



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ  
& ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΔΑΦΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΦΥΣΙΚΟΙ ΠΟΡΟΙ, ΓΕΩΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ, ΓΕΩΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ  
ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ, ΥΔΑΤΙΚΟΙ, ΕΔΑΦΙΚΟΙ ΠΟΡΟΙ  
ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Επίδραση ενδομυκορριζικών εμβολίων σε συνδυασμό με ωσμωτική  
καταπόνηση στην ανάπτυξη φυτών τομάτας

**Γεώργιος Α. Λεβέντης**

Επιβλέπων καθηγητής:  
Οιχαλιώτης Κωσταντίνος, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ  
2020**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ  
& ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΔΑΦΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Επίδραση ενδομυκορριζικών εμβολίων σε συνδυασμό με ωσμωτική καταπόνηση στην ανάπτυξη φυτών τομάτας

“Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation enhances osmotic stress tolerance of plants”

**Γεώργιος Α. Λεβέντης**

Εξεταστική επιτροπή:

Οιχαλιώτης Κωσταντίνος, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Νικόλαος Μουστάκας, Καθηγητής ΓΠΑ

Μυρτώ Τσικνιά, Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια ΓΠΑ

## **Επίδραση ενδομυκορριζικών εμβολίων σε συνδυασμό με ωσμωτική καταπόνηση στην ανάπτυξη φυτών τομάτας**

*ΠΜΣ Φυσικοί Πόροι, Γεωπεριβάλλον, Γεωπληροφορικής και Γεωργικής Μηχανικής, Υδατικοί, Εδαφικοί Πόροι και Διαχείριση Περιβάλλοντος*

*Τμήμα Αξιοποίησης Φυσικών πόρων & Γεωργικής Μηχανικής*

*Εργαστήριο Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας*

### **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Η τομάτα (*Solanum lycopersicum L.*) είναι ένα κηπευτικό με τεράστια εθνοβοτανική ιστορία ενώ κατέχει ξεχωριστή θέση στην Ελλάδα ως παραδοσιακή καλλιέργεια και ως κύριο συστατικό της μεσογειακής διατροφής. Οι στρατηγικές προσαρμογής των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις προϋποθέτουν μεταβολές σε μορφολογικό, βιοχημικό, φυσιολογικό και γονιδιακό επίπεδο. Μέσω της συμβίωσης με τους δενδρόμορφους μυκορριζικούς μύκητες (AMF) τα φυτά ενισχύουν την ανθεκτικότητά τους στις δυσμενείς επιπτώσεις της ξηρασίας.

Φυτά τομάτας, “Evia F1”, αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα άμμου: βερμικουλίτη (1:1), και αφού εμβολιάστηκαν κατά την μεταφύτευσή τους με 2 είδη AMF, μελετήθηκε η απόκρισή τους σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Στο στάδιο του 4<sup>ου</sup> πραγματικού φύλλου υποβλήθηκαν για 4 εβδομάδες σε ελεγχόμενη άρδευση (70% και 30% της μέγιστης υδατοχωρητικότητας του υποστρώματος), ενώ κατά τη διάρκεια και μέχρι το τέλος του πειράματος τα φυτά των διαφόρων επεμβάσεων αξιολογήθηκαν και συγκρίθηκαν ως προς την απόκρισή τους στην ξηρασία (ελλιπή άρδευση). Τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερη βιομάζα, φυλλική επιφάνεια και πρόσληψη θρεπτικών και στα δύο επίπεδα άρδευσης σε σύγκριση με τους μη εμβολιασμένους μάρτυρες. Συνολικά, η συμβίωση με τους AMF ενισχύει σημαντικά την ανάπτυξη των φυτών, επίδραση η οποία συνεισφέρει στις στρατηγικές προσαρμογής των φυτών στις συνθήκες της υδατικής καταπόνησης.

**Επιστημονική περιοχή μελέτης:** Μικροβιολογία Εδάφους

**Λέξεις Κλειδιά :** Ενδομυκορριζες, Δενδρόμορφοι μυκορριζικοί μύκητες, Συμβίωση, Τομάτα, Υδατική καταπόνηση

## **Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation enhances osmotic stress tolerance of plants**

*MSc Natural Resources, Geoenvironment, Geoinformatics and Agricultural Engineering  
Soil, Water and Environmental Management  
Department of Natural Resources & Agricultural Engineering  
Laboratory of Soil Science & Agricultural Chemistry*

### **ABSTRACT**

Tomato is a high-yielding Solanaceous vegetable that ranks economically among the most important crops in Greece and the Mediterranean basin. It is commonly transplanted to the open field after seedling production in a nursery, and requires large volumes of water. Thus, it is vulnerable to several abiotic stresses, and drought has been known as a main constraint restraining growth and crop yield. The symbiotic association of AMF is a classic example of mutualistic relationship, which may ultimately improve plant fitness by alleviating the adverse effects of drought stress.

In order to assess drought tolerance of mycorrhizal tomato plants (*Solanum lycopersicum* L. cv. EVIA F1) grown in a sand-vermiculite medium, a greenhouse experiment was carried out with two different mycorrhizal strains applied singly at two irrigation regimes (70% of water holding capacity as control and 30% of WHC as deficit irrigation inducing severe stress). Plants were inoculated and transplanted at the stage of 4 true leaves and drought stress regimes were initiated after two weeks for a time-interval of four weeks. Mycorrhizal colonization generally enhanced plant vegetative growth, both under normal and reduced irrigation. Shoot dry matter yield, photosynthesis, nutrient accumulation and leaf area were higher in mycorrhizal than in nonmycorrhizal plants. We conclude that endomycorrhizal colonization can mitigate the adverse limitations of water stress on treated tomato plants, restoring most of the key growth parameters to levels similar or close to those in non-stressed plants.

**Study area:** Soil Microbiology

**Key-words:** Endomycorrhiza, Arbuscular mycorrhiza fungi, Symbiosis, Tomato, Drought stress

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Μετά την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής διατριβής θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν και συντέλεσαν στην εκπόνηση και την συγγραφή της.

Συγκεκριμένα ευχαριστώ τον καθηγητή του Εργαστηρίου Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας Κο Κωσταντίνο Οιχαλιώτη, που με εμπιστεύτηκε αναθέτοντας μου την πτυχιακή εργασία, για τη βοήθεια, τις γνώσεις και τις πολύτιμες συμβουλές του. Θα ήθελα να ευχαριστήσω την μεταδιδάκτορα Κα Τσικνιά Μυρτώ για την υπομονή, τον χρόνο που μου αφιέρωσε, την καθοδήγηση, τις γνώσεις, τις συμβουλές της και για τη βοήθεια της στα πλαίσια της διατριβής. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή και διευθυντή του Εργαστηρίου Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας Κο Νικόλαο Μουστάκα που δέχτηκε να είναι στην τριμελή επιτροπή παρακολούθησης της εργασίας αλλά και για τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφερε κατά τις προπτυχιακές και μεταπτυχιακές μου σπουδές.

Επιπλέον θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην μεταδιδάκτορα Κα Σκιάδα Βασιλική και στην υποψήφια διδάκτορα Νικολάου Χριστίνα, τον Κο Στέλιο Δάλα και την Δρ Δάφνη Ιωάννου καθώς και τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου για τη βοήθεια και την υπέροχη συνεργασία.



## Πίνακας περιεχομένων

1. Εισαγωγή .....	1
1.1. Καταγωγή – Ταξινόμηση και ονομασία τομάτας .....	1
1.2. Εδαφοκλιματικές συνθήκες .....	2
1.3. Ποικιλίες .....	4
1.4. Βιολογία αναπαραγωγής .....	6
1.5. Σημασία και χρήσεις .....	6
1.6. Οικονομικά στοιχεία καλλιέργειας στην Ελλάδα και τον κόσμο .....	6
1.7. Υδατική καταπόνηση .....	9
1.7.1. Επίδρασεις της υδατικής καταπόνησης στα φυτά .....	10
1.8. Μυκόρριζα .....	27
1.8.1 Γενικά .....	27
1.8.2 Κατηγορίες μυκορριζών .....	28
1.8.3 Μυκορριζική συμβίωση .....	32
1.8.3.2 Επίδραση στην ανάπτυξη και φυσιολογία των φυτών .....	36
1.8.3.1 Επίδραση στην ανόργανη θρέψη των φυτών .....	38
1.8.3.3 Επίδραση στις αβιοτικές και βιοτικές καταπονήσεις .....	43
1.9. Στόχος .....	46
2. Υλικά και μέθοδοι .....	48
2.1. Γενικά .....	48
2.2 Φυτικό Υλικό .....	48
2.3 Βιολογικό υλικό .....	48
2.4 Πειραματική διαδικασία .....	49
2.4.1 Σπορά .....	49
2.4.2 Μεταφύτευση .....	50
2.4.3 Υδατική καταπόνηση .....	51
2.5 Μέτρηση μορφολογικών και φυσιολογικών παραμέτρων .....	52
2.5.1. Μορφολογικές μετρήσεις .....	52
2.5.2. Relative Water Content (%) .....	52
2.5.3. Φωτοσυνθετική δραστηριότητα φύλλων .....	53
2.5.4. Φυτοανάλυση .....	54
2.5.5 Υπολογισμός αποικισμού των AMF στο ριζικό σύστημα του φυτού .....	54
2.6. Εκτίμηση pH (ενεργότητα ιόντων H <sup>+</sup> ) και ηλεκτρικής αγωγιμότητας .....	55
2.7. Στατιστική Ανάλυση .....	55

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	62
3.1. Μορφολογικές παρατηρήσεις .....	63
3.2 pH και αγωγιμότητα του υποστρώματος.....	64
3.3 Μορφολογικοί παράμετροι .....	66
3.3.1 Ύψος βλαστού .....	66
3.3.2 Νωπό και ξηρό βάρος.....	68
3.3.3 Φυλλική επιφάνεια .....	69
3.4. Φυσιολογικοί παράμετροι .....	73
3.4.1. Ρυθμός φωτοσύνθεσης.....	73
3.4.2. Ρυθμός διαπνοής .....	74
3.4.3. Στοματική αγωγιμότητα .....	75
3.4.4. Μεσοκυττάριο CO <sub>2</sub> .....	75
3.4.5. Αποτελεσματικότητα Χρήσης Νερού (Water Use Efficiency) .....	77
3.4.6. Αποτελεσματικότητα Χρήσης CO <sub>2</sub> (CUE).....	78
3.4.7 Σχετικό υδατικό περιεχόμενο (Relative Water Content, RWC%).....	79
3.5. Αποτελέσματα φυλλοδιαγνωστικής .....	82
3.5.1. Συγκέντρωση P(%) .....	82
3.5.2 Συγκέντρωση K(%).....	83
3.5.3. Συγκέντρωση Ca(%) .....	84
3.5.4. Συγκέντρωση Mg(%).....	85
3.5.5 Συγκέντρωση Na(%).....	86
3.6 Προσδιορισμός και επίδραση του αποικισμού στην ανάπτυξη των φυτών .....	87
3.7 Άνθηση .....	90
3.8 Σχέση μεταξύ παραμέτρων και επεμβάσεων .....	91
4. Συζήτηση.....	93
4.1. Γενικά.....	93
5. Συμπεράσματα .....	100
5.1. Γενικά.....	100
6. Βιβλιογραφία.	102





# 1. Εισαγωγή

## 1.1. Καταγωγή – Ταξινόμηση και ονομασία τομάτας

Η τομάτα (*Lycopersicon esculentum*,  $2n = 24$ ) ανήκει στην οικογένεια *Solanaceae* μαζί με άλλες οικονομικώς σημαντικές καλλιέργειες όπως η μελιτζάνα, η πιπεριά, η πατάτα και ο καπνός. Είναι μία εξαιρετικά διαδεδομένη καλλιέργεια στις διάφορες χώρες του κόσμου, ενώ υπάρχουν λίγες περιοχές στις οποίες η τομάτα δεν καλλιεργείται. Σε διεθνές επίπεδο, αποτελεί μία από τις πιο σημαντικές γεωργικές παραγωγικές δραστηριότητες και συγκεκριμένα θεωρείται η δεύτερη πιο σημαντική καλλιέργεια λαχανικών μετά την πατάτα ενώ σε σχέση με όλες τις καλλιέργειες καταλαμβάνει την έβδομη θέση (Bergougnoux, 2014). Ο τόπος καταγωγής της καλλιέργειας θεωρείται ότι είναι η περιοχή των Άνδεων, από την Κολομβία, το Εκουαδόρ και το Περού μέχρι τη Βολιβία και τη Χιλή. Σε αυτή τη ζώνη βρίσκονται όλοι οι άγριοι συγγενείς της τομάτας. Πριν την άφιξη των Ισπανών στην Αμερική, η καλλιέργεια της τομάτας ήταν ελάσσονος οικονομικής σημασίας, ενώ αρκετές φορές χαρακτηριζόταν ως ζιζάνιο. Η λέξη τομάτα (tomato) προέρχεται από διάλεκτο του Μεξικού και χρησιμοποιούταν ως γενικός όρος για την περιγραφή διαφόρων φυτών που φέρουν σφαιρικά φρούτα ή μούρα με πολλούς σπόρους και χυμώδη σάρκα (Díez and Nuez, 2005).

Μέχρι τον 20<sup>ο</sup> αιώνα στις περιοχές της Μεσογείου, Β. Ευρώπης και στην Β. Αμερική, υπήρχε ο φόβος ότι οι τομάτες περιέχουν τοξικές ουσίες με αποτέλεσμα να περιοριστεί η κατανάλωση. Ο φόβος αυτός οφείλεται στην παρουσία δηλητηριωδών γλυκοαλκαλοϊδών στα φύλλα και τους καρπούς άλλων μελών της ίδιας οικογένειας. Οι Ιταλοί την ονόμασαν «*Pomme d'amour*» (μήλο του έρωτα) επειδή θεωρούσαν ότι είχε αφροδισιακές ιδιότητες. Γι' αυτό και στα ιταλικά έχει

επικρατήσει η λέξη «Pomodoro». Η είσοδος της στην Ελλάδα πραγματοποιήθηκε το 1818, ενώ μετά το τέλος του δευτέρου Παγκοσμίου Πολέμου αρχίζει να καλλιεργείται εντατικά για νωπή κατανάλωση και ως πρώτη ύλη στη βιομηχανία για την παραγωγή διαφόρων προϊόντων.

Στην Ελλάδα, η καλλιέργεια της τομάτας πραγματοποιείται όλο το χρόνο, από την άνοιξη έως το φθινόπωρο στην υπαίθρο ενώ σε περιόδους «εκτός εποχής», όπως το χειμώνα, καλλιεργείται σε θερμοκήπια και άλλες κατασκευές (πχ. υψηλά τούνελ) υπό προστασία (Ολύμπιος, 2015). Ακόμα, μία άλλη μορφή καλλιέργειας της τομάτας είναι η υπαίθρια βιομηχανική.

## **1.2. Εδαφοκλιματικές συνθήκες**

Η τομάτα είναι φυτό θερμής εποχής, σχετικά ανθεκτικό στις υψηλές θερμοκρασίες και την ξηρασία και ευπαθές στις χαμηλές θερμοκρασίες και τον παγετό (Ολύμπιος, 2015; Guzmán et al. 2017). Το φύτεμα των σπόρων ευνοείται από θερμοκρασίες εδάφους 18-24°C ενώ οι βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης εξασφαλίζονται με θερμοκρασίες 25-30°C την ημέρα και 16-20°C τη νύχτα, σχετικά χαμηλή υγρασία και καθαρή ατμόσφαιρα. Μια διαφορά θερμοκρασίας 5-7°C μεταξύ ημέρας και νύχτας συμβάλλει στην βελτίωση της άνθισης, την ανάπτυξη του φυτού και την ποιότητα του καρπού. Η καρπόδεση της τομάτας ευνοείται από θερμοκρασία 18-24°C, ενώ περιορίζεται σημαντικά σε θερμοκρασίες <13°C και >30°C. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες <13°C δεν γίνεται γονιμοποίηση των ανθέων επειδή δεν βλαστάνει η γύρη ενώ σε υψηλότερες >32°C παρατηρείται ανθόπτωση. Οι θερμοκρασίες της νύχτας είναι πιο σημαντικές σε σύγκριση με τις θερμοκρασίες της ημέρας. Η ανάπτυξη του φυτού σταματά σε μέσες μέγιστες θερμοκρασίες >35°C και <12°C. Παρατεταμένες θερμοκρασίες χαμηλότερες των 10°C καταστρέφουν το φυτό. Στον Πίνακα 1.1. αναφέρονται συνολικά

όλες οι κρίσιμες θερμοκρασίες της καλλιέργειας. Γενικά, τα φύλλα του φυτού είναι λιγότερο ευπαθή στον παγετό σε σχέση με τα άνθη και τους καρπούς. Τα άνθη και οι καρποί είναι ευπαθή στην ξηρασία και στις υψηλές θερμοκρασίες. Η ωρίμανση των καρπών ευνοείται από ζεστές ημέρες και καθαρή ατμόσφαιρα χωρίς βροχοπτώσεις. Μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση όσον αφορά την αντίδραση στις κλιματικές συνθήκες. Ωστόσο σε σχέση με τα άλλα φυτά της οικογένειας *Solanaceae* όπως η μελιτζάνα και η πιπεριά, η τομάτα είναι περισσότερο ανθεκτική στις χαμηλές θερμοκρασίες. Όσον αφορά την σχετική υγρασία, το ιδανικότερο εύρος κυμαίνεται μεταξύ 50-70%, ενώ υψηλότερη υγρασία σε συνδυασμό με υψηλές θερμοκρασίες ευνοείται η εμφάνιση ασθενειών φυλλώματος, ενώ με χαμηλότερη υγρασία και μικρότερη ένταση φωτός παρατηρείται ανθόρροια.

**Πίνακας 1.1.** Κρίσιμες θερμοκρασίες της καλλιέργειας τομάτας (Guzmán et al. 2017).

Ζημιά από παγετό		-2°C
Περιορισμός στην ανάπτυξη		10-12°C
Κανονική ανάπτυξη		18-25°C
Βέλτιστη ανάπτυξη		21-24°C
Βέλτιστη βλάστηση σπόρων		25-30°C
<b>Βέλτιστες Θερμοκρασίες</b>		
Ανάπτυξη	Ημέρα	23-26°C
	Νύχτα	13-16°C
Άνθηση	Ημέρα	23-26°C
	Νύχτα	15-18°C
Ωρίμανση		15-22°C

Η τομάτα μπορεί να καλλιεργηθεί με επιτυχία σε ποικιλία εδαφών, ενώ αποδίδει καλύτερα σε εδάφη μέσης σύστασης, ελαφρά, βαθιά, γόνιμα, καλώς αποστραγγιζόμενα και με υψηλή περιεκτικότητα σε οργανική ύλη. Σε περίπτωση που είναι επιθυμητή η πρωιμότητα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ελαφρά αμμώδη εδάφη, στα οποία μπορεί να εφαρμοστεί οργανική ύλη. Τα αμμοαργιλώδη εδάφη είναι επίσης θερμά, πρωιμίζουν την παραγωγή και εξασφαλίζουν καλές αποδόσεις. Τα αργιλλοαμμώδη

εδάφη, είναι συνεκτικά και βαριά, δίνουν μεγαλύτερες αποδόσεις αλλά οψιμίζουν την παραγωγή. Καλύτερες αποδόσεις έχουν τα εδάφη που το pH είναι ελαφρώς όξινο ή ουδέτερο (5,8-6,7). Υψηλότερο ή χαμηλότερο pH μπορεί να προκαλέσει προβλήματα τροφοπενιών ή τοξικότητες και κατ' επέκταση προβλήματα στην παραγωγή. Η τομάτα είναι ένα καλιόφιλο φυτό και γενικά είναι αρκετά απαιτητική σε θρεπτικά στοιχεία. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι μία καλλιέργεια τομάτας που παράγει 10 τόνους καρπών ανά στρέμμα προσλαμβάνει κατά μέσο όρο 23-36 kg N, 6-13 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 17-70 kg K<sub>2</sub>O, 3-56 kg CaO και 4-9 kg MgO (Καλογήρου, 2015). Στον Πίνακα 1.2 περιέχεται η συγκέντρωση διαφόρων μακροστοιχείων σε διάφορους ιστούς αυτόρριζης και εμβολιασμένης τομάτας καλλιεργημένης υπό κάλυψη με σύστημα υδροπονίας. Δεν είναι ιδιαίτερα ανθεκτική στην αλατότητα, καθώς υψηλές τιμές της, όπως μεγαλύτερες των 3 dS/m, στο έδαφος ή στο αρδευόμενο νερό μειώνουν σημαντικά τον ρυθμό ανάπτυξης και το τελικό μέγεθος των καρπών.

**Πίνακας 1.2.** Μέσες συγκεντρώσεις του N, P, K, Mg, Ca σε διάφορους ιστούς αυτόρριζης και εμβολιασμένης τομάτας καλλιεργημένη σε θερμοκήπιο με σύστημα υδροπονίας (Guzmán et al. 2017).

Τομάτα		Ιστός			
Μακροστοιχείο	Τύπος	Καρπός	Φύλλο	Βλαστός	Ρίζα
N(%)	Αυτόριζο	2.57 ± 0.08	3.46 ± 0.22	2.61 ± 0.11	4.10 ± 0.10
	Εμβολιασμένο	2.86 ± 0.06	3.74 ± 0.20	2.65 ± 0.10	3.70 ± 0.14
P(%)	Αυτόριζο	0.30 ± 0.01	0.36 ± 0.04	0.38 ± 0.03	0.59 ± 0.06
	Εμβολιασμένο	0.32 ± 0.02	0.37 ± 0.04	0.38 ± 0.04	0.48 ± 0.05
K(%)	Αυτόριζο	3.22 ± 0.09	2.84 ± 0.21	3.33 ± 0.32	2.90 ± 0.37
	Εμβολιασμένο	3.63 ± 0.14	3.08 ± 0.24	3.93 ± 0.37	2.56 ± 0.26
Mg(%)	Αυτόριζο	0.10 ± 0.01	0.33 ± 0.03	0.20 ± 0.01	0.64 ± 0.04
	Εμβολιασμένο	0.13 ± 0.01	0.33 ± 0.03	0.71 ± 0.49	0.65 ± 0.03
Ca(%)	Αυτόριζο	0.10 ± 0.01	4.46 ± 0.22	1.51 ± 0.04	1.75 ± 0.13
	Εμβολιασμένο	0.14 ± 0.01	4.82 ± 0.22	1.61 ± 0.04	2.01 ± 0.16

### 1.3. Ποικιλίες

Υπάρχουν ένας αρκετά μεγάλος αριθμός ποικιλιών τομάτας, ενώ κάθε χρόνο προστίθενται και νέες. Λόγω των πολυάριθμων χρήσεων της καλλιέργειας, ίσως

αποτελεί το φυτό με τις πιο πολλές ποικιλίες και υβρίδια καθώς συμφέρει οικονομικά η δημιουργία μιας καινούριας ποικιλίας ή υβριδίου (Díez and Nuez, 2005; Ολύμπιος, 2015). Όσον αφορά τα φυτά, οι διάφορες ποικιλίες και υβρίδια διαφέρουν σε διάφορα χαρακτηριστικά όπως το μέγεθος, η ανθεκτικότητα στις ασθένειες, η πρωιμότητα, η προσαρμοστικότητα (ζεστά, ψυχρά κλίματα) και οι χρήσεις (επιτραπέζια, μεταποίηση).

Οι ποικιλίες και υβρίδια ( $F_1$ ) που καλλιεργούνται σήμερα στην ύπαιθρο διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

- αυτές που η ανάπτυξη τους σταματά από μόνη της, όταν φθάσουν σε ένα ορισμένο στάδιο (περιορισμένης ανάπτυξης, determinate)
- τις ποικιλίες ή υβρίδια που αναπτύσσονται συνέχεια, όσο διαρκεί η καλλιέργεια (indeterminate).

Επιπλέον, ανάλογα με το μέγεθος του καρπού οι καλλιεργούμενες ποικιλίες και υβρίδια διακρίνουμε 4 υποκατηγορίες:

- πολύ μικρός καρπός βάρους 10-20 gr γνωστός με το όνομα Cherry,
- μικρόκαρπες με βάρος καρπού μεταξύ 60-100 gr,
- μεσόκαρπες με βάρος καρπού μεταξύ 100-150 gr και
- μεγαλόκαρπες με βάρος καρπού 150 gr και άνω.

Παρακάτω αναφέρονται ορισμένα υβρίδια τομάτας τα οποία είναι αρκετά διαδεδομένα στο εμπόριο (Αγρότυπος, 2019): Juventino  $F_1$ , Nissos  $F_1$ , Christina  $F_1$ , SV3725TH  $F_1$ , Nausicaa  $F_1$ , Ornela  $F_1$ , Exesia  $F_1$ , Botero  $F_1$ , Rosalinda  $F_1$ , ISI 82360  $F_1$ , Nicaredthu  $F_1$ , Proxy  $F_1$ , Dolly  $F_1$ , Kardoula  $F_1$ , Blondy  $F_1$ , Saladyn  $F_1$ , Melange  $F_1$ , De Ruiten, Matissimo  $F_1$ , Euboia  $F_1$ , Troy  $F_1$ , Super Galli  $F_1$ , Mountain Spring  $F_1$ , Bobcat  $F_1$ , Matias  $F_1$ , Myrto  $F_1$ , Torero  $F_1$ , Bellfort  $F_1$ , Elpida  $F_1$ , Trifilia  $F_1$ , Santyplum  $F_1$ , NS 5417  $F_1$ , NS 8120  $F_1$ , NS 61510  $F_1$ , Umagna RZ, Despina RZ, Sugarino  $F_1$ , Mahitos RZ, Attiya RZ  $F_1$ , Manusa RZ  $F_1$ , Torry, Grumira, Mamston, Numantino, Nicoleta  $F_1$ , Lobello, Delicassi  $F_1$ , Ornela  $F_1$ , Trilly  $F_1$ , Isi 82360  $F_1$ , Sweetelle, Bamano, KM5512, Landolino, Vespolino  $F_1$ , Runner  $F_1$ , Nostymi  $F_1$ , Mysa  $F_1$  και τα υποκείμενα: Rootpower  $F_1$ , Maxifort  $F_1$ , Multifort, Optifort κ.ά..

#### **1.4. Βιολογία αναπαραγωγής**

Οι ταξιανθίες της τομάτας είναι κυματοειδείς, απλές ή διπλές και εμφανίζονται στο βλαστό με συχνότητα μια σε κάθε τρία γόνατα (Σωτηρίου και Βαρδινούλη, 2010; Ολύμπιος, 2015). Η πρώτη ταξιανθία βρίσκεται μεταξύ τρίτου και έκτου γόνατος. Τα άνθη είναι τέλεια αρρενοθήλα. Κάθε άνθος αποτελείται από κάλυκα συστέπαλο με 5 έως 10 σέπαλα, που έχουν πράσινο χρώμα. Μέσα στον κάλυκα υπάρχει η συμπέταλος κυλινδρική στεφάνη με πέντε κίτρινα πέταλα, αν και μπορεί να είναι περισσότερα σε κάποια άνθη. Στο κέντρο του άνθους υπάρχουν 5 ως 8 στήμονες με κοντό νήμα, οι οποίοι ενώνονται για να σχηματίσουν έναν σωλήνα σε σχήμα κώνου. Η ωοθήκη (δίχωρη ή τετράχωρη), η οποία βρίσκεται στη βάση του σωλήνα, που σχηματίζουν οι στήμονες, επιμηκύνεται σε ένα μακρύ και λεπτό στύλο που καταλήγει στο στίγμα. Το άνθος δεν έχει νέκταρ και είναι κυρίως αυτογονιμοποιούμενο.

#### **1.5. Σημασία και χρήσεις**

Στην Ελλάδα η τομάτα καλλιεργείται στο ύπαιθρο και στα θερμοκήπια. Ως υπαίθριο κηπευτικό καλλιεργείται την περίοδο άνοιξη-καλοκαίρι-φθινόπωρο και υπό προστασία την περίοδο φθινόπωρο-χειμώνα άνοιξη. Η τομάτα καταναλώνεται ως κύρια τροφή και ως ορεκτικό, καθώς αποτελεί σημαντική πηγή προβιταμίνης Α, βιταμίνης C, βιταμίνης Κ, βιοτίνης, θειαμίνης, ριβοφλαβίνης,, είναι πλούσια σε άλατα και κυρίως Κάλιο και έχει λίγες θερμίδες (Nonecke, 1989). Χρησιμοποιείται ως υλικό σε ποικίλες μαγειρικές συνταγές, ενώ σημαντικό ρόλο παίζουν και οι φαρμακευτικές ιδιότητες των διαφόρων οργάνων του φυτού στη λαϊκή και σύγχρονη ιατρική.

#### **1.6. Οικονομικά στοιχεία καλλιέργειας στην Ελλάδα και τον κόσμο**

Το 2018, η παγκόσμια παραγωγή τομάτας ήταν του ύψους των 186.2 εκατομμυρίων τόνων από τα οποία τα 11.3%, το 14.2%, 61.2%, 12.7%, 0.25% προέρχονται από την Αφρική, Αμερική, Ασία, Ευρώπη και Ωκεανία αντίστοιχα (Πίνακας 1.3) (FAO, 2020). Σύμφωνα με δεδομένα του 2018, η Κίνα είχε τη

μεγαλύτερη έκταση και παραγωγή τομάτας παγκοσμίως. Στη συνέχεια, σημαντικό δυναμικό παραγωγής έχουν η Ινδία, Νιγηρία, Τουρκία, Αίγυπτος, ΗΠΑ (Πίνακας 1.4). Αντίθετα, στην περίπτωση των αποδόσεων η κατάταξη είναι εντελώς διαφορετική. Τις μεγαλύτερες αποδόσεις έχουν η Ολλανδία, το Βέλγιο, η Σουηδία, η Φινλανδία.

**Πίνακας 1.3.** Στοιχεία καλλιέργειας για κάθε ήπειρο (Πηγή: FAO 2020).

	<b>Παραγωγή (ton)</b>	<b>Έκταση(ha)</b>	<b>Απόδοση(ton/ha).</b>
<b>Αφρική</b>	20775501	1291970	16.0805
<b>Αμερική</b>	26041719	422110	61.6941
<b>Ασία</b>	111683503	2594411	43.0477
<b>Ευρώπη</b>	23291126	448176	51.9687
<b>Ωκεανία</b>	464611	5790	80.2457
<b>Παγκομίως</b>	182256458	4762457	38.27

**Πίνακας 1.4.** Καλλιεργούμενες εκτάσεις, την παραγωγή και απόδοση τομάτας το 2014 σε παγκόσμιο επίπεδο (Πηγή: FAO 2020).

<b>Κατάταξη</b>	<b>Έκταση</b>	<b>Παραγωγή</b>	<b>Απόδοση</b>
1	Κίνα	Κίνα	Ολλανδία
2	Ινδία	Ινδία	Βέλγιο
3	Νιγηρία	ΗΠΑ	Σουηδία
4	Τουρκία	Τουρκία	Φινλανδία
5	Αίγυπτος	Αίγυπτος	Δανία
6	Ιράν	Ιράν	Αγγλία
7	ΗΠΑ	Ιταλία	Νορβηγία
8	Ιταλία	Ισπανία	Ιρλανδία
9	Καμερούν	Μεξικό	Ισλανδία
10	Μεξικό	Βραζιλία	Αυστρία

Στην Ελλάδα, όσον αφορά την έκταση, η καλλιέργεια παρουσίασε πτωτική τάση την τελευταία εξαετία (Πίνακας 1.5.). Όμως, η καλλιέργεια υπό κάλυψη και σε άλλες ειδικές εγκαταστάσεις (υδροπονία) έχει συμβάλλει στην αύξηση και σταθεροποίηση της απόδοσης. Εντός Ευρώπης, η Ελλάδα κατέλαβε το 2018 την 4<sup>η</sup> θέση σε έκταση την 6<sup>η</sup> σε παραγωγή και την 17<sup>η</sup> θέση σε απόδοση. Σε παγκόσμιο επίπεδο βρίσκεται στην 36<sup>η</sup> θέση των καλλιεργούμενων εκτάσεων, στην 25<sup>η</sup> θέση στην παραγωγή και στην 50<sup>η</sup> σε απόδοση.



**Πίνακας 1.5.** Καλλιεργούμενες εκτάσεις, παραγωγή και απόδοση τομάτας στην Ελλάδα στο μεσοδιάστημα 2013-2018 (Πηγή: FAO 2020).

<b>Έτος</b>	<b>Έκταση (ha)</b>	<b>Παραγωγή (ton)</b>	<b>Απόδοση (ton/ha)</b>
<b>2013</b>	26576	1221168	45.94
<b>2014</b>	17338	917902	52.94
<b>2015</b>	17421	926113	53.16
<b>2016</b>	15644	897691	53.38
<b>2017</b>	14813	785264	53.01
<b>2018</b>	16020	835940	52.18

### 1.7. Υδατική καταπόνηση

Τα φυτά αναπτύσσονται και αναπαράγονται σε ένα πολύπλοκο περιβάλλον το οποίο περιλαμβάνει ένα σύνολο χημικών και φυσικών αβιοτικών παραγόντων, οι οποίοι μεταβάλλονται χωρικά και χρονικά. Κάποιοι από αυτούς του παράγοντες είναι η ποιότητα και η ένταση της φωτεινής ακτινοβολίας, η θερμοκρασία, η διαθεσιμότητα του νερού, οι συγκεντρώσεις θρεπτικών στοιχείων και ιχνοστοιχείων, η αλατότητα, το χημικό περιβάλλον του εδάφους (pH και οξειδοαναγωγικό δυναμικό) κ.ά.. Εάν κάποιοι από αυτούς τους παράγοντες βρίσκονται σε έλλειψη ή σε περίσσεια, δηλαδή παρουσιάσουν αποκλίσεις από το σύνηθες εύρος των διακυμάνσεων τους, τότε τα φυτά θα υποστούν διάφορες βιοχημικές και φυσιολογικές μεταβολές.

Τη σημερινή εποχή, το νερό αποτελεί έναν σημαντικό και σπάνιο πόρο στις ξηρές και ημίξηρες περιοχές όπως τη λεκάνη της Μεσογείου. Το νερό, όπως συμβαίνει στους περισσότερους οργανισμούς, καταλαμβάνει στα φυτά το μεγαλύτερο μέρος του όγκου των κυττάρων και ενώ είναι ο πιο σημαντικό πόρος βρίσκεται σε περιορισμένη διαθεσιμότητα. Το 97% του νερού που προσλαμβάνεται χάνεται στην ατμόσφαιρα (λόγω διαπνοής), το 2% χρησιμοποιείται για αύξηση του όγκου ή για επέκταση των κυττάρων και το 1% για μεταβολικές διεργασίες όπως την φωτοσύνθεση (Taiz and Zeiger, 2013). Αυτές οι απώλειες είναι αναπόφευκτες καθώς τα φυτά χρειάζονται να δεσμεύσουν CO<sub>2</sub> από την ατμόσφαιρα. Για κάθε μόριο CO<sub>2</sub> που εισέρχεται στα στομάτια μέσω διάχυσης, εξέρχονται εκατοντάδες μόρια H<sub>2</sub>O.

Η ανάπτυξη των φυτών μπορεί να περιοριστεί τόσο από έλλειψη όσο και από πλεόνασμα νερού. Σε μη αρδευόμενες καλλιέργειες, η ξηρασία αναφέρεται σε μία περίοδο ανεπαρκούς βροχόπτωσης που επιφέρει έλλειψη νερού στα φυτά. Παγκοσμίως, το μεγαλύτερο ποσοστό νερού καταναλώνεται στα πλαίσια της γεωργικής δραστηριότητας (70-95%). Γι' αυτό το

λόγο η έλλειψη του έχει προκαλέσει σημαντικά προβλήματα στην παγκόσμια παραγωγή τροφίμων και γενικότερα σε όλους τους τομείς οι οποίοι βασίζονται στην γεωργία.

Η υδατική καταπόνηση, ως κλιματικός παράγοντας, είναι το αποτέλεσμα του συνδυασμού της περιορισμένης διαθεσιμότητας νερού (από την ατμόσφαιρα ή/ και από το έδαφος) και της απώλειας του (μέσω της εξατμισοδιαπνοής). Είναι γνωστό ότι μία καλλιέργεια θα βρεθεί υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης αρκετές φορές κατά τη διάρκεια του βιολογικού της κύκλου. Όμως, διάφορα στάδια όπως η βλάστηση των σπόρων, η αρχική ανάπτυξη των φυταρίων και η άνθηση είναι αρκετά ευαίσθητα στην υδατική καταπόνηση. Οι επιπτώσεις και η αντίδραση του φυτού εξαρτώνται από την ικανότητα προσαρμογής και εγκλιματισμού του, και από την ένταση και τη διάρκεια της καταπόνησης (Καραμπουρνιώτης, 2012).

### **1.7.1. Επιδράσεις της υδατικής καταπόνησης στα φυτά**

#### **1.7.1.1. Μακροσκοπικά συμπτώματα**

Η έλλειψη εδαφικής υγρασίας είναι υπεύθυνη για τη μειωμένη ανάπτυξη των φυτών. Η εμφάνιση τους είναι καχεκτική, και τα φύλλα έχουν συχνά χρώμα ανοιχτοπράσινο έως κιτρινωπό. Παρατηρείται επίσης πρόωρη φυλλόπτωση, ανθόρροια, καρπόπτωση, ενώ παραμένουν τα φύλλα των κορυφών των βλαστών, καθώς και ελάχιστα άνθη και καρποί. Εάν η ξηρασία παραταθεί, τα φυτά μαραίνονται και πεθαίνουν (Agris, 1997; Τζάμος, 2007).

#### **1.7.1.2. Μορφολογικές και φυσιολογικές επιδράσεις της υδατικής καταπόνησης**

Η ξηρασία είναι μία σύνθετη μορφή καταπόνησης που επηρεάζει τα φυτά στο επίπεδο της φωτοσύνθεσης, των ενζύμων, των πρωτεϊνών, των λιπιδίων, των σακχάρων, του DNA, καθώς

και σε ανατομικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά των φυτικών οργάνων. Οι μεταβολές αυτές ενεργοποιούν του μηχανισμούς του βραχυπρόθεσμου και μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού με στόχο την επιβίωση του φυτού (Καραμπουρνιώτης, 2012).

Λόγω της υδατικής καταπόνησης προκαλείται κυτταρική αφυδάτωση στα φυτά με αποτέλεσμα να επηρεάζονται δυσμενώς βασικές φυσιολογικές διεργασίες. Παρεμποδίζεται η κυτταρική διαίρεση και η διάταση των κυττάρων, ελαττώνεται η διαπνευστική δραστηριότητα, και παρατηρείται σημαντική μείωση της φυλλικής επιφάνειας. Η μικρότερη φυλλική επιφάνεια διαπνέει λιγότερο ώστε να εξοικονομείται μία περιορισμένη ποσότητα νερού του εδάφους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Σε πολλά φυτικά είδη, η παρατεταμένη υδατική καταπόνηση επιφέρει γήρανση και αποκοπή των κατώτερων-γηραιότερων φύλλων. Εάν ενταθεί η καταπόνηση τότε μόνο τα νέα φύλλα παραμένουν στο βλαστό. Αυτό αποσκοπεί στην εξισορρόπηση της φυλλικής επιφάνειας με σκοπό τη μείωση της διαπνευστικής επιφάνειας και πρωταγωνιστικό ρόλο παίζει το αιθυλένιο (ETH). Ταυτόχρονα, η κυτταρική αφυδάτωση μπορεί να προκαλέσει αύξηση της συγκέντρωσης των ιόντων στο κύτταρο, που μπορεί να έχει τοξικές επιδράσεις. Επιπλέον, καθώς τα φύλλα απορροφούν την ηλιακή ακτινοβολία, τείνουν να αυξήσουν τη θερμοκρασία τους πάνω από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τα φυτά αποφεύγουν τις δυσμενείς επιπτώσεις της υπερθέρμανσης μέσω των κατάλληλων κινήσεων του ελάσματος, ώστε αυτό να μην εκτίθεται πλέον άμεσα στις ηλιακές ακτινοβολίες.

Ακόμα, τα νέα φύλλα που εκπτύσσονται χαρακτηρίζονται από ιδιότητες προσαρμοστικότητας στις συνθήκες υδατικής καταπόνησης βελτιώνοντας την εξοικονόμηση του νερού. Για παράδειγμα τα φύλλα μπορεί να έχουν μικρότερο μέγεθος, μεγαλύτερο πάχος και πυκνότητα, στενότερα αγγεία, μικρότερα και πυκνότερη διάταξη στόματα. Αυτές οι μεταβολές αποσκοπούν στη μείωση της ροής του νερού μέσω των βαλβιδών ελέγχου της

εισόδου του νερού στο φύλλο (αγγεία ξύλου) και της εξόδου του νερού από αυτό (στόματα) (Salleo et al., 2000; Sperry, 2000; Aasamaa et al., 2001; Nardini et al., 2001; Bresta et al., 2011).

Ο λόγος της βιομάζας ρίζας και βλαστού καθορίζεται από τη λειτουργική ισορροπία μεταξύ της πρόσληψης νερού από τη ρίζα και φωτοσύνθεσης από τον βλαστό. Στα πλαίσια των περιορισμών που θέτει το γενετικό υπόβαθρο κάθε φυτικού είδους, η αύξηση του βλαστού τείνει να συνεχίζεται απρόσκοπτα μέχρι η απορρόφηση νερού από τη ρίζα να αναδειχθεί σε περιοριστικό παράγοντα. Η ρίζα τείνει να αυξάνει μέχρι οι ανάγκες της για φωτοσυνθετικά προϊόντα υπερβούν τη δυνατότητα προμήθειας τους από τον βλαστό. Η ανάπτυξη της ρίζας σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης συνήθως επηρεάζεται λιγότερο σε σχέση με εκείνης του βλαστού και ιδιαίτερα των φύλλων. Αυτό οφείλεται στους μηχανισμούς οσμωρύθμισης των κυττάρων των ριζών, μέσω των οποίων επιτυγχάνεται η πτώση του δυναμικού του νερού (σε χαμηλότερα επίπεδα του δυναμικού του εδαφικού νερού) στα κύτταρα διατηρώντας την ικανότητα ανάπτυξης άντλησης νερού από το έδαφος. Επιπλέον, τα κύτταρα των ριζών έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε χαμηλότερα υδατικά δυναμικά σε σχέση με τα κύτταρα των φύλλων. Άρα, σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης ο ρυθμός ανάπτυξης της ρίζας είναι ταχύτερος εκείνου του βλαστού με αποτέλεσμα ο λόγος βλαστού/ρίζας να μεταβάλλεται προς όφελος του υπόγειου τμήματος και οι ρίζες μπορούν να αντλούν νερό και το φυτό επιβιώνει. Αυτός ο λόγος εξαρτάται από τις συνθήκες θρέψης, το αναπτυξιακό στάδιο, τη δυνατότητα τροφοδοσίας του βλαστού με νερό από τη ρίζα και την δυνατότητα τροφοδοσίας με φωτοσυνθετικά προϊόντα της ρίζα από το βλαστό. Όπως προαναφέρθηκε, λόγω της υδατικής καταπόνησης περιορίζεται η διάταση των φύλλων και μειώνονται οι ανάγκες των φύλλων σε φωτοσυνθετικό προϊόν και επομένως ένα υψηλότερο ποσοστό φωτοσυνθετικών προϊόντων μετακινείται

προς τη ρίζα ώστε να αναπτύσσεται προς βαθύτερα στρώματα εδάφους.

Η αποκατάσταση της υδατικής ισορροπίας εμποδίζεται περαιτέρω από την αντίσταση στη μεταφορά του νερού μέσα στα μαραμμένα φυτά. Όταν τα κύτταρα χάνουν νερό συρρικνώνονται, κυρίως λόγω της κατάρρευσης των κυτταρικών τοιχωμάτων, φαινόμενο το οποίο ονομάζεται κυτόρρυση. Σε περιπτώσεις έντονης ξηρασίας προκαλείται μείωση της δραστηριότητας της ρίζας και αποκοπή των ριζικών τριχιδίων. Στην υποδερμίδα των ριζών μπορεί να εναποτεθεί φελλίνη (σουβερίνη), ένα αδιάβροχο λιπόφιλο πολυμερές, το οποίο αν και προστατεύει τα κύτταρα από την πλήρη αφυδάτωση, αυξάνει περισσότερο την αντίσταση στη ροή του προς το εσωτερικό των ριζών. Ακόμα, μπορούν να δημιουργηθούν έμβολα τα οποία διακόπτοντας τη στήλη νερού στα αγγεία του ξύλου δυσκολεύουν την μετακίνηση των μορίων νερού.

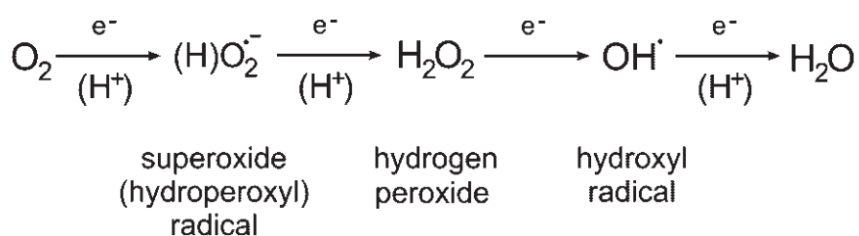
Η μείωση του υδατικού δυναμικού των φύλλων, σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού φωτοσύνθεσης (Lawlor, 2002). Η μείωση αυτή οφείλεται τόσο στη κλείσιμο των στομάτων, όσο και σε βλάβες που υφίσταται ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός. Ο έλεγχος της κίνησης των στομάτων στα φυτά που υφίστανται υδατική καταπόνηση οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στο ABA το οποίο συντίθεται στις ρίζες υπό συνθήκες χαμηλού υδατικού δυναμικού και διακινείται στους βλαστούς όπου επάγει το κλείσιμο των στομάτων, της μείωση της ταχύτητας διαπνοής και της φωτοσυνθετικής ταχύτητας. Η αλκαλοποίηση του pH του ξυλώδους αγγειακού συστήματος υπό συνθήκες έλλειψης νερού τροποποιεί επίσης την κατανομή του ABA στους ιστούς των φύλλων, αυξάνοντας το ποσοστό του ABA το οποίο κατανέμεται στον αποπλασμικό χώρο γύρω από τα καταφρακτικά κύτταρα. Αξίζει να αναφερθεί ότι και οι κυτοκινίνες εμπλέκονται στα σηματοδοτικά φαινόμενα μεταξύ ρίζας και υπέργειου μέρους (Davies et al. 2005), ενώ το

αιθυλένιο φαίνεται να εμπλέκεται επίσης μέσω του ελέγχου της παραγωγής ABA. Βέβαια, η μείωση της φωτοσύνθεσης οφείλεται και στις αλλαγές του μεταβολισμού του άνθρακα του φυτού. Ο ρυθμός της φωτοσύνθεσης εξαρτάται από την ποσότητα και τη δραστηριότητα της καρβοξυλάσης της 1,5-διφωσφορικής-ριβουλόζης (RubisCO) καθώς και από τη σύνθεση της 1,5-διφωσφορικής-ριβουλόζης (RuBP) (Ramachandra-Reddy, 1996). Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης η ποσότητα και η δραστηριότητα της RubisCO μειώνονται. Ακόμα το pH του στρώματος των χλωροπλαστών μειώνεται με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η δράση της RubisCO (Meyer and Genty, 1999). Η μείωση της φωτοσύνθεσης οφείλεται επίσης και στην καταστροφή των φωτοσυνθετικών χρωστικών όπως της χλωροφύλλης, του β-καροτινίου, της νεοξανθίνης και της λουτεΐνης (Iturbe-Ormaetxe et al. 1998). Επιπλέον, η δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS), σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με τη μείωση της χλωροφύλλης a και b.

Κατά τη διαδικασία αντιμετώπισης της υδατικής καταπόνησης από τα φυτά παρατηρείται η έκφραση γονιδίων που αποσκοπεί στη σύνθεση πρωτεϊνών για τη σύνθεση ορισμένων μεταβολιτών. Μέσω της έκφρασης κάποιων γονιδίων παράγονται οι ακουαπορίνες (aquaporins) οι οποίες είναι πρωτεΐνες που σχηματίζουν μεμβρανικές διόδους διέλευσης μορίων νερού. Εντοπίζονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (Plasma Membrane Intrinsic Proteins, Pips) και στον τονοπλάστη (Tonoplast Intrinsic Proteins, Tips). Η πρώτη κατηγορία ρυθμίζει τη ροή του νερού συνεισφέροντας στην οικονομία του και η δεύτερη συμβάλλει στην οσμορύθμιση του κυττάρου με την κατανομή του νερού μεταξύ του κυτταροπλάσματος και του χυμοτοπίου (Afzal et al., 2016). Επάγεται επίσης η μεταγραφή γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν ένζυμα όπως οι πρωτεάσες που υδρολύουν πρωτεΐνες οι οποίες έχουν μετουσιωθεί ή πρέπει να αντικατασταθούν λόγω των αντίξοων συνθηκών. Σε αυτές τις

συνθήκες σημαντικό είναι και η επαγωγή γονιδίων διαφόρων οσμολυτών όπως της προλίνης (*P5CS*, *P5CR*) (Hayat et al., 2012). Οι παραπάνω πρωτεΐνες-ένζυμα χαρακτηρίζονται από λειτουργικό ρόλο (λειτουργικές πρωτεΐνες) και προστατεύουν άμεσα τα κύτταρα από την καταπόνηση. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις λειτουργικές πρωτεΐνες ονομάζονται λειτουργικά γονίδια.

Όπως είναι γνωστό ο τελικός δέκτης των ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων είναι το μοριακό οξυγόνο. Για την αναγωγή του οξυγόνου προς νερό, το οξυγόνο δέχεται τέσσερα ηλεκτρόνια και τέσσερα πρωτόνια (Εικόνα 1.1). Όμως είναι δυνατό να δεχτεί μόνο ένα, δύο, ή τρία ηλεκτρόνια με αποτέλεσμα η αναγωγή να είναι ατελής. Σε αυτήν την περίπτωση τότε παρατηρείται ο σχηματισμός τοξικών ανηγμένων ενδιάμεσων μορφών οξυγόνου που ονομάζονται ελεύθερες ή ενεργές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species, ROS). Με άλλα λόγια είναι μερικώς ανηγμένα ή ενεργοποιημένα παράγωγα του μοριακού οξυγόνου. Η παραγωγή των ROS εντάσσεται στις μεταβολικές και φυσιολογικές αποκρίσεις που έχουν αναπτύξει τα φυτά ώστε να ανταποκρίνονται στις δυσμενείς συνθήκες (Hirayama and Shinozaki, 2010). Αυτές χαρακτηρίζονται από υψηλή δραστηριότητα και είναι ικανές να δημιουργήσουν σημαντικές αλλοιώσεις σε διάφορα τμήματα του κυττάρου όπως στη δομή των λιπιδίων, των νουκλεϊκών οξέων, των πρωτεϊνών, των κυτταρικών μεμβρανών, δημιουργώντας συνθήκες οξειδωτικής καταπόνησης.



**Εικόνα 1.1.** Η αναγωγή του μοριακού οξυγόνου βήμα προς βήμα (Gechev et al., 2006)

Παρά την μεταλλαξογόνο δράση των ROS η σύνθεση τους εντός των κυττάρων δεν προϋποθέτει την ύπαρξη καταπόνησης.



Το υπεροξειδίο και η ρίζα του υπεροξειδίου συμμετέχουν σε σημαντικές μεταβολικές οδούς των φυτών όπως είναι η διαδικασία της λιγνινοποίησης, ενώ παίζουν και το ρόλο ενδιάμεσου σήματος για την ενεργοποίηση επαγόμενης άμυνας έναντι των παθογόνων. Ένα υγιές φυτό χωρίς καταπονήσεις μπορεί και εξουδετερώνει τα ROS μέσω ποικίλων αντιοξειδωτικών αντιδράσεων (Gechev et al, 2006). Η έκθεση όμως σε ακραίες συνθήκες περιβάλλοντος ευνοούν την υπερπαραγωγή των ROS λόγω της απώλειας ισορροπίας μεταξύ της διέγερσης των φωτοχημικών κέντρων αντίδρασης και της μειωμένης απόσβεσης της ενέργειας μέσω αφομοίωσης του άνθρακα. Στην περίπτωση διαφόρων αβιοτικών και βιοτικών καταπονήσεων αυξάνεται σημαντικά η συγκέντρωση των ROS εντός των κυττάρων με αποτέλεσμα να διαταραχθεί η ισορροπία σχηματισμού και εξουδετέρωσης τους, εις βάρος της τελευταίας, και να σημειώνονται οι προαναφερθείσες βλάβες. Μέσω διαδικασιών του αερόβιου μεταβολισμού όπως η φωτοσύνθεση, η αναπνοή και η φωτοαναπνοή παράγονται ROS στους χλωροπλάστες, στα μιτοχόνδρια και στα υπεροξυσώματα (Apel and Hirt, 2004, Gill and Tuteja, 2010). Σημαντικές ποσότητες ROS όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) παράγονται στα κέντρα παραγωγής ενέργειας των κυττάρων, στα μιτοχόνδρια. Όμως, στα μιτοχόνδρια η παραγωγή των ROS είναι μικρότερη σε σχέση με τους χλωροπλάστες (θεωρείται 20 φορές λιγότερο στα  $C_3$  φυτά) επειδή δεν περιέχουν χρωστικές ουσίες όπως η χλωροφύλλη που απορροφά ενέργεια από το φως (Foyer and Noctor, 2003). Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης κλείνουν τα στομάτια και μειώνεται ο ρυθμός αφοιμείωσης του  $CO_2$  και έτσι ευνοείται μέσω της φωτοαναπνοής η παραγωγή  $H_2O_2$  στο υπεροξυσώμα ενώ παράλληλα αυξάνεται η συγκέντρωση των  $^1O_2$ ,  $H_2O_2$  και  $O_2^{\cdot-}$  στους χλωροπλάστες λόγω των βλαβών που προκαλεί η ανεξέλεγκτη αναγωγή της φωτοσυνθετικής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (Apel and Hirt, 2004, Noctor et al., 2014).

Το κύτταρο για να ανταπεξέλθει σε αυτού του είδους την καταπόνηση διαθέτει αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς οι οποίοι βασίζονται σε ενζυμικές και μη ενζυμικές αντιδράσεις. Ως αντιοξειδωτική ουσία χαρακτηρίζεται μία ουσία η οποία βρίσκεται σε μικρές συγκεντρώσεις σε σχέση με το υπόστρωμα που οξειδώνεται και έχει τις ιδιότητες να εμποδίζει ή να καθυστερεί την οξείδωση του υποστρώματος αυτού (συνήθως οξειδούμενη ή ίδια ως εναλλακτικό υπόστρωμα). Οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί και τα ένζυμα παραγωγής ROS είναι υπεύθυνα για τη διατήρηση της ομοιόστασης των ROS σε υποκυτταρικό επίπεδο και ρυθμίζουν την συγκέντρωση τους αναλόγως τις ανάγκες του κυττάρου σε μία δεδομένη στιγμή.

Όσον αφορά τα ένζυμα σημαντικό ρόλο κατέχει η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η αναγωγή της γλουταθειόνης (GR), η S τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST), η καταλάση (CAT), η υπεροξειδάση γλουταθειόνης (GPX), η υπεροξειδάση του ασκορβικού (APX), οι peroxiredoxins (PRX), η αναγωγή του μονοδεϋδροασκορβικού (MDHAR), και η αναγωγή του δεϋδροασκορβικού (DHAR). Αυτά τα αντιοξειδωτικά ένζυμα εντοπίζονται σε διάφορα όργανα του κυττάρου και συμβάλλουν στην απομάκρυνση των ROS. Η SOD αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας μετατρέποντας το  $O_2^{\cdot-}$  σε  $H_2O_2$  και στη συνέχεια τα ένζυμα CAT, APX, και GPX απομακρύνουν το  $H_2O_2$ . Πιο συγκεκριμένα το ένζυμο APX απομακρύνει το  $H_2O_2$  με τη χρήση του ασκορβικού οξέος και τα ένζυμα GPX, GST και PRX ανάγουν το  $H_2O_2$  και τα οργανικά υδροπεροξειδία (Dietz et al., 2006; Meyer et al., 2012; Noctor et al., 2014). Σημαντικό ρόλο παίζει και η προλίνη, ένα α-αμινοξύ, η δράση της οποία συνδυάζει και οσμωπροστατευτικές ιδιότητες (δρα ως οσμολύτης) και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Οι μη ενζυμικές φύσης ουσίες είναι μεταβολίτες χαμηλού μοριακού βάρους που συμβάλλουν σημαντικά στην ομοιόσταση των ROS στο φυτό και περιλαμβάνουν το ασκορβικό οξύ, τη γλουταθειόνη, τα

καροτινοειδή, την α-τοφερόλη, τα φλαβονοειδή, τις τανίνες και πρόδρομα της λιγνίνης. Η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ουσιών στο φυτό υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης μπορεί να αυξάνεται, να μειώνεται ή και να παραμένει σταθερή ανάλογα με το είδος και την ηλικία το φυτού και τη διάρκεια της καταπόνησης.

Ένας τρόπος αντιμετώπισης της οσμωτικής καταπόνησης είναι η σύνθεση και η συσσώρευση διαλυτών ουσιών που ονομάζονται οσμωπροστατευτικές ουσίες ή οσμολύτες. Με αυτόν τον τρόπο αποτρέπονται οι απώλειες νερού και διατηρείται η σπαργή των κυττάρων. Γενικά κάθε φυτική οικογένεια φαίνεται ότι έχει προτιμήσεις στο είδος του συμβατού οσμολύτη που συνθέτουν τα κύτταρα. Στις ουσίες αυτές περιλαμβάνονται  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  ή οργανικοί μεταβολίτες όπως προλίνη, σορβιτόλη, διάφορα αμινοξέα, πολυαμίνες και τετραεδρικές ενώσεις αμμωνίου όπως γλυκίνη-μπεταΐνη (Tamura et al., 2003). Αναφέρονται ως συμβατοί οσμολύτες διότι εκτός από την οσμολυτική τους δράση, προστατεύουν ευαίσθητα μόρια, κυρίως πρωτεΐνες, από την αφυδάτωση και τη περαιτέρω αποδιάταξη και καταστροφή των μορίων τους. (Καραμπουρνιώτης, 2012). Οι οσμολύτες αυτοί εντοπίζονται στους χλωροπλάστες και στους διάφορους κυτταροπλασματικούς χώρους. Για την παραγωγή των μορίων των συμβατών οσμολυτών απαιτείται δαπάνη ενέργειας. Τα ποσά άνθρακα που απαιτούνται για τη σύνθεση των συμβατών οσμολυτών μπορεί να είναι σημαντικά και επομένως η σύνθεση τους μπορεί να επιφέρει μείωση της παραγωγής σε καλλιεργούμενα φυτά.

Οι ουσίες αυτές έχουν πολλαπλές ιδιότητες και μπορούν να εντοπιστούν σε πολλά είδη συνθηκών. Για παράδειγμα, η συσσώρευση της προλίνης παρατηρείται σε περιπτώσεις υδατικής καταπόνησης, αλατότητας, χαμηλής θερμοκρασίας, έκθεση σε UV ακτινοβολία κ.ά. και συνδέεται με την ικανότητα των φυτών να ανταπεξέλθουν σε αυτές τις συνθήκες. Εκτός από την δράση της

ως οσμωρυθμιστικός παράγοντας, η προλίνη συνεισφέρει στην σταθεροποίηση μεμβρανών, πρωτεϊνών και άλλων υποκυτταρικών δομών δρα ως αντιοξειδωτικός παράγοντας και λειτουργεί ως σήμα καταπόνησης (Hayat et al., 2012). Πιο συγκεκριμένα εμπλέκεται στην προστασία της μεμβράνης των θυλακοειδών παρεμποδίζοντας την παραγωγή  $^1O_2$ . Τέλος θεωρείται ότι ο ρόλος της προλίνης στην υδατική καταπόνηση είναι πιθανώς πιο σημαντικός ως αντιοξειδωτική παρά ως απλή οσμωρυθμιστική ουσία (Delauney and Verma, 1993; Ramachandra-Reddy et al. 2004).

### **1.7.1.3. Η ξηρασία και η επίδραση της στη θρέψη των καλλιεργούμενων φυτών**

Στα γεωργικά οικοσυστήματα, τα θρεπτικά στοιχεία χορηγούνται στα φυτά, μέσω εισροών, ενώ στα φυσικά οικοσυστήματα, η διαθεσιμότητα τους εξαρτάται από την παρουσία τους στα εδάφη, το νερό και την ατμόσφαιρα. Η πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά εξαρτάται από τη διάσταση των πρώτων σε ιόντα και τη μετακίνησή τους έως την επιφάνεια των ριζών. Επομένως, η επάρκεια του νερού είναι κρίσιμη για την επαρκή θρέψη των φυτών. Φυτά τα οποία εκτίθενται σε έλλειψη νερού είναι πιθανό να είναι επίσης ελλειμματικά σε θρεπτικά και τα φυτά που βρίσκονται κάτω από συνθήκες τροφοπενίας συχνά είναι περισσότερο επιρρεπή στην έλλειψη νερού. Για παράδειγμα, όταν αναπτύσσονται σιτηρά υπό συνθήκες έλλειψης νερού, η πρόωγη προσθήκη μεγάλης ποσότητας αζώτου μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη μεγάλου φυλλώματος το οποίο δεν θα μπορέσει να υποστηριχθεί από το διαθέσιμο νερό, με αποτέλεσμα να υπάρχει κίνδυνος αποτυχίας της καλλιέργειας, ενώ η όψιμη προσθήκη αζώτου μπορεί να εξασφαλίσει την ποιότητα και την ποσότητα της παραγωγής.

Η πρόσληψη των θρεπτικών στοιχείων σχετίζεται με τη βιομάζα του ριζικού συστήματος. Οι ρίζες θα πρέπει να

προσεγγίζουν τα σημεία του εδάφους όπου βρίσκονται τα θρεπτικά στοιχεία και αυτά με τη σειρά τους θα πρέπει να έχουν την ικανότητα να κινηθούν προς τις ρίζες και μέσα σε αυτές. Η ανάπτυξη των ριζών επηρεάζεται από την τροφοδοσία σε φωτοσυνθετικά προϊόντα, από το υπέργειο μέρος, από επαρκή θρέψη (π.χ. σε φώσφορο και ασβέστιο) και από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους όπως η υγρασία, το pH, η θερμοκρασία, ο αερισμός κ.ά. (Waisel et al. 2002; Gregory, 2006). Καθώς το έδαφος αποξηραίνεται γίνεται περισσότερο αδιαπέρατο, επηρεάζοντας την ανάπτυξη των ριζών. Η ανάπτυξη των ριζών μπορεί επίσης να παρεμποδιστεί σε αλατούχα εδάφη ή εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε αργίλιο ή άλλα τοξικά στοιχεία ενώ ορισμένα αλληλοπαθητικά οργανικά μόρια επίσης παρεμποδίζουν την αύξηση (Waisel et al. 2002).

Τα θρεπτικά στοιχεία κινούνται προς την επιφάνεια των ριζών μέσω ενός συνδυασμού μαζικής ροής και διάχυσης (Kramer and Boyer, 1995). Μαζική ροή πραγματοποιείται σε καλώς αποστραγγιζόμενα εδάφη, όταν το νερό απορροφάται από τις ρίζες λόγω διαπνοής. Η διαδικασία αυτή προκαλεί μεταφορά θρεπτικών στοιχείων, τα οποία είναι διαλυμένα στο εδαφικό διάλυμα, ανεξάρτητα από την διαβάθμιση συγκέντρωσης προς το σύστημα έδαφος-ρίζα. Όμως, όταν ο ρυθμός διαπνοής είναι χαμηλός η διάχυση, (που πραγματοποιείται για την εξισορρόπηση συγκεντρώσεων προς την ρίζα που απορροφά θρεπτικά από το άμεσο περιβάλλον της), γίνεται ο κυρίαρχος τρόπος μετακίνησης των θρεπτικών στοιχείων από το εδαφικό διάλυμα προς την επιφάνεια της ρίζας. Επειδή η διάχυση είναι πολύ αργή διαδικασία σε σύγκριση με τη μαζική ροή, η κίνηση του νερού από το έδαφος διαμέσου του φυτού και προς την ατμόσφαιρα είναι ιδιαίτερα σημαντική στον εμπλουτισμό της επιφάνειας της ρίζας με θρεπτικά στοιχεία (μέσω της μετακίνησης νέων όγκων νερού προς τη ρίζα, δηλαδή με μαζική ροή). Κάτω από άριστες συνθήκες, η μαζική ροή καλύπτει της ανάγκες για άζωτο,

ασβέστιο και μαγνήσιο, ενώ οι ανάγκες σε φωσφόρο καλύπτονται κυρίως μέσω της διάχυσης. Η πρόσληψη νερού και ιόντων από τη ρίζα εξαρτάται από την ανατομία, την ηλικία και τον τύπο (αρχιτεκτονική) της ρίζας και επηρεάζεται από εναποθέσεις φελλίνης καθώς και από τη δραστηριότητα των μεταφορέων ιόντων (Baxter et al., 2009).

Φυτά σε συνθήκες τροφοπενίας κάποιου στοιχείου μπορεί να παρουσιάζουν μειωμένους ρυθμούς φωτοσύνθεσης, αναπνοής και αύξησης. Στη συνέχεια, η μειωμένη διαθεσιμότητα φωτοσυνθετικών προϊόντων για μεταφορά προς τη ρίζα προκαλεί έλλειψη ενέργειας η οποία μειώνει την ικανότητα της ρίζας για τροφοδοσία του υπέργειου τμήματος με θρεπτικά στοιχεία. Η κυτταρική επιμήκυνση και η πρόσληψη ιόντων είναι διεργασίες που απαιτούν ενέργεια. Επομένως, είναι αναμενόμενο πως φυτά υπό τροφοπενία οποιουδήποτε απαραίτητου θρεπτικού στοιχείου, είναι συχνά περισσότερο επιρρεπή στην έλλειψη νερού λόγω ρηχού ή ανεπαρκώς αναπτυγμένου ριζικού συστήματος. Επιπλέον, φυτά με έλλειψη θρεπτικών στοιχείων παρουσιάζουν μειωμένο ρυθμό απορρόφησης νερού, λόγω μειωμένου οσμωτικού δυναμικού των κυττάρων της ρίζας (Clarkson et al. 2000).

Έχει παρατηρηθεί ότι συγκρίνοντας φυτικού ιστούς υπό έλλειψη νερού και υπό συνθήκες επάρκειας δείχνουν μικρές διαφορές στις συγκεντρώσεις θρεπτικών στοιχείων. Το γεγονός οφείλεται στη συσχέτιση μεταξύ τροφοδοσίας με θρεπτικά στοιχεία και συσσώρευσης βιομάζας. Καθώς είναι μειωμένη η βιομάζα μειώνεται και η ζήτηση με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται ο ρυθμός πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων (Kramer and Boyer, 1995). Επομένως ενώ οι συγκεντρώσεις θρεπτικών στοιχείων μπορεί να είναι παρόμοιες ή ακόμα και αυξημένες υπό συνθήκες έλλειψης νερού, η ολική πρόσληψη θρεπτικών (από όλη τη βιομάζα του φυτού) εμφανίζεται μειωμένη.

Υπό συνθήκες υψηλών ρυθμών διαπνοής, καθώς η εδαφική υγρασία είναι επαρκής και τα στομάτια είναι ανοιχτά, η ροή νερού προς τις ρίζες μπορεί να ξεπεράσει το ρυθμό πρόσληψης των ιόντων. Επομένως, θα παρατηρηθεί συσσώρευση ιόντων στην εξωτερική επιφάνεια των ριζών και αραίωση του χυμού στο ξυλώδες αγγειακό σύστημα. Αυτό συμβαίνει επειδή η συμπλαστική μεταφορά ιόντων διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών πραγματοποιείται συχνά μέσω ενεργού μεταφοράς, διαδικασία η οποία είναι ανεξάρτητη από τη διέλευση των μορίων του νερού. Αντίθετα, όταν οι ρυθμοί διαπνοής είναι χαμηλοί, (λόγω κλεισίματος των στοματίων ως απόκριση στην έλλειψη νερού), οι συγκεντρώσεις των ιόντων στην εξωτερική επιφάνεια της ρίζας ενδέχεται να μειωθούν, καθώς η πρόσληψη ιόντων από τη ρίζα συνεχίζεται αμείωτη ενώ η ροή του νερού είναι μειωμένη. Το γεγονός αυξάνει τη διαφορά συγκέντρωσης μεταξύ της επιφάνειας των ριζών και του εδάφους, στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η διάχυση από το εδαφικό διάλυμα προς την επιφάνεια των ριζών ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται συμπύκνωση του χυμού των αγγείων του ξύλου. Οι ακουαπορίνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταφορά νερού αλλά η συνεισφορά τους στην πρόσληψη ιόντων και τη θρέψη των φυτών είναι απροσδιόριστη. Όμως, έχει βρεθεί ότι αυτοί οι δίαυλοι νερού συμμετέχουν στην πρόσληψη βορικού και πυριτικού οξέος (Clarkson et al. 2000; Maurel et al. 2008). Η υδραυλική αγωγιμότητα των ριζών παρατηρήθηκε ότι ήταν υψηλότερη όταν το άζωτο χορηγήθηκε υπό μορφή  $\text{NO}_3^-$ , παρά υπό μορφή  $\text{NH}_4^+$ , γεγονός που ίσως οφείλεται στη δράση των ακουπουρινών (Guo et al. 2002).

Όπως προαναφέρθηκε σε συνθήκες έλλειψης νερού συμμετέχουν διάφορα χημικά σήματα τα οποία προέρχονται από τη ρίζα και επηρεάζουν την ανάπτυξη του βλαστού και τη συμπεριφορά των στομάτων. Εκτός από το ABA, τις κυτοκινίνες και την αύξηση του pH, ένα τέταρτο σήμα είναι τα νιτρικά ιόντα.

Η πρόσληψη νιτρικών από τον απλοπλασμικό χώρο απαιτεί συμμεταφορά  $H^+$ , με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά το pH στο ξυλώδες αγγειακό σύστημα. Μέσω αυτού του μηχανισμού μπορεί να εξηγηθούν διάφορες παρατηρήσεις σύμφωνα με τις οποίες η τροφοπενία αζώτου μπορεί να προκαλέσει κλείσιμο των στομάτων (McDonald and Davies, 1996). Παρατηρήθηκε ότι η τροφοπενία N αύξησε την ευαισθησία καλλιέργειας βαμβακιού στην υδατική καταπόνηση με αποτέλεσμα να εμφανίζουν συμπτώματα σε υψηλότερα υδατικά δυναμικά. Το φαινόμενο της επίδρασης ενός εδάφους με περιορισμένη υγρασία στη συγκέντρωση νιτρικών στα αγγεία του ξύλου εξαρτάται όχι μόνο από το ρυθμό πρόσληψης νιτρικών από το έδαφος, αλλά και από το βαθμό με τον οποίο τα νιτρικά ιόντα αραιώνονται στο ξύλωμα από την πρόσληψη νερού και τη δραστηριότητα αφομοιωτικών πορειών του μεταβολισμού και συγκεκριμένα της αναγωγής των νιτρικών.

Υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, η πρόσληψη αζώτου περιορίστηκε σε φυτά σόγιας (Tanguilig et al. 1987). Η μείωση αυτή μπορεί να οφείλεται στους μειωμένο ρυθμό διαπνοής με αποτέλεσμα να περιοριστεί η μεταφορά του N από τις ρίζες στο βλαστό. Σύμφωνα με τους Barnett και Naylor (1966) η υψηλή συγκέντρωση N σε καλλιεργούμενα φυτά υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης οφείλεται στην συσσώρευση ελεύθερων αμινοξέων που δεν μετατρέπονται σε πρωτεΐνες. Πράγματι οι Singh et al. (1973) έδειξαν ότι η υψηλή συγκέντρωση N, υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, οφείλεται στην συσσώρευση προλίνης. Επίσης, ο αργός ρυθμός ανάπτυξης αποτρέπει την αραιώση των θρεπτικών στοιχείων στους ιστούς των φυτών.

Οι Tanguilig et al. (1987) ανέφεραν ότι η πρόσληψη N μειώθηκε σε φυτά ρυζιού, σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, παρόλο που αυξήθηκε το ξηρό βάρος της ρίζας. Έχει αναφερθεί ότι υπό συνθήκες ξηρασίας, η απορρόφηση του  $NH_4^+$  και των  $NO_3^-$  μειώθηκε, ενώ η μείωση των  $NO_3^-$  ήταν μεγαλύτερη από την



μείωση του  $\text{NH}_4^+$ . Ο Viets (1972) συμπέρανε ότι η υδατική καταπόνηση προκαλεί αύξηση των επιπέδων N στα φυτά, ενώ προκαλεί μείωση στα επίπεδα P και διάφορες επιδράσεις στα επίπεδα K. Συγκεκριμένα, σε διάφορα φυτά της οικογένειας *Roaceae* παρατήρησε αύξηση N και K και μείωση στα επίπεδα P.

Σε φυτά τομάτας, υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, η πρόσληψη N και P μειώθηκε και ταυτόχρονα μεταφέρθηκε από έλασμα των φύλλων στους μίσχους και στον βλαστό. Όταν εφαρμόστηκε άρδευση, παρατηρήθηκε αύξηση της πρόσληψης του N και P ενώ κινητοποιήθηκαν προς το έλασμα των φύλλων. Τα συμπτώματα μάρανσης επηρέασαν περισσότερο την πρόσληψη P παρά την πρόσληψη N. Το ξηρό βάρος των φυτών μειώθηκε γρηγορότερα σε σχέση με την πρόσληψη των θρεπτικών.

Πράγματι, η υδατική καταπόνηση έχει σημαντικές επιπτώσεις στην θρέψη του φωσφόρου. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν διάφορες μελέτες οι οποίες αναφέρουν αύξηση και μείωση των επιπέδων P και άλλων θρεπτικών στοιχείων. Όμως, είναι γενικά παραδεκτό ότι η πρόσληψη φωσφόρου μειώνεται σε συνθήκες ξηρασίας (Simpson and Lipsett, 1953; Pinkerton and Simpson, 1986). Η μεταφορά του P προς το υπέργειο τμήμα του φυτού περιορίζεται ακόμα υπό και συνθήκες ήπιας υδατικής καταπόνησης (Rasnick, 1970). Επίσης, οι Mouatt και Nes (1960) αναφέρουν ότι ικανοποιητική τροφοδοσία με φώσφορο μπορεί να εξασφαλιστεί μόνο σε υψηλά επίπεδα διαθέσιμης υγρασίας του υποστρώματος. Οι Olsen et al. (1961) παρατήρησαν ότι η πρόσληψη των ανιόντων  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  εξαρτάται από τον διαθέσιμο εδαφικό P και από τη διαθέσιμη υγρασία του εδάφους. Η λίπανση με P έχει θετική επίδραση σε φυτά που αναπτύσσονται υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, αυξάνοντας την αποδοτικότητα χρήσης του νερού (Water Use efficiency) την στοματική αγωγιμότητα (Brück et al. 2000), την φωτοσύνθεση (Ackerson, 1985) και τη σταθερότητα των κυτταρικών μεμβρανών (Sawwan et al., 2000).

Το κάλιο είναι ιόν με σπουδαιότατο ρόλο καθώς συμμετέχει στο άνοιγμα και κλείσιμο των στοματίων και στην οσμωτική εξισορρόπηση στη ζώνη αύξησης των ριζών υπό χαμηλές τιμές του υδατικού δυναμικού. Διάφορες διεργασίες όπως η φόρτωση του ηθμού απαιτούν  $K^+$  ως αντισταθμιστικό ιόν και ως οσμολύτη για τη διατήρησης της οσμωτικής ισορροπίας (Marschner, 1995). Η συγκέντρωση καλίου στις ρίζες επηρεάζει την ευαισθησία των ιστών στο ABA, η οποία είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της αύξησης της ρίζας (Sharp et al. 2004), την αντίδραση υπερπόλωσης των κυττάρων της ρίζας στη μείωση του δυναμικού νερού (Ober and Sharp, 2003) και τη ρύθμιση της υδραυλικής αγωγιμότητας της ρίζας (Quintero et al. 1998). Όλες αυτές οι διεργασίες είναι σημαντικές υπό συνθήκες ξηρασίας και πιθανότατα αναστέλλονται υπό συνθήκες σοβαρής τροφοπενίας καλίου. Σε συνθήκες ξηρασίας το υψηλό περιεχόμενο σε K σχετίζεται με τη διατήρηση υψηλής φωτοσυνθετικής δραστηριότητας, λόγω διατήρησης υψηλής τιμής pH στο στρώμα του χλωροπλάστη. Επιπλέον, όταν λόγω κάποιας καταπόνησης η μεταφορά ηλεκτρονίων διαμέσω του φωτοσυστήματος PSII παρεμποδίζεται, τότε η κατάσταση σε κάλιο των ιστών των φύλλων σχετίζεται με την αποτελεσματική λειτουργία των προστατευτικών μηχανισμών μέσω των οποίων γίνεται διαχείριση του πλεονάσματος ενέργειας και την αυξημένη παραγωγή ROS (Cakmak, 2005). Στα φυτά τα οποία αναπτύσσονται υπό συνθήκες ξηρασίας η συσσώρευση K ίσως είναι πιο σημαντική από την παραγωγή οργανικών ενώσεων κατά τα πρώτα στάδια προσαρμογής, επειδή η εξασφάλιση οσμωτικής ισορροπίας μέσω της πρόσληψης K «συμφέρει» περισσότερο ενεργειακά (Hsiao, 1973).

Η πρόσληψη του Ca, όπως συμβαίνει και με άλλα στοιχεία, μειώνεται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, αλλά μειώνεται λιγότερο σε σχέση με τον P και το K. Επειδή το Ca χαρακτηρίζεται από χαμηλή κινητικότητα, ο ρυθμός τροφοδοσίας

και η κατανομή του στους φυτικούς ιστούς επηρεάζει σημαντικά την πραγματοποίηση διαφόρων διεργασιών του μεταβολισμού. Η έλλειψη αναγνώρισης του ρόλου του Ca οφείλεται στο ότι σημαντικές λειτουργίες των φυτών ελέγχονται από τις μεταβολές ενός μικρού φυσιολογικά ενεργού αποθέματος Ca μέσα στο κυτταρόπλασμα. Επομένως, τα επίπεδα Ca που προκύπτουν από αναλύσεις σε ολόκληρο το φύλλο ίσως δεν παρέχουν τις απαραίτητες πληροφορίες σχετικά με την επάρκεια Ca (McLaughlin and Wimmer, 1999). Ο Oertii (1991) αναφέρει ότι σε ξηρά εδάφη με υψηλό pH, η τροφοδοσία με Ca θα είναι ικανοποιητική ενώ στα όξινα εδάφη των τροπικών η τροφοδοσία με Ca ίσως είναι προβληματική. Σχετικά πρόσφατα, το ενδυκυτταρικό Ca έχει βρεθεί ότι συμμετέχει στις αποκρίσεις των φυτών υπό συνθήκες ξηρασίας και αλατότητας, παίζοντας σημαντικό ρόλο στην οσμωρύθμιση (Knight et al., 1997; Bartels and Sunkar, 2005). Για παράδειγμα συμμετέχει σε μηχανισμούς σήματος που επάγουν την συσσώρευση προλίνης υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Sadiqon et al., 2002).

Το μαγνήσιο επίσης επηρεάζει την ιοντική ισορροπία και τη μεταφορά καλίου διαμέσω της μεμβράνης του στρώματος του χλωροπλάστη (Gupta et al., 1989; Berkowitz and Wu, 1993). Οι υψηλές συγκεντρώσεις μαγνησίου στους χλωροπλάστες μπορεί να παρεμποδίσουν τη φωτοφωσφορυλίωση μέσω της ΑΤΡάσης (Younis et al. 1993; Lawlor and Tezara, 2009). Επειδή, η μεταφορά των ιχνοστοιχείων προς τις ρίζες των φυτών γίνεται μέσω της διάχυσης, τότε σε συνθήκες περιορισμένης εδαφικής υγρασίας θα μειωθεί η πρόσληψη των ιχνοστοιχείων, όπως στην περίπτωση του P. Όμως, επειδή τα φυτά απαιτούν αρκετά μικρότερες ποσότητες ιχνοστοιχείων, η επίδραση της ξηρασίας δε θα είναι τόσο μεγάλη σε σχέση με τη θρέψη του P. Παρατηρείται συνήθως προβληματική τροφοδοσία με B, γεγονός που σχετίζεται αρχικά με χαμηλό ρυθμό ανοργανοποίησης, επειδή μεγάλο ποσοστό του B βρίσκεται στην οργανική ύλη, και επίσης σε

χαμηλά επίπεδα Β στο υπέδαφος ορισμένων περιοχών, επειδή υπό συνθήκες ξηρασίας η πρόσληψη του νερού πραγματοποιείται κυρίως από το υπέδαφος. Επιπλέον, χαμηλά επίπεδα εδαφικής υγρασίας μπορούν να προκαλέσουν τροφопενία Mn, Mo, Fe και Zn. Τέλος, αρκετές μελέτες αναφέρουν ότι η αύξηση Si στους φυτικούς ιστούς μπορεί να βελτιώσει την ανάπτυξη των φυτών υπό συνθήκες ξηρασίας καθώς παρατηρείται μείωση του ρυθμού διαπνοής (Erstein, 1999; Ma, 2004).

## **1.8. Μυκόρριζα**

### **1.8.1 Γενικά**

Ο όρος μυκόρριζα χρησιμοποιείται για την περιγραφή της μη παθογόνου συμβιωτικής σχέσης αμοιβαίας ωφέλειας, η οποία αναπτύσσεται ανάμεσα σε ένα φυτό και έναν συγκεκριμένο τύπο μυκήτων, τους μυκορριζικούς μύκητες. Αποτελεί την πιο διαδεδομένη μορφή συμβίωσης μεταξύ μικροοργανισμών και ανωτέρων φυτών (Smith and Read, 2008). Η σχέση αυτή παρατηρείται στο 80% περίπου των δικότυλων και μονοκότυλων φυτών και σε όλα τα γυμνόσπερμα φυτά.

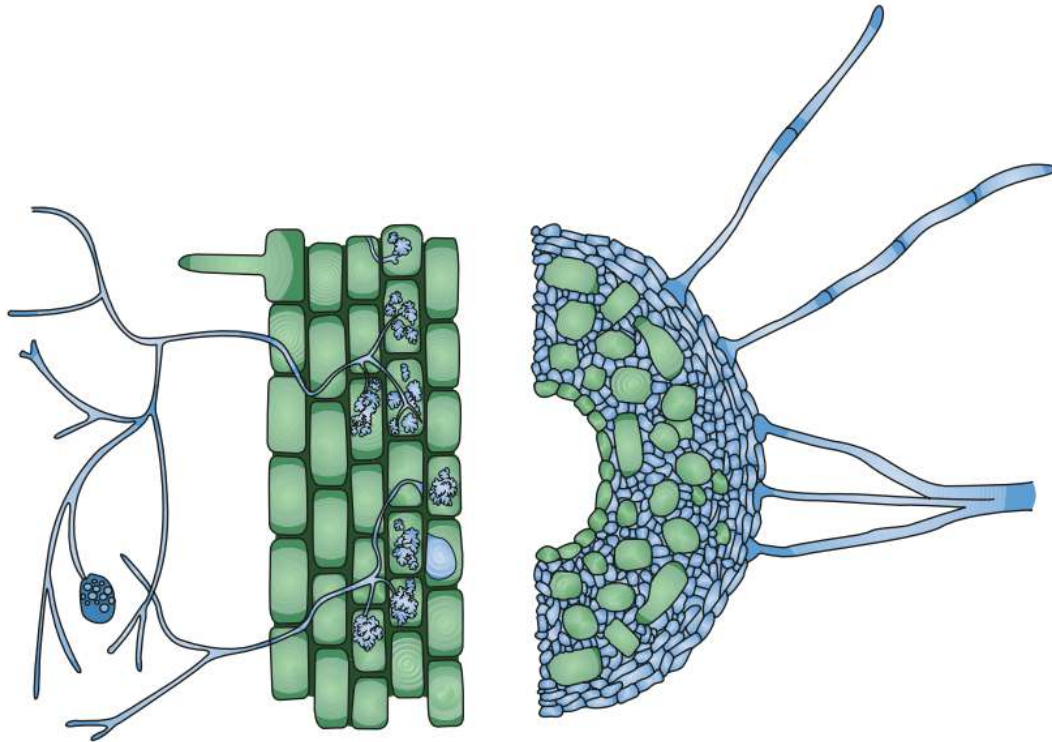
Γενικά, στα πλαίσια αυτής της σχέσης ο μύκητας είναι μερικώς ή πλήρως εξαρτώμενος από το φυτό, ενώ το φυτό μπορεί να ωφελείται θετικά ή και καθόλου. Μόνο σε λίγα φυτά, όπως οι ορχιδέες, είναι απαραίτητη αυτή η συμβίωση. Όσον αφορά τα φυτά η συμβίωση αυτή μπορεί να είναι αμοιβαία, ουδέτερη ή και παρασιτική (Johnson et al., 1997). Αυτό εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως το είδος του φυτού και του μύκητα καθώς και η διαθεσιμότητα του P και η ένταση του φωτός. Επομένως, η συμβιωτική σχέση χαρακτηρίζεται από μία λεπτή ισορροπία, κυρίως ανάμεσα στο όφελος του ξενιστή, όσον αφορά την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων, και το κόστος σε φωτοσυνθετικά προϊόντα που τροφοδοτούν τον μύκητα (Marschner, 2012).

### 1.8.2 Κατηγορίες μυκορριζών

Οι μυκορριζικοί μύκητες διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, διαχωρισμός ο οποίος βασίζεται σε μορφολογικές και φυσιολογικές διαφορές (Εικόνα 1.2):

Εκτομυκόρριζα: Σχηματίζονται κυρίως από τη συμβίωση μεταξύ βασιδιομυκήτων και ασκομυκήτων και τις ρίζες διαφόρων δασικών φυτών, σπανίως και με ποώδη και αγρωστώδη μονοετή φυτά (Smith and Read, 2008). Παρατηρούνται περισσότερο στο βόρειο ημισφαίριο, σε φυτά της οικογένειας *Pinaceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae* και *Salicaceae*. Υπάρχουν όμως και σε τροπικά και υποτροπικά δάση (Högberg, 1986)

Ενδομυκόρριζα: Ο μύκητας σχηματίζει δομές μέσα στα κύτταρα του φλοιού της ρίζας και αναπτύσσεται μεταξύ των κυττάρων. Στη διεπιφάνεια φυτού-μύκητα, οι κυτταρικές μεμβράνες του μύκητα και του φυτού είναι σε άμεση επαφή μεταξύ τους. Υπάρχουν διάφοροι τύποι ενδομυκορριζών. Οι πιο γνωστοί τύποι είναι οι δενδρόμορφοι μυκορριζικοί μύκητες (Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF), οι ενδομυκόρριζες που σχηματίζονται μεταξύ φυτικών ειδών της οικογένειας *Ericaceae* (ericoid mycorrhiza) και βασιδιομυκητών ή μεταξύ ειδών της οικογένειας *Monotropaceae* και ασκομυκητών και ενδομυκόρριζες που σχηματίζονται μεταξύ φυτικών ειδών της οικογένειας *Orchidaceae* (orchid mycorrhiza) και βασιδιομυκητών.



**Εικόνα 1.2.** Μορφολογικές διαφορές μεταξύ AMF (αριστερά) και εκτομυκόρριζας (δεξιά). (Marschner, 2012)

#### 1.8.2.1. Δενδρόμορφοι μυκορριζικοί μύκητες

Οι δενδρόμορφοι μυκορριζικοί μύκητες (AMF) ανήκουν σε μία αρχαία και διαδεδομένη ομάδα μυκήτων και σχηματίζουν μία οικολογικά σημαντική συμβίωση με πάνω από το 80% των φυτών της Γης και με πολλές οικονομικά σημαντικές καλλιέργειες (Bonfante & Genre 2010). Η συμβιωτική σχέση με τους AMF έχει βρεθεί ότι έχει παρουσιαστεί πριν από 400-600 εκατομμύρια έτη και πιθανότατα έχει βοηθήσει τα ανώτερα φυτά στον αποικισμό της ξηράς (Bonfante and Genre, 2008). Ταξινομικά είναι μονοφυλλετικοί μύκητες. Στους AMF περιέχονται 214 είδη, σε 4 τάξεις και 13 οικογένειες, της κλάσης *Glomeromycetes* του φύλου *Glomeromycota* (Muthukumar et al., 2009). Διάφορες σημαντικές οικογένειες των AMF είναι οι *Glomaceae*, *Gigasporaceae*, *Paraglomaceae*, *Archaeosporaceae*, *Acaulosporaceae* κ.ά.. Οι AMF χαρακτηρίζονται από τον σχηματισμό (i) ενδοκυτταρικών

δομών όπως τα δενδρόμορφα (arbuscules) και οι σπειρώματα υφών (hypha coils) μέσα στα κύτταρα του φλοιού της ρίζας, (ii) υφών που αναπτύσσονται μεταξύ των κυττάρων του φλοιού, (iii) μυκηλίου που αναπτύσσεται στο έδαφος που περιβάλλει το περιβάλλον της ριζόσφαιρας (extraradical mycelium). Αναγνωρίζεται ότι αναλόγως των δομών που σχηματίζουν στα κύτταρα του φλοιού, οι AMF διακρίνονται σε δύο κατηγορίες. Ο τύπος Arum στον οποίο παρατηρούνται κυρίως δενδρόμορφα και στον τύπο Paris όπου παρατηρούνται κυρίως σπειρώματα υφών (Smith and Read, 2008). Μεταξύ των δύο άκρων του “Arum-Paris” φάσματος” υπάρχει μία σειρά διαβαθμίσεων που περιγράφονται ως ενδιάμεσοι τύποι. Άλλωστε, έχει παρατηρηθεί ότι ένα είδος AMF αναλόγως το φυτό-ξενιστή μπορεί να σχηματίσει και τις δύο δομές (Dickson, 2004). Στις δομές αυτές πραγματοποιείται η αμοιβαία ανταλλαγή θρεπτικών μεταξύ των συμβιωτών και είναι λειτουργικές για μικρό χρονικό διάστημα, καθώς είναι ενεργές για περίπου 7 μέρες. Κάποιοι από τους AMF σχηματίζουν κύστες (vesicles), οι οποίες περιέχουν λιπίδια και λειτουργούν ως αποθηκευτικά όργανα, αλλά και ορισμένες φορές ως αναπαραγωγικά (Willis et al., 2013). Το μέγεθος των σπορίων ποικίλει από <40 μm στα μικρότερα είδη, μέχρι τα >800 μm του *Gigaspora gigantea*.

Οι AMF χαρακτηρίζονται ως υποχρεωτικά βιοτροφικοί οργανισμοί και είναι πλήρως εξαρτώμενοι από τα φωτοσυνθετικά προϊόντα του φυτού-ξενιστή για την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου (Willis et al., 2013). Η εκβλάστηση των σπορίων μπορεί να συμβεί απουσία του φυτού ξενιστή, ενώ έχει βρεθεί ότι η εξάρτηση των ενδομυκορριζών από λιπαρά οξέα που παράγει ο ξενιστής (Trépanier et al., 2005). Τυπικά οι AMF παρουσιάζουν μικρή εξειδίκευση όσον αφορά τον ξενιστή, καθώς μία ενδομυκόρριζα μπορεί να αποικίσει πολλά διαφορετικά συνυπάρχοντα φυτικά είδη. Το μυκήλιο των AMF έχει μοναδικά χαρακτηριστικά σε σχέση με τους υπόλοιπους ευκαρυώτες, καθώς

περιέχει από εκατοντάδες έως χιλιάδες πυρήνες σε ένα κυτταρόπλασμα ενώ δεν έχει βρεθεί κάποιο στάδιο στον βιολογικό τους κύκλο με έναν ή δύο πυρήνες. Τα σπόρια των AMF χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη πολλών πυρήνων και σχηματίζονται ασεξουαλικά. Ο συχνότερος τρόπος αναπαραγωγής είναι μέσω της διόγκωσης των υφών που βρίσκονται στη ρίζα και στο έδαφος. Όλα τα σπόρια περιέχουν από εκατοντάδες μέχρι χιλιάδες πυρήνες, οι οποίοι μπορεί να μην είναι γενετικά όμοιοι και λιπίδια τα οποία τροφοδοτούν με ενέργεια την βλαστική υφή κατά το προ-συμβιωτικό στάδιο (Willis et al., 2013).. Επίσης, δεν έχει παρατηρηθεί εγγενής αναπαραγωγή μεταξύ τους, αλλά είναι γνωστό ότι μπορεί να συμβεί ανταλλαγή γενετικού υλικού μεταξύ στενών συγγενών στελεχών AMF μέσω της αναστόμωσης των υφών (Giovannetti et al., 1999). Όμως, σε στελέχη του ίδιου είδους, τα οποία ανήκουν σε γεωγραφικά απομακρυσμένες περιοχές φαίνεται ότι δεν συμβαίνει αναστόμωση (ή συμβαίνει σπανιότερα)

Οι AMF έχουν αρκετά μεγάλο ενδιαφέρον από εξελικτική άποψη, καθώς αυτοί οι μύκητες θεωρούνται ότι πολλαπλασιάζονται για πάνω από 500 εκατομμύρια χρόνια απουσία σεξουαλικής αναπαραγωγής, γι' αυτό και χαρακτηρίζονται ως «αρχαίοι ασεξουαλικοί οργανισμοί» (“ancient asexuals”) (Riley and Corradi, 2013). Αυτή η μακροχρόνια απουσία σεξουαλικής αναπαραγωγής, είναι σπάνια στους ευκαρυώτες και φαίνεται να έρχεται σε αντίθεση με την εξελικτική άποψη ότι με το πέρασμα των γενεών συσσωρεύονται επιβλαβείς μεταλλάξεις με αποτέλεσμα να εξαφανιστούν (Meselson effect). Κάποιες εξηγήσεις της ασεξουαλικής αναπαραγωγής βασίστηκαν στη θεωρία ότι τα κύτταρα ήταν ετεροκαρυωτικά (Kuhn et al. 2001; Hijri & Sanders 2005). Όμως αυτή η υπόθεση έχει αμφισβητηθεί από αρκετούς ερευνητές. Ένας διαφορετικός λόγος που εξηγεί την εξελικτική επιτυχία των AMF είναι ίσως ότι μπορούν να πραγματοποιήσουν κρυπτική



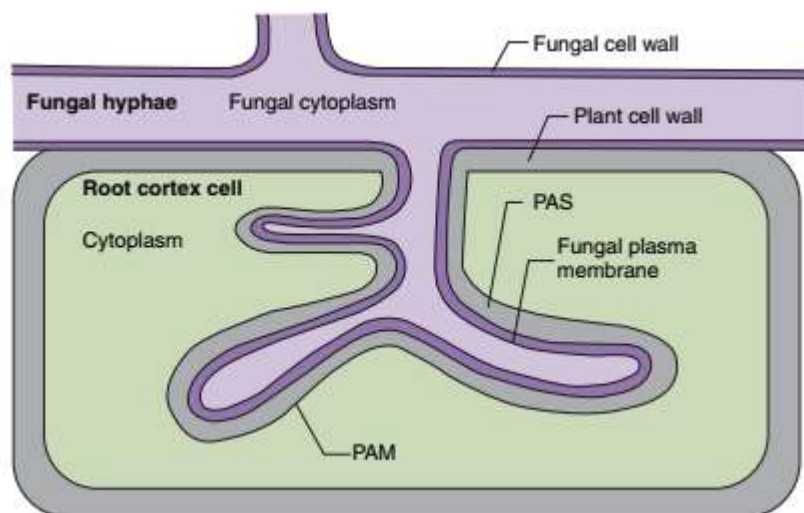
αναπαραγωγή ή παρασεξουαλικό κύκλο. Αξίζει να αναφερθεί ότι οι Chen et al. (2018) εντόπισαν ότι οι AMF μπορούν να δημιουργήσουν γενετική παραλλακτικότητα μέσω ανασυνδυασμού των πυρήνων σε δικαρυωτικά στελέχη.

### **1.8.3 Μυκορριζική συμβίωση**

Για την εγκατάσταση της συμβίωσης πρέπει ο ξενιστής και ο μύκητας να υποστούν σημαντικές δομικές και λειτουργικές μεταβολές (Εικόνα 1.2). Όταν γίνεται αντιληπτή η παρουσία του ξενιστή, από τα σπόρια του μύκητα προκύπτει βλαστική υφή, ενώ τα φυτά εκκρίνουν τερπενοειδή, τις στριγγολακτόνες, στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας οι οποίες αυξάνουν την διακλάδωση των υφών. Οι AMF εκκρίνουν ορμόνες (Myc factors) με τη μορφή λιπο-χιτο-ολιγοσακχαριτών (LCO's) και ολιγομερών χιτίνης (CO's), οι οποίες είναι παρόμοιες με εκείνες που εκκρίνουν τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια (Nod factors), με αποτέλεσμα να ενεργοποιείται το μονοπάτι συμβίωσης φυτού με το μύκητα.

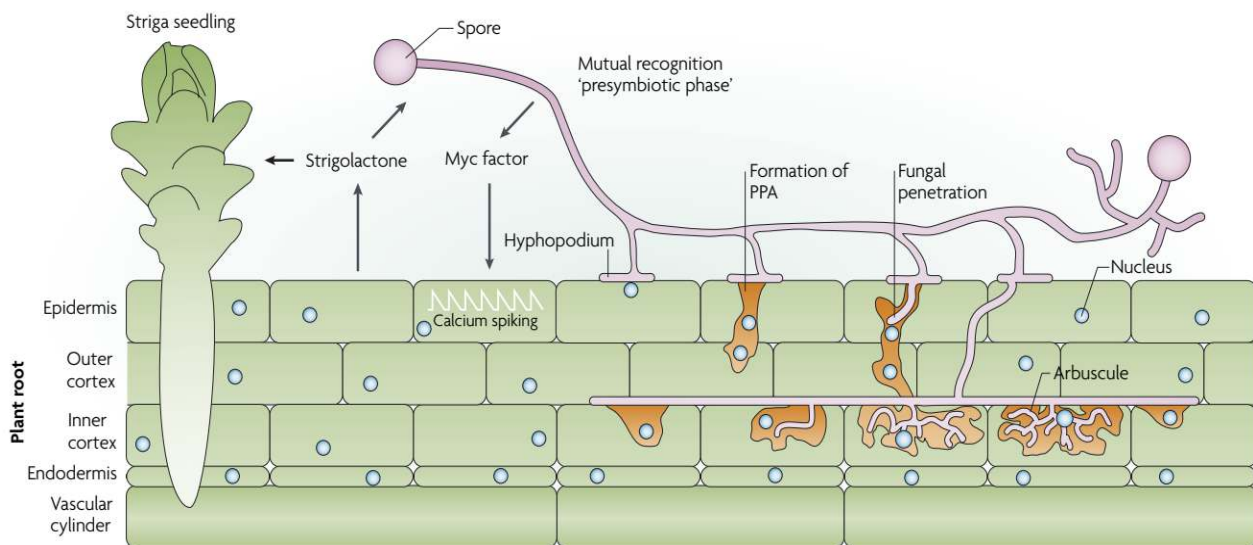
Ο μύκητας και το φυτό έρχονται σε φυσική επαφή στην επιφάνεια των ριζών. Η υφή του μύκητα δημιουργεί υποπόδια (απρεσσόρια), τα οποία είναι μία διόγκωση που έρχεται σε επαφή με την επιφάνεια των ριζών και εξασφαλίζει ισχυρή πρόσφυση του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή. Ο ξενιστής 4-5 ώρες μετά την προσκόλληση του μύκητα στην επιδερμίδα των κυττάρων κατασκευάζει μία κυτταρική δομή η οποία προκαθορίζει τη διαδρομή του μύκητα μέσα στα κύτταρα του φυτού. Η κυτταρική δομή ονομάζεται προ-διεισδυτικός μηχανισμός (prepenetration apparatus, PPA). και η δημιουργία του είναι απαραίτητη ώστε να εισέλθει ο μύκητας στο εσωτερικό των κυττάρων του φυτού (Bonfante & Genre 2010). Αφού επιτευχθεί η πρόσφυση, εκφύεται από το απρεσσόριο μία λεπτή διατρητική υφή η οποία διαπερνά την ριζοδερμίδα του ξενιστή και έτσι επιτυγχάνεται η

μόλυνση. Στη συνέχεια δημιουργούνται εντός των κυττάρων τα δενδρόμορφα τα οποία μορφολογικά μοιάζουν με μικρά δέντρα και προκύπτουν από τον πολλαπλασιασμό και διακλάδωση της υφής του μύκητα. Οι δομές των AMF διαχωρίζονται από το κυτταρόπλασμα των φυτικών κυττάρων μέσω μίας μεμβράνης, η οποία ονομάζεται περιδενδροειδής μεμβράνη (periarbuscular membrane, PAM) και προκύπτει από εγκολλώσεις της κυτταρικής μεμβράνης των φυτικών κυττάρων (Εικόνα 1.3). Σε αυτήν την μεμβράνη πραγματοποιείται η αμοιβαία ανταλλαγή των θρεπτικών. Τα δενδρόμορφα αναπτύσσονται σε διάστημα 1-6 ημερών μετά την διείσδυση των κυττάρων του φλοιού, ενώ μετά από 4-15 μέρες τα δενδρόμορφα συνήθως αποσυντίθενται και το κύτταρο του ξενιστή επιστρέφει στην αρχική του κατάσταση (Harley and Smith, 1983). Επιπλέον, δενδρόμορφα σχηματίζονται καθώς οι υφές αναπτύσσονται μεταξύ των κυττάρων της ρίζας και συνεχίζουν να διεισδύουν σε κύτταρα του φλοιού. Ο αποικισμός είναι μία ασύγχρονη διαδικασία, γεγονός που σημαίνει ότι αρχικές και ώριμες δομές της αλληλεπίδρασης μπορούν να παρατηρηθούν την ίδια χρονική στιγμή (Εικόνα 1.4).



**Εικόνα 1.3.** Η ανατομία ενός δενδρόμορφου. Η αμοιβαία ανταλλαγή C και ανόργανων θρεπτικών μεταξύ των συμβιωτών συμβαίνει κατά μήκος της πλασματικής μεμβράνης του μύκητα, στον περιδενδροειδή χώρο (periarbuscular space, PAS) ο οποίος αποτελείται από υλικό των κυτταρικών τοιχωμάτων του φυτού και του μύκητα, και της περιδενδροειδούς μεμβράνης (periarbuscular membrane, PAM) που είναι σε συνέχεια με το κυτταρόπλασμα του φυτού. (Paniske, 2008)

Όταν σχηματιστούν τα δενδρόμορφα, το εξωριζικό μυκήλιο διακλαδίζεται και επεκτείνεται στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας και περαιτέρω αυτής. Οι εξωτερικές υφές επεκτείνονται γύρω από τις υπόλοιπες ρίζες και τις ξαναμολύνουν. Το εξωριζικό μυκήλιο διαφέρει από το προ-συμβιωτικό μυκήλιο καθώς παράγει νέα σπόρια και σχηματίζει «διακλαδισμένες απορροφητικές δομές» (Branched Absorbing Structures, BAS) (Neumann and George, 2010). Οι δομές αυτές είναι ομάδες διακλαδισμένων υφών, μοιάζουν αρκετά με τα δενδρόμορφα και θεωρείται ότι συμμετέχουν στην πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος. Λαμβάνοντας υπόψη τις ιδιότητες του εξωριζικού μυκηλίου χρησιμοποιείται ο όρος «μυκορριζόσφαιρα» ώστε να περιγραφεί το περιβάλλον του εδάφους στο οποίο δραστηριοποιούνται οι ρίζες του ξενιστή και το εξωριζικό μυκήλιο. Στα φυσικά οικοσυστήματα τα περισσότερα φυτά αποικίζονται από μυκορριζικού μύκητες, και επομένως ο όρος μυκορριζόσφαιρα ίσως είναι ο κανόνας παρά η εξαίρεση. Οι μυκορριζόσφαιρες των γειτονικών φυτών σε ένα δεδομένο οικοσύστημα μπορούν να συνδεθούν μέσω κοινών δικτύων υφών σχηματίζοντας κοινά μυκορριζικά δίκτυα (Common Mycorrhizal Networks, CMNs), ενώ υπάρχει και ο όρος “Plant on the Web” (Read, 1998). Υπάρχει η άποψη ότι μέσω αυτών των δικτύων μπορεί να γίνει η μεταφορά θρεπτικών στοιχείων σε μεγάλες αποστάσεις με αποτέλεσμα να μειώνεται η ετερογένεια του εδάφους όσον αφορά τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων (Hodge, 2006).



**Εικόνα 1.4.** Στάδια αποικισμού AMF στα φυτικά κύτταρα της ρίζας και του φλοιού.

Οι στριγγολακτόνες εκκρίνονται από το φυτό-ξενιστή, προκαλώντας τη εκβλάστηση και αύξηση της διακλάδωσης των υφών και της φυσιολογικής δραστηριότητας των σπορίων και των υφών. Οι στριγγολακτόνες επίσης, επάγουν τη βλάστηση σπορίων παρασιτικών φυτών όπως η *Striga*. Ο μύκητας εκκρίνει Myc factors, σηματοδοτικά μόρια (λιπο-χιτο-ολιγοσακχαρίτες), με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης  $Ca^{2+}$  στα κύτταρα της επιδερμίδας, ενεργοποιώντας το κοινό μονοπάτι συμβίωσης. Ο σχηματισμός των υποποδίων (απρεσσορίων) γίνεται από ώριμες υφές και υποστηρίζεται μέσω της παραγόμενης από τον ξενιστή κουτίνης, ή παραγώγων κουτίνης (κηρού της εφυμενίδας). Καθώς πλησιάζουν οι υφές, ο πυρήνας του κυττάρου της επιδερμίδας κινείται προς τον μύκητα. Ως αποτέλεσμα της χημικής και μηχανική διέγερσης, τα κύτταρα του φυτού σχηματίζουν τον προ-διεισδυτικό μηχανισμό. Στη συνέχεια, οι υφές που βλαστάνουν από το υποπόδιο εισέρχονται στον προ-διεισδυτικό μηχανισμό μέσω του οποίου ο μύκητας κατευθύνεται προς τον φλοιό. Ο μύκητας μετακινείται στον αποπλάστη και οι υφές του διακλαδίζονται και αναπτύσσονται μεταξύ των κυττάρων. Αυτές οι υφές επάγουν την δημιουργία προ-διεισδυτικών μηχανισμών στα κύτταρα του φλοιού, εισέρχονται και δημιουργούν τα δενδρόμορφα κύτταρα του φυτού ξενιστή, συνοδευόμενη με αύξηση της συγκέντρωσης  $Ca^{2+}$ . Ο μύκητας αποικίζει τα κύτταρα του φλοιού της ρίζας, καθώς οι υφές διακλαδίζονται ενδοκυτταρικά. και τη συνέχεια δημιουργούνται τα δενδρόμορφα. (Pasniskie, 2008)

### 1.8.3.2 Επίδραση στην ανάπτυξη και φυσιολογία των φυτών

Έχουνε πραγματοποιηθεί αρκετά πειράματα στα οποία μελετήθηκε η επίδραση του αποικισμού από ενδομυκόρριζες στην ανάπτυξη των καλλιεργούμενων φυτών. Για παράδειγμα, αποικισμένα φυτά καλαμποκιού χαρακτηρίζονταν από μεγαλύτερη φυλλική επιφάνεια και υψηλότερο ρυθμό φωτοσύνθεσης με αποτέλεσμα ο ρυθμός διαπνοής, η απορρόφηση του νερού και η μαζική ροή να αυξηθούν (Kothari et al., 1990).

Ο αποικισμός από ενδομυκόρριζες επηρεάζει την ανάπτυξη των ριζών και του βλαστού με διαφορετικό τρόπο. Σε ένα υπόστρωμα με μικρή ποσότητα θρεπτικών, το εξωτερικό μυκήλιο αυξάνει την επιφάνεια του, αυξάνοντας τη διαθεσιμότητα θρεπτικών όπως ο P. Όταν τα φυτά έχουν πρόσβαση σε μεγαλύτερη ποσότητα θρεπτικών, η ανάπτυξη του βλαστού επηρεάζεται περισσότερο από την ανάπτυξη της ρίζας ώστε να μειώνεται ο λόγος ρίζας / βλαστός. Για μία δεδομένη κατάσταση θρέψης του ξενιστή, η μεταβολή αυτή είναι πιο εμφανής στα αποικισμένα φυτά καθώς ο μύκητας ανταγωνίζεται τη ρίζα για φωτοσυνθετικά προϊόντα. Η μείωση της επιφάνειας της ρίζας και της δραστηριότητας της δεν αποτελεί αρνητικό παράγοντα για την ανάπτυξη και την απόδοση του φυτού, εφόσον το εξωτερικό μυκήλιο του AMF μπορεί να υποστηρίξει την απαραίτητη απορρόφηση νερού και θρεπτικών.

Στα αποικισμένα φυτά, συνολικά η αναπνοή της ρίζας και του μύκητα μπορεί να είναι 20-30% υψηλότερη από ότι στις ρίζες των μη αποικισμένων φυτών, ενώ 87% της αυξημένης αναπνοής οφείλεται στον μύκητα (Baas et al., 1989). Το κόστος της συμβίωσης με τον μύκητα ποικίλει και εκτιμάται πως κυμαίνεται από 4% μέχρι 20% του παραγόμενου C. Το μεγαλύτερο μέρος του C αφομοιώνεται από την αναπνοή του συστήματος ρίζας-μυκόρριζας. Σε φυτά με υψηλό αποικισμό, η βιομάζα του AMF μπορεί να φτάσει μέχρι και το 20% της βιομάζας της ρίζας, ενώ συνήθως είναι 10% (Fitter, 1991). Το αυξημένο κόστος της

συμβίωσης σε φωτοσυνθετικά προϊόντα μπορεί να υποστηριχθεί από τα αποικισμένα φυτά αυξάνοντας το ρυθμό φωτοσύνθεσης για δεδομένη φυλλική επιφάνεια. Επομένως, θεωρείται ότι ίσως η αύξηση της φωτοσύνθεσης οφείλεται στις αυξημένες απαιτήσεις σε C, παρά στο αποτέλεσμα της συμβίωσης. Οι ενδοριζικές υφές και τα δενδρόμορφα απορροφούν C από τον ξενιστή με τη μορφή εξόζης, η οποία χρησιμοποιείται για την σύνθεση λιπιδίων, τρεχαλόζης και γλυκόζης και στη συνέχεια μεταφέρονται στο εξωριζικό μυκήλιο (Bago et al. 2002). Έχει επιβεβαιωθεί μεταφορά λιπιδίων από τις ενδοριζικές στις εξωριζικές υφές. Πρόσφατα δείχτηκε ότι ο ξενιστής παρέχει στον μύκητα και λιπίδια (εκτός από σάκχαρα), καθώς οι μυκορριζικοί μύκητες αδυνατούν να συνθέσουν λιπαρά οξέα (Keymer & Gutjahr, 2018) Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι οι AMF εκκρίνουν C στον περιβάλλον της μυκορριζόσφαιρας (Toljander et al., 2007), όπως εκκρίνει η ρίζα, επηρεάζοντας τις μικροβιακές κοινότητες του εδάφους (Jones et al., 2009).

Εάν η ενδομυκόρριζα δεν είναι αποτελεσματική στο να τροφοδοτεί με θρεπτικά τον ξενιστή τότε ίσως ο αποικισμός από AMF περιορίσει την ανάπτυξη της ρίζας καθώς ο μύκητας λειτουργεί ως καταβόθρα C. Γενικά, αρκετοί AMF δρουν ως ισχυρές καταβόθρες άνθρακα ανεξαρτήτως της συνεισφοράς τους με θρεπτικά στον ξενιστή (Douds et al., 1988; Lambers et al., 2002). Η αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη είναι περισσότερο εμφανής όταν ο αποικισμός είναι σε υψηλά επίπεδα, υπάρχει διαθέσιμος P και μειωμένη ικανότητα φωτοσύνθεσης ώστε να μην είναι εφικτό να υποστηριχθεί το κόστος της συμβίωσης (Gerdemann, 1975; Sanders, 1993). Υποστηρίζεται ότι τα αποικισμένα φυτά με σκοπό να μειώσουν το ενεργειακό κόστος της συμβίωσης περιορίζουν τον περαιτέρω αποικισμό από τους AMF. Επομένως, η συμβίωση παραμένει επωφελής. Αυτός ο μηχανισμός ονομάζεται “autoregulation of mycorrhization”, ο οποίος είναι λιγότερο κατανοητός σε σχέση με τον αντίστοιχο

“autoregulation of nodulation” που παρατηρείται στη πιο πρόσφατη εξελικτικά συμβίωση φυτών-ριζοβίων (Wang et al., 2018).

### **1.8.3.1 Επίδραση στην ανόργανη θρέψη των φυτών**

Η πιο ξεκάθαρη επίδραση των AMF στην ανάπτυξη των φυτών είναι η καλύτερη τροφοδοσία με θρεπτικά στοιχεία τα οποία από άποψη εδαφικής γονιμότητας χαρακτηρίζονται από χαμηλή κινητικότητα, όπως ο P. Λόγω του υψηλού λόγου επιφάνειας/όγκου και της ικανότητας να αναπτύσσονται ταχύτατα, οι υφές των μυκήτων είναι πιο αποτελεσματικές, σε σχέση με τις ρίζες, όσον αφορά την απορρόφηση δυσκίνητων θρεπτικών από το έδαφος. Οι μύκητες ίσως μπορούν να έχουν πρόσβαση και σε διαφορετικές πηγές θρεπτικών σε σχέση με τα φυτά. Οι εξωτερικές υφές μπορούν να απορροφήσουν και να μεταφέρουν P στον ξενιστή από περιοχές τους εδάφους, περαιτέρω της ζώνης της ριζόσφαιρας (Tinker et al., 1992; Smith and Read, 2008). Επιπλέον, η μικρή διάμετρος των υφών επιτρέπουν την είσοδο σε μικρότερους πόρους του εδάφους, που δεν είναι προσβάσιμοι στις ρίζες των φυτών. Η θετική επίδραση των AMF στη θρέψη με P μειώνεται σημαντικά καθώς αυξάνεται η διαθεσιμότητα του, καθώς το φυτό δεν χρειάζεται τις υφές για να αποκτήσει πρόσβαση στον P.

Η μεταφορά ουσιών που πραγματοποιείται εντός των υφών είναι αμφίδρομη, ώστε υδατάνθρακες να μεταφέρονται προς τις υφές ενώ P και άλλα θρεπτικά στοιχεία να μετακινούνται προς τα δενδρόμορφα. Οι AMF έχουν πρόσβαση στο ίδιο απόθεμα ανόργανου P που έχουν και τα μη αποικισμένα φυτά (Bolan, 1991). Οι εξωτερικές υφές εκκρίνουν όξινες φωσφατάσες αποκτώντας πρόσβαση στον οργανικό P (Tarafdar and Marschner, 1993) αλλά και οργανικά οξέα που διαλυτοποιούν φωσφορικές ενώσεις του ασβεστίου και του μαγνησίου. Επομένως, τα

αποικισμένα φυτά έχουν παρόμοια πρόσβαση στα ίδια αποθέματα P με τα μη αποικισμένα φυτά, με τη διαφορά ότι μπορούν και προσλαμβάνουν P από έναν μεγαλύτερο όγκο εδάφους. Ο ανόργανος P εισέρχεται στις εξωριζικές υφές μέσω δύο τύπων μεταφορέων φωσφορικών ιόντων (Pi) υψηλής συνάφειας (π.χ.  $H^+$ ,  $Na^+$  – εξαρτώμενους συμμεταφορείς), μεταφέρεται στα χυμότοπια τους και χρησιμοποιείται για τη σύνθεση πολυφωσφορικών ομάδων. Η πολυφωσφορική ομάδα είναι ένα γραμμικό πολυμερές Pi, το οποίο περιέχει δεσμούς φωσφορικού ανυδρίτη, υψηλής ενέργειας, και έχει εντοπιστεί σχεδόν σε όλες τους μικροοργανισμούς (Kornberg et al., 1999). Σε αυτήν την μορφή (polyP) μετακινείται μέσω κινητών χυμοτοπίων (Uetake et al., 2002), παρά μέσω της κυτταροπλασματικής ροής όπως είχε προταθεί παλαιότερα (Smith and Gianinazzi-Pearson, 1988). Οι πολυφωσφορικές ομάδες μεταφέρονται στα δενδρόμορφα και υδρολύονται από φωσφατάσες του μύκητα (van Aarle et al., 2005) και εισέρχονται ως ανόργανος P με τη μορφή ορθοφωσφορικής ρίζας μέσα στην πλασματική μεμβράνη των κυττάρων της ρίζας του ξενιστή (Smith and Gianinazzi-Pearson, 1988). Ταυτόχρονα, καθώς μία πολυφωσφορική ομάδα είναι ένα αρνητικά φορτισμένο πολύ-ανιόν, μπορούν να προσδεθούν πάνω του μέταλλα όπως  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  και βασικά αμινοξέα όπως αργινίνη και γλουταμίνη συνεισφέροντας στη θρέψη του φυτού-ξενιστή (Smith and Gianinazzi-Pearson, 1988; Jennings, 1989; Gianinazzi-Pearson et al., 2000). Επομένως, η πρόσληψη P από τις υφές μπορεί να αυξήσει την απορρόφηση άλλων ανόργανων στοιχείων με σκοπό να διατηρηθεί η ισορροπία ανιόντων-κατιόντων. Τα μακροστοιχεία (K, Ca, Mg, Na κ.ά.) συμμετέχουν περισσότερο από τα ιχνοστοιχεία (Fe, Cu, Mn κ.ά.) στην διατήρηση της ηλεκτρικής ουδετερότητας, γι' αυτό και βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις εξωριζικές υφές (Zhang et al., 2016).



Η αποτελεσματικότητα των AMF να παρέχουν P στον ξενιστή εξαρτάται από το είδος ή και το στέλεχος του μύκητα. Η πρόσληψη P από τον ξενιστή μπορεί να συσχετίζεται θετικά με το επίπεδο αποικισμού από τον μύκητα (Raju et al., 1990), αλλά αυτό δεν συμβαίνει πάντα (Smith et al., 2003). Θεωρείται ότι το μέγεθος του εξωτερικού μυκηλίου είναι καλύτερος δείκτης της ικανότητας του AMF να προσλάβει P. Έχει αποδειχθεί η ύπαρξη μεταφορέων P που επάγονται από τους AMF στην διεπιφάνεια ξενιστή/μύκητα και μέσω αυτών πραγματοποιείται η μεταφορά του P μέσα στα κύτταρα του ξενιστή (Smith and Read, 2008). Αυτοί οι μεταφορείς δεν εκφράζονται σε μη αποικισμένα φυτά και διαφέρουν από τους μεταφορείς P που παρατηρούνται στην επιδερμίδα της ρίζας των φυτών. Αντίθετα, ο αποικισμός από ενδομυκόρριζες μειώνει τη δραστηριότητα των μεταφορέων P στην επιδερμίδα της ρίζας, ώστε η απορρόφηση της μεγαλύτερης ποσότητας P να πραγματοποιείται από τον μύκητα (Glassop et al., 2005), ακόμα και όταν δεν παρουσιάζεται κάποια θετική επίδραση στην ανάπτυξη του ξενιστή (Smith et al., 2003).

Στα αποικισμένα από AMF φυτά, η πρόσληψη και οι συγκεντρώσεις Zn και Cu είναι συνήθως μεγαλύτερες από μη αποικισμένα φυτά (Kothari et al., 1990a; Lambert and Weidensaul, 1991). Η πρόσληψη Cu και Zn από τις εξωτερικές υφές έχει παρατηρηθεί πως μπορεί να αποτελέσει μέχρι και το 50-60% της συνολικής πρόσληψης από φυτά τριφυλλιού και το 25% στον αραβόσιτο. Σύμφωνα με τους Li et al. (1991) η πρόσληψη, από τις υφές, και η μεταφορά των P και Cu ελέγχεται ξεχωριστά από διαφορετικούς μηχανισμούς. Όπως προαναφέρθηκε, αυξάνοντας τη διαθεσιμότητα P στο έδαφος, μειώνεται ο αποικισμός των ριζών και περιορίζεται το μέγεθος και η δραστηριότητα των υφών. Αυτό συνήθως αντισταθμίζεται από την αύξηση πρόσληψης P από το φυτό. Αντίθετα, αυτό δεν συμβαίνει στην περίπτωση εδαφών με χαμηλές συγκεντρώσεις Zn και Cu.

Σε αντίθεση με τον Zn και Cu, η συγκέντρωση του Mn είναι συνήθως μικρότερη σε αποικισμένα φυτά σε σχέση με μη αποικισμένα. Στο τριφύλλι βρέθηκε ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του αποικισμού της ρίζας και της συγκέντρωσης Mn (Agenes et al., 1989). Η μειωμένη πρόσληψη Mn στα αποικισμένα φυτά μπορεί να οφείλεται στην μικρή πρόσληψη και μεταφορά Mn από τις εξωτερικές υφές. Ο αποικισμός επηρεάζει σημαντικά τις μικροβιακές κοινότητες της ριζόσφαιρας και μειώνει τον πληθυσμό των μικροοργανισμών που ανάγουν το Mn σε σχέση με τα μη αποικισμένα φυτά. Στον αραβόσιτο, τα αποικισμένα φυτά είχαν μικρότερη συγκέντρωση Mn στον βλαστό και ρίζα, λιγότερα βακτήρια που ανάγουν Mn και λιγότερο ανταλλάξιμο  $Mn^{+2}$  στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας (Kothari et al., 1991).

Όσον αφορά την πρόσληψη K, Mg και S υπάρχουν λίγα στοιχεία σχετικά με τον ρόλο των AMF. Στο *Agropyron perens*, περίπου 10% του συνολικού K στα αποικισμένα φυτά, απορροφήθηκε από τις υφές (George et al., 1992). Αν και έχει αποδειχθεί η μεταφορά, δια των υφών, του S και Ca με τη χρήση ραδιοϊσοτόπων, η ποσότητα που μεταφέρεται είναι μικρή. Αντίθετα, σε πολλές μελέτες έχει αναφερθεί ότι τα αποικισμένα φυτά έχουν μικρότερες συγκεντρώσεις Ca, γεγονός που οφείλεται ίσως σε μεταβολές στη διαφοροποίηση και μορφολογία των ιστών της ρίζας, όπως αυξημένη λιγνινοποίηση και η φελλοποίηση της ενδοδερμίδας ως αποτέλεσμα του αποικισμού (Dehne and Schönbeck, 1979a, b). Αυτές οι μεταβολές μειώνουν την απορρόφηση του νερού και κατ' επέκταση των στοιχείων που μεταφέρονται μέσω της μαζικής ροής. Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις Si στα αποικισμένα φυτά αραβοσίτου ήταν μικρότερες σε σχέση με μη αποικισμένα (Kothari et al., 1990b).

Η έλλειψη N μπορεί να παρουσιαστεί και στα φυσικά και στα γεωργικά οικοσυστήματα αλλά ο ρόλος των AMF στην πρόσληψη N δεν είναι ξεκάθαρος. Στο σέλινο περίπου το 20%

του συνολικού N αποδόθηκε στην πρόσληψη των υφών (Ames et al., 1983), ενώ στο *Agropyron repens* στο 31% (George et al., 1992). Σημαντικές ποσότητες N έχουν εντοπιστεί εντός των υφών, αλλά και να μεταφέρονται από τις υφές στο φυτό, αποδεικνύοντας ίσως ότι οι AMF συνεισφέρουν σημαντικά στη θρέψη N (Johansen et al., 1992). Το ανόργανο N μετατρέπεται εντός των φυτών σε αμινοξέα και μεταφέρεται, κυρίως ως αργινίνη, από τις εξωριζικές στις ενδοριζικές υφές (Tobar et al., 1994) ενώ πριν εισέλθει στον ξενιστή μετατρέπεται σε ανόργανη μορφή. Αντίθετα, ο αποικισμός από AMF δεν είχε καμία επίδραση στην πρόσληψη N από διάφορες οργανικές και ανόργανες πηγές N σε διάφορα πολυετή φυτά βοσκοτόπων (Reynolds et al., 2005). Γενικά, για δεδομένη ζήτηση από τον ξενιστή οι ποσότητες N και K που προσλαμβάνονται από τις εξωτερικές υφές είναι αρκετά μικρότερες σε σχέση με τον P.

Η δυσκολία εκτίμησης και ποσοτικοποίησης της επίδρασης των AMF στη θρέψη των φυτών, οφείλεται στις μεταβολές στην ανάπτυξη και κυρίως στη μορφολογία και φυσιολογία της ρίζας. Η επίδραση των AMF στην ανάπτυξη και θρέψη των καλλιεργούμενων φυτών έχει μελετηθεί κυρίως σε ελεγχόμενες συνθήκες, όπως σε αποστειρωμένα υποστρώματα ή εδάφη, σε περιβάλλοντα με περιορισμένη διαθεσιμότητα P και υψηλή ένταση φωτισμού που επιτρέπει τη μεγιστοποίηση παραγωγής C από τα φυτά. Επομένως, αυτά τα αποτελέσματα παρουσιάζουν τις δυνατότητες των AMF να συνεισφέρουν θετικά στην ανάπτυξη των καλλιεργούμενων φυτών. Υπό συνθήκες αγρού, τα αποτελέσματα αυτά ίσως να μην είναι τόσο εμφανή, επειδή για παράδειγμα τα *Collembola* μπορούν να τραφούν με το εξωτερικό μυκήλιο των AMF ώστε να μειώνεται η επιφάνεια απορρόφησης. Τέλος, έχει παρατηρηθεί ότι φυτά ρεβιθιού με υψηλά επίπεδα αποικισμού, η αύξηση του υπέργειου τμήματος των φυτών σε συνδυασμό με τη μείωση του ριζικού συστήματος, ώστε να μειώνεται ο λόγος μήκος ρίζας / βάρος βλαστού, έκανε

δυσμενέστερες τις επιπτώσεις της υδατική καταπόνησης στο στάδιο της άνθισης με αποτέλεσμα να περιοριστεί η παραγωγή (Weber et al., 1993).

### **1.8.3.3 Επίδραση στις αβιοτικές και βιοτικές καταπονήσεις**

Ο αποικισμός από AMF μπορεί να επηρεάσει την απόκριση των φυτών σε διάφορους τύπους καταπονήσεων. Τα αποικισμένα φυτά ανταποκρίνονται καλύτερα στην υδατική καταπόνηση σε σχέση με τα μη αποικισμένα. Ο αποικισμός μπορεί να αυξήσει τη διαπνοή και τη στοματική αγωγιμότητα κατά τη διάρκεια αλλά και μετά το πέρας της καταπόνησης (Safir et al., 1972; Fitter, 1988). Οι διαφορές στην θρέψη με P μπορούν να είναι υπεύθυνες γι' αυτήν την επίδραση, καθώς τα τροφοπενικά σε P φυτά έχουν μικρότερη στοματική αγωγιμότητα (Koide, 1985). Η καλύτερη απορρόφηση νερού μπορεί να οφείλεται στην αυξημένη διακλάδωση των ριζών που προκαλεί ο αποικισμός (Allen et al., 1981). Επιπλέον, η βελτίωση της δομής του εδάφους μέσω ένωσης των μικροσυσσωμαμάτων σε σταθερά μακροσυσσωματώματα (Davies et al., 1992) από τις υφές του μύκητα και την παραγωγή εξωκυτταρικών πολυσακχαριτών μπορεί να αυξήσει τη ροή του νερού προς τη ρίζα (Tisdall, 1991; Degens, 1997). Η γλομαλίνη, μία γλυκοπρωτεΐνη που σχετίζεται με τις υφές των AMF μπορεί επίσης να αυξάνει τη σταθερότητα των συσσωματωμάτων, αλλά η σημασία της πλέον αμφισβητείται (Wright and Jawson, 2001; Smith and Read, 2008).

Έχει παρατηρηθεί μεταφορά νερού μέσω των εξωτερικών υφών των AMF, προς τον ξενιστή (Faber et al., 1991). Όμως, καθώς οι υφές έχουν η μικρής διάμετρο (~1-12μm), η συνεισφορά των υφών στη μεταφορά του νερού προς τον ξενιστή είναι μικρή (Kothari et al., 1990b). Υπό συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης του φυτού-ξενιστή, δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταφορά του νερού από τις υφές προς τον ξενιστή. Όμως, οι

υφές ήταν υπεύθυνες για την απορρόφηση του 49% του συνολικού P και 35% του συνολικού N (George et al., 1992a). Επομένως, η επίδραση της ενδομυκόρριζας στην απορρόφηση του νερού είναι περίπλοκη και ίσως οι AMF συνεισφέρουν μέσω βελτίωσης της θρέψης του ξενιστή και βελτίωση της δομής του εδάφους. Από την άλλη μεριά, εάν η συμβίωση ευνοήσει την ανάπτυξη του φυτού-ξενιστή, όπως αύξηση της φυλλικής επιφάνειας άρα και αύξηση της διαπνοής, τότε είναι απαραίτητη περισσότερη ποσότητα νερού για να καλυφθούν οι ανάγκες και έτσι τα φυτά υποφέρουν περισσότερο από την υδατική καταπόνηση σε σχέση τα μη αποικισμένα φυτά. Υπάρχουν διάφορες αναφορές, σύμφωνα με τις οποίες ο αποικισμός από AMF τροποποιεί την έκφραση των γονιδίων και τη δραστηριότητα των διαύλων νερού (ακουαπορίνες) επηρεάζοντας την υδραυλική αγωγιμότητα των ριζών (Maurel et al., 2008).

Επιπλέον, υπάρχουν αρκετές αναφορές σχετικά με την επίδραση των AMF στη ανθεκτικότητα του ξενιστή στα βαρέα μέταλλα. Αρκετοί ερευνητές αναφέρουν ότι οι AMF εμποδίζουν την συσσώρευση βαρέων μετάλλων στον βλαστό των φυτών, ενώ κάποιιοι έχουν παρατηρήσει το αντίθετο. Η τροφοδοσία με P και η αυξημένη ανάπτυξη του ξενιστή σε ένα έδαφος με χαμηλή ποσότητα P, μπορεί να μειώσει τις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων ή του Al, λόγω αραίωσης. Ακόμα, όπως προαναφέρθηκε οι AMF μειώνουν την πρόσληψη Mn, ώστε να αποφεύγεται η τοξικότητα. Έχει παρατηρηθεί αύξηση της ανοχής στον Cu στα αποικισμένα φυτά (Gildon and Tinker, 1983a, b), πιθανόν λόγω της ακινητοποίησης του στο ενδοριζικό μυκήλιο (Li et al., 1991b). Η ακινητοποίηση των βαρέων μετάλλων από υφές των AMF συμβαίνει μέσω μηχανισμών προσρόφησης σε ουσίες όπως η χιτίνη, η οποία χαρακτηρίζεται από την ικανότητα να προσροφά μέταλλα (Zhou 1999; Garg and Aggarwal 2012), ή οι γλυκοπρωτεΐνες, όπως η γλομαλίνη, η οποία παράγεται από τις υφές και έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τοξικά μέταλλα όπως

Cu, Cd, Mn και Pb (Gonzalez et al. 2004; Sharma and Sharma 2013). Επομένως, αφού τα βαρέα μέταλλα εισέλθουν στις υφές, τότε ακινητοποιούνται και δεν συσσωρεύονται στο υπέργειο τμήμα των φυτών (Leyval et al. 1997; Hai-Hong et al. 2013). Όσον αφορά την απορρόφηση Pb τα αποικισμένα φυτά απορροφούν μεγαλύτερες ποσότητες σε σχέση με τα μη αποικισμένα. Οι AMF μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα βαρέα μέταλλα καθιστώντας τα διαθέσιμα, μέσω έκκρισης μεταβολιτών (π.χ. σιδηροφόρα) (Fomina et al. 2005; Rajkumar et al. 2012). Αντίθετα, οι Ti et al. (2005) αναφέρουν ότι οι AMF μπορούν να προστατεύσουν τον ξενιστή από τοξικότητα Cu, Mn και Pb μεταβάλλοντας (άμεσα ή έμμεσα μέσω μεταβολών του εδαφικού αερισμού και των πληθυσμών ριζοσφαιρικών οργανισμών με αναγωγική δράση) την οξειδωτική βαθμίδα των μετάλλων ώστε να μην είναι βιοδιαθέσιμα. Στο εσωτερικό των κυττάρων των AMF υπάρχουν ελεύθερες ομάδες όπως αμινομάδες, καρβοξύλια, υδροξύλια κ.ά., στις οποίες μπορούν να προσροφηθούν μέταλλα και να ακινητοποιηθούν (Gonzalez et al., 2004). Οι Heggo et al. (1990) αναφέρουν ότι η επίδραση των AMF στην απορρόφηση βαρέων μετάλλων από τον ξενιστή εξαρτάται από τις αρχικές συγκεντρώσεις του εδάφους σε βαρέα μέταλλα. Έτσι, τα αποικισμένα φυτά σόγιας που αναπτύχθηκαν σε εδάφη με υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων χαρακτηρίζονταν από μικρότερες συγκεντρώσεις Zn, Cd, και Mn στα φύλλα. Αντίθετα, τα αποικισμένα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε εδάφη με χαμηλές συγκεντρώσεις είχαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των αντίστοιχων στοιχείων στα φύλλα.

Υπάρχουν πολλές αναφορές σχετικά με τον περιορισμό εδαφογενών ασθενειών σε αποικισμένα από AMF φυτά. Για παράδειγμα, τα αποικισμένα φυτά αύξησαν την ανθεκτικότητα της τομάτας στο *Fusarium oxysporum* (Dehne and Schönbeck, 1979a) και στο *Pseudomonas syringae* (Garcia Garrido and Ocampo, 1989), της καζουαρίνας στο *Fusarium vesicubesum* (Gunjal and

Paril, 1992) και στο κριθάρι στο *Gaeumanomyces graminis var. tritici* (Khaosaad et al., 2007). Η ευνοϊκή επίδραση των AMF είναι εμφανής ακόμα και σε περιπτώσεις παθογόνων και εχθρών ελάσσονος σημασίας που μπορούν να περιορίσουν την ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των ριζών. Για παράδειγμα, η επαναφύτευση φυτών αμπέλου ευνοήθηκε από τον αποικισμό με AMF. Επομένως, ο αποικισμός των καλλιεργούμενων φυτών με AMF μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική λύση αντί της αποστείρωσης σε ένα προβληματικό χωράφι.

Οι κύριοι μηχανισμοί περιορισμού της ασθένειας είναι (i) αύξηση του ανταγωνισμού στα σημεία του αποικισμού (Perrin, 1990), (ii) επαγωγή αμυντικών μηχανισμών του φυτού από τον αποικισμό (Khaosaad et al., 2007), (iii) βελτιωμένη θρέψη του ξενιστή με αποτέλεσμα να ενισχύεται η αυξημένη ανάπτυξη του και να αντισταθμίζει τη ζημιά από τα παθογόνα (Dehne und Schönbeck, 1979b; Smith and Read, 2008). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί άμεση παρεμπόδιση από τους AMF στα παθογόνα (Kore and Fortin, 1990), αλλά φαίνεται ότι η επίδραση αυτή αποτελεί μάλλον εξαίρεση και όχι τον κανόνα. Ο αποικισμός από ενδομυκόρριζες μπορεί να επάγει και διασυστηματική αντοχή, με αποτέλεσμα ακόμα και οι ρίζες που δεν αποικίζονται να είναι ανθεκτικές στις προσβολές από παθογόνα. Όμως σε φυτά κριθαριού η βελτιωμένη ανθεκτικότητα στο παθογόνο ρίζας *Gaeumanomyces graminis var. tritici* αποδόθηκε στην καλύτερη θρέψη με P, καθώς το σαλικυλικό οξύ, μία ένωση που συμμετέχει ως σήμα στη απόκτηση διασυστηματικής αντοχής, δεν επηρεάστηκε από τους AMF (Khaosaad et al., 2007).

## **1.9. Στόχος**

Στόχος της παρούσα εργασίας είναι η μελέτη της απόκρισης εμβολιασμένων με AMF φυτών τομάτας σε συνθήκες υδατικής

καταπόνησης. Στο στάδιο του 4ου πραγματικού φύλλου εμβολιασμένα και μη εμβολιασμένα φυτά υποβλήθηκαν για 4 εβδομάδες σε ελεγχόμενη άρδευση (70% και 30% της μέγιστης υδατοχωρητικότητας του υποστρώματος), ενώ κατά τη διάρκεια και μέχρι το τέλος του πειράματος τα φυτά των διαφόρων επεμβάσεων αξιολογήθηκαν και συγκρίθηκαν ως προς την απόκριση τους στην ξηρασία.



## 2. Υλικά και μέθοδοι

### 2.1. Γενικά

Το πείραμα ξεκίνησε στις 01/06/2019 και ολοκληρώθηκε στις 09/08/2019. Η σπορά, μεταφύτευση, καλλιεργητικές φροντίδες και δειγματοληψία των φυτών πραγματοποιήθηκαν στο θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Ανθοκομίας και Αρχιτεκτονικής (37°58'57.8"N 23°42'17.4"E) και οι μορφολογικές, φυσιολογικές μετρήσεις και οι αναλύσεις θρεπτικών στοιχείων στο Εργαστήριο Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας.

### 2.2 Φυτικό Υλικό

Για την διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας και συγκεκριμένα το υβρίδιο “EBIA F<sub>1</sub>”. Αυτό το αυτοκλαδεύόμενο υβρίδιο χρησιμοποιείται για καλλιέργειες υπαίθρου και δίνει δυνατά και εύρωστα μεγαλόκαρπα φυτά. Παρουσιάζει ανοχή σε διάφορα παθογόνα όπως τα *Fusarium*, *Verticillium*, *Stemphylium* και ToMV (Ιός του μωσαϊκού της τομάτας).

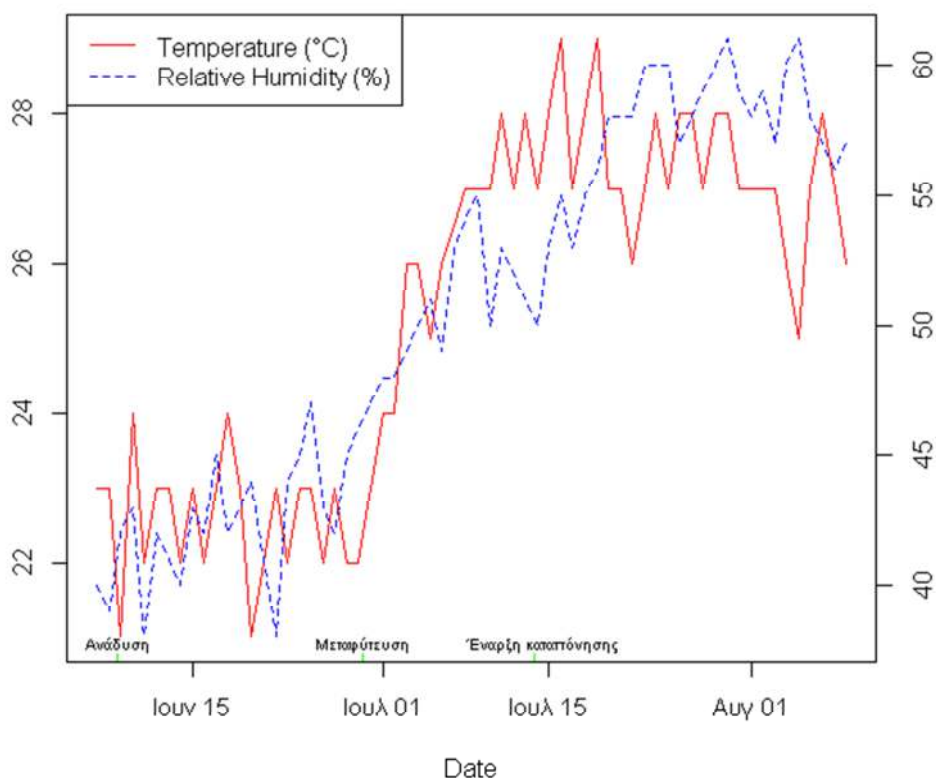
### 2.3 Βιολογικό υλικό

Στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν δύο είδη ενδομυκορριζικών μυκήτων. Ο πρώτος είναι ο AMF20 και είναι ένα στέλεχος του είδους *Funeliformis mosseae* και προέρχεται από προηγούμενες απομονώσεις από εδαφικά δείγματα πολλών περιοχών της Ελλάδας. Ο δεύτερος είναι το στέλεχος DAOM 197198 του είδους *Rhizophagus irregularis* που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως από την ερευνητική κοινότητα και χρησιμοποιήθηκε υπό τη μορφή τους σκευάσματος Agronutrition® της εταιρίας Connectis.

## 2.4 Πειραματική διαδικασία

### 2.4.1 Σπορά

Η σπορά πραγματοποιήθηκε στις 01/06/2019 σε δίσκους σποράς τύπου “Tray”. Το φυτόχωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το «KLASMANN-TS 2». Οι συνθήκες του θερμοκηπίου καταγράφονταν από έναν ψηφιακό μετρητή θερμοκρασίας και υγρασίας (Διάγραμμα 2.1). Στο θερμοκήπιο υπήρχε εγκατεστημένο σύστημα ψύξης με ανεμιστήρα μέσω του οποίου εξασφαλιζόταν θερμοκρασία κάτω των 30°C για την επιτυχή ανάπτυξη των φυτών. Μέχρι να βλαστήσουν οι σπόροι γινόταν όποτε κρινόταν απαραίτητο άρδευση με σκοπό τη διατήρηση της απαραίτητης υγρασίας. Η ανάδυση των φυταρίων πραγματοποιήθηκε μετά από περίπου μία εβδομάδα. Τα αρτίβλαστα φυτάρια δεχόντουσαν νερό ανά τακτικά χρονικά διαστήματα. Πάνω από τους δίσκους σποράς είχαν τοποθετηθεί κίτρινες και μπλε κολλητικές παγίδες 25 x 10cm (Bug-Scan) με σκοπό τον εντοπισμό και αντιμετώπιση των δυνητικά υπαρκτών



**Διάγραμμα 2.1.** Συνθήκες θερμοκρασίας και σχετική υγρασίας στο θερμοκήπιο καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

εντόμων. Όταν τα φυτά αναπτύχθηκαν οι παγίδες ανυψώνονταν με σκοπό να βρίσκονται λίγο πιο πάνω από την αναπτυσσόμενη κορυφή.

#### **2.4.2 Μεταφύτευση**

Υπό αυτές τις συνθήκες τα φυτά είχαν αναπτύξει 2 πραγματικά φύλλα μέχρι τις 18/06/19. Στις 28/06/19 όταν τα φυτά είχαν 3 πραγματικά φύλλα πραγματοποιήθηκε η μεταφύτευση σε γλάστρες χωρητικότητας 1,4 L σε υπόστρωμα άμμου: βερμικουλίτη 1:1 κατ όγκο. Επιλέχθηκαν 30 ομοιόμορφα και εύρωστα φυτά. Τα φυτά χωρίστηκαν σε 2 ομάδες, όπου η κάθε ομάδα αντιστοιχούσε σε κάθε ένα από τα δυο διαφορετικά επίπεδα υγρασίας του υποστρώματος. Σε κάθε ομάδα, 5 φυτά εμβολιάστηκαν με AMF20, 5 με DAOM και 5 αποτελούσαν τον μάρτυρα και δεν εμβολιάστηκαν.

Το εμβόλιο του AMF20 που χρησιμοποιήθηκε προέκυψε από προηγούμενη ανακαλλιέργεια, ενώ το εμβόλιο του DAOM προέκυψε από την ανάμειξη μικρής ποσότητας του σκευάσματος με υπόστρωμα άμμου: βερμικουλίτη 1:1. Για τον εμβολιασμό των φυταρίων με AMF χρησιμοποιήθηκαν 2 περίπου κουταλιές από το εμβόλιο του επιθυμητού μύκητα ανά γλάστρα, ποσότητα που αντιστοιχεί σε περίπου 100 σπόρους μαζί τις υφές. Εκτός από την άρδευση, κατά την ανάπτυξη των φυτών και μέχρι το τέλος του πειράματος εφαρμόστηκε λίπανση με διάλυμα Hoagland (Hoagland and Arnon, 1950), το οποίο ήταν ελλειμματικό σε φώσφορο ώστε να εξασφαλιστεί ο αποικισμός τους με AMF. Μέχρι το στάδιο των 2-3 φύλλων γινόταν εβδομαδιαία εφαρμογή 10 mL διαλύματος Hoagland ενώ μετά τη μεταφύτευση όπου τα φυτά είχαν αναπτυχθεί και βρίσκονταν στο στάδιο 4-5 φύλλων γινόταν σε κάθε φυτό εφαρμογή 100 mL διαλύματος Hoagland εβδομαδιαία.

### 2.4.3 Υδατική καταπόνηση

Ο υπολογισμός της ποσότητας του νερού που απαιτείται ώστε να επιτευχθεί η υδατοικανότητα σε μία δεδομένη ποσότητα του υποστρώματος έγινε μέσω της μεθόδου στήλης σε ισορροπία με σταθερή στάθμη ελεύθερου νερού (Πουλοβασίλης, 2010) και υπολογίστηκε 25%. Η ποσότητα αυτή αντιστοιχεί περίπου στο 70% της υδατοχωρητικότητας του υποστρώματος. Τα φυτά αρδεύονταν κανονικά μέχρι να φτάσουν στο στάδιο του 4<sup>ου</sup> πραγματικού φύλλου. Μέχρις τις 11/07/2019 εφαρμοζόταν άρδευση μέχρι την υδατοικανότητα. Μετά από 2 μέρες ξεκίνησε η εφαρμογή της υδατικής καταπόνησης. Η μία ομάδα φυτών αρδεύονταν ως προς το 70% της μέγιστης υδατοχωρητικότητας ενώ η άλλη ομάδα ως προς το 30% της μέγιστης υδατοχωρητικότητας. Μετά από 7 περίπου μέρες από την έναρξη της καταπόνησης παρουσιάστηκαν συμπτώματα έλλειψης νερού στα φυτά. Στον μάρτυρα όπως είναι λογικό με το πέρασμα του χρόνου τα συμπτώματα γίνονταν πιο έντονα. Κατά τη διάρκεια ανάπτυξης των φυτών πραγματοποιήθηκαν εκτός από μορφολογικές μετρήσεις και φυσιολογικές μετρήσεις. Η άρδευση εφαρμοζόταν ανά 2-3 μέρες μέχρι την ολοκλήρωση του πειράματος στις 09/08/2019. Αφού πέρασε περίπου 1 μήνας υδατικής καταπόνησης πραγματοποιήθηκε η τελική δειγματοληψία. Τα φυτά αφαιρέθηκαν από τις γλάστρες και με νερό ξεπλύθηκε προσεκτικά το χώμα από τις ρίζες. Πραγματοποιήθηκαν μορφολογικές και φυσιολογικές μετρήσεις στα υπέργεια και υπόγεια όργανα των φυτών. Μετρήθηκε το νωπό βάρος το υπέργειο και υπόγειο τμήμα των φυτών με ζυγαριά ακριβείας. Στη συνέχεια βλαστοί και ρίζες τοποθετήθηκαν στο φούρνο για 24 ώρες ώστε να υπολογιστεί το ξηρό βάρος τους. Τα δείγματα που προορίζονταν για φυτοανάλυση, αφού καθαρίστηκαν προσεκτικά τοποθετήθηκαν σε φούρνο στους 65°C για 48 ώρες, ενώ οι ρίζες στις οποίες θα γινόταν βαφή ώστε να υπολογιστεί ο αποικισμός από AMF τοποθετήθηκαν στο ψυγείο στο ψυγείο στους 4°C.

## **2.5 Μέτρηση μορφολογικών και φυσιολογικών παραμέτρων**

### **2.5.1. Μορφολογικές μετρήσεις**

Κάθε εβδομάδα γινόταν μέτρηση του ύψους των φυτών και στο τέλος του πειράματος προσδιορίστηκε το νωπό βάρος και ξηρό βάρος των υπόγειων και υπέργειων οργάνων των φυτών. Με τα δεδομένα του ύψους των φυτών υπολογίστηκε το Relative Growth Rate(%) με την εξής εξίσωση:  $RGR(\%) = ([T_2 - T_1/t] * 1/T_2) * 100$  όπου  $T_1$  και  $T_2$  αποτελούν το αρχικό και τελικό ύψος, αντίστοιχα, σε ένα χρονικό διάστημα  $t$ . Η φυλλική επιφάνεια προσδιορίστηκε μέσω προγράμματος Gimp (GIMP Development Team, 2019) το οποίο αποτελεί πρόγραμμα επεξεργασίας εικόνας σε ηλεκτρονικό υπολογιστή.

### **2.5.2. Relative Water Content (%)**

Ο RWC % είναι ένας δείκτης που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της υδατικής κατάστασης του φυτού όταν αυτό υποφέρει λόγω της υδατικής καταπόνησης (Barr and Weatherley, 1962). Ορίζεται ως το περιεχόμενο σε νερό ενός φυτού ως ποσοστού εκείνου σε κατάσταση πλήρους σπαργής. Εξαρτάται από την υγρασία του εδάφους, την ικανότητα απορρόφησης νερού από τη ρίζα και την υδραυλική αγωγιμότητα των ιστών του βλαστού και ρίζας.

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε 2 φορές κατά τη διάρκεια του πειράματος, στις 25/07/2019 και στις 01/08/2019, ώστε να παρατηρηθεί χρονικά η εξέλιξη της καταπόνησης. Από κάθε φυτό επιλέχθηκε ένα φυλλάριο. Τα φυλλάρια που επιλέχθηκαν ήταν πλήρως ανεπτυγμένα χωρίς συμπτώματα. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 30 φύλλα.

Ο υπολογισμός της μεταβλητής πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τους Sade et al. (2015) με τα παρακάτω βήματα:

- 1) Πραγματοποιήθηκε κοπή των φυλλαρίων μαζί με τον μίσχο και μετρήθηκε το βάρος του νωπού φυτικού ιστού (FW).
- 2) Τα φυλλάρια τοποθετήθηκαν σε μικρές σακούλες στις οποίες είχαν τοποθετηθεί 2-3 ml διαλύματος 5mM CaCl<sub>2</sub> με τέτοιο τρόπο ώστε ο μίσχος των φυλλαρίων να βρίσκεται μέσα στο διάλυμα. Παρέμειναν για 24 ώρες με σκοπό να κορεστούν πλήρως με νερό.
- 3) Υπολογισμός βάρους των κορεσμένων φυτικών δειγμάτων (TW).
- 4) Εισαγωγή φυλλαρίων σε φούρνο (60<sup>0</sup>C) για 3 μέρες.
- 5) Μέτρηση ξηρού βάρους των δειγμάτων (DW).
- 6) Υπολογισμός RWC%.

$$RWC(\%) = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

### 2.5.3. Φωτοσυνθετική δραστηριότητα φύλλων

Οι φυσιολογικές παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν ο καθαρός ρυθμός της φωτοσύνθεσης (net photosynthetic rate), ο ρυθμός διαπνοής (transpiration rate), η συγκέντρωση CO<sub>2</sub> στους μεσοκυττάριους χώρους (intercellular CO<sub>2</sub> concentration) και η αγωγιμότητα των στομάτων των φύλλων (stomatal conductance). Οι μετρήσεις έγιναν με τη φορητή συσκευή μέτρησης της φωτοσύνθεσης Li-COR-6400 (Li-COR, Lincoln, USA), χρησιμοποιώντας πλήρως αναπτυγμένα φύλλα. Τα βασικά στοιχεία της συσκευής μέτρησης είναι α) οι αναλυτές αερίων CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>O (infrared gas analyzers-IRGAs), β) ο θάλαμος εισαγωγής του φύλλου (leaf chamber) με τα διάφορα αισθητήρια (sensors) θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτεινής ακτινοβολίας και γ) το σύστημα καταγραφής (console system) για την καταγραφή και επεξεργασία των δεδομένων. Η μέθοδος στηρίζεται σε ποσοτικές

μετρήσεις ανταλλαγής αερίων στη ζώνη επαφής των φύλλων και της ατμόσφαιρας. Σημειώνεται ότι, κατά τη μέτρηση η ένταση του φωτισμού και η συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> εντός του θαλάμου μέτρησης ήταν καθορισμένες στα 1200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> και 380 mg l<sup>-1</sup>, αντίστοιχα.

#### **2.5.4. Φυτοανάλυση**

Η προετοιμασία των δειγμάτων που προορίζονταν για φυτοανάλυση έγινε σύμφωνα με τους Mills and Jones (1996). Μετά την ξήρανση των δειγμάτων ακολούθησε λειοτρίβηση (άλεση) τους με ειδικό μύλο άλεσης. Στη συνέχεια, μία ποσότητα 0,5 g φυτικού δείγματος τοποθετήθηκε σε κάψες πορσελάνης με σκοπό την ξηρή καύση σε φούρνο, στους 550<sup>0</sup>C για τέσσερις ώρες, ώστε να οξειδωθεί ο οργανική ύλη και να γίνει παραλαβή τέφρας. Στην τέφρα προστέθηκε HNO<sub>3</sub> 65%, ώστε να επιβοηθηθεί η οξείδωση και όλα τα στοιχεία να βρίσκονται σε διαλυτή μορφή και ακολούθησε προσδιορισμός των στοιχείων με την κατάλληλη μέθοδο.

Η συγκέντρωση των ιόντων K<sup>+</sup> και Na<sup>+</sup> του εκχυλίσματος προσδιορίστηκαν στο φλογοφωτόμετρο και τα θρεπτικά Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> στην ατομική απορρόφηση. Η συγκέντρωση του φωσφόρου στο εκχύλισμα πραγματοποιήθηκε με ανάπτυξη χρώματος κατά Murphy-Riley (Murphy and Riley, 1962).

#### **2.5.5 Υπολογισμός αποικισμού των AMF στο ριζικό σύστημα του φυτού**

Για να εκτιμηθεί ο αποικισμός της ρίζας από τα στελέχη AMF πρέπει να γίνει χρώση των ριζών και παρατήρηση τους στο μικροσκόπιο με σκοπό την εύρεση δομών του μύκητα. Η χρώση βασίζεται στους Philips and Haymann (1970). Χρησιμοποιείται 10% KOH, 2% HCl και το αντιδραστήριο Tryphan Blue και γίνεται χρήση υδατολούτρου 80-90<sup>0</sup>C. Στη συνέχεια, οι χρωματισμένες ρίζες τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρους και

υπολογίζεται ο αποικισμός μετρώντας τον αριθμό των κομμένων ριζών που παρουσιάζουν αποικισμό, προς τον συνολικό αριθμό κομμένων ριζών που παρατηρήθηκε, εκφρασμένο επί τοις %. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στον Giovannetti και Mosse (1980).

## **2.6. Εκτίμηση pH (ενεργότητα ιόντων $H^+$ ) και ηλεκτρικής αγωγιμότητας**

Για τον προσδιορισμό του pH και της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του υποστρώματος χρησιμοποιήθηκε αναλογία δείγματος: ηλεκτρολύτη, : 1:2 w/v. Για τον προσδιορισμό του pH χρησιμοποιήθηκε ως ηλεκτρολύτης διάλυμα 0.01 M  $CaCl_2$  (Hendershot et al., 2008) ενώ για τον προσδιορισμό της ηλεκτρικής αγωγιμότητας 0.01 M  $KCl$  (Rhoades, 1996). Το pH υπολογίστηκε ηλεκτρομετρικά με τη χρήση ηλεκτροδίου και η ηλεκτρική αγωγιμότητα με αγωγιμόμετρο.

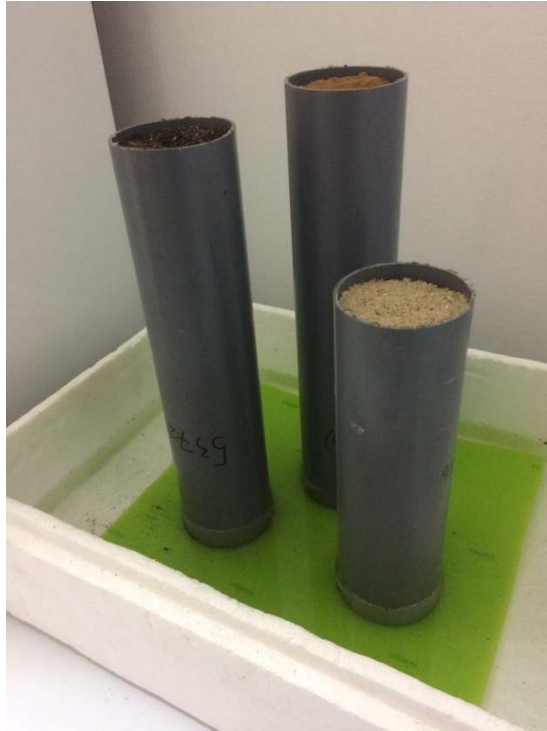
## **2.7. Στατιστική Ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση των μετρήσεων πραγματοποιήθηκε με ανάλυση της διακύμανσης (Two-way ANOVA) με χρήση του προγράμματος R statistics (R Core Team (2013)). Στο διπαραγοντικό αυτό πείραμα, ο πρώτος παράγοντας είναι η ύπαρξη μικροοργανισμών όπου έχει 3 επίπεδα (0, AMF\_20, DAOM) και ο δεύτερος παράγοντας είναι η υδατική καταπόνησης με 2 επίπεδα (30% WHC, 70% WHC). Πραγματοποιήθηκε έλεγχος ύπαρξης αλληλεπίδρασης μεταξύ των επεμβάσεων. Οι συγκρίσεις των μέσων όρων πραγματοποιήθηκαν μέσω του Duncan's Multiple Range Test για διάστημα εμπιστοσύνης 95% ( $\alpha = 0.05$ ) και έγιναν με το πακέτο agricolae του προγράμματος R (Mendiburu, 2015). Τα διαγράμματα των πειραματικών αποτελεσμάτων κατασκευάστηκαν με χρήση της βιβλιοθήκης ggplot2 (Wickham, 2016) του προγράμματος R.

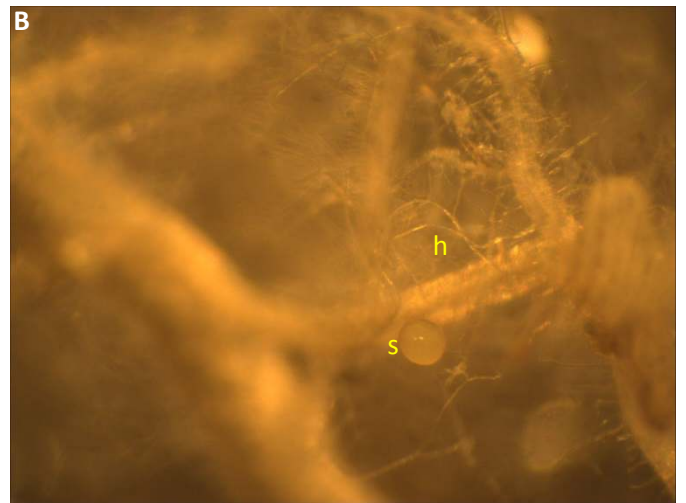
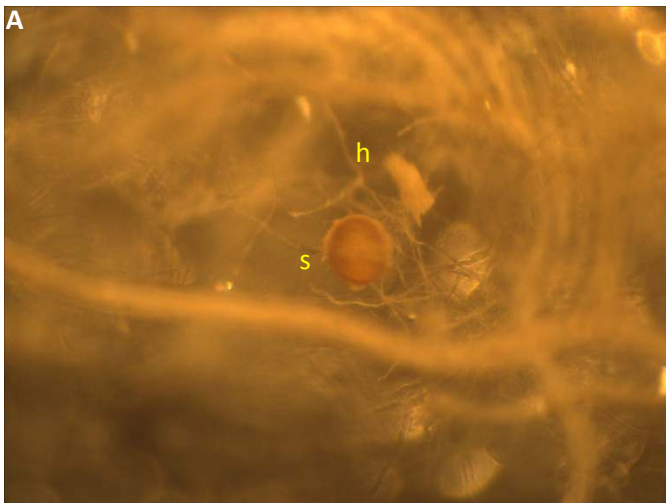


Επιπλέον, προσδιορίστηκε ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης όλων των μεγεθών με τη μέθοδο “Spearman” και πραγματοποιήθηκε στατιστικός έλεγχος σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Στη συνέχεια συνδυάστηκαν όλες στατιστικά σημαντικά συσχετιζόμενες μεταβλητές ώστε να προκύψει ένας σύνθετος δείκτης μέσω του οποίου εκφράζεται η απόκριση των φυτών. Επειδή κάθε μέγεθος που προσδιορίστηκε περιγράφει διαφορετικό χαρακτηριστικό των φυτών, είναι λογικό κάθε παράμετρος να έχει τη δικιά της κλίμακα. Για να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα έγινε κανονικοποίηση των δεδομένων ώστε να μπορούν να συγκριθούν. Για όλες τις τιμές των μεταβλητών προσδιορίστηκε το πηλίκο της απόκλισης κάθε τιμής από το μέσο όρο προς την τυπική απόκλιση (z-score values). Στη συνέχεια υπολογίστηκε ο μέσος όρος όλων των κανονικοποιημένων τιμών της κάθε μεταβλητής και προέκυψε ο Σύνθετος Δείκτης, ο οποίος ακολουθεί την κανονική κατανομή (Kolmogorov-Smirnov test,  $P = 0.09$ ) και υπολογίστηκε η εξίσωση παλινδρόμησης που περιγράφει τη σχέση του αποικισμού με το σύνθετο δείκτη.

Επίσης, για την ανάλυση των όλων των δεδομένων εφαρμόστηκε μία από τις μεθόδους πολυμεταβλητής ανάλυσης, η Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA). Αποτελεί μία στατιστική μέθοδο μέσω της οποίας μετασχηματίζονται γραμμικά ένα σύνολο μεταβλητών σε ένα σύνολο νέων μη συσχετιζόμενων μεταβλητών. Οι νέες μεταβλητές που προκύπτουν ονομάζονται κύριες συνιστώσες (principal components) και μόνο ένα μέρος αυτών χρησιμοποιείται για την εξαγωγή συμπεράσματος. Η PCA πραγματοποιήθηκε με τα πακέτα FactoMineR (Josse and Husson, 2008) και factoextra (Kassambara and Mundt, 2017) του προγράμματος R.



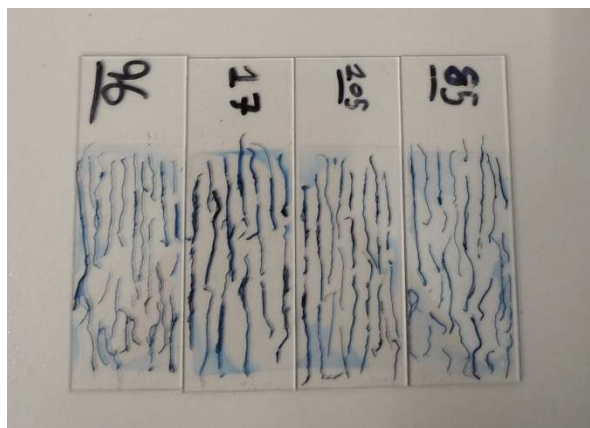
**Εικόνα 2.1.** Υπολογισμός υδατοχωρητικότητας (water holding capacity) υποστρώματος.



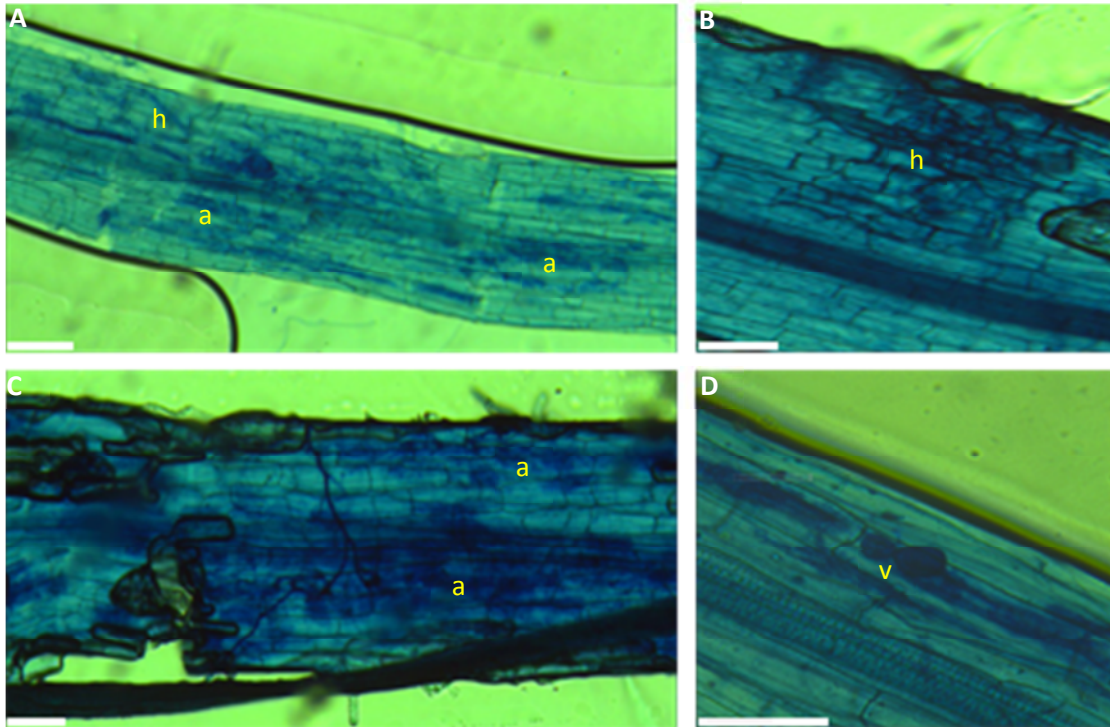
**Εικόνα 2.2.** (A) (B) Παρατήρηση σπορίων και υφών του AMF20 (*Funeliformis mosseae*) σε εδαφικό διάλυμα, στο στερεοσκόπιο (Εργαστήριο Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας, Γ.Π.Α., 2019). (s) σπόρια, (h) υφές.



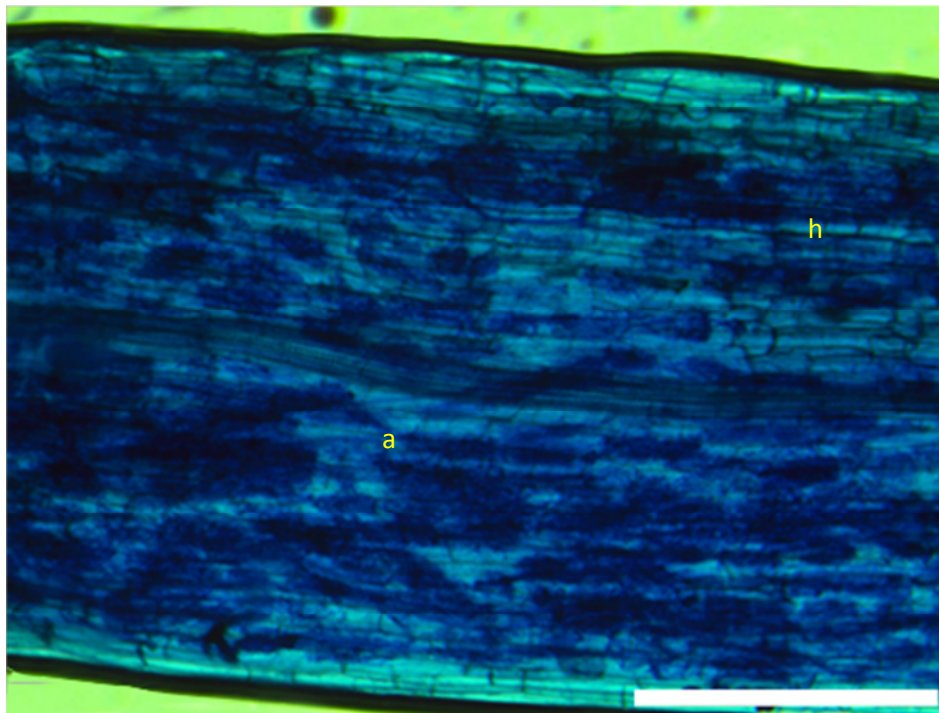
**Εικόνα 2.3.** Το σκεύασμα Agromatrition που περιέχει τον DAOM 197198.



**Εικόνα 2.4.** Αντικειμενοφόροι που φέρουν χρωματισμένες ρίζες τομάτας για μέτρηση αποικισμού από AMF



**Εικόνα 2.5.** (A) (B) (C) (D) Παρατήρηση δομών AMF σε ρίζες τομάτας σε οπτικό μικροσκόπιο (Εργαστήριο Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας, Γ.Π.Α., 2020). (a) δενδρόμορφα, (h) υφές, (v) κύστεις. **Μπάρα: 10μm.**



**Εικόνα 2.6.** Παρατήρηση έντονα αποικισμένου φυτού τομάτας, από τον AMF20, το οποίο αναπτύσσεται υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης σε οπτικό μικροσκόπιο. (Εργαστήριο Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας, Γ.Π.Α., 2020). (a) δενδρόμορφα, (h) υφές, **Μπάρα: 10μm.**



**Εικόνα 2.7.** Σπορά που πραγματοποιήθηκε στις 01/06/19.



**Εικόνα 2.8.** Φυτάρια τομάτας στο στάδιο των κοτυληδόνων (αριστερά) και στο στάδιο του πρώτου πραγματικού φύλλου (δεξιά).



Εικόνα 2.9. Φυτάρια τομάτας πριν τη μεταφύτευση.



**Εικόνα 2.10.** Μεταφύτευση φυτών τομάτας που πραγματοποιήθηκε 28/06/19.



**Εικόνα 2.11.** Υπολογισμός της Σχετικής Περιεκτικότητας σε Νερό - Relative Water Content (%). Τα φύλλα παρέμειναν 24 ώρες μέχρι να κορεστούν με το διάλυμα.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1. Μορφολογικές παρατηρήσεις

Μετά την ολοκλήρωση του πειράματος, παρατηρήθηκε ότι οι επεμβάσεις επηρέασαν σημαντικά την ανάπτυξη των φυτών. Αρχικά, η υδατική καταπόνηση είχε μειώσει σημαντικά την ανάπτυξη των μη εμβολιασμένων φυτών, καθώς τα περισσότερα ήταν καχεκτικά, χλωρωτικά με μειωμένο ύψος και αριθμό φύλλων (Εικόνα 3.1.). Ακόμα, κάποια από τα καταπονημένα – μη αποικισμένα φυτά παρουσίαζαν συμπτώματα λόγω της έλλειψης νερού. Αντίθετα, τα εμβολιασμένα από ενδομυκorrhιζες φυτά ανταποκρίθηκαν καλύτερα στην υδατική καταπόνηση, καθώς ήταν εύρωστα, ζωηρά και διατηρούσαν μεγαλύτερο αριθμό φύλλων. Όσον αφορά την περίπτωση της πλήρους άρδευσης τα αποικισμένα φυτά ήταν πιο εύρωστα σε σχέση με τα μη αποικισμένα παρουσιάζοντας μεγαλύτερη ανάπτυξη και μεγαλύτερο αριθμό φύλλων (Εικόνα 3.2).



**Εικόνα 3.1.** Φυτά τομάτας τα οποία αναπτύσσονται υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Το πρώτο φυτό είναι ο μάρτυρας και δεν είναι εμβολιασμένο με κάποιον μικροοργανισμό, το δεύτερο φυτό είναι εμβολιασμένο με AMF20 και το τρίτο με DAOM.

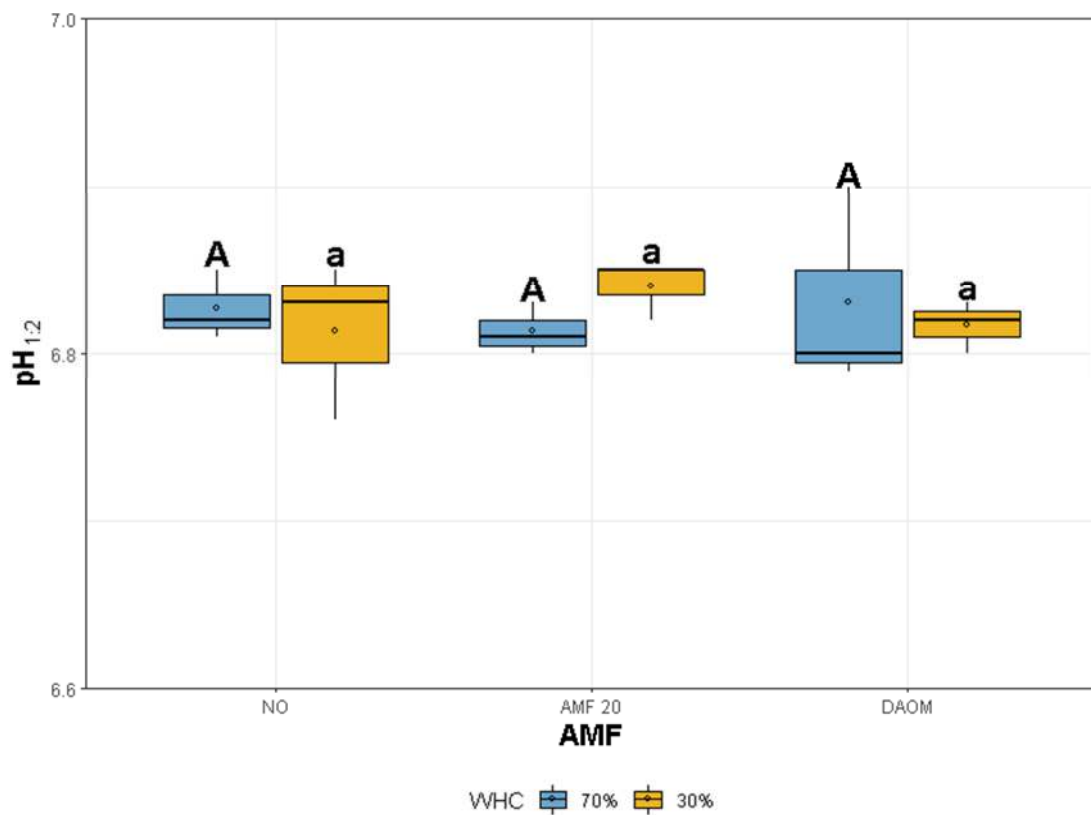




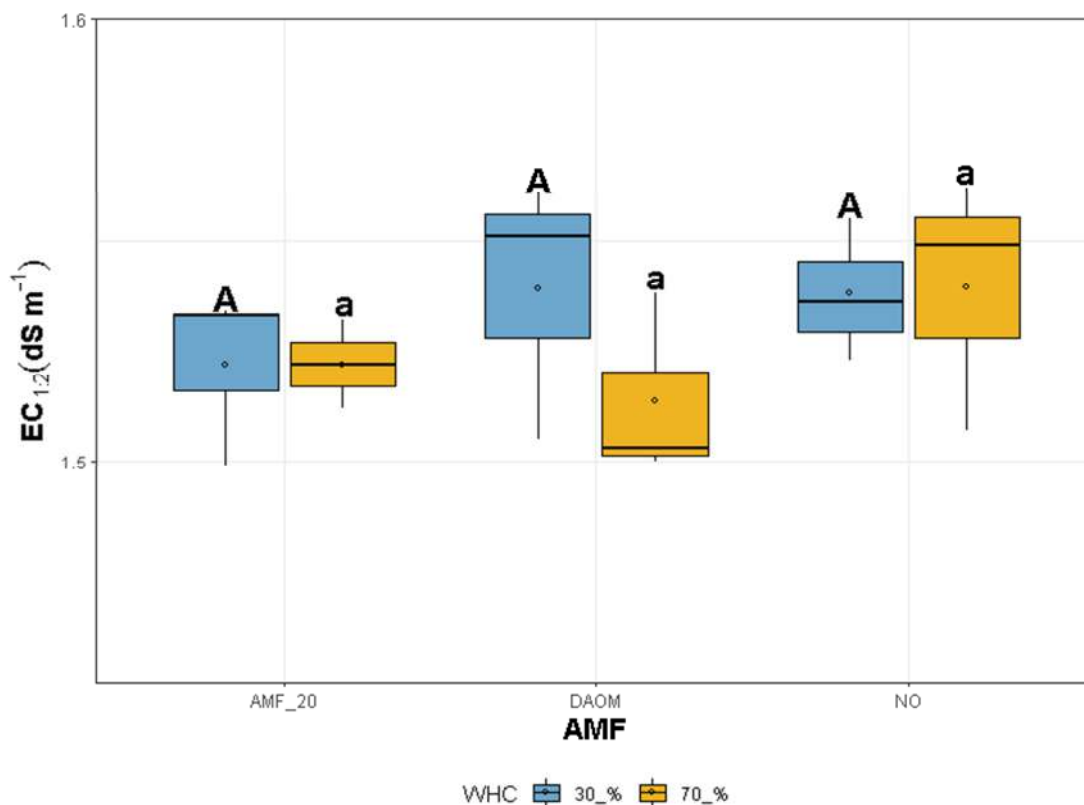
**Εικόνα 3.2.** Φυτά τομάτας τα οποία αναπτύσσονται υπό κανονικές συνθήκες άρδευσης. Το πρώτο φυτό είναι ο μάρτυρας και δεν είναι εμβολιασμένο με κάποιον μικροοργανισμό, το δεύτερο φυτό είναι εμβολιασμένο με AMF20 και το τρίτο με DAOM.

### 3.2 pH και αγωγιμότητα του υποστρώματος

Μετά την δειγματοληψία υπολογίστηκε το pH (Διάγραμμα 3.1) και η αγωγιμότητα του υποστρώματος (Διάγραμμα 3.2), άμμου βερμικουλίτη (1:1), όλων των επεμβάσεων. Το  $pH_{1:2}$  παρουσίασε εύρος 6.76 – 6.9 και μέση τιμή 6.82 ενώ η  $EC_{1:2}$  παρουσίασε εύρος 1.499 – 1.561 dS/m και μέσο όρο 1.53 dS/m. Οι συνθήκες του  $pH_{1:2}$  και της  $EC_{1:2}$  ήταν ευνοϊκές για την ανάπτυξη φυτών τομάτας καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, ενώ δεν επηρεάστηκαν καθόλου από τις επεμβάσεις.



**Διάγραμμα 3.1.** Η διακύμανση του  $pH_{1.2}$  στις επεμβάσεις του πειράματος. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.



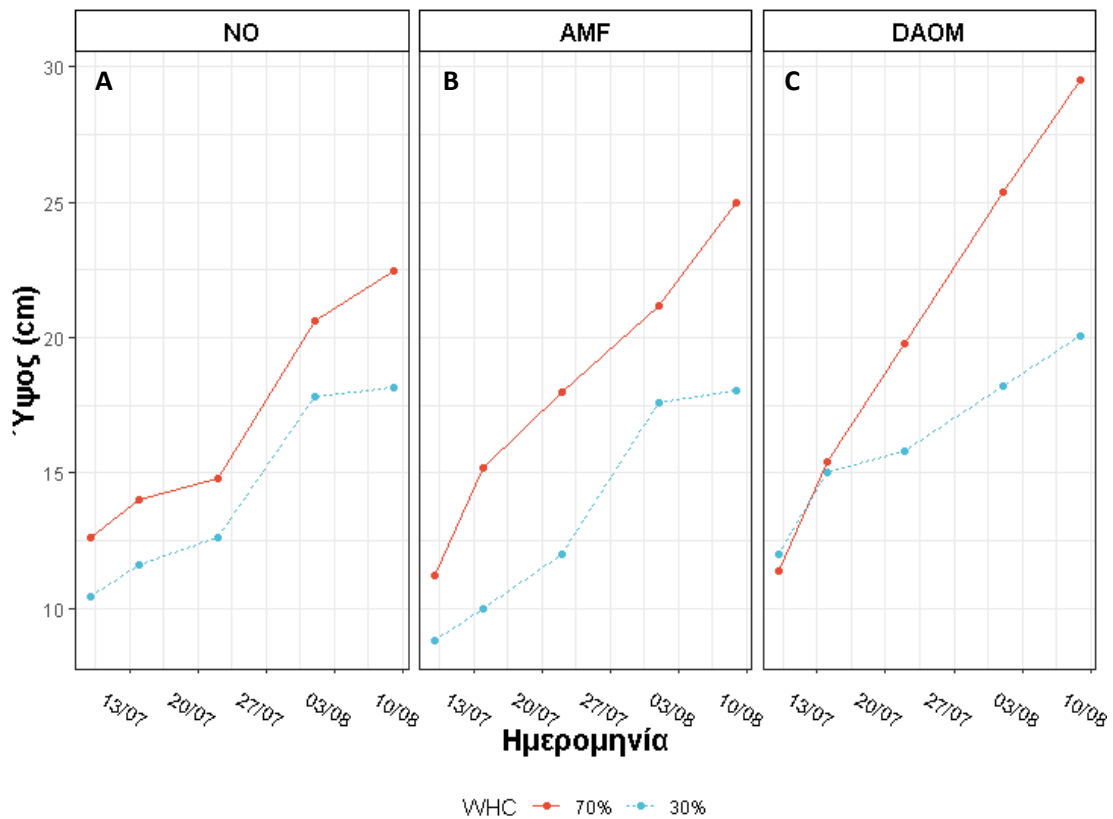
**Διάγραμμα 3.2.** Η διακύμανση της  $EC_{1:2}$  στις επεμβάσεις του πειράματος. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.3 Μορφολογικοί παράμετροι

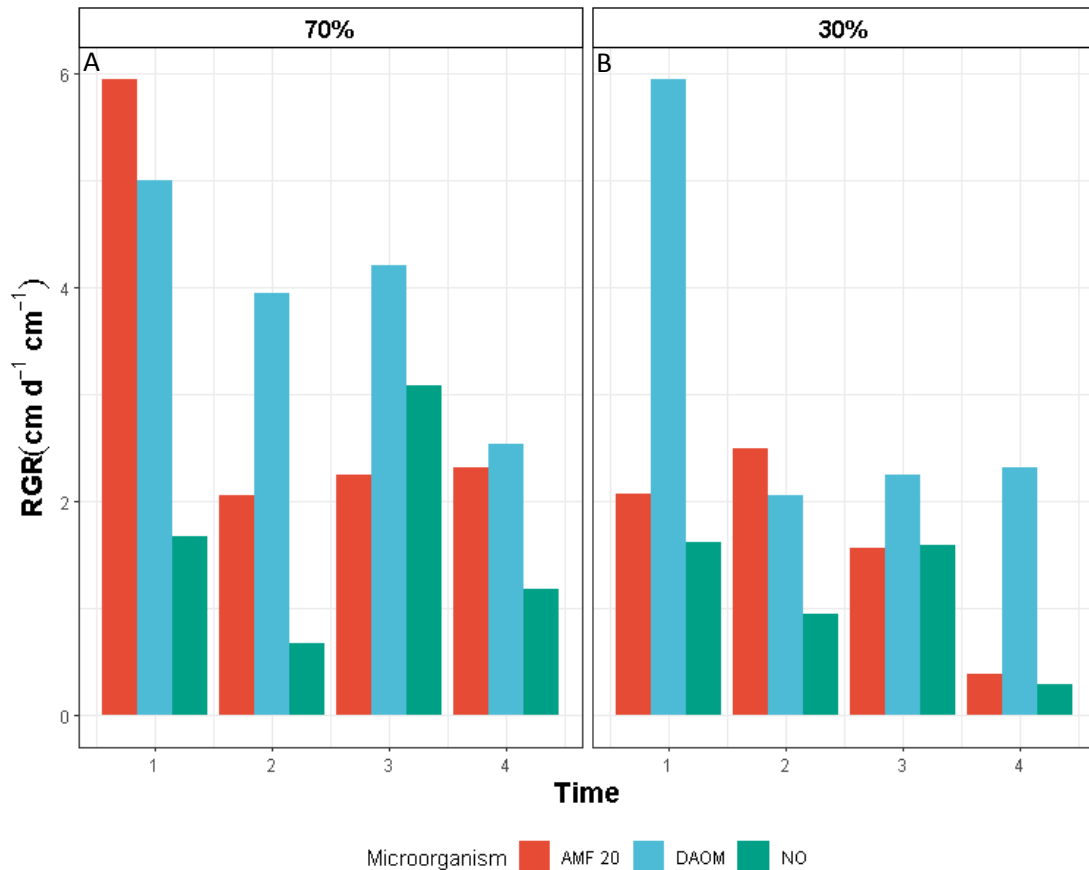
#### 3.3.1 Ύψος βλαστού

Από την έναρξη της καταπόνησης μέχρι το τέλος του πειράματος, μετρήθηκε το ύψος των φυτών, ανά τακτά χρονικά διαστήματα, ώστε να εντοπιστούν διαφορές στην ανάπτυξη μεταξύ των επεμβάσεων. Το Διάγραμμα 3.3 απεικονίζεται η εξέλιξη του ύψους των φυτών όλων των επεμβάσεων. Όσον αφορά την περίπτωση της πλήρους άρδευσης φαίνεται ότι τα εμβολιασμένα φυτά αναπτύσσονται ταχύτερα σε σχέση με τα μη εμβολιασμένα, (ειδικά στην περίπτωση του DAOM και λιγότερο στην περίπτωση του AMF20). Στην περίπτωση της ελλειμματικής άρδευσης τα φυτά που έχουν εμβολιαστεί με τον DAOM φαίνεται ότι αναπτύσσονται ταχύτερα σε σχέση με τα υπόλοιπα, ενώ η διαφορά του μάρτυρα με τον AMF 20 είναι αρκετά μικρή. Στο Διάγραμμα 3.4 απεικονίζεται το Relative Growth Rate (%) όλων των μεταχειρίσεων.

Φαίνεται ότι τα εμβολιασμένα, με ενδομυκorrhίζες, φυτά αναπτύσσονται ταχύτερα σε σχέση με τα μη εμβολιασμένα σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις. Τα εμβολιασμένα με φυτά DAOM χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερο και σταθερό ρυθμό αύξησης και στις 2 μεταχειρίσεις άρδευσης. Αντίθετα, η επίδραση του AMF 20 είναι σταθερή μόνο στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης ενώ στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης, και ιδιαίτερα προς το τέλος του πειράματος, δε φαίνεται να διαφέρει σημαντικά σε σχέση με τα μη εμβολιασμένα φυτά.



**Διάγραμμα 3.3.** Εξέλιξη του ύψους του βλαστού των φυτών κατά τη διάρκεια του πειράματος. (A) Μη εμβολιασμένα φυτά (B) Εμβολιασμένα φυτά με AMF 20 (C) Εμβολιασμένα φυτά με DAOM.



**Διάγραμμα 3.4.** Relative Growth Rate (%) του βλαστού των φυτών κατά τη διάρκεια του πειράματος. (A) Κανονική άρδευση (B) Υδατική καταπόνηση

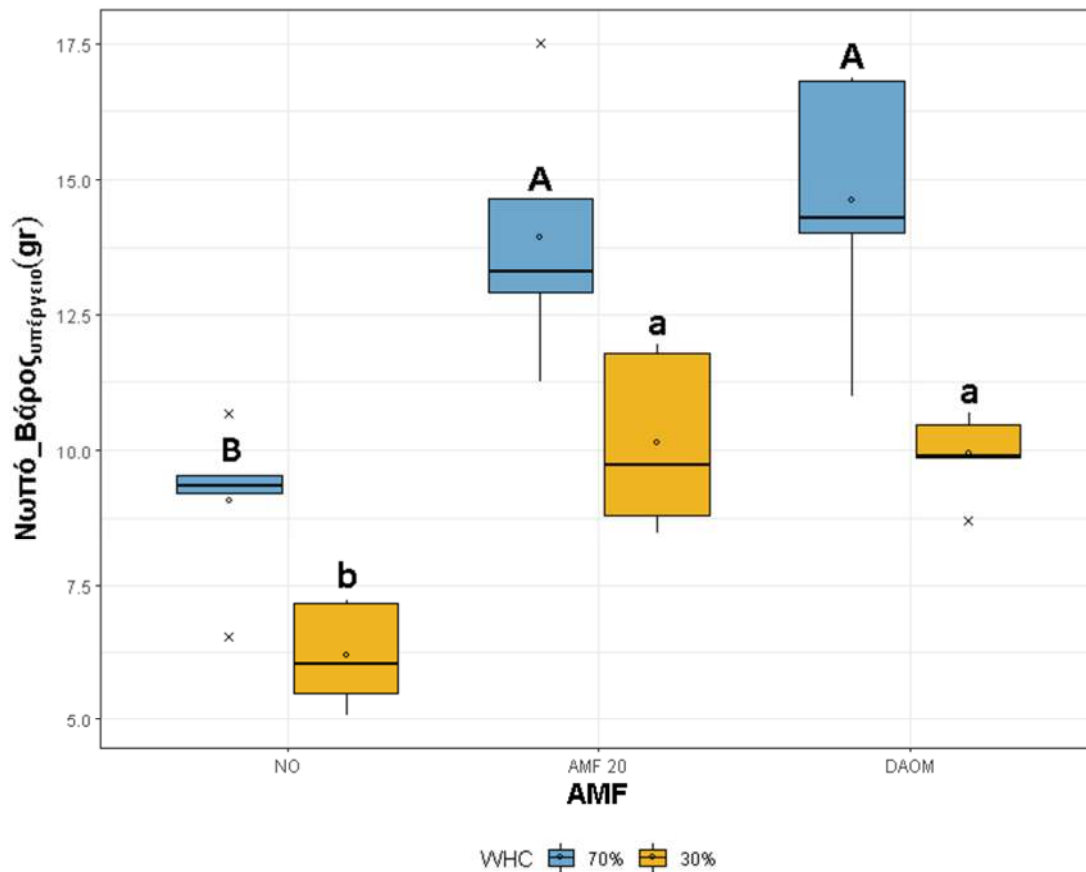
### 3.3.2 Νωπό και ξηρό βάρος

Στο τέλος του πειράματος, προσδιορίστηκε το νωπό και ξηρό βάρος των υπέργειων και υπόγειων οργάνων των φυτών. Η υδατική καταπόνηση μείωσε στατιστικώς σημαντικά το νωπό και ξηρό του υπέργειου και υπόγειου τμήματος των φυτών. Όσον αφορά το νωπό (Διάγραμμα 3.5) και ξηρό (Διάγραμμα 3.6) βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν στατιστικά υψηλότερη τιμή σε σχέση με τον μάρτυρα και στα δύο επίπεδα άρδευσης. Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, το νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 14.6 g και 13.9 g αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 9.05 g. Το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος των μη καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή 1.80 g και 1.84 g, ενώ ο μάρτυρας 1.3 g. Στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης, το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 1.3 g και 1.2 g αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 0.8 g.

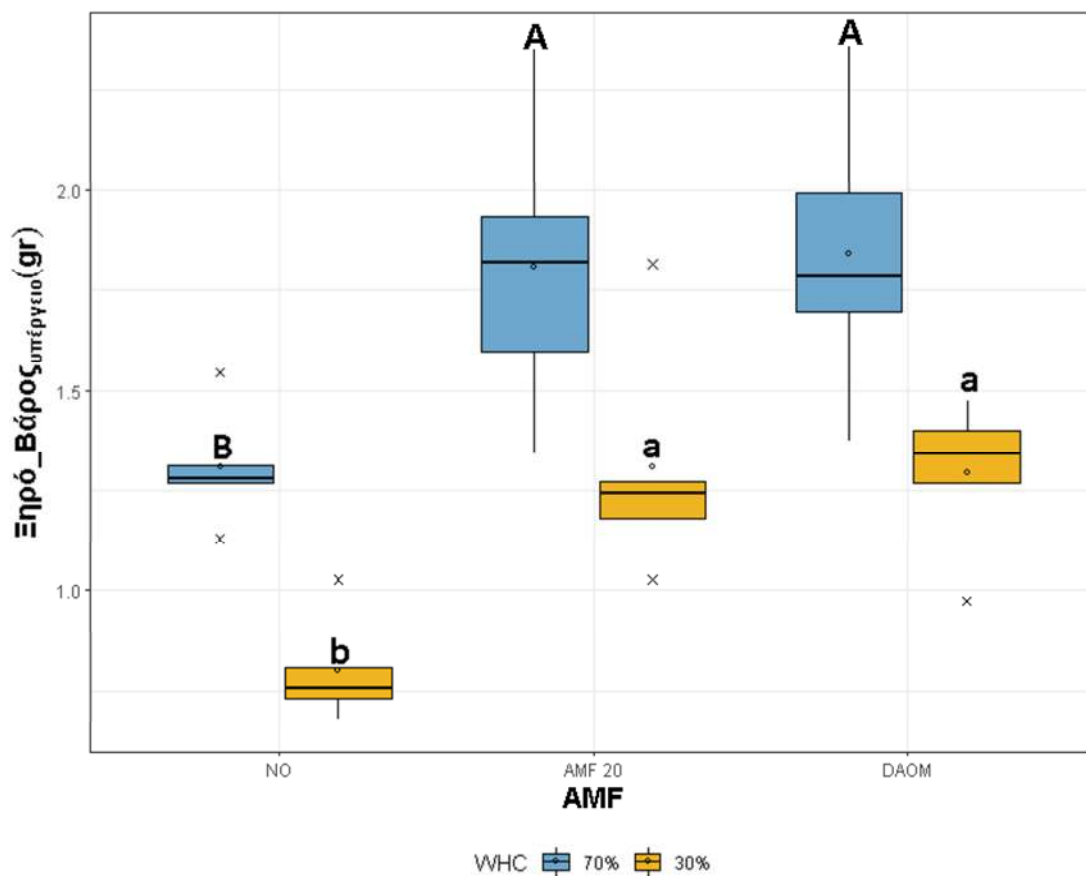
Επίσης, αξίζει να αναφερθεί ότι τα καταπονημένα - αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν παρόμοιο νωπό και ξηρό βάρος σε σχέση με τα μη καταπονημένα - μη αποικισμένα φυτά (τους μη καταπονημένους μάρτυρες). Το νωπό και ξηρό βάρος των ριζών δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές και στα 2 επίπεδα άρδευσης (Διάγραμμα 3.7., Διάγραμμα 3.8.), αν και τα αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν σχετικά αυξημένη τιμή και στα 2 επίπεδα άρδευσης. Μεταξύ των ενδομυκορριζών δεν προέκυψε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά, ούτε παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των παραγόντων.

### 3.3.3 Φυλλική επιφάνεια

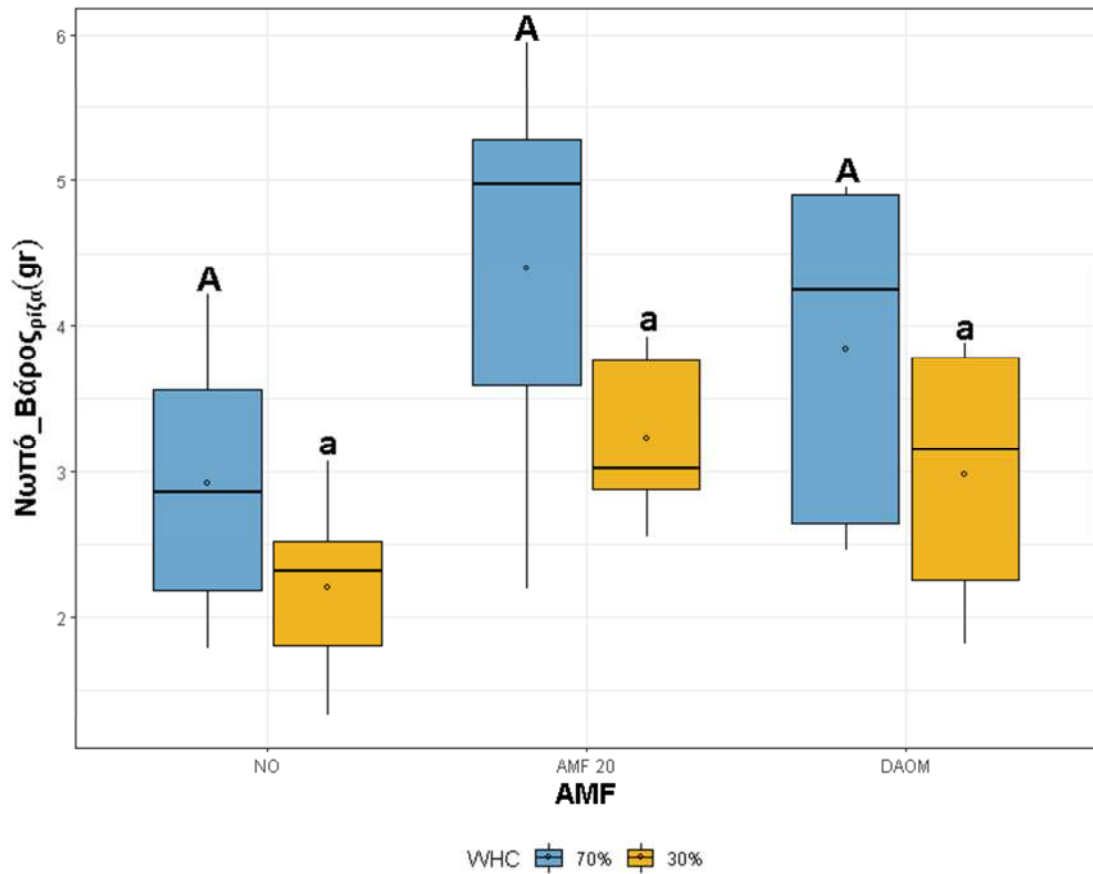
Παρουσιάστηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές και στην περίπτωση της φυλλικής επιφάνειας. Η υδατική καταπόνηση μείωσε στατιστικώς σημαντικά τη φυλλική επιφάνεια όλων των φυτών. Τα εμβολιασμένα φυτά παρουσίασαν στατιστικώς μεγαλύτερη επιφάνεια και στα 2 επίπεδα άρδευσης, ενώ η μεγαλύτερη διαφορά εντοπίζεται στην πλήρη άρδευση (Διάγραμμα 3.9). Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, η φυλλική επιφάνεια των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή  $180.54 \text{ cm}^2$  και  $204.95 \text{ cm}^2$  αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας  $107.08 \text{ cm}^2$ . Η φυλλική επιφάνεια των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή  $135.8 \text{ cm}^2$  και  $122.41 \text{ cm}^2$ , ενώ ο μάρτυρας  $86.74 \text{ cm}^2$ . Τα καταπονημένα - αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν παρόμοια φυλλική σε σχέση με τα μη καταπονημένα - μη αποικισμένα φυτά (τους μη καταπονημένους μάρτυρες). Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων, η φυλλική επιφάνεια των αποικισμένων με DAOM φυτών ήταν μεγαλύτερη στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης σε σχέση με τα αποικισμένα με AMF 20 φυτά. Το ακριβώς αντίθετο παρατηρείται στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης. Οι διαφορές αυτές δεν είναι στατιστικώς σημαντικές. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων.



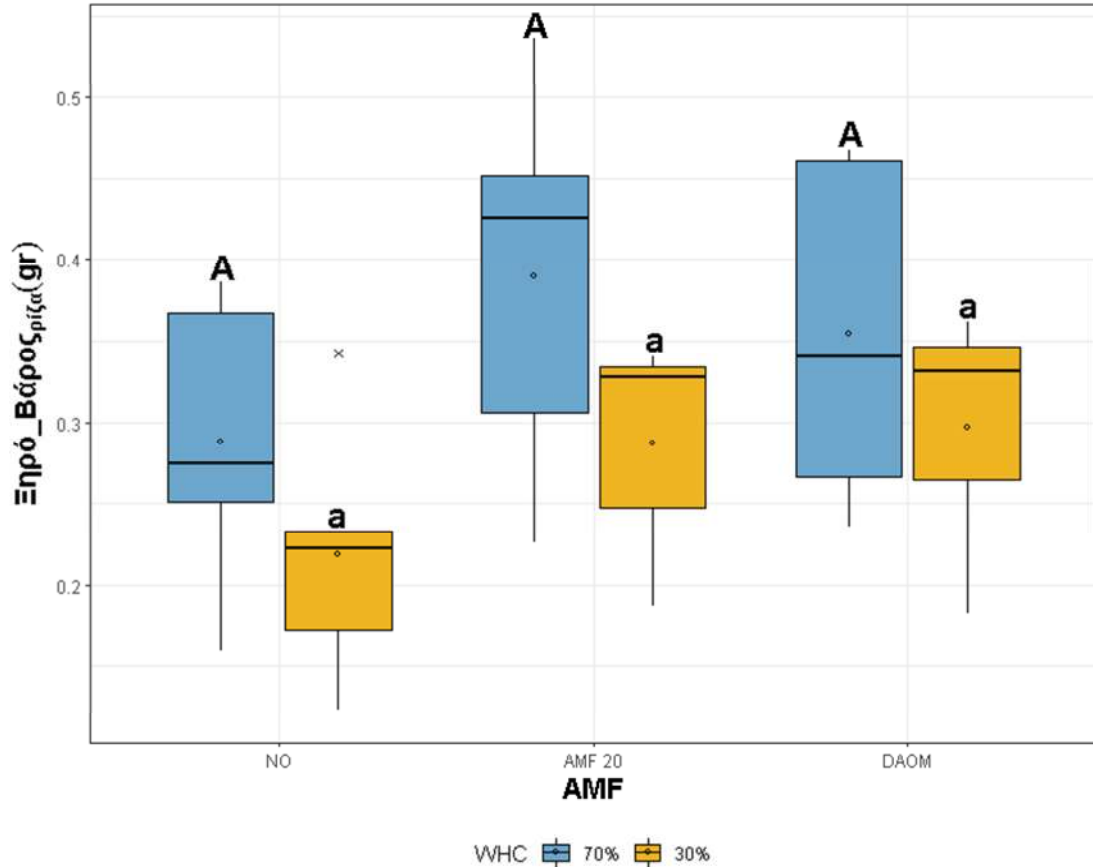
**Διάγραμμα 3.5.** Νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.



**Διάγραμμα 3.6.** Ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

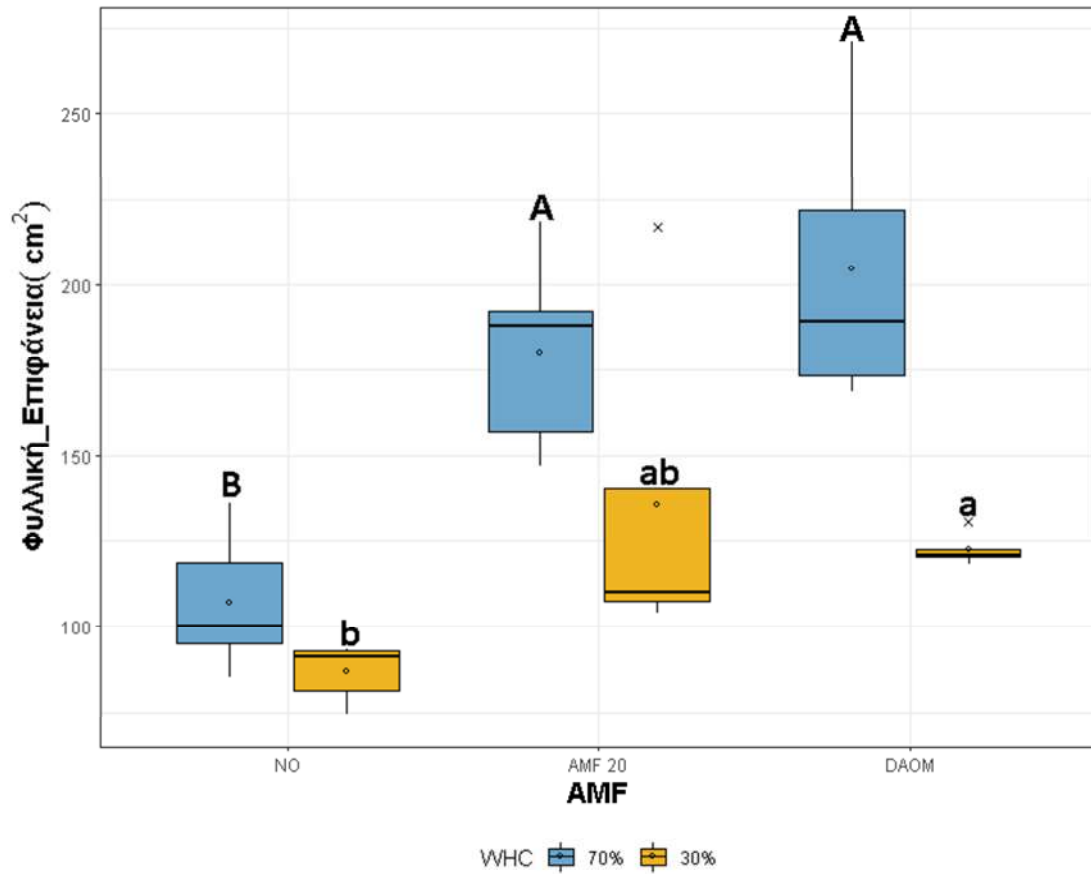


**Διάγραμμα 3.7.** Νωπό βάρος της ρίζας των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.



**Διάγραμμα 3.8.** Ξηρό βάρος της ρίζας των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.



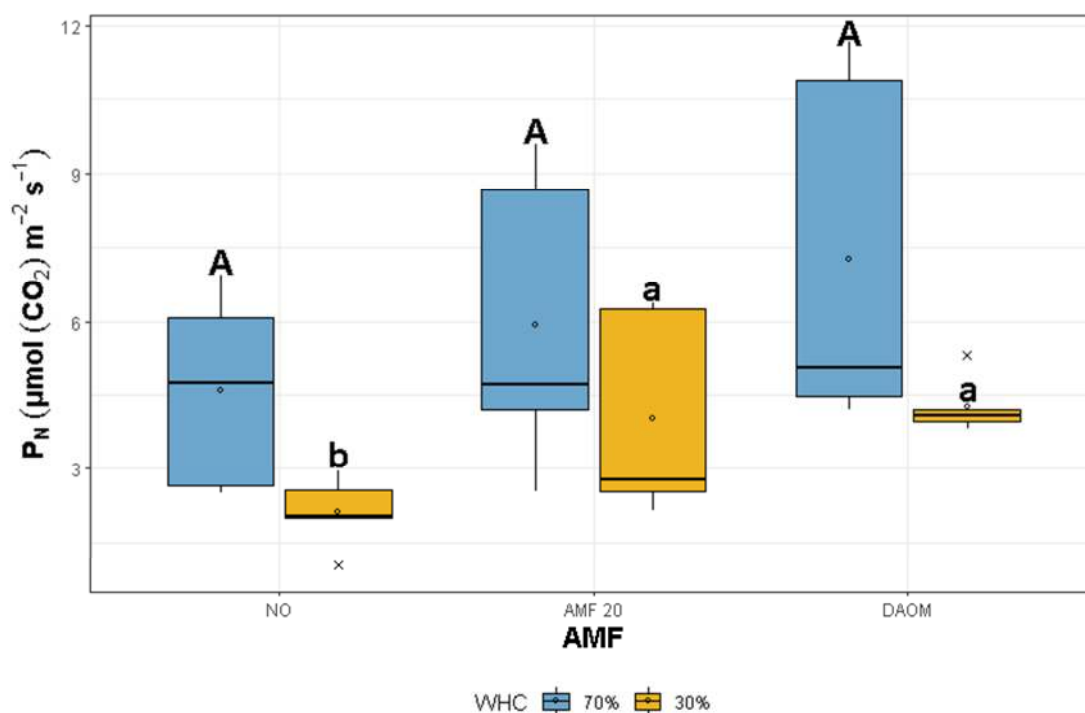


**Διάγραμμα 3.9.** Η φυλλική επιφάνεια των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.4. Φυσιολογικές μεταβλητές

#### 3.4.1. Ρυθμός φωτοσύνθεσης

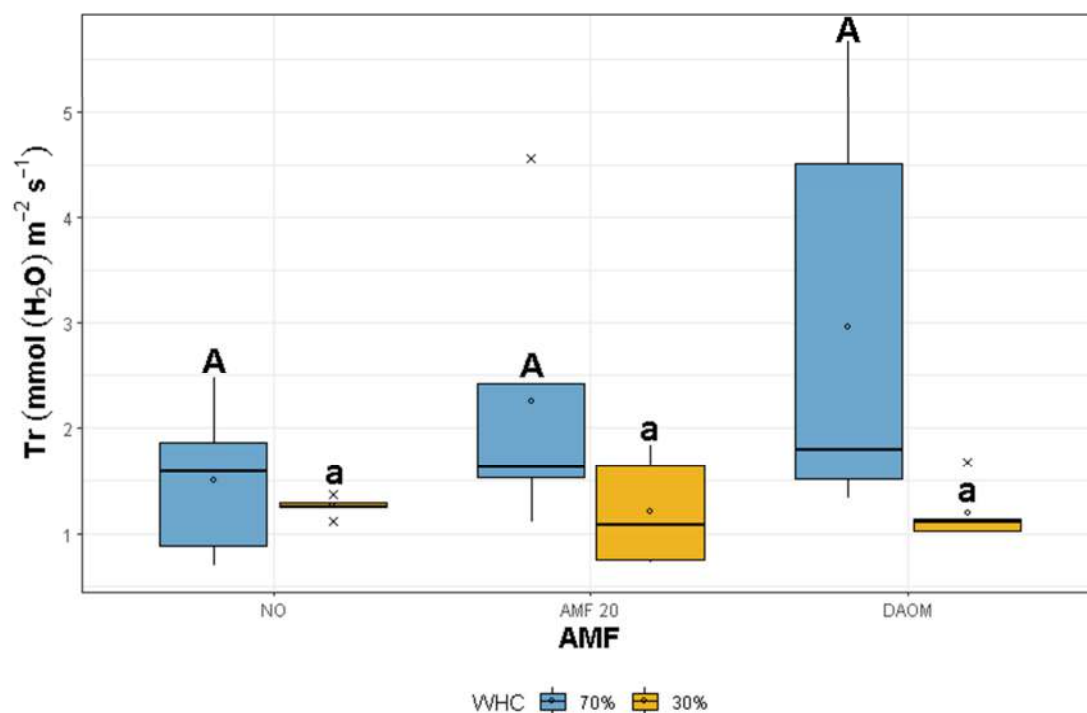
Επιπλέον, μία εβδομάδα πριν την ολοκλήρωση του πειράματος υπολογίστηκε η φωτοσυνθετική δραστηριότητα των φυτών. Η υδατική καταπόνηση μείωσε τον ρυθμό φωτοσύνθεσης σε όλες τις περιπτώσεις (Διάγραμμα 3.10). Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, ο ρυθμός φωτοσύνθεσης των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή  $7.2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  και  $5.93 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας  $4.57 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Ο ρυθμός της φωτοσύνθεσης των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή  $4.02 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  και  $4.27 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , ενώ ο μάρτυρας  $2.12 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Παρατηρείται ότι στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερο ρυθμό φωτοσύνθεσης σε σχέση με τα μη εμβολιασμένα φυτά. Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης τα αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν σαφή τάση αύξησης του ρυθμού φωτοσύνθεσης σε σχέση με τον μάρτυρα, χωρίς όμως να διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων δεν προέκυψε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά. Δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων.



**Διάγραμμα 3.10.** Ο ρυθμός φωτοσύνθεσης των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.4.2. Ρυθμός διαπνοής

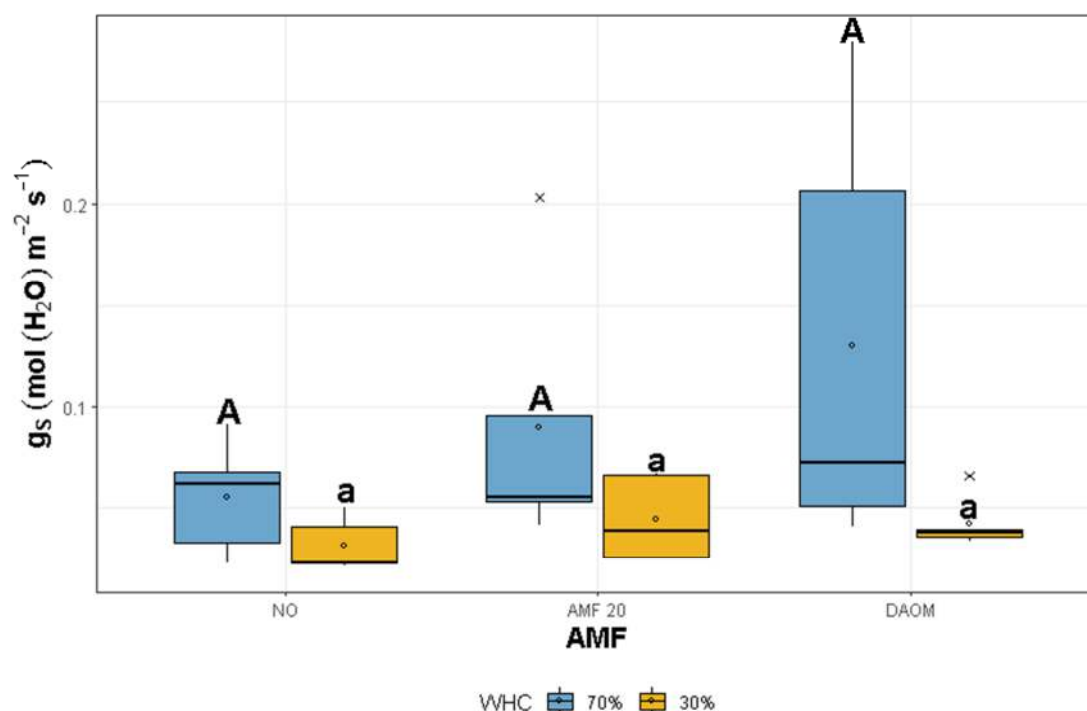
Γενικά, η υδατική καταπόνηση μείωσε στατιστικώς σημαντικά τον ρυθμό διαπνοής. Δεν παρουσιάστηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές λόγω της επίδρασης των μικροοργανισμών σε κανένα επίπεδο άρδευσης (Διάγραμμα 3.11). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων.



**Διάγραμμα 3.11.** Ο ρυθμός διαπνοής των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.4.3. Στοματική αγωγιμότητα

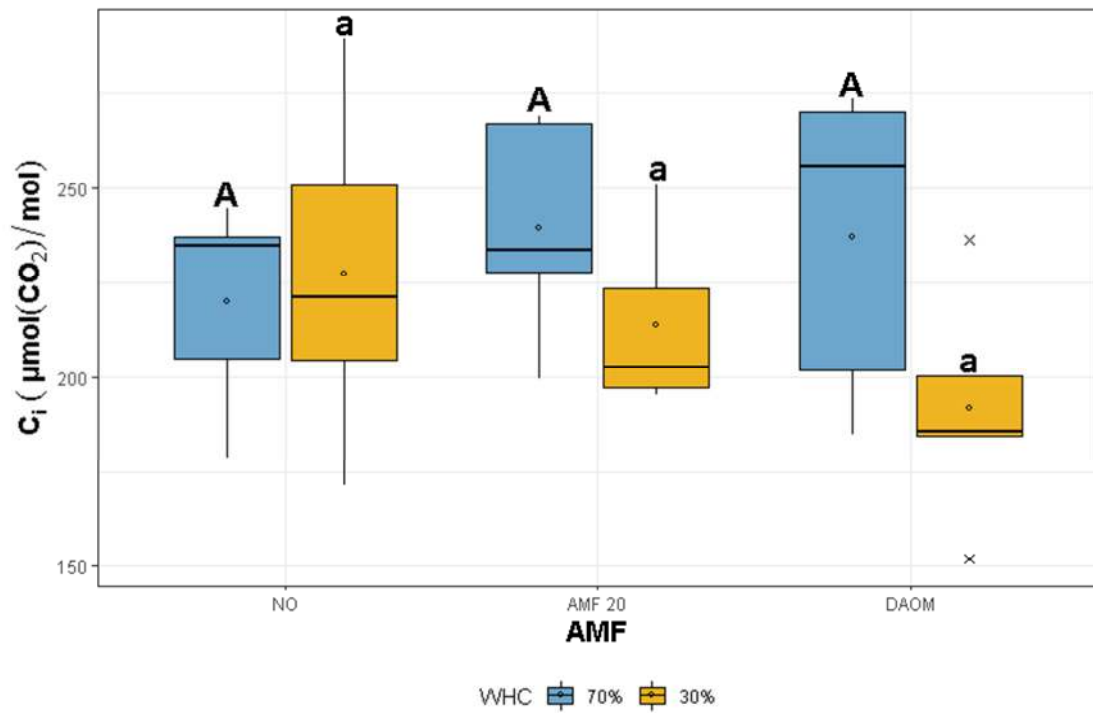
Συνολικά, η στοματική αγωγιμότητα μειώθηκε σημαντικά λόγω της υδατικής καταπόνησης. Όσον αφορά τη στοματική αγωγιμότητα δεν παρουσιάστηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές λόγω της επίδρασης των μικροοργανισμών σε κανένα επίπεδο άρδευσης (Διάγραμμα 3.12.) αν και εμφανίζεται μια μικρή τάση αύξησης στα αποικισμένα φυτά συγκριτικά με τους μάρτυρες σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων.



**Διάγραμμα 3.12.** Η στοματική αγωγιμότητα των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.4.4. Μεσοκυττάριο CO<sub>2</sub>

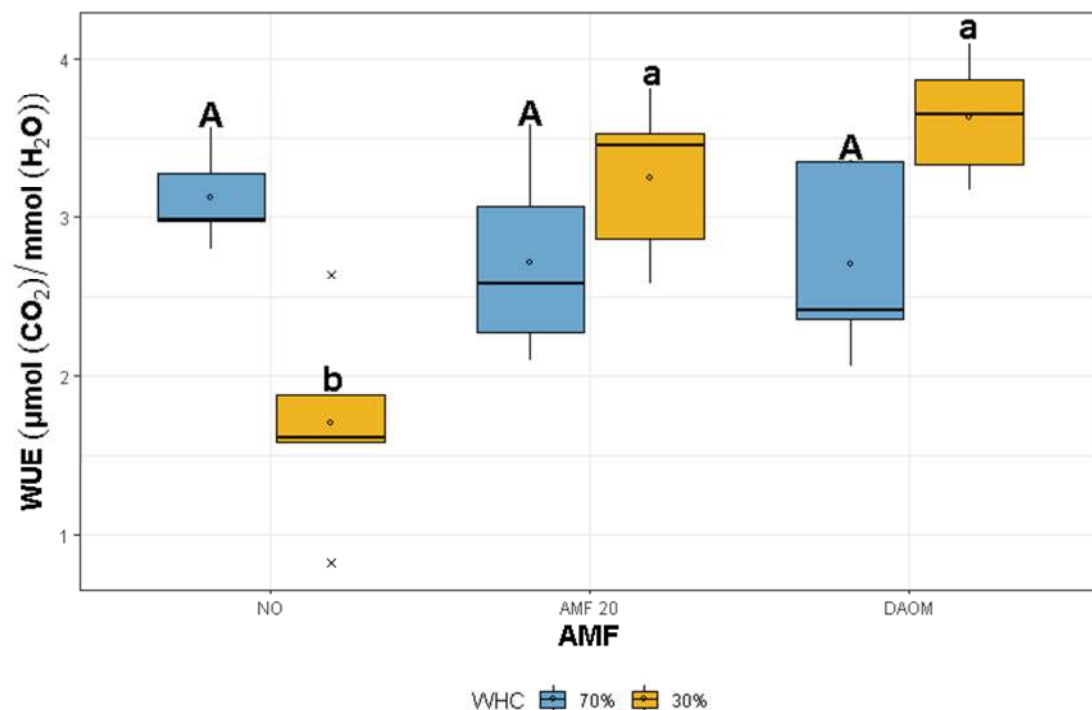
Όσον αφορά το μεσοκυττάριο CO<sub>2</sub> δεν παρουσιάστηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές λόγω της υδατικής καταπόνησης ούτε λόγω της επίδρασης των μικροοργανισμών (Διάγραμμα 3.13.). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων.



**Διάγραμμα 3.13.** Το μεσοκυττάριο CO<sub>2</sub> των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.4.5. Αποδοτικότητα Χρήσης Νερού (Water Use Efficiency)

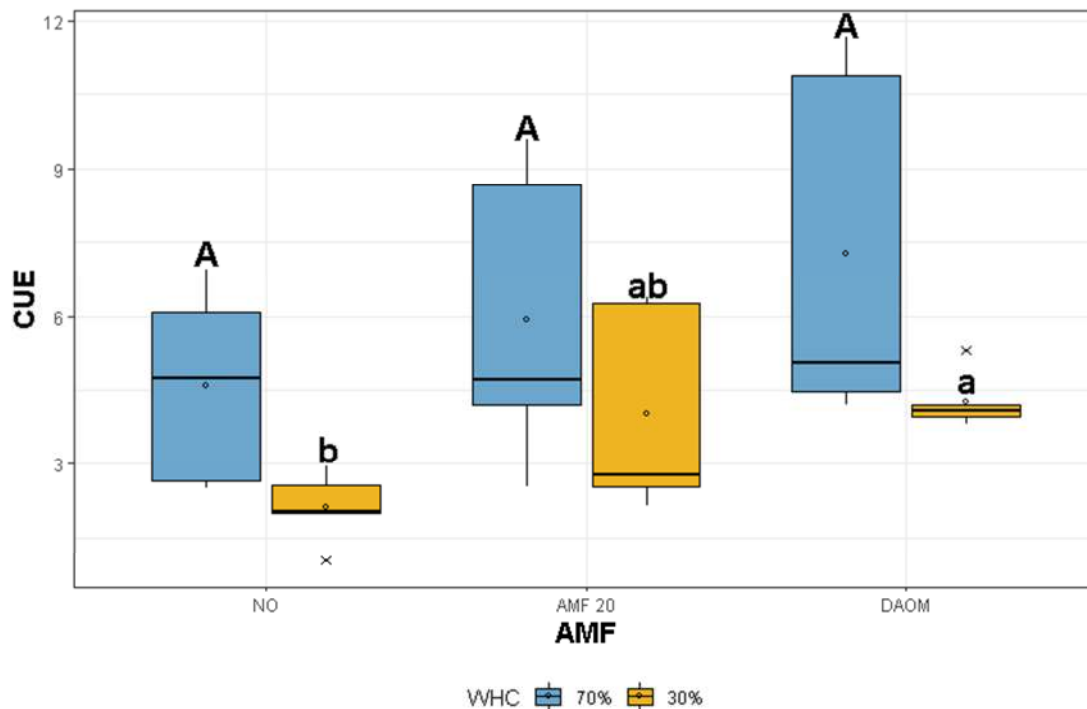
Παρουσιάστηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές όσον αφορά την φωτοσυνθετική αποδοτικότητα χρήσης νερού (Διάγραμμα 3.14.). Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, το WUE των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 2.72  $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$  και 2.71  $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$  αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 3.12  $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$  και στατιστικώς δεν διέφεραν μεταξύ τους σημαντικά. Το WUE των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή 3.24  $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$  και 3.63  $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$ , ενώ ο μάρτυρας 1.7  $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$ . Τα αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη αποτελεσματικότητα χρήσης νερού σε σχέση με τον μάρτυρα στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης. Αυτό σημαίνει ότι για δεδομένες απώλειες νερού, λόγω της διαπνοής, ο ρυθμός φωτοσύνθεσης είναι μεγαλύτερος (δείκτης που υποδηλώνει ότι η ανάπτυξη του φυτού συνεχίζεται απρόσκοπτα). Ο μάρτυρας παρουσίασε εντελώς αντίθετη συμπεριφορά, με αποτέλεσμα για δεδομένο ρυθμό διαπνοής, ο ρυθμός φωτοσύνθεσης να είναι μειωμένος. Παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων δεν προέκυψε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά.



**Διάγραμμα 3.14.** Αποτελεσματικότητα χρήσης νερού των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές

### 3.4.6. Αποδοτικότητα Χρήσης CO<sub>2</sub> (CUE)

Η υδατική καταπόνηση μείωσε στατιστικώς σημαντικά την αποτελεσματικότητα χρήσης CO<sub>2</sub> σε όλες τις περιπτώσεις (Διάγραμμα 3.15.). Τα αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη αποτελεσματικότητα χρήσης CO<sub>2</sub> σε σχέση με τον μάρτυρα στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης. Αυτό σημαίνει ότι για δεδομένες ποσότητες CO<sub>2</sub>, ο ρυθμός φωτοσύνθεσης είναι μεγαλύτερος. Το ίδιο αποτέλεσμα καταγράφηκε ως τάση (μη στατιστικώς σημαντική) στην περίπτωση της έλλειψης υδατικής καταπόνησης. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων δεν προέκυψε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά. Δεν παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων.



**Διάγραμμα 3.14.** Αποτελεσματικότητα χρήσης νερού των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές

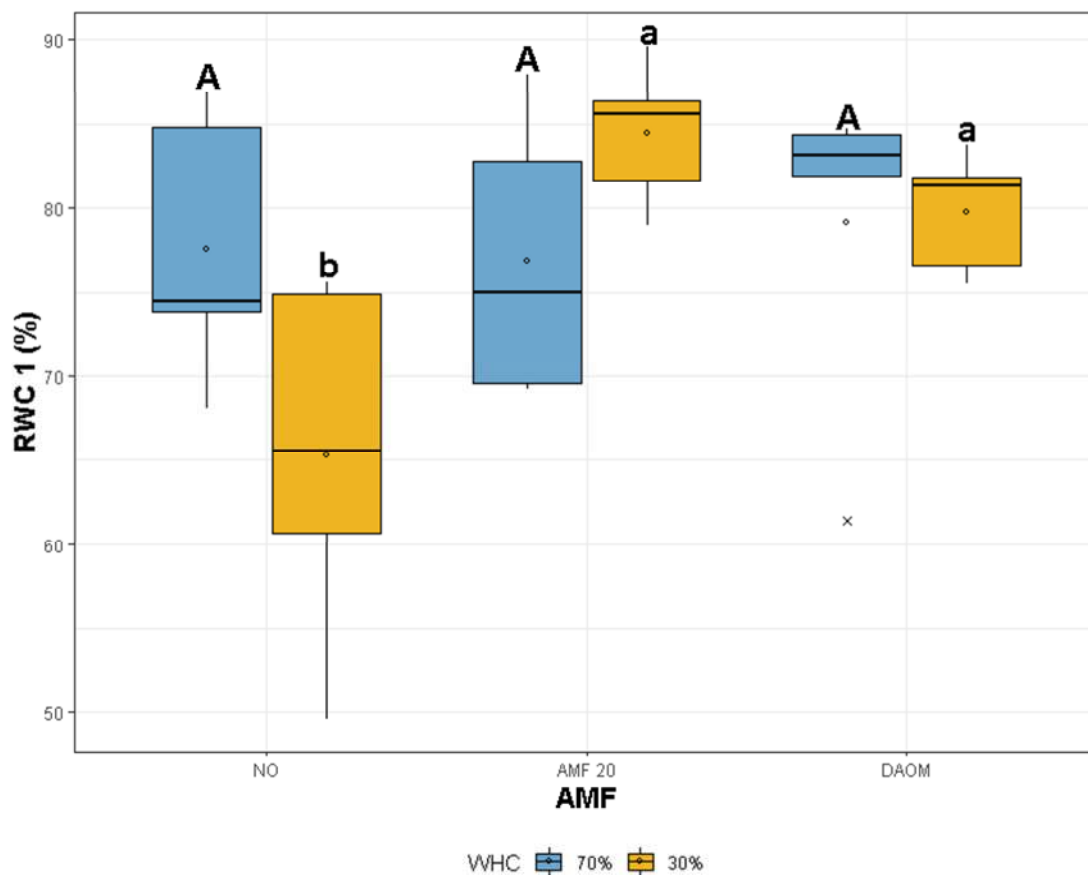
### 3.4.7 Σχετικό υδατικό περιεχόμενο (Relative Water Content, RWC%)

Το Σχετικό υδατικό περιεχόμενο (Relative Water Content) υπολογίστηκε 2 φορές κατά τη διάρκεια του πειράματος ώστε να μελετηθεί η απόκριση των φυτών καθώς εξελίσσεται η καταπόνηση. Το RWC που υπολογίστηκε μετά από 2 εβδομάδες υδατικής καταπόνησης παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.15. Η υδατική καταπόνηση δεν μείωσε στατιστικώς σημαντικά το RWC των φυτών. Παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων. Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, το RWC των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 76.8% και 79.1% αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 77.6%. Το RWC των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή 84.4% και 79.7%, ενώ ο μάρτυρας 65.2%. Τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερο RWC στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης σε σχέση με τον μάρτυρα. Ακόμα, το RWC των καταπονημένων – εμβολιασμένων φυτών διατηρείται στο ίδιο επίπεδο με το RWC το μη καταπονημένων - μη εμβολιασμένων φυτών. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων το RWC των αποικισμένων με AMF 20 φυτών ήταν

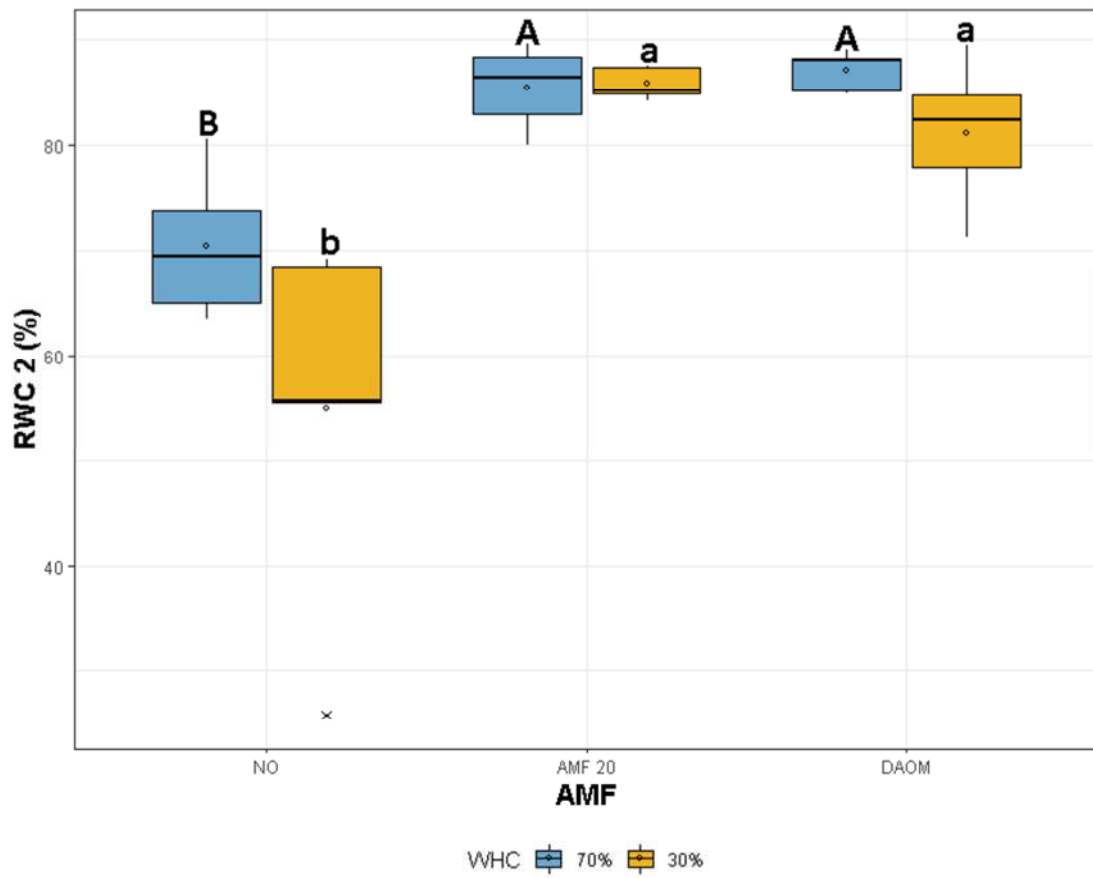


μεγαλύτερο σε σχέση με αυτά του DAOM στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης. Το αντίθετο παρουσιάστηκε στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης. Καμία διαφορά μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων στο ίδιο επίπεδο άρδευσης δεν είναι στατιστικώς σημαντική.

Την 3<sup>η</sup> εβδομάδα υδατικής καταπόνησης υπολογίστηκε το RWC για δεύτερη φορά (Διάγραμμα 3.16). Η υδατική καταπόνηση μείωσε στατιστικώς σημαντικά το RWC των φυτών. Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, το RWC των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 85.4% και 87% αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 70.4%. Το RWC των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή 85.8% και 81.2%, ενώ ο μάρτυρας 54.92%. Τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερο RWC και στα δύο επίπεδα άρδευσης σε σχέση με τον μάρτυρα. Ακόμα, το RWC των καταπονημένων – εμβολιασμένων φυτών ήταν μεγαλύτερο από το RWC το μη καταπονημένων- μη εμβολιασμένων φυτών. Δεν παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων. Καμία διαφορά μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων δεν είναι στατιστικώς σημαντική.



**Διάγραμμα 3.15.** RWC των φυτών που υπολογίστηκε στις 25/7/19. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές

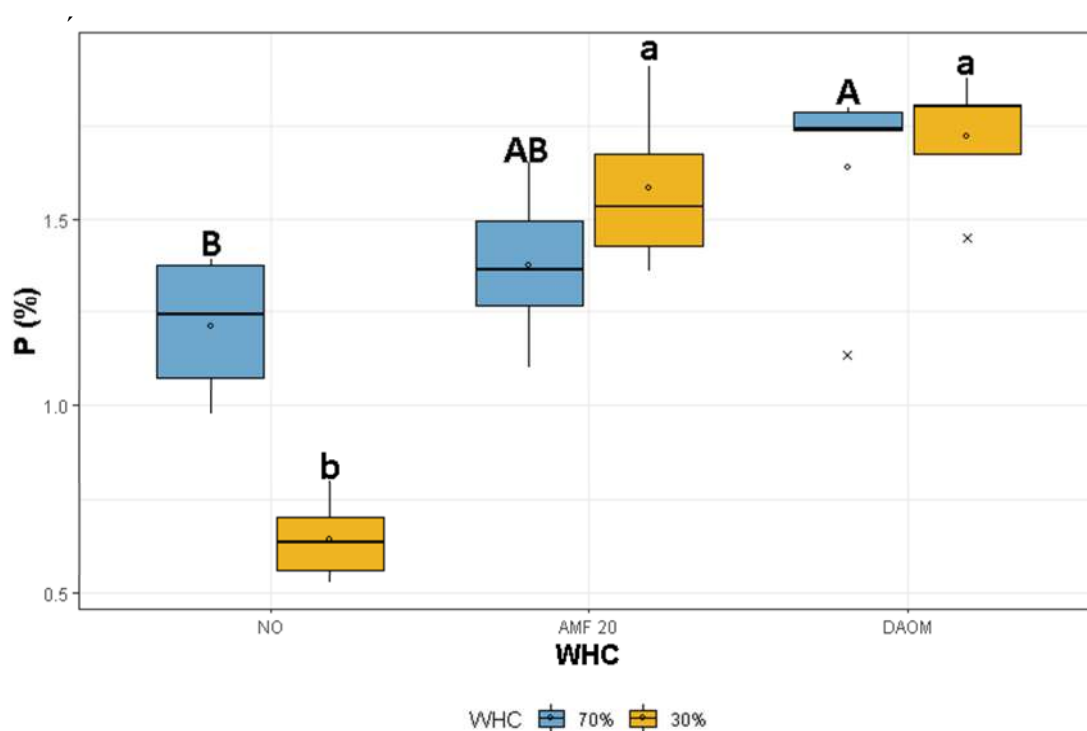


**Διάγραμμα 3.16.** RWC των φυτών που υπολογίστηκε στις 01/08/19. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές

### 3.5. Αποτελέσματα φυλλοδιαγνωστικής

#### 3.5.1. Συγκέντρωση P(%)

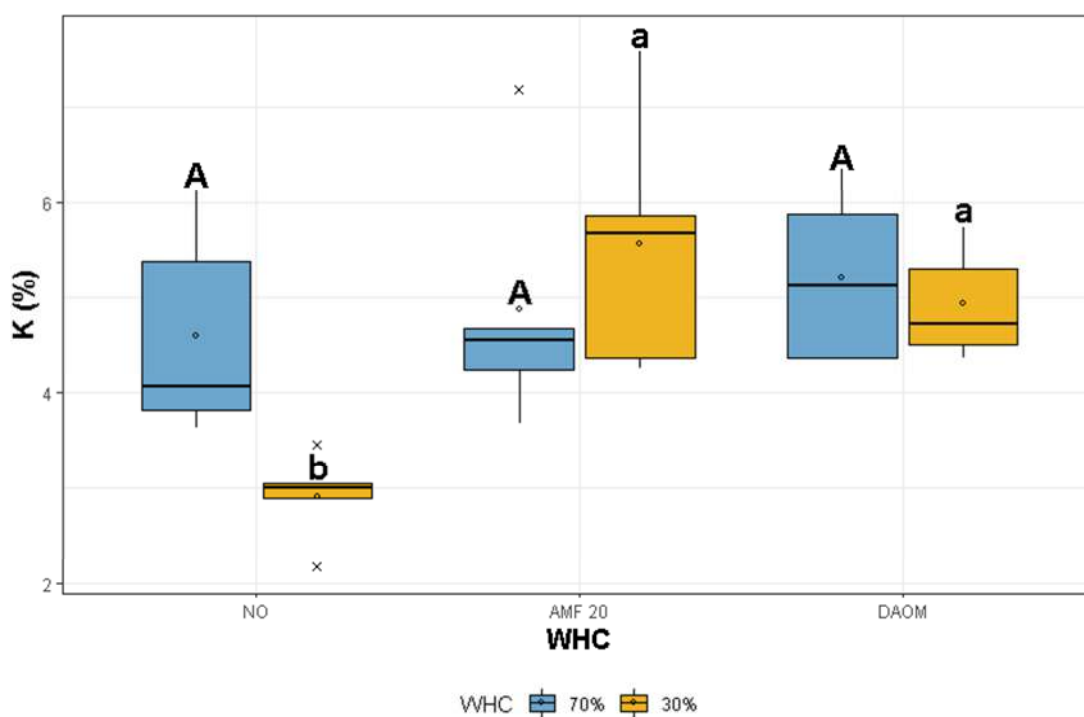
Παρατηρήθηκε διαφορετική αντίδραση μεταξύ των αποικισμένων και μη αποικισμένων φυτών στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης καθώς στα μη αποικισμένα φυτά παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του P. Η υδατική καταπόνηση δεν μείωσε στατιστικώς σημαντικά τη συγκέντρωση P των φυτών. Παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων. Τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερη συγκέντρωση P και στα 2 επίπεδα άρδευσης, ενώ η μεγαλύτερη διαφορά εντοπίζεται σαφώς στην ελλειμματική άρδευση (Διάγραμμα 3.17.). Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επιπέδων άρδευσης και των μικροβιακών επεμβάσεων. Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, η συγκέντρωση P των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 1.37% και 1.64% αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 1.21%. Η συγκέντρωση P των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή 1.58 % και 1.72%, ενώ ο μάρτυρας 0.64%. Τα καταπονημένα – αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν παρόμοια, στην περίπτωση του AMF 20, και μεγαλύτερη, στην περίπτωση του DAOM, συγκέντρωση P σε σχέση με τα μη καταπονημένα – μη αποικισμένα φυτά. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων, η συγκέντρωση P των αποικισμένων με DAOM φυτών είναι μεγαλύτερη από αυτά του AMF 20 και στα δύο επίπεδα άρδευσης. Οι διαφορές αυτές δεν είναι στατιστικώς σημαντικές αλλά εμφανίζονται



**Διάγραμμα 3.17.** Συγκέντρωση P(%) των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.5.2 Συγκέντρωση Κ(%)

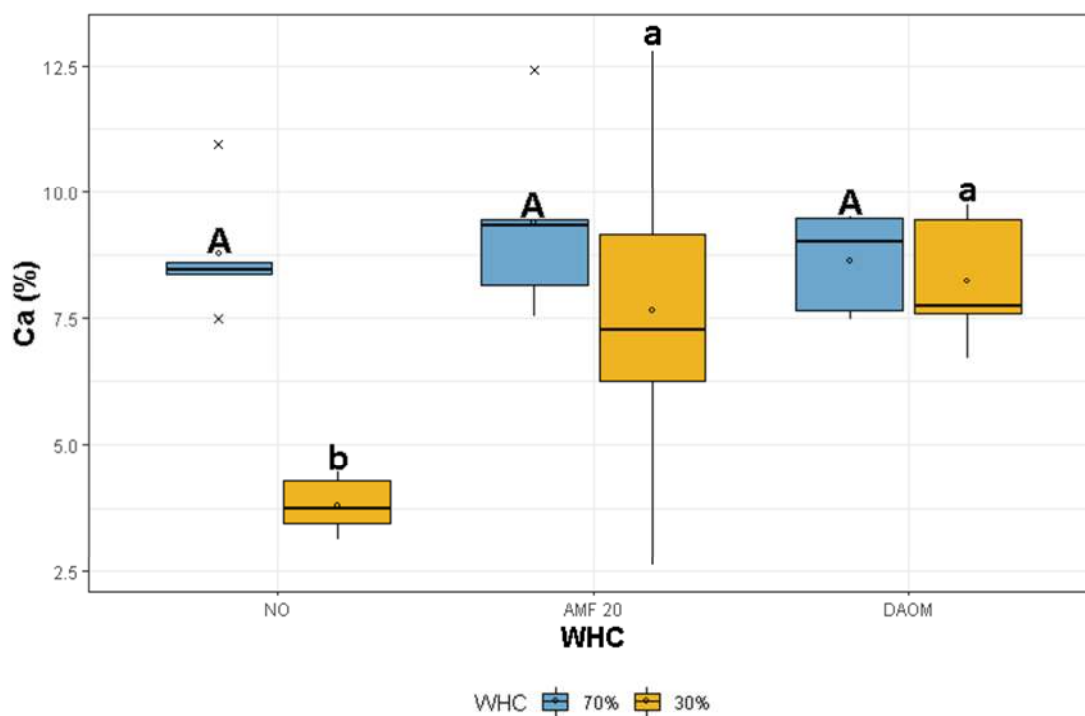
Παρατηρήθηκε διαφορετική αντίδραση μεταξύ των αποικισμένων και μη αποικισμένων φυτών στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης καθώς στα μη αποικισμένα φυτά παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του Κ στους μάρτυρες. Αντίθετα, τα αποικισμένα φυτά διατήρησαν υψηλά επίπεδα Κ και παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερη συγκέντρωση Κ σε σχέση με τον μάρτυρα (Διάγραμμα 3.18.). Η υδατική καταπόνηση δεν μείωσε στατιστικώς σημαντικά τη συγκέντρωση Κ των φυτών. Παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων. Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επιπέδων άρδευσης και των μικροοργανισμών. Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, η συγκέντρωση Κ των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 4.87% και 5.22% αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 4.6%, διαφορές μη σημαντικές στατιστικώς. Η συγκέντρωση Κ των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή 5.57 % και 4.93%, ενώ ο μάρτυρας 2.91%. Τα καταπονημένα - αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν παρόμοια συγκέντρωση Κ σε σχέση με τα μη καταπονημένα - μη αποικισμένα φυτά. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων δεν προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές.



**Διάγραμμα 3.18.** Συγκέντρωση Κ(%) των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.5.3. Συγκέντρωση Ca(%)

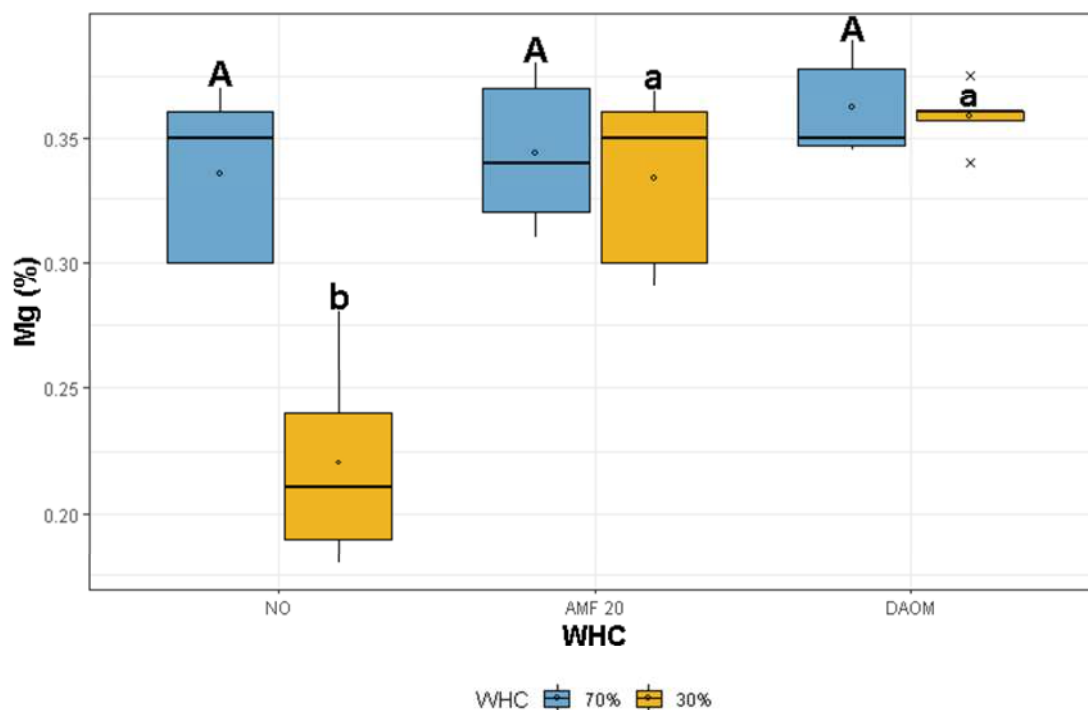
Παρατηρήθηκε διαφορετική αντίδραση μεταξύ των αποικισμένων και μη αποικισμένων φυτών στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης, καθώς στα μη αποικισμένα φυτά παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του Ca, παρόμοια με του Καλίου. Η υδατική καταπόνηση μείωσε στατιστικώς σημαντικά τη συγκέντρωση Ca των φυτών. Παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων. Τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερη συγκέντρωση Ca στην περίπτωση της ελλειμματικής άρδευσης σε σχέση με τον μάρτυρα (Διάγραμμα 3.19). Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επιπέδων άρδευσης και των μικροοργανισμών. Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, η συγκέντρωση Ca των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 9.3% και 8.62% αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 8.6%, διαφορές μη σημαντικές στατιστικώς. Η συγκέντρωση Ca των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή 7.65 % και 8.23%, ενώ ο μάρτυρας 3.8%. Τα καταπονημένα - αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν παρόμοια συγκέντρωση Ca σε σχέση με τα μη καταπονημένα - μη αποικισμένα φυτά. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων δεν προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές.



**Διάγραμμα 3.19.** Συγκέντρωση Ca(%) των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.5.4. Συγκέντρωση Mg(%)

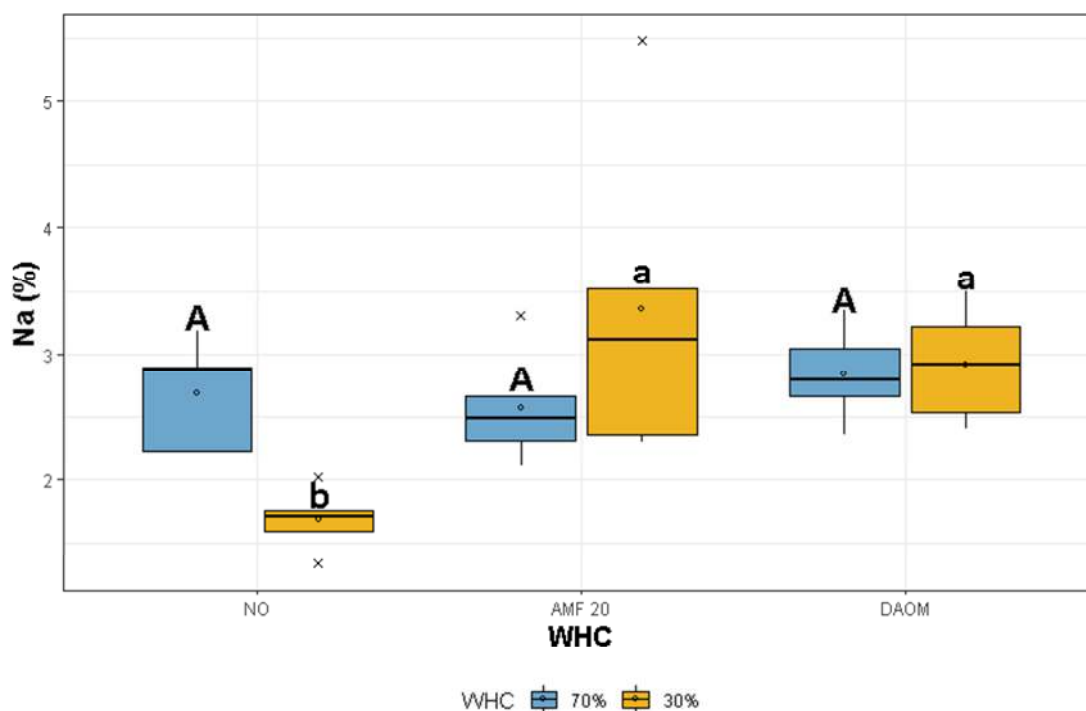
Παρατηρήθηκε διαφορετική αντίδραση μεταξύ των αποικισμένων και μη αποικισμένων φυτών στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης, καθώς στα μη αποικισμένα φυτά παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του Mg, παρόμοια με του Καλίου και του Ασβεστίου. Η υδατική καταπόνηση μείωσε στατιστικώς σημαντικά τη συγκέντρωση Mg των φυτών. Παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων. Τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερη συγκέντρωση Mg στην περίπτωση της ελλειμματικής άρδευσης σε σχέση με τον μάρτυρα (Διάγραμμα 3.20). Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, η συγκέντρωση Mg των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 0.34% και 0.36% αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 0.33%, διαφορές μη σημαντικές στατιστικώς. Η συγκέντρωση Mg των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή 0.35 % και 0.33%, ενώ ο μάρτυρας 0.22%. Τα καταπονημένα - αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν παρόμοια συγκέντρωση Mg σε σχέση με τα μη καταπονημένα - μη αποικισμένα φυτά. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων δεν προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές.



**Διάγραμμα 3.20.** Συγκέντρωση Mg(%) των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.5.5 Συγκέντρωση Na(%)

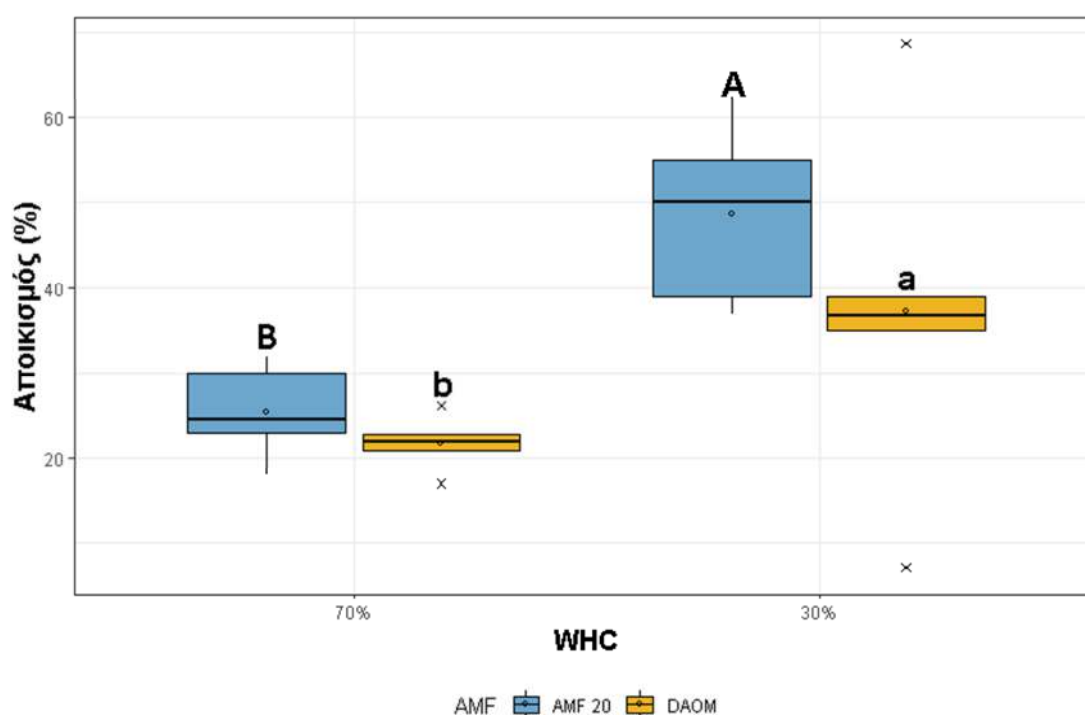
Παρατηρήθηκε διαφορετική αντίδραση μεταξύ των αποικισμένων και μη αποικισμένων φυτών στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης, καθώς στα μη αποικισμένα φυτά παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του Na παρόμοια με του Καλίου του Ασβεστίου και του Μαγνησίου. Η υδατική καταπόνηση δεν μείωσε στατιστικώς σημαντικά τη συγκέντρωση K των φυτών. Παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων. Τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερη συγκέντρωση Na στην περίπτωση της ελλειμματικής άρδευσης σε σχέση με τον μάρτυρα (Διάγραμμα 3.21). Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επιπέδων άρδευσης και των μικροοργανισμών. Στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης, η συγκέντρωση Na των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM, παρουσίασε μέση τιμή 2.57% και 2.83% αντίστοιχα, ενώ ο μάρτυρας 2.68%, διαφορές μη σημαντικές στατιστικώς. Η συγκέντρωση Na των καταπονημένων φυτών που έχουν εμβολιαστεί με AMF 20 και DAOM παρουσίασε μέση τιμή 3.35% και 2.91%, ενώ ο μάρτυρας 1.68%. Τα καταπονημένα - αποικισμένα φυτά παρουσιάζουν παρόμοια συγκέντρωση Na σε σχέση με τα μη καταπονημένα - μη αποικισμένα φυτά. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων δεν προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές.



**Διάγραμμα 3.21.** Συγκέντρωση Na(%) των φυτών. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.6 Προσδιορισμός και επίδραση του αποικισμού στην ανάπτυξη των φυτών

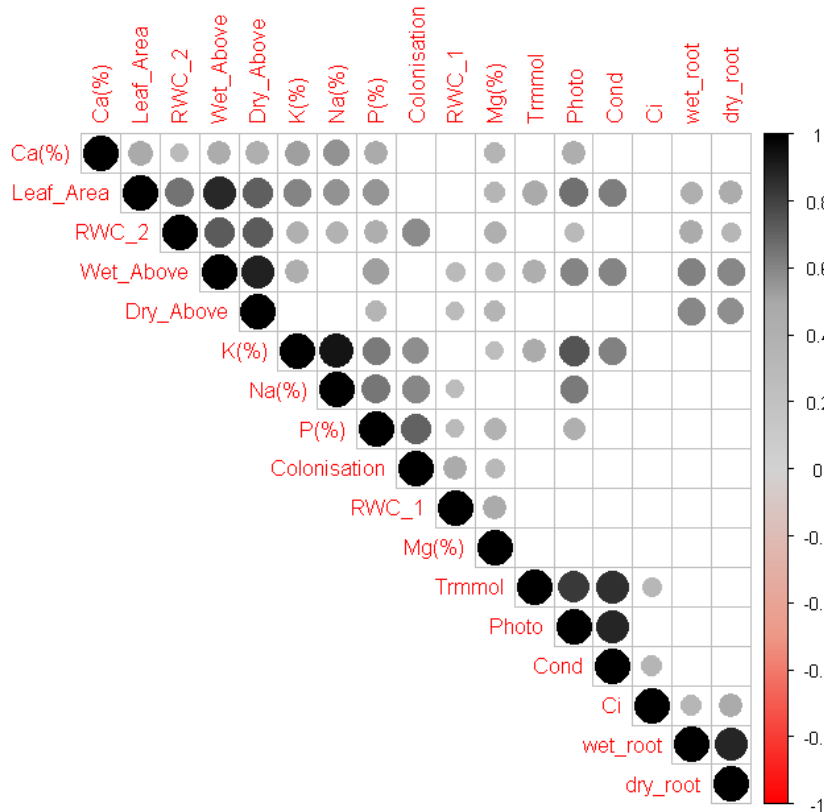
Μετά την ολοκλήρωση του πειράματος προσδιορίστηκε ο αποικισμός των ριζών των φυτών. Το εύρος των τιμών του αποικισμού ήταν μεγάλο, 7 - 68.8%. Υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης παρατηρείται στατιστικώς σημαντική αύξηση του αποικισμού και για τις δύο ενδομυκόρριζες (Διάγραμμα 3.22.). Στην περίπτωση των φυτών που είναι εμβολιασμένα με AMF 20 ο αποικισμός αυξήθηκε από 25.4%, στην πλήρη άρδευση, σε 48.7% στην ελλειμματική άρδευση. Στην περίπτωση του DAOM ο αποικισμός αυξήθηκε από 21.8% σε 37.3%. Μεταξύ των μυκορριζικών επεμβάσεων δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά και στα 2 επίπεδα άρδευσης. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των επεμβάσεων.



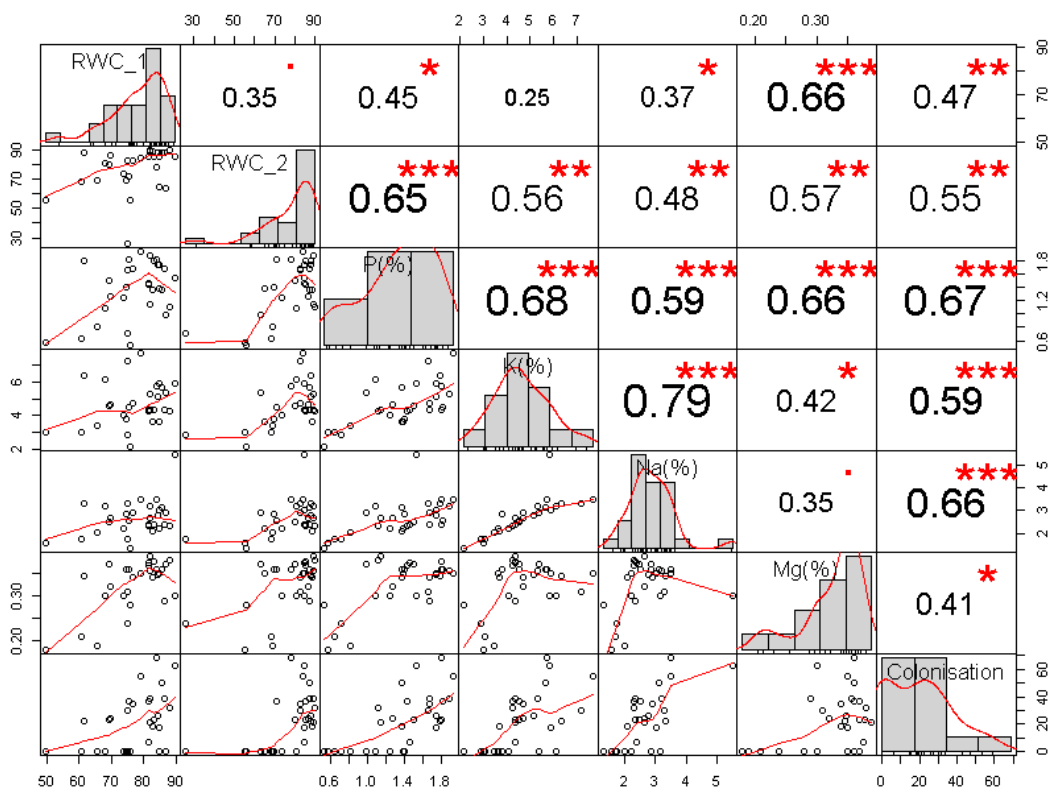
**Διάγραμμα 3.22.** Αποικισμός των εμβολιασμένων φυτών τομάτας. Παρουσιάζονται τα 2 επίπεδα άρδευσης με τα μη εμβολιασμένα και εμβολιασμένα φυτά. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές

Με σκοπό να εξεταστεί η επίδραση του αποικισμού στην απόκριση των φυτών στις διάφορες επεμβάσεις πραγματοποιήθηκε συσχέτιση όλων των αποτελεσμάτων με τον αποικισμό. Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του αποικισμού και των RWC\_1, RWC\_2 και των συγκεντρώσεων P, K, Na Mg (Διάγραμμα 3.23.). Η συσχέτιση των στατιστικώς σημαντικά συσχετιζόμενων μεγεθών με τον αποικισμό παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.24.



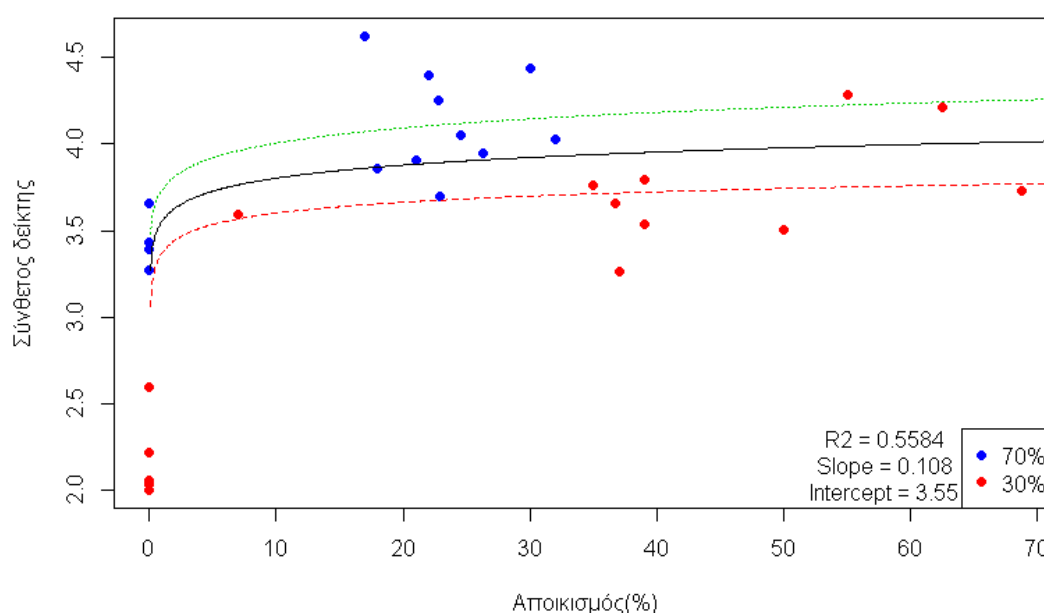


**Διάγραμμα 3.23.** Συσχέτιση όλων των μετρήσεων του πειράματος σύμφωνα με τη μέθοδο “Spearman”. Οι ορατοί κύκλοι του γραφήματος υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Οι μη ορατοί κύκλοι υποδηλώνουν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Το μέτρο του συντελεστή συσχέτισης συμβολίζεται βάσει της διαβάθμισης χρωμάτων που βρίσκεται δεξιά του γραφήματος.



**Διάγραμμα 3.24.** Συσχέτιση αποικισμού με RWC\_1, RWC\_2, P(%), K(%), Na(%) Mg(%). Παρατηρείται το ιστόγραμμα των συσχετιζόμενων μεγεθών και ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης της μεθόδου “Spearman”.  
 Signif. codes: 0 ‘\*\*\*’, 0.001 ‘\*\*’, 0.01 ‘\*’, 0.05 ‘.’, 0.1 ‘.’, 1

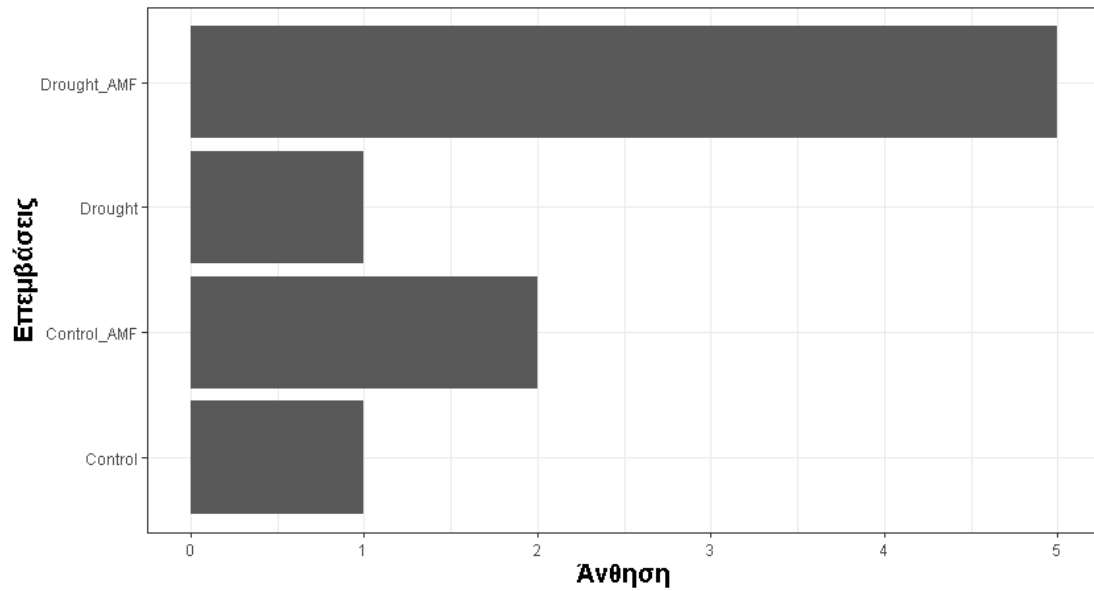
Η εξίσωση παλινδρόμησης του σύνθετου δείκτη με τον αποικισμό περιγράφεται από λογαριθμική καμπύλη με  $r^2 = 0.55$ . Ο αποικισμός των φυτών από AMF βελτίωσε την απόκριση των φυτών στις επεμβάσεις του πειράματος, κυρίως την συγκέντρωση θρεπτικών και την σχετική περιεκτικότητα σε νερό (Διάγραμμα 3.23). Όμως, αν και ο αποικισμός αυξήθηκε στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης, παρατηρείται ότι δεν αυξήθηκε ανάλογα η τιμή του σύνθετου δείκτη. Συνεπώς, ο αποικισμός καθ' αυτός ενίσχυσε την ανάπτυξη των φυτών αλλά η επίδραση αυτή δεν φαίνεται να είναι ανάλογη του ποσοστού του αποικισμού. Αυτό επιβεβαιώνεται και αν αφαιρέσουμε τις τιμές μηδενικού αποικισμού από το διάγραμμα παλινδρόμησης, καθώς χάνεται η σημαντικότητα της του σύνθετου δείκτη με τον αποικισμό.



**Διάγραμμα 3.25.** Η εξίσωση παλινδρόμησης μεταξύ του σύνθετου δείκτη και του αποικισμού περιγράφεται από μία λογαριθμική καμπύλη (μαύρο χρώμα). Οι καμπύλες με κόκκινο και πράσινο χρώμα απεικονίζουν το διάστημα εμπιστοσύνης.

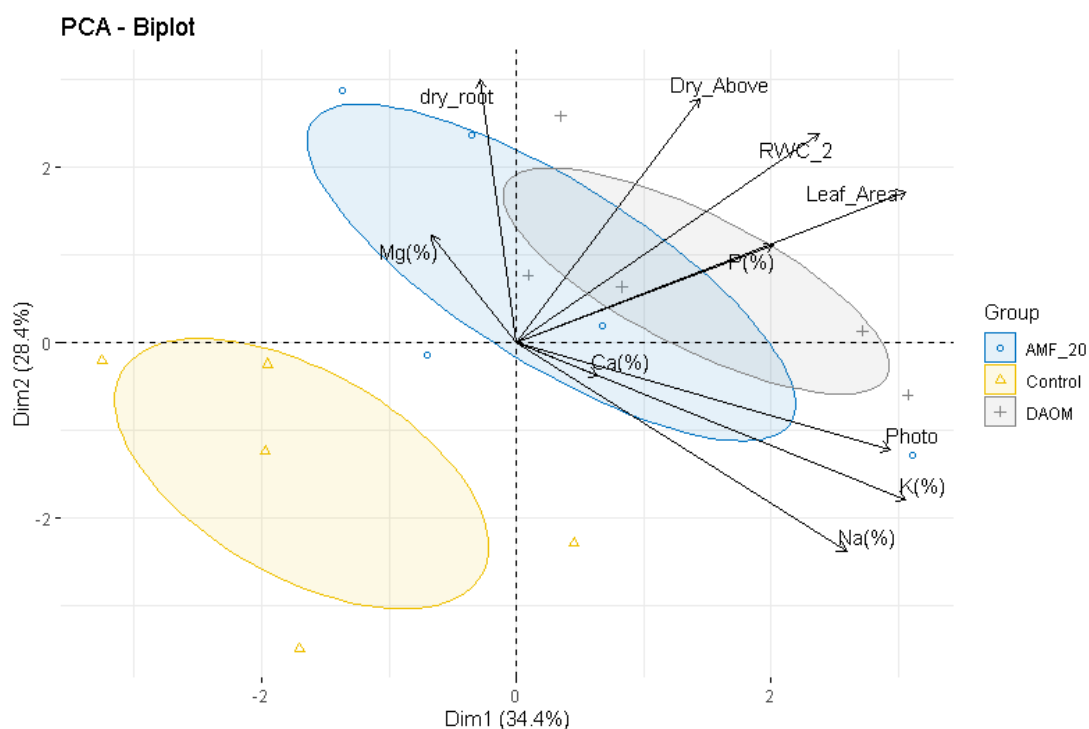
### 3.7 Άνθηση

Στο τέλος του πειράματος παρατηρήθηκε ότι σε κάποιες επεμβάσεις κάποια από τα φυτά βρίσκονταν στο στάδιο της άνθησης. Στο διάγραμμα 3.25 παρατηρείται ότι τα περισσότερα ανθισμένα φυτά είναι τα αποικισμένα και μάλιστα η διαφορά καθίσταται εξαιρετικά μεγάλη στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης.



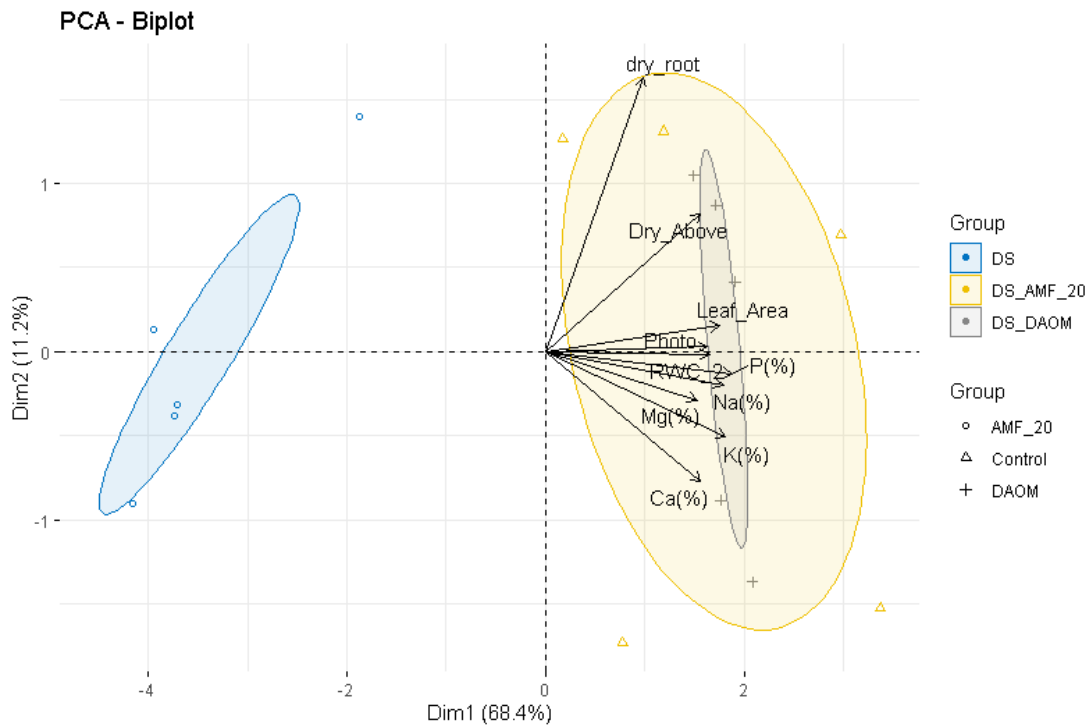
**Διάγραμμα 3.26.** Ο αριθμός των φυτών που βρίσκονταν στο στάδιο της άνθησης κατά την ολοκλήρωση του πειράματος.

### 3.8 Σχέση μεταξύ μεταβλητών και επεμβάσεων



**Διάγραμμα 3.27.** Biplot της ανάλυσης κυρίων συνιστωσών (PCA) για την περίπτωση της πλήρους άρδευσης. Παρατηρούνται όλες οι επεμβάσεις των μικροοργανισμών. Photo = Ρυθμός φωτοσύνθεσης; Na, P, K, Ca, Mg(%) = Συγκεντρώσεις στοιχείων στα φύλλα; Leaf\_Area = Φυλλική Επιφάνεια; Dry\_Above = Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος; Dry\_root = Ξηρό βάρος ρίζας; RWC\_2 = Relative Water Content

Οι δύο άξονες του biplot (Διάγραμμα 3.27) περιγράφουν συνολικά το 62.8% της συνολικής παραλλακτικότητας. Παρατηρείται θετική συσχέτιση των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με DAOM με την PC1 και την PC2. Η ίδια τάση παρατηρείται και στην περίπτωση του AMF20, αν και η συσχέτιση είναι μικρότερη. Αντίθετα, παρατηρείται αρνητική συσχέτιση των μη αποικισμένων φυτών με τις PC1 και PC2. Επομένως, από τις συστάδες φαίνεται ότι υπάρχει ξεκάθαρη επίδραση του αποικισμού στην απόκριση των φυτών στην περίπτωση της πλήρους άρδευσης.



**Διάγραμμα 3.28.** Biplot της ανάλυσης κυρίων συνιστωσών για την περίπτωση της ελλειμματικής άρδευσης. Παρατηρούνται όλες οι επεμβάσεις των μικροοργανισμών. Photo = Ρυθμός φωτοσύνθεσης; Na, P, K, Ca, Mg(%) = Συγκεντρώσεις στοιχείων στα φύλλα; Leaf\_Area = Φυλλική Επιφάνεια; Dry\_Above = Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος; Dry\_root = Ξηρό βάρος ρίζας; RWC\_2 = Relative Water Content.

Οι δύο άξονες του biplot (Διάγραμμα 3.28) περιγράφουν συνολικά το 74% της συνολικής παραλλακτικότητας. Παρατηρείται θετική συσχέτιση των φυτών που έχουν εμβολιαστεί με DAOM και AMF20 με την PC1. Αντίθετα, παρατηρείται αρνητική συσχέτιση των μη αποικισμένων φυτών με την PC1. Επομένως, από τις συστάδες φαίνεται ότι υπάρχει ξεκάθαρη επίδραση του αποικισμού στην απόκριση των φυτών στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης.

## 4. Συζήτηση

### 4.1. Γενικά

Τα φυτά, κατά τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου, έρχονται αντιμέτωπα με συνεχώς μεταβαλλόμενες και συνήθως ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για διάφορα είδη καταπονήσεων. Αυτές οι συνθήκες επηρεάζουν δραματικά την ανάπτυξη, επιβίωση και απόδοση των καλλιεργειών. Από τις αβιοτικές καταπονήσεις η έλλειψη νερού είναι μία από τις σημαντικότερες αιτίες μείωσης της αγροτικής παραγωγής παγκοσμίως. Τα φυτά έχουν εξελίξει μηχανισμούς ώστε να ανταποκρίνονται επιτυχώς σε αυτές τις συνθήκες. Μία από τις επιτυχημένες στρατηγικές είναι η συμβίωση με τους AMF. Είναι ευρέως γνωστό ότι αυτή η αμοιβαία συμβίωση είναι σημαντική για την επιβίωση των φυτών σε δυσμενείς συνθήκες όπως η ξηρασία.

Στο συγκεκριμένο πείραμα μελετήθηκε η απόκριση εμβολιασμένων με AMF φυτών τομάτας σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Συνολικά, οι AMF ενίσχυσαν την ανάπτυξη των φυτών ως προς διάφορες μεταβλητές. Τα αποικισμένα φυτά ανταποκρίθηκαν καλύτερα σε σχέση με τα μη αποικισμένα και στα δύο επίπεδα άρδευσης. Η συμβίωση με τους AMF βοήθησε τα φυτά να ανταποκριθούν αποτελεσματικά στις δυσμενείς συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Η θετική επίδραση των AMF υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης έχει παρατηρηθεί και σε άλλα φυτά όπως ο αραβόσιτος, το ρύζι, τα εσπεριδοειδή, το κριθάρι κ.ά. (Abbaspour et al., 2012, Bárzana et al., 2014, Ruiz-Sánchez et al., 2010, Wu and Zou, 2009).

Η έλλειψη νερού μείωσε σημαντικά τη στοματική αγωγιμότητα όλων των επεμβάσεων με αποτέλεσμα να μειωθεί ο ρυθμός της φωτοσύνθεσης και της διαπνοής. Τα αποικισμένα φυτά, υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, παρουσίασαν αυξημένη αποτελεσματικότητα χρήσης νερού και CO<sub>2</sub> σε σχέση με

τα μη αποικισμένα. Οι Bowles et al. (2016) παρατήρησαν σημαντική αύξηση της φωτοσύνθεσης στα αποικισμένα φυτά αλλά δεν εντόπισαν διαφορές στην αποτελεσματικότητα χρήσης νερού.

Συνεπώς, τα φυτά ανταποκρίθηκαν στην έλλειψη νερού παρουσιάζοντας ισοϋδρική (isohydric) στρατηγική, κατά την οποία τα φυτά διατηρούν σταθερό το υδατικό δυναμικό των κυττάρων τους καθώς κλείνουν τα στομάτια του ως αποτέλεσμα της έλλειψης νερού. Με αυτό τον τρόπο μειώνονται οι απώλειες νερού μέσω της διαπνοής, ενώ το ρίσκο αυτής της στρατηγικής είναι ότι το κλείσιμο των στοματίων μπορεί να μειώσει την αφομοίωση CO<sub>2</sub> και κατ' επέκταση τον ρυθμό φωτοσύνθεσης. Όμως, στη συγκεκριμένη περίπτωση τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν υψηλότερη φωτοσύνθεση παρόλο τη μείωση της στοματικής αγωγιμότητας.

Η αυξημένη φωτοσύνθεση στα αποικισμένα φυτά μπορεί να οφείλεται σε φυσιολογικές επιδράσεις της συμβίωσης. Γενικά, αυτό παρατηρείται στους μύκητες-ενδόφυτα, οι οποίοι στα πλαίσια της συμβίωσης λειτουργώντας ως καταβόθρα C, ενισχύουν την ανάπτυξη και απόδοση των φυτών στις δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Αρκετές μελέτες έχουν εντοπίσει συσχέτιση μεταξύ της ανθεκτικότητας φυτών στην ξηρασία και την διατήρηση της αποτελεσματικότητας της λειτουργίας του φωτοσυστήματος II, με αποτέλεσμα να βελτιώνεται η ανάπτυξη και απόδοση (Loggini et al., 1999, Ruiz-Sánchez et al., 2010). Η αποτελεσματικότερη χρήση νερού και CO<sub>2</sub> δηλώνει ότι η φωτοσυνθετική συσκευή των αποικισμένων φυτών έχει υποστεί μικρότερη ζημιά λόγω της καταπόνησης (Barzana et al., 2012). Μέσω αυτής της στρατηγικής εξασφαλίζεται οικονομία νερού η οποία είναι απαραίτητη στη συγκεκριμένη περίπτωση που το υπόστρωμα δεν χαρακτηρίζεται από μεγάλη υδατοχωρητικότητα. Οι Lozano et al. (2015) επιβεβαιώνουν την ίδια θετική επίδραση της συμβίωσης σε φυτά τομάτας και μαρουλιού υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Εκτός της περίπτωσης ξηρασίας, η θετική

επίδραση των AMF στις οσμωτικές καταπονήσεις έχει επιβεβαιωθεί και σε πείραμα στο οποίο φυτά μαρουλιού αναπτύχθηκαν σε συνθήκες αλατότητας (Aroca et al., 2013).

Επιπλέον, το RWC των καταπονημένων - αποικισμένων φυτών παρέμεινε στο ίδιο επίπεδο με τα μη καταπονημένα φυτά, ενώ στην περίπτωση των μη αποικισμένων φυτών η καταπόνηση προκάλεσε μέχρι και 40% μείωση. Αυτό δηλώνει ότι η κίνηση του νερού διευκολύνεται είτε μέσω της αύξησης της υδραυλικής αγωγιμότητας εντός του φυτού (*in planta*) ή μέσω καλύτερης απορρόφησης νερού από το υπόστρωμα (Kavroulakis et al., 2018). Επομένως, ο ρόλος των ενδομυκορριζών σχετίζεται με την καλύτερη απορρόφηση και μεταφορά νερού (Kavroulakis et al., 2020). Έχει αναφερθεί ότι η συμβίωση με τους AMF βοηθά το φυτό -ξενιστή να παραμένει περισσότερο ενυδατωμένο, καθώς μειώνεται η υγρασία του εδάφους, μέσω της απορρόφησης και μεταφοράς νερού από τις υφές του μύκητα στις αποικισμένες ρίζες (Marulanda et al., 2003). Άλλες μελέτες αναφέρουν ότι οι υφές βοηθούν στην απορρόφηση του νερού μέσω επιδράσεων στην ανατομία της ρίζας ή στη δομή του εδάφους. Ακόμα, οι υφές μπορούν να διατηρήσουν την υδραυλική συνέχεια στο έδαφος ώστε να περιοριστεί η μείωση της υδραυλικής αγωγιμότητας του εδάφους που προκαλείται από την είσοδο αέρα καθώς το έδαφος ξηραίνεται (Smith et al., 2010). Οι Bowles et al. (2016) δεν εντόπισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο RWC μεταξύ των επεμβάσεων.

Στο συγκεκριμένο πείραμα δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στη βιομάζα αποικισμένων και μη αποικισμένων φυτών σε όλες τις περιπτώσεις. Ίσως τα αποικισμένα φυτά μέσω του εξωριζικού μυκηλίου των AMF να έχουν πρόσβαση σε μεγαλύτερο όγκο εδάφους με αποτέλεσμα την καλύτερη πρόσληψη νερού και θρεπτικών. Οι Püschel et al. (2020) παρατήρησαν αύξηση της ποσότητας του νερού που μεταφέρεται μέσω των υφών των AMF αλλά η ποσότητα αυτή ήταν μικρή σε σχέση με τις απαιτήσεις της



διαπνοής. Σε φυτά καλαμποκιού παρατηρήθηκε αυξημένη ροή νερού μέσω του αποπλάστη σε φυτά αποικισμένα από AMF (Bárzana et al. 2012), ενώ σύμφωνα με πολλές μελέτες η υδραυλική αγωγιμότητα της ρίζας συνδέεται με την επίδραση στην έκφραση γονιδίων ακουαπουρινών που προκάλεσε η συμβίωση (Ruiz-Lozano et al., 2006; Aroca et al., 2007; Li et al., 2013).

Τα αποικισμένα από AMF φυτά παρουσίασαν μεγαλύτερη βιομάζα του υπέργειου τμήματος και αυξημένη φυλλική επιφάνεια και στα δύο επίπεδα άρδευσης. Την ίδια επίδραση αναφέρουν οι Amico et al (2002). Η θετική αυτή επίδραση, που φαίνεται να σχετίζεται με τους αυξημένους ρυθμούς φωτοσύνθεσης και την αυξημένη φωτοσυνθετική αποδοτικότητα χρήσης νερού στα αποικισμένα φυτά μπορεί να οφείλεται στην αυξημένη πρόσληψη θρεπτικών (η οποία αποδεικνύεται από τα αποτελέσματα). Τα αποικισμένα φυτά παρουσίασαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις P, K, Ca και Mg σε σχέση με τα μη αποικισμένα. Οι Henderson and Davies (1990) αναφέρουν ότι καθώς η συμβίωση βελτιώνει την πρόσληψη θρεπτικών, όπως ο P, αυξάνεται η ανθεκτικότητα του ξενιστή έναντι της υδατικής καταπόνησης. Οι Bowles et al. (2016) παρατήρησαν σημαντική αύξηση P και N των καταπονημένων και μη καταπονημένων αποικισμένων φυτών τομάτας σε πείραμα υδατικής καταπόνησης που πραγματοποιήθηκε στον αγρό. Η ενισχυμένη ικανότητα της μυκορριζόσφαιρας να απορροφά ένα μη εύκολα μετακινούμενο στοιχείο όπως ο P είναι αναμενόμενο να είναι περισσότερο ωφέλιμη σε ένα ξηρό έδαφος (Neumann and George, 2004; Smith et al., 2009). Η συνεισφορά των AMF στην απορρόφηση P είναι σημαντική ακόμα και όταν η συγκέντρωση P μεταξύ αποικισμένων και μη αποικισμένων φυτών είναι στο ίδιο επίπεδο (Li et al., 2006) καθώς η συνεισφορά των AMF μπορεί να μην είναι φανερή όταν ο πρόσληψη P από τη ρίζα μειώνεται ενώ η πρόσληψη από τις υφές αυξάνεται (Smith and Smith, 2011).

Το ποσοστό αποικισμού αυξήθηκε μέχρι και 25% στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης. Την ίδια παρατήρηση έκαναν οι Ruiz-Lozano et al. (2015), οι οποίοι αναφέρουν ότι σε φυτά τομάτας και μαρουλιού ο αποικισμός ήταν ανάλογος της έντασης της καταπόνησης και αναφέρουν παρόμοια ποσοστά αποικισμού τα οποία υπολογίστηκαν με την ίδια μέθοδο. Αντίθετα, οι Amico et al. (2002) αναφέρουν ότι ο αποικισμός σε φυτά τομάτας μειώθηκε, καθώς η υδατική καταπόνηση περιόρισε τον μεταβολισμό των φυτών, από τον οποίο εξαρτάται η ανάπτυξη του εξωριζικού μυκηλίου (Davies et al., 2002). Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου η υδατική καταπόνηση δεν επηρέασε τον αποικισμό σε φυτά ηλίανθου και σιταριού (Bryla and Duniway 1997) ακόμα και μετά από παρατεταμένη περίοδο ξηρασίας (Nelsen & Safir 1982; Bethlenfalvay et al., 1988). Συνεπώς, η φυσιολογική επίδραση των AMF στην απόκριση των φυτών στην υδατική καταπόνηση είναι αρκετά περίπλοκη και μπορεί να εξαρτάται από το συνδυασμό γονοτύπων φυτού – ξενιστή και AMF, αλλά και περιβαλλοντικών συνθηκών όπως η ένταση του φωτός ή το υπόστρωμα ανάπτυξης. Ο αποικισμός αν και ενίσχυσε την ανάπτυξη των φυτών σε όλες τις περιπτώσεις και βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των ποσοστών αποικισμού και διαφόρων μεταβλητών, φαίνεται ότι η αύξηση του αποικισμού λόγω της υδατικής καταπόνησης δεν οδήγησε σε ανάλογη ενίσχυση στην ανάπτυξη των φυτών. Η ενισχυμένη ανάπτυξη δεν οφείλεται μόνο στα άμεσα οφέλη που παρέχουν οι AMF αλλά και από την τροποποίηση της φυσιολογίας των φυτών ως αποτέλεσμα της συμβίωσης. Επιπλέον τα άμεσα οφέλη μπορεί να έχουν να κάνουν λιγότερο με το ποσοστό αποικισμού και περισσότερο με την ανάπτυξη εξωριζικού μυκηλίου.

Η ανθεκτικότητα των μυκορριζικών φυτών στην υδατική καταπόνηση θεωρείται ότι σχετίζεται με την επίδραση της συμβίωσης στην ομοιόσταση του ABA (Calvo-Polanco et al., 2013; Osakabe et al., 2014; Ruiz-Lozano et al., 2012). Τα φυτά ρυθμίζουν τα επίπεδα ABA συνεχώς καθώς αναπτύσσονται σε

διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες. Έχει παρατηρηθεί αύξηση του ABA σε αποικισμένα και μη αποικισμένα φυτά σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Πέρα από το ρόλο του στις διάφορες καταπονήσεις το ABA είναι επίσης σημαντικό για την εγκατάσταση και λειτουργία της συμβίωσης (Herrera-Medina et al., 2007; Martín-Rodríguez et al., 2010). Επομένως, η αύξηση του ABA στα καταπονημένα φυτά δε βοηθά μόνο στην αντιμετώπιση της καταπόνησης αλλά και στην διατήρηση της λειτουργικής συμβίωσης με τους AMF. Πριν την εγκατάσταση της συμβίωσης πραγματοποιείται ένας μοριακός διάλογος μεταξύ των συμβιωτών, κατά τον οποίο οι στριγγολακτόνες (SL) παίζουν σημαντικό ρόλο. Είναι γνωστό ότι παρατηρείται αύξηση της παραγωγής των SL σε συνθήκες τροφοπενίας διαφόρων θρεπτικών, κυρίως του P, με σκοπό την ενίσχυση της ανάπτυξης των AMF και την εγκατάσταση της συμβίωσης. Έχει παρατηρηθεί μείωση των SLs σε μη αποικισμένα φυτά μαρουλιού και τομάτας υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης και αλατότητας (Aroca et al., 2013; Ruiz-Lozano et al., 2015). Η μείωση αυτή ήταν ανάλογη της έντασης της καταπόνησης. Αντίθετα, η αντίθετη συμπεριφορά παρατηρείται στα αποικισμένα φυτά. Σε αποικισμένα φυτά μαρουλιού που αναπτύχθηκαν σε συνθήκες αλατότητας αυξήθηκε η παραγωγή SLs (Ruiz-Lozano et al. 2015). Το ίδιο παρατηρήθηκε σε φυτά μαρουλιού και τομάτας που αναπτύχθηκαν σε συνθήκες ξηρασίας. Επομένως, φαίνεται ότι η απόκριση των φυτών στις καταπονήσεις εξαρτάται από την παρουσία ή απουσία των AMF. Τα φυτά αντιλαμβάνονται την παρουσία των AMF, μέσω των Myc factors, και παράγουν SLs ώστε μέσω της συμβίωσης να ανταπεξέλθουν στην καταπόνηση. Επικρατεί η άποψη ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ της παραγωγής του ABA και των SLs καθώς έχουν παρόμοια βιοσυνθετική προέλευση επειδή και τα δύο μόρια είναι αποκαρετινοειδή και παίζουν πρωταγωνιστικό ρόλο στις καταπονήσεις. Αν και έχει αναφερθεί αρνητική και θετική συσχέτιση μεταξύ του ABA και των SLs σε μη αποικισμένα και

αποικισμένα φυτά αντίστοιχα όταν αναπτύσσονται σε συνθήκες καταπόνησης, έχουν παρουσιαστεί αντιφατικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα έχει παρουσιαστεί μείωση των επιπέδων των SLs σε αποικισμένα φυτά, ώστε να εμποδιστεί ο περαιτέρω αποικισμός ή για να μειωθούν οι επιπτώσεις της καταπόνησης. Επομένως, αυτή η αλληλεπίδραση χρειάζεται περισσότερο μελέτη καθώς δεν έχει εξακριβωθεί ο ακριβής ρόλος αυτών των ορμονών (López-Ráez, 2016).

Τα φυτά όταν αναπτύσσονται σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η έντονη ξηρασία, μπορούν να ανθήσουν νωρίτερα ώστε να καταφέρουν να αναπαραχθούν. Στο συγκεκριμένο πείραμα άνθησαν όλα τα αποικισμένα φυτά τα οποία αναπτύσσονταν υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Πιθανότατα, ο αποικισμός σε συνθήκες ξηρασίας να επιτάχυνε τη μετάβαση των φυτών από το βλαστητικό στο αναπαραγωγικό στάδιο, γεγονός το οποίο σε επίπεδο οικολογίας εξασφαλίζει την αναπαραγωγική επιτυχία των φυτών. Τέλος, θα ήταν ενδιαφέρον να μελετηθεί εάν λόγω της γρηγορότερης άνθησης παρατηρούνται μεταβολές στην παραγωγή σε επίπεδο καλλιέργειας.

## 5. Συμπεράσματα

### 5.1. Γενικά

Λαμβάνοντας υπ' όψιν τα αποτελέσματα του πειράματος μπορούν να διεξαχθούν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Ο αποικισμός από AMF ενισχύει την ανάπτυξη των φυτών αυξάνοντας τη βιομάζα ύψος, αριθμό φύλλων φυλλική επιφάνεια και πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων.
- Η θετική επίδραση του αποικισμού διατηρείται και σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, με αποτέλεσμα τα φυτά να ανταποκρίνονται αποτελεσματικότερα στην υδατική καταπόνηση.
- Τα καταπονημένα – αποικισμένα φυτά ακολουθούν την στρατηγική οικονομίας νερού ενώ διατηρούν ομαλή λειτουργία των στομάτων και υψηλή φωτοσυνθετική δραστηριότητα και φωτοσυνθετική αποδοτικότητα χρήσης νερού.
- Το ποσοστό του αποικισμού σχετίζεται με τη βελτιωμένη απόκριση των φυτών αλλά η επίδραση αυτή δεν είναι αναλογική. Φαίνεται πως ο αποικισμός, καθ' αυτός να επηρέασε την ανάπτυξη των φυτών (και όχι τόσο το ποσοστό του).
- Η συμβίωση ίσως βοηθά σε οικολογικό επίπεδο το φυτό ξενιστή να αναπαραχθεί επιτυχώς όταν αναπτύσσεται σε δυσμενείς συνθήκες.

Συνολικά, οι AMF παίζουν σημαντικό θετικό ρόλο στην απόκριση των φυτών στην υδατική κατανόηση. Επομένως, προτείνεται η χρήση τους να μελετηθεί περαιτέρω και να αποτελέσει καλλιεργητική τεχνική στα πλαίσια ολοκληρωμένη διαχείρισης καλλιεργούμενων φυτών, ειδικά σε περιβάλλοντα περιορισμένης διαθεσιμότητας νερού και ελλειμματικής

άρδευσης. Εκτός από τον εμβολιασμό, θα πρέπει να υιοθετούνται και στρατηγικές διατήρησης και ενίσχυσης του πληθυσμού των AMF όπως η αποφυγή έντονης/ασκοπης εδαφοκατεργασίας ή χρήση μυκητοκτόνων ή απολυμαντικών εδάφους, διατήρηση βιοποικιλότητας στον αγρό η ισορροπημένη χρήση λιπασμάτων κ.ά.. Τέλος αν και η συμβίωση είναι αρκετά διαδεδομένη στη φύση, αρκετά βασικά θέματα της αλληλεπίδρασης ξενιστή – AMF δεν έχουν πλήρως κατανοηθεί. Από τα ερωτήματα αυτά σε συνδυασμό με το ότι πλέον το εμπόριο πρέπει να προσαρμοστεί στη νέα νομοθεσία για τα λιπάσματα (Καν.1009/2019) προκύπτει η ανάγκη πραγματοποίησης περισσότερων μελετών των ενδομυκορριζών σε επίπεδο εδαφολογίας, μικροβιολογίας, οικολογίας, φυσιολογίας, βιοχημείας κ.ά. ώστε να κατανοηθεί η βιολογία τους και να συνεισφέρουν στην αγροτική παραγωγή.

## 6. Βιβλιογραφία

### Ελληνική Βιβλιογραφία

- Καραμπουνιώρης, Γ.Α. (2012). Φυσιολογία καταπονήσεων των φυτών. Αθήνα.
- Ολύμπιος, Χ.Μ. (2015). Η τεχνική της καλλιέργειας των υπαίθριων κηπευτικών. Αθήνα.
- Ολύμπιος, Χ.Μ. (2001). Η τεχνικής της καλλιέργειας των κηπευτικών στο θερμοκήπιο. Αθήνα.
- Πουλοβασίλης, Α. (2010). Εισαγωγή στις αρδεύσεις. Αθήνα.
- Σωτηρίου, Κ., Βαβδινούλη, Γ.Ε. (2010). Εγχειρίδιο στην Τεχνική των Διασταυρώσεων στα Καλλιεργούμενα φυτά. Θεσσαλονίκη.
- Τζάμος, Ε. (2007).
- Φυτοπαθολογία. 'Β έκδοση. Εκδόσεις Σταμούλης Α. Ε. Αθήνα.
- Καλογήρου, Μ. (2014). Απαιτήσεις και επισημάνσεις για την υπαίθρια, θερμοκηπιακή και υδροπονική καλλιέργεια. *Γεωργία –Κτηνοτροφία* 12. 48-53.
- Αγρότυπος. (2019) Υβρίδια τομάτας θερμοκηπίου στην αγορά. *Γεωργία – Κτηνοτροφία* 11: 52-58.
- Σωτηρίου, Κ., Βαβδινούλη, Γ.Ε. (2010). Εγχειρίδιο στην Τεχνική των Διασταυρώσεων στα Καλλιεργούμενα φυτά. Θεσσαλονίκη.

### Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- Aasamma, K., Sober, A., and Rahi, M. (2001). Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Austr. J. Plant. Physiol.* 28: 765-774.
- Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H., & Abdel-Wahhab, M. A. (2012). Tolerance of Mycorrhiza infected Pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *Journal of Plant Physiology*, 169(7), 704–709.

- Ackerson, R. C. (1985). Osmoregulation in cotton in response to water stress: III. Effects of phosphorus fertility. *Plant Physiology*, 77(2), 309-312.
- Afzal, Z., Howton, T. C., Sun, Y., & Mukhtar, M. S. (2016). The roles of aquaporins in plant stress responses. *Journal of developmental biology*, 4(1), 9.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. Cambridge.
- Allen, M. F., Smith, W. K., Jr MOORE, T. S., & Christensen, M. (1981). Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *bouteloua gracilis* hbk lag ex steud. *New Phytologist*, 88(4), 683-693.
- Ames, R. N., Reid, C. P. P., Porter, L. K., & Cambardella, C. (1983). Hyphal uptake and transport of nitrogen from two <sup>15</sup>N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*, 95(3), 381-396.
- Apel, K., and Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373–399.
- Arines, J., Vilarino, A., & Sainz, M. (1989). Effect of different inocula of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on manganese content and concentration in red clover (*Trifolium pratense* L.) plants. *New Phytologist*, 112(2), 215-219.
- Aroca, R., Ruiz-Lozano, J. M., Zamarreño, Á. M., Paz, J. A., García-Mina, J. M., Pozo, M. J., & López-Ráez, J. A. (2013). Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences strigolactone production under salinity and alleviates salt stress in lettuce plants. *Journal of plant physiology*, 170(1), 47-55.
- Baas, R., van der Werf, A., & Lambers, H. (1989). Root respiration and growth in *Plantago major* as affected by vesicular-arbuscular mycorrhizal infection. *Plant Physiology*, 91(1), 227-232.



- Bago, B., Pfeffer, P. E., Zipfel, W., Lammers, P., & Shachar-Hill, Y. (2002). Tracking metabolism and imaging transport in arbuscular mycorrhizal fungi. *Metabolism and transport in AM fungi. Plant and Soil*, 244(1-2), 189-197.
- Barnett, N. M., & Naylor, A. W. (1966). Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Plant Physiology*, 41(7), 1222-1230.
- Barr, H. D., & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust J Biol Sci*, 15(3), 413-428.
- Bárzana G., Aroca R., Bienert P., Chaumont F. & Ruiz-Lozano J.M. (2014) New insights into the regulation of aquaporins by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize plants under drought stress and possible implications for plant performance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 27, 349–363.
- Bárzana, G., Aroca, R., Bienert, G. P., Chaumont, F., & Ruiz-Lozano, J. M. (2014). New Insights into the Regulation of Aquaporins by the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis in Maize Plants Under Drought Stress and Possible Implications for Plant Performance. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 27(4), 349–363.
- Baxter, I. (2009). Ionomics: studying the social network of mineral nutrients. *Current opinion in plant biology*, 12(3), 381-386.
- Bergounoux, V. (2014). The history of tomato: from domestication to biopharming. *Biotechnology advances*, 32(1), 170-189.
- Berkowitz, G. A., & Wu, W. (1993). Magnesium, potassium flux and photosynthesis. *Magnesium research*, 6(3), 257.
- Bethlenfalvay, G. J., Brown, M. S., Ames, R. N., & Thomas, R. S. (1988). Effects of drought on host and endophyte development in mycorrhizal soybeans in relation to water use and phosphate uptake. *Physiologia Plantarum*, 72(3), 565-571.

- Bonfante, P., & Genre, A. (2008). Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. *Trends in plant science*, 13(9), 492-498.
- Bonfante, P., & Genre, A. (2010). Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature communications*, 1(1), 1-11.
- Bowles, T. M., Jackson, L. E., Loeher, M., & Cavagnaro, T. R. (2016). Ecological intensification and arbuscular mycorrhizas: a meta-analysis of tillage and cover crop effects. *Journal of Applied Ecology*, 54(6), 1785–1793.
- Bowles, T. M., Jackson, L. E., Loeher, M., & Cavagnaro, T. R. (2016). Ecological intensification and arbuscular mycorrhizas: a meta-analysis of tillage and cover crop effects. *Journal of Applied Ecology*, 54(6), 1785–1793.
- Bresta, P., Nikolopoylos, D., Ekonomou, G., Vahamidis, P., Lyra, D., Karamanos, A., and Karabourniotis, G. (2011). Modification of water entry (xylem vessels) and water exit (stomata) orchestrates long term drought acclimation of wheat leaves. *Plant and Soil*. 347: 179-193.
- Brueck, H. (2008). Effects of nitrogen supply on water use efficiency of higher plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(2), 210-219.
- Bryla, D. R., & Duniway, J. M. (1997). Effects of mycorrhizal infection on drought tolerance and recovery in safflower and wheat. *Plant and soil*, 197(1), 95-103.
- Cakmak, I. (2005). The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 521-530.
- Calvo-Polanco, M., Sánchez-Romera, B., & Aroca, R. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi and the tolerance of plants to drought and salinity. In *Symbiotic endophytes* (pp. 271-288). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Chen, E. C., Mathieu, S., Hoffrichter, A., Sedziewska-Toro, K., Peart, M., Pelin, A., ... & Brachmann, A. (2018). Single nucleus sequencing reveals evidence of inter-nucleus recombination in arbuscular mycorrhizal fungi. *Elife*, 7, e39813.
- Clarkson, D. T., Carvajal, M., Henzler, T., Waterhouse, R. N., Smyth, A. J., Cooke, D. T., & Steudle, E. (2000). Root hydraulic conductance: diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress. *Journal of Experimental Botany*, 51(342), 61-70.
- Davies Jr, F. T., Olalde-Portugal, V., Aguilera-Gomez, L., Alvarado, M. J., Ferrera-Cerrato, R. C., & Boutton, T. W. (2002). Alleviation of drought stress of Chile ancho pepper (*Capsicum annum* L. cv. San Luis) with arbuscular mycorrhiza indigenous to Mexico. *Scientia Horticulturae*, 92(3-4), 347-359.
- Davies Jr, F. T., Potter, J. R., & Linderman, R. G. (1992). Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plants independent of plant size and nutrient content. *Journal of Plant Physiology*, 139(3), 289-294.
- Davies, P. G. (2005). *Plant hormones, Physiology, biochemistry and molecular biology*. 2nd. ed.
- Degens, B. (1997). A novel approach for assessing the pattern of catabolic potential of soil microbial communities. In *Microbial communities* (pp. 206-214). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Dehne, H. W., & Schönbeck, F. (1979). The influence of endotrophic mycorrhiza on plant diseases. 2. Phenolmetabolism and lignification [cucumbers, tomatoes, fungal diseases]. *Phytopathologische Zeitschrift*.
- Dehne, H. W., & Schönbeck, F. (1979). The influence of endotrophic mycorrhiza on plant diseases. 2.

- Phenolmetabolism and lignification [cucumbers, tomatoes, fungal diseases]. *Phytopathologische Zeitschrift*.
- Dehne, H.-W. and Schönbeck, F. (1979a). Untersuchungen zum Einfluß der endotrophen Mykorrhiza auf Pflanzenkrankheiten. I. Ausbreitung von *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Tomaten. *Phytopath. Z.* 95, 105–110.
- Dehne, H.-W. und Schönbeck, F. (1979b). Untersuchungen zum Einfluß der endotrophen Mykorrhiza auf Pflanzenkrankheiten. II. Phenolstoffwechsel und Lignifizierung. *Phytopath. Z.* 95, 210–216.
- Delauney, A.J. and Verma, D.P.S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant J.* 4: 215-223.
- Dell'Amico, J., Torrecillas, A., Rodriguez, P., Morte, A., & SÁNCHEZ-BLANCO, M. J. (2002). Responses of tomato plants associated with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus clarum* during drought and recovery. *The Journal of Agricultural Science*, 138(4), 387.
- Dickson, S. (2004). The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 187-200.
- Dietz, K. J., Jacob, S., Oelze, M. L., Laxa, M., Tognetti, V., and De Miranda, S. M., (2006). The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism. *J. Exp. Bot.* 57: 1697–1709.
- Díez, M. J., & Nuez, F. (2008). Tomato. In *Vegetables II* (pp. 249-323). Springer, New York, NY.
- Douds, D. D., Johnson, C. R., & Koch, K. E. (1988). Carbon cost of the fungal symbiont relative to net leaf P accumulation in a split-root VA mycorrhizal symbiosis. *Plant physiology*, 86(2), 491-496.
- Epstein, E. (1999). Silicon. *Annual review of plant biology*, 50(1), 641-664.
- Faber, B. A., Zasoski, R. J., Munns, D. N., & Shackel, K. (1991). A method for measuring hyphal nutrient and water uptake in mycorrhizal plants. *Canadian Journal of Botany*, 69(1), 87-94.

- Fitter, A. H. (1988). Water relations of red clover *Trifolium pratense* L. as affected by VA mycorrhizal infection and phosphorus supply before and during drought. *Journal of experimental botany*, 39(5), 595-603.
- Fitter, A. H. (1991). Costs and benefits of mycorrhizas: implications for functioning under natural conditions. *Experientia*, 47(4), 350-355.
- Fomina, M. A., Alexander, I. J., Colpaert, J. V., & Gadd, G. M. (2005). Solubilization of toxic metal minerals and metal tolerance of mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(5), 851-866.
- Foyer, C.H. and Noctor, G. (2003). Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiol Plant* 119: 355–364.
- Garcia-Garrido, J. M. and Ocampo, J. A. (1989). Effect of VA mycorrhizal infection of tomato on damage caused by *Pseudomonas syringae*. *Soil Biol. Biochem.* 21, 165–167.
- Garg, N., & Aggarwal, N. (2012). Effect of mycorrhizal inoculations on heavy metal uptake and stress alleviation of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. genotypes grown in cadmium and lead contaminated soils. *Plant Growth Regulation*, 66(1), 9-26.
- Gechev, T.S., Bresemgem, F.V., Stones, J.M., Denev, I., and Laloi, C. (2006). Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *Bioessays* 28: 1091-1101.
- George, E., Häussler, K.-U., Vetterlein, D., Gorgus, E. and Marschner, H. (1992a). Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae*. *Can. J. Bot.* 70, 2130–2137.
- George, T., Ladha, J. K., Buresh, R. J. and Garrity, D. P. (1992b) Managing native and legume-fixed nitrogen in lowland rice-based cropping systems. *Plant Soil* 141, 69–91.
- Gerdemann, J. W. (1975). Vesicular-arbuscular mycorrhizae. The development and function of roots, 575-591.

- Gianinazzi-Pearson, V., Branzanti, B., & Gianinazzi, S. (1989). In vitro enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus by host root exudates and plant flavonoids. *Symbiosis*.
- Gildon, A. and Tinker, P. B. (1983a). Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.* 94, 247–261.
- Gildon, A. and Tinker, P. B. (1983b). Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infections and heavy metals in plants. II. The effects of infection on uptake of copper. *New Phytol.* 95, 263–268
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*, 489-500.
- Giovannetti, M., Azzolini, D., & Citrinesi, A. S. (1999). Anastomosis formation and nuclear and protoplasmic exchange in arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(12), 5571-5575.
- Glassop, D., Smith, S. E., & Smith, F. W. (2005). Cereal phosphate transporters associated with the mycorrhizal pathway of phosphate uptake into roots. *Planta*, 222(4), 688-698.
- Gonzalez-Chavez, M. C., Carrillo-Gonzalez, R., Wright, S. F., & Nichols, K. A. (2004). The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental pollution*, 130(3), 317-323.
- Gonzalez-Chavez, M. C., Carrillo-Gonzalez, R., Wright, S. F., & Nichols, K. A. (2004). The role of glomalin, a protein

- produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental pollution*, 130(3), 317-323.
- Gregory, P. J. (2006). Roots, rhizosphere and soil: the route to a better understanding of soil science?. *European Journal of Soil Science*, 57(1), 2-12.
- Gunjal, S. S., & PATIL, L. (1992). Mycorrhizal control of wilt in casuarina (No. 31224).
- Guo, S., Brück, H., & Sattelmacher, B. (2002). Effects of supplied nitrogen form on growth and water uptake of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Plant and Soil*, 239(2), 267-275.
- Gupta, A. S., Berkowitz, G. A., & Pier, P. A. (1989). Maintenance of photosynthesis at low leaf water potential in wheat: role of potassium status and irrigation history. *Plant Physiology*, 89(4), 1358-1365.
- Guzmán, A., Corradini, F., Martínez, J. P., & Torres, A. (2017). *Manual de cultivo del tomate al aire libre*.
- Harley, J. L., & Smith, S. E. (1983). Growth and carbon metabolism of ectomycorrhizal plants. *My-corrhizal symbiosis* (Harley JL, Smith SE, eds) Academic Press, London, 183-200.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J., and Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments. *Plant Signaling and & Behaviour* 7: 1-11.
- Heggo, A., Angle, J. S., & Chaney, R. L. (1990). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. *Soil Biology and Biochemistry*, 22(6), 865-869.
- Hendershot, W. H., Lalonde, H., & Duquette, M. (1993). Soil reaction and exchangeable acidity. *Soil sampling and methods of analysis*, 2.
- HENDERSON, J. C., & DAVIES, F. T. (1990). Drought acclimation and the morphology of mycorrhizal *Rosa hybrida*

- L. cv. "Ferdy" is independent of leaf elemental content. *New Phytologist*, 115(3), 503–510.
- Herrera-Medina, M. J., Steinkellner, S., Vierheilig, H., Ocampo Bote, J. A., & Garcia Garrido, J. (2007). Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*, 175(3), 554–564.
- Hijri, M., & Sanders, I. R. (2005). Low gene copy number shows that arbuscular mycorrhizal fungi inherit genetically different nuclei. *Nature*, 433(7022), 160–163.
- Hirayama, T., and Shinozaki, K. (2010). Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *Plant J.* 61: 1041–1052
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California agricultural experiment station, 347(2nd edit).
- Hodge, A. (2006). Plastic plants and patchy soils. *Journal of experimental botany*, 57(2), 401–411.
- Hsiao, T. C. (1973). Plant responses to water stress. *Annual review of plant physiology*, 24(1), 519–570.
- Iturbe-Ormaetxe, I., Arrese-Igor, E., and Becana, M. (1998). Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat. *Plant Physiol.* 116: 173–181.
- Jennings, D. H. (1989). Some perspectives on nitrogen and phosphorus metabolism in fungi. Nitrogen, phosphorus and sulphur utilization by fungi, 1–31.
- Johansen, A., Jakobsen, I., & Jensen, E. S. (1992). Hyphal transport of  $^{15}\text{N}$ -labelled nitrogen by a vesicular—arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. *New Phytologist*, 122(2), 281–288.
- Johnson, N. C., Graham, J. H., & Smith, F. A. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism—parasitism continuum. *The New Phytologist*, 135(4), 575–585.



- Jones, D. L., Nguyen, C., & Finlay, R. D. (2009). Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil–root interface. *Plant and soil*, 321(1-2), 5-33.
- Kassambara, A., & Mundt, F. (2017). Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. *R package version*, 1(5), 337-354.
- Kavroulakis, N., Doupis, G., Papadakis, I. E., Ehaliotis, C., & Papadopoulou, K. K. (2018). Tolerance of tomato plants to water stress is improved by the root endophyte *Fusarium solani* FsK. *Rhizosphere*, 6, 77–85.
- Kavroulakis, N., Tsiknia, M., Ipsilantis, I., Kavadia, A., Stedel, C., Psarras, G., Tzerakis, C., Doupis, G., Karpouzas, D. G., Papadopoulou, K. K., & Ehaliotis, C. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungus inocula from coastal sand dunes arrest olive cutting growth under salinity stress. *Mycorrhiza*, 30(4), 475–489.
- Keymer, A., & Gutjahr, C. (2018). Cross-kingdom lipid transfer in arbuscular mycorrhiza symbiosis and beyond. *Current opinion in plant biology*, 44, 137-144.
- Khaosaad, T., García-Garrido, J. M., Steinkellner, S., & Vierheilig, H. (2007). Take-all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(3), 727-734.
- Khaosaad, T., García-Garrido, J. M., Steinkellner, S., & Vierheilig, H. (2007). Take-all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(3), 727-734.
- Knight, H., Brandt, S., & Knight, M. R. (1998). A history of stress alters drought calcium signalling pathways in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 16(6), 681-687.
- KOIDE, R. (1985). The effect of VA mycorrhizal infection and phosphorus status on sunflower hydraulic and stomatal properties. *Journal of Experimental Botany*, 36(7), 1087-1098.

- Kornberg, A., Rao, N. N., & Ault-Riche, D. (1999). Inorganic polyphosphate: a molecule of many functions. *Annual review of biochemistry*, 68(1), 89-125.
- Kothari, S. K., Marschner, H. and George, E. (1990). Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize. *New Phytol.* 116, 303–311.
- Kothari, S. K., Marschner, H. and Römheld, V. (1990a). Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil. *Plant Soil* 131, 177–185.
- Kothari, S. K., Marschner, H. and Römheld, V. (1990b). Direct and indirect effects of VA mycorrhiza and rhizosphere microorganisms on mineral nutrient acquisition by maize (*Zea mays* L.) in a calcareous soil. *New Phytol.* 116, 637–645
- Kothari, S. K., Marschner, H., & Römheld, V. (1991). Effect of a vesicular–arbuscular mycorrhizal fungus and rhizosphere microorganisms on manganese reduction in the rhizosphere and manganese concentrations in maize (*Zea mays* L.). *New Phytologist*, 117(4), 649-655.
- Kramer, P. J., & Boyer, J. S. (1995). *Water relations of plants and soils*. Academic press.
- Kuhn, G., Hijri, M., & Sanders, I. R. (2001). Evidence for the evolution of multiple genomes in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 414(6865), 745-748.
- Lambers, H., Atkin, O. K., & Millenaar, F. F. (1996). Respiratory patterns in roots in relation to their functioning. *Plant roots. The hidden half*, 3, 521-552.
- Lambert, D. H. and Weidensaul, T. C. (1991). Element uptake by mycorrhizal soybean from sewage-sludge-treated soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55, 393–397.
- Lawlor, D. W., & Tezara, W. (2009). Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient

- leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Annals of botany*, 103(4), 561-579.
- Lawlor, D.W., (2002). *Phyotosynthesis* . Oxford: Biosis Scientific Publishers.
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of statistical software*, 25(1), 1-18.
- Leyval, C., Turnau, K., & Haselwandter, K. (1997). Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, 7(3), 139-153.
- Li, X. L., George, E., & Marschner, H. (1991). Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant and Soil*, 136(1), 41-48.
- Li, X.-L., Marschner, H. and George, E. (1991b). Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. *Plant Soil* 136, 49–57.
- Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E., & Navari-Izzo, F. (1999). Antioxidative Defense System, Pigment Composition, and Photosynthetic Efficiency in Two Wheat Cultivars Subjected to Drought. *Plant Physiology*, 119(3), 1091–1100.
- López-Ráez, J. A. (2016). How drought and salinity affect arbuscular mycorrhizal symbiosis and strigolactone biosynthesis?. *Planta*, 243(6), 1375-1385.
- Lozano, R., Carpenter, A., & Huisingh, D. (2015). A review of ‘theories of the firm’ and their contributions to Corporate Sustainability. *Journal of Cleaner Production*, 106, 430–442.
- Ma, J. F., Mitani, N., Nagao, S., Konishi, S., Tamai, K., Iwashita, T., & Yano, M. (2004). Characterization of the silicon uptake system and molecular mapping of the silicon transporter gene in rice. *Plant physiology*, 136(2), 3284-3289.
- Marschner, H. (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*.

- Marulanda, A., Azcon, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2003). Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiologia Plantarum*, 119(4), 526–533.
- Maurel, C., Verdoucq, L., Luu, D. T., & Santoni, V. (2008). Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 595-624.
- Maurel, C., Verdoucq, L., Luu, D.-T. and Santoni, V. (2008). Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 595–624.
- McDonald, A., & Davies, W. J. (1996). Keeping in touch: responses of the whole plant to deficits. *Advances in Botanical Research*, 22, 229.
- McLaughlin, S. B., & Wimmer, R. (1999). Tansley review no. 104: calcium physiology and terrestrial ecosystem processes. *New Phytologist*, 142(3), 373-417.
- Mendiburu FD (2015) agricolae: statistical procedures for agricultural research. R package version 1.3-1. [https://CRAN.R-project.org/package = agricolae](https://CRAN.R-project.org/package=agricolae)
- Meyer, S., & Genty, B. (1999). Heterogeneous inhibition of photosynthesis over the leaf surface of *Rosa rubiginosa* L. during water stress and abscisic acid treatment: induction of a metabolic component by limitation of CO<sub>2</sub> diffusion. *Planta*, 210(1), 126-131.
- Meyer, S., and Genty, B. (1999). Heterogenous inhibition of photosynthesis over the leaf surface of *Rosa rubinosa* L. during water stress and absisic acid treatment: induction of a metabolic component by limitation of CO<sub>2</sub> diffusion. *Planta* 210: 126-131.
- Mills, H. A., & Jones Jr, J. B. (1996). *Plant analysis handbook II: A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide* (No. 581.13 M657).

- Mouat, M. C. H., & Nes, P. (1986). Influence of soil water content on the supply of phosphate to plants. *Soil Research*, 24(3), 435-440.
- Murphy, J. A. M. E. S., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica chimica acta*, 27, 31-36.
- Muthukumar, T., Udaiyan, K., & Shanmughavel, P. (2004). Mycorrhiza in sedges—an overview. *Mycorrhiza*, 14(2), 65-77.
- Nelsen, C. E., & Safir, G. (1982). Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved phosphorus nutrition. *Planta*, 154(5), 407-413.
- Neumann, E., & George, E. (2004). Colonisation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) enhanced phosphorus uptake from dry soil in *Sorghum bicolor* (L.). *Plant and Soil*, 261(1/2), 245–255.
- Neumann, E., & George, E. (2010). Nutrient uptake: the arbuscular mycorrhiza fungal symbiosis as a plant nutrient acquisition strategy. In *Arbuscular mycorrhizas: Physiology and function* (pp. 137-167). Springer, Dordrecht.
- Noctor, G., Mhamdi, A., and Foyer, C.H. (2014). The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant Physiol.* 164: 1636–1648.
- Noctor, G., Mhamdi, A., and Foyer, C.H. (2014). The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant Physiol.* 164: 1636–1648.
- Nonnecke, I. L. (1989). Solanaceous crops: Potato, Tomato, Pepper, Eggplant. *Vegetable production*, 240-250.
- Ober, E. S., & Sharp, R. E. (2003). Electrophysiological responses of maize roots to low water potentials: relationship to growth and ABA accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 54(383), 813-824.
- Olsen, S. R., Watanabe, F. S., & Danielson, R. E. (1961). Phosphorus absorption by corn roots as affected by moisture

- and phosphorus concentration. *Soil Science Society of America Journal*, 25(4), 289-294.
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., & Tran, L. S. P. (2014). Response of plants to water stress. *Frontiers in plant science*, 5, 86.
- Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 763-775.
- Perrin, R. (1990). Interactions between mycorrhizae and diseases caused by soil-borne fungi. *Soil Use and Management*, 6(4), 189-194.
- Philips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal for rapid assessment of infection. *Trans. Br. mycol. Soc*, 55, 156-161.
- Pinkerton, A., & Simpson, J. R. (1986). Interactions of surface drying and subsurface nutrients affecting plant growth on acidic soil profiles from an old pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 26(6), 681-689.
- Quintero, J. M., Fournier, J. M., Ramos, J., & Benlloch, M. (1998). K<sup>+</sup> status and ABA affect both exudation rate and hydraulic conductivity in sunflower roots. *Physiologia Plantarum*, 102(2), 279-284.
- R Core Team (2018) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rajkumar, M., Sandhya, S., Prasad, M. N. V., & Freitas, H. (2012). Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnology advances*, 30(6), 1562-1574.
- Raju, P. S., Clark, R. B., Ellis, J. R., & Maranville, J. W. (1990). Effects of species of VA-mycorrhizal fungi on growth and

- mineral uptake of sorghum at different temperatures. *Plant and soil*, 121(2), 165-170.
- Ramachandra-Reddy, A. (1996). Fructose-2, 6 biphosphate modulated photosynthesis in sorghum leaves grown under low water regimes. *Phytochemistry* 43: 319-322.
- Rasnik, M. E. (1970). Effect of mannitol and polyethylene glycol on phosphorus uptake by maize plants. *Annals of Botany*, 34(3), 497-504.
- Read, D. (1998). Plants on the web. *Nature*, 396(6706), 22-23.
- Reynolds, H. L., Hartley, A. E., Vogelsang, K. M., Bever, J. D., & Schultz, P. A. (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi do not enhance nitrogen acquisition and growth of old field perennials under low nitrogen supply in glasshouse culture. *New Phytologist*, 167(3), 869-880.
- Rhoades, J. D. (1996). Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. *Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods*, 5, 417-435.
- Riley, R., & Corradi, N. (2013). Searching for clues of sexual reproduction in the genomes of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology*, 6(1), 44-49.
- Rodríguez, J. Á. M., Morcillo, R. L., Vierheilig, H., Ocampo, J. A., Ludwig-Müller, J., & Garrido, J. M. G. (2010). Mycorrhization of the notabilis and sitiens tomato mutants in relation to abscisic acid and ethylene contents. *Journal of Plant Physiology*, 167(8), 606-613.
- Ruiz-Lozano, J. M. (2003). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. *New perspectives for molecular studies. Mycorrhiza*, 13(6), 309–317.
- Ruiz-Lozano, J. M., Aroca, R., Zamarreño, Á. M., Molina, S., Andreo-Jiménez, B., Porcel, R., ... & López-Ráez, J. A. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought

- tolerance in lettuce and tomato. *Plant, Cell & Environment*, 39(2), 441-452.
- Ruiz-Lozano, J. M., Porcel, R., Azcón, C., & Aroca, R. (2012). Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies. *Journal of Experimental Botany*, 63(11), 4033-4044.
- Ruiz-Sánchez, M., Aroca, R., Muñoz, Y., Polón, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2010). The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress. *Journal of Plant Physiology*, 167(11), 862–869.
- Sade, N., Galkin, E., & Moshelion, M. (2015). Measuring arabidopsis, tomato and barley leaf relative water content (RWC). *Bio-protocol*, 5(8), 1451.
- Sadiqov, S. T., Akbulut, M. İ. K. A. İ. L., & Ehmedov, V. (2002). Role of Ca<sup>2+</sup> in drought stress signaling in wheat seedlings. *Biochemistry (Moscow)*, 67(4), 491-497.
- Safir, G. R., Boyer, J. S., & Gerdemann, J. W. (1972). Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Plant physiology*, 49(5), 700-703.
- Salleo, S., Nardini, A., and Lo Gulio, M.A. (1997). Is sclerophyll of Mediterranean
- Sanders, F. E. (1993). Modelling plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhizal infection. *Advances in plant pathology*.
- Sawwan, J., Shibli, R. A., Swaidat, I., & Tahat, M. (2000). Phosphorus regulates osmotic potential and growth of African violet under in vitro-induced water deficit. *Journal of plant nutrition*, 23(6), 759-771.
- Seresinhe, P. S. J. W., & Oertli, J. J. (1991). Effects of boron on growth of tomato cell suspensions. *Physiologia Plantarum*, 81(1), 31-36.



- Sharma, A., & Sharma, H. (2013). Role of vesicular arbuscular mycorrhiza in the mycoremediation of heavy toxic metals from soil. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 2, 418-431.
- Sharp, R. E., Poroyko, V., Hejlek, L. G., Spollen, W. G., Springer, G. K., Bohnert, H. J., & Nguyen, H. T. (2004). Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *Journal of experimental botany*, 55(407), 2343-2351.
- Simpson, J. R., & Lipsett, J. (1973). Effects of surface moisture supply on the subsoil nutritional requirements of lucerne (*Medicago sativa* L.). *Australian Journal of Agricultural Research*, 24(2), 199-209.
- Singh, T. N., Paleg, I. G., & Aspinall, D. (1973). Stress metabolism I. Nitrogen metabolism and growth in the barley plant during water stress. *Australian Journal of Biological Sciences*, 26(1), 45-56.
- Smith, F. A., Grace, E. J., & Smith, S. E. (2009). More than a carbon economy: nutrient trade and ecological sustainability in facultative arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 182(2), 347-358.
- Smith, S. E., & Gianinazzi-Pearson, V. (1988). Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 39(1), 221-244.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants. *Mycorrhizal symbiosis*, 3, 145-18.
- Smith, S. E., Smith, F. A., & Jakobsen, I. (2003). Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant physiology*, 133(1), 16-20.
- Sperry, J. S. (2000). Hydraulic constraints on plant gas exchange. *Agricultural and forest meteorology*, 104(1), 13-23.

- Taiz, L., & Zeiger, E. *Plant Physiology*. Porto Alegre: Artmed; 2013.
- Tamura, T., Hara, K., Yamaguschu, Y., Koizumi, N., Sano, H., (2003). Osmotic stress tolerance of transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor-like protein from tobacco plants. *Plant Physiol.* 131: 454-462
- Tanguilig, V. C., Yambao, E. B., O'toole, J. C., & De Datta, S. K. (1987). Water stress effects on leaf elongation, leaf water potential, transpiration, and nutrient uptake of rice, maize, and soybean. *Plant and Soil*, 103(2), 155-168.
- Tarafdar, J. C., & Marschner, H. (1994). Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of VA mycorrhizal wheat supplied with inorganic and organic phosphorus. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(3), 387-395.
- The GIMP Development Team. (2019). GIMP. Retrieved from <https://www.gimp.org>
- Tinker, P. B., Jones, M. D., & Durall, D. M. (1992). A functional comparison of ecto-and endomycorrhizas. *Mycorrhizas in ecosystems*, 303-310.
- Tisdall, J. M. (1991). Fungal hyphae and structural stability of soil. *Soil Research*, 29(6), 729-743.
- Tobar, R. M., Azcón, R., & Barea, J. M. (1994). The improvement of plant N acquisition from an ammonium-treated, drought-stressed soil by the fungal symbiont in arbuscular mycorrhizae. *Mycorrhiza*, 4(3), 105-108.
- Toljander, J. F., Lindahl, B. D., Paul, L. R., Elfstrand, M., & Finlay, R. D. (2007). Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure. *FEMS microbiology ecology*, 61(2), 295-304.
- Trépanier, M., Bécard, G., Moutoglis, P., Willemot, C., Gagné, S., Avis, T. J., & Rioux, J. A. (2005). Dependence of arbuscular-mycorrhizal fungi on their plant host for palmitic

- acid synthesis. *Applied and environmental microbiology*, 71(9), 5341-5347.
- Uetake, Y., Kojima, T., Ezawa, T., & Saito, M. (2002). Extensive tubular vacuole system in an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*. *New Phytologist*, 154(3), 761-768.
- Van Aarle, I. M., Cavagnaro, T. R., Smith, S. E., Smith, F. A., & Dickson, S. (2005). Metabolic activity of *Glomus intraradices* in Arum- and Paris-type arbuscular mycorrhizal colonization. *New Phytologist*, 166(2), 611-618.
- Viets, F. G., & Kozlowski, T. T. (1972). Water deficits and plant growth. *Water deficits and nutrient availability.*, 217-239.
- Waisel, Y., & Eshel, A. (2002). Functional diversity of various constituents of a single root system. *Plant roots: the hidden half*, 3, 157-174.
- Wang, C., Reid, J. B., & Foo, E. (2018). The Art of Self-Control–Autoregulation of Plant–Microbe Symbioses. *Frontiers in plant science*, 9, 988.
- Weber, E., Saxena, M. C., George, E., & Marschner, H. (1993). Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on vegetative growth and harvest index of chickpea grown in northern Syria. *Field Crops Research*, 32(1-2), 115-128.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. springer.
- Willis, A., Rodrigues, B. F., & Harris, P. J. (2013). The ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32(1), 1-20.
- Wright, S. F. and Jawson, L. (2001). A pressure cooker method to extract glomalin from soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 1734–1735
- Wu Q, Zou Y. Mycorrhizal influence on nutrient uptake of citrus exposed to drought stress. *Philipp Agric Sci.* 2009;92(1):33–8.
- Zhang, L., Xu, M., Liu, Y., Zhang, F., Hodge, A., & Feng, G. (2016). Carbon and phosphorus exchange may enable

cooperation between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate-solubilizing bacterium. *New Phytologist*, 210(3), 1022-1032.