



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΗΠΕΥΤΙΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**

**Αξιολόγηση της αζωτοδεσμευτικής ικανότητας αμπελοφάσουλου
(*Vigna unguiculata L.*) εμβολιασμένου με διαφορετικά στελέχη
ριζοβίων σε συνθήκες κανονικής και ελλειμματικής άρδευσης.**



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Γεώργιος Κ. Γιαννίκος
Γεωπόνος Γ.Π.Α.

ΑΘΗΝΑ, 2019



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΗΠΕΥΤΙΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

Αξιολόγηση της αζωτοδεσμευτικής ικανότητας αμπελοφάσουλου (*Vigna unguiculata L.*) εμβολιασμένου με διαφορετικά στελέχη ριζοβίων σε συνθήκες κανονικής και ελλειμματικής άρδευσης.



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Γεώργιος Κ. Γιαννίκος
Γεωπόνος Γ.Π.Α.

ΑΘΗΝΑ, 2019



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΗΠΕΥΤΙΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**

**Τίτλος μεταπτυχιακής διατριβής: Αξιολόγηση της
αζωτοδεσμευτικής ικανότητας αμπελοφάσουλου (*Vigna
unquiculata L.*) εμβολιασμένου με διαφορετικά στελέχη ριζοβίων
σε συνθήκες κανονικής και ελλειμματικής άρδευσης.**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Γεώργιος Κ. Γιαννίκος
Γεωπόνος Γ.Π.Α.

Επιβλέπων Επιστημονικός Υπεύθυνος: Σάββας Δημήτριος, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Μέλη Συντονιστικής Επιτροπής:

Ι. Καραπάνος	Α. Ταμπακάκη
Επίκουρος Καθηγητής	Αναπλ.Καθηγήτρια

ΑΘΗΝΑ, 2019

Στην οικογένειά μου και στους δασκάλους μου

Περίληψη

Η βίγνα είναι ένα ετήσιο, θερινής καλλιέργειας (υπαίθρια) ή όλο το χρόνο ως θερμοκηπιακή καλλιέργεια, ποώδες φυτό. Η βίγνα χρησιμοποιείται για τροφή του ανθρώπου, για τροφή των ζώων καθώς και για χλωρή λίπανση. Όπως όλα τα ψυχανθή, έτσι και η βίγνα διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην οικονομία του αζώτου στη φύση, όπου μέσω της αζωτοδέσμευσης συνεισφέρει στη βελτίωση και τον εμπλουτισμό των εδαφών με άζωτο. Μόλυνση της ρίζας της βίγνας με το κατάλληλο γένος βακτηρίων (αζωτοδεσμευτικά βακτήρια του γένους *Bradyrhizobium*) οδηγεί στο σχηματισμό ειδικών κατασκευών, οι οποίες μπορούν να ενσωματώνουν αέριο άζωτο σε ενώσεις του αζώτου με τη διαδικασία της αζωτοδέσμευσης. Οι ειδικές αυτές κατασκευές, βρισκόμενες επάνω στη ρίζα, είναι επί της ουσίας ένα νέο φυτικό όργανο, με ιδιαίτερα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά, το οποίο ονομάζεται φυμάτιο. Το νερό και το άζωτο αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες στην φυσιολογική ανάπτυξη του φυτού, καθώς η υδατική καταπόνηση και η θρέψη με άζωτο επηρεάζουν τόσο τον ρυθμό ανάπτυξης του φυτού, το ύψος της παραγωγής όσο και την ικανότητα αζωτοδέσμευσης.

Στη συγκεκριμένη μελέτη επιλέχθηκαν φυτά δύο ειδών βίγνας, μίας τοπικής ποικιλίας προερχόμενη από την Αρτα (ARTA) - (144 φυτά) και ενός εμπορικού υβριδίου (E ή IT-97K) (σύνολο 288 φυτά), στα οποία μελετήθηκε και αξιολογήθηκε η ανάπτυξη, η παραγωγή, η αζωτοδεσμευτική τους ικανότητα κ.α. υπό την επίδραση των παραγόντων: Α) δύο διαφορετικών επιπέδων άρδευσης Β) και του εμβολιασμού με τρία διαφορετικά είδη ριζόβιων αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων του γένους *Bradyrhizobium* (ή χωρίς εμβολιασμό-Μάρτυρες). Η καλλιέργεια πραγματοποιήθηκε σε θερμοκήπιο στο χώρο του Γ.Π.Α, σε υδροπονική καλλιέργεια με χρήση υποστρώματος σάκουσ περλίτη και η διάρκεια της ήταν 90 μέρες. Πρόκειται για ένα τριπαραγοντικό πείραμα, 16 διαφορετικών μεταχειρίσεων με 3 ίδιες επαναλήψεις η κάθε μία από αυτές [σύνολο 48 υδροπονικοί σάκοι (κάθε σάκος = ένα πειραματικό τεμάχιο) με 6 φυτά ανά σάκο]. Το σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε για την εγκατάσταση των φυτών στο θερμοκήπιο, ήταν των υποδιαιρεμένων τεμαχίων σε σχέδιο τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων με τρεις επαναλήψεις. Κάθε πειραματικό τεμάχιο εκ των 48, είχε φυτά αποκλειστικά μιας εκ των δύο τύπων βίγνας, ήταν εμβολιασμένο (ή μη εμβολιασμένο-μάρτυρας) με το ίδιο στέλεχος βακτηρίου και δεχόταν συγκεκριμένη δόση άρδευσης (είτε επαρκής είτε ελλειμματική).

Αντικείμενο της μελέτης ήταν η σύγκριση και η αξιολόγηση της επίδρασης των τριών ανεξάρτητων παραγόντων στα μορφολογικά χαρακτηριστικά και στην παραγωγική απόδοση καθώς και στην ικανότητα βιολογικής αζωτοδέσμευσης της βίγνας. Μελετήθηκε λοιπόν η επίδραση αυτών: α) στο νωπό και ξηρό βάρος (g) του υπέργειου μέρους του φυτού, β) το νωπό και ξηρό βάρος (g) της ρίζας, γ) τέλος στο ποσοστό (%) ξηρής ουσίας αυτών. Στη συνέχεια, μελετήθηκαν: α) ο συνολικός αριθμός λοβών και βάρος (g) λοβών ανά φυτό, β) μέσο νωπό και ξηρό βάρος (g) λοβού και γ) το ποσοστό (%) ξηρής ουσίας αυτών. Επίσης προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα (%) του N που προέρχεται από την ατμόσφαιρα (%Ndfa), η ξηρή βιομάζα ($t\ ha^{-1}$) και το ολικό άζωτο (%) του υπέργειου τμήματος και τέλος η ικανότητα βιολογικής αζωτοδέσμευσης (BΔN) αποδιδόμενη σε $kg\ ha^{-1}$.

Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε πως μεμονωμένα ο παράγοντας της ελλειμματικής άρδευσης, της ποικιλίας και του εμβολιασμού με διαφορετικά στελέχη αζωτοβακτηρίων, καθώς και ο συνδυασμός των παραπάνω παραγόντων ασκούν σημαντική επίδραση τόσο στα χαρακτηριστικά της βιομάζας, στα αγρονομικά χαρακτηριστικά των λοβών και τέλος στην ικανότητα αζωτοδέσμευσης. Και στις δύο περιπτώσεις (Arta και IT- 97K), είναι φανερή η θετική επίδραση της επαρκούς άρδευσης καθώς και η συνεισφορά όλων των βακτηρίων στο ύψος της παραγωγής (νωπό βάρος λοβών ανά φυτό). Ειδικότερα για το εμπορικό υβρίδιο (IT- 97K) η θετική επίδραση στο ύψος της παραγωγής είναι μεγαλύτερη στον εμβολιασμό με τα αζωτοδεσμευτικά στελέχη *Bradyrhizobium sp.VULIII* (R3) και του μείγματος βακτηρίων *Bradyrhizobium sp.VULIII+enterobacter sp.* (R4). Σχετικά με τα χαρακτηριστικά της βιομάζας και στις δύο περιπτώσεις (Arta και IT-97K), τα φυτά που εφαρμόστηκε επάρκεια άρδευσης εμφάνισαν διπλάσιο νωπό υπέργειο βάρος έναντι των φυτών που δέχτηκαν ελλειμματική άρδευση (ανεξάρτητα του εμβολίου). Η μεγαλύτερη επίδραση φαίνεται από το εμβόλιο R4 σε συνδυασμό με επάρκεια άρδευσης για το εμπορικό υβρίδιο. Στην ποικιλία της Άρτας το ίδιο εμβόλιο είχε θετική επίδραση τόσο σε συνθήκες επαρκούς όσο και σε ελλειμματικής άρδευσης. Επίσης στην ποικιλία της Άρτας, η ελλειμματική άρδευση φαίνεται να οδηγεί σε αύξηση της ξηρής ουσίας υπέργειου τμήματος, ειδικά σε συνδυασμό με το εμβόλιο R2. Τέλος σχετικά με την αζωτοδέσμευση, τόσο η περιεκτικότητα του N που προέρχεται από την ατμόσφαιρα (%Ndfa) όσο και η ικανότητα βιολογικής αζωτοδέσμευσης και εδώ φαίνεται πως επηρεάστηκαν θετικά τόσο από την επάρκεια άρδευσης όσο και από τον εμβολιασμό με το μείγμα βακτηρίων (R4) στις δύο περιπτώσεις (Arta και IT-97K). Να σημειωθεί πως στο εμπορικό υβρίδιο, τα φυτά με επαρκή δόση άρδευσης που εμβολιάστηκαν με το μίγμα βακτηρίων (R4) εμφάνισαν τριπλάσια ποσά

δεσμευμένου αζώτου από τα υπόλοιπα φυτά με επάρκεια άρδευσης και πενταπλάσια από τα φυτά με ελλειμματική άρδευση.

Summary

Title of postgraduate study: Evaluation of the neutralization capacity of Cowpea (*Vigna unguiculata L.*) inoculated with different strains of rhizobia under normal and deficient irrigation conditions.

The *Vigna* is an annual, summer crop (outdoor) or all year round greenhouse cultivation, herbaceous plant. The *Vigna* is used for human food, animal feed as well as for soil fertilization. Like all legumes, *Vigna* plays an important role in the nitrogen economy, and through nitrogen capture it can contribute to the improvement and enrichment of the soil in nitrogen. Contamination of *Vigna* root with the appropriate genus of bacteria (azotobacter binding of the genus *Bradyrhizobium*) leads to the formation of specific structures, which can incorporate gas nitrogen into nitrogen compounds through the process of nitrogen capture. These special structures, located on the root, consist a new plant organ with particular morphological and physiological characteristics, called nodules. The water and nitrogen are key determinants for its normal plant growth, as water stress and nitrogen nutrition affect both plant growth rate, production height, and nitrogen-binding capacity.

In this study two varieties of plants, a local variety derived from Arta region (ARTA) - (144 plants) and a commercial hybrid (E or IT-97K) - (144 plants) (a total of 288 plants), were selected, in which their growth, production, nitrogen-binding capacity, etc. were studied and evaluated under the influence of the following factors: A) two different levels of irrigation B) and inoculation with three different species of yeast nitrogen-binding bacteria of the genus *Bradyrhizobium* (or without inoculation). The cultivation was carried out in a greenhouse in A.U.A., in hydroponic cultivation using a perlite slabs substrate and its total duration was 90 days. This was a three-factor experiment of 16 different treatments with three identical repeats for each [a total of 48 hydroponic slabs (each slabs = one experimental piece) with 6 plants per slabs]. The plan used to locate the plants in the greenhouse was of the subdivided pieces in a randomized complete group pattern with three replicates. Each experimental specimen had plants exclusively of one of the two types of virus, was inoculated (or non-inoculated-control) with the same strain of bacteria and obtained a specific irrigation dose (either sufficient or deficient).

The aim of the study was to compare and evaluate the influence of the three independent factors on the morphological characteristics and the productive performance as well as the capacity of bioavailability of *vigna*. We studied their effects : a) on the fresh and dry weight (g) of the overhead part of the plant b) the fresh and dry weight (g) of the root c)

the percentage of dry matter (%). The following were also studied: a) the total number of lobes and weight (g) of lobes per plant b) average fresh and dry weight (g) of the lobe and c) the percentage of dry matter thereof (%). The % nitrogen from the atmosphere (Ndfa), dry biomass ($t\ ha^{-1}$) and total nitrogen (%) of the oversized section were also determined (%) and finally the biological nitrogen blocking (BOD) in $kg\ ha^{-1}$.

We found that individually the factor of deficient irrigation, variety and inoculation with different strains of azotobacter, as well as the combination of the above factors exert a significant influence both on the characteristics of the biomass, the agronomic characteristics of the lobes and finally on the nitrogen-binding capacity. In both cases (Arta and IT-97K), the positive effect of adequate irrigation and the contribution of all bacteria to the production level (fresh weight of lobes per plant) was obvious. In particular, for the commercial hybrid (IT-97K), the positive effect on the production height is greater in inoculation with the *Bradyrhizobium sp. VUL111* (R3) nitrogen-binding strains and the *Bradyrhizobium sp. VUL111 + enterobacter sp.* (R4). Regarding the biomass characteristics in both cases (Arta and IT-97K), irrigated plants had twice the wet weight compared to the irrigated plants (irrespective of the inoculation). The greatest effect is shown in the R4 inoculate combined with sufficient irrigation for the commercial hybrid. The same inoculate had positive effect on both adequate and deficient irrigation conditions for Arta variety. Also, the deficient irrigation seems to lead to an increase in the dry matter of the over branch, especially in combination with the R2 inoculate for Arta variety. Finally, concerning the nitrogen capture, both the N-content of Ndfa (Ndfa) and the biological nitrogen-binding capacity seem to be positively influenced both by the irrigation capacity and the inoculation with the mixture of bacteria (R4) in the two cases (Arta and IT-97K). Notably, regarding the commercial hybrid, plants with a sufficient irrigation dose inoculated with mixture of bacteria (R4) showed triple amount of bound nitrogen compared the remaining plants with irrigation capacity and five times compared to plants with deficient irrigation.

Λέξεις κλειδιά: Αμπελοφάσουλο, Βίγνα, Cowpea, *Vigna unguiculata L.*, Legumes, Water stress, Υδατική καταπόνηση, Αζωτοδέσμευση, Nitrogen bonding.

Επιστημονική κατεύθυνση: Κηπευτικές καλλιέργειες.-Horticultural cultivation.

Ευχαριστίες

Για τη διεκπεραίωση και ολοκλήρωση της ερευνητικής εργασίας καθοριστική ήταν η συμβολή των καθηγητών μου καθώς και των συνεργατών μου. Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως και από βάθους καρδιάς τον Επιβλέποντα Καθηγητή κ. Σάββα Δημήτρη, Διευθυντή του Εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιεργειών για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου από την πρώτη στιγμή, τη δυνατότητα να εργαστώ στο χώρο αυτό, για την αμέριστη υποστήριξη και άριστη συνεργασία που είχαμε καθ' όλη τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου διατριβής. Επίσης τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον Επίκουρο καθηγητή κ. Ιωάννη Καραπάνο για την άψογη συνεργασία που είχαμε και τις χρήσιμες υποδείξεις και συμβουλές του τόσο κατά τη διάρκεια της μεταπτυχιακής εργασίας μου όσο και ως διδάσκοντας στο μαθήματα του συγκεκριμένου Π.Μ.Σ.. Επίσης ιδιαίτερες ευχαριστίες στην Επίκουρο Καθηγήτρια Ταμπακάκη Αναστασία για την ουσιαστική συμβολή της και την επιστημονική καθοδήγηση της μέσω της παροχής των εμβολίων αζωτοβακτηρίων όσο και στην βοήθεια της σε όλα τα ζητήματα τα οποία προέκυψαν μέχρι της ολοκλήρωσης της μελέτης. Ακόμα οφείλω τις θερμότερες ευχαριστίες στη μεταδιδακτορική ερευνήτρια του Εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιεργειών Ντάτση Γεωργία, η συμβολή της οποίας ήταν καθοριστική στον αρχικό προγραμματισμό της μελέτης, την εφαρμογή του πειραματικού μέρους καθώς και την πληρέστερη ολοκλήρωση αυτής. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου που από την πρώτη στιγμή με έκαναν να αισθανθώ καλοδεχούμενος στο χώρο ενώ παράλληλα διευκόλυναν με κάθε τρόπο την ενσωμάτωσή μου στο έμπνηχο δυναμικό του εργαστηρίου και ήταν πρόθυμοι να με βοηθήσουν σε κάθε δυσκολία που παρουσιαζόταν.

Ακόμα τις θερμότερες ευχαριστίες στον υποψήφιο διδάκτωρα Καραβίδα Ιωάννη, καθώς η ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στη συμβολή και τη καθοριστική βοήθεια του (Γιάννη εύχομαι επιτυχίες σε κάθε σου βήμα). Θερμές ευχαριστίες για τη βοήθεια και συμμετοχή τους, απευθύνω στους προπτυχιακούς φοιτητές, Κωστογιάννη Παναγιώτη και Καμπούκο Χρήστο, οι οποίοι συμμετείχαν στη μελέτη.

Εύχομαι ολόψυχα καλή συνέχεια στο έργο του εργαστηρίου και σε όλα τα μέλη του.

Οφείλω τέλος τη βαθειά μου ευγνωμοσύνη στους γονείς μου, τα αδέρφια και τους φίλους μου για την ηθική στήριξη, την αμέριστη συμπαράσταση και την αγάπη που μου δείχνουν όλα αυτά τα χρόνια.

Περιεχόμενα

1. Βιβλιογραφική ανασκόπηση	1
1.1 Τα ψυχανθή και η σπουδαιότητα της καλλιέργειας τους	1
1.2 Η καλλιέργεια της Βίγνας	2
1.2.1 Βοτανική ταξινόμηση	2
1.2.2 Χρησιμότητα της Βίγνας.....	3
1.2.3 Καταγωγή και διάδοση	4
1.2.4 Περιγραφή του φυτού	5
1.2.5 Κλιματικές απαιτήσεις-προσαρμοστικότητα	9
1.2.6 Αρδευτικές απαιτήσεις.....	9
1.2.7 Συγκομιδή και χρήσεις.....	10
1.3 Το μοριακό άζωτο και η βιολογική δέσμευση αζώτου	11
1.3.1 Ηδέσμευση του μοριακού αζώτου και το ενζυμικό σύμπλοκο της νιτρογενάσης	13
1.4 Μη συμβιωτική αζωτοδέσμευση	15
1.5 Συμβιωτική αζωτοδέσμευση.....	16
1.5.1 Μοντέλο συμβίωσης ριζοβίου-ψυχανθούς.....	18
1.5.2 Προσκόλληση αζωτοβακτηρίων στη ρίζα.....	19
1.5.3 Ανταλλαγή μεταβολικών προϊόντων μεταξύ ριζοβίου-ψυχανθούς	21
1.5.4 Ικανότητα αζωτοδέσμευσης και επίδραση στο φυτό ξενιστή	22
1.5.5 Επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στη φυματοποίηση	23
1.6 Νερό και αγροτική παραγωγή.....	24
1.6.1 Ποιότητα αρδευτικού νερού.....	25
1.6.2 Ελλειμματική άρδευση-Υδατική καταπόνηση	26
1.6.3 Ελλειμματική άρδευση και η φυσιολογία του φυτού	27
1.6.4 Ανθεκτικότητα της βίγνας σε ελλειμματική άρδευση	29
1.7 Υδροπονική καλλιέργεια	30
1.7.1 Χαρακτηριστικά και ιδιαιτερότητες της υδροπονικής καλλιέργειας	31
1.7.2 Συστήματα καλλιέργειας σε υποστρώματα.....	32
1.7.3 Υλικά που χρησιμοποιούνται ως υποστρώματα	33
1.7.4 Καλλιέργεια εκτός εδάφους σε σάκους με περλίτη	33
5 Τεχνικά χαρακτηριστικά του περλίτη ως υπόστρωμα.....	35

1.7.....	35
1.7.6 Θρεπτικό διάλυμα	37
1.7.7 Σύσταση θρεπτικών διαλυμάτων	37
1.7.8 Χρησιμοποιούμενα λιπάσματα	38
1.7.9 Ιδιότητες του θρεπτικού διαλύματος (pH&EC)	39
1.7.10 Παρασκευή θρεπτικού διαλύματος	41
1.7.11 Σύνθεση θρεπτικού διαλύματος	41
1.7.12 Διαδικασία υπολογισμού των χρησιμοποιούμενων λιπασμάτων	43
1.8 Προσδιορισμός της βιολογικής αζωτοδέσμευσης με τη μέθοδο της φυσικής αφθονίας του ισότοπου ¹⁵ N (¹⁵ N natural abundance)	44
1.8.1 Αρχές της μεθόδου	44
2. Υλικά και μέθοδοι.....	46
2.1 Πειραματικός σχεδιασμός.....	46
2.2 Εγκαταστάσεις διεξαγωγής του πειράματος	48
2.3 Αρδευτικό σύστημα	49
2.4 Παραγωγή και σύσταση θρεπτικού διαλύματος	50
2.5 Πρόγραμμα άρδευσης.....	53
2.6 Χρησιμοποιηθέντα βακτηριακά στελέχη ριζοβίων.....	54
2.7 Διαχείριση του φυτικού υλικού πριν τη σπορά.....	55
2.8 Διαχείριση του φυτικού υλικού κατά τη σπορά.....	55
2.9 Διαχείριση του φυτικού υλικού μετά τη σπορά	57
2.9.1 Υποστύλωση	57
2.9.2 Φυτοπροστασία	57
2.10 Πειραματικές μετρήσεις στο θερμοκήπιο	57
2.11 Μετρήσεις βιομάζας	58
2.12 Προσδιορισμός του ισότοπου ¹⁵ N (¹⁵ N natural abundance).....	59
2.13 Μετρήσεις παραγωγής	60
2.14 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	61
3. Αποτελέσματα-συζήτηση	61
4. Βιβλιογραφία.....	72
4.1 Ελληνική βιβλιογραφία	72
4.2 Ξένη βιβλιογραφία	73
4.3 Διαδικτυακή βιβλιογραφία	78

Εισαγωγή

1. Βιβλιογραφική ανασκόπηση

1.1 Τα ψυχανθή και η σπουδαιότητα της καλλιέργειάς τους

Η οικογένεια των ψυχανθών (*Fabaceae* ή *Leguminosae*) από πλευράς σπουδαιότητας κατατάσσεται δεύτερη μετά την οικογένεια των αγρωστωδών και περιλαμβάνει 500 περίπου γένη φυτών με περισσότερα από 10.000 είδη. Μπορεί να έχουν τη μορφή μικρών ποωδών θάμνων, ακόμα και δένδρων, με έρπυσα ή αναρριχώμενη ανάπτυξη. Τα άνθη τους είναι ερμαφρόδιτα, με πέντε πέταλα (τον πέτασο, τις πτέρυγες και την τρόπιδα) και δέκα στήμονες. Ο καρπός τους είναι λοβός με δυο καρπόφυλλα και περιέχει αρκετά σπέρματα. Τα φύλλα είναι σύνθετα και τα περισσότερα ψυχανθή έχουν ισχυρό πασσαλώδες ριζικό σύστημα από το οποίο αναπτύσσονται πλάγιες διακλαδώσεις (Παπακώστα – Τασοπούλου, 2005).

Τα ψυχανθή καλλιεργούνται για παραγωγή ξηρού χόρτου (σανός), σπόρου για την κτηνοτροφία και σπόρου για ανθρώπινη κατανάλωση (όσπρια). Τα σπουδαιότερα ψυχανθή που καλλιεργούνται για παραγωγή σανού, αλλά και για άλλες χρήσεις (χλωρή νομή, ενσίρωση, βόσκηση), είναι η μηδική, ο βίκος και τα τριφύλλια, ενώ τα πιο σημαντικά ψυχανθή που καλλιεργούνται για το σπόρο τους, που χρησιμοποιείται στη συνέχεια από την κτηνοτροφία, είναι τα μπιζέλια, τα κτηνοτροφικά κουκιά, τα λούπινα και η σόγια, σπόροι με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Τέλος τα ψυχανθή που καλλιεργούνται για ανθρώπινη κατανάλωση, είναι τα όσπρια και πιο συγκεκριμένα τα φασόλια, τα ρεβίθια, οι φακές, τα κουκιά, το λαθούρι και τα μπιζέλια. Τα όσπρια προμηθεύουν στον άνθρωπο τις ίδιες περίπου θερμίδες που προμηθεύει μία ίση ποσότητα σιτηρών. Είναι τροφές πλούσιες σε υδατάνθρακες (κυρίως άμυλο) και πρωτεΐνες (17-30%), φτωχές σε λάδι (1-2%) και πλούσιες σε σίδηρο και ασβέστιο. Τα ψυχανθή δεν υπερτερούν μόνο στη περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνη αλλά οι πρωτεΐνες τους είναι ανώτερης βιολογικής αξίας. Επίσης μικρή είναι η περιεκτικότητά τους σε καροτενοειδή, σε ριβοφλαβίνη και σε ασκορβικό οξύ, ενώ αντίθετα αποτελούν μια ικανοποιητική πηγή νιασίνης και θειαμίνης, είναι δε σχετικά πλούσια σε σίδηρο και ασβέστιο. Αποτελούν την κύρια πηγή πρωτεϊνών του πληθυσμού των αναπτυσσόμενων περιοχών της γης.

Μια πολύ σπουδαία λειτουργία των ψυχανθών (καλλιεργούμενα και αυτοφυή) είναι η ικανότητά τους να δεσμεύουν άζωτο από την ατμόσφαιρα και να το διοχετεύουν στο έδαφος, ώστε να εμπλουτίζεται με το σημαντικό αυτό θρεπτικό συστατικό για την ανάπτυξη των

φυτών. Επίσης χρησιμοποιείται από τα ίδια τα φυτά και έτσι μέρος των αναγκών τους σε άζωτο καλύπτεται από ατμοσφαιρικό άζωτο και όχι εξ ολοκλήρου από το έδαφος όπως συμβαίνει με τα άλλα μη ψυχανθή φυτά. Επιπρόσθετα, μέρος του δεσμευόμενου αζώτου μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τα παρακείμενα φυτά. Αυτό κατά βάση οφείλεται στις συμβιωτικές σχέσεις που αναπτύσσουν με τα αζωτοβακτήρια του γένους *Rhizobium*, τα οποία δεσμεύουν ατμοσφαιρικό άζωτο. Η αζωτοδέσμευση των ψυχανθών συμβάλλει αποφασιστικά στον κύκλο του αζώτου στη φύση και στη διατήρηση της παραγωγικότητας των εδαφικών οικοσυστημάτων σε υψηλά επίπεδα, ιδιαίτερα σε φτωχά και εδάφη.

1.2 Η καλλιέργεια της Βίγνας

Η βίγνα είναι ένα ετήσιο, θερινής καλλιέργειας (υπαίθρια) ή όλο το χρόνο ως θερμοκηπιακή καλλιέργεια, ποώδες φυτό (Εικόνα 1). Η ανάπτυξη του μπορεί να είναι νάνα, με έρπουσα ή μη διάταξη των βλαστών, ημιαναρριχώμενη και αναρριχώμενη. Θεωρείται φυτό το οποίο αντέχει σε συνθήκες έλλειψης υγρασίας και υψηλών θερμοκρασιών. Αναπτύσσεται επιτυχώς σε όλους



Εικόνα 1: Φυτά βίγνας (*Vigna unguiculata* L.) θερμοκηπιακής καλλιέργειας.

σχεδόν τους τύπους εδαφών από τα αμμώδη μέχρι και βαριά αργιλώδη. Επίσης λόγω της μεγάλης προσαρμοστικότητας, παρουσιάζει μεγάλη αντοχή σε εύρος pH, τόσο σε όξινα όσο και σε αλκαλικά εδάφη (Fery,1990). Παράλληλα φαίνεται πως έχει πολύ καλή προσαρμοστικότητα σε εδάφη με χαμηλή γονιμότητα, χάρις την ικανότητα δέσμευσης του αζώτου (Elowad and Hall,1987).

Καλλιεργείται σε πολλές περιοχές του πλανήτη κόσμο και εκτενώς σε 16 χώρες της Αφρικής, όπου η Νιγηρία και η περιοχή του Νίγηρα μαζί παράγει το 49,3% της παγκόσμιας καλλιέργειας ενώ η δεύτερη μεγαλύτερη χώρα παραγωγής είναι η Βραζιλία.

1.2.1 Βοτανική ταξινόμηση

Με το όνομα βίγνα ή μαυρομάτικο φασόλι ή Cowpea είναι γνωστά 170 περίπου είδη φυτών του γένους *Vigna* της οικογένειας των ψυχανθών. Στη χώρα μας καλλιεργούνται δύο είδη βίγνας, το *Vigna unguiculata* (Πίνακας 1) και το *Vigna mungo* που είναι γνωστά με το όνομα φασόλια. Πιο συγκεκριμένα το πρώτο είδος είναι γνωστό με διάφορα ονόματα, όπως

αμπελοφάσουλα, γυφτοφάσουλα, αραποφάσουλα, σμυρναίικα φασολάκια, βελονάκια ή μαυρομάτικα φασόλια και το δεύτερο με το όνομα πράσινο φασολάκι των Καλαμών.

Η στενή συγγένεια του γένους *Vigna* με τα γένη *Phaseolus* και *Dolichus* είχε οδηγήσει στο παρελθόν σε ταξινομική σύγχυση πού ξεκαθαρίστηκε πριν από λίγα χρόνια. Σύμφωνα με τις νεώτερες αντιλήψεις οι καλλιεργούμενες ποικιλίες βίγνας υπάγονται όλες στο είδος *Vigna unguiculata*. Το είδος αυτό περιλαμβάνει πέντε υποείδη εκ των οποίων τα δύο, *dekindtiana* και *mensesnis*, απαντώνται μόνο αυτοφυή (Blackhurst and Miller, 1980). Τα άλλα τρία υποείδη που καλλιεργούνται είναι τα *Vigna unguiculata ssp sinensis*, *V. unguiculata ssp cylindrica* και *V. unguiculata ssp sequipedalis*. Τα πέντε υποείδη του *Vigna unguiculata* είναι γόνιμα σε μεταξύ τους διασταυρώσεις, ενώ αντίθετα προσπάθειες που έγιναν να διασταυρωθούν με άλλα είδη βίγνας και ειδικότερα με τα *Vigna luteola*, *V. marine* και *V. nilotica*, που είχαν προταθεί ως πρόγονοι της καλλιεργούμενης βίγνας, απέτυχαν.

Πίνακας 1: Βοτανική ταξινόμηση του *Vigna unguiculata*.

Βασίλειο	Φυτά (Plantae)
Συνομοταξία	Αγγειόσπερμα (Angiosperms)
Ομοταξία	Δικοτυλιδόνα (Eudicots)
Τάξη	Κυαμώδη (Fabales)
Οικογένεια	Κυαμοειδή (Fabacea)
Γένος	Βίγνα (Vigna)
Είδος	Vignaunguiculata

1.2.2 Χρησιμότητα της Βίγνας

Η βίγνα χρησιμοποιείται για τροφή του ανθρώπου, για τροφή των ζώων καθώς και για χλωρή λίπανση. Για τροφή του ανθρώπου χρησιμοποιούνται είτε οι τρυφεροί λοβοί της ή τα σπέρματα της χλωρά ή ξερά. Στις υποανάπτυκτες χώρες της Αφρικής, η βίγνα αποτελεί το πιο σπουδαίο όσπριο, ειδικότερα στις ημίξηρες περιοχές. Η βίγνα αποτελεί μια εξαιρετική πηγή πρωτεϊνών, καθώς έχει υψηλή περιεκτικότητα σε λυσίνη. Τα ξηρά σπέρματα της βίγνας σπάνια χρησιμοποιούνται στη διατροφή των ζώων, αν και η θρεπτική τους αξία είναι πολύ μεγάλη. Μόνο εάν υπάρχουν πλεονάσματα τους ή είναι προσβεβλημένα από έντομα, κατεστραμμένα, ανώριμα και γενικά σπέρματα που για οποιοδήποτε λόγο είναι ακατάλληλα

για ανθρώπινη χρήση χορηγούνται στα ζώα. Επίσης μερικές φορές σκοπός της καλλιέργειας της βίγνας είναι η παραγωγή ενσιρωμένου χόρτου ή σανού.

Επιπρόσθετα, η βίγνα έχει ευνοϊκή επίδραση στις καλλιέργειες που θα την ακολουθήσουν στην αμειψισπορά. Όπως όλα τα ψυχανθή, έτσι και η βίγνα διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην οικονομία του αζώτου στη φύση, όπου μέσω της αζωτοδέσμευσης συνεισφέρει στη βελτίωση και τον εμπλουτισμό των εδαφών με άζωτο. Τέλος, πολλές φορές η βίγνα συγκαλλιεργείται με τον αραβόσιτο, όπου μέρος του δεσμευόμενου αζώτου από τη βίγνα αξιοποιείται από τον αραβόσιτο.

1.2.3 Καταγωγή και διάδοση

Η περιοχή του Transvaal στην Αφρική θεωρείται το εξελικτικό κέντρο του είδους *Vigna unguiculata*, καθώς οι παλαιότερες ποικιλίες αυτού του λαχανικού έχουν βρεθεί εκεί (Ng and Padulosi, 1997). Η Δυτική Αφρική είναι ένα σημαντικό κέντρο ποικιλομορφίας (Ng and Padulosi, 1988). Η Ινδία φαίνεται να είναι δευτερεύον κέντρο ποικιλομορφίας όπου παρατηρείται σημαντική γενετική παραλλακτικότητα και είναι πιθανό ότι η καλλιέργεια εισήχθη για πρώτη φορά στην Ινδία κατά τη νεολιθική περίοδο (Pant et al., 1982). Στις



Εικόνα 2: Οι χώρες που χρωματίζονται αποτελούν τα σημαντικότερα κέντρα παραγωγής βίγνας παγκοσμίως.

δύο αυτές περιοχές άρχισε να διαμορφώνεται και να καλλιεργείται το υποείδος *sinensis*, ενώ στην Ινδία αναπτύχθηκαν και τα άλλα δύο καλλιεργούμενα υποείδη, τα *cylindrical* και *sequipedalis*.

Η *Vigna unguiculata ssp dekindtiana* πιστεύεται ότι είναι ο άμεσος προγονός της καλλιεργήσιμης βίγνας, καθώς μέλη αυτής της ομάδας μπορούν να υβριδοποιηθούν με καλλιεργήσιμη βίγνα. Φυσικά υβρίδια μεταξύ καλλιεργούμενης και άγριας (*ssp dekindtiana*) βίγνας σχηματίζουν πληθυσμούς σε ορισμένα μέρη της Δυτικής Αφρικής (Rawal, 1976). Παρά το γεγονός μεταφοράς γενετικού υλικού λόγω διασταυρώσεων, και της εκτεταμένης ποικιλίας μορφολογικών και φαινοτυπικών χαρακτηριστικών, η γενετική παραλλακτικότητα στην γονιδιακή δεξαμενή της καλλιεργούμενης βίγνας φαίνεται να είναι περιορισμένη. Σε αρκετές πρόσφατες μελέτες αξιολόγησης της γενετικής παραλλακτικότητας που βασίζονται σε ισοένζυμα (Panella and Gepts, 1992; Vaillancourt et al., 1993), στην ποικιλία πρωτεΐνης

κατά την αποθήκευση του σπόρου (Panella et al.,1993) και σε DNA χλωροπλάστη (Vaillancourt and Weeden,1992), η καλλιεργούμενη βίγνα έχει δειχθεί ότι έχει στενή γενετική βάση που υποδηλώνει ότι η καλλιέργεια έχει περάσει μια «γενετική συμφόρηση» (genetic bottleneck) κατά τη διάρκεια της εξημέρωσης.

Η βίγνα καλλιεργείται σε περίπου 7 εκατομμύρια εκτάρια σε ζεστές και θερμές περιοχές του κόσμου (Rachie,1985). Τα κυριότερα κέντρα παραγωγής βίγνας είναι η Νιγηρία ,όπου μαζί με την περιοχή του Νίγηρα, αποτελούν περίπου το 50% της παγκόσμιας παραγωγής (Εικόνα 2). Ακολουθεί η Αμερική , με σημαντικότερες χώρες παραγωγής την Βραζιλία και τις Ηνωμένες Πολιτείες. Τέλος η Ινδία ,η Αιθιοπία καθώς και η Μαδαγασκάρη καταλαμβάνουν ένα σημαντικό ποσοστό της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής.

1.2.4 Περιγραφή του φυτού

Όπως προαναφέρθηκε, η καλλιεργούμενη βίγνα είναι ετήσιο και ποώδες φυτό, η ανάπτυξη του μπορεί να είναι νάνα με έρπουσα ή μη διάταξη των βλαστών, ημι αναρριχώμενη και αναρριχώμενη. Το επιστημονικό της όνομα είναι *Vigna unguiculata* και διακρίνεται, όπως προαναφέρθηκε στα ακόλουθα τρία υποείδη:

A) *Vigna unguiculata ssp cylindrical*. Παλαιότερα ήταν γνωστή ως *Vigna Catjang*. Τα φυτά έχουν όρθια ανάπτυξη και δεν ξεπερνούν σε ύψος τα 60 εκατοστά. Τα άνθη τους έχουν λευκό χρώμα με μία ρόδινη ή ιώδη απόχρωση. Οι λοβοί τους είναι μικροί, μήκους μόλις 6-12 εκατοστών. Μικρά είναι και τα σπέρματα τους που έχουν μήκος 5-6 χιλιοστά και σχήμα κυλινδρικό. Το υποείδος αυτό που καλλιεργείται στην Ασία έχει μια πολύ μακριά περίοδο αναπτύξεως.

B) *Vigna unguiculata ssp sequipedalis*. Τα φυτά έχουν έρπουσα ανάπτυξη και οι βλαστοί τους, που μπορεί επίσης και να αναρριχώνται, αποκτούν μήκος μέχρι και 3 μέτρα. Τα άνθη τους είναι μεγάλα, πρασινοκίτρινα, μονήρη ή ανά δύο στην άκρη μακρών μασχαλαίων αξόνων. Οι λοβοί τους είναι κυλινδρικοί, λεπτοί, κρεμαστοί, σαρκώδεις, με μήκος από 30cm έως και περισσότερο από 1m. Σε κάθε λοβό περιέχονται πολλά νεφροειδή σπέρματα, μήκους 8-12mm το καθένα. Καλλιεργείται κυρίως για τους χλωρούς λοβούς του.

C) *Vigna unguiculata ssp unguiculata* ή *Vigna unguiculata ssp sinensis*. Παλαιότερα ήταν γνωστή ως *Vigna sinensis*. Αυτό είναι το κυριότερο υποείδος και περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό ποικιλιών που καλλιεργούνται στην Αφρική, στη νότια Ασία, στην περιοχή της Μεσογείου και στην Αμερική. Στην Αφρική καλλιεργείται μεγάλη ποικιλία τύπων που κυμαίνονται από μικρά όρθια αναπτύξεως φυτά που ωριμάζουν σε δύο μήνες ή και λιγότερο

έως φυτά με έρπουσα εύρωστη ανάπτυξη που μπορεί να επεκτείνονται προς όλες τις κατευθύνσεις μέχρι και 4m και που ωριμάζουν μόνο μετά από 8 ή και περισσότερους μήνες. Στο συγκεκριμένο πείραμα η ποικιλία και το υβρίδιο βίγνας που χρησιμοποιήθηκαν ανήκουν στο τελευταίο υποείδος. Παρακάτω γίνεται αναφορά στους βοτανικούς χαρακτήρες των φυτών που ανήκουν στο υποείδος αυτό:

✚ Φύλλα:

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων της βίγνας παρουσιάζουν μεγάλη παραλλακτικότητα ανάμεσα στις διάφορες ποικιλίες. Με βάση το γεγονός αυτό, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων αποτελούν ένα σημαντικό χαρακτηριστικό για την διάκριση της εκάστοτε ποικιλίας. Γενικά τα φύλλα τους είναι σύνθετα αποτελούμενα από τρία έμμισχα, στιλπνά, λεία φυλλάρια και μοιάζουν με εκείνα του κοινού φασολιού (Εικόνα 3).



Εικόνα 3: Το σύνθετο φύλλο της βίγνας.

✚ Ριζικό σύστημα:

Το ριζικό σύστημα της βίγνας είναι ένα ισχυρό πασσαλώδες ριζικό σύστημα, αποτελούμενο από μία κεντρική ρίζα με πολυάριθμες δευτερεύουσες πλευρικές διακλαδώσεις. Σε ευνοϊκές για το φυτό συνθήκες εδάφους (ύπαρξη υγρασίας και κατάλληλη κοκκομετρία του εδάφους), ο κύριος όγκος του ριζικού συστήματος βρίσκεται κοντά στην επιφάνεια του εδάφους. Υπό συνθήκες έλλειψης υγρασίας, το φυτό αναπτύσσει την κεντρική του ρίζα σε μεγαλύτερο βάθος



Εικόνα 4: Πασσαλώδες ριζικό σύστημα με ανεπτυγμένες πλάγιες διακλαδώσεις ριζών καθώς και με παρουσία φυματίων.

εδάφους, γεγονός που τον προσφέρει αντοχή σε ξερικές συνθήκες.

Τέλος, με δεδομένο την ύπαρξη αζωτοβακτηρίων στη ριζόσφαιρα του φυτού, αναπτύσσονται πάνω στη ρίζα κάποιες κατασκευές με μορφή εξογκώσεων, τα λεγόμενα

φυμάτια (Εικόνα 4). Τα φυμάτια εμφανίζονται τόσο στη κεντρική ρίζα, όσο και στις

πλευρικές διακλαδώσεις της. Το σχήμα των φυματίων είναι σφαιρικά, το μέγεθος τους ποικίλει ανάλογα με τη ποικιλία και βρίσκονται τόσο στη κύρια ρίζα όσο και στις διακλαδώσεις της.

Άνθη:

Τα άνθη τους έχουν το τυπικό σχήμα της οικογένειας των ψυχανθών, από το οποίο προκύπτει και το όνομα μας, λόγω της παρομοίωσης τους με τις ψυχές (πεταλούδες). Ο κάλυκας και η στεφάνη είναι πενταμερής, οι στήμονες (9 στον αριθμό) είναι ενωμένοι και τέλος ο ύπερος παρουσιάζει τριχωτή μορφή με χαρακτηριστική ακίδα στην άκρη. Ο ύπερος και η τρόπιδα συνήθως είναι ευθείς. Στο κάτω μέρος τους άνθους υπάρχουν βράκτια φύλλα, που εύκολα πέφτουν. Το χρώμα τους μπορεί να είναι λευκό, κίτρινο, μωβ, ροζ και μπλε και εκφύονται από τις μασχάλες των φύλλων. Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό γνώρισμα των φυτών της βίγνας ο μακρύς μίσχος που συγκρατεί τα άνθη και τους λοβούς, όπου το μήκος του κυμαίνεται στα 20εκ.- 30εκ.(Εικόνα 5). Η άνθηση είναι κλιμακωτή και συνήθως αναστέλλεται το φθινόπωρο λόγω της έλευσης των χαμηλότερων θερμοκρασιών (σε υπαίθρια καλλιέργεια). Η αυτογονιμοποίηση αποτελεί σχεδόν τον κανόνα.



Εικόνα 5: Μακρύς μίσχος (αριστερά) πάνω στον οποίο συγκρατείται το άνθος (δεξιά).

Λοβοί:

Οι λοβοί καθώς και τα σπέρματά τους παρουσιάζουν, επίσης, ένα μεγάλο φάσμα μορφολογικών χαρακτηριστικών ανάλογα με την ποικιλία. Στη πλειοψηφία των περιπτώσεων οι λοβοί τους είναι κυλινδρικοί, λεπτοί, ευθύς ή ελαφρώς κυρτοί και αποκτούν διάφορα μήκη τα οποία κυμαίνονται από 10 έως και 30cm (Εικόνα 6). Το χρώμα του λαμβάνει διάφορες αποχρώσεις του πράσινου, από ανοιχτό έως βαθύ πράσινο, ανάλογα με το

στάδιο ωριμότητας του λοβού, την έκθεση του στην ηλιακή ακτινοβολία κ.α. Τέλος η κατασκευή των λοβών είναι τέτοια ώστε επιτρέπει τη δημιουργία χωρισμάτων ανάμεσα στα σπέρματα εντός του λοβού.



Εικόνα 6: Ωριμοι λοβοί βίγνας.

Σπέρματα:

Τα σπέρματα των φυτών της βίγνας βρίσκονται στο εσωτερικό των λοβών (Εικόνα 7). Και εδώ υπάρχουν διαφορές παραλλακτικότητες μεταξύ των ποικιλιών. Έχουν σχήμα σφαιρικό έως νεφροειδή, που μοιάζει αρκετά με του φασολιού και χρώμα συνήθως λευκό με μια μαύρη περιοχή γύρω από το μάτι, από όπου παίρνουν και το όνομα μαυρομάτικα. Γενικά, ο αριθμός, το σχήμα και το μέγεθος των σπερμάτων ανά καρπό εξαρτάται κυρίως από την εκάστοτε καλλιεργούμενη ποικιλία.

Ο σπόρος στη γενική περίπτωση αποτελείται από το έμβρυο και το περίβλημα του σπόρου, αποτελούμενο από δύο κοτυληδόνες ή κοτύλες και ένα συγκριτικά μικρό άξονα που βρίσκεται μεταξύ των δύο κοτυληδόνων. Οι κοτυληδόνες είναι πλούσιες σε αποθησαυριστικές ουσίες με σκοπό τη θρέψη του εμβρύου κατά τη βλάστηση του. Στην μία άκρη του εμβρύου που βλέπει προς την περιοχή της ραφής βρίσκεται η άκρη της ρίζας, η οποία αποτελείται από το επάκριο μερίστωμα της ρίζας και από την καλύπτρα.



Εικόνα 7: Σπέρματα βίγνας, διακρίνεται επίσης ο αποξηραμένος λοβός στον οποίο εμπεριέχονται.

Στην άλλη άκρη του άξονα της ραφής, βρίσκεται το επάκριο μερίστωμα του βλαστού ανάμεσα στις καταβολές των πραγματικών φύλλων του μελλοντικού φυτού. Σε κάποιο σημείο του άξονα του εμβρύου που βρίσκεται πολύ κοντά στην κορυφή του βλαστού είναι προσκολλημένες οι κοτυληδόνες που αποτελούν τα πρώτα φύλλα του φυτού κατά την έκπτυξη του. Κάτω από το σημείο εκφύσεως των κοτυληδόνων και προς την πλευρά του ριζιδίου βρίσκεται το υποκοτύλιο, ενώ πάνω από το σημείο αυτό και προς την πλευρά της άκρης του βλαστού βρίσκεται, το επικοτύλιο. Το υποκοτύλιο και το επικοτύλιο είναι δύο όργανα του έμβρυο που παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία του φυτρώματος του σπέρματος.

1.2.5 Κλιματικές απαιτήσεις-προσαρμοστικότητα

Η βίγνα είναι φυτό που αναπτύσσεται κυρίως σε περιοχές με ζεστά κλίματα, ενώ δεν δύναται ευδοκιμεί σε ψυχρά κλίματα ως υποτροπικό-τροπικό φυτό. Η βίγνα σπέρνεται την άνοιξη όταν η θερμοκρασία του εδάφους φθάσει τους 15°C και έχει περάσει ο κίνδυνος των παγετών. Εάν η σπορά γίνει σε κρύο, υγρό έδαφος ο σπόρος είτε σαπίζει είτε υπάρχουν μεγάλες απώλειες και παράγονται καχεκτικά φυτά. Σε σύγκριση με τα περισσότερα ψυχανθή η βίγνα ανέχεται καλύτερα τις υψηλές θερμοκρασίες. Οι ιδανικές θερμοκρασίες για ανάπτυξή της κυμαίνονται 27-29 °C για την ημέρα και 22-24 °C για τη νύχτα (Rachie and Roberts, 1974) ενώ η διάρκεια ημέρας για εισαγωγή στην ανθοφορία κυμαίνεται μεταξύ 8 έως 14 ωρών, με το μεγαλύτερο ποσοστό ποικιλιών να χαρακτηρίζεται ως ουδέτερο στη φωτοπερίοδο (Wienk, 1963). Τα άνθη της δεν έχουν την τάση να πέφτουν τόσο εύκολα κατά τη διάρκεια των υψηλών θερμοκρασιών των καλοκαιρινών μηνών, αν και οι πολύ υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να προκαλέσουν μερική πτώση των ανθέων και των λοβών. Σε αντίθεση με άλλα ψυχανθή, η βίγνα είναι πολύ ευπαθής ακόμη και στις πιο ελαφριές παγωνιές της άνοιξης ή του φθινοπώρου. Σε δριμύτερες παγωνιές καταστρέφεται πλήρως.

Η βίγνα αντέχει τη μέτρια σκιά, όπως κάτω από δέντρα, αν και σε τέτοιες περιπτώσεις τα φυτά προσβάλλονται πιο πολύ από ασθένειες. Γενικά κάτω από συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας γίνεται ευπαθής σε αρκετές ασθένειες. Ακόμα, η έλλειψη της απαραίτητης υγρασίας επηρεάζει δυσμενώς τη βλαστική ανάπτυξη του φυτού, ενώ η παραγωγή σπόρου επηρεάζεται λιγότερο. Τέλος, ένα πλεονέκτημα της ξερικής καλλιέργειας βίγνας είναι ότι ο σπόρος ωριμάζει πιο ομοιόμορφα σε σύγκριση με τις ποτιστικές καλλιέργειες.

1.2.6 Αρδευτικές απαιτήσεις

Σχετικά με την άρδευση, η βίγνα συγκαταλέγεται στα φυτά τα οποία ανταποκρίνονται θετικά στην εφαρμογή άρδευσης. Παρόλα αυτά, μπορεί να αναπτυχθεί και χωρίς συστηματική άρδευση, με το νερό των βροχών που αποθηκεύεται σε εδάφη που έχουν καλή αποθηκευτική ικανότητα. Εν τούτης όμως για να ληφθούν υψηλές αποδόσεις χρειάζεται άρδευση. Στις ψυχρότερες και υγρές περιοχές μπορεί να γίνει μια άρδευση του εδάφους πριν τη σπορά, ώστε να γεμίσει το έδαφος με νερό σε βάθος 1.5-2m ή να γίνει μία προάρδευση και μια απλή άρδευση κατά την εποχή της ανθήσεως.

Στις ξηρότερες και θερμότερες περιοχές μπορεί να χρειαστούν μέχρι και 3 ή 4 αρδεύσεις σε υπαίθρια καλλιέργεια. Ειδικότερα τα φυτά θα πρέπει να έχουν στη διάθεση τους νερό από την αρχή της άνθησης μέχρις ότου δέσουν ικανοποιητικά οι πρώτοι λοβοί. Μετά από αυτή τη περίοδο, συνήθως η άρδευση δεν είναι απαραίτητη.

1.2.7 Συγκομιδή και χρήσεις

Ένα από τα κοινότερα χαρακτηριστικά της βίγνας είναι η ανομοιόμορφη ωρίμανση των λοβών της. Την ίδια εποχή μπορεί να υπάρχουν πάνω στα φυτά άνθη, πράσινοι και ώριμοι λοβοί σε διάφορες αναλογίες. Για τον λόγο αυτό, όταν το φυτό καλλιεργείται με κατεύθυνση την παραγωγή λοβών, η συγκομιδή των καρπών γίνεται τμηματικά σε χέρια. Στις περισσότερες περιοχές του κόσμου και μάλιστα όταν πρόκειται για μικρές εκτάσεις η συγκομιδή της βίγνας γίνεται με το χέρι.

Ο τρόπος αυτός είναι ο πιο δαπανηρός, αλλά οι απώλειες από το τίναγμα των σπερμάτων είναι ελάχιστες, γιατί η συλλογή γίνεται τμηματικά καθώς ωριμάζουν οι λοβοί. Οι ώριμοι λοβοί συλλέγονται σε σάκους ή κλούβες και κατόπιν αποθηκεύονται σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας και υψηλής θερμοκρασίας μέχρι να ξεραθούν τελείως. Μετά την ξήρανση τους γίνεται ο αποχωρισμός των σπερμάτων. Ο τρόπος αυτός συλλογής δίνει τις μεγαλύτερες αποδόσεις από όλους τους άλλους τρόπους συλλογής και η ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων είναι η καλύτερη. Όταν η βίγνα συγκαλλιεργείται η συλλογή με το χέρι είναι ο μόνος πρακτικός τρόπος. Άλλος τρόπος συλλογής είναι να ξεριζωθούν ή να κοπούν τα φυτά στη βάση τους και στη συνέχεια να τοποθετηθούν σε στοίβες και να παραμείνουν στον αγρό σε στοίβες μέχρι να ξεραθούν, οπότε στη συνέχεια γίνεται ο αλωνισμός. Όταν οι καλλιεργούμενες εκτάσεις είναι μεγάλες χρησιμοποιούνται διάφορες μηχανές για την κοπή των φυτών, όπως είναι οι χορτοκοπτικές μηχανές. Η κοπή γίνεται αφού έχουν ωριμάσει τουλάχιστον το 1/2 με 2/3 των λοβών. Παρά το γεγονός ότι στο στάδιο αυτό οι απώλειες από το τίναγμα των σπερμάτων είναι αυξημένες εν τούτοις το όφελος είναι πολύ μεγαλύτερο από μια προτιμότερη κοπή όπου οι άγουροι λοβοί θα είναι πολύ περισσότεροι. Σε λίγες τέλος περιπτώσεις χρησιμοποιούνται ειδικές μηχανές που συλλέγουν μόνο τους λοβούς από τα φυτά. Απαραίτητη προϋπόθεση για τη χρησιμοποίηση των μηχανών αυτών είναι η γραμμική σπορά και κυρίως η ωρίμανση και ξήρανση των λοβών πάνω στα φυτά. Ο αλωνισμός των λοβών γίνεται με τις κοινές αλωνιστικές μηχανές αφού πρώτα προηγουμένως ρυθμιστούν κατάλληλα.

Η συγκομιδή της βίγνας που προορίζεται για την παραγωγή σανού γίνεται όταν οι πρώτοι λοβοί αρχίσουν να παίρνουν κίτρινο χρώμα. Η καλύτερη ποιότητα σανού λαμβάνεται όταν οι λοβοί έχουν πλήρως αναπτυχθεί και μερικοί από αυτούς έχουν μάλιστα ωριμάσει. Αν καθυστερήσει η συγκομιδή τα στελέχη γίνονται ξυλώδη και χάνονται μερικά φύλλα, ενώ η πιο πρώιμη συγκομιδή δημιουργεί αρκετές δυσκολίες στη ξήρανση. Όταν η συγκομιδή γίνει στην κατάλληλη εποχή και ακολουθηθεί από καλή αποξήρανση, ο σανός που λαμβάνεται έχει μεγάλη θρεπτική αξία και τρώγεται από όλα τα ζώα παραγωγικής κατεύθυνσης. Η βίγνα που

προορίζεται για ενσίρωση συνήθως συγκαλλιεργείται ή αναμιγνύεται κατά την ενσίρωση με αραβόσιτο ή σόργο. Σε αυτή τη περίπτωση η κοπή γίνεται όταν οι πρώτοι λοβοί αρχίζουν να παίρνουν κίτρινο χρώμα.

Τέλος συνηθίζεται η χρησιμοποίηση της για χλωρή λίπανση. Η ενσωμάτωση του φυτικού υλικού στο έδαφος γίνεται στο στάδιο της ανθοφορίας, για τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα, με όργωμα. Κατά αυτό τον τρόπο, όχι μόνο αυξάνει τη γονιμότητα του εδάφους, αλλά βελτιώνει και τη φυσική του κατάσταση, κάνοντας τα βαριά αργιλώδη εδάφη πιο ελαφρά και τα αμμώδη πιο συνεκτικά.

1.3 Το μοριακό άζωτο και η βιολογική δέσμευση αζώτου

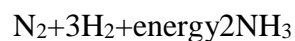
Το μοριακό άζωτο (N_2) είναι το κύριο συστατικό (περίπου 80%) της ατμόσφαιρας της γης. Το άζωτο ανακαλύφθηκε από τον Daniel Rutherford το 1772. Βρέθηκε να είναι τόσο αδρανές που ο Αντουάν Λαβουαζιέ το ονόμασε “άζωτο”, που σημαίνει “χωρίς ζωή”. Το μοριακό άζωτο, διάζωτο (N_2), έχει έναν ισχυρά τριπλό δεσμό και έτσι δύσκολα δέχεται ή δωρίζει ηλεκτρόνια. Σαν αέριο ή υγρό, το άζωτο είναι άχρωμο και άοσμο. Υπάρχουν δύο αλλοτροπικές μορφές στερεού αζώτου, με τη μετάβαση από την α στη β μορφή να λαμβάνει χώρα στους $-237^{\circ}C$ (Cheng, 2008).

Το άζωτο είναι ένα στοιχείο που αποτελεί ουσιαστικό συστατικό πολλών χημικών ενώσεων βασικών για τη ζωή, όπως οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Ωστόσο, το διατομικό άζωτο (N_2) δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί άμεσα από τα φυτά, για την κατασκευή των χημικών ουσιών που απαιτούνται, για την επιβίωση και ανάπτυξη τους. Για το λόγο αυτό υπάρχουν φυσικοί και βιοχημικοί μηχανισμοί οι οποίοι μετατρέπουν το άζωτο αυτής της μορφής σε διαθέσιμη μορφή (εικόνες 8&9). Πριν από την ενσωμάτωσή του σε ένα ζωντανό σύστημα, το μοριακό άζωτο πρέπει πρώτα να συνδυαστεί με το στοιχείο του υδρογόνου. Αυτή η διαδικασία αναγωγής του N_2 , που είναι γνωστή ως «καθήλωση ή δέσμευση του αζώτου ή αζωτοδέσμευση ή N- σταθεροποίηση» μπορεί να επιτευχθεί με χημική ή βιολογική μέθοδο (Hubbell και Kidder, 2003). Ο κύκλος του αζώτου αποτελείται από τρεις σημαντικές διαδικασίες, την αζωτοδέσμευση, την νιτροποίηση και την απονιτροποίηση.

Είναι το πιο συχνά απαντώμενο, περιοριστικό, θρεπτικό συστατικό στοιχείο για την ανάπτυξη των φυτών. Αυτό προκύπτει από τη συνεχή απώλεια του αποθεματικού αζώτου, σε μορφή ενώσεων η ελεύθερο, το οποίο είναι παρόν στο έδαφος και είναι διαθέσιμο για χρήση από τα φυτά. Διαδικασίες που μειώνουν συνεχώς το αποθεματικό άζωτο είναι η μικροβιακή απονιτροποίηση, η διάβρωση του εδάφους, η έκπλυση, η χημική πτητικότητα και η απόπλυση. Επομένως, πρέπει να αναπληρώνονται περιοδικά τα αποθέματα αζώτου,

προκειμένου να διατηρείται ένα επαρκές (μη περιοριστικό για την ανάπτυξη των φυτών) επίπεδο για τη φυτική παραγωγή. Η προσθήκη αζώτου στο έδαφος συνήθως επιτυγχάνεται με τη χρήση χημικών ενώσεων αζώτου με τη μορφή των εμπορικών ανόργανων λιπασμάτων, με την προσθήκη διαφόρων ειδών κοπριάς (οργανικές μορφές λιπάσματος), ενσωμάτωση στο έδαφος φυτικών ειδών (νωπή λίπανση) είτε τέλος από τη δραστηριότητα των βιολογικών συστημάτων δέσμευσης αζώτου.

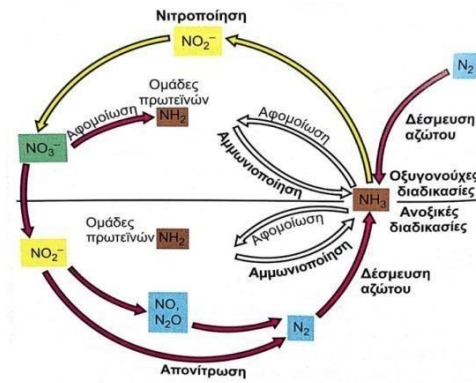
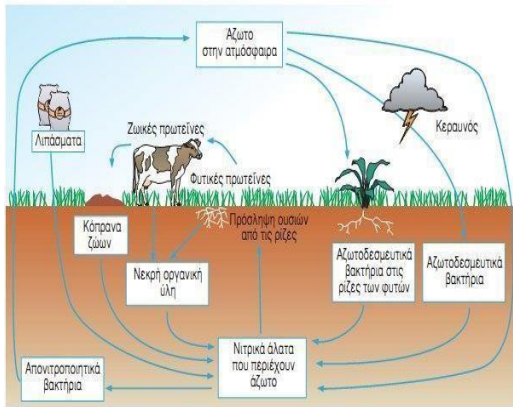
Η γενική χημική αντίδραση αναγωγής του αζώτου είναι η ίδια τόσο για χημικές όσο και για βιολογικές διαδικασίες:



Η αναγωγή του αζώτου, είτε επιτυγχάνεται χημικά είτε βιολογικά, απαιτεί ένα μεγάλο ποσό ενέργειας. Η χημική διεργασία που χρησιμοποιείται για την παραγωγή λιπασμάτων χρησιμοποιεί τεράστιες ποσότητες ορυκτών καυσίμων ως πηγή ηλεκτρονίων, ατόμων υδρογόνου και ενέργειας. Οι πηγές αυτές είναι μη ανανεώσιμες και συνεπώς εξαντλήσιμες. Στην βιολογική αζωτοδέσμευση οι μικροοργανισμοί αποκτούν την απαιτούμενη ενέργεια από την οξειδωση των υδατανθράκων, με τους οποίους τρέφονται, οι οποίοι που έχουν συσταθεί από τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα των φυτών. Φυσικά η ενέργεια για τη φωτοσύνθεση προέρχεται από το φως του ηλίου. Συνεπώς η ενέργεια για τη βιολογική αζωτοδέσμευση, εμμέσως, προέρχεται από μια καθολικά διαθέσιμη και ανεξάντλητη πηγή ενέργειας.

Η βιολογική δέσμευση αζώτου είναι η βασικότερη διαδικασία μέσω της οποίας το ατμοσφαιρικό άζωτο μετατρέπεται σε αφομοιώσιμες μορφές για τα φυτά και τα ζώα και συνεισφέρει 100-290 Kg αζώτου/εκτάριο/έτος στη βιόσφαιρα (Hsu and Buckley,2009). Προσφέρει τα μεγαλύτερα ποσά αφομοιώσιμων μορφών αζώτου και εκτιμάται ότι έχει διπλάσια συνεισφορά, παγκοσμίως, από το ποσό που δεσμεύεται μη βιολογικά.

Η ικανότητα ενός βιολογικού συστήματος να δεσμεύει το άζωτο εξαρτάται από την παρουσία ενός συγκεκριμένου ενζυμικού συμπλόκου που είναι γνωστό ως νιτρογενάση. Τουλάχιστον, 90 γένη εξειδικευμένων μικροοργανισμών(αζωτοδεσμευτικοί) είναι γνωστό ότι έχουν το ενζυμικό σύμπλοκο της νιτρογενάσης (Unkovich and Baldock,2008). Αυτοί οι μικροοργανισμοί δημιουργούν δύο τύπους αζωτοδέσμευσης, ανάλογα με τη σχέση που αναπτύσσουν με το φυτό, μη συμβιωτική αζωτοδέσμευση ή συμβιωτική αζωτοδέσμευση (Tilak et al.,2005).

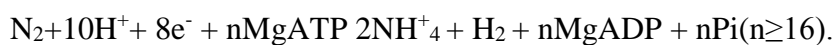


Εικόνα 8&9: Εισροές, εκροές και μεταβολικές διαδικασίες που απαρτίζουν τον κύκλο του αζώτου στη φύση.

1.3.1 Η δέσμευση του μοριακού αζώτου και το ενζυμικό σύμπλοκο της νιτρογενάσης

Η γενική χημική αντίδραση του αζώτου ($N_2 + 3H_2 + \text{energy} \rightarrow 2NH_3$), όπως αναφέρθηκε, είναι ίδια και για τη βιολογική και για τη χημική δέσμευση του αζώτου (Hubbell and Kidder, 2003). Ουσιαστικά πρέπει να σπάσει ο τριπλός δεσμός και τα τρία άτομα υδρογόνου να ενωθούν με καθένα από τα τρία άτομα αζώτου. Ο κύκλος του αζώτου περιλαμβάνει πέντε αναγωγικές (το ελάχιστο) και τρεις οξειδωτικές αντιδράσεις (Ferguson, 1998). Η βιολογική αζωτοδέσμευση γίνεται μέσω της δράσης του ενζυμικού συμπλόκου της νιτρογενάσης. Η νιτρογενάση είναι ένα ενζυμικό σύμπλοκο ασταθές παρουσία οξυγόνου και τα γονίδια που την κωδικοποιούν είναι πολύ συντηρημένα μεταξύ των αζωτοδεσμευτικών οργανισμών (Franche et al., 2009).

Η νιτρογενάση καταλύει την μετατροπή του N_2 σε NH_4 , όπως παρουσιάζεται από την εξίσωση (Halbleib and Luden, 2000):

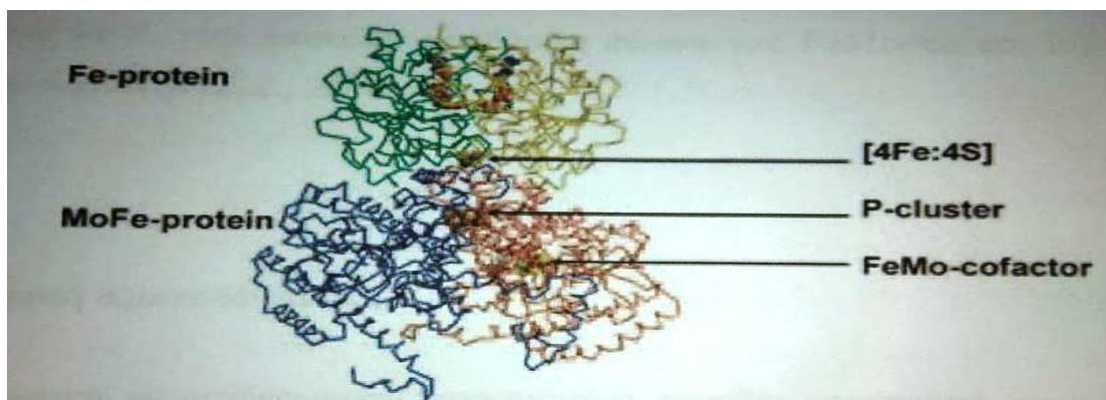


Το ενζυμικό σύμπλεγμα της νιτρογενάσης αποτελείται από δύο πρωτεϊνικά μόρια, όπου η συνεργασία τους είναι απαραίτητη για τη δέσμευση και την αναγωγή του μοριακού αζώτου. Αποτελείται από δύο μεταλλοπρωτεΐνες, οι οποίες παρουσιάζουν υψηλά συντηρημένη ακολουθία και δομή ανάμεσα στους αζωτοδεσμευτικούς μικροοργανισμούς (Dean and Jacobsen, 1992). Το ένα πρωτεϊνικό μόριο ονομάζεται δινιτρογενάση ή σίδηρο-μολυβδαινό-πρωτεΐνη (Fe-Mo-πρωτεΐνη). Έχει μοριακό βάρος περίπου 250 kDa και αποτελείται από δύο ετεροδιμερή (είναι δηλαδή ένα ετεροτετραμερές της μορφής $\alpha_2\beta_2$), που κωδικοποιούνται από τα *nifD* και *nifK* γονίδια (Zehr et al., 2003) και περιλαμβάνει δύο άτομα μολυβδαινίου ανά μόριο, σε αντιστοιχία Fe-MoS σύμπλοκα. Σκοπός της λειτουργίας της είναι να δρα ως ενεργό κέντρο για την αναγωγή του αζώτου. Το δεύτερο πρωτεϊνικό μόριο

ονομάζεται Fe-πρωτεΐνη ή αναγωγάση της δινιτρογενάσης και έχει μοριακό βάρος περίπου 70 kDa. Αποτελείται από δύο πανομοιότυπες υπομονάδες(είναι δηλαδή ένα διμερές της μορφής α_2) και κωδικοποιείται από το *nifH* γονίδιο. Περιέχει ένα σύμπλοκο $[4 \text{ Fe4S}]_2^-$ ανά διμερές. Παίζει το ρόλο του κέντρου ενεργοποίησης των ηλεκτρονίων που μεταβιβάζονται, ένα κάθε φορά, στη δινιτρογενάση. Η δομή του ενζυμικού συμπλόκου της νιτρογενάσης παρουσιάζεται στην εικόνα δεξιά (Εικόνα 10).

Η νιτρογενάση έχει την ικανότητα, εκτός από το μοριακό άζωτο να ανάγει και μια σειρά από άλλα υποστρώματα όπως για παράδειγμα τα πρωτόνια που ανάγονται προς μοριακό υδρογόνο ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$). Παρουσία επαρκών συγκεντρώσεων ακετυλενίου, η νιτρογενάση το ανάγει μετατρέποντας το σε αιθυλένιο: ($\text{CH}\equiv\text{CH} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$). Η αντίδραση αυτή χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της δραστηριότητας της νιτρογενάσης (Heldt, 1999).

Η δέσμευση του μοριακού αζώτου και η παραγωγή του υδρογόνου γίνεται από την δινιτρογενάση, ενώ για κάθε ηλεκτρόνιο που ενεργοποιείται και μεταφέρεται μέσω της νιτρογενάσης απαιτείται υδρόλυση δύο δεσμών ATP. Αναλυτικότερα τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται από το δότη ηλεκτρονίων (φερρεδοξίνη ή φλαβοδοξίνη) στην Fe-πρωτεΐνη, ένα κάθε φορά, και στη συνέχεια στην Fe-Mo-πρωτεΐνη. Η μεταφορά των ηλεκτρονίων μεταξύ των δύο συστατικών της νιτρογενάσης προϋποθέτει το σχηματισμό συμπλόκου μεταξύ τους, για τον οποίο απαιτείται η ενεργοποίηση της Fe-πρωτεΐνης, με τη δέσμευση δυο μορίων MgATP. Η μεταφορά ηλεκτρονίων στο άζωτο συνδέεται με την υδρόλυση των δύο μορίων MgATP σε MgADP. Στη συνέχεια, το σύμπλοκο διαχωρίζεται και η Fe-πρωτεΐνη ανάγεται με το πέρασμα ενός ηλεκτρονίου από τη φερρεδοξίνη, αντικαθιστά τα δύο μόρια MgADP με δύο MgATP και ο κύκλος αρχίζει εκ νέου. Γίνεται φανερό, ότι η αντίδραση που καταλύει η νιτρογενάση είναι ενεργειακά δαπανηρή, αφού καταναλώνονται 16 ATP και 8 ηλεκτρόνια ανά αναγόμενο μόριο αζώτου (Zehr et al., 2003). Η δράση της νιτρογενάσης αναστέλλεται παρουσία νιτρικών ιόντων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πηγές αζώτου καθώς και παρουσία αμμωνιακών ιόντων.



Εικόνα 10: Εμφανίζεται το ενζυμικό σύμπλοκο της νιτρογενάσης (Fe-πρωτεΐνη και MoFe-πρωτεΐνη). Οι επιμέρους υπομονάδες της Fe-πρωτεΐνης απεικονίζονται με πράσινο και κίτρινο χρώμα. Ενώ της MoFe-πρωτεΐνης, οι α- και β- υπομονάδες είναι χρώματος κόκκινου και μπλε, αντίστοιχα. Οι μη-πρωτεϊνικές ομάδες εμφανίζονται σε μια παράσταση που γεμίζει το χώρο, με το φθόριο και το μαγνήσιο να έχουν χρώμα πορτοκαλί και πράσινου, αντίστοιχα (Cheng Qi, 2008).

Τα υπεύθυνα γονίδια σύνθεσης και λειτουργίας της νιτρογενάσης, τα οποία εντοπίζονται στο ίδιο οπερόνιο, ονομάζονται *nif* γονίδια (nitrogen fixation γονίδια). Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα *nif* γονίδια εντοπίζονται σε ένα ή περισσότερα μεγάλα σε μέγεθος και συνμεταγραφόμενα οπερόνια που εκφράζουν όχι μόνο τις υπομονάδες της νιτρογενάσης αλλά και ένα σύνολο πρωτεϊνών σχετικών με τη ρύθμιση της βιοσύνθεσης, τη μεταφορά μετάλλων κ.α. (Raymond et al., 2004).

Δεν παρουσιάζουν όλοι οι αζωτοδεσμευτικοί οργανισμοί τον ίδιο αριθμό *nif* γονιδίων. Για παράδειγμα το ελεύθερο διαβίωσης αζωτοδεσμευτικό είδος *Klebsiella pneumoniae*, έχει ένα σύμπλεγμα 20 γονιδίων, εκ των οποίων τα 12 γονίδια συμβάλλουν στη σύνθεση, επεξεργασία και στο σχηματισμό του ενζυμικού συμπλόκου της νιτρογενάσης. **Σε αντίθεση το γονιδίωμα των ριζοβίων παρουσιάζει λιγότερα *nif* γονίδια.** Τα βακτήρια του γένους *Bradyrhizobium* και το είδος *A. caulinodans* έχουν ένα σύμπλεγμα 12 *nif* γονιδίων, ενώ τα είδη *S. Meliloti* και *R. Leguminosarum* *bn. viciae* έχουν ένα σύμπλεγμα 9 και 8 *nif* γονιδίων αντίστοιχα, που τους ορίζει ως εκείνους τους αζωτοδεσμευτικούς οργανισμούς με το μικρότερο αριθμό *nif* γονιδίων. Τα γονίδια που αποτελούν τον πυρήνα των *nif* γονιδίων είναι τα : i) δομικά γονίδια που κωδικοποιούν την αναγωγή της δινιτρογενάσης (*nifH*) και τις α και β υπομονάδες της δινιτρογενάσης (*nifDK*), ii) τα *nifEN* που κωδικοποιούν το μοριακό ικρίωμα για τη συναρμολόγηση του σιδηρό-μολυβδαίνο-συμπαράγοντα iii) το *nifB*, του οποίου το γονιδιακό προϊόν συνθέτει ένα Fe-S, που αποτελεί πρόδρομη ένωση του FeMo-co και iv) το ρυθμιστικό γονίδιο *nifA* (Masson-Boivin et al., 2009).

1.4 Μη συμβιωτική αζωτοδέσμευση

Ένας μεγάλος αριθμός οργανισμών που διαβιώνουν ελεύθερα στη φύση, ανεξάρτητα από τα φυτά, έχει την ικανότητα να δεσμεύει ατμοσφαιρικό άζωτο. Ο κύριος περιορισμός στη μη συμβιωτική δέσμευση του αζώτου είναι η διαθεσιμότητα των πηγών άνθρακα και ενέργειας, ώστε να βρεθεί η απαραίτητη ενέργεια για την εντατική και απαιτητική διαδικασία της

δέσμευσης. Τα βακτήρια που ζουν στο έδαφος ονομάζονται βακτήρια ελεύθερης διαβίωσης, καθώς η επιβίωση τους δεν εξαρτάται άμεσα από τις ριζικές εκκρίσεις. Ωστόσο έχουν αποδοτικά συστήματα απορρόφησης και καταβολισμού των οργανικών ενώσεων που περιέχονται σε αυτές (Tilak et al.,2005). Σε πολλές περιπτώσεις οι εκκρίσεις της ρίζας των φυτών παίζουν σημαντικό ρόλο στη προσέλευση διαφόρων τύπων βακτηρίων στη ριζόσφαιρα. Ανάλογα με τη φύση και τις συγκεντρώσεις των οργανικών συστατικών των εκκρίσεων, υπάρχει και η αντίστοιχη ικανότητα από τα βακτήρια να κάνουν χρήση αυτών ως πηγές ενέργειας, έτσι η βακτηριακή κοινότητα αναπτύσσεται στη ριζόσφαιρα. Υπάρχει μια συνέχεια της βακτηριακής παρουσίας από το χώμα προς τη ριζόσφαιρα, από εκεί στην επιφάνεια της ρίζας και τέλος προς το εσωτερικό των φυτικών ιστών (στη περίπτωση συμβιωτικής σχέσης).

Ένας αριθμός βακτηριακών ειδών που σχετίζονται με την εγκατάστασή τους στη ριζόσφαιρα (χωρίς τη δημιουργία φυματίων) και είναι σε θέση να ασκήσουν ευεργετική επίδραση στην ανάπτυξη των φυτών ανήκουν στα γένη *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* και *Serratia* (Sommers et al.,2004).Γενικά στους μη συμβιωτικούς οργανισμούς περιλαμβάνονται 20 γένη μη φωτοσυνθετικών αερόβιων(όπως τα γένη *Azotobacter*, *Beijerinckia*) και αναερόβιων βακτηρίων (όπως το γένος *Clostridium*). Μερικά από τα σημαντικότερα γένη είναι τα: *Achromobacter*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Azomonas*,*Bacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Derxia*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas* και *Xanthobacter*.

1.5 Συμβιωτική αζωτοδέσμευση

Το 1885 ο Frank χρησιμοποίησε τον όρο συμβίωση απλά για να χαρακτηρίσει τη συνύπαρξη δύο ανόμοιων οργανισμών. Όμως ο De Bary, χρησιμοποίησε τον όρο για να δηλώσει την κοινή διαβίωση παρασίτου-ξενιστή καθώς και τις σχέσεις βάση των οποίων οι οργανισμοί βοηθούν ο ένας τον άλλο (Smith et al.,1997; Brundrett,2004).

Η σημαντικότερη συνεισφορά στη βιολογική αζωτοδέσμευση προκύπτει από τη συμβιωτική σχέση ορισμένων μικροοργανισμών με τις ρίζες των ανώτερων φυτών. Τα συστήματα μη-συμβιωτικής αζωτοδέσμευσης δεσμεύουν πολύ λιγότερο άζωτο απ' τα συμβιωτικά συστήματα όπου οι ξενιστές παρέχουν απευθείας στους συμβιώντες μικροοργανισμούς την απαιτούμενη ενέργεια και προστατεύουν το ενζυμικό σύστημα της νιτρογενάσης από απενεργοποίηση λόγω του οξυγόνου (Unkovich and Baldock,2008).

Μόλυνση της ρίζας ψυχανθούς με το κατάλληλο γένος βακτηρίων οδηγεί στο σχηματισμό ειδικών κατασκευών, οι οποίες μπορούν να ενσωματώνουν αέριο άζωτο σε ενώσεις του αζώτου με τη διαδικασία της αζωτοδέσμευσης. Οι ειδικές αυτές κατασκευές, βρισκόμενες επάνω στη ρίζα, είναι επί της ουσίας ένα νέο φυτικό όργανο, με ιδιαίτερα



μορφολογικά και φυσιολογικά

χαρακτηριστικά, το οποίο ονομάζεται

φυμάτιο

(Εικόνα 11). Η ιδιότητα της συμβίωσης,

δημιουργώντας φυμάτια στις ρίζες των φυτών

για τη δέσμευση του αζώτου, βρίσκεται σε δύο μεγάλες ομάδες βακτηρίων που δεν σχετίζονται φυλογενετικά: τα ριζόβια (*α - β Proteobacteria*) που συνδέονται κυρίως με ψυχανθή φυτά που ανήκουν σε μία υπεροικογένεια των αγγειόσπερμων (*Fabaceae*) και το γένος *Frankia* (ανήκει στα *Actinobacteria*) που συνδέεται με ένα ευρύτερο φάσμα φυτών από οκτώ οικογένειες (Franchet et al., 2009), σε αυτές περιλαμβάνονται περισσότερα από 280 είδη ξυλωδών φυτών. Τα βακτήρια του γένους *Frankia*, δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με το μεγαλύτερο μέρος των ξυλωδών ψυχανθών που απαντώνται κυρίως σε τροπικές περιοχές καθώς και με μερικά που εντοπίζονται σε εύκρατες και αρκτικές περιοχές (Vitousek et al., 2002). Είναι βακτήρια ινώδους μορφής και αναπτύσσονται ακτινωτά, γεγονός στο ποίο οφείλεται και η επωνομασία «ακτινοβακτήρια ή ακτινομύκητες», που είναι και η ονομασία της οικογένειας στην οποία ανήκουν (Διαμαντίδης, 1994).

Τα ριζόβια που δημιουργούν συμβιωτική σχέση με τα ψυχανθή είναι αρνητικά κατά Gram ραβδόμορφα βακτήρια με ικανότητα αυτοτελούς κίνησης και σε αυτά συγκαταλέγονται επτά εξής γένη: *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Methylobacterium*, *Rhizobium* και *Sinorhizobium*. Μια ομάδα πολύ καλά μελετημένων ριζοβίων, είναι αυτή των ριζοβίων που μολύνουν τη σόγια. Τα είδη που έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα κατατάσσονται σε ‘γρήγορους’ και ‘αργούς’ καλλιεργητές. Στους αργούς ανήκουν τρία είδη του γένους *Bradyrhizobium*, το *Bradyrhizobium japonicum*, το *Bradyrhizobium liaoningense* και το *Bradyrhizobium elkanii*, ενώ στους γρήγορους ανήκουν τα είδη *Sinorhizobium fredii* και *S. Xinjiangense* (Appunni et al., 2008). Τα μόνα μη-ψυχανθή που δημιουργούν μια αποτελεσματική συμβίωση με τα *Rhizobium* ή *Bradyrhizobium* είναι τα είδη

Εικόνα 11: Επάνω απεικονίζονται τα δημιουργηθέντα φυμάτια (κυκλικές κατασκευές) πάνω στη ρίζα και στη δεύτερη φωτογραφία κάτω απεικονίζεται το εσωτερικό ενός ενεργού φυματίου. (χαρακτηριστικός πορτοκαλο-κόκκινος χρωματισμός) σε εγκάρσια τομή.

Parasponia και Trema.

Επίσης σε μερικά ψυχανθή δημιουργούνται φυμάτια όχι μόνο στη ρίζα αλλά και στο βλαστό και αυτό τα κάνει να αποτελούν ξεχωριστό τύπο συμβίωσης. Αυτή η ιδιαιτερότητα περιορίζεται σε 15 από τα 250 είδη του γένους *Aeschynomene*, σε 1 από τα 15 είδη του γένους *Neptunia* (*N. oleracea*) και σε 1 από τα 70 είδη του γένους *Sesbania* (*S. rostrata*). Ο σχηματισμός βλαστικών φυματίων είναι πιο διαδεδομένος σε συνθήκες κατάκλισης όπου δεν είναι δυνατός ο σχηματισμός φυματίων στις ρίζες (Tilak et al.,2005). Επίσης στα φυμάτια του βλαστού δεν επηρεάζεται η δυνατότητα δέσμευσης αζώτου ακόμα και όταν οι ρίζες απορροφούν νιτρικά από το έδαφος. Το βακτήριο το οποίο εμπλέκεται σε αυτό τον τύπο συμβίωσης ανήκει στο γένος *Azorhizobium*.

Η τελευταία κατηγορία συμβιωτικών αζωτοδεσμευτικών οργανισμών είναι μέλη των κυανοβακτηρίων. Τα κυανοβακτήρια αποτελούν τη μεγαλύτερη και πιο ποικίλη ομάδα Gram αρνητικών προκαρυωτικών οργανισμών (Franche et al.,2009). Τα νηματώδη στελέχη είναι τα πιο σημαντικά αζωτοδεσμευτικά κυανοβακτήρια όπου διαφοροποιούνται ώστε να δημιουργηθούν ετεροκύστες. Οι ετεροκύστες είναι ιδιαίτερα εξειδικευμένα κύτταρα που διαφοροποιούνται εντός νηματίου όπου εντοπίζεται η αζωτοδέσμευση όταν υπάρχει έλλειψη αζώτου (Elmerich,2007). Οι σημαντικότεροι εκπρόσωποι των κυανοβακτηρίων είναι τα βακτήρια των γενών *Nostoc* και *Anabaena* (*Nostocales*).

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί πώς η δέσμευση αζώτου μέσω συμβίωσης των ψυχανθών με το *Rhizobium* είναι τεράστιας σημασίας για τη γεωργία, αφού αυξάνει τη διαθεσιμότητα του αζώτου στο έδαφος (Medigan et al., 2007).

1.5.1 Μοντέλο συμβίωσης ριζοβίου-ψυχανθούς

Μια από τις καλύτερα μελετημένες μορφές συμβίωσης είναι αυτή μεταξύ των ριζοβίων και των ψυχανθών φυτών. Πρόκειται για μια μορφή συμβίωσης μεγάλης οικολογικής σημασίας που εμφανίζεται σε όλες τις ηπείρους και αποτελεί το ¼ της ετήσιας ποσότητας αζώτου που δεσμεύεται στον πλανήτη ανά χρόνο (Masson-Boivin et al.,2009). Η μοναδική ικανότητα των ψυχανθών να δεσμεύουν ατμοσφαιρικό άζωτο σε συνεργασία με τα ριζόβια αναγνωρίστηκε ήδη από την αρχαία Ελλάδα και καταγράφηκε από το Θεόφραστο(370-285 π.Χ.), καθώς και η χρήση των ψυχανθών στην αμειψισπορά ήταν ευρέως διαδεδομένη πρακτική στη ρωμαϊκή αυτοκρατορία (Brockwell,1981). Όπως προαναφέρθηκε, το αποτέλεσμα της συμβιωτικής αυτής σχέσης είναι ο σχηματισμός ενός νέου φυτικού οργάνου, με ιδιαίτερα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά, το οποίο ονομάζεται φυμάτιο.

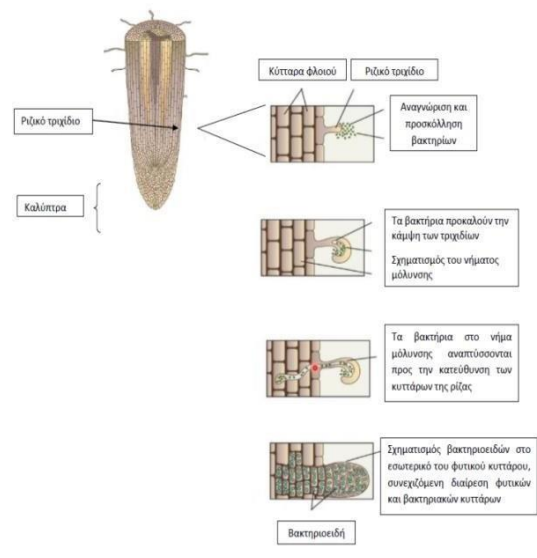
Με μία γενική προσέγγιση , το φυτό ξενιστής (ψυχανθές) εφοδιάζει το βακτήριο (Rhizobium) με ενέργεια (ATP) και το βακτήριο σε αντάλλαγμα εξασφαλίζει στον ξενιστή άζωτο από τον ατμοσφαιρικό αέρα. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ούτε τα ψυχανθή φυτά ούτε τα ριζόβια μπορούν να δεσμεύουν άζωτο. Σε καθαρή καλλιέργεια, τα ριζόβια είναι ικανά να δεσμεύουν άζωτο μόνο τους όταν αυτά αναπτύσσονται κάτω από μικρό αερόφιλες συνθήκες. Όμως χρειάζονται οξυγόνο για να παράγουν ενέργεια για τη δέσμευση του αζώτου, αλλά το ενζυμικό σύστημα της νιτρογενάσης απενεργοποιείται παρουσία οξυγόνου. Το φυτό όμως περιορίζει την ελεύθερη διάχυση οξυγόνου με δύο κυρίως τρόπους. Τα κύτταρα του παρεγχύματος με τους πολύ μικρούς μεσοκυττάριους χώρους, αποτελούν ένα φυσικό εμπόδιο στην ελεύθερη διάχυση του οξυγόνου, με αποτέλεσμα η συγκέντρωση του εντός του κεντρικού ιστού να διατηρείται πολύ χαμηλότερη. Επιπλέον, η συγκέντρωση του ελεύθερου οξυγόνου εντός του κεντρικού ιστού ελέγχεται από την παρουσία της ψυχανθαιμοσφαιρίνης, μίας φυτικής πρωτεΐνης ανάλογης των ζωικών αιμοσφαιρινών, η οποία έχει την ικανότητα να δεσμεύει το μοριακό οξυγόνο. Η ψυχανθαιμοσφαιρίνη βρίσκεται εξωτερικά της περιβακτηριακής μεμβράνης μέσα στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου-ξενιστή και μάλιστα μπορεί να αποτελεί το 40% της ολικής πρωτεΐνης των φυματίων και είναι αυτή που τους δίνει το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα. Η ψυχανθαιμοσφαιρίνη είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά του οξυγόνου προς τα βακτηριοειδή, σε μορφή που δεν επηρεάζει τη νιτρογενάση, με σκοπό την ικανοποίηση των αναγκών της αναπνευστικής τους δραστηριότητας (Heldt,1999).

Υπάρχει μια αντιστοιχία μεταξύ των ριζοβίων και των ψυχανθών. Συγκεκριμένο είδος ριζοβίου μπορεί να μολύνει συγκεκριμένο είδος φυτού και όχι άλλο. Επίσης, αν και μπορεί κάποιο στέλεχος βακτηρίου να μολύνει συγκεκριμένο ψυχανθές, δεν είναι πάντα ικανό να επάγει λειτουργικά φυμάτια. Αν ένα στέλεχος είναι γενετικά αναποτελεσματικό, τότε τα φυμάτια θα είναι μικρά, λευκοπράσινα και ανίκανα να δεσμεύουν άζωτο, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Αντίθετα, εάν ένα είδος είναι αποτελεσματικό, τα φυμάτια θα είναι μεγάλα, κοκκινωπά και ικανά να δεσμεύουν άζωτο.

1.5.2 Προσκόλληση αζωτοβακτηρίων στη ρίζα

Τα στάδια της μόλυνσης των ριζών από τα αζωτοβακτήρια και στη συνέχεια η ανάπτυξη των φυματίων στη ρίζα είναι πια αρκετά καλά κατανοητά (Εικόνα 12). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Madigan et al.,2010) τα στάδια είναι τα εξής:

1) η αναγνώριση του σωστού μέλους τόσο από την πλευρά του φυτού όσο και του βακτηρίου και η προσκόλληση του βακτηρίου στα ριζικά τριχίδια,
 2) η έκκριση των *nod* παραγόντων από το βακτήριο,
 3) η βακτηριακή εισβολή στα τριχίδια της ρίζας,
 4) η μετακίνηση στην κύρια ρίζα μέσω του μολυσματικού νηματίου,
 5) η διαμόρφωση των τροποποιημένων βακτηριακών κυττάρων μέσα στα κύτταρα των φυτών και η ανάπτυξη του συστήματος για τη δέσμευση του αζώτου,



Εικόνα 12: Τα στάδια του σχηματισμού των φυματίων στη ρίζα των ψυχανθών.

6) η συνεχής διαίρεση των φυτών και των βακτηρίων και ο σχηματισμός των ώριμων φυματίων στη ρίζα.

Αναλυτικά, η προσκόλληση του βακτηρίου στο φυτό είναι το πρώτο βήμα για το σχηματισμό φυματίων. Μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη προσκόλλησης που ονομάζεται ρικασυκολλιτίνη είναι παρούσα στην επιφάνεια των ειδών του γένους *Rhizobium* και *Bradyrhizobium*. Η ρικασυκολλιτίνη είναι μια ασβέστο-δεσμευόμενη πρωτεΐνη που η λειτουργία της έγκειται στο να δεσμεύει σύμπλοκα ασβεστίου στην επιφάνεια των ριζικών τριχιδίων. Άλλες ουσίες, όπως είναι οι λεκτίνες, πρωτεΐνες που περιέχουν υδατάνθρακες καθώς και συγκεκριμένοι υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη των φυτικών κυττάρων επίσης παίζουν ρόλο στην προσκόλληση του βακτηρίου στη ρίζα. Η αρχική διείσδυση των κυττάρων του ριζοβίου στα ριζικά τριχίδια γίνεται μέσω της άκρης των τριχιδίων. Μετά τη διείσδυση, τα ριζικά τριχίδια αναδιαμορφώνονται ως αποτέλεσμα της δράσης ουσιών που εκκρίνονται από τα βακτήρια που ονομάζονται *nod* παράγοντες.

Μετά την ελίκωση των ριζικών τριχιδίων, τα βακτήρια εισέρχονται σε αυτά και επάγουν το σχηματισμό ενός κυτταρικού σωλήνα από τα φυτά που ονομάζεται μολυσματικό νημάτιο, το οποίο εκτείνεται ως το φλοιώδες παρέγχυμα της ρίζας. Στη συνέχεια τα κύτταρα της ρίζας μολύνονται από τα ριζόβια και μέσω των *nod* παραγόντων επάγεται η κυτταρική τους διαίρεση. Η συνεχόμενη κυτταρική διαίρεση των φυτικών κυττάρων οδηγεί στο σχηματισμό των φυματίων. Οι *nod* παράγοντες είναι λιπο ολιγοσακχαριτιδικής φύσεως και κωδικοποιούνται από τα *nodABC* γονίδια. Η έκκριση αυτών των παραγόντων προάγεται από δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών, τα ισοφλαβονοειδή. Τα φλαβονοειδή δεσμεύουν τις

βακτηριακές NodD πρωτεΐκές, οι οποίες ανήκουν στην οικογένεια των μεταγραφικών παραγόντων LysR και τις ενεργοποιούν ώστε να προάγουν τη μεταγραφή των *nod* γονιδίων που οδηγεί στη μορφογένεση των φυματίων (Jones et al., 2007). Τα ριζόβια παράγουν πολλές μορφές τέτοιων παραγόντων και οι δομές τους μπορούν να επηρεαστούν από το pH του περιβάλλοντος (Cooper,2007). Τα γονίδια του οπερονίου *nodABC* κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για τη δημιουργία του δομικού πυρήνα των παραγόντων, ενώ τα γονίδια *noe* και *nol* καθιστούν τροποποιήσεις στους *nod* παράγοντες που τους μεταδίδουν την εξειδίκευση σε ξενιστή (Jones et al.,2007).

Κατά το σχηματισμό του φυματίου το φυτό ξενιστής συνθέτει κάποιες πρωτεΐνες που ονομάζονται νοντουλίνες. Οι νοντουλίνες περιλαμβάνουν ένζυμα αποικοδόμησης των υδατανθράκων, του κύκλου του κιτρικού οξέος, της σύνθεσης της γλουταμίνης και της ασπαραγίνης καθώς και της σύνθεσης της ουρείδης. Οι πρώιμες νοντουλίνες εμπλέκονται στη διαδικασία της μόλυνσης και στο σχηματισμό των φυματίων. Οι όψιμες νοντουλίνες συντίθεται μόνο μετά το σχηματισμό των φυματίων (Heldt,1999). Τα ριζόβια πολλαπλασιάζονται γρήγορα μέσα στα φυτικά κύτταρα και μετατρέπονται σε φουσκωτές, παραμορφωμένες, διακλαδισμένες μορφές που ονομάζονται βακτηριοειδή. Τα βακτηριοειδή έχουν απαλλαχθεί από το κυτταρικό τους τοίχωμα και ο όγκος τους μπορεί να είναι ακόμα και δέκα φορές μεγαλύτερος από τον όγκο των ριζοβίων. Τα βακτηριοειδή περιβάλλονται από μια φυτικής προέλευσης μεμβράνη, την περιβακτηριακή μεμβράνη, και έτσι χωρίζονται από το κυτταρόπλασμα των κυττάρων του ξενιστή μέσα σε μια δομή, το οποίο καλείται συμβιώσωμα (Heldt,1999). Μόνο μετά το σχηματισμό του συμβιωσώματος ξεκινά η διαδικασία της αζωτοδέσμευσης.

1.5.3 Ανταλλαγή μεταβολικών προϊόντων μεταξύ ριζοβίου-ψυχανθούς

Όπως προαναφέρθηκε, το φυτό ξενιστής (ψυχανθές) εφοδιάζει το βακτήριο (*Rhizobium*) με ενέργεια (ATP) και το βακτήριο σε αντάλλαγμα εξασφαλίζει στον ξενιστή άζωτο από τον ατμοσφαιρικό αέρα. Ειδικότερα, η διαδικασία της αζωτοδέσμευσης απαιτεί τη δράση του ενζυμικού συστήματος της νιτρογενάσης, το οποίο εντοπίζεται μέσα στα βακτηριοειδή. Τα βακτηριοειδή είναι πλήρως εξαρτώμενα, για τις ενεργειακές πηγές που χρειάζονται, από τα φυτικά κύτταρα. Η κύρια ουσία που παρέχεται από το φυτό στα βακτηριοειδή είναι το μηλικό οξύ, το οποίο παράγεται από τη σακχαρόζη. Η σακχαρόζη μεταβολίζεται από τη συνθάση της σακχαρόζης, αποδομείται μέσω της γλυκόλυσης σε φωσφοενολπυροσταφυλικό, το οποίο καρβοξυλιώνεται προς οξαλοξικό και το τελευταίο ανάγεται σε μηλικό οξύ. Το μηλικό που εισέρχεται στα βακτηριοειδή οξειδώνεται από τον

κύκλο του κιτρικού οξέος. Έτσι τα αναγωγικά ισοδύναμα που παράγονται αποτελούν την πηγή ενέργειας που χρειάζονται για την αζωτοδέσμευση (Heldt,1999). Εκτός από το μηλικό στα βακτηριοειδή μεταφέρονται αμινοξέα και μια σειρά από ανόργανα θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για τη λειτουργία τους. Σε αυτά περιλαμβάνονται ο σίδηρος (Fe), το ασβέστιο (Ca), το βανάδιο (Va), το μολυβδαίνιο (Mo), το νικέλιο (Ni) και το κοβάλτιο (Co). Επιπλέον η διακίνηση ιόντων (Na) και καλίου (K) έχει μεγάλη σημασία για την ιοντική και ωσμωτική ισορροπία κατά μήκος της βακτηριακής και περιβακτηριακής μεμβράνης.

Το μεγαλύτερο μέρος της αμμωνίας που παράγεται από τη δράση της νιτρογενάσης δε χρησιμοποιείται από τα βακτηριοειδή, λόγω της καταστολής των μηχανισμών αφομοίωσης. Αντίθετα, η αμμωνία διαχέεται ελεύθερα διαμέσου της βακτηριακής μεμβράνης στον περιβακτηριακό χώρο όπου πρωτονιώνεται αμέσως, λόγω της υψηλής οξύτητας και μετατρέπεται σε αμμωνιακά ιόντα. Αυτά μεταφέρονται μέσω ενός ειδικού καναλιού της περιβακτηριακής μεμβράνης στο κυτταρόπλασμα του φυτικού κυττάρου. Εκεί μετατρέπονται κυρίως σε γλουταμίνη και ασπαραγίνη, τα οποία μεταφέρονται στη συνέχεια μέσω των αγγείων του ξύλου στα υπόλοιπα μέρη του φυτού.

1.5.4 Ικανότητα αζωτοδέσμευσης και επίδραση στο φυτό ξενιστή

Τα βακτήρια που συνδέονται με τα φυτά μπορεί να είναι επιβλαβή αλλά και ευεργετικά. Η παρουσία φυματίων στη ρίζα δεν σημαίνει απαραίτητα ότι το φυτό θα ωφελείται κιόλας. Τα αζωτοβακτήρια μπορεί να μη δεσμεύουν καθόλου άζωτο και να ζουν σε βάρος των φυτών, εάν πρόκειται για βιότυπους με καμία αζωτοδεσμευτική ικανότητα. Οι αποτελεσματικοί βιότυποι αζωτοβακτηρίων δημιουργούν φυμάτια κυρίως στο κεντρικό ριζικό σύστημα των φυτών ξενιστών που έχουν χρώμα ροζ έως κόκκινο. Χρώμα που κυμαίνεται σε αυτή τη βαθμίδα υποδηλώνει πώς οι βιότυποι αυτοί έχουν υψηλή αζωτοδεσμευτική ικανότητα και τέτοιοι βιότυποι είναι οι επιζητούμενοι. Ωστόσο μερικοί βιότυποι αζωτοβακτηρίων δημιουργούν πολλά, μικρά, λευκού χρώματος φυμάτια που συναντώνται στις πλάγιες ρίζες των φυτών. Οι βιότυποι αυτοί είναι ανεπιθύμητοι διότι συχνά ανταγωνίζονται το φυτό ξενιστή ενώ στη καλύτερη περίπτωση έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν λίγο άζωτο (Guimaraes et al.,2012) .

Βιότυποι με υψηλή αζωτοδεσμευτική ικανότητα [PGPB- (Plant Growth Promoting Bacteria)] προάγουν την ανάπτυξη του φυτού μέσω της προσφοράς του σε άζωτο και επιδρούν θετικά στον εμπλουτισμό του εδάφους με άζωτο. Προάγουν την ανάπτυξη του φυτού μέσω άμεσων και έμμεσων μηχανισμών. Άμεσοι μηχανισμοί είναι για παράδειγμα, η δέσμευση του ατμοσφαιρικού αζώτου, η διαλυτοποίηση μετάλλων όπως ο φώσφορος, η

παραγωγή σιδηροφόρων που διαλυτοποιούν και δεσμεύουν το σίδηρο ή η έκκριση φυτοορμονών. Οι έμμεσοι μηχανισμοί είναι η βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάπτυξης, είτε με την παραγωγή ανταγωνιστικών ουσιών ή προκαλώντας ανοχή σε παθογόνα. Κάποια στελέχη φαίνεται να έχουν προστατευτική δράση έναντι διασυστηματικών και επιφανειακών παθογόνων. Η «ανοσοποίηση», εκδηλώνεται ως καθυστέρηση στην έκφραση των συμπτωμάτων και μείωση στην ένταση και εξέλιξη της ασθένειας με παράλληλη ενεργοποίηση μηχανισμών που συμβάλλουν στη διασυστηματική προστασία των φυτών έναντι των φυτοπαθογόνων μυκήτων, βακτηρίων και ιών (Compant et al., 2005; Kloepper et al., 1999).

1.5. 5 Επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στη φυματοποίηση

Ο εμβολιασμός με ριζόβια στα ψυχανθή είναι ευρέως διαδεδομένος και διεξάγεται με σκοπό το σχηματισμό των φυματίων, για αξιοποίηση του ατμοσφαιρικού αζώτου. Αυτό μπορεί να διατηρήσει την ανάπτυξη των φυτών και να αυξήσει την απόδοση παραγωγής μειώνοντας ταυτόχρονα την ανάγκη για εφαρμογή ανόργανων λιπασμάτων. Γενικά, χωρίς εμβολιασμό, το φυτό εμφανίζει φτωχή ανάπτυξη των ριζών. Επιπλέον, κοινές καλλιέργειες φασολιών μπορεί να χαρακτηρίζονται από αστάθεια στα επίπεδα απόδοσης, ακόμη και όταν εμβολιάζονται, ανάλογα κυρίως με τον τύπο του εδάφους, τα προηγούμενα είδη καλλιέργειας στον αγρό και την εφαρμογή αζωτούχων λιπασμάτων.

Η βίγνα είναι ένα από τα κηπευτικά που καλλιεργούνται εκτός εποχής όχι μόνο στο έδαφος αλλά και σε υδροπονικά συστήματα εντός θερμοκηπίων. Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα θρεπτικά διαλύματα που χρησιμοποιούνται σε υδροπονικές καλλιέργειες παρασκευάζονται χρησιμοποιώντας ανόργανα λιπάσματα. Ωστόσο, υπάρχουν μόνο λίγες έρευνες σχετικά με τη χρήση των διαφορετικών ριζόβιων στελεχών στις καλλιέργειες υδροπονικών αμπελοφάσουλων ως μέσο για την παροχή αζώτου στα φυτά. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ανταγωνιστικότητα από αυτόχθονα στελέχη ριζόβιων βακτηρίων δεν αναμένεται όταν εμβολιάζονται υδροπονικές καλλιέργειες φασολιών. Σαν αποτέλεσμα, ο εμβολιασμός με ριζόβια σε καλλιέργειες εκτός εδάφους μπορεί να έχει μεγαλύτερη επιτυχία σε σχέση με τις καλλιέργειες εδάφους όσον αφορά τόσο τον εμβολιασμό, όσο και την απόδοση παραγωγής.

Σε συνθήκες επάρκειας διαθέσιμο αζώτου στη ριζόσφαιρα παρατηρείται μικρή ή και καθόλου δέσμευση αζώτου από τα αζωτοβακτήρια. Σε αυτές τις συνθήκες τα ψυχανθή φαίνεται ότι προτιμούν να χρησιμοποιούν το ωφέλιμο άζωτο που βρίσκουν διαθέσιμο, ενώ τα αζωτοβακτήρια δεν ενθαρρύνονται στην αζωτοδεσμευτική τους δράση. Τα νιτρικά διεγείρουν την παραγωγή αιθυλενίου στις ρίζες των ψυχανθών (Mann et al., 2001), το οποίο μπορεί να

έχει αρνητική επίδραση στον σχηματισμό και την λειτουργικότητα των φυματίων, όπως έχει αναφερθεί από πολλούς συγγραφείς (Fearn and La Rue,1991; Ligerio et al., 1991;Caba et al.,1991; Schmidt et al.,1999; Mann et al.,2001). Σε γενικές γραμμές συνίσταται ελαφρά αζωτούχοςλίπανσησταπρώταστάδιαανάπτυξηςτουςώστεναδημιουργηθείπλούσιοκαι υγιές ριζικόσύστημαπάνωστοποίοθααναπτυχθούνταφυμάτια.

1.6 Νερό και αγροτική παραγωγή

Το νερό αποτελεί συνήθως τον πιο περιοριστικό πόρο για την ανάπτυξη και την παραγωγικότητα των φυτών, καθιστώντας την ξηρασία μία από τις πιο επιβλαβείς αβιοτικές πιέσεις σε σχέση με τη φυσική κατάσταση και την επιβίωση (Pinheiro and Chaves,2011;Simova-Stoilova et al.,2015;Gagné-Bourque et al.,2016).Η περιεκτικότητα του νερού των μη ξυλοποιημένων οργάνων και ιστών στα περισσότερα καλλιεργούμενα φυτά κυμαίνεται στο 90-99% (Αϊβαλάκης,2003), συνεπώς γίνεται κατανοητή η σπουδαιότητα της παρουσίας του νερού στη γεωργική δραστηριότητα. Γνωρίζουμε ότι η γεωργία είναι ίσως ο μεγαλύτερος «καταναλωτής» νερού, καθώς περίπου το 70% των αποθεμάτων του χρησιμοποιείται στην άρδευση. Σε εθνικό επίπεδο από τα ~38.54 εκατ. στρέμματα καλλιεργούμενης γης τα ~14.22εκατ. στρέμματα αρδεύονται Την ίδια στιγμή, ο παγκόσμιος πληθυσμός συνεχίζει να αυξάνεται και η γεωργία καλείται να καλύψει τις αυξημένες ανάγκες σε τρόφιμα, χρησιμοποιώντας ορθολογικά τους διαθέσιμους φυσικούς πόρους προστατεύοντας το περιβάλλον. Το νερό αποτελεί έναν από τους κυριότερους παράγοντες για την ανάπτυξη και μεγιστοποίηση της απόδοσης των καλλιεργειών. Ενώ σε παγκόσμια κλίμακα οι υδάτινοι πόροι εξακολουθούν να είναι μεγάλοι, αναπτύσσονται σοβαρές ελλείψεις νερού στις άγονες και ημι-άνυδρες περιοχές καθώς οι υφιστάμενοι πόροι ύδατος φθάνουν στην πλήρη εκμετάλλευση με αποτέλεσμα την εξάντλησή τους και την υποβαθμισμένη ποιότητά τους. Έτσι, η εξάρτηση από το νερό έχει καταστεί κρίσιμος περιορισμός για την περαιτέρω πρόοδο και απειλεί να επιβραδύνει την ανάπτυξη, να θέσει σε κίνδυνο την προσφορά τροφίμων και να επιδεινώσει την αγροτική φτώχεια. Αποτελεί συνεπώς μεγάλη πρόκληση η αύξηση της παραγωγής τροφίμων με χρήση μικρότερων ποσοτήτων νερού, ιδίως σε χώρες με περιορισμένους εδαφοϋδατικούς πόρους. Γνωρίζοντας τις ανάγκες που έχει μία καλλιέργεια σε νερό, θα πρέπει αυτές να καλυφθούν με κάποιο φυσικό ή τεχνητό τρόπο. Ο φυσικός τρόπος δεν είναι άλλος από τη βροχόπτωση, η οποία τους χειμερινούς μήνες επειδή είναι σημαντική καλύπτει τις ανάγκες της καλλιέργειας. Αντίθετα, τους καλοκαιρινούς μήνες, δεν μπορεί να καλύψει τις ανάγκες και απαιτείται να γίνει άρδευση (συμπληρωματική χορήγηση νερού με τεχνητό τρόπο), ώστε να εφοδιαστούν οι καλλιέργειες με το απαραίτητο

νερό για τη βέλτιστη απόδοσή τους, σε συνδυασμό με υψηλή ποιότητα παραγομένων προϊόντων.

Με τη συνεχώς αυξανόμενη ανησυχία για τις επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής, οι επιστημονικές έρευνες οδηγείται εστιάζουν σε παραμέτρους όπως η βελτιστοποίηση των καλλιεργητικών και των αρδευτικών τεχνικών (εισάγοντας τον όρο « γεωργία ακριβείας») και την επιλογή γονοτύπων με λιγότερες απαιτήσεις σε νερό και εισροές όπως είναι οι παραδοσιακές/τοπικές ποικιλίες προσαρμοσμένες στο μικρόκλιμα και τις εδαφοκλιματικές συνθήκες της εκάστοτε περιοχής.

Τα τελευταία χρόνια, η σύγχρονη τεχνολογία έχει βοηθήσει πάρα πολύ στο σωστό προγραμματισμό των αρδεύσεων με τη χρήση σύγχρονων αισθητήρων μέτρησης της υγρασίας του εδάφους, αυτόματων τηλεμετρικών μετεωρολογικών σταθμών για τη μέτρηση και πρόγνωση των μετεωρολογικών μεταβλητών και άλλων τεχνολογιών, που δίνουν τη δυνατότητα ακόμη και ειδοποίησης των παραγωγών για το ότι θα πρέπει να αρδεύσουν.

Επομένως λαμβάνοντας υπόψη τη σπουδαιότητα του νερού στην αγροτική παραγωγή κρίνεται απαραίτητη, η υιοθέτηση μεθόδων και στρατηγικών με μέτρα και δράσεις καλής διαχείρισης και αξιοποίησης των διαθέσιμων υδατικών πόρων στον αγροτικό τομέα, έτσι ώστε να διασφαλιστεί η προστασία του περιβάλλοντος χωρίς όμως να παραβλέπονται και τα πιθανά οικονομικά οφέλη για τους παραγωγούς. Τέλος λαμβάνοντας υπόψη την ανάγκη για καλή διαχείριση και αξιοποίηση του αρδευτικού νερού, γίνεται κατανοητό η επιτακτική εισαγωγή της υδροπονιάς(η περιγραφή της οποίας ακολουθεί σε επόμενη ενότητα) σε κάποιες καλλιέργειες.

1.6.1 Ποιότητα αρδευτικού νερού

Η ποιότητα του νερού άρδευσης καθορίζεται από τις επιπτώσεις που έχει στις καλλιέργειες και στο έδαφος, και από τις διορθωτικές ενέργειες που είναι αναγκαίες για τον έλεγχο των προβλημάτων που ενδεχομένως δημιουργούνται από τη χρήση του. Τα χαρακτηριστικά που προσδιορίζουν την ποιότητα του νερού άρδευσης είναι: α) η συνολική συγκέντρωση των αλάτων (αλατότητα), β) η περιεκτικότητα του νατρίου (Na) σε σχέση με εκείνη του ασβεστίου (Ca) και του μαγνησίου (Mg), γ) η ανιοντική σύνθεση του νερού ως προς το HCO_3 , CO_3 , δ) η συγκέντρωση του βόριου, χλώριου και άλλων στοιχείων με ενδεχόμενη τοξική επίδραση στα φυτά και ε) η αναλογία προσρόφησης του Na^+ (αποτελεί δείκτη πιθανού κινδύνου νατρίωσης, στην οποία υποβάλλεται το έδαφος όταν δέχεται νερό πλούσιο σε Na^+).

Απαραίτητη κρίνεται η ανάγκη άρδευσης των καλλιεργειών με καλής ποιότητας νερό, καθώς σε αντίθετη περίπτωση η άρδευση με κακής ποιότητας αρδευτικό νερό ελλοχεύει κινδύνους για τη φυτουγεία. Ειδικότερα η άρδευση με νερό υποβαθμισμένης ποιότητας μπορεί να επιφέρει αρνητικές επιπτώσεις στο φυτό λόγω της ανάπτυξης ασθενειών, τόσο του υπέργειου όσο και του υπογείου τμήματος του φυτού. Επίσης μπορεί να συμβάλει με πολλούς τρόπους στην ανάπτυξη των ασθενειών των φυτών. Ένας από αυτούς είναι οι ευνοϊκές συνθήκες που δημιουργούνται για την επιτυχή μόλυνση από τα παθογόνα αίτια (μύκητες, βακτήρια). Επίσης, συμβάλλει με τη μεταφορά, μέσω του νερού, μολυσμάτων μυκήτων, ωομυκήτων και βακτηρίων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η περίπτωση του εδαφογενούς βακτηρίου φυτοκαραντίνας *Ralstonia solanacearum*, που προκαλεί τη βακτηριακή μάρανση στην τομάτα, αποτελεί ένα τέτοιο παράδειγμα μόλυνσης περιοχών λόγω διέλευσης του μολυσμένου νερού με το βακτήριο. Αντίστοιχα παραδείγματα που αφορούν μύκητες και ωομύκητες εδάφους αποτελούν οι αδρομυκώσεις και οι σήψεις λαιμού και ριζών, όπως οι περιπτώσεις της βερτισιλλίωσης σε πολλά φυτά-ξενιστές, και των σηψηρριζιών που προκαλούνται από ωομύκητες του γένους *Phytophthora sp.*

Εκτός από τις παρασιτικές ασθένειες που οφείλονται σε μολυσματικά αίτια η χρήση υποβαθμισμένης ποιότητας αρδευτικού νερού μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τις τροφοπενίες, δηλαδή τις ελλείψεις των θρεπτικών στοιχείων στο φυτό καθώς επίσης μπορεί να ευνοήσει την εμφάνιση τοξικοτήτων στα φυτά, λόγω του αυξημένου φορτίου του σε μέταλλα. Ένα ακόμα πρόβλημα που έχει προκύψει είναι η το αυξημένο φορτίο του αρδευτικού νερού σε βαρέα μέταλλα λόγω της χρήσης του στη βιομηχανία, με αποτέλεσμα σε πολλές περιπτώσεις αποτελεί είσοδο βαρέων μετάλλων στη τροφική αλυσίδα ζώων και ανθρώπου.

1.6.2 Ελλειμματική άρδευση-Υδατική καταπόνηση

Μέσα στα πλαίσια των προσπαθειών για χρήση μικρότερων ποσοτήτων νερού για άρδευση, έχει επινοηθεί η λεγόμενη «ελλειμματική άρδευση». Κατά την εφαρμογή ελλειμματικής άρδευσης, εφαρμόζονται ποσότητες νερού στις καλλιέργειες οι οποίες είναι μικρότερες από τις απαιτήσεις της καλλιέργειας για εξατμισοδιαπνοή, με αποτέλεσμα να έχουμε καλύτερη αποτελεσματικότητα χρήσης νερού, δηλαδή να έχουμε μεγαλύτερη ποσότητα παραγόμενου προϊόντος ανά κυβικό μέτρο νερού άρδευσης.

Η ελλειμματική άρδευση μπορεί να είναι είτε παρατεταμένη (sustained deficit irrigation) είτε ρυθμιζόμενη (regulated deficit irrigation). Στην πρώτη το έλλειμμα νερού της καλλιέργειας αυξάνει προοδευτικά στα διάφορα στάδια ανάπτυξής της, λόγω της συνδυασμένης δράσης της ομοιόμορφης εφαρμογής μειωμένης ποσότητας νερού άρδευσης

και της μείωσης του αποθέματος νερού που υπάρχει στο έδαφος. Αυτό επιτρέπει την αργή επενέργεια του υδατικού stress, με αποτέλεσμα τα φυτά να μπορούν να ανακάμπτουν και να αντέχουν στην έλλειψη νερού, ιδιαίτερα στα εδάφη με σημαντική αποθηκευτική ικανότητα νερού. Στη δεύτερη, το υδατικό stress επιβάλλεται στα φυτά σε συγκεκριμένα στάδια της ανάπτυξής τους. Μπορεί να εφαρμοστεί στα οπωροφόρα δένδρα και στα αμπέλια όπου, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, όχι μόνο αυξάνει την αποτελεσματικότητα χρήσης νερού (αύξηση της απόδοσης ανά μονάδα ποσότητας εφαρμοζόμενου νερού), αλλά αυξάνει και το κέρδος της εκμετάλλευσης. Επίσης στην περίπτωση των υπαίθριων καλλιεργειών ένα καλά σχεδιασμένο καθεστώς ελλειμματικής άρδευσης μπορεί να βελτιστοποιήσει την παραγωγικότητά τους σε μια έκταση στην οποία δεν είναι δυνατό να εφαρμοστεί πλήρης άρδευση. Ενώ η ελλειμματική άρδευση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως στρατηγική για τη μείωση της χρήσης του αρδευτικού νερού, όταν υπάρχει περιορισμένη διαθεσιμότητα νερού λόγω ξηρασίας ή άλλων παραγόντων, δεν είναι γνωστό εάν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για εκτεταμένες περιόδους αρδεύσεων.

Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις εφαρμόζοντας ελλειμματική άρδευση στα καλλιεργούμενα είδη προκύπτει υδατική καταπόνηση στα φυτά. Ο όρος «καταπόνηση» αναφέρεται στην επίδραση δυσμενών συνθηκών του περιβάλλοντος οι οποίοι τείνουν να παρεμποδίσουν την εύρυθμη λειτουργία των φυσιολογικών μηχανισμών των φυτών.

Η υδατική καταπόνηση εμφανίζεται είτε με τη μορφή της αφυδάτωσης (ως σύμπτωμα ξηρασίας) είτε με τη μορφή καταπόνησης (ως σύμπτωμα αλατότητας), όπου το κοινό χαρακτηριστικό τους έγκειται στη διαμόρφωση χαμηλού υδατικού δυναμικού του νερού και συνεπώς της έλλειψης νερού στους φυτικούς ιστούς (Munns, 2002). Η χρονική στιγμή της εκδήλωσης και το είδος των συμπτωμάτων της καταπόνησης στα φυτά εξαρτάται από το μέγεθος της καταπόνησης καθώς και από το βαθμό της ευαισθησίας του εκάστοτε φυτού.

1.6.3 Ελλειμματική άρδευση και η φυσιολογία του φυτού

Η υδατική καταπόνηση νερού προκαλεί διαταράξεις στη λειτουργία του φυτικού κυττάρου, τέτοιες διαταράξεις είναι η παύση της μεγέθυνσης των κυττάρων, η φωτοσύνθεση, η γονιμοποίηση και καρπόδεση, τα οργανοληπτικά των παραγόμενων καρπών κ.α. Επίσης η υδατική καταπόνηση επηρεάζει την φωτοσυνθετική δραστηριότητα με κλείσιμο των στοματίων και συνεπώς μείωση της διαπνοής (Hsiao, 1973), με αντίκτυπο σε πολλούς τομείς της φυσιολογίας του φυτού. Ειδικότερα, πρόκληση διαταραχών που σχετίζονται με:

1. Μορφολογικές αλλαγές

A. Περιορισμένη ανάπτυξη της επιφάνειας των φύλλων: η χαμηλή πίεση σπαργής παρεμποδίζει την διάταση των κυττάρων, η οποία στην συνέχεια επηρεάζει την έκπτυξη των φύλλων. Η μείωση της φυλλικής επιφάνειας έχει ως αποτέλεσμα τις μειωμένες απώλειες νερού, που οφείλονται στη διαπνευστική λειτουργία.

B. Αλλαγές στον λόγο υπέργειο προς υπόγειο τμήματος: Τα κύτταρα των φύλλων δεν έχουν την δυνατότητα να αναπτύσσονται σε πολύ χαμηλό υδατικό δυναμικό όπως τα κύτταρα των ριζών. Σε συνθήκες έλλειψης νερού, όπου επικρατεί χαμηλό υδατικό δυναμικό, η ρίζα επιδεικνύει μεγαλύτερο ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με αυτόν των υπέργειων οργάνων.

Γ. Αποβολή των παλαιότερων φύλλων: Με στόχο τη μείωση της διαπνεύουσας επιφάνειας και κατ' επέκταση τις απώλειες νερού. Η εξισορρόπηση της φυλλικής επιφάνειας επιτυγχάνεται με τη δράση του αιθυλενίου.

Δ. Ρύθμιση του ενεργειακού ισοζυγίου του ελάσματος για αποφυγή υπερθέρμανσής του: Για τη μείωση των απωλειών του νερού κατά τη διαπνοή επάγεται το κλείσιμο των στοματίων. Ο μηχανισμός αυτός, όμως, μειώνει παράλληλα την απαγωγή της θερμότητας προκαλώντας την αύξηση θερμοκρασίας του φύλλου. Τα φυτά, για να αποφύγουν τις επιπτώσεις της αύξησης της θερμοκρασίας, έχουν αναπτύξει κατάλληλες κινήσεις ώστε να περιορίζεται η άμεση έκθεσή τους στις ηλιακές ακτίνες (πχ. συστροφή του φύλλου).

E. Αύξηση της αντίστασης στη ροή του νερού: Κατά την υδατική καταπόνηση, για την αποφυγή αφυδάτωσης των επιμέρους τμημάτων της ρίζας, η υποδερμίδα καλύπτεται με σουβερίνη, η οποία προκαλεί αύξηση στην αντίσταση ροής του νερού. Επίσης, η έντονη έλλειψη νερού μπορεί να προκαλέσει την δημιουργία εμβόλων, τα οποία αυξάνουν την αντίσταση ροής του νερού μέσα στο αγγειακό σύστημα.

2. Φυσιολογικές αλλαγές

A. Αλλαγές στη δομή και τη λειτουργία των πρωτεϊνών και μεμβρανών: Υπό συνθήκες έλλειψης νερού προκαλούνται μεταβολές στη διάταξη της κυτταρικής μεμβράνης αλλοιώνοντας το μοτίβο του ρευστού μωσαϊκού. Το γεγονός αυτό προκαλεί την απώλεια της εκλεκτικής διαπερατότητας, η οποία οδηγεί στην ανεξέλεγκτη διακίνηση ουσιών, απώλεια διαμερισματοποίησης και τελικά στην συνολική μεταβολική δυσλειτουργία.

B. Κλείσιμο των στοματίων: Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το φυτό διαθέτει μηχανισμούς, οι οποίοι ρυθμίζουν το κλείσιμο των στοματίων σε συνθήκες έλλειψης νερού ώστε να αποφευχθούν περαιτέρω απώλειες νερού κατά τη διαπνοή. Το κλείσιμο των στοματίων

μπορεί να είναι παθητικό ή ενεργητικό. Το παθητικό κλείσιμο ευνοείται σε συνθήκες χαμηλής ατμοσφαιρικής υγρασίας, όπου οι απώλειες νερού των καταφρακτικών κυττάρων είναι μεγαλύτερες από τις εισροές νερού στα καταφρακτικά από γειτονικά κύτταρα. Το ενεργητικό κλείσιμο των στοματίων προκαλείται από την απώλεια σπαργής των καταφρακτικών κυττάρων, που οφείλεται στην έξοδο ορισμένων ιόντων (κυρίως ιόντα K). Ο μηχανισμός, που αφορά τον ενεργητικό κλείσιμο των στοματίων, επάγεται από το αμψισικό οξύ το οποίο μπορεί να προέρχεται από τα φύλλα ή τις ρίζες.

Γ. Αποσταθεροποίηση της φωτοσυνθετικής αλυσίδας: Με το κλείσιμο των στοματίων παρεμποδίζεται η έξοδος του νερού από τα φυτά, όμως ταυτόχρονα παρεμποδίζεται και η είσοδος CO₂ στα φυτά. Η μείωση της συγκέντρωσης του CO₂ προκαλεί μεταβολές στον κύκλο του Calvin, που αποτελεί τον μηχανισμό δέσμευσης του διοξειδίου του άνθρακα με σκοπό την παραγωγή οργανικών αλυσίδων άνθρακα. Επιπλέον, το χαμηλό υδατικό δυναμικό στους χλωροπλάστες προκαλεί δυσλειτουργίες στην φωτοφωσφορυλίωση και στη φωτοσυνθετική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (ΦΑΜΗ). Τέλος, είναι δυνατόν να εντοπιστεί στους χλωροπλάστες υψηλή συγκέντρωση ιόντων Mg²⁺, η οποία ασκεί αρνητική επίδραση στη φωτοσυνθετική δραστηριότητα.

Δ. Ενεργοποίηση του μεταβολισμού τύπου Crassulaceae: Ορισμένα φυτά, τα οποία κάτω από συνθήκες επάρκειας σε νερό συμπεριφέρονται ως φυτά με φωτοσύνθεση τύπου C₃, έχουν την ικανότητα να τροποποιούν τον μεταβολισμό τους και να συμπεριφέρονται ως φυτά με φωτοσύνθεση τύπου CAM κατά την παρουσία του παράγοντα καταπόνησης.

Ε. Επαγωγή έκφρασης γονιδίων: Τα φυτά για να ανταπεξέλθουν στον παράγοντα καταπόνησης οδηγούνται στη de novo σύνθεση ενζύμων, τα οποία είναι απαραίτητα για την σύνθεση ορισμένων μεταβολιτών.

Οι αντιδράσεις στην έλλειψη νερού και η εκδήλωση των συμπτωμάτων καταπόνησης είναι διαφορετικές ανάμεσα σε διαφορετικές ποικιλίες βίγνας, ενώ εντυπωσιακό είναι το γεγονός ότι κάποιες ποικιλίες (κυρίως εγχώριες) καταφέρνουν επιβιώνουν σε περίοδο ξηρασίας χωρίς να είναι ανθεκτικές σε αυτήν αλλά περισσότερο προσαρμοσμένες κάτω από τέτοιες συνθήκες.

1.6.4 Ανθεκτικότητα της βίγνας σε ελλειμματική άρδευση

Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, η βίγνα παρουσιάζει μεγάλη ανεκτικότητα κάτω από εδαφικές συνθήκες χαμηλής υγρασίας. Έως σήμερα έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες με επίκεντρο την ελλειμματική άρδευση, με απώτερο σκοπό τον προσδιορισμό του απαιτούμενου όγκου νερού για την περάτωση της καλλιέργειας, στοχεύοντας παράλληλα

στην ικανοποιητική παραγωγή και τη μέγιστη οικονομία νερού άρδευσης. Κάποιες από τις σημαντικότερες επιστημονικές μελέτες έδειξαν:

A. Η επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην ανάπτυξη και απόδοση της βίγνας επηρεάζεται από το βαθμό του στρες, αλλά και από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού (Hsiao and Avecedo,1974).

B. Η συχνή εμφάνιση του φαινομένου της ξηρασίας σε καλλιεργούμενες εκτάσεις βίγνας οδηγεί στην πρόωμη ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου του φυτού (Mortimore et al., 1997). Το χαρακτηριστικό αυτό δίνει το πλεονέκτημα στο φυτό να μπορεί να αποφεύγει περιόδους παρατεταμένης ξηρασίας, αποφεύγοντας παράλληλα και τις δυσμενείς επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης. Ένα άλλο πλεονέκτημα, που προσδίδει το χαρακτηριστικό αυτό, είναι πως το φυτό είναι ικανό να αποφύγει προσβολές από φυσικούς εχθρούς, καθώς ο βιολογικός τους κύκλος πλέον δεν συμπίπτει με τον βραχύτερο βιολογικό κύκλο του φυτού.

Γ. Κάποιες ποικιλίες βίγνας ξεφεύγουν από την τεχνητή ξηρασία με ανθοφορία 12 ημέρες νωρίτερα κατά μέσο όρο, ενώ άλλες μπορούν να παραμείνουν πράσινες για εβδομάδες χωρίς άρδευση και ανθίζουν μόνο όταν αποκατασταθούν οι ευνοϊκές κλιματολογικές συνθήκες (Fatokun et al., 2012). Η βίγνα είναι αρκετά ιδιόμορφη μεταξύ των καλλιεργούμενων φυτών, δεδομένου ότι παρουσιάζει πολύ περιορισμένες αλλαγές στην περιεκτικότητα των φύλλων σε νερό σε συνθήκες ακραίας ξηρασίας.

1.7 Υδροπονική καλλιέργεια

Οι όροι υδροπονική καλλιέργεια και υδροπονία περιλαμβάνουν όλες τις μεθόδους καλλιέργειας φυτών που έχουν ως κοινό χαρακτηριστικό την ανάπτυξη των ριζών εκτός του φυσικού εδάφους (Σάββας,2012). Στις σύγχρονες καλλιέργειες εκτός εδάφους η τροφοδότηση των φυτών με νερό και θρεπτικά στοιχεία βασίζεται στη χορήγηση ενός τεχνητά παρασκευασμένου θρεπτικού διαλύματος. Οι ρίζες των φυτών αναπτύσσονται είτε απευθείας στο θρεπτικό διάλυμα είτε σε πορώδη υποστρώματα. Τα υποστρώματα διαβρέχονται τακτικά με θρεπτικό διάλυμα το οποίο καλύπτει τις ανάγκες των φυτών τόσο σε θρεπτικά στοιχεία όσο και σε νερό. Οι υδροπονικές καλλιέργειες στις οποίες γίνεται χρήση υποστρώματος (slabs hydroponics) ονομάζονται και **καλλιέργειες σε υποστρώματα**. Αντίστοιχα, οι υδροπονικές καλλιέργειες στις οποίες οι ρίζες των φυτών αναπτύσσονται μέσα σε στάσιμο ή ρέον θρεπτικό διάλυμα αναφέρονται και ως **καλλιέργειες σε θρεπτικό διάλυμα ή υδροκαλλιέργειες**. Το θρεπτικό διάλυμα είναι ένα αραιό υδατικό διάλυμα όλων των θρεπτικών στοιχείων που είναι απαραίτητα για τα φυτά.

Λόγω της πορώδους φύσης τους, τα υποστρώματα συγκρατούν σημαντικές ποσότητες θρεπτικού διαλύματος. Συνεπώς, στις καλλιέργειες σε υποστρώματα, τα φυτά είναι δυνατόν στη διάρκεια της ημέρας να ποτίζονται πολλές φορές για μικρά χρονικά διαστήματα, τα οποία διαχωρίζονται από πολύ μεγαλύτερα διαστήματα χωρίς άρδευση. Η παρεχόμενη ποσότητα θρεπτικού διαλύματος συνήθως υπερβαίνει την ικανότητα των υποστρωμάτων να συγκρατούν νερό, οπότε προκύπτει περίσσεια θρεπτικού διαλύματος που απορρέει και απομακρύνεται από το χώρο των ριζών. Το διάλυμα αυτό είναι γνωστό με τον όρο **διάλυμα απορροής**. Όταν το διάλυμα απορροής απορρίπτεται στο περιβάλλον, το σύστημα υδροπονικής καλλιέργειας καλείται ανοιχτό. Αντίστοιχα, όταν το διάλυμα απορροής συλλέγεται και ξαναχρησιμοποιείται (ανακυκλώνεται), το υδροπονικό σύστημα καλείται κλειστό (Savvas,2002b). Συνεπώς υπάρχουν δύο κατηγορίες συστημάτων υδροπονικής καλλιέργειας σε υποστρώματα, τα ανοιχτά και τα κλειστά συστήματα. Σε αντίθεση με τα συστήματα καλλιέργειας σε υποστρώματα, τα συστήματα υδροπονικής καλλιέργειας σε καθαρό θρεπτικό διάλυμα είναι πάντοτε κλειστά, γιατί η ποσότητα θρεπτικού διαλύματος που απορρέει από αυτά είναι πολύ μεγάλη και δε μπορεί να απορρίπτεται. Αυτός συμβαίνει γιατί στα συστήματα υδροκαλλιέργειας δεν υπάρχει υπόστρωμα που θα μπορούσε να λειτουργήσει ως αποταμιευτήρας νερού στο μεσοδιάστημα μεταξύ δύο μικρής διάρκειας ποτισμάτων, επομένως η παροχή θρεπτικού διαλύματος πρέπει να είναι συνεχής. Τα πλεονεκτήματα των κλειστών υδροπονικών συστημάτων είναι αφενός οικονομικά (εξοικονόμηση νερού και λιπασμάτων) και αφετέρου περιβαλλοντικά (προστασία των υδατικών πόρων από τη νιτρορύπανση και τον ευτροφισμό).

1.7.1 Χαρακτηριστικά και ιδιαιτερότητες της υδροπονικής καλλιέργειας

Η εφαρμογή της υδροπονίας για εμπορική παραγωγή κηπευτικών ξεκίνησε σε θερμοκήπια χωρών με εδάφη που παρουσιάζουν σοβαρά προβλήματα, είτε λόγω υπερεντατικής εκμετάλλευσης, όπως το παράδειγμα της Ολλανδίας, είτε λόγω άρδευσης με νερό υψηλής περιεκτικότητας σε άλατα, όπως το Ισραήλ (Ravin&Lieth,2008b). Βαθμιαία όμως η υδροπονία μετεξελίχθηκε σε μία μέθοδο καλλιέργειας που προσφέρει πολλά άλλα πλεονεκτήματα, όπως η ριζική αντιμετώπιση των παθογόνων εδάφους, η ακρίβεια στη θρέψη και την άρδευση και ο καλύτερος έλεγχος της θερμοκρασίας της ρίζας το χειμώνα, τα οποία αθροιστικά οδηγούν σε σημαντικά υψηλότερες αποδόσεις.

Η δυνατότητα βελτιστοποίησης της θρέψης και της λίπανσης των φυτών μέσω της παροχής θρεπτικών διαλυμάτων με πλήρως ελεγχόμενη σύνθεση είναι ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα της υδροπονίας, το οποίο οδηγεί σε υψηλότερες παραγωγές σε σύγκριση με

τις καλλιέργειες στο έδαφος (Gohler et al.,2002;Barbosa et al.,2015). Η καλλιέργεια σε υδροπονικά συστήματα παρέχει τη δυνατότητα υψηλών παραγωγών ακόμη και σε υποβαθμισμένα και άγονα εδάφη, καθώς και σε εδάφη που παρουσιάζουν υψηλό βαθμό εναλάτωσης (Ravin&Lieth,2008b). Σημαντικά οφέλη παρέχουν οι υδροπονικές καλλιέργειες και στις περιπτώσεις εκείνες που το νερό άρδευσης έχει υψηλή περιεκτικότητα σε άλατα.

Η απαγόρευση του βρωμιούχου μεθυλίου από το 2005 σε όλες τις ανεπτυγμένες χώρες και από το 2015 απαγορεύεται και στις αναπτυσσόμενες χώρες (Zasada et al.,2010), το οποίο χρησιμοποιούταν από παραγωγούς θερμοκηπίων με σκοπό κάθε χρόνο να ξεκινούν νέα καλλιέργεια χωρίς παθογόνα από τυχόν μολύνσεις της προηγούμενης καλλιεργητικής χρονιάς, έχει δημιουργήσει ένα κενό στους τρόπους αντιμετώπισης των παθογόνων. Μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί άλλη χημική ουσία ή μέθοδος απολύμανσης του εδάφους με αντίστοιχη αποτελεσματικότητα όπως αυτή του βρωμιούχου μεθυλίου και με αποδεκτό κόστος. Οι καλλιέργειες εκτός εδάφους παρέχουν ένα καθαρό ξεκίνημα στην καλλιέργεια, χωρίς την παρουσία παθογόνων εδάφους στο ριζικό περιβάλλον, εφόσον οι ρίζες των φυτών αναπτύσσονται είτε σε καθαρό θρεπτικό διάλυμα είτε σε υποστρώματα που χρησιμοποιούνται για πρώτη φορά. Για το λόγο αυτό η υδροπονία βαθμιαία επεκτείνεται ακόμη και τα πιο χαμηλής τεχνολογίας θερμοκήπια , προκειμένου να αντιμετωπίσουν αποτελεσματικά τα προβλήματα που προκαλούν οι εδαφογενείς ασθένειες στα κηπευτικά. Είναι βέβαια προφανές ότι, αν το ίδιο υπόστρωμα χρησιμοποιηθεί ξανά για δεύτερη καλλιέργεια, δεν παρέχει στην καλλιέργεια ένα καθαρό ξεκίνημα, χωρίς παθογόνα. Ακόμα όμως και όταν ξαναχρησιμοποιείται, το υπόστρωμα μπορεί να απολυμανθεί πιο αποτελεσματικά (λόγω του περιορισμένου όγκου του) και με μικρότερο κόστος σε σύγκριση με το έδαφος.

Στις υδροπονικές καλλιέργειες το κόστος θέρμανσης των θερμοκηπίων είναι λίγο χαμηλότερο σε σύγκριση με τις καλλιέργειες στο έδαφος. Ένας βασικός παράγοντας μείωσης του κόστους θέρμανσης είναι η κάλυψη του εδάφους, η οποία περιορίζει την εξάτμιση του νερού, με συνέπεια οι απώλειες ενέργειας σε μορφή λανθάνουσας θερμότητας να είναι μικρότερες (Σάββας,2012). Μειωμένες δαπάνες για θέρμανση προκύπτουν επίσης από το γεγονός ότι οι υδροπονικές καλλιέργειες δεν εξαρτώνται από τη θερμοκρασία του εδάφους του θερμοκηπίου και συνεπώς δεν απαιτείται δαπάνη ενέργειας για θέρμανση του.

1.7.2 Συστήματα καλλιέργειας σε υποστρώματα

Όπως προαναφέρθηκε το μέσο ανάπτυξης του ριζικού συστήματος στις υδροπονικές καλλιέργειες μπορεί να είναι είτε ένα υπόστρωμα (slabs hydroponics) που περιέχει θρεπτικό διάλυμα είτε μόνο θρεπτικό διάλυμα. Το πορώδες των υποστρωμάτων έχει τη μοναδική

ιδιότητα να περιέχει ταυτόχρονα σημαντικές ποσότητες νερού και οξυγόνου καταναμημένες ομοιόμορφα σε όλη του την έκταση. Συνεπώς, ένα υπόστρωμα περιλαμβάνει μια στερεή φάση (τα κοκκώδη τεμάχια), μια υγρή φάση και μία αέρια φάση. Τόσο η υγρή όσο και η αέρια φάση καταλαμβάνουν σημαντικά ποσοστά του συνολικού πορώδους, χωρίς να κυριαρχεί το ένα επί του άλλου, οπότε τα φυτά έχουν στη διάθεση τους και οξυγόνο και νερό σε επαρκείς ποσότητες. Για όλους τους παραπάνω λόγους, τα υδροπονικά συστήματα που εφαρμόζονται στην καλλιεργητική πράξη για παραγωγή κηπευτικών είναι κατά κανόνα συστήματα καλλιέργειας σε υποστρώματα σε όλες τις χώρες του κόσμου.

1.7.3 Υλικά που χρησιμοποιούνται ως υποστρώματα

Το υπόστρωμα με το οποίο γεμίζονται οι σάκοι (slabs hydroponics) είτε τα κανάλια μπορεί να αποτελείται είτε από ασύνδετους μεταξύ τους κόκκους, όπως η άμμος, ο περλίτης, η τύρφη, ο κόκκος, η ελαφρόπετρα, είτε από μια πλέξη ινωδών επιμηκών τεμαχιδίων, τα οποία συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας μια σταθερού σχήματος πορώδη πλάκα, όπως ο πετροβάμβακας και η πολυουρεθάνη.

1.7.4 Καλλιέργεια εκτός εδάφους σε σάκους με περλίτη

Συνήθως οι σάκοι (slabs hydroponics) είναι κατασκευασμένοι από μαλακό πολυαιθυλένιο λευκού χρώματος (Van Os et al.,2002). Συχνά η εσωτερική επιφάνεια τους είναι μαύρη, με στόχο να

παρεμποδίζεται πλήρως η διέλευση φωτός στο εσωτερικό τους. Το υπόστρωμα με το οποίο γεμίζονται οι σάκοι σε αυτή την περίπτωση αποτελείται από ασύνδετους μεταξύ τους κόκκους περλίτη. Κατά κανόνα οι σάκοι έχουν μήκος 1m και πλάτος 15-20cm, όταν χρησιμοποιούνται για η φύτευση σε μονή σειρά, ή



Εικόνα 13: Υδροπονικός σάκος περλίτη (slabs hydroponics), με χαραγμένες 6 θέσεις φύτευσης στην επάνω επιφάνεια.

παραπάνω, όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για φύτευση φυτών σε διπλή ή πολλαπλή σειρά. Το ύψος τους κυμαίνεται από περίπου 5 cm (π.χ. πολυουρεθάνη) μέχρι 20-25 cm, ανάλογα με τα υδραυλικά χαρακτηριστικά του υποστρώματος που περιέχουν (Σάββας,2012). Οι σάκοι που είναι γεμισμένοι με κοκκώδες υπόστρωμα όπως ο περλίτης έχουν κυλινδρικό σχήμα

(Εικόνα

13).

Για την εγκατάσταση μιας νέας καλλιέργειας σε σάκους, συνήθως χρησιμοποιούνται σπορόφυτα τα οποία έχουν σπαρθεί και αναπτυχθεί σε κύβους πετροβάμβακα, τύρφης ή μείγματος υποστρωμάτων (στην περίπτωση των φασολιών, οι βλαστημένοι σπόροι μπορούν να φυτευτούν απευθείας στον υδροπονικό σάκο περλίτη). Το μέγεθος των κύβων ποικίλλει, ανάλογα με το εκτιμώμενο τελικό μέγεθος των σποροφύτων που θα αναπτυχθούν πάνω τους. Εναλλακτικά, τα σπορόφυτα που προορίζονται για φύτευση σε σάκους μπορούν να παράγονται σε διάτρητα πλαστικά γλαστρίδια κατάλληλου μεγέθους γεμισμένα με περλίτη (Μαυρογιαννόπουλος,2006).

Επίσης κατά την εγκατάσταση καλλιέργειας σε σάκους με υποστρώματα, αρχικά το έδαφος του θερμοκηπίου ισοπεδώνεται και καλύπτεται με φύλλο πλαστικού πολυαιθυλενίου. Οι γεμισμένοι με υπόστρωμα σάκοι τοποθετούνται είτε πάνω σε πλάκες διογκωμένης πολυστερίνης που έχουν απλωθεί σε γραμμές στο δάπεδο του θερμοκηπίου είτε μέσα σε υδρορροές. Οι υδρορροές τοποθετούνται στο δάπεδο του θερμοκηπίου ή είναι υπερυψωμένες με χρήση κατάλληλων υποστηριγμάτων, με στόχο να διευκολύνονται οι καλλιεργητικές εργασίες. Η τοποθέτηση των πλακών σε υπερυψωμένες υδρορροές είναι ο κανόνας όταν καλλιεργούνται φυτά μικρού ύψους (μαρούλι, φράουλα, ζέρμπερα κ.λπ.), ώστε να διευκολύνονται οι καλλιεργητικές εργασίες και η συγκομιδή. Οι αποστάσεις μεταξύ των σάκων από γραμμή σε γραμμή διαφέρουν σημαντικά, ανάλογα με το εκάστοτε καλλιεργούμενο είδος. Οι διαστάσεις των σάκων με το υπόστρωμα, ο αριθμός των σάκων ανά στρέμμα και ο αριθμός των φυτών ανά σάκο μπορεί να ποικίλουν με στόχο την εξισορρόπηση δύο μερικώς αλληλοσυγκρουόμενων επιδιώξεων: (α) χαμηλό κόστος εγκατάστασης και (β) ικανοποιητική κάλυψη της καλλιεργούμενης έκτασης του θερμοκηπίου με φυτά. Διαφορές στην απόδοση αναμένονται κυρίως όταν η διαφοροποίηση του όγκου του υποστρώματος ανά φυτό γίνεται με μεταβολή του ύψους του μέσα στο σάκο (Gizas&Savvas,2007;Savvas,2009). Αν οι σάκοι πρόκειται να τοποθετηθούν πάνω σε πλάκες διογκωμένης πολυστερίνης, πρέπει να έχει γίνει πρόβλεψη για σύστημα υπόγειας αποστράγγισης των απορροών, ώστε να μην λιμνάζουν νερά μέσα στο θερμοκήπιο. Οι υδρορροές, αν και είναι απαραίτητες μόνο στα κλειστά υδροπονικά συστήματα, χρησιμοποιούνται και σε ανοιχτά συστήματα για την απομάκρυνση των απορροών εκτός θερμοκηπίου. Αφού τοποθετηθούν οι σάκοι στη τελική θέση τους, εγκαθίσταται ένα σύστημα άρδευσης με σταγόνα. Μετά το άπλωμα των σάκων στο θερμοκήπιο, στην επάνω επιφάνεια τους δημιουργούνται ανοίγματα (οπές) φύτευσης. Ο αριθμός των ανοιγμάτων φύτευσης σε κάθε σάκο ισούται με τον αριθμό των φυτών που θα φυτευτούν σε αυτόν, ενώ η έκταση κάθε ανοίγματος είναι ίση περίπου με την επιφάνεια της βάσης του κύβου. Στην επιφάνεια του υποστρώματος στερεώνονται με ειδικές πλαστικές

λόγχες οι σταλάκτες που διανέμουν το θρεπτικό διάλυμα στα φυτά. Στη συνέχεια, τίθεται σε λειτουργία η κεφαλή υδρολίπανσης, οπότε το υπόστρωμα διαβρέχεται με θρεπτικό διάλυμα μέχρι να κορεσθεί πλήρως.

Μία ημέρα μετά τον κορεσμό του υποστρώματος με διάλυμα, τα φυτά μεταφυτεύονται μαζί με τους κύβους τους στο υπόστρωμα με απλή τοποθέτηση τους στην επιφάνεια των ανοιγμάτων που έχουν δημιουργηθεί. Εναλλακτικά, αν οι κύβοι είναι μικρού μεγέθους, μπορούν να εισαχθούν κατά ένα μέρος ή και πλήρως μέσα στο υπόστρωμα, εφόσον αυτό είναι κοκκώδες(π.χ. περλίτης ή κόκκος). Μόλις τελειώσει η εργασία της μεταφύτευσης, στο κάτω μέρος των σάκων ανοίγονται σχισμές με ξυράφι, με στόχο την απορροή του πλεονάζοντος θρεπτικού διαλύματος που δε μπορεί να συγκρατηθεί από το υπόστρωμα έπειτα από κάθε πότισμα. Κατά κανόνα, σχισμές αποστράγγισης ανοίγονται μόνο στη μια πλευρά των σάκων, στα μεσοδιαστήματα μεταξύ δύο σταλαχτών και ποτέ ακριβώς κάτω από τους σταλαχτές. Κατά τη μεταφύτευση οι λόγχες των σταλαχτών στερεώνονται πάνω στους κύβους.

Στην Ελλάδα, για την καλλιέργεια σε σάκους εκτός του περλίτη, χρησιμοποιείται επίσης ο πετροβάμβακας και η ελαφρόπετρα. Δύο είναι οι σημαντικότεροι λόγοι της πολύ μεγαλύτερης εξάπλωσης της καλλιέργειας σε σάκους σε σύγκριση με τις άλλες τεχνικές καλλιέργειας σε υποστρώματα. Ο πρώτος λόγος είναι το χαμηλό κόστος της βιομηχανικής τυποποίησης του υποστρώματος σε σάκους. Ο δεύτερος λόγος είναι η ευκολία που παρέχει στους παραγωγούς η χρήση τυποποιημένων σάκων με υπόστρωμα, δεδομένου ότι ελαχιστοποιεί τόσο το χρόνο όσο και τα εργατικά για την προετοιμασία του θερμοκηπίου πριν τη φύτευση μιας νέας καλλιέργειας (Σάββας,2012).

1.7.5 Τεχνικά χαρακτηριστικά του περλίτη ως υπόστρωμα

Ο διογκωμένος περλίτης αποτελεί ένα ανόργανο, χημικά αδρανές και μη εδαφικό υπόστρωμα. Προέρχεται από την κατεργασία ορυκτού περλίτη στους 1100-1600°C. Ο περλίτης αποτελείται σε ποσοστό περίπου 75% από διοξείδιο του πυριτίου, ενώ το υπόλοιπο 25% αποτελείται κυρίως από οξείδια αργιλίου, νατρίου, καλίου και σιδήρου. Το ολικό πορώδες του περλίτη κυμαίνεται στο 95% , ενώ η ικανότητα συγκράτησης νερού σε 300- 500% του βάρους του (ανάλογα με τη κοκκομετρική του σύσταση) (Πίνακας 2). Το νερό κυρίως συγκρατείται στους μικρούς πόρους, ενώ στους μεγαλύτερους που υπάρχουν μεταξύ των κόκκων του περλίτη παραμένει αέρας, ακόμα και μετά τη διαβροχή του υλικού.

Στην Ελλάδα υπάρχουν σημαντικά κοιτάσματα περλίτη στα νησιά Μήλο, Αντίπαρο, Νίσσυρο, Κω κ.α.. Σήμερα ο ελληνικός περλίτης προέρχεται κυρίως από τη Μήλο Το μέγεθος

των κόκκων που συνίσταται για υδροπονική χρήση είναι διαμέτρου 4-6mm. Το γεγονός ότι ο υδροπονικός περλίτης προέρχεται από κοιτάσματα τα οποία βρίσκονται στη χώρα μας, τον κατατάσσουν στα υδροπονικά υποστρώματα με χαμηλό οικονομικό κόστος για τον Έλληνα παραγωγό.

Πίνακας 2: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά περλίτη

Μορφή	Κοκκώδεις
Χρώμα	Λευκό
Οσμή	Άοσμο
Ειδικό Βάρος	0,8 g/lit
pH	7,0 - 7,5
Διαλυτότητα στο νερό	0,08%
Πόροι	80 - 96%
Σημείο τήξης	1260 - 1350 °C
Ειδική θερμότητα	0,2 Cal/g
Θερμική αγωγιμότητα	0,043 - 0,063 W/m.K

Συνοψίζοντας τα πλεονεκτήματα της χρήσης διογκωμένου περλίτη σε υδροπονική καλλιέργεια:

1. Έχει ουδέτερο και σταθερό pH.
2. Σταθεροποιεί την υγρασία.
3. Δεν περιέχει σπόρους ζιζανίων και είναι απαλλαγμένος από παθογόνα.
4. Έχει μεγάλη διάρκεια ζωής και δεν αλλοιώνεται με την πάροδο του χρόνου.
5. Είναι ελαφρύ υλικό (90kg/m³).
6. Η χωρητικότητα του νερού ανέρχεται στο 28-50% ανάλογα το μέγεθος των κόκκων του.
7. Παρέχει τη μεγαλύτερη αεροπερατότητα σε σχέση με άλλα υποστρώματα.
8. Είναι φιλικό στο περιβάλλον.
9. Είναι χημικά αδρανές και δεν αντιδρά με το θρεπτικό διάλυμα.
10. Διατίθεται στο εμπόριο σε σάκους, διευκολύνοντας τη διεργασία της φύτευσης για τους παραγωγούς, εξοικονομώντας εργατικά μεροκάματα (λόγο μεταφοράς του υλικού και γέμισμα των σάκων, σε αντίθετη περίπτωση).

1.7.6 Θρεπτικό διάλυμα

Απαραίτητη προϋπόθεση στην επιτυχία μιας υδροπονικής καλλιέργειας είναι η χρήση κατάλληλων θρεπτικών διαλυμάτων. Πιο κάτω, αναλύονται οι αρχές και τα βήματα που ακολουθούνται για τον καθορισμό της σύνθεσης των διαλυμάτων και τον υπολογισμό των απαραίτητων ποσοτήτων λιπασμάτων.

1.7.7 Σύσταση θρεπτικών διαλυμάτων

Στην υδροπονία χρησιμοποιούνται πλήρη θρεπτικά διαλύματα, δηλαδή υδατικά διαλύματα που περιέχουν όλα τα απαραίτητα για την ανάπτυξη των φυτών ανόργανα θρεπτικά στοιχεία, εκτός από τον άνθρακα που προσλαμβάνεται από την ατμόσφαιρα ως CO₂. Το υδρογόνο και το οξυγόνο είναι συστατικά του νερού, ενώ οξυγόνο προσλαμβάνεται και από τον ατμοσφαιρικό αέρα για τις ανάγκες της αναπνοής. Ορισμένα στοιχεία κατά την παρασκευή ενός θρεπτικού διαλύματος προστίθενται σε μεγαλύτερες ποσότητες (N, P, S, K, Ca και Mg) και ονομάζονται μακροστοιχεία, ενώ τα υπόλοιπα προστίθενται σε πολύ μικρότερες ποσότητες (Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo και το Cl) και ονομάζονται ιχνοστοιχεία. Το χλώριο εμπεριέχεται πάντοτε σε επαρκείς ποσότητες στο αρδευτικό νερό, καθώς επίσης και στις προσμείξεις των λιπασμάτων και για τον λόγο αυτό δεν προστίθεται. Επομένως, μόνο τα 12 από τα 16 απαραίτητα για την ανάπτυξη των φυτών χημικά στοιχεία πρέπει να προστίθενται στο νερό, κατά την παρασκευή ενός θρεπτικού διαλύματος. Τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία και η χημική μορφή με την οποία απαντώνται στα θρεπτικά διαλύματα και απορροφούνται από τη ρίζα, φαίνονται στον Πίνακα 3 παρακάτω.

Πίνακας 3: Οι μορφές των θρεπτικών στοιχείων, όπως επιθυμούνται να είναι στο θρεπτικό διάλυμα.

Μακροστοιχείο	Χημική μορφή	Ιχνοστοιχείο	Χημική μορφή
Άζωτο (N)	NO_3^- , NH_4^+	σίδηρος (Fe)	Fe^{2+}
Φώσφορος (P)	H_2PO_4^-	μαγγάνιο (Mn)	Mn^{2+}
Θείο (S)	SO_4^{2-}	ψευδάργυρος (Zn)	Zn^{2+}
Κάλιο (K)	K^+	χαλκός (Cu)	Cu^{2+}
Ασβέστιο (Ca)	Ca^{2+}	βόριο (B)	H_3BO_3
Μαγνήσιο (Mg)	Mg^{2+}	μολυβδαίνιο (Mo)	MoO_4^{2-}

1.7.8 Χρησιμοποιούμενα λιπάσματα

Για την παρασκευή θρεπτικών διαλυμάτων χρησιμοποιούνται απλά υδατοδιαλυτά λιπάσματα, ορισμένα οξέα, ενώ ειδικά ο σίδηρος προστίθεται σε μορφή χηλικών ενώσεων, για την αποφυγή ιζημάτων (Πίνακας 4).

Πίνακας 4: Λιπάσματα που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή θρεπτικών διαλυμάτων στην υδροπονία.

Λίπασμα	Χημικός τύπος	Θρεπτικά στοιχεία (%)	Μοριακό Βάρος
Νιτρικό αμμώνιο	NH_4NO_3	N: 35	80,0
Νιτρικό ασβέστιο	$5[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]\text{NH}_4\text{NO}_3$	N: 15,5, Ca: 19	1080,5
Νιτρικό κάλιο	KNO_3	N: 13, K: 38	101,1
Νιτρικό μαγνήσιο	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	N: 11, Mg: 9	256,3
Νιτρικό οξύ	HNO_3	N: 22	63,0
Φωσφορικό μονοαμμώνιο	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	N: 12, P: 27	115,0
Φωσφορικό μονοκάλιο	KH_2PO_4	P: 23, K: 28	136,1
Φωσφορικό οξύ	H_3PO_4	P: 32	98,0
Θεικό κάλιο	K_2SO_4	K: 45, S: 18	174,3
Θεικό μαγνήσιο	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Mg: 9,7, S: 13	246,3
Χηλικός σίδηρος	διαφόρων τύπων	Fe: 6-13	-
Θεικό μαγγάνιο	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Mn: 32	169,0
Θεικός ψευδάργυρος	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Zn: 23	287,5
Θεικός χαλκός	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Cu: 25	249,7
Βόρακας	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	B: 11	381,2
Βορικό οξύ	H_3BO_3	B: 17,5	61,8
Οκταβορικό νάτριο	$\text{Na}_2\text{B}_8\text{O}_{13} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	B: 20,5	412,4
Μολυβδαινικό αμμώνιο	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Mo: 54	1163,3
Μολυβδαινικό νάτριο	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Mo: 40	241,9

1.7.9 Ιδιότητες του θρεπτικού διαλύματος (pH&EC)

Στα θρεπτικά διαλύματα, εκτός από τη συγκέντρωση ενός εκάστου ανόργανου στοιχείου και τις μεταξύ τους αναλογίες, μας ενδιαφέρει ακόμη το pH και η ηλεκτρική αγωγιμότητα (Electrical Conductivity = EC). Λόγω της ευκολίας που παρέχεται, με την ύπαρξη απλών φορητών οργάνων (πεχάμετρο και αγωγιμόμετρο), η μέτρηση των δύο αυτών παραμέτρων γίνεται σε καθημερινή βάση για τον έλεγχο της ποιότητας των θρεπτικών διαλυμάτων.

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC)

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC) σαν φυσικό μέγεθος είναι το αντίστροφο της ειδικής ηλεκτρικής αντίστασης ενός υλικού, έχει δηλαδή διαστάσεις ηλεκτρικής αντίστασης ανά

μονάδα μήκους. Στην περίπτωση των ηλεκτρολυτικών διαλυμάτων εκφράζει την ικανότητα ενός διαλύματος, ευρισκόμενο εντός κύβου πλευράς μήκους ενός μέτρο, να άγει το ηλεκτρικό ρεύμα, αν αυτό μέσω δύο ηλεκτροδίων τεθεί σε διαφορά δυναμικού. Έτσι η ηλεκτρική αγωγιμότητα ενός υδατικού διαλύματος σε μια συγκεκριμένη θερμοκρασία είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των ιόντων που είναι διαλυμένα σε αυτό. Ωστόσο δεν μας δίνει καμία πληροφορία για το είδος των αλάτων, που είναι διαλυμένα σε ένα διάλυμα, αλλά μόνο για τη συνολική τους συγκέντρωση. Πρέπει να τονιστεί ότι η EC επηρεάζεται πρακτικά μόνο από τις συγκεντρώσεις των κύριων θρεπτικών στοιχείων και όχι από τα ιχνοστοιχεία, λόγω της πολύ μικρότερης συγκέντρωσης τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η EC να μην παρέχει καμία πληροφορία σχετικά με τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων.

Μονάδα μέτρησης της EC έχει καθιερωθεί διεθνώς το dS/m. Για τα περισσότερα καλλιεργούμενα φυτά η EC των θρεπτικών διαλυμάτων κυμαίνεται μεταξύ 1,5-2,5 dS/m. Τιμές EC χαμηλότερες ενδεχομένως, υποδηλώνουν ανεπάρκεια θρεπτικών στοιχείων, ενώ μεγαλύτερες αλατούχο καταπόνηση. Όχι σπάνια, όταν το νερό άρδευσης περιέχει ιόντα σε υψηλά επίπεδα όπως Cl^- , Na^+ , HCO_3^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} ή SO_4^{2-} τότε η EC του νερού είναι αυξημένη με αποτέλεσμα το θρεπτικό διάλυμα που προκύπτει να έχει υπερβολικά υψηλή EC. Τέλος όταν επικρατούν συνθήκες όπως υψηλές θερμοκρασίες και ηλιοφάνεια που ευνοούν υψηλούς ρυθμούς διαπνοής των φυτών, η τιμή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας θα πρέπει να τείνει προς τα κάτω, ενώ σε συνθήκες χαμηλών ρυθμών διαπνοής (π.χ. νεφοσκεπής ημέρα), η τιμή της EC θα πρέπει να τείνει κοντά στα ανώτερα όρια της τιμής στόχου.

Το pH

Το pH (οξύτητα) του θρεπτικού διαλύματος αποτελεί μέτρο της περιεκτικότητας του σε ιόντα υδρογόνου και είναι μέγεθος καθοριστικής σημασίας για την καταλληλότητα του. Για τα περισσότερα είδη φυτών θα πρέπει να κυμαίνεται γύρω στο 5,5-5,8 στο διάλυμα τροφοδοσίας και 5,5-6,3 στην περιοχή της ρίζας. Πολλά θρεπτικά στοιχεία καθίστανται δυσδιάλυτα (π.χ. P, Fe, Mn) σε αλκαλικό pH ($\text{pH} > 7$), οπότε η απορρόφησή τους από τα φυτά δυσχεραίνεται, ενώ σε πολύ όξινο pH ($\text{pH} < 5$) καθίστανται πιο ευδιάλυτα με κίνδυνο φυτοτοξικότητας (π.χ. Mn, Al). Το pH του αρδευτικού νερού, συνήθως λόγω της περιεκτικότητας όξινων ανθρακικών αλάτων ασβεστίου (Ca) και μαγνησίου (Mg), είναι αλκαλικό, και έτσι για να μειωθεί στα επιθυμητά επίπεδα στα θρεπτικά διαλύματα, απαιτείται η προσθήκη κάποιου οξέος. Επίσης, η διαθεσιμότητα των ιχνοστοιχείων στο θρεπτικό διάλυμα επηρεάζεται πολύ περισσότερο από τις μεταβολές του pH, παρά από τις συγκεντρώσεις των μακροστοιχείων.

1.7.10 Παρασκευή θρεπτικού διαλύματος

Αρχικά, για να αποφευχθεί η συχνή παρασκευή θρεπτικού διαλύματος, παρασκευάζονται πυκνά διαλύματα (μητρικά διαλύματα), τα οποία είναι 100-200 φορές πυκνότερα από το θρεπτικό διάλυμα με το οποίο θα τροφοδοτηθεί η καλλιέργεια. Το διάλυμα με το οποίο τροφοδοτούνται τα φυτά, είναι προϊόν της αραίωσης των πυκνών διαλυμάτων (ισόποσα) με το νερό άρδευσης. Βασική προϋπόθεση είναι η χρησιμοποίηση δύο τουλάχιστον δοχεία πυκνών διαλυμάτων, όπου στο πρώτο δοχείο Α προστίθεται το νιτρικό ασβέστιο, το νιτρικό αμμώνιο, ένα μέρος του νιτρικού καλίου και ο χηλικός σίδηρος. Στο δεύτερο δοχείο Β προστίθεται το θειικό κάλιο, το θειικό μαγνήσιο, το φωσφορικό μονοαμμώνιο, το φωσφορικό μονοκάλιο, το φωσφορικό οξύ και τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία εκτός του σιδήρου. Το νιτρικό μαγνήσιο (αν χρησιμοποιηθεί) μπορεί να προστεθεί σε οποιοδήποτε από τα δύο δοχεία πυκνών διαλυμάτων. Κύριος στόχος της χρήσης δύο δοχείων είναι η αποφυγή πρόσμειξης του ασβεστίου με τα φωσφορικά και τα θειικά και η δημιουργία αδιάλυτων ενώσεων (ίζημα). Συνήθως, χρησιμοποιείται και ένα τρίτο δοχείο για το νιτρικό οξύ για τον έλεγχο του pH του θρεπτικού διαλύματος, ώστε αυτό να συγκρατείται μεταξύ 5,5 και 6,0.

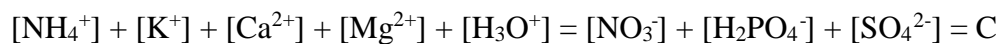
1.7.11 Σύνθεση θρεπτικού διαλύματος

Όταν πρόκειται να παρασκευαστεί ένα θρεπτικό διάλυμα, το πρώτο ζήτημα που τίθεται είναι η επιλογή της κατάλληλης σύνθεσης, η οποία θεωρείται παράγοντας πρωταρχικής σημασίας για την επιτυχία μιας υδροπονικής καλλιέργειας. Οι συνθέσεις των θρεπτικών διαλυμάτων που προτείνονται από διάφορους ερευνητές (Sonneveld and Straver, 1994; De Kreij et al., 1999; Adams, 2002; Sonneveld and Voogt, 2009; Σάββας, 2012), θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως ενδεικτικές για τις συνιστώμενες για κάθε φυτό αμοιβαίες αναλογίες των θρεπτικών στοιχείων. Θα πρέπει πριν χρησιμοποιηθούν να τροποποιούνται και να εξατομικεύονται για την εκάστοτε καλλιέργεια, ανάλογα με τη σύσταση του χρησιμοποιούμενου νερού. Όταν το νερό που χρησιμοποιείται για την παρασκευή θρεπτικών διαλυμάτων προέρχεται από γεωτρήσεις, φράγματα ή φυσικές πηγές, είναι σίγουρο ότι περιέχει σημαντικές ποσότητες ανόργανων ιόντων. Ειδικότερα,, από τα μακροστοιχεία το νερό περιέχει ασβέστιο (Ca^{2+}), μαγνήσιο (Mg^{2+}), θειικά (SO_4^{2-}), και σπανιότερα άζωτο (NO_3^-) σε σημαντικές ποσότητες, ενώ από τα ιχνοστοιχεία, εκτός του χλωρίου (Cl^-), μπορεί να υπάρχουν ο σίδηρος (ο Fe δεν λαμβάνεται υπόψη στους υπολογισμούς, γιατί καταβυθίζεται με την προσθήκη φωσφορικών), το μαγγάνιο (Mn^{2+}), ο ψευδάργυρος (Zn^{2+}), ο χαλκός (Cu^{2+}) και το βόριο (B). Άλλα ιόντα που περιέχονται στο νερό και πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την παρασκευή του θρεπτικού διαλύματος, είναι το νάτριο (Na^+), το οποίο λαμβάνεται

υπόψη για την εκτίμηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας (αλατότητας) του θρεπτικού διαλύματος (Θ.Δ.), καθώς και τα οξυανθρακικά (HCO_3^-), τα οποία λαμβάνονται υπόψη για τον υπολογισμό των ποσοτήτων θρεπτικών στοιχείων (κυρίως NO_3^-) που χορηγούνται στο Θ.Δ. κατά την ρύθμιση του pH. Γι' αυτό, από τις ποσότητες λιπασμάτων που πρόκειται να προστεθούν, θα πρέπει να αφαιρούνται οι ποσότητες των θρεπτικών στοιχείων που περιέχονται στο χρησιμοποιούμενο νερό. Επομένως, για να παρασκευαστεί ένα θρεπτικό διάλυμα με μια δεδομένη σύνθεση, είναι απαραίτητο να είναι γνωστή η χημική σύσταση του αρδευτικού νερού.

Συνήθως, οι ποσότητες των διαφόρων θρεπτικών μονάδων (ιόντων) που χρησιμοποιούνται στα θρεπτικά διαλύματα, εκφράζονται σε γραμμομόρια (mmol/l) ή σε γραμμοϊσοδύναμα (meq/l), για να διευκολύνονται οι υπολογισμοί των σχέσεων και των ισοζυγίων. Οι συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων συνήθως δίνονται σε $\mu\text{mol/l}$ ή mg/l (ppm) και δεν χρειάζεται να μετατραπούν σε meq/l, για την εκτέλεση των υπολογισμών. Η ιοντική ισορροπία του διαλύματος επιβάλλει ότι η σύνθεση ενός θρεπτικού διαλύματος θα πρέπει να είναι ισοσκελισμένη ως προς τις συγκεντρώσεις των ανιόντων και κατιόντων των κύριων θρεπτικών στοιχείων (συμπεριλαμβανομένων και των ιόντων υδρογόνου, όταν στη σύνθεση προβλέπεται και η προσθήκη οξέος για τη ρύθμιση του pH), εκφρασμένα σε meq/l. Θα πρέπει δηλαδή να ισχύει η ισότητα:

$$\sum(\text{meq/l κατιόντων}) = \sum(\text{meq/l ανιόντων}) = C (\text{meq/l})$$



όπου C είναι η συνολική συγκέντρωση κατιόντων ή ανιόντων.

Η συνολική συγκέντρωση των ιόντων (C) σε meq/l στο διάλυμα τροφοδοσίας υπολογίζεται εμπειρικά, ότι είναι κατά προσέγγιση $C \approx EC \times 10$ όπως έχει ήδη αναφερθεί. Επομένως, η ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC) μπορεί να προσδιορίζεται κατά προσέγγιση από τη σχέση: $EC = C/10$, σε dS/m. Επιγραμματικά αναφέρεται ότι κατά την κατάρτιση της βασικής σύνθεσης ενός θρεπτικού διαλύματος, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη:

1. Το είδος του καλλιεργούμενου φυτού, το στάδιο ανάπτυξης και οι κλιματικές συνθήκες.
2. Η συνολική συγκέντρωση αλάτων (EC), η οποία πρέπει να έχει καθορισμένη τιμή όπως και το pH να κυμαίνεται εντός δεδομένων ορίων.
3. Τα επίπεδα ή οι αμοιβαίες αναλογίες των θρεπτικών στοιχείων.

Σύμφωνα με επιστημονικές έρευνες που έχουν διεξαχθεί με αντικείμενο μελέτης τη

σύνθεση θρεπτικών διαλυμάτων και ειδικότερα τον καθορισμό των κατάλληλων επιπέδων των θρεπτικών στοιχείων, αλλά και των αμοιβαίων αναλογιών μεταξύ τους στο διάλυμα, έχουν καταρτιστεί βασικές συνθέσεις θρεπτικών διαλυμάτων για τα κυριότερα καλλιεργούμενα εκτός εδάφους φυτά (De Kreij et al.,1999; Adams,2002; Sonneveld and Voogt,2009; Σάββας,2012). Οι συνθέσεις θρεπτικών διαλυμάτων που προτείνονται σε διάφορες βιβλιογραφικές πηγές, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αυτούσιες, μόνο στην περίπτωση που το νερό έχει πρακτικά μηδενική συγκέντρωση αλάτων. Διαφορετικά πρέπει να προσαρμόζονται ανάλογα, λαμβάνοντας υπόψη τη χημική σύσταση του αρδευτικού νερού. Πρέπει να αναφερθεί ότι στην περίπτωση των ανοιχτών υδροπονικών συστημάτων, η σύσταση του διαλύματος με το οποίο τροφοδοτούνται τα φυτά δεν είναι η ίδια με αυτή του θρεπτικού διαλύματος στον χώρο των ριζών. Είναι επομένως σημαντικό να ελέγχεται τακτικά η σύσταση, η EC και το pH του θρεπτικού διαλύματος στον χώρο των ριζών, αφού αυτό είναι το διάλυμα με το οποίο έρχονται σε άμεση επαφή οι ρίζες και αντλούν τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία. Τέλος αναφέρεται ότι στα κλειστά συστήματα καλλιέργειας με ανακύκλωση του θρεπτικού διαλύματος, οι ποσότητες ασβεστίου (Ca^{2+}), μαγνησίου (Mg^{2+}) και θειικών (SO_4^{2-}) πρέπει να είναι μικρότερες συγκριτικά με τα ανοιχτά υδροπονικά συστήματα, γιατί τα στοιχεία αυτά συνήθως απορροφούνται δυσκολότερα, συσσωρεύονται στο νερό της ανακύκλωσης και έτσι δεν διατηρείται η σωστή αναλογία ιόντων στο ανακυκλώμενο θρεπτικό διάλυμα.

1.7.12 Διαδικασία υπολογισμού των χρησιμοποιούμενων λιπασμάτων

Εφόσον έχει καθορισθεί ποια θα είναι η σύνθεση του θρεπτικού διαλύματος, υπολογίζονται οι ποσότητες λιπασμάτων, που θα πρέπει να προστεθούν σε συγκεκριμένο όγκο νερού γνωστής περιεκτικότητας σε ανόργανα ιόντα για την παρασκευή του θρεπτικού διαλύματος. Λόγω των δυσκολιών που ενδεχομένως παρουσιάζει ο υπολογισμός των απαιτούμενων ποσοτήτων λιπασμάτων από κάποιο μη εξειδικευμένο άτομο, έχουν δημιουργηθεί κατάλληλα προγράμματα Η/Υ τα οποία επιτρέπουν τον εύκολο και γρήγορο υπολογισμό των λιπασμάτων που απαιτούνται. Σε ένα τέτοιο επιστημονικά τεκμηριωμένο (Savvas and Adamidis,1999; Savvas,2001) υπολογιστικό πρόγραμμα, υπάρχει ελεύθερη πρόσβαση στο διαδίκτυο, μέσω της ιστοσελίδας του εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιεργειών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών <http://www.ekk.aua.gr/excel/index.htm>

1.8 Προσδιορισμός της βιολογικής αζωτοδέσμευσης με τη μέθοδο της φυσικής αφθονίας του ισότοπου ^{15}N (^{15}N natural abundance)

Η συγκεκριμένη μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό της ικανότητας των ψυχανθών να αζωτοδεσμεύουν (δέσμευση του στοιχειακού ατμοσφαιρικού N μέσω των φυματίων). Απαραίτητες προϋποθέσεις για την εξαγωγή ασφαλών αποτελεσμάτων είναι, πρώτον η δειγματοληψία να γίνει στο σωστό στάδιο ανάπτυξης των φυτών (στάδιο ανθοφορίας) και δεύτερον ύπαρξη φυτών (μη ψυχανθή) που αναπτύσσονται στην ίδια περιοχή άλλα δεν έχουν την ικανότητα να αζωτοδεσμεύουν και ονομάζονται φυτά αναφοράς (reference plants). Τα φυτά αναφοράς θα πρέπει όπως προαναφέρθηκε, να έχουν αναπτυχθεί σε πολύ κοντινή περιοχή (ώστε να έχουν δεχθεί τις ίδιες κλιματικές συνθήκες), να έχουν συλλεχθεί στο ίδιο στάδιο ανάπτυξης που συλλέχθηκαν και τα ψυχανθή, καθώς επίσης να έχουν παρόμοιο βιολογικό κύκλο με το υπό μελέτη ψυχανθές.

1.8.1 Αρχές της μεθόδου

Όπως είναι γνωστό το άζωτο (N), στη φύση, όπως και άλλα χημικά στοιχεία, παρουσιάζουν περισσότερα από ένα σταθερά ισότοπα. Τα δύο σταθερά ισότοπα του N, είναι το ^{14}N και το ^{15}N , όπου το πρώτο είναι και το πιο άφθονο. Στην βιόσφαιρα ο λόγος μεταξύ των δύο σταθερών ισωτόπων ποικίλει με αποτέλεσμα να δημιουργείται κλασμάτωση σε φυσικές, χημικές αλλά και βιολογικές διαδικασίες. Η μεγαλύτερη πηγή N στο περιβάλλον είναι το ατμοσφαιρικό N_2 , με φυσική αφθονία (99,634%) του ισωτόπου ^{14}N . Οι αναλογίες που συναντώνται στη φύση μεταξύ του βαρύτερου και του ελαφρύτερου ισωτόπου είναι πολύ μικρές.

Όταν ένα ψυχανθές, το οποίο έχει σχηματίσει επιτυχώς φυμάτια, αναπτύσσεται σε ένα υπόστρωμα χωρίς την παρουσία αζώτου (ανόργανο ή/ και οργανικό άζωτο) και κατά συνέπεια εξαρτάται απόλυτα για την ανάπτυξη του από τη συμβιωτική αζωτοδέσμευση, η ισοτοπική σύνθεση του αζώτου του σε φύλλα και βλαστούς, αναμένεται να είναι παρόμοια με αυτή του ατμοσφαιρικού αζώτου (N_2) ($\delta^{15}\text{N}$ 0‰). Αντίθετα, εάν ένα φυτό χωρίς ενεργά φυμάτια, αναπτύσσεται σε έδαφος το οποίο περιέχει ανόργανο άζωτο, η τιμή του $\delta^{15}\text{N}$ (φύλλα και βλαστοί) θα πρέπει να είναι παρόμοια με αυτή του εδαφικού ανόργανου αζώτου, που προσλήφθηκε από το φυτό.

Το πιο σύνηθες πρόβλημα που καλούμαστε να αντιμετωπίσουμε είναι στην περίπτωση που ένα ψυχανθές, με σχηματιζόμενα φυμάτια, χρησιμοποιεί για να αναπτυχθεί και τις δύο διαθέσιμες πηγές αζώτου, δηλαδή του ατμοσφαιρικού N_2 μαζί με το ανόργανο εδαφικό

άζωτο. Σε μια τέτοια περίπτωση η τιμή του $\delta^{15}\text{N}$ αναμένεται να είναι ανάμεσα στις τιμές των δύο πηγών του αζώτου (ατμοσφαιρικό N^2 και έδαφος). Έτσι για να αποφευχθούν αυτές οι τεχνικές δυσκολίες που προκύπτουν κατά τον προσδιορισμό του $\delta^{15}\text{N}$ σε δείγματα εδάφους ή στην περίπτωση των υδροπονικών συστημάτων, αντί για το $\delta^{15}\text{N}$ του εδαφικού N προσδιορίζεται το $\delta^{15}\text{N}$ στο N των χρησιμοποιούμενων φυτών αναφοράς, θεωρώντας ότι το $\delta^{15}\text{N}$ στο έδαφος και το φυτό είναι ταυτόσημο αφού το φυτό τρέφεται μόνο με εδαφικό N . Τα κριτήρια ώστε να θεωρηθεί ένα φυτό, ως φυτό αναφοράς, αναφέρονται στην προηγούμενη ενότητα.

Για την εκτίμηση του ποσοστού του αζώτου (%Ndfa), που προέρχεται από την ατμόσφαιρα, σε ένα ψυχανθές, έχει επινοηθεί η παρακάτω εξίσωση (εξίσωση 1), σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Η εξίσωση αυτή έχει τρεις παραμέτρους: α) Το δ^{15} του φυτού αναφοράς β) Το δ^{15} του υπό μελέτη ψυχανθούς και γ) Το παράγοντα B. Ο παράγοντας 'B' είναι το $\delta^{15}\text{N}$ που παρουσιάζει το υπέργειο τμήμα (φύλλα και βλαστοί) ψυχανθούς, το οποίο είχε στη διάθεση του μόνο την ατμοσφαιρική πηγή αζώτου, χωρίς καμία πρόσθετη πηγή αζώτου μέσω της λίπανσης. Για τον προσδιορισμό της τιμής 'B' θα πρέπει να διεξαχθεί μία πειραματική δοκιμή σε θερμοκήπιο, όπου τα φυτά αναπτύσσονται σε αδρανές υπόστρωμα, χωρίς αζωτούχα λίπανση (υδροπονική καλλιέργεια με μηδενικές εισροές αζώτου) Τα φυτά θα πρέπει επίσης να εμβολιαστούν με το ίδιο στέλεχος βακτηρίου που εμβολιάστηκαν και τα υπό μελέτη ψυχανθή.

Επειδή στη συγκεκριμένη μελέτη, δεν έγινε η άνωθεν δοκιμή, λόγω αδυναμίας παροχής θρεπτικού διαλύματος με μηδενικό άζωτο, η τιμή 'B' παρέχεται από σχετική βιβλιογραφία.

$$\% \delta^{15}\text{N} \text{ φυτού} = \frac{\delta^{15}\text{N} \text{ φυτού} - \delta^{15}\text{N} \text{ αναφοράς}}{\delta^{15}\text{N} \text{ αναφοράς} - \delta^{15}\text{N} \text{ εδαφικού}} * 100 \quad (\text{εξίσωση 1})$$

2. Υλικά και μέθοδοι

2.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Για την διεξαγωγή του πειράματος επιλέχθηκαν φυτά δύο ειδών βίγνας, μίας τοπικής ποικιλίας προερχόμενη από την Άρτα (A_{RTA}) και ενός εμπορικού υβριδίου (E ή IT-97K) . Η καλλιέργεια πραγματοποιήθηκε σε θερμοκήπιο στο χώρο του Γ.Π.Α, σε υδροπονική καλλιέργεια με χρήση υποστρώματος σάκου περλίτη και η διάρκεια της ήταν 90 μέρες (κατατίθενται πλήρεις πληροφορίες σε επόμενη ενότητα).

Πρόκειται για ένα τριπαραγοντικό πείραμα (πίνακας 5), 16 διαφορετικών μεταχειρίσεων με 3 ίδιες επαναλήψεις η κάθε μία από αυτές (48 υδροπονικοί σάκοι με 6 φυτά κάθε σάκος).

Αναλυτικότερα:

(1) Πρώτος παράγοντας Διαχωρισμός αρδεύσεων.

Φυτά που δέχτηκαν επαρκή δόση άρδευσης-Control (Συμβολισμός:C). Φυτά που δέχτηκαν περιορισμένη δόση άρδευσης-Drought (Συμβολισμός:D). Στα φυτά με επαρκή δόση άρδευσης η συχνότητα εφαρμογής θρεπτικού διαλύματος είναι διπλάσια από τα φυτά με περιορισμένη δόση άρδευσης.

(2) Δεύτερος παράγοντας Σχετίζεται με το είδος του βακτηρίου που έγινε ο εμβολιασμός των φυτών, με τους παρακάτω συμβολισμούς:

R1: Φυτά χωρίς εμβολιασμό (Μάρτυρες)

R2: Φυτά εμβολιασμένα με *Bradyrhizobium pachyrhizi* PAC48T

R3: Φυτά εμβολιασμένα με *Bradyrhizobium* sp. VUL111

R4: Φυτά εμβολιασμένα με *Bradyrhizobium* sp. VUL111 + *enterobacter* sp.

(3) Τρίτος παράγοντας Διαχωρισμός φυτών.

Από το σύνολο των 288 φυτών, τα 144 ήταν φυτά της τοπικής ποικιλίας/πληθυσμού Άρτας (Συμβολισμός: A) και τα υπόλοιπα 144 του υβριδίου βίγνας με ονομασία IT-97K (Συμβολισμός: E).

Συνδυάζοντας τους 3 παραπάνω παράγοντες προκύπτουν τα παρακάτω πειραματικά τεμάχια, όπου το καθένα αντιστοιχεί σε ένα υδροπονικό σάκο περλίτη με 6 φυτά. Τα 6 φυτά του κάθε πειραματικού τεμαχίου ήταν φυτά αποκλειστικά ενός εκ των δύο ειδών βίγνας, δεχόντουσαν την ίδια δόση και διάρκεια άρδευσης και τέλος ήταν όλα εμβολιασμένα με το ίδιο εμβόλιο ή μη εμβολιασμένα όταν πρόκειται για φυτά μάρτυρες. Επομένως η μελέτη διεξήχθη σε 48 πειραματικά τεμάχια, με 6 φυτά το κάθε πειραματικό τεμάχιο (σύνολο 288 φυτά).

Πίνακας 5: Τα πειραματικά τεμάχια όπως κωδικοποιήθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος.

Πειραματικό τεμάχιο:	Επαναλήψεις:	Αριθμός φυτών ανά πειραματικό τεμάχιο:
Control _{Aρτας} R1	3 (a-b-c)	6
Control _{Aρτας} R2	3 (a-b-c)	6
Control _{Aρτας} R3	3 (a-b-c)	6
Control _{Aρτας} R4	3 (a-b-c)	6
Control _{Εμπορική} R1	3 (a-b-c)	6
Control _{Εμπορική} R2	3 (a-b-c)	6
Control _{Εμπορική} R3	3 (a-b-c)	6
Control _{Εμπορική} R4	3 (a-b-c)	6
Drought _{Aρτας} R1	3 (a-b-c)	6
Drought _{Aρτας} R2	3 (a-b-c)	6
Drought _{Aρτας} R3	3 (a-b-c)	6
Drought _{Aρτας} R4	3 (a-b-c)	6
Drought _{Εμπορική} R1	3 (a-b-c)	6
Drought _{Εμπορική} R2	3 (a-b-c)	6
Drought _{Εμπορική} R3	3 (a-b-c)	6
Drought _{Εμπορική} R4	3 (a-b-c)	6

Τα πειραματικά τεμάχια (σάκοι περλίτη των 6 φυτών) τοποθετήθηκαν με τυχαία σειρά εντός του θαλάμου του θερμοκηπίου όσον αφορά τους παράγοντες των δύο φυτικών ειδών (**Aρτας**) και υβριδίου (**E** ή IT-97K) καθώς και τους εμβολιασμούς με τα βακτήρια (παράγοντας 2). Όσον αφορά τον παράγοντα της άρδευσης, τα πειραματικά τεμάχια κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, κανάλια πάνω στα οποία υπήρχαν πειραματικά τεμάχια στα οποία εφαρμόστηκε κανονική άρδευση (5 κανάλια Control) και κανάλια στα οποία εφαρμόστηκε ελλειμματική άρδευση (5 κανάλια Drought). Τέλος, επάνω στο κάθε κανάλι των δύο ομάδων είχαν τοποθετηθεί 6 σάκοι περλίτη.

2.2 Εγκαταστάσεις διεξαγωγής του πειράματος

Το πείραμα έλαβε χώρα εντός θαλάμου υδροπονίας του υαλόφρακτου θερμοκηπίου του εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιεργειών στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Ο θάλαμος που εγκαταστάθηκε το πείραμα ήταν εξοπλισμένος με αυτοματοποιημένο σύστημα στάγδην άρδευσης, με δυνατότητα παροχής αρδευτικής δόσης συγκεκριμένης συχνότητας και διάρκειας. Επιπλέον διαθέτει αυτόματο άνοιγμα και κλείσιμο παραθύρων σύμφωνα με τις εκάστοτε κλιματολογικές συνθήκες καθώς και σύστημα θέρμανσης με καυστήρα φυσικού αερίου.

Αναλυτικότερα, στο θάλαμο του θερμοκηπίου εγκαταστάθηκε υδροπονικό σύστημα ανοικτού τύπου αποτελούμενο από 10 υπερυψωμένες μεταλλικές υδρορροές-κανάλια (ειδική υδροπονική κατασκευή) σε απόσταση από το έδαφος περίπου 0,5m, μήκους 7 μέτρων το καθένα και με κλίση βορρά νότο 2%. Πάνω στις μεταλλικές υδρορροές-κανάλια τοποθετήθηκαν σε σειρά οι σάκοι περλίτη του 1 μέτρου (33 λίτρων), ο κάθε ένας (εικόνα 14). Σε κάθε σάκο περλίτη τοποθετήθηκαν 6 φυτά σύμφωνα με το πειραματικό σχεδιασμό, όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα.

Τα πειραματικά τεμάχια (σάκοι περλίτη των 6 φυτών) τοποθετήθηκαν με τυχαία σειρά στα δέκα υδροπονικά κανάλια, όσον αφορά το παράγοντα του εμβολιασμού με τα βακτήρια (παράγοντας 2). Όσον αφορά τον παράγοντα της άρδευσης (παράγοντας 1), τα πειραματικά τεμάχια κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, κανάλια πάνω στα οποία υπήρχαν πειραματικά τεμάχια στα οποία εφαρμόστηκε κανονική άρδευση (**5 κανάλια Control**) και κανάλια στα οποία εφαρμόστηκε ελλειμματική άρδευση (**5 κανάλια Drought**).



Εικόνα 14: Η υδροπονική κατασκευή(κανάλι) με κλίση βορρά(δεξιά) – νότο(αριστερά) και τοποθετημένους 6 σάκους περλίτη (slabs hydroponics) με 6 φυτά ανά σάκο.

2.3 Αρδευτικό σύστημα

Όσον αφορά την άρδευση, τα φυτά και των δύο ειδών αρδευόντουσαν αποκλειστικά με θρεπτικό διάλυμα, η σύσταση του οποίου παρατίθεται σε επόμενη ενότητα. Στο χώρο του θερμοκηπίου τοποθετήθηκαν δύο δεξαμενές. Στην

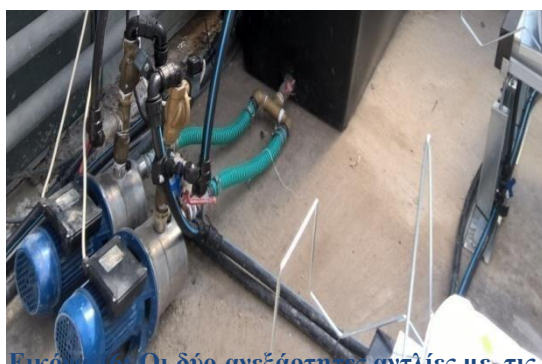


πρώτη δεξαμενή, όγκου 190L, λάμβανε χώρα η παρασκευή του θρεπτικού διαλύματος (αραιό θρεπτικό διάλυμα).

Εικόνα 15: Οι δύο δεξαμενές του αραιού θρεπτικού διαλύματος, χωρητικότητας 190L (αριστερά) και η κύρια δεξαμενή χωρητικότητας 500L (δεξιά).

Στη συνέχεια, το θρεπτικό διάλυμα μεταφερόταν μέσω αντλίας σε δεύτερη μεγαλύτερη δεξαμενή (επίσης αραιό θρεπτικό διάλυμα), όγκου περίπου 500L, και από εκεί χορηγούταν στα φυτά μέσω του ποτίσματος. Ο λόγος της ύπαρξης δύο δεξαμενών με αραιό θρεπτικό διάλυμα (Εικόνα 15) και η μεταφορά του θρεπτικού διαλύματος από την πρώτη στη δεύτερη, γινόταν με σκοπό την επίτευξη μεγαλύτερης ακρίβειας στη δοσολογία κατά την παρασκευή του αραιού διαλύματος καθώς και για να εξασφαλιστεί επάρκεια θρεπτικού διαλύματος κατά τη διάρκεια του εικοσιτετραώρου.

Η χορήγηση του θρεπτικού διαλύματος στα φυτά γινόταν μέσω συστήματος άρδευσης πλαστικών αγωγών Φ16 (διέσχιζαν πλευρικά τις υδρορροές) και παρείχαν το θρεπτικό διάλυμα στα φυτά με σταλαχτές (ένας σταλαχτής ανά φυτό). Η χορηγούμενη ποσότητα θρεπτικού διαλύματος σύμφωνα με την παροχή των σταλαχτών ανερχόταν σε 70



Εικόνα 16: Οι δύο ανεξάρτητες αντλίες με τις ηλεκτροβάνες τους, οι οποίες τροφοδοτούσαν με θρεπτικό διάλυμα τα δύο ανεξάρτητα τμήματα άρδευσης, μία για τα κανάλια της κανονικής άρδευσης (Control) και η δεύτερη για τα κανάλια της ελλειμματικής άρδευσης (Drought).

ml/min ανά φυτό. Λόγου ελέγχου του παράγοντα της άρδευσης, το σύστημα άρδευσης ήταν

χωρισμένο σε δύο ανεξάρτητα τμήματα, όπου κάθε ένα τροφοδοτούνταν από μία αντλία. Δηλαδή η μια αντλία τροφοδοτούσε τα 5 κανάλια της Drought άρδευσης (144 φυτά) και η άλλη αντλία τροφοδοτούσε τα 5 κανάλια της Control άρδευσης (144 φυτά). Η άρδευση ελεγχόταν από δύο ειδικούς ανεξάρτητους χρονοδιακόπτες συνδεδεμένους με τις δύο ηλεκτροβάνες των δύο αντλιών, έτσι δινόταν η δυνατότητα να ρυθμιστεί πλήρως η συχνότητα και η διάρκεια της άρδευσης (Εικόνα 16).

Μετά την τροφοδοσία των φυτών με θρεπτικό διάλυμα, η ποσότητα που πλεονάζοντος θρεπτικού διαλύματος που δεν μπορούσε να συγκρατηθεί από το υπόστρωμα έπειτα από κάθε πότισμα έρεε κατά μήκος της υδρορροής και κατέληγε σε κάδους συλλογής στο τέλος του καναλιού. Για την επίτευξη της απομάκρυνσης του πλεονάζοντος θρεπτικού διαλύματος από το σάκο, είχαν ανοιχθεί σχισμές με φορά ίδια



Εικόνα 17: Τα δοχεία συλλογής, στο τέλος των καναλιών, του πλεονάζοντος θρεπτικού διαλύματος μετά από κάθε άρδευση.

με αυτή του καναλιού, στο κάτω μέρος των σακών. Στο τέλος κάθε καναλιού, είχαν τοποθετηθεί κάδοι συλλογής του πλεονάζοντος θρεπτικού διαλύματος, στο οποίο πραγματοποιούνταν μετρήσεις ογκομέτρησης, του pH και της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και στη συνέχεια με κατάλληλους χειρισμούς το διάλυμα απομακρυνόταν από το θάλαμο (Εικόνα 17).

2.4 Παραγωγή και σύσταση θρεπτικού διαλύματος

Σε όλα τα πειραματικά τεμάχια του πειράματος χορηγήθηκε θρεπτικό διάλυμα ίδιας σύστασης. Η συνταγή για την παρασκευή του θρεπτικού διαλύματος που εφαρμόστηκε προέκυψε με βάση το πρόγραμμα σύστασης και υπολογισμού θρεπτικών στοιχείων για υδροπονικά συστήματα σε H/Y και παρατίθενται παρακάτω. (Savvas and Adamidis, 1999).

Για τις ανάγκες της παρασκευής του θρεπτικού διαλύματος, ζυγίστηκαν τα λιπάσματα μακροστοιχείων και μικροστοιχείων σύμφωνα με τις συστάσεις και τις αντίστοιχες ποσότητες που όριζε το ανωτέρω ειδικό πρόγραμμα μέσω H/Y. Το πρόγραμμα παρέχει τη δυνατότητα διαδικτυακής πρόσβασης μέσω της ιστοσελίδας του Εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιεργειών

στην ακόλουθη ηλεκτρονική διεύθυνση: <http://www.ekk.aua.gr/excel/index.htm>. Στόχος κατά την παραγωγή του θρεπτικού διαλύματος ήταν η περιεκτικότητα σε μονάδες αζώτου ίσο με 40% σε σχέση με τις

συνταγές με περιεκτικότητα αζώτου ίσο με 100% όπως ορίζει η βιβλιογραφία για τη βίγνα, ενώ τα υπόλοιπα θρεπτικά στοιχεία παρέμειναν στο 100%. Αρχικά παρασκευάστηκαν πυκνά διαλύματα Α, Β και Γ (διάλυμα οξέως). Η σύσταση των πυκνών διαλυμάτων δίνεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6).

Πίνακας 6: Οι επιδιωκόμενες τιμές EC, pH, η σύσταση καθώς και η ποσότητα των θρεπτικών στοιχείων στο θρεπτικό διάλυμα.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΕΣ ΜΑΖΕΣ ΛΗΙΑΣΜΑΤΩΝ		
E.C.		1,91 dS/m
pH		5,61
Πυκνό διάλυμα Α		20 ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό ασβέστιο	0,756 Kg
7	Χλωριούχο ασβέστιο	0,389 Kg
2	Νιτρικό κάλιο	0,000 Kg
3	Νιτρικό αμμώνιο	0,000 Kg
4	Χηλικός σίδηρος	0,022 Kg
Πυκνό διάλυμα Β		20 ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό κάλιο	0,000 Kg
2	Θεικό μαγνήσιο	0,566 Kg
3	Νιτρικό μαγνήσιο	0,000 Kg
4	Φωσφορικό μονοκάλιο	0,000 Kg
5	Θεική αμμωνία	0,423 Kg
8	Θεικό κάλιο	0,959 Kg
9	Θεικό μαγγάνιο	2,03 G
10	Θεικός ψευδάργυρος	1,06 G
11	Θεικός χαλκός	0,25 G
12	Βορικό οξύ	2,47 G
13	Βόρακας	0,00 G
14	Solubor	0,00 G
15	Επταμολυβδαινικό αμμώνιο	0,00 G
16	Μολυβδαινικό νάτριο	0,24 G
Πυκνό διάλυμα οξέως		20 ΛΙΤΡΑ
6	Φωσφορικό οξύ	2,053 λίτρα
1	Νιτρικό οξύ	0,590 λίτρα

Μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των πυκνών θρεπτικών διαλυμάτων (Α ,Β και Γ), ακολουθούσε η παρασκευή του αραιού θρεπτικού διαλύματος μέσω αραιώσης των πυκνών διαλυμάτων σε αναλογία 1:1. Για την παρασκευή αραιού θρεπτικού διαλύματος χρησιμοποιήθηκε μία δεξαμενή όγκου 190L στην οποία γινόταν η μίξη των τριών διαλυμάτων, όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα. Αναλυτικότερα, γινόταν προσθήκη περίπου 0,75 L από το πυκνό διάλυμα Α και αντίστοιχη ποσότητα από το Β, καθώς και 120ml από το διάλυμα Γ (διάλυμα οξέως). Στην συνέχεια, ακολουθούσε η συμπλήρωση του

όγκου με αρδευτικό νερό έως τα 190L με συνεχή ανάδευση. Μετά την αραίωση, προσδιοριζόταν η ηλεκτρική αγωγιμότητα και το pH του διαλύματος. Η επιζητούμενη ηλεκτρική αγωγιμότητα ήταν 1,91dS/m με επιτρεπόμενο σφάλμα $\pm 0,1$. Τέλος, η επιζητούμενη τιμή pH ήταν 5,61 με επιτρεπόμενο σφάλμα $\pm 0,1$. Το θρεπτικό διάλυμα με την παραπάνω σύσταση εφαρμόστηκε κατά το διάστημα 05/04/2017 έως 01/06/2017.

Το παραπάνω διάλυμα, ωστόσο, οδήγησε σε σημαντική μείωση του pH στο περιβάλλον των ριζών, όπως διαπιστώθηκε από τη μέτρηση pH που προσδιοριζόταν στο διάλυμα απορροής. Αυτή η πτώση του pH επηρέασε την απορρόφηση σημαντικών ιχνοστοιχείων και οδήγησε σε πιθανή τοξικότητα αργιλίου στα φυτά. Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος πραγματοποιήθηκε ανασύσταση του θρεπτικού διαλύματος (πίνακας 7), με μειωμένη συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου κατά το διάστημα 02/06/2017 έως 28/06/2017. Η ακριβής σύσταση του νέου θρεπτικού διαλύματος παρατίθεται παρακάτω, με ίδια τελική συγκέντρωση αζώτου (**40%**), καθώς και η διαδικασία παρασκευής του παραμένει η ίδια με του αρχικού.

Πίνακας 7: Οι επιδιωκόμενες τιμές EC, pH, η σύσταση καθώς και η ποσότητα των θρεπτικών στοιχείων στο νέο θρεπτικό διάλυμα.

E.C.	1,83	dS/m
pH	5,61	
Πυκνό διάλυμα Α	20	ΛΙΤΡΑ
Νιτρικό ασβέστιο	0,659	Kg
Χλωριούχο ασβέστιο	0,389	Kg
Νιτρικό κάλιο	0,000	Kg
Νιτρικό αμμώνιο	0,079	Kg
Χηλικός σίδηρος	0,022	Kg
Πυκνό διάλυμα Β	20	ΛΙΤΡΑ
Νιτρικό κάλιο	0,000	Kg
Θεικό μαγνήσιο	0,566	Kg
Νιτρικό μαγνήσιο	0,000	Kg
Φωσφορικό μονοκάλιο	0,000	Kg
Θεική αμμωνία	0,001	Kg
Θεικό κάλιο	0,959	Kg
Θεικό μαγγάνιο	2,03	G
0 Θεικός ψευδάργυρος	1,06	G
1 Θεικός χαλκός	0,25	G
2 Βορικό οξύ	2,47	G
3 Βόρακας	0,00	G
4 Solubor	0,00	G
5 Επταμολυβδαινικό αμμώνιο	0,00	G
6 Μολυβδαινικό νάτριο	0,24	G
Πυκνό διάλυμα οξέως	20	ΛΙΤΡΑ
Φωσφορικό οξύ	2,053	Λίτρα
Νιτρικό οξύ	0,590	Λίτρα

2.5 Πρόγραμμα άρδευσης

Όπως προαναφέρθηκε, τα φυτά της βίγνας αρδευόντουσαν αποκλειστικά με θρεπτικό διάλυμα. Η διάρκεια και η συχνότητα άρδευσης συσχετιζόταν σε κάθε περίπτωση με την ηλικία των φυτών καθώς και τις επικρατούσες κλιματικές συνθήκες. Κατά τον πρώτο μήνα από την εγκατάσταση των φυτών εντός του θερμοκηπίου, όλα τα φυτά (288) αρδευόντουσαν με την ίδια συχνότητα και διάρκεια άρδευσης. Στη συνέχεια, όσον αφορά τον αριθμό των αρδεύσεων, τα φυτά της μεταχείρισης Drought (5 κανάλια με 144 φυτά στο σύνολο) δεχόντουσαν το 1/2 των ποτισμάτων που εφαρμόστηκαν στη μεταχείριση Control (5 κανάλια με 144 φυτά στο σύνολο).

Ειδικότερα μετά το πέρας ενός μήνα από την εγκατάσταση των φυτών στο θερμοκήπιο, τα φυτά της μεταχείρισης Control δεχόντουσαν 6 ποτίσματα ανά ημέρα και τα φυτά της μεταχείρισης Drought δεχόντουσαν 3 ποτίσματα ανά μέρα. Ο μέγιστος αριθμός ποτισμάτων που εφαρμόστηκαν ανά ημέρα ήταν 28 για τη μεταχείριση του Control και 14 για τη μεταχείριση του Drought (Εικόνα 18). Σε κάθε περίπτωση, η αρδευτική δόση διαρκούσε 1 λεπτό και ο όγκος του θρεπτικού διαλύματος που χορηγούνταν ανά φυτό ήταν 70ml/min/άρδευση.



Εικόνα 18: Αναπτυξιακό στάδιο φυτών 27 μέρες μετά τη σπορά, όπου στο σάκο 1 εφαρμόζεται ελλειμματική άρδευση(Drought) και στο σάκο 2 κανονική άρδευση (Control).

2.6 Χρησιμοποιηθέντα βακτηριακά στελέχη ριζοβίων

Στην παρούσα μελέτη το ριζόβιο βακτήριο *Bradyrhizobium sp. VULIII* που χρησιμοποιήθηκε κατά τον εμβολιασμό των φυτών, απομονώθηκε από φυμάτια τα οποία είχαν δημιουργηθεί σε τοπικές ποικιλίες βίγνας στην περιοχή της Λήμνου (Tampakaki et al.,2017) . Το στέλεχος ονομάστηκε “VULP”, όπου το πρώτο συνθετικό του ονόματος (VU) αναφέρεται στο ξενιστή *Vigna unguiculata* και το δεύτερο συνθετικό (LI) αναφέρεται στη γεωγραφική περιοχή από την οποία απομονώθηκε το συγκεκριμένο στέλεχος (LIMNOS) (Tampakaki et al.,2017). Η απομόνωση των βακτηρίων και η περαιτέρω ανάλυση του πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο ERIC-PCR. Να αναφερθεί ότι το συγκεκριμένο στέλεχος ήταν ικανό να σχηματίσει αποτελεσματικά φυμάτια ροζ χρωματισμού (Nod⁺/ Fix⁺) με το ξενιστή του (*Vigna unguiculata*). Το *Bradyrhizobium pachyrhizi PAC48T* απομονώθηκε από φυμάτια του *Pachyrhizuserosus* στη Κόστα Ρίκα (Ramírez-Bahenaetal.,2009;Rodríguez-Navarroetal.,2004). Με βάση τη pair-wise σύγκριση, τα απομονωμένο στέλεχος *Bradyrhizobium sp. VULIII* εμφάνισε παρόμοια αλληλουχία με το *Bradyrhizobium pachyrhizi PAC48T* σε ποσοστό 97,5%, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτό το στέλεχος μπορεί να σχετίζεται το *Bradyrhizobium pachyrhizi PAC48T* (Tampakaki et al.,2017).

2.7 Διαχείριση του φυτικού υλικού πριν τη σπορά

Η έναρξη του πειράματος πραγματοποιήθηκε κατά την 27/03/2017, όπου τα σπέρματα της βίγνας τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri, τα οποία στη βάση τους περιείχαν εμποτισμένο με απιονισμένο νερό διηθητικό χαρτί. Τα τρυβλία, εν συνεχεία, τοποθετήθηκαν εντός σκοτεινού θαλάμου σταθερής θερμοκρασίας (24°C) και ανοίγονταν υπό ασηπτικές συνθήκες για να



Εικόνα 19: Τρυβλία Petri με διηθητικό χαρτί και ριζοβολημένα σπέρματα βίγνας.

ελεγχθεί η υγρασία του χαρτιού και να γίνει διαβροχή του, έτσι ώστε να προσφέρεται στους σπόρους η κατάλληλη υγρασία για την επίτευξη της προβλάστησης τους. Ειδικότερα χρησιμοποιήθηκαν 25 τρυβλία με περιεκτικότητα 10 σπέρματα το κάθε ένα για την ποικιλία της Άρτας και αντίστοιχη ποσότητα τρυβλίων και σπερμάτων για το υβρίδιο. Αξίζει να αναφερθεί πως οι σπόροι της ποικιλίας της Άρτας (Arta) καθώς και του εμπορικού υβριδίου (IT-97K) παρουσίασαν την ίδια βλαστικότητα, επίσης ο ρυθμός ανάπτυξης κατά τα πρώτα στάδια ήταν ίδιος.

Ο λόγος για τον οποίο χρησιμοποιήθηκε μεγαλύτερος αριθμός σπερμάτων από τις ανάγκες του πειράματος (288 φυτά) ήταν να εξασφαλιστεί η δυνατότητα επιλογής των καλύτερων και πιο ομοιόμορφα βλαστημένων σπερμάτων. Η βλάστηση των πρώτων σπερμάτων παρατηρήθηκε κατά την ημερομηνία 29/3/2017, όπου είχαν βλαστήσει περίπου τα 2/3 των σπερμάτων (Εικόνα 19).

2.8 Διαχείριση του φυτικού υλικού κατά τη σπορά

Η σπορά στις τελικές θέσεις φύτευσης έγινε στις 31/3/2017 σε υπόστρωμα περλίτη σε σάκου. Είχε προηγηθεί άρδευση του υποστρώματος με ποσότητα 20-25L θρεπτικού διαλύματος ανά σάκο και διάνοιξη 3 πλάγιων σχισμών, σύμφωνα με τη φορά του καναλιού, για αποστράγγιση. Πριν τη σπορά, οι βλαστημένοι σπόροι που επρόκειτο να φυτευτούν, εμβαπτίστηκαν σε υγρή καλλιέργεια βακτηρίων για λίγα δευτερόλεπτα (4-5''). Ακολούθως, φυτεύτηκαν σε βάθος 4-5cm από την επιφάνεια των σάκων με τον υδροπονικό περλίτη, των οποίων η πάνω επιφάνεια είχε διανοιχτεί σε 6 ισαπέχοντα σημεία (υποδοχές για φυτά), 6 σπορόφυτα ανά σάκο. Στη συνέχεια, 3 μέρες μετά την εγκατάσταση της καλλιέργειας πραγματοποιήθηκε χειρονακτικό πότισμα με θρεπτικό διάλυμα με ποσότητα 50 ml/φυτό. Η ποσότητα του χορηγούμενου θρεπτικού διαλύματος ήταν μικρή, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η

πιθανότητα έκπλυσης των βακτηρίων. Τέλος, μετά το πέρας περίπου δέκα ημερών εφαρμόστηκε επαναληπτικό ριζοπότισμα (10ml/φυτό) με υγρή καλλιέργεια βακτηρίων (τα αντίστοιχα με τα παραπάνω), ώστε να διασφαλιστεί η επιτυχία του εμβολιασμού. Ακολουθεί γράφημα με την περιγραφή των εργασιών κατά τον εμβολιασμό.

Βλαστημένοι σπόροι



Υγρή καλλιέργεια εμβολίου βακτηρίων



Εμβάπτιση σπόρων στην υγρή καλλιέργεια



Πλήρης υδροπονικός σάκος με φυτεμένα σπορόφυτα και σταλάκτες.



Τοποθέτηση στην τελική θέση φύτευσης.



2.9 Διαχείριση του φυτικού υλικού μετά τη σπορά

Η χρονική διάρκεια του πειράματος, από την εγκατάσταση (31/3/2017) των σποροφύτων στους σάκους υδροπονικού περλίτη μέχρι την εξαγωγή όλων των φυτών (28/6/2017), ήταν 90 μέρες.

2.9.1 Υποστύλωση

Καθώς τα φυτά αναπτυσσόταν πραγματοποιήθηκε υποστύλωση με κατάλληλο νήμα πολυπροπυλενίου, το οποίο ξεκινούσε από το λαιμό των φυτών (σημείο ένωσης υπέργειου και υπόγειου τμήματος) και κατέληγε σε σύρμα που διέσχιζε την οροφή του θερμοκηπίου κατά μήκος των υδροπονικών καναλιών, βοηθώντας έτσι τα φυτά να αναρριχηθούν. Η διαδικασία της υποστύλωσης έλαβε χώρα στις 27/04/2017, 28 μέρες μετά τη σπορά. Να αναφερθεί πως τα φυτά που δεχόντουσαν επαρκή δόση άρδευσης εμφάνισαν ωριότερα και μεγαλύτερη τήκη για αναρρίχηση σε σύγκριση με τα φυτά της ελλειμματικής δόσης άρδευσης (ειδικά για την ποικιλία της Άρτας).

2.9.2 Φυτοπροστασία

Καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας εμφανίστηκαν παθογόνα και εντομολογικοί εχθροί, οι οποίοι διαγνώστηκαν και αντιμετωπίστηκαν εγκαίρως. Συγκεκριμένα κατά την ημερομηνία 2/5/17 έγινε ψεκασμός για την αντιμετώπιση μικρού πληθυσμού Θρίπα (*Frankliniella occidentalis*) με βιολογικό σκεύασμα αλάτων καλίου BIOREND-R (15ml/10L νερό) για την αντιμετώπιση του. Το ίδιο διάστημα έγινε ψεκασμός με Confidor 200SL (4ml/1L νερό) για αντιμετώπιση αφίδων (*Aphidoidea*). Επαναληπτικός ψεκασμός με Confidor 200SL (4ml/1L νερό) για την αντιμετώπιση των αφίδων έγινε στις 23/5/17 και 16/6/2017. Παράλληλα κατά το ίδιο διάστημα εμφανίστηκαν προσβολές ωιδίου (*Erysiphe pisi*) και πραγματοποιήθηκαν δύο ψεκασμοί κατά τις ημερομηνίες 14/6/17 και 20/6/2017 με το φυτοπροστατευτικό σκεύασμα Ortiva 25 SC (5,5ml/8L νερό).

2.10 Πειραματικές μετρήσεις στο θερμοκήπιο

Για να εξασφαλισθεί η σταθερότητα (όσον αφορά τις τιμές στόχους του pH και της EC) του θρεπτικού διαλύματος τροφοδοσίας των φυτών, πραγματοποιούνταν καθημερινές μετρήσεις στη δεξαμενή του αραιού θρεπτικού διαλύματος των 500L και ακολουθούσαν οι κατάλληλες διορθώσεις όπου απαιτούνταν. Επίσης μετρήσεις του pH και της EC πραγματοποιούνταν σε καθημερινή βάση, στο θρεπτικό διάλυμα απορροής που συγκεντρωνόταν στους κάδους συλλογής στο τέλος των υδροπονικών καναλιών, με στόχο τον έλεγχο του περιβάλλοντος της ρίζας (αποφυγή υψηλής αλατότητας ή φυτοτοξικότητα). Τέλος στο διάλυμα απορροής γινόταν ογκομέτρηση και αποθήκευση μέρους του θρεπτικού

διαλύματος σε μπουκαλάκια των 100 ml για περαιτέρω πειραματικές μετρήσεις και ακολουθούσε απομάκρυνση από το χώρο του θερμοκηπίου του υπολοίπου θρεπτικού. Τα μπουκαλάκια των 100ml τοποθετήθηκαν σε ψυγείο μέχρις ότου πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις.

2.11 Μετρήσεις βιομάζας

Για τον προσδιορισμό του ρυθμού ανάπτυξης, της βιομάζας του υπέργειου τμήματος και του ριζικού συστήματος των φυτών [νωπά βάρη (g)], το ποσοστό της ξηρής ουσίας του υπέργειου και του υπόγειου τμήματος (%), πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία στο στάδιο της ανθοφορίας, όπου σύμφωνα με τη βιβλιογραφία τα φυτά είναι στο καλύτερο στάδιο ανάπτυξης :

Δειγματοληψία κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας στις 17/05/2017 (48 μ έ ρ ε ς μ ε τ ά τ η σ π ο ρ ύ).

Κατά τη δειγματοληψία από κάθε σάκο περλίτη (πειραματικό τεμάχιο) επιλέχθηκε το φυτό με την πιο πλήρη άνθηση. Συγκεκριμένα εκριζώθηκε ένα ολόκληρο φυτό από κάθε πειραματικό τεμάχιο. Μετά την εξαγωγή τα φυτά τοποθετήθηκαν σε χάρτινες σακούλες και μεταφέρονταν από το χώρο του θερμοκηπίου στο χώρο του εργαστήριου.

Στο εργαστήριο τα φυτά κοβόντουσαν με ψαλίδι στο σημείο του λαιμού και ακολουθούσε πλύσιμο των ριζών με σκοπό την απομάκρυνση του εγκλωβισμένου περλίτη. Το πλύσιμο γινόταν με ιδιαίτερη προσοχή και με τη βοήθεια ειδικής σήτας ώστε να μην υπήρχαν απώλειες φυματίων. Στη συνέχεια ακολουθούσε επιφανειακό στέγνωμα των ριζών για περίπου 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα γινόταν η μέτρηση του νωπού βάρους του υπέργειου τμήματος (βλαστοί και φύλλα), της ρίζας και των φυματίων που φέρει κάθε ρίζα (εικόνα 20 και 21). Το ζύγισμα πραγματοποιήθηκε σε ηλεκτρονικό ζυγό ασφαλείας 0,01g (Mettler PE 3600). Επιπλέον πραγματοποιήθηκε μέτρηση του αριθμού των φυματίων που φέρει η κάθε ρίζα. Να αναφερθεί, πως ο ορατός αριθμός φυματίων για το χαρακτηρισμό της ικανότητας βιοσύνθεσης N₂ των φυτών, έχει ξανά χρησιμοποιηθεί (Corbin et al.,1977; Barnes et al.,1981).

Στη συνέχεια, τα δείγματα του υπέργειου και του υπόγειου τμήματος των φυτών, τοποθετήθηκαν (εντός ειδικών χάρτινων σακουλών) σε φούρνο θερμοκρασίας 70°C για περίπου 7 μέρες μέχρι να σταθεροποιηθεί το τελικό τους βάρος. Κατά τη διάρκεια των 7 ημερών, πραγματοποιήθηκαν δοκιμαστικές μετρήσεις ελέγχου του βάρους των δειγμάτων μέχρις ότου να εξασφαλιστεί πως το ξηρό βάρος που είχε προκύψει, είχε σταθεροποιηθεί. Αυτό αποτελούσε το κριτήριο για την έξοδο των δειγμάτων από το φούρνο. Τέλος,

μετρήθηκε το βάρος των αποξηραμένων ιστών (υπέργειο και υπόγειο τμήμα) και ακολούθησε άλεση των δειγμάτων σε μύλο με κόσκινο διαμέτρου 0,5mm (εικόνα 22).

Μετά την άλεση τους τα κονιοποιημένα δείγματα φυτικών ιστών αποθηκεύονταν σε ειδικά νάιλον σακουλάκια και τοποθετούταν σε ξηρό περιβάλλον μέχρι να πραγματοποιηθεί η χημική ανάλυση τους.



Εικόνα 20 & 21: Το υπέργειο και το υπόγειο τμήμα φυτού, στο οποίο πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις που αναφέρθηκαν



Εικόνα 22: Ο μύλος όπου αλέστηκαν τα ξηρά δείγματα των υπέργειων τμημάτων των φυτών.

2.12 Προσδιορισμός του ισότοπου ^{15}N (^{15}N natural abundance)

Οι εργαστηριακές αναλύσεις, για τον προσδιορισμό του ισότοπου ^{15}N του αζώτου και της εξαγωγής λοιπών συμπερασμάτων εκ αυτού, πραγματοποιήθηκαν στο College of Agricultural and Environmental Sciences στο Davis της Καλιφόρνια. Μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν μόνο στα υπέργεια φυτικά δείγματα της δειγματοληψίας κατά το στάδιο

της ανθοφορίας στις 17/05/2017 (48 δείγματα). Όπου ξηρά και αλεσμένα δείγματα βάρους 2g τοποθετήθηκαν σε ειδικά γυάλινα φιαλίδια και στάλισαν στο Davis (Εικόνα 23). Προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα (%) του αζώτου που προέρχεται από την ατμόσφαιρα (% Ndfa), η ξηρή βιομάζα ($t\ ha^{-1}$) και το ολικό άζωτο (%) του υπέργειου τμήματος και τέλος η ικανότητα βιολογικής αζωτοδέσμευσης (ΒΔΝ) αποδιδόμενη σε $kg\ ha^{-1}$.



Εικόνα 23: Η συσκευασία και η μορφή των δειγμάτων , όπως αυτά απεστάλησαν στο Πανεπιστήμιο Davis.

2.13 Μετρήσεις παραγωγής

Οι μετρήσεις παραγωγής πραγματοποιήθηκαν σε δόσεις (χέρια) από τη στιγμή που τα φυτά μπήκαν σε παραγωγή. Οι μετρήσεις παραγωγής έχουν σκοπό τον προσδιορισμό του ύψους παραγωγής της καλλιέργειας, σε λοβούς και σπέρματα καθώς και τον προσδιορισμό των αγρονομικών χαρακτηριστικών των λοβών. Κατά τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν 10 συγκομιδές (σεόλαταπειραματικάτεμάχια).

Συγκεκριμένα:

1^η συγκομιδή : 23/05/2017

2^η συγκομιδή : 25/05/2017

3^η συγκομιδή : 29/05/2017

4^η συγκομιδή : 02/06/2017

5^η συγκομιδή : 05/06/2017

6^η συγκομιδή : 10/06/2017

7^η συγκομιδή : 14/06/2017

8^η συγκομιδή : 19/06/2017

9^η συγκομιδή : 23/06/2017

10^η συγκομιδή: 28/06/2017

Η συγκομιδή των λοβών λάμβανε χώρα όταν οι λοβοί αποκτούσαν επιθυμητό εμπορικό μέγεθος, έσπαγαν με μικρή πίεση, ήταν τρυφεροί και εφόσον τα σπέρματα ήταν μικρά. Η συγκομιδή γινόταν με το χέρι και οι λοβοί συγκομιζόταν με μικρό κομμάτι του μίσχου τους. Κατά τη συγκομιδή οι λοβοί από κάθε πειραματικό τεμάχιο αποθηκευόταν σε χάρτινη σακούλα στην οποία αναγραφόταν το πειραματικό τεμάχιο από το οποίο προήλθαν και στη συνέχεια μεταφερόταν στο εργαστήριο για την πραγματοποίηση των επιθυμητών μετρήσεων. Κατά τις μετρήσεις, αρχικά μετριόταν το συνολικό νωπό βάρος λοβών (g) ανά φυτό και ο αριθμός των λοβών ανά φυτό, που συγκομιζόνταν από τα φυτά που αντιστοιχούσαν σε συγκεκριμένο πειραματικό τεμάχιο (σάκο περλίτη). Αφού καταμετρηθούν τα παραπάνω, γινόταν τυχαία δειγματοληψία 5 λοβών για κάθε πειραματικό τεμάχιο, ώστε το δείγμα να είναι αντιπροσωπευτικό της εκάστοτε παραγωγής και στη συνέχεια με μαθηματικές μεθόδους αναγωγής να υπολογιστούν οι αντίστοιχες μετρήσεις για το σύνολο της παραγωγής. Στη συνέχεια μετρήθηκε το νωπό βάρος λοβού (g) και το ποσοστό της ξηρής ουσίας του κάθε λοβού (%).

Για τον προσδιορισμό του ξηρού βάρους οι 5 λοβοί τοποθετήθηκαν (εντός ειδικής χάρτινης σακούλας) στο φούρνο σε θερμοκρασία 70°C (μέχρι να σταθεροποιηθεί το βάρος τους, περίπου 5 μέρες μετά). Για τον προσδιορισμό του νωπού και του ξηρού βάρους χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρονικός ζυγός ασφαλείας 0,01g (Mettler PE 3600). Να αναφερθεί πως όσον αφορά την εμφανισιακή κατάσταση των λοβών, αυτοί του εμπορικού υβριδίου (E ή IT-97K) είχαν καλύτερη εξωτερική εμφάνιση, χρώμα, μέγεθος, ελαστικότητα ενώ οι λοβοί της ποικιλίας Άρτας (Artas) είχαν τη τάση να σποριάζουν σε μικρό μέγεθος και να αποκτούν κίτρινο χρωματισμό.

2.14 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης (Ανοva) χρησιμοποιώντας το στατιστικό πρόγραμμα Statistica 12, με δύο κύριους παράγοντες για κάθε ποικιλία α) τον εμβολισμό με τα βακτηριακά στελέχη ριζοβίων και τους μη εμβολισμένους μάρτυρες β) καθώς και τον παράγοντα της υδατικής καταπόνησης.

3. Αποτελέσματα-συζήτηση

Πίνακας 8. Μέσο νωπό βάρος λοβών, μέσος αριθμός λοβών ανά φυτό, μέσο βάρος λοβού και ποσοστό ξηρής ουσίας λοβού υπό την επίδραση της επαρκής ή της μειωμένης παροχής θρεπτικού διαλύματος και του εμβολιασμού με τα στελέχη *Bradyrhizobium pachyrhizi* PAC48T(R2), *Bradyrhizobium sp.VUL111* (R3) και του μείγματος βακτηρίων *Bradyrhizobium sp.VUL111+enterobacter sp.* (R4) ή την απουσία εμβολιασμού με ριζόβια (R1), για το εμπορικό υβρίδιο (IT-97K).

Μεταχειρίσεις (IT-97K)		Νωπό βάρος λοβών ανά φυτό (g/plant)	Αριθμός λοβών ανά φυτό	Νωπό βάρος λοβού (g)	Ποσοστό ξηρής ουσίας (%)
Επάρκεια Άρδευσης	R1	303 ^c	55.2 ^c	5.5	12.7 ^{ab}
	R2	408 ^b	59.3 ^b	7.1	11.2 ^{bc}
	R3	527 ^a	75.7 ^a	7.0	10.4 ^{cd}
	R4	470 ^{ab}	71 ^{ab}	6.6	12.7 ^{ab}
Ελλειμματική άρδευση	R1	222 ^d	36.4 ^d	6.1	12.3 ^{ab}
	R2	172 ^d	29.5 ^d	6.0	13.1 ^a
	R3	182 ^d	31.5 ^d	5.9	13.7 ^a
	R4	163 ^d	25.8 ^d	6.3	9.4 ^d
Κύριες Επιδράσεις					
Επάρκεια άρδευσης		427 ^a	65.3 ^a	6.5	11.7 ^b
Ελλειμματική άρδευση		185 ^b	30.8 ^b	6.1	12.1 ^a
R1		262 ^c	45.8	5.8	12.5
R2		290 ^{bc}	44.4	6.5	12.1
R3		354 ^a	53.6	6.4	12.1
R4		316 ^{ab}	48.4	6.4	11.0
Στατιστική σημαντικότητα					
Άρδευση		***	***	ΜΣ	***
Ριζόβια		**	ΜΣ	ΜΣ	ΜΣ
Άρδευση*Ριζόβια		***	*	ΜΣ	***

Μέσοι όροι τιμών ($n = 3$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με την δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων κατά Duncan. Τα σύμβολα **, *** υποδηλώνουν σημαντικότητα των διαφορών σε $P < 0,01$, $P < 0,001$, αντίστοιχα. Η συντομογραφία ΜΣ υποδηλώνει μη στατιστική σημαντική διαφορά.

Πίνακας 9. Μέσο νωπό βάρος λοβών, μέσος αριθμός λοβών ανά φυτό, μέσο βάρος λοβού και ποσοστό ξηρής ουσίας λοβού υπό την επίδραση της επαρκής ή της μειωμένης παροχής θρεπτικού διαλύματος και του εμβολιασμού με τα στελέχη *Bradyrhizobium pachyrhizi* PAC48T(R2), *Bradyrhizobium sp.VULIII* (R3) και του μείγματος βακτηρίων *Bradyrhizobium sp.VULIII+enterobacter sp.* (R4) ή την απουσία εμβολιασμού με ριζόβια (R1), για την **ποικιλία Arta**.

Μεταχειρίσεις (Ποικιλία Arta)	Νωπό βάρος λοβών ανά φυτό (g/plant)	Αριθμός λοβών ανά φυτό	Μέσο νωπό βάρος λοβού (g)	Ποσοστό ξηρής ουσίας λοβού (%)
Κύριες επιδράσεις				
Επάρκεια άρδευσης	297 ^a	88 ^a	3,39	18,3
Ελλειμματική άρδευση	209 ^b	61 ^b	3,51	17,5
R1	197 ^b	61 ^b	3.26 ^b	19.0 ^a
R2	270 ^a	83 ^a	3.22 ^b	16.6 ^b
R3	276 ^a	87 ^a	3.16 ^b	19.3 ^a
R4	267 ^a	65 ^b	4.16 ^a	16.7 ^b
Στατιστική Σημαντικότητα				
Άρδευση	***	***	ΜΣ	ΜΣ
Ριζόβια	*	**	***	**

Μέσοι όροι τιμών ($n = 3$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με την δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων κατά Duncan. Τα σύμβολα **, *** υποδηλώνουν σημαντικότητα των διαφορών σε $P < 0,01$, $P < 0,001$, αντίστοιχα. Η συντομογραφία ΜΣ υποδηλώνει μη στατιστική σημαντική διαφορά.

Από τον πίνακα 8, όσον αφορά το εμπορικό υβρίδιο **(IT-97K)** φαίνεται πως τόσο ο παράγοντας της άρδευσης όσο και ο εμβολιασμός με ριζόβια ασκούν σημαντική επίδραση στο νωπό βάρος των λοβών ανά φυτό. Η μειωμένη παροχή νερού οδηγεί σε σημαντική μείωση της παραγωγής αποδίδοντας μειωμένο νωπό βάρος λοβών ανά φυτό κατά 56%. Ο εμβολιασμός με ριζόβια φαίνεται να επηρεάζει την παραγωγή μόνο σε συνθήκες επάρκειας άρδευσης. Ειδικότερα, τα φυτά που εμβολιάστηκαν με το στέλεχος *Bradyrhizobium sp.VULIII* και το μείγμα *Bradyrhizobium sp.VULIII+ enterobacter sp.* φαίνεται ότι οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή, ενώ η χαμηλότερη παραγωγή καταγράφηκε στα φυτά τα οποία δεν εμβολιάστηκαν με κάποιο αζωτοδεσμευτικό βακτήριο. Παρόμοιες διακυμάνσεις παρατηρήθηκαν και στο μέσο αριθμό λοβών ανά φυτό. Η επάρκεια άρδευσης αύξησε σημαντικά το μέσο αριθμό λοβών ανά φυτό, όπου τα φυτά που εμβολιάστηκαν με το στέλεχος *Bradyrhizobium sp.VULIII* και το μείγμα *Bradyrhizobium sp.VULIII+enterobacter sp.* εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές. Τέλος, το μέσο βάρος του λοβού φαίνεται να μην επηρεάζεται σημαντικά από τους παραπάνω παράγοντες. Η μείωση της

παραγωγής ως προς τον μέσο αριθμό λοβών ανά φυτό υπό την εφαρμογή του παράγοντα ελλειμματικής άρδευσης είναι σύμφωνη και με την έρευνα της Anyia et al. (2004), στην οποία αξιολογήθηκε η απόδοση παραγωγής διαφορετικών γονοτύπων βίγνας σε ξερικές συνθήκες.

Για την ποικιλία **Arta**, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 9, η επάρκεια άρδευσης έδωσε και εδώ μεγαλύτερη παραγωγή σε σχέση με την ελλειμματική, οπότε γίνεται αντιληπτή η επιρροή της επαρκούς άρδευσης στο ύψος της παραγωγής. Ο παράγοντας του εμβολιασμού με τα αζωτοδεσμευτικά στελέχη φαίνεται πως αρκεί θετική επίδραση στο ύψος της παραγωγής (νωπό βάρος λοβών ανά φυτό), ενώ είναι ξεκάθαρο πως τα φυτά που δεν ήταν εμβολιασμένα με κάποιο εμβόλιο, έδωσαν εμφανώς μικρότερη παραγωγή. Λόγω μη στατιστικής σημαντικής διαφοράς μεταξύ των εμβολίων, δεν μπορούμε να πούμε πως κάποιο απ τα εμβόλια έδωσε μεγαλύτερη παραγωγή. Τέλος, τα φυτά που εμβολιάστηκαν με το εμβόλιο R4 έδωσαν λοβούς με μεγαλύτερο μέσο νωπό βάρος χωρίς αυτό να οδηγήσει σε μεγαλύτερη συνολική παραγωγή, λόγω λιγότερων λοβών ανά φυτό.

Και στις δύο περιπτώσεις (**Arta** και **IT-97K**), είναι φανερή η θετική επίδραση της επαρκούς άρδευσης καθώς και η συνεισφορά όλων των βακτηρίων στο ύψος της παραγωγής (νωπό βάρος λοβών ανά φυτό). Ειδικότερα για το εμπορικό υβρίδιο (**IT-97K**) η θετική επίδραση στο ύψος της παραγωγής είναι μεγαλύτερη στον εμβολιασμό με τα αζωτοδεσμευτικά στελέχη *Bradyrhizobium sp.VULIII* (R3) και του μείγματος βακτηρίων *Bradyrhizobium sp.VULIII+enterobacter* *sp.* (R4).

Πίνακας 10. Νωπό βάρος και ποσοστό ξηρής ουσίας του υπέργειου και του υπόγειου συστήματος του φυτού υπό την επίδραση της επαρκής και μειωμένης παροχής θρεπτικού διαλύματος και του εμβολισμού με τα στελέχη *Bradyrhizobium pachyrhizi* PAC48T (R2), *Bradyrhizobium sp.VUL111* (R3) και του μείγματος βακτηρίων *Bradyrhizobium sp.VUL111+enterobacter sp.* (R4) ή την απουσία εμβολιασμού με ριζόβια (R1), για το εμπορικό υβρίδιο (IT-97K).

Μεταχειρίσεις (IT-97K)		Νωπό βάρος υπέργειου τμήματος (g)	Ποσοστό ξηρής ουσίας υπέργειου τμήματος (%)	Νωπό βάρος ρίζας (g)	Ποσοστό ξηρής ουσίας ρίζας (%)
Επάρκεια άρδευσης	R1	194.5 ^b	12.6	42.1	8.1
	R2	187.5 ^b	12.5	39.8	8.9
	R3	215.8 ^b	12.1	28.4	10.3
	R4	385.7 ^a	11.7	30.1	9.7
Ελλειμματική άρδευση	R1	113.4 ^c	14.4	24.3	12.1
	R2	123.7 ^c	13.9	25.2	11.4
	R3	124.5 ^c	13.4	23.0	11.1
	R4	138.4 ^c	12.9	19.5	12.8
Κύριες επιδράσεις					
Επάρκεια άρδευσης		245.9 ^a	12.2 ^b	35.1 ^a	9.3 ^b
Ελλειμματική άρδευση		125.0 ^b	13.6 ^a	23.0 ^b	11.9 ^a
	R1	153.9 ^b	13.5	13.5	10.1
	R2	155.6 ^b	13.2	13.2	10.2
	R3	170.1 ^b	12.7	12.7	10.7
	R4	262.1 ^a	12.3	12.3	11.2
Στατιστική σημαντικότητα					
Άρδευση		***	**	*	*
Ριζόβια		***	ΜΣ	ΜΣ	ΜΣ
Άρδευση*Ριζόβια		***	ΜΣ	ΜΣ	ΜΣ

Μέσοι όροι τιμών ($n = 3$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με την δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων κατά Duncan. Τα σύμβολα **, *** υποδηλώνουν σημαντικότητα των διαφορών σε $P < 0,01$, $P < 0,001$, αντίστοιχα. Η συντομογραφία ΜΣ υποδηλώνει μη στατιστική σημαντική διαφορά.

Πίνακας 11. Νωπό βάρος και ποσοστό ξηρής ουσίας του υπέργειου και του υπόγειου συστήματος του φυτού υπό την επίδραση της επαρκής και μειωμένης παροχής θρεπτικού διαλύματος και του εμβολισμού με τα στελέχη *Bradyrhizobium pachyrhizi* PAC48T (R2), *Bradyrhizobium* sp.VUL111 (R3) και του μείγματος βακτηρίων *Bradyrhizobium* sp.VUL111+*enterobacter* sp. (R4) ή την απουσία εμβολιασμού με ριζόβια (R1), για την **ποικιλία Arta**.

Μεταχειρίσεις (Ποικιλία Arta)	Ριζόβια	Νωπό Βάρος Υπέργειου (g)	Ποσοστό ξηρής ουσίας υπέργειου (%)	Νωπό Βάρος ρίζας (g)	Ποσοστό ξηρής ουσίας ρίζας (%)
Επάρκεια άρδευσης	R1	250	11.5 ^d	28,4	7,4
	R2	270	12.0 ^c	33,0	6,6
	R3	261	12.9 ^{bc}	18,0	10,7
	R4	369	11.1 ^d	13,9	8,6
Ελλειμματική άρδευση	R1	117	16.2 ^a	25,4	7,8
	R2	124	16.0 ^a	21,6	9,3
	R3	138	13.6 ^b	16,0	9,8
	R4	267	13.0 ^{bc}	15,0	10,2
Κύριες Επιδράσεις					
Επάρκεια		288 ^a	11.9 ^b	23.3 ^a	8,3
Ελλειμματική		162 ^b	14.7 ^a	19.5 ^b	9,3
	R1	184 ^b	13.9 ^{ab}	26.9 ^a	7.6 ^c
	R2	197 ^b	14.0 ^a	27.3 ^a	8.0 ^b
	R3	200 ^b	13.3 ^b	17.0 ^b	10.3 ^a
	R4	318 ^a	12.1 ^c	14.5 ^b	9.4 ^{ab}
Στατιστική Σημαντικότητα					
Άρδευση		***	***	*	ΜΣ
Ριζόβια		***	***	***	**
Άρδευση * Ριζόβια		ΜΣ	***	ΜΣ	ΜΣ

Μέσοι όροι τιμών ($n = 3$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με την δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων κατά Duncan. Τα σύμβολα **, *** υποδηλώνουν σημαντικότητα των διαφορών σε $P < 0,01$, $P < 0,001$, αντίστοιχα. Η συντομογραφία ΜΣ υποδηλώνει μη στατιστική σημαντική διαφορά.

Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 10, για το εμπορικό υβρίδιο (**IT-97K**), σχετικά με τα χαρακτηριστικά της βιομάζας μεγαλύτερα επίδραση φαίνεται να ασκείται στο νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος. Τόσο ο παράγοντας της υδατικής καταπόνησης όσο και ο εμβολιασμός των φυτών βίγνας με διαφορετικά αζωτοδεσμευτικά στελέχη επηρέασαν σημαντικά το νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος του φυτού. Πιο συγκεκριμένα, τα φυτά στα οποία εφαρμόστηκε επάρκεια άρδευσης εμφάνισαν διπλάσιο νωπό βάρος υπέργειου τμήματος έναντι των φυτών που εφαρμόστηκε περιορισμένη άρδευση (ανεξάρτητα των

εμβολίων). Σε αντίθεση με το υπέργειο τμήμα του φυτού τα χαρακτηριστικά της βιομάζας της ρίζας φαίνεται να επηρεάζονται μόνο από τα διαφορετικά επίπεδα άρδευσης, όπου τα φυτά με μειωμένη παροχή αρδευτικού νερού εμφανίζουν περιορισμένη ανάπτυξη. Επίσης το εμβόλιο R4 φαίνεται να ασκεί σημαντική επίδραση στην αύξηση του νωπού βάρους του υπέργειου τμήματος σε συνδυασμό με επαρκή άρδευση, ενώ δε φαίνεται να ισχύει το ίδιο στην περίπτωση της ελλειμματικής άρδευσης.

Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 11, για την Ποικιλία **Arta**, φαίνεται πως και εδώ η επάρκεια άρδευσης έδωσε σχεδόν διπλάσιο νωπό υπέργειο βάρος σε όλες τις μεταχειρίσεις, ανεξάρτητα του εμβολίου καθώς επίσης φαίνεται και η συνεισφορά του εμβολίου R4 τόσο στη περίπτωση της επαρκούς όσο και στη περίπτωση της ελλειμματικής άρδευσης. Ενώ τα υπόλοιπα εμβόλια δε φαίνεται να ασκούν κάποια σημαντικά στατιστική επιρροή στην αύξηση του υπέργειου νωπού βάρους τόσο στη περίπτωση της επαρκούς όσο και στη περίπτωση της ελλειμματικής άρδευσης. Επίσης η ελλειμματική άρδευση φαίνεται να οδηγεί σε αύξηση της ξηρής ουσίας ειδικά σε συνδυασμό με το εμβόλιο R2. Τέλος όσον αφορά το νωπό βάρος της ρίζας καθώς και τη ξηρή ουσία αυτής δε φαίνεται να ασκείται κάποια επιρροή ούτε από το είδος του εμβολίου ούτε από το επίπεδο της άρδευσης.

Η αρνητική επίδραση της μειωμένης παροχής αρδευτικού νερού στην παραγωγή και τη βιομάζα της βίγνας επιβεβαιώνεται και από πληθώρα πειράματα στο παρελθόν, όταν τα φυτά αναπτύσσονται εκτός εδάφους και η μείωση της υγρασίας είναι δραστική (Turk et al, 1980; Ziska et al., 1983). Σύμφωνα με τις ίδιες έρευνες, η ανάπτυξη και η απόδοση των φυτών δεν φαίνεται να επηρεάζονται τόσο σημαντικά όταν τα φυτά αναπτύχθηκαν σε συνθήκες εδάφους υπό τις ίδιες μεταχειρίσεις. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός πως η μείωση της υγρασίας στο έδαφος είναι λιγότερη δραστική από ότι σε ένα πορώδες υλικό.

Πίνακας 12. Περιεκτικότητα (%) του N που προέρχεται από την ατμόσφαιρα (%Ndfa), ξηρή βιομάζα και ολικό άζωτο (%) υπέργειου τμήματος, ικανότητα βιολογικής αζωτοδέσμευσης (BΔN) αποδιδόμενη σε kg ha⁻¹, ολικού άζωτο (N), σε υδροπονική καλλιέργεια αμπελοφάσουλου υπό την επίδραση των δύο επιπέδων άρδευσης και του εμβολιασμού με τα βακτήρια *Bradyrhizobium pachyrhizi* PAC48T (R2), *Bradyrhizobium sp. VUL111* (R3) και *Bradyrhizobium sp. VUL111 + enterobacter sp.* (R4), στο **εμπορικό υβρίδιο (IT-97K)**.

Μεταχειρίσεις (IT-97K)	Ριζόβια	Ολικό άζωτο (%)	Ndfa(%)	Ξηρή βιομάζα (t ha ⁻¹)	BΔN (kg ha ⁻¹)
Επάρκεια άρδευσης	R2	5,24	26,52	1,5 ^{bc}	20,89 ^{bc}
	R3	5,11	28,2	1,6 ^b	25,32 ^b
	R4	5,69	38,17	2,89 ^a	49,92 ^a
Ελλειμματική άρδευση	R2	5,22	16,29	1,09 ^d	9,29 ^c
	R3	5,17	21,73	0,95 ^d	10,24 ^c
	R4	5,30	16,97	1,14 ^{cd}	10,33 ^c
Κύριες επιδράσεις					
Επαρκής		5,34	30,95 ^a	2,02 ^a	32,11 ^a
Ελλειμματική		5,23	18,33 ^b	1,06 ^b	9,95 ^b
	R2	5,23	21,41	1,3 ^b	15,09 ^b
	R3	5,14	24,97	1,3 ^b	17,88 ^b
	R4	5,50	27,54	2,01 ^a	30,12 ^a
Στατιστική σημαντικότητα					
Άρδευση		ΜΣ	**	***	***
Ριζόβια		ΜΣ	ΜΣ	***	**
Άρδευση*ριζόβια		ΜΣ	ΜΣ	***	**

Μέσοι θροιστών (n = 3) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με την δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων κατά Duncan. Τα σύμβολα **, *** υποδηλώνουν σημαντικότητα των διαφορών σε P<0,01, P<0,001, αντίστοιχα. Η συντομογραφία ΜΣ υποδηλώνει μη στατιστική σημαντική διαφορά.

Πίνακας 13. Περιεκτικότητα (%) του N που προέρχεται από την ατμόσφαιρα (%Ndfa), ξηρή βιομάζα και ολικό άζωτο (%) υπέργειου τμήματος, ικανότητα βιολογικής αζωτοδέσμευσης (BΔN) αποδιδόμενη σε kg ha⁻¹, ολικού άζωτο (N), σε υδροπονική καλλιέργεια αμπελοφάσουλου υπό την επίδραση των δύο επιπέδων άρδευσης και του εμβολιασμού με τα βακτήρια *Bradyrhizobium pachyrhizi* PAC48T (R2), *Bradyrhizobium sp. VULIII* (R3) και *Bradyrhizobium sp. VULIII + enterobacter sp.* (R4), για την **ποικιλία Arta**.

Μεταχειρίσεις (Ποικιλία Arta)	Ριζόβια	Ολικό άζωτο (%)	Ndfa(%)	Ξηρή βιομάζα (t/ha)	BΔN (kg/ha)
Κύριες Επιδράσεις					
Επαρκής άρδευση		5.6 ^a	30.7 ^a	2.30 ^a	40.0 ^a
Ελλειμματική άρδευση		5.2 ^b	26.8 ^b	1.46 ^b	21.0 ^b
	R2	5.2 ^b	28.0 ^b	1.64 ^b	24.1 ^b
	R3	5.7 ^a	23.8 ^b	1.56 ^b	22.2 ^b
	R4	5.4 ^{ab}	34.4 ^a	2.43 ^a	45.3 ^a
Στατιστική Σημαντικότητα					
Άρδευση		**	*	***	***
Ριζόβια		*	***	***	***

Μέσοι όροι τιμών (n = 3) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με την δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων κατά Duncan. Τα σύμβολα **, *** υποδηλώνουν σημαντικότητα των διαφορών σε P<0,01, P<0,001, αντίστοιχα. Η συντομογραφία ΜΣ υποδηλώνει μη στατιστική σημαντική διαφορά.

Σύμφωνα με τον Πίνακα 12, για το εμπορικό υβρίδιο (**IT-97K**), όσον αφορά την περιεκτικότητα του υπέργειου τμήματος σε ολικό N, τόσο το διαφορετικό επίπεδο άρδευσης όσο και ο εμβολιασμός με τα δεδομένα στελέχη δεν οδήγησαν σε κάποια σημαντική διακύμανση στο ολικό N. Η ξηρή βιομάζα του υπέργειου τμήματος του φυτού επηρεάστηκε από τον εμβολιασμό των βακτηρίων μόνο στα φυτά που εφαρμόστηκε επαρκής άρδευση. Ειδικότερα, σημαντική αύξηση εμφανίζουν τα φυτά που εμβολιάστηκαν με το μείγμα βακτηρίων *Bradyrhizobium sp. VULIII + enterobacter sp.* (2.89 t ha⁻¹). Ταυτόχρονα, φαίνεται πως καθοριστικό ρόλο στην ξηρή βιομάζα του υπέργειου τμήματος του φυτού έχει η υδατική καταπόνηση, όπου τα φυτά που αρδεύονται κανονικά εμφανίζουν υψηλότερες τιμές (σχεδόν διπλάσιες). Το αποτέλεσμα αυτό είναι σύμφωνο και με την μελέτη των Ogbonnaya C.I. et al. (2003), όπου 4 διαφορετικοί γονότυποι του παραπάνω είδους εμφάνισαν σημαντικά μειωμένη ξηρή βιομάζα υπέργειου τμήματος φυτού όταν αυτοί καλλιεργήθηκαν σε υδροπονικό σύστημα με μειωμένη παροχή νερού. Στη συνέχεια, σημαντική επίδραση στις συνολικές ποσότητες N που προήλθαν από την συμβιωτική αζωτοδέσμευση και υπολογίσθηκαν συναρτήσει των συγκεντρώσεων N στην συνολική ξηρή βιομάζα της

αντίστοιχης καλλιέργειας (kg N ha^{-1}) φαίνεται να ασκεί και πάλι η επάρκεια άρδευσης και ο εμβολιασμός των φυτών με το μείγμα βακτηρίων. Συγκεκριμένα τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε κανονικές συνθήκες άρδευσης και εμβολιάστηκαν με το *Bradyrhizobium sp. VULIII + enterobacter sp.* εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές και στα δύο αυτά μεγέθη (38,17 %, 49,92 kg N ha^{-1} , αντίστοιχα). Τα φυτά με ελλειμματική άρδευση εμφάνισαν σημαντικά μικρότερα ποσοστά N που προέρχεται από την ατμόσφαιρα (%Ndfa) και ποσά βιολογικά δεσμευμένου αζώτου ανεξαρτήτως εμβολιασμού με τα διαφορετικά ριζόβια. Στην συγκεκριμένη μελέτη μάλιστα τα φυτά με επάρκεια άρδευσης που εμβολιάστηκαν με το μίγμα βακτηρίων (R4) εμφάνισαν τριπλάσια ποσά δεσμευμένου αζώτου από τα υπόλοιπα φυτά με επάρκεια άρδευσης και πενταπλάσια από τα φυτά με ελλειμματική άρδευση. Τέλος, ο εμβολιασμός με αζωτοβακτήρια στην περίπτωση της ελλειμματικής άρδευσης φαίνεται να μην επηρεάζει θετικά την αζωτοδεσμευτική ικανότητα. Αυτό πιθανότατα να οφείλεται στο γεγονός ότι τα υπό μελέτη ριζόβια δεν είναι ανθεκτικά σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Σύμφωνα με την μελέτη των Zablotowicz et al. (1981) η αζωτοδεσμευτική ικανότητα δεν επηρεάστηκε όταν τα φυτά αμπελοφάσουλου εμβολιάστηκαν με ταχέως αναπτυσσόμενα στελέχη που ανήκουν στο γένος *Rhizobium* σε συνθήκες ξηρασίας, ενώ όταν τα φυτά εμβολιάστηκαν με βραδέως αναπτυσσόμενα στελέχη η αζωτοδεσμευτική ικανότητα εμφάνισε μεγάλη ευαισθησία έναντι στην ξηρασία. Συμπερασματικά, η μειωμένη παροχή αρδευτικού νερού στα φυτά αμπελοφάσουλου μειώνει σημαντικά την αζωτοδεσμευτική ικανότητα του. Επιπλέον, ο εμβολιασμός των φυτών με ένα μίγμα ριζοβίων και ενδοφυτικών βακτηρίων συμβάλλει στην αύξηση τόσο της αζωτοδεσμευτικής ικανότητας, όσο και του ρυθμού ανάπτυξης του φυτού.

Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 13, για την **Ποικιλία Arta**, όσον αφορά την περιεκτικότητα του υπέργειου τμήματος σε ολικό N, ο εμβολιασμός με τα αζωτοδεσμευτικά στελέχη δεν οδήγησαν σε κάποια σημαντική διακύμανση στο ολικό N, ωστόσο η επάρκεια άρδευσης οδήγησε σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ολικού αζώτου. Η ξηρή βιομάζα επηρεάστηκε από τα επίπεδα άρδευσης, όπου στα φυτά που δέχτηκαν επαρκή άρδευση ήταν μεγαλύτερη (2,30 t/ha) καθώς επίσης, σημαντική αύξηση εμφανίζουν τα φυτά που εμβολιάστηκαν με το μείγμα βακτηρίων *Bradyrhizobium sp. VULIII + enterobacter sp.* (2.43 t/ha). Τόσο η περιεκτικότητα του N που προέρχεται από την ατμόσφαιρα (%Ndfa) όσο και η ικανότητα βιολογικής αζωτοδέσμευσης και εδώ φαίνεται πως επηρεάστηκαν θετικά τόσο από την επάρκεια άρδευσης όσο και από τον εμβολιασμό με το μείγμα βακτηρίων (R4). Ειδικότερα όσον αφορά την ικανότητα αζωτοδέσμευσης BDN (kg/ha) ο εμβολιασμός με το μείγμα βακτηρίων (R4) έδωσε σχεδόν διπλάσια ποσότητα αζώτου σε σχέση με τα άλλα

βακτήρια. Ενώ και εδώ, όπως και στη περίπτωση του εμπορικού υβριδίου παρατηρούμε την αρνητική επιρροή της ελλειμματικής άρδευσης τόσο στη περιεκτικότητα του Ν που προέρχεται από την ατμόσφαιρα (%Ndfa) όσο και η ικανότητα βιολογικής αζωτοδέσμευσης.

Στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε ένα εμπορικό υβρίδιο (IT-97K) βίγνας ανθεκτικό σε ξερικές συνθήκες και μια τοπική ποικιλία (Arta) επίσης προσαρμοσμένη σε ξηρά περιβάλλοντα. Ωστόσο, η εφαρμογή του παράγοντα ελλειμματικής άρδευσης κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης του φυτού έως το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη, την παραγωγή του φυτού καθώς και την αζωτοδεσμευτική ικανότητα και τη περιεκτικότητα του Ν που προέρχεται από την ατμόσφαιρα (%Ndfa) (και για το IT-97K και για την Arta). Μειωμένη αζωτοδεσμευτική ικανότητα σε ψυχανθή που αναπτύσσονται σε ξερικές συνθήκες παρατηρήθηκε και στην μελέτη των Rachid Serraj et al. (1999). Πιθανότατα η μείωση αυτή να οφείλεται είτε στην μειωμένη τροφοδοσία των φυματίων με νερό από το φλοιό, λόγω της αλλαγής του υδατικού δυναμικού (Nobel,1991), είτε στον περιορισμό της εξαγωγής του δεσμευμένου αζώτου από τα φυμάτια (Pateetal,1969). Υπό συνθήκες επαρκούς άρδευσης ο εμβολιασμός των φυτών του εμπορικού υβριδίου IT- 97K με το αζωτοδεσμευτικό στέλεχος *Bradyrhizobium sp.VULIII* αποτελεί, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, μία αποτελεσματική γεωργική πρακτική για την αύξηση της απόδοσης παραγωγής της βίγνας όταν αυτή καλλιεργείται σε υδροπονικά συστήματα για τους νωπούς λοβούς της. Παράλληλα, ο συνδυασμός του παραπάνω βακτηρίου με το ενδοφυτικό βακτήριο *enterobacter sp.* αύξησε σημαντικά την ξηρή βιομάζα του φυτού και κατά επέκταση την ποσότητα του αζώτου που προέρχεται από την ατμόσφαιρα, τόσο στην περίπτωση του εμπορικού υβριδίου (IT-97K) όσο και στη περίπτωση της τοπικής ποικιλίας (Arta). Το γεγονός αυτό θέτει το μίγμα βακτηρίων *Bradyrhizobium sp.VULIII* και *enterobacter sp.* ένα αποδοτικό εμβόλιο όταν η καλλιέργεια της βίγνας προορίζεται για χλωρή λίπανση. Αντίθετα, η δραστική μείωση των επιπέδων άρδευσης από τα πρώτα βλαστικά στάδια ανάπτυξης του φυτού, ως ένα μέτρο μέγιστης οικονομίας αρδευτικού νερού, αποτελεί επιζήμια πρακτική είτε όταν η βίγνα καλλιεργείται για νωπούς λοβούς είτε για χλωρή λίπανση(και στους δύο τύπους βίγνας).

Η εφαρμογή της υδατικής καταπόνησης κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης του φυτού έως το πέρας της καλλιεργητικής περιόδου είχε στόχο την μέγιστη οικονομία αρδευτικού νερού. Ωστόσο η αύξηση της διαθεσιμότητας νερού σε καλλιέργεια εδάφους βίγνας υπό ξερικές συνθήκες μόνο κατά τα κρίσιμα βλαστικά στάδια περιορίζουν την δραστική μείωση της απόδοσης και της βιομάζας του φυτού (Jallel et al,2009). Επομένως, σε συνέχεια αυτής της έρευνας θα μπορούσε να μελετηθεί η απόκριση των φυτών, τα οποία αναπτύσσονται σε

ξερικές συνθήκες, στη παραγωγή και την βιομάζα αυξομειώνοντας τα επίπεδα άρδευσης σε κρίσιμα σημεία της καλλιέργειας, όπως το στάδιο της ανθοφορίας ή της αύξησης των λοβών. Επιπλέον σημαντική στην συγκεκριμένη έρευνα θα ήταν και η απομόνωση αζωτοδεσμευτικών στελεχών από παραδοσιακές ποικιλίες βίγνας, οι οποίες προέρχονται αποκλειστικά από ξερικές περιοχές με στόχο την αναζήτηση νέων στελεχών που παρουσιάζουν ανεκτικότητα υπό συνθήκες χαμηλής εδαφικής υγρασίας. Τέλος, η μεταβολική ανάλυση των φυτικών ιστών της ρίζας, των φύλλων και των φυματίων του φυτού θα έδινε σημαντικές πληροφορίες, τόσο για την αποδοτικότητα χρήσης νερού της βίγνας όσο και για την συμβιωτική αζωτοδέσμευση υπό την επίδραση του παράγοντα υδατικής ελλειμματικής άρδευσης.

4. Βιβλιογραφία

4.1 Ελληνική βιβλιογραφία

- Αϊβαλάκης Γ.,Γ.Καραμπουρνιώτης,Κ.Φασσέας.2003.Σημειώσεις Γενικής Βοτανικής. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Δέσποινα Παπακόστα-Γασοπούλου.2012. Ειδική γεωργία σιτηρά & ψυχανθή. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία. Θεσσαλονίκη.
- Διαμαντίδης Γ. 1994. Εισαγωγή στη Βιοχημεία (2^η έκδοση).University Studio Press.Θεσσαλονίκη.
- Εγχειρίδιο Υδροπονίας. Εκπαιδευτικό Κέντρο Υδροπονίας ΙΓΕ.2014.Υπουργείο Γεωργίας, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος. Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών. Λευκωσία
- Ιμπραχίμ-Αβραάμ Χα., Πετρόπουλος Σ., 2014. Γενική Λαχανοκομία και Υπαίθρια Καλλιέργεια Κηπευτικών. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας. Βόλος.
- Κ. Δαλιάνη.1993.Ψυχανθή για καρπό και σανό. Εκδόσεις Α. Σταμούλης. Αθήνα.
- Καραμπουρνιώτης Γ.2003. Φυσιολογία καταπονήσεων των φυτών. Εκδόσεις Έμβρυο. Αθήνα.
- Μπουράνης Δ.2007. Θρέψη φυτών. Σημειώσεις θεωρία. Αθήνα, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Ολύμπιος Χ. 2001. Η τεχνική της καλλιέργειας των κηπευτικών στα θερμοκήπια. Εκδόσεις Σταμούλης. Αθήνα.
- Ολύμπιος Χ., 2015. Η Τεχνική της Καλλιέργειας των Υπαίθριων Κηπευτικών. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλη. Αθήνα.
- Σάββας Δ. 2012. Καλλιέργειες εκτός Εδάφους: Υδροπονία, Υποστρώματα. Εκδόσεις Αγρότυπος. Αθήνα.
- Σάββας Δ. Σημειώσεις εργαστηρίου γενικής λαχανοκομίας. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Σάββας, Δ., 2016. Γενική Λαχανοκομία. Εκδόσεις Πεδίο.

4.2 Ξένη βιβλιογραφία

- Adams P. 2002. Nutritional control in hydroponics. In: Hydroponic Production of Vegetables and Ornamentals. (Savvas D. and Passam H.C., Eds.). Embryo Publications, Athens, Greece, 211- 261.
- Anastasia P. Tampakaki, Christos T. Fotiadis, Georgia Ntatsi, Dimitrios Savvas. 2017. Phylogenetic multilocus sequence analysis of indigenous slow-growing rhizobia nodulating cowpea (*Vigna unguiculata L.*) in Greece. *Syst. Appl. Microbiol.* 40 (2017) 179-189.
- Anyia A.O., H Herzog. 2004. Genotypic Variability in Drought Performance and Recovery in Cowpea under Controlled Environment. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00096.x>
- Appunu C., N. Zoue A. and Laguerre G., 2008. Genetic diversity of native *Bradyrhizobia* isolated from soybeans (*Glycine max L.*) in different agricultural–ecological-climatic regions of India. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74: 5991-5996.
- Bhattacharjee R., Singh A. and Mukhopadhyay S., 2008. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes; prospects and challenges. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 80: 199-209.
- Brockwell J. 1981. A strategy for legume nodulation research in developing regions of the Old World. *Plant Soil.* 58: 367-382.
- Carvalho M., Bebeli P., Pereira G., Castro I., Egea-Gilabert C., Matos M., Lazaridi E., Duarte I., Lino-Neto T., Ntatsi G., Rodrigues M., Savvas D., Rosa E. and Carnide V. 2017. European cowpea landraces for a more sustainable agriculture system and novel foods. *J. Sci. Food Agric.*, 97 (13), pp. 4399-4407.
- Cheng Q., 2008. Perspectives in biological nitrogen fixation research, *J. of Int. Plant Biol.* 2008, 50:786-798.
- Cheruth Abdul Jaleel, Paramasivam Manivannan, Abdul Wahid et.al. 2009. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. *Int. J. Agric. Biol.* ISSN Print: 1560–8530.
- Compant S., Duffy B., Nowak J., Clement C. and Barka E., 2005. Use of plant Growth-Promoting Bacteria for biocontrol of plant diseases principles, mechanisms of action and future prospects. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 4951-4959.
- Cooper J. E., 2007. Early interactions between legumes and rhizobia: disclosing complexity in a molecular dialogue. *J. Appl. Microbiol.*, 103: 1355-1365.
- Dadson R.B., F. M. Hashem, I. Javaid, J. Joshi, A. L. Allen, T. E. Devine. 2005. Effect of Water Stress on the Yield of Cowpea (*Vigna unguiculata L. Walp.*) . Genotypes in the Delmarva Region of the United States. *Agricul. Biol. J. N. Am.*, issn Print: 2151-751. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2005.00155.x>.

- De Kreij C., W. Voogt, R. Baas, 1999. Nutrient solutions and water quality for soilless cultures. Brochure 196. Research Station for Floriculture and Glasshouse Vegetables (PBG), Naaldwijk, The Netherlands.
- Dean D.R. and Jacobsen M. R., 1992. Biochemical genetics of nitrogenase in: Biological Nitrogen Fixation. Chapman and Hall. New York. 763-834.
- Ehlers J.D., Hall A.E. 1997. Cowpea (*Vigna unguiculata L Walp*). Field Crop. Res. 53, 187–204.
- Elmerich C., 2007. Historical perspective from Bacterization to Endophytes. Associative and Endophytic nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial associations, 5: 1-20.
- Faisal Elgasim Ahmed and Abdel Shakoor H. Suliman. 2010. Effect of water stress applied at different stages of growth on seed yield and water-use efficiency of Cowpea. Agric. Biol. J. N. Am.1 (4):534-540.
- Fatokun C. A., Boukar O., Muranaka S. 2012. Evaluation of cowpea (*Vigna unguiculata L. Walp.*) germplasm lines for tolerance to drought. Plant Genet. Resour. 10, 171–176.
- Ferguson S., 1998. Nitrogen cycle enzymology. Current opinion in Chemical Biology, 2: 182-193.
- Fery R.L., 1990. The cowpea: production, utilization, and research in the United States. Hort. Rev., 12: 197-222.
- Franché C., Lindstrom K. and Elmerich C., 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. Plant Soil, 321: 35-59.
- Gagné-Bourque F., Bertrand A., Claessens A., Aliferis K. A., Jabaji S. 2016. Alleviation of drought stress and metabolic changes in timothy (*Phleum pratense L.*) colonized with *Bacillus subtilis* B26. Front. Plant Sci. 7:584.
- Guimarães A.A., Duque Jaramillo P.M., Simão Abrahão Nóbrega R., Florentino L.A., Barroso Silva K., de Souza Moreira F.M. 2012. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen-fixing bacteria isolated from agricultural soils in the western Amazon by using cowpea as the trap plant. Appl. Environ. Microbiol. 78, 6726–6733.
- Gwathmey C.O and Hall A.E., 1992. Adaptation to midseason drought of cowpea genotypes with contrasting senescence traits. Crop Sci. 32:773-778.
- Halbleid C.M., Ludden P.W., 2000. Regulation of biological nitrogen fixation. Recent advances in Nutritional sciences. American Society for Nutritional Sciences.
- Heldt H.-W., 1999. Plant biochemistry and molecular biology (ed.). Ox. Univ. Pr.. 278-288.
- Hsu S.F. and Buckley D.H., 2009. Evidence for the functional significance of diazotroph community structure in soil. ISME J., 3: 124-136.
- Hubbell D. and Kidder G., 2003. Biological Nitrogen Fixation. University of Florida IFAS Extension, SL 16. U.S.A.

- Itani J., Utsunomiya N., Shigenaga S., 1992. Drought tolerance of cowpea. I. Studies on water absorption ability of cowpea. (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. var. *unguiculata*). Jpn. J. Trop. Agric. 36:37–44.
- John Postgate. 1987. Nitrogen Fixation, Second Edition. Edward Arnold. London.
- Jones K.M., Kobayashi H., Davies B.W., Taga M.E. and Walker G.C., 2007. How rhizobial symbionts invade plants: the Sinorhizobium- Medicago model. Nat. Rev. Microbiol., 5: 619-633.
- Karapanos I., Papandreou A., Skouloudi M., Makrogianni D., Fernández J., Rosa E., Ntatsi G., Bebeli P. and Savvas D. 2017. Cowpea fresh pods - a new legume for the market: assessment of their quality and dietary characteristics of 37 cowpea accessions grown in southern Europe. J. Sc. Food Agric., 97(13), pp. 4343-4352.
- Kloepper J., Rodriguez-Ubana R., Zehnder G., Murphy J., Sikora E. and Fernandez C., 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. Australasian Plant Pathology, 28 : 21-26.
- Kontopoulou C., Liasis E., Iannetta P., Tampakaki A. and Savvas D. 2017. Impact of rhizobial inoculation and reduced N supply on biomass production and biological N₂ fixation in common bean grown hydroponically. J. Sc. Food Agric., 97(13), pp. 4353-4361.
- Management of biological nitrogen fixation for the development of more productive and sustainable agricultural systems : extended versions of papers presented at the Symposium on Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture at the 15th Congress of Soil Science.1994.Acapulco, Mexico.
- Masson-Boivin C., Giraud E., Perret X. and Batut J., 2009. Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes?. Trends Microbiol., 17: 458-466.
- Ng N.Q., Marechal R., 1985. Cowpea taxonomy, origin and germ plasm. In: Singh SR, Rachie KO (eds) Cowpea research, production and utilization, John Wiley and Sons Ltd., NY, pp.11–21.
- Nobel PS.1991. Physiochemical and environmental plant physiology. San Diego: Academic Press, Inc.
- Ogbonnaya C.I., Sarr B., Brou C., Diouf O., Diop N.N. and Roy-Macauley H. 2003. Selection of Cowpea Genotypes in Hydroponics, Pots and Field for Drought Tolerance. Crop Sci. Soc. A. Sci.43:1114–1120.
- Padulosi S., Ng Q.N. and Perrino P., 1997. Origin, taxonomy and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: eds. B.B. Singh and M. Raj, Advances in Cowpea Research.
- Paludosí S., Ng N.Q. 1997. Origin, taxonomy and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: Singh, B.B., Mohan Raj, D.R., Dashiell, K.E., Jackai, L.E.N. (Eds.), Advances in Cowpea Research, International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center of Agricultural Sciences (JIRCAS), Nigeria, pp. 1–12.

- Panella L. and Gepts P., 1992. Genetic relationships within *Vigna unguiculata* (L.) Walp. based on isozyme analyses. *Genet. Res. Crop Evol.*, 39: 71-88.
- Pant K.C., Chandel K.P.S. and Joshi B.S., 1982. Analysis of diversity in Indian Cowpea Genetic Resources. *SABRO J.*, 14: 103-111.
- Pate JS, Gunning BES, Briarty LG. 1969. Ultrastructure and functioning of the transport system of the leguminous root nodule. *Planta* 85, 11–34.
- Pinheiro C., Chaves M. 2011. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *J. Exp. Bot.* 62, 869–882.
- Postma J., Van Os E., Bonants P.J.M., 2008. Pathogen detection and management strategies in soilless plant growing systems. In: *Soilless Culture, Theory and Practise.* (Raviv, M. and Lieth, H.J., Eds.). Elsevier, Amsterdam, 425-457.
- Rachid Serraj, Thomas R. Sinclair and Larry C. Purcell. 1999. Symbiotic N₂ fixation response to drought, *J. Exp. Bot.*, Vol. 50, No. 331, pp. 143–155.
- Ramírez-Bahena M.H., Peix A., Rivas R., Camacho M., Rodríguez-Navarro D.N., Mateos P.F., Martínez-Molina E., Willems A., Velázquez E. 2009. *Bradyrhizobium pachyrhizi* sp. nov. and *Bradyrhizobium jicamae* sp. nov., iso-lated from effective nodules of *Pachyrhizus erosus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59, 1929–1934.
- Rawal K.M., 1976. Natural hybridization among wild, weedy, and cultivated *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Euphytica*, 24: 699-707.
- Raymond J., Siefert J.L., Staples C.R. and Blankenship R.E., 2004. The natural history of nitrogen fixation. *Mol. Biol. Evol.*, 21: 541-554.
- Rodríguez-Navarro D.N., Camacho M., Leidi E.O., Rivas R., Velázquez. 2004. Phenotypic and genotypic characterization of rhizobia from diverse geographical origin that nodulate *Pachyrhizus* species. *Syst. Appl. Microbiol.* 27, 737–745.
- Savvas D., 2001. Nutritional management of vegetables and ornamental plants in hydroponics. In: *Crop Management and Postharvest Handling of Horticultural Crops. Volume I: Quality Management* (Dris R., Niskanen R. and Jain S.M., Eds.). Science Publishers, Enfield, N.H., U.S.A, 37-87.
- Savvas D., 2002. Nutrient solution recycling. In: *Hydroponic Production of Vegetables and Ornamentals.* (Savvas D. and Passam H.C., Eds.). Embryo Publications, Athens, Greece, 299-343.
- Savvas D., Adamidis K., 1999. Automated management of nutrient solutions based on target electrical conductivity, pH and nutrient concentration ratios. *J. Plant Nutr.* 22 (9), 1415-1432.
- Savvas D., Gizas G., 2002. Response of hydroponically grown gerbera to nutrient solution recycling and different nutrient cation ratios. *Sci. Hort.* 96, 267-280.

- Schmid M. and Hartmann A., 2007. Molecular phylogeny and ecology of root associate diazotrophic α - and β -Proteobacteria. In: Elmerich C. and Newton W.E. (eds Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacter Associations, 21-40.
- Seyed Y.S., Lisar, Rouhollah Motafakkerzad1, Mosharraf M. Hossain and Ismail M. M. Rahman.2016. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses.
- Simova-Stoilova L. P., Romero-Rodríguez M. C., Sánchez-Lucas R., Navarro-Cerrillo R. M., Medina-Aunon J. A., Jorrín-Novo J. V. 2015. 2-DE proteomics analysis of drought treated seedlings of *Quercus ilex* supports a root active strategy for metabolic adaptation in response to water shortage. *Front. Plant Sci.* 14:627.
- Smith D. R., Doucette –Stamm L.A., Deloughery C. et al., 1997. Complete genome sequence of *Methanobacterium thermoautotrophicum* deltaH: functional analysis and comparative genomics. *J. Bacteriol.*, 179: 7135-55.
- Somers E., Vanderleyden J., Srinivasan M., 2004. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit. rev. Microbiol.*, 30 : 205-40.
- Sonneveld C., 2002. Composition of nutrient solution. In: *Hydroponic Production of Vegetables and Ornamentals* (Savvas D. and Passam H.C., Eds.). Embryo Publications, Athens, Greece, 179-210.
- Sonneveld C., Straver N., 1994. Nutrient solutions for vegetables and flowers grown in water or substrates. 10th Edition. Serie: Voedingsoplossingen Glastuinbouw, No8, Naaldwijk-P.B.G. Aalsmeer, The Netherlands.
- Sonneveld C., Voogt W., 2009. *Plant Nutrition of Greenhouse Crops*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York.
- Taiz L. and Zeiger E. 2010. *Plant physiology*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer.
- Tilak K., Ranganayakil N., Pal2 K., De R., Saxena A., Shekhar Nautiyal S., Mittal S., Tripathi A. and Johri B., 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Curr. Sci.*, 89:10.
- Turk K.J, Hall A.E and Asbell C.W. 1980. Drought adaptation of cowpea. 1. Influence of drought on seed yield. *Agron. J.* 72:413-420.
- Unkovich M., Baldock J., 2008. Measurement of asymbiotic N₂ fixation in Australian agriculture, *Soil Biol. Biochem.* 40: 2915-2921.
- Vaillancourt R.E., Weeden N.F. and Barnard J., 1993. Isozyme diversity in the cowpea species complex. *Crop Sci.*, 33: 606- 613.
- Vial L., Lavire C., Mavingui P., Blaha D., Haurat J., Moenne-Loccoz Y., Bally Y., Wisniewski-Dye F., 2006. Phase variation and genomic architecture changes in *Azospirillum*. *J. Bacteriol.*, 188: 5364-5373.

Vitousek P.M., Cassman K., Cleveland C., Crews T., Field C.B., Grimm N.B., Howarth R.W., Marino R., Martinelli L. and Rastetter E.B., et al., 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation, *Biochemistry*, 57/58:1-45.

Zablotowicz R.M., Focht D.D. 1981. Physiological Characteristics of Cowpea Rhizobia: Evaluation of Symbiotic Efficiency in *Vigna unguiculata*. *Appl. Environ. Microbiol.* 41(3):679-85.

Zehr J., Jenkins B., Short S. and Steward G., 2003. Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. *Environ. Microbiol.*, 5: 539-554.

Ziska L.H and Hall A.E. 1983. Seed yields and water use of cowpeas (*Vigna unguiculata L. Walp.*) subjected to planned-water deficit. *Irr. Sci.*3: 237-245.

4.3 Διαδικτυακή βιβλιογραφία

_ James Alan Bassham, Hans Lambers. 2019. Photosynthesis. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/458172/photosynthesis>.

□ John Whitmarsh.1995. The photosynthetic process. Department of Plant Biology and Center of Biophysics and Computational Biology University of Illinois at Urbana-Champaign <http://www.life.illinois.edu/govindjee/paper/gov.html>.

□ Qi Cheng. 2008. Perspectives in Biological Nitrogen Fixation Research. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1744-7909.2008.00700.x>.

□ Robert Flynn and John Idowu.2015 College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences, New Mexico State University. https://aces.nmsu.edu/pubs/_a/A129/.

□ Saad Sulieman and Lam-Son Phan Tran.2014. Symbiotic Nitrogen Fixation in Legume Nodules: Metabolism and Regulatory Mechanisms. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4264117/>.

□ Thomas M. Brennan.2008. Basic Photosynthesis. Department of Biology. Dickinson college <http://www.photobiology.info/Brennan.htm>.

□ Trappe JM.2005. A.B. Frank and mycorrhizae. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15503185>.

□ Wikipedia. (English). https://en.wikipedia.org/wiki/Natural_abundance.

Υδροπονία. <http://www.hydroponics.gr/profil/idroponia.html>.

□ Wikipedia (English). <http://en.wikipedia.org/wiki/Hydroponics>.

Wikipedia (Ελληνικά) <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%86%CE%B6%CF%89%CF%84%CE%BF>