται τοκοφερόλες, η κυριότερη από τις οποίες θεωρείται η α-τοκοφερόλη (Γαλάρης, 2015).

1.10 ΤΟ ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ (SA)

Το σαλικυλικό οξύ (SA) είναι μία ενδογενής φυτική ορμόνη, η οποία ανήκει στην ομάδα των φυτικών φαινολών που φέρουν έναν αρωματικό δακτύλιο με μία υδροξυλική ομάδα ή με λειτουργικά της παράγωγα. Η λέξη σαλικυλικό προέρχεται από τη λατινική ονομασία της ιτιάς, η οποία είναι “Salix” και δόθηκε από τον Rafacle Piria το 1938 (Raskin et al., 1990). Στην ελεύθερη κατάσταση, βρίσκεται σε κρυσταλλική μορφή, το σημείο ζέσεως είναι 157 - 159 °C και έχει pH 2,4 (Raskin, 1992β). Επίσης, διαλύεται δύσκολα στο νερό αλλά αρκετά εύκολα σε πολικούς οργανικούς διαλύτες. Το σαλικυλικό οξύ έχει ανιχνευθεί σε 36 διαφορετικά φυτικά είδη (Raskin et al., 1990) και προσδιορίστηκε, κυρίως, στα φύλλα και στα αναπαραγωγικά όργανα των φυτών. Υψηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρούνται στις ταξιανθίες των θερμογενικών φυτών (στο άνθος τους παράγεται θερμότητα), τα οποία προσβλήθηκαν από παθογόνα (Βογιατζής & Κουκουρίκου-Πετρίδου, 2003).

Το SA αναγνωρίστηκε ως φυτική ορμόνη (Raskin, 1992α) λόγω της σημασίας που έχει σε ορισμένες μεταβολικές διεργασίες (Porova et al., 1997). Βρέθηκε ότι ενεργοποιεί ένα μεγάλο εύρος μεταβολικών και φυσιολογικών αντιδράσεων καθώς επηρεάζει την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών. Μετά από εξωγενή εφαρμογή το SA πιθανόν μεταφέρεται από τις θέσεις της αρχικής εφαρμογής σε διαφορετικούς ιστούς του φυτού, όπου εκδηλώνει τη δράση του (Raskin, 1992). Περαιτέρω το SA που παράγεται από το φυτό μπορεί να λειτουργήσει ως ρυθμιστής αύξησης του φυτού (Arberg, 1981).

1.10.1 Βιοσύνθεση και μεταβολισμός του σαλικυλικού οξέος στα φυτά

Το σαλικυλικό οξύ (ορθο-υδροβενζοϊκό οξύ) είναι ένα φυσικό παράγωγο του κινναμικού οξέος, ενός ενδιάμεσου προϊόντος στη βιοσύνθεση του σικιμικού οξέος, που λειτουργεί ως κέντρο για τη σύνθεση των φαινολικών ουσιών.

Η βιοσύνθεση του SA στα ανώτερα φυτά πραγματοποιείται μέσω δύο ξεχωριστών και διαμερισματοποιημένων οδών που χρησιμοποιούν διαφορετικές πρόδρομες ουσίες. Η οδός του σικιμικού οξέος και των φαινυλοπροπανοειδών στο κυτόπλασμα, όπου χρησιμοποιείται ως πρόδρομη ουσία η φαινυλαλανίνη, και η οδός του ισοχορισμικού οξέος στους χλωροπλάστες (Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011). Από τη φαινυλαλανίνη, με τη δράση της αμμωνιακής λυάσης της φαινυλαλανίνης (PAL), παράγεται το κινναμικό οξύ, το οποίο είτε υδροξυλιώνεται σε ο-κουμαρικό οξύ και κατόπιν οξειδώνεται η πλευρική αλυσίδα δίνοντας σαλικυλικό οξύ, είτε πρώτα οξειδώνεται η πλευρική αλυσίδα του κινναμικού οξέος και παράγεται το βενζοϊκό οξύ, το οποίο στη συνέχεια υδροξυλιώνεται στην όρθο-θέση και μετατρέπεται σε σαλικυλικό οξύ. Τελευταίες έρευνες απέδειξαν ότι SA μπορεί να συντεθεί, στα φυτά, από το σικιμικό οξύ διαμέσου του χορισμικού και του ισοχορισμικού οξέος, κάτι το οποίο ήταν γνωστό για τα βακτήρια (Wildermuth *et al.*, 2001; Metraux, 2002; Wildermuth, 2006). Μάλιστα, τα πρόσφατα δεδομένα αναφέρουν ότι η αρχική θέση σχηματισμού του SA είναι οι χλωροπλάστες (Metraux, 2002, Fragniere *et al.*, 2011). Τα ένζυμα που καταλύουν την παραπάνω αντίδραση σχηματισμού SA, είναι η συνθάση του ICS και η πυρουβική λυάση (IPL) (Serino *κ.α.*, 1995).

Το σαλικυλικό οξύ καθίσταται μη ενεργό είτε με υδροξυλίωση του αρωματικού δακτυλίου είτε με τον σχηματισμό συμπλόκων. Έχει αποδειχθεί ότι το SA σχηματίζει Ο-γλυκοζίτες ή εστέρες με γλυκόζη (Βογιατζής και Κουκουρίκου-Πετρίδου, 2003).

1.10.2 Ο ρόλος του σαλικυλικού οξέος στα φυτά

Το SA είναι μία ευρέως διαδεδομένη φαινολική ουσία στα φυτά η οποία εμπλέκεται σε πλήθος φυσιολογικών διεργασιών. Έχει αποδειχθεί η συμμετοχή του στη βλάστηση των σπόρων, στη βλαστική ανάπτυξη, στη φωτοσύνθεση, στην αναπνοή, στη θερμογένεση, στον σχηματισμό ανθέων, στην παραγωγή σπόρων, στο

γηρασμό και σε μια μορφή κυτταρικού θανάτου που δεν σχετίζεται με την υπερευαίσθητη αντίδραση (HR) (Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011). Επιπρόσθετα, εμπλέκεται στη μετασυλλεκτική καθυστέρηση της ωρίμανσης των φρούτων (Srivastava & Dwivedi, 2000) και ρυθμίζει τη δημιουργία νέων χλωροπλαστών (Uzunova & Porova, 2000). Ακόμα, συμβάλλει στη διατήρηση του οξειδοαναγωγικού δυναμικού του κυττάρου με τη ρύθμιση των αντιοξειδωτικών ενζύμων και την επαγωγή της εναλλακτικής αναπνευστικής οδού, καθώς και στη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων με την επαγωγή μιας RNA-εξαρτώμενης πολυμεράσης που είναι υπεύθυνη για την αποσιώπηση γονιδίων μετά την μεταγραφή (Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011). Εκτεταμένη είναι η έρευνα που έχει πραγματοποιηθεί σχετικά με την εμπλοκή του SA στην ανάπτυξη της τοπικά και διασυστηματικά επαγόμενης αντοχής (LAR και SAR, αντίστοιχα) από τα φυτά σε βιοτικούς παράγοντες, όπως ασθένειες (Klessig & Malamy, 1994; Durner *et al.*, 1997; Van Camp *et al.*, 1998; Vlot *et al.*, 2008) και εχθροί (Morkunas *et al.*, 2011).

Η SAR είναι μια μορφή επαγόμενης αντοχής στα φυτά που προκαλείται διασυστηματικά στους υγιείς ιστούς από μια τοπική προσβολή από κάποιο παθογόνο. Αυτή, συνήθως, επάγεται από την προσβολή με κάποιο παθογόνο που προκαλεί τον κυτταρικό θάνατο, διαμέσου της υπερευαίσθητης αντίδρασης (HR), μετά από μια οξειδωτική έκρηξη στο κύτταρο. Όμως, η HR δεν είναι πάντα απαραίτητη για την ανάπτυξη της SAR, ενώ είναι απαραίτητη η συσσώρευση του SA στον ιστό που θα λάβει διασυστηματικά το “σήμα” (Vlot *et al.*, 2008).

Παλαιότερα επικρατούσε η άποψη ότι το SA είναι η “αγγελιοφόρος” ουσία που μεταφέρει το “σήμα” μέσα στους ιστούς. Οι νεότερες έρευνες όμως, συμπεραίνουν ότι το “σήμα” μεταδίδεται μέσα στο φυτό με τη βοήθεια του μεθυλιωμένου παραγώγου του SA καθώς, και άλλων ουσιών όπως το ιασμονικό οξύ (JA), κάποια παράγωγα λιπιδίων και πεπτίδια (Vlot *et al.*, 2008). Το SA μετατρέπεται σε μεθυλοσαλικυλικό οξύ (MeSA,) και το πτητικό αυτό παράγωγο αποτελεί μία πολύ σημαντική “αγγελιοφόρο” ουσία για την ανάπτυξη της SAR (Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011). Το MeSA, όπως και το μεθυλο-ιασμονικό οξύ (MeJA) (Overmyer *et al.*, 2003), μπορεί να μεταφερθεί σε γειτονικά όργανα ή φυτά μέσω του αγωγού συστήματος ή/και του αέρα (Durner *et al.*, 1997; Vlot *et al.*, 2008). Στους υγιείς αυτούς ιστούς, το MeSA υδρολύεται σε SA και η συσσώρευση αυτή του SA πυροδοτεί την έναρξη της SAR (Vlot *et al.*, 2008).

Οι αντιδράσεις των φυτών σε ποικίλλες περιβαλλοντικές καταπονήσεις ρυθμίζονται από τις συνεργιστικές και ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις με τις φυτοορμόνες, όπως σαλικυλικό οξύ (SA), ιασμονικό οξύ (JA), αιθυλένιο (ET), αμπισισικό οξύ (ABA) και ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS). Χαμηλές συγκεντρώσεις SA και JA ενεργούν συνεργιστικά, ενώ υψηλότερες δρουν ανταγωνιστικά και προκαλούν αποπλαστική παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου και προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (Mur κ.α., 2006). Το SA ενεργοποιεί (Laudert και Weiler, 1998) ή εμποδίζει (Norton κ.α., 2007) τη δράση της αλινικής οξειδικής συνθετάσης (AOS), ένζυμο που μετέχει στη βιοσύνθεση του JA.

Ακόμα, το SA μπορεί να επάγει απευθείας την έκφραση ορισμένων γονιδίων και να προκαλέσει τη σύνθεση μορίων με προστατευτικό ρόλο, όπως των πρωτεϊνών θερμικής καταπόνησης (HSPs), που δρουν ως μοριακοί συνοδοί, της κυκλοφιλίνης, των αφυδρινών, της γλυκίνης-μπεταΐνης και της ωσμοτίνης. Ενώ, η έκφραση ορισμένων υποδοχέων των κινασών των πρωτεϊνών (RPKs), όπως οι MAPKs και οι CDPKs, μπορεί, επίσης, να ρυθμίζεται από το SA (Durner *et al.*, 1997; Horvath *et al.*, 2007), είτε άμεσα είτε έμμεσα με τη συσσώρευση ROS (Jonak *et al.*, 2002; Overmyer *et al.*, 2003; Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011).

Τέλος, κατέχει ρυθμιστικό ρόλο, ως μόριο “σηματοδότης”, στην αντίδραση των φυτών στις καταπονήσεις από αβιοτικούς παράγοντες όπως η ξηρασία, η αλατότητα και η ωσμωτική καταπόνηση, η επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών και υψηλών θερμοκρασιών, τα βαρέα και τοξικά μέταλλα και η απευθείας οξειδωτική καταπόνηση από ουσίες όπως το paraquat (Horvath *et al.*, 2007; Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011).

1.10.3 Επίδρασεις του εξωγενούς σαλικυλικού οξέος στα φυτά

Η επίδραση του εξωγενώς εφαρμοζόμενου SA στις διάφορες φυσιολογικές διεργασίες και την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στις καταπονήσεις δεν είναι πάντα αποτελεσματική. Εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις του εφαρμοζόμενου SA, τον τρόπο εφαρμογής, το είδος του φυτού (γενετική σύσταση), αλλά και από τη συνολική κατάσταση του φυτού δηλαδή από το στάδιο ανάπτυξης, το οξειδωτικό ισοζύγιο των κυττάρων και τον εγκλιματισμό σε προηγούμενη καταπόνηση (Horvath *et al.*, 2007; Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011).

Κατ' αρχάς, το εξωγενώς εφαρμοζόμενο SA μπορεί από μόνο του να προκαλέσει οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά. Σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις (0,05 – 0,5 mM) προκαλεί μέτρια καταπόνηση επηρεάζοντας το οξειδωτικό δυναμικό των φυτών με τρόπο παρόμοιο με αυτόν των διαδικασιών εγκλιματισμού σε κάποια καταπόνηση. Παρατηρείται μια ραγδαία αλλά παροδική αύξηση των ROS και στη συνέχεια αυξάνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα, που προστατεύει το φυτό από τις σοβαρές επιπτώσεις μιας επερχόμενης αβιοτικής καταπόνησης. Υψηλότερες συγκεντρώσεις SA μπορεί να προκαλέσουν ένα επίπεδο οξειδωτικής καταπόνησης στο οποίο το φυτό να μην είναι ικανό να ανταπεξέλθει και να το οδηγήσει στο θάνατο (Horvath *et al.*, 2007).

Το εξωγενές SA μπορεί να αναστείλει τη φύτευση των σπόρων ή να αυξήσει την ευρωστία (σφρίγος, ζωτικότητα) των σπερμάτων, ανάλογα με τις δόσεις που εφαρμόζονται. Συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 1mM ή ακόμα και μεγαλύτερες από 0.25mM για κάποια είδη, θεωρούνται μεγάλες και μπορούν να καθυστερήσουν ή να αναστείλουν τη φύτευση των σπερμάτων, ενώ χαμηλές δόσεις (0,05 – 0,5mM) επιδρούν θετικά στη φύτευση σπόρων που βρίσκονται υπό την επίδραση διαφόρων αβιοτικών καταπονήσεων (αλατότητα, οξειδωτική καταπόνηση από ζιζανιοκτόνα, θερμοπληξία) (Rajjou *et al.*, 2006; Xie *et al.*, 2007; Alonso-Ramirez *et al.*, 2009; Rivas San Vicente & Plasencia, 2011).

Σε πείραμα των Hussein *et al.* (2007), απεδείχθει ότι το SA επηρεάζει θετικά την αύξηση των βλαστιδίων στο σιτάρι. Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι αυξάνει τη φυλλική επιφάνεια και το ξηρό βάρος στο καλαμπόκι και στη σόγια (Khan *et al.*, 2003). Οι Hayat *et al.* (2005), ανέφεραν ότι ο αριθμός των φύλλων, αλλά και το νωπό και ξηρό βάρος ανά φυτό σιταριού αυξήθηκαν μετά από εφαρμογή χαμηλών συγκεντρώσεων SA (10^{-5} M). Επίσης, οι Eraslan *et al.* (2007), σε πείραμα με εξωγενή προσθήκη SA σε καρότα υπό συνθήκες ταυτόχρονης αλατότητας και τοξικότητας B, παρατήρησαν ότι το SA περιόρισε την τοξικότητα των ιόντων Cl και B στο βλαστό και στη ρίζα των φυτών.

Το σαλικυλικό οξύ δύναται να προάγει την άνθηση σε διάφορα είδη ή να άρει τις αρνητικές επιδράσεις μιας καταπόνησης κατά την άνθηση, όταν εφαρμόζεται σε μικρές συγκεντρώσεις (0,003–0,1 mM) (Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011). Περαιτέρω, σε μικρές συγκεντρώσεις (0,001–0,1 mM) μπορεί να προστατεύσει τα φυτά από την τοξικότητα βαρέων μετάλλων αλλά μπορεί να επιδεινώσει τα συμπτώματα όταν προστίθεται στο υδροπονικό διάλυμα. Πιο

αποδοτική μέθοδος είναι η προμεταχείριση των σπόρων με SA (Horvath *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2011).

Οι Mishra και Choudhuri (1999) παρατήρησαν ότι η προμεταχείριση με SA είχε θετικά αποτελέσματα σε πειράματα με μόλυβδο και υδράργυρο που είχαν εισάγει με διάτρηση στις μεμβράνες ρυζιού. Άλλες εργασίες αναφέρουν θετικά αποτελέσματα από την προμεταχείριση με SA σε πειράματα που έγιναν με Cd, σε καπνό (Metwally *et al.*, 2003) και καλαμπόκι (Pal *et al.*, 2002). Επιπλέον, σε πειράματα με Al σε φυτά *Cassipora* παρατηρήθηκε αυξημένη αντοχή στην τοξικότητα μετά από προμεταχείριση με SA, καθώς υπήρξε αύξηση εκροής εστέρων από τις ρίζες (Yang *et al.*, 2003). Αυξημένη αντοχή στην αλατότητα με προμεταχείριση με SA διαπιστώθηκε στο σιτάρι (Hamada και Al-Hakimi, 2001), ενώ όμοιες παρατηρήσεις καταγράφηκαν και σε φυτά τομάτας, (Tari *et al.*, 2002, 2004; Szepesi *et al.*, 2005).

Υψηλές συγκεντρώσεις SA (>1mM) προκαλούν μείωση του φωτοσυνθετικού ρυθμού (PN), της δραστηριότητας της RuBisCO, της χλωροφύλλης και των καροτενοειδών, καθώς το SA επιδρά στη δομή των χλωροπλαστών, των μεμβρανών των θυλακοειδών και των φύλλων, ενώ προκαλεί και κλείσιμο των στοματίων. Αντίθετα, εφαρμογή εξωγενούς σαλικυλικού οξέος σε μικρές συγκεντρώσεις (<1mM) μπορεί να αυξήσει την περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη και καροτενοειδή, το σχετικό υδατικό δυναμικό, τον δείκτη σταθερότητας των μεμβρανών, την επιφάνεια των φύλλων και τη συνολική βιομάζα (Fariduddin *et al.*, 2003; Agarwal *et al.*, 2005a). Οι Hayat *et al.* (2005) αναφέρουν ότι σε φυτά σιταριού, χαμηλές συγκεντρώσεις SA (10⁻⁵ M) με προμεταχείριση αύξησαν τη φωτοσύνθεσή τους, ενώ υψηλότερες τιμές είχαν αντίθετα αποτελέσματα. Παρόμοια αποτελέσματα υπήρξαν και σε φυτά *Brassica napus* και *B. juncea* τα οποία ψεκάστηκαν με χαμηλές συγκεντρώσεις SA (Ghai *et al.*, 2002; Fariduddin *et al.*, 2003).

Οι Knorz *et al.* (1999), διαπίστωσαν ότι εάν εφαρμοστούν κατάλληλες συγκεντρώσεις SA επάγεται ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός των φυτών. Η εφαρμογή του SA συντέλεσε στην αύξηση της αντοχής στην οξειδωτική καταπόνηση που προκαλείται από paraquat σε φυτά καπνού και αγγουριού (Strobel και Kuc, 1995). Παράλληλα διαπιστώθηκε ότι αυξήθηκε η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάση (CAT), υπεροξειδάση (POX) και υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), σε φυτά *L. esculentum* υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Hayat *et al.*,

2008) καθώς και σε φυτά *B. juncea* υπό συνθήκες αλατότητας μετά τον ψεκάσμό τους με SA (Yusuf et al., 2008).

Όσον αφορά την επίδρασή του στην αναπνοή, μικρές συγκεντρώσεις SA (<1mM) την αυξάνουν, ενώ μεγαλύτερες (1-5mM) την αναστέλλουν. Εξαιτίας της φαινολικής φύσης του, έχει προταθεί ότι το SA σε συγκεντρώσεις mM (millimolar) δρα ως ανάλογο της κινόνης και παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση της αφυδρογονάσης με τη “δεξαμενή” της ουβικινόνης (Norman et al., 2004; Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011).

Σύμφωνα με τους Horvath et al., (2007), ψεκάσμοι των φυτών με χαμηλές συγκεντρώσεις SA (0,01 – 0,1 ή 1mM) μπορεί να αυξήσουν την αντοχή τους στις υψηλές θερμοκρασίες, σε αντίθεση με την υδροπονική εφαρμογή ανάλογων συγκεντρώσεων (1mM), η οποία μπορεί να έχει αντίθετα αποτελέσματα. Ακόμη, η αντοχή των φυτών στις χαμηλές θερμοκρασίες (<0 °C, ‘chilling’) μπορεί να βελτιωθεί με εφαρμογή SA σε συγκεντρώσεις 0,1–0,5 mM, στο σύστημα άρδευσης, με υδροπονική εφαρμογή ή ψεκάσμό.

Σε σχέση με την επίδραση του σαλικυλικού οξέος στους καρπούς, όταν αυτό εφαρμόζεται μετασυλλεκτικά, η έρευνα έχει δείξει ότι το ίδιο ή παράγωγά του (MeSA, ASA, acetylsalicylic acid) μπορεί να έχουν θετικά αποτελέσματα στην ποιότητα και τη διατηρησιμότητα των καρπών, κατά τη συντήρηση.

Πιο συγκεκριμένα, μετασυλλεκτική εφαρμογή MeSA σε καρπούς τομάτας (0,01- 0,5mM, 16h) μειώνει τα συμπτώματα της επίδρασης των χαμηλών θερμοκρασιών κατά τη συντήρηση, με τη μικρότερη συγκέντρωση να είναι και η πιο αποδοτική (Ding et al., 2002). Παρομοίως, εμβάπτιση καρπών ροδακινιάς σε SA (0,35 – 1mM), μετασυλλεκτικά, μειώνει τα συμπτώματα του εσωτερικού καφετιάσματος (chilling injury) με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση (1mM) να παρουσιάζει στατιστικώς σημαντικές διαφορές από το μάρτυρα (Wang et al., 2006), ενώ πολύ αποτελεσματικός είναι και ο συνδυασμός SA και θέρμανσης (Cao et al., 2010). Επίσης, καρποί μουσμουλιάς (*Eriobotrya japonica* Lindl.) που εμβάπτιστηκαν σε διάλυμα ASA 1mM για 5 λεπτά, εμφάνισαν λιγότερα συμπτώματα λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών κατά τη συντήρηση (Cai et al., 2006). Τέλος, μήλα που είχαν υποστεί μεταχείριση με SA 3mM διατήρησαν χαμηλότερο δείκτη καφετιάσματος κατά τη συντήρηση (Kazemi et al., 2011).

Επιπρόσθετα, η εμβάπτιση σε διαλύματα SA (0,4-1,2 mM, 5min) μπορεί να προκαλέσει μείωση του ρυθμού αναπνοής και του ρυθμού παραγωγής αιθυλενίου σε

καρπούς του είδους *Annona squamosa* L. (sugar apples ή sugar pineapples) (Mo *et al.*, 2008) και μπανάνας (0,5 ή 1mM, 6h) (Srivastava & Dwivedi, 2000), ενώ διαλύματα SA (1,5- 3mM) ή ASA (1mM) μειώνουν την δραστηριότητα της ACC οξειδάσης σε καρπούς μηλιάς και ακτινιδιάς, αντίστοιχα, (Kazemi *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2003) καθώς και τη δραστηριότητα της ACC συνθάσης, κατά τα πρώτα στάδια της ωρίμανσης των καρπών, καθυστερόντας έτσι το κλιμακτικό μέγιστο (Zhang *et al.*, 2003).

Τέλος, η μετασυλλεκτική μεταχείριση των καρπών με SA ή κάποιο από τα παράγωγά του (MeSA, ASA), μπορεί να διατηρήσει ή να αυξήσει την περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) κατά τη συντήρηση (Peng & Jiang, 2006; Kazemi *et al.*, 2011) ή να διατηρήσει υψηλότερο το λόγο ανηγμένου/ οξειδωμένου ασκορβικού οξέος (AA/DHAA) και το λόγο ανηγμένης/ οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSH/ GSSG) (Wang *et al.*, 2006).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Η εγκατάσταση του πειράματος έγινε σε ιδιωτικό αγρό στο Κάτω Σχολάρι Θεσσαλονίκης κατά την καλλιεργητική περίοδο 2017-2018. Η συνολική έκταση του αγρού είναι 4 στρέμματα και βρίσκεται σε κεκλιμένο έδαφος με μεγάλη κλίση και προσανατολισμό Ανατολή-Δύση. Για την εγκατάσταση του πειράματος χρειάστηκαν, μαζί με τους διαδρόμους, περίπου 2 στρέμματα οριοθετώντας μια λωρίδα 40m κατά πλάτος και 50m κατά μήκος του αγρού.



Εικόνα 2.1 Ο αγρός όπου εγκαταστάθηκε το πείραμα στο Κ. Σχολάρι Θεσσαλονίκης. Νοέμβριος 2017

Δημιουργήθηκαν 9 πειραματικά τεμάχια (plots) έκτασης 150 m² το κάθε ένα (10m x 15m) εκ των οποίων, το ένα ήταν μάρτυρας (καμία επέμβαση). Η διάταξη των πειραματικών τεμαχίων ήταν 3 x 3. Δεν εφαρμόστηκε λίπανση, βασική ή επιφανειακή, ούτε φυτοπροστασία ή ζιζανιοκτονία. Η σπορά έγινε στα πεταχτά στις

3 Νοεμβρίου 2017 και σπάρθηκε η πιστοποιημένη ποικιλία VIROFLAY. Η ποικιλία αυτή είναι δανέζικης προέλευσης, πολύ γνωστή στην αγορά, με εξαιρετικά χαρακτηριστικά. Είναι πρώιμη ποικιλία, ανθεκτική στο κρύο, με πλούσιο σκουροπράσινο και λείο φύλλωμα. Επίσης, κρίνεται κατάλληλη τόσο για φθινοπωρινή όσο και για ανοιξιάτικη συγκομιδή. Η ποσότητα σπόρου που εφαρμόστηκε ήταν 3 kg, δηλαδή 1,5 kg/στρ., σύμφωνα με τις απαιτήσεις της καλλιέργειας όταν η σπορά γίνεται στα πεταχτά.



Εικόνα 2.2 Φυτό σπανακιού από το πείραμα. Ιανουάριος 2018

2.1.1 Καλλιεργητικές εργασίες

Όπως αναφέρθηκε και στην ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, η προετοιμασία του εδάφους για τη σπορά εξαρτάται από πολλούς παράγοντες (υγρασία εδάφους, εποχή σποράς, διαθέσιμα γεωργικά εργαλεία, κ.α.). Στο συγκεκριμένο πείραμα, έγινε όργωμα του εδάφους με υνάροτρο, περίπου ένα μήνα πριν τη σπορά, σε σχετικά κατάλληλες συνθήκες. Ακόλουθησε δισκοσβάρνισμα, με σκοπό το θρυμματισμό και την ισοπέδωση του εδάφους, ωστόσο οι ξηροθερμικές συνθήκες που επικράτησαν στη συνέχεια δεν επέτρεψαν την περαιτέρω κατεργασία του αγρού και παρέτειναν τη σπορά.

Η σπορά πραγματοποιήθηκε, τελικά, σε ξηρό έδαφος και ακολούθησε άμεσα κυλίνδρισμα του εδάφους, με σκοπό τη βέλτιστη ενσωμάτωση του σπόρου. Η

καλλιέργεια άρχισε να φυτρώνει 15 ημέρες αργότερα καθώς ακολούθησαν σημαντικές ποσότητες βροχόπτωσης. Γενικά, μέχρι την εποχή των επεμβάσεων (Μάρτιος, Απρίλιος 2018) και της συγκομιδής των δειγμάτων (Απρίλιος 2018), οι θερμοκρασίες και τα ύψη βροχόπτωσης ευνόησαν την ανάπτυξη και την ευημερία των φυτών, με αποτέλεσμα να μην κριθεί απαραίτητη η άρδευση της καλλιέργειας.

Κατά την καλλιεργητική περίοδο, οι επισκέψεις στον αγρό ήταν συχνές και ανά τακτά χρονικά διαστήματα πραγματοποιούταν ξεβοτάνισμα των πειραματικών τεμαχίων και παρακολούθηση της πορείας της καλλιέργειας.



Εικόνα 2.3 Φυτά σπανακιού από το πείραμα λίγο πριν τις επεμβάσεις, Φεβρουάριος 2018

2.1.2 Πειραματικό σχέδιο

Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε για την πραγματοποίηση του πειράματος ήταν οι τυχαιοποιημένες πλήρεις ομάδες (Randomized Complete Blocks, RCB), με ένα μάρτυρα και οκτώ επεμβάσεις χωρίς επαναλήψεις.

Πίνακας 2.1 Το πειραματικό σχέδιο

1	2	3
4	5	6
7	8	9

Οι επεμβάσεις που έγιναν και οι συγκεντρώσεις βορίου (B) και σαλικυλικού οξέος (SAL) ανά επέμβαση είναι οι εξής:

- 1) Χωρίς επέμβαση (μάρτυρας)
- 2) Εφαρμογή B 5ppm και SAL 4,5ppm
- 3) Εφαρμογή B 7,5ppm και SAL 3,5ppm
- 4) Εφαρμογή B 5ppm
- 5) Εφαρμογή SAL 3,5ppm
- 6) Εφαρμογή B 5ppm και SAL 3,5ppm
- 7) Εφαρμογή SAL 4,5ppm
- 8) Εφαρμογή B 7,5ppm
- 9) Εφαρμογή B 7,5ppm και SAL 4,5ppm

2.1.3 Επεμβάσεις στο πείραμα

Οι επεμβάσεις που πραγματοποιήθηκαν στα πειραματικά τεμάχια αφορούσαν, όπως προαναφέρθηκε, την εφαρμογή βορίου και σαλικυλικού οξέος στα οκτώ από τα εννέα πειραματικά τεμάχια, καθώς το ένα ήταν μάρτυρας και δεν έγινε καμία επέμβαση. Σκοπός ήταν η διερεύνηση των επιπέδων βορίου που προκαλούν

αρνητικές (τοξικές) επιπτώσεις στα φυτά του σπανακιού και η εξακρίβωση του ρόλου του σαλκυλικού οξέος στην ανακούφιση των επιπτώσεων αυτών. Έτσι, αποφασίστηκε να εφαρμοστούν δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις των στοιχείων αυτών, σε όλους τους πιθανούς συνδυασμούς.



Εικόνα 2.4 Ο πειραματικός αγρός κατά την έναρξη των επεμβάσεων. Μάρτιος 2018

Οι συγκεντρώσεις του βορίου που αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθούν ήταν 5ppm και 7,5ppm ενώ του σαλκυλικού οξέος 3,5ppm και 4,5ppm. Ένα πειραματικό τεμάχιο ψεκάστηκε μόνο με B 5ppm, ένα με B 7,5ppm, ένα άλλο με SAL 3,5ppm και ένα τέταρτο με SAL 4,5ppm. Στα υπόλοιπα πειραματικά τεμάχια εφαρμόστηκαν οι συνδυασμοί των δύο στοιχείων και πιο αναλυτικά: B 5ppm + SAL 3,5ppm στο τεμάχιο 6, B 5ppm + SAL 4,5ppm στο τεμάχιο 2, B 7,5ppm + SAL 3,5ppm στο τεμάχιο 3 και B 7,5ppm + SAL 4,5ppm στο τεμάχιο 9. Η εφαρμογή έγινε με διαφυλλικό ψεκασμό κάθε τεμαχίου χρησιμοποιώντας ψεκαστήρα πλάτης με χωρητικότητα 16L. Κάθε τεμάχιο ψεκαζόταν ξεχωριστά εφαρμόζοντας την επέμβαση που είχε αποφασιστεί για το καθένα. Επίσης, προκειμένου να παραμείνει σταθερή η συγκέντρωση του στοιχείου που εφαρμοζόταν έγινε αναγωγή στον όγκο ψεκαστικού υγρού που περιείχε ο ψεκαστήρας, δηλαδή στα 16L. Συνεπώς, στις εφαρμογές που απαιτούσαν B 5ppm, προστέθηκαν 800ml διαλύματος στον ψεκαστήρα ενώ σε αυτές που απαιτούσαν B 7,5ppm προστέθηκαν 1200ml

διαλύματος. Αντίστοιχα, στις εφαρμογές που απαιτούνταν SAL 3,5ppm, προστέθηκαν 560ml στον ψεκαστήρα και σε αυτές που απαιτούνταν SAL 4,5ppm προστέθηκαν 720ml.



Εικόνα 2.5 Φυτό σπανακιού από το πείραμα. Φεβρουάριος 2018

Πραγματοποιήθηκαν δύο επεμβάσεις σε κάθε τεμάχιο καθώς απαιτήθηκε και επαναληπτικός ψεκασμός. Η πρώτη επέμβαση πραγματοποιήθηκε στις 26 Μαρτίου 2018 και η δεύτερη στις 12 Απριλίου 2018. Η συγκομιδή του φυτικού υλικού έγινε 15 ημέρες αργότερα, στις 26 Απριλίου 2018. Από κάθε τεμάχιο συγκομίστηκαν περίπου 10 φύλλα. Προτιμήθηκαν τα ζωηρά, πράσινα και ώριμα φύλλα. Επίσης, από κάθε τεμάχιο συλλέχτηκαν 2 φυτά σπανακιού, τα οποία μεταφυτεύτηκαν σε γλαστράκια και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Βοτανικής του ΑΤΕΙΘ μαζί με τα φύλλα, προκειμένου να γίνουν οι μετρήσεις που θα περιγραφούν παρακάτω.

2.1.4 Εδαφολογική ανάλυση

Πριν την εγκατάσταση του πειράματος έγινε δειγματοληψία εδάφους προκειμένου να πραγματοποιηθεί εδαφολογική ανάλυση. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση της μηχανικής σύστασης του εδάφους, μέτρηση pH και ηλεκτρικής αγωγιμότητας (EC) του εδάφους, προσδιορισμός της περιεκτικότητας του εδάφους σε νιτρικά (NO_3^-), φώσφορο (P), κάλιο (K), ασβέστιο (Ca^{++}), μαγνήσιο (Mg^+) και

ανθρακικό ασβέστιο (CaCO_3) καθώς και η μέτρηση της οργανικής ουσίας του εδάφους.

Το μέρος του αγρού όπου εγκατάσταθηκε το πείραμα χωρίστηκε νοητά σε 2 ίσα μέρη, με βάση τον χρωματισμό του εδάφους. Το ένα μέρος αποτελείται από έδαφος ανοιχτού χρωματισμού (ασπρόχρωμα) και το άλλο από πιο σκουρόχρωμο έδαφος (ανοιχτόχρωμο μαυρόχρωμα). Ο συγκεκριμένος διαχωρισμός έγινε λόγω των εμφανών διαφορών στο χρώμα και, πιθανόν, στις ιδιότητες του εδάφους των δύο μερών, με στόχο να αιτιολογηθούν πιθανές διαφορές που θα προέκυπταν στο πειραματικό υλικό διαφορετικών τεμαχίων και θα οφείλονταν στις διαφορετικές εδαφικές ιδιότητες και όχι σε άλλες παραμέτρους του πειράματος. Συνεπώς, συλλέχθηκαν τρία δείγματα εδάφους. Ένα από κάθε ένα εκ των δύο προαναφερθέντων μερών αλλά και ένα μικτό δείγμα των δύο μερών, με ίση ποσότητα εδάφους από κάθε μέρος. Το κάθε δείγμα αποτελούνταν από πέντε επιμέρους δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν από τις τέσσερις άκρες και τη μέση του κάθε μέρους, σε σχήμα W. Το βάθος δειγματοληψίας ήταν 0-25 cm.

Μετά τη δειγματοληψία, τα δείγματα αφέθηκαν να ξεραθούν σε κλειστό και στεγνό χώρο. Εν συνεχεία, κοσκινίστηκαν προκειμένου να απομακρυνθούν οι ξένες ύλες και να σπάσουν τα συσσωματώματα. Η ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Εδαφολογίας του ΑΤΕΙΘ.

Ο προσδιορισμός της μηχανικής σύστασης του εδάφους έγινε με τη μέθοδο του πυκνομέτρου ή μέθοδο Βουγιούκου. Στη συγκεκριμένη μέθοδο, γίνεται μέτρηση της πυκνότητας του εδαφικού αιωρήματος με το πυκνόμετρο Βουγιούκου σε δύο χρονικές στιγμές. Κατόπιν, οι δύο μετρήσεις ανάγονται σε % κατά βάρος περιεκτικότητα σε ιλύ+άργιλο και άργιλο. Στη συνέχεια υπολογίζεται η περιεκτικότητα του δείγματος σε άμμο. Η μέθοδος βασίζεται στη διαφορετική ταχύτητα καθίζησης των τεμαχιδίων της άμμου, της ιλύος και της αργίλου, τα οποία ακολουθούν τη σειρά άμμος >ιλύς>άργιλος. Αποτέλεσμα της καθίζησης των τεμαχιδίων είναι η μεταβολή της πυκνότητας του αιωρήματος με το χρόνο.



Εικόνα 2.6 Αντλία κενού και συστοιχία χωνιών διήθησης Buchner για την παραλαβή του εκχυλίσματος κορεσμού στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του ΑΤΕΙΘ

Στη δική μας περίπτωση, ζυγίστηκαν 100g εδάφους από το κάθε δείγμα και τοποθετήθηκαν σε ειδικό αναδευτήρα όπου προστέθηκαν 10ml εξαμεταφωσφορικού νατρίου (NaPO_3)₆ και 200ml απιονισμένο νερό. Τα δείγματα αναδεύτηκαν για 5 λεπτά σε μεγάλη ταχύτητα και μεταφέρθηκαν σε κύλινδρο μηχανικής ανάλυσης, ο οποίος συμπληρώθηκε με απιονισμένο νερό μέχρι τα 1000ml, για τον προσδιορισμό των 3 εδαφικών κλασμάτων (άμμος, ιλύς, άργιλος). Το αιώρημα αναδεύτηκε για 20sec ώστε να γίνει ομοιογενές σε όλο το ύψος του κυλίνδρου και μετά τοποθετήθηκε προσεκτικά το πυκνόμετρο μέσα στο αιώρημα. Μετά από 40sec ελήφθη η πρώτη μέτρηση που αντιστοιχεί στην πυκνότητα του αιωρήματος, η οποία οφείλεται στην ιλύ και στην άργιλο και εκφράζεται σε g/L. Μετά τη λήψη της πρώτης ένδειξης μετράται η θερμοκρασία του αιωρήματος και, στη συνέχεια, αφήνεται σε ηρεμία για 2 ώρες, οπότε και λαμβάνεται η δεύτερη ένδειξη κατά τον ίδιο τρόπο. Αυτή η ένδειξη αντιστοιχεί στην πυκνότητα του δείγματος που οφείλεται στην άργιλο. Κατόπιν, μετράται η θερμοκρασία του αιωρήματος.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι το πυκνόμετρο Βουγιούκου είναι βαθμολογημένο στους 20°C, οι δύο ενδείξεις πρέπει να διορθωθούν αν η θερμοκρασία του αιωρήματος είναι διαφορετική από 20°C. Έτσι, αν $\theta > 20^\circ\text{C}$, τότε για κάθε επιπλέον 0,5°C προστίθενται 0,2g/L στην ένδειξη που ελήφθη. Αν, όμως, $\theta < 20^\circ\text{C}$, τότε για κάθε 0,5°C αφαιρούνται 0,2g/L από την αντίστοιχη ένδειξη.

Η αντίδραση του εδάφους (pH) είναι μία από τις βασικότερες χημικές ιδιότητες του εδάφους, η οποία καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την καταλληλότητα ενός εδάφους για γεωργική χρήση καθώς επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό τη βιολογική δραστηριότητα του εδάφους, τη σταθερότητα των ορυκτών και τη διαθεσιμότητα διαφόρων θρεπτικών στοιχείων για τα φυτά. Εδάφη με $pH < 5,5$ χαρακτηρίζονται ισχυρώς όξινα ενώ αυτά με $pH > 8,5$ ισχυρώς αλκαλικά. Τέτοια εδάφη είναι ακατάλληλα για τις περισσότερες καλλιέργειες εάν προηγουμένως δεν υποστούν διόρθωση.



Εικόνα 2.7 pH-μετρο και αγωγιμόμετρο (κυρίως όργανο, ηλεκτρόδιο και πρότυπα διαλύματα για τη ρύθμιση του οργάνου) στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του ΑΤΕΙΘ

Ο προσδιορισμός του pH έγινε με την ηλεκτρομετρική μέθοδο χρησιμοποιώντας το pHμετρο. Αρχικά, δημιουργήθηκε η πάστα κορεσμού με σκοπό να χρησιμοποιηθεί και για τον προσδιορισμό της ηλεκτρικής αγωγιμότητας (EC) του εδάφους. Ζυγίστηκαν 150g εδάφους και τοποθετήθηκαν σε στρόγγυλα πλαστικά κουτιά. Στη συνέχεια, προστέθηκε σταδιακά απιονισμένο νερό και τα δείγματα αναμιγνύονταν με τη σπάτουλα μέχρι να διαλυθούν τα συσσωματώματα και να επέλθει πλήρης κορεσμός του εδάφους. Τα δείγματα αφέθησαν για ένα 2 ώρες μέχρι να σταθεροποιηθεί η πάστα. Ακολούθως, η πάστα μεταφέρθηκε σε χωνί διήθησης

Buchner και με τη βοήθεια μιας αντλίας κενού έγινε η παραλαβή των εκχυλισμάτων. Τέλος, προσδιορίστηκε το pH των δειγμάτων στο pHμετρο του εργαστηρίου.

Η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα του εδαφικού διαλύματος (EC) είναι ένα μέτρο της συνολικής ποσότητας των υδατοδιαλυτών αλάτων ενός εδάφους. Η EC μετριέται στο αγωγιμόμετρο στους 25°C με τη βοήθεια δύο πλατινένιων ηλεκτροδίων, με επιφάνεια 1cm² το καθένα, που απέχουν 1cm μεταξύ τους. Η τιμή της εκφράζεται σε mho/cm ή mmho/cm ή mS/cm. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της EC τόσο πιο πλούσιο σε άλατα είναι το εδαφικό διάλυμα. Σε ακραίες τιμές αυξάνεται η οσμωτική πίεση του εδαφικού διαλύματος, με αποτέλεσμα τα φυτά να μαραίνονται λόγω αδυναμίας πρόσληψης του διαθέσιμου εδαφικού νερού. Η αυξημένη αλατότητα του εδάφους μπορεί να οφείλεται στο ξηροθερμικό κλίμα της περιοχής, στην κακή στράγγιση του εδάφους, στην υψηλή στάθμη των υπόγειων υδάτων και στην υποβαθμισμένη ποιότητα του νερού άρδευσης. Εάν η αλατότητα δεν αντιμετωπιστεί για μεγάλο χρονικό διάστημα οδηγεί στη νατρίωση του εδάφους και την πλήρη υποβάθμισή του.

Η μέτρηση της ειδικής ηλεκτρικής αγωγιμότητας των δειγμάτων μας έγινε στο αγωγιμόμετρο του εργαστηρίου, χρησιμοποιώντας τα εκχυλίσματα που είχαν παρασκευαστεί για τον προσδιορισμό του pH.

Οργανική ουσία του εδάφους ορίζεται το σύνολο των υπολειμμάτων φυτικής και ζωικής προέλευσης που ενσωματώνονται στο έδαφος, ανεξάρτητα από το στάδιο αποσύνθεσής τους. Η οργανική ουσία επηρεάζει θετικά τις φυσικές, χημικές και βιοχημικές ιδιότητες του εδάφους. Πιο αναλυτικά, μειώνει τη συνεκτικότητα των αργιλωδών εδαφών, ενώ αντίθετα την αυξάνει στα αμμώδη εδάφη, ευνοεί τον σχηματισμό σταθερών συσσωματωμάτων και γενικά βελτιώνει την εδαφική δομή. Επίσης, αυξάνει την Ικανότητα Ανταλλαγής Κατιόντων, την ικανότητα του εδάφους να συγκρατεί νερό και βελτιώνει τη γονιότητά του. Εδάφη που περιέχουν οργανική ουσία σε ποσοστό <20% χαρακτηρίζονται ανόργανα ενώ όσα περιέχουν οργανική ουσία σε ποσοστό >20% είναι οργανικά. Τα ελληνικά εδάφη χαρακτηρίζονται από την πολύ χαμηλή περιεκτικότητά τους σε οργανική ουσία καθώς δεν ξεπερνά το 3% κατά βάρος.

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας του εδάφους σε οργανική ουσία βασίζεται στον προσδιορισμό του οργανικού άνθρακα και γίνεται με δύο μεθόδους. Τη μέθοδο της ξηρής καύσης και τη μέθοδο της υγρής οξειδωσης, την οποία και χρησιμοποιήσαμε. Με αυτή τη μέθοδο ο οργανικός άνθρακας προσδιορίζεται έμμεσα

με δύο διαδοχικές αντιδράσεις οξειδοαναγωγής. Αρχικά, ζυγίστηκε ποσότητα 1g εδάφους και μεταφέρθηκε σε κωνική φιάλη των 500ml. Σε αυτήν προστέθηκαν 10ml διχρωμικό κάλιο ($K_2Cr_2O_7$) και 10ml θειικό οξύ (H_2SO_4), μέσα σε ειδικό θάλαμο λόγω της επικινδυνότητάς του. Στη συνέχεια, η φιάλη παρέμεινε σε ηρεμία για 30min για να οξειδωθεί ο άνθρακας της οργανικής ουσίας. Μετά το πέρας των 30min προστέθηκαν στη φιάλη 200ml απιονισμένο νερό, 10ml φωσφορικό οξύ (H_3PO_4) και 2ml δείκτη διφαινυλαμίνης ώστε το εδαφικό αιώρημα να αποκτήσει σκούρο μπλε χρώμα. Ακολούθησε η ογκομέτρηση της περισσειας $K_2Cr_2O_7$ που δεν έλαβε μέρος στην οξείδωση του C, με διάλυμα θεικού σιδήρου ($FeSO_4$) 0,5N. Η ογκομέτρηση σταμάτησε (τελικό σημείο της αντίδρασης) όταν το χρώμα του αιωρήματος άλλαξε από σκούρο μπλε σε σκούρο πράσινο. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε και με λευκό δείγμα (χωρίς έδαφος) για να υπολογιστεί η κανονικότητα του διαλύματος $FeSO_4$, η οποία μεταβάλλεται με το χρόνο. Στο τέλος των ογκομετρήσεων σημειώθηκαν οι όγκοι του διαλύματος θεικού σιδήρου που καταναλώθηκαν.

Χρησιμοποιώντας τον τύπο του οργανικού άνθρακα και τον τύπο της οργανικής ουσίας, υπολογίστηκε η οργανική ουσία που περιέχεται στο έδαφος των τριών δειγμάτων.

Το ανθρακικό ασβέστιο ($CaCO_3$) του εδάφους αντιπροσωπεύει, ουσιαστικά, όλα τα ανθρακικά άλατα του εδάφους καθώς τα κατιόντα ασβεστίου (Ca^{2+}) επικρατούν των άλλων κατιόντων. Το ανθρακικό ασβέστιο επηρεάζει τόσο τις χημικές όσο και τις φυσικές ιδιότητες του εδάφους. Λόγω της υδρόλυσής του, ρυθμίζει το pH στην περιοχή 7,1-8,5 και αποτελεί πηγή Ca διαθέσιμου για τα φυτά. Το ανθρακικό ασβέστιο είναι επιθυμητό σε ποσοστά 2-8% γιατί αποτελεί μία εφεδρεία Ca κατά της οξίνισης αλλά ανεπιθύμητο σε ποσοστά της τάξης του 20-50% καθώς δεσμεύει ιχνοστοιχεία κυρίως λόγω του pH και, επίσης, φώσφορο σαν αδιάλυτο φωσφορικό ασβέστιο. Επιπρόσθετα, δεσμεύει τον σίδηρο που είναι αδιάλυτος σε αλκαλικό περιβάλλον αλλά συμβάλλει στη δημιουργία συσσωματωμάτων και, άρα, στη βελτίωση της εδαφικής δομής.

Ο προσδιορισμός του ανθρακικού ασβεστίου του εδάφους γίνεται με τη μέθοδο του ασβεστόμετρου. Η ποσότητα εδάφους που χρησιμοποιείται καθορίστηκε με προκαταρκτικό έλεγχο. Τοποθετήθηκε μικρή ποσότητα εδάφους σε κάψα και αποχύθηκε σε αυτήν μικρή ποσότητα HCl 4 N. Επειδή, ο αφρισμός του εδάφους

ήταν έντονος, χρησιμοποιήθηκαν 0,5g εδάφους για τη μέτρηση. Η ποσότητα αυτή τοποθετήθηκε σε κωνική φιάλη των 100ml όπου τοποθετήθηκε και φιαλίδιο με ποσότητα υδροχλωρίου (HCl) 4 N ίση με τα 2/3 του φιαλιδίου. Η φιάλη πωματίστηκε με το πάμα του ασβεστομέτρου Bernard, με τρόπο ώστε να μην χυθεί το υδροχλώριο στο έδαφος. Η στρόφιγγα του ασβεστομέτρου που οδηγεί στη φιάλη παρέμεινε, αρχικά, κλειστή ενώ η στρόφιγγα της φούσκας ανοιχτή. Εν συνεχεία, πιέσαμε ελαφρά τη φούσκα για να εισέλθει ο αέρας, να πιέσει το υγρό στο δοχείο πλήρωσης και αυτό να ανέβει στους σωλήνες. Όταν οι στάθμες ανέβηκαν σε ένα επιθυμητό ύψος, κλείσαμε τη στρόφιγγα σταματώντας την παροχή αέρα για να διατηρηθούν οι στάθμες του υγρού (νερό με κάποιο διαλύτη) σταθερές. Σημειώθηκε η αρχική ένδειξη του ασβεστομέτρου στο βαθμολογημένο σωλήνα και άρχισε η ανακίνηση της φιάλης με σκοπό να αποχυθεί το HCl στο έδαφος. Ταυτόχρονα, πιεζόταν η φούσκα, αφού πρώτα είχαμε ανοίξει τη στρόφιγγα που οδηγεί στη φιάλη. Λόγω της ύπαρξης CaCO_3 , άρχισε να εκλύεται CO_2 , το οποίο εκτόπισε τον αέρα από τη φιάλη και πίεζε σταδιακά το υγρό στο βαθμολογημένο σωλήνα, προς τα κάτω. Μετά από λίγο, η στάθμη του υγρού στο σωλήνα σταμάτησε να κατεβαίνει δείχνοντας το τέλος της αντίδρασης. Τότε σημειώθηκε η δεύτερη ένδειξη της στάθμης του υγρού αλλά και η ένδειξη της θερμοκρασίας από το θερμόμετρο της συσκευής.

Ο προσδιορισμός των κατιόντων ασβεστίου (Ca^{+2}) και μαγνησίου (Mg^{+2}) του εδαφικού διαλύματος γίνεται με τη μέθοδο της ογκομετρικής ανάλυσης. Με τη μέθοδο αυτή προσδιορίζεται πειραματικά ο όγκος ενός διαλύματος ουσίας γνωστού τίτλου που απαιτείται για να αντιδράσει πλήρως με την άγνωστη ουσία που περιέχεται σε ορισμένο όγκο διαλύματος. Το διάλυμα με τη γνωστή συγκέντρωση ονομάζεται πρότυπο διάλυμα. Ο ογκομετρικός προσδιορισμός των παραπάνω κατιόντων γίνεται με τη μέθοδο της συμπλοκομετρίας όπου ως πρότυπο διάλυμα χρησιμοποιείται το EDTA.

Για τον προσδιορισμό των κατιόντων ασβεστίου και μαγνησίου καθώς και για αυτόν του καλίου (K^+) απαιτείται η παρασκευή κατάλληλου εδαφικού εκχυλίσματος. Για την παρασκευή του εκχυλίσματος ζυγίστηκαν 2,5g εδάφους τα οποία τοποθετήθηκαν σε πλαστικό κυλινδρικό κουτάκι όπου προστέθηκαν 25ml οξικού αμμωνίου [$(\text{CH}_3\text{COONH}_4)$, 1 N, pH 7]. Στη συνέχεια, ανακινήθηκαν για 30min και ακολούθησε η διήθηση για την παραλαβή του εκχυλίσματος.

Για τον προσδιορισμό των Ca^{2+} τοποθετήθηκαν 5ml του εδαφικού εκχυλίσματος σε κωνικές φιάλες των 250ml και προστέθηκαν 100ml απιονισμένο νερό για την αύξηση του όγκου του. Κατόπιν, προστέθηκαν 2ml NaOH 4 N για να αυξηθεί το pH του διαλύματος στο 12, 10 σταγόνες υδροχλωρική υδροξυλαμίνη ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 5%), 10 σταγόνες τριαιθανολαμίνη (TEA) καθώς και πολύ μικρή ποσότητα δείκτη Calcon. Το διάλυμα χρωματίστηκε ερυθροϊώδες που σημαίνει ότι περιείχε Ca^{2+} . Ακολούθως, συμπληρώθηκε η προχοΐδα με πρότυπο διάλυμα EDTA 0,02 N και ανοίχτηκε η στρόφιγγα, προκειμένου να ογκομετρείται σταγόνα-σταγόνα το διάλυμα της φιάλης. Μετά από λίγο, το χρώμα του διαλύματος στη φιάλη άρχισε να αλλάζει χρωματισμό από ερυθροϊώδες σε σκούρο μπλε. Αυτό σηματοδότησε το τέλος της ογκομέτρησης καθώς δεσμεύτηκε όλο το ασβέστιο του δείγματος και σημειώθηκε η ποσότητα EDTA που καταναλώθηκε.

Ο προσδιορισμός των κατιόντων μαγνησίου του εδαφικού διαλύματος συνδέεται έμμεσα με τον προσδιορισμό των κατιόντων του ασβεστίου, όπως αναλύεται παρακάτω. 5ml του εκχυλίσματος εδάφους που παρασκευάστηκε προηγουμένως, τοποθετούνται σε κωνικές φιάλες των 250ml και προστίθενται 95ml απιονισμένο νερό για αύξηση του όγκου. Κατόπιν, προστέθηκαν 8ml ρυθμιστικού διαλύματος NH_4Cl για να αυξηθεί το pH του διαλύματος και, στη συνέχεια, 10 σταγόνες σιδηροκυανιούχο κάλιο ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 4%), 10 σταγόνες υδροχλωρική υδροξυλαμίνη ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 5%) και 10 σταγόνες τριαιθανολαμίνη (TEA). Στο τέλος προστέθηκε πολύ μικρή ποσότητα EBT, χρωματίζοντας βυσσινέρυθρο το διάλυμα, δείχνοντας την ύπαρξη κατιόντων ασβεστίου και μαγνησίου. Η προχοΐδα συμπληρώθηκε εκ νέου με διάλυμα EDTA 0,02 N και ακολούθησε η ογκομέτρηση, όπως στον προσδιορισμό του ασβεστίου. Η αλλαγή του χρώματος του διαλύματος από βυσσινέρυθρο σε μπλε σηματοδότησε το τέλος της ογκομέτρησης καθώς δεσμεύτηκε το σύνολο του ασβεστίου και του μαγνησίου και ελήφθησαν οι μετρήσεις των ml EDTA που καταναλώθηκαν.

Ο προσδιορισμός των κατιόντων καλίου (K^+) στα εδαφικά εκχυλίσματα αλλά και στο νερό άρδευσης γίνεται με τη μέθοδο του φλογοφωτόμετρου. Το φλογοφωτόμετρο είναι ένα προηγμένο φωτόμετρο φλόγας, βασισμένο σε μικροεπεξεργαστή, με σκοπό τη μέτρηση των συγκεντρώσεων των κατιόντων καλίου και νατρίου, σε ppm. Η φλόγα είναι ακετυλενίου ή προπανίου και η βασική αρχή λειτουργίας του περιγράφεται παρακάτω. Το διάλυμα αναρροφάται και υπό

μορφή λεπτότατου νέφους σταγονιδίων ψεκάζει ομοιόμορφα την ισχυρή φλόγα. Τα άτομα K^+ ή Na^+ που περιέχονται στο διάλυμα απελευθερώνονται και έρχονται σε ένα τέτοιο σημείο διέγερσης που εκπέμπουν έγχρωμη ακτινοβολία σε χαρακτηριστικό, για το κάθε στοιχείο, μήκος κύματος. Η εκπεμπόμενη ακτινοβολία διαχωρίζεται με το μονοχρωμάτορα (πρίσμα), μετατρέπεται σε ηλεκτρική ενέργεια με φωτοευαίσθητο ηλεκτρικό κύκλωμα, ενισχύεται και καταγράφεται. Η ένταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση των ιόντων K και Na στο διάλυμα. Η μέτρηση μετατρέπεται σε συγκέντρωση των στοιχείων στο δείγμα με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς του οργάνου. Η κατασκευή της γίνεται από μία σειρά διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης K^+ ή Na^+ (πρότυπα διαλύματα) και των αντίστοιχων μετρήσεων που δίνει το όργανο.

Αφού παρασκευαστούν τα πρότυπα διαλύματα K^+ ή Na^+ , το φλογοφωτόμετρο τίθεται σε λειτουργία και αφήνεται να προθερμανθεί για 10min. Στη συνέχεια, γίνεται έλεγχος και παράγεται η φλόγα, επιλέγεται το κατάλληλο φίλτρο (για K ή Na), τοποθετείται το σωληνάκι αναρρόφησης μέσα σε απιονισμένο νερό και με το κουμπί ελέγχου στο λευκό, μηδενίζεται η ένδειξη του οργάνου. Κατόπιν, με το διάλυμα συγκέντρωσης 10ppm K^+ ή Na^+ ρυθμίζεται η ένδειξη στο 100 της κλίμακας και η διαδικασία επαναλαμβάνεται μέχρι να σταθεροποιηθούν τα όρια της κλίμακας. Σημειώνεται η ένδειξη (εκπομπή χαρακτηριστικής ακτινοβολίας) για τα πρότυπα διαλύματα, συγκεντρώσεων 2,4,6 και 8 ppm, αντίστοιχα. Σε σύστημα ορθογωνίων αξόνων τοποθετούνται οι συγκεντρώσεις C (ppm) των πρότυπων διαλυμάτων (άξονας χ) και οι αντίστοιχες ενδείξεις του οργάνου (άξονας y). Τέλος, χαράσσεται η καμπύλη αναφοράς και εξάγεται η εξίσωση της ευθείας.



Εικόνα 2.8 Φλογοφωτόμετρο στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του ΑΤΕΙΘ

Για την μέτρηση των δειγμάτων, τοποθετήθηκε το σωληνάκι αναρρόφησης στο εκχύλισμα των δειγμάτων (είχε παρασκευαστεί κατά τον προσδιορισμό του ασβεστίου και του μαγνησίου) και σημειώθηκε η ένδειξη, η οποία ήταν μεγαλύτερη του 100 και συνεπώς, χρειάστηκε αραίωση (1:10) των δειγμάτων. Ακολούθησε η τελική μέτρηση των δειγμάτων και χρησιμοποιώντας την καμπύλη αναφοράς που κατασκευάστηκε και την αντίστοιχη εξίσωση, η ένδειξη που έδωσε το κάθε δείγμα μετατράπηκε σε συγκέντρωση (ppm) κατιόντων Κ στο εδαφικό διάλυμα.

Ο προσδιορισμός των νιτρικών ανιόντων (NO_3^-) γίνεται με το φασματοφωτόμετρο. Το φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού (UV – Vis) χρησιμοποιείται για την μέτρηση της συγκέντρωσης στοιχείων ή ενώσεων μέσα σε ένα υγρό διάλυμα (νιτρικά ή θειικά SO_4^{2-}). Η λειτουργία του στηρίζεται στην απορρόφηση τμήματος του φωτός (υπεριώδους – ορατού) όταν αυτό διέρχεται μέσα από ένα διάλυμα. Το φως που παράγεται από ένα λαμπτήρα κατευθύνεται με μία ορισμένη ισχύ προς ένα υδατικό διάλυμα που περιέχει ένα στοιχείο ή μία ένωση σε ορισμένη συγκέντρωση. Το υδατικό διάλυμα απορροφά τμήμα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και έτσι η ακτινοβολία που απομακρύνεται από αυτό έχει ισχύ μικρότερη από την αρχική. Η απορρόφηση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του στοιχείου ή της ένωσης στο υδατικό διάλυμα.



Εικόνα 2.9 Φασματοφωτόμετρο UV – Vis στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του ΑΤΕΙΘ

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των νιτρικών ανιόντων γίνεται με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς των NO_3^- και την εξαγωγή της αντίστοιχης εξίσωσης. Πρώτα παρασκευάζονται τα πρότυπα διαλύματα των νιτρικών και σημειώνεται η ένδειξη (απορρόφηση σε μήκος κύματος (λ) 210nm) του φασματοφωτόμετρου για τα πρότυπα διαλύματα, συγκεντρώσεων 2-12 ppm. Εν συνεχεία, σε φύλλο εργασίας του excel, κατασκευάζεται η καμπύλη αναφοράς τοποθετώντας τις συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων στον άξονα των x και τις αντίστοιχες ενδείξεις του οργάνου στον άξονα των y . Μετά, χαράσσεται η ευθεία (καμπύλη αναφοράς) που αντιστοιχεί στα ζεύγη τιμών και εξάγεται η εξίσωση. Η εξίσωση που εξήχθη ήταν η εξής: $y=0,1122x+0,0159$.

Για την παρασκευή του εδαφικού εκχυλίσματος, που θα χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης νιτρικών στα δείγματα, ζυγίστηκαν 5g εδάφους από κάθε δείγμα και μεταφέρθηκαν σε κωνικές φιάλες. Σε αυτές προστέθηκαν 50ml διαλύματος χλωριούχου καλίου (KCL) 1 M. Στη συνέχεια, οι φιάλες πωματίστηκαν και ανακινήθηκαν για 1 ώρα. Ακολούθησε η παραλαβή του εδαφικού εκχυλίσματος σε πλαστικά δοχεία.

Η μέτρηση της συγκέντρωσης των NO_3^- στα δείγματα, ξεκίνησε με την 1:10 αραιώση των εκχυλισμάτων και τη μέτρηση της απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο, στα 210nm. Η τιμή που σημειώθηκε οφείλεται στα NO_3^- αλλά και σε υδατοδιαλυτά κλάσματα της οργανικής ουσίας. Για να αφαιρεθεί η

παρεμβολή της οργανικής ουσίας μετρήθηκε η απορρόφηση και στα 270nm. Η δεύτερη τιμή αφαιρέθηκε από την πρώτη και η διαφορά τους, η οποία οφείλεται αποκλειστικά στην παρουσία των νιτρικών, μετατράπηκε σε συγκέντρωση νιτρικών στο εκχύλισμα σε ppm (mg/l), με τη χρήση της καμπύλης αναφοράς και της αντίστοιχης εξίσωσης. Με βάση την τιμή αυτή υπολογίζεται η συγκέντρωση του διαθέσιμου NO₃-N στο έδαφος σε ppm (mg/kg), χρησιμοποιώντας τη σχέση: NO₃-N (mg/kg) = NO₃ (mg/l) * 10 * 0,2258.

Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε φωσφόρο (P), πρέπει να προηγηθεί η εκχύλιση των δειγμάτων με τη μέθοδο του Olsen. Αρχικά, ζυγίστηκαν 2,5g εδάφους από κάθε δείγμα και τοποθετήθηκαν σε κωνικές φιάλες. Σε κάθε φιάλη προστέθηκαν 50ml διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) 0,5 M, 8,5 pH με τον ογκομετρικό κύλινδρο. Στη συνέχεια, οι φιάλες πωματίστηκαν, ανακινήθηκαν για 30min και, τελικά, τα εκχυλίσματα συλλέχτηκαν σε πλαστικά δοχεία με τη βοήθεια χωνιών και διηθητικών χαρτιών.

Ο προσδιορισμός του φωσφόρου γίνεται, όπως και των νιτρικών, σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis και εφαρμόζοντας τη μέθοδο του ασκορβικού οξέος. Πριν τον αναλυτικό προσδιορισμό στα εκχυλίσματα, βγαίνει η καμπύλη αναφοράς φωσφόρου ώστε οι μετρήσεις που θα ληφθούν από το φασματοφωτόμετρο να μετατραπούν σε συγκεντρώσεις στα εκχυλίσματα. Έτσι, ρυθμίσαμε το φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 882 nm και χρησιμοποιήσαμε πρότυπα διαλύματα 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0 και 1,2 ppm P. Για κάθε πρότυπο διάλυμα που εισήχθη στο όργανο, σημειώσαμε την ένδειξη (απορρόφηση, Abs). Για το μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιήθηκε το λευκό διάλυμα (0ppm). Στη συνέχεια, οι συγκεντρώσεις (ppm) των πρότυπων διαλυμάτων P και οι αντίστοιχες ενδείξεις του οργάνου (Abs) τοποθετήθηκαν σε φύλλο εργασίας του excel, όπου χαράχθηκε η ευθεία γραμμή (καμπύλη αναφοράς) που αντιστοιχεί στα ζεύγη τιμών και εξήχθη η εξίσωση της ευθείας. Η εξίσωση είναι της γενικής μορφής $y=ax+b$, όπου y είναι η απορρόφηση, x είναι η συγκέντρωση του P και a, b είναι συντελεστές των οποίων οι τιμές δίνονται αυτόματα στο excel. Η εξίσωση που μας έδωσε το excel ήταν η εξής: $y=0,8761x+0,0013$.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, για τον προσδιορισμό του φωσφόρου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του ασκορβικού οξέος. Αρχικά, λοιπόν, 10ml από το κάθε εκχύλισμα τοποθετήθηκαν με γυάλινο σιφόνιο σε ογκομετρικές φιάλες των

50ml. Κατόπιν, προστέθηκε σε κάθε φιάλη 1ml διαλύματος A [θειικό οξύ (H_2SO_4) 5 N, τρυγικό καλιοαντιμόνιο ($KSbO.C_4H_4O_6$) και μολυβδαινικό αμμώνιο $[(NH_4)_6MoO_{24}.4H_2O]$] και οι φιάλες ανακινήθηκαν περιοδικά με το χέρι (εξουδετέρωση) μέχρι να σταματήσει ο αφρισμός του εκχυλίσματος. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 8ml διαλύματος B [0,528% κ.ο. ασκορβικό οξύ ($C_6H_8O_6$) σε διάλυμα A] σε κάθε φιάλη και συμπληρώθηκε με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή. Τα δείγματα αφέθησαν σε ηρεμία για 15min προκειμένου να αναπτυχθεί χρώμα (μπλε του φωσφομολυβδαινικού συμπλόκου). Ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης στα 882nm, η οποία μετατράπηκε σε συγκέντρωση P στο τελικό διάλυμα σε ppm (mg/L), με τη χρήση της καμπύλης αναφοράς (εξίσωση). Με βάση την τιμή αυτή υπολογίστηκε η συγκέντρωση του διαθέσιμου P στα εδαφικά δείγματα σε ppm (mg/kg). Η σχέση που ισχύει μεταξύ της συγκέντρωσης του P στο έδαφος και στο εδαφικό εκχύλισμα είναι: $P \text{ (mg/kg)} = P \text{ (mg/l)} * 100$.

2.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

2.2.1 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης προλίνης στα φύλλα

Ο προσδιορισμός της ελεύθερης προλίνης στα φύλλα του σπανακιού έγινε με τη μέθοδο των Troll & Lindsley (1955) όπως αυτή τροποποιήθηκε αργότερα από τους Bates et al. (1973).

Το αντιδραστήριο που χρησιμοποιήθηκε για τον σχηματισμό του έγχρωμου παραγώγου της προλίνης ήταν αυτό των Troll & Lindsley (1955), το οποίο παρασκευάστηκε θερμαίνοντας 1,25 g νυιδρίνης σε 30 ml οξικού οξέος και 20 ml φωσφορικού οξέος 6 M υπό ανάδευση μέχρι να διαλυθεί πλήρως η νινυδρίνη. Το αντιδραστήριο αυτό είναι ασταθές και μπορεί να διατηρηθεί μέχρι μόνο 24 ώρες εντός ψυγείου.

Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση της ελεύθερης προλίνης από τα φύλλα ήταν των Bates et al. (1973), ο οποίος παρασκευάστηκε διαλύοντας 3% (w/v) σουλφοσαλικυλικό οξύ σε νερό. Ο διαλύτης αυτός προκαλεί καθίζηση των μεγάλων πρωτεϊνών του δείγματος που απομακρύνονται με διήθηση ή φυγοκέντρηση, αφήνοντας έτσι στο εκχύλισμα μόνο τα ελεύθερα αμινοξέα όπως η προλίνη και άλλα μικρά μόρια.

Για την εκτέλεση της μέτρησης ζυγίστηκαν 0,5g φύλλων και τοποθετήθηκαν σε πλαστικό σωλήνα των 50ml, όπου προστέθηκαν 10 ml από το υδατικό διάλυμα του σουλφοσαλικυλικού οξέος. Ακολούθησε ομογενοποίηση (Ultraturax) επί 1 min στις 14000 στροφές/min και φυγοκέντρηση του περιεχομένου του σωλήνα στα 10000g. Στη συνέχεια, 2 ml διηθήματος, 2 ml αντιδραστήριου και 2 ml οξικού οξέος προστέθηκαν σε πλαστικό σωλήνα των 15 ml με βιδωτό πώμα, ο οποίος αφέθηκε επί 1 ώρα σε υδατόλουτρο 100°C, προκειμένου να ολοκληρωθεί η αντίδραση. Μετά την ψύξη του σωλήνα με νερό βρύσης, προστέθηκαν 4 ml τολουολίου και το περιεχόμενο υποβλήθηκε σε έντονη ανακίνηση επί 1min σε συσκευή vortex και στη συνέχεια αφέθηκε σε ηρεμία επί 30 min για τον πλήρη διαχωρισμό των δύο στοιβάδων. Κατόπιν, έγινε η παραλαβή της υπερκείμενης στοιβάδας του τολουολίου με σιφόνιο και η μέτρηση της απορρόφησης του διαλύματος στα 520 nm σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης (LKB Ultraspec II) έναντι τολουολίου στην κυψελίδα αναφοράς. Οι συγκεντρώσεις της προλίνης στα δείγματα υπολογίστηκαν με βάση πρότυπη καμπύλη αναφοράς διαλυμάτων L-προλίνης (Sigma Chemical Co.) λαμβάνοντας υπόψη το βάρος των δειγμάτων και τους όγκους των διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν.

2.2.2 Εκτίμηση του ρυθμού φωτοσύνθεσης

Η φωτοσύνθεση είναι μια σημαντική βιολογική διεργασία, με την οποία οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί προμηθεύονται τον άνθρακα και το οξυγόνο, που είναι απαραίτητα για τη θρέψη τους. Η διεργασία αυτή γίνεται με την ενέργεια του ηλιακού φωτός σε δύο στάδια και με μια σειρά από πολύπλοκες χημικές αντιδράσεις.

Η μετατροπή της απορροφώμενης ηλιακής ενέργειας σε χημική πραγματοποιείται από εξειδικευμένες φωτοαπορροφητικές πράσινες χρωστικές, τις χλωροφύλλες καθώς και από άλλες χρωστικές, όπως τα καροτενοειδή και οι φυκοβιλίνες. Κάθε χρωστική απορροφά ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος με αποτέλεσμα να επέρχεται αλλαγή στο μόριο της. Υπάρχουν περισσότερα από ένα είδη χλωροφύλλης (a και b) που διαφέρουν μεταξύ τους μόνο στις πλευρικές ομάδες της μοριακής τους δομής (Λόλας, 2007).

Κατά το πρώτο στάδιο της φωτοσύνθεσης, τα μόρια της χλωροφύλλης απορροφούν φωτεινή ενέργεια, ενεργοποιούνται και αποβάλλοντας ηλεκτρόνια ιονίζονται. Ένα μέρος της ενέργειας των ενεργοποιημένων μορίων της χλωροφύλλης

χρησιμοποιείται στη διαδικασία της φωτόλυσης, κατά την οποία τα μόρια του νερού διασπώνται σε οξυγόνο και υδρογόνο. Το διασπασμένο οξυγόνο απελευθερώνεται στην ατμόσφαιρα, ενώ το υδρογόνο δεσμεύεται στους χλωροπλάστες. Κατά το δεύτερο στάδιο της φωτοσύνθεσης, με μια σειρά χημικών αντιδράσεων παράγεται γλυκόζη, η οποία μεταφέρεται σε όλα τα μέρη του φυτού. Γενικά, η φωτοσύνθεση είναι μια ενδόθερμη λειτουργία των αυτότροφων οργανισμών, που λαμβάνει χώρα στους χλωροπλάστες.

Από τη φωτεινή ενέργεια που απορροφάται από τα μόρια της χλωροφύλλης, μόνο ένα μέρος της χρησιμοποιείται στη φωτοχημεία της φωτοσύνθεσης. Η πλεονάζουσα ενέργεια καταναλώνεται σε δύο μη φωτοχημικές διαδικασίες που περιλαμβάνουν την εκπομπή ενός μέρους της απορροφημένης ακτινοβολίας με μορφή θερμότητας και την επανεκπομπή του υπόλοιπου μέρους με τη μορφή νέας ακτινοβολίας μεγαλύτερου μήκους κύματος. Αυτή η επανεκπομπή του φωτός καλείται φθορισμός της χλωροφύλλης. Οι τρεις αυτές διαδικασίες ανταγωνίζονται μεταξύ τους, έτσι ώστε οποιαδήποτε αύξηση της λειτουργικότητας της μίας να έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της λειτουργικότητας των άλλων δύο. Επομένως, με τη μέτρηση του φθορισμού της χλωροφύλλης παρέχονται πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με την δραστηριότητα, αλλά και την απόδοση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού (Maxwell & Johnson, 2000).

Ωστόσο, η πλέον ακριβής εκτίμηση της απόδοσης του φωτοσυνθετικού μηχανισμού επιτυγχάνεται με την μέτρηση της πραγματικής ανταλλαγής αερίων από τα φυτά. Η μέτρηση αυτή επιτρέπει την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας απορρόφησης της ενέργειας σε ποικίλες καλλιέργειες.

2.2.2.1 Μέτρηση του φθορισμού της χλωροφύλλης

Όταν ένα φύλλο φωτίζεται με σταθερή ένταση, ο φθορισμός παραμένει σταθερός. Η μέτρηση του φθορισμού αυτού, παρέχει ελάχιστες πληροφορίες για τη φυσιολογική κατάσταση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας. Πολύ χρησιμότερη είναι η παρακολούθηση των μεταβολών του φθορισμού της χλωροφύλλης κάτω από μεταβαλλόμενο φωτισμό και, συγκεκριμένα, στο χρονικό διάστημα αμέσως μετά τον αιφνίδιο φωτισμό ενός φύλλου που παρέμεινε, προηγουμένως, για κάποιο χρονικό διάστημα στο σκοτάδι.

Με τον αιφνίδιο φωτισμό ενός φύλλου που έχει προηγουμένως διατηρηθεί για αρκετή ώρα στο σκοτάδι, ο φθορισμός ανέρχεται ακαριαία (σε λίγα μsec) σε ένα σημείο 0 (F_0) και, στη συνέχεια, αυξάνεται σε ένα μέγιστο σημείο (F_m) με μικρότερη κλίση. Ο χρόνος που απαιτείται για να φθάσει στο μέγιστο σημείο, εξαρτάται από την κατάσταση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας αλλά και από το είδος του φυτού, συνήθως δε, είναι μικρότερος του 1 sec. Την αύξηση αυτή του φθορισμού, ακολουθεί στη συνέχεια η απόσβεσή του, αφού από το σημείο F_m και μετά ο φθορισμός μειώνεται και, διαμέσου ενός δεύτερου μεγίστου M , καταλήγει εντός ολίγων λεπτών (συνήθως 3-4 λεπτά), σε ένα σταθερό επίπεδο T .

Το μέγιστο σημείο M σηματοδοτεί, πιθανώς, την έναρξη της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του CO_2 , ενώ χαμηλές τιμές εκπομπής φθορισμού στο τελικό επίπεδο T υποδεικνύουν καλή συνεργασία των δύο φωτοσυστημάτων και αποδοτικότερη αφομοίωση του CO_2 .

Τα φύλλα στα οποία μετράται η ένταση του φθορισμού πρέπει να έχουν παραμείνει στο σκοτάδι για αρκετή ώρα. Έτσι, διασφαλίζεται ότι όλοι οι ενδιάμεσοι φορείς ηλεκτρονίων μεταξύ των δύο φωτοσυστημάτων βρίσκονται στην οξειδωμένη τους μορφή και ότι ο δότης P680 είναι αποδιεγερμένος. Στην κατάσταση αυτή, τα ενεργά κέντρα είναι «ανοιχτά» και μπορούν να επιτελέσουν το μέγιστο φωτοχημικό έργο, και άρα να εκπέμψουν τον ελάχιστο φθορισμό. Στο σημείο αυτό (0), ο φθορισμός (F_0) αντανακλά την ενέργεια διεγέρσεως που χάνεται για φωτοχημικό έργο κάτω από ιδανικές συνθήκες (Henriques, 2009). Στη συνέχεια, τα δείγματα φωτίζονται και με την προϋπόθεση ότι η ένταση του φωτός με την οποία φωτίζονται τα δείγματα είναι αρκετά ισχυρή, όλοι οι ενδιάμεσοι φορείς ηλεκτρονίων ανάγονται, ο δότης P680 διεγείρεται και τα ενεργά κέντρα των φωτοσυστημάτων θεωρούνται «κλειστά». Στο ανώτερο σημείο, ο φθορισμός έχει την μέγιστη τιμή του (F_m) (Henriques, 2009).

Για τη μέτρηση του φθορισμού της χλωροφύλλης είναι διαθέσιμα διάφορα όργανα με διαφορετικά χαρακτηριστικά, που μπορούν όμως να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες:

- τα φθορισμόμετρα ρυθμιζόμενου εύρους παλμού και
- τα φθορισμόμετρα συνεχούς διέγερσης.

Ο φθορισμός της χλωροφύλλης στα δείγματά μας μετρήθηκε με μια ρυθμιζόμενη, χαμηλής έντασης ακτινοβολία από εκπεμπόμενο φως διόδων (μήκος κύματος διέγερσης στα 655nm, μήκος κύματος εκπομπής πάνω από 700nm)

χρησιμοποιώντας ένα φορητό παλμικό ρυθμιζόμενο φθορισμόμετρο (Plant Efficiency Analyzer, PEA, Hansatech Ltd King's Lynn, Norfolk, England). Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στην πάνω επιφάνεια των φύλλων, μετά από 30min παραμονής τους στο σκοτάδι. Το όργανο αυτό αποτελείται από τις εξής τρεις μονάδες:

- Τους συνδετήρες φύλλου που χρησιμοποιούνται για την προσαρμογή του αισθητήρα και διαθέτουν ειδικό κλείστρο για να κρατούν το φύλλο στο σκοτάδι
- Την μονάδα ελέγχου για αποθήκευση και επεξεργασία των μετρήσεων
- Την μονάδα του αισθητήρα που εκπέμπει ερυθρό φωτισμό.

Η κεφαλή μέτρησης του αισθητήρα φωτίζει τον ιστό, ανιχνεύει και καταγράφει τα επαγόμενα σήματα του φθορισμού. Αποτελείται από 6 διόδους εκπομπής φωτός υψηλής έντασης που φωτίζουν ομοιόμορφα την επιφάνεια του φύλλου (διάμετρος 4mm) με μέγιστη φωτεινή ένταση 630Wm^{-2} . Ο φθορισμός που εκπέμπεται από τον φωτοσυνθετικό ιστό διέρχεται μέσα από ένα οπτικό φίλτρο και φθάνει στον ανιχνευτή, ο οποίος απορροφά τα μεγάλα μήκη κύματος και ανακλά το μικρότερο μήκος κύματος φωτός που προέρχεται από τις διόδους εκπομπής. Η μονάδα του αισθητήρα συνδέεται με ένα καλώδιο με τη συσκευή ελέγχου, η οποία φέρει όλα τα ηλεκτρονικά μέρη του φθορισμόμετρου.

Ως πρώτη αξιόπιστη μέτρηση θεωρείται η μέτρηση στα 50μs μετά την έναρξη φωτισμού του δείγματος, γι αυτό και εκλαμβάνεται ως η αρχική τιμή φθορισμού F_0 . Ο φθορισμός επάγεται από ερυθρό φωτισμό (μέγιστο 735nm) ρυθμιζόμενης έντασης, η οποία αναφέρεται ως ένταση διέγερσης.

Η ελάχιστη απόδοση του φθορισμού F_0 του φύλλου που προσαρμόστηκε στο σκοτάδι προσδιορίστηκε κάτω από αμυδρό ερυθρό φως χαμηλής έντασης. Στην επάνω πλευρά του φύλλου και περίπου στο μέσο αυτού τοποθετήθηκε ένας συνδετήρα φύλλου σε καθορισμένη απόσταση από την οπτική ίνα του υποδοχέα και εστάλη μιά αμυδρή 5 s ερυθρή ακτινοβολία (735 nm) προκειμένου να οξειδωθεί πλήρως η αλυσίδα μεταφοράς των ηλεκτρονίων.

Η μέγιστη απόδοση του φθορισμού (F_m) επιτεύχθηκε με έκθεση του φωτοσυστήματος PSII σε ένα παλμικά κορεσμένο (0,8s) λευκό φως. Η διαφορά ανάμεσα στο F_m (μέγιστη τιμή φθορισμού) και το F_0 (αρχική τιμή φθορισμού) έδωσε τον μεταβαλλόμενο φθορισμό F_v ($F_v = F_m - F_0$). Η μέγιστη φωτοχημική

απόδοση του φωτοσυστήματος II προσδιορίστηκε ως η αναλογία του μεταβαλλόμενου φθορισμού Fv προς τον μέγιστο φθορισμό (Fv/Fm) και αντιπροσωπεύει την φωτοσυνθετική ικανότητα του ανοιχτού PSII. Έχει αποδειχθεί εμπειρικά ότι σε μια πλειάδα φυτικών ειδών ο λόγος Fv/Fm είναι ανάλογος της ανά φωτόνιο απόδοσης της φωτοσύνθεσης και αποτελεί μέτρο της φωτοχημικής ικανότητας του PSII (Kalaji et al., 2011). Η μείωση του λόγου Fv/Fm είναι ενδεικτική της επίπτωσης διαφόρων περιβαλλοντικών παραγόντων και αυτή η μεταβολή δείχνει απώλεια της φωτοχημικής απόδοσης (Srivastava et al., 1997). Σε υγιή φυτά με άριστη φωτοσυνθετική δραστηριότητα, η παράμετρος Fv/Fm κυμαίνεται μεταξύ 0,800 και 0,850 (Krause & Weis 1991). Τιμές χαμηλότερες από αυτήν την περιοχή, δείχνουν ότι το φυτό είναι εκτεθειμένο σε κάποιου είδους καταπόνηση.

Η Επιφάνεια (Area) είναι μια άλλη παράμετρος που εκτιμήθηκε και εκφράζει την περιοχή υπεράνω της καμπύλης επαγωγής φθορισμού μεταξύ των σημείων Fo και Fm. Είναι ανάλογη του συνολικού μεγέθους της αναγμένης PQ στην αναγμένη πλευρά του PS II. Η παράμετρος αυτή μειώνεται σε μεγάλο βαθμό όταν η μεταφορά των ηλεκτρονίων από τα δραστικά κέντρα στο σύνολο των κινονών εμποδίζεται. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι η παράμετρος αυτή μπορεί να ελαττωθεί μέχρι και 59% σε γενότυπους ευαίσθητους σε καταπόνηση, σε σχέση με ανθεκτικούς γενότυπους (Strasser et al. 2004).

Τέλος, εκτιμήθηκε ο δείκτης απόδοσης PI (Performance index). Η παράμετρος αυτή, που είναι ένας δείκτης ζωτικότητας του δείγματος, συνιστά ουσιαστικά έναν φωτοσυνθετικό δείκτη απόδοσης της μετατροπής ενέργειας από τα φωτόνια που απορροφώνται από τη φωτοσυλλεκτική κεραία του PSII, έως την αναγωγή της QB.

2.2.2.2 Μέτρηση της ανταλλαγής αερίων

Η μέγιστη καθαρή φωτοσυνθετική ταχύτητα ενός φυτού μπορεί να μετρηθεί είτε ως κατανάλωση CO₂, είτε ως παραγωγή O₂. Ο πλέον διαδεδομένος τρόπος είναι μέσω της μέτρησης της κατανάλωσης CO₂.

Η εκτίμηση της ταχύτητας της φωτοσυνθετικής δέσμευσης του CO₂ από ένα φύλλο προϋποθέτει την έγκλειση του φύλλου σε ένα θάλαμο, τη διοχέτευση αέρα

στο θάλαμο και τη μέτρηση της μεταβολής της συγκέντρωσης του CO₂ με έναν αναλυτή αερίων υπέρυθρης ακτινοβολίας (IRGA).

Οι αναλυτές αερίων υπέρυθρης ακτινοβολίας είναι όργανα μέτρησης της συγκέντρωσης ετεροατομικών αερίων (CO, CO₂, SO₂, NO, υδρατμοί). Τα μόρια των ετεροατομικών αερίων απορροφούν σε συγκεκριμένα μήκη κύματος της υπέρυθρης περιοχής του φάσματος και κάθε αέριο έχει το δικό του χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης. Αντίθετα, τα ομοατομικά αέρια (π.χ. O₂, N₂) δεν απορροφούν την υπέρυθρη ακτινοβολία και, συνεπώς, δεν δημιουργούν παρεμβολές κατά τη μέτρηση των ετεροατομικών αερίων. Το CO₂ παρουσιάζει μία κύρια ζώνη απορρόφησης σε μήκος κύματος 4.25 μm και δευτερεύουσες ζώνες απορρόφησης στα 2.66, 2.77 και 14.99 μm. Το μόνο ετεροατομικό αέριο που το φάσμα απορρόφησής του παρουσιάζει επικάλυψη με το φάσμα απορρόφησης του CO₂ και βρίσκεται φυσιολογικά στην ατμόσφαιρα είναι το H₂O (υδρατμοί). Η αλληλοεπικάλυψη αυτή αποτελεί σημαντικό πρόβλημα κατά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του CO₂, αφού οι υδρατμοί βρίσκονται σε πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις στον αέρα συγκριτικά με το CO₂. Το πρόβλημα παρακάμπτεται με την παρεμβολή ενός ξηραντικού υλικού, πριν το μετρούμενο δείγμα αέρα φτάσει στον αναλυτή.

Ένας αναλυτής αερίων υπέρυθρης ακτινοβολίας περιλαμβάνει τρία βασικά μέρη: την πηγή της ακτινοβολίας, δύο κυψελίδες (τυφλού και δείγματος αντίστοιχα) και δύο ανιχνευτές (έναν για κάθε κυψελίδα). Στην κυψελίδα του τυφλού διοχετεύεται αέρας χωρίς CO₂, ενώ στην κυψελίδα του δείγματος το προς μέτρηση δείγμα αέρα. Έτσι, το ποσό της ακτινοβολίας που φτάνει στον ανιχνευτή του τυφλού δεν έχει υποστεί καμία απορρόφηση, ενώ το ποσό που φτάνει στον ανιχνευτή του δείγματος είναι μειωμένο, γιατί έχει, κατά ένα μέρος, απορροφηθεί από τα μόρια CO₂ της κυψελίδας του δείγματος. Κατά την αρχική ρύθμιση του οργάνου, γίνεται βαθμονόμηση με δύο γνωστές συγκεντρώσεις CO₂ (0 και 360 ppm).

Ο αναλυτής μπορεί να συνδέεται με τον θάλαμο του φύλλου με ανοιχτό ή κλειστό κύκλωμα. Στο ανοικτό κύκλωμα, ρεύμα αέρα γνωστής συγκέντρωσης σε CO₂ διοχετεύεται σταθερά στον θάλαμο του φύλλου, όπου, λόγω φωτοσύνθεσης, αφαιρείται μέρος του περιεχομένου CO₂. Στη συνέχεια, οδηγείται στον αναλυτή (κυψελίδα δείγματος) και, ακολούθως, στην ελεύθερη ατμόσφαιρα. Στην κυψελίδα του τυφλού οδηγείται το ρεύμα αέρα χωρίς τη μεσολάβηση του θαλάμου. Η φωτοσυνθετική ταχύτητα υπολογίζεται με βάση τη διαφορά της συγκέντρωσης του CO₂ στις δύο κυψελίδες και την ταχύτητα ροής του αέρα.

Για την μέτρηση της ανταλλαγής αερίων στα δείγματά μας χρησιμοποιήθηκε αναλυτής αερίων ανοικτού τύπου της LI-COR Biosciences (2005). Η αρχή λειτουργίας του οργάνου βασίζεται στην παράλληλη ύπαρξη δύο ανεξάρτητων μεταξύ τους αναλυτών αερίων υπέρυθρης ακτινοβολίας, οι οποίοι τροφοδοτούνται με αέρα από μία ενσωματωμένη αντλία σταθερής ροής.

Από τις διαφορές που προκύπτουν μεταξύ του υπέρυθρου αναλυτή αερίων του θαλάμου αναφοράς και του υπέρυθρου αναλυτή αερίων του θαλάμου δείγματος παρέχονται άμεσες μετρήσεις καθαρού ρυθμού φωτοσύνθεσης και διαπνοής, καθώς και έμμεση εκτίμηση της στοματικής αγωγιμότητας και πολλών άλλων παραμέτρων.

Ο συγκεκριμένος αναλυτής αερίων παρέχει επίσης τη δυνατότητα ελέγχου και καθορισμού μιας σειράς περιβαλλοντικών παραγόντων που επηρεάζουν τη φωτοσυνθετική λειτουργία, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα επανάληψης των ίδιων συνθηκών μεταξύ των πειραμάτων, αλλά και τη μέτρηση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας κάτω από τις επιθυμητές περιβαλλοντικές συνθήκες σε ό,τι αφορά την ένταση του φωτός, τη θερμοκρασία, την σχετική υγρασία και την συγκέντρωση CO₂. Η ένταση του φωτός που παρέχεται στο δείγμα, παράγεται από μια φωτεινή πηγή κόκκινων και μπλε φωτοδιόδων (6400-O₂B, red-blue LED source) και μπορεί να πάρει τιμές μεταξύ 0 (πλήρες σκοτάδι) και 2000 μmol φωτονίων m⁻² s⁻¹ (πλήρες ηλιακό φώς μιας ανέφελης μέρας).

Η ρύθμιση του παρεχόμενου CO₂ γίνεται μέσω ενός συστήματος έγχυσης. Αρχικά ο ατμοσφαιρικός αέρας περνά μέσα από ένα θάλαμο που περιέχει μείγμα σόδας και ασβεστίου (soda lime), όπου απορροφάται όλο το CO₂. Ο εμπλουτισμός του παρεχόμενου αέρα με CO₂ πραγματοποιείται μέσω μιας ειδικής αμπούλας με συμπιεσμένο CO₂ σε υγρή μορφή. Οι τιμές του CO₂ μπορούν να οριστούν μεταξύ 0 και 2100 ppm, τιμή πολύ μεγαλύτερη από την συγκέντρωση του CO₂ στην ατμόσφαιρα (400 ppm).

Ανάλογα γίνεται και ο καθορισμός της σχετικής υγρασίας του παρεχόμενου αέρα με τη διοχέτευσή του διαμέσου ενός θαλάμου με ξηραντικό μέσο (άνυδρο θειικό ασβέστιο), ο οποίος, διαμέσου μιας στρόφιγγας, ρυθμίζει την ποσότητα του αέρα που αποξηραίνεται.

Η τελευταία παράμετρος που μπορεί να ρυθμιστεί είναι η θερμοκρασία στην οποία πραγματοποιείται η φωτοσύνθεση. Για το σκοπό αυτό επιστρατεύονται δύο ανεμιστηράκια που είναι ενσωματωμένα στην κεφαλή μέτρησης και λειτουργούν σε

συνδυασμό με δύο ψήκτρες (Peltier devices). Η θερμοκρασία μπορεί να πάρει τιμές μεταξύ -7 και +7 °C από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Όταν ένα φύλλο εσωκλείσκει στο θάλαμο του LICOR 6400 η υγρασία μέσα στο θάλαμο μέτρησης τείνει να ανεβεί. Αυτό εξισορροπείται με την ροή του ξηρού αέρα που επιστρέφει στο θάλαμο από τον αναλυτή στην περίπτωση που ο αποξηραντής έχει χρησιμοποιηθεί. Το ποσό της διαπνοής μπορεί να υπολογιστεί από την αλλαγή της υγρασίας, εάν υπάρχει, σε σχέση με τον χρόνο και το ποσό της ροής του ξηρού αέρα. Το ποσό της διαπνοής στην συνέχεια χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με τις θερμοκρασίες του φύλλου και του αέρα για τον υπολογισμό της συνολικής αγωγιμότητας του φύλλου και της στοματικής αγωγιμότητας.

Οι φωτοσυνθετικοί δείκτες που σχετίζονται με την ανταλλαγή αερίων και υπολογίστηκαν στη μελέτη μας είναι οι εξής:

- Ο ρυθμός φωτοσύνθεσης (A). Η μέτρηση της φωτοσύνθεσης είναι απλή και αξιόπιστη διαδικασία. Όταν το φύλλο κλείσκει στο θάλαμο μέτρησης και με την προϋπόθεση ότι το φως, η θερμοκρασία και η υγρασία διατηρούνται σχετικά σταθερές, αποκαθίσταται ένας σταθερός ρυθμός μεταβολής (μείωσης) της συγκέντρωσης του CO₂ στο εσωτερικό του θαλάμου. Ο καθαρός ρυθμός φωτοσύνθεσης αφομοίωσης εκφράζεται σε $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.
- Ο ρυθμός διαπνοής (E) που εκφράζεται σε $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.
- Η στοματική αγωγιμότητα (gs). Η αγωγιμότητα των στομάτων είναι το αντίστροφο της στοματικής αντίστασης και εκφράζεται σε $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

2.2.3 Προσδιορισμός της υπεροξειδωσής των λιπιδίων των φύλλων

Για τον προσδιορισμό της υπεροξειδωσής των λιπιδίων είναι απαραίτητη, αρχικά, η εκχύλιση των δειγμάτων. Για την προετοιμασία των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκαν φύλλα σπανακιού από το κάθε δείγμα (0,5 gr) και ομογενοποιήθηκαν με 10 ml 0,1% TCA (τριχλωρικό οξύ) στους 4°C. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 15000 x g για 15 λεπτά στους 4°C. Μετά την απομάκρυνση του ιζήματος, το υπερκείμενο τοποθετήθηκε σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες των 25 ml. Το τελικό αυτό δείγμα (διήθημα+αιθανόλη) χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της υπεροξειδωσής των λιπιδίων.

Το επίπεδο της υπεροξειδωσής των λιπιδίων στα δείγματα του σπανακιού εκφράστηκε ως η συγκέντρωση της μηλονυλο-διαλδεΰδης (malondialdehyde-MDA) που προσδιορίστηκε με την αντίδραση του 2-βαρβιτουρικού οξέος (TBA) όπως περιγράφηκε από τους Heath & Packer (1968). Η πορεία προσδιορισμού ήταν η ακόλουθη: σε 1ml υπερκείμενου εκχυλίσματος (σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες), προστέθηκαν 4ml 0,5% TBA σε 20% TCA. Μετά από ισχυρή ανάδευση των σωλήνων, το μίγμα θερμάνθηκε σε υδατόλουτρο στους 100°C για 30 λεπτά. Στην συνέχεια οι σωλήνες τοποθετήθηκαν σε παγόλουτρο για να κρυώσουν.

Η συγκέντρωση της μηλονυλο-διαλδεΰδης υπολογίστηκε φασματοφωτομετρικά αφού πρώτα τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά στις 10.000 x g μετρώντας τη διαφορά της απορρόφησης στα 532 nm και 600 nm και χρησιμοποιώντας τον παρακάτω τύπο:

$$\text{MDA} = A(532) - A(600) / 155 \text{ mmol}^{-1} \text{cm}^{-1} \times 40$$

Η τελική συγκέντρωση υπολογίστηκε σε nmol x g⁻¹ νωπού βάρους.

2.2.4 Προσδιορισμός της συνολικής χλωροφύλλης των φύλλων

Για τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης ακολουθήθηκε αναλυτική φασματοφωτομετρική μέθοδος που περιγράφεται από τους Wintermans and Mots (1965).

Αρχικά, αφαιρέθηκαν 5 δίσκοι από 5 ώριμα φύλλα κάθε μεταχείρισης, ζυγίστηκαν, τεμαχίστηκαν σε μικρότερα κομμάτια και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιείχαν 15 ml αιθανόλης 95%. Με βιδωμένα τα πώματα, διατηρήθηκαν σε υδατόλουτρο 78°C μέχρι όλοι οι ιστοί να αποχρωματιστούν πλήρως (περίπου μιάμιση ώρα). Μετά τον αποχρωματισμό οι σωλήνες αφέθηκαν σε σκοτεινό χώρο για να ψυχθούν. Στη συνέχεια, ανακινήθηκαν και μετρήθηκε η απορρόφηση σε φασματοφωτόμετρο (Shimatsu UV 1240) στα 665 και 649 nm με τη βοήθεια κρυσταλλικής κυψελίδας.

Ακολούθησε υπολογισμός της συγκέντρωσης χλωροφύλλης a και b σε μμ ml⁻¹ αιθανόλης και σε mg g⁻¹ Ξ.Β. φύλλου, της ολικής χλωροφύλλης και του λόγου της χλωροφύλλης a προς τη χλωροφύλλη b με τη βοήθεια των εξισώσεων:

$$\text{Chla} = 13,7 * (A_{665} - 5,76) * A_{649} (\mu\text{g mL}^{-1}) \cdot 10 * \text{Chla} / \text{Ξηρά ουσία δίσκων} * 1000$$

(mg g⁻¹ Ξ.Ο.)

$Chlb = 25,8 * (A_{649} - 7,6) * A_{665} (\mu g mL^{-1}) 10 * Chlb / \text{Ξηρά ουσία δίσκων} * 1000$
(mg g⁻¹ Ξ.Ο.)

Ολική χλωροφύλλη = Chla + Chlb (mg g⁻¹ Ξ.Ο.)

Λόγος της Chla / Chlb

2.2.5 Προσδιορισμός βορίου στο σπανάκι

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης Β στους φυτικούς ιστούς του σπανακιού έγινε με τη μέθοδο του Wolf (1971). Προσδιορίστηκαν 24 δείγματα συνολικά, εκ των οποίων 6 πρότυπα (standards) με συγκεντρώσεις 0, 2, 4, 6, 8 και 10ppm βορίου και 18 (2 επαναλήψεις) δείγματα σπανακιού. Τα δείγματα εισήχθησαν σε κλίβανο ξήρανσης (75°C για 48 ώρες) και το ξηρό τους βάρος καταγράφηκε σε ζυγό ακριβείας. Στη συνέχεια, με ειδικό μύλο, τα δείγματα αλέστηκαν σε λεπτή σκόνη. Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε ξηρή καύση του αλεσμένου φυτικού υλικού τοποθετώντας 0,5 g δείγματος σε χωνευτήρια πορσελάνης, τα οποία αποτεφρώθηκαν στους 550°C για 6 ώρες. Η διαλυτοποίηση της τέφρας έγινε με 10 mL 0,1 N HCl και το περιεχόμενο κάθε χωνευτηρίου διηθήθηκε σε πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες των 50 mL.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης Β, τοποθετήθηκαν σε πλαστικά κουτάκια 2ml του παραπάνω εκχυλίσματος και 4ml ρυθμιστικού διαλύματος οξέων. Τα κουτάκια πωματίστηκαν και ανακινήθηκαν καλά. Στη συνέχεια, παρασκευάστηκε διάλυμα ασκορβικού οξέος και αζωμεθίνης, προσθέτοντας σε 100ml H₂O 1g ασκορβικό οξύ και 0,45g αζωμεθίνη. Από το παρασκεύασμα αυτό τοποθετήθηκαν 4ml σε κάθε πλαστικό κουτάκι που αναφέρθηκε προηγουμένως, ανακινήθηκαν και αφέθησαν σε ηρεμία για 45 λεπτά προκειμένου να χρωματιστούν. Τέλος, η συγκέντρωση του Β προσδιορίστηκε σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους ακτινοβολίας με βάση καμπύλη αναφοράς, στα 420nm.

2.2.6 Προσδιορισμός P, K, Ca, Mg και Mn στο σπανάκι

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης φωσφόρου, καλίου, ασβεστίου, μαγνησίου και μαγγανίου στους φυτικούς ιστούς των δειγμάτων έγινε με τη μέθοδο

της φασματομετρίας μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP – MS) των Hook και Fassel (1980). Η φασματομετρία μάζας με πηγή επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα είναι η σύζευξη δύο τεχνικών. Το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα είναι μια πηγή ιόντων για την ανόργανη φασματομετρία μάζας (Inorganic Mass Spectrometry) με την υψηλή θερμοκρασία που παρέχει στην περιοχή του διασπά πλήρως τις ενώσεις του δείγματος στα άτομά τους και προσφέρει ικανοποιητικό ιονισμό των περισσότερων στοιχείων του περιοδικού πίνακα.

Το πλάσμα περιγράφεται γενικά ως «αέριο που περιέχει θετικά ιόντα και ελεύθερα ηλεκτρόνια ουδέτερου κατά προσέγγιση φορτίου». Το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα είναι ένας ειδικός τύπος πλάσματος που τροφοδοτείται με ισχύ από μια γεννήτρια ραδιοσυχνότητας εξ επαγωγής. Τα αέρια που χρησιμοποιούνται είναι αργό, ήλιο και αέρας.

Το πλάσμα (ICP) δημιουργείται μέσα στον πυρσό (torch) ο οποίος αποτελείται από τρεις ομόκεντρους σωλήνες χαλαζία, που περιβάλλονται από σπείρες επαγωγικού πηνίου συνδεδεμένου με μια γεννήτρια υψηλής ραδιοσυχνότητας. Το πλάσμα δημιουργείται όταν το αδρανές αέριο (αργό) περάσει μέσα από το δεύτερο εσωτερικό σωλήνα χαλαζία και με τη βοήθεια ηλεκτρικής εκκένωσης (σπινθήρας) σχηματίζονται ελεύθερα ηλεκτρόνια τα οποία επιταχύνονται υπό την επίδραση μαγνητικού πεδίου και συγκρούονται με άτομα αργού σχηματίζοντας ιόντα και επιπλέον ελεύθερα ηλεκτρόνια, δημιουργώντας έτσι ένα κατάλληλο περιβάλλον ατομοποίησης και διεγερσης. Αυτό το περιβάλλον είναι το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, θερμοκρασίας μέχρι 6000 K στην περιοχή που ονομάζεται συνήθως αναλυτική ζώνη (NAZ, Normal Analytical Zone).

2.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 21.0 (SPSS Inc, Chicago, USA) και για τους ελέγχους των υποθέσεων χρησιμοποιήθηκε το επίπεδο σημαντικότητας ($P \leq 0,05$). Η ομοιογένεια των διακυμάνσεων ελέγχθηκε με το Levene test. Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν τυχαιοποιημένες πλήρεις ομάδες και όλα τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) για να επιβεβαιωθεί η μεταβλητότητα των δεδομένων και η εγκυρότητα

των αποτελεσμάτων. Η σημαντικότητα της διαφοράς μεταξύ των μεταχειρίσεων προσδιορίστηκε με το Student's t-test.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΕΔΑΦΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

3.1.1 Μηχανική ανάλυση και κατάταξη του εδάφους

Οι ενδείξεις του πυκνόμετρου ήταν οι εξής:

1^ο δείγμα: 48 και 29, σε θερμοκρασία 15,5°C και 17°C

2^ο δείγμα: 52 και 36, σε θερμοκρασία 15°C και 17°C

3^ο δείγμα: 50 και 31, σε θερμοκρασία 15°C και 17°C

Κάνοντας τους υπολογισμούς, με βάση τα προαναφερθέντα προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

1^ο δείγμα: 53,8% άμμος, 18,4% ιλύς και 27,8% άργιλος

2^ο δείγμα: 50% άμμος, 15,2% ιλύς και 34,8% άργιλος

3^ο δείγμα: 52% άμμος, 18,2% ιλύς και 29,8% άργιλος

Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι και τα 3 εδάφη είναι πηλώδη (L) και πιο συγκεκριμένα ανήκουν στην κλάση των αμμοαργιλοπηλωδών (SCL) εδαφών. Μπορούν να χαρακτηριστούν σαν μέτρια βαριά εδάφη.

3.1.2 Η αντίδραση (pH) του εδάφους

Οι τιμές που ελήφθησαν με το pHμετρο είναι οι εξής:

1^ο δείγμα: 8,5

2^ο δείγμα: 8,6

3^ο δείγμα: 8,5

Το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι το έδαφος είναι αλκαλικό έως ισχυρώς αλκαλικό και απαιτείται διόρθωση. Το σπανάκι αντέχει σε σχετικά υψηλά pH (έως 8) κάτι που παρατηρήθηκε και στο πείραμα.

3.1.3 Η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC) του εδάφους

Τα αποτελέσματα ήταν τα εξής:

1^ο δείγμα: 519μS/cm ή 0,519dS/m

2^ο δείγμα: 507μS/cm ή 0,507dS/m

3^ο δείγμα: 420μS/cm ή 0,420dS/m

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο αγρός χαρακτηρίζεται από κανονική αγωγιμότητα και είναι κατάλληλος για όλες τις καλλιέργειες όσον αφορά την αλατότητα του εδάφους.

3.1.4 Η οργανική ουσία του εδάφους

Τα αποτελέσματα είναι τα παρακάτω:

1^ο δείγμα: 0,7%

2^ο δείγμα: 0,6%

3^ο δείγμα: 0,5%

Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι το έδαφος έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία.

3.1.5 Το ανθρακικό ασβέστιο (CaCO₃) του εδάφους

Χρησιμοποιώντας τον τύπο υπολογισμού του ανθρακικού ασβεστίου, εξήχθησαν τα εξής αποτελέσματα:

1^ο δείγμα: 4,59%

2^ο δείγμα: 4,26%

3^ο δείγμα: 4,92%

Ερμηνεύοντας τα αποτελέσματα, μπορούμε να σημειώσουμε ότι το έδαφος έχει μέση περιεκτικότητα ανθρακικού ασβεστίου, κάτι το οποίο είναι φανερό από τον λευκό χρωματισμό του. Ωστόσο, δεν χαρακτηρίζεται ασβεστούχο.

3.1.6 Η περιεκτικότητα του εδάφους σε Ca²⁺ και Mg²⁺

Για το ασβέστιο, κάνοντας τους υπολογισμούς προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

1^ο δείγμα: 30,8meq/L ή 616mg/L ή 616ppm

2^ο δείγμα: 34,8meq/L ή 696mg/L ή 696ppm

3^ο δείγμα: 35,2meq/L ή 704mg/L ή 704ppm

Με βάση τα αποτελέσματα αυτά μπορούμε να πούμε ότι το έδαφος έχει επάρκεια σε ασβέστιο.

Για το μαγνήσιο, αφού έγιναν οι αντίστοιχοι υπολογισμοί, τα αποτελέσματα ήταν τα παρακάτω:

1^ο δείγμα: 6meq/L ή 72mg/L ή 72ppm

2^ο δείγμα: 1,2meq/L ή 14,4mg/L ή 14,4ppm

3^ο δείγμα: 2,4meq/L ή 28,8mg/L ή 28,8ppm

Αναλύοντας τα παραπάνω αποτελέσματα, προκύπτει ότι το ένα μέρος του αγρού (1^ο δείγμα) είναι επαρκές σε μαγνήσιο, σε αντίθεση με το άλλο (2^ο δείγμα) που παρουσιάζει ανεπάρκεια (απαιτούνται τουλάχιστον 25mg/L). Στο σύνολο του αγρού (3^ο δείγμα), μπορούμε να πούμε ότι υπάρχει ανεπάρκεια μαγνησίου, ιδίως όσον αφορά τις ευαίσθητες στην έλλειψή του καλλιέργειες (τουλάχιστον 50mg/L) (Σιμώνης, 1990).

3.1.7 Η περιεκτικότητα του εδάφους σε K⁺

Οι τιμές που πήραμε από το φλογοφωτόμετρο για τα δείγματα ήταν:

1^ο δείγμα: 2,1

2^ο δείγμα: 1,6

3^ο δείγμα: 1,6

Πραγματοποιώντας τη διαδικασία που προαναφέρθηκε, τα αποτελέσματα που προέκυψαν είναι τα εξής:

1^ο δείγμα: 210ppm

2^ο δείγμα: 160ppm

3^ο δείγμα: 160ppm

Βάσει των αποτελεσμάτων αυτών, μπορούμε να πούμε ότι ο αγρός παρουσιάζει επάρκεια σε κάλιο.

3.1.8 Η περιεκτικότητα του εδάφους σε NO₃⁻

Οι τιμές που έδωσε το φασματοφωτόμετρο για τα δείγματα στα 210nm και στα 270nm, αντίστοιχα, ήταν οι εξής:

1^ο δείγμα: 0,569 και 0,070

2^ο δείγμα: 0,430 και 0,075

3^ο δείγμα: 1,125 και 0,091

Αφού πραγματοποιήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε προηγουμένως, εξήχθησαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

1^ο δείγμα: 8,13ppm

2^ο δείγμα: 5,23ppm

3^ο δείγμα: 18,89ppm

Αναλύοντας τα αποτελέσματα, μπορεί να ειπωθεί ότι τα δύο επιμέρους τμήματα (δείγματα 1 και 2) του αγρού παρουσιάζουν ανεπάρκεια σε νιτρικό άζωτο, σε αντίθεση με το σύνολο του αγρού (δείγμα 3), όπου παρατηρείται μία μέση επάρκεια σε νιτρικό άζωτο.

3.1.9 Η περιεκτικότητα του εδάφους σε P

Το φασματοφωτόμετρο μας έδωσε τις εξής τιμές για τα δείγματά μας:

1^ο δείγμα: 0,101

2^ο δείγμα: 0,126

3^ο δείγμα: 0,201

Κάνοντας την αντικατάσταση των τιμών αυτών στην εξίσωση που πήραμε (στη θέση του y) και πολλαπλασιάζοντας το αποτέλεσμα επί 100, βγήκαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

1^ο δείγμα: 11,37ppm

2^ο δείγμα: 14,23ppm

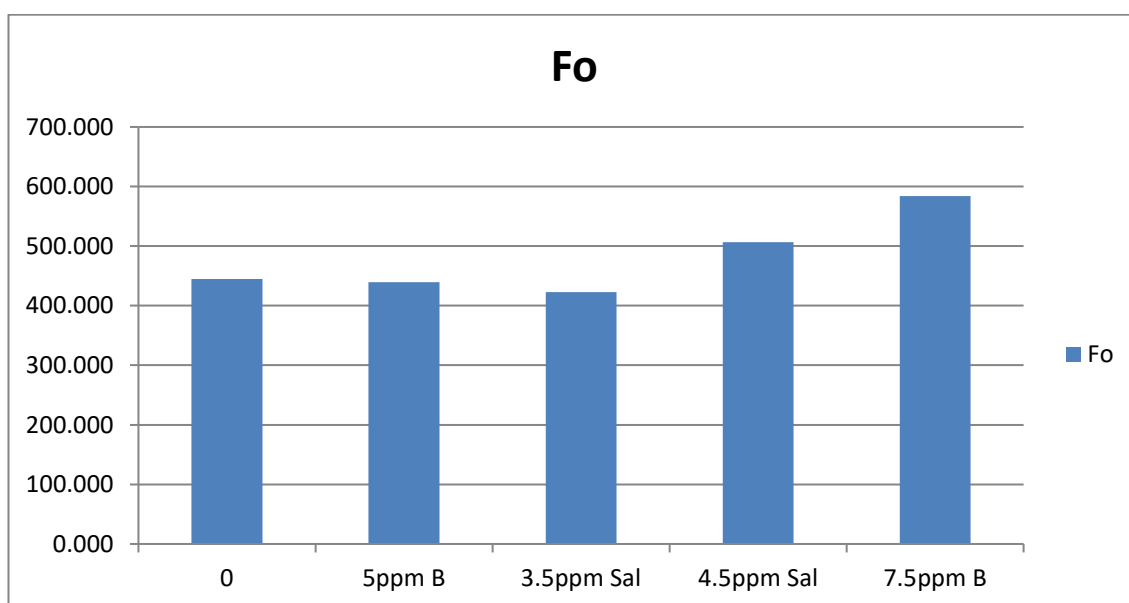
3^ο δείγμα: 22,79ppm

Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι στα επιμέρους τμήματα (δείγματα 1 και 2) του αγρού έχουμε μέτρια επάρκεια σε φώσφορο αλλά στο σύνολό του (δείγμα 3) έχουμε επάρκεια αυτού.

3.2 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ Β ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ

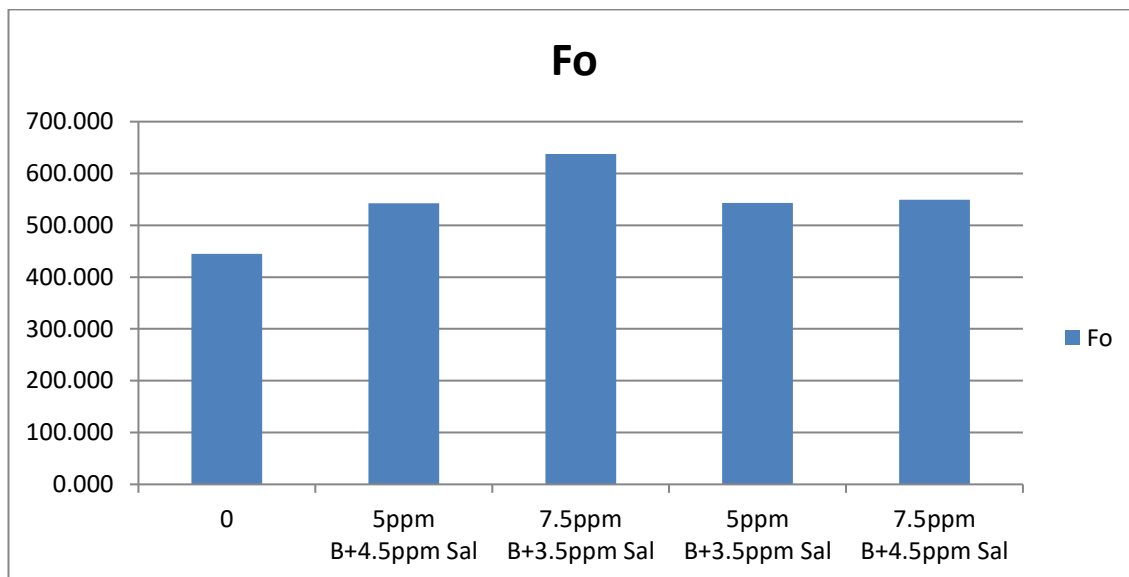
3.2.1 Ελάχιστη (F_0), μέγιστη (F_m) και μεταβαλλόμενη (F_v) τιμή φθορισμού

Σχήμα 3.1 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στην ελάχιστη (F_0) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



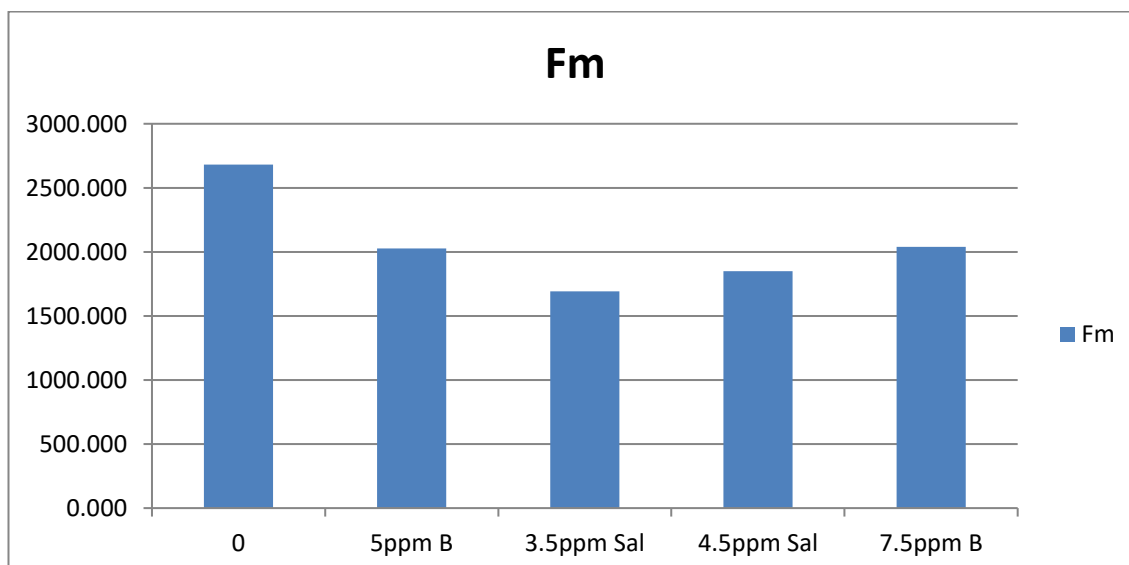
Από το σχήμα 3.1 προκύπτει ότι η προσθήκη των 7.5ppm B προκάλεσε αύξηση της ελάχιστης τιμής φθορισμού κατά 31,3% σε σχέση με το μάρτυρα ενώ η προσθήκη των 4,5ppm Sal προκάλεσε μία λιγότερο σημαντική αύξηση της τιμής, κατά 13,9% σε σχέση με το μάρτυρα.

Σχήμα 3.2 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στην ελάχιστη (Fo) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



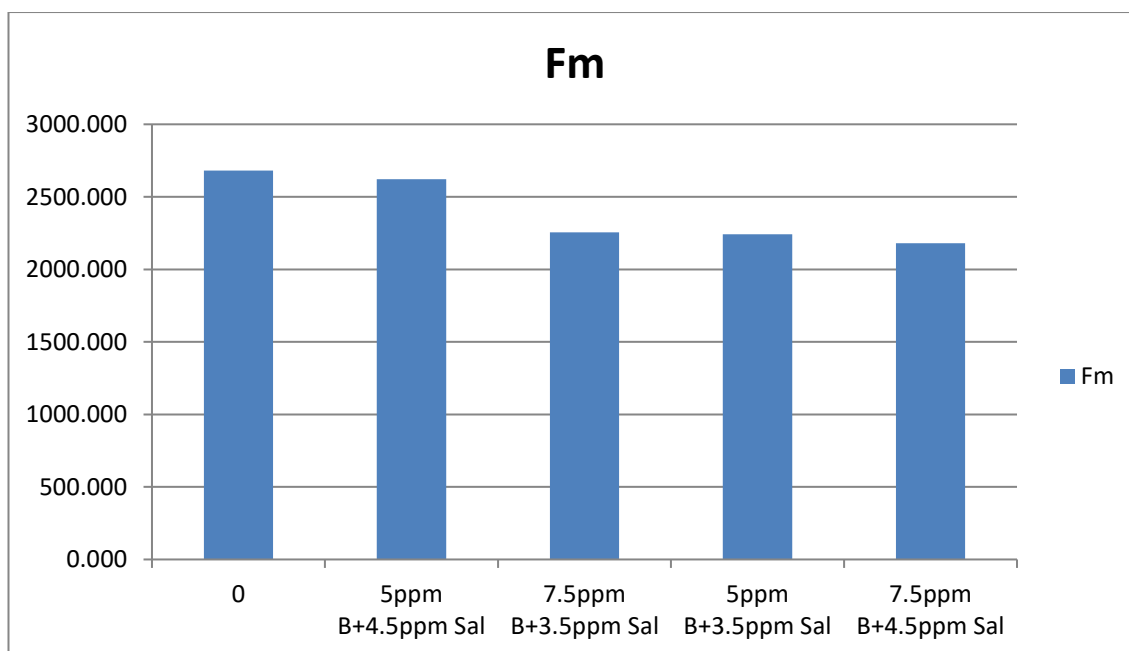
Από το σχήμα 3.2 διαπιστώνεται σημαντική αύξηση της τιμής Fo, σε σχέση με το μάρτυρα, σε όλες τις μεταχειρίσεις. Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρείται στη μεταχείριση των 7.5ppm B + 3.5ppm Sal και είναι της τάξεως του 43,4%.

Σχήμα 3.3 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη μέγιστη (Fm) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



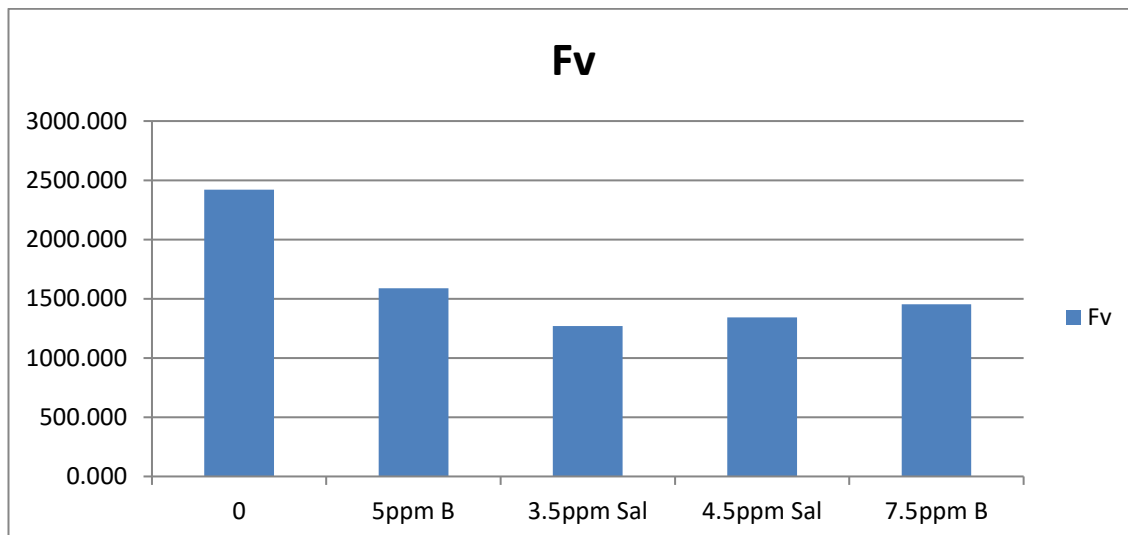
Σε ό,τι αφορά την παράμετρο Fm, από το σχήμα 3.3 προκύπτει ότι η τιμή της μειώθηκε σημαντικά σε όλες τις μεταχειρίσεις του πίνακα, σε σχέση με το μάρτυρα. Η μεγαλύτερη μείωση καταγράφηκε στην προσθήκη των 3,5ppm Sal, (36,9%).

Σχήμα 3.4 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη μέγιστη (Fm) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



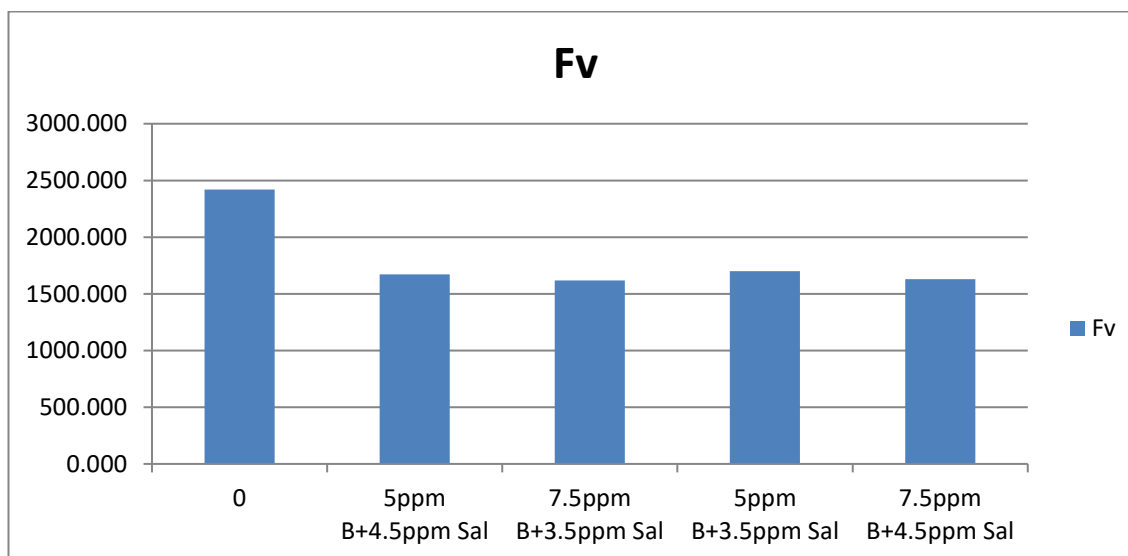
Επίσης, φαίνεται ότι η τιμή της παραμέτρου Fm μειώθηκε και σε όλες μεταχειρίσεις του σχήματος 3.4, σε σχέση με το μάρτυρα. Οι μειώσεις αυτές όμως είναι μικρότερης κλίμακας ενώ στη μεταχείριση των 5ppm B+4,5ppm Sal η μείωση της τιμής είναι απειροελάχιστη.

Σχήμα 3.5 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη μεταβαλλόμενη (Fv) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



Από το σχήμα 3.5, διαπιστώνεται ότι η μεταβαλλόμενη τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης μειώθηκε σημαντικά σε όλες τις μεταχειρίσεις σε σχέση με τον μάρτυρα. Το ποσοστό αυτό κυμαίνεται περίπου στο 40% κατά μέσο όρο.

Σχήμα 3.6 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη μεταβαλλόμενη (Fv) τιμή φθορισμού της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού

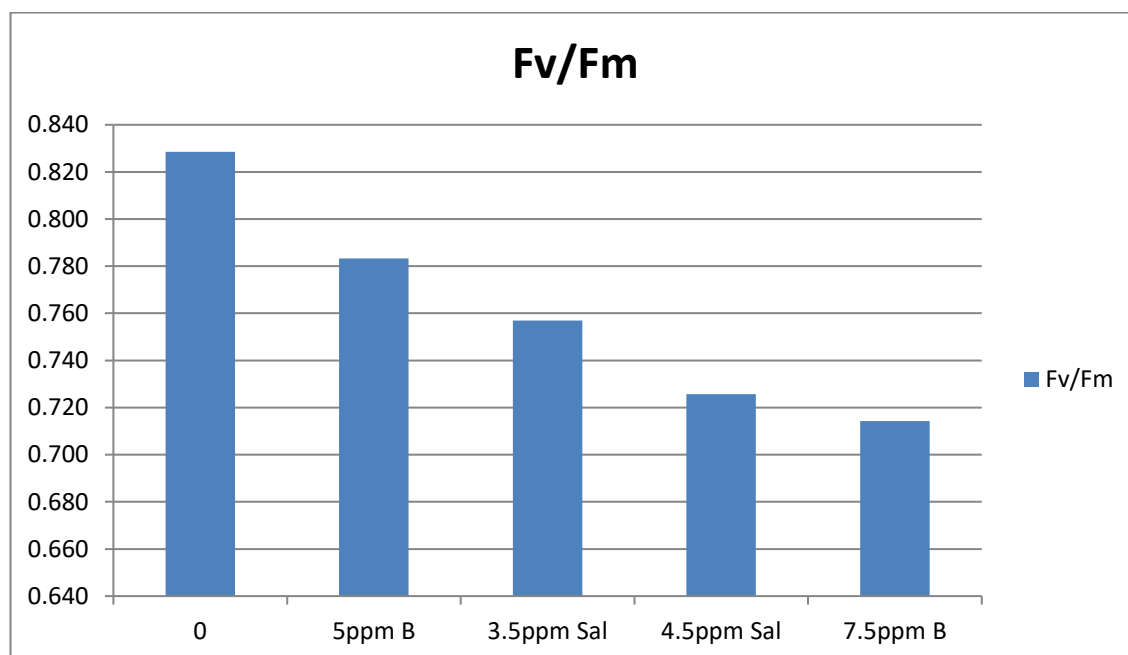


Το σχήμα 3.6 δείχνει ότι και στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, η τιμή της παραμέτρου Fv μειώθηκε σημαντικά, κατά μέσο όρο 30%.

3.2.2 Μέγιστη φωτοχημική απόδοση του PSII (Fv/Fm)

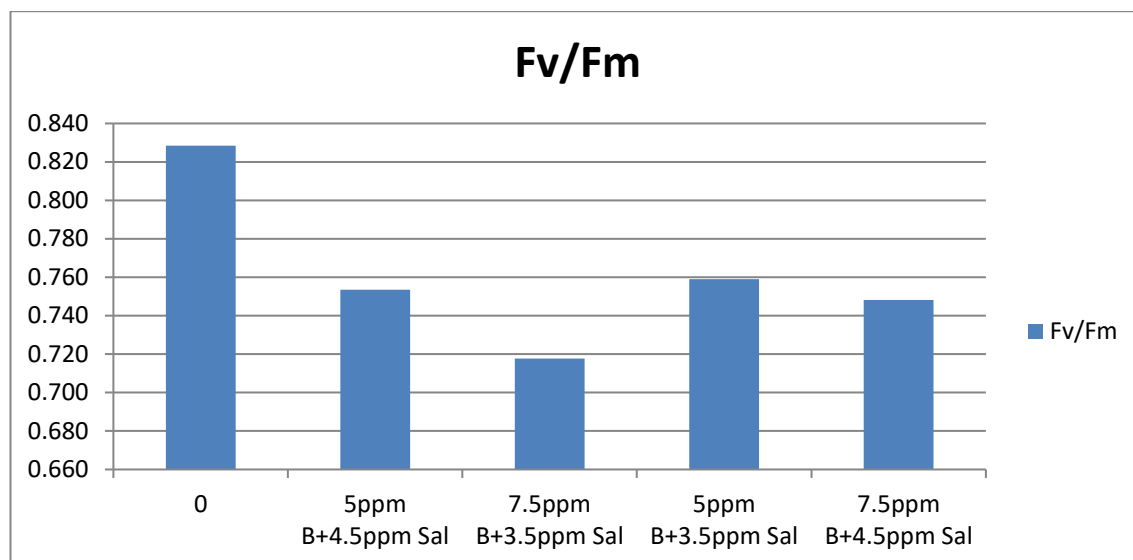
Η μέγιστη φωτοχημική απόδοση του PSII που εκφράζεται με το λόγο Fv/Fm, είναι από τις σημαντικότερες παραμέτρους της απόδοσης των φωτοχημικών αντιδρασεων της φωτοσύνθεσης.

Σχήμα 3.7 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού Fv/Fm της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



Σε ό,τι αφορά τη μέγιστη φωτοχημική απόδοση του PSII, από το σχήμα 3.7 προκύπτει ότι όλες οι προσθήκες προκάλεσαν στατιστικώς σημαντικές μειώσεις στις τιμές του λόγου Fv/Fm, σε σχέση με τους μάρτυρες. Οι μεγαλύτερες μειώσεις παρατηρούνται στις προσθήκες των 4,5ppm Sal και των 7,5ppm B.

Σχήμα 3.8 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού Fv/Fm της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού

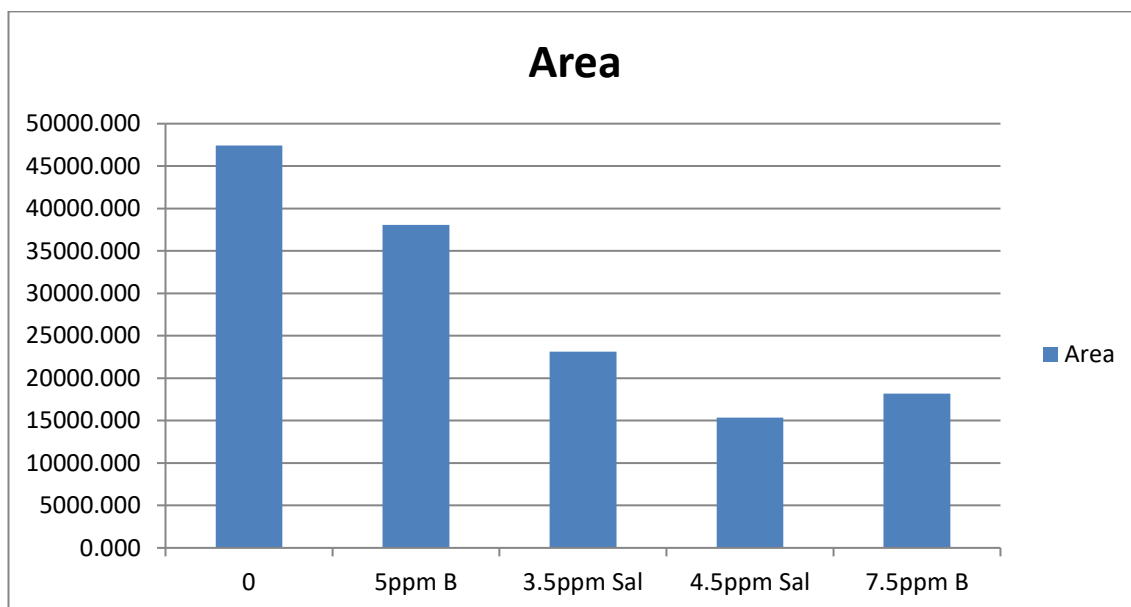


Και από το σχήμα 3.8 διαπιστώνονται στατιστικώς σημαντικές μειώσεις των τιμών του λόγου Fv/Fm, σε σχέση με το μάρτυρα, σε όλες τις προσθήκες. Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρείται στην προσθήκη των 7,5ppm B+3,5ppm Sal.

Γενικώς, η προσθήκη των 7,5ppm B προκαλούσε στατιστικά μεγαλύτερες μειώσεις σε σχέση με την προσθήκη των 5ppm B. Επίσης, όταν η προσθήκη των 7,5ppm B συνοδεύονταν από 4,5ppm Sal, η μείωση ήταν στατιστικά μικρότερη συγκριτικά με την προσθήκη 3,5ppm Sal.

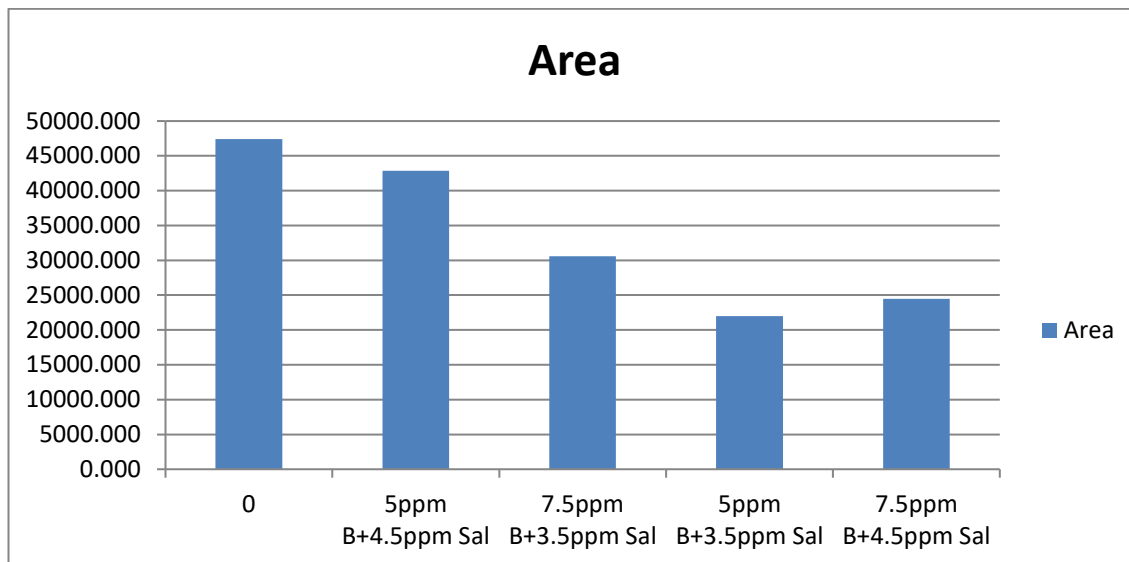
3.2.3 Η Επιφάνεια (Area) και ο Δείκτης Απόδοσης (Performance index, PI)

Σχήμα 3.9 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού <<Επιφάνεια (Area)>> της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



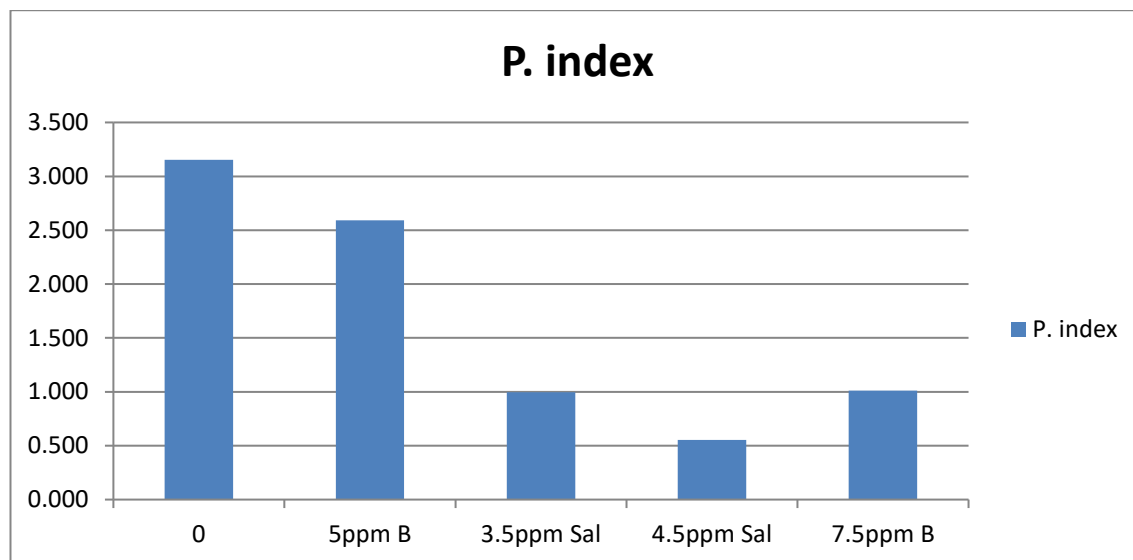
Η τιμή της παραμέτρου Επιφάνεια (Area) μειώθηκε σημαντικά σε όλες τις μεταχειρίσεις του σχήματος 3.9, εκτός από την μεταχείριση των 5ppm B, όπου μειώθηκε κατά 19,7%. Στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις μειώθηκε κατά μέσο όρο 60%, με αποκορύφωμα τη μεταχείριση των 4,5ppm Sal, όπου η μείωση έφτασε το 67,6%.

Σχήμα 3.10 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού <<Επιφάνεια (Area)>> της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



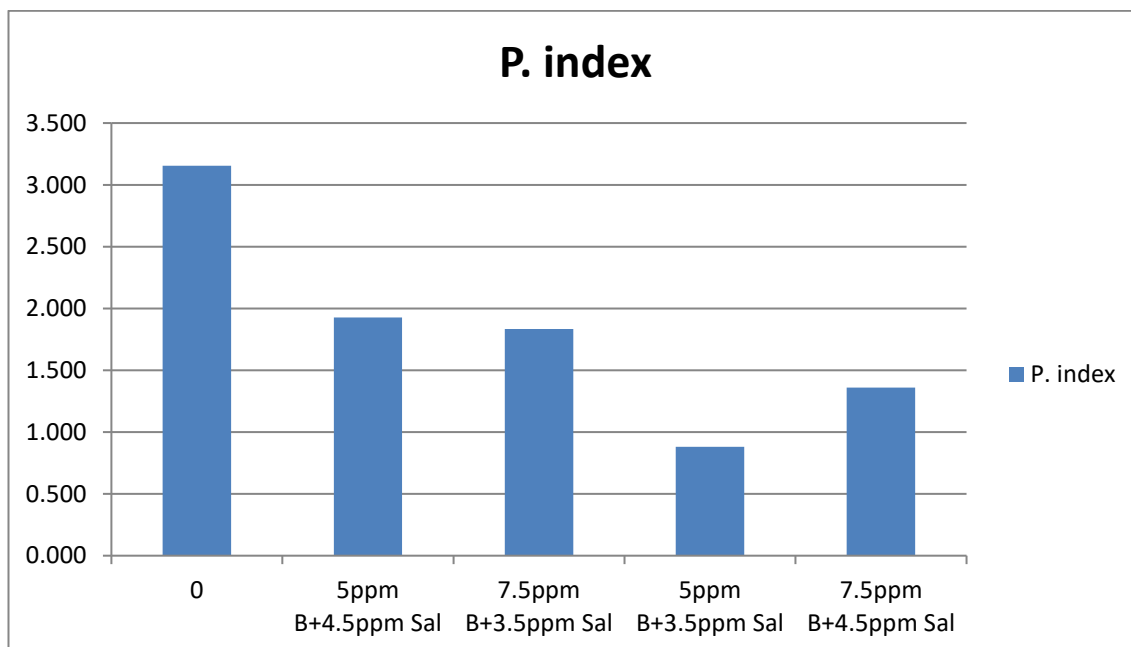
Διαπιστώνεται ότι και στις μεταχειρίσεις του σχήματος 3.10, η παράμετρος Επιφάνεια μειώθηκε σημαντικά με εξαίρεση την προσθήκη των 5ppm B+4,5ppm Sal, όπου η μείωση προσέγγισε το 10%. Αντίθετα, στη μεταχείριση των 5ppm B+3,5ppm Sal, η τιμή της παραμέτρου μειώθηκε κατά 53,7%.

Σχήμα 3.11 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στην παράμετρο φθορισμού <<Δείκτης απόδοσης (Performance index, PI)>> της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



Από το σχήμα 3.11 διαπιστώνεται ότι η προσθήκη των 3,5 ή 4,5 ppm Sal καθώς και η προσθήκη των 7,5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντικές μειώσεις του δείκτη απόδοσης (PI), σε σχέση με τους μάρτυρες. Επίσης, η προσθήκη των 7.5ppm B προκάλεσε στατιστικώς σημαντική μείωση της τιμής σε σχέση με την προσθήκη των 5ppm B.

Σχήμα 3.12 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη παράμετρο φθορισμού <<Δείκτης απόδοσης (Performance index, PI)>> της χλωροφύλλης φύλλων σπανακιού



Απο το σχήμα 3.12 προκύπτει ότι οι μεταχειρίσεις των 5ppm B+3.5ppm Sal και των 7.5ppm B+4.5ppm Sal προκάλεσαν στατιστικά σημαντικές μειώσεις των τιμών του δείκτη, σε σχέση με τον μάρτυρα.

Ωστόσο, όταν η μεταχείριση των 7.5ppm B συνοδευόταν από την προσθήκη 3.5 ή 4.5 ppm Sal, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές αυξήσεις των τιμών του δείκτη, σε σχέση με την απλή μεταχείριση των 7.5ppm B.

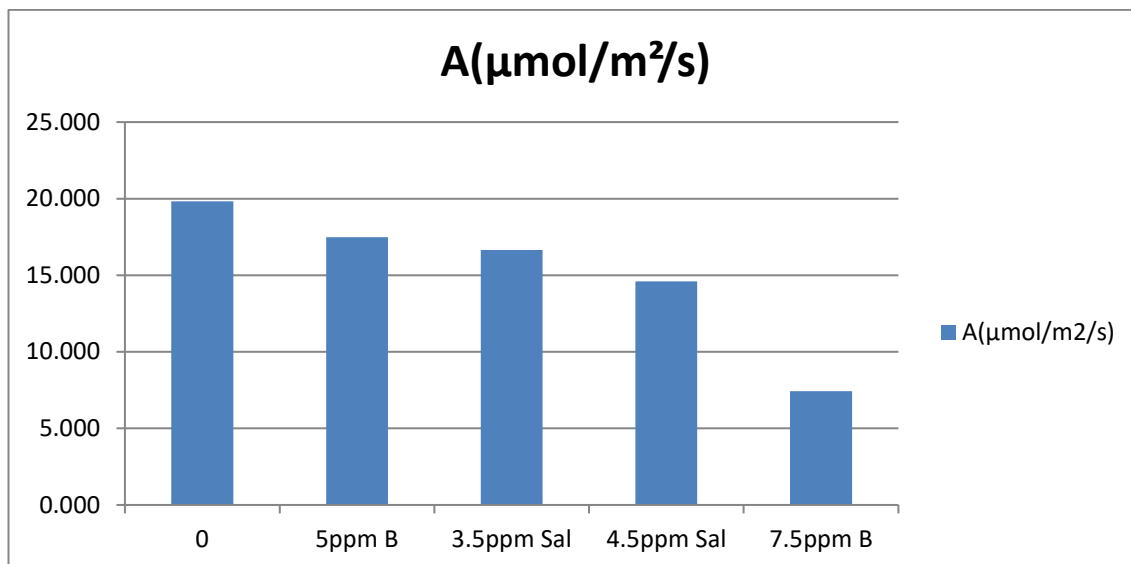
3.3 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ Β ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΑΝΤΑΛΛΑΓΗΣ ΑΕΡΙΩΝ

Η φωτοσυνθετική δραστηριότητα των φυτών εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας τις εξής παραμέτρους:

- Το ρυθμό αφομοίωσης του CO₂ (A)
- Το ρυθμό διαπνοής του H₂O (E)
- Την στοματική αγωγιμότητα (gs)
- Την αποτελεσματικότητα χρήσης του H₂O (WUE)

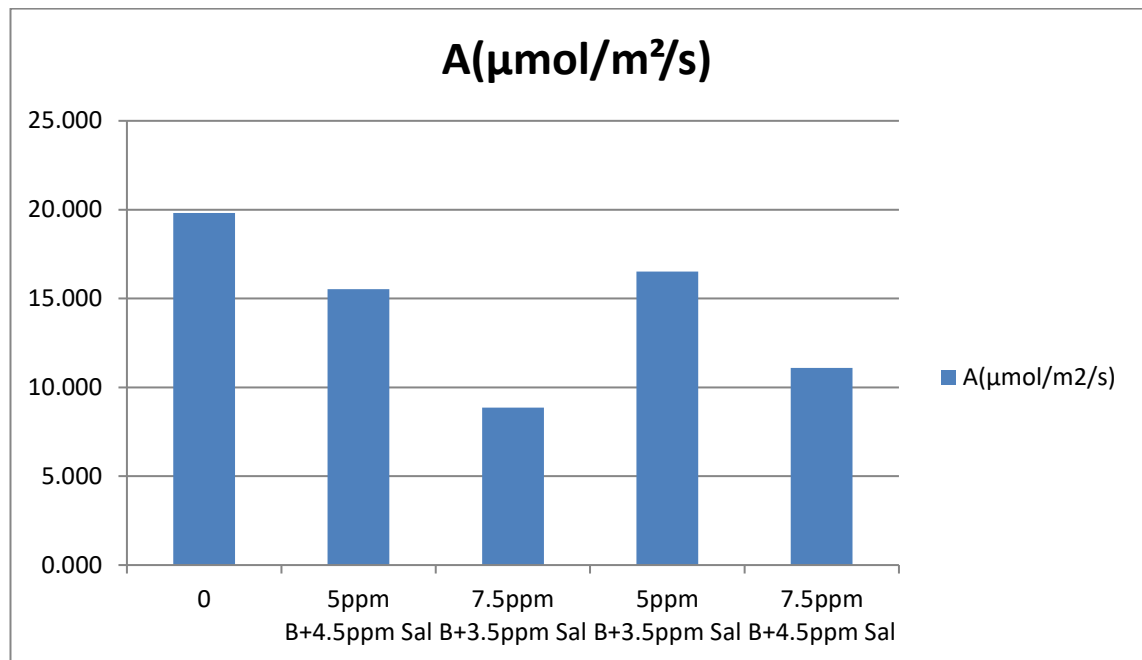
3.3.1 Ο Ρυθμός Αφομοίωσης του CO₂ (A) και ο Ρυθμός Διαπνοής (E)

Σχήμα 3.13 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στο ρυθμό αφομοίωσης CO₂ (A) σε φύλλα σπανακιού



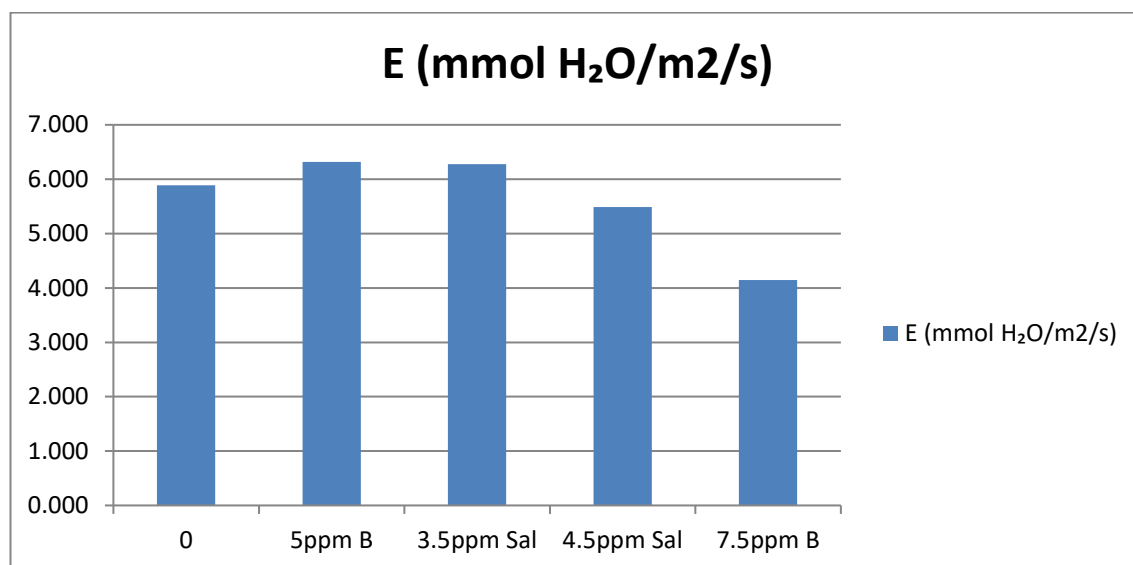
Όσον αφορά τον ρυθμό αφομοίωσης του CO₂ (A), από το σχήμα 3.13 διαπιστώνεται ότι όλες οι προσθήκες προκάλεσαν στατιστικά σημαντικές μειώσεις των τιμών της παραμέτρου σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στην προσθήκη των 7.5ppm B (62,5%).

Σχήμα 3.14 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στο ρυθμό αφομοίωσης CO₂ (A) σε φύλλα σπανακιού



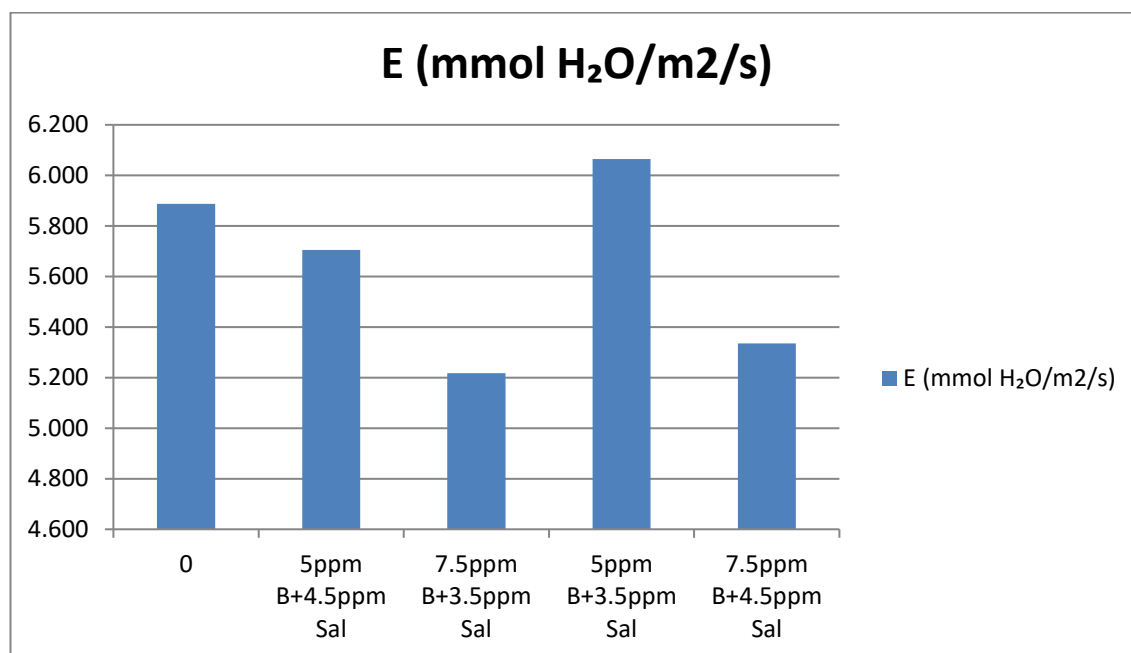
Αντίστοιχα, στατιστικά σημαντικές μειώσεις των τιμών A παρατηρήθηκαν και στις μεταχειρίσεις του σχήματος 3.14, σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι μεγαλύτερες μειώσεις σημειώθηκαν στις προσθήκες των 7.5ppm B ενώ η μέγιστη παρατηρήθηκε στην μεταχείριση των 7.5ppm B+3.5ppm Sal. Συνολικά, η μεγαλύτερη μείωση της τιμής της A διαπιστώθηκε στην απλή μεταχείριση των 7.5ppm B. Στατιστικά σημαντικές μειώσεις διαπιστώθηκαν σε όλες τις μεταχειρίσεις των 7.5ppm B σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 5ppm B.

Σχήμα 3.15 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στο ρυθμό διαπνοής H₂O (E) σε φύλλα σπανακιού



Σε ό,τι αφορά τον ρυθμό διαπνοής (E), από το σχήμα 3.15 προκύπτει ότι η προσθήκη των 5ppm B καθώς και η προσθήκη των 3,5ppm Sal προκάλεσαν μία μικρή αύξηση των τιμών E, σε σχέση με τον μάρτυρα. Ωστόσο, η προσθήκη των 4,5ppm Sal και η προσθήκη των 7,5ppm B προκάλεσαν μείωση των τιμών E και ιδίως η προσθήκη βορίου μείωσε την τιμή κατά 29,6%.

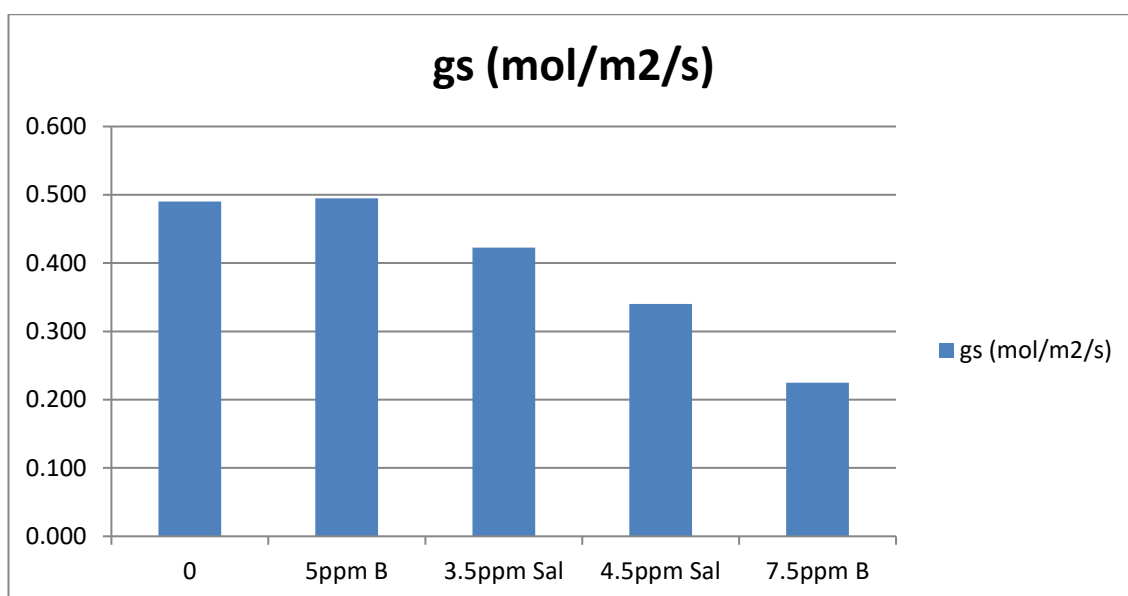
Σχήμα 3.16 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στο ρυθμό διαπνοής H₂O (E) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.16, διαπιστώνεται, ακόμη, ότι στην μεταχείριση των 5ppm B+3,5ppm Sal η τιμή της παραμέτρου E αυξήθηκε ελάχιστα (3%). Στις άλλες τρεις μεταχειρίσεις, όμως, η τιμή μειώθηκε και ιδιαίτερα στην μεταχείριση των 7,5ppm B+3,5ppm Sal (11,4%).

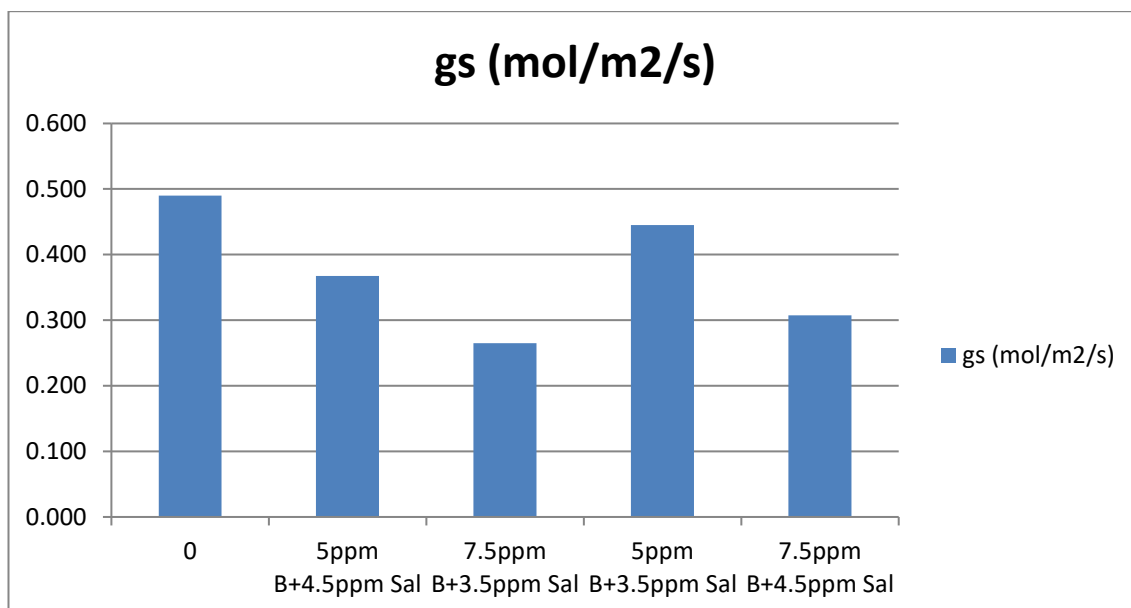
3.3.2 Η Στοματική Αγωγιμότητα (gs) και η Αποτελεσματικότητα Χρήσης Νερού (WUEins)

Σχήμα 3.17 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στην στοματική αγωγιμότητα (gs) σε φύλλα σπανακιού



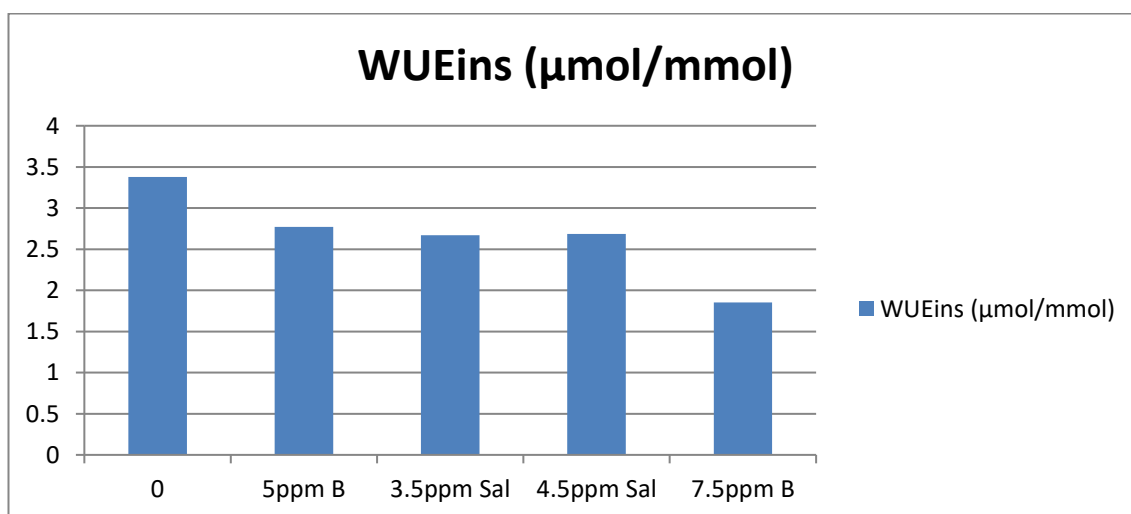
Όσον αφορά την στοματική αγωγιμότητα του CO₂ (gs), από το σχήμα 3.17 προκύπτει ότι στη μεταχείριση των 5ppm B είχαμε μία απειροελάχιστη αύξηση της τιμής της παραμέτρου, σε σχέση με τον μάρτυρα. Στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις παρατηρείται σημαντική με μείωση της τιμής, με σημαντικότερη αυτήν της μεταχείρισης των 7,5ppm B (54,1%).

Σχήμα 3.18 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στην στοματική αγωγιμότητα (gs) σε φύλλα σπανακιού



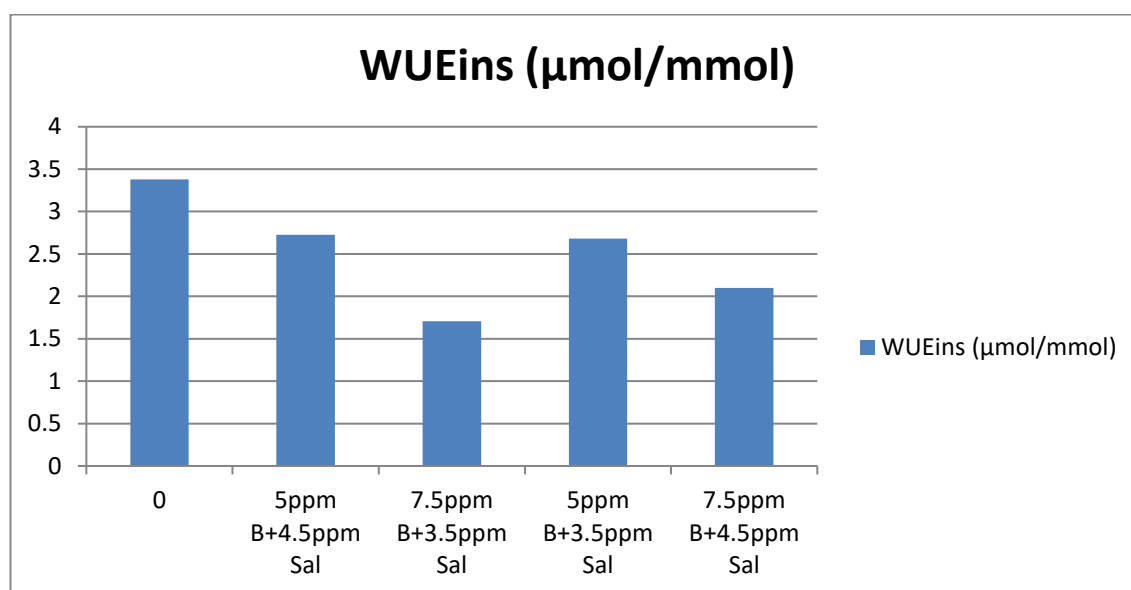
Επιπρόσθετα, από το σχήμα 3.18 διαπιστώνεται ότι η τιμή της παραμέτρου gs μειώθηκε σημαντικά στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, εκτός της προσθήκης των 5ppm B+3,5ppm Sal, όπου η μείωση ήταν της τάξεως του 9%. Η μεγαλύτερη μείωση σημειώθηκε στη μεταχείριση των 7,5ppm B+3,5ppm Sal φτάνοντας το 46%.

Σχήμα 3.19 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στην αποτελεσματικότητα χρήσης του νερού (WUE) σε φύλλα σπανακιού



Σε ό,τι αφορά την αποτελεσματικότητα χρήσης του νερού (WUE), από το σχήμα 3.19 διαπιστώνεται ότι οι προσθήκες των 3.5 και 4.5ppm Sal καθώς και η προσθήκη των 7.5ppm B προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση των τιμών της παραμέτρου σε σχέση με το μάρτυρα. Η προσθήκη των 7.5ppm B προκάλεσε την μεγαλύτερη μείωση (45,2%).

Σχήμα 3.20 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στην αποτελεσματικότητα χρήσης του νερού (WUE) σε φύλλα σπανακιού

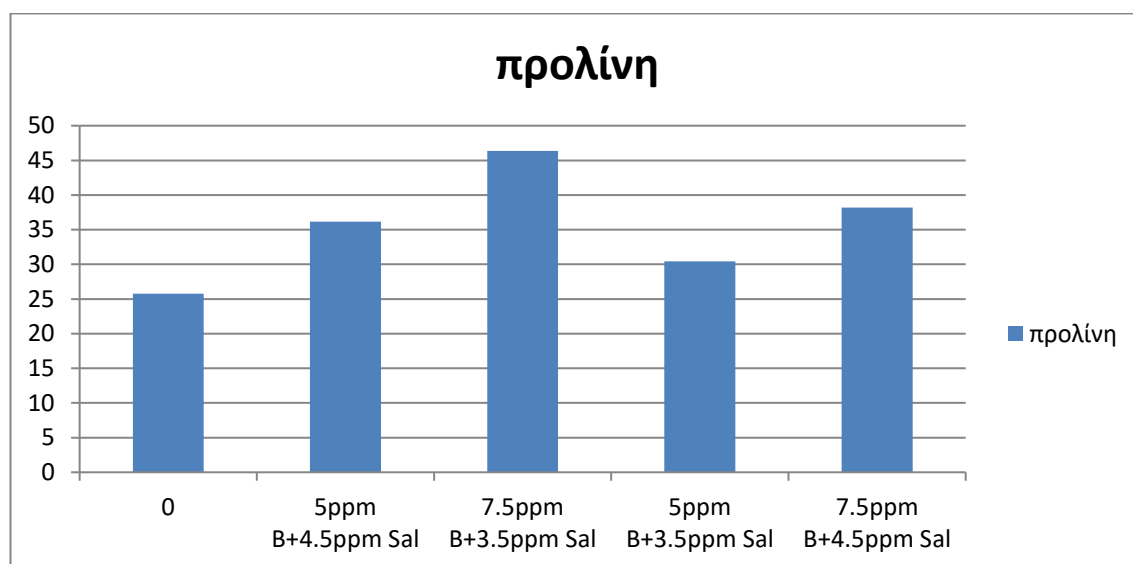


Στατιστικά σημαντικές μειώσεις των τιμών WUE προκλήθηκαν και στις μεταχειρίσεις του σχήματος 3.20. Οι μεγαλύτερες μειώσεις παρατηρήθηκαν στις προσθήκες των 7.5ppm B και η μέγιστη στην προσθήκη 7.5ppm B+3.5ppm Sal.

Επίσης, στατιστικά σημαντικές μειώσεις διαπιστώνονται σε όλες τις τιμές των μεταχειρίσεων όπου προστέθηκαν 7.5ppm B σε σχέση με τις μεταχειρίσεις που περιέχουν 5ppm B, εκτός των μεταχειρίσεων 5ppm B+3.5ppm Sal και 7.5ppm B+4.5ppm Sal, όπου παρατηρείται αριθμητικά σημαντική μείωση της τιμής της παραμέτρου.

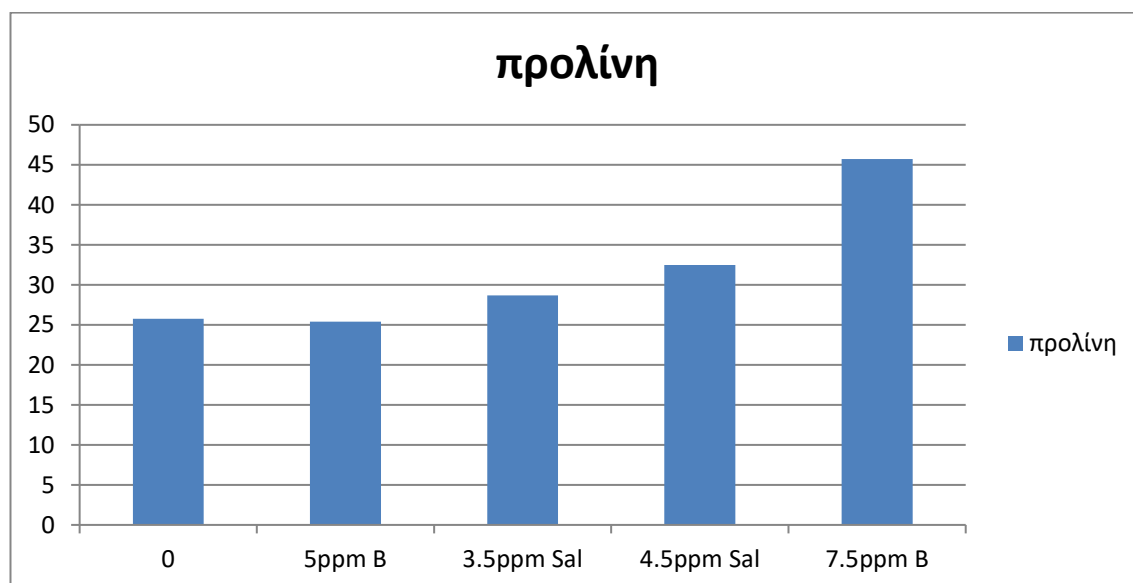
3.4 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ Β ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Σχήμα 3.21 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση προλίνης σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.21 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 7.5ppm B+3.5ppm Sal, 7.5ppm B+4.5ppmSal καθώς και στα 5ppm B+4.5ppm Sal, προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων προλίνης, σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μεταχείριση των 5ppm B+3.5ppm Sal προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης προλίνης στα φύλλα κατά 18,1%.

Σχήμα 3.22 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση προλίνης σε φύλλα σπανακιού



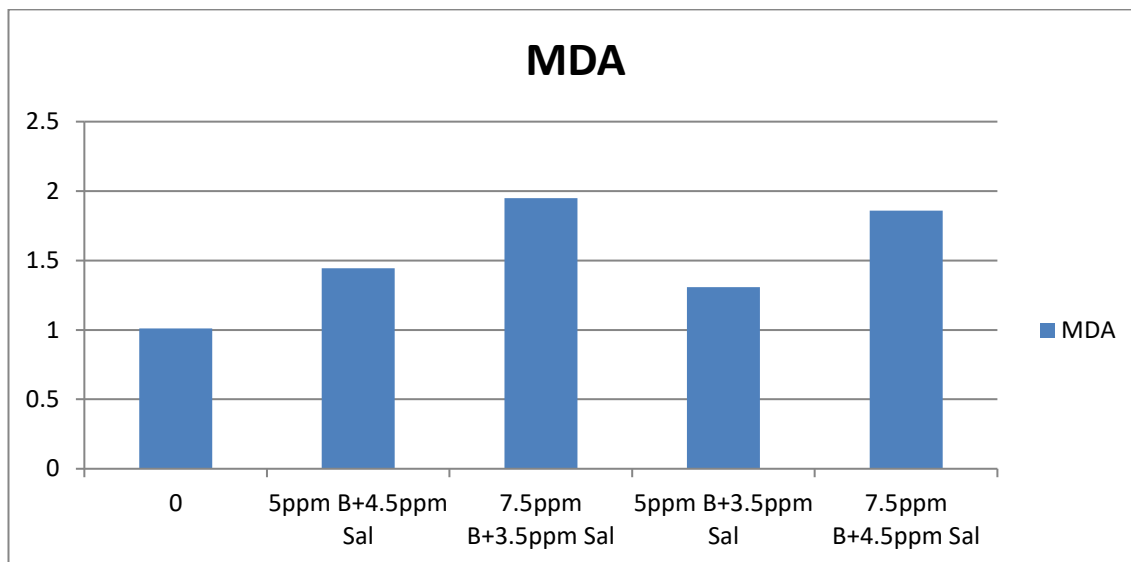
Από το σχήμα 3.22 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 4.5ppm Sal και των 7.5ppm B, προκάλεσε μία στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης προλίνης στα φύλλα. Η μεταχείριση των 3.5ppm Sal προκάλεσε αριθμητική αύξηση κατά 11,4%.

Γενικά, από τους πίνακες διαπιστώνεται ότι οι μεταχειρίσεις των φυτών με 7.5ppm B προκάλεσαν στατιστικά σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων προλίνης σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 5ppm B. Επίσης, η προσθήκη 3.5ppm Sal στα 7.5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης προλίνης, σε σχέση με την αντίστοιχη προσθήκη των 4.5ppm Sal.

3.5 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ Β ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΙΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΜΗΛΟΝΙΚΗΣ ΔΙΑΛΔΕΪΔΗΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

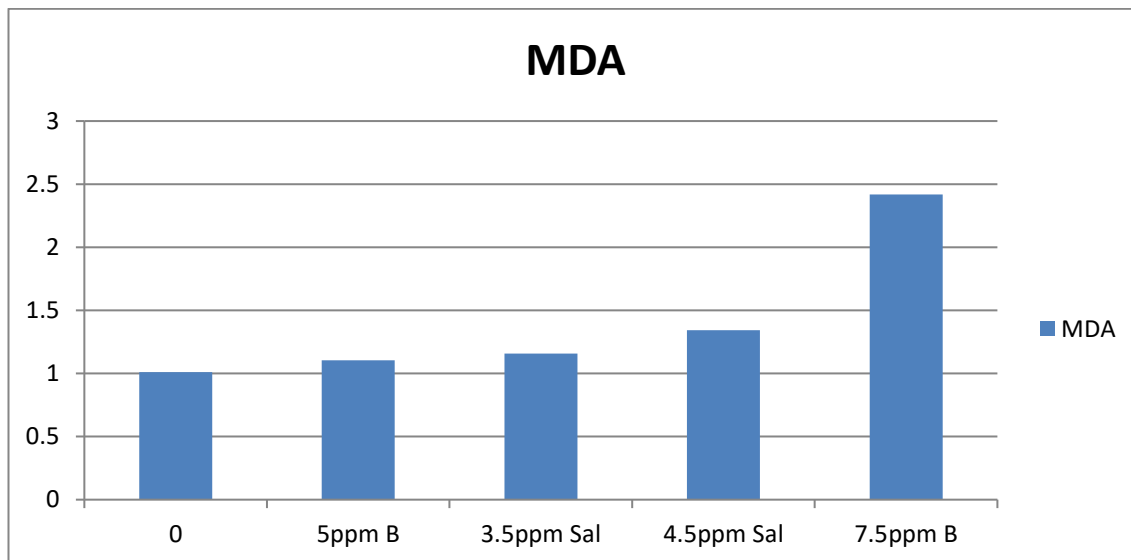
Η συγκέντρωση της MDA θεωρείται ως ένας σημαντικός δείκτης της υπεροξειδωσής των λιπιδίων (Chaoui et al. 1997), αφού η αύξησή της συνεπάγεται φυτά με υψηλά επίπεδα οξειδωτικής καταπόνησης (Hou et al. 2007).

Σχήμα 3.23 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στην υπεροξειδωση των λιπιδίων φύλλων σπανακιού, μα βάση τη συγκέντρωση μηλονικής διαλδεΰδης σε αυτά



Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις της MDA στα φύλλα, από το σχήμα 3.23 προκύπτει ότι οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B με προσθήκη 3.5 ή 4.5ppm Sal, προκάλεσαν στατιστικά σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων, σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι μεταχειρίσεις των 5ppm B προκάλεσαν μόνο αριθμητική αύξηση των συγκεντρώσεων, σε ποσοστά 42,7 και 29,3%, αντίστοιχα.

Σχήμα 3.24 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στην υπεροξειδωση των λιπιδίων φύλλων σπανακιού, μα βάση τη συγκέντρωση μηλονικής διαλδεΐδης σε αυτά

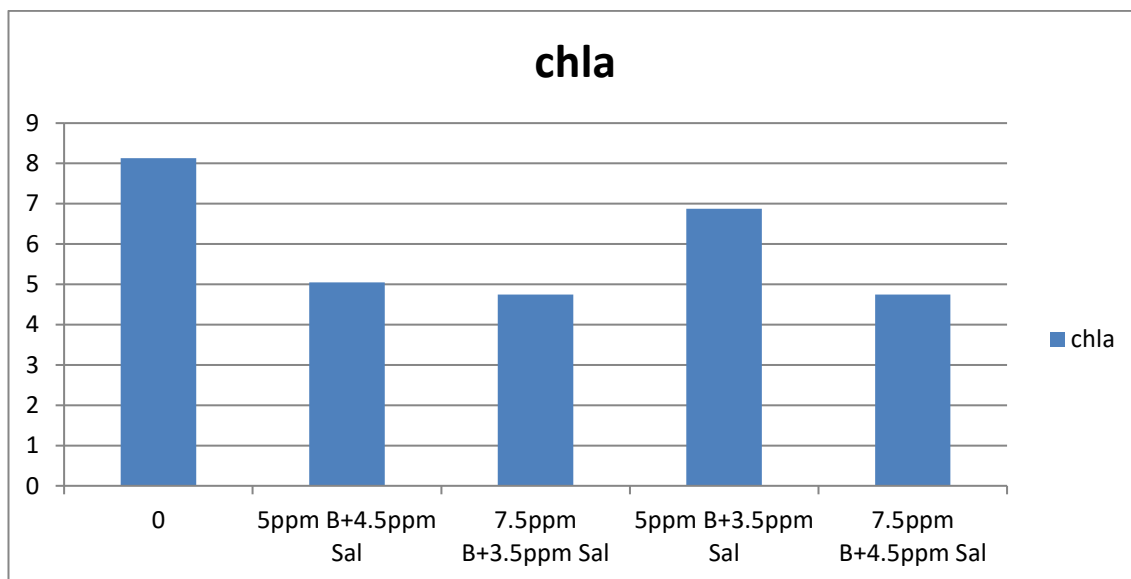


Στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης MDA στα φύλλα σπανακιού προκάλεσε και η απλή προσθήκη 7.5ppm B. Αντίθετα, οι υπόλοιπες προσθήκες του πίνακα 3.24 δεν προκάλεσαν σημαντικές αυξήσεις των συγκεντρώσεων.

Γενικά, μπορούμε να πούμε ότι όλες οι προσθήκες των 7.5ppm B προκάλεσαν στατιστικά σημαντικές αυξήσεις των συγκεντρώσεων, σε σχέση με τον μάρτυρα.

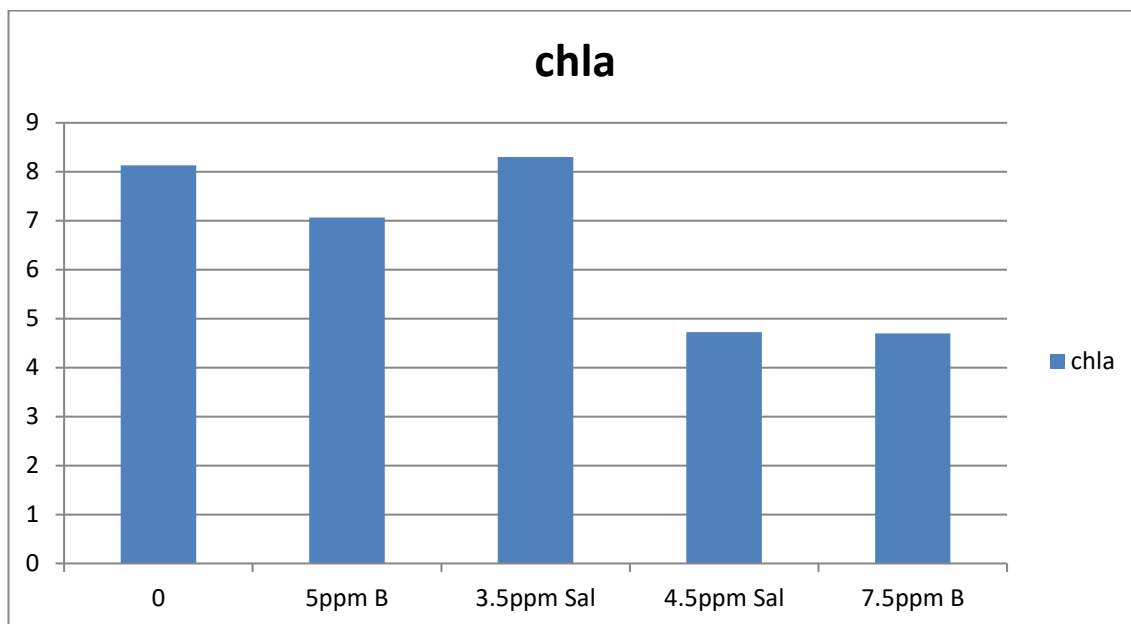
3.6 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ Β ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΙΣ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Σχήμα 3.25 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση χλωροφύλλης a (chl_a) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.25 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 5ppm B 4.5ppm Sal καθώς και στα 7.5ppm B παρουσία 3.5 ή 4.5ppm Sal, προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων chl_a στα φύλλα.

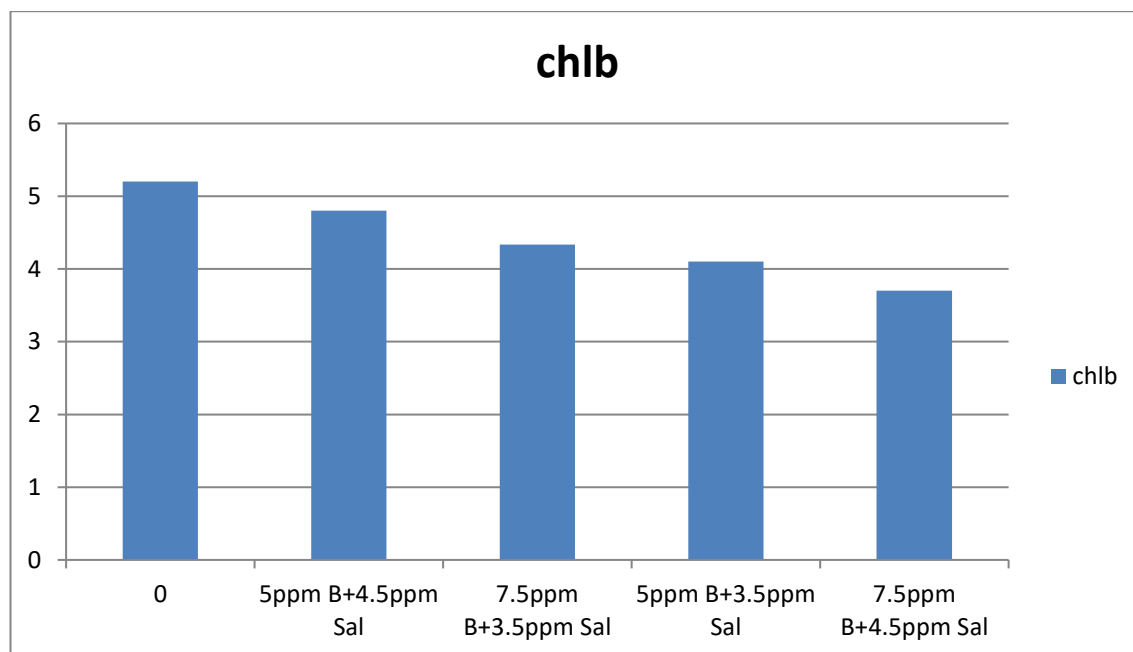
Σχήμα 3.26 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση χλωροφύλλης a (chl_a) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.26 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 4.5ppm Sal και στα 7.5ppm B, προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων chl_a στα φύλλα, ενώ η έκθεση στα 3.5ppm Sal προκάλεσε οριακή αύξηση της συγκέντρωσης.

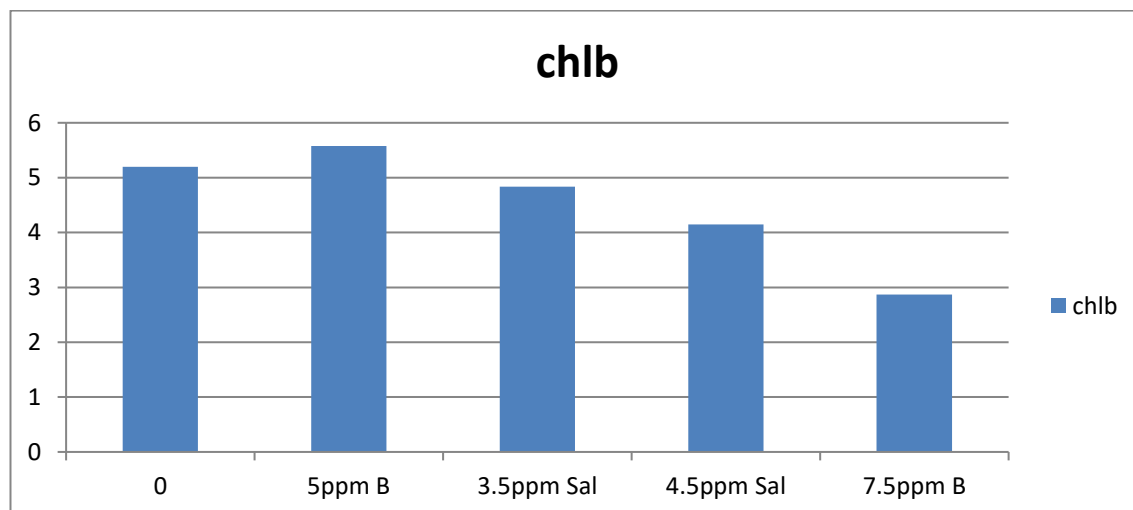
Συνολικά, προκύπτει ότι σε όλες τις μεταχειρίσεις των 7.5ppm B προκλήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων chl_a στα φυτά. Οριακή μείωση ή αύξηση των συγκεντρώσεων παρατηρήθηκε στις μεταχειρίσεις των 3.5ppm Sal, εκτός αυτής που συνοδευόταν από 7.5ppm B.

Σχήμα 3.27 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση χλωροφύλλης b (chl_b) σε φύλλα σπανακιού



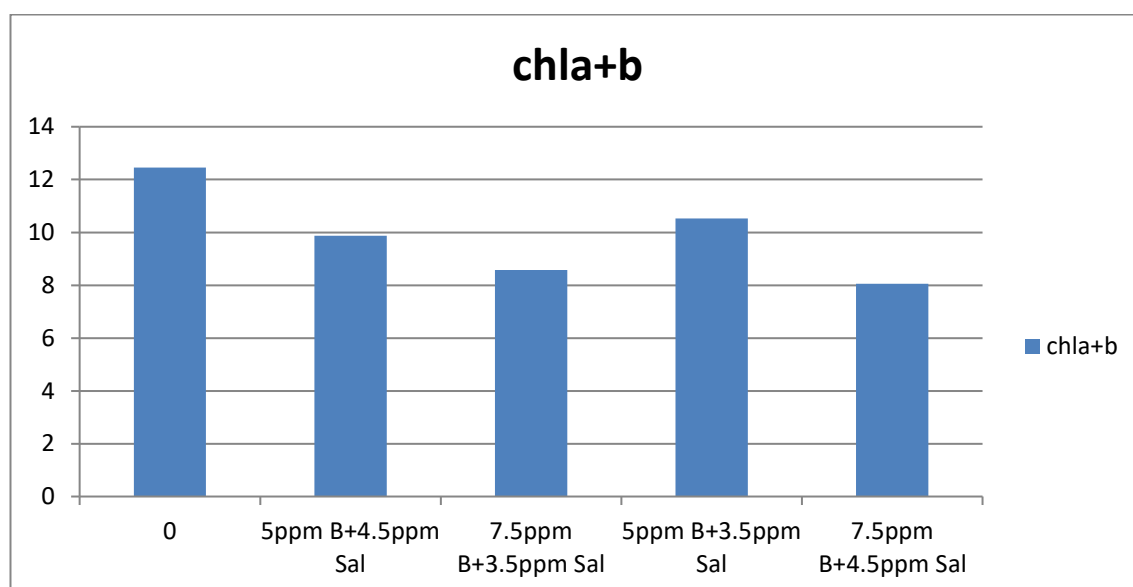
Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις της chl_b στα φυτά σπανακιού, από το σχήμα 3.27 διαπιστώνεται ότι μόνο η έκθεση των φυτών στα 7.5ppm B παρουσία 4.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης chl_b. Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις προκάλεσαν αριθμητικές μειώσεις των συγκεντρώσεων.

Σχήμα 3.28 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση χλωροφύλλης b (chl_b) σε φύλλα σπανακιού



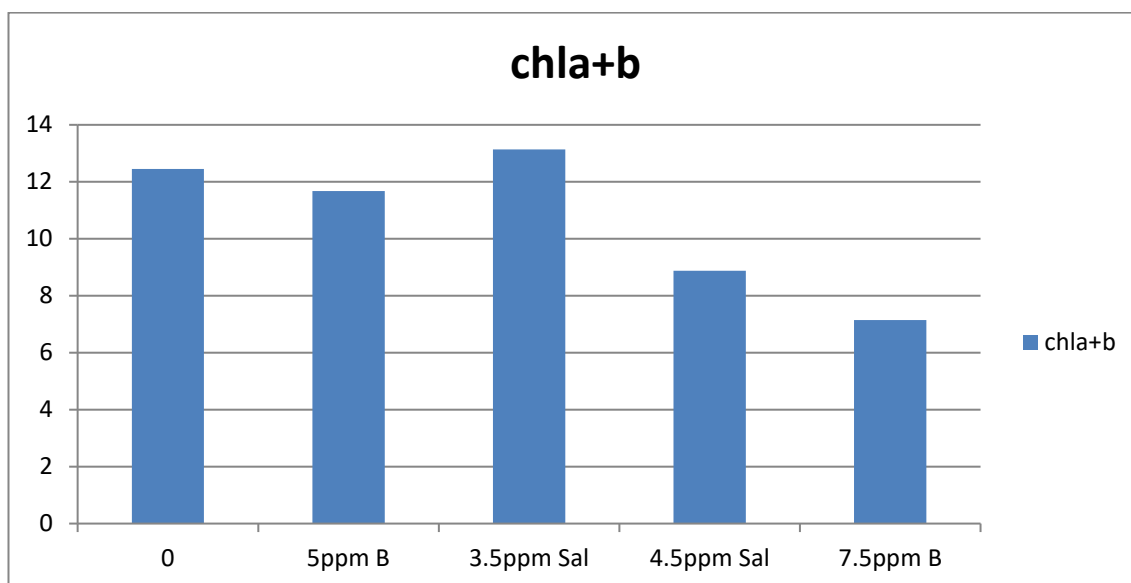
Επίσης, από το σχήμα 3.28 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών στα 7.5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης chl_b στα φύλλα. Αντίθετα, η έκθεση των φυτών στα 5ppm B προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης chl_b στα φύλλα. Η μεταχείριση των φυτών με 4.5ppm Sal προκάλεσε μείωση της συγκέντρωσης κατά 20,2%.

Σχήμα 3.29 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συνολική συγκέντρωση χλωροφύλλης (chl_a+b) σε φύλλα σπανακιού



Η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 7.5ppm B παρουσία 3.5 ή 4.5ppm Sal καθώς και στα 5ppm B+4.5ppm Sal, προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων chl_a+b στα φύλλα, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αριθμητική μείωση της συγκέντρωσης προκάλεσε η μεταχείριση των 5ppm B+3.5ppm Sal.

Σχήμα 3.30 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συνολική συγκέντρωση χλωροφύλλης (chl a+b) σε φύλλα σπανακιού

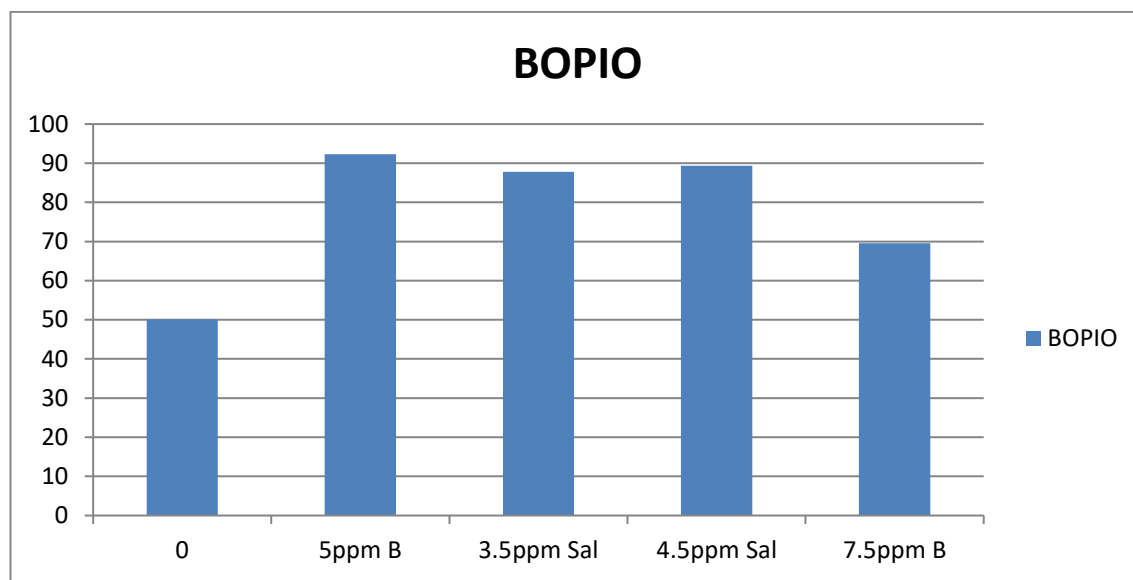


Η έκθεση των φυτών στα 4.5ppm Sal και στα 7.5ppm B προκάλεσε, επίσης, στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων chl a+b στα φύλλα, σε σχέση με τον μάρτυρα. Ωστόσο, η έκθεση στα 3.5ppm Sal προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης chl a+b στα φύλλα ενώ η έκθεση στα 5ppm B προκάλεσε οριακή (6.2%) μείωση της συγκέντρωσης.

Γενικά, όλες οι μεταχειρίσεις των φυτών με 7.5ppm B προκάλεσαν μεγαλύτερη μείωση των συγκεντρώσεων chl a+b στα φύλλα, σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 5ppm B.

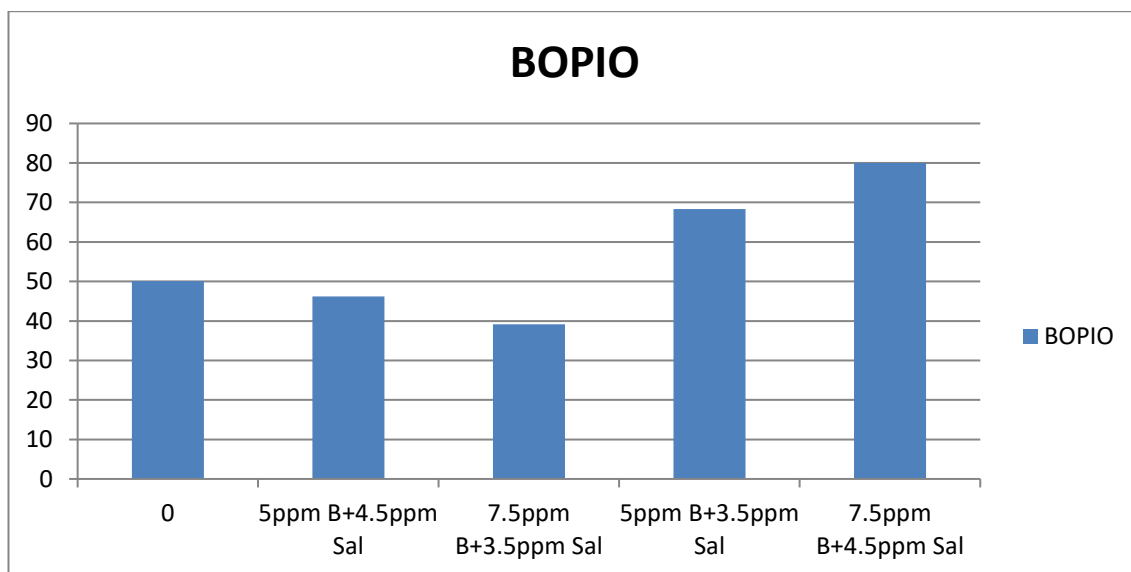
3.7 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΟΡΙΟΥ ΣΤΟΥΣ ΦΥΤΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Σχήμα 3.31 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση βορίου (B) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.31 διαπιστώνεται ότι οι προσθήκες των 5ppm B καθώς και των 3.5 και 4.5ppm Sal προκάλεσαν στατιστικά σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων βορίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αριθμητική αύξηση της συγκέντρωσης (38,8%) προκάλεσε η προσθήκη 7.5ppm B.

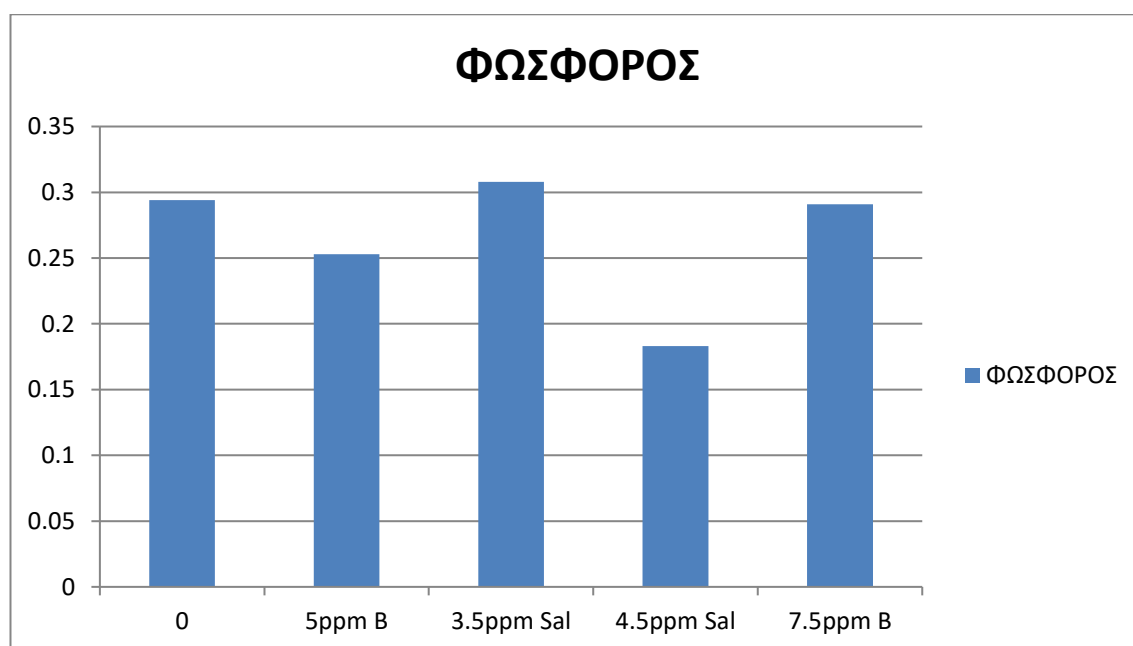
Σχήμα 3.32 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση βορίου (B) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.32 διαπιστώνεται ότι όλες οι μεταχειρίσεις δεν προκάλεσαν καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή των συγκεντρώσεων βορίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Ωστόσο, οι μεταχειρίσεις των 5ppm B+3.5ppm Sal και 7.5ppm B+4.5ppm Sal προκάλεσαν αριθμητική αύξηση των συγκεντρώσεων βορίου κατά 36,5 και 59,8%, αντίστοιχα. Οι άλλες μεταχειρίσεις προκάλεσαν οριακές μειώσεις των συγκεντρώσεων.

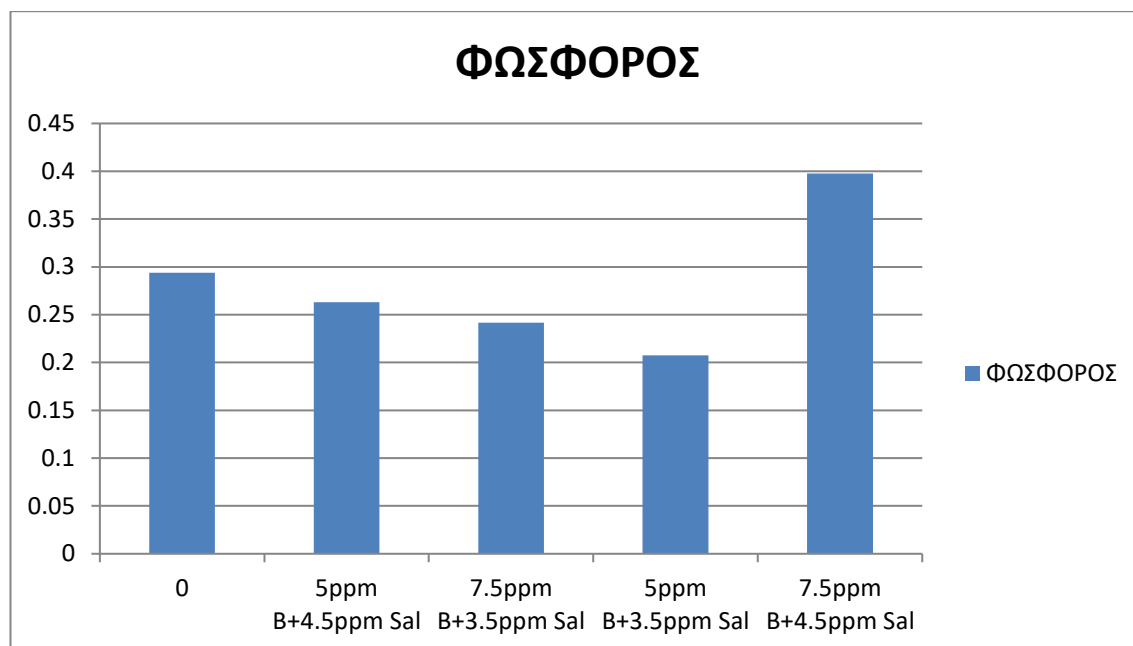
3.8 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΦΩΣΦΟΡΟΥ, ΚΑΛΙΟΥ, ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ, ΜΑΓΝΗΣΙΟΥ ΚΑΙ ΜΑΓΓΑΝΙΟΥ ΣΤΟΥΣ ΦΥΤΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Σχήμα 3.33 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση φωσφόρου (P) σε φύλλα σπανακιού



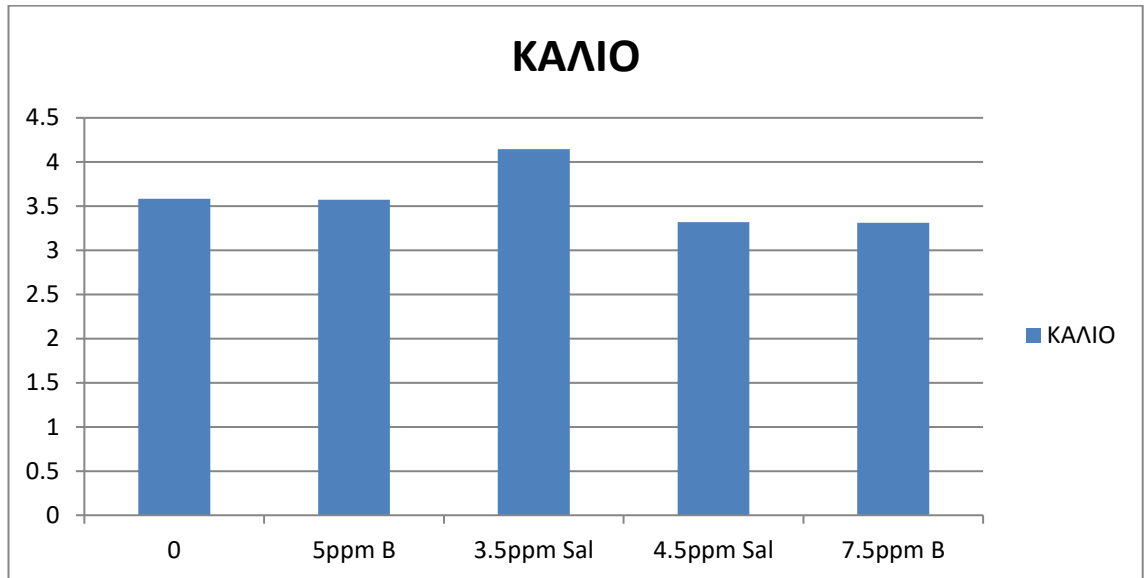
Όσον αφορά την συγκέντρωση φωσφόρου στους φυτικούς ιστούς του σπανακιού, από το σχήμα 3.33 προκύπτει ότι οι μεταχειρίσεις των φυτών με 5ppm B και 4.5ppm Sal, προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αντίθετα, η μεταχείριση των 3.5ppm Sal προκάλεσε οριακή αύξηση (4,8%) της συγκέντρωσης ενώ η μεταχείριση με 7.5ppm B προκάλεσε οριακή μείωση της συγκέντρωσης, σε σχέση με τον μάρτυρα.

Σχήμα 3.34 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση φωσφόρου (P) σε φύλλα σπανακιού



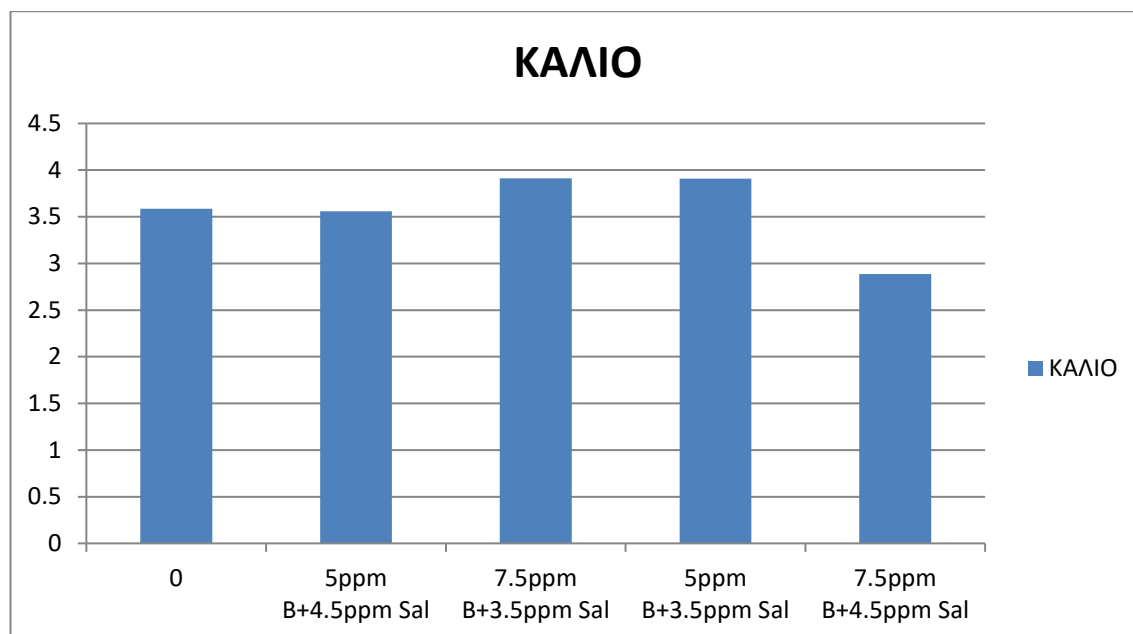
Από το σχήμα 3.34, προκύπτει ότι όλες οι μεταχειρίσεις προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων φωσφόρου, σε σχέση με τον μάρτυρα, με εξαίρεση την μεταχείριση των 7.5ppm B+4.5ppm Sal, η οποία προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης.

Σχήμα 3.35 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση καλίου (K) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.35, διαπιστώνεται ότι οι μεταχειρίσεις των 4.5ppm Sal και των 7.5ppm B, προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων καλίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αντιθέτως, η μεταχείριση των 3.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης ενώ η μεταχείριση των 5ppm B προκάλεσε οριακή μείωση, σε σχέση με τον μάρτυρα.

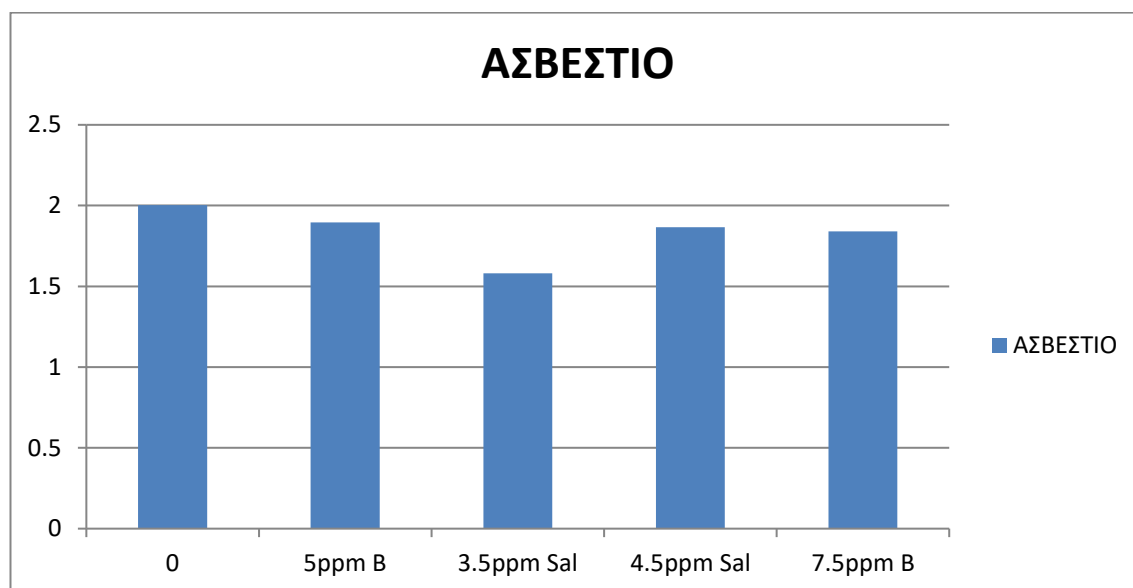
Σχήμα 3.36 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση καλίου (K) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.36, διαπιστώνεται ότι οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B+3.5ppm Sal και των 5ppm B+3.5ppm Sal, προκάλεσαν στατιστικά σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων καλίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αντίθετα, η μεταχείριση των 7.5ppm B+4.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης.

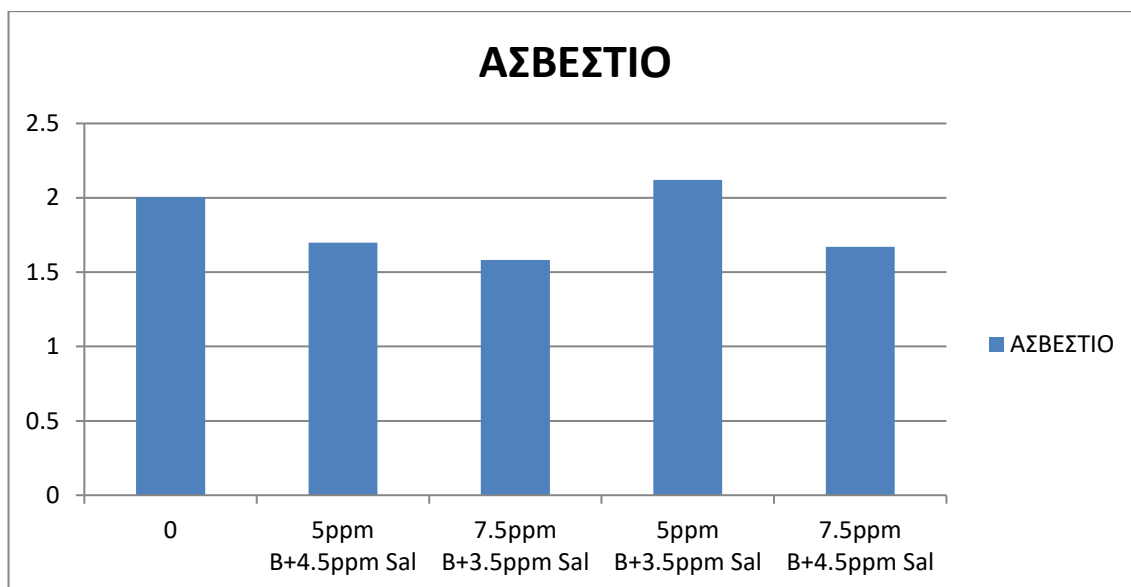
Γενικά, σε όλες οι μεταχειρίσεις των φυτών με 3.5ppm Sal παρατηρήθηκε μία στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης καλίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των φυτών με 4.5ppm Sal. Επίσης, διαπιστώνεται ότι η προσθήκη 3.5ppm Sal στις μεταχειρίσεις των φυτών με 5 ή 7.5ppm B εξισορρόπησε την διαφορά που παρατηρήθηκε στις συγκεντρώσεις του καλίου κατά τις μεταχειρίσεις των φυτών με 5 ή 7.5ppm B παρουσία 4.5ppm Sal.

Σχήμα 3.37 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση ασβεστίου (Ca) σε φύλλα σπανακιού



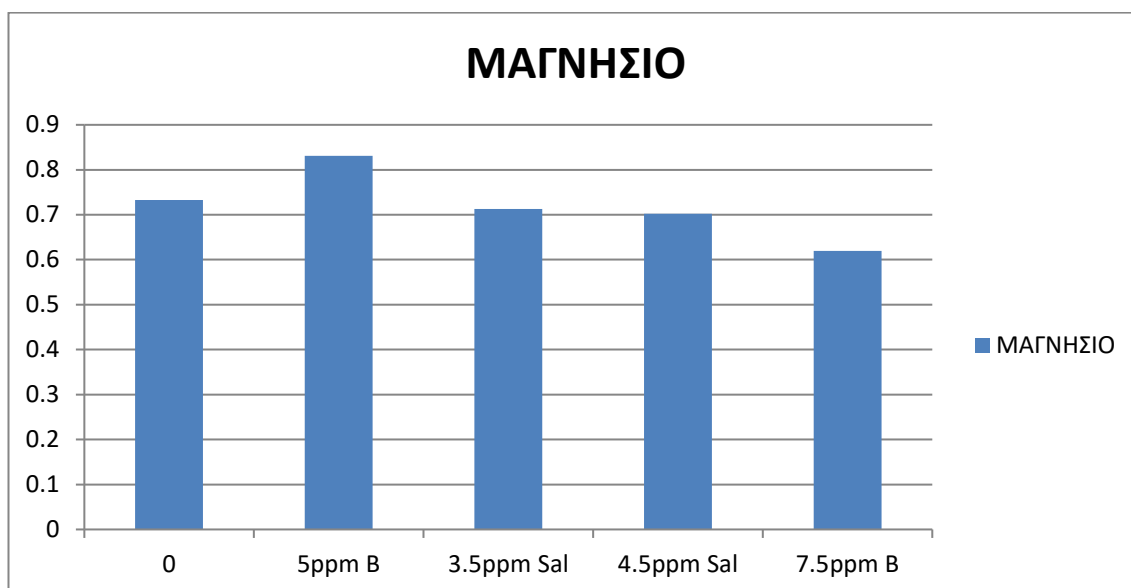
Όσον αφορά την συγκέντρωση ασβεστίου στους φυτικούς ιστούς των φυτών σπανακιού, από το σχήμα 3.37 διαπιστώνεται ότι η μεταχείριση των φυτών με 3.5ppm Sal, προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης ασβεστίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις προκάλεσαν παρόμοιες οριακές μειώσεις των συγκεντρώσεων ασβεστίου, σε σχέση με τον μάρτυρα.

Σχήμα 3.38 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση ασβεστίου (Ca) σε φύλλα σπανακιού



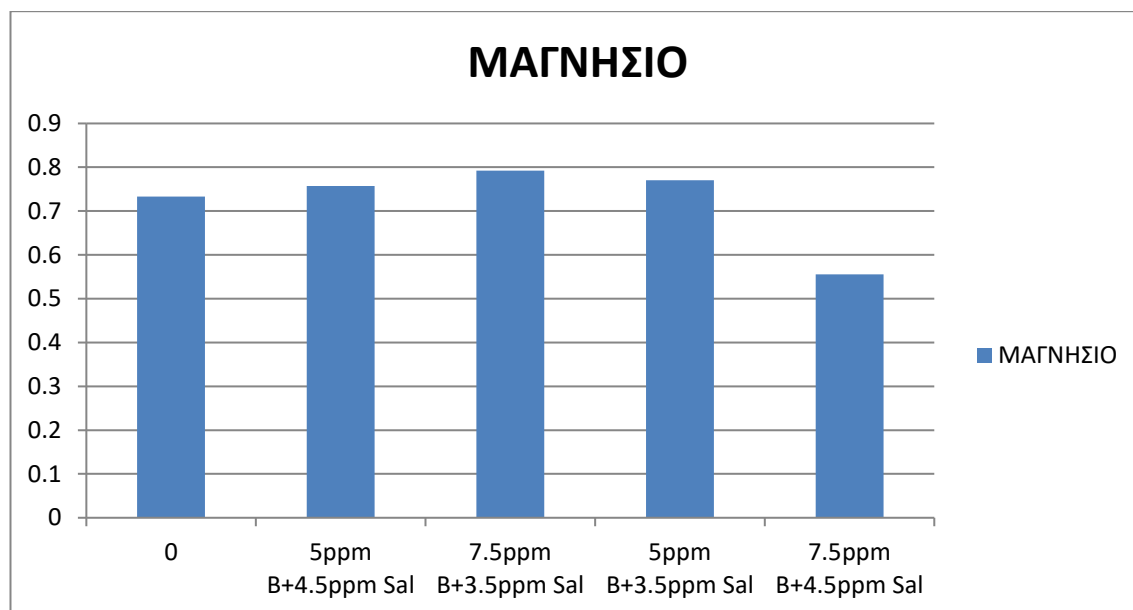
Από το σχήμα 3.38 διαπιστώνεται ότι οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B παρουσία 3.5 ή 4.5ppm Sal καθώς και η μεταχείριση των 5ppm B παρουσία 4.5ppm Sal, προκάλεσαν στατιστικά σημαντικές μειώσεις των συγκεντρώσεων ασβεστίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αντιθέτως, η μεταχείριση των 5ppm B παρουσία 3.5ppm Sal, προκάλεσε αριθμητική αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου, σε σχέση με τον μάρτυρα.

Σχήμα 3.39 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση μαγνησίου (Mg) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.39 διαπιστώνεται ότι η μεταχείριση των 5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης μαγνησίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αντίθετα, η μεταχείριση των 7.5ppm B προκάλεσε μία στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης μαγνησίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι άλλες δύο μεταχειρίσεις προκάλεσαν αριθμητικές μειώσεις των συγκεντρώσεων μαγνησίου, σε σχέση με τον μάρτυρα.

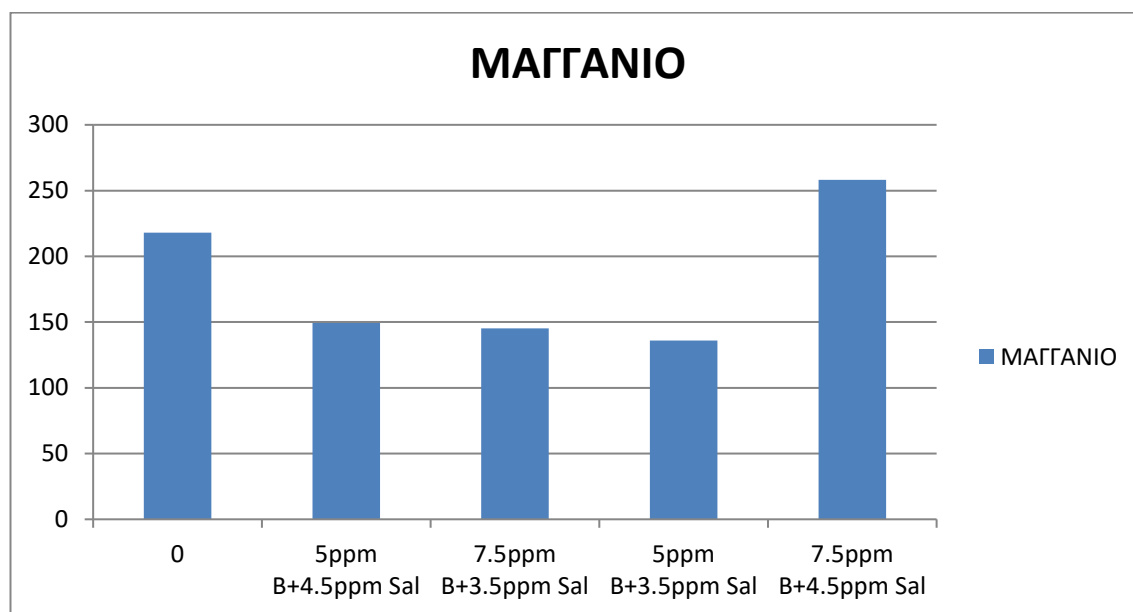
Σχήμα 3.40 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση μαγνησίου (Mg) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.40 διαπιστώνεται ότι μόνον η μεταχείριση των 7.5ppm B παρουσία 4.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης μαγνησίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις προκάλεσαν αριθμητική μόνο αύξηση των συγκεντρώσεων μαγνησίου, σε σχέση με τον μάρτυρα.

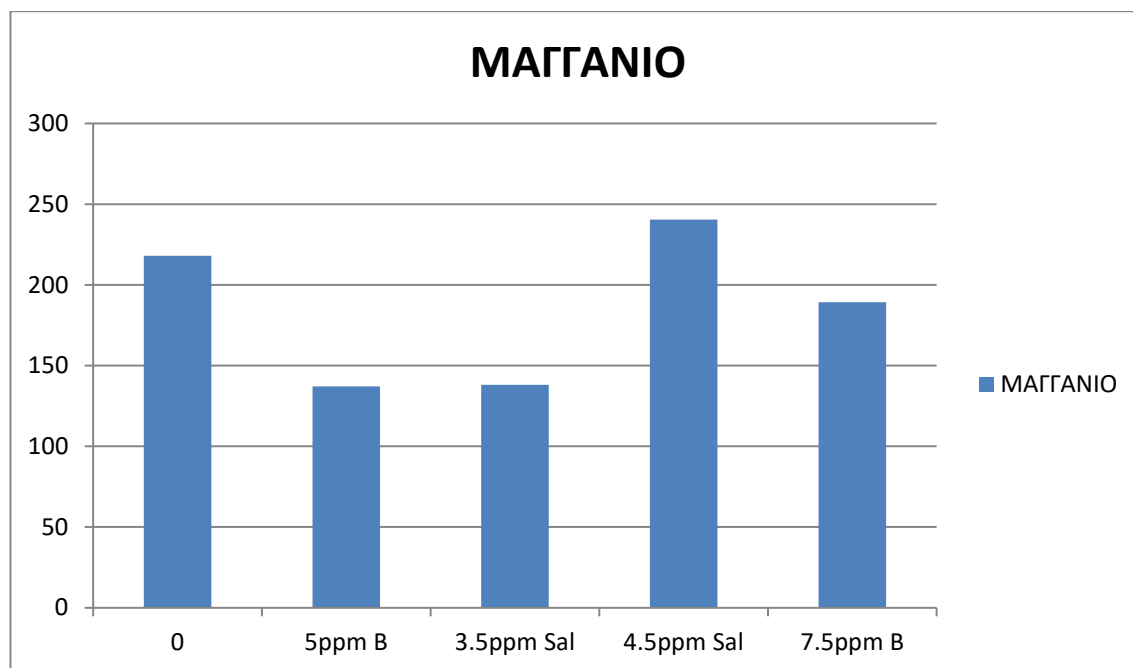
Γενικά, οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B, εκτός αυτής με προσθήκη 3.5ppm Sal, προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων μαγνησίου. Αντίθετα, οι μεταχειρίσεις των 5ppm B προκάλεσαν αυξήσεις των αντίστοιχων συγκεντρώσεων. Αύξηση των συγκεντρώσεων μαγνησίου προκάλεσαν και οι μεταχειρίσεις των 3.5ppm Sal σε σχέση με τις αντίστοιχες μεταχειρίσεις όπου προστέθηκαν 4.5ppm Sal.

Σχήμα 3.41 Επίδραση δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση μαγγανίου (Mn) σε φύλλα σπανακιού



Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις μαγγανίου στους φυτικούς ιστούς του σπανακιού, από το σχήμα 3.41 προκύπτει ότι οι μεταχειρίσεις των 5ppm B παρουσία 3.5 ή 4.5ppm Sal καθώς και η μεταχείριση των 7.5ppm B παρουσία 3.5ppm Sal, προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων μαγγανίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αριθμητική αύξηση της συγκέντρωσης (18,4%) προκάλεσε η μεταχείριση των φυτών με 7.5ppm B+4.5ppm Sal.

Σχήμα 3.42 Επίδραση των συνδυασμών δύο συγκεντρώσεων βορικού οξέος (5, 10 mg L⁻¹) και δύο συγκεντρώσεων σαλικυλικού οξέος (3.5, 4.5 mg L⁻¹) στη συγκέντρωση μαγγανίου (Mn) σε φύλλα σπανακιού



Από το σχήμα 3.42 προκύπτει ότι οι μεταχειρίσεις των 5ppm B και 3.5ppm Sal, προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων μαγγανίου στους φυτικούς ιστούς, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αντίθετα, οι μεταχειρίσεις των φυτών με 4.5ppm Sal και 7.5ppm B, προκάλεσαν αριθμητική αύξηση (10,3%) και μείωση (13,2%) των συγκεντρώσεων, αντίστοιχα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ B ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η φωτεινή ενέργεια που απορροφάται από τις χρωστικές του φωτοσυνθετικού μηχανισμού χρησιμοποιείται κατά ένα μέρος στις φωτοχημικές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης. Η περίσσεια ενέργεια, όμως, πρέπει να απελευθερωθεί αποτελεσματικά με μη φωτοχημικές διαδικασίες. Έτσι, λοιπόν, είτε εκλύεται ως θερμότητα είτε επανεκπέμπεται ως μεγαλύτερου μήκους κύματος φωτεινή ενέργεια. Αυτή η επανεκπομπή του φωτός καλείται φθορισμός της χλωροφύλλης (Krause and Weis, 1991). Ο φθορισμός αυξάνεται όταν η φωτοχημική απόδοση της φωτοσύνθεσης παρεμποδίζεται για οποιοδήποτε λόγο, για παράδειγμα όταν δεν υπάρχει διαθέσιμος οξειδωμένος δέκτης ηλεκτρονίων σε κάποιο σημείο στην πορεία της ηλεκτρονιακής μεταφοράς.

Η αύξηση του F_0 είναι χαρακτηριστικό της απενεργοποίησης των αντιδρώντων κέντρων του PSII (Baker & Horton 1987). Η ευαισθησία του F_0 στις περιβαλλοντικές πιέσεις, που προκαλούν δομικές αλλοιώσεις στις φωτοσυνθετικές χρωστικές του PSII και βλάβη των κέντρων αντίδρασης του PSII (Baker & Horton 1987), μελετήθηκε πρωταρχικά από τους Krause & Weis (1984). Οι Bolhar-Nordenkampf et al. (1989) ανέφεραν, επιπλέον, ότι η ολική ή μερική βλάβη των κέντρων αντίδρασης του PSII, συντελεί στην αύξηση του F_0 .

Από τους πίνακες 3.1 και 3.2 διαπιστώνεται ότι η προσθήκη των 7.5ppm B στα φυτά σπανακιού προκάλεσε σημαντική αύξηση της τιμής F_0 (31.3%) σε σχέση με τον μάρτυρα. Η αύξηση αυτή διατηρήθηκε ακόμη και όταν συνοδευόταν από τα 3.5ppm Sal ενώ περιορίστηκε κάπως όταν η μεταχείριση των 7.5ppm B συνοδευόταν από 4.5ppm Sal (23.5%). Όσον αφορά την προσθήκη των 5ppm B, αυτή προκάλεσε οριακή μείωση της τιμής F_0 σε σχέση με τον μάρτυρα. Ωστόσο, η προσθήκη σε αυτήν των 3.5 ή 4.5ppm Sal πυροδότησε αύξηση της τιμής F_0 σε σχέση με τον μάρτυρα.

Η τιμή F_v αντανακλά την ισορροπία ανάμεσα στις QA και QB, με αποτέλεσμα η αύξηση της τιμής F_v να συμπίπτει με την επιβράδυνση της ροής ηλεκτρονίων στο PSII (Parageorgiou, 1975). Έτσι, το μέγεθος του μεταβαλλόμενου φθορισμού F_v αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη της ικανότητας μεταφοράς ηλεκτρονίων στο PSII (Havaux & Lannoye, 1985c).

Από τους πίνακες 3.3, 3.4, 3.5 και 3.6 αποδεικνύεται η αριθμητικά σημαντική ή οριακή μείωση των τιμών των παραμέτρων F_m και F_v σε όλες τις μεταχειρίσεις, σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στις απλές μεταχειρίσεις των 3.5 ή 4.5ppm Sal. Επίσης, οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B προκάλεσαν οριακά μεγαλύτερες μειώσεις των τιμών των παραμέτρων σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 5ppm B όπως και οι προσθήκες των 3.5ppm Sal σε σχέση με τις προσθήκες των 4.5ppm Sal. Η τελευταία διαπίστωση δεν ισχύει στις σύνθετες μεταχειρίσεις που αφορούν την παράμετρο F_v .

Η μέγιστη φωτοχημική απόδοση του φωτοσυστήματος II προσδιορίστηκε ως η αναλογία του μεταβαλλόμενου φθορισμού F_v προς τον μέγιστο φθορισμό (F_v/F_m) και αντιπροσωπεύει την φωτοσυνθετική ικανότητα του ανοιχτού PSII. Έχει αποδειχθεί εμπειρικά ότι σε μια πλειάδα φυτικών ειδών ο λόγος F_v/F_m είναι ανάλογος της ανά φωτόνιο απόδοσης της φωτοσύνθεσης και αποτελεί μέτρο της φωτοχημικής ικανότητας του PSII (Kalaji et al., 2011). Η μείωση του λόγου F_v/F_m είναι ενδεικτική της επίπτωσης διαφόρων περιβαλλοντικών παραγόντων και αυτή η μεταβολή δείχνει απώλεια της φωτοχημικής απόδοσης (Srivastava et al., 1997). Σε υγιή φυτά με άριστη φωτοσυνθετική δραστηριότητα, η παράμετρος F_v/F_m κυμαίνεται μεταξύ 0,800 και 0,850 (Krause & Weis 1991). Τιμές χαμηλότερες από αυτήν την περιοχή, δείχνουν ότι το φυτό είναι εκτεθειμένο σε κάποιου είδους καταπόνηση.

Από τα αποτελέσματα των πινάκων 3.7 και 3.8 εξάγεται το συμπέρασμα ότι τόσο οι μεταχειρίσεις των 7.5 ή 5ppm B, όσο και αυτές των 3.5 ή 4.5ppm Sal προκάλεσαν στατιστικά σημαντικές μειώσεις των τιμών του λόγου F_v/F_m σε σχέση με τον μάρτυρα. Στατιστικά μεγαλύτερη μείωση προκάλεσε η μεταχείριση των 7.5ppm B σε σχέση με την μεταχείριση των 5ppm B καθώς και η μεταχείριση των 4.5ppm Sal σε σχέση με την μεταχείριση των 3.5ppm Sal. Όσον αφορά τις μεταχειρίσεις των 7.5ppm B, οι μειώσεις αυτές, οι οποίες υποδεικνύουν σημαντική καταπόνηση, εξομαλύνθηκαν κάπως με την προσθήκη 3.5ppm Sal και στατιστικά περισσότερο με την προσθήκη των 4.5ppm Sal, χωρίς όμως οι τιμές να

προσεγγίσουν το εύρος 0,800-0,850 το οποίο υποδεικνύει υγιή φυτά με άριστη φωτοσυνθετική λειτουργία. Αντιθέτως, στις μεταχειρίσεις των 5ppm B διαπιστώθηκε μείωση των τιμών Fv/Fm μετά την προσθήκη 3.5 ή 4.5ppm Sal σε σχέση με την απλή προσθήκη 5ppm B. Η μείωση, μάλιστα, ήταν στατιστικά σημαντική παρουσία των 4.5ppm Sal.

Ο λόγος Fv/Fm (μέγιστη κβαντική απόδοση του φθορισμού της χλωροφύλλης) μειώθηκε σημαντικά σε πολλά φυτικά είδη παρουσία τοξικότητας B (Larsson κ.α., 1998). Η μείωση Fv/Fm σχετίζεται μερικές φορές με αύξηση του Fo (ελάχιστος φθορισμός χλωροφύλλης), ο οποίος σχετίζεται στενά με τη δομική βλάβη των θυλακοειδών των μεμβρανών (Havaux και Lannoye, 1985). Είναι φανερό ότι η μείωση Fv/Fm δείχνει ότι τα φύλλα είναι φωτοκαταστροφικά και είναι γνωστό ότι σε αυτές τις συνθήκες το μοριακό οξυγόνο μπορεί να αποτελέσει εναλλακτικό δέκτη ηλεκτρονίων για ασύνδετα ηλεκτρόνια και φως (Velez-Ramirez κ.α., 2011) που οδηγεί στη δημιουργία ROS.

Η Επιφάνεια (Area) είναι μια άλλη παράμετρος που μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την απόδοση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού των φυτών. Η παράμετρος αυτή μειώνεται σε μεγάλο βαθμό όταν η μεταφορά των ηλεκτρονίων από τα δραστικά κέντρα στο σύνολο των κινονών εμποδίζεται. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι η παράμετρος αυτή μπορεί να ελαττωθεί μέχρι και 59% σε γενότυπους ευαίσθητους σε καταπόνηση, σε σχέση με ανθεκτικούς γενότυπους (Strasser et al. 2004).

Από τους πίνακες 3.9 και 3.10 διαπιστώνεται ότι η τιμή της παραμέτρου 'Επιφάνεια' (Area) μειώθηκε σημαντικά σε όλες τις μεταχειρίσεις σε σχέση με τον μάρτυρα, με εξαίρεση αυτές των 5ppm B και 5ppm B+4.5ppm Sal, όπου η μείωση ήταν οριακή. Όλες οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B προκάλεσαν μεγαλύτερες μειώσεις των τιμών της παραμέτρου σε σχέση με αυτές που προκάλεσαν οι μεταχειρίσεις των 5ppm B. Μεγαλύτερες μειώσεις προκάλεσαν και οι μεταχειρίσεις των 4.5ppm Sal σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 3.5ppm Sal, εκτός αυτής που συνοδευόταν από 5ppm B, όπου παρατηρήθηκε το αντίθετο αποτέλεσμα. Τέλος, η μείωση που προκάλεσε η μεταχείριση των 7.5ppm B εξομαλύνθηκε με την προσθήκη 3.5 ή 4.5ppm Sal. Ανάλογο αποτέλεσμα είχαμε και κατά την προσθήκη 4.5ppm Sal στην μεταχείριση των 5ppm B, όχι όμως και στην αντίστοιχη προσθήκη 3.5ppm Sal.

Τέλος, σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την απόδοση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού μπορεί να δώσει και ο δείκτης απόδοσης PI (Performance index). Η παράμετρος αυτή, που είναι ένας δείκτης ζωτικότητας του δείγματος, συνιστά ουσιαστικά έναν φωτοσυνθετικό δείκτη απόδοσης της μετατροπής ενέργειας από τα φωτόνια που απορροφώνται από τη φωτοσυλλεκτική κεραία του PSII, έως την αναγωγή της QB.

Από τα αποτελέσματα των πινάκων 3.11 και 3.12 διαπιστώνεται ότι οι μεταχειρίσεις των 3.5 ή 4.5ppm Sal καθώς και η μεταχείριση των 7.5ppm B προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση των τιμών της παραμέτρου, σε σχέση με τον μάρτυρα ενώ η μεταχείριση των 5ppm B προκάλεσε αριθμητική μείωση της τιμής σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση περιορίστηκε όταν η μεταχείριση των 7.5ppm B συνοδευόταν από 3.5 ή 4.5ppm Sal. Ιδιαίτερα η προσθήκη 3.5ppm Sal περιόρισε τη μείωση της τιμής σε μη στατιστικά σημαντικά επίπεδα. Αντίθετα, στις μεταχειρίσεις των 5ppm B, η προσθήκη 3.5 ή 4.5ppm Sal μείωσε περαιτέρω την τιμή της παραμέτρου σε σχέση με την απλή μεταχείριση.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο λόγος Fv/Fm μειώθηκε σημαντικά σε πολλά φυτικά είδη παρουσία τοξικότητας B (Larsson et al., 1998).

4.2 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ Β ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΑΝΤΑΛΛΑΓΗΣ ΑΕΡΙΩΝ

Όπως αναφέρθηκε ήδη, σε συνθήκες τοξικότητας B προκαλείται αναστολή της φωτοσύνθεσης. Η μείωση της αφομοίωσης CO₂, σε συνθήκες περίσσειας B, φαίνεται να σχετίζεται με έναν συνδυασμό διαφορετικών παραγόντων: οξειδωτική καταπόνηση, μείωση στις φωτοσυνθετικές ενζυμικές δραστηριότητες και μειωμένο ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων (Han κ.α., 2009). Ωστόσο, δεν έχουν διευκρινιστεί ακόμη οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη μείωση της φωτοσύνθεσης λόγω τοξικότητας B. Οι Pereira κ.α. (2000) υπέθεσαν ότι μια από τις πιθανές αιτίες μείωσης της φωτοσύνθεσης λόγω τοξικότητας B είναι η δομική βλάβη των θυλακοειδών της χλωροφύλλης, η οποία με τη σειρά της άλλαξε τον ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων και επηρέασε την αφομοίωση του CO₂ η οποία μπορεί επίσης να περιοριστεί από μείωση των διαστάσεων των στοματίων.

Έχει επανειλημμένα αποδειχθεί ότι τα φυτά που εκτίθενται σε τοξικές συγκεντρώσεις μετάλλων, παρουσιάζουν αυξημένη στοματική αντίσταση και ως εκ τούτου μειωμένη στοματική αγωγιμότητα. Παρόλα αυτά, η σπουδαιότητα του ρόλου της μειωμένης στοματικής αγωγιμότητας στην αναστολή της φωτοσύνθεσης δεν έχει ακόμη επαρκώς διερευνηθεί. Πολλοί ερευνητές επισημαίνουν ότι η διαδικασία που συμβάλλει ουσιαστικά στη μείωση της φωτοσύνθεσης σε φυτά που έχουν υποστεί επίδραση μετάλλων είναι το κλείσιμο των στομάτων (Carlson et al. 1975, Prasad 1996), ενώ άλλοι υποστηρίζουν ότι η αύξηση της στοματικής αντίστασης είναι δευτερεύουσας σημασίας, αφού τα μέταλλα παίζουν πρωταρχικούς ρόλους στις μεταβολικές διαδικασίες της φωτοσύνθεσης (Van Assche & Clijsters 1993).

Η στοματική αγωγιμότητα είναι από τους σημαντικότερους παράγοντες ρύθμισης της ροής του CO₂ και της διαπνοής του φύλλου (Kozlowski & Pallardy 1997, Jones 1998). Ο σχετικά μειωμένος ρυθμός αφομοίωσης του CO₂ που παρατηρήθηκε στα φύλλα του σπανακιού, σχετίζεται με την υψηλή αντίσταση στην διάχυση του CO₂ από τα στόματα στις καρβοξυλικές θέσεις (Lloyd et al. 1992, Syvertsen & Lloyd 1997).

Η περίσσεια B μπορεί να προκαλέσει μεταβολές στα κύτταρα του μεσόφυλλου, που με τη σειρά τους μειώνουν την ταχύτητα μεταφοράς ηλεκτρονίων και την αξιοποίηση του φωτός. Από την άλλη πλευρά, η μειωμένη δραστηριότητα ορισμένων ενζύμων που εμπλέκονται στην αφομοίωση του CO₂ (ριβουλόζη-1,5-διφωσφορική καρβοξυλάση/οξυγενάση και φρουκτόζη-1,6-διφωσφορική φωσφατάση) (Han et al., 2009) καθορίζει επίσης μια μείωση στη χρήση NADPH και ATP, αναστέλλοντας έτσι τον ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων. Συνεπώς, η μείωση του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων οδηγεί σε οξειδωτική καταπόνηση, που παράγει ROS στον χλωροπλάστη. Αυτές οι ROS οξειδώνουν οργανικά μόρια, όπως χλωροφύλλη και λιπίδια (υπεροξείδωση λιπιδίων) και, πιθανώς, προκαλούν κυτταρικό θάνατο. Οι συνέπειες αυτών των αντιδράσεων είναι τα ορατά συμπτώματα ζημιάς που συνήθως βρίσκονται στο περιθώριο των φύλλων, όπου το B συσσωρεύεται σε μεγάλο βαθμό (Guidi κ.α., 2011).

Όσον αφορά την επίδραση του σαλικυλικού οξέος στην φωτοσυνθετική λειτουργία, υψηλές συγκεντρώσεις SA (>1mM) προκαλούν μείωση του φωτοσυνθετικού ρυθμού (PN), της δραστηριότητας της RuBisCO, της χλωροφύλλης και των καροτενοειδών, καθώς το SA επιδρά στη δομή των χλωροπλαστών, των μεμβρανών των θυλακοειδών και των φύλλων, ενώ προκαλεί και κλείσιμο των

στοματίων. Αντίθετα, εφαρμογή εξωγενούς σαλικυλικού οξέος σε μικρές συγκεντρώσεις (<1mM) μπορεί να αυξήσει την περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη και καροτενοειδή, το σχετικό υδατικό δυναμικό, τον δείκτη σταθερότητας των μεμβρανών, την επιφάνεια των φύλλων και τη συνολική βιομάζα (Fariduddin *et al.*, 2003; Agarwal *et al.*, 2005a). Οι Hayat *et al.* (2005) αναφέρουν ότι σε φυτά σιταριού, προμεταχείριση με χαμηλές συγκεντρώσεις SA (10-5 M) αύξησαν τη φωτοσύνθεση, ενώ υψηλότερες τιμές είχαν αντίθετα αποτελέσματα. Παρόμοια αποτελέσματα υπήρξαν και σε φυτά *Brassica napus* και *B. juncea* τα οποία ψεκάστηκαν με χαμηλές συγκεντρώσεις SA (Ghai *et al.*, 2002; Fariduddin *et al.*, 2003).

Τα παραπάνω επιβεβαιώνονται στην παρούσα μελέτη και, συγκεκριμένα, από τα αποτελέσματα των πινάκω 3.13-3.20, από όπου προκύπτει ότι η προσθήκη 4.5ppm Sal στα φυτά σπανακιού προκάλεσε μειώσεις των τιμών των παραμέτρων που εξετάζονται σε σχέση με την προσθήκη των 3.5ppm Sal. Εξαίρεση αποτελεί η παράμετρος της αποτελεσματικότητας χρήσης του νερού όπου η προσθήκη 4.5ppm Sal προκάλεσε οριακή αύξηση της τιμής σε σχέση με την προσθήκη 3.5ppm Sal. Οι μειώσεις αυτές διατηρήθηκαν και μετά την προσθήκη 5ppm B στις αντίστοιχες μεταχειρίσεις αλλά ανατράπηκαν μετά την προσθήκη των 7.5ppm B.

Από τα αποτελέσματα των πινάκων 3.13 και 3.14 διαπιστώνεται ότι η προσθήκη των 5 ή 7.5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντικές μειώσεις του ρυθμού αφομοίωσης του CO₂ (A) σε σχέση με τον μάρτυρα, οι οποίες ήταν ανάλογες των επιπέδων προσθήκης του B. Οι μειώσεις αυτές περιορίστηκαν στατιστικώς σημαντικά με την προσθήκη 3.5 ή 4.5ppm Sal στις μεταχειρίσεις των 7.5ppm B και ιδιαίτερα με την προσθήκη των 4.5ppm Sal. Αντιθέτως, στις μεταχειρίσεις των 5ppm B είχαμε περαιτέρω μείωση των τιμών και, κυρίως, στην προσθήκη των 4.5ppm Sal. Επίσης, πρέπει να επισημανθεί ότι οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B προκάλεσαν στατιστικά μεγαλύτερες μειώσεις των τιμών A σε σχέση με τις αντίστοιχες των 5ppm B.

Επίσης, από τους πίνακες 3.15 και 3.16 προκύπτει ότι η προσθήκη 7.5ppm B στα φυτά σπανακιού προκάλεσε σημαντική μείωση του ρυθμού διαπνοής (E) στα φύλλα (29.6%), σε σχέση με τον μάρτυρα. Από την άλλη, η προσθήκη 5ppm B προκάλεσε οριακή αύξηση της τιμής σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση του ρυθμού διαπνοής που προκάλεσε η προσθήκη των 7.5ppm B, εξομαλύνθηκε σημαντικά όταν συνοδευόταν από 3.5 (11.4%) ή 4.5ppm Sal (9.4%) σε σχέση με τον

μάρτυρα. Αντιθέτως, όταν η προσθήκη των 5ppm B συνοδευόταν από 3.5 ή 4.5ppm Sal είχαμε μείωση της τιμής E σε σχέση με την προηγούμενη. Μάλιστα, η προσθήκη των 4.5ppm Sal προκάλεσε μείωση της τιμής σε σχέση με τον μάρτυρα.

Όσον αφορά την στοματική αγωγιμότητα (gs), από τους πίνακες 3.17 και 3.18 διαπιστώνεται ότι η προσθήκη των 7.5ppm B στα φυτά σπανακιού προκάλεσε σημαντική μείωση της στοματικής αγωγιμότητας (54.1%) σε σχέση με τον μάρτυρα ενώ η προσθήκη των 5ppm B προκάλεσε οριακή αύξηση της αντίστοιχης τιμής σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μειωμένη τιμή της gs αποκαταστάθηκε κάπως όταν η μεταχείριση των 7.5ppm B συνοδευόταν από 3.5 (45.9%) ή 4.5ppm Sal (37.1%). Αντίθετα, η προσθήκη 3.5 ή 4.5ppm Sal στη μεταχείριση των 5ppm B προκάλεσε μείωση της τιμής της gs τόσο σε σχέση με την προηγούμενη τιμή όσο και σε σχέση με τον μάρτυρα.

Τέλος, από τους πίνακες 3.19 και 3.20 διαπιστώνεται ότι η προσθήκη των 7.5ppm B στα φυτά σπανακιού προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της αποτελεσματικότητας χρήσης του νερού (WUE) σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση αυτή περιορίστηκε με την προσθήκη 4.5ppm Sal, όμως αυξήθηκε με την προσθήκη των 3.5ppm Sal σε σχέση με την πρώτη τιμή. Όσον αφορά την μεταχείριση των 5ppm B, αυτή προκάλεσε αριθμητική μείωση της WUE (18%) σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση αυτή επεκτάθηκε οριακά όταν η προσθήκη των 5ppm B συνοδευόταν από την προσθήκη 3.5 ή 4.5ppm Sal. Τέλος, εξάγεται το συμπέρασμα ότι οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B προκάλεσαν στατιστικά σημαντικές μειώσεις των τιμών της WUE σε σχέση με τις αντίστοιχες μεταχειρίσεις των 5ppm B.

Σε εργασία του Παπαρνάκη (2012), αναφέρεται ότι τα υποκείμενα *Myrobolan 29C* και *GF-677* εκδήλωσαν μείωση του ρυθμού φωτοσύνθεσής τους μετά από την έκθεσή τους σε συνθήκες υπερεπάρκειας B. Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν διατυπωθεί σε πεπόνια (Lovatt και Bates, 1984) και σε εσπεριδοειδή (Papadakis et al., 2004a; Papadakis et al., 2004β; Shuang et al., 2009). Σε νεαρά φυτά κολοκυθιάς, η τοξικότητα του βορίου προκαλεί αρχικά μείωση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης και στη συνέχεια μείωση της αύξησης, απώλεια της φυλλικής επιφάνειας και μειωμένη δέσμευση CO₂ (Lovatt and Bates, 1984). Επιπλέον η τοξικότητα βορίου μπορεί να μειώσει την ικανότητα ανοίγματος των στομάτων και έτσι να αυξηθεί η στοματική αντίσταση (Lacono et al., 1998; Cuevas et al., 2006).

4.3 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ Β ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Η προλίνη είναι αμινοξύ το οποίο συναντάται στα ανώτερα φυτά και συσσωρεύεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις ως αντίδραση σε πολλές περιβαλλοντικές καταπονήσεις όπως ξηρασία, αλατότητα, υψηλές θερμοκρασίες, υψηλή ένταση φωτός και βαρέα μέταλλα (Rains, 1989; Ali et al., 1999; Rhodes et al., 1999; Ozturk και Dewir, 2002; Hsu et al., 2003; Kishor et al., 2005).

Η προλίνη δρα ως οσμωλύτης για τη ρύθμιση της οσμωτικής πίεσης και συμβάλλει στη σταθερότητα των υπο-κυτταρικών δομών (π.χ μεμβράνες και πρωτεΐνες), αλληλεπιδρώντας με φωσφολιπίδια. Επιπλέον, βοηθά στην απενεργοποίηση ελεύθερων ριζών ως πηγή ενέργειας και αζώτου, ρυθμίζει τα εν δυνάμει δυναμικά κάτω από συνθήκες καταπόνησης και αποτελεί σημαντικό συστατικό των πρωτεϊνών στα κυτταρικά τοιχώματα. Επίσης, συμβάλλει στη διατήρηση της κατάλληλης αναλογίας $NADP^+/NADPH$, που προάγει το μεταβολισμό (Hare και Cress, 1997) και επάγει την έκφραση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την αντοχή στην αλατότητα (Satoh et al., 2002, Oono et al., 2003, Chinusammy et al., 2005). Τα φυτά ως αντίδραση στην αλατότητα και στην ξηρασία συσσωρεύουν προλίνη στο κυτόπλασμα τους, η οποία συμβάλλει στην οσμωρύθμιση (Leigh et al., 1981; Binzel et al., 1987; Ketchum et al., 1991).

Η συσσώρευση προλίνης στο κυτόπλασμα σχετίζεται, επίσης, με μείωση της συγκέντρωσης τοξικών ιόντων (Cayley et al., 1992). Όμως, η υπερπαραγωγή προλίνης, υπό φυσιολογικές περιβαλλοντικές συνθήκες, μπορεί να εμποδίσει τη σύνθεση πρωτεϊνών και RNA που είναι απαραίτητα για την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών (Su και Wu, 2004) και, ως εκ τούτου, επηρεάζει αρνητικά την αύξηση και τον κυτταρικό μεταβολισμό (Ehsanpour and Fatahian, 2003; Nanjo et al., 2003). Το ποσοστό συγκέντρωσης προλίνης εξαρτάται από την ένταση και τη διάρκεια της καταπόνησης.

Η συσσώρευση της προλίνης είναι μία συνηθισμένη μεταβολική αντίδραση των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις και έχει διερευνηθεί εντατικά την τελευταία εικοσαετία (Rhodes 1987, Samaras et al. 1995, Taylor 1996, Rhodes et al. 1999, Khan et al. 2000, Ashraf & Foolad 2007, Mishra & Dubey 2006, Giannakoula et al. 2008). Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η συσσώρευση της προλίνης αποτελεί

στρατηγική των φυτών για την ανάπτυξη της ανθεκτικότητάς τους στις διάφορες καταπονήσεις (Hare & Cress 1997), συμπεριλαμβανομένης και αυτής των μετάλλων (Klimashevskii 1983, Saradhi 1991, Kastori et al. 1992, Bassi & Sharma 1993a, b, Chen & Kao 1995, Schat et al. 1997). Η επαγόμενη από μέταλλα αύξηση της συγκέντρωσης της ενδοκυτταρικής προλίνης έχει επαρκώς τεκμηριωθεί σε διάφορα φυτά (Alia et al. 1995, Bassi & Sharma 1993a, Chen et al. 2001, Costa & Morel 1994, Dhir et al. 2004, Schat et al. 1997, Shahnaz et al. 2011).

Από τα αποτελέσματα των πινάκων 3.21 και 3.22 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 7.5ppm B καθώς και στα 4.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων προλίνης σε σχέση με τον μάρτυρα. Η αύξηση που παρουσιάστηκε στην μεταχείριση των 7.5ppm B περιορίστηκε στατιστικώς σημαντικά όταν αυτή συνοδευόταν από 4.5ppm Sal, ωστόσο η αύξηση της συγκέντρωσης, σε σχέση με τον μάρτυρα, παρέμεινε σε στατιστικώς σημαντικά επίπεδα. Αντίθετα, όταν συνοδευόταν από την προσθήκη 3.5ppm Sal, η συγκέντρωση προλίνης παρουσίασε οριακή αύξηση σε σχέση με την αρχική τιμή. Όσον αφορά την έκθεση των φυτών στα 5ppm B, η μεταχείριση προκάλεσε, αρχικά, οριακή μείωση της συγκέντρωσης προλίνης σε σχέση με τον μάρτυρα. Με την προσθήκη όμως 3.5 ή 4.5ppm Sal, η συγκέντρωση προλίνης αυξήθηκε σε σχέση με τον μάρτυρα. Μάλιστα, η προσθήκη των 4.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης προλίνης σε σχέση με τον μάρτυρα. Γενικά, οι μεταχειρίσεις των 4.5ppm Sal, εκτός αυτής που συνοδευόταν από 7.5ppm B, προκάλεσαν μεγαλύτερες αυξήσεις των συγκεντρώσεων προλίνης σε σχέση με αυτές των 3.5ppm Sal.

Η τοξικότητα B περιόρισε τη συγκέντρωση προλίνης στα φύλλα των υποκειμένων *Myrobolan 29C* και *GF-677*, ενώ αύξησε τη συγκέντρωση προλίνης στα φύλλα του *Rajam 2*. Ωστόσο, η παρουσία SA αύξησε τη συγκέντρωση της προλίνης στα φύλλα των υποκειμένων αυτών (Παπαρνάκης, 2012). Μείωση της συγκέντρωσης προλίνης υπό συνθήκες τοξικότητας B, έχει αναφερθεί σε κριθάρι (Inal et al., 2009), μαρούλι (Eraslan et al., 2007), μηλιές (Molassiotis et al., 2006), μανταρίνια (Papadakis et al., 2004) και σε αμπέλι (Gunes et al., 2006). Σε πειράματα που έχουν γίνει με SA παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης προλίνης σε σιτάρι (Al-Whaibi et al., 2011), *Artemisia annua* (Tariq et al., 2011) και σε φυτά φράουλας (Tohma and Esitken, 2011).

4.4 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ Β ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΙΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΜΗΛΟΝΙΚΗΣ ΔΙΑΛΔΕΪΔΗΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Η οξειδωτική καταπόνηση, που περιλαμβάνει και την τοξικότητα των μετάλλων, συνιστά βασικό παράγοντα πρόκλησης βλαβών σε φυτά που εκτίθενται σε διάφορες συνθήκες καταπόνησης. Προκαλεί την αποικοδόμηση ποικίλων σημαντικών βιολογικά μορίων, όπως των λιπιδίων, των αμινοξέων, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων, με τελικό αποτέλεσμα τον σχηματισμό, μεταξύ άλλων ενώσεων, της μηλονικής διαλδεΐδης (MDA) (Balestrasse et al. 2006). Η διαδικασία αυτή που λαμβάνει χώρα κυρίως στις βιομεμβράνες, είναι το πιο σοβαρό σύμπτωμα οξειδωτικής καταπόνησης σε φυτά και ζώα (Yamamoto et al. 2001, Jorge et al. 2003).

Το οξειδωτικό στρες προκαλείται συνήθως από:

- 1) Μειωμένη δράση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Αυτό μπορεί να συμβεί είτε εξαιτίας μεταλλάξεων ή τοξικών παραγόντων που επηρεάζουν τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων είτε από τη μείωση των διατροφικών αντιοξειδωτικών ουσιών.
- 2) Αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών (ROS). Αυτό συμβαίνει είτε λόγω της έκθεσης των κυττάρων σε υψηλά επίπεδα ROS είτε λόγω της ύπαρξης παραγόντων που οδηγούν στην αυξημένη παραγωγή ROS.

Οι φυσιολογικές επιδράσεις της τοξικότητας Β περιλαμβάνουν, εκτός των άλλων, υπεροξείδωση λιπιδίων και μεταβολή της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών οδών (Reid κ.α., 2004). Όπως αναφέρθηκε ήδη, σε συνθήκες τοξικότητας Β, προκαλείται αναστολή της φωτοσύνθεσης, η οποία σχετίζεται και με μειωμένο ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων (Han κ.α., 2009). Η μείωση του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων οδηγεί σε οξειδωτική καταπόνηση, που παράγει ενεργές ρίζες οξυγόνου (ROS) στον χλωροπλάστη. Αυτές οι ROS οξειδώνουν οργανικά μόρια, όπως χλωροφύλλη και λιπίδια (υπεροξείδωση λιπιδίων).

Η υπεροξείδωση των λιπιδίων είναι αποτέλεσμα της οξειδωτικής καταστροφής των κυτταρικών μεμβρανών. Η έναρξη της υπεροξείδωσης λιπιδίων μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό πολλαπλών μορίων υπεροξείδωσης, ως αποτέλεσμα της αλυσιδωτής αντίδρασης. Οι κυκλικές αυτές αντιδράσεις, εάν δεν

τερματιστούν με κάποιον τρόπο, έχουν καταστρεπτικά αποτελέσματα, καθώς προκαλούν τελικά την ολική οξειδωση των μεμβρανών και τον θάνατο των κυττάρων (Γαλάρης, 2015). Οι συνέπειες αυτών των αντιδράσεων είναι τα ορατά συμπτώματα ζημιάς που συνήθως βρίσκονται στο περιθώριο των φύλλων, όπου το B συσσωρεύεται σε μεγάλο βαθμό (Guidi κ.α., 2011).

Όσον αφορά το σαλικυλικό οξύ, αρχικά, το εξωγενώς εφαρμοζόμενο SA μπορεί από μόνο του να προκαλέσει οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά. Σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις (0,05 – 0,5 mM) προκαλεί μέτρια καταπόνηση επηρεάζοντας το οξειδωτικό δυναμικό των φυτών με τρόπο παρόμοιο με αυτόν των διαδικασιών εγκλιματισμού σε κάποια καταπόνηση. Παρατηρείται μια ραγδαία αλλά παροδική αύξηση των ROS και στη συνέχεια αυξάνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα, που προστατεύει το φυτό από τις σοβαρές επιπτώσεις μιας επερχόμενης αβιοτικής καταπόνησης. Υψηλότερες συγκεντρώσεις SA μπορεί να προκαλέσουν ένα επίπεδο οξειδωτικής καταπόνησης στο οποίο το φυτό να μην είναι ικανό να ανταπεξέλθει και να το οδηγήσει στο θάνατο (Horvath *et al.*, 2007).

Οι Knorz et al. (1999), διαπίστωσαν ότι εάν εφαρμοστούν κατάλληλες συγκεντρώσεις SA επάγεται ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός των φυτών. Η εφαρμογή του SA συντέλεσε στην αύξηση της αντοχής στην οξειδωτική καταπόνηση που προκαλείται από paraquat σε φυτά καπνού και αγγουριού (Strobel και Kuc, 1995). Παράλληλα διαπιστώθηκε ότι αυξήθηκε η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάση (CAT), υπεροξειδάση (POX) και υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), σε φυτά *L. esculentum* υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Hayat et al., 2008) καθώς και σε φυτά *B. juncea* υπό συνθήκες αλατότητας μετά τον ψεκασμό τους με SA (Yusuf et al., 2008).

Όπως προκύπτει από τους πίνακες 3.23 και 3.24, η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 7.5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης της MDA στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα. Η αύξηση αυτή περιορίστηκε παρουσία 3.5 και, κυρίως, 4.5ppm Sal, παραμένοντας, ωστόσο, σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι μεταχειρίσεις των φυτών με 5ppm B καθώς και με 3.5 ή 4.5ppm Sal προκάλεσαν αριθμητικές αυξήσεις της MDA σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι μεταχειρίσεις των 5ppm B παρουσία 3.5 ή 4.5 ppm Sal προκάλεσαν περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης της MDA στα φύλλα σε σχέση με την απλή μεταχείριση των 5ppm B.

Συνεπώς, οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B προκάλεσαν μεγαλύτερες αυξήσεις των συγκεντρώσεων της MDA στα φύλλα σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 5ppm B, γεγονός που αποδεικνύει ότι η συγκεκριμένη ποσότητα B προκάλεσε οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά σπανακιού. Η παρουσία, όμως, του σαλικυλικού οξέος περιόρισε την ένταση της καταπόνησης.

Οι Karabal κ.α. (2003) παρατήρησαν ότι σε ποικιλίες κριθαριού η τοξικότητα B προκάλεσε οξειδωτική και μεμβρανική βλάβη στα φύλλα. Σε γενικές γραμμές αβιοτικές καταπονήσεις, όπως τοξικότητα B παράγουν ROS στα φυτικά κύτταρα (Maoka et al., 2001). Σε έρευνα της Σαράφη (2018), αποδείχθηκε ότι καρποί πιπεριάς που αναπτύχθηκαν υπό συνθήκες τοξικότητας B (10 mg B L^{-1}) είχαν χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα και, συνεπώς, ήταν πιο ευαίσθητες στην οξειδωτική καταπόνηση και την παραγωγή ROS.

4.5 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ Β ΚΑΙ ΤΟΥ SAL ΣΤΙΣ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Είναι γνωστό ότι οι φυσιολογικές επιδράσεις της τοξικότητας B περιλαμβάνουν μεταβολές στο μεταβολισμό, μείωση της κυτταροδιαίρεσης των ριζών, μείωση της χλωροφύλλης των φύλλων, αναστολή της φωτοσύνθεσης, μειωμένη στοματική αγωγιμότητα, μικρότερες συγκεντρώσεις λιγνίνης και σουβερίνης στα κύτταρα, αυξημένη διαπερατότητα μεμβράνης, υπεροξειδωση λιπιδίων και μεταβολή της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών οδών (Reid κ.α., 2004). Κατά συνέπεια, η μειωμένη αύξηση είναι χαρακτηριστικό των φυτών που εκτίθενται σε υψηλά επίπεδα βορίου (Nable κ.α., 1990). Σύμφωνα με τους Reid κ.α. (2004), είναι δύσκολο να προσδιοριστεί ποια από τις παραπάνω επιδράσεις είναι περισσότερο υπεύθυνη για τη μείωση της συνολικής αύξησης των φυτών υπό συνθήκες τοξικότητας B.

Όπως έχει ήδη επισημανθεί, η μείωση του λόγου Fv/Fm δείχνει ότι τα φύλλα είναι φωτοκαταστροφικά και είναι γνωστό ότι σε αυτές τις συνθήκες το μοριακό οξυγόνο μπορεί να αποτελέσει εναλλακτικό δέκτη ηλεκτρονίων για ασύνδετα ηλεκτρόνια και φως (Velez-Ramirez κ.α., 2011) που οδηγεί στη δημιουργία ROS. Αυτές οι ROS οξειδώνουν οργανικά μόρια, όπως χλωροφύλλη και λιπίδια

(υπεροξειδωση λιπιδίων) και, πιθανώς, προκαλούν κυτταρικό θάνατο. Αυτό το γεγονός μπορεί να εξηγήσει την παρατηρούμενη μείωση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης στα φύλλα (Papadakis κ.α., 2004b; Han κ.α., 2009; Chen κ.α., 2012) και τη βλάβη στους χλωροπλάστες (Papadakis κ.α., 2004a; 2004b) σε φυτά που καλλιεργούνται υπό συνθήκες τοξικότητας Β. Οι συνέπειες αυτών των αντιδράσεων είναι τα ορατά συμπτώματα ζημιάς που συνήθως βρίσκονται στο περιθώριο των φύλλων, όπου το Β συσσωρεύεται σε μεγάλο βαθμό (Guidi κ.α., 2011).

Οι Pereira κ.α. (2000) υπέθεσαν ότι μια από τις πιθανές αιτίες μείωσης της φωτοσύνθεσης λόγω περίσσειας Β είναι η δομική βλάβη των θυλακοειδών της χλωροφύλλης, η οποία με τη σειρά της άλλαξε τον ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων και επηρέασε την αφομοίωση του CO₂ η οποία μπορεί επίσης να περιοριστεί από μείωση των διαστάσεων των στοματίων.

Από τους πίνακες 3.25 και 3.26 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 7.5ppm Β καθώς και στα 4.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης chl_a στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα ενώ η έκθεση στα 5ppm Β προκάλεσε αριθμητική μείωση της τιμής σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση που προκλήθηκε κατά την έκθεση των φυτών στα 7.5ppm Β εξομαλύνθηκε ελάχιστα με την προσθήκη 3.5 ή 4.5ppm Sal, ισοβαρώς. Αντίθετα, η προσθήκη των αντίστοιχων ποσοτήτων Sal στις μεταχειρίσεις των 5ppm Β προκάλεσε περαιτέρω μείωση των συγκεντρώσεων chl_a, η οποία στην περίπτωση των 4.5ppm Sal ήταν στατιστικά σημαντική σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm Β προκάλεσαν αριθμητικά μεγαλύτερες μειώσεις των τιμών σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 5ppm Β.

Τα αποτελέσματα των πινάκων 3.27 και 3.28 δείχνουν ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 7.5ppm Β προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης chl_b στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση αυτή περιορίστηκε σημαντικά όταν η προσθήκη συνοδευόταν από 3.5 ή 4.5ppm Sal και, μάλιστα, η προσθήκη των 3.5ppm περιόρισε την μείωση σε μη στατιστικώς σημαντικά επίπεδα σε σχέση με τον μάρτυρα. Από την άλλη, η έκθεση των φυτών στα 5ppm Β προκάλεσε οριακή αύξηση της συγκέντρωσης chl_b σε σχέση με τον μάρτυρα. Με την προσθήκη όμως 3.5 ή 4.5ppm Sal, η συγκέντρωση της chl_b στα φύλλα μειώθηκε οριακά σε σχέση με τον μάρτυρα.

Όσον αφορά τη συνολική χλωροφύλλη των φύλλων, από τους πίνακες 3.29 και 3.30, συμπεραίνεται ότι η έκθεση των φυτών στα 7.5ppm Β και στα 4.5ppm Sal

προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συνολικής χλωροφύλλης των φύλλων σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση που παρατηρήθηκε στην μεταχείριση των 7.5ppm B περιορίστηκε σημαντικά όταν αυτή συνοδευόταν από 3.5 (περισσότερο) ή 4.5ppm Sal. Όσον αφορά την μεταχείριση των φυτών με 5ppm B, αυτή προκάλεσε οριακή μείωση της chl_a+b σε σχέση με τον μάρτυρα η οποία επεκτάθηκε με την προσθήκη 3.5 ή 4.5(κυρίως) ppm Sal.

Η τοξική δράση των μετάλλων στη βιοσύνθεση της χλωροφύλλης έχει ευρύτερα διερευνηθεί (Clijsters & Van Assche 1985, Baszynski 1986). Οι Shamsi et al. (2006) διαπίστωσαν σημαντική μείωση της χλωροφύλλης σε σόγια μετά την έκθεση των φυτών στην επίδραση Al (150 μmol/L) σε όξινο περιβάλλον (pH 4,0). Αντιθέτως, αισθητή αύξηση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης και των καροτενοειδών διαπίστωσαν άλλοι ερευνητές σε σπανάκι, μετά από έκθεση των φυτών σε χαμηλές συγκεντρώσεις Cu (Baszynski & Tukendorf 1984), ή μετά από καλλιέργεια διαφόρων φυτικών ειδών σε μεταλλοφόρες περιοχές (Ouzounidou 1993).

Επίσης, σύμφωνα με τον Παπαρνάκη (2012), η συγκέντρωση της χλωροφύλλης, μειώθηκε στα υποκείμενα *Myrobolan 29C* και *GF-677*, υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί υπό συνθήκες τοξικότητας B σε φυτά κερασιάς (Sotiropoulos et al., 2006) και σε εσπεριδοειδή (Papadakis et al., 2004a; Shuang et al., 2009).

Αύξηση της συγκέντρωσης χλωροφύλλης με μεταχειρίσεις με SA καταγράφηκε σε φυτά κάνναβης υπό συνθήκες τοξικότητας Cd (Shi et al., 2009), σε φυτά *Vallisneria natans* υπό συνθήκες τοξικότητας μολύβδου (Chao et al., 2011), σε φυτά *Artemisia annua* υπό συνθήκες αλατότητας (Tarig et al., 2011), σε φυτά *Linum usitatissimum* υπό συνθήκες τοξικότητας Cd (Belkhadi et al., 2010) και σε αγγουριές υπό συνθήκες αλατότητας (Yildirim et al., 2008).

4.6 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΟΡΙΟΥ ΣΤΟΥΣ ΦΥΤΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Γενικά, τα τοξικά συμπτώματα του βορίου στα φύλλα των φυτών εμφανίζονται όταν η συγκέντρωση βορίου σε αυτά υπερβεί τα 250-300 mg/kg ξηράς ουσίας (Μήτσιος, 2004). Από την άλλη, η έλλειψη B παρατηρείται σε πολλά φυτά

όταν η συγκέντρωσή του στα πλήρως ώριμα φύλλα είναι μικρότερη από 15 mg/kg ξηράς ουσίας (Mortvedt κ.α., 1991).

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η επίδραση του εξωγενώς εφαρμοζόμενου SA στις διάφορες φυσιολογικές διεργασίες και την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στις καταπονήσεις δεν είναι πάντα αποτελεσματική. Εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις του εφαρμοζόμενου SA, τον τρόπο εφαρμογής, το είδος του φυτού (γενετική σύσταση), αλλά και από τη συνολική κατάσταση του φυτού δηλαδή από το στάδιο ανάπτυξης, το οξειδωτικό ισοζύγιο των κυττάρων και τον εγκλιματισμό σε προηγούμενη καταπόνηση (Horvath *et al.*, 2007; Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011).

Από τους πίνακες 3.31 και 3.32 διαπιστώνεται ότι οι μεταχειρίσεις των φυτών με 3.5 ή 4.5ppm Sal καθώς και με 5ppm B προκάλεσαν στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης βορίου στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μεταχείριση με 7.5ppm B προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης κατά 38,8% σε σχέση με τον μάρτυρα. Η αύξηση αυτή εντάθηκε (59,8%) σε σχέση με τον μάρτυρα παρουσία 4.5ppm Sal ενώ παρουσία 3.5ppm Sal η συγκέντρωση του βορίου στα φύλλα μειώθηκε κατά 21,7%, σε σχέση με τον μάρτυρα. Στη μεταχείριση των 5ppm B, παρουσία 3.5ppm Sal, είχαμε μείωση της συγκέντρωσης βορίου στα φύλλα σε σχέση με την απλή μεταχείριση ενώ παρουσία 4.5ppm Sal προκλήθηκε μείωση της συγκέντρωσης σε σχέση με τον μάρτυρα.

Τα επίπεδα συγκέντρωσης του βορίου στα φύλλα των φυτών κινούνταν μεταξύ 39ppm (7.5ppm B+3.5ppm Sal) και 92ppm (5ppm B). Συνεπώς, μπορούν να χαρακτηριστούν απολύτως φυσιολογικά, ειδικά για δικοτυλήδονα φυτά.

Σε έρευνα της Σαράφη (2018), διαπιστώθηκε ότι σε τέσσερις ποικιλίες πιπεριάς η υψηλή συγκέντρωση B προκάλεσε αυξημένη συγκέντρωση B στους ιστούς κυρίως στα φύλλα, εμφάνιση συμπτωμάτων τοξικότητας B και μείωση της αύξησης. Οι Eraslan *et al.* (2007), σε πείραμα με εξωγενή προσθήκη SA σε καρότα υπό συνθήκες ταυτόχρονης αλατότητας και τοξικότητας B, παρατήρησαν ότι το SA περιορίσε την τοξικότητα των ιόντων Cl και B στο βλαστό και στη ρίζα των φυτών.

Αύξηση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης του βορίου στους διαφόρους φυτικούς ιστούς δύο ποικιλιών ροδιάς (φύλλα βάσης, φύλλα κορυφής, βλαστός, ρίζα). Η συγκέντρωση του βορίου σε σχέση με το μάρτυρα σε φύλλα βάσης, φύλλα κορυφής, βλαστό και ρίζες ήταν 3,4,5 και 7 φορές μεγαλύτερη αντίστοιχα (Σαράφη, 2012).

4.7 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΦΩΣΦΟΡΟΥ, ΚΑΛΙΟΥ, ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ, ΜΑΓΝΗΣΙΟΥ ΚΑΙ ΜΑΓΓΑΝΙΟΥ ΣΤΟΥΣ ΦΥΤΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ

Η ανταπόκριση των καλλιεργειών στο Β ποικίλει όχι μόνο ανάλογα με τα φυτικά είδη, τον τύπο του εδάφους και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, αλλά και η τοξικότητα ή η έλλειψή του μπορεί να επηρεάσει τη διαθεσιμότητα και την απορρόφηση των άλλων θρεπτικών στοιχείων (Tariq και Mott, 2007). Είναι γνωστό ότι το Β διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά θρεπτικών στοιχείων μέσω των μεμβρανών των φυτών (Tanada, 1983). Η παροχή Β μπορεί να επηρεάσει, ως ρυθμιστής ή αναστολέας, τη συσσώρευση και τη χρήση άλλων θρεπτικών στοιχείων. Γενικά, το Β εμπλέκεται σε φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες εντός του φυτικού κυττάρου, μεταβάλλοντας τη συγκέντρωση και τη μεταφορά των θρεπτικών στοιχείων.

Ωστόσο, τα αποτελέσματα διαφόρων ερευνητών δεν συμφωνούν μεταξύ τους όσον αφορά την επίδραση του βορίου στις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων στους ιστούς των διαφόρων φυτικών ειδών. Σε φυτά τομάτας διαπιστώθηκε ότι με αύξηση της συγκέντρωσης βορίου στο θρεπτικό διάλυμα αυξήθηκε η συγκέντρωση ψευδαργύρου (Gunes κ.α., 1999), ενώ δεν επηρεάστηκε η συγκέντρωση ασβεστίου (De Kreij και Basar, 1997). Σύμφωνα με τον Σωτηρόπουλο (1999), σε φύλλα ακτινιδιάς η αύξηση της συγκέντρωσης βορίου προκάλεσε μείωση των συγκεντρώσεων του μαγγανίου και του ασβεστίου, ενώ δεν επηρεάστηκαν σημαντικά οι συγκεντρώσεις σε μαγνήσιο και άζωτο. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στην διαφορετική κινητικότητα των θρεπτικών στοιχείων μεταξύ των φυτικών ειδών στα διάφορα στάδια αύξησης και στις απαιτήσεις των φυτών σε θρεπτικά κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας τους (Dugger, 1983; Shelp, 1988).

Οι Zude κ.α. (1997) ανέφεραν ότι η εφαρμογή βορίου στο φύλλωμα αύξησε την συγκέντρωση ασβεστίου, καλίου, σιδήρου, μαγνησίου, ψευδαργύρου και χαλκού στους βλαστούς βαμβακιού, ειδικά σε φυτά που αυξάνονταν σε έδαφος με υψηλή συγκέντρωση ανθρακικού ασβεστίου.

Επίσης, έχει αναφερθεί αύξηση της συγκέντρωσης P, K, Fe, Mn και Zn σε φυτικούς ιστούς πιπεριάς μετά από εφαρμογή Β (Dursun κ.α., 2010). Ακόμα, διαπιστώθηκε αύξηση του K στις φακές (Singh και Singh, 1983) και του Fe στο ρύζι

(Santra, 1989). Με την περίσσεια B, η τυπική ανταγωνιστική επίδραση μεταξύ B και P ήταν εμφανής από τη μείωση της συγκέντρωσης P στα φύλλα (Simon κ.α., 2013). Σύμφωνα με τους Dursun κ.α. (2010), η προσθήκη βοριούχων λιπασμάτων αύξησε τις συγκεντρώσεις K, Fe, Mn, Zn και Cu και μείωσε τις συγκεντρώσεις N, Ca και Mg σε φύλλα ντομάτας, πιπεριάς και αγγουριού.

Πειραματικά αποτελέσματα σε έρευνα της Σαράφη (2012), σχετικά με την επίδραση της συγκέντρωσης βορίου στα επίπεδα θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα δύο ποικιλιών ροδιάς έδειξαν μερικές σαφείς τάσεις όπως:

- Γραμμική μείωση του καλίου σε φύλλα κορυφής με αύξηση της συγκέντρωσης βορίου στο διάλυμα και στις δυο ποικιλίες.
- Αναλογική αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου σε φύλλα κορυφής με την συγκέντρωση βορίου στο διάλυμα και στις δύο ποικιλίες και μάλιστα με πολύ υψηλό συντελεστή συσχέτισης.
- Το Mn δεν επηρεάστηκε από την συγκέντρωση του βορίου στο διάλυμα.

Κατά συνέπεια η περίσσεια βορίου οδηγεί τόσο σε ευνοϊκά όσο και σε δυσμενή αποτελέσματα ανάλογα με το θρεπτικό στοιχείο.

Ο P είναι συστατικό πολυάριθμων μακρομορίων. Επιπλέον, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά ενέργειας, απαιτείται για πολλές βιοχημικές διεργασίες στα φυτά και ως εκ τούτου αποτελεί ζωτικό στοιχείο της παραγωγικότητας. Όσον αφορά την επίδραση της συγκέντρωσης βορίου στη συγκέντρωση του φωσφόρου, παρατηρήθηκε μια θετική και σημαντική συσχέτιση B και P στα φύλλα πιπεριάς, γεγονός που έδειξε ότι το B βελτίωσε την αποτελεσματικότητα χρήσης P (PUE) (Wang κ.α., 2010). Εφαρμογή B αύξησε σημαντικά τη συγκέντρωση P σε φυτά πιπεριάς και η βελτίωση της εσωτερικής αποτελεσματικότητας χρήσης P είναι απαραίτητη για την επίτευξη αυξημένης απορρόφησης P (Bovill κ.α., 2013; Rose κ.α., 2010; Wang κ.α., 2010).

Από τα αποτελέσματα των πινάκων 3.33 και 3.34 διαπιστώνεται ότι η μεταχείριση των φυτών σπανακιού με 5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης P στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση αυτή διευρύνθηκε στατιστικώς σημαντικά σε σχέση με την προηγούμενη τιμή παρουσία 3.5ppm Sal και περιορίστηκε ελαφρώς παρουσία 4.5ppm Sal. Παρέμεινε, ωστόσο, σε στατιστικώς σημαντικά επίπεδα σε σχέση με τον μάρτυρα. Επίσης, η μεταχείριση των φυτών με 7.5ppm B προκάλεσε οριακή μείωση της συγκέντρωσης φωσφόρου σε σχέση με τον μάρτυρα, η οποία διευρύνθηκε σε στατιστικώς σημαντικά επίπεδα

παρουσία 3.5ppm Sal. Αντιθέτως, η προσθήκη 4.5ppm Sal πυροδότησε μία στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης φωσφόρου κατά 35,2% σε σχέση με τον μάρτυρα.

Γενικά, οι μεταχειρίσεις των 7.5ppm B προκάλεσαν στατιστικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φωσφόρου στα φύλλα του σπανακιού σε σχέση με τις αντίστοιχες μεταχειρίσεις των 5ppm B.

Το K είναι το πιο άφθονο κατιόν στο κυτόπλασμα και επειδή δεν μεταβολίζεται, το K^+ και τα ανιόντα που το συνοδεύουν συμβάλλουν σημαντικά στο οσμωτικό δυναμικό των κυττάρων. Για τη διατήρηση της ακεραιότητας και της λειτουργικότητας της κυτταρικής μεμβράνης απαιτούνται επαρκείς ποσότητες τόσο του K^+ όσο και του Ca^{2+} . Σε μελέτη της Σαράφη (2018), η προσθήκη B αύξησε τη συγκέντρωση του K στα φύλλα πιπεριάς. Άλλες μελέτες (Ismail, 2003) έδωσαν έμφαση στο γεγονός ότι η συγκέντρωση B και K αυξήθηκαν εφαρμόζοντας τοξική συγκέντρωση B.

Από τους πίνακες 3.35 και 3.36 συμπεραίνεται ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 7.5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης καλίου στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση αυτή διευρύνθηκε στατιστικώς σημαντικά σε σχέση με την πρώτη τιμή παρουσία 4.5ppm Sal. Ωστόσο, η προσθήκη 3.5ppm Sal πυροδότησε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης καλίου σε σχέση με τον μάρτυρα. Η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 5ppm B προκάλεσε οριακή μείωση της συγκέντρωσης καλίου στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα, η οποία διατηρήθηκε παρουσία 4.5ppm Sal. Η προσθήκη, όμως, 3.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης σε σχέση με τον μάρτυρα. Στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης καλίου στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα, προκάλεσε και η μεταχείριση των φυτών με 3.5ppm Sal ενώ, αντίθετα, στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης προκάλεσε η μεταχείριση των 4.5ppm Sal.

Γενικά, μπορούμε να ισχυριστούμε ότι οι μεταχειρίσεις των 5ppm B προκάλεσαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καλίου στα φύλλα σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 7.5ppm B. Στατιστικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καλίου στα φύλλα προκάλεσαν και οι μεταχειρίσεις των 3.5ppm Sal σε σχέση με τα 4.5ppm Sal.

Οι κύριες λειτουργίες του Ca σχετίζονται με την ικανότητά του να δημιουργεί σταθερούς αλλά αναστρέψιμους ενδομοριακούς δεσμούς, ειδικά στο κυτταρικό τοίχωμα και στην επιφάνεια των μεμβρανών (Bush, 1995). Γενικά,

παρατηρείται μια ανταγωνιστική σχέση μεταξύ του B και του Ca στη θρέψη των φυτών. Συνεπώς, οι τοξικές επιδράσεις του B στα φυτά μπορούν να μειωθούν ή να αποτραπούν με την προσθήκη Ca στο έδαφος. Για παράδειγμα, οι Sotiropoulos κ.α. (1999) έδειξαν ότι η προσθήκη Ca σε θρεπτικά διαλύματα μείωσε σημαντικά τα επίπεδα B στο ακτινίδιο, ελαττώνοντας τα συμπτώματα τοξικότητας B.

Από τους πίνακες 3.37 και 3.38 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 7.5ppm B προκάλεσε οριακή μείωση της συγκέντρωσης ασβεστίου στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση αυτή διευρύνθηκε σε στατιστικώς σημαντικά επίπεδα σε σχέση με τον μάρτυρα παρουσία 3.5 (21%) και 4.5 (16,6%)ppm Sal σε σχέση με τον μάρτυρα. Η έκθεση των φυτών στα 5ppm B προκάλεσε οριακή μείωση της συγκέντρωσης ασβεστίου σε σχέση με τον μάρτυρα, η οποία διευρύνθηκε σε στατιστικώς σημαντικά επίπεδα σε σχέση με τον μάρτυρα παρουσία 4.5ppm Sal. Ωστόσο, η προσθήκη 3.5ppm Sal προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου κατά 5,9% σε σχέση με τον μάρτυρα.

Γενικά, οι μεταχειρίσεις των 5ppm B προκάλεσαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ασβεστίου στα φύλλα σε σχέση με τις αντίστοιχες μεταχειρίσεις των 7.5ppm B. Μάλιστα, η μεταχείριση των 5ppm B συνοδεία 3.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά μεγαλύτερη συγκέντρωση ασβεστίου στα φύλλα σε σχέση με την αντίστοιχη μεταχείριση των 7.5ppm B.

Το Mg αποτελεί βασικό συστατικό του μορίου της χλωροφύλλης, η οποία περιέχει το 15-20% του συνόλου του μαγνησίου του φυτού. Αποτελεί, επίσης, βασικό συστατικό των ριβοσωμάτων και μέσω της ενεργοποίησης των t-RNA, που υπάρχουν σε αυτά, παίζει βασικό ρόλο στο μηχανισμό σύνθεσης των πρωτεϊνών. Σε έρευνα της Σαράφη (2018) διαπιστώθηκε αύξηση της συγκέντρωσης Mg με ταυτόχρονη αύξηση των επιπέδων B σε φύλλα πιπεριάς, ειδικά μετά την έκθεση στο B για 70 ημέρες. Ωστόσο, οι López-Lefebvre κ.α. (2002) ανέφεραν αρνητική συσχέτιση μεταξύ B και Mg στα φύλλα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στον ανταγωνισμό μεταξύ κατιόντων όπως το K και το Mg στη ρίζα.

Από τα αποτελέσματα των πινάκων 3.39 και 3.40 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών σπανακιού στα 7.5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης μαγνησίου στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση αυτή διευρύνθηκε στατιστικώς σημαντικά παρουσία 4.5ppm Sal. Αντίθετα, παρουσία 3.5ppm Sal, πυροδοτήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης (8,1%) σε σχέση με τον μάρτυρα. Η έκθεση των φυτών στα 5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντική

αύξηση της συγκέντρωσης μαγνησίου στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα. Η αύξηση αυτή περιορίστηκε ελαφρά παρουσία 3.5ppm Sal και στατιστικώς σημαντικά σε σχέση με την αρχική τιμή, παρουσία 4.5ppm Sal. Οι μεταχειρίσεις των φυτών με 3.5 και 4.5ppm Sal προκάλεσαν μειώσεις κατά 2.7% και 4.2% αντίστοιχα, σε σχέση με τον μάρτυρα.

Γενικά, οι μεταχειρίσεις των 4.5ppm Sal προκάλεσαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις μαγνησίου στα φύλλα σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 3.5ppm Sal. Μάλιστα, στη μεταχείριση των 7.5ppm B η διαφορά των συγκεντρώσεων ήταν στατιστικά σημαντική.

Το Mn είναι απαραίτητο στις οξειδοαναγωγικές διεργασίες της φωτοσύνθεσης και ιδιαίτερα στην πρωτόλυση του νερού και την έκλυση οξυγόνου. Συντελεί στη μεγιστοποίηση της δράσης πολλών ενζυμικών αντιδράσεων του κύκλου του Krebs. Η Σαράφη (2018) βρήκε ότι οι συγκεντρώσεις Mn στο υπέργειο μέρος και τις ρίζες των φυτών επηρεάστηκαν σημαντικά από το χορηγούμενο B. Τα αποτελέσματα έδειξαν σαφώς ότι οι τοξικές μεταχειρήσεις B αύξησαν τη συγκέντρωση Mn και αυτό μπορεί να είναι ένας παράγοντας που συμβάλλει στη θρεπτική ανισορροπία με άλλα θρεπτικά στοιχεία. Ωστόσο, ο Leece (1978) ανέφερε ότι η εφαρμογή του B σε υψηλότερα επίπεδα μείωσε τη συγκέντρωση του Mn στις περισσότερες καλλιέργειες. Περαιτέρω, οι Santra κ.α. (1989) ανέφεραν μια ανταγωνιστική σχέση μεταξύ B και Mn στο ρύζι.

Από τους πίνακες 3.41 και 3.42 διαπιστώνεται ότι η έκθεση των φυτών στα 7.5ppm B προκάλεσε μείωση της συγκέντρωσης μαγγανίου στα φύλλα κατά 13.2%, σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση αυτή διευρύνθηκε στατιστικώς σημαντικά σε σχέση με την προηγούμενη τιμή, παρουσία 3.5ppm Sal. Ωστόσο, παρουσία 4.5ppm Sal πυροδοτήθηκε αύξηση κατά 18.4% σε σχέση με τον μάρτυρα. Η έκθεση των φυτών στα 5ppm B προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης μαγγανίου στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα. Η μείωση αυτή περιορίστηκε ελαφρώς σε σχέση με την πρώτη τιμή, παρουσία 4.5ppm Sal και διευρύνθηκε οριακά παρουσία 3.5ppm Sal. Η έκθεση των φυτών στα 3.5ppm Sal προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης μαγγανίου στα φύλλα σε σχέση με τον μάρτυρα ενώ η έκθεσή τους στα 4.5ppm Sal προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης κατά 10.3% σε σχέση με τον μάρτυρα.

Γενικά, οι μεταχειρίσεις των 5ppm B προκάλεσαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις μαγγανίου στα φύλλα σε σχέση με τις συγκεντρώσεις των 7.5ppm B.

Κάτι αντίστοιχο συνέβη και στις μεταχειρίσεις των 3.5ppm Sal σε σχέση με τις μεταχειρίσεις των 4.5ppm Sal.

4.8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Οι φωτοσυνθετικές παράμετροι επηρεάστηκαν στατιστικώς σημαντικά από την υψηλή συγκέντρωση βορίου (10mg L^{-1} B), γεγονός που δείχνει ότι η συγκεκριμένη συγκέντρωση είναι τοξική για το σπανάκι καθώς δυσχεραίνει τη φωτοσυνθετική του λειτουργία. Η χαμηλότερη συγκέντρωση βορίου (5mg L^{-1} B) επηρέασε, επίσης, τις φωτοσυνθετικές παραμέτρους αλλά σε μικρότερο βαθμό, συγκρινόμενη με την υψηλή συγκέντρωση.
- Η εξωγενής εφαρμογή σαλικυλικού οξέος (3.5 και 4.5mg L^{-1} SAL) στα φυτά σπανακιού επηρέασε στατιστικώς σημαντικά τις περισσότερες φωτοσυνθετικές παραμέτρους. Συνεπώς, αποδεικνύεται ότι η εξωγενής εφαρμογή SAL μπορεί να καταστεί τοξική για το σπανάκι σε υψηλές συγκεντρώσεις.
- Τα συμπτώματα τοξικότητας της υψηλής συγκέντρωσης B στις φωτοσυνθετικές παραμέτρους περιορίστηκαν σε όλες τις περιπτώσεις εφαρμόζοντας SAL. Η υψηλή συγκέντρωση SAL έδειξε καλύτερα αποτελέσματα στις περισσότερες περιπτώσεις χωρίς όμως να απαλύνει πλήρως τα συμπτώματα. Αντίθετα, τα συμπτώματα τοξικότητας της χαμηλότερης συγκέντρωσης B διευρύνθηκαν στις περισσότερες περιπτώσεις εφαρμόζοντας SAL.
- Η υψηλή συγκέντρωση B μείωσε στατιστικώς σημαντικά τη συνολική χλωροφύλλη των φύλλων του σπανακιού, γεγονός που αποδεικνύει ότι η υψηλή συγκέντρωση B επηρεάζει τη συγκέντρωση της χλωροφύλλης στο σπανάκι. Ωστόσο, η εμφάνιση των συμπτωμάτων αυτών περιορίστηκε παρουσία SAL. Η χαμηλότερη συγκέντρωση B δεν επηρέασε τη συνολική χλωροφύλλη αλλά με την προσθήκη SAL παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης. Η συγκέντρωση της συνολικής χλωροφύλλης επηρεάστηκε

αρνητικά από την μεμονωμένη εφαρμογή της υψηλής συγκέντρωσης SAL αλλά όχι και από την χαμηλή.

- Η συγκέντρωση της προλίνης αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά από τις υψηλές συγκεντρώσεις τόσο του B όσο και του SAL, υποδεικνύοντας έντονη καταπόνηση. Η καταπόνηση της υψηλής συγκέντρωσης B περιορίστηκε παρουσία 4.5ppm SAL αλλά αυξήθηκε παρουσία 3.5ppm. Η χαμηλότερη συγκέντρωση B δεν επηρέασε τη συγκέντρωση προλίνης αλλά η προσθήκη 3.5 ή 4.5ppm SAL αύξησε σημαντικά και στατιστικά σημαντικά, αντίστοιχα, τη συγκέντρωσή της.
- Η συγκέντρωση της MDA αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά στην υψηλή συγκέντρωση B, υποδεικνύοντας ισχυρή οξειδωτική καταπόνηση, η οποία περιορίστηκε εφαρμόζοντας SAL. Αντίθετα, η χαμηλότερη συγκέντρωση B δεν επηρέασε τη συγκέντρωση της MDA αλλά η προσθήκη SAL αύξησε τη συγκέντρωσή της.
- Οι συγκεντρώσεις B των φυτικών ιστών του σπανακιού αυξήθηκαν στατιστικά σημαντικά με την εφαρμογή SAL και της χαμηλής συγκέντρωσης B, και αριθμητικά με την εφαρμογή της υψηλής συγκέντρωσης. Η προσθήκη SAL στη χαμηλή συγκέντρωση του B μείωσε τις συγκεντρώσεις B στους ιστούς και, ιδιαίτερα, η υψηλή συγκέντρωση SAL. Αντίθετα, η προσθήκη SAL στην υψηλή συγκέντρωση είχε διαφορετικά αποτελέσματα. Η υψηλή συγκέντρωση SAL αύξησε τη συγκέντρωση B ενώ με τη χαμηλότερη συγκέντρωση κατέρρευσε η συγκέντρωση B στους φυτικούς ιστούς. Γενικά, η μεμονωμένη εφαρμογή B και σαλικυλικού οξέος στα φύλλα του σπανακιού αυξάνει τη συγκέντρωση βορίου στους φυτικούς ιστούς ενώ ο συνδυασμός τους έχει διάφορα αποτελέσματα ανάλογα με τις συγκεντρώσεις.
- Η υψηλή συγκέντρωση B μείωσε τη συγκέντρωση P και Mn στα φύλλα του σπανακιού αλλά η προσθήκη 4.5ppm SAL αύξησε τις συγκεντρώσεις P και Mn σε σχέση με τις προηγούμενες τιμές, σε αντίθεση με την προσθήκη των 3.5ppm SAL. Επίσης, η υψηλή συγκέντρωση B μείωσε στατιστικά σημαντικά τις συγκεντρώσεις K και Mg και οριακά τη συγκέντρωση Ca. Η

υψηλή συγκέντρωση SAL μείωσε περαιτέρω τις προαναφερθείσες συγκεντρώσεις ενώ η χαμηλότερη συγκέντρωση αύξησε τις συγκεντρώσεις K και Mg ενώ μείωσε τη συγκέντρωση Ca.

- Η χαμηλότερη συγκέντρωση B μείωσε οριακά τις συγκεντρώσεις K και Ca, στατιστικώς σημαντικά τις συγκεντρώσεις P και Mn και αύξησε στατιστικώς σημαντικά τη συγκέντρωση Mg. Η προσθήκη της υψηλής συγκέντρωσης SAL δεν επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις των εξεταζόμενων θρεπτικών στοιχείων σε σχέση με τις προηγούμενες τιμές ενώ η προσθήκη της χαμηλότερης συγκέντρωσης SAL μείωσε τη συγκέντρωση Mg και P στα φύλλα και αύξησε τη συγκέντρωση K και Ca σε σχέση με τις αρχικές τιμές.
- Γενικά, μπορεί να σημειωθεί ότι η περίσσεια B μειώνει τη συγκέντρωση P, K, Ca, Mg και Mn στα φύλλα του σπανακιού. Μόνον το μαγνήσιο αυξήθηκε στη χαμηλότερη συγκέντρωση B. Ωστόσο, η προσθήκη σαλικυλικού οξέος αυξάνει ή μειώνει τις συγκεντρώσεις των προαναφερόμενων θρεπτικών στοιχείων σε σχέση με τις αρχικές τιμές ανάλογα με τη συγκέντρωση του εφαρμοζόμενου SAL και το θρεπτικό στοιχείο.
- Το κύριο συμπέρασμα που εξάγεται από τη παρούσα μελέτη είναι ότι η περίσσεια B επηρεάζει αρνητικά τη φωτοσυνθετική λειτουργία, τη συγκέντρωση της συνολικής χλωροφύλλης στα φύλλα καθώς και τη συγκέντρωση P, K, Ca, Mg και Mn στα φύλλα σπανακιού. Επίσης, προκαλεί οξειδωτική καταπόνηση στο σπανάκι. Η ένταση των παραπάνω συμπτωμάτων τοξικότητας αυξάνεται γραμμικά σε σχέση με τη συγκέντρωση του χορηγούμενου βορίου. Το SAL μπορεί, επίσης, να δημιουργήσει συμπτώματα τοξικότητας στο σπανάκι όταν εφαρμόζεται σε μεμονωμένο σε υγιή φυτά και σε υψηλή συγκέντρωση. Ωστόσο, όταν εφαρμοστεί σε φυτά που αναπτύσσονται υπό συνθήκες περίσσειας βορίου απαλώνει τα συμπτώματα χωρίς να τα εξαφανίζει, τουλάχιστον όσον αφορά τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Διεθνής βιβλιογραφία

- Agarwal, S., Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Meena, R.C., 2005a. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. *Biologia Plantarum*. 49 (4): 541-550
- Ahmed, M., Jahiruddin, M., Mian, M.H. 2007. Screening of Wheat Genotypes for Boron Efficiency. *J Plant Nutr* 30: 1127-1138
- Al-Hakimi A.M.A., Hamada A.M. 2001. Counteraction of salinity stress on wheat plants by grain soaking in ascorbic acid, thiamin or sodium salicylate. *Biologia Plantarum* 44: 253-261.
- Ali, G., Srivastava, P.S. and M. Iqbal. 1999. Proline accumulation protein pattern and photosynthesis in regenerants grown under NaCl stress. *Biol. Plantarum* 42:89-95.
- Alia, Prasad, K.V.S.K., Saradhi, P.P. 1995. Effect of zinc on free radicals and proline in *Brassica* and *Cajanus*. *Phytochemistry* 39:45-47
- Alonso-Ramirez, A., Rodriguez, D., Reyes, D, Jimenez, J.A., Nicolas, G., Lopez-Climent, M., Gomez-Cadenas, A., Nicolas, C., 2009. Evidence for a role of gibberellins in salicylic acid-modulated early plant responses to abiotic stress in *Arabidopsis* seeds. *Plant Physiology* 150: 1335-1344.
- Alpaslan, M. and A. Gunes. 2001. Interactive effects of boron and salinity stress on the growth, membrane permeability and mineral composition of tomato and cucumber plants. *Plant Soil*. 236:123-128.

- Al-Whaibi, M., Siddiqui, M. and Basalah M. 2011. Salicylic acid and calcium-induced protection of wheat against salinity. *Protoplasma*. DOI: 10.1007/s00709-011-0322-1
- Arberg, B., 1981: Plant growth regulators. Monosubstituted benzoic acid. *Swedish Journal of Agricultural Research*. 11: 93-105.
- Ashraf, M., Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59, 206-216.
- Baker, N.R. & Horton, R. 1987. Chlorophyll fluorescence quenching during photoinhibition, pp 145-168. In: Kyle D.J., Osmond C.B., and Arntzen C.J. (eds.) *Photoinhibition*. Elsevier, Amsterdam
- Balestrasse, K.B., Gallego, S.M., Tomaro, M.L. 2006. Aluminium stress affects nitrogen fixation and assimilation in soybean (*Glycine max* L.). *Plant Growth Regulation* 48: 271-280
- Barr, R. and Crane, F.L. 1991. Boron stimulates NADH oxidase activity of cultured carrot cells. *In: Current topics in Plant Biochemistry and Physiology*, Vol. 10. Eds D.D. Randall, D.G. Blenvis and C.D. Miles. Columbia: Univ. Mo. Press.
- Bassi, R. & Sharma, S.S. 1993a. Proline accumulation in wheat seedlings exposed to zinc and copper. *Phytochemistry* 33:1339–1342
- Bassi, R. & Sharma, S.S. 1993b. Changes in proline content accompanying the uptake of zinc and copper by *Lemna minor*. *Annals of Botany* 72: 151-154
- Baszynski, T. & Tukendorf, A. 1984. Copper binding proteins in spinach tolerant to excess copper. *Journal of Plant Physiology* 115: 351-360
- Baszynski, T. 1986. Interference of Cd²⁺ in functioning of the photosynthetic apparatus of higher plants. *Acta of Poland Society and Botany* 55: 291-304

- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, J.D. 1973. Rapid determination of proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39:205-207.
- Belkhadi, A., Hediji, H., Abbes, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Charbi, W. and Djebali, W. 2010. Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 1004-1011.
- Bergmann, W. 1992. Nutritional Disorders of Plants, Development, Visual and Analytical Diagnosis. Gustav Fisher, Jena, Stuttgart, New York.
- Binzel, M.L., Hasegawa, P.M., Rhodes, D., Handa, S., Handa, A.K. and Bressan, R.A. 1987. Solute accumulation in tobacco cells adapted to NaCl. *Plant Phys.* 84:1408-1415.
- Blevins, D.G. and K.M. Lukaszewski. 1998. Boron in plant structure and function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:481-500.
- Bolanos, L., Lukaszewski, K., Bonilla, I. and D. Blevins. 2004. Why boron? *Plant Physiol Biochem.* 42:907–912.
- Bolhar-Nordenkamp, H.R., Long, S.P., Baker, N.R., Oquist, G., Schreiber, U., Lechner, E.G. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology* 3: 497-514
- Bovill, W.D., Huang, C.Y., McDonald, G.K. 2013. Genetic approaches to enhancing phosphorus-use efficiency (PUE) in crops: challenges and directions. *Crop Pasture Sci* 64:179-198
- Brown, P.H., Hu, H. 1994. Boron uptake by sunflower, squash and cultured tobacco cells. *Physiol Plant* 91: 435-441

- Brown, P.H., Hu, H. 1996. Phloem mobility of boron is species depended: evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. *Ann Bot* 77: 497-505
- Brown, P.H., Hu, H. 1998. Boron mobility and consequent management in different crops. *Better Crops* 82: 28–31
- Brown, P.H., Shelp, B.J. 1997. Boron mobility in plants. *Plant Soil* 193: 85–101
- Brown, P.H., Bellaloui, N., Wimmer, M.A., Bassil, E.S., Ruiz, J., Hu, H., Pfeffer, H., Dannel, F. and V. Romheld . 2002. Boron in plant biology. 4:205–223.
- Bush, D.S. 1995. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 46: 95-122
- Cai, Y.Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q., Corke, H. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*. 78: 2872-2888
- Cakmak, L.H. Kurz and H. Marschner. 1995. Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. *Physiol. Plant*. 95: 11-18.
- Cakmak, I., Römheld, V. 1997. Boron deficiency – induced impairments of cellular functions in plants. *Plant Soil* 193: 71-83
- Camacho-Cristobal, J.J., Rexach, J., Gonzalez-Fontes, A. 2008. Boron in plants: Deficiency and toxicity. *J Integr Plant Biol* 50: 1247-1255
- Cao, S., Hu, Z., Zheng, Y., Lu, B., 2010. Synergistic effect of heat treatment and salicylic acid on alleviating internal browning in cold-stored peach fruit. *Postharvest Biology and Technology* 58: 93–97
- Cara, F.A., Sánchez, E., Ruiz, J.M. and Romero, L. 2002. Is phenol oxidation responsible for the short term effects of boron deficiency on plasma-membrane

permeability and function in squash roots? *Plant Physiol. Biochem.*, 40: 853-858.

Carlson, R.W., Bazzaz, F.A., Rolfe, G.L. 1975. The effect of heavy metals on plants, Net photosynthesis and transpiration on whole corn and sunflower plants treated with Pb, Cd, Ni and Ti. *Environmental Rescue* 10: 113-120

Cayley S., Lewis B.A., Record J.M.T. 1992. Origins of the osmoprotective properties of betaine and proline in *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology* 174: 1586-1595.

Chao W., Songhe Z., PeiFang W., Jun H., Jin Q., Yanhui A., Jie L. and Li L., 2011. Salicylic acid involved in the regulation of nutrient elements uptake and oxidative stress in *Vallisneria natans* (Lour.) Hara under Pb stress. *Chemosphere*. 84:136-142.

Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M.H., Ferjani, E.L. 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *Plant Science* 127: 139-147

Chen, C.T., Chen, L.M., Lin, C.C., Kao, C.H. 2001. Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. *Plant Science* 160:283–290

Chen, S.L. & Kao, C.H. 1995. Cd induced changes in proline level and peroxidase activity in roots of rice seedlings. *Plant Growth Regulation* 17: 67-67

Chen, L.S., Han, S., Qi, Y.P., Yang, L.T. 2012. Boron stresses and tolerance in citrus *Afr J Biotechnol* 11: 5961-5969

Chinusammy, V., Jagendorf A., Zhu, J.K. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science* 45: 437-448.

Clarkson, D.T and J.B. Hanson. 1980. The mineral nutrition of higher plants. *Ann.*

Rev. Plant Physiol. 31: 239-298.

Clijsters, H. & Van Assche, F. 1985. Inhibition of photosynthesis by heavy metals. *Photosynthetical Rescue* 7: 31-40

Costa, G. & Morel, J.L. 1994. Water relations, gas exchange and amino acid content in Cd-treated lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry* 32:561–570

Cuevas, E., Baeza, P. and J.R. Lissarrague. 2006. Variation in stomatal behavior and gas exchange between mid-morning and mid- afternoon of north-south oriented grapevines (*Vitis vinifera* L. cv Tempranillo) at different levels of soil water availability. *Sci. Hort.* 108:173-180.

Davies, M.J. 2003. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochemical and Biophysics Research Communications* 305, 761–770.

De Kreij C., Basar, H. 1997. Leaf tip yellowing in eggplant is caused by boron deficiency. *Journal of Plant Nutrition* 20: 47-53.

Delauney, A.J., Verma, D.P.S. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal* 4: 215-223.

Dell, B. and L. Huang. 1997. Physiological response of plants to low boron. *Plant Soil.* 193:103–120.

Dell, B., and N. Malajczuk. 1994. Boron deficiency in eucalypt plantations in China. *Canadian Journal of Forest Research* 24: 2409-2416.

Dhir, B., Sharmila, P., Saradhi, P.P. 2004. Hydrophytes lack the potential to exhibit cadmium stress induced enhancement in lipid peroxidation and accumulation of proline. *Aquat Toxicological* 66:141–147

- Ding, C.K., Wang, C.Y., Gross, K.C., and Smith, D.L., 2002 Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214: 895–901
- Dotan, Y., Lichtenberg, D., Pinchuk, L. 2004. “Lipid peroxidation cannot be used as universal criterion of oxidative stress”, *Progr Lipid Res*, 43: 200-227.
- Dugger, W.M. 1983. Boron in plant metabolism. *In* Encyclopedia of Plant Physiology, New Series. Eds. A Lauchli and R L Ieleski. Springer-Verlag, Berlin
- Durner, J., Shah, J. and Klessig, D.F. 1997: Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends Plant Science*. 2: 266-274.
- Dursun, A., Turan, M., Ekinçi, M., Gunes, A., Ataoglu, N., Estringü, A., Yildirim, E. 2010. Effects of boron fertilizer on tomato, pepper and cucumber yields and chemical composition. *Commun Soil Sci Plant Anal* 41: 1576-1593
- Ehsanpour, A.A., Fatahian, N. 2003. Effects of salt and proline on *Medicago sativa* callus. *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture* 73: 53-56.
- El-Shintinawy, F. 1999. Structural and functional damage caused by boron deficiency in sunflower leaves. *Photosynthetica*. 36:565-573.
- Eraslan F., Inal A., Gunes A. and Alpaslan M., 2007: Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*. 113: 120-128.
- Fageria, N.K., Gheyi, H.R. 1999. Efficient crop production. Campina Grande, Federal University of Paraiba, Brazil, 547 p.

- Fariduddin Q., Hayat S. and Ahmad A., 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica*. 41: 281-284.
- Ferrol, N., Belver, A., Roldan, M., Rodriguez-Rosales, M.P. and Donaire, J.R. 1993. Effects of boron on proton transport and membrane properties of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cell microsomes. *Plant Physiol.*, 103:763-769.
- Findelee, P. and H.E. Goldbach. 1996. Rapid effects of boron deficiency on cell wall elasticity modulus in *Cucurbita pepo* roots. *Bot. Acta*. 109:463-465.
- Fleischer, A., Titel, C. and Ehwald, R. 1998. The boron requirement and cell wall properties of growing and stationary suspension-cultured *Chenopodium album* L. cells. *Plant Physiol.*, 117:1401-1410.
- Fleischer, A., O'Neill, M.A. and Ehwald, R. 1999. The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamno-galacturonan II. *Plant Physiology*, 121: 829-838.
- Fragniere, C., Serrano, M., Abou-Mansour, E., Mitraux, JP., L'Haridon, F., 2011. Salicylic acid and its location in response to biotic and abiotic stress. *FEBS Letters* 585: 1847-1852
- Ghai N., Setia R.C. and Setia N., 2002. Effects of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in *Brassica napus* L. (cv. GSL-1). *Phytomorphology*. 52: 83-87.
- Giannakoula, A., Moustakas, M., Mylona, P., Papadakis, I., Yupsanis, T. 2008. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. *Journal of Plant Physiology* 165, 385-396

- Goldbach, H.E., Hartmann, D. and Rötzer, T. 1990. Boron is required for the ferricyanide-induced proton release by auxins in suspension-cultured cells of *Daucus carota* and *Lycopersicon esculentum*. *Physiol. Plant.* 80:114–118.
- Goldbach, H.E., Blaser-Grill, J., Lindemann, N., Porzelt, M., Hörmann, C., Lupp, B. and Gessner, B. 1991. Influence of boron on net proton release and its relation to other metabolic processes. *Curr. Top. Plant Biochem. Physiol.*, 10:2211–2229.
- Goldbach, H.E. 1997. A critical review on current hypotheses concerning the role of boron in higher plants: Suggestions for further research and methodological requirements. *Journal of trace and microprobe techniques.* 15:51-91.
- Goldbach, H. E., Yu, Q., Wingender, R., Schulz, M., Wimmer, M., Findeklee, P. and F. Baluka. 2001. Rapid response reactions of roots to boron deprivation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science.* 164: 173–181.
- Gratao, P.L., Polle, A., Lea, P.J., Azevedo, R.A. 2005. Making the life of heavy-metal stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* 32, 481–494
- Guidi, L., Degl’Innocenti, E., Carmassi, G., Massa, D., Pardossi, A. 2011. Effects of boron on leaf chlorophyll fluorescence of greenhouse tomato grown with saline water. *Environ Exp Bot* 73: 57-63
- Gunes, A., Alpaslam, M., Cikili., Y. and H. Ozcam. 1999. Effect of Zinc on the alleviation of boron toxicity in tomato. *J. Plant Nutr.* 22(7):1061-1068.
- Gunes, A., Soylemezoglu, G., Inal, A., Bagci, E., Coban, S. and Sahin, O., 2006. Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. *Scientia Horticulturae.* 110: 279-284.
- Gupta, U.C. 1979. Boron nutrition of crops. *Adv Agron* 31: 273–307

- Gupta, U.C. 1993. Boron and its role in crop production. Boca Raton, Florida: CRC Press
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1990. "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview", in Parker L, Glazer AN, Methods in Enzyme bgy 186.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1998. The Antioxidants of Human Extracellular Fluids. Archives of Biocmistry and Biophysics Impact Factor, 280-218.
- Halliwell, B. 2001. "Free Radicals and otherreactive species in Disease", National University of Singapore.
- Han, S., Tang, N., Jiang, H.X., Yang, L.T., Li, Y., Chen, L.S. 2009. CO₂ assimilation, photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus leaves in response to boron stress. Plant Sci 176: 143-153
- Hänsch, R., Mendel, R.R. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). Curr Opin Plant Biol 12: 259-266
- Hare, P.D. & Cress, W.A. 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 21:79–102
- Havaux, M., & Lannoye, R. 1985a. Effects of dehydration on the photochemical function of thylakoids in bean leaves. *Photosynthetica* 18: 388-396
- Havaux, M. & Lannoye, R. 1985b. Drought resistance of hard wheat cultivars measured by a rapid chlorophyll fluorescence test. *Journal of Agriculture Science, Cambridge* 104: 501-504

- Havaux, M. & Lannoye, R. 1985c. Effect des basses temperatures positives sur les reaction photochimiques primaires de la photosynthese du maïs (*Zea mays* L.) *Agronomy* 5: 331-337
- Havlin, J., Beaton, J., Tisdale, S. and Nelson, W., 1999. Soil Fertility and Fertilizers. Prentice Hall, Inc. USA.
- Hayat, S., Fariduddin, Q., Ali, B. and Ahmad, A. 2005. Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings. *Acta Agronomica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 53: 433-437.
- Hayat, S., Hasan, S.A., Fariduddin, Q. and Ahmad, A., 2008. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions*. 3: 297-304.
- Heath, R.L. & Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125:189–98
- Henriques, F.S. 2009. Leaf chlorophyll fluorescence: Background and fundamentals for plant biologists. *Botanical Review*, Volume 75, pages 249-270
- Horvath, E., Szalai, G., Janda, T., 2007. Induction of Abiotic Stress Tolerance by Salicylic Acid Signaling. *J. Plant Growth Regul.* 26: 290–300
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q., Chang, C.C. 2007. Effect of copper and cadmium on heavy metal polluted water body restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiology Biochemistry* 45, 62–69
- Hsu, S.Y., Hsu, Y.T. and C.H. Kao. 2003. The effect of polyethylene glycol on proline accumulation in rice leaves. *Biol. Plant.* 46:73-78.
- Hu, H., Brown, P.H. and Labavitch, J.H. 1996. Species variability in boron requirement is correlated with cell wall pectin. *J. Exp. Bot.*, 47:227–232.

- Hu, H., Brown, P.H. 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant Soil* 193: 49-58
- Inal, A., Pilbeam, D. and Gunes, A. 2009. Silicon Increases Tolerance to Boron Toxicity and Reduces Oxidative Damage in Barley. *Journal of Plant Nutrition*. 32: 112-128.
- Ismail, A.M. 2003. Response of maize and sorghum to excess boron and salinity. *Biol Plant* 47: 313-316
- Ishii, T. and T. Matsunaga. 1996. Isolation and characterization of a boron-rhamnogalacturonan-II complex from cell walls of sugar beet pulp. *Carbohydr. Res.* 284:1-9.
- Jonak, C., Okresz, L., Bogre, L., Hirt, H., 2002. Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signalling. *Curr Opin Plant Biol.* 5: 415-424
- Jones, H.B. 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany* 49: 387-398
- Jorge, R.A., Boscolo, P.R.S., Menossi, M. 2003. Aluminum-induced oxidative stress in maize. *Phytochemistry* 62: 181-189
- Kalaji, H. M., Govindjee, Bosa, K., Koscielniak, J., Zuk-Golaszewska, K. 2011. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO₂ assimilation of two Syrian barley landraces. *Environ. Exp. Bot.* 73 64-72
10.1016/j.envexpbot.2010.10.009
- Kaneko, S., Ishii, T. and Matsunaga, T. 1996. A boron-rhamnogalacturonan II complex from bamboo shoot cell walls. *Phytochem.*, 44:243-248.
- Karabal, E., Yucel, M., Oktem, H. 2003. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Science.* 164: 925- 933.

- Kastori, R., Petrovic, M., Petrovic, N. 1992. Effect of excess lead, cadmium, copper and zinc on water relations in sunflower. *Journal of Plant Nutrition* 15: 2427-2439
- Kastori, R., Plesnicar, M., Pankovic, D. and Z. Sakac. 1995. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence and soluble carbohydrates in sunflower leaves as affected by boron deficiency. *J. Plant Nutr.* 18:1751-1763.
- Kazemi, M., Aran, M., and Zamani, S., 2011. Effect of Salicylic Acid Treatments on Quality Characteristics of Apple Fruits During Storage. *American Journal of Plant Physiology* 6 (2): 113-119
- Ketchum, R.E.B., Warren, R.C., Klima, L.J., Lopez-Gutierrez, F. and M.W. Nabors. 1991. The mechanism and regulation of proline accumulation in suspension cultures of the halophytic grass *Distichlis spicata* L.J. *Plant Physiol.* 137:368-374.
- Khan, A.A., Mc Neilly, T., Collins, C. 2000. Accumulation of amino acids, proline, and carbohydrates in response to aluminum and manganese stress in maize. *Journal of Plant Nutrition* 23:1303–1314
- Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D.L., 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal Plant Physiology.* 160: 485-492.
- Kishor, P.B.K., Sangam, S., Amrutha, R.M., Sri Laxmi, P., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P. and N. Sreenivasulu. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Cur. Sci.* 88:424-438.
- Klessig, D.F., and Malamy, J., 1994. The salicylic acid signal in plants. *Plant Molecular Biology* 26: 1439-1458,

- Klimashevskii, E.L. 1983. Identification of plant resistance to soil acidity. *Soviet Agriculture Science* 10: 1-5
- Knorzer, O.C., Lederer, B., Durner, J. and Boger, P., 1999. Antioxidative defense activation in soybean cells. *Plant Physiology*. 107: 294-302.
- Knott, J.E. 1939. The effect of temperature on the photoperiodic response of spinach. Cornell Univ. Agr. Expt. Sta. Memoir 218:1–38.
- Kobayashi, M., Matoh, T. and J.I. Azuma. 1996. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiology*. 110: 1017–1020.
- Kozlowski, T.T. & Pallardy, S.G. 1997. *Physiology of woody plants*, Academic Press, San Diego
- Krause, G.H. & Weis, E. 1984. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II Interpretation of the fluorescence signals. *Photosynthesis Research* 5: 139-157
- Krause, G.S. & Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 313-349
- Lacono, F., Buccela, A. and E. Peterlunger. 1998. Water stress and rootstock influence on leaf gas exchange of grafted and ungrafted grapevines. *Sci Hort*. 75: 27-39.
- Larsson, E.H., Bornman, J.F., Asp. H. 1998. Influence of UV-B radiation and Cd²⁺ on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. *J Exp Bot* 49: 1031-1039
- Laudert D., Weiler, E.W. 1998. Allene oxide synthase: a major control point in

Arabidopsis thaliana octadecanoid signalling. *Plant Journal* 15: 675-684.

- Lawrence, K., Bhalla, P. and Misra, P.C. 1995. Changes in (NADP)H-dependent redox activities in plasmalemma-enriched vesicles isolated from boron- and zinc-deficient chick pea roots. *Journal of Plant Physiology*, 146:652-657.
- Leece, H.R. 1978. Effects of boron on the physiological activity of zinc in maize. *Aust J Agric Res* 29: 739-747
- Leigh, R.A., Ahmad N. and R.G. Wyn Jones. 1981. Assessment of glycinebetaine and proline compartmentation by analysis of isolated beet vacuoles. *Planta*. 153:34-41.
- Leyshon, A.J., Jame, Y.W. 1993. Boron toxicity and irrigation management. In: Boron and its role in crop production. Gupta U.C. (ed.), CRC Press, Boca Raton, FL.
- Lloyd, J., Syvertsen, J.P., Kriedemann, P.E., Farquhar, G.D. 1992. Low conductances for CO₂ diffusion from stomata to the sites of carboxylation in leaves of woody species. *Plant Cell and Environment* 15: 873-899
- Loomis, W.D. and R.W. Durst. 1992. Chemistry and biology of boron. *Biofactors*. 3:229-239.
- López-Lefebvre, L.R., Rivero, R.M., Garcia, P.C., Sánchez, E., Ruiz, J.M., Romero, L. 2002. Boron effect on mineral nutrients of tobacco. *J Plant Nutr* 25: 509-522 Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press, pp. 379-396
- Lovatt, C. and Bates, L. 1984. Early effects of excess boron on photosynthesis and growth of *Cucurbita pepo*, *Journal of Experimental Botany*. 35 : 297-305.

- Lyras, L., Cairns, N.J., Jenner, A., Halliwell, B. 1977. "An assessment of oxidative damage to proteins, lipids and DNA in brain from patients with Alzheimer's Disease", *J Neurochem*, 68 (5), 2061-69.
- Mahmoud, M.S. 2010. Role of boron in plant nutrition and human health. *American journal of plant physiology*. 5(5):224-240.
- Maoka, T., Mochida, K., Kozuka, M., Ito, Y., Fujiwara, Y., Hashimoto, K., Enjo, F., Ogata, M., Nobukuni, Y., Tokuda, H., Nishino, H. 2001. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annum L.* *Cancer Lett* 172: 103-109
- Marschner, H. 1995. Beneficial mineral elements. - In: - Marschner, H. (ed.): *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd Ed. pp. 405-434. Academic Press, London
- Matoh, T., Ishigaki, K-I., Mizutani, M., Matsunaga, W. and K. Takabe. 1992. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. I. Requirement for and intracellular localization of boron and selection of cells that tolerate low levels of boron. *Plant Cell Physiol*. 33:1135–1141.
- Maxwell, and Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 51: 659-668.
- Mayuki, T. and F. Toru. 2008. Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants. *Pflugers Arch-Eur J Physiol*. 456:671-677.
- Metraux, J.P., 2002. Recent breakthroughs in the study of salicylic acid biosynthesis. *TRENDS In Plant Science* 7: 332–334.
- Metwally A., Finkemeier I., Georgi M., Dietz K.J., 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology*. 132: 272-281.

- Mishra, S. & Dubey, R.S. 2006. Inhibition of ribonuclease and protease activities in arsenic exposed rice seedlings: role of proline as enzyme protectant. *Journal of Plant Nutrition* 163:927–36
- Mishra, A. and Choudhuri, M.A. 1999. Effect of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biologia Plantarum*. 42: 409-415.
- Mo, Y., Gong, D., Liang, G., Han, R., Xie, J., and Li, W. 2008. Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post-harvest storage. *J SciFood Agric* 88: 2693–2699
- Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G. and Therios, I., 2006. Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM 9 (*Malus domestica* Borkh). *Environmental and Experimental Botany*. 56: 54-62.
- Morkunas, I., Mai, V.C., and Gabrys, B., 2011. Phytohormonal signaling in plant responses to aphid feeding. *Acta Physiol Plant* 33:2057–2073
- Mortvedt, J., Cox, F.R., Sherman, L.M., Welch, R.M. 1991. Micronutrients in agriculture, Soil Science Society America book series, Madison, Wisconsin, USA, 760 p
- Mur, L.A., Kenton, P., Atzorn, A., Miersch, O., Wasternack, C. 2006. The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death. *Plant Physiology* 140: 249-262.
- Nable, R.O., Cartwright, B., Lance, C.M. 1990. Genotypic differences in boron accumulation in barley: relative susceptibilities to boron deficiency and toxicity. In: Genetic aspects of plant mineral nutrition, El-Bassam N. et al. (ed.), Kluwer academic publishers, London, pp 243-251

- Nable, R.O., Banuelos, G.S., Paull, J.G. 1997. Boron toxicity. *Plant Soil* 193: 181-198
- Nanjo, T., Fujita, M., Seki, M., Kato, T., Tabata, S., Shinozaki, K. 2003. Toxicity of free proline revealed in an Arabidopsis T-DNA-tagged mutant deficient in proline dehydrogenase. *Plant and Cell Physiology* 44: 541-548.
- Norman, C., Howell, K.A., Millar, H., Whelan, J.M., Day, D.A., 2004. Salicylic acid is an uncoupler and inhibitor of mitochondrial electron transport. *Plant Physiology* 134: 492–501.
- Norton, G., Pappusamy, A., Yusof, F., Pujade-Renaud, V., Perkins, M., Griffiths, D., Jones, H. 2007. Characterization of recombinant Hevea brasiliensis allene oxide synthase: effects of cyclooxygenase inhibitors, lipoxygenase inhibitors and salicylates on enzyme activity. *Plant Physiology and Biochemistry* 45:129-138.
- Obermeyer, G., Kriechbaumer, R., Strasser, D., Maschessnig, A. and Bentrup, F.W. 1996. Boric acid stimulates the plasma membrane H⁺-ATPase of ungerminated lily pollen grains. *Physiol. Plant.*, 98:281–290.
- O'Neill, M. A., Warrenfeltz, D., Kates, K., Pellerin, P., Doco, T., Darvill, A.G. and P. Albersheim. 1996. Rhamnogalacturonan-II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester. *J. Biol. Chem.* 271:22923–22930.
- O'Neill, M.A., Eberhard, S., Albersheim P., Darvill, A.G. 2001. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth. *Science* 294:846-849.
- Oono, Y., Oura, C., Rahman, A., Aspúria, E.T., Hayashi, K., Tanaka, A. and Uchimiya H. 2003. P-chlorophenoxyisobutyric acid impairs auxin response in Arabidopsis root. *Plant Physiology*. 133:1135-1147.

- Ouzounidou, G. 1993. Μελέτη της επίδρασης των βαρέων μετάλλων σε αυτοφυή φυτικά είδη μεταλλοφόρων περιοχών της Β. Ελλάδας. Διδακτορική Διατριβή. Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
- Overmyer, K., Brosche, M., and Kangasjarvi, J., 2003 Reactive oxygen species and hormonal control of cell death. *TRENDS in Plant Science* 8 (7): 335-342
- Ozturk, L. and Y. Demir 2002. In vivo and in vitro protectic role of proline. *Plant Growth Reg.* 38:259-264.
- Pál, M., Szalai, G., Horváth, E., Janda, T. and Páldi, E., 2002. Effect of salicylic acid during heavy metal stress. *Acta Biologica Szegediensis.* 46: 119-120.
- Papadakis, I.E., Dimassi, K.N., Bosabalidis, A.M., Therios, I.N., Patakas, A., Giannakoula, A. 2004a. Boron toxicity in ‘Clementine’ mandarin plants grafted on two rootstocks. *Plant Sci* 166: 539-547
- Papadakis, I., Dimassi, K.N., Bosabalidis, A.M., Therios, I.N., Patakas, A., Giannakoula, A. 2004b. Effects of B excess on some physiological and anatomical parameters of ‘Navelina’ orange plants grafted on two rootstocks. *Env Exp Bot* 51:247-257
- Papadakis, I.E., Dimassi, K.N., Therios, I.N. 2003. Response of two citrus genotypes to six boron concentrations: concentration and distribution of nutrients, total absorption, and nutrient use efficiency. *Aust J Agric Res* 54: 571-580
- Papageorgiou, G. 1975. Chlorophyll fluorescence: An intrinsic probe of photosynthesis. In *Bioenergetics of photosynthesis* (Govindjee ed.) pp. 319-371. *Academic Press*, New York
- Parks, J.L., Edwards, M. 2005. Boron in the environment. *Crit Rev Environ Sci Technol* 35: 81-114

- Peng, L., and Jiang, Y., 2006. Exogenous salicylic acid inhibits browning of fresh-cut Chinese water chestnut. *Food Chemistry* 94: 535–540
- Pereira, W.E., de Siqueira, D.L., Martinez, C.A., Puiatti, M. 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminum stress. *Journal of Plant Physiology* 157: 513–520
- Pollard, A.S., Parr, A. and Loughman, B.C. 1977. Boron in relation to membrane function in higher plants. *J. Exp. Bot.*, 28:831-841.
- Popova, L., Pancheva, T. and Uzunova, A. 1997. Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Bulgarian Journal Plant Physiology*. 23: 85-93.
- Power, P.P. and W.G. Woods. 1997. The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant Soil*. 193:1-13
- Prasad, M.N.V. 1996. Trace elements. In: Prasad, M.N.V. Editor, 1996. *Plant Ecophysiology* Wiley, New York, pp. 107–209
- Rains, D.W. 1989. Plant tissue and protoplast culture: application to stress physiology and biochemistry. In: Jones H.G., Flowers T.J., Jones M.B. (eds.). *Plants under stresses: biochemistry, physiology and ecology and their application to plant improvement*. Cambridge University Press, Cambridge. pp 181-196
- Rajjou, L., Belghazi, M., Huguet, R., Robin, C., Moreau, A., Job, C., Job, D., 2006. Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on Arabidopsis seed germination and establishment of early defence mechanisms. *Plant Physiology* 141: 910–923.
- Raskin, I., Skubatz, H., Tang, W., Meeuse, B.J.D. 1990. Salicylic acid levels in thermogenic and nonthermogenic plants. *Annals of Botany* 66: 376-383.

- Raskin, I. 1992 a. Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 43: 439-463.
- Raskin, I. 1992b. Salicylate, a new plant hormone. *Plant Physiology*. 99: 799-803.
- Rayapati, P.J., Stewart, C.R. and E. Hack. 1989. *Plant Physiol*. 91:581-586.
- Reid, R., Hayes, J.E., Post, A., Stangoulis, J.C., Graham, R.D. 2004. A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant Cell Environ* 25: 1405-1414
- Rhodes, D. 1987. Metabolic responses to stress. In "*The Biochemistry of Plants*" D.D. Davies ed., Vol. 12, Academic Press, New York, pp. 201-241
- Rhodes, D., Verslues, P.E. and R.E. Sharp. 1999. Role of amino acids in abiotic stress resistance. In: Singh B.K. (ed). *Plant amino acids: biochemistry and biotechnology*. Marcer Dekker, NY, pp.319-356.
- Rivas-San Vicente, M., and Plasencia, J. 2011. Review Paper. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*. 62 (10): 3321-3338
- Robertson, G.A. and Loughman, B.C. 1974. Reversible effects of boron on the absorption and incorporation of phosphate in *Vicia faba*. *New Phytol.*, 73:291–298.
- Rose, T.J., Tanaka, J.P., Rose, M.T., Fukuta, Y., Wissuwa, M. 2010. Genotypic variation in grain phosphorus concentration, and opportunities to improve P-use efficiency in rice. *Field Crops Res* 119: 154-160
- Ross, O.N., Gary, S.B. and G.P. Jeffrey. 1997. Boron toxicity. *Plant and soil*. 193: 181-197.

- Sackett, C. 1975. Spinach. Fruit and Vegetable Facts and Pointers. United Fresh Fruit and Vegetable Assoc, Washington, D.C.
- Samaras, Y., Bressan, R.A., Csonka, L.N., Garcia-Rios, M.G., Paino D'Urzo, M., Rhodes, D. 1995. Proline accumulation during drought and salinity. In (N Smirnoff) *Environment and Plant Metabolism: Flexibility and Acclimation*. Bios Scientific Publishers, Oxford, pp 161-187
- Sanchez, F.J., Manzanares, M., Deandress, E.F., Tenorio, J. L. and Ayerbe, L. 1998. Turgor maintenance, osmotic, adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops res.* 59, 225-235.
- Santra, G.H., Das, D.K., Mandal, B.K. 1989. Relationship of boron with iron, manganese, copper and zinc with respect to their availability in rice soil. *Environ Ecol* 7: 874-877
- Saradhi, A. & Saradhi, P.P. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology* 138: 554-558
- Satoh, R., Nakashima, K., Seki, M., Shinozaki, K. and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2002. ACTCAT., a novel cis-acting element for proline and hypoosmolarity responsive expression of the ProDH gene encoding proline dehydrogenase in Arabidopsis. *Plant Physiology*. 130:709-719.
- Scaife, A. and Turner, M. 1983. *Diagnosis of Mineral Disorders in Plants*. Volume 2. UK, J.Robinson.
- Schat, H., Sharma, S.S., and Vooijs, R. 1997. Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiol. Plant*. 101, 477-482.

- Serino, L., Reimann, C., Baur, H., Beyeler, M., Visca, P., Haas, D. 1995. Structural genes for salicylate biosynthesis from chorismate in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular General Genetics* 249: 217-228.
- Shahnaz, G., Shekoofeh, E., Kourosh, D., Moohamadbagher, B. 2011. Interactive effects of silicon and aluminum on the malondialdehyde (MDA), proline, protein and phenolic compounds in *Borago officinalis* L. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 5818–5827
- Shamsi, Y., Kumar, H., Tamanna S.A., and Khan, E.A. 2006. Effect of a polyherbal Unani formulation on chronic urticaria. *Indian Journal of Traditional Knowledge.*, 5 (2): 279-283.
- Shelp, B.J. 1988. Boron mobility and nutrition in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Ann. Bot.* 61:83-91.
- Shi, G., Cai, Q., Liu, Q. and Wu, L. 2009. Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis, and antioxidant enzymes. *Acta Physiologiae Plantarum.* 31: 969-977.
- Shkol'nik, M.Y., Krupnikova, T.A., Timefeeva, S.S., Stom, D. 1981. Intensification of quinone formation from exogenous polyphenols by homogenates of the leaves of sunflower plant reared under conditioned of boron deficiency. *Soviet Plant Physiol* 28: 384–388
- Shorrocks, V.M. 1997. The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant Soil* 193: 121-148
- Shuang, H., Ning, T., Huan-Xin, J., Lin-Tong, Y., Yan, L. and Li-Song, C. 2009. CO₂ assimilation, photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus leaves in response to boron stress. *Plant Science.* 176: 143-153.

- Simón, I., Díaz-López, L., Gimeno, V., Nieves, M., Pereira, W.E., Martínez, V., Lidon, V., García-Sánchez, F. 2013. Effects of boron excess in nutrient solution on growth, mineral nutrition, and physiological parameters of *Jatropha curcas* seedlings. *J Plant Nutr Soil Sci* 176: 165-174
- Singh, V., Singh, S.P. 1983. Effect of applied boron on the chemical composition of lentil plants. *J Indian Soc Soil Sci* 31: 169-170
- Smith, G.S. and Clark, C.J. 1988. Effect of excess boron on yield and post-harvest storage of kiwifruit. *Scientia Horticulturae*, vol 38: 105-115.
- Sotiropoulos, T., Therios, I., Almaliotis, D, Papadakis, I. and Dimassi, K. 2006. Response of Cherry Rootstocks to Boron and Salinity. *Journal of Plant Nutrition*. 29: 1691-1698.
- Srivastava, A., Guisse, B., Greppin, H., Strasser, R.J. 1997. Regulation of antenna structure and electron transport in Photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, Volume 1320, pages 95-106
- Srivastava, M.K., Dwivedi, U.N. 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Science* 158: 87-96.
- Strasser, R.J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. 2004. Analysis of the chlorophyll fluorescence transient. In *Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis: Advances in photosynthesis and respiration series*, Volume 19, Kluwer, Rotterdam
- Strobel, N.E. and Kuc, A. 1995. Chemical and biological inducers of systemic acquired resistance to pathogens protect cucumber and tobacco from damage caused by paraquat and cupric chloride. *Phytopathology*. 85: 1306-1310.

- Su J., Wu R. 2004. Stress-inducible synthesis of proline in transgenic confers faster growth under stress conditions than that with constitutive synthesis. *Plant Science* 166: 941-948.
- Syvertsen, J.P. & Lloyd, J. 1997. CO₂ assimilation of Citrus leaves: from mesophyllconductance to gross primary productivity of seedlings in different climates. *Acta Horticulture* 416: 147-154
- Szepesi, A., Csiszar, J., Bajkan, Sz., Gemes, K., Horvath, F., Erdei, L., Deer, A., Simon, L.M. and Tari, I. 2005. Role of salicylic acid pre-treatment on the acclimation of tomato plants to salt- and osmotic stress. *Acta Biologica Szegediensis*. 49: 123-125.
- Tanada, T. 1983. Localization of boron in membranes. *J Plant Nutr* 6: 743-749
- Tanada, T. 1995. Boron as a transducer in some physiological process of plants. *J. Plant Nutr.*, 18:1743–1750.
- Tanaka, J., Fujiwara, T. 2008. Physiological roles and transport mechanisms of boron: prospective from plants. *Eur J Physiol* 456: 671-677
- Tari, I., Csiszar, J., Szalai, G., Horvath, F., Pecsvaradi, A., Kiss, G. 2002. Acclimation of tomato plants to salinity after a salicylic acid pre-treatment. *Acta Biologica Szegediensis* 46: 55-56.
- Tariq, M., Mott, C.J.B. 2007. Effect of boron and the behaviour of nutrients in soil-plants systems- A review. *Asian J Plant Sci* 6: 195-202
- Tariq, A., Masroor, A., Teixeira da Silva, J., Idrees, M., Naeem, M. and Moinuddin 2011. Role of Salicylic Acid in Promoting Salt Stress Tolerance and Enhanced Artemisinin Production in *Artemisia annua* L. *Journal Plant Growth Regulators*. 30: 425-435.

- Taylor, C.B. 1996. Proline and water deficit: ups and downs. *Plant Cell* 8: 1221-1224
- Tohma, O. and Esitken, A. 2011. Response of salt stressed strawberry plants to foliar salicylic acid pre-treatments. *Journal of Plant Nutrition*. 34:590-599.
- Troll, W. & Lindsley, J. 1955. A photometric method for the determination of proline. *Journal of Bioogical Chemistry* 215: 655–660
- Van Assche, F. & Clijsters, H. 1993. Photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L., as influenced by supra- optimal zinc nutrition. *Environment Pollution* 66: 157-172
- Van Camp, W., Van Montagu, M., and Inze, D., 1998. H₂O₂ and NO: redox signals in disease resistance. *TRENDS in Plant Science* 3 (9): 330-334
- Velez-Ramirez, A.I., van Ieperen, W., Vreugdenhil, D., Millenaar, F.F. 2011. Plants under continuous light. *Trends Plant Sci* 16: 310-318
- Vlot, A.C., Klessig, D.F., and Park SW., 2008. Systemic acquired resistance: the elusive signal(s). *Current Opinion in Plant Biology* 11: 436–442
- Uzunova, A.N. and Popova, L.P. 2000. Effect of salicylic acid on leaf anatomy and chloroplast ultrastructure of barley plants. *Photosynthetica*. 38: 243-250.
- Wallace, T. 1951. *The Diagnosis of Mineral Deficiencies in Plants by Visual Symptoms*. 2nd ed. New York.
- Wang, Z.Y., Tang, Y.L., Zhang, F.S. and Wang, H. 1999. Effect of boron and low temperature on membranne integrity of cucumber leaves. *J. Plant Nutr.*, 22: 543-550.
- Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S., and Archbold, D.D. 2006. Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and

- heat shock proteins of peaches during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 41: 244–251
- Wang, X., Shen, J., Liao, H. 2010. Acquisition or utilization, which is more critical for enhancing phosphorus efficiency in modern crops? *Plant Sci* 179: 302-306
- Wildermuth, M.C., Dewadney, J., Wu, G., Ausubel, F.M. 2001. Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature* 414: 562-565.
- Wildermuth, M.C. 2006. Variations on a theme: synthesis and modification of plant benzoic acids. *Current Opinion in Plant Biology* 9: 288–296
- Wintermans, J.F and De Mots, A. 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. *Biochimica Biophysica Acta* 109: 448–453.
- Wolf, B. 1971: The determination of boron in soil extracts, plant materials, composts, manures, water and nutrient solutions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2: 363-374.
- Woodbridge, C.G. 1955. The boron requirements of stone fruit trees. *Can J Agric Sci* 35: 282-286
- Woods, W.G. 1996. Review of possible boron speciation relating to its essentiality. *J Trace Elem Exp Med* 9:153–163
- Xie, Z., Zhang, Z.L., Hanzlik, S., Cook, E., Shen, Q.J. 2007. Salicylic acid inhibits gibberellin-induced alpha-amylase expression and seed germination via a pathway involving an abscisic-acid inducible WRKY gene. *Plant Molecular Biology* 64: 293–303.

- Yamamoto, Y., Kobayashi, Y., Matsumoto, H. 2001. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. *Plant Physiology* 125:199-208
- Yan, X., Wu, P., Ling, H., Xu, G., Xu, F. and Q. Hang, Q. 2006. Plant nutriomics in China: an overview. *Ann Bot* 98(3):473–482.
- Yang, Z.M., Wang, J., Wang, S.H. and Xu, L.L. 2003. Salicylic acid induced aluminium tolerance by modulation of citrate efflux from roots of *Cassia tora* L. *Planta*. 217: 168-174.
- Yau, S.K., Nachit, M.M., Hamblin, J. and J. Ryan. 1995. Phenotypic variation in boron-toxicity tolerance at seedling stage in durum wheat (*Triticum durum*). *Euphatica* 83:185–191
- Yildirim, E., Turan, M. and Guvenc, I. 2008. Effect of Foliar Salicylic Acid Applications on Growth, Chlorophyll, and Mineral Content of Cucumber Grown Under Salt Stress. *Journal of Plant Nutrition*. 31: 593-612.
- Yusuf, M., Hasan, S.A., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. 2008. Effect of salicylic acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. *Journal of Integrative Plant Biology*. 50: 1-4.
- Zhang, Y.L., Li, J., Liu, M.D., Huang, Y. 2003. A preliminary study of soil silicon status of paddy soils in Liaoning province. *China Journal Soil Science* 34:543–547
- Zhang, C., Wang, J., Zhang, J., Hou, C. and Wang, G. 2011. Effects of b-aminobutyric acid on control of postharvest blue mould of apple fruit and its possible mechanisms of action. *Postharvest Biology and Technology*. 61: 145-151.
- Zude, M., Alexander, A. and P. Luedders. 1997. Influence of Boron Spray on Boron

Concentration, Fruit Set and Calcium Related Disorders in Apple (*Malus domestica*) cv. Elstar M26. In: Boron in Soils and Plants, Beli, R.W. and B. Rerkasem (Eds). Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp: 139-143.

2. Εθνική βιβλιογραφία

Αλεξιάδης, Κ. 1980. Φυσική και χημική ανάλυση του εδάφους. Θεσσαλονίκη.

Αναλογίδης, Δ. 2007. Τα μικροθρεπτικά στοιχεία στο αγροτικό οικοσύστημα. Αθήνα, Εκδόσεις Αγροτύπος.

Βογιατζής, Δ. και Κουκουρίκου, Μ. 2003. Βιολογία Οπωροκηπευτικών Φυτών Ι. Εκδόσεις: Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.

Γάλαρης, Δ. 2015. Ελεύθερες ρίζες και οξειδωτικό στρες. [ηλεκτρ. βιβλ.] Αθήνα:Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών. Διαθέσιμο στο: <http://hdl.handle.net/11419/5113>

Δημητράκης, Κ. Γ. 1998. Λαχανοκομία, Αθήνα, Εκδόσεις Αγροτύπος.

Δροσόπουλος, Ι.Β. 1992. Η ανόργανη διατροφή των φυτών. Έκδοση Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Ζερλέντης, Κ. 1980. Συστηματική Βοτανική. Μέρος 2°. Αθήνα.

Θανόπουλος, Χ. 2008. Τεχνική βιολογικής καλλιέργειας λαχανικών – Σπανάκι. Αθήνα.

Θεοδώρου, Μ. - Πασχαλίδης Χ. 1999. Εγχειρίδιο καλλιεργητή. Αθήνα, Εκδόσεις Έμβρυο.

Κανάκης, Α. 1997. Μαθήματα Λαχανοκομίας ΙΙ.

- Κεραμίδας Β., 1989. Σημασία και ερμηνεία των εδαφολογικών εργαστηριακών αναλύσεων. Πρακτικά διημερίδας <<Γονιμότητα εδάφους-θρέψη φυτών>>. Ηράκλειο.
- Λόλας, Π. 2007. Φυσιολογία Φυτού - Σημειώσεις. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος.
- Μήτσιος, Ι.Κ. 1997. Γονιμότητα εδαφών και στοιχεία θρέψης φυτών. Βόλος.
- Μήτσιος, Ι. 2004. Γονιμότητα εδαφών. Αθήνα, Εκδόσεις Zymel.
- Ολύμπιος, Χ. 1994.Ειδική λαχανοκομία - Λαχανικά υπαίθρου. Αθήνα.
- Παναγιωτόπουλος, Κ. 2008. Εδαφολογία. Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις Γαρταγάνη.
- Παπαρνάκης, Α.Α. 2012. Η επίδραση του ασκορβικού, β-αμινοβουτυρικού και σαλικυλικού οξέος στη φυσιολογία υποκειμένων φυλλοβόλων οπωροφόρων δένδρων σε συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου. Μεταπτυχιακή διατριβή. Γεωπονική σχολή Α.Π.Θ.
- Παρασκευόπουλος, Π.Κ. 2006. Σύγχρονη Λαχανοκομία.
- Σάββας, Δ. 1995. Σημειώσεις Λαχανοκομίας ΙΙ.
- Σαράφη, Ε. 2012. Η επίδραση του NaCl και βορίου στην αύξηση, ανόργανη σύσταση, προλίνη, υδατάνθρακες και χλωροφύλλη στις ποικιλίες ροδιάς, Wonderful και Ερμιόνη. Μεταπτυχιακή διατριβή. Γεωπονική σχολή Α.Π.Θ.
- Σαράφη, Ε. 2018. Η σημασία του Β στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών πιπεριάς. Διδακτορική διατριβή. Σχολή γεωπονίας, δασολογίας και φυσικού περιβάλλοντος, τμήμα γεωπονίας Α.Π.Θ.
- Σιμώνης, Α.Δ. 1990. Αρχές λίπανσης των καλλιεργειών. Γεωπονικά, Μάιος-Ιούνιος 1990.

Σπάρτσης, Ι.Ν. 1991. Γενική και Ειδική Λαχανοκομία. Αθήνα.

Σπάρτσης, Ι.Ν. 1995. Γενική και Ειδική Λαχανοκομία. Αθήνα.

Στεφανάκη-Νικηφοράκη, Μ. 1999. Συστηματική Βοτανική. Τόμος Α. Αθήνα.

Στυλιανίδης, Δ., Σιμώνης, Α. και Συργιανίδης, Γ. 2002. Θρέψη. Λίπανση φυλλοβόλων καρποφόρων δένδρων. Αθήνα, Εκδόσεις Σταμούλη.

Σωτηρόπουλος, Θ. 1999. Ο ρόλος του βορίου στην ανόργανη θρέψη του ακτινιδίου. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονική σχολή Α.Π.Θ., σελ. 172.

Τσαντήλας, Χ., Δημογιάννης, Δ., Σαμαράς, Β. Και Μητσιμπόνας, Θ. 1992. Η εποχιακή διακύμανση στην συγκέντρωση των μακρο- και μικροθρεπτικών στα φύλλα της ακτινιδιάς (*Actinidia chinensis*). Πρακτικά 4^{ου} Πανελλήνιου Εδαφολογικού Συνεδρίου, ΕΕΕ, Θεσσαλονίκη.

Τσαπικούνης, Φ. 2004. Θρέψη - Λίπανση των φυτών. Μέρος Α'. Αθήνα, Εκδόσεις Σταμούλη.

3. Διαδικτυακή βιβλιογραφία

<http://www.opengov.gr/ypaat/wp-content/uploads/downloads/2014/06/aspanaki.pdf>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CF%80%CE%B1%CE%BD%CE%AC%CE%BA%CE%B9>