



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΑΕΙΦΟΡΙΚΗ ΓΕΩΡΓΙΑ,
ΣΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ & ΣΤΗΝ ΑΓΡΟΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΑ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση της εφαρμογής *Trichoderma Harzianum* και χαλκού στα
αγρονομικά και αποδοτικά χαρακτηριστικά στην καλλιέργεια *Triticordeum*

Λουκάς Ορφέας Α. Λουκάκης

Επιβλέπων Καθηγητής:
Μπιλάλης Δημήτριος, Καθηγητής ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2022

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΑΣ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση της εφαρμογής *Trichoderma Harzianum* και χαλκού στα
αγρονομικά και αποδοτικά χαρακτηριστικά στην καλλιέργεια Tritordeum

Effect of *Trichoderma Harzianum* and copper application on agronomic
and yield characteristics in Tritordeum cultivation

Λουκάς Ορφέας Α. Λουκάκης

Εξεταστική Επιτροπή:

Μπιλάλης Δημήτριος, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Οικονόμου Γαρυφαλιά, Καθηγητής ΓΠΑ

Κακαμπούκη Ιωάννα, Επίκουρος Καθηγήτρια ΓΠΑ

Επίδραση της εφαρμογής *Trichoderma Harzianum* και χαλκού στα αγρονομικά και αποδοτικά χαρακτηριστικά στην καλλιέργεια *Tritordeum*

ΠΜΣ Καινοτόμες Εφαρμογές στην Αειφορική Γεωργία, στη Βελτίωση Φυτών και στην Αγρομετεωρολογία
Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Γεωργίας

Περίληψη

Εξαιτίας της κλιματικής μεταβλητότητας, η χρήση εναλλακτικών τρόπων για την καταπολέμηση των ασθενειών και εχθρών των καλλιεργειών, όπως το *Trichoderma harzianum* και η επέκταση των καλλιεργειών με καινοτόμα είδη φυτών, ανθεκτικών σε συνθήκες ξηρασίας, όπως το *Tritordeum* και γενικότερα η προσέγγιση της γεωργίας με βιωσιμότητα αποτελεί μείζον ζήτημα. Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη, διερευνήθηκαν η επίδραση της εφαρμογής *Trichoderma harzianum*, χαλκού και της συνεφαρμογής τους στην καλλιέργεια του *Tritordeum*. Το πείραμα έλαβε χώρα στον αγρό του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Υπολογίστηκαν το βάρος των φύλλων ανά φυτό, το βάρος του στελέχους ανά φυτό, η πορεία του ύψους του φυτού, το μήκος, η επιφάνεια και η διάμετρος των ριζών σε 3 διαφορετικά στάδια της ανάπτυξης της καλλιέργειας, ο αποικισμός του ριζικού συστήματος από δενδροειδείς μυκορριζικούς μύκητες (AMF), το βάρος 1000 κόκκων, η φυλλική επιφάνεια, το pH του εδάφους και οι δείκτες αποδοτικότητας (HI), λόγος βάρους φύλλου (LWR), ειδικό βάρος φύλλου (SLW), λόγος φυλλικής επιφάνειας (LAR). Από του παραπάνω αναλύσεις προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Το βάρος του στελέχους της διαχείρισης με *Trichoderma harzianum* ήταν 23,5% περισσότερο σε σχέση με το χαλκό. Το ποσοστό αποικισμού με AMF της συνδιαχείρισης *Trichoderma harzianum*-χαλκού σε σύγκριση με τη διαχείριση *Trichoderma harzianum* ήταν 16,36% υψηλότερο και 12,09% και 9,14% σε σχέση με τη διαχείριση χαλκού και μάρτυρα, αντίστοιχα. Η φυλλική επιφάνεια διέφερε σημαντικά μεταξύ των διαχειρίσεων, η διαχείριση με *Trichoderma harzianum* ήταν 17,43% και 9,2% περισσότερη σε σχέση με την διαχείριση χαλκού και μάρτυρα, αντίστοιχα. Οι αποδόσεις μεταξύ των διαχειρίσεων δεν διέφεραν σημαντικά. Η συνεφαρμογή του *Trichoderma harzianum*-χαλκού έδωσε αξιόλογα αποτελέσματα τόσο στον αποικισμό του ριζικού από AMF, αλλά και στα αγρονομικά χαρακτηριστικά του *Tritordeum*.

Επιστημονική περιοχή: Σιτηρά

Λέξεις-κλειδιά: *Trichoderma harzianum*, *Tritordeum*, Χαλκός

Effect of *Trichoderma Harzianum* and copper application on agronomic and yield characteristics in *Tritordeum* cultivation

MSc Innovative Applications in Sustainable Agriculture, Plant Improvement and Agro-meteorology

Department of Plant Production Science

Laboratory of Agriculture

ABSTRACT

Due to climate variability, the use of alternative ways to control crop diseases and pests, such as *Trichoderma harzianum* and the cultivation of crops with innovative drought resistant plant species, such as *Tritordeum*, and in general the sustainable approach to agriculture constitutes a major issue. In this master study, the effect of *Trichoderma harzianum*, copper and their co-application on *Tritordeum* cultivation was investigated. The experiment took place in the field of the Agricultural University of Athens, Greece. Leaf weight per plant, stem weight per plant, plant height growth, length, surface area and root diameter were calculated at 3 different stages of crop growth, colonisation of the root system by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), 1000 grain weight, leaf area, soil pH and the harvest index (HI), leaf weight ratio (LWR), specific leaf weight (SLW), leaf area ratio (LAR). The above analyses revealed statistically significant differences. The stem weight of *Trichoderma harzianum* treatment was 23.5% more than that of copper. The AMF colonization rate of *Trichoderma harzianum*-copper co-application compared to *Trichoderma harzianum* treatment was 16.36% higher and 12.09% and 9.14% higher compared to copper treatment and control, respectively. Leaf area differed significantly between treatments, *Trichoderma harzianum*-management was 17.43% and 9.2% more compared to copper and control, respectively. Harvest index between treatments did not differ significantly. *Trichoderma harzianum*-copper co-application gave remarkable results on both root colonization by AMF and agronomic characteristics of *Tritordeum*.

Scientific area: Cereals

Keywords: *Trichoderma harzianum*, *Tritordeum*, Copper

Ευχαριστίες

Πριν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Δημήτριο Μπιλάλη για την βοήθεια και τις συμβουλές του κατά την διάρκεια του πειράματος και στην ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Επιπρόσθετα, θέλω να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια Οικονόμου Γαρυφαλιά για τις χρήσιμες συμβουλές της στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων και την Επίκουρη Καθηγήτρια Κακαμπούκη Ιωάννα για τις συμβουλές της.

Πρέπει να εκφράσω και τις ευχαριστίες μου στον Υποψήφιο Διδάκτορα Αντώνη Μαυροειδή για τις πολύτιμες συμβουλές και ιδέες του καθ' όλη την διάρκεια του πειράματός και στην συγγραφή της μελέτης.

Ευχαριστώ, επίσης, την οικογένεια μου για την ηθική υποστήριξη που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια του Μεταπτυχιακού.

Τέλος, θέλω να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στην φίλη μου Ελευθερία Γαρουφαλή, για την υποστήριξή της και την ανοχή της κατά την διάρκεια της συγγραφής της μελέτης.

Π Ε Ρ Ι Ε Χ Ο Μ Ε Ν Α

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1. Tritordeum.....	9
1.1.1. Γενικά στοιχεία για το <i>Tritordeum</i>	9
1.1.2. Ιστορικά στοιχεία του Tritordeum	10
1.1.3. Μητρικά είδη φυτών	11
1.1.4. Αγρονομικά χαρακτηριστικά	13
1.1.5. Αποδόσεις.....	14
1.1.6. Χημική σύνθεση.....	15
1.1.7. Χρήσεις του <i>Tritordeum</i>	17
1.2. Trichoderma Harzianum	17
1.2.1. Γενικά στοιχεία για το Trichoderma Harzianum	17
1.2.2. Αλληλεπιδράσεις του <i>Trichoderma</i> με τα φυτά.....	19
1.2.3. Επιδράσεις στη μορφολογία των φυτών.....	20
1.2.4. Επιδράσεις στη φυσιολογία των φυτών.....	21
1.2.5. Επιδράσεις στην απορρόφηση θρεπτικών συστατικών	21
1.2.6. Βελτίωση της απόδοσης	22
1.2.7. Επίδραση στην αντοχή σε αβιοτικές καταπονήσεις	22
1.2.8. Ενίσχυση της ανθεκτικότητας σε ασθένειες.....	23
1.2.9. Επίδραση στη καταπολέμηση του παθογόνου οργανισμού.....	24
1.2.10. Προαγωγός ανάπτυξης των φυτών.....	25
1.2.11. Άλλες εφαρμογές του Trichoderma	26
1.3. Χαλκός.....	26
1.3.1. Γενικά στοιχεία για τον Χαλκό.....	26
1.3.2. Ο χαλκός στο περιβάλλον.....	28
1.3.3. Χημικές ιδιότητες του Χαλκού	28
1.3.4. Χαλκός στις καλλιέργειες.....	29
1.3.5. Ο χαλκός στα εδάφη.....	29
1.3.6. Κατανομή και βιοδιαθεσιμότητα χαλκού στο έδαφος.....	30
1.3.7. Πρόσληψη και μεταφορά του χαλκού στα φυτά.....	32
1.3.8. Ευεργετικές επιδράσεις του χαλκού.....	33
1.3.9. Τοξικότητα χαλκού στα φυτά	34
1.3.10. Επιδράσεις περίσσειας χαλκού στις Ανατομικές και Μορφολογικές Αλλαγές.....	34
1.3.11. Επιδράσεις της περίσσειας χαλκού στην πρόσληψη και συσσώρευση άλλων μεταλλικών θρεπτικών συστατικών.....	35
1.3.12. Προσαρμοστικότητα των φυτών στην τοξικότητα του χαλκού	35

1.4. Δενδροειδείς Μυκορριζικοί Μύκητες – Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF).....	37
1.4.1. Γενικά στοιχεία για τους Δενδροειδείς Μυκορριζικοί Μύκητες	37
1.4.2. Τύποι μυκόρριζας:	39
1.4.4. Επίδραση των AM στην ανάπτυξη των φυτών.....	41
1.4.5. Επίδραση των μυκήτων AM στη φυσικά χαρακτηριστικά του εδάφους	42
1.4.6. Επίδραση των μυκήτων AM στη πανίδα του εδάφους:	43
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	44
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	45
3.1. Περιοχή εγκατάστασης του πειράματος.....	45
3.2. Φυτικό υλικό	45
3.3. Πειραματικό πλάνο	45
3.4. Καλλιεργητικές πρακτικές	46
3.4.1. Σπορά και γέμισμα γλαστρών.....	46
3.4.2. Τοποθέτηση γλαστρών στο θερμοκήπιο	47
3.4.3. Μεταφορά των γλαστρών στον αγρό	47
3.4.4. Άρδευση.....	47
3.4.5. Βοτάνισμα- Διαχείριση ζιζανίων	48
3.4.6. Συγκομιδή.....	48
3.5. Μετρήσεις αγρονομικών χαρακτηριστικών	48
3.5.1. Μέτρηση ύψους	48
3.5.2. Μέτρηση του συνολικού ξηρού βάρους ανά φυτό	49
3.5.3. Μέτρηση του ξηρού βάρους του στελέχους (χωρίς στάχυ), φύλλων και στάξεων	49
3.5.4. Μέτρηση μήκους στάχυ	49
3.5.5. Μετρήσεις του ριζικού συστήματος των φυτών.....	49
3.5.6. Μέτρηση ποσοστού αποικισμού μυκόρριζων (AMF) στο ριζικό σύστημα	50
3.5.7. Μέτρηση της επιφάνειας των φύλλων	51
3.5.8. Υπολογισμός pH εδάφους.....	51
3.5.9. Ειδικό βάρος φυλλώματος (Specific leaf weight- SLW)	51
3.5.10. Δείκτης βάρους φύλλων (Leaf Weight Ratio- LWR)	52
3.5.11. Λόγος φυλλικής επιφάνειας (Leaf Area Ratio- LAR).....	52
3.5.12. Δείκτης συγκομιδής (Harvest index- HI)	52
3.6. Στατιστική Ανάλυση.....	53
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	54
4.1. Ύψος φυτού.....	54
4.2. Ξηρό βάρος φύλλων (g)	55
4.3. Ξηρό βάρος φυτού (g).....	56
4.4. Βάρος στάχυ (g).....	57

4.5.	Μήκος στάχυ (cm)	57
4.6.	Αριθμός αδελφιών	58
4.7.	Βάρος χιλίων κόκκων (g)	58
4.8.	Φυλλική επιφάνεια (mm ²)	59
4.9.	Ριζικό σύστημα (Μήκος ρίζας, επιφάνεια ρίζας, μέση διάμετρος ρίζας).....	60
4.10.	Αποικισμός των δενδροειδών μυκορριζικών μυκήτων (AMF)	66
4.11.	pH εδάφους.....	69
4.12.	Ειδικό Βάρος Φυλλώματος- Specific Leaf Weight (SLW)	69
4.13.	Λόγος Φυλλικής Επιφάνειας- Leaf Area Ratio (LAR)	70
4.14.	Λόγος Βάρους Φύλλων-Leaf Weight Ratio (LWR)	71
4.15.	Δείκτης Συγκομιδής- Harvest Index (HI).....	71
5.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	72
5.1.	Ύψος φυτού.....	72
5.2.	Βάρος φύλλων	73
5.3.	Ξηρό βάρος φυτού	73
5.4.	Βάρος και μήκος στάχυ	74
5.5.	Αριθμός αδελφών	75
5.6.	Φυλλική επιφάνεια.....	75
5.7.	Ριζικό σύστημα	76
5.8.	Αποικισμός των δενδροειδών μυκορριζικών μυκήτων (AMF)	77
5.9.	pH εδάφους	78
5.10.	Ειδικό Βάρος Φυλλώματος- Specific Leaf Weight (SLW)	79
5.11.	Λόγος Φυλλικής Επιφάνειας- Leaf Area Ratio (LAR)	79
5.12.	Λόγος Βάρους Φύλλων-Leaf Weight Ratio (LWR)	80
5.13.	Δείκτης Συγκομιδής- Harvest Index (HI).....	80
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	81
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΚΟΝΩΝ	93

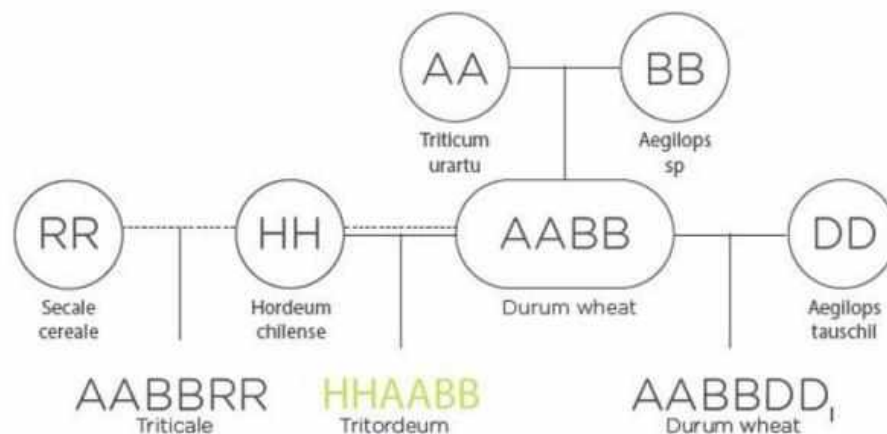
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Tritordeum

1.1.1. Γενικά στοιχεία για το *Tritordeum*

Το Triticeae είναι ένα φύλο που περιέχει περισσότερα από 350 είδη, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων σημαντικών βασικών καλλιεργειών όπως το μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum* ssp. *aestivum* L.), το σκληρό σιτάρι (*Triticum turgidum* ssp. *durum* Desf.), κριθάρι (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*), και σίκαλη (*Secale cereale* L.). Στο φύλο αυτό ανήκει και το Tritordeum.

Το Tritordeum είναι ένα νέο, καινοτόμο είδος σιτηρού που έχει προκύψει από την γενετική διασταύρωση μεταξύ του άγριου κριθαριού από την Χιλή (*Hordeum chilense* Roem. et Schultz) και ενός σκληρού σιταριού (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) (Giordano et al. 2019). Επίσης, παρουσιάζει μεγάλη γενετική μεταβλητότητα καθώς προκύπτει μετά από την σύνθεση πολλών διαφορετικών αμφιπλοειδών. Αρχικά, δύο μορφές του Tritordeum δημιουργήθηκαν, το οκταπλοειδές που έχει γονιδίωμα AABBDH^{ch}H^{ch}, 2n=8x=48 και το εξαπλοειδές με γονιδίωμα AABBH^{ch}H^{ch}, 2n=6x=42. Ωστόσο, λόγω γενετικών βελτιώσεων και υψηλότερων αποδόσεων επικράτησε η εξαπλοειδής μορφή. Αξίζει να σημειωθεί ότι λόγω της τεχνικής της γενετικής διασταύρωσης που χρησιμοποιήθηκε στην αναπαραγωγή του *Tritordeum*, το δημητριακό αυτό δεν περιλαμβάνεται στην κατηγορία των γενετικά τροποποιημένων οργανισμών (GMOs) (Różewicz and Wyzńska, 2021).



Εικόνα 1 Γενεαλογικό Δέντρο του Tritordeum Πηγή: bsb.org

Το *Tritordeum* είναι κατά χρονολογική σειρά το δεύτερο δημητριακό που έχει κατασκευάσει ο άνθρωπος, ενώ πρώτο είναι το *Triticale* που είναι αποτέλεσμα της διασταύρωσης μεταξύ του σκληρού σιταριού με την σίκαλη. Ωστόσο, το *Triticale* προορίζεται αποκλειστικά για την παρασκευή ζωοτροφών, ενώ το *Tritordeum* διατίθεται και για ανθρώπινη κατανάλωση. Το εξαπλοειδές στέλεχος του *Tritordeum* παρουσιάζει ένα σημαντικό χαρακτηριστικό που είναι η απουσία των χρωμοσωμάτων D, τα οποία φέρουν γονίδια υπεύθυνα για την παραγωγή ανοσογόνων πεπτιδίων και για αυτό το λόγο το καθιστά πιο ανεκτό σε άτομα με δυσανεξία στη γλουτένη. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να αναμένεται ότι στο μέλλον, οι εξαπλοειδείς ποικιλίες *Tritordeum* θα έχουν μεγαλύτερη σημασία και θα καλλιεργούνται σε μεγαλύτερη κλίμακα (Różewicz and Wyzńska, 2021). Διαθέτει ενδιαφέρουσες προοπτικές στον τομέα την ανθρώπινης διατροφής (Visioli et al., 2020).

1.1.2. Ιστορικά στοιχεία του *Tritordeum*

Στα τέλη της δεκαετίας του 1970, επιστήμονες από το Institute of Sustainable Agriculture (IAS) του Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) στην Κόρδοβα, σε συνεργασία με την Agrasys, ξεκίνησαν να εργάζονται πάνω στην δημιουργία ενός νέου σιτηρού, του *Tritordeum*. Αρχικά διάφοροι συνδυασμοί δοκιμάστηκαν, συμπεριλαμβανομένων καλλιεργημένων μορφών κριθαριού και σίτου, που δεν οδήγησαν σε κανένα αποτέλεσμα (Różewicz and Wyzńska, 2021). Διαφορετικές ποικιλίες τόσο κριθαριού όσο και σιταριού χρησιμοποιήθηκαν, εξ ου και η μεγάλη γενετική ποικιλομορφία του *Tritordeum* και η ποικίλη απόκρισή του σε διαφορετικές συνθήκες καλλιέργειας. Σύμφωνα με τους Różewicz and Wyzńska, (2021), 103 είδη κριθαριού και 80 είδη σιταριού χρησιμοποιήθηκαν για την δημιουργία του. Τα είδη του κριθαριού που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διαδικασία γενετικής διασταύρωσης του *Tritordeum* προερχόταν από τη Χιλή και την Αργεντινή, ενώ του σιταριού προέρχονταν από διάφορες ηπείρους και επομένως διάφορες περιοχές με ποικίλες κλιματολογικές και εδαφικές συνθήκες. Ο πρώτος ερευνητής που ασχολήθηκε με την δημιουργία του *Tritordeum* ήταν ο Antonio Martin (Martin et al., 1996).

Οι ποικιλίες *Tritordeum* καθώς και τα αποκλειστικά δικαιώματα εμπορευματοποίησης του δημητριακού ανήκουν στην επιχείρηση «Agrasys», στην

οποία ανήκουν και δύο ποικιλίες που έχουν καταχωρηθεί στο Community Plant Variety Office (CPVO):

- Η AUCAN –η πρώτη καταχωρημένη ποικιλία το 2010 και
- Η BULEL που καταχωρήθηκε το 2015.

Η πρώτη φορά που καλλιεργήθηκε το *Tritordeum* μετά πολλά χρόνια βελτιώσεων ήταν το 2013 στην Ισπανία και στην Ιταλία. Έκτοτε ακολούθησαν η Ελβετία, η Γερμανία, η Αυστρία, η Ολλανδία και οι Σκανδιναβικές χώρες. Το 2015 καταχωρήθηκε και η ποικιλία BULEL.

Δεν υπάρχουν πολλές ακριβείς εκτιμήσεις για την έκταση που καλλιεργείται το *Tritordeum* στις μέρες μας. Το 2016 οι συνολικές εκτάσεις που καλλιεργούνταν ήταν περίπου 1300 εκτάρια σε παγκόσμιο επίπεδο. Το μεγαλύτερο κομμάτι από αυτή την έκταση ανήκει στην Ισπανία με 450 εκτάρια και ακολουθούσε η Ιταλία με 440 εκτάρια (Semencemag, 2019).

1.1.3. Μητρικά είδη φυτών

1.1.3.1. Σιτάρι, *Triticum sp.*: γενικά στοιχεία

Το σιτάρι είναι ένα από τα σημαντικότερα φυτά που εξημέρωσε και καλλιέργησε ο άνθρωπος. Το 10.000-15.000 π.Χ. εντοπίστηκαν τα πρώτα αρχαιοβοτανικά ευρήματα της καλλιέργειας του σιταριού και σύμφωνα με επιστήμονες οδήγησε στην εγκατάλειψη της νομαδικής ζωής και στην εγκατάσταση σταθερών κοινοτήτων με αποτέλεσμα την αύξηση του πληθυσμού (Killian et al., 2010). Την νεολιθική εποχή, περίπου στο 7.000 π.Χ. η καλλιέργεια του σιταριού ξεκίνησε και στον ελλαδικό χώρο. Η ευρεία προσαρμοστικότητα του φυτού αλλά και ο μεγάλος αριθμός των βελτιωμένων ποικιλιών που έχουν δημιουργηθεί χαρακτηρίζουν το φυτό ως το πλέον διαδεδομένο στην πλανήτη συγκριτικά με τα υπόλοιπα καλλιεργούμενα είδη. Το σιτάρι καλλιεργείται κυρίως στην εύκρατη ζώνη μεταξύ 30-60° Βόρειο γεωγραφικό πλάτος και 25-40° Νότιο γεωγραφικό πλάτος και από παραθαλάσσιες περιοχές έως σε υψόμετρα 3.000 μέτρων. Στις εύκρατες περιοχές με ήπιο χειμώνα όπως στο μεσογειακό κλίμα, η σπορά λαμβάνει χώρα το φθινόπωρο, ενώ σε ηπειρωτικό κλίμα την άνοιξη.

Το σιτάρι καλλιεργείται σε έκταση μεγαλύτερη των 2.000 εκατομμυρίων στρεμμάτων σε παγκόσμια κλίμακα και η παραγωγή του υπολογίζεται περίπου 650 εκατομμύρια τόνους (FAO). Οι κυριότερες χώρες παραγωγής είναι οι χώρες την ευρωπαϊκής ένωσης, η Κίνα, η Ινδία, η Ρωσία, οι ΗΠΑ, ο Καναδάς, το Πακιστάν, η Ουκρανία, η Τουρκία. Το σιτάρι είναι το τρίτο πιο σημαντικό δημητριακό στον κόσμο από άποψη συνολικής παραγωγής. Καλλιεργείται ευρέως στην Ευρώπη με 61 εκατομμύρια εκτάρια το 2018 και παρέχει το 19% των θερμίδων και το 20% των πρωτεϊνικών απαιτήσεων για τη διατροφή του ανθρώπου στη Δυτική και Βόρεια Ασία (Giovanna Visioli et al., 2020).

Στην Ελλάδα καλλιεργούνται κάθε χρόνο 7 εκατομμύρια στρέμματα με παραγωγή περίπου 2.000 εκατομμύρια τόνους. Οι μέσες στρεμματικές αποδόσεις κυμαίνονται μεταξύ 260-300 kg/στρέμμα (FAO).

1.1.3.2. Άγριο Κριθάρι: *Hordeum chilense*

Το *Hordeum chilense* είναι ένα διπλοειδές άγριο κριθάρι που φύτεται στην Νότια Αμερική και ανήκει στην οικογένεια Stenostachys. Το συγκεκριμένο είδος εντοπίζεται αποκλειστικά στην Χιλή και την Αργεντινή και εκτείνεται σε γεωγραφικά πλάτη από 29° έως 43° και σε υψόμετρα από το επίπεδο της θάλασσας έως τα 1800m. Παρουσιάζει μεγάλη παραλλακτικότητα σε μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά. Πολλές μελέτες το χαρακτηρίζουν ως πολυετές φυτό, ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις μεταβλητότητας για αυτό το χαρακτηριστικό. Οι εδαφικές συνθήκες δείχνει να μην το επηρεάζουν, καθώς συναντάται σε ευρύ φάσμα τύπων εδάφους. Είναι γηγενές φυτό σε βοσκότοπους και προορίζεται για ζωοτροφή κυρίως για βοοειδή. Θεωρείται από τα είδη του κριθαριού που έχουν τις υψηλότερες δυνατότητες στην βελτίωση δημητριακών, επειδή εμφανίζει υψηλή ικανότητα διασταύρωσης με τα υπόλοιπα είδη της φυλής Triticaceae. Συνήθως είναι αυτογόνιμο, αλλά κάτω από διαφορετικά φυσικά περιβάλλοντα έχει παρατηρηθεί ότι αναπαράγεται και με σταυρογονιμοποίηση, με αποτέλεσμα την δημιουργία φυσικών υβριδίων (Martin et al., 2000).

Το *Hordeum chilense* παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε πολλές μυκητολογικές ασθένειες, όπως η σκωρίαση, σε νηματώδεις του γένους *Meloidogyne* και σε αφίδες, όπως *Schizaphis graminum*. Χαρακτηριστικά όπως η ανθεκτικότητα σε ασθένειες και

σε εχθρούς σε ποίκιλτες εδαφοκλιματικές συνθήκες, αλλά και γονίδια που σχετίζονται με το ποσοστό του σπόρου σε θρεπτικά συστατικά και χρωστικές που είναι αξιοσημείωτα για το *Tritordeum* προέρχονται από το συγκεκριμένο είδος κριθαριού (Martin et al., 2000).

1.1.4. Αγρονομικά χαρακτηριστικά

Η μορφολογία του *Tritordeum* είναι παρόμοια με το σιτάρι, καθώς διαθέτει τα καλά χαρακτηριστικά του, όπως οι μακριές ταξιανθίες και το ικανοποιητικό γέμισμα σπόρων. Συγκριτικά με το σιτάρι, παρουσιάζει μικρότερο στέλεχος, χαρακτηριστικό που το καθιστά ανθεκτικότερο στο πλάγιασμα. Ένα άλλο πλεονέκτημα είναι ότι έχει αυξημένο αριθμό ανθέων ανά στάχυ. Το *Tritordeum* είναι πιο όψιμο σε σχέση με το σιτάρι, περίπου 8 ημέρες. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι βρίσκεται στο στάδιο της άνθησης αργότερα σε σχέση με το σιτάρι, καθώς απαιτούνται περισσότερες βαθμοημέρες για να φτάσει σε αυτό το στάδιο. Ωστόσο, η πλήρωση των κόκκων γίνεται σε συντομότερο χρονικό διάστημα σε σχέση με το σιτάρι και το *Triticale*. Τέλος, η καλλιέργεια του *Tritordeum* έχει χαμηλότερο ποσοστό βιομάζας σε σχέση με το σιτάρι (Martinek et al., 2003).

Το *Tritordeum* έχει ως πλεονέκτημα να εκμεταλλεύεται με μεγάλη αποτελεσματικότητα τους διαθέσιμους υδατικούς πόρους του εδάφους, πράγμα που του προσδίδει αυξημένη αντοχή σε συνθήκες ξηρασίας. Εμφανίζει, επιπρόσθετα, καλή προσαρμογή σε εδάφη με υψηλή αλατότητα (Villegas et al., 2010). Σε σχέση με άλλα σιτηρά, το *Tritordeum* παρουσιάζει καλύτερη αποδοτικότητα της χρήσης αζώτου, που το καθιστούν πιο ευπροσάρμοστο σε φτωχά εδάφη (Barro et al., 1991). Οι Kakabouki et al., (2020) διαπίστωσαν ότι το *Tritordeum* επιδεικνύει αξιόλογη προσαρμοστικότητα στις ξηρικές συνθήκες που επικρατούν στον ελλαδικό χώρο και σημαντικές αποδόσεις παραγωγής σε σύγκριση με τις ήδη υπάρχουσες εμπορικές ποικιλίες και το σιτάρι.

Οι Villegas et al., (2010) επιβεβαίωσαν πως η αυξανόμενη απόδοση του *Tritordeum* πλησιάζει αυτές του σιταριού και του *Triticale* σε ξηρές περιβαλλοντικές συνθήκες και ότι παρότι η απόδοση του είναι χαμηλότερη ποιοτικά είναι ανώτερο. Η περιεκτικότητά του σε λουτεΐνη είναι 5,2 φορές μεγαλύτερη από αυτή του σιταριού. Αρκετές έρευνες έχουν δείξει πως η υψηλή συγκέντρωση καροτενοειδών και τοκοφερολών χαρακτηρίζει το καινοτόμο αυτό δημητριακό με τα πρώτα να του

χαρίζουν ένα έντονο κίτρινο χρώμα και δείχνουν ότι στο μέλλον θα παράγει τρόφιμα υψηλής διατροφικής αξίας (Giordano et al., 2019).

Οι Visioli et al., (2020) διατύπωσε ότι το *Tritordeum* φέρει καλύτερη προσαρμογή σε βιολογική καλλιέργεια, καθώς αναπτύσσεται σε μεγαλύτερο ποσοστό κάτω από την επιφάνεια του εδάφους και συμβιώνει με πληθώρα βακτηρίων και μυκήτων τα οποία το ωφελούν στην ενίσχυση του ριζικού τους συστήματος. Παρόλο που το *Tritordeum* εμφανίζει χαμηλότερες παραγωγικές αποδόσεις, διαθέτει ποιοτικότερα χαρακτηριστικά σε σχέση με το σιτάρι όταν καλλιεργείται υπό μορφές οργανικής γεωργίας.

Οι Villegas et al., (2010) τονίζοντας την σημασία της καλλιέργειας του *Tritordeum* διατυπώνουν ότι η μείωση της καλλιεργητικής διάρκειας για να αποφευχθεί το υδατικό στρες είναι μια πολύ επιτυχημένη στρατηγική στην σύγχρονη γεωργία που εφαρμόζεται στην περιοχή της Μεσογείου. Η καλλιέργεια φυτών που είναι ανεκτικά στην ξηρασία του μεσογειακού κλίματος, όπως το *Tritordeum* είναι στρατηγικός στόχος για το μέλλον. Οι Montesano et al., (2020), εντέλει, αναφέρουν κατά μέσο όρο ότι το *Tritordeum* περιέχει 5,2 φορές περισσότερα καροτενοειδή από το σκληρό σιτάρι.

1.1.5. Αποδόσεις

Οι Villegas et al., (2010) σε έρευνα που πραγματοποίησαν σε Τυνησία, Λίβανο και Ισπανία για να προσδιορίσουν τις αποδόσεις του *Tritordeum* και να το συγκρίνουν με το Triticale και το σιτάρι, υπό τις ξηρικές συνθήκες της Μεσογείου, διαπίστωσαν ότι η απόδοση σε σπόρο του *Tritordeum* ανέρχονται σε 3 τόνους ανά ha. Η ίδια μελέτη απέδειξε ότι σε περιοχές που δεν πραγματοποιείται άρδευση αλλά αρκούνται από το νερό των βροχών, το *Tritordeum* είχε παρόμοιες αποδόσεις με το *triticale* και το σιτάρι. Επίσης, παρατηρήθηκαν διαφορές που σχετίζονται με την μη επάρκεια νερού στα διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού. Συγκεκριμένα, κατά την διάρκεια του σταδίου του γεμίσματος του σπόρου υπό ζεστές και ξηρές συνθήκες, οδηγούν στην μείωση του φωτοσυνθετικού ρυθμού, με αποτέλεσμα η αφομοίωση των θρεπτικών από τον σπόρο να είναι περιορισμένη (Kakabouki et al., 2020).

Σε πειράματα, επιπρόσθετα, που πραγματοποιήθηκαν στον αγρό για την σύγκριση της απόδοσης μεταξύ του *Tritordeum* και του σκληρού και μαλακού σίτου, το *Tritordeum*

σημείωσε την μικρότερη τιμή κατά την μέτρηση του βάρους χιλίων κόκκων (Pinto et al., 2002). Στην ίδια μελέτη παρατηρήθηκε να είναι αυξημένος ο αριθμός των ανθέων και καρπών ανά στάχυ στο *Tritordeum*, σε σχέση με τις άλλες δύο καλλιέργειες. Στην βιολογική καλλιέργεια η απόδοση σε σπόρο κυμαίνεται από 0,86 έως 1,02 τόνους ανά εκτάριο, ανάλογα με τις ποικιλίες που καλλιεργήθηκαν (Visioli et al., 2020).

1.1.6. Χημική σύνθεση

1.1.6.1.Καροτενοειδή

Μια από τις ιδιότητες του *Hordeum chilense* που εμφανίζεται στο *Tritordeum* είναι η υψηλή περιεκτικότητα του σε καροτενοειδή. Οι σπόροι του έχουν ως χαρακτηριστικό την υψηλή συγκέντρωση καροτενοειδών σε σύγκριση με τα άλλα σιτηρά. Η λουτεΐνη είναι το κύριο από τα υπόλοιπα καροτενοειδή και επιτελεί ενεργητικό ρόλο στην υγεία των ματιών, στην προστασία του δέρματος από τις ακτίνες UV και διαθέτει αντιγηραντικές ιδιότητες. Οι συγκεντρώσεις της κυμαίνονται στο $6,14 \pm 0,12$ $\mu\text{g/g}$ και απαρτίζει το 87% των καροτενοειδών. Η στερεοποιημένη λουτεΐνη, μάλιστα, αποτελεί το 55,05% της συνολικής λουτεΐνης και θεωρείται θετικό χαρακτηριστικό, καθώς διατηρείται μεγαλύτερο χρονικό διάστημα κατά την διάρκεια της συγκομιδής και της αποθήκευσης των σιτηρών, καθώς και της θερμικής επεξεργασίας όπως το ψήσιμο. Η εστεροποιημένη λουτεΐνη αποτελείται από 29,10% από διεστέρες και το υπόλοιπο είναι μονοεστέρες. (Mellado-Ortega and Hornero-Mendez, 2015)

1.1.6.2. Πρωτεΐνες

Οι Cubero et al., (1986) διαπίστωσαν ότι το *Tritordeum* έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες σε σχέση με άλλα δημητριακά. Ο μέσος όρος σε πρωτεΐνη των κόκκων κυμαίνεται από 17,6 έως 25,2% επί της ξηράς ουσίας και είναι αυξημένη σε σχέση με το *Triticale* και το σιτάρι. Άλλη μελέτη έχει δείξει ότι η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στους κόκκους επιδρά αρνητικά στο βάρος τους. Επομένως, τα αυξημένα ποσοστά πρωτεΐνη οδηγούν σε ελαφρύτερους κόκκους με αποτέλεσμα την μειωμένη απόδοση.

1.1.6.3. Μέταλλα

Οι Visioli et al., 2020 αναφέρουν ότι η συγκέντρωση των θρεπτικών στοιχείων στην μονάδα του βάρους του κόκκου *Tritordeum* κυμαίνεται κατά μέσο όρο 2,8% στο

άζωτο, 429mg Ca/ kg, 52mg Fe/ kg, 5858mg P/ kg, 1938mg S/ kg, 1662mg Mg/ kg, 6115 K/ kg και 65,1mg Zn/ kg όταν καλλιεργήθηκε σε βιολογικές συνθήκες. Η περιεκτικότητά του σε σελήνιο είναι 0,039mg/ kg ξηρής μάζα (Le Minh et al., 2017).

Η βιβλιογραφία αναφέρει ότι παρατηρούνται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στην βιολογική διαχείριση σε σχέση με την συμβατική στις συγκεντρώσεις των μετάλλων. Η βελτιωμένη μικροβιακή βιοποικιλότητα που υπάρχει κατά την βιολογική καλλιέργεια, διευκολύνει την διαθεσιμότητα των θρεπτικών ουσιών και την πρόσληψή τους από τα φυτά (Visioli et al., 2020).

1.1.6.4. Αμυλο

Το άμυλο στους κόκκους του κυμαίνεται από 59% έως 68% του ξηρού βάρους του κόκκου και είναι η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε σχέση με τα άλλα σιτηρά. Η μορφή του αμύλου RS3 υπολογίζεται στο 2,6% του ξηρού βάρους του κόκκου, το οποίο είναι παρόμοιο με αυτό του κριθαριού. Γενικά, η RS είναι πηγή λειτουργικών ινών, που επιτελούν σημαντικό ρόλο κατά την διαδικασία της πέψης. Η ικανότητα διατήρησης των φυσιολογικών επιπέδων γλυκόζης, μάλιστα και του χαμηλού γλυκαινικού δείκτη παρουσιάζεται σε τρόφιμα που υπάρχει αφθονία σε RS (Mikulikova et al., 2006).

1.1.6.5. Γλουτένη

Η σύνθεση της γλουτένης στο *Tritordeum* είναι διαφορετική από του σιταριού. Ερευνητικά δεδομένα αναφέρουν ότι τα ποσοστά γλουτένης στο *Tritordeum* είναι χαμηλότερα σε σχέση με το σιτάρι. Η διαφορά αυτή οφείλεται ότι τα επίπεδα των ω-γλιαδίνων στο άλευρο του *Tritordeum* είναι μειωμένο σε σχέση με αυτό του σιταριού. Στο ψωμί, οι συγκεντρώσεις αυτών των συστατικών είναι ακόμα μικρότερες, καθώς παρατηρείται ευαισθησία στην διατήρησή τους κατά την διαδικασία της αρτοποιίας. Ο αριθμός των ανοσογόνων επιτόπων είναι χαμηλότερος κατά 78%, 75% και 93% για τις α-γλιαδίνες, τις γ-γλιαδίνες και τις ω-γλιαδίνες αντίστοιχα στο *Tritordeum* σε σχέση με το σιτάρι. Το συνολικό ποσοστό σε γλουτένη κυμαίνεται κατά 49% χαμηλότερο στο *Tritordeum*.

Η γλουτένη σχετίζεται με διάφορες στομαχικές διαταραχές, όπως η κοιλιοκάκη (CD) και η ευαισθησία σε γλουτένη (NCGS). Επομένως, τα προϊόντα που προέρχονται από

Tritordeum αποτελούν ιδανική τροφή για τα άτομα που θέλουν να μειώσουν την πρόσληψη γλουτένης. Αξίζει να σημειωθεί ότι για τα άτομα που πάσχουν από NCGS και δεν απαιτείται η αποτροπή της ολοκληρωτικής λήψης γλουτένης, το *Tritordeum* μπορεί να αποτελέσει μια αξιόπιστη λύση, ενώ σε αντίθεση τα άτομα που πάσχουν από κοιλιοκάκη, το ίδιο δεν μπορεί να συμπεριληφθεί στην διαίτά τους. Ακόμα, ένα άλλο πλεονέκτημα του *Tritordeum* είναι ότι έχει περιορισμένη επεξεργασία και έτσι πρόκειται για φυσικό προϊόν. Σε δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν σε πάσχοντες από ευαισθησία στην γλουτένη τα προϊόντα του *Tritordeum* φάνηκαν να έχουν μεγαλύτερη προτίμηση για τα γευστικά τους αλλά και για τα εμφανισιακά τους χαρακτηριστικά (Vaquero et al., 2017).

1.1.7. Χρήσεις του *Tritordeum*

Η κύρια κατεύθυνση καλλιέργειας και ανάπτυξης του *Tritordeum* είναι η χρήση των σπόρων του για τροφή. Χρησιμοποιείται για την παραγωγή: μπισκότων, δημητριακών πρωινού, μπισκότων, μπάρες δημητριακών, καθώς και ζυμαρικά, πίτσα και μπύρα. Η έρευνα των Rózewicz and Wyzńska, (2021) απέδειξε ότι το *Tritordeum* μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία ζυθοποιίας. Η χρήση των σπόρων αυτού του δημητριακού σε διάφορες αναλογίες (από 10% έως 100%) δεν προκαλεί τεχνολογικές δυσκολίες στα διαδοχικά στάδια παραγωγής μπύρας. Οι αρτοποιοί συγκρίνουν το ψωμί που παρασκευάζεται από αλεύρι από *Tritordeum* με τυπικό ψωμί από σιτάρι και καταλήγουν πως οι θρεπτικές και οργανοληπτικές τους ιδιότητες διαφέρουν. Το *Tritordeum* περιέχει γλουτένη, αλλά η ποιότητα της γλουτένης διαφέρει από αυτή των άλλων δημητριακών. Η απορρόφηση νερού του αλευριού *Tritordeum* μπορεί να ανέρχεται στο 60–80% του βάρους του .

1.2. *Trichoderma Harzianum*

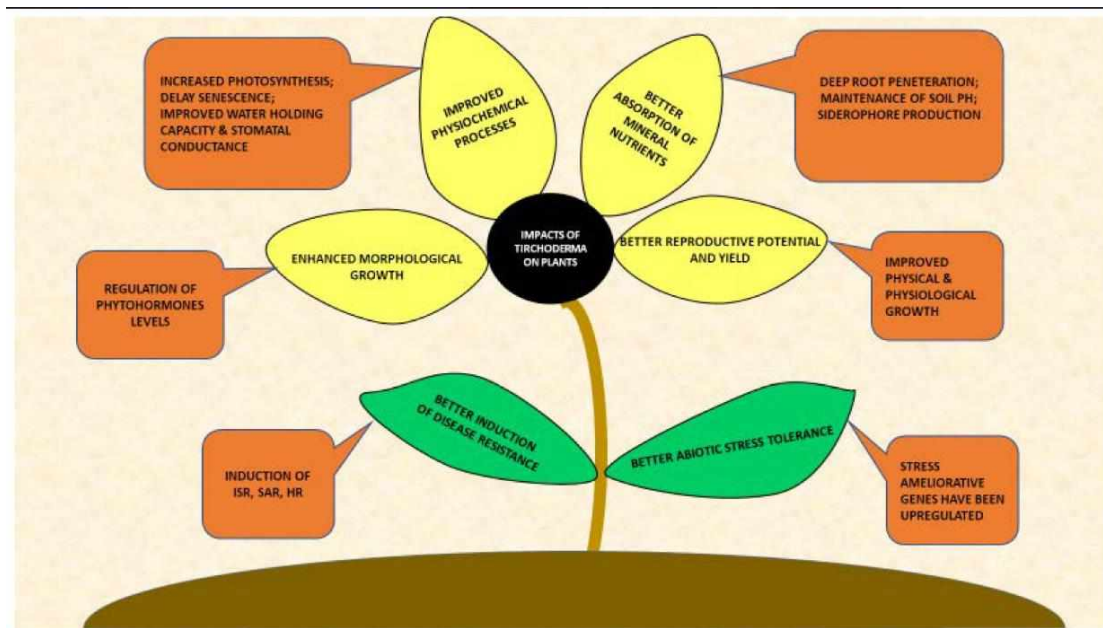
1.2.1. Γενικά στοιχεία για το *Trichoderma Harzianum*

Το *Trichoderma* ανήκει στο Βασίλειο: Fungi, στο Φύλο: Ascomycota, στην Οικογένεια: *Hypocreaceae* και στην Τάξη: *Hypocleales*. Το *Trichoderma* είναι ένας μικροοργανισμός που βρίσκεται στο έδαφος και χαρακτηρίζεται από την ικανότητα του να δημιουργεί συμβιωτικές σχέσεις με τα φυτά καθώς και να αποικίζει και αποσυνθέτει απορρίμματα (Fraceto et al., 2018). Αυτός ο νηματοειδής μύκητες δημιουργούν λευκό μυκήλιο με ταχύτατους ρυθμούς που καθώς αναπτύσσεται αποκτά πράσινο χρώμα. Επίσης, στις σύγχρονες μορφές γεωργίας που η αποφυγή

φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων είναι ζητούμενο, το *Trichoderma* αποτελεί έναν από παράγοντες βιοελέγχου κατά των παθογόνων μικροοργανισμών. Έχει υπολογιστεί ότι τα διάφορα στελέχη *Trichoderma* αποτελούν περίπου το 90% αυτών των παραγόντων (Hermosa et al., 2012).

Το 1794 απομονώθηκε από αποσυντιθέμενη οργανική ύλη του εδάφους το πρώτο στέλεχος του *Trichoderma* (Druzhinina et al., 2006). Σε παγκόσμια βάση έχει υπολογιστεί ότι στην γεωργία του σήμερα άνω του 60% των μυκητοκτόνων που βασίζονται σε μικροοργανισμούς προέρχονται από το *Trichoderma*. Ωστόσο, παρά την διαδεδομένη χρήση τέτοιων βιομυκητοκτόνων προϊόντων, περίπου 250 διαφορετικά σκευάσματα σε παγκόσμια κλίμακα, οι αγρότες συνεχίζουν να χρησιμοποιούν σε μεγαλύτερο βαθμό συνθετικά χημικά φυτοφάρμακα για την καταπολέμηση των ασθενειών στις καλλιέργειες (Sood et al., 2020). Παρόλα αυτά, λόγω του υψηλού ανταγωνισμού που αναπτύσσει έναντι διαφόρων φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών, το *Trichoderma* θεωρείται ευεργετικό στον τομέα της γεωργίας (Nur et al., 2019, Hermosa et al., 2012, Woo et al., 2006).

Ακόμη και υπό δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, το *Trichoderma* μπορεί να συνεχίσει να υπάρχει, γεγονός που υποδηλώνει την πιθανότητα προώθησης της ανάπτυξής του σε βελτιωμένη αντοχή στο στρες (Zhang et al., 2018). Μετά την εγκατάστασή τους στον ξενιστή χρησιμοποιούν το αποικοδομητικό τους δυναμικό για την αποικοδόμηση διαφόρων υποστρωμάτων. Μπορεί να αναπτυχθεί γρήγορα ή να κάνει αρκετή χρήση της προσφοράς τροφής, καθαρίζοντας αποτελεσματικά το παθογόνο και την εισβολή, η οποία είναι γνωστή ως ανταγωνισμός για τα θρεπτικά συστατικά (Stewart et Hill, 2014). Το *Trichoderma* ένας αγενώς διαιρούμενος μύκητας που βρέθηκε να σχετίζεται κυρίως στη ριζόσφαιρα σχεδόν όλων των εδαφών (Kleifeld, et Chet, 1992).



Εικόνα 2 Επιδράσεις του *Trichoderma* στα φυτά. Πηγή: *Trichoderma: The "Secrets" of a Multitalented Biocontrol Agent*

Τα στελέχη του *Trichoderma* λειτουργούν άμεσα ή έμμεσα για την καταπολέμηση των ασθενειών. Ο άμεσός τρόπος παρουσιάζεται με την ανταγωνιστική συμπεριφορά του *Trichoderma* έναντι διαφόρων φυτοπαθογόνων οργανισμών, κυρίως μυκήτων αλλά και βακτηρίων και νηματωδών, αναστέλλοντας την ανάπτυξή τους με αλληλεπιδράσεις όπως ο υπερπαρασιτισμός και ανταγωνισμός για θρεπτικά συστατικά και χώρο (Zhang et al., 2017). Ο έμμεσος τρόπος δρα βελτιώνοντας την ανάπτυξη και τη ζωηρότητα των φυτών, ενισχύοντας την ανοχή στο στρες, αυξάνοντας την ενεργή πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και επιτελώντας σημαντικό ρόλο στη βιοεξυγίανση της μολυσμένης ριζόσφαιρας, καθώς και παρέχοντας στα φυτά διάφορους δευτερογενείς μεταβολίτες, ένζυμα και πρωτεΐνες PR (Sood et al., 2020). Το *Trichoderma* ελέγχει την έκφραση των γονιδίων στα φυτά, βελτιώνοντας το επίπεδο της αποτελεσματικότητας της χρήσης του CO₂ και του O₂ (Silva et al., 2019).

1.2.2. Αλληλεπιδράσεις του *Trichoderma* με τα φυτά

Τα τελευταία χρόνια, το *Trichoderma* έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον λόγω της συνεισφοράς του στην καταπολέμηση των ασθενειών και στην θρέψη των φυτών. Έχει αποδεχθεί ότι τα φυτά που αναπτύσσονται σε συμβίωση με στελέχη του *Trichoderma* παρουσιάζουν την ικανότητα να απορροφούν περισσότερο νερό από το

έδαφος, επειδή οι υφές των συγκεκριμένων μυκήτων, λόγω μικρότερου μεγέθους από τα ριζικά τριχίδια, επιτρέπουν ευκολότερη πρόσβαση στο μικροπορώδες του εδάφους που συγκρατεί ποσότητες νερού, δίνοντας έτσι περισσότερες πηγές στο φυτό για διαθέσιμο νερό (Silletti et al., 2021). Το ριζικό σύστημα του φυτού προσελκύει το *Trichoderma* μέσω των χημικών σημάτων που απελευθερώνονται από αυτό. Στα πρώτα στάδια της εγκατάστασης για την συμβίωση τους περιλαμβάνεται η προσκόλληση, η διείσδυση και ο αποικισμός του *Trichoderma* στις ρίζες του φυτού. Οι Samolski et al., (2012) ανακάλυψε ότι η ένωση του *Trichoderma* στις ρίζες των φυτών διευκολύνεται μέσω πρωτεϊνών που χαρακτηρίζονται από υψηλές συγκεντρώσεις σε κυστεΐνη και ονομάζονται υδροφοβίνες. Στα πειράματα που διεξήγαγαν ελήφθησαν οι υδροφοβίνες TasHyd1 και Qid74 από το *T. asperellum* και το *T. harzianum*, αντίστοιχα.

Το *Trichoderma* για την ανάπτυξη του στις ρίζες λαμβάνει σακχαρόζη από τα φυτά και σαν αντάλλαγμα επιτελεί θετικές επιδράσεις σε αυτά (Zin, et Badaluddin, (2020). Τέτοιες θετικές επιδράσεις είναι η αύξηση του ριζικού συστήματός, η βελτίωση της βλαστικότητας των σπόρων, η βελτίωση των αμυντικών αποκρίσεων των φυτών στην προσβολή από φυτοπαθογόνα και της παραγωγής δραστικών ουσιών (δηλαδή ενζύμων, πρωτεϊνών, δευτερογενών μεταβολιτών). Αυτές οι επιδράσεις είναι ευεργετικές καθώς αυξάνουν την αντοχή των φυτών σε αβιοτικές καταπονήσεις που οφείλονται σε έλλειψη ή περίσσεια νερού, θερμοκρασίας και αλατότητας καθώς και στην ανάπτυξη και την επιβίωση, τη διαθεσιμότητα και την αφομοίωση θρεπτικών στοιχείων (Lorito et al., 2010). Έχει διαπιστωθεί ότι το *Trichoderma harzianum* αυξάνει τις συγκεντρώσεις των ορμονών που παράγονται από τα φυτά. Ωστόσο, έχει τη ικανότητα να συνεισφέρει και με τις ορμόνες που παράγει το ίδιο ή ακόμα παρέχοντας ενδιάμεσα προϊόντα για την παραγωγή ορισμένων φυτικών ορμονών (Kredics et al., 2003). Τέλος, το *Trichoderma harzianum* διατηρεί το pH του εδάφους σταθερό με αποτέλεσμα να συμμετέχει στην καλύτερη διαθεσιμότητα και απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά.

1.2.3. Επιδράσεις στη μορφολογία των φυτών

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι όταν το *Trichoderma* εφαρμοστεί στη περιοχή της ριζόσφαιρας των φυτών προωθεί τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φυτών, όπως το μήκος της ρίζας και του βλαστού, η βιομάζα, το ύψος, ο αριθμός των φύλλων, των

καρπών κ.λπ. είναι ενδεικτικό ότι η εφαρμογή του *T. harzianum* στις ρίζες αγγουριού πολλαπλασιάστηκε η βιομάζα και ο σχηματισμός πλευρικών ριζών (Sood et al., 2020). Ομοίως, η εφαρμογή των *T. longipile* και *T. tomentosum* αύξησε σημαντικά τη συνολική επιφάνεια των φύλλων καθώς και το νωπό βάρος σε φυτά λάχανου σε αντιπαράθεση με τα φυτά που δεν είχε προστεθεί κάποιο από τα παραπάνω στελέχη που αναπτύχθηκαν σε θερμοκήπιο (Rabeendran et al., 2000).

1.2.4. Επιδράσεις στη φυσιολογία των φυτών

Έχει φανεί ότι το *Trichoderma* spp. επιδρά θετικά στις διάφορες φυσιολογικές διεργασίες στα φυτά, όπως η φωτοσύνθεση, η αγωγιμότητα των στομάτων, η ανταλλαγή αερίων, η απορρόφηση και αφομοίωση θρεπτικών ουσιών, η αποδοτικότητα χρήσης νερού κ.λπ. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, το *Trichoderma* spp. μέσω της αναβάθμισης της ανάπτυξης των ριζών όσο και με την αφομοίωση ανόργανων θρεπτικών συστατικών από το έδαφος βελτίωσε σημαντικά την απορρόφηση μαγνησίου. Το μαγνήσιο είναι ένα βασικό συστατικό της χλωροφύλλης που συμμετέχει επίσης στην καταλυτική ενζυμική δραστηριότητα καθώς και στη ρύθμιση γονιδίων που εμπλέκονται στη φωτοσύνθεση (Sood et al., 2020).

1.2.5. Επιδράσεις στην απορρόφηση θρεπτικών συστατικών

Το *Trichoderma* αποδεδειγμένα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλα σχεδόν τα φυτά ως πηγή θρεπτικών συστατικών και δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα ακόμα και χωρίς την χρήση άλλων λιπασμάτων. Αυτό το επιτυγχάνει λόγω της δυνατότητας του να διασπά τα οργανικά μόρια που υπάρχουν στο έδαφος με αποτέλεσμα την ενίσχυση της παραγωγής και της αποδοτικότητας των καλλιεργειών. Η χρήση των μυκήτων *Trichoderma* υπόσχεται ένα κατάλληλο κλίμα για την ανάπτυξη ικανών ριζών σε αντάλλαγμα της πρόσληψης των υδατανθράκων από τα φυτά, το οποίο συναποτελεί απαραίτητη προτεραιότητα για αυτούς καθώς σε αυτή την διαδικασία βασίζεται η θρέψη τους. Συνεπώς, ελαττώνει την ανάγκη για συμβατικά λιπάσματα NPK και ενισχύει την διαλυτοποίηση των φωσφορικών αλάτων στο έδαφος και τα καθιστά προσιτά στα φυτά, καθώς και στη βελτίωση της απορρόφησης μικροθρεπτικών συστατικών όπως Na, Zn, Cu, Fe και άλλων (Pani et al., 2021).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι ρίζες των φυτών που έχουν δεχθεί εφαρμογή με *Trichoderma* επέδειξαν μεγαλύτερη ικανότητα ανάπτυξης στο έδαφος και βελτιωμένη απορρόφηση ανόργανων θρεπτικών στοιχείων. Σύμφωνα με τους Harman et al., (2004), διάφορα στελέχη του *Trichoderma* διαχέουν διάφορα οξέα, όπως το κουμαρικό, το κιτρικό και το γλυκουρονικό οξύ, τα οποία ενισχύουν στην αποδέσμευση ιόντων φωσφόρου από τα εδαφικά κολλοειδή, τα οποία σε πολλούς τύπους εδαφών είναι δύσκολό να δεσμευθούν από τα φυτά. Οι Altomare et al., (1999) διαπίστωσαν ότι η ύπαρξη του στελέχους 1295-22 του *T. harzianum* στο έδαφος επιδρά θετικά στη διαθεσιμότητα του P καθώς και του Fe και Zn στο εδαφικό διάλυμα. Αυτό είναι ιδιαίζουσας σημασίας δεδομένου ότι σε αλκαλικά εδάφη η έλλειψη σιδήρου είναι σημαντικό μειονέκτημα που επιδρά άμεσα στην ανάπτυξη και την παραγωγή των καλλιεργειών. Επιπρόσθετα, η βελτιωμένη ανάπτυξη ριζών και των βλαστών, ως αποτέλεσμα του εμβολιασμού με *Trichoderma*, επεξηγεί την αύξηση της πρόσληψης χαλκού, νατρίου και ψευδαργύρου καθώς και άλλων μικροθρεπτικών (Li et al., 2015).

1.2.6. Βελτίωση της απόδοσης

Η επεξεργασία με διάφορα είδη του μύκητα *Trichoderma* υπόσχεται υψηλών αποδόσεων παραγωγή σε πολλές περιπτώσεις καλλιεργειών όπως , το σιτάρι, η μουστάρδα, το καλαμπόκι, , η ντομάτα. (Haque et al., 2012). Ομοίως, το *Trichoderma* επιτελεί σημαντικό ρόλο και στην αύξηση του βάρους των κόκκων, αναβαθμίζοντας την απόδοση των καλλιεργειών σε συνθήκες θερμοκηπίων. Παρομοίως, οι προσθήκες με *T. harzianum* και *T. viride* που εφαρμόστηκαν σε ανθοκομικά φυτά, όπως οι πετούνιες και οι βερμπένες σηματοδότησαν σημαντική αύξηση του αριθμού και του βάρους των ανθέων. Επιπλέον, η επεξεργασία σπόρων πιπεριών chili με *T. harzianum* βοηθάει στην αύξηση της βλαστικότητας των σπόρων (Sood et al., 2020).

1.2.7. Επίδραση στην αντοχή σε αβιοτικές καταπονήσεις

Όταν τα φυτά εκτίθενται σε συνθήκες καταπονήσεων, ο εμβολιασμός του εδάφους με διάφορα στελέχη του *Trichoderma* επιδρά θετικά στην ανάπτυξη, στην αναπαραγωγή και στην παραγωγικότητα τους. Για παράδειγμα, η προσθήκη *T. Harzianum* σε καλλιέργεια ρυζιού άμβλυνε τις βλαβερές συνέπειες της καταπόνησης λόγω της αλατότητας στα φυτά και βελτίωσε την ανάπτυξη τους (Rawat et al., 2012). Επιπρόσθετα, κατά την έκθεση των φυτών σε καταπονήσεις που οφείλονται στις

ακραίες τιμές της θερμοκρασίας, το *Trichoderma* διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στον μετριασμό τους. Για παράδειγμα, η ψυχρή καταπόνηση σε φυτά τομάτας μετριάστηκε όταν τα φυτά υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με στελέχη *T. harzianum* AK20G. Ομοίως, φυτά *A. thaliana* επέδειξαν μεγαλύτερη ανοχή σε θερμικό στρες μετά την εφαρμογή στελεχών *T. harzianum* T34 hsp70 (Montero-Barrientos et al., 2010).

Επιπλέον, έχει φανεί η ικανότητα του *Trichoderma* spp. να απομακρύνει τοξικές ενώσεις από το εδαφικό διάλυμα και να επισπεύδει την αποικοδόμηση του οργανικού υλικού. Σε καλά ποτισμένες αλλά και σε ξηρές συνθήκες καλλιέργειας, η χρήση προϊόντων με βάση το *Trichoderma* είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του όγκου του ριζικού συστήματος. Το *Trichoderma* συντελεί, επίσης, σημαντικό ρόλο στην εγκατάσταση και στην ανάπτυξη των φυτών σε συνθήκες υδατικού στρες λόγω της ανάπτυξης ριζών και της καλύτερης αξιοποίησης του εδαφικού νερού. Έτσι, με τον αποικισμό των ριζών, την αύξηση της φυλλικής επιφάνειας και των δευτερευουσών ριζών και τη βελτίωση του ριζικού συστήματος, το *Trichoderma* spp. μπορεί να ενισχύσει την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών (Pani et al., 2021).

1.2.8. Ενίσχυση της ανθεκτικότητας σε ασθένειες

Έχει αναφερθεί ότι η προσθήκη διαφόρων ειδών *Trichoderma* στην περιοχή της ριζόσφαιρας ενός φυτού καλυτέρευσε την άμυνα των φυτών έναντι διαφόρων παθογόνων οργανισμών, όπως ιών, βακτηρίων και μυκήτων, προκαλώντας την έναρξη διαφόρων μηχανισμών αντίστασης που περιέχουν κυρίως την επαγόμενη συστηματική αντίσταση (ISR), υπερευαίσθητη απόκριση (HR) και συστηματική επίκτητη αντίσταση (SAR) (Harman et al., 2004). Στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ *Trichoderma* και φυτών ιδιάζουσας σημασίας είναι μεταβολίτες διαφόρων κατηγοριών που παρουσιάζονται τους ως εκλυτικοί παράγοντες ή επαγωγείς αντίστασης στις ασθένειες. Η επαγωγή της ανθεκτικότητας χρεώνεται στην αύξηση των ποσοτήτων των αμυντικών μεταβολιτών καθώς και των ενζύμων. Οι Yedidia et al., (1999) επιβεβαίωσαν ότι οι ρίζες αγγουριού εμβολιασμένες με *T. harzianum* χαρακτηρίζονταν από υψηλότερη έκφραση των δραστηριοτήτων υπεροξειδάσης και χιτινάσης, γεγονός που αναβάθμισε την αντίσταση του φυτού στις επιθέσεις από παθογόνους.

1.2.9. Επίδραση στη καταπολέμηση του παθογόνου οργανισμού

Η διαχείριση και η καταπολέμηση των ασθενειών επιτυγχάνεται από μικροοργανισμούς που φέρουν την ικανότητα να τις περιορίζουν και είναι αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων που αναπτύσσονται μεταξύ των συμβιωτικών και παθογόνων οργανισμών στο φυτό. Λόγω της ικανότητάς τους να υπερασπίζονται τα φυτά και να ρυθμίζουν τους πληθυσμούς των παθογόνων, υπό διάφορες εδαφικές συνθήκες, τα *Trichoderma* spp. έχουν μελετηθεί εκτενώς (Harman et al., 2004). Το *Trichoderma* είναι ένας νηματοειδής, παρασιτικός μύκητας του εδάφους που δρα με ποικίλους τρόπους δράσης και έχει παρουσιάσει ιδιαίτερη αποτελεσματικότητα έναντι πολλών παθογόνων του εδάφους που προσβάλλουν τα φυτά (Pani et al., 2021). Οι βασικές στρατηγικές για τον περιορισμό των ασθενειών που προάγει το *Trichoderma* με άμεση άμεσο τρόπο είναι ο μυκοπαρασιτισμός, ο ανταγωνισμός και η θεραπεία (Sood et al., 2020). Αυτή η σύνθετη διαδικασία εμπεριέχει διαδοχικά στάδια, τα οποία περιλαμβάνουν αρχικά την αναγνώριση του μύκητα-στόχου και του *Trichoderma*, την συσσώρευση και το περικύκλωμα γύρω από τις υφές του μύκητα και στη συνέχεια ακολουθεί η ανάπτυξη των απρεσορίων (Harman et al., 2004). Μετά από αυτή τη συλλογική δράση, τα λυτικά ένζυμα προξενούν τη διάλυση των κυτταρικών τοιχωμάτων του μύκητα-στόχου. Επίσης, φαινολικές ενώσεις που δημιουργούν και απελευθερώνουν τα είδη του *Trichoderma* περιορίζουν την ανάπτυξη πολλών φυτοπαθογόνων και την επεκταση. Οι γλυκανάσες, οι χιτινάσες και οι πρωτεάσες είναι τα ένζυμα που αποικοδομούν τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτοπαθογόνων μυκήτων και επιδρούν στον δευτερογενή μεταβολισμό, όπως στη διαδικασία NRPSs (μη ριβοσωμικές πεπτιδικές συνθετάσες), επιφέροντας τον θάνατο του παθογόνου (Masi et al., 2018). Μόνο με την παραγωγή δραστικών ουσιών, διάφορα είδη *Trichoderma* περιόρισαν την ανάπτυξη των ειδών *Fusarium*. Επίσης, το *Trichoderma* διαθέτει επίσης συνθάσες γλυκάνης και χιτίνης, τα οποία είναι ένζυμα που συμμετέχουν στην επούλωση του κυτταρικού τοιχώματος του *Trichoderma*, το οποίο είναι πιθανόν να δεχθεί βλάβη κατά την επαφή του με το παθογόνο. Το *Trichoderma harzianum* και το *P. fluorescens* συνεργάστηκαν για τη μείωση των πληθυσμών νηματωδών δημιουργώντας μια ειδική δομή που παρήγαγε τοξίνες και αλκαλοειδή που εξόντωναν τους εχθρούς τους (Contreras-Cornejo et al., 2015). Όταν εφαρμόστηκε συνδυασμός του *T. Harzianum* και το *P. fluorescens*, η ισχύς και η αποτελεσματικότητα των δύο παραγόντων βιοελέγχου αναβαθμίστηκε, με

αποτέλεσμα να προκύψει μια επιπλέον δράση κατά της ασθένειας στη καλλιέργεια του ρυζιού (Pani et al., 2021).

1.2.10. Προαγωγός ανάπτυξης των φυτών

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το *Trichoderma* spp. είναι γνωστός μύκητας που ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών, που ωφελούν τα φυτά στην απορρόφηση θρεπτικών συστατικών, να παράγουν αυξητικές ορμόνες (Contreras-Cornejo et al., και να καταπολεμούν τους παθογόνους μικροοργανισμούς (Zhang et al., 2018). Έχει μελετηθεί και αποδειχθεί ότι ο συνδυασμός οργανικών λιπασμάτων (κομπόστ) και στελεχών *Trichoderma* αποτελεί μια εναλλακτική και αποτελεσματική λύση για βιολογική λίπανση με αποτέλεσμα την αύξηση της βιομάζας και της απόδοσης των φυτών σε σύγκριση με τις εφαρμογές αποκλειστικά οργανικών λιπασμάτων ή των στελεχών *Trichoderma* (Zhang et al., 2018). Οι μικροοργανισμοί που αποικούν στις ρίζες και διευθετούν χρήσιμες λειτουργίες σε δραστηριότητες περιορισμού παθογόνων, παρέχοντας έτσι πρόληψη για τα φυτά της καλλιέργειάς από ασθένειες που μεταδίδονται από το έδαφος και προωθώντας την ανάπτυξη τους. Το *Trichoderma* συντελεί σημαντικό ρόλο στην μείωση των ρύπων, επιδρώντας σε χημικές ουσίες και μεταλλικά απόβλητα διαμέσου της δράσης διαφόρων ενζύμων (Awasthi et al., 2017), καθώς και αναβαθμίζοντας τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εδάφους. Σύμφωνα με στοιχεία που έχουν προκύψει το *Trichoderma harzianum* διακατέχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των φυτών καθώς επηρεάζει τον συνδυασμό παραγόντων όπως οι αυξίνες, οι γιββεριλίνες και το αιθυλένιο (Pani et al., 2021).

Το *Trichoderma harzianum* βρέθηκε ότι ενισχύει τη βλαστικότητα και την διατήρηση των σπόρων με την παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου. Επιπρόσθετα, βοηθά στην αύξηση του ύψους της καλλιέργειας και της ξηρή μάζα όταν εφαρμόζεται στο έδαφος, ευνοεί την αντοχή των φυτών σε συνθήκες στρες και την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Η αύξηση του αριθμού των ανθέων και των καρπών είναι ένδειξη του ρόλου του *Trichoderma harzianum* ως προαγωγός της ανάπτυξης των φυτών (López Errasquín, et Vázquez, 2003). Το *Trichoderma harzianum* προάγει την παραγωγή ορμονών που επιδρούν θετικά στην ανάπτυξη, όπως αντιβιοτικές ουσίες και πρωτεολυτικά ένζυμα που δρουν κατά των παθογόνων μυκήτων με αποτέλεσμα την ευμάρεια των φυτών. Ωστόσο, έχει εξαχθεί ως συμπέρασμα ότι η ποιότητα του

νερού έχει σημαντικό αντίκτυπο στις λειτουργίες του *Trichoderma*, συμπεριλαμβανομένης της σύνδεσης με διάφορα άλλα είδη, της βλάστησης των σπορίων, της ανάπτυξης των βλαστών, διαφόρων ενζύμων και του μυκηλίου που δημιουργεί αυτός (Pani et al., 2021).

1.2.11. Άλλες εφαρμογές του *Trichoderma*

Εκτός από τους προαναφερθέντες ρόλους του *Trichoderma* spp., η εξαιρετική ευελιξία και ικανότητα του όσον αφορά την παραγωγή μεταβολιτών καθιστά τους μύκητες του γένους *Trichoderma* δυνητικά ενδιαφέροντες για διάφορες εφαρμογές που αναφέρονται επιγραμματικά από κάτω:

1. Βιοεξυγίανση
2. Ζωοτροφές
3. Βιομηχανικές εφαρμογές
4. Βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς
5. Συντήρηση ξύλου
6. Γεωργικές και κηπευτικές εφαρμογές (Sood et al., 2020)

1.3. Χαλκός

1.3.1. Γενικά στοιχεία για τον Χαλκό

Ο χαλκός (Cu) αποτελεί ένα μικροθρεπτικό συστατικό ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη των φυτών και γενικά η συγκέντρωση του κυμαίνεται μεταξύ 5-30 mg kg⁻¹ Cu στους φυτικούς ιστούς. Η έλλειψη αλλά και η υπερβολικά υψηλότερη συγκέντρωση χαλκού παρουσιάζει αρνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Στον άνθρωπό, η προβλεπόμενη καμπύλη δοσοαπόκρισης του Cu έχει σχήμα U (Stern et al., 2007).

Το είδος του μητρικού υλικού, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εδάφους, οι προσθήκες λόγω βιομηχανικών εκπομπών και καλλιεργητικών εφαρμογών και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους είναι οι κύριοι παράγοντες που επιδρούν στην περιεκτικότητα του Cu. Έχει μελετηθεί ότι η περιεκτικότητα σε Cu μειώνεται σε υψηλές τιμές pH ή σε υψηλή περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανικό άνθρακα και άργιλο (Kumar et al., 2021). Σε παγκόσμιο επίπεδο, οι κανονικές τιμές του Cu σε

εδάφη που δεν έχουν υποστεί ανθρώπινη παρέμβαση κυμαίνονται από 2 έως 109 mg kg⁻¹. Σε επιφανειακό έδαφος που δεν έχει υποστεί ρύπανση από ανθρωπογενείς παράγοντες, η συγκέντρωση του σε χαλκού εκτιμάται στα 5 mg kg⁻¹ (Ferreira et al., 2018).

Η συνιστώμενη τιμή της συγκέντρωσης χαλκού στα καλλιεργούμενα που προορίζονται για βρώση είναι 30 mg kg⁻¹ (Sharma et al., 2018). Η περίσσεια χαλκού στα φυτά εντείνει την δημιουργία ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) και προκαλεί οξειδωτικό στρες που είναι επιζήμιο για τα φυτά. Ωστόσο, η υπεροξειδική δισμουτάση και η υπεροξειδάση, ενώσεις που παράγονται στα φυτά, δεσμεύουν τα ROS επιτελώντας έτσι καθοριστικό στη μείωση της τοξικότητας χαλκού σε αυτά (Kumar et al., 2021). Το οξειδωτικό στρες που προκαλεί υπεροξειδωση των λιπιδίων έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή πολλών μεταβολικών διαδικασιών προκαλώντας δυσλειτουργίες στα βασικά μακρομόρια του φυτού. Οι Saleem et al., (2020) διαπίστωσαν ότι τον σημαντικότερο ρόλο στην πρόσληψη και την μεταφορά του χαλκού στα φυτά επιτελούν τα επίπεδα που βρίσκεται στους ιστούς καθώς και οι συνθήκες ανάπτυξης, υπό τις οποίες αναπτύσσονται τα φυτά. Ωστόσο, η συγκέντρωσή του στα κύτταρα χρήζει να διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα καθώς τα υψηλά επίπεδα Cu προκαλούν τροποποιήσεις στο DNA, τη φωτοσύνθεση, την δομή της κυτταρικής μεμβράνης, τη δραστηριότητα των ενζύμων και τη διαδικασία της αναπνοής, που οδηγούν σε μείωση της ανάπτυξης και στην μάρανση του φυτού (Kumar et al., 2021). Οι Nazir et al., (2019), αναφέρουν ότι τα φυτά που υπόκεινται σε υψηλή καταπόνηση από τον χαλκό παρουσιάζουν ως συνηθέστερη ένδειξη μειωμένη φυτική βιομάζα.

Η βάση του χαλκού της μεταφοράς στους ζωντανούς οργανισμούς θεωρείται ο βιογεωχημικός κύκλος του Cu στο σύστημα εδάφους-φυτού-ανθρώπου. Ωστόσο, η συγκέντρωση Cu στα μέρη των φυτών συνδέεται άμεσα με τη συγκέντρωση χαλκού του εδάφους. Κατά συνέπεια, είναι μείζονας σημασίας ο έλεγχος της συγκέντρωσης του χαλκού στο έδαφος και η μεταφορά του στην τροφική αλυσίδα από τα φυτά στον άνθρωπό και στα ζώα. Οι μελέτες στην πλειοψηφία τους φανέρωσαν ότι οι Cu²⁺ και Cu⁺ είναι οι πιο διαδεδομένες μορφές Cu που προσλαμβάνουν τα φυτά. Το είδος του χαλκού που θα προσληφθεί από τα φυτά εξαρτάται από το pH, την οργανική ύλη κ.λπ., καθώς επηρεάζουν άμεσα την κινητικότητά του στο εδαφικό διάλυμα (Amery

et al., 2008). Συνεπώς, πρέπει να τεθεί σε προτεραιότητα η εξήγηση των μηχανισμών που επηρεάζουν τη μεταφορά του χαλκού από το έδαφος στα φυτά και όχι μόνο η εκτίμηση της τοξικότητας ή της αναγκαιότητας του στους ζωντανούς οργανισμούς καθώς και των ελάχιστων και μέγιστων τιμών του σε αυτούς (Kumar et al., 2021).

1.3.2. Ο χαλκός στο περιβάλλον

Στο έδαφος, ο χαλκός δεσμεύεται από διάφορα θραύσματα λόγω της ανταλλαγής κατιόντων, της καθίζησης ή της προσρόφησης του σε αυτά και η σταθερότητά του εξαρτάται από το pH (Kumar et al., 2021). Ο θειικός χαλκός (CuSO_4) είναι η πιο κοινή φυσική ένωση Cu και χρησιμοποιείται στη συντήρηση ξύλων, στη γεωργία σε μυκητοκτόνα και στη βιομηχανία δέρματος.

Οι φυσικές πηγές Cu στο έδαφος είναι το μητρικό υλικό του εδάφους, οι κατακρημνίσεις βράχων, τα ηφαίστεια και οι δασικές πυρκαγιές. Υψηλές συγκεντρώσεις Cu μεταφέρονται με τον άνεμο σε μορφή σκόνης που προέρχονται από βιομηχανικές δραστηριότητες και τελικά εγκαθίσταται στα εδάφη. Η λυματολάσπη από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας είναι μια άλλη πηγή Cu στο έδαφος. Εκτός από τις φυσικές πηγές, μεγάλη ποσότητα Cu προστίθεται στο έδαφος από άλλες ανθρωπογενείς πηγές όπως οι εξόρυξεις, η τήξη, τα γεωργικά απόβλητα και τα αγροχημικά σκευάσματα. Η ταχεία εκβιομηχάνιση και η αστικοποίηση έχουν αυξήσει τα επίπεδα Cu στην επιφάνεια του εδάφους αλλά και στα βαθύτερα στρώματα. Η εφαρμογή ανόργανων λιπασμάτων και κοπριάς στη γεωργία προσθέτει υψηλή περιεκτικότητα σε Cu στο έδαφος (Dogra et al., 2020).

1.3.3. Χημικές ιδιότητες του Χαλκού

Ο χαλκός χαρακτηρίζεται ως ένα ελαφρύ, εύπλαστο, όλκιμο μέταλλο με κοκκινωπό χρώμα. Έχει θερμοκρασία τήξης $1084,6\text{ }^\circ\text{C}$ και θερμοκρασία βρασμού $2567\text{ }^\circ\text{C}$. Αντιδρά με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο προς σχηματισμό οξειδίου του χαλκού. Ωστόσο, όταν ο αέρας έχει υψηλά ποσοστά υγρασίας ο Cu σχηματίζει με αργό ρυθμό ανθρακικό χαλκό και αποκτά πρασινωπό χρώμα. Ο Cu διαλύεται εύκολα σε αμμωνία για να σχηματίσει ιόν συμπλόκου χαλκού αμμωνίου παρουσία αέρα. Ο Cu εμφανίζει δύο αριθμούς οξείδωσης (+1 και +2) και υπάρχει σε δύο καταστάσεις οξείδωσης δηλαδή +1 (Cu (I), ιόν χαλκού) και +2 (Cu (II), ιοντικός χαλκός). Η πιο κοινή κατάσταση που είναι διαδεδομένος ο Cu είναι η δισθενής μορφή του και τα

σύμπλοκα και οι ενώσεις που σχηματίζει έχουν μπλε ή πράσινο χρώμα. Ο Cu συσσωρεύεται με σχετική ευκολία στο έδαφος καθώς χαρακτηρίζεται από υψηλές ελκτικές δυνάμεις και δεσμεύεται με ισχυρούς δεσμούς με την οργανική ύλη καθώς και εκπλένεται με αργούς ρυθμούς στο έδαφος στο έδαφος. Η συνεχής συσσώρευση Cu στα γεωργικά εδάφη αυξάνει τη συγκέντρωσή του σε αυτά, με αποτέλεσμα την δημιουργία φυτοτοξικότητας και συνάμα να βλάπτει την ασφάλεια των τροφίμων (Kumar et al., 2021).

1.3.4. Χαλκός στις καλλιέργειες

Λόγω του εναέριου φορτίου σε Cu, τα καλλιεργούμενα προς βρώση φυτά αποτελούν τα πιο επηρεασμένα τρόφιμα μεταξύ των συστημάτων τροφίμων από την περιβαλλοντική ρύπανση. Τα φυτά προσλαμβάνουν βαρέα μέταλλα όπως ο Cu και τα αποθηκεύουν στα βρώσιμα αλλά και στα μη βρώσιμα μέρη τους σε υπερβολικές ποσότητες και ως εκ τούτου η κατανάλωση τους προκαλεί προβλήματα υγείας τόσο σε ανθρώπους όσο και σε άλλα ζώα. Τα βαρέα μέταλλα όπως ο Cu στο έδαφος μπορούν να συγκεντρωθούν στις καλλιέργειες τροφίμων και να μεταφερθούν σε άλλους οργανισμούς μέσω της τροφικής αλυσίδας. Ο παράγοντας βιοσυσσώρευσης (BCF) των βαρέων μετάλλων στο σύστημα εδάφους-τροφίμων των καλλιεργειών, κυρίως των βασικότερων όπως το σιτάρι και το ρύζι έχει μελετηθεί ικανοποιητικά (Wang et al., 2017).

1.3.5. Ο χαλκός στα εδάφη

Ο χαλκός συγκρατείται σε θέσεις ανταλλαγής ιόντων, όπου τα ιόντα ενυδατώνονται και απορροφώνται μέσω ηλεκτροστατικών δυνάμεων. Μετά από αυτό το αρχικό στάδιο, διεξάγονται πιο αργές αντιδράσεις, των οποίων η ισορροπία εξαρτάται από την ποσότητα και το χρόνο εφαρμογής του Cu και ο ίδιος μπορεί να δημιουργήσει ιοντικούς και ομοιοπολικούς δεσμούς (ειδική προσρόφηση) με υψηλότερο ενεργειακό επίπεδο και σταθερότητα. Στη συγκεκριμένη προσρόφηση σε λειτουργικές ομάδες ανόργανων σωματιδίων, ο Cu χάνει μερικώς ή πλήρως το νερό ενυδάτωσης του, σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο με τα οξειδία Fe, Mn, Al, με μη κρυσταλλοποιημένα αργιλοπυριτικά και με ορυκτά αργίλου που περιέχουν OH⁻ ή ένα μόριο H₂O. Ως συνέπεια της υψηλής αλληλεπίδρασης μεταξύ του Cu και των συστατικών της στερεάς φάσης του εδάφους, υπάρχει συσσώρευση στο επιφανειακό στρώμα εδαφών που δεν κινητοποιούνται για μεγάλες περιόδους, αυξάνοντας τον κίνδυνο τοξικότητας

για τα φυτά, καθώς το μεγαλύτερο μέρος του ριζικού συστήματος είναι συγκεντρωμένο σε αυτό το στρώμα. Εκτός από τη δέσμευση του Cu στη στερεά φάση, η αστάθεια του Cu στο έδαφος μεταβάλλεται από φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά όπως τα επίπεδα ορυκτών, οξειδίων και υδροξειδίων του Fe, του Al και του Mn, καθώς και των ανθρακικών και της οργανικής ύλης, το pH του εδάφους, και ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (CEC) (Yrueala, 2009).

Τα φυτά και οι μικροοργανισμοί απορροφούν τον Cu του εδαφικού διαλύματος κατά προτίμηση σε ανόργανη χημική μορφή. Οι μορφές του Cu που κυριαρχούν στο διάλυμα των καλλιεργούμενων εδαφών είναι τα ελεύθερα είδη και αυτά που βρίσκονται σε σύμπλοκα με οργανικές ενώσεις. Ωστόσο, άλλα είδη συμπλοκοποιούνται με ανόργανες ενώσεις (OH^- , CO_3^{2-} , PO_4^- , SO_4^{2-} και NO_3^-), όμως βρίσκονται συνήθως σε χαμηλές αναλογίες (Yrueala, 2009).

1.3.6. Κατανομή και βιοδιαθεσιμότητα χαλκού στο έδαφος

Η συγκέντρωση του Cu στο εδαφικό διάλυμα αντιπροσωπεύει ένα μικρό κλάσμα της συνολικής περιεκτικότητας του εδάφους, ωστόσο έχει μεγάλη σημασία για την πρόληψη του και την βιοδιαθεσιμότητά του όταν βρίσκεται σε ισορροπία με τα κλάσματα που απορροφούνται από τα εδαφικά κolloειδή. Οι διαδοχικές προσθήκες Cu προάγουν τον κορεσμό των θέσεων προσρόφησης στα εδαφικά κolloειδή και αυξάνουν τη συγκέντρωση Cu στο εδαφικό διάλυμα (De Conti et al., 2019).

1.3.6.1. Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα χαλκού

Ο Cu σχετίζεται με πολλά βασικά ένζυμα και με διάφορους παράγοντες κατά την διαδικασία της μεταγραφής που είναι σημαντικοί για τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την οξείδωση/αναγωγή αντιδράσεων και αμυντικούς μηχανισμούς. Έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του Cu και της βιοδιαθεσιμότητάς του στα εδάφη, υποδεικνύοντας την άμεση επιρροή του στη κατανομή σε αυτά και την οικοτοξικολογία (Cuypers et al., 2013). Παρόλο που, η βιοδιαθεσιμότητα εξαρτάται από τα φυτικά ή ζωικά είδη, στις περισσότερες περιπτώσεις διαπιστώνεται ότι οι ασταθείς μορφές όπως οι διαλυτές και ανταλλάξιμες μορφές Cu (II) είναι άμεσα διαθέσιμες σε σύγκριση με σταθερές μορφές (Kumar et al., 2021).

1.3.6.2. Επίδραση των χημικών ιδιοτήτων του εδάφους στη βιοδιαθεσιμότητα Cu

Παρόλο που τα επίπεδα Cu στο έδαφος κυμαίνονται μεταξύ 3 και 100 mg kg⁻¹, μόνο το 1-20% είναι βιοδιαθέσιμο, ενώ το μέγιστο δεσμεύεται και σχηματίζει οργανικά σύμπλοκα (Adrees et al., 2015). Ο Cu στο έδαφος βρίσκεται σε στερεή καθώς και σε υγρή φάση. Στην περίπτωση στερεάς φάσης, ο χαλκός σχηματίζει υδατοδιαλυτά σύμπλοκα με δευτερογενή ορυκτά (άργλιοι και οξειδία μετάλλων/υδροξειδία), οργανικά υλικά και πρωτογενή ορυκτά (πυριτικά, ανθρακικά και φωσφορικά). Η συγκέντρωση της πιο κοινής κατάστασης του, δηλαδή του δισθενούς χαλκού στο έδαφος αυξάνεται όταν το pH του εδάφους μειώνεται με συνεπακόλουθη την μείωση της ικανότητας προσρόφησης του Cu. Επιπλέον, η βιοδιαθεσιμότητα του Cu έχει μεγαλύτερη επίδραση στο pH της ριζόσφαιρας σε σύγκριση με το pH του εδάφους σε εδάφη μολυσμένα με Cu (Cuypers et al., 2013).

Αναλυτικότερα, διάφορες μελέτες αναφέρουν την επίδραση της βιοδιαθεσιμότητας Cu στις φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητες που εμφανίζονται στα επιφανειακά στρώματα του εδάφους αλλά και στο περιβάλλον εδάφους-ρίζας στην περιοχή της ριζόσφαιρας. Οι διαφορετικές ιδιότητες όπως ο τύπος του εδάφους, το pH, η οργανική ύλη, τα αργιλικά σωματίδια, η υγρασία του εδάφους, η θερμοκρασία, η διαπερατότητα, η κατακράτηση και η παρουσία διαφορετικών μεταλλικών ιόντων και των οξειδίων τους στα εδάφη είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα Cu στα εδάφη. Είναι γνωστό από προηγούμενες μελέτες ότι η οργανική ύλη του εδάφους, καθώς έχει υψηλότερο αρνητικό φορτίο και ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων, έχει τεράστιο αντίκτυπο στη στοιχειακή κατανομή, ειδικότερα στον Cu (Zhang et al., 2020). Επίσης, οι παραπάνω παράγοντες έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν και αντιδράσεις μεταξύ του Cu με τον καολινίτη με την συμβολή του αλγινικού και χουμικού οξέος. Ο Cu έχει εισέλθει στα εδάφη κυρίως μέσω διαφορετικών μυκητοκτόνων. Η δέσμευση του Cu (II) σε διαλυμένη οργανική ύλη στα εδάφη είναι ακόμα μια σημαντική πτυχή στη ρύθμιση της χημικής κατανομής, της βιοδιαθεσιμότητας και της τοξικότητας του Cu (II).

1.3.6.3. Επίδραση μικροοργανισμών του εδάφους στη βιοδιαθεσιμότητα του χαλκού

Η βιοδιαθεσιμότητα και η κατανομή του χαλκού οδήγησαν σε επικείμενο κίνδυνο για το έδαφος και τη γονιότητά του και τις μικροβιακές διεργασίες του, καθιστώντας

απαραίτητη τη μέτρηση της τοξικότητας Cu στο έδαφος (Cao et al., 2020). Η χρήση χαλκούχων μυκητοκτόνων επιδρά αρνητικά στους ωφέλιμους μικροοργανισμούς, όπως οι μυκόρριζες. Σε αυτό το πρόβλημα και ειδικότερα στην βιολογική γεωργία όπου η χρήση του χαλκού είναι εκτεταμένη, δεν υπάρχουν πολλές εναλλακτικές λύσεις για να αντικατασταθούν τα συγκεκριμένα σκευάσματα. Η πιο βιώσιμη λύση για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος βασίζεται κυρίως σε ωφέλιμους μικροοργανισμούς που αλληλοεπιδρούν μεταξύ φυτού-εδάφους. Αναφέρεται ότι η τοξικότητα Cu προκαλεί ανταγωνιστική επίδραση στους μικροοργανισμούς του εδάφους, μειώνοντας τη βιομάζα, τα επίπεδα του άνθρακα, τον ρυθμό αναπνοής, τις μικροβιακές δραστηριότητες και τροποποιήσεις στον μεταβολικό συντελεστή και στη δομική κοινότητα των μικροβίων. Αντίθετα, υπάρχουν πολλά μικρόβια που έχουν καλά ανεπτυγμένους μηχανισμούς αντίστασης στις καταπονήσεις των βαρέων μετάλλων και είναι σε θέση να πολλαπλασιάζονται και να εξαπλώνονται κάτω από υψηλότερες συγκεντρώσεις Cu πιθανώς λόγω της ικανότητάς τους να κινητοποιούν, να μετατρέπουν ή να απομονώνουν τα μεταλλικά ιόντα που επηρεάζουν την κινητικότητά τους (Kumar et al., 2021). Επιπλέον, μπορούν να επηρεάσουν την κατανομή μετάλλων, τη βιοδιαθεσιμότητα τους μέσω της αποτελεσματικής παραγωγής οργανικής ύλης και των αντιδράσεων οξειδωσης και αναγωγής (Cui et al., 2019).

Οι αλληλεπιδράσεις των μικροβίων στο έδαφος με τα βαρέα μέταλλα είναι πολύ περίπλοκες και όπου σχεδόν το 90% της συνολικής βιομάζας του εδάφους αποτελείται από μεταλλικά θρεπτικά συστατικά τα οποία μέσω των παραπάνω αλληλεπιδράσεων προστίθενται στο εδαφικό διάλυμα (Bai et al., 2019). Τα μικρόβια συντελούν στην πραγματοποίηση τέτοιων διαδικασιών συμμετέχοντας σε διάφορες λειτουργικές θέσεις στις επιφάνειές των συμπλόκων όπως καρβοξύλιο, αμίδιο, αμίνη, υδροξύλιο, πρωτεΐνες, νουκλικά οξέα, πολυσακχαρίτες για να δεσμεύονται και να σχηματίζουν σύμπλοκα μέσω δεσμών υδρογόνου (Kumar et al., 2021).

1.3.7. Πρόσληψη και μεταφορά του χαλκού στα φυτά

Τα φυτά προσλαμβάνουν μεταλλικά ιόντα από το έδαφος μέσω των επιδερμικών ριζικών κυττάρων και στη συνέχεια τα μεταφέρονται στο στέλεχος του φυτού μέσω του παρεγχύματος, της ενδοδερμίδας και του ξυλώματος. Αυτή η μονόδρομη πρόσληψη μετάλλων μεταπτώσεως υποστηρίζεται από διάφορους μεταφορείς

βαρέων μετάλλων που λειτουργούν σε συντονισμό με άλλα μόρια μεταφορέων μετάλλων (χημικοί παράγοντες/ συμπλοκοποιητές) για τη σωστή πρόσληψη και μετατόπιση μεταλλικών στοιχείων σε όλο τον ιστό κατά τη μεταμορφογένεση των φυτών.

Τα ιόντα χαλκού που προσλαμβάνονται από τις ρίζες των φυτών μπορούν να μεταφερθούν με τη μορφή Cu(I) ή Cu(II), αλλά γενικά η πρόσληψη γίνεται με τη μορφή συμπλόκων Cu. Τα αγγεία του ξυλώματος λειτουργούν ως κύρια πηγή μεταφοράς Cu από την ρίζα στον βλαστό. Ο ιστός του ξυλώματος που είναι υπεύθυνος για αυτή τη δράση μελετήθηκε σε μεταλλαγμένα *Oryza sativa* με μεταφορέα ATPase τύπου P1B OsHMA5 που έδειξε καλύτερη μετατόπιση του Cu από τις ρίζες στους βλαστούς. Ο μεταφορέας OsHMA5 βρίσκεται στην περιοχή των αγγειακών ιστών στις καλά ανεπτυγμένες ρίζες και η μετατόπιση με αυτόν τον τρόπο παρατηρείται τόσο στο βλαστικό όσο και στο αναπαραγωγικό στάδιο (Deng et al., 2013). Ένα άλλο αμινοξύ, το nicotianamine έχει επίσης ζωτικό ρόλο στη μεταφορά μεταλλικών στοιχείων. Το συγκεκριμένο αμινοξύ έχει την ικανότητα να δεσμεύεται σε διάφορα μέταλλα μετάπτωσης, όπως Mn, Fe, Co, Zn, Ni και Cu και στα αγγεία ξυλώματος (Kumar et al., 2021).

1.3.8. Ευεργετικές επιδράσεις του χαλκού

Ο Cu αποτελεί ένα από τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για τα φυτά που επιτελεί σημαντικό ρόλο στην φυσιολογική ανάπτυξη και εξέλιξη τους. Το μέταλλο αυτό λαμβάνεται από τα φυτά κυρίως από το έδαφος, παρά τις διαφυλλικές εφαρμογές που εφαρμόζονται για την καταπολέμηση των ασθενειών. Σε κυτταρικό επίπεδο, ο Cu επιτελεί σημαντική λειτουργία στον μεταβολισμό του κυτταρικού τοιχώματος, στη μετάφρασή του DNA και στη δημιουργία των πρωτεϊνών. Σε συνθήκες έλλειψής του Cu το φυτό αναπτύσσει ακριβή συμπτώματα, τα οποία επηρεάζουν κυρίως τα νεαρά φύλλα και τα αναπαραγωγικά όργανα (Ytuela, 2009). Ο Cu συμμετέχει σε πολλές βιολογικές διεργασίες ως συστατικό διαφόρων ενζύμων και πρωτεϊνών. Ωστόσο, μια μικρή κλιμάκωση της συγκέντρωσης Cu στα εδάφη φέρει τοξικές επιπτώσεις στα φυτά. Ο Cu είναι ένα από τα επτά μικροθρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του φυτού.

1.3.9. Τοξικότητα χαλκού στα φυτά

Ο χαλκός σε υπερβολική ποσότητα προκαλεί επιπτώσεις στην παραγωγή και την επιβίωση των φυτών. Ο Cu είναι ένα ζωτικής σημασίας μέταλλο που συμμετέχει σε πολλές μεταβολικές διεργασίες των φυτών, όμως η υπερβολική δέσμευση του από τις ρίζες μπορεί να θέσει σε κίνδυνο την ανάπτυξη και την παραγωγικότητα των φυτών προκαλώντας αλλαγές στη δομή του ριζικού συστήματος, αλλαγές στην πρόληψη άλλων μετάλλων, προκαλώντας ελλείψεις και οξειδωτικό στρες (De Conti et al., 2019). Τα φυτά σίκαλης που καλλιεργούνται σε σύστημα παράλληλων καλλιεργειών με φυτά όπως το αμπέλι δείχνουν ανθεκτικότητα στην επίδραση του Cu στα εδάφη του αμπελώνα (De Conti et al., 2020). Η μείωση της φυτικής βιομάζας, η μείωση της ανάπτυξης των ριζών, η χλώρωση, ο μπρούτζινος χρωματισμός στα φύλλα και η νέκρωση αποτελούν τα κοινά συμπτώματα που σχετίζονται με την υπερβολική ποσότητα Cu που οφείλεται στην ενισχυμένη παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου και στις επιζήμιες επιπτώσεις σε κυτταρικό επίπεδο (Kumar et al., 2021).

1.3.10. Επιδράσεις της περίσσειας χαλκού στις Ανατομικές και Μορφολογικές Αλλαγές

Οι αρνητικές επιδράσεις της περίσσειας Cu εμφανίζονται με τη μορφή μορφολογικών, ανατομικών και βιοχημικών αντιδράσεων, μεταξύ των οποίων οι ανατομικές αλλαγές είναι οι σημαντικότερες. Γενικά, έχει παρατηρηθεί αναστολή της ανάπτυξης και της δομής των ριζών σε διάφορα είδη φυτών όταν αναπτύσσονται παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων μετάλλων. Ενισχυμένος σχηματισμός πλευρικών ριζών παρατηρήθηκε σε φυτά *Arabidopsis* και στο ραπανάκι (*Raphanus sativus*) που εκτέθηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις Cu. Ωστόσο, η μειωμένη μιτωτική δραστηριότητα, η γρηγορότερη γήρανση και η χαμηλή βιωσιμότητα των κυττάρων ήταν χαρακτηριστικά για τις νεοσχηματισμένες πλευρικές ρίζες (Lequeux et al., 2010). Επίσης, παρατηρήθηκε η δημιουργία μικρών πλευρικών ριζών χαμηλής βιωσιμότητας στο ραπανάκι, η οποία πιθανώς περιόρισε και την ανάπτυξη της πρωτογενούς ρίζας. Επιπλέον, η έκθεση σε Cu προκάλεσε δυσμορφίες στις ρίζες ριζών των φυτών ρίγανης (*Origanum vulgare*), καθώς και σημαντική μείωση του συνολικού όγκου των ριζών των φυτών ρίγανης. Ο κεντρικός κύλινδρος και το αγγειακό σύστημα της ρίζας μπορούν επίσης να επηρεαστούν από την καταπόνηση με Cu. Σε φυτά ρίγανης, η διάμετρος των αγγείων του ξυλώματος αυξήθηκε χωρίς να μεταβληθεί το πάχος του κυτταρικού τοιχώματος, ενώ στα κύτταρα του φλοιού

διαπιστώθηκε το αντίθετο. Στα φασόλια, τόσο το πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων του ξυλώματος όσο και του φλοιού αυξήθηκε μετά την καταπόνηση Cu, πιθανώς λόγω μαζικής εναπόθεσης λιγνίνης. Οι επιδράσεις των υψηλών συγκεντρώσεων Cu στη μορφολογία των φυτών έχουν μελετηθεί σε διάφορα είδη φυτών και οι πιο συνηθισμένες μεταβολές περιλαμβάνουν μειωμένα μήκη ριζών/βλαστών/φύλλων, επιφάνεια φύλλων, αγωγιμότητα στομάτων και μέγεθος στελέχους, μαζί με καφετίωση/σάπισμα των ριζών, μειωμένο αριθμό ριζών ανά φυτό και χλώρωση των φύλλων (Wairich et al 2022). Λαμβάνοντας υπόψη όλες αυτές τις αλλαγές που προκαλούνται από τον Cu, δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι πολυάριθμες μελέτες έχουν καταδείξει την τοξική επίδραση υψηλών συγκεντρώσεων Cu στη βιομάζα και την απόδοση των σπόρων των καλλιεργειών τροφίμων που καλλιεργούνται τόσο σε υδροπονικές όσο και σε εδαφικές συνθήκες.

1.3.11. Επιδράσεις της περίσσειας χαλκού στην πρόσληψη και συσσώρευση άλλων μεταλλικών θρεπτικών συστατικών

Το πιο κοινό σύμπτωμα της τοξικότητας Cu στα φυτά είναι η μειωμένη πρόσληψη άλλων μεταλλικών θρεπτικών συστατικών (Adrees et al., 2015). Όταν το εδαφικό διάλυμα χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα Cu, παρατηρείται ότι η συγκέντρωση του Cu στο ριζικό σύστημα είναι σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τους βλαστούς και τα φύλλα. Αυτό το γεγονός άμεσα μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την πρόσληψη άλλων θρεπτικών συστατικών (Ca, Mg, K, N, P, Zn, Mn, Co και Fe) σε πολλά είδη φυτών. Από την άλλη πλευρά, διαφορετικές μελέτες έχουν αναφέρει ότι η συσσώρευση Cu μπορεί επίσης να επηρεάσει θετικά την πρόσληψη και τη συσσώρευση Ca, Mg, K, Mn, S και Fe (Adrees et al., 2015). Επομένως, η επίδραση του Cu στην πρόσληψη και συσσώρευση θρεπτικών στα φυτά εξαρτάται σαφώς από το είδος του φυτού, τη συγκέντρωση Cu στη ρίζα, τη διάρκεια έκθεσης και τις συνθήκες ανάπτυξης. Αξίζει να τονιστεί ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις Cu είναι ιδιαίτερα τοξικές στα φυτά όταν συνδυαστούν με υψηλές συγκεντρώσεις Fe σε σύγκριση με άλλα θρεπτικά συστατικά (Adrees et al., 2015).

1.3.12. Προσαρμοστικότητα των φυτών στην τοξικότητα του χαλκού

Τα φυτά που αναπτύσσονται σε εδάφη με μεγάλες συγκεντρώσεις Cu είναι πιθανό να εκδηλώσουν προσαρμοστικούς μηχανισμούς όταν εκτίθενται σε συνθήκες στρες, αλλάζοντας τη βιοδιαθεσιμότητα του Cu στη ριζόσφαιρα. Οι μηχανισμοί ανοχής είναι

η μειωμένη πρόσληψη Cu από τις ρίζες, περιορισμένη μεταφορά του Cu από τις ρίζες στους βλαστούς, αποτελεσματική εκροή μετάλλων μέσω της πλασματικής μεμβράνης, χηλική σύνδεση του Cu με οργανικά μόρια και διέγερση των φυτοχελαιτινών (Adrees et al., 2015). Αυτές οι στρατηγικές μπορούν να περιορίσουν την τοξικότητα του Cu είτε αντιδρώντας άμεσα με τον Cu είτε περιορίζοντας την πρόσληψη του Cu στα φυτά (Song et al., 2014).

Ο πρώτος αμυντικός μηχανισμός μείωσης της τοξικότητας από την περίσσεια Cu είναι η μείωση ή η παρεμπόδιση της πρόσληψης από το έδαφος, είτε με χηλίωση είτε με καθίζηση ιόντων Cu στη ριζόσφαιρα. Πρόσφατες μελέτες σχετικές με τους μηχανισμούς που προκαλείται η τοξικότητα μετάλλων στα φυτά αναφέρουν ότι η υψηλή συγκέντρωση Cu είναι τοξική για τα φυτά, προκαλώντας σημαντικές επιπτώσεις σε μορφολογικό, μοριακό επίπεδο αλλά και στην φυσιολογία των φυτών. Κάτω από εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις, ο Cu έχει την τάση να καταλαμβάνει όλες τις θέσεις, τόσο της υψηλής όσο και χαμηλής συγγένειας, καθιστώντας την επίδραση της τοξικότητας του σε μη ειδική (Wairich et al 2022). Οι μη ειδικοί μηχανισμοί ανοχής στα μέταλλα περιλαμβάνουν:

1. τη συσσώρευση σουβερίνης και λιγνινοποίηση των κυττάρων της ρίζας, εμποδίζοντας έτσι τη μετατόπιση των μετάλλων στον βλαστό,
2. την ενισχυμένη άμυνα ROS και αποτοξικοποίηση των μετάλλων μέσω φυτοχελαιτινών στις ρίζες και τους βλαστούς
3. την δέσμευση των τοξικών ιόντων μετάλλων και τη μεταφορά και αποθήκευση τους σε κυτταρικά διαμερίσματα όπου παρεμβαίνουν λιγότερο στις μεταβολικές διεργασίες, όπως το κενοτόπιο (Khouidi, 2021),
4. την δέσμευση δισθενών/τριθενών ιόντων σε αρνητικά φορτισμένους πολυσακχαρίτες, όπως η πηκτίνη και η ημικυτταρίνη του κυτταρικού τοιχώματος και
5. την αυξημένη εναπόθεση καλλόζης και αναδιαμόρφωση του κυτταρικού τοιχώματος, ενισχύοντας την ικανότητα δέσμευσης και απομόνωσης εντός του αποπλάστη (Wairich et al 2022).

Η πλειονότητα των φυτών χρησιμοποιεί έναν ή συνδυασμό αυτών των μηχανισμών για να αντιμετωπίσει την περίσσεια βαρέων μετάλλων (Khouidi, 2021).

1.4. Δενδροειδείς Μυκορριζικοί Μύκητες – Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)

1.4.1. Γενικά στοιχεία για τους Δενδροειδείς Μυκορριζικούς Μύκητες

Οι δενδροειδείς μυκορριζικοί μύκητες (AMF) αποτελούν μια ομάδα υποχρεωτικών βιότροφων μικροοργανισμών που σημαίνει ότι για να επιβιώσουν και να υλοποιήσουν τον κύκλο τους πρέπει να προαγάγουν μια στενή συμβιωτική σχέση με τις ρίζες ενός ζωντανού φυτού ξενιστή (Parniske, 2008). Ο όρος «μυκόρριζα» προέρχεται από τις λέξεις «μύκης» και «ρίζα», που σημαίνουν μύκητας και ρίζα αντίστοιχα. Οι πρώτες τέτοιες σχέσεις συμβίωσης υπολογίζονται πριν από 400 εκατομμύρια χρόνια, οι οποίες συνέβαλαν στον επιτυχημένο εποικισμό της ξηράς από τα πρώτα χερσαία φυτά (Sawers et al., 2008).

Οι AMF είναι σε μεγαλύτερο ποσοστό μικροοργανισμοί του εδάφους που δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με πάνω από το 80% των φυτών (Prasad et al., 2017), εκτός από μερικές οικογένειες φυτών, όπως οι *Amaranthaceae*, *Brassicaceae*, *Cruciferae*, *Chenopodiaceae*, *Caryophyllaceae*, *Juncaceae*, *Cyperaceae* και *Polygonaceae*, οι οποίες δεν παρουσιάζουν καμία σχέση (Brundrett, 2009). Εντοπίζονται σε πολλά διαφορετικά οικοσυστήματα παγκοσμίως. Οι AMF αποτελούν βασικό συστατικό των μικροοργανισμών του εδάφους και ανήκουν στο φύλο Glomeromycota. Αυτό το φύλο χωρίζεται σε τρεις κλάσεις (Archaeosporomycetes, Glomeromycetes και Paraglomeromycetes), πέντε τάξεις (*Archaeosporales*, *Diversisporales*, *Gigasporales*, *Glomerales* και *Paraglomerales*), 14 οικογένειες, 29 γένη και περισσότερα από 240 είδη. Αρκετά είδη AMF έχουν μελετηθεί σε παγκόσμια κλίμακα, ωστόσο, τα περισσότερα είδη που χρησιμοποιούνται σε γεωργικό επίπεδο είναι τα εξής: *Funneliformis mosseae* (προηγουμένως γνωστό ως *Glomus mosseae*), *Gigaspora rosea*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora gigantea* και *Rhizophagus irregularis* (προηγουμένως γνωστό ως *Glomus intraradices* και *Glomus irregulare*) (Fall et al., 2022).

Οι μυκόρριζες εντοπίζονται κυρίως σε των φυτικά είδη, με κύρια τα αγρωστώδη, γεωργικές καλλιέργειες και αρωματικά φυτά και συναλλάσσουν οφέλη με τους συμβιώτες τους, όπως είναι χαρακτηριστικό όλων των αμοιβαίων συμβιωτικών σχέσεων (Jakhar et al., 2017). Αλληλοεπιδρούν και συμβιώνουν με τα φυτά και το έδαφος, αναπτύσσοντας τα μυκήλιά τους τόσο εντός, διαμορφώνοντας κατά

διαστήματα διακλαδισμένες δενδρόμορφες δομές, γνωστές ως arbuscules, στις οποίες θεωρείται ότι επιτελείται κυρίως η ανταλλαγή θρεπτικών συστατικών, όσο και εκτός των ριζών των φυτών. Επιπλέον, οι μύκητες αυτοί σχηματίζουν ένα εκτεταμένο δίκτυο εξωγενών υφών, το οποίο εκτείνεται πέρα από το ριζικό σύστημα του φυτού. Ο πιθανός ρόλος της συμβίωσης AM στη φωσφορική θρέψη έχει λάβει τη μεγαλύτερη προσοχή όσον αφορά τις γεωργικές εφαρμογές (Sawers et al., 2008). Οι AMF σαν συνεισφορά στο φυτό του προμηθεύουν νερό, ανόργανα θρεπτικά συστατικά του εδάφους (κυρίως φώσφορο και άζωτο), προστασία από παθογόνα και της αντοχής σε μια ποικιλία καταπονήσεων, όπως από ξηρασία, άλατα, βαρέα μέταλλα και σταθερότητα στη δομή του εδάφους (Jakhar et al., 2017). Η αύξηση της λήψης θρεπτικών συστατικών από το φυτό-ξενιστή μέσω των AMF οφείλεται στα χαρακτηριστικά του μυκηλίου τους. Αυτές οι υφές δεσμεύουν θρεπτικά συστατικά μέσω του ωσμωτικού δυναμικού και αξιοποιούν προς όφελός του φυτού μεγαλύτερη επιφάνεια σε σύγκριση με τις μη μυκορριζικές ρίζες (Duponnois et al., 2011). Αντιστρόφως, τα φυτά παρέχουν στους μύκητες φωτοσυνθετικές ενώσεις (Bonfante et Genre, 2010) και ορισμένα από τα λιπαρά οξέα που χρειάζεται ο μικροοργανισμός για να αναπτυχθεί (Keymer et al., 2017).

Το αποτέλεσμα του αποικισμού των AMF σε μια συγκεκριμένη ποικιλία φυτού αποτυπώνεται με τις διαφορές που προκύπτουν στην απόδοση ανάλογα με τον προορισμό και την τελική χρήση των φυτών που έχουν αποικιστεί και μη και ορίζεται ως "επιδραστικότητα" (responsiveness). Η επιδραστικότητα ορίζεται για μια ποικιλία φυτών και η σύγκριση της επίδρασης των μυκκόριζων μεταξύ ποικιλιών εμφανίζει μεγαλύτερη δυσχέρεια. Η αδυναμία ενός φυτού να αναπτυχθεί χωρίς την παρουσία των AMF ονομάζεται "εξάρτηση" και μετριέται ως το επίπεδο διαθεσιμότητας θρεπτικών συστατικών κάτω από το οποίο τα μη αποικισμένα φυτά είτε παύουν να αναπτύσσονται είτε μειώνεται η απόδοση κάτω από ένα συγκεκριμένο όριο (Sawers et al., 2008).

Η διαφοροποίηση της ανταπόκρισης των φυτών με τις AM που υφίσταται στις υπάρχουσες στις πολλές διαφορετικές ποικιλίες καλλιεργούμενων φυτών έχει διερευνηθεί σε αρκετές μελέτες, συνήθως δίνοντας έμφαση στην ανάπτυξη των φυτών υπό συνθήκες περιορισμένων θρεπτικών στοιχείων. Σε μια μελέτη που παρέβαλλε την απόδοση ποικιλιών σιταριού που αναπτύχθηκαν πριν και μετά το

1900, οι ποικιλίες που αναπτύχθηκαν πριν από το 1900 παρουσίασαν καλύτερη ανταπόκριση στον αποικισμό με τις συμβιωτικές μυκκόριζες σε σχέση με εκείνες που αναπτύχθηκαν αργότερα και έχει προταθεί ότι η φυτική αναπαραγωγή έχει επιλέξει ενάντια στη συσχέτιση με AM (Sawers et al., 2008). Παρόμοια, οι Kiers et al., (2012) απέδειξαν ότι οι παλαιότερες ποικιλίες σόγιας είχαν υψηλότερη ικανότητα συμβίωσης με τις AM σε σχέση με τις νεότερες και είχαν την ικανότητα να καταφέρουν το πλήρες συμβιωτικό δυναμικό τους, παρουσία ενός μείγματος ριζοβιακών στελεχών με διαφορετική συμβιωτική αποτελεσματικότητα.

Η ανταλλαγή θρεπτικών συστατικών που αναπτύσσεται μεταξύ των AM και των φυτών σε ορισμένες περιπτώσεις δεν είναι απαραίτητο να γίνεται με απόλυτη ισορροπία αλλά το ένα μέλος μπορεί να ασκεί επιλεκτική πίεση για να δράσει προς όφελος του και για να μετακινήσει την ισορροπία προς την κατεύθυνσή του. Υπάρχουν ολοένα και περισσότερες ενδείξεις ότι το φυτό-ξενιστής μπορεί να ρυθμίζει τον αποικισμό του μύκητα ρυθμίζοντας την παροχή άνθρακα στον μύκητα ή με πιο έμμεσους μηχανισμούς σηματοδότησης, που πιθανώς περιλαμβάνουν φυτοορμόνες. Έχει φανεί ότι ο βαθμός αποικισμού AM των ριζών του σιταριού μειώνεται με την αύξηση της διαθεσιμότητας φωσφορικών αλάτων. Ομοίως, έχει αποδειχθεί ότι το κριθάρι αντιστέκεται στον περαιτέρω αποικισμό AM μόλις η ανάπτυξη των μυκήτων φτάσει σε ένα ορισμένο κρίσιμο επίπεδο. Ο σκοπός αυτών των αλλαγών σε τέτοιες αποκρίσεις έχει τη δυνατότητα να βελτιώσει την επιδραστικότητα των συμβιωτικών AM σε περιβάλλον καλλιέργειας (Sawers et al., 2008).

Οι AM παίζουν ουσιαστικό ρόλο στον κύκλο του άνθρακα καθώς οι υφές τους παίρνουν μέρος στη μεταφορά του στο έδαφος και αποτελούν βασικό σύνδεσμο στον χερσαίο κύκλο του στοιχείου (Fall et al., 2022). Έχει αποδειχθεί ότι στις ρίζες που έχουν αποικηθεί με μυκκόριζες δημιουργείται ανάγκη αυξημένης απορρόφησης άνθρακα. Όταν αυξάνεται το ατμοσφαιρικό CO₂, μεγαλώνει επίσης η κατανομή του C από τα φυτά στις AM και προκαλεί την ανάπτυξη των τελευταίων (Drigo et al., 2010).

1.4.2. Τύποι μυκκόριζας:

Από τους πολλούς διαφορετικούς τύπους μυκκόριζικών σχέσεων που αναπτύσσονται με τα φυτά, δύο είναι ιδιαίτερης οικονομικής και οικολογικής σημασίας: οι

εκτομυκόρριζες σχέσεις και τα ενδομυκόρριζα τύπου vesicular arbuscular (VA). Στα εκτομυκόρριζα, οι μύκητες εισέρχονται στην περιοχή του εξωτερικού φλοιού της ρίζας του φυτού-ξενιστή χωρίς να διεισδύουν στα κύτταρα αυτά. Τα κύρια χαρακτηριστικά για να προσδιοριστεί αυτός ο τύπος μυκόρριζας είναι ο σχηματισμός εντός της ρίζας ενός δικτύου υφών που είναι γνωστό ως δίκτυο Hartig. Ο αποικισμός των φυτών ξενιστών από εκτομυκορριζικούς μύκητες επεξηγεί τις αλλαγές που παρατηρούνται στις ρίζες του ξενιστή και είναι ορατές με γυμνό μάτι. Οι αποικισμένες από τους μύκητες ρίζες είναι παχύτερες και πιο διακλαδισμένες από τις μη αποικισμένες ρίζες καθώς και οι εκτομυκορριζικές τροφοδότριες ρίζες τείνουν επίσης να έχουν διαφορετικό χρώμα. (Jakhar et al., 2017). Στα ενδομυκόρριζα του τύπου VA, οι μύκητες διεισδύουν στα κύτταρα της επιδερμίδας και του εξωτερικού φλοιού και δημιουργούν στον φλοιό λεπτές συστάδες διακλαδισμένων υφών, γνωστές ως arbuscules. Οι arbuscules πιστεύεται ότι είναι τα σημεία όπου ανταλλάσσονται υλικά μεταξύ του φυτού ξενιστή και των μυκήτων. Διαμορφώνουν, επίσης, κυστίδια, τα οποία είναι οργανίδια ποικίλων σχημάτων, εντός ή εκτός των κυττάρων του φλοιού. Τα κυστίδια χρειάζονται γενικά ως δομές αποθήκευσης και όταν είναι παλιά δύνανται να χρησιμεύουν ως αναπαραγωγικές δομές. Τα κυστίδια και οι arbuscules, μαζί με τα μεγάλα σπόρια, αποτελούν τα διαγνωστικά χαρακτηριστικά των μυκορριζών VA. Οι ρίζες πρέπει να καθαριστούν και να χρωματιστούν με συγκεκριμένους τρόπους και να εξεταστούν στο μικροσκόπιο για να διαπιστωθεί ότι έχουν αποικιστεί από μυκορριζικούς μύκητες VA (Jakhar et al., 2017).

1.4.3. Λειτουργίες της μυκόρριζας:

Αποτελέσματα πειραμάτων αποδεικνύουν ότι οι μύκητες AM δεσμεύουν N,P,K, Ca, S, Cu και Zn από το έδαφος και τα διαβιβάζουν στα φυτά που έχουν αποικίσει. Ωστόσο, η πιο σημαντική και σταθερή διατροφική επίδραση των μυκήτων AM βρίσκεται στη βελτιωμένη πρόσληψη των ακίνητων θρεπτικών στοιχείων, ιδίως του P, του Cu και του Zn. Οι μύκητες εντείνουν την πρόσληψη των ακίνητων θρεπτικών στοιχείων πολλαπλασιάζοντας τις την επιφάνεια των ρίζας. Σε εδάφη που δεν πραγματοποιούνται λιπάνσεις, η ανάγκη για πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά ξεπερνά κατά πολύ τον ρυθμό διάχυσης των θρεπτικών από το έδαφος στη ζώνη των ριζών, με αποτέλεσμα στην περιοχή γύρω από τις ρίζες τα θρεπτικά στοιχεία να εξαντλούνται. Οι μυκορριζικοί μύκητες συμβάλλουν στην αντιμετώπιση αυτού του

προβλήματος επεκτείνοντας τις εξωτερικές τους υφές σε περιοχές του εδάφους πέρα από αυτή την περιοχή, απορροφώντας έτσι θρεπτικά από μεγαλύτερο όγκο εδάφους που χωρίς τις AM δεν θα ήταν προσβάσιμος από το ριζικό σύστημα. Η ενισχυμένη πρόσληψη θρεπτικών συστατικών από τους μύκητες AM συνδέεται συχνά με δραματική αύξηση της απόδοσης σε ξηρή ουσία, η οποία συνήθως φτάνει σε πολλαπλάσιες αυξήσεις για τα φυτικά είδη που έχουν μεγάλη εξάρτηση από τη μυκόρριζα.

Οι μύκητες AM μπορεί να έχουν βιοχημικές ικανότητες για την αύξηση της παροχής διαθέσιμου P και άλλων ακινητοποιημένων θρεπτικών στοιχείων. Οι ικανότητες αυτές μπορεί να συμπεριέχουν αύξηση στη δραστηριότητα της φωσφατάσης της ρίζας, την απελευθέρωση χηλικών παραγόντων και την οξίνιση της ριζόσφαιρας. Ωστόσο, αυτοί οι μηχανισμοί δεν φαίνεται να εξηγούν την πολύ έντονη επίδραση που έχουν οι μύκητες στην ανάπτυξη των φυτών (Habte et Fox, 1993). Οι μύκητες AM συχνά εμπλέκονται σε λειτουργίες που μπορεί να σχετίζονται ή όχι με την ενίσχυση της πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων. Για παράδειγμα, έχουν συσχετιστεί με αυξημένα επίπεδα χλωροφύλλης στα φύλλα και βελτιωμένη ανθεκτικότητα των φυτών σε ασθένειες, παράσιτα, υδατικό στρες, αλατότητα και τοξικότητα βαρέων μετάλλων. Επιπλέον, υπάρχουν ολόένα και περισσότερες ενδείξεις ότι τα δίκτυα υφών των μυκήτων AM συμβάλλουν σημαντικά στην ανάπτυξη εδαφικών συσσωματωμάτων και, ως εκ τούτου, στη διατήρηση του εδάφους (Miller et Jastrow, 1992).

1.4.4. Επίδραση των AM στην ανάπτυξη των φυτών

Είναι γνωστό ότι οι AM ενισχύουν την ανάπτυξη και την υγεία των φυτών αναβαθμίζοντας την ανόργανη θρέψη και προάγουν την αντοχή και την ανθεκτικότητα σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Οι AM επιδρούν στις σχέσεις εδάφους-φυτού-νερού, συμβάλλοντας στην καλύτερη προσαρμογή των φυτών σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες (ξηρασία, μέταλλα). Λόγω των δομών τους οι AM έχουν την ικανότητα να προσλαμβάνουν θρεπτικά από μέρη που οι ρίζες των φυτών δεν μπορούν, αυξάνοντας έτσι τον όγκο του εδάφους που είναι προσβάσιμος και συνεπώς παροχή θρεπτικών στοιχείων στα φυτά. Πολλαπλασιάζουν την κινητοποίηση και την μεταφορά θρεπτικών συστατικών (P, N, S, μικροθρεπτικά συστατικά όπως, Cu και Zn) από το έδαφος στο φυτό ακόμα και σε μορφές που

κανονικά δεν μπορούν να δεσμευτούν από τα φυτά (Jakhar et al., 2017). Οι AMF επιτρέπουν την καλύτερη απορρόφηση των χαμηλής κινητικότητας ιχνοστοιχείων στο έδαφος, όπως το κάλιο (K), το ασβέστιο (Ca), το μαγνήσιο (Mg), ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn), ο σίδηρος (Fe), το μαγγάνιο (Mn) και το κοβάλτιο (Co) (Fall et al., 2022). Αξίζει να ειπωθεί ότι τα ιχνοστοιχεία επιτελούν αξιοσημείωτο ρόλο σε ενζυματικές δραστηριότητες όπως στη φωτοσύνθεση, την οξειδωτική.

1.4.5. Επίδραση των μυκήτων AM στη φυσικά χαρακτηριστικά του εδάφους

Οι ιδιότητες του εδάφους, η αρχιτεκτονική των ριζών και οι πρακτικές διαχείρισης επηρεάζουν τον σχηματισμό και την διατήρηση της δομής του εδάφους. Έχει αποδειχθεί ότι οι AMF μέσω της συμβίωσης τους στη ριζόσφαιρα συμβάλλει στο σχηματισμό και τη σταθεροποίηση των εδαφικών συσσωματωμάτων (Jakhar et al., 2017). Οι μυκορριζικοί μύκητες συμβάλλουν στη δομή του εδάφους μέσω:

- της εξάπλωσης εξωτερικών υφών των AMF στο έδαφος και του σχηματισμού σκελετικής δομής που συγκρατεί τα σωματίδια του εδάφους.
- της ενίσχυσης τον σχηματισμό μακροσυσσωματωμάτων βοηθώντας την συγκόλληση των μικροσυσσωματωμάτων μεταξύ τους, μέσω των εξωτερικών υφών και των ριζών.
- Οι AMF μαζί με άλλους μικροοργανισμούς του εδάφους λαμβάνουν χώρα στο σχηματισμό υδατοσταθερών (water-stable) εδαφικών συσσωματωμάτων ακόμα και αν αυτά εκτίθενται σε διάφορες καιρικές συνθήκες [Requena et al., 2001].
- Οι υφές των AMF παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση των εδαφικών συσσωματωμάτων (Wilson et al., 2009).
- Τα μυκήλια των AM περικλείουν τα σωματίδια του εδάφους μέσα στο δίκτυο των υφών και βοηθάνε να ενωθούν τα σωματίδια μεταξύ τους μέσω της έκκρισης εξωκυτταρικών πολυσακχαριτικών ενώσεων, π.χ. Glomalin. Η γλυκοπρωτεΐνη Glomalin δρα ως κόλλα που συνδέει τις μικροσυσσωματώσεις του εδάφους (διάμετρος <250μm) για να σχηματίσει σταθερές μακροσυσσωματώσεις (Lehmann et al., 2020).
- Οι AMF μπορούν να μετριάσουν την ερημοποίηση.

Συνεπώς, επιδρούν άμεσα στη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους, στη κατακράτηση νερού, στις μικροβιακές δραστηριότητες, στην ανακύκλωση του αζώτου, του άνθρακα και του φωσφόρου και η βελτίωση της οξύτητας του εδάφους (Parihar et al., 2020).

1.4.6. Επίδραση των μυκήτων AM στη πανίδα του εδάφους:

Έχει αποδειχθεί ότι οι ενώσεις μυκορριζικών μυκήτων μετριάζουν τις αρνητικές επιδράσεις που προκαλούν τα διάφορα φυτοπαθογόνα του εδάφους. Είναι μια ασφαλής και περιβαλλοντικά αποδεκτή εναλλακτική λύση για τον έλεγχο των ασθενειών των φυτών. Οι AMF μεταποιούν την ποιότητα και στην σύνθεση της μικροχλωρίδας της ριζόσφαιρας και επηρεάζουν τα μικρόβια του εδάφους. Οι AMF μπορούν να δράσουν ως βιολιπάσματα, βιοπροστατευτικά ή βιοαποικοδομητές. Οι μυκορριζικοί μύκητες λειτουργούν ως αποτελεσματικοί καταστολείς των παθογόνων εδαφογενών μυκήτων και των φυτικών παρασιτικών νηματωδών (Jakhar et al., 2017) μέσω του ανταγωνισμού για θρεπτικά συστατικά και χώρο στο ριζικό σύστημα έναντι των παθογόνων μυκήτων του εδάφους και παράγουν επίσης αντιβιοτικές ουσίες που αναστέλλουν τα παθογόνα μυκήτων. Πριν την δημιουργία αποικιών, οι μυκορριζικοί μύκητες έχουν την ικανότητα να ωθήσουν τη ρίζα να παράγει φυσικούς αμυντικούς μηχανισμούς, όπως η ενίσχυση των κυτταρικών τοιχωμάτων και η σύνθεση χημικών ουσιών (χιτινάσες και φυτοαλεξίνες) που προστατεύουν τη ρίζα από την επίθεση παθογόνων. Οι υφές είναι αγωγοί που δύνανται να μεταφέρουν ποσότητες άνθρακα από τις ρίζες των φυτών σε άλλους εδαφικούς οργανισμούς που συμμετέχουν σε διαδικασίες ανακύκλωσης θρεπτικών στοιχείων. Επίσης, οι μικροοργανισμοί της ριζόσφαιρας έχουν την τάση να παράγουν ουσίες (π.χ. αμινοξέα, φυτικές ορμόνες, βιταμίνες, άλλες οργανικές ενώσεις και πτητικές ουσίες) που διεγείρουν τους ρυθμούς ανάπτυξης των AMF και συνεπώς των φυτών (Barea, 2000). Οι μύκητες AM συχνά αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος της μικροβιακής βιομάζας του εδάφους .

2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε για την αξιολόγηση της επίδρασης της εφαρμογής *Trichoderma harzianum* και χαλκού στα αποδοτικά, αγρονομικά χαρακτηριστικά και στην πανίδα του εδάφους στην καλλιέργεια του *Tritordeum*. Εξαιτίας της κλιματικής μεταβλητότητας η ανάγκη για βιώσιμες λύσεις στην ανάπτυξη των καλλιεργειών και στην καταπολέμηση των ασθενειών καθίσταται επιτακτική. Αναλυτικότερα, μελετάται η ικανότητα του *Tritordeum* να ανταπεξέλθει σε συνθήκες που το έδαφος χαρακτηρίζεται από υψηλή συγκέντρωση χαλκού, καθώς και ο ρόλος που επιτελεί το *Trichoderma harzianum* στον εγκλιματισμό και στην ανάπτυξη της καλλιέργειας.

Για την επίτευξη της έρευνας μετρήθηκαν και αξιολογήθηκαν οι παρακάτω παράμετροι:

1. Ξηρό βάρος φυτού,
2. Ύψος φυτού,
3. Πορεία ανάπτυξης της καλλιέργειας ανά μεταχείριση,
4. Χαρακτηριστικά του φυλλώματος (ξηρό βάρος φύλλων, φυλλική επιφάνεια),
5. Χαρακτηριστικά του ριζικού συστήματος (μήκος, επιφάνεια και μέση διάμετρος του ριζικού συστήματος),
6. Ποσοστό αποικισμού σε μυκκόριζες,
7. pH του εδάφους και
8. Δείκτες (Harvest Index, Specific Leaf Weight, Leaf Area Ratio, Leaf Weight Ratio)

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. Περιοχή εγκατάστασης του πειράματος

Η μελέτη αυτή διεξάχθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, αρχικά στην θερμοκηπιακή μονάδα Β΄ του Εργαστηρίου Γεωργίας και στη συνέχεια στον αγρό του Εργαστηρίου Γεωργίας. Οι συντεταγμένες είναι γεωγραφικό μήκος: 37° 59' 3.30'' Ν και γεωγραφικό πλάτος: 23° 42' 9.30'' Ε και υψόμετρο 29,48 μέτρα.

3.2. Φυτικό υλικό

Οι σπόροι της καλλιέργειας *Tritordeum* χορηγήθηκαν από την εταιρία σποροπαραγωγής Alfa Seeds και ήταν της ποικιλίας Bulel. Η συγκεκριμένη εταιρία είναι ο αποκλειστικός αντιπρόσωπος για την εμπορία σπόρων την εν λόγω καλλιέργειας στον ελλαδικό χώρο και συνεργάζεται άμεσα με την Agrasis, εταιρία που δημιούργησε το υβρίδιο *Tritordeum*.

3.3. Πειραματικό πλάνο

Το *Tritordeum* στην παρούσα μελέτη καλλιεργήθηκε ως εαρινό σιτηρό. Η καλλιέργεια πραγματοποιήθηκε σε γλάστρες 6 λίτρων (pot experiment), οι οποίες περιείχαν χώμα και φυτόχωμα.

Στο θερμοκήπιο υιοθετήθηκε ένα τυχαιοποιημένο σχέδιο με τέσσερις διαφορετικές διαχειρίσεις, οι οποίες ήταν ο μάρτυρας, η εφαρμογή με *Trichoderma harzianum*, η εφαρμογή με χαλκό και ο συνδυασμός *Trichoderma harzianum*- χαλκού. Οι δοσολογίες των εφαρμογών του *Trichoderma harzianum* και του χαλκού ήταν οι ενδεδειγμένες που αναγράφονταν στα σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν. Οι εφαρμογές του *Trichoderma harzianum* πραγματοποιήθηκαν:

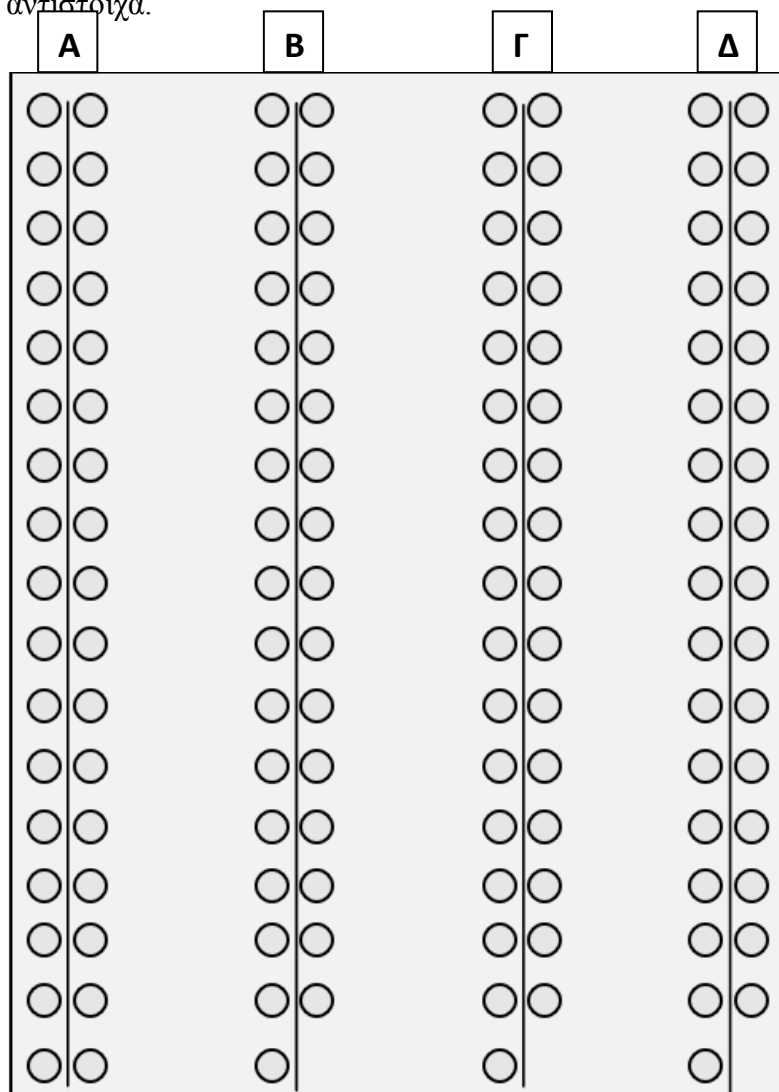
- 20 ημέρες μετά την σπορά
- 33 ημέρες μετά την σπορά
- 49 ημέρες μετά την σπορά
- 74 ημέρες μετά την σπορά

Και αντίστοιχα του χαλκού:

- 23 ημέρες μετά την σπορά
- 36 ημέρες μετά την σπορά

- 52 ημέρες μετά την σπορά
- 77 ημέρες μετά την σπορά

Τα σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το JADE 40WG της Χελλαφαρμ Α.Ε. και TRIANUM-P της Koppert για την χαλκό και το *Trichoderma harzianum*, αντίστοιχα.



3.4. Καλλιεργητικές πρακτικές

3.4.1. Σπορά και γέμισμα γλαστρών

Η σπορά πραγματοποιήθηκε την Πέμπτη 7 Απριλίου του 2022 και σε κάθε γλάστρα τοποθετήθηκαν τρεις κόκκοι του είδους *Tritordeum* σε βάθος 1,5cm.

Το έδαφος κάθε γλάστρας ήταν αναμεμειγμένο με χώμα και φυτόχωμα σε ποσοστά 60:40 αντίστοιχα.

Τα φυτά του πειράματος στο σύνολό τους ήταν 130 και οι μεταχειρίσεις είχαν ως εξής:

- Μάρτυρας: 34 φυτά
- Διαχείριση με *Trichoderma harzianum*: 33 φυτά
- Διαχείριση με χαλκό: 33 φυτά
- Διαχείριση με *Trichoderma harzianum* και χαλκό: 33 φυτά

3.4.2. Τοποθέτηση γλαστρών στο θερμοκήπιο

Οι γλάστρες τοποθετήθηκαν στο θερμοκήπιο σε τέσσερα διαφορετικά τμήματα ανάλογα με την διαχείριση που εφαρμόστηκε σε αυτές. Οι αποστάσεις των γλαστρών ανά διαχείριση ήταν 0,3m*0,5m και αποστάσεις ανά μεταχείριση ήταν 1m. Το συνολικό μήκος του κάθε μέρους ήταν 10,2m και το πλάτος ήταν 7m. Η γλάστρες ανά μεταχείριση είχαν διαταχθεί σε δύο σειρές των 16-17 γλαστρών ανά σειρά, με τους σωλήνες άρδευσης να βρίσκονται ανάμεσα από τις δύο σειρές. Τα τμήματα των διαφορετικών διαχειρίσεων ήταν παράλληλα μεταξύ τους.

3.4.3. Μεταφορά των γλαστρών στον αγρό

Στις 17 Μαΐου του 2022 το πείραμα μεταφέρθηκε στον αγρό του Εργαστηρίου Γεωργίας, μετά την απόκτηση του επιθυμητού ύψους (περίπου 10cm και 3-4 φύλλων). Εκεί οι αποστάσεις άλλαξαν σε 0,5m*0,5m ανά διαχείριση και σε 1,2m μεταξύ των διαχειρίσεων. Έτσι, το συνολικό μήκος του πειράματος έγινε 17m και το πλάτος 7,6m. Η διάταξη στον αγρό ήταν ίδια με την διάταξη του θερμοκηπίου, όπως απεικονίζεται στο παρακάτω σχεδιάγραμμα.

3.4.4. Άρδευση

Το σύστημα άρδευσης που ακολουθήθηκε στο θερμοκήπιο ήταν με σταλάχτες σταθερής και αργής ροής με σκοπό την αποτελεσματικότερη απορρόφηση του νερού από το έδαφος και την πρόσληψή του από τα φυτά. Σε κάθε γλάστρα χορηγούταν μισό λίτρο νερού ανά άρδευση και συνολικά πραγματοποιήθηκαν πέντε ποτίσματα στο θερμοκήπιο.

Μετά την μεταφορά στον αγρό και λόγω της αυξημένης θερμοκρασίας, η άρδευση λάμβανε χώρα ανά τρεις μέρες με δοσολογία 0,5 λίτρα ανά άρδευση σε κάθε γλάστρα μέχρι την έναρξη της φυσιολογικής ωρίμανσης των φυτών, δηλαδή μέχρι τις 17

Ιουλίου του 2022. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 22 αρδεύσεις. Κατά την διάρκεια του πειράματος η άρδευση ήταν ομοιόμορφη σε όλες τις διαχειρίσεις.

3.4.5. Βοτάνισμα- Διαχείριση ζιζανίων

Ύστερα από την εκβλάστηση των φυταρίων έγινε αφαίρεση ενός στελέχους από τις γλάστρες που είχαν βλαστήσει οι τρεις σπόροι στις 10 Μαΐου του 2022. Μετά από την ικανοποιητική ανάπτυξη των φυτών της καλλιέργειας και με κριτήριο την ζωνρότητα που παρουσίαζαν τα φυτά αφαιρέθηκε και το δεύτερο στέλεχος από τις γλάστρες που είχαν δύο στελέχη. Η ανωτέρω διαδικασία πραγματοποιήθηκε με σκοπό την μείωση του ανταγωνισμού μεταξύ των φυτών της ίδιας γλάστρας.

Ένα από τα σημαντικά πλεονεκτήματα του θερμοκηπίου είναι ότι ο χώρος είναι ελεγχόμενος από εξωτερικές παρεμβολές, όπως η διασπορά των ζιζανίων και συνεπώς η διαχείριση τους δεν παρουσιάζει δυσκολία. Ωστόσο, μετά την μεταφορά στον αγρό παρατηρήθηκε αυξημένη ανάπτυξη ζιζανίων. Η αφαίρεσή τους πραγματοποιούνταν χειρωνακτικά μία φορά την εβδομάδα σε όλο το πειραματικό αγροτεμάχιο.

3.4.6. Συγκομιδή

Μετά την μέτρηση της υγρασίας των σπόρων και την ολοκλήρωση της οικονομικής ωρίμανσης, η συγκομιδή της καλλιέργειας πραγματοποιήθηκε στις 29 Αυγούστου του 2022 χειρωνακτικά.

3.5. Μετρήσεις αγρονομικών χαρακτηριστικών

3.5.1. Μέτρηση ύψους

Το ύψος του φυτού είναι η απόσταση μεταξύ της επιφάνειας του εδάφους και των υψηλότερων φωτοσυνθετικών ιστών, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται οι στάχεις και εκφράζεται σε cm. Για την συγκεκριμένη μέτρηση υπολογίστηκαν τα ύψη των κύριων στελεχών και όχι των αδελφιών. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με την χρήση μέτρου και στην συνέχεια συλλέχθηκαν τα δεδομένα.

Οι συνολικές μετρήσεις ήταν οκτώ, κατά τις ακόλουθες ημερομηνίες εκφρασμένες σε μέρες μετά τη σπορά:

1. 25 ημέρες μετά την σπορά
2. 33 ημέρες μετά την σπορά
3. 40 ημέρες μετά την σπορά
4. 49 ημέρες μετά την σπορά
5. 59 ημέρες μετά την σπορά
6. 70 ημέρες μετά την σπορά
7. 82 ημέρες μετά την σπορά
8. 96 ημέρες μετά την σπορά

Στις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν, λήφθηκαν δεδομένα από έξι συγκεκριμένα φυτά που επιλέχθηκαν τυχαία ανά διαφορετική διαχείριση. Στη συνέχεια, υπολογίστηκε ο μέσος όσος από κάθε μέτρηση και επέμβαση.

3.5.2. Μέτρηση του συνολικού ξηρού βάρους ανά φυτό

Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν για το ξηρό βάρος είναι αποτέλεσμα των μετρήσεων σε ζυγαριά ακριβείας έξι φυτών ανά διαχείριση που επιλέχθηκαν τυχαία μετά το πέρας της συγκομιδής. Στη συνέχεια, υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι ανά διαχείριση.

3.5.3. Μέτρηση του ξηρού βάρους του στελέχους (χωρίς στάχυ), φύλλων και στάχων

Για την συγκεκριμένη μέτρηση υπολογίστηκε το συνολικό βάρος του στελέχους, μετά την αποκοπή του στάχους από το στέλεχος και επακολούθησε η μέτρηση του βάρους των φύλλων και στάχων ανά φυτό σε ζυγαριά ακριβείας. Όπως και παραπάνω μετρήθηκαν έξι διαφορετικά φυτά ανά διαχείριση και μετά υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι.

3.5.4. Μέτρηση μήκους στάχου

Στη συγκεκριμένη μέτρηση υπολογίστηκε το μήκος του στάχου μέσω μέτρου ακριβείας.

3.5.5. Μετρήσεις του ριζικού συστήματος των φυτών

Για να πραγματοποιηθεί αυτή η μέτρηση συλλέχθηκε δείγμα 100cm³ αδιατάρακτου εδάφους σε απόσταση 7,5cm από τη βάση του στελέχους έως το κέντρο του κύκλου του ειδικού δειγματολήπτη που χρησιμοποιήθηκε από πέντε διαφορετικές γλάστρες ανά μεταχείριση, δηλαδή είκοσι στο σύνολο. Αφού τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε

πλαστικές σακούλες, προστέθηκε σε αυτά για 48 ώρες διάλυμα 0,5% πολυμεταφωσφορικού νατρίου, για να επιτευχθεί ο διαχωρισμός των ριζών από το έδαφος και 500ml νερού. Μετά το πέρας των 48 ωρών, τα δείγματα κοσκινίστηκαν σε κόσκινο 2mm με χαμηλή ροή νερού και ξεχωρίστηκε το ριζικό σύστημα από το υπόλοιπο έδαφος. Οι ρίζες που προέκυψαν τοποθετήθηκαν σε διηθητικό χαρτί και αποθηκεύτηκαν σε ψυγείο θερμοκρασίας 6°C. Αυτή η διαδικασία επαναλήφθηκε 3 φορές τις ακόλουθες ημερομηνίες:

- 56 ημέρες μετά την σπορά
- 81 ημέρες μετά την σπορά
- 96 ημέρες μετά την σπορά

Στη συνέχεια, οι ρίζες βάφτηκαν με μαύρη σινική μελάνη και αφέθηκαν να στεγνώσουν για δύο ώρες. Με την χρήση του σαρωτή οι ρίζες σαρώθηκαν σε ασπρόμαυρη μορφή TIFF και σε ανάλυση 300 dpi. Έπειτα, οι εικόνες αυτές αναλύθηκαν μέσω του προγράμματος DT-Scan και μετρήθηκαν με αυτόν τον τρόπο το εμβαδό της επιφάνειας της ρίζας, το μέσο μήκος και η διάμετρος της ρίζας, εκφρασμένα σε mm. Αυτή η διαδικασία επαναλήφθηκε και στις τρεις δειγματοληψίες όλων των διαχειρίσεων και εξάχθηκαν οι μέσοι όροι ανά διαχείριση και δειγματοληψία.

3.5.6. Μέτρηση ποσοστού αποικισμού μυκόρριζων (AMF) στο ριζικό σύστημα

Οι προαναφερθείσες ρίζες βάφτηκαν με φουξίνη. Ο σκοπός αυτής της ενέργειας είναι ο διαφορετικός χρωματισμός των AMF από το υπόλοιπο ριζικό σύστημα. Μετά το πέρας δύο ωρών για να απορροφήσουν οι μυκόρριζες την φουξίνη, το κάθε δείγμα τοποθετήθηκε στο στερεοσκόπιο και λήφθηκαν οι φωτογραφίες τους. Σε αυτές τις εικόνες τοποθετήθηκαν γραμμές πλέγματος μέσω της εφαρμογής MIplus07 και μετρήθηκε το ποσοστό αποικισμού των AMF στο ριζικό σύστημα.

Ο αποικισμός από μυκόρριζες αποτελεί σημαντικό παράγοντα, αφού συντελεί στην απορρόφηση θρεπτικών συστατικών καθώς και στην σύνθεση βιοσυνθετικών ουσιών. Ακόμα, τα υψηλότερα ποσοστά αποικισμού λειτουργούν ευεργετικά για το φυτό, διότι έχουν ανταγωνιστικές σχέσεις με τους παθογόνους μύκητες που προσβάλλουν το ριζικό σύστημα, με αποτέλεσμα την αντιμετώπισή τους.

3.5.7. Μέτρηση της επιφάνειας των φύλλων

Από πέντε διαφορετικά στελέχη κάθε διαχείρισης αφαιρέθηκαν τα φύλλα τους. Τα φύλλα αυτά, βάρθηκαν με μαύρη σινική μελάνη. Στη συνέχεια, σαρώθηκαν μέσω σαρωτή σε μορφή TIFF και σε ανάλυση 300 dpi. Οι εν λόγω εικόνες αναλύθηκαν από το πρόγραμμα DT-Scan και μετρήθηκαν κατά αυτόν τον τρόπο η φυλλική επιφάνεια του φυτού. Τα δείγματα συλλέχθηκαν μετά το πέρας της συγκομιδής και υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι ανά διαχείριση.

3.5.8. Υπολογισμός pH εδάφους

Η συγκεκριμένη μέτρηση πραγματοποιήθηκε με σκοπό να προσδιοριστούν οι συνθήκες για την δραστηριότητα του χαλκού και του *Trichoderma harzianum*, αφού και τα δύο επηρεάζονται άμεσα από την τιμή του pH του εδάφους. Για τον υπολογισμό πάρθηκαν πέντε διαφορετικά δείγματα ανά διαχείριση και το κάθε δείγμα ζύγιζε 20g. Μετέπειτα, τοποθετήθηκαν σε πλαστικό ποτήρι των 50 mL και προστέθηκαν 20 mL απιονισμένου νερού (αναλογία εδάφους : νερού, 1:1). Στη συνέχεια ακολούθησε ανάδευση του αιωρήματος με γυάλινη ράβδο κάθε 10 λεπτά, για χρονικό διάστημα μιας ώρας. Μετά το πέρας της μίας ώρας προσδιορίστηκε το pH με την χρήση pH meter της εταιρίας PARKSIDE.

3.5.9. Ειδικό βάρος φυλλώματος (Specific leaf weight- SLW)

Ο δείκτης του ειδικού βάρους φυλλώματος είναι ο λόγος του ξηρού βάρους των φύλλων προς την φυλλική επιφάνεια του φυτού και οι μονάδες μέτρησής του είναι $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$.

Ο τύπος του ειδικού βάρους φυλλώματος είναι:

$$\text{SLW} = \frac{\text{Βάρος των φύλλων}}{\text{Επιφάνεια φύλλων φυτού}}$$

Ουσιαστικά, ο συγκεκριμένος δείκτης δείχνει ότι όσο μεγαλύτερος είναι, τόσο μεγαλύτερη είναι η βιομάζα του φυτού και αναμένεται να εκφράζει θετική συσχέτιση με τις αποδόσεις σε ξηρό βάρος του.

Για τον συγκεκριμένο δείκτη μετρήσεις έγιναν και στις τέσσερις διαφορετικές διαχειρίσεις και λήφθηκαν πέντε δείγματα ανά διαχείριση. Τα δείγματα λήφθηκαν ακριβώς μετά την συγκομιδή.

3.5.10. Δείκτης βάρους φύλλων (Leaf Weight Ratio- LWR)

Ο συγκεκριμένος δείκτης ορίζεται ως η αναλογία του ξηρού βάρους των φύλλων προς το συνολικό ξηρό βάρος του φυτού και εκφράζεται σε $g \cdot g^{-1}$ (Bilalis et al., 2019). Ο τύπος του είναι:

$$LWR = \frac{\text{ξηρό βάρος φύλλων}}{\text{ξηρό βάρος φυτού}}$$

Για τον υπολογισμό του εν λόγω δείκτη συλλέχθηκαν πέντε διαφορετικά δείγματα από κάθε μεταχείριση μετά το τέλος της συγκομιδής. Ζυγίστηκε το συνολικό βάρος των φυτών και μετά το βάρος των φύλλων ανά στέλεχος. Για κάθε διαχείριση ξεχωριστά υπολογιστήκαν οι μέσοι όροι.

3.5.11. Λόγος φυλλικής επιφάνειας (Leaf Area Ratio- LAR)

Έχοντας ως δεδομένο ότι τα φύλλα είναι η κινητήρια μεταβλητή στην ανάπτυξη ολόκληρου του φυτού, η αναλογία της συνολικής επιφάνειας των φύλλων προς την συνολική φυτική βιομάζα ορίζεται ως λόγος φυλλικής επιφάνειας και μετριέται σε $m^2 \cdot g^{-1}$ (Bilalis et al., 2019). Ο τύπος του είναι:

$$LAR = SLA \cdot LWR$$

Για κάθε διαφορετική διαχείριση υπολογιστήκαν οι μέσοι όροι.

3.5.12. Δείκτης συγκομιδής (Harvest index- HI)

Ο δείκτης αυτός χρησιμοποιείται στην γεωργία για να ποσοτικοποιήσει την απόδοση μιας καλλιέργειας σε συνδυασμό με την συνολική ποσότητα της βιομάζας που έχει παραχθεί. Στην συγκεκριμένη περίπτωση, ο δείκτης συγκομιδής προσδιορίζει το ξηρό βάρος των σπόρων προς το συνολικό ξηρό βάρος του φυτού (Bilalis et al., 2019). Η εξίσωση του είναι:

$$HI = \frac{\text{ξηρό βάρος προϊόντος}}{\text{συνολικό ξηρό βάρος φυτού}}$$

Για την μέτρηση του παραπάνω δείκτη συλλέχθηκαν πέντε διαφορετικά δείγματα από κάθε μεταχείριση μετά το τέλος της συγκομιδής. Ζυγίστηκε το συνολικό βάρος των φυτών και μετά το βάρος του στάχυ. Για κάθε διαχείριση ξεχωριστά υπολογιστήκαν οι μέσοι όροι.

3.6. Στατιστική Ανάλυση

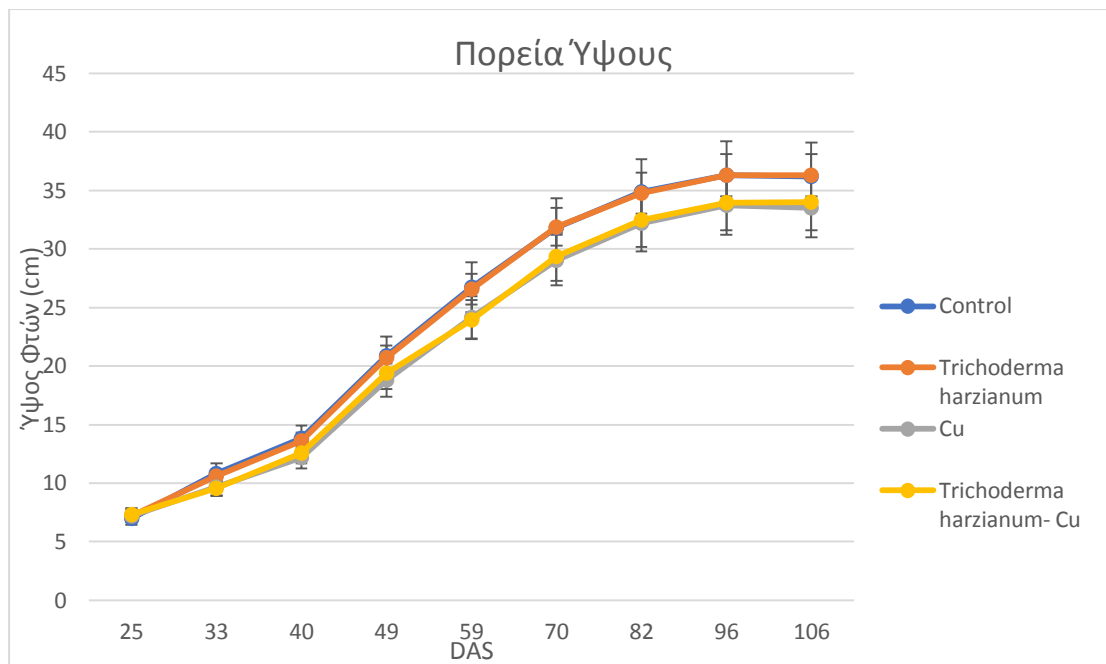
Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με την χρήση του προγράμματος Stat Graphics (STATGRAPHICS Centurion XVII Version 17.2.00 StatPoint Technologies, Inc.). Οι συγκρίσεις των μέσων εξετάστηκαν σε επίπεδο σημαντικότητας διαφοράς 5%.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. Ύψος φυτού

Στην παρούσα μελέτη μετά την μέτρηση του ύψους φυτού και την επεξεργασία των δεδομένων διαπιστώθηκε ότι τα φυτά είχαν σιγμοειδή ανάπτυξη και στις τέσσερις διαφορετικές διαχειρίσεις (μάρτυρας, *Trichoderma harzianum*, χαλκός, *Trichoderma harzianum* και χαλκός). Στην πρώτη μέτρηση (25 DAS) διαπιστώθηκε ότι στις τέσσερις μεταχειρίσεις δεν υπάρχει καμία στατιστική διαφορά και οι κατώτερες και ανώτερες τιμές αντίστοιχα, ήταν 7cm για τον μάρτυρα και 7,34cm για την διαχείριση *Trichoderma harzianum*- χαλκό. Στην δεύτερη μέτρηση του ύψους (33 DAS) πάλι δεν παρουσιάστηκε κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ των διαχειρίσεων και η μεγαλύτερη διαφοροποίηση ήταν αυτή μεταξύ του μάρτυρα και του *Trichoderma harzianum*-χαλκού. Στις υπόλοιπες έξι μετρήσεις παρατηρούνται διαφορές που αποτυπώνονται από την στατιστική, μεταξύ των διαχειρίσεων του μάρτυρα και του *Trichoderma harzianum* με των άλλων δύο. Αναλυτικότερα, οι δύο πρώτες διαχειρίσεις φέρουν σταθερά υψηλότερες τιμές σε σχέση με τις διαχειρίσεις χαλκού και *Trichoderma harzianum*-χαλκού. Αυτό είναι πιθανόν να προκύπτει λόγω των συνθηκών καταπόνησης που προκαλεί ο χαλκός στα φυτά. Μεταξύ των 96 DAS και 106 DAS παρατηρήθηκε ότι τα φυτά σταμάτησαν να αυξάνουν το ύψους τους. Ο κύριος λόγος είναι ότι τα φυτά όλων των διαχειρίσεων είχαν μπει στο στάδιο της άνθησης και σταμάτησαν να αυξάνουν το ύψος τους. Η μέγιστη διαφορά των διαχειρίσεων μάρτυρα και *Trichoderma harzianum* σε σχέση με τις διαχειρίσεις *Trichoderma harzianum*-χαλκού και χαλκού εντοπίστηκε στις 96 DAS.

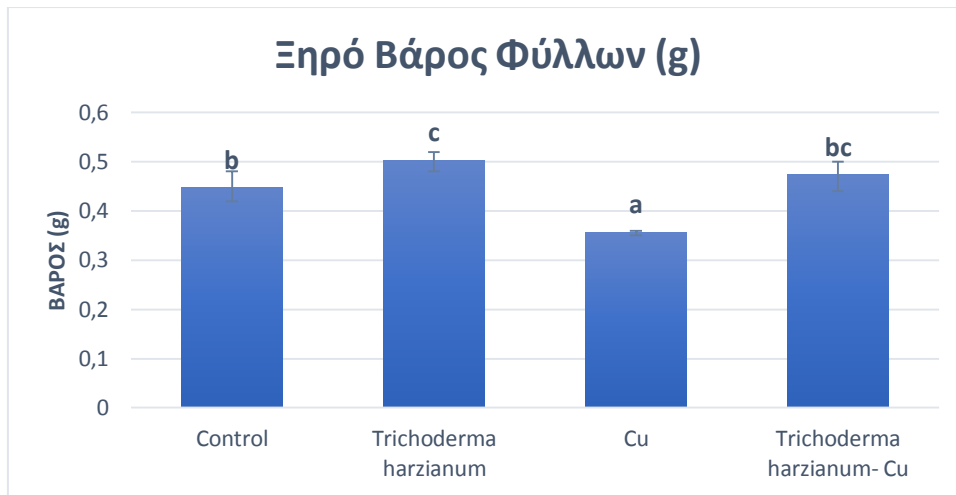
Στο παρακάτω διάγραμμα γίνεται σύγκριση για κάθε μέτρηση ξεχωριστά στις τέσσερις διαφορετικές επεμβάσεις:



Διάγραμμα 1 Πορεία ύψους των φυτών *Tritordeum* ανάλογα με τις διαφορετικές επεμβάσεις

4.2. Ξηρό βάρος φύλλων (g)

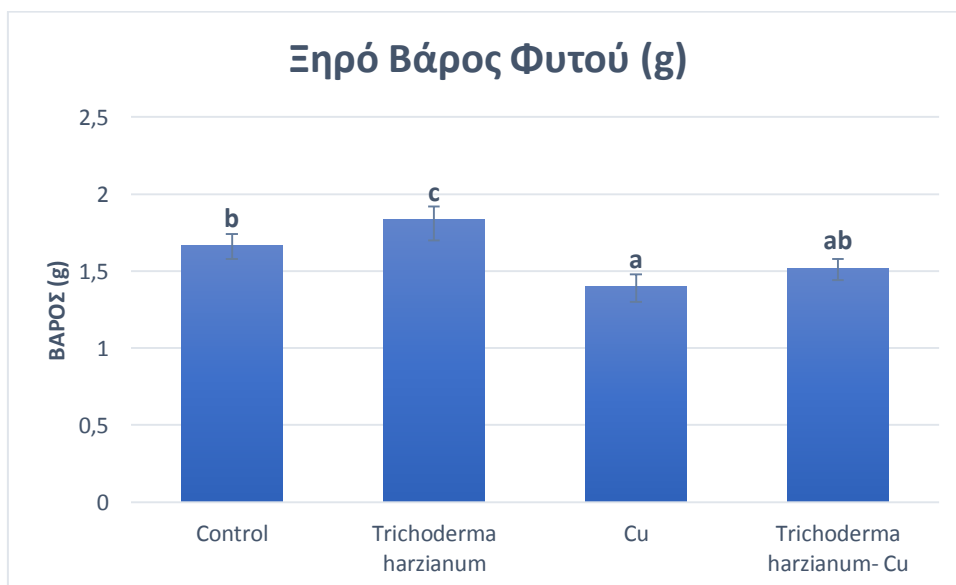
Όπως και παραπάνω, έτσι και σε αυτή τη μέτρηση παρουσιάστηκε σημαντικά στατιστική διαφορά. Τη υψηλότερη τιμή κατέγραψε πάλι η διαχείριση με *Trichoderma harzianum*, με την τιμή της να ανέρχεται στα 0,5g και να είναι 41,15% υψηλότερη σε σύγκριση με την μεταχείριση του χαλκού, στην οποία το βάρος των φύλλων ήταν το μικρότερο. Οι διαχειρίσεις του *Trichoderma harzianum*-χαλκού με τον μάρτυρα δεν παρουσίασαν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους, με τις μέσες τιμές τους να είναι 0,47g και 0,44g, αντίστοιχα. Τέλος, στατιστική σημαντική διαφορά δεν παρουσίασαν και οι διαχειρίσεις μεταξύ του *Trichoderma harzianum* και του *Trichoderma harzianum*-χαλκού (Διάγραμμα 2).



Διάγραμμα 2 Ξηρό Βάρος της Φυλλικής Επιφάνειας στελεχών *Tritordeum* ανά διαχείριση.

4.3. Ξηρό βάρος φυτού (g)

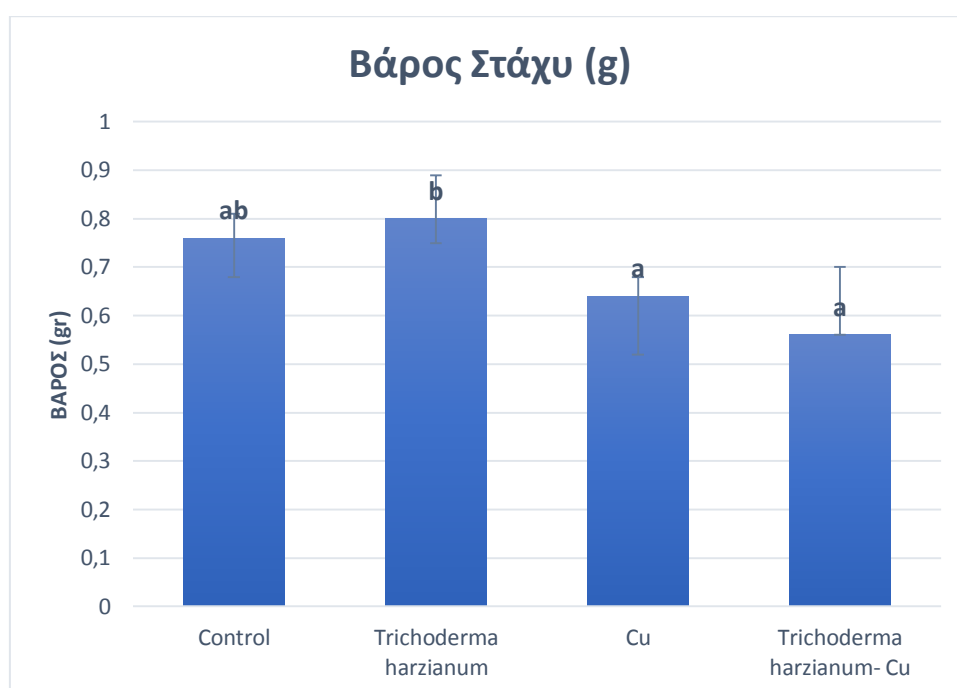
Στην παρούσα μελέτη, τα στελέχη για τον υπολογισμό του βάρους συλλέχθηκαν με το πέρας της συγκομιδής. Οι μετρήσεις μεταξύ τους παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά. Αναλυτικότερα, εξάχθηκε το πόρισμα ότι η διαχείριση με *Trichoderma harzianum* (1,83g) έχει την περισσότερη βιομάζα σε σχέση με τις υπόλοιπες και είναι 30,7% υψηλότερη από την διαχείριση με τον χαλκό, που σημειώνει την χαμηλότερη τιμή (1,4g). Ακολουθούν η συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού και του μάρτυρα με τιμές και 1,52g και 1,66g, αντίστοιχα (Διάγραμμα 3).



Διάγραμμα 3 Ξηρός Βάρος στελεχών *Tritordeum* ανά διαχείριση.

4.4. Βάρος στάχυ (g)

Σε αντίθεση με τις ανωτέρω μετρήσεις, εδώ δεν παρατηρήθηκε κάποια διαφορά μετά την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Εντούτοις, η διαχείριση με *Trichoderma harzianum* (0,81g/στάχυ) είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις. Ακολουθούν ο μάρτυρας και οι διαχειρίσεις *Trichoderma harzianum*-χαλκού και χαλκού κατά φθίνουσα σειρά με τις τιμές τους, αντίστοιχα, να ανέρχονται σε 0,75g, 0,64g και 0,61g (Διάγραμμα 4).



Διάγραμμα 4 Βάρος στάχυ *Tritordeum* ανά διαχείριση κατά την συγκομιδή

4.5. Μήκος στάχυ (cm)

Η συγκεκριμένη μέτρηση πραγματοποιήθηκε μετά το πέρας της συγκομιδής. Η στατιστική επεξεργασία δεν έδειξε σημαντικά στατιστικές διαφορές. Οι μέσες τιμές του μήκους των στάχων κατά φθίνουσα σειρά είναι: *Trichoderma harzianum* (5,48cm), *Trichoderma harzianum*-χαλκού (5,42cm), μάρτυρας (5,2cm) και χαλκός (5,12cm). Έτσι, συμπεραίνεται ότι χαρακτηριστικά, όπως το μέγεθος του στάχυ, οφείλονται στη ποικιλία και στο γονιδίωμα του φυτού και δεν επηρεάζονται από τις διαφορετικές διαχειρίσεις.

Πίνακας 1. Μέσο μήκος στάχυ ανά διαχείριση (cm).

SPIKE LENGTH (cm)			
Control	Trichoderma harzianum	Cu	Trichoderma harzianum-Cu
5,2^a	5,48^a	5,12^a	5,42^a

4.6. Αριθμός αδελφιών

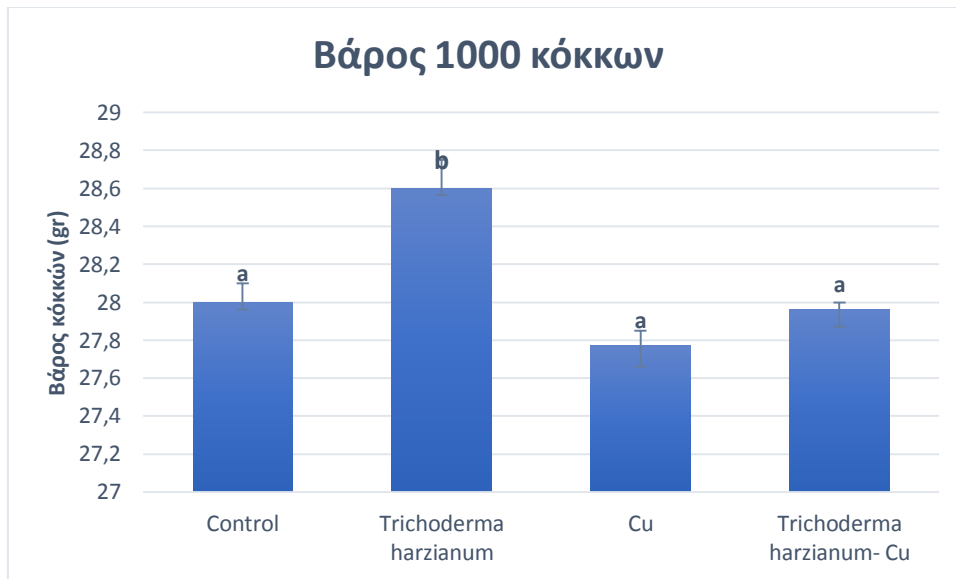
Όπως και στην παραπάνω μέτρηση δεν παρουσιάστηκε καμία σημαντικά στατιστική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων. Η αύξουσα σειρά ανάλογα με τον αριθμό των αδελφιών είναι: ο μάρτυρας, ο χαλκός και το *Trichoderma harzianum*-χαλκός και το *Trichoderma harzianum*. Συνεπώς, άλλοι παράγοντες επιδρούν στην ικανότητα αδελφώματος στην καλλιέργεια του Tritordeum, όπως ο διαθέσιμος χώρος και η εδαφική υγρασία (Papastylianou et al., 2019).

Πίνακας 2. Μέσος αριθμός εκπτώξης αδελφιών ανά διαχείριση.

ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΔΕΛΦΙΩΝ			
Control	Trichoderma harzianum	Cu	Trichoderma harzianum-Cu
4,4^a	5,6^a	4,8^a	4,8^a

4.7. Βάρος χιλίων κόκκων (g)

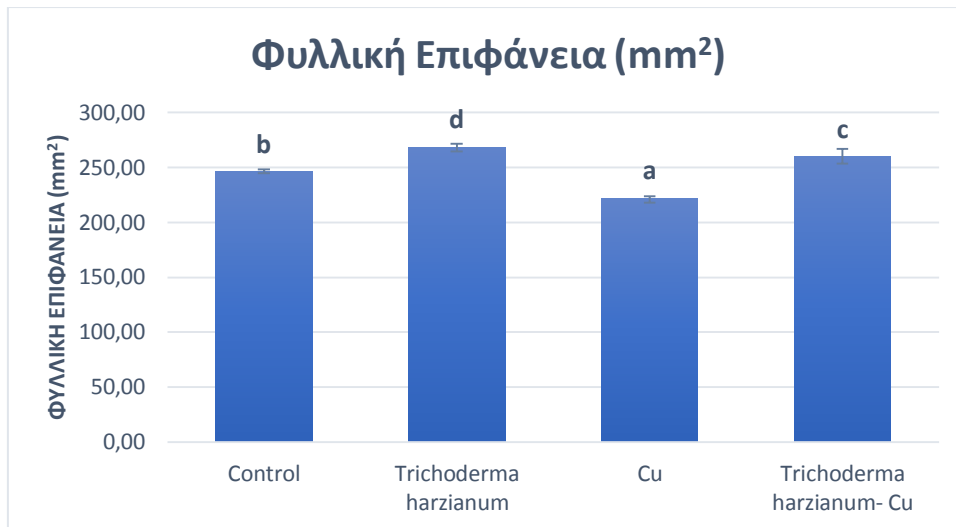
Σε αυτή την μέτρηση, η διαχείριση με *Trichoderma harzianum* παρουσίασε την μεγαλύτερη τιμή (28,6g) και σημείωσε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τις άλλες τρεις. Οι διαχειρίσεις χαλκού, *Trichoderma harzianum*-χαλκού και μάρτυρα δεν επέδειξαν μεταξύ τους σημαντικά στατιστική διαφορά και οι μέσες τιμές του υπολογίστηκαν 27,77g, 27,96g και 28g, αντίστοιχα (Διάγραμμα 5).



Διάγραμμα 5 Βάρος 1000 κόκκων *Tritordeum* ανά διαχείριση.

4.8. Φυλλική επιφάνεια (mm²)

Για τον προσδιορισμό της φυλλικής επιφάνειας λήφθηκαν δεδομένα με μεγάλες διαφορές μεταξύ τους, ανάλογα με τις διαχειρίσεις που εφαρμόστηκαν στο κάθε plot. Συγκεκριμένα, κάθε μεταχείριση είχε σημαντικά στατιστική διαφορά με τις υπόλοιπες. Έτσι, η διαχείριση που εφαρμόστηκε αποκλειστικά χαλκός, παρουσίασε την μικρότερη τιμή (221,68cm²) και ακολούθησαν ο μάρτυρας, η διαχείριση *Trichoderma harzianum*-χαλκού και τέλος αυτή με *Trichoderma harzianum* και οι μέσες τιμές τους ήταν 245,96 cm², 259,67 cm² και 268,48 cm², αντίστοιχα (Διάγραμμα 6).



Διάγραμμα 6 Φυλλικής Επιφάνειας (mm²) στελέχους ανά διαχείριση.

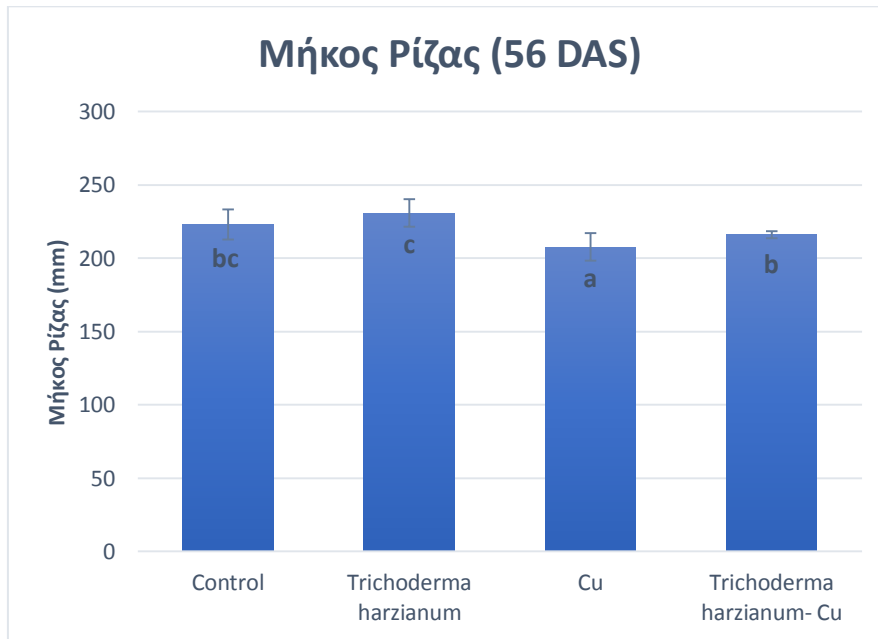
4.9. Ριζικό σύστημα (Μήκος ρίζας, επιφάνεια ρίζας, μέση διάμετρος ρίζας)

1^η μέτρηση (56 DAS)

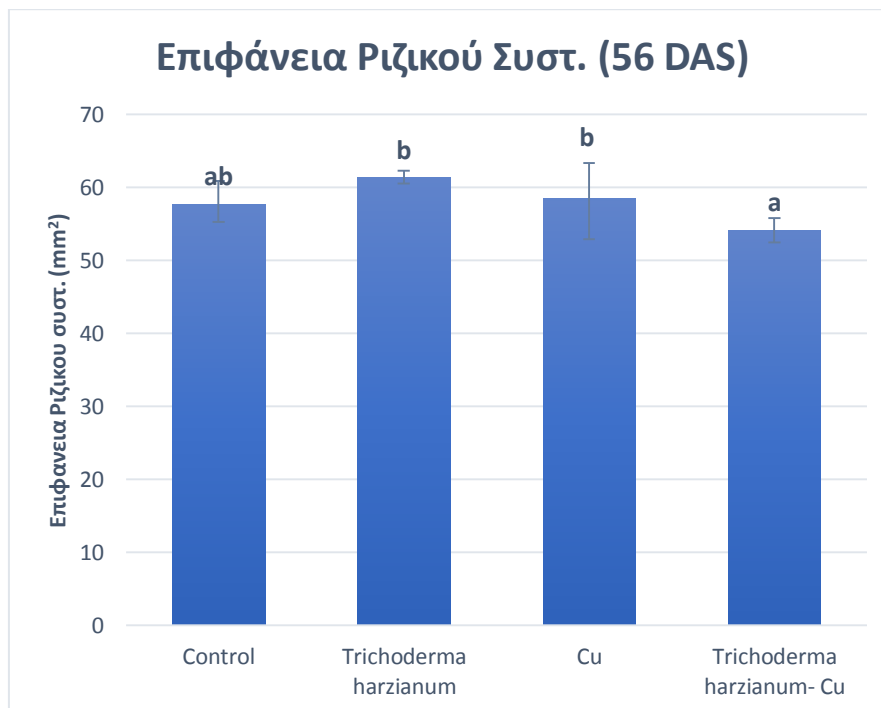
Επεξεργαζόμενοι τα δεδομένα των μετρήσεων στην πρώτη δειγματοληψία αδιατάρακτου εδάφους για την συλλογή του ριζικού συστήματος (56 DAS), διαπιστώθηκαν όσον αφορά το μήκος του ριζικού συστήματος διαφορές στατιστικής σημασίας. Η διαχείριση με *Trichoderma harzianum* παρουσίασε το μέγιστο μήκος ακολουθούμενη από τον μάρτυρα, την διαχείριση με *Trichoderma harzianum*-χαλκό και τέλος αυτή αποκλειστικά με χαλκό. Μεγαλύτερη στατιστική διαφορά παρατηρείται μεταξύ της διαχείρισης *Trichoderma harzianum* και της διαχείρισης χαλκού και αυτό ενδέχεται να οφείλεται στις συνθήκες τοξικότητας, που επικρατούν στη ριζόσφαιρα της διαχείρισης με χαλκό. Οι μεταχειρίσεις μεταξύ *Trichoderma harzianum* και μάρτυρα δεν παρουσίασαν μεγάλη στατιστική διαφορά (Διάγραμμα 7).

Η επιφάνεια του ριζικού συστήματος σε αυτή τη μέτρηση δεν έδειξε σημαντική στατιστική διαφορά και στις τέσσερις διαχειρίσεις. Όπως και προηγουμένως, την μεγαλύτερη τιμή έχει η διαχείριση με *Trichoderma harzianum*, ενώ την μικρότερη *Trichoderma harzianum*-χαλκός (Διάγραμμα 8).

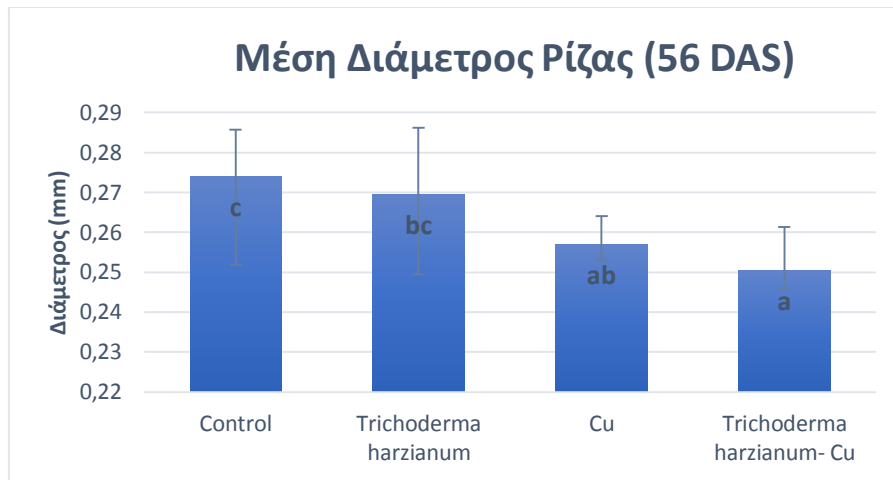
Σε αντίθεση με τις δύο παραπάνω μετρήσεις, την μεγαλύτερη τιμή στην διάμετρο της ρίζας είχε εκείνη του μάρτυρα. Σημαντικά στατιστική διαφορά παρατηρείται μεταξύ του μάρτυρα και των εφαρμογών χαλκού και *Trichoderma harzianum*-χαλκού και οι τιμές τους είναι 0,274mm, 0,257mm και 0,25mm αντίστοιχα (Διάγραμμα 9).



Διάγραμμα 7 Μήκος της ρίζας των φυτών *Tritordeum* στις 56 DAS ανά διαχείριση.



Διάγραμμα 8 Επιφάνεια του ριζικού συστήματος των φυτών *Tritordeum* στις 56 DAS ανά διαχείριση.



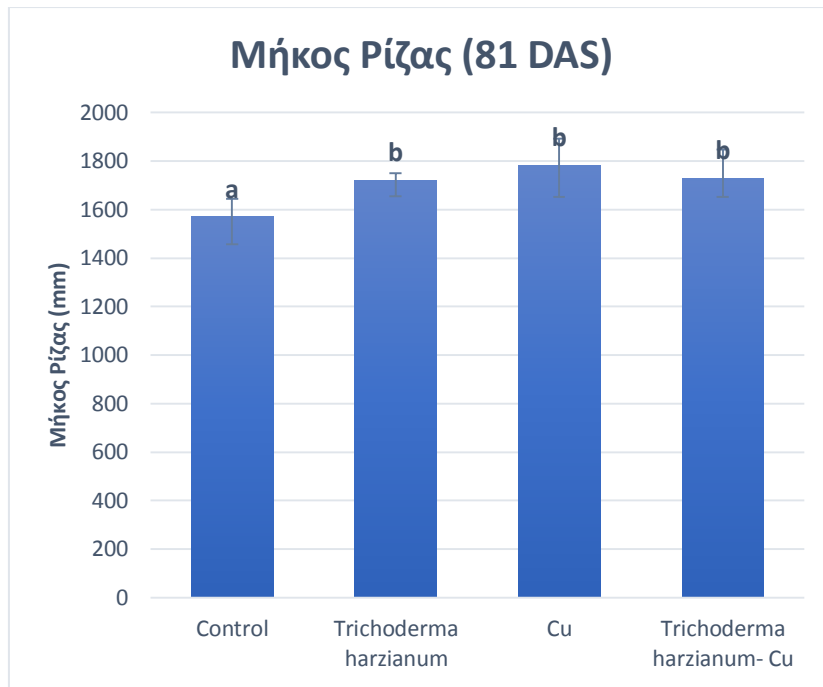
Διάγραμμα 9 Μέση διάμετρος ρίζας των φυτών *Triticordeum* στις 56 DAS ανά διαχείριση.

2^η μέτρηση (81 DAS)

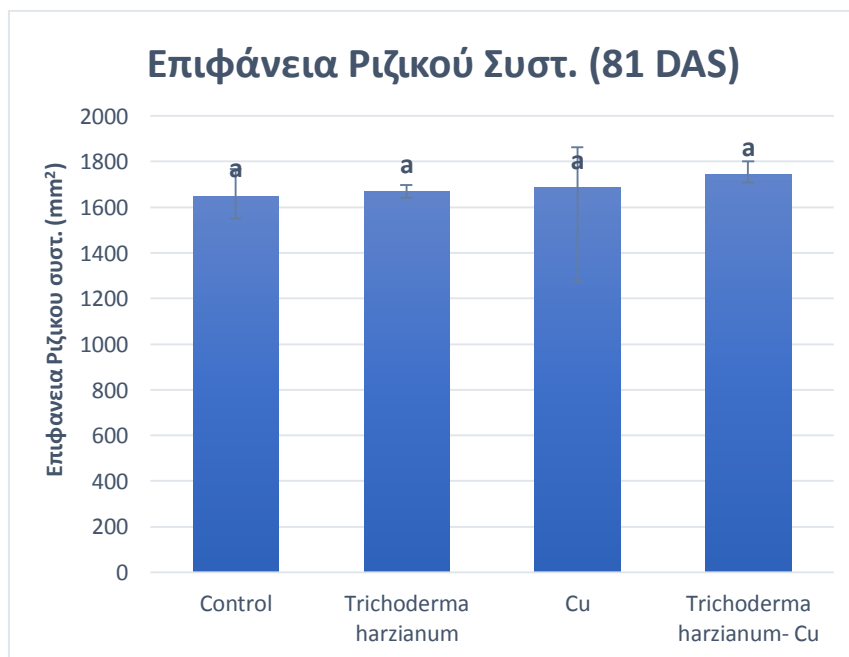
Στην δεύτερη μέτρηση του ριζικού συστήματος (81 DAS), σημειώθηκε σημαντικά στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και των υπόλοιπων τριών διαχειρίσεων για το μέσο μήκος της ρίζας. Μεγαλύτερη τιμή έχει η διαχείριση με χαλκό και ακολουθούν οι διαχειρίσεις *Trichoderma harzianum*-χαλκού και *Trichoderma harzianum* και οι τιμές τους ήταν 1781,34mm, 1727,88mm και 1719,94mm, αντίστοιχα (Διάγραμμα 10).

Η επιφάνεια του ριζικού συστήματος, αυτή τη φορά δεν έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά, ωστόσο την μεγαλύτερη τιμή έχει η διαχείριση *Trichoderma harzianum*-χαλκού και έπεται η εφαρμογή του χαλκού και του *Trichoderma harzianum* (Διάγραμμα 11).

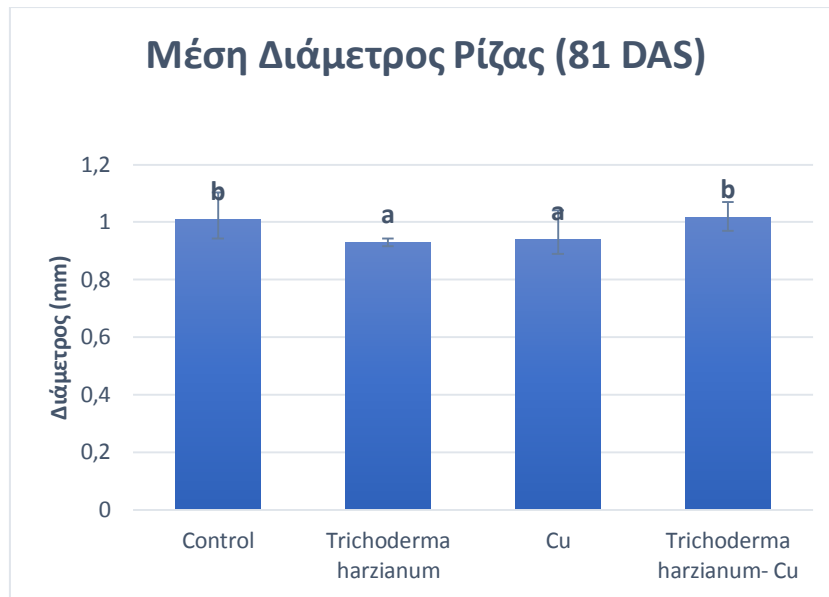
Αναλύοντας στατιστικά τις μέσες διαμέτρους των ριζών παρατηρούμε ότι υπάρχει μια ομαδοποίηση μεταξύ των εφαρμογών του μάρτυρα και του *Trichoderma harzianum*-χαλκού και αυτών των *Trichoderma harzianum* και χαλκού. Η πρώτη ομάδα φέρει υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με την δεύτερη. Οι μικρότερες τιμές διαμέτρου στη δεύτερη ομάδα είναι πιθανό να οφείλονται στο ότι το *Trichoderma harzianum* ενισχύει την δημιουργία πλευρικών ριζών, που έχουν μικρότερη διάμετρο από τις κύριες και όσον αφορά τον χαλκό να δυσχεραίνει την πάχυνση των ριζών (Διάγραμμα 12).



Διάγραμμα 10 Μήκος της ρίζας των φυτών *Tritordeum* στις 81 DAS ανά διαχείριση.



Διάγραμμα 11 Επιφάνεια του ριζικού συστήματος των φυτών *Tritordeum* στις 81 DAS ανά διαχείριση.



Διάγραμμα 12 Μέση διάμετρος ρίζας των φυτών *Tritordeum* στις 81 DAS ανά διαχείριση.

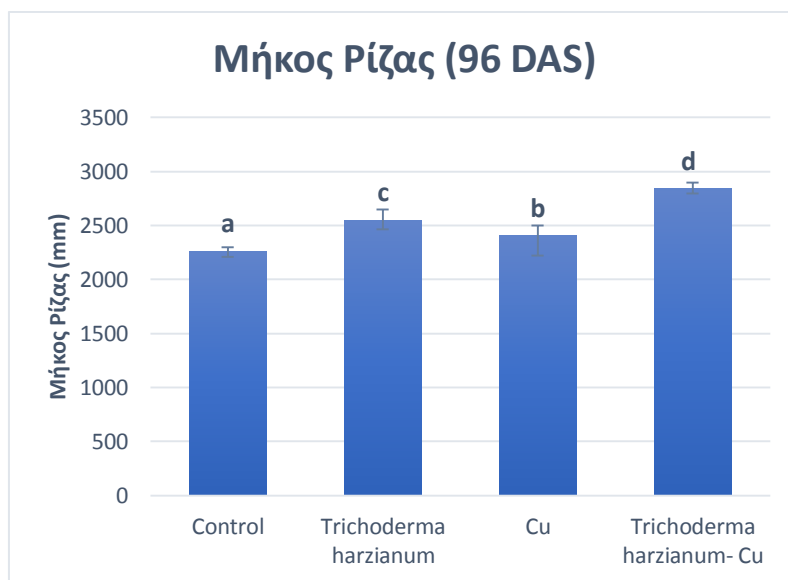
3^η μέτρηση (96 DAS)

Στην τελευταία μέτρηση του ριζικού συστήματος (96 DAS), ο μάρτυρας λαμβάνει τις χαμηλότερες τιμές και στους τρεις παράγοντες που εξετάζονται. Σχετικά με το μέσο μήκος ρίζας, σημειώνεται σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ όλων των διαχειρίσεων. Μεγαλύτερη ανάπτυξη του μήκους της ρίζας παρατηρείται στην συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού και ακολουθούν οι μεταχειρίσεις με *Trichoderma harzianum* και με χαλκό (Διάγραμμα 13).

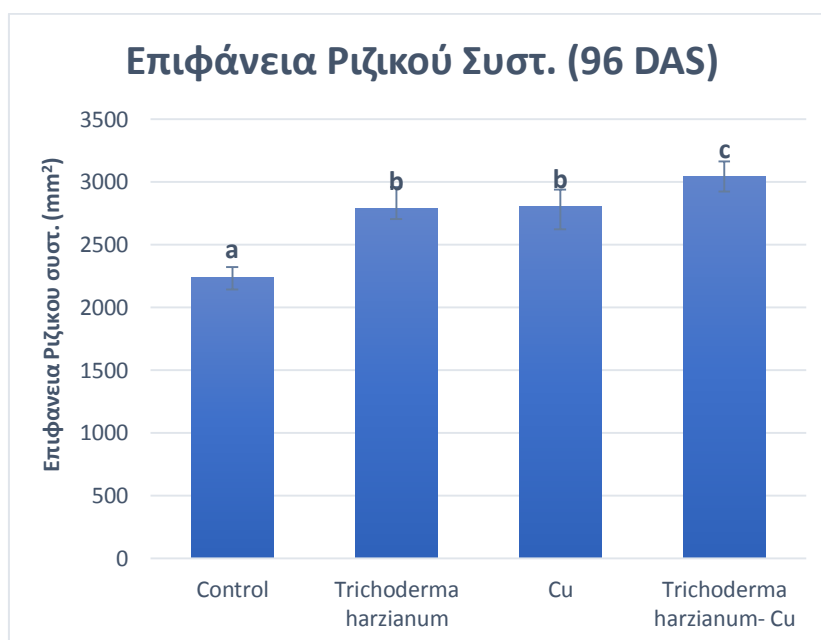
Όπως και στο μέσο μήκος της ρίζας, έτσι και στην επιφάνεια του ριζικού συστήματος η διαχείριση *Trichoderma harzianum*-χαλκού σημειώνει την μέγιστη τιμή και έχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τις άλλες τρεις και η τιμή της ανέρχεται στα 3041,46mm². Οι μεταχειρίσεις χαλκού και *Trichoderma harzianum* δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους, με τις τιμές τους να ανέρχονται σε 2801,68mm² και 2785,96mm², αντίστοιχα (Διάγραμμα 14). Η μέση διάμετρος στην τρίτη δειγματοληψία δεν παρουσίασε ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων εφαρμογών (Διάγραμμα 15).

Συμπερασματικά, η διαχείριση με *Trichoderma harzianum* δείχνει να ευνοεί την ανάπτυξη του μήκους της ρίζας σε σχέση με τις άλλες διαχειρίσεις, στην πλειονότητα των μετρήσεων. Από την άλλη πλευρά, οι μεταχειρίσεις με χαλκό δείχνουν να επιδρούν αρνητικά στο μήκος της ρίζας και στην μέση διάμετρό της, εντούτοις κάτι

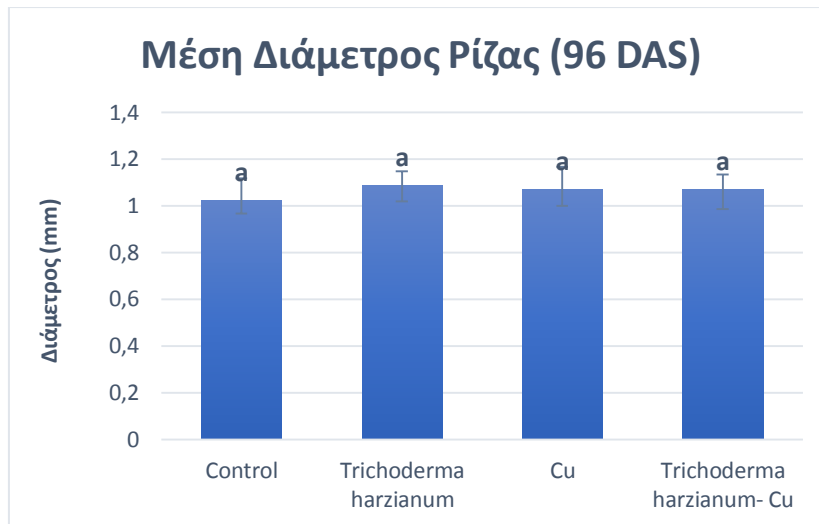
τέτοιο δεν υφίσταται στην μέτρηση της επιφάνειας της ρίζας. Στην τρίτη μέτρηση (96 DAS), αξιοσημείωτα αποτελέσματα δίνει η συνεργαρμογή *Trichoderma harzianum* και χαλκού για τους παράγοντες του μέσου μήκους και της επιφάνειας του ριζικού συστήματος.



Διάγραμμα 13 Μήκος της ρίζας των φυτών *Tritordeum* στις 96 DAS ανά διαχείριση.



Διάγραμμα 14 Επιφάνεια του ριζικού συστήματος των φυτών *Tritordeum* στις 96 DAS ανά διαχείριση.



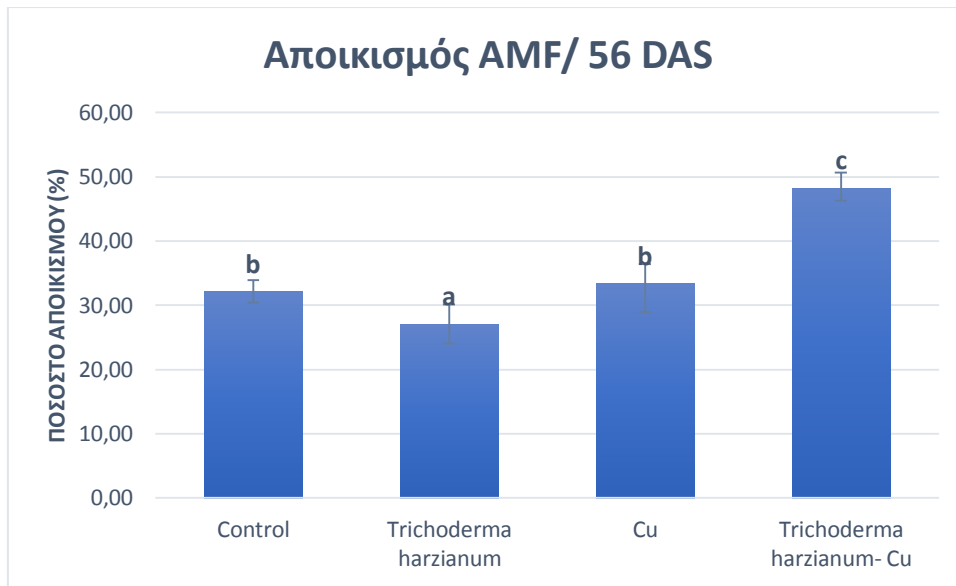
Διάγραμμα 15 Μέση διάμετρος ρίζας των φυτών *Tritordeum* στις 96 DAS ανά διαχείριση.

4.10. Αποικισμός των δενδροειδών μυκορριζικών μυκήτων (AMF)

Για τον προσδιορισμό του αποικισμού (%) των ριζών από AMF, πάρθηκαν τρεις χρονικά διαφορετικές δειγματοληψίες (56 DAS, 81 DAS, 96 DAS).

1^η δειγματοληψία (56 DAS)

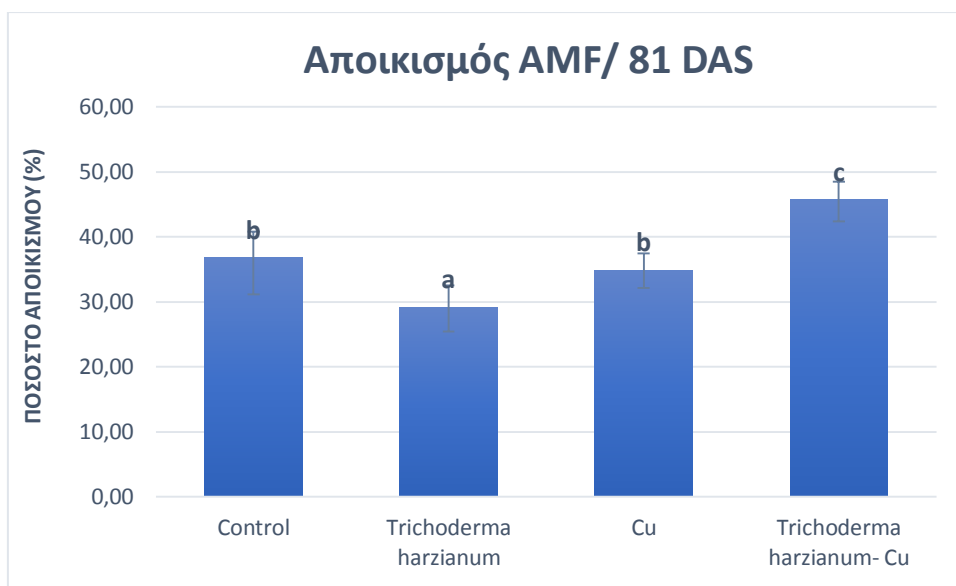
Στην πρώτη δειγματοληψία εντοπίστηκε υψηλή διαφορά στατιστικής σημασίας μεταξύ των διαχειρίσεων. Συγκεκριμένα, οι μεταχειρίσεις του χαλκού με τον μάρτυρα παρουσιάζουν παρόμοιες τιμές και οι οποίες είναι 33,33% και 32,11%, αντίστοιχα. Η διαχείριση με *Trichoderma harzianum* μετρήθηκε και είχε το χαμηλότερο ποσοστό αποικισμού σε AMF (27,07%), ενώ στη μεταχείριση *Trichoderma harzianum*-χαλκού ήταν το μεγαλύτερο (48,20%). Επομένως, η διαφορά αυτών των δύο διαχειρίσεων ανερχόταν στο 21,13% σε αποικισμό με AMF (Διάγραμμα 16).



Διάγραμμα 16 Ποσοστό αποικισμού (%) AMF στο ριζικό σύστημα του Tritordeum στις 56 DAS.

2^η δειγματοληψία (81 DAS)

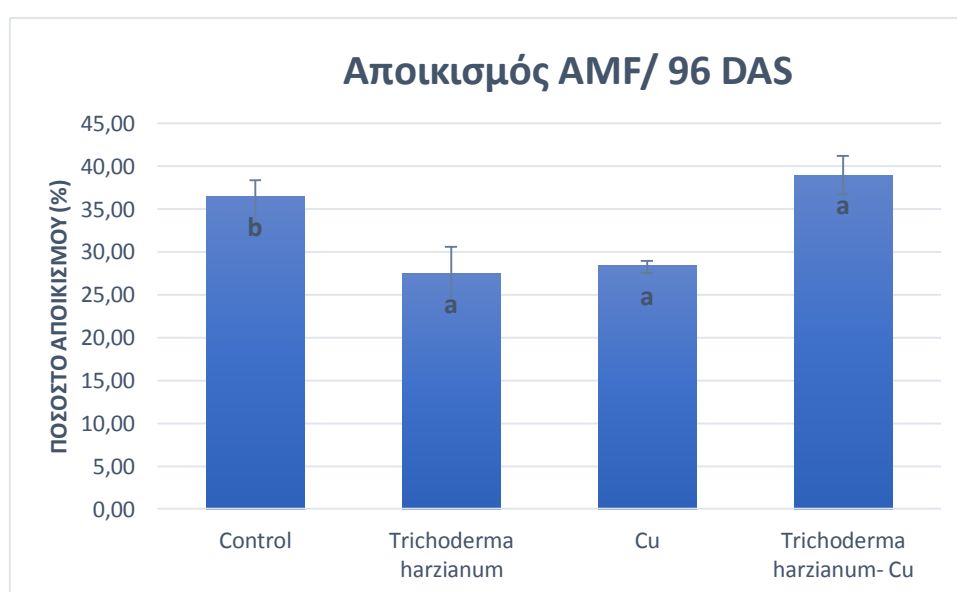
Όπως και στην παραπάνω μέτρηση, έτσι και σε αυτή τα ποσοστά του μάρτυρα και της διαχείρισης του χαλκού είναι στατιστικά παρόμοια και ανέρχονται σε 36,8% και 34,83%, αντίστοιχα. Το μικρότερο ποσοστό αποικισμού με AMF σημειώθηκε στην εφαρμογή με *Trichoderma harzianum* (29,14%) και το μέγιστο στη συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού (45,66%) (Διάγραμμα 17).



Διάγραμμα 17 Ποσοστό αποικισμού (%) AMF στο ριζικό σύστημα του Tritordeum στις 81 DAS.

3^η δειγματοληψία (96 DAS)

Σε αντίθεση με την ανάλυση των ανωτέρω δεδομένων, στατιστικά η διαχειρίσεις ομαδοποιούνται δημιουργώντας δύο ομάδες: πρώτη αυτή του μάρτυρα και της συνεφαρμογής *Trichoderma harzianum*-χαλκού και δεύτερη ομάδα των διαχειρίσεων του *Trichoderma harzianum* και του χαλκού. Μεγαλύτερες τιμές παρουσιάζει η πρώτη ομάδα με το *Trichoderma harzianum*-χαλκό να είναι υψηλότερο (38,96%) και να ακολουθεί ο μάρτυρας με ποσοστό 36,5%. Τα ποσοστά των διαχειρίσεων *Trichoderma harzianum* και χαλκού είναι 27,5% και 28,39%, αντίστοιχα (Διάγραμμα 18).

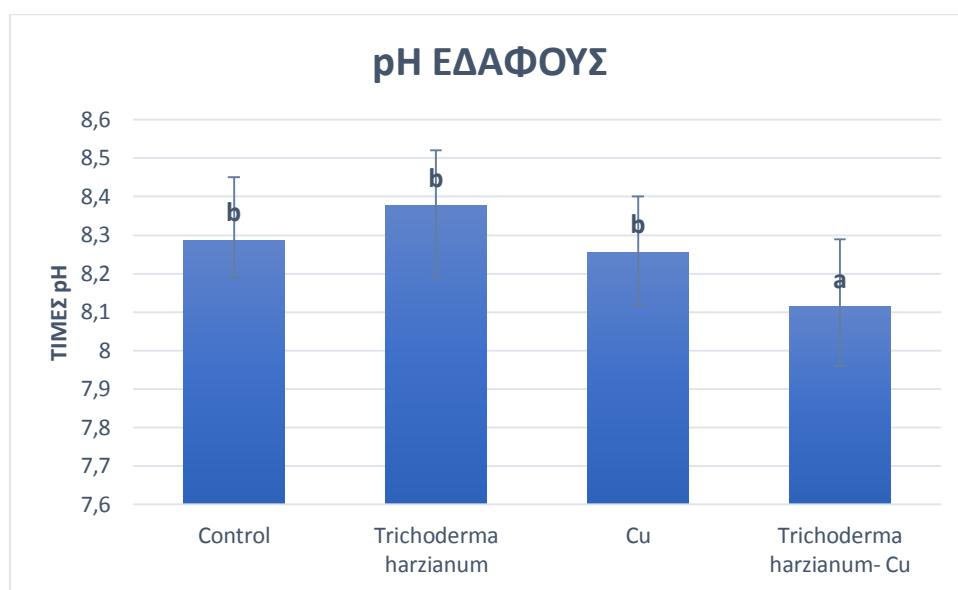


Διάγραμμα 18 Ποσοστό αποικισμού (%) AMF στο ριζικό σύστημα του *Tritordeum* στις 96 DAS.

Συνοψίζοντας, παρατηρούμε ότι η διαχείριση με *Trichoderma harzianum* σημειώνει σε όλες τις δειγματοληψίες την μικρότερη τιμή. Αξιοσημείωτα, μάλιστα, είναι τα υψηλά ποσοστά αποικισμού AMF που εντοπίστηκαν στην διαχείριση *Trichoderma harzianum*-χαλκού. Η μείωση του ποσοστού αποικισμού με AMF του ριζικού συστήματος των φυτών, στην τελευταία δειγματοληψία, στις διαχειρίσεις με χαλκό και *Trichoderma harzianum*-χαλκό είναι οι μεγαλύτερες που παρατηρήθηκαν και πιθανόν να οφείλονται στη συνεπίδραση της υψηλής συγκέντρωσης χαλκού και των ξηρικών συνθηκών που επικράτησαν.

4.11. pH εδάφους

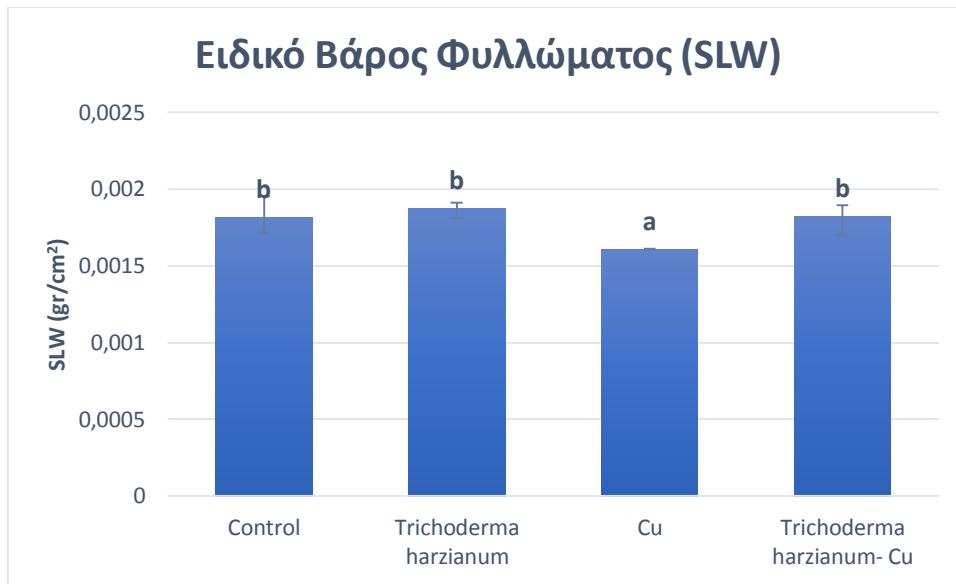
Σε αντίθεση με την παραπάνω μέτρηση, εδώ οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των διαχειρίσεων είναι πολύ μικρότερες. Μέσω της στατιστικής επεξεργασίας, συμπεραίνουμε ότι οι διαχειρίσεις του χαλκού (8,256), του *Trichoderma harzianum* (8,376) και του μάρτυρα (8,286) δεν έχουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Συνεπώς, μόνο η μεταχείριση με *Trichoderma harzianum*-χαλκό ξεχωρίζει με τιμή pH 8,114 (Διάγραμμα 19).



Διάγραμμα 19 pH εδάφους ανά διαχείριση.

4.12. Ειδικό Βάρος Φυλλώματος- Specific Leaf Weight (SLW)

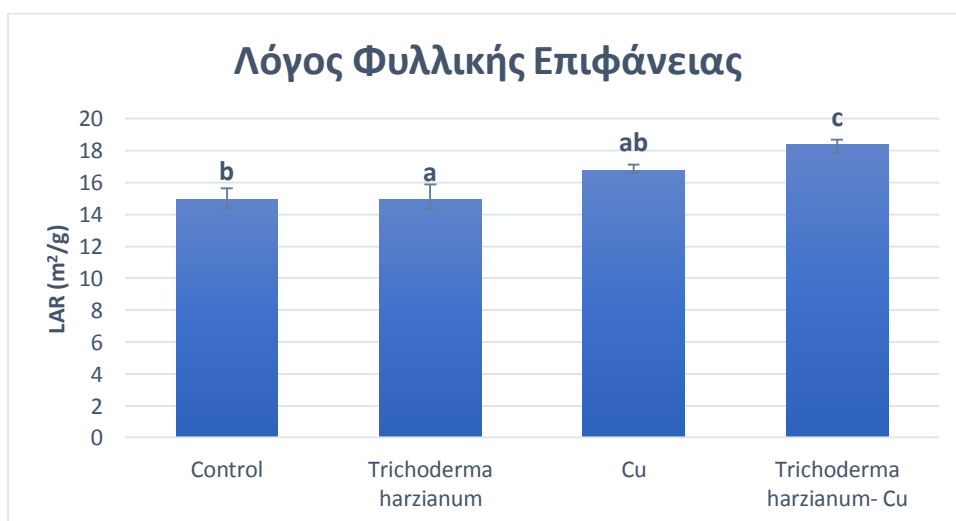
Ο συγκεκριμένος δείκτης συσχετίζει το βάρος των φύλλων του φυτού με την επιφάνεια του φυτού και όσο αυξάνεται, τόσο μεγαλύτερη αναμένεται να είναι η βιομάζα του φυτού. Η διαχείριση με τον χαλκό, όπως ήταν αναμενόμενο, σημείωσε την χαμηλότερη τιμή ($0,001609\text{g}/\text{cm}^2$) και διαφοροποιούταν στατιστικά με τις υπόλοιπες τρεις μεταχειρίσεις, οι οποίες δεν παρουσίασαν τέτοιες διαφορές μεταξύ τους. Κατά αύξουσα σειρά στην τιμή του δείκτη SLW είναι ο μάρτυρας ($0,001816\text{g}/\text{cm}^2$), η μεταχείριση *Trichoderma harzianum*-χαλκού ($0,001823\text{g}/\text{cm}^2$) και *Trichoderma harzianum* ($0,001874\text{g}/\text{cm}^2$) (Διάγραμμα 20).



Διάγραμμα 20 Ειδικό Βάρος Φυλλώματος ανά διαχείριση (gr/cm²).

4.13. Λόγος Φυλλικής Επιφάνειας- Leaf Area Ratio (LAR)

Ο δείκτης LAR εκφράζει την αναλογία της συνολικής επιφάνειας των φύλλων με την συνολική φυτική βιομάζα. Σε αντίθεση με τον δείκτη SLW, εδώ φανερόνεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των διαχειρίσεων. Η μεγαλύτερη τιμή, λοιπόν, παρατηρείται στην διαχείριση *Trichoderma harzianum*-χαλκού (18,37m²/g). Οι διαχειρίσεις του χαλκού και του *Trichoderma harzianum* διαφέρουν και αυτές μεταξύ τους με τις μέσες τιμές τους αντίστοιχα να είναι 16,79m²/g και 14,93m²/g. Η τιμή του μάρτυρα είναι 14,95m²/g. (Διάγραμμα 21)



Διάγραμμα 21 Λόγος Φυλλικής Επιφάνειας ανά διαχείριση (m²/g).

4.14. Λόγος Βάρους Φύλλων-Leaf Weight Ratio (LWR)

Σε αντίθεση με την παραπάνω μέτρηση, οι διαχειρίσεις μεταξύ τους δεν παρουσίασαν καμία στατιστική διαφορά. Οι μέσες τιμές των διαχειρίσεων κατά αύξουσα σειρά είναι: μάρτυρας ($0,27 \text{ g g}^{-1}$), χαλκός ($0,27 \text{ g g}^{-1}$), *Trichoderma harzianum* ($0,28 \text{ g g}^{-1}$) και *Trichoderma harzianum*-χαλκός ($0,31 \text{ g g}^{-1}$).

Πίνακας 3. Λόγος Βάρους Φύλλων (g g^{-1}) ανά διαχείριση.

Control	Trichoderma harzianum	Cu	Trichoderma harzianum-Cu
0,27^a	0,28^a	0,27^a	0,31^a

4.15. Δείκτης Συγκομιδής- Harvest Index (HI)

Όπως και στον δείκτη LWR δεν παρατηρείται καμία στατιστική διαφορά για τον δείκτη HI μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ακολουθούν οι τιμές του κατά αύξουσα σειρά: μάρτυρας και *Trichoderma harzianum* με τιμή 0,44, *Trichoderma harzianum*-χαλκός 0,45 και χαλκός 0,46.

Πίνακας 4. Δείκτης Συγκομιδής ανά διαχείριση.

Control	Trichoderma harzianum	Cu	Trichoderma harzianum-Cu
0,44^a	0,44^a	0,46^a	0,45^a

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μελέτη ασχολήθηκε με την επίδραση του χαλκού, του *Trichoderma harzianum* καθώς και της συνεφαρμογής τους στην καλλιέργεια του *Tritordeum*. Μεταξύ των διαχειρίσεων παρουσιάστηκαν σημαντικά στατιστικές διαφορές.

5.1. Ύψος φυτού

Το ύψος φυτού παρουσίασε διαφορετικές τιμές ανά μέθοδο διαχείρισης. Την μέγιστη απόκλιση μεταξύ των διαχειρίσεων του μάρτυρα και του *Trichoderma harzianum* και αυτών του χαλκού και του *Trichoderma harzianum*-χαλκού σημειώθηκε στις 96 DAS. Στην παρούσα μελέτη, η χαμηλότερη τιμή του ύψους παρουσιάστηκε στην διαχείριση με τον χαλκό, δημιουργώντας αισθητές διαφορές από τα πρώτα κιόλας στάδια της ανάπτυξης. Αυτό είναι σύμφωνο με την μελέτη του Cook et al. (1997) που αναφέρει ότι σε υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης χαλκού στο έδαφος μειώθηκε το ύψος των φυτών του σκληρού σιταριού. Οι Lin et al. (2003), επιπλέον, παρατήρησαν ότι σε εδάφη με υψηλή συγκέντρωση χαλκού το μήκος των μεσογονατίων και κατ' επέκταση το τελικό ύψος του φυτού μειώθηκε σε καλλιέργεια αραβοσίτου. Τέλος, σε καλλιέργεια σιταριού παρατηρήθηκε ότι η έκθεση των φυτών σε συγκεντρώσεις χαλκού από 5 έως 40 ppm για 2 εβδομάδες προκάλεσε μία σημαντική μείωση στο ύψος του φυτού, αυξανόμενη με την άνοδο της συγκέντρωσης του χαλκού.

Η Kakabouki et al. (2021) διαπίστωσε ότι η παρουσία *Trichoderma harzianum* συνέβαλε στην ανάπτυξη και στο ύψος του φυτού σε καλλιέργεια κάνναβης. Για αυτό, μπορεί να οφείλονται οι ικανότητες του *Trichoderma harzianum*, καθώς βοηθά στην κινητοποίηση των θρεπτικών στοιχείων μέσα στο εδαφικό διάλυμα και στην απορρόφησή τους από τα φυτά. Με την παραπάνω μελέτη, συμφωνεί και η μελέτη των Silletti et al. (2021), καθώς παρατήρησε αύξηση 16% στο ύψος του σκληρού σιταριού σε συνθήκες ξηρασίας και έλλειψης αζώτου, μετά την εφαρμογή με *Trichoderma harzianum*. Η παρούσα μελέτη συμφωνεί με τις προαναφερθείσες, αφού το ύψος των φυτών ήταν σταθερά υψηλότερο σε σχέση με τις υπόλοιπες διαχειρίσεις, μετά την πρώτη εφαρμογή με *Trichoderma harzianum*.

Ο χαλκός αποτελεί ένα απαραίτητο στοιχείο στην ανάπτυξη των φυτών, σε ιδανικές συγκεντρώσεις, ωστόσο σε υψηλές συγκεντρώσεις όπως του παρόντος πειράματος προκαλεί προβλήματα στην ανάπτυξη των φυτών (Ladi et al. 2020). Το *Trichoderma*

harzianum χαρακτηρίζεται και ως παράγοντας θρέψης και βιοσυσσωρευτής βαρέων μετάλλων όπως ο χαλκός (Sood et al. 2020). Η συνεφαρμογή αυτών των δύο στοιχείων δεν έχει μελετηθεί επαρκώς και δεν μπορούμε να εξάγουμε ασφαλή συμπεράσματα. Στην μελέτη, το ύψος των φυτών στην συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού, ήταν σταθερά υψηλότερο από την εφαρμογή του χαλκού, εντούτοις ήταν μικρότερο από την διαχείριση του μάρτυρα και του *Trichoderma harzianum*. Τα αποτελέσματα αυτά, είναι πιθανόν να εξηγηθούν λόγω της επίδρασης του χαλκού στην ανάπτυξη των φυτών και ταυτόχρονα στις ικανότητες του *Trichoderma harzianum* στην τροφοδοσία των φυτών με θρεπτικά, αλλά και τον μετριασμό της τοξικότητας χαλκού.

5.2. Βάρος φύλλων

Οι Azooz et al. (2012) συμπέραναν ότι μετά από υπερβολικές συγκεντρώσεις χαλκού, μειώθηκε το βάρος των φύλλων στην καλλιέργεια του σιταριού. Αυτό το εύρημα συμφωνεί με την παρούσα μελέτη, στην οποία η διαχείριση με χαλκό κατέγραψε την μικρότερη τιμή στο βάρος των φύλλων και κυμαινόταν στο 41,15% λιγότερο βάρος σε σχέση με την διαχείριση *Trichoderma harzianum*. Λόγω του ότι το *Trichoderma harzianum* είναι παράγοντας θρέψης για τα φυτά, οι Sood et al. (2020) αναφέρουν πως διαπιστώνονται αυξημένα βάρη των φύλλων μετά από την εφαρμογή του μύκητα.

Η συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού έδειξε θετικά αποτελέσματα για το βάρος των φύλλων. Φαίνεται ότι η εφαρμογή *Trichoderma harzianum* αμβλύνει τις αρνητικές επιδράσεις των υψηλών επιπέδων χαλκού, καθώς είναι βιοσυσσωρευτής (Anand et al. 2006) και δημιουργεί πιο ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη του φυτού.

5.3. Ξηρό βάρος φυτού

Η κύρια επίδραση των υψηλών συγκεντρώσεων χαλκού στα φυτά είναι η μείωση της βιομάζας τους. Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει τις τοξικές επιδράσεις του χαλκού. Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε σε αραβόσιτο, ο χαλκός επίδρασε στην μείωση του φρέσκου και του ξηρού βάρους των φυτών σε σύγκριση με τον μάρτυρα (Benimali et al. 2010) και στην μείωση του βάρους των σπόρων (Dresler et al. 2014). Ο Shabbir et al. (2020) διαπίστωσε ότι σε διάφορα είδη φυτών οι πιο συνηθισμένες

μεταβολές της επίδρασης του χαλκού είναι η μειωμένη βιομάζα, η μειωμένη επιφάνεια των φύλλων, το ελαττωμένο ύψος του φυτού και ο μειωμένος αριθμός ριζών ανά φυτό. Ο Nazir et al. (2019) αναφέρει ότι τα φυτά που υπόκεινται σε καταπόνηση από χαλκό παρουσιάζουν ως συνηθέστερη ένδειξη χαμηλή φυτική βιομάζα. Και σε αυτή τα μέτρηση, τα δεδομένα του πειράματος συμφωνούν με την βιβλιογραφία, καθώς η μικρότερη βιομάζα ανά τις διαχειρίσεις παρουσιάστηκε σε αυτή με τον χαλκό.

Η Kakabouki et al. (2021) συμπέρανε ότι η διαχείριση με *Trichoderma harzianum* στα φυτά κάνναβης αύξησε το συνολικό ξηρό βάρος του φυτού. Η Silletti et al. (2021) διαπίστωσε ότι κάτω από συνθήκες ιδανικής λίπανσης και εφαρμογής *Trichoderma harzianum*, η ξηρή βιομάζα των φυτών σκληρού σιταριού αυξήθηκε κατά 12%. Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με τις παραπάνω έρευνες.

Η συνεφαρμογή του *Trichoderma harzianum*-χαλκού αύξησε, στην παρούσα μελέτη, το ξηρό βάρος του φυτού σε σχέση με τον χαλκό. Ωστόσο, οι υψηλές συγκεντρώσεις χαλκού είναι πιθανόν να επηρέασαν την δημιουργία δευτερευόντων μεταβολητών που παρέχει το *Trichoderma harzianum* στα φυτά για την ανάπτυξή τους (Kumar, 2013) και έχει ως αποτέλεσμα το μειωμένο ξηρό βάρος υπό αυτή τη διαχείριση. Οι υψηλές συγκεντρώσεις χαλκού επίδρασαν στην μειωμένη βιομάζα στην καλλιέργεια σιταριού και σόργου (An, 2006), ευρήματα που ερμηνεύουν το μικρό ξηρό βάρος στη συγκεκριμένη διαχείριση στην καλλιέργεια του Tritordeum.

5.4. Βάρος και μήκος στάχυ

Ο Boorboor et al. (2012) διαπίστωσε πως το βάρος του στάχυ στην καλλιέργεια του κριθαριού *Hordeum vulgare L.* επηρεάζεται από τις συγκεντρώσεις του χαλκού. Οι αυξημένες δόσεις χαλκού παρουσίασαν μικρότερο βάρος σπόρων, άρα και στάχυ. Οι Ali et al. (2022) σε πείραμα που πραγματοποίησαν στο σιτάρι διαπίστωσαν ότι το μέσο βάρος στάχυ ήταν μεγαλύτερο με την προσθήκη *Trichoderma harzianum*, σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι παραπάνω αναφορές συμφωνούν με τα ευρήματα του πειράματος που διεξάχθηκε. Η παρουσία του *Trichoderma harzianum* στην συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού δεν εξισορρόπησε τις αρνητικές επιδράσεις του χαλκού και το βάρος του στάχυ ήταν ελάχιστα μεγαλύτερο από την διαχείριση με τον χαλκό.

Οι Ali et al. (2022) σε πείραμα που διεξάχθηκε σε καλλιέργεια σιταριού, διαπίστωσαν ότι το μήκος του στάχυ δεν επηρεάζεται από την προσθήκη *Trichoderma harzianum*. Οι Jahirrudin et al. (1992) διαπίστωσε ότι το μήκος στάχυ σε φυτά σιταριού μετά από εφαρμογές βορίου, χαλκού και μολυβδαινίου δεν μεταβλήθηκε σημαντικά. Στην παρούσα μελέτη, παρουσιάστηκαν παρόμοια δεδομένα, καθώς οι τιμές μεταξύ των διαχειρίσεων σε αυτόν τον παράγοντα δεν παρουσίασαν σημαντικά στατιστική διαφορά, πράγμα που δείχνει ότι το μήκος του στάχυ οφείλεται σε γενετικούς και χαρακτηριστικά της κάθε ποικιλίας.

5.5. Αριθμός αδελφών

Οι Jahirrudin et al. (1992) σε πείραμα σιταριού, συμπέραναν ότι η ικανότητα αδελφώματος δεν επηρεάζεται από τις συγκεντρώσεις χαλκού, βορίου και μολυβδαινίου. Ο Mahato et al. (2017) σε πείραμα που διεξήγαγε στο σιτάρι με το στέλεχος *Trichoderma viride* παρατήρησε 10,8% μείωση στον αριθμό των αδελφιών. Στην πειραματική καλλιέργεια του *Tritordeum* δεν εντοπίστηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των διαχειρίσεων και έτσι δεν συμφωνεί με την παραπάνω μελέτη.

5.6. Φυλλική επιφάνεια

Οι Cook et al. (1997) σε πείραμα που πραγματοποίησαν σε φυτά σιταριού, διέκριναν ότι οι αυξημένες δόσεις χαλκού συντέλεσαν αρνητικά στην συνολική φυλλική επιφάνεια των φυτών. Οι Nazir et al. (2019) αναφέρουν ότι τα φυτά που υπόκεινται σε καταπόνηση από χαλκό έχουν ως σύμπτωμα της μείωση της φυλλικής τους επιφάνειας. Οι Mahato et al. (2017) διαπίστωσαν ότι μετά την εφαρμογή *Trichoderma viride* σε καλλιέργεια σιταριού, η φυλλική επιφάνεια αυξήθηκε κατά 0,3%. Ο Rabeendran et al. (2000) διαπίστωσε ότι μετά την προσθήκη *Trichoderma longipile* σε καλλιέργεια λάχανου αυξήθηκε η φυλλική επιφάνεια. Τα ευρήματα των ανωτέρω ερευνών συμφωνούν με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, καθώς η διαχείριση με χαλκό σημείωσε την μικρότερη φυλλική επιφάνεια και η διαχείριση με χαλκού την μεγαλύτερη, κατά 17,43%. Η συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού παρουσίασε την δεύτερη κατά σειρά μεγαλύτερη τιμή. Σε αυτό οφείλεται η ικανότητα παροχής θρεπτικών στοιχείων του *Trichoderma harzianum* στα φυτά (Silletti et al. 2021), καθώς και η δράση του ως βιοσυσσωρευτής (Ting et Choog 2009) και υπερτερεί των επιδράσεων του χαλκού.

5.7. Ριζικό σύστημα

Στην παρούσα μελέτη, οι επιδράσεις του χαλκού στο ριζικό σύστημα, στις τρεις δειγματοληψίες (56 DAS, 81 DAS, 96 DAS) ήταν παρόμοιες μεταξύ τους. Στην πρώτη μέτρηση (56 DAS), η διαχείριση με χαλκό κατέγραψε την μικρότερη τιμή μέσου μήκους της ρίζας, ενώ στην επιφάνεια και διάμετρο του ριζικού συστήματος ήταν δεύτερη κατά σειρά. Όπως συμπεραίνουμε, ο χαλκός επηρέασε το μήκος της ρίζας, ωστόσο δεν προκάλεσε επιπτώσεις στην συνολική επιφάνεια του ριζικού συστήματος και στην διάμετρό του. Στην δεύτερη μέτρηση (81 DAS) ο χαλκός δεν επηρέασε την ανάπτυξη του μήκους της ρίζας, καθώς καταγράφηκε η μέγιστη τιμή του, ωστόσο, φαίνεται να προκάλεσε επιπτώσεις στη διάμετρο. Στην τρίτη μέτρηση (96 DAS) το μήκος της ρίζας σε αυτή τη διαχείριση ήταν το δεύτερο μικρότερο μετά τον μάρτυρα και η διάμετρος του ριζικού συστήματος δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές με τις άλλες διαχειρίσεις. Οι Lequeux et al. (2010) σε καλλιέργεια από ραπανάκι (*Raphanus sativus*) και *Arabidopsis* παρατήρησαν έντονο σχηματισμό πλευρικών ριζών σε υψηλές συγκεντρώσεις χαλκού και αυτό ίσως δικαιολογεί τη μικρή μέση διάμετρο που σημειώθηκε στο πείραμα. Επιπρόσθετα, παρατήρησαν μικρή επιφάνεια ριζικού συστήματος σε σχέση με τον μάρτυρα, δεδομένο που συμφωνεί με τις ενδείξεις του πειράματος. Ο Lin et al. (2013) σε πείραμα που πραγματοποίησε στην καλλιέργεια αραβόσιτου παρατήρησε ότι 6 ημέρες μετά την εφαρμογή με χαλκό, το μήκος του ριζικού συστήματος ήταν μικρότερο σε σχέση με αυτό του μάρτυρα. Η συγκεκριμένη μελέτη δεν συμφωνεί με την παρούσα, διότι ο μάρτυρας εκτός από την πρώτη μέτρηση ήταν πάντα μικρότερος από την διαχείριση χαλκού.

Η εφαρμογή *Trichoderma viride* σε καλλιέργεια σιταριού είχε αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος των φυτών (Mahato et al. 2017). Παρόμοια, ε πείραμα με καλλιέργεια *Arabidopsis* η χρήση *Trichoderma harzianum* έφερε ως αποτέλεσμα την μείωση του μήκους του ριζικού συστήματος (Nieto-Jacobo et al., 2017). Ωστόσο, σύμφωνα με τους Kakabouki et al. (2021), Altomare et al., (1999) και Yedidia et al., (2001) η παρουσία του *Trichoderma* είχε θετικές επιδράσεις στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος σε πολλές καλλιέργειές όπως η κάνναβη. Στην παρούσα μελέτη σημειώθηκαν θετικές επιδράσεις στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος. Στις 56 DAS η εφαρμογή του *Trichoderma harzianum* οδήγησε στην καταγραφή της μέγιστης τιμής στο μέσο μήκος της ρίζας και της επιφάνειας της

ρίζας. Στις 96 DAS η μεταχείριση με *Trichoderma harzianum* παρουσίασε το μέγιστο μέσο μήκος της ρίζας από τις υπόλοιπες.

Η συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού έδειξε ότι στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών του Tritordeum, το ριζικό σύστημα επηρεάστηκε αρνητικά από την παρουσία χαλκού στο έδαφος που συμφωνεί με τις μελέτες των Ouzounidou et al., (1995). Σε αυτές καταγράφηκαν ότι υπάρχουν επιπτώσεις στην εξάπλωση του ριζικού συστήματός σε καλλιέργεια αραβόσιτου, σε συνθήκες καταπόνησης που οφειλόταν σε υψηλή συγκέντρωση χαλκού. Ωστόσο, στα επόμενα στάδια της καλλιέργειας τα φυτά του Tritordeum έδειξαν ότι ξεπέρασαν το στρες που τους είχε δημιουργήσει ο χαλκός. Η μειωμένη πρόσληψη χαλκού από τις ρίζες, περιορισμένη μετατόπιση του από τις ρίζες στους βλαστούς, αποτελεσματική εκροή μετάλλων μέσω της πλασματικής μεμβράνης, χηλική σύνδεση του χαλκού με οργανικά μόρια και διέγερση των φυτοχελαιτινών είναι στρατηγικές που εμφανίζουν τα φυτά για να προσαρμοστούν σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης χαλκού (Song et al., 2014). Τα ευρήματα των Song et al. δικαιολογούν την μικρή επίδραση του χαλκού στο Tritordeum. Επιπρόσθετα, σημαντικό ρόλο μπορεί να διαδραμάτισε το *Trichoderma harzianum* (Anand et al. 2006).

5.8. Αποικισμός των δενδροειδών μυκορριζικών μυκήτων (AMF)

Διαφορετικά είδη δενδροειδών μυκορριζικών μυκήτων παρουσιάζουν διαφορετική ικανότητα ανθεκτικότητας σε ίδια εδάφη που είναι ρυπασμένα με χαλκό (Gonzalez-Chavez et al., 2002). Οι Wu et al., 2020 σε πείραμα που διεξήγαγαν σε καλλιέργεια *Phragmites australis* διαπίστωσαν ότι ο αποικισμός με AMF στο ριζικό σύστημα των φυτών δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές στις διαφορετικές δοσολογίες χαλκού. Τα παραπάνω δεδομένα δικαιολογούν τα ευρήματα τις παρούσας εργασίας στην διαχείριση με χαλκό καθώς ο αποικισμός με AMF δεν επηρεάστηκε σημαντικά στις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στις 56 και 81 DAS σε σχέση με τον μάρτυρα (μέγιστη απόκλιση 1,97%). Στις 96 DAS παρατηρήθηκε μείωση στο ποσοστό αποικισμού με AMF κατά 6,44% σε σχέση με την προηγούμενη μέτρηση και 8,10% σε σχέση με τον μάρτυρα. Αυτό οφείλεται πιθανότατα στον συνδυασμό των αυξημένων συγκεντρώσεων χαλκού που υπήρχαν στο έδαφος με την ξηρασία (Al-Karaki, G. 1998).

Είναι ευρέως γνωστό ότι προκύπτουν οφέλη στα φυτά από την συνέργια των AMF και του *Trichoderma harzianum*, τόσο στα αποδοτικά χαρακτηριστικά όσο και στην πυκνότητα του ριζικού τους συστήματος (Kakabouki et al., 2020). Ωστόσο, η βιβλιογραφία που σχετίζεται με την αλληλεπίδραση του *Trichoderma harzianum* και των AMF μεταξύ τους είναι περιορισμένη. Έχει αναφερθεί ότι αναπτύσσουν ανταγωνιστική σχέση μεταξύ τους για τις θέσεις αποικισμού πάνω στη ρίζα των φυτών καρπουζιού (Martínez-Medina et al., 2009). Στη συνέχεια της παραπάνω μελέτης της αποδείχθηκε ότι η εγκατάσταση των AMF και η αλληλεπίδραση του φυτού με το *T. harzianum* δημιούργησαν συστημικές αλλαγές στην περιεκτικότητα διαφόρων φυτοορμονών, οι οποίες μπορεί να έχουν φυσιολογικές επιπτώσεις τόσο στην ανάπτυξη και την ανθεκτικότητα των φυτών όσο και στον αποικισμό των AMF στις ρίζες στη καλλιέργεια καρπουζιού (Martínez-Medina et al., 2011). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με τα συμπεράσματα των παραπάνω μελετών. Συγκεκριμένα, στην διαχείριση με *Trichoderma harzianum* παρουσιάστηκε το μικρότερο ποσοστό αποικισμού με AMF και στις 3 δειγματοληψίες σε μέσο ποσοστό αυτών 7,23% μικρότερο σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Τέλος, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στην κάνναβη παρατηρήθηκαν παρόμοια ποσοστά αποικισμού με την καλλιέργεια του *Triticum* μετά την προσθήκη *Trichoderma harzianum* (Kakabouki et al., 2020).

Η συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού οδήγησε στον μέγιστο αποικισμό από AMF στις 4 διαφορετικές μεταχειρίσεις. Από την έως τώρα διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αναφορές που να συσχετίζουν την συνεπίδραση του *Trichoderma harzianum* με τον χαλκό στα αγρονομικά χαρακτηριστικά των φυτών καθώς και την επίδραση τους στον αποικισμό των AMF. Εντούτοις, η αναζήτηση έδειξε ότι ο συνδυασμός αυτός έχει εφαρμοστεί με θετικές επιδράσεις στην καταπολέμηση μυκητολογικών ασθενειών όπως του μύκητα *Phytophthora infestans* στην καλλιέργεια της πατάτας και της τομάτας (Rautela et al., 2018, Ladi et al., 2020 και Sajeesh et al., 2016).

5.9. pH εδάφους

Στην παρούσα μελέτη, η ανάλυση του pH δεν είχε σημαντικές διαφορές για τις διαχειρίσεις του μάρτυρα, του *Trichoderma harzianum* και του χαλκού και διαφέρει η συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*-χαλκού, που παρουσίασε λιγότερο αλκαλική

τιμή pH. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί, καθώς στην συγκεκριμένη διαχείριση παρουσιάστηκε μεγάλος αποικισμός από μυκόρριζες. Οι μυκόρριζες μειώνουν το pH στην περιοχή της ριζόσφαιρας, λόγω ουσιών που εκχέουν αλλά και της συμβολής τους στην εντονότερη πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά (Fall et al. 2022 and Michaud et al., 2007).

5.10. Ειδικό Βάρος Φυλλώματος- Specific Leaf Weight (SLW)

Σε πείραμα μπιζελιού (*Cajanus cajan*) που πραγματοποιήθηκε με διαφορετικές δοσολογίες χαλκού δεν σημειώθηκε καμία ουσιαστική διαφοροποίηση στον δείκτη SLW ανάλογα με τις μεταχειρίσεις (Gandhi et al., 2020). Αυτό το εύρημα διαφωνεί με την παρούσα μελέτη καθώς η μεταχείριση με χαλκό παρουσίασε τη μικρότερη τιμή.

Αντίθετα σε πείραμα τομάτας, η εφαρμογή *Trichoderma asperellum* βελτίωσε τον δείκτη SLW (Fernández et al., 2014). Η παρούσα μελέτη βρίσκεται σε συμφωνία με την παραπάνω έρευνα καθώς η προσθήκη *Trichoderma harzianum* οδήγησε στην μέγιστη καταγραφή αυτού του δείκτη.

Η μεταχείριση με την ταυτόχρονη εφαρμογή *Trichoderma harzianum*- χαλκού σημείωσε την δεύτερη μεγαλύτερη τιμή. Επομένως, φαίνεται ότι ο ρόλος του *Trichoderma harzianum* ως βιοσυσσωρευτή (Ladi et al., 2020) υπερισχύει των τοξικών επιπτώσεων του χαλκού στα φυτά (Kumar et al., 2021).

5.11. Λόγος Φυλλικής Επιφάνειας- Leaf Area Ratio (LAR)

Ο δείκτης LAR εκφράζει την ωφέλιμη φυλλική επιφάνεια για φωτοσύνθεση (Ferreira et al., 2014). Οι Ferreira et al. διαπίστωσαν ότι ο δείκτης LAR μπορεί να μειωθεί σε ορισμένα στάδια ανάπτυξης καθώς η συνέπεια της αυξημένης παρεμβολής των υψηλότερων φύλλων στα χαμηλότερα μπορεί να οδηγήσει σε αυτοσκίαση. Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι ο δείκτης LAR επηρεάστηκε μεταξύ των μεταχειρίσεων και δείχνει να συμφωνεί με τα δεδομένα της παραπάνω μελέτης καθώς η διαχείριση με χαλκό, που παρουσίασε την μικρότερη φυλλική επιφάνεια, είχε την δεύτερη μεγαλύτερη τιμή μεταξύ των διαχειρίσεων στο δείκτη αυτό. Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα είναι και αυτά που καταγράφηκαν σε πείραμα μπιζελιού (*Cajanus cajan*) καθώς σε αυξανόμενες δόσεις χαλκού αυξανόταν και ο δείκτης LAR (Gandhi et al., 2020).

Σε πείραμα που διεξάχθηκε σε καλλιέργεια καρπουζιού, σημειώθηκε ότι η χρήση *Trichoderma saturnisporum* επέδρασε αρνητικά στη στον δείκτη LAR (Fernando et al., 2018) δεδομένα που συμφωνούν με αυτά του *Tritordeum*.

Ενδιαφέρουν παρουσιάζουν τα ευρήματα αυτής της εργασίας καθώς η συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*- χαλκού κατέγραψαν την υψηλότερη τιμή κατά 22,87% από τον μάρτυρα και 23% σε σχέση με την διαχείριση του *Trichoderma harzianum*.

5.12. Λόγος Βάρους Φύλλων-Leaf Weight Ratio (LWR)

Η επεξεργασία των δεδομένων για τον δείκτη LWR κατέγραψε μη σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαχειρίσεων. Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με αυτά των Gandhi et al., καθώς σε αυξανόμενες δόσεις χαλκού ο δείκτης LWR δεν σημείωσε σημαντικές διαφορές (Gandhi et al., 2020).

5.13. Δείκτης Συγκομιδής- Harvest Index (HI)

Σε καλλιέργεια σιταριού διαπιστώθηκε ότι οι συγκεντρώσεις χαλκού μεγαλύτερες του $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ εδάφους παρουσιάζουν επιπτώσεις στον δείκτη HI (Kumar et al., 2009). Αντίθετα, η εφαρμογή *Trichoderma harzianum* σε φυτά της ίδιας καλλιέργειας έδειξε θετικές επιδράσεις στον δείκτη αυτό (Ali et al., 2022). Η παρούσα εργασία διαφωνεί και με τις δύο παραπάνω μελέτες καθώς δεν παρατηρήθηκαν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ των διαχειρίσεων.

Συνοψίζοντάς, η παρούσα μελέτη έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαχειρίσεων στους παράγοντες που εξετάστηκαν στην καλλιέργεια *Tritordeum*, με την πιο αξιοσημείωτη να είναι το ποσοστό αποικισμού των AMF στο ριζικό σύστημα στην συνεφαρμογή *Trichoderma harzianum*- χαλκού. Αυτή η μελέτη από μόνη της δεν είναι ικανή να διαλευκάνει την συνεπίδραση του *Trichoderma harzianum*- χαλκού στην καλλιέργεια του *Tritordeum*, όσον αφορά τα αγρονομικά και τα αποδοτικά χαρακτηριστικά της. Συνεπώς, εγείρει ερωτήματα για την αλληλεπίδραση του *Trichoderma harzianum* και των AMF μεταξύ τους, καθώς και για την διευκρίνηση των ορίων των συγκεντρώσεων χαλκού στην καλλιέργεια των σιτηρών που δεν επηρεάζει τις διαδικασίες των AMF και του *Trichoderma harzianum*. Επίσης, προτείνεται να γίνει το ίδιο πείραμα σε πιο όξινο pH εδάφους, καθώς σε αυτή την συνθήκη ο χαλκός είναι πιο διαθέσιμος στο εδαφικό διάλυμα και μπορεί να προκαλεί σοβαρότερες επιπτώσεις. Τέλος, πρέπει να διερευνηθεί πως αυτές οι τρεις διαφορετικές διαχειρίσεις επιδρούν στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του σπόρου της καλλιέργειας, που δεν αξιολογήθηκαν σε αυτή τη μελέτη.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M. *et al.* The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environ Sci Pollut Res* 22, 8148–8162 (2015). <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4496-5>
- Al-Hakimi A.-M., Hamada A.M. (2011): Ascorbic acid, thiamine or salicylic acid induced changes in some physiological parameters in wheat grown under copper stress. *Plant Protect. Sci.*, 47: 92-108. <https://doi.org/10.17221/20/2010-PPS>
- Ali I, Khan A, Ali A, et al. (2022). Iron and zinc micronutrients and soil inoculation of *Trichoderma harzianum* enhance wheat grain quality and yield. *Frontiers in Plant Science*.13:960948. DOI: 10.3389/fpls.2022.960948.
- Al-Karaki, G. (1998). Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. *Mycorrhiza* 8, 41–45. <https://doi.org/10.1007/s005720050209>
- Altomare, C., Norvell, W. A., Bjorkman, T., & Harman, G. E. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *trichoderma harzianum* rifai 1295-22. *Applied and environmental microbiology*, 65(7), 2926–2933. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.7.2926-2933.1999>
- Aly, A. A., & Mohamed, A. A. (2012). The impact of copper ion on growth, thiol compounds and lipid peroxidation in two maize cultivars ('*Zea mays*' L.) grown “in vitro.” *Australian Journal of Crop Science*, 6(3), 541–549. <https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.361413352729057>
- Amery, F., Degryse, F., Cheyns, K., De Troyer, I., Mertens, J., Merckx, R. and Smolders, E. (2008), The UV-absorbance of dissolved organic matter predicts the fivefold variation in its affinity for mobilizing Cu in an agricultural soil horizon. *European Journal of Soil Science*, 59: 1087-1095. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2008.01078.x>
- Anand, P., Isar, J., Saran, S., & Saxena, R. K. (2006). Bioaccumulation of copper by *Trichoderma viride*. *Bioresource technology*, 97(8), 1018–1025. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.04.046>
- Awasthi, A.K., Pandey, A.K. & Khan, J. Potential of fungus *Trichoderma harzianum* for toxicity reduction in municipal solid waste leachate. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 14, 2015–2022 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1271-9>.
- Azooz, M. M., Abou-Elhamd, M. F., & Al-Fredan, M. A. (2012). Biphasic effect of copper on growth, proline, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of wheat ('*Triticum aestivum*' cv. Hasaawi) at early growing stage. *Australian Journal of Crop Science*, 6(4), 688–694. <https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.362717660717131>

Bai, J., Chao, Y., Chen, Y., Wang, S., & Qiu, R. (2019). The effect of interaction between *Bacillus subtilis* DBM and soil minerals on Cu (II) and Pb (II) adsorption. *Journal of Environmental Sciences*, 78, 328-337. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.11.012>

Barea, J. M. (2000). Rhizosphere and mycorrhiza of field crops. In *Biological resource management connecting science and policy* (pp. 81-92). Springer, Berlin, Heidelberg.

Benimeli, C.S., Medina, A., Navarro, C.M. *et al.* (2010). Bioaccumulation of Copper by *Zea mays*: Impact on Root, Shoot and Leaf Growth. *Water Air Soil Pollut* 210, 365–370. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0259-6>

Bonfante, P., Genre, A. (2010). Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nat Commun* 1, 48. <https://doi.org/10.1038/ncomms1046>

Boorboor, M., Asli, D. E., & Tehrani, M. (2012). The effect of dose and different methods of Iron, Zinc, Manganese and Copper application on yield components, morphological traits and grain protein percentage of barley plant (*Hordeum vulgare* L.) in greenhouse conditions. *Advances in Environmental Biology*, 740. <https://link.gale.com/apps/doc/A287109576/AONE?u=anon~73360123&sid=googleScholar&xid=eec50aac>

Brundrett, M.C. (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320, 37–77. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9877-9>

Cao, Y., Ma, C., Chen, H., Chen, G., White, J. C., & Xing, B. (2020). Copper stress in flooded soil: Impact on enzyme activities, microbial community composition and diversity in the rhizosphere of *Salix integra*. *Science of the Total Environment*, 704, 135350. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135350>

Contreras-Cornejo, H. A., López-Bucio, J. S., Méndez-Bravo, A., Macías-Rodríguez, L., Ramos-Vega, M., Guevara-García, Á. A., & López-Bucio, J. (2015). Mitogen-activated protein kinase 6 and ethylene and auxin signaling pathways are involved in *Arabidopsis* root-system architecture alterations by *Trichoderma atroviride*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 28(6), 701-710

Cui, J. L., Zhao, Y. P., Lu, Y. J., Chan, T. S., Zhang, L. L., Tsang, D. C., & Li, X. D. (2019). Distribution and speciation of copper in rice (*Oryza sativa* L.) from mining-impacted paddy soil: Implications for copper uptake mechanisms. *Environment international*, 126, 717-726. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.02.045>

Cuypers, A., Remans, T., Weyens, N., Colpaert, J., Vassilev, A., Vangronsveld, J. (2013). Soil-Plant Relationships of Heavy Metals and Metalloids. In: Alloway, B.

(eds) Heavy Metals in Soils. Environmental Pollution, vol 22. Springer, Dordrecht.
https://doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7_6

De Conti, L., Ceretta, C. A., Melo, G. W., Tiecher, T. L., Silva, L. O., Garlet, L. P., ... & Brunetto, G. (2019). Intercropping of young grapevines with native grasses for phytoremediation of Cu-contaminated soils. *Chemosphere*, 216, 147-156.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.134>

De Conti, L., Cesco, S., Mimmo, T., Pii, Y., Valentinuzzi, F., Melo, G. W., ... & Brunetto, G. (2020). Iron fertilization to enhance tolerance mechanisms to copper toxicity of ryegrass plants used as cover crop in vineyards. *Chemosphere*, 243, 125298. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125298>

Deng, F., Yamaji, N., Xia, J., & Ma, J. F. (2013). A member of the heavy metal P-type ATPase OsHMA5 is involved in xylem loading of copper in rice. *Plant physiology*, 163(3), 1353-1362. <https://doi.org/10.1104/pp.113.226225>

Dogra, N., Sharma, M., Sharma, A., Keshavarzi, A., Minakshi, Bhardwaj, R., ... & Kumar, V. (2020). Pollution assessment and spatial distribution of roadside agricultural soils: a case study from India. *International journal of environmental health research*, 30(2), 146-159.

Drigo, B., Pijl, A. S., Duyts, H., Kielak, A. M., Gamper, H. A., Houtekamer, M. J., ... & Kowalchuk, G. A. (2010). Shifting carbon flow from roots into associated microbial communities in response to elevated atmospheric CO₂. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(24), 10938-10942.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0912421107>

Druzhinina, I., Kopchinskiy, A. & Kubicek, C. (2006). The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience* 47, 55–64.
<https://doi.org/10.1007/s10267-006-0279-7>

Duffy, B. K., Ownley, B. H., & Weller, D. M. (1997). Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all of wheat by *Trichoderma koningii*. *Phytopathology*, 87(11), 1118-1124.

Duponnois, R., Ouahmane, L., Kane, A., Thioulouse, J., Hafidi, M., Boumezzough, A., ... & Dreyfus, B. (2011). Nurse shrubs increased the early growth of Cupressus seedlings by enhancing belowground mutualism and soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(10), 2160-2168.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.06.020>

El-Katatny, M. H., & Idres, M. M. (2014). Effects of single and combined inoculations with *Azospirillum brasilense* and *Trichoderma harzianum* on seedling growth or yield parameters of wheat (*Triticum vulgare* L., Giza 168) and corn (*Zea mays* L., hybrid 310). *Journal of plant nutrition*, 37(12), 1913-1936.

Fall, A. F., Nakabonge, G., Ssekandi, J., Founoune-Mbou, H., Apori, S. O., Ndiaye, A. & Ngom, K. (2022). Roles of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Soil Fertility: Contribution in the Improvement of Physical, Chemical, and Biological Properties of the Soil.

FAOstat. Available online: <http://www.fao.org/faostat/en/#home> (accessed on 21 May 2022)

Fernández E., Shukla, N., Bohra, Y. *et al.* (2020). Copper tolerant *Trichoderma asperellum* increases bio-efficacy of copper against *Phytophthora infestans* in dual combination. *Phytoparasitica* 48, 357–370. <https://doi.org/10.1007/s12600-020-00804-9>

Fernandez, E., Segarra, G., & Trillas, M. I. (2014). Physiological effects of the induction of resistance by compost or *Trichoderma asperellum* strain T34 against *Botrytis cinerea* in tomato. *Biological Control*, 78, 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.06.012>

Fernández, E., Segarra, G., & Trillas, M. I. (2014). Physiological effects of the induction of resistance by compost or *Trichoderma asperellum* strain T34 against *Botrytis cinerea* in tomato. *Biological Control*, 78, 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.06.012>

Fernando, D., Milagrosa, S., Francisco, C., & Francisco, M. (2018). Biostimulant activity of *Trichoderma saturnisporum* in melon (*Cucumis melo*). *HortScience*, 53(6), 810-815. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13006-18>

Ferreira, L. C., Scavroni, J., da Silva, J. R. V., Cataneo, A. C., Martins, D., & Boaro, C. S. F. (2014). Copper oxychloride fungicide and its effect on growth and oxidative stress of potato plants. *Pesticide biochemistry and physiology*, 112, 63-69. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.04.010>

Ferreira, P. A., Marchezan, C., Ceretta, C. A., Tarouco, C. P., Lourenzi, C. R., Silva, L. S., Brunetto, G. (2018). Soil amendment as a strategy for the growth of young vines when replanting vineyards in soils with high copper content. *Plant Physiology and Biochemistry*, 126, 152-162. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.03.003>

Fraceto, L.F., Maruyama, C.R., Guilger, M., Mishra, S., Keswani, C., Singh, H.B. and de Lima, R. (2018), *Trichoderma harzianum*-based novel formulations: potential applications for management of Next-Gen agricultural challenges. *J. Chem. Technol. Biotechnol*, 93: 2056-2063. <https://doi.org/10.1002/jctb.5613>

Gandhi, N., Sridhar, J., Pallavi, A., Ashwini, K., Vasavi, K., Ravali, M., Kranthi, K. (2020). Germination, Growth, Physiological and Biochemical Response of Pigeon Pea (*Cajanus cajan*) Under Varying Concentrations of Copper (Cu), Lead (Pb), Manganese (Mn) and Barium (Ba). *International Journal of Research and Review*. 7(3).

- Giordano, D., Reyneri, A., Locatelli, M., Coïsson, J. D., & Blandino, M. (2019). Distribution of bioactive compounds in pearled fractions of tritordeum. *Food chemistry*, 301, 125228. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125228>
- Gonzalez-Chavez, C., D'Haen, J., Vangronsveld, J. *et al.* (2002). Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Plant and Soil* 240, 287–297. <https://doi.org/10.1023/A:1015794622592>
- Habte, M., Fox, R.L. (1993). Effectiveness of VAM fungi in nonsterile soils before and after optimization of P in soil solution. *Plant Soil* 151, 219–226. <https://doi.org/10.1007/BF00016287>
- Haque, M. M., Ilias, G. N. M., & Molla, A. H. (2012). Impact of Trichoderma-enriched biofertilizer on the growth and yield of mustard (*Brassica rapa* L.) and tomato (*Solanum lycopersicon* Mill.). *The Agriculturists*, 10(2), 109-119. <https://doi.org/10.3329/agric.v10i2.13148>
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1), 43-56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Harman, G., Howell, C., Viterbo, A. *et al.* (2004). *Trichoderma* species — opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol* 2, 43–56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes. *Microbiology (Reading, England)*, 158(Pt 1), 17–25. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052274-0>
- Jahiruddin, M., Hoque, M. S., Haque, A. K. M. M., & Roy, P. K. (1992). Influence of boron, copper and molybdenum on grain formation in wheat. *Crop Res*, 5(1), 35-42.
- Jakhar, S. R., Kumar, S., Jangir, C. K., & Meena, R. S. (2017). The role of mycorrhizal relationship in sustainable manner towards plant growth and soil fertility. *Indian Journal of Agriculture and Allied Sciences*, 3(4), 19-24.
- Kakabouki I, Beslemes DF, Tigka EL, Folina A, Karydogianni S, Zisi C, Papastylianou P. (2020). Performance of Six Genotypes of Tritordeum Compare to Bread Wheat under East Mediterranean Condition. *Sustainability*. 12(22):9700. <https://doi.org/10.3390/su12229700>
- Kakabouki, I., Tataridas, A., Mavroeidis, A., Kousta, A., Karydogianni, S., Zisi, C., Kouneli, V., Konstantinou, A., Folina, A., Konstantas, A., & Papastylianou, P. (2021). Effect of Colonization of *Trichoderma harzianum* on Growth Development and CBD Content of Hemp (*Cannabis sativa* L.). *Microorganisms*, 9(3), 518. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030518>

Kakabouki, I., Tsirogiannis, D., Karydogianni, S., Folina, A., Zisi, C., Platanopoulos, E., ... & Bilalis, D. (2020). Interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and trichoderma on growth of root system and on yield of industrial hemp (*Cannabis sativa* var.'Uso'). *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture*, 77(2), 25-29.

Keymer, A., Pimprikar, P., Wewer, V., Huber, C., Brands, M., Bucerius, S. L., ... & Gutjahr, C. (2017). Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. *elife*, 6, e29107. <https://doi.org/10.7554/eLife.29107>

Khoudi, H. (2021) Significance of vacuolar proton pumps and metal/H⁺ antiporters in plant heavy metal tolerance. *Physiologia Plantarum*, 173(1), 384–393. Available from: <https://doi.org/10.1111/ppl.13447>

Kleifeld, O., Chet, I. (1992). *Trichoderma harzianum*—interaction with plants and effect on growth response. *Plant Soil* 144, 267–272. <https://doi.org/10.1007/BF00012884>

Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., & Nagy, E. (2003). Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, 41(1), 37-42.

Kumar, R., Mehrotra, N. K., Nautiyal, B. D., Kumar, P., & Singh, P. K. (2009). Effect of copper on growth, yield and concentration of Fe, Mn, Zn and Cu in wheat plants (*Triticum aestivum* L.). *Journal of environmental biology*, 30(4), 485–488.

Kumar, S. (2013). *Trichoderma*: a biological weapon for managing plant diseases and promoting sustainability. *International Journal of Agriculture Science and Medical veterinary*, 1(3), 106-121.

Kumar, V., Pandita, S., Singh Sidhu, G. P., Sharma, A., Khanna, K., Kaur, P., Bali, A. S., & Setia, R. (2021). Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A comprehensive review. *Chemosphere*, 262, 127810. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127810>

Lehmann, J., Hansel, C.M., Kaiser, C. *et al.* Persistence of soil organic carbon caused by functional complexity. *Nat. Geosci.* 13, 529–534 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41561-020-0612-3>

Lequeux, H., Hermans, C., Lutts, S., & Verbruggen, N. (2010). Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. *Plant physiology and biochemistry : PPB*, 48(8), 673–682. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.05.005>

Li, R. X., Cai, F., Pang, G., Shen, Q. R., Li, R., & Chen, W. (2015). Solubilisation of Phosphate and Micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its Relationship with the Promotion of Tomato Plant Growth. *PloS one*, 10(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130081>

- Lin, J., Jiang, W., & Liu, D. C. (2003). Accumulation of copper by roots, hypocotyls, cotyledons and leaves of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Bioresource technology*, 86(2), 151–155. [https://doi.org/10.1016/s0960-8524\(02\)00152-9](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(02)00152-9)
- López Errasquín, E., & Vázquez, C. (2003). Tolerance and uptake of heavy metals by *Trichoderma atroviride* isolated from sludge. *Chemosphere*, 50(1), 137–143. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(02\)00485-x](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(02)00485-x)
- Lorito, M., Woo, S. L., Harman, G. E., & Monte, E. (2010). Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. *Annual review of phytopathology*, 48, 395–417. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114314>
- Martín, A., Alvarez, J. B., Martín, L. M., Barro, F., & Ballesteros, J. (1999). The development of tritordeum: a novel cereal for food processing. *Journal of Cereal Science*, 30(2), 85-95. <https://doi.org/10.1006/jcrs.1998.0235>
- Martín, A., Cabrera, A., Hernández, P., Ramirez, M. C., Rubiales, D., & Ballesteros, J. (2000). Prospect for the use of *Hordeum chilense* in durum wheat breeding. *Durum wheat improvement in the Mediterranean region: new challenges*, 40, 111-115.
- Martínez-Medina, A., Roldán, A., & Pascual, J. A. (2009). Performance of a *Trichoderma harzianum* Bentonite–vermiculite Formulation Against *Fusarium* Wilt in Seedling Nursery Melon Plants, *HortScience horts*, 44(7), 2025-2027. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.44.7.2025>
- Martínez-Medina, A., Roldán, A., Albacete, A., & Pascual, J. A. (2011). The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. *Phytochemistry*, 72(2-3), 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.11.008>
- Masi M, Nocera P, Reveglia P, Cimmino A, Evidente A. Fungal Metabolites Antagonists towards Plant Pests and Human Pathogens: Structure-Activity Relationship Studies. *Molecules*. 2018; 23(4):834. <https://doi.org/10.3390/molecules23040834>
- Michaud, A.M., Bravin, M.N., Galleguillos, M. *et al.* (2007). Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. *Plant Soil* 298, 99–111. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9343-0>
- Miller, R. M., & Jastrow, J. D. (1992). The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. *Mycorrhizae in sustainable agriculture*, 54, 29-44. <https://doi.org/10.2134/asaspecpub54.c2>
- Mocquot, B., Vangronsveld, J., Clijsters, H. *et al.* (1996). Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L.) plants: effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and enzyme activities. *Plant Soil* 182, 287–300. <https://doi.org/10.1007/BF00029060>

- Montero-Barrientos, M., Hermosa, R., Cardoza, R. E., Gutierrez, S., Nicolas, C., & Monte, E. (2010). Transgenic expression of the *Trichoderma harzianum* hsp70 gene increases *Arabidopsis* resistance to heat and other abiotic stresses. *Journal of plant physiology*, 167(8), 659-665. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.11.012>
- Montesano, V, Negro, D, De Lisi, A, Urbano, M, Sarli, G, Laghetti, G. (2021). Agronomic performance and phenolic profile of *Tritordeum* (x *Tritordeum martinii* A. Pujadas) lines. *Cereal Chem.* 98: 382–391. <https://doi.org/10.1002/cche.10378>
- Nazir, F., Hussain, A., & Fariduddin, Q. (2019). Hydrogen peroxide modulate photosynthesis and antioxidant systems in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants under copper stress. *Chemosphere*, 230, 544-558. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.001>
- Nieto-Jacobo, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Nguyen, D. V., Rostás, M., Braithwaite, M. & Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in plant science*, 102. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00102>
- Nur, A., Muslim, S., A., R., & Danial, R. (2019). Investigation of Endophytic Fungi Towards Vascular Streick Dieback *Oncobasidium theobromae* on Seedling of Cocoa Plant. *Journal of Applied Biological Sciences*, 9(2), 86–89. Retrieved from <https://jabsonline.org/index.php/jabs/article/view/449>
- Ouzounidou, G., Čiamporová, M., Moustakas, M., & Karataglis, S. (1995). Responses of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress—I. Growth, mineral content and ultrastructure of roots. *Environmental and experimental botany*, 35(2), 167-176. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(94\)00049-B](https://doi.org/10.1016/0098-8472(94)00049-B)
- Pani, S., Kumar, A., & Sharma, A. (2021). *Trichoderma harzianum*: An overview. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Science*, 10(6), 32-39.
- Parihar, M., Rakshit, A., Meena, V.S. *et al.* (2020). The potential of arbuscular mycorrhizal fungi in C cycling: a review. *Arch Microbiol* 202, 1581–1596. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01915-x>
- Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol* 6, 763–775. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1987>
- Rabeendran, N., Moot, D., Jones, E., & Stewart, A. (2000). Inconsistent growth promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. *New Zealand Plant Protection*, 53, 143–146. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2000.53.3667>
- Rautela, A., Shukla, N., Ghatak, A., Tewari, A. K., & Kumar, J. (2018). Field evaluation of different copper sources in a consortium of “Copper-Chitosan-

Trichoderma” for management of late blight disease of tomato. *J Pharmacogn Phytochem*, 7(4), 1260-1266.

Rawat, L., Singh, Y., Shukla, N., & Kumar, J. (2012). Seed biopriming with salinity tolerant isolates of trichoderma harzmannii alleviates salt stress in rice: growth, physiological and biochemical characteristics. *Journal of Plant pathology*, 353-365.

Requena, N., Perez-Solis, E., Azcón-Aguilar, C., Jeffries, P., & Barea, J. M. (2001). Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and environmental microbiology*, 67(2), 495-498. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.2.495-498.2001>

Rózewicz M, Wyzińska M. (2021) Characteristics of Tritordeum and evaluation of its potential for cultivation in Poland, with considerations for the nutritional and fodder value of the grains. *Polish Journal of Agronomy*.10-21. <https://redakcjapja.iung.pl>

Sajeesh, P. K., Bhardwaj, N. R., Balodi, R., & Kumar, J. (2016). Field evaluation of triple combination of copper, chitosan and Trichoderma for management of late blight disease of potato under hill condition. *Adv Life Sci*, 5(7), 2771-2778.

Saleem, M.H., Fahad, S., Khan, S.U. *et al.* (2020). Copper-induced oxidative stress, initiation of antioxidants and phytoremediation potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) seedlings grown under the mixing of two different soils of China. *Environ Sci Pollut Res* 27, 5211–5221. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07264-7>

Samolski, I., Rincón, A. M., Pinzón, L. M., Viterbo, A., & Monte, E. (2012). The qid74 gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. *Microbiology (Reading, England)*, 158(Pt 1), 129–138. <https://doi.org/10.1099/mic.0.053140-0>

Sawers, R. J., Gutjahr, C., & Paszkowski, U. (2008). Cereal mycorrhiza: an ancient symbiosis in modern agriculture. *Trends in plant science*, 13(2), 93-97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.11.006>

Shabbir Z. Sardar A. Shabbir A. Abbas G. Shamshad S. (2020) Copper Uptake, Essentiality, Toxicity, Detoxification and Risk Assessment in Soil-Plant Environment. *Chemosphere*, 259, 127436. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127436>.

Shen, Z., Ruan, Y., Chao, X., Zhang, J., Li, R. and Shen, Q. (2015). Rhizosphere microbial community manipulated by 2 years of consecutive biofertilizer application associated with banana Fusarium wilt disease suppression. *Biology and Fertility of Soils* 51(5):553-562. <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-015-1002-7>

Silletti S, Di Stasio E, Van Oosten MJ, Ventorino V, Pepe O, Napolitano M, Marra R, Woo SL, Cirillo V, Maggio A. (2021). Biostimulant Activity of *Azotobacter chroococcum* and *Trichoderma harzianum* in Durum Wheat under Water and Nitrogen Deficiency. *Agronomy*. 11(2):380. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020380>

Silva, R. N., Monteiro, V. N., Steindorff, A. S., Gomes, E. V., Noronha, E. F., & Ulhoa, C. J. (2019). Trichoderma/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. *Fungal biology*, 123(8), 565–583. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.06.010>

Song, Y., Zhang, H., Chen, C. *et al.* (2014). Proteomic analysis of copper-binding proteins in excess copper-stressed rice roots by immobilized metal affinity chromatography and two-dimensional electrophoresis. *Biometals* 27, 265–276. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9707-x>

Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F., & Sharma, A. (2020). *Trichoderma*: The "Secrets" of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants (Basel, Switzerland)*, 9(6), 762. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>

Stern, B. R., Solioz, M., Krewski, D., Aggett, P., Aw, T. C., Baker, S., ... & Starr, T. (2007). Copper and human health: biochemistry, genetics, and strategies for modeling dose-response relationships. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10(3), 157-222.

Stewart A., Hill R., (2014). Applications of Trichoderma in Plant Growth Promotion. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, 31: 415-428. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00031>

Ting, A.S.Y., Choong, C.C. (2009). Bioaccumulation and biosorption efficacy of *Trichoderma* isolate SP2F1 in removing copper (Cu(II)) from aqueous solutions. *World J Microbiol Biotechnol* 25, 1431–1437. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0030-6>

Villegas D., Casadesús J., Atienza S. G., Martos V., Maalouf F., Karam F., Aranjuelo I., Nogués S. (2010). Tritordeum, wheat and triticale yield components under multi-local mediterranean drought conditions. *Field Crops Research*, 116:1–2. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.11.012>.

Visioli G, Lauro M, Vameralli T, Dal Cortivo C, Panozzo A, Folloni S, Piazza C, Ranieri R. (2020). A Comparative Study of Organic and Conventional Management on the Rhizosphere Microbiome, Growth and Grain Quality Traits of Tritordeum. *Agronomy*. 10(11):1717. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111717>

Wairich, A, De Conti L, Lamb TI, Keil R, Neves LO, Brunetto G, Sperotto RA, Ricachenevsky FK. Throwing Copper Around: How Plants Control Uptake, Distribution, and Accumulation of Copper. *Agronomy*. 2022; 12(5):994. <https://doi.org/10.3390/agronomy12050994>

Wang, N., Xue, X. M., Juhasz, A. L., Chang, Z. Z., & Li, H. B. (2017). Biochar increases arsenic release from an anaerobic paddy soil due to enhanced microbial

reduction of iron and arsenic. *Environmental Pollution*, 220, 514-522. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.095>

Wang, Z., Li, Y., Zhuang, L., Yu, Y., Liu, J., Zhang, L., Gao, Z., Wu, Y., Gao, W., Ding, G. C., & Wang, Q. (2019). A Rhizosphere-Derived Consortium of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* Suppresses Common Scab of Potato and Increases Yield. *Computational and structural biotechnology journal*, 17, 645–653. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.05.003>

Wilson, G.W.T., Rice, C.W., Rillig, M.C., Springer, A. and Hartnett, D.C. (2009), Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecology Letters*, 12: 452-461. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01303.x>

Woo, S. L., Scala, F., Ruocco, M., & Lorito, M. (2006). The Molecular Biology of the Interactions Between *Trichoderma* spp., Phytopathogenic Fungi, and Plants. *Phytopathology*, 96(2), 181–185. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0181>

Wu, J.-T., Wang, L., Zhao, L., Huang, X.-C. and Ma, F. (2020), Arbuscular mycorrhizal fungi effect growth and photosynthesis of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex. Steudel under copper stress. *Plant Biol J*, 22: 62-69. <https://doi.org/10.1111/plb.13039>

Yang Z, Chen J, Dou R, Gao X, Mao C, Wang L. Assessment of the Phytotoxicity of Metal Oxide Nanoparticles on Two Crop Plants, Maize (*Zea mays* L.) and Rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2015; 12(12):15100-15109. <https://doi.org/10.3390/ijerph121214963>

Yedidia, I., Benhamou, N., & Chet, I. (1999). Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and environmental microbiology*, 65(3), 1061-1070. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.3.1061-1070.1999>

Yedidia, I., Srivastva, A.K., Kapulnik, Y. *et al.* (2001). Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil* 235, 235–242. <https://doi.org/10.1023/A:1011990013955>

Yruela, I. (2009). Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Functional Plant Biology*, 36(5), 409-430. <https://doi.org/10.1071/FP08288>

Zhang, F., Huo, Y., Cobb, A. B., Luo, G., Zhou, J., Yang, G., Wilson, G., & Zhang, Y. (2018). *Trichoderma* Biofertilizer Links to Altered Soil Chemistry, Altered Microbial Communities, and Improved Grassland Biomass. *Frontiers in microbiology*, 9, 848. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00848>

Zhang, J. C., Chen, G. Y., Li, X. Z., Hu, M., Wang, B. Y., Ruan, B. H., Zhou, H., Zhao, L. X., Zhou, J., Ding, Z. T., & Yang, Y. B. (2017). Phytotoxic, antibacterial, and antioxidant activities of mycotoxins and other metabolites from *Trichoderma*

sp. *Natural product research*, 31(23), 2745–2752.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1295235>

Zhang, W., Yu, T., Yang, X., & Li, H. (2020). Speciation, Transformation, and Accumulation of Manure-derived Cu and Zn in the Soil–Rice System. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 29(1), 43-52.
<https://doi.org/10.1080/15320383.2019.1670135>

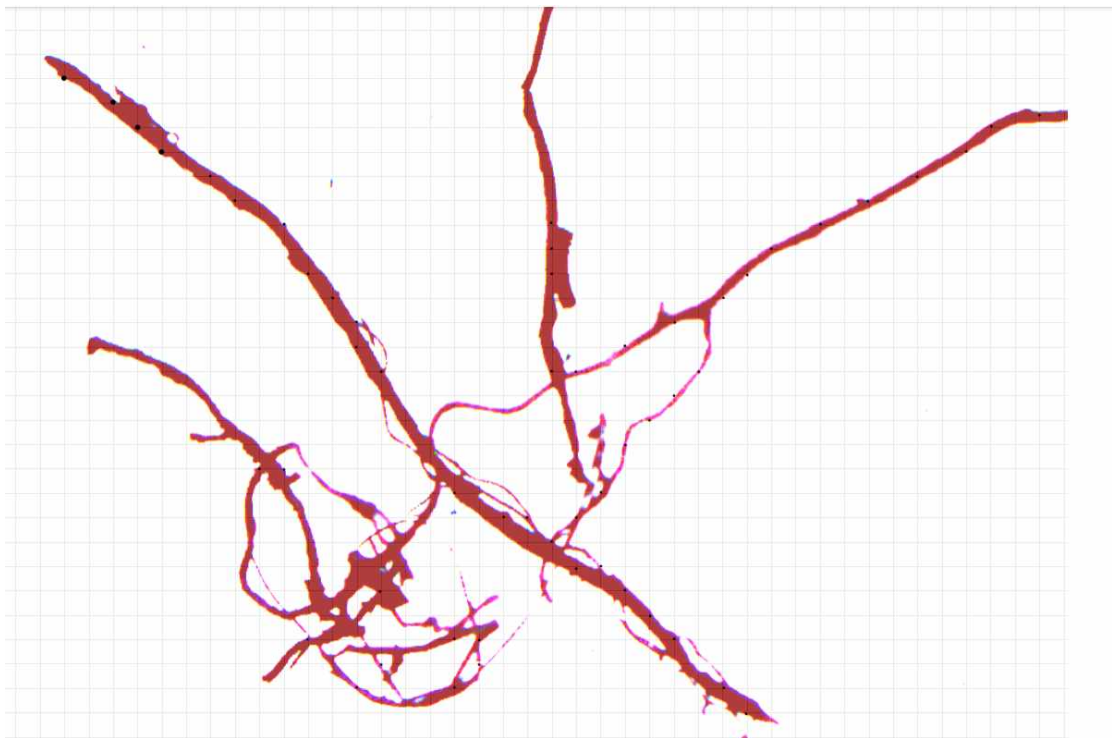
Zin, N. A., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 168-178.
<https://doi.org/10.1016/j.aogas.2020.09.003>

Μπιλάλης Δ., Παπαστυλιανού Π.-Θ., Τραυλός Η. Σ. (2019). Γεωργία Φυτά Μεγάλης Καλλιέργειας. Εκδόσεις Πεδίο.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΚΟΝΩΝ



Εικόνα 3 Ημέρα σποράς μέσα στο Θερμοκήπιο



Εικόνα 4 Ρίζα που αναλύεται στο στερεοσκόπιο ενώ έχει βαφτεί με Σινική μελάνη και Φουξίνη



Εικόνα 5 Μέρα μεταφοράς της καλλιέργειας από το θερμοκήπιο στον αγρό



Εικόνα 6 Κατά την μέτρηση του εδαφικού pH



Εικόνα 7 Κατά την μέτρηση του Ύψους Φυτού



Εικόνα 8 Κατά την συλλογή Αδιατάραχτου εδάφους 100 cm³