



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

Διδακτορική Διατριβή

Διερεύνηση της δυνατότητας αύξησης της ανοχής των θερμοκηπιακών καλλιεργειών τομάτας σε συνδυασμό παραγόντων αβιοτικής καταπόνησης μέσω της χρήσης βιοδιεγερτών και εμβολιασμού

Παναγιώτης Κ. Καλοζούμης

Επιβλέπων Καθηγητής
Δημήτριος Σάββας, Καθηγητής ΓΠΑ

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή
Δημήτριος Σάββας, Καθηγητής ΓΠΑ
Αναστασία Ταμπακάκη, Καθηγήτρια ΕΛΜΕΠΑ
Ιωάννης Καραπάνος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ



**ΑΘΗΝΑ
2023**

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

Διδακτορική Διατριβή

Διερεύνηση της δυνατότητας αύξησης της ανοχής των θερμοκηπιακών καλλιεργειών τομάτας σε συνδυασμό παραγόντων αβιοτικής καταπόνησης μέσω της χρήσης βιοδιεγερτών και εμβολιασμού

“Exploring the possibility of increasing resilience of greenhouse tomato to combined abiotic stress factors by applying biostimulants and grafting”

Παναγιώτης Κ. Καλοζούμης

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Δημήτριος Σάββας, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Αναστασία Ταμπακάκη, Καθηγήτρια ΕΛΜΕΠΑ

Ιωάννης Καραπάνος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Γεωργία Ντάτση, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Κωνσταντίνος Αλιφέρης Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

Αναστάσιος Κώτσιρας, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Πελοποννήσου

Αθανάσιος Κουκουνάρας, Αναπληρωτής Καθηγητής ΑΠΘ

Διερεύνηση της δυνατότητας αύξησης της ανοχής των θερμοκηπιακών καλλιεργειών τομάτας σε συνδυασμό παραγόντων αβιοτικής καταπόνησης μέσω της χρήσης βιοδιεγερτών και εμβολιασμού

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Κηπευτικών Καλλιεργειών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η κατανάλωση νερού και λιπασμάτων στις καλλιέργειες θα πρέπει να μειωθεί τα επόμενα χρόνια τόσο για περιβαλλοντικούς λόγους όσο και για λόγους μείωσης του κόστους παραγωγής. Η τομάτα είναι ένα λαχανικό που καταναλώνει σημαντικές ποσότητες νερού και λιπασμάτων και η ταυτόχρονη μείωση και των δυο αυτών εισροών ενδέχεται να επηρεάσει σημαντικά την παραγωγή των φυτών. Στην παρούσα διδακτορική μελέτη εξετάστηκαν διαφορετικοί μέθοδοι για την αύξηση της ανοχής των φυτών σε συνδυασμένη καταπόνηση από έλλειψη νερού και θρεπτικών στοιχείων. Οι μέθοδοι ήταν η εφαρμογή χημικών και βιολογικών βιοδιεγερτών και ο εμβολιασμός σε υποκείμενα με ανοχή σε αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης. Επιπλέον, μελετήθηκε και η πιθανότητα αύξησης της διαθεσιμότητας των θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος μέσα από την εφαρμογή γαιοσκωλήκων, με στόχο να αυξηθεί η αποτελεσματικότητα χρήσης των λιπασμάτων.

Πραγματοποιήθηκαν τρεις πειραματικές μελέτες από τις οποίες η πρώτη και η τρίτη αφορούσαν θερμοκηπιακή καλλιέργεια εκτός εδάφους, ενώ η δεύτερη αφορούσε θερμοκηπιακή καλλιέργεια στο έδαφος. Κατά την 1^η πειραματική μελέτη εξετάστηκε η εφαρμογή 5 διαφορετικών στελεχών ριζοβακτηρίων που προωθούν την ανάπτυξη των φυτών (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) και ο εμβολιασμός στο υποκείμενο M82. Τα PGPR στελέχη ήταν τα: *Enterobacter sp.* C1.2, *Enterobacter sp.* C1.5, *Paenibacillus sp.* DN1.2, *Enterobacter mori* C3.1 και *Lelliottia sp.* D2.4. Ο εμβολιασμός και τα ριζοβακτήρια εφαρμόστηκαν σε τομάτα η οποία αναπτύχθηκε κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων. Κατά την 2^η μελέτη, εξετάστηκε η επίδραση 4 διαφορετικών υποκειμένων (Ramellet, M82, Maxifort, BIL-6335) τομάτας και η εφαρμογή γαιοσκωλήκων (επίγειος γαιοσκώληκας *Eisenia fetida*) στην αύξηση της ανοχής των φυτών σε συνθήκες μειωμένων θρεπτικών στο έδαφος λόγω καλλιέργειας σε βιολογικό σύστημα παραγωγής, σε σύγκριση με συμβατική καλλιέργεια. Τέλος, κατά την 3^η μελέτη εξετάστηκε η εφαρμογή χημικών βιοδιεγερτών από α) υδρολυμένες πρωτεΐνες, β) εκχυλίσματα φυκών (*Ascophyllum nodosum*) και γ) την φυτορμόνη στριγγολακτόνη, κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων. Η 1^η πειραματική μελέτη περιλάμβανε και αναλύσεις μεταβολομικής με σκοπό την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που σχετίζονται με την ανοχή των φυτών σε συνθήκες συνδυασμένης

καταπόνησης και του τρόπου που αυτοί επηρεάζονται από την εφαρμογή των ριζοβακτηρίων ή του εμβολιασμού.

Η εφαρμογή των PGPR επηρέασε σημαντικά την ανάπτυξη βιομάζας των φυτών, άλλοτε θετικά και άλλοτε αρνητικά, ανάλογα με τις συνθήκες καταπόνησης, όμως τελικά κανένα βακτηριακό στέλεχος δεν κατάφερε να αυξήσει την τελική παραγωγή των φυτών. Από τα υποκείμενα που μελετήθηκαν, διαπιστώθηκε ότι το υποκείμενο M82 αυξάνει την παραγωγή των φυτών σε ιδανικές συνθήκες και σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης κατά την υδροπονική καλλιέργεια, ενώ κατά την καλλιέργεια στο έδαφος, υψηλότερη παραγωγή προσδίδει το υποκείμενο BIL-6335, αλλά μόνο σε συμβατική καλλιέργεια. Μάλιστα παρατηρήθηκε ότι τα εμβολιασμένα φυτά στο υποκείμενο BIL-6335 ωφελήθηκαν σημαντικά από την εφαρμογή του γαιοσκώληκα *Eisenia fetida* στο έδαφος του θερμοκηπίου, καθώς η παρουσία τους στο χώμα οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των αμμωνιακών και της οργανικής ουσίας στο έδαφος, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης του ολικού αζώτου στα φύλλα των φυτών. Από τους χημικούς βιοδιεγέρτες που μελετήθηκαν, παρατηρήθηκε ότι τα εκχυλίσματα φυκών και οι υδρολυμένες πρωτεΐνες δεν συνεισφέρουν στην αύξηση της ανοχής των φυτών τομάτας που αναπτύσσονται σε καλλιέργεια εκτός εδάφους, όμως η εφαρμογή στριγγολακτόνης οδήγησε σε αύξηση της φυλλικής επιφάνειας κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης των φυτών καθώς και της πρώιμης παραγωγής καρπών, χωρίς όμως να δώσουν τα φυτά αυτά και υψηλότερη τελική παραγωγή συγκριτικά με τον μάρτυρα. Από τις αναλύσεις μεταβολομικής παρατηρήθηκε ότι η συνδυασμένη καταπόνηση και η εφαρμογή των PGPR επηρεάζουν σε εντονότερο βαθμό τον δευτερογενή μεταβολισμό των φύλλων των φυτών συγκριτικά με το εμβολιασμό στο υποκείμενο M82. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι η εφαρμογή του PGPR *E. mori* C3.1 οδήγησε σε μεταβολή της συγκέντρωσης ορισμένων μεταβολιτών όπως η τρεχαλόζη το μηλικό οξύ και η μονοπαλμιτίνη, μεταβολίτες που έχουν μελετηθεί στο παρελθόν και σχετίζονται με την αλληλεπίδραση μεταξύ φυτών και ριζοβακτηρίων. Συνεπώς, οι μεταβολίτες αυτοί θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον από ερευνητές ως βιοδείκτες για την πρακτική αναγνώριση της επιτυχούς αλληλεπίδρασης των φυτών με τα ριζοβακτήρια, όταν αυτά εφαρμόζονται σε καλλιέργειες τομάτας.

Επιστημονική περιοχή: Θερμοκηπιακές καλλιέργειες

Λέξεις κλειδιά: υδατική καταπόνηση, έλλειψη θρεπτικών στοιχείων, υδροπονία, υποκείμενο, ριζοβακτήρια, μεταβολομική, γαιοσκώληκες

Investigating the possibility of increasing resilience of greenhouse tomato to combined abiotic stress factors by applying biostimulants and grafting

Department of Crop Science

Laboratory of Vegetable Production

ABSTRACT

Application of irrigation water and fertilizers should be reduced in the following years to increase environmental sustainability and reduce production costs. Tomato is a highly demanding crop for both water and fertilizers and thus, water and nutrient shortage may result in reduced crop yields. In the present study, different methods of increasing plant resilience to combined water and nutrient shortage were investigated. These included the application of chemical and biological biostimulants and the application of grafting to vigorous rootstocks. Furthermore, the application of earthworms was studied as a means of increasing nutrient availability on soil and concomitantly the fertilizer use efficiency.

The first and third experiment of the current study were conducted in soilless cropping systems in a greenhouse, while the second experiment was conducted in the greenhouse soil. In all experiments the experimental crop species was tomato. In the first experiment, 5 different strains of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) were combined with non-grafting or grafting onto the rootstock M82, and all PGPR and grafting combinations were grown either under non-stress or under combined water and nutrient stress. The 5 PGPR strains were: *Enterobacter sp.* C1.2, *Enterobacter sp.* C1.5, *Paenibacillus sp.* DN1.2, *Enterobacter mori* C3.1 και *Lelliottia sp.* D2.4. In the second experimental study, the plants were cultivated either organically or conventionally after grafting onto 4 different rootstocks (Ramellet, M82, Maxifort, BIL-6335). In all combinations of cropping system and rootstock, the epigeic worm *Eisenia fetida* was either applied or not applied. The aim of earthworm application was to increase tomato resilience to nutrient shortage, especially in organic tomato crops. Finally, at the third experimental study, chemical biostimulants from protein hydrolysates, seaweed extracts (*Ascophyllum nodosum*) and the phytohormone strigolactone were applied to assess their impact on tomato grown under combined water and nutrients stress. The first experimental study also included metabolomic analysis aiming to contribute to a better understanding of the mechanisms related to combined stress resilience and how these mechanisms are affected by the application of PGPR and grafting.

Application of PGPR either increased, or decreased, or had no impact on tomato biomass, depending on stress conditions. However, none of the tested PGPR strains lead to a higher total fruit yield. From the tested rootstocks, M82 increased tomato fruit yield under optimal, but not

under combined stress conditions, while the rootstock BIL-6335 increased the fruit yield in soil-grown tomato. Furthermore, plants grafted onto BIL-6335 were positively influenced by the application of the earthworm *E. fetida*, since earthworms increased soil ammonium levels and soil organic matter, thus leading to higher total-N concentrations in scion leaves. With respect to the chemical biostimulants, protein hydrolysates and seaweed extracts did not confer resilience to combined stress in soilless-grown tomato, while on the other hand, strigolactones increased early leaf area development and early fruit yield in tomatoes. However, strigolactones did not increase the final yield compared to control plants, presumably because it was applied through a single spray at the early cropping stage. Metabolomic analysis showed that application of stress and PGPR affects more markedly the plant metabolism, compared to grafting onto M82. Of particular interest is that the PGPR *E. mori* C3.1 increased the levels of particular metabolites already known to be related to plant/rhizobacterium interaction. These metabolites could be used as biomarkers in future studies for screening tomato genotypes with a higher efficiency to form successful association with rhizobacteria when PGPR are applied.

Scientific area: Greenhouse crops

Keywords: water stress, nutrient deficiency, hydroponics, rootstock, rhizobacteria, metabolomics, earthworms

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Κηπευτικών Καλλιεργειών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην περάτωσή της.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω μέσα από την καρδιά μου τον επιβλέποντα Καθηγητή Δημήτριο Σάββα τόσο για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε όταν ξεκινήσαμε όλο αυτό το εγχείρημα, όσο και για την μεθοδική καθοδήγηση την συνεχή υποστήριξη και τις πολύτιμες γνώσεις που μου μεταλαμπάδευσε. Ο όγκος της δουλειάς ήταν ιδιαίτερα μεγάλος, όμως ο ίδιος εργαζόταν σκληρά και γνώριζε πάντα πως να καθοδηγήσει εμένα και τους συναδέλφους του οικείου Εργαστηρίου ώστε να βαίνουν όλα μεθοδικά και αποτελεσματικά.

Θα ήθελα να εκφράσω και τις ευχαριστίες μου στα δυο έτερα μέλη της τριμελούς μου συμβουλευτικής επιτροπής. Αρχικά ευχαριστώ την Καθηγήτρια Αναστασία Ταμπακάκη η οποία υποστήριξε τις μελέτες από την πρώτη στιγμή και για την μετάδοση των γνώσεων της γύρω από τα ριζοβακτήρια, ένα αντικείμενο στο οποίο δεν είχα ιδιαίτερες γνώσεις πριν την διατριβή αυτή. Στη συνέχεια, ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή Ιωάννη Καραπάνο που συνέβαλε κυρίως στις αναλύσεις μου όσον αφορά τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της τομάτας, αλλά και γενικότερα για την καθημερινή συνεργασία και συνεννόηση για τα θέματα των θερμοκηπίων και του εργαστηρίου.

Στην συνέχεια, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Επίκουρη Καθηγήτρια Ντάτση Γεωργία η οποία ήταν κοντά μου για να υποστηρίξει όλα τα θέματα που αφορούσαν το Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα TOMRES όσο και για την βοήθεια στα θέματα του εργαστηρίου και των δημοσιεύσεων. Ευχαριστώ πολύ και τους Καθηγητές Αλιφέρη Κωνσταντίνο και Αράπη Γεράσιμο που προσέφεραν τον εξοπλισμό του Εργαστηρίου τους για τις ανάγκες των αναλύσεων της παρούσας διατριβής. Ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και τους κ.κ. Αναπληρωτή Καθηγητή Α. Κώτσιρα και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Σ. Πετρόπουλο για την τιμή που μου έκαναν να συμμετάσχουν ως μέλη στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή.

Οφείλω να ευχαριστήσω θερμά τους ετέρους διδακτορικούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές του ΓΠΑ κ.κ. Ευσταθιάδου Ευδοξία, Καλαμπόκη Ιωάννη, Βουγελέκα Βασιλική, Παναγιωτάκη Ιωάννη και Υφαντόπουλο Διονύσιο που συνέβαλαν ουσιαστικά ο καθένας τους σε διαφορετικά στάδια και με διαφορετικό τρόπο στην εκπόνηση και εκπλήρωση της Διδακτορικής μου Διατριβής.

Θα ήταν παράλειψη να μην συμπεριλάβω στις ευχαριστίες μου τους φοιτητές μου κατά τη διάρκεια των πειραματικών μελετών κ.κ. Χ. Βούρδα, Γ. Μαράκη, Ε. Σίμου, Ι.

Προίσκο, Ι. Σαντοριναίο, Σ. Λάγγη, Μ. Μυτιλιναίο, Κ. Χασάπη, Ρ. Λοϊζιά, Α. Χριστοφή, Ι. Μάρκελλο, Γ. Καλιαμάνη και Α. Καρούση που με την άψογη συνεργασία που είχαμε, καταφέραμε να εκτελέσουμε και να ολοκληρώσουμε κάθε πειραματική μελέτη με τον καλύτερο δυνατό τρόπο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου Κωνσταντίνο και Μαρία και τον αδελφό μου Ιωάννη που χωρίς τη συμπαράσταση, παρότρυνση και υποστήριξη τους, η εκπόνηση της διατριβής μου δεν θα ήταν δυνατή. Αποτελούμε πραγματικά μια πολύ αποτελεσματική ομάδα και προχωράμε μπροστά με «ταχύτητα φωτός»!

Πίνακας Περιεχομένων

1. Γενική Εισαγωγή-Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας	12
1.1. Απαιτήσεις της τομάτας σε νερό και η εφαρμογή μειωμένης άρδευσης	12
1.2. Απαιτήσεις της τομάτας σε άζωτο και η καταπόνηση αζώτου	14
1.3. Απαιτήσεις της τομάτας σε φώσφορο και η καταπόνηση φωσφόρου	17
1.4. Η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης.....	20
1.5. Η εφαρμογή βιοδιεγερτών στην καλλιέργεια τομάτας	20
1.6. Η εφαρμογή του εμβολιασμού στην καλλιέργεια τομάτας.....	23
1.7. Η εφαρμογή γαιοσκωλήκων στην καλλιέργεια της τομάτας	25
1.8. Ερευνητικός στόχος – Δομή των πειραμάτων	27
2. Γενική Περιγραφή Υλικών και Μεθόδων	29
2.1. Τοποθεσία πειραματικών μελετών.....	29
2.2. Υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας.....	31
2.3. Καλλιέργεια στο έδαφος	33
2.4. Πολλαπλασιαστικό υλικό.....	33
2.5. Καλλιεργητικές περιποιήσεις.....	34
2.6. Φυτοπροστασία	36
2.7. Η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης.....	37
2.8. Η εφαρμογή των βιοδιεγερτών και του εμβολιασμού	37
2.9. Εκτίμηση της βιομάζας και της φυλλικής επιφάνειας των φυτών	38
2.10. Εκτίμηση τελικών αποδόσεων σε καρπούς	39
2.11. Δειγματοληψίες θρεπτικού διαλύματος απορροής	40
2.12. Δειγματοληψία/προσδιορισμός θρεπτικών στοιχείων εδάφους	42
2.13. Προσδιορισμός θρεπτικών στοιχείων φυτικών ιστών	42
2.14. Στατιστική ανάλυση	44
3. 1 ^η πειραματική μελέτη: Η χρήση των ωφέλιμων ριζοβακτηρίων PGPR και του εμβολιασμού για την αύξηση της ανοχής στην συνδυασμένη καταπόνηση σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας	45
3.1. Δομή και στόχοι 1 ^{ης} πειραματικής μελέτης	45

3.2. Πρόσθετα εισαγωγικά στοιχεία.....	46
3.2.1. Εφαρμογή των βιοδιεγερτικών ριζοβακτηρίων	46
3.2.2. Η μεταβολομική ανάλυση.....	47
3.3. Υλικά και μέθοδοι.....	49
3.3.1. Βασικές πληροφορίες της καλλιέργειας	49
3.3.2. Υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας - εφαρμογή συνδυασμένης καταπόνησης ...	50
3.3.3. Η εφαρμογή των PGPR.....	51
3.3.4. Η μεταβολομική ανάλυση.....	53
3.4. Αποτελέσματα.....	56
3.4.1. Νωπή βιομάζα φυτών.....	56
3.4.2. Φυλλική επιφάνεια.....	59
3.4.3. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας.....	60
3.4.4. Θρεπτική κατάσταση φύλλων και καρπών	62
3.4.5. Μεταβολομική ανάλυση	64
3.5. Συζήτηση.....	71
3.5.1. Βιομάζα και φυλλική επιφάνεια των φυτών	71
3.5.2. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας.....	73
3.5.3. Θρεπτική κατάσταση φύλλων και καρπών	74
3.5.4. Μεταβολομική ανάλυση	75
3.6. Συμπεράσματα	79
4. 2 ^η πειραματική μελέτη: Επίδραση του εμβολιασμού και της χρήσης γαιοσκωλήκων στην αύξηση της ανοχής των φυτών σε έλλειψη θρεπτικών στοιχείων λόγω της μειωμένης εισροής θρεπτικών σε βιολογική καλλιέργεια τομάτας	81
4.1. Δομή και στόχοι 2 ^{ης} πειραματικής μελέτης	81
4.2. Πρόσθετα εισαγωγικά στοιχεία.....	82
4.2.1. Η λίπανση στην βιολογική καλλιέργεια τομάτας	82
4.2.2. Η απευθείας εφαρμογή γαιοσκωλήκων στο έδαφος των καλλιεργειών	82
4.2.3. Οι εκπομπές αερίων θερμοκηπίου από το έδαφος	83

4.3. Υλικά και μέθοδοι.....	85
4.3.1. Βασικές πληροφορίες της καλλιέργειας	85
4.3.2. Εφαρμογή των γαιοσκωλήκων	91
4.3.3. Αντιμετώπιση εχθρών και ασθενειών	92
4.3.4. Πρόσθετες μετρήσεις και τροποποιήσεις μετρήσεων.....	94
4.4. Αποτελέσματα.....	96
4.4.1. Μέτρηση πληθυσμού γαιοσκωλήκων	96
4.4.2. Αναλύσεις εδάφους.....	96
4.4.3. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας.....	101
4.4.4. Θρεπτική κατάσταση φύλλων και καρπών	103
4.4.5. Μετρήσεις εκπομπών αερίων θερμοκηπίου.....	105
4.5. Συζήτηση.....	111
4.5.1. Πληθυσμός γαιοσκωλήκων.....	111
4.5.2. Θρεπτική κατάσταση και οργανική ουσία εδάφους	112
4.5.3. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας και θρεπτική κατάσταση φύλλων και καρπών....	113
4.5.4. Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου.....	115
4.6. Συμπεράσματα	118
5. 3 ^η πειραματική μελέτη: Επίδραση των χημικών βιοδιεγερτών στην αύξηση της ανοχής στην συνδυασμένη καταπόνηση σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας.....	120
5.1. Δομή και στόχοι 3 ^{ης} πειραματικής μελέτης.....	120
5.2. Πρόσθετα εισαγωγικά στοιχεία.....	121
5.2.1. Χημικοί βιοδιεγέρτες που εξετάστηκαν στην μελέτη.....	121
5.3. Υλικά και μέθοδοι.....	123
5.3.1. Βασικές πληροφορίες της καλλιέργειας	123
5.3.2. Υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας και εφαρμογή της καταπόνησης.....	125
5.3.3. Η εφαρμογή των βιοδιεγερτών	126
5.3.4. Πρόσθετες μετρήσεις ποιότητας καρπών	129
5.4. Αποτελέσματα.....	131

5.4.1. Αναλύσεις θρεπτικών διαλυμάτων	131
5.4.2. Νωπή βιομάζα φυτών.....	134
5.4.3. Φυλλική επιφάνεια.....	135
5.4.4. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας.....	137
5.4.5. Θρεπτική κατάσταση φύλλων, καρπών - ποιοτικά χαρακτηριστικά καρπών.....	138
5.5. Συζήτηση.....	141
5.5.1. Αναλύσεις θρεπτικών διαλυμάτων και θρεπτικής κατάστασης των φυτών	141
5.5.2. Μετρήσεις βιομάζας και φυλλικής επιφάνειας φυτών.....	144
5.5.3. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας.....	145
5.5.4. Ποιοτικά χαρακτηριστικά καρπών.....	147
5.6. Συμπεράσματα	147
6. Γενική συζήτηση- Συμπεράσματα	149
6.1. Η συνδυασμένη καταπόνηση σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας.....	149
6.2. Τα PGPR ως βιοδιεγέρτες για αύξηση ανοχής στην συνδ. καταπόνηση.....	150
6.3. Οι χημικοί βιοδιεγέρτες για αύξηση ανοχής στην συνδ. καταπόνηση.....	152
6.4. Ο εμβολιασμός για την αύξηση ανοχής στην συνδ. καταπόνηση	153
6.5. Οι γαιοσκώληκες και η αύξηση της διαθεσιμότητας των θρεπτικών στο έδαφος.....	155
6.6. Βασικά συμπεράσματα	156
7. Βιβλιογραφία.....	158
7.1. Ξενόγλωσση.....	158
7.2. Ελληνική	173
7.3. Πηγές διαδικτύου	173
7.4. Δημοσιεύσεις.....	174
8. Παράρτημα.....	175

1. Γενική Εισαγωγή-Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας

1.1. Απαιτήσεις της τομάτας σε νερό και η εφαρμογή μειωμένης άρδευσης

Είναι γνωστό ότι η γεωργία καταναλώνει τις μεγαλύτερες ποσότητες νερού σε σχέση με όλους τους άλλους τομείς της οικονομίας. Πιο συγκεκριμένα, η γεωργία, μαζί με την δασοκομία και την αλιεία, καταναλώνουν περίπου το 85% των υδατικών πόρων της χώρας μας (ΕΛΣΤΑΤ, www.statistics.gr). Τα τελευταία χρόνια όμως, λόγω της κλιματικής αλλαγής και της αύξησης της μέσης θερμοκρασίας του πλανήτη, η διαθεσιμότητα του νερού και τα ζητήματα διαχείρισής του είναι ιδιαίτερης σημασίας σε όλες τις ξηρές και ημίξηρες περιοχές. Για την Μεσόγειο, αρκετοί ερευνητές έχουν δημοσιεύσει έρευνες σχετικά με τις επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην μείωση των βροχοπτώσεων και κατά συνέπεια στην μείωση του διαθέσιμου νερού άρδευσης (Giorgi, 2006; Giorgi and Lionello, 2008, Saadi et al., 2015). Οι Costa et al. (2007) αναφέρουν επίσης ότι η έλλειψη νερού και η αύξηση ανταγωνισμού για υδατικούς πόρους μεταξύ της γεωργίας και των άλλων τομέων κατανάλωσης υποχρεώνουν την υιοθέτηση στρατηγικών άρδευσης σε ημιάνυδρες περιοχές της Μεσογείου, οι οποίες θα οδηγούν σε εξοικονόμηση νερού άρδευσης, ενώ ταυτόχρονα θα εξακολουθούν να διατηρούν ικανοποιητικά επίπεδα παραγωγής.

Τα φυτά της τομάτας είναι ιδιαίτερα απαιτητικά σε νερό άρδευσης (Ngouajio et al., 2007; Giuliani et al., 2016). Οι απαιτήσεις σε νερό ανά καλλιεργητική περίοδο στην υπαίθρια τομάτα κυμαίνονται μεταξύ των 450 και 650 m³ ανά στρέμμα (Ολύμπιος, 2015) ενώ η τομάτα θερμοκηπίου απαιτεί συνολικά περί τα 700 m³ ανά στρέμμα (Ολύμπιος, 2001). Βέβαια, οι εκτιμήσεις αυτές είχαν πραγματοποιηθεί με την απλή προϋπόθεση ότι η άρδευση πραγματοποιείται με την μέθοδο 'στάγδην' η οποία έχει συντελεστή αποτελεσματικότητας 85%. Θα πρέπει να τονιστεί ότι στην περίπτωση της καλλιέργειας στο θερμοκήπιο, η εκτίμηση της κατανάλωσης νερού είναι πιο σύνθετη, αφού διαφέρει ανάλογα με το σύστημα (έδαφος, υδροπονία) και την χρονική διάρκεια της καλλιέργειας. Επιπλέον, στις πιο πρόσφατες μελέτες, η άρδευση της τομάτας σε καλλιέργεια στο έδαφος θερμοκηπίου πραγματοποιείται με την χρήση υγρασιόμετρων. Όσον αφορά το σύστημα καλλιέργειας, οι Valenzano et al. (2008) παρατήρησαν ότι το κλειστό σύστημα καλλιέργειας τομάτας σε NFT κατανάλωσε 200 m³ νερού το στρέμμα, σε σύγκριση με το ανοικτό σύστημα καλλιέργειας σε πετροβάμβακα το οποίο είχε κατανάλωση 270 m³ νερού και με την καλλιέργεια στο έδαφος με την χρήση υγρασιόμετρου η οποία είχε κατανάλωση 220 m³ νερού. Οι καταναλώσεις αυτές βέβαια σχετίζονται με παραγωγή καρπών μεταξύ 4 και 6 τόνων ανά στρέμμα. Ελαφρώς πιο αυξημένη κατανάλωση νερού παρατηρήθηκε στην μελέτη των Zotarelli et al. (2009b) σε καλλιέργεια στο

έδαφος θερμοκηπίου με την χρήση υγρασιόμετρων εδάφους. Στην μελέτη αυτή, για την παραγωγή 7-8 τόνων το στρέμμα, με την αποδοτικότητα χρήσης νερού να κυμαίνεται από 20 έως 30 kg καρπών ανά m³ νερού απαιτήθηκαν συνολικά περί τα 250 με 300 m³ νερού. Στις περισσότερες μελέτες η αποδοτικότητα χρήσης νερού κυμαίνεται συνήθως από τα 20 έως 30 kg καρπών ανά m³ νερού (Nurudin et al., 2003; Vallenzano et al., 2008; Zotarelli et al., 2009b) συνεπώς σε κάθε περίπτωση η κατανάλωση εξαρτάται και από την συνολική παραγωγή των φυτών. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον βέβαια αποτελεί και η μελέτη των Chen et al., (2013) οι οποίοι σε καλλιέργεια στο έδαφος θερμοκηπίου με την χρήση υγρασιόμετρων εδάφους κατέγραψαν αποδοτικότητα χρήσης νερού που κυμάνθηκε μεταξύ 40 έως 50 kg καρπών ανά m³ νερού ενώ παράλληλα η παραγωγή κυμάνθηκε στους 10-12 τόνους ανά στρέμμα. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι η πραγματική κατανάλωση νερού ήταν επίσης μεταξύ 250 και 300 m³. Το ύψος της παραγωγής βέβαια που αναφέρθηκε στις παραπάνω μελέτες δεν θεωρείται πλέον ιδιαίτερα υψηλό, συνεπώς η κατανάλωση νερού στην περίπτωση ενός θερμοκηπίου που παράγει τον χρόνο άνω των 20 τόνων ανά στρέμμα θα είναι αναλογικά αρκετά υψηλότερη.

Είναι φυσικά προφανές, ότι λόγω της κλιματικής αλλαγής θα απαιτηθεί η ανάγκη μείωσης της κατανάλωσης νερού στην καλλιέργεια της τομάτας στην περιοχή της Μεσογείου (Giulliani et al., 2019), κάτι το οποίο θα οδηγήσει σε σημαντική μείωση της παραγωγής (Saadi et al., 2015). Η εφαρμογή της μειωμένης άρδευσης (deficit irrigation) έχει προταθεί τα τελευταία χρόνια ως ενναλακτική λύση και έχει μελετηθεί εκτεταμένα σε πολλές καλλιέργειες (Sepaskhah & Kamgar-Haghighi, 1997; Dorji et al., 2005) καθώς και στην τομάτα (Patanè & Cosentino, 2010), αλλά υπάρχουν και αμφιλεγόμενες απόψεις για τα οφέλη της εφαρμογής της (Obreza et al., 1996; Pulupol et al., 1996; Kirda et al., 2004). Για παράδειγμα, σε μια θερμοκηπιακή μελέτη με τομάτα των Zegbe-Dominguez et al. (2003) παρατηρήθηκε ότι το ξηρό βάρος των φυτών δεν μειώθηκε κάτω από μειωμένη άρδευση σε σχέση με την κανονική, παρόλο που πραγματοποιήθηκε 50% εξοικονόμηση νερού. Στην περίπτωση βέβαια των παραγόμενων καρπών, οι Pulupol et al. (1996) παρατήρησαν σημαντική μείωση στο ξηρό βάρος τους όταν εφαρμόστηκε μειωμένη άρδευση σε καλλιέργεια τομάτας στο θερμοκήπιο. Σε αντίθεση με την παραγωγή, η ποιότητα των καρπών μπορεί να βελτιωθεί με την εφαρμογή μειωμένης άρδευσης (Chen et al., 2013), με αρκετούς ερευνητές να καταλήγουν ότι ένας καλός συμβιβασμός, είναι να μειωθεί η άρδευση στο 70-85% των αναγκών των φυτών τόσο της υπαίθριας, όσο και της θερμοκηπιακής τομάτας (Hanson et al., 2000; Wu et al., 2021). Βέβαια, δεν επιτρέπουν όλα τα στάδια ανάπτυξης της τομάτας την μείωση του νερού σε αυτά τα ποσοστά αφού σύμφωνα με τους Kuscü et al. (2014), η μείωση της άρδευσης στα στάδια της ανθοφορίας και καρπόδεσης μπορεί να οδηγήσει σε δραματική μείωση της παραγωγής.

Η εφαρμογή της μειωμένης άρδευσης θα μπορούσε να ωφελήσει επίσης στην μείωση της σπατάλης νερού σε υδροπονικά συστήματα. Στα ανοικτά υδροπονικά συστήματα οι απώλειες νερού είναι ιδιαίτερα σημαντικές, αφού το 30-40% του νερού που χορηγείται στην καλλιέργεια μέσω του θρεπτικού διαλύματος, καταλήγει να απορρέει στο περιβάλλον (Savvas and Gruda, 2018). Σε αντίθεση με τα ανοικτά συστήματα, τα κλειστά υδροπονικά συστήματα δεν έχουν διάλυμα απορροής. Βέβαια το θρεπτικό διάλυμα και σε αυτά τα συστήματα χρειάζεται να απορρίπτεται στο περιβάλλον ανά διαστήματα, ειδικά όταν το νερό άρδευσης περιέχει υψηλή συγκέντρωση αλάτων (Stanghellini et al., 2004). Στην έρευνα των Meric et al. (2011) μελετήθηκαν τα δυο διαφορετικά συστήματα υδροπονικής καλλιέργειας (ανοικτά, κλειστά) σε θερμοκηπιακή τομάτα και παρατηρήθηκε ότι τα κλειστά συστήματα έχουν ιδιαίτερα μειωμένη κατανάλωση νερού αλλά και ελαφρώς μειωμένη συνολική παραγωγή σε καρπούς, κάτι το οποίο οδήγησε τελικά σε αυξημένη αποδοτικότητα χρήσης νερού σε σύγκριση με τα ανοικτά υδροπονικά συστήματα, τόσο σε φθινοπωρινή όσο και ανοιξιάτικη καλλιέργεια τομάτας.

Όσον αφορά την εφαρμογή μειωμένης άρδευσης σε υδροπονικά συστήματα καλλιέργειας, έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγηση του 80% των αναγκών των φυτών σε νερό οδήγησε σε μείωση της παραγωγής των φυτών κατά 2,9% και 8,8% σε φθινοπωρινή και ανοιξιάτικη καλλιέργεια αντίστοιχα, με κατ' επέκταση αύξηση της αποδοτικότητας χρήσης νερού κατά 21% και 14% αντίστοιχα (Ullah et al., 2021). Σε παρόμοια και ελαφρώς πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα κατέληξαν και οι Hooshmand et al. (2019) όπου παρατήρησαν ότι η χορήγηση του 85% των αναγκών των φυτών της τομάτας σε νερό δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά την συνολική παραγωγή και τον αριθμό των καρπών.

1.2. Απαιτήσεις της τομάτας σε άζωτο και η καταπόνηση αζώτου

Η παροχή του αζώτου είναι πολύ σημαντική στην παραγωγή και την ποιότητα της τομάτας, αφού είναι ο πλέον περιοριστικό παράγοντας για την βέλτιστη ανάπτυξη και παραγωγή των φυτών (Sainju et al., 2003) και η διαθεσιμότητά του θα πρέπει να εξασφαλίζεται κατά την διάρκεια της καλλιέργειας ώστε να επιτευχθεί υψηλή παραγωγή και κατά συνέπεια το μέγιστο κέρδος για τον παραγωγό (Elia & Conversa, 2012). Το άζωτο εμπεριέχεται στις αμινομάδες των αμινοξέων οι οποίες είναι ζωτικής σημασίας για τα φυτά (Winsor, 1973), στα νουκλεοτίδια των νουκλεϊκών οξέων, αλλά και σε μη πρωτεϊνικές ενώσεις όπως συν-ένζυμα, φωτοσυνθετικές χρωστικές, δευτερογενείς μεταβολίτες και πολυαμίνες (Maathius, 2009).

Βέβαια, η παραγωγή των αζωτούχων λιπασμάτων είναι ιδιαίτερα απαιτητική σε ενέργεια με συνέπεια να προκαλεί σοβαρή περιβαλλοντική επιβάρυνση. Για την παραγωγή της αμμωνίας μέσω της μεθόδου Haber-Bosch απαιτούνται 29 GJ ανά τόνο λιπάσματος (Vaneeckhaute et al., 2013) με το φυσικό αέριο να αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας (agriculture.ec.europa.eu). Συνεπώς η μείωση της χορήγησης αζώτου στις καλλιέργειες θα ωφελήσει πολυδιάστατα το περιβάλλον αφού θα μειωθεί η εκπομπή CO₂ το οποίο ως αέριο του θερμοκηπίου συμβάλλει στην κλιματική αλλαγή, η ρύπανση με άλλα καυσαέρια όπως διάφορα οξειδία του θείου, αλλά και η κατανάλωση ενέργειας από μη ανανεώσιμες πηγές.

Η έλλειψη αζώτου στο έδαφος οδηγεί σε μειωμένη ανάπτυξη και σε χλώρωση των κατώτερων φύλλων του φυτού της τομάτας με συνέπεια την μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας του φυτού και συνεπώς και της συνολικής παραγωγής (Needham, 1973), ενώ σε πιο προχωρημένα στάδια τα νεαρά φύλλα παραμένουν μικρά. Η κατάσταση αυτή εν τέλει θα οδηγήσει σε μειωμένη φυλλική επιφάνεια, μειωμένο μέγεθος και αριθμό καρπών, μείωση της μετασυλλεκτικής ζωής των καρπών και υποβάθμιση της γεύσης και του χρώματος των καρπών (Sainju et al., 2003). Άλλο έμμεσο αποτέλεσμα της μείωσης της φυλλικής επιφάνειας, είναι η υποβάθμιση των καρπών λόγω ηλιοκαυμάτων, αφού οι καρποί που δεν θα καλύπτονται επαρκώς από φύλλα και θα είναι περισσότερο εκτεθειμένοι στον ήλιο (Gould, 1983).

Από την άλλη πλευρά, πολλοί καλλιεργητές συνήθως έχουν την τάση να εφοδιάζουν με υπερβολικές ποσότητες αζώτου την καλλιέργεια για να αποφύγουν την πιθανότητα έλλειψης του που θα μπορούσε να οδηγήσει σε μειωμένη παραγωγή (Andersen et. al. 1999b; Tremblay et. al. 2001). Αυτό συμβαίνει γιατί η υπερβολική λίπανση αζώτου μπορεί να οδηγήσει σε υπερβολική βλαστητική ανάπτυξη των φυτών, άρα και καθυστέρηση της καρποφορίας, καθυστέρηση της ωρίμανσης των καρπών και κατά συνέπεια μειωμένη τελική παραγωγή (Kaniszewki and Elkner, 1990, Winsor et al., 1967). Επιπλέον, η περίσσεια αζώτου οδηγεί σε αύξηση των πράσινων καρπών κατά την συγκομιδή (May and Gonzales 1994; Herrero et al., 2001), μείωση της βιταμίνης C και την δημιουργία ιστών ευάλωτων σε παθογόνα και ασθένειες (Weichmann 1986). Τα νεότερα φύλλα είναι μικρότερα σε μέγεθος, είναι πιο σκούρα και συχνά ζαρώνουν και καρουλιάζουν (Needham, 1973). Τα ριζικά τριχίδια καφετιάζουν και ξηραίνονται, ενώ σε σοβαρή περίσσεια αζώτου, μπορεί να προκληθεί νέκρωση του ριζικού συστήματος (Sainju et al., 2003). Όσον αφορά τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις, η υπερβολική χορήγηση αζώτου στις καλλιέργειες οδηγεί σε εκτεταμένη έκπλυση του σε μορφή νιτρικών με συνέπεια την εμφάνιση φαινομένων ευτροφισμού, την μείωση της βιοποικιλότητας και τη ρύπανση του υδροφόρου ορίζοντα (νιτρορύπανση), ενώ επιπλέον

αυξάνει και την εκπομπή πρωτοξειδίου του αζώτου (N_2O) το οποίο ως αέριο του θερμοκηπίου συμβάλλει στην κλιματική αλλαγή (Zhang and Zhang, 2007).

Για να επιτευχθεί η βέλτιστη παραγωγή σε μία υπαίθρια καλλιέργεια τομάτας στο έδαφος, η παροχή αζώτου πρέπει να βρίσκεται ανάμεσα στα 20 με 45 κιλά ανά στρέμμα, ανάλογα και με τα αποθέματα που περιέχονται στο έδαφος πριν την εγκατάσταση των φυτών (Vazquez et al., 2006). Οι Zotarelli et al. (2009a, 2009b) μελέτησαν για 3 συνεχόμενα έτη διαφορετικές δόσεις λίπανσης σε υπαίθρια καλλιέργεια τομάτας. Κατά το πρώτο έτος της καλλιέργειας (2005) το έδαφος είχε αρχικά 2% συγκέντρωση σε ολικό άζωτο. Μελετήθηκαν 3 διαφορετικές δόσεις αζώτου (17,6 , 22 και 33 kg το στρέμμα) και παρατηρήθηκε ότι η συνολική παραγωγή των φυτών δεν διέφερε μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων λίπανσης με άζωτο (3,2 τόνοι το στρέμμα). Στην συγκεκριμένη καλλιεργητική περίοδο, το φυτά τομάτας απορρόφησαν συνολικά 8,7 kg N το στρέμμα. Από τα 8,7 kg N, για την παραγωγή βλαστών απορροφήθηκαν 5,5 kg N ενώ για την παραγωγή καρπών απορροφήθηκαν 3,2 kg N. Κατά το τρίτο έτος της καλλιέργειας (2007) οι αποδόσεις των φυτών σε καρπούς ήταν υψηλότερες (8 τόνοι το στρέμμα) αλλά και πάλι δεν διέφεραν μεταξύ των τριών επεμβάσεων λίπανσης. Το έτος αυτό, παρατηρήθηκε ότι τα φυτά τομάτας αφαίρεσαν 12,8 , 14,6 και 16,6 kg N το στρέμμα όταν εφαρμόστηκαν 17,6 , 22 και 33 kg N το στρέμμα. Ενδεικτικά για τις 3 επεμβάσεις λίπανσης, παρατίθεται ότι από τα 14,6 kg N, για την παραγωγή βλαστών απορροφήθηκαν 10,8 kg N ενώ για την παραγωγή καρπών απορροφήθηκαν 3,8 kg N.

Συμπεραίνεται λοιπόν ότι η τομάτα αφαιρεί περίπου 1,7 με 2,7 κιλά N ανά τόνο παραγόμενων καρπών, κάτι το οποίο σημαίνει ότι για την παραγωγή 20 τόνων το στρέμμα θα απαιτούνταν 34 με 54 κιλά N. Πράγματι, στις μελέτες των Zotarelli et al. (2009a) διαπιστώθηκε ότι για την παραγωγή 8 τόνων το στρέμμα η εφαρμογή των 33 kg N οδήγησε σε σημαντική αύξηση της έκπλυσης NO_3-N από το έδαφος συγκριτικά με την εφαρμογή 17,6 και 22 kg N το στρέμμα. Συνεπώς η χορήγηση αζώτου θα πρέπει να συνδέεται άμεσα τόσο με τις υπάρχουσες συγκεντρώσεις στο έδαφος (Vazquez et al., 2006), όσο και με την εκτιμώμενη παραγωγή των φυτών σε κάθε καλλιέργεια.

Κατά την υδροπονική καλλιέργεια τομάτας, τα αζωτούχα λιπάσματα που προστίθενται στο θρεπτικό διάλυμα περιέχουν άζωτο στην μορφή των νιτρικών (NO_3) και αμμωνιακών (NH_4) λιπασμάτων, ενώ σπανιότερα μπορεί να γίνει και χρήση ουρίας (Sonneveld and Voogt, 2009). Βέβαια η χρήση αμμωνιακών λιπασμάτων ως μοναδικής ή κύριας μορφής αζώτου οδηγεί σε μείωση της παραγωγής λόγω της πτώσης του pH σε υπερβολικά χαμηλά επίπεδα στο περιβάλλον των ριζών και της τοξικότητας της αμμωνίας σε ενδοκυτταρικό επίπεδο (Givan, 1979). Γι' αυτό και συνιστάται η χρήση των αμμωνιακών σε ένα μικρό ποσοστό, με τους

Savvas et al. (2008) να καταλήγουν ότι για τις μεσογειακές χώρες όπου επικρατούν ήπιοι χειμώνες, τα αμμωνιακά θα πρέπει να αποτελούν το 5 έως 15% του συνολικού αζώτου που εφαρμόζεται στην καλλιέργεια.

Η συνιστώμενη δόση αζώτου στην καλλιέργεια της υδροπονικής τομάτας είναι τα 220 mg L⁻¹ (15,7 mmol N L⁻¹) (Adams, 2002). Παρόλα αυτά, η δόση αυτή θα πρέπει να αναπροσαρμόζεται κατά την διάρκεια της καλλιέργειας διότι εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης των φυτών (de Krijj et al., 1999b). Ορισμένοι ερευνητές, βέβαια, έχουν αναφέρει ότι η δόση των 15 mmol N L⁻¹ είναι ιδιαίτερα υψηλή και ότι η τομάτα θα μπορούσε να καλλιεργηθεί και σε μικρότερες συγκεντρώσεις αζώτου (Sidiqi et al., 1998; Le Bot et al., 2001) με το κατώτερο όριο της συγκέντρωσης των νιτρικών όπου οι τομάτες δεν εμφανίζουν μείωση της παραγωγής να είναι τα 7-8 mmol L⁻¹ (Siddiqi et al., 1998). Σε πρόσφατη μελέτη των Ullah et al. (2021), επιβεβαιώνεται ότι με μείωση κατά 25% της βέλτιστης δόσης αζώτου (από τα 15 στα 11,25 mmol L⁻¹) δεν παρατηρείται μειωμένη παραγωγή, ιδιαίτερα κατά την ανοιξιάτικη καλλιέργεια, ενώ η περεταίρω μείωση στα 7,5 mmol L⁻¹ οδήγησε σε σημαντικά μειωμένη παραγωγή σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Είναι σημαντικό βέβαια να τονιστεί ότι επειδή το άζωτο είναι το βασικό ανιόν στα θρεπτικά διαλύματα, η μείωση χορήγησής του αναπόφευκτα πρέπει να συνδυάζεται με την μείωση της συγκέντρωσης κατιόντων (όπως το K, το Ca, ή το Mg) ή την υποκατάστασή του με άλλα ανιόντα. Στην πρόσφατη μελέτη των Neocleous et al. (2021) οι ερευνητές κατέληξαν ότι για την υδροπονική καλλιέργεια τομάτας το πρόβλημα αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά με την αντικατάσταση του 25% του αζώτου από το χλώριο (Cl) το οποίο οδηγεί σε σημαντική αύξηση της αποδοτικότητας χρήσης αζώτου, δεν επηρεάζει την απορρόφηση των υπόλοιπων απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων, ούτε την τελική παραγωγή. Συνεπώς, η υδροπονική καλλιέργεια της τομάτας θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί με μειωμένη χορήγηση αζώτου χωρίς σημαντική απώλεια παραγωγής, με ταυτόχρονη αύξηση της αποδοτικότητας χρήσης του και μείωση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος της καλλιέργειας.

1.3. Απαιτήσεις της τομάτας σε φώσφορο και η καταπόνηση φωσφόρου

Η εξόρυξη του φωσφόρου είναι ιδιαίτερα ενεργοβόρα (Godfray et al., 2010) και δυσχεραίνεται και από άλλους λόγους συνδεδεμένους με φυσικούς και νομικούς περιορισμούς (Cordel and White, 2011). Η γεωργία αποτελεί τον κύριο λόγο εξόρυξης φωσφόρου αφού το 90% του φωσφόρου αξιοποιείται στην παραγωγή λιπασμάτων, ενώ το άλλο 5% για την παραγωγή ζωικών συμπληρωμάτων διατροφής και εντομοκτόνων με βάση το φώσφορο

(Desmidt et al., 2015). Αρκετοί ερευνητές έχουν επίσης προειδοποιήσει ότι τα αποθέματα φωσφόρου πρόκειται να εξαντληθούν τα επόμενα χρόνια (Schroder et al., 2011, Zhu et al., 2018; Cisse and Mrabet, 2004; Van Vuuren et al., 2010), με τις εκτιμήσεις να κυμαίνονται από τα 100 έως τα 400 χρόνια από σήμερα. Στις ανεπτυγμένες χώρες, οι ανάγκες σε φώσφορο έχουν αρχίσει να μειώνονται, όμως η αύξηση του πληθυσμού και η μετάβαση των αναπτυσσόμενων χωρών σε διατροφή που βασίζεται στο κρέας και τα γαλακτοκομικά οδηγούν σε αύξηση της παγκόσμιας ζήτησης (Desmidt et al., 2015). Ακόμη και αν τα συνολικά αποθέματα δεν πρόκειται να εξαντληθούν στο άμεσο μέλλον, σύμφωνα με τους Cordell et al. (2009) εκτιμάται ότι τα αποθέματα φωσφόρου, που από οικονομικής πλευράς μπορούν να εξορυχθούν και να διατεθούν στην αγροτική παραγωγή, πρόκειται να εξαντληθούν έως το 2040.

Ο φώσφορος είναι απαραίτητος για τα φυτά αφού συμμετέχει στην σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων, των φωσφολιπιδίων, του ATP και άλλων κύριων μορίων του φυτικού κυττάρου (Sainju et al, 2003). Η τομάτα είναι επιδεκτική στην αύξηση της συγκέντρωσης του φωσφόρου στην ριζόσφαιρα αφού ο ρυθμός ανάπτυξης αυξάνεται κατακόρυφα με την αύξηση του φωσφόρου, όταν αυτή ξεπερνάει το κρίσιμο σημείο επάρκειας (de Groot et al., 2002). Η προσθήκη λιπάσματος φωσφόρου στα φυτά συντελεί θετικά σε πλήθος σημαντικών λειτουργιών των φυτών όπως είναι η γρήγορη ανάπτυξη δυνατού ριζικού συστήματος, ο σχηματισμός και καλή ανάπτυξη των ανθέων, η δημιουργία ποιοτικών καρπών και σπόρων, η ευρωστία των φυτών και η ανάπτυξη δυνατών παχιών βλαστών, η αντοχή των φυτών σε μυκητολογικές ασθένειες, η αντοχή στην τοξικότητα ψευδαργύρου και η πρωίμιση της παραγωγής (Zobel, 1966; Nelson, 1978; Gould 1983; Poulton et al., 2001; Kaya and Higgs, 2002; Groot et al., 2002; Sainju et al., 2003; Passam et al., 2007; Savvas et al., 2008).

Τα φυτά τομάτας που αναπτύσσονται υπό συνθήκες έλλειψης φωσφόρου τείνουν να δημιουργούν πιο πυκνό και εκτεταμένο ριζικό σύστημα, ενώ παράλληλα μεταβάλλεται και η μορφολογία του ριζικού τους συστήματος (Lynch & Bebe, 1995). Η έλλειψη φωσφόρου είναι πιο συχνή σε καλλιέργειες στο έδαφος, επειδή η διαθεσιμότητά του επηρεάζεται από τις συνθήκες και τις ιδιότητες του εδάφους, όπως η θερμοκρασία και η υγρασία του εδάφους. Για παράδειγμα, όσον αφορά τις χαμηλές θερμοκρασίες, οι Lingle and Davis (1959) αναφέρουν ότι κάτω από 14 °C η έλλειψη φωσφόρου είναι ιδιαίτερα σημαντική διότι δυσχεραίνεται η απορρόφησή του από την ρίζα και συμπτώματα έλλειψης μπορούν να εμφανιστούν ακόμα και όταν υπάρχει επάρκεια φωσφόρου στο έδαφος.

Τα πιο εμφανή συμπτώματα της τροφопενίας φωσφόρου είναι η καθυστερημένη ανάπτυξη του φυτού και ο έντονος μωβ μεταχρωματισμός του στελέχους και των φύλλων.

Επιπλέον, τα στελέχη γίνονται λεπτά και ξυλώδη, τα φύλλα μικρά και σκούρου χρώματος, η καρποφορία γίνεται όψιμη με καρπούς μικρότερους του κανονικού και η γονιμοποίηση είναι φτωχή (Κομνάκος, 1988). Η ελάχιστη συγκέντρωση του φωσφόρου στα φύλλα όπου δεν εμφανίζονται συμπτώματα στο φυτό της τομάτας είναι τα 4000 mg kg^{-1} ξηρού βάρους (Σάββας, 2016).

Όσον αφορά την υπερβολική εφαρμογή φωσφόρου, σπάνια παρατηρείται τοξικότητα σε τομάτες που καλλιεργούνται στο έδαφος, λόγω της χαμηλής διαλυτοποίησής του. Παρόλα αυτά, στην υδροπονία είναι πιθανή η τοξικότητα φωσφόρου, καθώς ο πλεονάζων φώσφορος βρίσκεται σε διαλυτές μορφές. Με βάση τον Jones (1998), η συγκέντρωση 1% στο ξηρό βάρος των φυτών της τομάτας είναι το κρίσιμο σημείο μεταξύ επάρκειας και τοξικότητας φωσφόρου στην τομάτα.

Η επίδραση της έλλειψης φωσφόρου στην περίπτωση εκτός εδάφους καλλιέργειας μελετήθηκε εκτεταμένα από τους Biddinger et al. (1998) οι οποίοι εφάρμοσαν διαφορετικές συγκεντρώσεις στο θρεπτικό διάλυμα που παρεχόταν σε φυτά τομάτας. Παρατηρήθηκε ότι σε συγκέντρωση φωσφόρου στο θρεπτικό διάλυμα κάτω από $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ μειώνεται σημαντικά το ξηρό βάρος του υπέργειου και του υπόγειου μέρους της τομάτας, ενώ σε συγκέντρωση κάτω από $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ επηρεάζεται και η συγκέντρωση καλίου, μαγνησίου και ασβεστίου στους ιστούς της τομάτας. Σε συγκεντρώσεις φωσφόρου πάνω από $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ στο θρεπτικό διάλυμα δεν επηρεάζεται η συγκέντρωση των υπόλοιπων στοιχείων, το ξηρό βάρος των φυτών, ενώ γενικότερα δεν παρατηρείται και έλλειψη φωσφόρου στα φύλλα της τομάτας αφού η συγκέντρωση του κυμαίνεται πάνω από το ελάχιστο όριο τροφοπεννίας (Σάββας, 2016). Κατά την καλλιέργεια της τομάτας σε υδροπονικό σύστημα, προστίθεται στο θρεπτικό διάλυμα φώσφορος με στόχο μία τελική συγκέντρωση μεταξύ $1,4\text{-}1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ (Savvas et al., 2013a). Αυτό πρακτικά σημαίνει πως η τομάτα θα μπορούσε να καλλιεργηθεί με μειωμένη συγκέντρωση φωσφόρου στο θρεπτικό διάλυμα και να μην παρουσιάζει προβλήματα στην ανάπτυξη και συμπτώματα τροφοπεννίας. Με αυτόν τον τρόπο θα μπορούσαν να μειωθούν σημαντικά και οι απώλειες φωσφόρου στο περιβάλλον, αφού με βάση την μελέτη των Sanjuan-Delmás et al. (2020), οι απώλειες φωσφόρου από ένα ανοικτό σύστημα υδροπονίας όπου εφαρμόζεται $1,3 \text{ mmol P L}^{-1}$ και το ποσοστό απορροής κυμαίνεται από 30% έως 40%, φτάνουν το 25% του συνολικού φωσφόρου που διατίθεται στην καλλιέργεια.

1.4. Η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης

Παρόλο που η καταπόνηση νερού, αζώτου και φωσφόρου έχουν μελετηθεί εκτενώς τα προηγούμενα χρόνια από πολλούς ερευνητές, λίγες είναι οι έρευνες που έχουν επικεντρωθεί στην εφαρμογή συνδυασμένης καταπόνησης τόσο νερού, όσο και λόγω έλλειψης θρεπτικών στοιχείων. Η μελέτη της συνδυασμένης καταπόνησης είναι σημαντική, αφού όπως αναλύθηκε και παραπάνω, η χρήση των τριών αυτών εισροών στην καλλιέργεια θα πρέπει να μειωθεί.

Όσον αφορά τη συνδυασμένη καταπόνηση μόνο θρεπτικών στοιχείων, οι Koleska et al. (2017) αναφέρουν ότι η συνδυασμένη μείωση κατά 40% αζώτου φωσφόρου και καλίου οδήγησε σε 10% μείωση της παραγωγής στην εκτός εδάφους καλλιέργεια της τομάτας, με την μείωση αυτή να είναι σημαντική αλλά όχι και απαγορευτική. Μια διαφορετική προσέγγιση στο θέμα της συνδυασμένης καταπόνησης μελέτησαν οι Siddiqi et al. (1998) οι οποίοι σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας κατέληξαν ότι η παραγωγή δεν παρουσιάζει μείωση αν το θρεπτικό διάλυμα που χορηγείται στα φυτά ως διάλυμα συμπλήρωσης των δεξαμενών διακοπεί εντελώς 2-3 εβδομάδες πριν την λήξη της καλλιέργειας.

Στην περίπτωση συνδυασμένης καταπόνησης τόσο νερού όσο και θρεπτικών στοιχείων, αξίζει να αναφερθεί η μελέτη των Ullah et al. (2021) οι οποίοι εφάρμοσαν σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας μείωση νερού κατά 20% και 40% και μείωση αζώτου κατά 25% και 50%. Παρατήρησαν ότι η εφαρμογή 100% των αναγκών σε νερό και η μείωση του αζώτου στο 75% δεν οδήγησε σε απώλεια παραγωγής. Ομοίως, η διατήρηση της ιδανικής λίπανσης αζώτου και η μείωση του νερού κατά 20% δεν μείωσε επίσης την παραγωγή. Η συνδυασμένη καταπόνηση όμως οδήγησε τελικά σε 15% και 20% μείωση της παραγωγής σε φθινοπωρινή και ανοιξιάτικη καλλιέργεια αντίστοιχα.

1.5. Η εφαρμογή βιοδιεγερτών στην καλλιέργεια τομάτας

Η ανάγκη μείωσης των εισροών νερού και λιπασμάτων στην καλλιέργεια τομάτας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πρέπει να μελετηθούν διαφορετικές μέθοδοι που θα μπορούν να εφαρμοστούν από τους παραγωγούς για να διατηρήσουν την παραγωγή των φυτών σε ικανοποιητικά επίπεδα. Μια μέθοδος για την αντιμετώπιση της έλλειψης νερού και θρεπτικών είναι η χρήση βιοδιεγερτών. Οι βιοδιεγέρτες έχουν την δυνατότητα να αυξάνουν την αποδοτικότητα χρήσης νερού και θρεπτικών στοιχείων μέσω της αύξησης της μικροβιακής δραστηριότητας (Chen, 2006), της ανάπτυξης ενός μεγαλύτερου ριζικού συστήματος (Khan et al., 2009) και κατά συνέπεια της αύξησης της αποδοτικότητας πρόσληψης θρεπτικών και νερού από το ριζικό σύστημα (Pinton et al., 1999).

Οι βιοδιεγέρτες είναι μια κατηγορία προϊόντων που περιέχουν ουσίες και/ή μικροοργανισμούς, των οποίων η δράση, όταν εφαρμοστούν στα φυτά ή στην ριζόσφαιρα αυτών, είναι να διεγείρουν φυσικές διαδικασίες ώστε να βελτιωθούν η πρόσληψη και η αποδοτικότητα των θρεπτικών στοιχείων, η ανεκτικότητα σε αβιοτική καταπόνηση και η ποιότητα των προϊόντων (www.biostimulants.eu). Οι βιοδιεγέρτες αποτελούν μια ξεχωριστή κατηγορία προϊόντων και έχουν διαφορετικούς μηχανισμούς και τρόπους δράσης από τα λιπάσματα και τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα, συχνά όμως οι όροι αυτοί συγχέονται (Calvo et. al., 2014; du Jardin, 2015). Σε ό,τι αφορά τον διαχωρισμό των τριών αυτών όρων γίνεται φανερό ότι πρόκειται για τρεις διαφορετικές έννοιες που δεν σχετίζονται. Οι βιοδιεγέρτες επιδρούν στους φυτικούς οργανισμούς με σκοπό να επηρεάσουν λειτουργίες του φυτού και κατ' επέκταση τη σχέση του με το έδαφος και τους μικροοργανισμούς. Τα λιπάσματα εφαρμόζονται με σκοπό να παρέχουν στα φυτά απαραίτητα θρεπτικά συστατικά ενώ τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα αποσκοπούν στοχευμένα στην προστασία των φυτών από συγκεκριμένα φυτοπαθογόνα (du Jardin, 2015). Η κύρια διαφορά τους έγκειται στο γεγονός ότι οι λειτουργίες που επηρεάζονται με τη χρήση βιοδιεγερτικών ουσιών προωθούνται με άλλα μέσα, όχι με την παροχή θρεπτικών ουσιών ή τον έλεγχο των επιβλαβών οργανισμών (Calvo et. al., 2014).

Οι βιοδιεγέρτες φυτών κατηγοριοποιούνται ανάλογα με την πηγή των πρώτων υλών. Οι κύριες κατηγορίες με βάση τον du Jardin (2015) είναι οι εξής:

- α) Εκχυλίσματα φυκών και φυτικών μερών
- β) Χουμικά και φουλβικά οξέα
- γ) Προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και αμινοξέα
- δ) Εμβόλια μικροοργανισμών (μύκητες, βακτήρια)
- ε) Χιτοζάνη και άλλα βιοπολυμερή
- στ) Ανόργανες ενώσεις (Al, Co, Na, Se και Si)

Από τις παραπάνω κατηγορίες, ορισμένες από αυτές χρησιμοποιούνται αυτούσιες, ενώ κάποιες άλλες υπόκεινται σε επεξεργασία έως ότου βρεθούν σε μια ικανοποιητική και αξιοποιήσιμη μορφή για να χρησιμοποιηθούν ως σκευάσματα βιοδιεγερτών. Στην περίπτωση των εμβολίων μικροοργανισμών, των μυκήτων, των βακτηρίων, των ζυμομυκήτων και των μεταβολιτών αυτών, προηγείται η απομόνωση, ενώ στην συνέχεια καλλιεργούνται εργαστηριακά και αξιοποιούνται στη γεωργική πρακτική (Du Jardin, 2015, Yakhin et al., 2017). Τα χουμικά και τα φουλβικά λαμβάνονται από το έδαφος μετά από την αποσύνθεση οργανικών μορίων αλλά και από την δραστηριότητα των γαιοσκωλήκων (Halpern et al., 2015).

Η χιτοζάνη και τα άλλα βιοπολυμερή παραλαμβάνονται από θαλάσσια καρκινοειδή και ένζυμα (Yakhin et al., 2017). Τέλος, τα προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και τα αμινοξέα που χρησιμοποιούνται στα βιοδιεγερτικά προϊόντα, προέρχονται από ζωικά και φυτικά υποπροϊόντα και απόβλητα (Halpern et al., 2015, Yakhin et al., 2017).

Πολυάριθμες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί τα τελευταία χρόνια και έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι οι βιοδιεγέρτες προωθούν την ανάπτυξη των φυτών μέσα από διάφορους μηχανισμούς (Zodape et al., 2011; Colla et al., 2017; Rouphael et al., 2017a; Francesca et al., 2021). Βέβαια, στις περισσότερες περιπτώσεις, η μεγάλη ποικιλία ουσιών που δρουν και συνεισφέρουν στην ανάπτυξη οδηγεί σε δυσκολία κατανόησης των επιμέρους μηχανισμών δράσης (Khan et al., 2009; Rose et al., 2014), αφού από τη πληθώρα αυτών των ουσιών, οι περισσότεροι δεν έχουν χαρακτηριστεί πλήρως (Brown and Saa, 2015).

Η χρήση των βιοδιεγερτών έχει ήδη μελετηθεί τα προηγούμενα χρόνια στην καλλιέργεια της τομάτας, αφού αποτελεί ένα φυτό πρότυπο για την μελέτη των λαχανικών. Τα υγρά εκχυλίσματα φυκών, για παράδειγμα, από *Ulva lactuca*, *Caulerpa sertularioides*, *Padina gymnospora* και *Sargassum liebmannii* μελετήθηκαν σε καλλιέργεια τομάτας ώστε να αξιολογηθεί η βλάστηση των σπόρων και η ανάπτυξη των φυτών (Hernandez-Herrera et al., 2013). Τα αποτελέσματα έδειξαν αυξημένη βλαστική ικανότητα των σπόρων που είχαν υποστεί επεξεργασία με *Ulva lactuca* και *Padina gymnospora* ενώ σε ό,τι αφορά τα φυτά μετέπειτα, παρουσίασαν αυξημένο μήκος βλαστών, μήκος ρίζας και βάρος (Hernandez-Herrera et al., 2013). Σε άλλη μελέτη στην καλλιέργεια της τομάτας όπου έγινε εφαρμογή του εμπορικού βιοδιεγέρτη Viva (Valagro SpA, www.valagro.com) η ολική παραγωγή αυξήθηκε τόσο στα φυτά σε ιδανικές συνθήκες θρέψης (100% θρέψη σε NPK) όσο και στα φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση θρεπτικών (-40% NPK) (Koleška et al., 2017). Ομοίως στην μελέτη των Petrozza et al. (2014) όπου εφάρμοσαν διακοπή της άρδευσης για ορισμένα χρονικά διαστήματα της καλλιέργειας, παρατήρησαν ότι ο βιοδιεγέρτης ο οποίος προερχόταν από μίγμα αμινοξέων οδήγησε στην καλύτερη υψηλότερη παραγωγή βιομάζας καθώς και στην ταχύτερη ανάρρωση των φυτών μετά το πέρας της υδατικής καταπόνησης. Η ποιότητα των καρπών της τομάτας έχει επίσης αποδειχθεί ότι βελτιώνεται με την χρήση βιοδιεγερτικών ουσιών καθώς ορισμένα σκευάσματα έχουν την ικανότητα να αυξάνουν την οξύτητα και τα ολικά διαλυτά στερεά της τομάτας, ειδικά όταν αυτή αναπτύσσεται σε συνθήκες έλλειψης νερού (Peripolli et al., 2020).

Σκευάσματα που περιέχουν εμβόλια μικροοργανισμών έχουν εξεταστεί στην καλλιέργεια της τομάτας, τόσο στο έδαφος όσο και κατά την εκτός εδάφους καλλιέργεια (De Brito et al., 1995; Yan et al., 2003). Τα αποτελέσματα έχουν δείξει ότι οι συγκεκριμένοι

βιοδιεγέρτες έχουν τη δυνατότητα να αυξήσουν την παραγωγή της τομάτας (Gagne et al., 1993), καθώς επίσης και το περιεχόμενο των καρπών σε λυκοπένιο, αντιοξειδωτικά και φώσφορο στους καρπούς (Ordookhani et al. 2010). Επιπρόσθετα, αυξημένη συγκέντρωση φωσφόρου παρατηρήθηκε και στα φύλλα της τομάτας (Harpisad and Niranjana, 2009), ενώ τα φυτά γενικότερα αύξησαν την ανοχή τους σε παθογόνα και νηματώδεις (Seleim et al., 2011; Shanmugam and Kanoujia, 2011; Almaghrabi et al., 2013).

1.6. Η εφαρμογή του εμβολιασμού στην καλλιέργεια τομάτας

Ο εμβολιασμός της τομάτας και γενικότερα των λαχανικών, είναι μια τεχνική η οποία χρησιμοποιείται ευρέως τα τελευταία 50 χρόνια και προσφέρει ανθεκτικότητα στα φυτά για την αντιμετώπιση διαφόρων παραγόντων καταπόνησης (Schwarz et al., 2010). Η συγκεκριμένη μέθοδος δεν στηρίζεται στην χρήση χημικών, γι αυτό και θεωρείται μια φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος ανοχής σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις η οποία βρίσκει εφαρμογή τόσο σε συμβατικά όσο και σε βιολογικά συστήματα καλλιέργειας (Lee et al., 2010). Ο εμβολιασμός προσφέρει αντοχή ή ανεκτικότητα στη βιοτική καταπόνηση από παθογόνα εδάφους (McAnoy et al., 2012), και στην αβιοτική καταπόνηση από παράγοντες, όπως τα αλατούχα εδάφη (Colla et al., 2010), η αλκαλικότητα του εδάφους, η έλλειψη θρεπτικών, η τοξικότητα από βαρέα μέταλλα (Savvas et al., 2010), το θερμικό στρες, η καταπόνηση έλλειψης νερού, κακής στράγγισης του ριζικού περιβάλλοντος και η ανεκτικότητα σε οργανικούς ρύπους (Schwarz et al., 2010).

Σε πειράματα εμβολιασμένων φυτών στην τομάτα, συχνά χρησιμοποιούνται και αυτοεμβολιασμένα φυτά για να ελεγχθεί αν η εφαρμογή του εμβολιασμού ως τεχνική επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών, πέρα από τον γονότυπο που θα επιλεγεί ως υποκείμενο. Οι Alan et al. (2007) υποστηρίζουν ότι τα αυτοεμβολιασμένα φυτά έχουν μεγαλύτερη τάση για αύξηση και ανάπτυξη, πιθανόν λόγω ορμονικής επίδρασης, καθώς η τομή ενδεχομένως περιορίζει την διακίνηση ορμονών μεταξύ του υπόγειου και υπέργειου μέρους του φυτού. Σε μελέτη των Romano and Paratore (2000) ο χειρισμός των αυτοεμβολιασμένων φυτών τομάτας επέφερε μειωμένη φυτική ανάπτυξη και παραγωγή καρπών. Βέβαια, στην περίπτωση της αυξημένης αλατότητας βελτιώνονται πολλά ποιοτικά χαρακτηριστικά των αυτοεμβολιασμένων φυτών τομάτας, όπως το ποσοστό ξηρής ουσίας, τα σάκχαρα, η οξύτητα και το άρωμα του καρπού (Sonneveld and van der Burg, 1991; Cuartero and Fernandez-Munoz, 1999; Krumbein et al., 2008).

Η εφαρμογή του εμβολιασμού και η αποτελεσματικότητά του στην έλλειψη νερού έχει μελετηθεί εκτενώς τα τελευταία χρόνια στα λαχανικά και έχει παρατηρηθεί ότι με την επιλογή ζωηρών/σθεναρών (vigorous) υποκειμένων μπορεί να επιτευχθεί αντοχή στην έλλειψη νερού. Με βάση τους Kumar et al. (2017), αυτό οφείλεται κυρίως στην καλύτερη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, την ταχύτερη επαγωγή ορμονικών σημάτων και την παρακίνηση του εμβολίου σε μορφολογικές διαφοροποιήσεις (μικρότερη φυλλική επιφάνεια, μειωμένη πυκνότητα στομάτων κ.α.). Οι περισσότεροι από αυτούς τους μηχανισμούς είναι ωφέλιμοι για τα φυτά τόσο σε ιδανικές συνθήκες, όσο και σε συνθήκες έλλειψης νερού. Για παράδειγμα, για την καλλιέργεια τομάτας, οι Ibrahim et al. (2014) και οι Al-Harbi et al. (2016) ανέφεραν ότι το υποκείμενο “Unifort” (*S. lycopersicum* L. × *S. pimpinellifolium* L.) αύξησε την παραγωγή και την αποδοτικότητα χρήσης νερού της τομάτας *Solanum lycopersicum* cv. Faridah τόσο σε ιδανικές συνθήκες όσο και σε συνθήκες έλλειψης νερού. Σε αντίστοιχη μελέτη στο καρπούζι, το υποκείμενο ‘PS 1313’ (*Cucurbita maxima* Duch. × *C. moschata* Duch.) αύξησε την συνολική παραγωγή των φυτών σε πλήρη και ελλιπή άρδευση (Rouphael et al., 2008). Αντίστοιχα αποτελέσματα αναφέρουν και οι Lopez-Marin et al. (2017) σε φυτά πιπεριάς όπου παρατηρήθηκε ότι τα υποκείμενα ‘Atlante’, ‘Creonte’ και ‘Terrano’ αύξησαν την συνολική παραγωγή των φυτών τόσο σε ιδανικές συνθήκες άρδευσης, όσο και σε άρδευση που ικανοποιούσε το 50% των αναγκών των φυτών. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποτελεί τέλος και η μελέτη των Sanchez-Rodriguez et al. (2012) οι οποίοι παρατήρησαν ότι η χρήση ανθεκτικών υποκειμένων, όπως το υποκείμενο τομάτας ‘Zarina’, σε φυτά τομάτας που αναπτύσσονταν σε συνθήκες έλλειψης νερού οδήγησε σε ορισμένες περιπτώσεις σε διατήρηση της συνολικής παραγωγής σε επίπεδα παρόμοια με αυτά των φυτών που αναπτύσσονταν σε ιδανικές συνθήκες άρδευσης.

Η ανάπτυξη ενός ισχυρού ριζικού συστήματος ενισχύει επίσης και την απορρόφηση ορισμένων θρεπτικών στοιχείων (Sanchez-Rodriguez et al., 2013; Savvas et al., 2017) ενώ παράλληλα μπορεί να εμποδίσει την απορρόφηση επιβλαβών ιόντων όπως το νάτριο, το χλώριο, το αργίλιο (Savvas et al., 2011) καθώς και τα βαρέα μέταλλα (Savvas et al., 2013b). Για παράδειγμα, σε μελέτη τους οι Borgognone et al. (2013) παρατήρησαν ότι οι συγκεντρώσεις των στοιχείων ασβέστιο, σίδηρος, ψευδάργυρος και χαλκός ήταν υψηλότερες στα εμβολιασμένα φυτά τομάτας σε σχέση με τα αυτόριζα. Σύμφωνα με τους Savvas et al. (2010), η ικανότητα των ριζών των φυτών να ελέγχουν την πρόσληψη των θρεπτικών στοιχείων εξαρτώνται τόσο από τη δομή της ρίζας όσο και από το μηχανισμούς πρόσληψης σε βιοχημικό επίπεδο. Οι Schwarz et al. (2010) επίσης αναφέρουν ότι οι μηχανισμοί που ελέγχουν την απορρόφηση θρεπτικών από την ρίζα του υποκειμένου μπορεί να επηρεάζονται και από το

εμβόλιο μέσω αλληλεπιδράσεων στην μεταφορά ορισμένων μεταβολιτών, οι οποίοι αποτελούν ορμονικούς αγγελιαφόρους. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι στα εμβολιασμένα φυτά η απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων δεν ελέγχεται μόνο από το γονότυπο του υποκειμένου αλλά και από την αλληλεπίδραση μεταξύ υποκειμένου-εμβολίου (Savvas et al., 2017).

Τέλος, ο εμβολιασμός της τομάτας μπορεί να ωφελήσει και την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων με ορισμένους ερευνητές να αναφέρουν θετική ενώ άλλοι αρνητική επίδραση στην ποιότητα των καρπών (Kumar et al. 2015). Από τα επιμέρους ποιοτικά χαρακτηριστικά του καρπού, ο εμβολιασμός φαίνεται να επηρεάζει το χρώμα και το σχήμα των καρπών, την τιτλοδοτημένη οξύτητα και τα ολικά διαλυτά στερεά. Για παράδειγμα, οι Turhan et al. (2011) παρατήρησαν ότι ο εμβολιασμός αύξησε την περιεκτικότητα σε λυκοπένιο, ενώ η βιταμίνη C, η τιτλοδοτούμενη οξύτητα και τα ολικά διαλυτά στερεά μειώθηκαν στα εμβολιασμένα φυτά σε σύγκριση με τα αυτόριζα.

1.7. Η εφαρμογή γαιοσκωλήκων στην καλλιέργεια της τομάτας

Η χρήση των βιοδιεγερτών και του εμβολιασμού αποτελούν το κύριο αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Οι δυο αυτές μέθοδοι μελετήθηκαν εκτενώς στις πειραματικές μελέτες της παρούσας διατριβής με σκοπό να εξακριβωθεί η αποτελεσματικότητά τους στην αύξηση της ανοχής των φυτών σε συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων. Η εφαρμογή των γαιοσκωλήκων συμπεριλήφθηκε συμπληρωματικά σε μια από τις πειραματικές μελέτες σε βιολογική καλλιέργεια τομάτας και σε συνδυασμό με την χρήση του εμβολιασμού. Ο σκοπός ήταν να διαπιστωθεί αν οι γαιοσκώληκες αυξάνουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος της καλλιέργειας, άρα και την αποδοτικότητα χρήσης τους από την καλλιέργεια. Παρακάτω παρατίθεται μία σύντομη βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με την δράση των γαιοσκωλήκων και την χρήση τους στην καλλιέργεια τομάτας. Περισσότερες πληροφορίες για την χρήση των γαιοσκωλήκων βρίσκονται στην επιμέρους εισαγωγή της συγκεκριμένης πειραματικής ενότητας.

Οι γαιοσκώληκες μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξη και παραγωγικότητα των φυτών μέσα από πολλούς διαφορετικούς μηχανισμούς. Πιο συγκεκριμένα, οι γαιοσκώληκες έχουν την δυνατότητα να επηρεάζουν τις μηχανικές και χημικές ιδιότητες του εδάφους (Lee 1985; Edwards & Bohlen 1996). Οι μηχανικές ιδιότητες του εδάφους βελτιώνονται όταν οι γαιοσκώληκες δημιουργούν πόρους μεγάλης διαμέτρου στο έδαφος (Francis et al., 2001) οι οποίοι βοηθούν στον αερισμό του εδάφους και στην μετακίνηση των θρεπτικών στοιχείων

(Stockdill and Cossens, 1996). Η βελτίωση των χημικών ιδιοτήτων του εδάφους συνδέεται με την ικανότητα των γαιοσκωλήκων να επεξεργάζονται την οργανική ουσία (Baker, 2007) κάτι το οποίο συνεισφέρει στην μετακίνηση των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων σε βαθύτερα στρώματα του εδάφους, μετριάζοντας με αυτό τον τρόπο και την επιφανειακή απορροή τους (Sharpley et al., 1979).

Οι γαιοσκώληκες μπορούν επίσης να επηρεάσουν και έμμεσα την καλλιέργεια ενός φυτού με την παραγωγή του 'vermicompost'. Το vermicompost μπορεί να προσδιοριστεί ως η οργανική ουσία που παράγεται από την επεξεργασία οργανικών υπολειμμάτων από γαιοσκώληκες (Atiyeh et al., 2000a). Το οργανικό αυτό προϊόν που παράγεται, έχει περάσει από το πεπτικό σύστημα των γαιοσκωλήκων και διαφέρει από το αρχικό οργανικό υλικό. Η δομή και τα χαρακτηριστικά του ομοιάζουν με την τύρφη, συνεπώς έχει καλή διαβροχή, αεροπερατότητα και ικανότητα συγκράτησης νερού (Edwards & Burrows, 1998). Επιπλέον, τα θρεπτικά στοιχεία που εμπεριέχονται μέσα στο vermicompost βρίσκονται σε μορφές που είναι άμεσα διαθέσιμες για τα φυτά, όπως για παράδειγμα τα νιτρικά για το άζωτο, ο ανταλλάξιμος φώσφορος και το υδατοδιαλυτό κάλιο (Edwards & Burrows 1988; Orozco et al. 1996).

Το vermicompost, έχει μελετηθεί στις καλλιέργειες των λαχανικών (Warman and Anglorpez, 2010) και έχει αποδειχθεί ότι η ανάμιξή του με έδαφος σε ποσοστό 10% μπορεί να αυξήσει την βλαστικότητα των σπόρων, την βιομάζα και την φυλλική επιφάνεια των φυτών. Στην τομάτα μάλιστα, οι εκτενείς μελέτες των Atiyeh et al. (2000a; 2000b; 2001) έδειξαν ότι το vermicompost, όταν αναμιγνύεται με εμπορικά υποστρώματα σε ποσοστό 20 %, μπορεί να αυξήσει την ανάπτυξη των φυτών αλλά και την συνολική παραγωγή τους. Βέβαια, η καλλιέργεια σε 100% υποστρώματος vermicompost δεν έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα αφού μειώθηκε η ανάπτυξη των φυτών (Atiyeh et al., 2000a). Το αποτέλεσμα αυτό ερμηνεύτηκε από τους ερευνητές ως αποτέλεσμα της μείωσης της αεροπερατότητας και αύξησης της αλατότητας του υποστρώματος για την ανάπτυξη της τομάτας (Atiyeh et al., 2000a).

1.8. Ερευνητικός στόχος – Δομή των πειραμάτων

Η ανάγκη μείωσης της κατανάλωσης νερού και λιπασμάτων στις καλλιέργειες τομάτας θα είναι όλο και πιο επιτακτική τα χρόνια που θα ακολουθήσουν. Συνεπώς, θα πρέπει να βρεθούν λύσεις οι οποίες θα εφαρμόζονται κατά την καλλιέργεια και θα προσφέρουν ανοχή στην έλλειψη νερού και θρεπτικών. Αυτό πρακτικά σημαίνει πως θα πρέπει ο παραγωγός να μπορεί καλλιεργήσει την τομάτα με μειωμένες εισροές νερού και θρεπτικών στοιχείων και ταυτόχρονα να εξασφαλίζει μια ικανοποιητική παραγωγή.

Η χρήση των βιοδιεγερτών και του εμβολιασμού αποτελούν δυο πολλά υποσχόμενες μέθοδοι οι οποίοι δύναται να αυξήσουν την αποδοτικότητα χρήσης νερού και θρεπτικών. Στην παρούσα διατριβή διερευνήθηκε η εφαρμογή διαφορετικών βιοδιεγερτών και υποκειμένων εμβολιασμού σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας η οποία αναπτυσσόταν κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων. Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν τόσο σε υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας όσο και σε καλλιέργεια στο έδαφος. Κατά την καλλιέργεια στο έδαφος, μελετήθηκε επιπλέον και η εφαρμογή γαισκοωλήκων και προσδιορίστηκε η επίδρασή τους στην αύξηση των διαθέσιμων θρεπτικών στοιχείων του εδάφους, άρα και στη βελτιστοποίηση της ανάπτυξης και της παραγωγής της τομάτας.

Για τον σκοπό αυτό σχεδιάστηκαν και υλοποιήθηκαν τρεις πειραματικές μελέτες:

Στην **1^η πειραματική μελέτη** διερευνήθηκε η επίδραση των βιοδιεγερτών από εμβόλια μικροοργανισμών σε αυτόριζη ή εμβολιασμένη καλλιέργεια υδροπονικής τομάτας η οποία αναπτύσσεται κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης λόγω έλλειψης νερού και θρεπτικών στοιχείων. Χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό υβρίδιο *Belladonna (Solanum lycopersicum* cv. *Belladonna*) και η καταπόνηση αφορούσε την μείωση του θρεπτικού διαλύματος τροφοδοσίας κατά 50% σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες που αναπτύσσονταν κάτω από ιδανικές συνθήκες χορήγησης θρεπτικού διαλύματος. Επιπλέον, το θρεπτικό διάλυμα περιείχε την μισή συγκέντρωση αζώτου (N) και φωσφόρου (P) από αυτή που συνιστάται και εφαρμόζεται στην συνήθη καλλιεργητική πρακτική. Οι βιοδιεγέρτες περιείχαν βακτήρια που προωθούν την ανάπτυξη των φυτών (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) και τα εμβολιασμένα φυτά είχαν ως υποκείμενο το M82 (*Solanum lycopersicum* Mill. cv. M82).

Στην **2^η πειραματική μελέτη** διερευνήθηκε ο εμβολιασμός σε 4 διαφορετικά υποκείμενα τομάτας (Ramellet, Maxifort, M82 και BIL-6335) τα οποία επιλέχθηκαν για την ανοχή τους στην συνδυασμένη καταπόνηση με βάση αποτελέσματα προηγούμενων μελετών

στα πλαίσια του ερευνητικού προγράμματος TOMRES. Η καλλιέργεια πραγματοποιήθηκε στο έδαφος και περιλάμβανε συμβατικό και βιολογικό σύστημα καλλιέργειας. Επιπλέον, μελετήθηκε η εφαρμογή του γαιοσκώληκα *Eisenia fetida*, στο έδαφος και η επίδρασή του στην αύξηση της γονιμότητας του εδάφους και κατά συνέπεια η αύξηση της παραγωγής της τομάτας. Στο βιολογικό σύστημα καλλιέργειας, η προσθήκη θρεπτικών στοιχείων ήταν μειωμένη σε σύγκριση με το συμβατικό σύστημα καλλιέργειας, συνεπώς τα φυτά αναπτύσσονταν σε συνθήκες μειωμένης παροχής θρεπτικών.

Στην 3^η **πειραματική μελέτη** διερευνήθηκε η επίδραση διαφορετικών τύπων χημικών βιοδιεγερτών σε υδροπονική καλλιέργεια εμβολιασμένης τομάτας η οποία αναπτύσσεται κάτω από συνδυασμένη καταπόνηση έλλειψης νερού και θρεπτικών στοιχείων. Η καταπόνηση εφαρμόστηκε με την μείωση του θρεπτικού διαλύματος τροφοδοσίας κατά 33% και αργότερα αναπροσαρμόστηκε στο 40%. Οι βιοδιεγέρτες που δοκιμάστηκαν ήταν εκχυλίσματα φυκών, προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και η φυτορμόνη στριγγολακτόνη. Η καλλιεργούμενη ποικιλία ήταν η 'Nostymi F1' η οποία ήταν εμβολιασμένη στο υποκείμενο BIL-6335.

Σε όλες τις πειραματικές μελέτες προσδιορίστηκε η ανάπτυξη των φυτών σε βιομάζα, η τελική παραγωγή των φυτών σε καρπούς και η θρεπτική κατάσταση των φύλλων και των καρπών. Κατά την καλλιέργεια εκτός εδάφους (1^η και 3^η πειραματική μελέτη) πραγματοποιούνταν μετρήσεις pH, αγωγιμότητας, ποσοστού απορροής και συγκέντρωσης θρεπτικών συστατικών στο θρεπτικό διάλυμα απορροής. Όσον αφορά την καλλιέργεια στο έδαφος (2^η πειραματική μελέτη) πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις θρεπτικών στοιχείων και οργανικής ουσίας στο έδαφος. Κάθε πειραματική μελέτη περιλάμβανε και επιπλέον μετρήσεις ανάλογα με τις ανάγκες του κάθε πειράματος. Η 1^η πειραματική μελέτη περιλάμβανε και μεταβολομική ανάλυση στα φύλλα της τομάτας. Κατά την 2^η πειραματική μελέτη πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του πληθυσμού των γαιοσκωλήκων καθώς και μετρήσεις των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου. Τέλος, για τις ανάγκες της 3^{ης} πειραματικής μελέτης πραγματοποιήθηκαν και μετρήσεις ποιότητας καρπών (χρώμα, οξύτητα, περιεχόμενο σε ολικά διαλυτά στερεά).

2. Γενική Περιγραφή Υλικών και Μεθόδων

2.1. Τοποθεσία πειραματικών μελετών

Οι πειραματικές μελέτες της παρούσας διδακτορικής διατριβής πραγματοποιήθηκαν στα θερμοκήπια του εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιεργειών στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΓΠΑ). Τα 3 πειράματα διεξήχθησαν από τον Οκτώβριο του 2017 έως και τον Φεβρουάριο του 2020 σε 3 καλλιεργητικές περιόδους. Οι ακριβείς ημερομηνίες κάθε πειραματικής μελέτης από την εγκατάσταση έως την λήξη της καλλιέργειας παρατίθενται στις επιμέρους πειραματικές ενότητες. Τα δυο θερμοκήπια στα οποία πραγματοποιήθηκαν οι μελέτες βρίσκονται στην Αθήνα εντός του Γεωπονικού Πανεπιστημίου (N 37°59'10'', E 23°42'29'', υψόμετρο 24 m).

Το υαλόφρακτο θερμοκήπιο που χρησιμοποιήθηκε αποτελείται από δυο κατασκευαστικές μονάδες όπου τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της κάθε μίας ήταν: ύψος υδροροής = 2,8 m, ύψος κορυφής = 3,5 m, πλάτος = 7,5 m, μήκος = 44 m και εμβαδόν = 400 m². Το θερμοκήπιο διέθετε 4 ξεχωριστούς θαλάμους των 75 m² και έναν κεντρικό προθάλαμο. Ο εξαερισμός κάθε θαλάμου ήταν φυσικός και πραγματοποιούνταν με την ύπαρξη ενός πλαϊνού παραθύρου και ενός παραθύρου οροφής. Η θέρμανση του θερμοκηπίου πραγματοποιούνταν με την χρήση φυσικού αερίου και η διανομή της θερμότητας πραγματοποιούνταν με σιδηροσωλήνες σε σύστημα ορθογωνίου (Μαυρογιαννόπουλος, 2005). Το έδαφος του θερμοκηπίου ήταν καλυμμένο με σκυρόδεμα και πάνω από αυτό καλλιεργούνταν φυτά είτε σε λεκάνες υδροπονίας για σύστημα επίπλευσης (Θάλαμος 1), είτε είχαν τοποθετηθεί εναέρια κανάλια υδροπονίας (Θάλαμος 2 και 4) (Εικ. 2-1) είτε σε γλάστρες απευθείας πάνω στο έδαφος (Θάλαμος 3). Οι πειραματικές μελέτες της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκαν σε εναέρια κανάλια υδροπονίας στους θαλάμους 2 και 4.



Εικόνα 2-1. Θάλαμος του ναλόφρακτου θερμοκηπίου όπου είναι εγκατεστημένα τα εναέρια κανάλια υδροπονίας.

Το έτερο θερμοκήπιο που χρησιμοποιήθηκε στο δεύτερο πείραμα για καλλιέργεια στο έδαφος ήταν καλυμμένο με μονό πολυκαρβονικό (πολυανθρακικό) φύλλο και αποτελούνταν από δυο κατασκευαστικές μονάδες με γεωμετρικά χαρακτηριστικά της κάθε μίας: ύψος υδροροής = 2,8 m, ύψος κορυφής = 3,5 m, πλάτος = 7,5 m, μήκος = 44 m και εμβαδόν = 400 m². Το θερμοκήπιο εμπεριέχει έναν ενιαίο θάλαμο των 160 m², ενώ διαθέτει και προθάλαμο με εντομοστεγή δίχτυα. Η θέρμανση του θερμοκηπίου πραγματοποιούνταν με δύο αξονικά αερόθερμα ζεστού νερού και το ζεστό νερό προερχόταν από λέβητα φυσικού αερίου. Ο εξαερισμός του θερμοκηπίου ήταν ενεργός αφού το θερμοκήπιο διέθετε δυο ανεμιστήρες και σύστημα υγρής παρειάς (wet panel). Το θερμοκήπιο διέθετε επίσης κουρτίνες σκίασης (Εικ. 2-2).



Εικόνα 2-2. Εσωτερικό του πλαστικού θερμοκηπίου όπου διακρίνονται το ενεργητικό σύστημα σκίασης με κουρτίνες και το σύστημα της υγρής παρείας.

2.2. Υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας

Στις μελέτες όπου η καλλιέργεια ήταν εκτός εδάφους, επιλέχτηκε το ανοικτό σύστημα καλλιέργειας. Η κεφαλή υδρολίπανσης που διέθετε το υαλόφρακτο θερμοκήπιο ήταν της εταιρίας ALAGRO με πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα τόσο ανάμιξης των λιπασμάτων της εκάστοτε συνταγής, όσο και της εφαρμογής της άρδευσης. Η κεφαλή υδρολίπανσης λειτουργούσε με εισαγωγή πυκνών διαλυμάτων και νερού σε κάδο ανάμιξης με βάση προκαθορισμένες τιμές EC και pH στο εξερχόμενο διάλυμα (Σάββας, 2016) και διέθετε την δυνατότητα να χορηγήσει θρεπτικό διάλυμα τόσο στο υαλόφρακτο όσο και στο πλαστικό θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιεργειών (Εικ. 2-3).



Εικόνα 2-3. Κεφαλή υδρολίπανσης.

Τα πυκνά διαλύματα (δοχεία Α και Β, και δοχείο οξέος) ήταν τοποθετημένα σε δοχεία των 50 L τα οποία ήταν συνδεδεμένα με την κεφαλή υδρολίπανσης (Εικ. 2-4). Η ανάμιξη

πραγματοποιούνταν από την κεφαλή υδρολίπανσης, η οποία αντλούσε νερό και ποσότητες διαλυμάτων από τα τρία δοχεία, ώστε να παρασκευάσει το θρεπτικό διάλυμα με τις επιθυμητές τιμές ηλεκτρικής αγωγιμότητας και pH που είχαν εισαχθεί ως προεπιλεγμένες τιμές στο σύστημα αυτόματου ελέγχου. Το θερμοκήπιο διέθετε επίσης έναν μη αυτοματοποιημένο (χειρωνακτικής αραίωσης) κάδο ανάμιξης και προετοιμασίας πυκνών ή αραιών θρεπτικών διαλυμάτων, ο οποίος χρησιμοποιούνταν στην περίπτωση που η καλλιέργεια είχε την ανάγκη χορήγησης δυο ξεχωριστών συνταγών υδρολίπανσης (Εικ. 2-4). Το αραιό διάλυμα που παρασκευάζονταν από τον μη-αυτοματοποιημένο κάδο ανάμιξης τοποθετούνταν σε δοχεία των 180 L και χορηγούνταν στην καλλιέργεια σταδιακά σύμφωνα με ένα προκαθορισμένο πρόγραμμα άρδευσης με την χρήση αντλίας.



Εικόνα 2-4. Μη αυτοματοποιημένος κάδος ανάμιξης θρεπτικών διαλυμάτων (δεξιά) και πυκνά δοχεία των 50 L (αριστερά)

Στον θάλαμο καλλιέργειας των φυτών υπήρχαν 10 σειρές εναέριων καναλιών (υδρορροών), διαμορφωμένες σε διπλές γραμμές (Εικ. 2-1), οι οποίες λειτουργούσαν και ως κανάλια απορροής, αφού είχαν την απαραίτητη κλίση και τα κατάλληλα λούκια ώστε να συλλέγουν την απορροή στην μια πλευρά. Επάνω στις υδρορροές τοποθετήθηκαν οι γλάστρες με περλίτη ή οι πλάκες πετροβάμβακα (slabs). Στο τέλος κάθε καναλιού υπήρχαν ογκομετρημένα δοχεία συλλογής του θρεπτικού διαλύματος απορροής.

2.3. Καλλιέργεια στο έδαφος

Το έδαφος του πλαστικού θερμοκηπίου χαρακτηρίζεται ως πηλώδες. Η μηχανική σύσταση και η περιεκτικότητα του εδάφους σε θρεπτικά στοιχεία και οργανική ουσία δίνονται στον Πίνακα 2.3.1.1.

Πίνακας 3.2.1.1. Μηχανική σύσταση και περιεκτικότητα σε θρεπτικά στοιχεία στο έδαφος του πλαστικού θερμοκηπίου

Άμμος %	44,3
Ιλύς %	22,0
Αργίλος %	33,7
pH	7,67
EC (μS / cm)	1,97
NO₃ (mg / kg)	75
Ca (mg / kg)	2453
Mg (mg / kg)	308
K (mg / kg)	1256
Na (mg / kg)	316
Mg (υδ/το) mg / l)	67,7
P (mg/ l)	91,7
B (mg/ kg)	0,33
Fe (mg/ kg)	11,1
Mn (mg/ kg)	28,2
Zn (mg/ kg)	25,5
Cu (mg/ kg)	12,9
Οργ. Ουσία %	3,52

2.4. Πολλαπλασιαστικό υλικό

Σε όλες τις πειραματικές μελέτες, το καλλιεργούμενο φυτό ήταν η τομάτα (*Solanum lycopersicum* Mill). Οι γονότυποι των υποκειμένων που χρησιμοποιήθηκαν κατά τον εμβολιασμό των φυτών ήταν το *Solanum lycopersicum* ή αναδιασταυρωμένα υβρίδια των *Solanum lycopersicum* και *Solanum penellii* (Ofner et al., 2016). Η σπορά των φυτών και η ανάπτυξη των σποροφύτων πραγματοποιούνταν από εταιρεία σποροπαραγωγής (Plantas A.E.) και τα φυτά μεταφτεούνταν στο θερμοκήπιο στο στάδιο των τριών με πέντε πραγματικών

φύλλων (Εικ. 2-5). Η επιλογή της κάθε ποικιλίας και του υποκειμένου καθώς και οι αποστάσεις φύτευσης αναφέρονται στις επιμέρους πειραματικές ενότητες.



Εικόνα 2-5. Φυτά τομάτας στο στάδιο των τριών πραγματικών φύλλων τα οποία προετοιμάστηκαν από εταιρεία σποροπαραγωγής και παραδόθηκαν στο Εργαστήριο Κηπευτικών Καλλιεργειών.

2.5. Καλλιεργητικές περιποιήσεις

Σε όλες τις πειραματικές μελέτες εφαρμόστηκαν οι ίδιες καλλιεργητικές περιποιήσεις στα φυτά τομάτας μετά την φύτευσή τους. Αυτές περιλάμβαναν την υποστύλωση, το βλαστολόγημα, το κορυφολόγημα, την αποφύλλωση και την υποβοήθηση της καρπόδεσης.

Η εγκατάσταση των φυτών στο θερμοκήπιο διέφερε σημαντικά στην κάθε πειραματική μελέτη συνεπώς θα αναλυθεί ξεχωριστά για την κάθε μια. Όσον αφορά την υποστύλωση των φυτών, σε όλες τις μελέτες επιλέχθηκε το μονοστέλεχο σύστημα μόρφωσης. Η υποστύλωση των φυτών πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια των οριζόντιων συρμάτων που υπήρχαν πάνω από τις γραμμές καλλιέργειας. Τα φυτά την ημέρα εγκατάστασής τους περιερίχτηκαν με συνθετικό σπάγκο και αναρτήθηκαν στα οριζόντια σύρματα με κλιπ τύπου Α (Ολύμπιος, 2001). Για την καλύτερη στήριξη των φυτών, εκτός από την περιέλιξη τους με σπάγκο, χρησιμοποιήθηκαν και πλαστικά κλιπ τα οποία συγκρατούσαν το στέλεχος του φυτού σε κάθε δεύτερο μεσογονάτιο με τον σπάγκο υποστύλωσης.

Το βλαστολόγημα είναι η εργασία εκείνη κατά την οποία αφαιρούνται οι πλάγιοι βλαστοί οι οποίοι σχηματίζονται από τους οφθαλμούς που βρίσκονται στις μασχάλες των φύλλων. Το βλαστολόγημα πραγματοποιούνταν σε εβδομαδιαία βάση ώστε να

ελαχιστοποιείται η αφαίρεση βιομάζας σε μορφή πλάγιων βλαστών και συνεπώς να μεγιστοποιείται η βιομάζα που κατανέμεται στους καρπούς.

Το κορφολόγημα είναι τεχνική κατά την οποία αφαιρείται η κορυφή των φυτών με σκοπό να παρεμποδιστεί η παραγωγή νέων φύλλων και ταξιανθιών. Ταυτόχρονα το κορφολόγημα συμβάλλει στην ταχύτερη ωρίμανση των υπαρχόντων καρπών. Σε όλες τις πειραματικές μελέτες, το κορφολόγημα πραγματοποιούνταν περίπου έναν μήνα πριν το τέλος της καλλιέργειας.

Η αποφύλλωση είναι μια διαδικασία που πραγματοποιείται όταν πλέον τα φυτά έχουν μεγαλώσει αρκετά, δηλαδή σε στάδιο όπου πάνω στο φυτό υπάρχουν ταξικαρπίες προς ωρίμανση άλλα και ταξιανθίες που είναι έτοιμες για καρπόδεση. Με την αποφύλλωση αφαιρούνται τα φύλλα εκείνα που βρίσκονται κάτω από τις ωριμάζουσες ταξικαρπίες. Η τεχνική της αποφύλλωσης συνήθως πραγματοποιούνταν ταυτόχρονα με το κατέβασμα των φυτών και είχε ως στόχο την διατήρηση του δείκτη φυλλικής επιφάνειας γύρω στο 3,5-4 ο οποίος αντιστοιχεί στην ύπαρξη 16-18 πραγματικών φύλλων σε κάθε φυτό (Σάββας, 2016) . Βέβαια, ανάλογα με τις ανάγκες κάθε πειράματος, τα φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης συχνά αποφυλλώνονταν σε μικρότερο βαθμό σε σύγκριση με τα φυτά που αναπτύσσονταν υπό ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης, αφού είχαν διαφορετικό μέγεθος φύλλων.

Για την υποβοήθηση της καρπόδεσης, σε όλες τις πειραματικές μελέτες πραγματοποιήθηκε τοποθέτηση κυψέλης βομβίνων μέσα στον θάλαμο καλλιέργειας των φυτών. Η κυψέλη τοποθετούνταν σε ύψος 1,2-1,5 μέτρα το χειμώνα και χαμηλότερα κατά το θέρος. Ο έλεγχος της επικονίασης πραγματοποιούνταν με την παρατήρηση κατά διαστήματα μερικών ώριμων ανθέων δειγματοληπτικά. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται την ύπαρξη ή μη ενός ξυσίματος καφέ, σαν σκουριά, όχι συγκεκριμένου σχήματος, έντονου ή μη, αναλόγως της θερμοκρασίας, το οποίο προκαλείται από νύγματα του εντόμου (Εικ. 2-6).



Εικόνα 2-6. Ανθος τομάτας όπου διακρίνεται η ύπαρξη του καφέ ξυσίματος μετά από την επικονίαση του από βομβίνο.

2.6. Φυτοπροστασία

Οι τρεις πειραματικές μελέτες αφορούσαν συμβατική καλλιέργεια τομάτας, με εξαίρεση να αποτελεί η δεύτερη πειραματική μελέτη στην οποία, πέρα από την συμβατική καλλιέργεια τομάτας, υπήρχε και βιολογική. Συνεπώς, κατά κύριο λόγο, χρησιμοποιήθηκαν συμβατικά μέτρα διαχείρισης και καταπολέμησης των εχθρών και των ασθενειών της τομάτας.

Όσον αφορά την πρόληψη των εχθρών της τομάτας, το υαλόφρακτο θερμοκήπιο διέθετε εντομοστεγή δίκτυα στο πλαϊνό παράθυρο των θαλάμων, ενώ το πλαστικό θερμοκήπιο διέθετε προθάλαμο με εντομοστεγή δίκτυα, καθώς και εντομοστεγή δίκτυα σε όλο το μήκος της υγρής παρειάς. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης μαύρες, κίτρινες και μπλε κολλητικές παγίδες και παγίδες φερομόνης τύπου 'Δ'. Οι μαύρες κολλητικές παγίδες και οι παγίδες τύπου 'Δ' με φερομόνη αφορούν την προσέλκυση ενήλικων ατόμων του λεπιδόπτερου *Tuta absoluta*. Με την χρήση κίτρινων κολλητικών παγίδων πραγματοποιούνταν η παρακολούθηση των αλευρωδών (οικ. Aleyrodidae), ενώ οι μπλε κολλητικές χρησιμοποιήθηκαν για την παρακολούθηση των θριπών (οικ. Thripidae).

Η διαχείριση των εντόμων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ωφέλιμων εντόμων (εξαπόλυση του αρπακτικού *Macrolophus pygmaeus* και του παρασιτοειδούς *Trichogramma brassicae*), ενώ όταν οι πληθυσμοί των εντόμων ήταν υψηλοί, πραγματοποιούνταν ψεκασμός με εγκεκριμένα εντομοκτόνα για την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας. Η επιλογή των ωφέλιμων εντόμων και η εφαρμογή των ψεκασμών με εντομοκτόνα αναλύονται εκτενώς στις επιμέρους πειραματικές ενότητες.

Για την αντιμετώπιση των μυκητολογικών προσβολών, καταβαλλόταν προσπάθεια διατήρησης της σχετικής υγρασίας του χώρου του θερμοκηπίου κάτω από το 85%. Παρόλα αυτά, αυτό δεν ήταν πάντα εφικτό, αφού οι 3 πειραματικές μελέτες πραγματοποιήθηκαν τους φθινοπωρινούς μήνες και τα θερμοκήπια δεν διέθεταν τον κατάλληλο εξοπλισμό για την ρύθμιση της υγρασίας. Το υαλόφρακτο θερμοκήπιο διέθετε παράθυρα αλλά όχι κάποιο ενεργό σύστημα εξαερισμού, ενώ το πλαστικό θερμοκήπιο διέθετε ενεργό σύστημα εξαερισμού, όμως δεν διέθετε επαρκές σύστημα θέρμανσης με αποτέλεσμα να μην αυξάνει την θερμοκρασία σε επίπεδα που μείωναν αποτελεσματικά την υγρασία όταν στο εξωτερικό περιβάλλον επικρατούσαν πολύ χαμηλές θερμοκρασίες. Επιπλέον, για τον ίδιο λόγο, δεν μπορούσε να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά και ενεργητικός εξαερισμός μέσω των ανεμιστήρων όταν οι εξωτερικές θερμοκρασίες ήταν πολύ χαμηλές. Το σημαντικότερο πρόβλημα κατά την 2^η πειραματική μελέτη όσον αφορά τις μυκητολογικές προσβολές ήταν ο περονόσπορος της τομάτας (*Phytophthora infestans*). Για την αντιμετώπιση του περονόσπορου στα βιολογικά

πειραματικά τεμάχια εφαρμόστηκε ψεκάσμος με βορδιγάλειο πολτό, ενώ για το συμβατικό τμήμα της καλλιέργειας πραγματοποιήθηκαν και ψεκάσμοι με Defence Pro 80 WP (δρ. ουσία: Mancozeb), Revus Top SC (δρ. ουσία: mandipropamid και difenoconazole) και Aliette 80 WG (δρ. ουσία: fosetyl-Al).

2.7. Η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης

Η συνδυασμένη καταπόνηση που εφαρμόστηκε στις πειραματικές μελέτες αφορούσε την έλλειψη του νερού και ορισμένων θρεπτικών στοιχείων. Σε κάθε πειραματική μελέτη μελετήθηκε διαφορετικό ποσοστό μείωσης των συγκεκριμένων εισροών, καθώς και διαφορετικός συνδυασμός εισροών με σκοπό να υπάρξει συνδυασμένη καταπόνηση. Πιο συγκεκριμένα, στην 1^η πειραματική μελέτη, σε υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας, εφαρμόστηκε μείωση της χορήγησης θρεπτικού διαλύματος κατά 50% σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες. Το θρεπτικό διάλυμα των καταπονημένων φυτών περιείχε και μειωμένη συγκέντρωση αζώτου και φωσφόρου κατά 50%. Συνεπώς, η χορήγηση αζώτου (N) και φωσφόρου (P) στην καλλιέργεια σε απόλυτους αριθμούς ήταν μειωμένη κατά 75% σε σύγκριση με τον μάρτυρα, ενώ για τα υπόλοιπα στοιχεία του θρεπτικού διαλύματος η μείωση ήταν όσο και η μείωση της χορήγησης θρεπτικού διαλύματος (50%).

Στην 2^η πειραματική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο έδαφος, λόγω της εφαρμογής γαιοσκωλήκων στην καλλιέργεια, επιλέχτηκε να εφαρμοστεί καταπόνηση μόνο θρεπτικών στοιχείων και όχι νερού, για να μην επηρεαστεί η βιωσιμότητα των γαιοσκωλήκων. Η καταπόνηση θρεπτικών στοιχείων αφορούσε τα στοιχεία άζωτο (N) (62% μείωση), φώσφορο (P) (80% μείωση), και κάλιο (K) (61% μείωση).

Κατά την 3^η πειραματική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας, εφαρμόστηκε μείωση της χορήγησης του θρεπτικού διαλύματος κατά 33% στα πρώτα στάδια της καλλιέργειας και κατά 40% στην συνέχεια. Δεν εφαρμόστηκε κάποια επιπλέον μείωση στην συγκέντρωση των θρεπτικών στοιχείων στα φυτά που αναπτύσσονταν κάτω από συνδυασμένη καταπόνηση, συνεπώς η χορήγηση νερού και όλων των θρεπτικών στοιχείων ήταν και αυτή μειωμένη κατά 33% και 40% αντίστοιχα.

2.8. Η εφαρμογή των βιοδιεγερτών και του εμβολιασμού

Η εφαρμογή του εκάστοτε βιοδιεγέρτη καθώς και η επιλογή και τα χαρακτηριστικά του κάθε υποκειμένου που μελετήθηκαν διέφεραν σημαντικά από πειραματική μελέτη σε πειραματική μελέτη, συνεπώς θα αναλυθούν ξεχωριστά στις επιμέρους πειραματικές ενότητες.

2.9. Εκτίμηση της βιομάζας και της φυλλικής επιφάνειας των φυτών

Η εκτίμηση της ανάπτυξης των φυτών σε βιομάζα πραγματοποιούνταν με μέτρηση του νωπού και ξηρού βάρους ενός τυχαία επιλεγμένου, ολόκληρου φυτού τομάτας από κάθε πειραματικό τεμάχιο. Η δειγματοληψία πραγματοποιούνταν με την εξαγωγή ενός φυτού τομάτας, αντιπροσωπευτικού για το κάθε πειραματικό τεμάχιο, με στόχο την ζύγιση του υπέργειου και του υπόγειου μέρους του φυτού. Η συγκεκριμένη μέτρηση πραγματοποιήθηκε στο ενδιάμεσο στάδιο της καλλιέργειας και κατά την εξαγωγή των φυτών στο τέλος του πειράματος στο θερμοκήπιο. Μετά την επιλογή και εξαγωγή των φυτών, ακολουθούσε ο διαχωρισμός του σε τμήματα (ρίζα, βλαστός, φύλλα και καρποί) και η ζύγισή αυτών για τον προσδιορισμό του νωπού βάρους (Εικ. 2-7Α, 2-7Β). Η ζύγιση πραγματοποιούνταν ξεχωριστά για το κάθε φυτικό τμήμα με την χρήση ηλεκτρονικού ζυγού που έχει ακρίβεια δύο δεκαδικών ψηφίων. Στην συνέχεια τα δείγματα τοποθετούνταν σε φούρνο στους 65 °C για διάστημα μεγαλύτερο των 72 h και έως την σταθεροποίηση του ξηρού τους βάρους, Ακολουθούσε η ζύγιση του ξηρού βάρους με ζυγό ακριβείας δυο δεκαδικών του γραμμαρίου.

Οι μετρήσεις φυλλικής επιφάνειας περιλάμβαναν προσδιορισμό της συνολικής επιφάνειας του φυτού κατά το μέσον και κατά το τέλος της καλλιέργειας. Για την μέτρηση της φυλλικής επιφάνειας κατά το μέσον της καλλιέργειας, το τυχαία επιλεγμένο φυτό ανά πειραματικό τεμάχιο που αφαιρούνταν από την καλλιέργεια για τον προσδιορισμό της νωπής και ξηρής βιομάζας, χρησιμοποιούνταν παράλληλα για τον προσδιορισμό της φυλλικής επιφάνειας (Εικ. 2-7Α). Τα φύλλα αφαιρούνταν από το στέλεχος και ο προσδιορισμός της φυλλικής επιφάνειάς τους πραγματοποιούνταν με την χρήση του μετρητή φυλλικής επιφάνειας LI-3100 (LI-COR Inc., Lincoln, NE) (Εικ. 2-7Δ) του Εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιεργειών. Για τον προσδιορισμό της ολικής φυλλικής επιφάνειας των φυτών, τα φύλλα που αφαιρούνταν κατά την αποφύλλωση ενός αντιπροσωπευτικού φυτού ανά επανάληψη μεταφέρονταν στο εργαστήριο όπου προσδιορίζονταν η φυλλική επιφάνειά τους (Εικ 2-7Γ). Κατά το πέρας της καλλιέργειας, όπου πραγματοποιούνταν η εξαγωγή των φυτών τα υπόλοιπα φύλλα του φυτού αυτού αφαιρούνταν και μετρούνταν στον μετρητή φυλλικής επιφάνειας. Η συνολική φυλλική επιφάνεια των φυτών προέκυψε με την πρόσθεση της φυλλικής επιφάνειας όλων των φύλλων που είχαν μετρηθεί κατά την διάρκεια και κατά το πέρας της καλλιέργειας.



Εικόνα 2-7. Α) Δειγματοληψία ενός ολόκληρου φυτού για τον προσδιορισμό της νωπής και της ξηρής βιομάζας υπέργειου και υπόγειου μέρους του φυτού, Β) καθαρισμός της ρίζας από το υπόστρωμα για τον προσδιορισμό της νωπής βιομάζας της, Γ) Αποφύλλωση και συγκέντρωση των φύλλων για τον προσδιορισμό της φυλλικής επιφάνειας, Δ) συσκευή μέτρησης φυλλικής επιφάνειας LI-3100.

2.10. Εκτίμηση τελικών αποδόσεων σε καρπούς

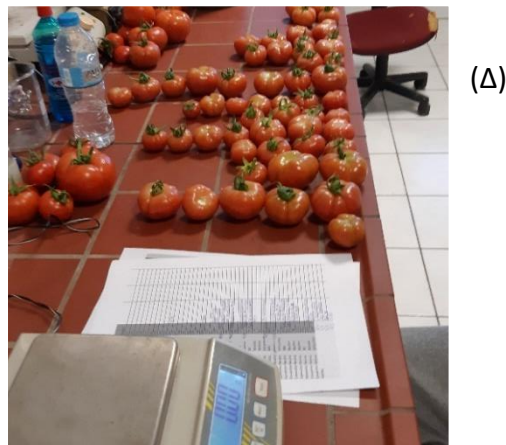
Η τελική παραγωγή των φυτών της τομάτας εκτιμήθηκε στην εκάστοτε πειραματική μελέτη με την συγκομιδή και καταγραφή του νωπού βάρους των καρπών της τομάτας από όλα τα φυτά κάθε πειραματικού τεμαχίου. Οι εμπορικά ώριμοι καρποί της τομάτας συγκομίζονταν 2 με 3 φορές την εβδομάδα ανάλογα με την εποχή και το φερόμενο φορτίο καρποφορίας (Εικ. 2-8Α, 2-8Β). Η μέτρηση του νωπού βάρους των καρπών πραγματοποιούνται με μεταφορά των καρπών στο εργαστήριο (Εικ. 2-8Γ) και το βάρος καταγραφόταν με την χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακρίβειας δυο δεκαδικών (Εικ. 2-8Δ). Η παραγωγή των φυτών σε νωπούς καρπούς εκφράστηκε σε κιλά ανά τετραγωνικό μέτρο καλλιεργούμενης επιφάνειας (kg m^{-2}).

Κατά την ζύγιση των καρπών της τομάτας, πραγματοποιούνταν και η κατάταξή τους σε ποιοτικές κατηγορίες, όπως αυτές περιγράφονται στον Ευρωπαϊκό Κανονισμό (ΕΕ) 543/2011. Τα σπουδαιότερα κριτήρια για την κατηγοριοποίηση των καρπών είναι το βάρος, το

χρώμα, η συνεκτικότητα, η ύπαρξη τραυματισμών ή παραμορφώσεων και η εμφάνιση σήψεων.

Οι κατηγορίες με βάση τον Ευρωπαϊκό κανονισμό είναι τέσσερις και είναι οι εξής:

- 1) Extra Class,
- 2) Class I,
- 3) Class II,
- 4) Μη εμπορεύσιμοι καρποί (Non marketable)



Εικόνα 2-8. Α) Καρποί τομάτας σε διαφορετικά στάδια ωρίμανσης, Β) Ωριμοί καρποί τομάτας έτοιμοι για συγκομιδή, Γ) Συλλογή και μεταφορά των καρπών στο εργαστήριο Κηπευτικών Καλλιεργειών, Δ) Ποιοτική κατάταξη και ζύγιση των καρπών.

2.11. Δειγματοληψίες θρεπτικού διαλύματος απορροής

Στις καλλιέργειες της 1^{ης} και της 3^{ης} πειραματικής μελέτης σε ανοικτό υδροπονικό σύστημα κάθε 2^η μέρα συλλέγονταν δείγματα από το θρεπτικό διάλυμα απορροής με σκοπό την μέτρηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας (Electrical Conductivity, EC), της οξύτητας (pH) και του κλάσματος απορροής. Το κλάσμα απορροής υπολογίζεται ως ο λόγος του όγκου του θρεπτικού διαλύματος που απορρέει από την καλλιέργεια προς το συνολικό όγκο που

χορηγήθηκε (Σάββας, 2011). Οι μετρήσεις αυτές πραγματοποιούνται για την παρακολούθηση της πορείας της καλλιέργειας και για την ρύθμιση της κεφαλής υδρολίπανσης όσον αφορά τους κύκλους άρδευσης και την προετοιμασία του θρεπτικού διαλύματος τροφοδοσίας των φυτών. Ορισμένες από τις μετρήσεις αυτές παρουσιάζονται στο παράρτημα της παρούσας διατριβής.

Μια φορά τον μήνα, δείγματα από το θρεπτικό διάλυμα απορροής συλλέγονταν για την ανάλυση των νιτρικών ιόντων, του φωσφόρου και του καλίου (Εικ. 2-9Α). Οι αναλύσεις αυτές πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Κηπευτικών Καλλιεργειών. Οι μετρήσεις των νιτρικών ιόντων πραγματοποιήθηκαν με την μέθοδο αναγωγής τους σε νιτρώδη με την χρήση στήλης καδμίου (Εικ. 2-9Β) και με φωτομέτρηση στα 440 nm με την χρήση φασματοφωτόμετρου (Εικ. 2-9Δ) (Anthos Zenyth 200, Biochrom, United States). Ο φώσφορος προσδιορίστηκε επίσης φωτομετρικά με την μέθοδο Murphy και Riley (1962) ως μπλε σύμπλοκο του φωσφομολυβδαινίου (Εικ. 2-9Γ) (phosphomolybdate blue complex) ενώ το κάλιο προσδιορίστηκε με την χρήση φλογοφωτόμετρου (Sherwood Model 410, Cambridge, United Kingdom).



Εικόνα 2-9. Α) Συλλογή δείγματος απορροής από τα δοχεία συλλογής της απορροής στο άκρο των καναλιών υδρορροής, Β) Δείγματα απορροής για τον προσδιορισμό των νιτρικών ιόντων, Γ) Δείγματα απορροής για τον προσδιορισμό του φωσφόρου, Δ) Φασματοφωτόμετρο.

2.12. Δειγματοληψία/προσδιορισμός θρεπτικών στοιχείων εδάφους

Στην καλλιέργεια της 2^{ης} πειραματικής μελέτης πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες και προσδιορισμός των θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος του θερμοκηπίου. Τα δείγματα εδάφους συλλέγονταν από κάθε πειραματικό τεμάχιο σε βάθος 0-20 cm με την χρήση δειγματολήπτη εδάφους (Εικ. 2-10). Στην συνέχεια ακολουθούσε ξήρανση των δειγμάτων σε φούρνο στους 40 °C μέχρι την σταθεροποίηση του βάρους τους. Ακολουθούσε λειοτριβήση, κοσκίνισμα, ομογενοποίηση και αποθήκευση για περαιτέρω ανάλυση της οργανικής ουσίας, του ολικού αζώτου, των νιτρικών (NO₃-N), των αμμωνιακών (NH₄-N), του διαθέσιμου φωσφόρου (P) και του καλίου (K).



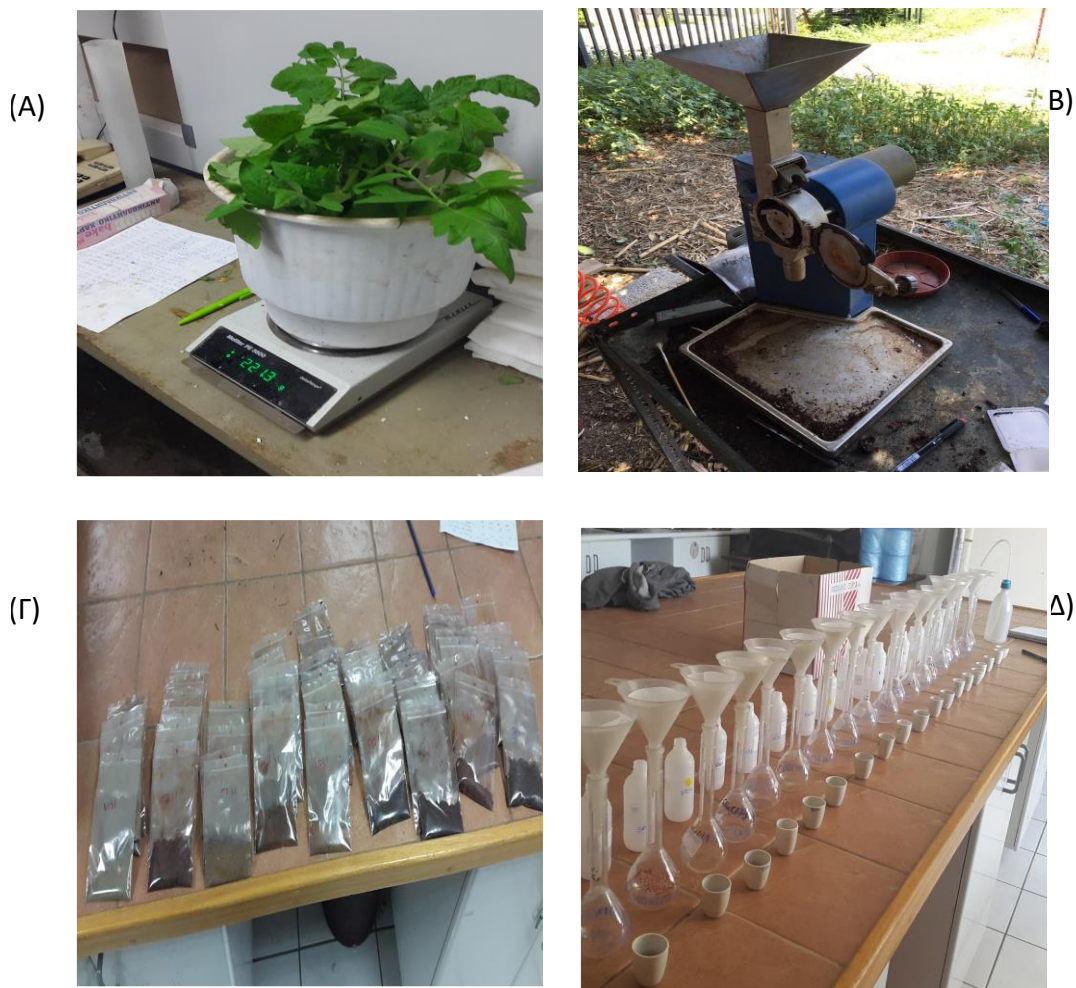
Εικόνα 2-10. Συλλογή δείγματος εδάφους με την χρήση δειγματολήπτη εδάφους.

Για τον προσδιορισμό της οργανικής ουσίας του εδάφους χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Walkley-Black (Walkley and Black, 1934). Οι συγκεντρώσεις των νιτρικών (NO₃-N) και των αμμωνιακών (NH₄-N) προσδιορίστηκαν σε δείγματα εδάφους που εκχυλίστηκαν με διάλυμα KCl 1M, όπως αναφέρεται από τους Keeney and Nelson (1983). Για τις συγκεντρώσεις των νιτρικών, εφαρμόστηκε η μέθοδος αναγωγής τους σε νιτρώδη με την χρήση στήλης καδμίου όπως περιγράφεται στο Κεφ. 2.11. Τα αμμωνιακά υπολογίστηκαν με την μέθοδο της ινδοφαινόλης (indophenol blue method) και με φωτομέτρηση στα 636 nm. Ο διαθέσιμος φώσφορος (P) προσδιορίστηκε με την εκχύλιση που περιγράφεται από τους Olsen et al. (1954) και ποσοτικοποιήθηκε με την μέθοδο Murphy and Riley (1962) ενώ το ανταλλάξιμο κάλιο (K) μετρήθηκε με το φλογοφωτόμετρο που περιγράφεται στην Παράγραφο 2.11.

2.13. Προσδιορισμός θρεπτικών στοιχείων φυτικών ιστών

Η συγκέντρωση του φωσφόρου και του καλίου στα φύλλα και τους καρπούς της τομάτας μετρήθηκε με την συλλογή του 3^{ου} νεότερου πλήρως ανεπτυγμένου φύλλου από ένα τυχαία επιλεγμένο φυτό καθώς και 2-3 ώριμων καρπών από κάθε πειραματικό τεμάχιο. Τα φύλλα και οι καρποί ζυγίζονταν για την εκτίμηση του νωπού τους βάρους (Εικ. 2-11A) και έπειτα αποξηραίνονταν σε φούρνο στους 65 °C για διάστημα μεγαλύτερο των 72 h και έως ότου σταθεροποιηθεί πλήρως το βάρος τους. Στην συνέχεια, τα δείγματα αλέθονταν με την χρήση μύλου (Εικ. 2-11B) και τοποθετούνταν στο πυραντήριο στους 550 °C για 8 ώρες. Ακολουθούσε η αποθήκευση σε σακουλάκια τύπου zip-lock (Εικ. 2-11Γ) μέχρι να

πραγματοποιηθεί η εκχύλιση με διάλυμα HCl 1 M και στη συνέχεια η διήθηση των εκχυλισμάτων με την χρήση φίλτρων Whatman (Whatman filter papers, ashless, Grade 42) (Εικ. 2-11Δ). Ο φώσφορος (P) προσδιορίστηκε με την εφαρμογή της μεθόδου Murphy and Riley (1962), ενώ το κάλιο ποσοτικοποιήθηκε με την χρήση φλογοφωτόμετρου, όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω. Επιπλέον μετρήσεις θρεπτικών στοιχείων που πραγματοποιήθηκαν στις εκάστοτε πειραματικές μελέτες αναφέρονται ξεχωριστά στην σχετική πειραματική ενότητα.



Εικόνα 2-11. Α) Ζύγιση φύλλων για τον προσδιορισμό του νεπού βάρους, Β) Μύλος άλεσης δειγμάτων, Γ) Αλεσμένα δείγματα καρπών τομάτας σε σακουλάκια zip-lock, Δ) Εκχύλιση δειγμάτων.

2.14. Στατιστική ανάλυση

Και στις 3 πειραματικές μελέτες, τα δεδομένα αξιολογήθηκαν στατιστικά μέσω ανάλυσης της διακύμανσης (ANOVA) με χρήση του λογισμικού πακέτου STATISTICA, έκδοση 12.0 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, United States). Οι πειραματικές μελέτες είχαν 2 ή 3 κύριους παράγοντες και ο έλεγχος πολλαπλών συγκρίσεων πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο Duncan, όταν η ANOVA είχε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$. Τα δεδομένα παρουσιάζονται σε γραφήματα ως μέσοι \pm με τυπικά σφάλματα ή σε πίνακες. Εξαιρείται η περίπτωση της μεταβολομικής ανάλυσης της πρώτης πειραματικής μελέτης, όπου η στατιστική ανάλυση ήταν εξειδικευμένη και θα αναλυθεί στην σχετική πειραματική ενότητα.

3. 1^η πειραματική μελέτη: Η χρήση των ωφέλιμων ριζοβακτηρίων PGPR και του εμβολιασμού για την αύξηση της ανοχής στην συνδυασμένη καταπόνηση σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας

3.1. Δομή και στόχοι 1^{ης} πειραματικής μελέτης

Η 1^η πειραματική μελέτη αφορά την διενέργεια ενός πειράματος σε μία καλλιεργητική περίοδο. Στην μελέτη αυτή εξετάστηκε η εφαρμογή ωφέλιμων ριζοβακτηρίων που δρουν ως βιοδιεγέρτες σε φυτά τομάτας τα οποία αναπτύσσονταν κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων. Τα φυτά της τομάτας ήταν αυτοεμβολιασμένα ή εμβολιασμένα στο υποκείμενο M82. Ο στόχος της μελέτης ήταν να διερευνηθεί κατά πόσο η εφαρμογή των συγκεκριμένων ριζοβακτηρίων μπορεί να προσφέρει ανοχή στην συνδυασμένη καταπόνηση. Επιπλέον, μελετήθηκε και η εφαρμογή του εμβολιασμού της τομάτας η οποία μπορεί να προσφέρει ανοχή στην καταπόνηση ενώ παράλληλα εξετάστηκε και η πιθανή αλληλεπίδραση που μπορεί να έχουν τα ριζοβακτήρια σε διαφορετικά ριζικά συστήματα τομάτας. Ο απώτερος σκοπός της μελέτης ήταν να εξετασθεί αν η χρήση των ριζοβακτηρίων και του εμβολιασμού μπορεί να διατηρήσει την παραγωγή σε ικανοποιητικά επίπεδα για έναν παραγωγό που καλλιεργεί με μειωμένες εισροές νερού και θρεπτικών και κατά συνέπεια να οδηγήσει σε μια καλλιεργητική πρακτική που θα μειώνει το κόστος παραγωγής και θα αυξάνει την αποδοτικότητα χρήσης των εν λόγω εισροών.

Στην συγκεκριμένη πειραματική μελέτη εξετάστηκε και ο δευτερογενής μεταβολισμός των φυτών της τομάτας με στόχο την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που ενεργοποιούν τα φυτά της τομάτας όταν αναπτύσσονται κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης. Στόχος της μεταβολομικής ανάλυσης ήταν επίσης να διαπιστωθεί με ποιόν τρόπο η εφαρμογή των ριζοβακτηρίων ή του εμβολιασμού μπορεί να επηρεάσει τους μηχανισμούς αυτούς, αλλά και την γενικότερη μεταβολομική δραστηριότητα των φυτών. Ένας επιπλέον σκοπός της μεταβολομικής ανάλυσης ήταν μια πιθανή εύρεση μεταβολιτών που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον ως βιοδείκτες για την ταχύτερη εξεύρεση γονοτύπων τομάτας που αντιδρούν θετικά σε συγκεκριμένους εν δυνάμει βιοδιεγέρτες όσον αφορά την αύξηση της ανοχής τους σε συνδυασμένη καταπόνηση, καθώς και υποκειμένων εμβολιασμού που επίσης αυξάνουν την ανοχή της τομάτας σε συνδυασμένη καταπόνηση.

3.2. Πρόσθετα εισαγωγικά στοιχεία

3.2.1. Εφαρμογή των βιοδιεγερτικών ριζοβακτηρίων

Τα ριζοβακτήρια που χαρακτηρίζονται ως βιοδιεγέρτες είναι κοινώς γνωστά με το όνομα Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). Τα συγκεκριμένα ριζοβακτήρια έχουν την δυνατότητα να προάγουν την ανάπτυξη των φυτών μέσα από πληθώρα μηχανισμών δράσης. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι κατά κύριο λόγο η βιολογική αζωτοδέσμευση, η μείωση των επιπέδων αιθυλενίου, η παραγωγή σιδεροφόρων, η παραγωγή φυτοορμονών, η επαγωγή της άμυνας των φυτών ενάντια σε παθογόνα, η διαλυτοποίηση και κινητοποίηση των θρεπτικών στοιχείων, η προώθηση των μυκοριζών και η μείωση της τοξικότητας που προκαλούν οι ρύποι στα φυτά (Glick et al., 1999; Roupael and Colla, 2020). Η επαγωγή της διασυστηματικής άμυνας των φυτών ενάντια σε παθογόνα και νηματώδεις είναι μια από τις σημαντικότερες δράσεις των PGPR και μπορεί να αποτελέσει μια πολύ αποτελεσματική καλλιεργητική τεχνική, ιδίως σε βιολογικά συστήματα καλλιέργειας (Ramamoorthy et al., 2001; Sidiqi and Shaoukat, 2002; Shanmugam and Kanoujia, 2011). Για την παρούσα διατριβή, η εφαρμογή των PGPR αναμένεται να αποτελεί μια ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα καλλιεργητική πρακτική αφού τα βακτήρια αυτά έχουν την δυνατότητα να διαλυτοποιούν τον φώσφορο (De Pascale et al., 2018), ειδικά σε περιβάλλοντα ρίζας που ο φώσφορος βρίσκεται σε έλλειψη (Bhattacharyya and Jha, 2012). Συνεπώς η χρήση των κατάλληλων στελεχών βακτηρίων μπορεί να προσδώσει ορισμένη ανοχή στην καταπόνηση από ανεπάρκεια φωσφόρου.

Η τομάτα αποτελεί ένα φυτό στο οποίο έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες όσον αφορά την εφαρμογή των PGPR τόσο σε συνθήκες καλλιέργειας στο έδαφος, όσο και σε καλλιέργεια εκτός εδάφους (De Brito et al., 1995; Sidiqi and Shaoukat, 2002; Yan et al., 2003; Shanmugam and Kanoujia, 2011). Η εφαρμογή των βακτηρίων πραγματοποιείται είτε με εμβολιασμό των σπόρων, είτε με εμβάπτιση των ριζών σε εναιώρημα βακτηρίων, ενώ παράλληλα δεν απαιτείται η αποστείρωση των φυτών (Yan et al., 2003). Τα έως τώρα αποτελέσματα από μελέτες PGPR σε φυτά τομάτας κυρίως επικεντρώνονται στον έλεγχο των παθογόνων και των νηματωδών (Seleim et al., 2011; Shanmugam and Kanoujia, 2011; Almaghrabi et al., 2013). Υπάρχουν όμως και αναφορές ότι τα PGPR μπορούν να αυξήσουν τη συγκέντρωση του φωσφόρου στους ιστούς της τομάτας (Harpisad and Niranjana, 2009) να αυξήσουν το λυκοπένιο, τα αντιοξειδωτικά και το κάλιο στους καρπούς της (Ordookhani et al., 2010) και να επιφέρουν και αυξημένη τελική παραγωγή (Gagne et al., 1993). Συνεπώς η εφαρμογή τους σε συνθήκες έλλειψης νερού αλλά και θρεπτικών στοιχείων στην τομάτα

συγκεντρώνει αυξημένο ερευνητικό ενδιαφέρον, αφού ενδέχεται να επιφέρουν πολλαπλά οφέλη στην καλλιέργεια.

3.2.2. Η μεταβολομική ανάλυση

Ο πρωτογενής μεταβολισμός αφορά τους μεταβολίτες που σχετίζονται άμεσα με την φυσιολογική ανάπτυξη και παραγωγή των οργανισμών, ενώ ο δευτερογενής μεταβολισμός εμπεριέχει τους μεταβολίτες που δεν έχουν καθοριστικό ρόλο στην διατήρηση των ζωτικής σημασίας φυσιολογικών διεργασιών των οργανισμών, αλλά έχουν ένα σημαντικό ρόλο στην λειτουργία του οργανισμού για την προσαρμογή στις διαφορετικές συνθήκες. Στα φυτά, οι συνθήκες αυτές επικεντρώνονται κυρίως στην προσαρμογή στα διαφορετικά περιβάλλοντα και την άμυνα από εχθρούς και ασθένειες (Akula and Ravishankar, 2011). Στα ανώτερα φυτά, οι δευτερογενείς μεταβολίτες συντίθενται από πρωτογενείς μεταβολίτες (υδατάνθρακες, λιπαρά οξέα, αμινοξέα κα.) και είναι απαραίτητοι για την άμυνα των φυτών, ενώ συχνά προσφέρουν και ανοχή στις περιβαλλοντικές καταπονήσεις (Seigler, 1998). Η παραγωγή τέτοιων ουσιών πραγματοποιείται σε μικρές ποσότητες (συνήθως κάτω του 1% στο ξηρό βάρος) και εξαρτάται κυρίως από το φυσιολογικό στάδιο ανάπτυξης των φυτών (Ramachandra, 2002).

Η καταπόνηση από έλλειψη νερού επηρεάζει σημαντικά τον δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών με σημαντικές μεταβολές στην συγκέντρωση των φλαβονοειδών και τον φαινολικών ουσιών στα φύλλα των φυτών (Larson, 1988). Μεταβολές παρατηρούνται και στις συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης 'α' και 'β' καθώς και στα καροτενοειδή (Anjum et al., 2003). Ομοίως, η έλλειψη θρεπτικών στοιχείων φαίνεται πως επηρεάζει τη συγκέντρωση των φαινολικών ουσιών στους φυτικούς ιστούς (Chalker-Scott and Fuchigami, 2018). Στην τομάτα έχουν πραγματοποιηθεί μεταβολομικές αναλύσεις για την μελέτη των αβιοτικών καταπονήσεων και έχουν καταγραφεί διαφορές στην δευτερογενή μεταβολική δραστηριότητα των φυτών σε συνθήκες καταπόνησης. Οι Cortina and Culiáñez-Macià (2005) αναφέρουν ότι η αύξηση της βιοσύνθεσης τρεχαλόζης συσχετίζεται με αυξημένη αντοχή των φυτών σε αβιοτικές καταπονήσεις και επομένως η γενετική βελτίωση των φυτών προς την κατεύθυνση της αύξησης της βιοσύνθεσης τρεχαλόζης θα ενίσχυε την αντοχή των φυτών στις καταπονήσεις με συνέπεια να μην περιορίζεται η παραγωγική τους ικανότητα. Σε άλλη μελέτη, οι Sánchez-Rodríguez et al. (2011a) αναφέρουν ότι η καταπόνηση λόγω έλλειψης νερού οδηγεί στην παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου που προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση, ενώ τα φυτά σε τέτοιες συνθήκες αντιδρούν με την παραγωγή φαινολικών και πολυφαινολικών ουσιών για την αποτοξικοποίηση των ελεύθερων ριζών (Ksouri et al., 2007). Όσον αφορά τις ελλείψεις

θρεπτικών στοιχείων, η επίπτωσή τους στην μεταβολική δραστηριότητα εξαρτάται σημαντικά και από το θρεπτικό στοιχείο που βρίσκεται σε έλλειψη. Για παράδειγμα, σύμφωνα με τους Sung et al. (2015) που μελέτησαν τον πρωτογενή μεταβολισμό σε φυτά τομάτας υπό συνθήκες έλλειψης N-P-K, η έλλειψη αζώτου οδηγεί σε μείωση των αμινοξέων και αύξηση των σακχάρων. Αντίθετα, η έλλειψη φωσφόρου οδηγεί σε αύξηση των αμινοξέων και μείωση των σακχάρων, ενώ η έλλειψη καλίου προκαλεί αύξηση και των σακχάρων και των αμινοξέων.

Η εφαρμογή βακτηρίων στην ρίζα των φυτών συνήθως οδηγεί σε διαφοροποιήσεις στον μεταβολισμό των φυτών διότι παράγονται ουσίες που συνεισφέρουν στην επικοινωνία και κατά συνέπεια στην επιτυχή αλληλεπίδραση μεταξύ των βακτηρίων και του φυτού (Muller et al., 1994; Rudrappa et al., 2008; Feng et al., 2019). Τέτοιοι μεταβολίτες είναι η τρεχαλόζη, το μηλικό οξύ, η μονοπαλμιτίνη και άλλες (Rudrappa et al., 2008; Fernandez et al., 2010; Yu 2019). Και στην περίπτωση του εμβολιασμού της τομάτας, ο μεταβολισμός των εμβολίων φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από τον εμβολιασμό τους πάνω σε ένα ριζικό σύστημα με διαφορετικό γονότυπο. Από τους πρωτογενείς μεταβολίτες, η συγκέντρωση των σακχάρων και τον οξέων στα φύλλα και στους καρπούς τομάτας ενδέχεται να επηρεαστεί σημαντικά λόγω του εμβολιασμού (Krumbein and Schwartz, 2013), ενώ παράλληλα έχει παρατηρηθεί ότι επηρεάζονται και άλλοι μεταβολίτες, όπως τα καροτενοειδή, το λυκοπένιο (Helyes et al., 2009; Krumbein and Schwartz 2013) και τα φαινολικά συστατικά (Sánchez-Rodríguez et al., 2011b). Στην τομάτα και το πεπόνι, ο εμβολιασμός φαίνεται πως επηρεάζει επίσης και τα λιπαρά οξέα καθώς και τους εστέρες που συνεισφέρουν στο άρωμα των καρπών (Krumbein and Schwartz, 2013; Hao et al., 2018).

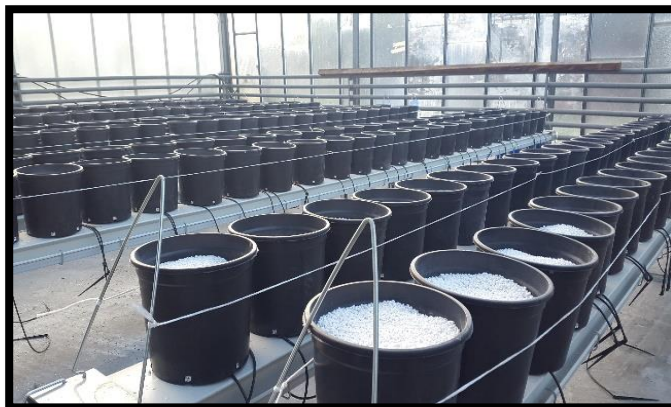
Τα ερευνητικά αυτά δεδομένα έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον διότι οι δευτερογενείς μεταβολίτες θα μπορούσαν στο μέλλον να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για την αξιολόγηση καινούργιων βιοδιεγερτών ή υποκειμένων που θα χρησιμοποιούνταν για εμβολιασμό παραγωγικών ποικιλιών με στόχο την αύξηση της ανοχής στην καταπόνηση των φυτών (Kalozoumis et al., 2021), γι' αυτό και συμπεριλήφθηκαν στην πειραματική μελέτη.

3.3. Υλικά και μέθοδοι

3.3.1. Βασικές πληροφορίες της καλλιέργειας

Το πειραματικό σκέλος της μελέτης διεξήχθη στο υαλόφρακτο θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιέργειών στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Καλλιεργήθηκε τομάτα (*Solanum lycopersicum*) υβρίδιο Belladonna F1 σε ανοικτό υδροπονικό σύστημα με υπόστρωμα περλίτη ο οποίος ήταν τοποθετημένος σε γλάστρες (Εικ. 3-1). Τα φυτά της τομάτας ήταν αυτοεμβολιασμένα ή εμβολιασμένα στο υποκείμενο M82

(*Solanum lycopersicum* Mill. cv M82). Το υποκείμενο αυτό επιλέχθηκε διότι έχει δοκιμαστεί στο παρελθόν σε συνθήκες έλλειψης νερού (Rigano et al., 2016; Ilouze-Eliaz et al., 2020), ενώ είχε επιλεγεί και στο πρόγραμμα TOMRES από το πανεπιστήμιο της Ιερουσαλήμ



Εικόνα 3-1. Γλάστρες γεμισμένες με περλίτη και τοποθετημένες πάνω στα κανάλια υδροπονίας.

HUJ)

(Hebrew University of Jerusalem, σε προγράμματα γενετικής

βελτίωσης με σκοπό τη δημιουργία γονοτύπων τομάτας που θα έχουν ανοχή στην καταπόνηση έλλειψης νερού (Lippman et al., 2007; Ofner et al., 2016).

Οι σπόροι της τομάτας (εμβόλιο και υποκείμενο) σπάρθηκαν στο φυτώριο της σποροπαραγωγικής εταιρείας Plantas A.E) όπου παρέμειναν μέχρι το στάδιο της μεταφύτευσης κάτω από τις τυπικές συνθήκες ανάπτυξης που εφαρμόζονται στις εγκαταστάσεις της για παραγωγή σποροφύτων τομάτας. Τα σπορόφυτα παραλήφθηκαν και μεταφυτεύτηκαν στο θερμοκήπιο στις 23 Νοεμβρίου 2017, στο στάδιο των 5 πραγματικών φύλλων (Εικ. 3-2). Πριν την τοποθέτηση των φυταρίων στις γλάστρες με περλίτη, αφαιρέθηκε η



Εικόνα 3-2. Φυτάρια τομάτας που μόλις έχουν μεταφυτευτεί στον θάλαμο του θερμοκηπίου.

μπάλα χώματος των φυτών και τα φυτά εμβαπτίστηκαν σε εναιώρημα ριζοβακτηρίων. Η μεθοδολογία εφαρμογής των ριζοβακτηρίων PGPR αναλύεται λεπτομερώς στο Κεφ. 3.3.3. Η

πυκνότητα φύτευσης στο θερμοκήπιο ήταν 2,4 φυτά m⁻². Για την διασφάλιση της επικονίασης των φυτών, τοποθετήθηκε μια κυψέλη βομβίνων στον θάλαμο του θερμοκηπίου στις 19 Δεκεμβρίου του 2017. Στις 8 Ιανουαρίου 2018, δηλαδή 6 εβδομάδες μετά την μεταφύτευση πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία ολόκληρων φυτών τομάτας για την μέτρηση βιομάζας του υπέργειου μέρους των φυτών και της ρίζας. Με την αφαίρεση των φυτών, η πυκνότητα φυτών της καλλιέργειας μεταβλήθηκε και έγινε 1,6 φυτά m⁻², η οποία παρέμεινε έως και την λήξη του πειράματος. Η συγκομιδή των ώριμων καρπών ξεκίνησε στις 9 Φεβρουαρίου του 2018 και η καλλιέργεια ολοκληρώθηκε στις 30 Μαρτίου 2018 όπου έγινε η εξαγωγή των φυτών και η δεύτερη μέτρηση νωπής βιομάζας. Κατά την δεύτερη μέτρηση νωπής βιομάζας, εκτιμήθηκε μόνο το υπέργειο μέρος των φυτών, διότι η ρίζα ήταν αδύνατον να διαχωρισθεί από το υπόστρωμα περλίτη. Η θερμοκρασία στο θερμοκήπιο διατηρούνταν πάνω από τους 18 °C κατά την διάρκεια της ημέρας και πάνω από 13 °C κατά την διάρκεια της νύχτας.

3.3.2. Υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας - εφαρμογή συνδυασμένης καταπόνησης

Η καλλιέργεια της τομάτας πραγματοποιήθηκε σε ανοικτό υδροπονικό σύστημα με υπόστρωμα τον περλίτη που ήταν τοποθετημένος μέσα σε γλάστρες (Εικ. 3-1). Οι γλάστρες που χρησιμοποιήθηκαν είχαν διάμετρο 20 εκ. και ο περλίτης συμπληρώθηκε μέχρι το ύψος των 16-17 εκατοστών, δημιουργώντας έναν όγκο υποστρώματος 5,3 L/φυτό. Στις 22 Νοεμβρίου 2017, μια μέρα πριν την μεταφύτευση των φυτών, πραγματοποιήθηκε η διαβροχή του υποστρώματος. Η χορήγηση του θρεπτικού διαλύματος πραγματοποιούνταν με έναν σταλάκτη παροχής 4 L/h για το κάθε φυτό.

Για την εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων τα φυτά που αναπτύσσονταν χωρίς καταπόνηση και τα φυτά που αναπτύσσονταν με συνδυασμένη καταπόνηση είχαν διαφορετικά συστήματα παροχής θρεπτικού διαλύματος τροφοδοσίας. Στα φυτά χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση χορηγούνταν θρεπτικό διάλυμα μέσω της κεφαλής υδρολίπανσης, ενώ στα φυτά που αναπτύσσονταν σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης πραγματοποιούνταν χειρωνακτική αραίωση του θρεπτικού διαλύματος σε δεξαμενή των 500L. Η δεξαμενή αυτή διέθετε αυτόματη αντλία που χορηγούσε το θρεπτικό διάλυμα στα φυτά. Οι συνταγές που χρησιμοποιήθηκαν κατά την διάρκεια της πειραματικής μελέτης παρατίθενται στο Παράρτημα της παρούσας διατριβής (Κεφ. 8.1).

Για την εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων, ο ημερήσιος αριθμός των κύκλων άρδευσης (κύκλος χορήγησης θρεπτικού διαλύματος) ήταν μεταβλητός και εξαρτιόταν από την ηλιοφάνεια της κάθε ημέρας. Πιο συγκεκριμένα, ο θάλαμος του θερμοκηπίου διέθετε ηλιόμετρο (Εικ. 3-3) το οποίο καθόριζε την συχνότητα των ποτισμάτων ώστε το ποσοστό απορροής των φυτών χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση να κυμαίνεται στο 20%. Στα φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη

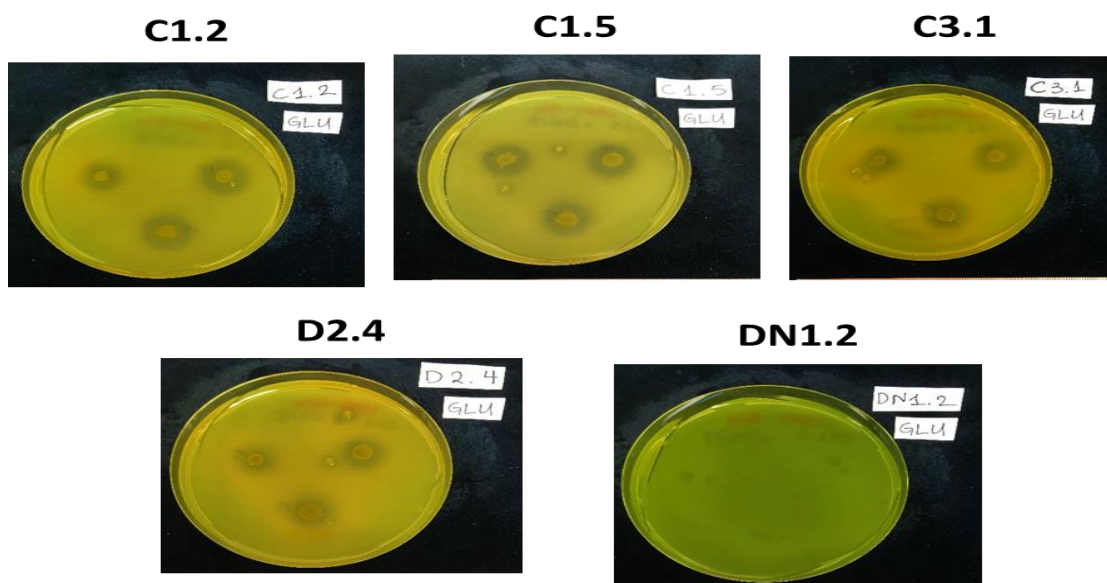


Εικόνα 3-3. Ηλιόμετρο εγκατεστημένο εντός του θαλάμου του θερμοκηπίου για την ρύθμιση των κύκλων χορήγησης του θρεπτικού διαλύματος στην καλλιέργεια.

καταπόνηση, οι κύκλοι άρδευσης ήταν οι ίδιοι με τα φυτά χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση, όμως ο χρόνος κάθε κύκλου άρδευσης ήταν ο μισός (50%). Με την συγκεκριμένη μεθοδολογία, στα φυτά με καταπόνηση χορηγούνταν 50% λιγότερη ποσότητα θρεπτικού διαλύματος, άρα και 50% λιγότερο νερό και θρεπτικά στοιχεία. Επιπλέον, το θρεπτικό διάλυμα των φυτών που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση περιείχε τις μισές ποσότητες αζώτου και φωσφόρου. Εν κατακλείδι, στα φυτά που αναπτύσσονταν κάτω από συνδυασμένη καταπόνηση χορηγούνταν το 50% του νερού, το 25 % των στοιχείων N και P και το 50% των υπόλοιπων στοιχείων σε σύγκριση με τα φυτά χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση.

3.3.3. Η εφαρμογή των PGPR

Στην παρούσα πειραματική μελέτη, εξετάστηκαν 5 διαφορετικά στελέχη ριζοβακτηρίων PGPR. Τα ριζοβακτήρια είχαν απομονωθεί από το Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας του ΓΠΑ και βρίσκονταν σε διαδικασία αξιολόγησης στα πλαίσια του προγράμματος TOMRES. Τα στελέχη αυτά ανήκουν σε γένη βακτηρίων τα οποία έχουν μελετηθεί από διάφορους ερευνητές για την δυνατότητά τους να προωθούν την ανάπτυξη των φυτών (Jha et al., 2011; Amaresan et al., 2020; Orozco-Mosqueda and Gustavo, 2020), ενώ βρίσκονταν και στο στάδιο της αξιολόγησης από το Εργ. Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας σχετικά με την δυνατότητά τους να διαλυτοποιούν τον φώσφορο (Εικ. 3-4). Τα στελέχη ήταν τα: *Enterobacter sp.* C1.2, *Enterobacter sp.* C1.5, *Paenibacillus sp.* DN1.2, *Enterobacter mori* C3.1, και *Lelliottia sp.* D2.4.



Εικόνα 3-4. Η δραστηριότητα της διαλυτοποίησης του φωσφόρου από τα 5 στελέχη PGPR που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική μελέτη (Μελίνα Γιαννακοπούλου, 2019, Master Thesis ΓΠΑ).

Για τις ανάγκες της παρούσας πειραματικής μελέτης, τα στελέχη *Enterobacter sp.* C1.2, *Enterobacter sp.* C1.5 χρησιμοποιήθηκαν ως μίγμα σε μια μεταχείριση φυτών, ενώ τα στελέχη *Paenibacillus sp.* DN1.2, *Enterobacter mori* C3.1 και *Lelliottia sp.* D2.4 εφαρμόστηκαν μεμονωμένα ως ξεχωριστές μεταχειρίσεις. Επιπλέον, στο πείραμα συμμετείχαν και φυτά μάρτυρες όπου δεν εφαρμόστηκε κάποιο στέλεχος ριζοβακτηρίων. Οι μεταχειρίσεις των PGPR στην πειραματική μελέτη παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 3.3.3.1.

Πίνακας 3.3.3.1. Μεταχειρίσεις της πειραματική μελέτης όσον αφορά τον εμβολιασμό με PGPR

Μεταχειρίσεις PGPR όπως αναφέρονται στην μελέτη	Επιστημονικές ονομασίες στελεχών PGPR
Μάρτυρας	Χωρίς εμβολιασμό με PGPR
PGPR-1	Μίγμα των στελεχών <i>Enterobacter sp.</i> C1.2 και <i>Enterobacter sp.</i> C1.5
PGPR-2	<i>Paenibacillus sp.</i> DN1.2
PGPR-3	<i>Enterobacter mori</i> C3.1
PGPR-4	<i>Lelliottia sp.</i> D2.4

Για την εφαρμογή των PGPR, πυκνά διαλύματα εναιωρήματος κάθε βακτηριακού στελέχους προετοιμάστηκαν από το Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας του ΓΠΑ. Τα εναιωρήματα αυτά περιείχαν 10^9 CFU ml⁻¹ (Colony forming Units ml⁻¹). Ακολούθησε αραιώση 1:10 σε ποτήρια ζέσεως των 1000 ml (Εικ. 3-5Α, 3-5Β). Στα φυτάρια της τομάτας αφαιρέθηκε η μπάλα υποστρώματος και οι ρίζες τοποθετήθηκαν στο αραιό εναιώρημα για 1 λεπτό (Εικ. 3-5Γ). Στην συνέχεια, τα γυμνόριζα φυτά της τομάτας μεταφυτεύτηκαν στις γλάστρες περλίτη μέσα στον θάλαμο του θερμοκηπίου. Ο εμβολιασμός των φυτών με τα PGPR επαναλήφθηκε 5 ημέρες μετά την μεταφύτευση με την χρήση πιπέτας όπου εφαρμόστηκαν 10 ml αραιού εναιωρήματος στο κάθε φυτό τομάτας (Εικ. 3-5Δ).



Εικόνα 3-5. Α) Πυκνό διάλυμα εναιωρήματος ριζοβακτηρίων 10^9 CFU ml⁻¹, Β) Αραιό διάλυμα εναιωρήματος ριζοβακτηρίων 10^8 CFU ml⁻¹, Γ) εμβάπτιση φυταρίων τομάτας σε αραιό εναιώρημα βακτηρίων, Δ) Εφαρμογή PGPR με την χρήση πιπέτας των 10 ml.

3.3.4. Η μεταβολομική ανάλυση

Η μεταβολομική ανάλυση δεν περιλάμβανε όλους τους συνδυασμούς των μεταχειρίσεων του πειράματος (καταπόνηση, PGPR, εμβολιασμός) λόγω του αυξημένου

κόστους αναλύσεων και της ιδιαίτερης δυσκολίας που θα προέκυπτε στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Η μεταβολομική ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε φυτά χωρίς και με συνδυασμένη καταπόνηση, αυτοεμβολιασμένα ή εμβολιασμένα στο υποκείμενο M82 και χωρίς PGPR ή εμβολιασμένα στο PGPR-3 (*Enterobacter mori* C3.1). Η επιλογή του συγκεκριμένου στελέχους έγινε λόγω των αξιόλογων πρωτογενών αποτελεσμάτων που έδωσε η μέτρησης νωπής βιομάζας από την πρώτη δειγματοληψία και μετά από καθοδήγηση από το Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας του ΓΠΑ όπου παράλληλα αξιολογούνταν τα βακτήρια σε εργαστηριακό επίπεδο.

Η δειγματοληψία της μεταβολομικής πραγματοποιήθηκε με την συλλογή νεαρών, πλήρως ανεπτυγμένων φύλλων τομάτας από υγιή φυτά, 55 ημέρες μετά την μεταφύτευση. Τα φύλλα τοποθετήθηκαν αμέσως μετά την αποκοπή τους σε υγρό άζωτο και αποθηκεύτηκαν στους -80 °C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία τους. Η λειοτριβήση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε γουδί με γουδοχέρι με την ταυτόχρονη έγχυση υγρού αζώτου (Εικ. 3-6A, 3-6B). Στην συνέχεια, 50 mg λειοτριβημένων δειγμάτων τοποθετήθηκαν σε σωληνάρια τύπου Eppendorf των 2 ml. Στα σωληνάρια τοποθετήθηκαν 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος εκχύλισης οξικού αιθυλεστέρα και μεθανόλης (50:50 v/v ethylacetate-methanol) και 20 μl διαλύματος ριβιτόλης (0,2 mg ribitol ml⁻¹ μεθανόλης). Έπειτα, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπερήχων για 20 min ώστε να δράσουν τα διαλύματα και να εκχυλιστεί ο μέγιστος δυνατός αριθμός των μεταβολιτών. Για τη βελτιστοποίηση του αποτελέσματος, στη συνέχεια τα δείγματα αναδεύτηκαν για 2 ώρες σε 150 rpm (GFL 3006, Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burfwedel, Germany). Στην συνέχεια έγινε η διήθηση με τη χρήση φίλτρου PTFE (Εικ. 3-6Γ) (Machery Nagel 25mm με διάμετρο πόρων \varnothing 0,2 μm) και έπειτα η εξάτμιση με αέρα θερμοκρασίας 25-30° C. Ακολούθησε η παραγωγοποίηση (derivatization) των δειγμάτων κατά την οποία προστέθηκαν 80 μl διαλύματος υδροχλωρικής μεθοξυλαμίνης (methoxylamine hydrochloride) συντ. MEOX (Sigma-Aldrich Ltd). Τα πλαστικά σωληνάρια τύπου Eppendorf, που περιείχαν τα παραγωγοποιημένα δείγματα, τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο (Daihan Labtech co Ltd) **Error! Reference source not found.**θερμοκρασίας 30 °C για 2 ώρες. Κατόπιν, προστέθηκαν 80 μl [N-methyl-N (trimethylsilyl) trifluoroacetylamine] συντ. MSTFA (Sigma-Aldrich Ltd). Τέλος, τα δείγματα τοποθετήθηκαν ξανά σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 38,7 °C για 1,5 h.

Το τελικό προϊόν που προέκυψε, αναλύθηκε στο Εργαστήριο Γεωργικής Φαρμακολογίας του ΓΠΑ στον αέριο χρωματογράφο-φασματομέτρο μάζας (GC/EI/MS Agilent 6890n, Agilent Technologies In.) με ανιχνευτή μάζας 5973 (inert mass selective detector, MSD) και αυτόματο δειγματολήπτη (7683 autosampler) (Εικ. 3-6Δ). Τα φάσματα

μάζας που ελήφθησαν από το GC/EI/MS, συγκρίθηκαν με αντίστοιχα -ίδια αναλυτικής μεθόδου- της βάσης δεδομένων του NIST '08 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, United States) <https://www.nist.gov> και της διαδικτυακής βάσης δεδομένων Golm Metabolom Database (<http://gmd.mpimp-golm.mpg.de>). Όταν υπήρχε ταύτιση σε μεγάλο βαθμό (π.χ. 90%) η χημική ένωση θεωρούνταν δυνητικά ταυτοποιημένη. Σε διαφορετική περίπτωση, πραγματοποιούνταν απόλυτη αναγνώριση με ανάλυση γνωστών ενώσεων στο ίδιο GC/EI/MS, με την ίδια μέθοδο, οι οποίες έδωσαν ίδια χρωματογραφήματα.

Η στατιστική ανάλυση της μεταβολομικής πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό MSD Chemstation (Agilent) και συγκεκριμένα με το λογισμικό AMDIS v2.66 της βάσης δεδομένων NIST '08. Ο ποιοτικός έλεγχος της ανάλυσης έγινε με ομαδοποίηση των επεμβάσεων και ανακάλυψη βιοσημαντών (biomarkers) μέσω της μεθόδου των ορθογωνίων ελαχίστων τετραγώνων (Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis, OPLS-DA) ($p < 0,05$), με χρήση του λογισμικού SIMCA-P v.13.0.3 (Sartorius Stedim Data Analytics AB, Umeå, Sweden), όπως έχει περιγραφεί από τους Chatzigianni et al. (2020), Karamanou and Aliferis, (2020) και Kostoroulou et al. (2020). Τέλος, η ιεραρχική ανάλυση συστάδων (HCA) των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο Ward (Ward, 1963).



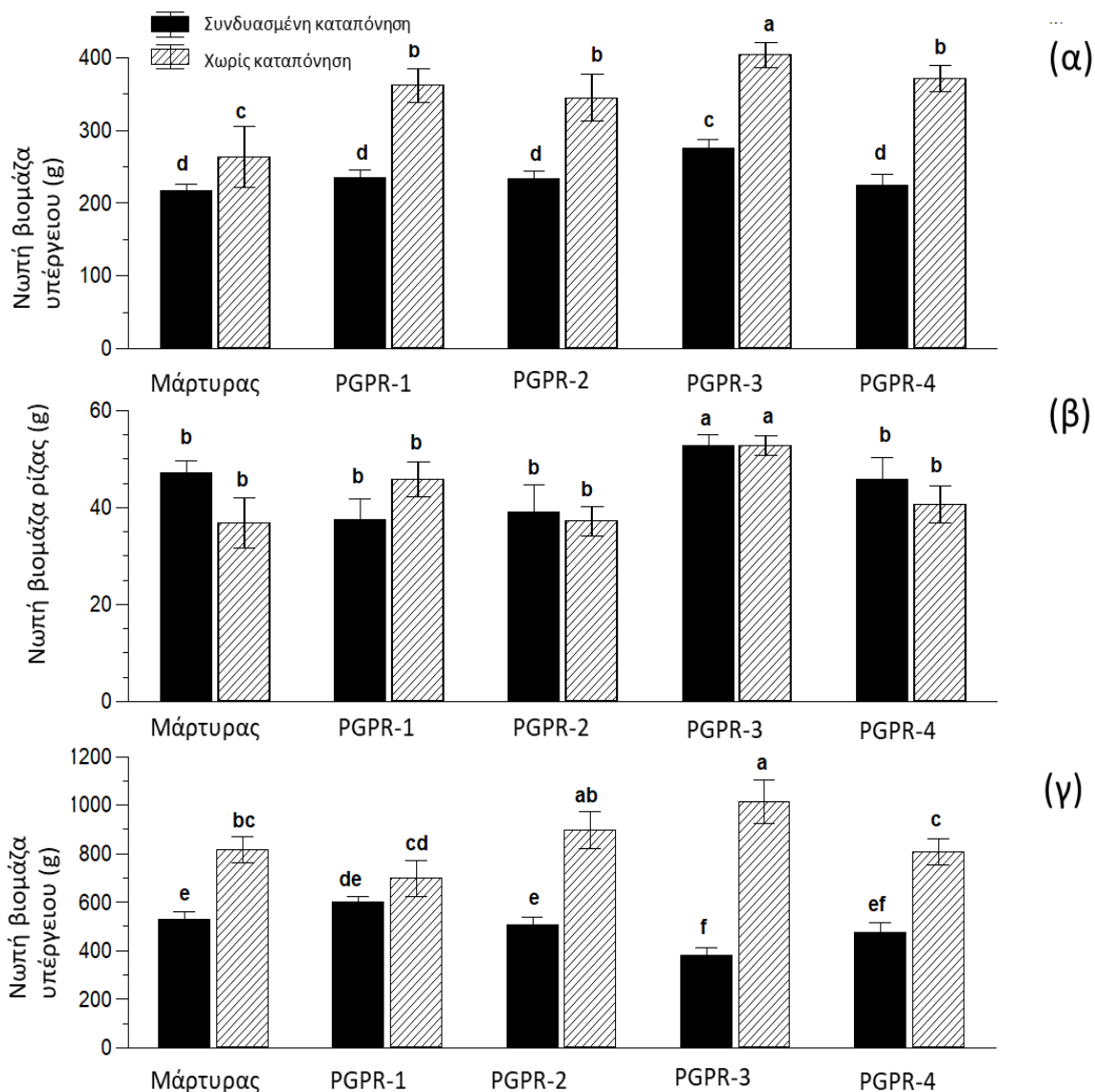
Εικόνα 3-6. Χειρισμός των δειγμάτων μεταβολομικής. Α,Β: λειοτριβήση δειγμάτων με την ταυτόχρονη εφαρμογή υγρού αζώτου. Γ: διήθηση με τη χρήση φίλτρου PTFE. Δ: αέριος χρωματογράφος.

3.4. Αποτελέσματα

3.4.1. Νωπή βιομάζα φυτών

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η νωπή και ξηρή βιομάζα των φυτών μετρήθηκε 6 εβδομάδες μετά την μεταφύτευση και στο τέλος της καλλιέργειας (18 εβδομάδες). Στο Διάγραμμα 3.4.1.1α παρατηρείται ότι η συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων (N και P) μείωσαν σημαντικά την νωπή βιομάζα του υπέργειου μέρους των φυτών. Επιπρόσθετα, ο εμβολιασμός με PGPR αύξησε την νωπή βιομάζα του υπέργειου συγκριτικά με τον μάρτυρα όπου δεν εφαρμόστηκε εμβολιασμός με κάποιο στέλεχος PGPR. Μάλιστα, το PGPR-3 είχε την υψηλότερη νωπή βιομάζα συγκριτικά με τα υπόλοιπα στελέχη PGPR. Το PGPR-3 εμφάνισε επίσης και την υψηλότερη νωπή βιομάζα ρίζας συγκριτικά με τα υπόλοιπα στελέχη και με τον μάρτυρα, τόσο σε ιδανικές συνθήκες καλλιέργειας όσο και υπό συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης (Διαγρ. 3.4.1.1β).

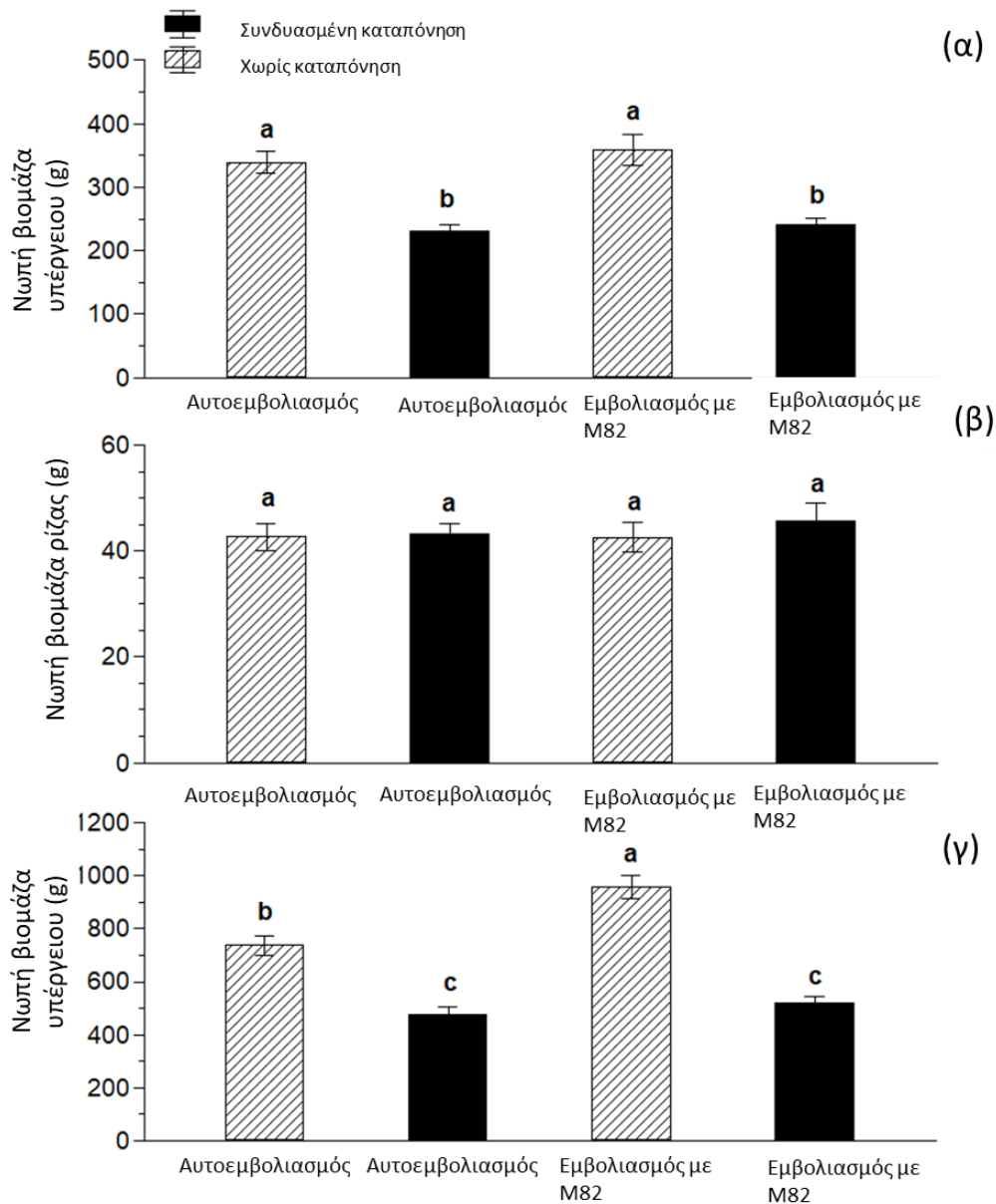
Η μειωμένη νωπή βιομάζα υπέργειου λόγω της συνδυασμένης καταπόνησης παρατηρήθηκε και στο τέλος της καλλιέργειας (Διαγρ. 3.4.1.1γ). Η εφαρμογή των PGPR επηρέασε σημαντικά την νωπή βιομάζα του υπέργειου μέρους των φυτών, με την επίδρασή της να αλληλοεπιδρά και με την καταπόνηση. Πιο συγκεκριμένα, το PGPR-3 είχε στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη ανάπτυξη βιομάζας σε σύγκριση με τον μάρτυρα και τις μεταχειρίσεις με PGPR-1 και PGPR-4 κατά την καλλιέργεια σε ιδανικές συνθήκες. Σε αντίθεση όμως με τις ιδανικές συνθήκες, το PGPR-3 είχε την χαμηλότερη νωπή βιομάζα όταν τα φυτά αναπτύχθηκαν υπό συνδυασμένη καταπόνηση σε σύγκριση με τον μάρτυρα, το PGPR-1 και το PGPR-Σ2. Μάλιστα ενδιαφέρον αποτελεί και το γεγονός ότι με την εφαρμογή του PGPR-1 στα φυτά της τομάτας, η νωπή βιομάζα των φυτών δεν διέφερε σημαντικά όταν τα φυτά αναπτύχθηκαν κάτω από ιδανικές συνθήκες ή συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης.



Διαγραμμα 3.4.1.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης (μείωση του νερού, του αζώτου και του φωσφόρου κατά 50%) και της εφαρμογής PGPR στην νωπή βιομάζα του υπέργειου μέρους των φυτών έξι εβδομάδες μετά την μεταφύτευση (α) της ρίζας 6 εβδομάδες μετά την μεταφύτευση (β) και στην νωπή βιομάζα του υπέργειου μέρους των φυτών στο τέλος της καλλιέργειας (γ). Οι μέσοι ($n = 3$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$).

Η νωπή βιομάζα των φυτών δεν επηρεάστηκε από τον εμβολιασμό των φυτών στο υποκείμενο M82 κατά τις πρώτες 6 εβδομάδες της καλλιέργειας (Διαγρ. 3.4.1.2α). Ομοίως, δεν παρατηρήθηκε αύξηση του νωπού βάρους της ρίζας (Διαγρ. 3.4.1.2β). Αντίθετα όμως με τις πρώτες 6 εβδομάδες ανάπτυξης των φυτών, κατά το πέρας της καλλιέργειας, τα φυτά που ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο M82 αύξησαν την νωπή βιομάζα του υπέργειου μέρους κατά 30% σε σύγκριση με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά κάτω από ιδανικές συνθήκες. Η επίδραση του υποκειμένου M82 όμως δεν φάνηκε να είναι το ίδιο ισχυρή κάτω από συνθήκες

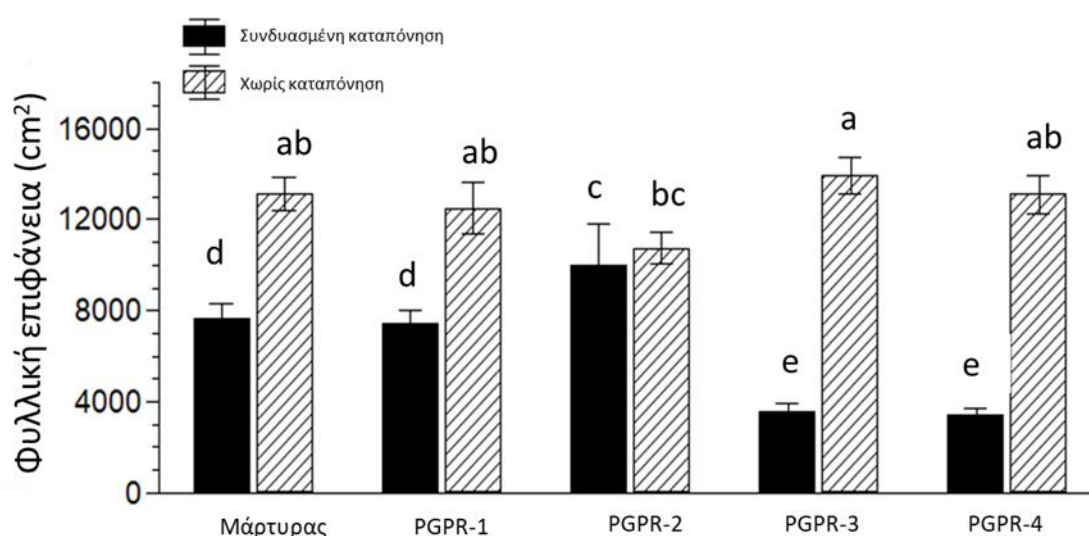
συνδυασμένη καταπόνηση, αφού τα φυτά που ήταν εμβολιασμένα στο M82 δεν εμφάνισαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά.



Διάγραμμα 3.4.1.2. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης (μείωση του νερού, του αζώτου και του φωσφόρου κατά 50%) και του εμβολιασμού στη νωπή βιομάζα των του υπέργειου μέρους των φυτών (i) και της ρίζας (ii) 6 εβδομάδες μετά την μεταφύτευση και στην νωπή βιομάζα του υπέργειου μέρους των φυτών (iii) στο τέλος της καλλιέργειας. Οι μέσοι ($n = 3$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$).

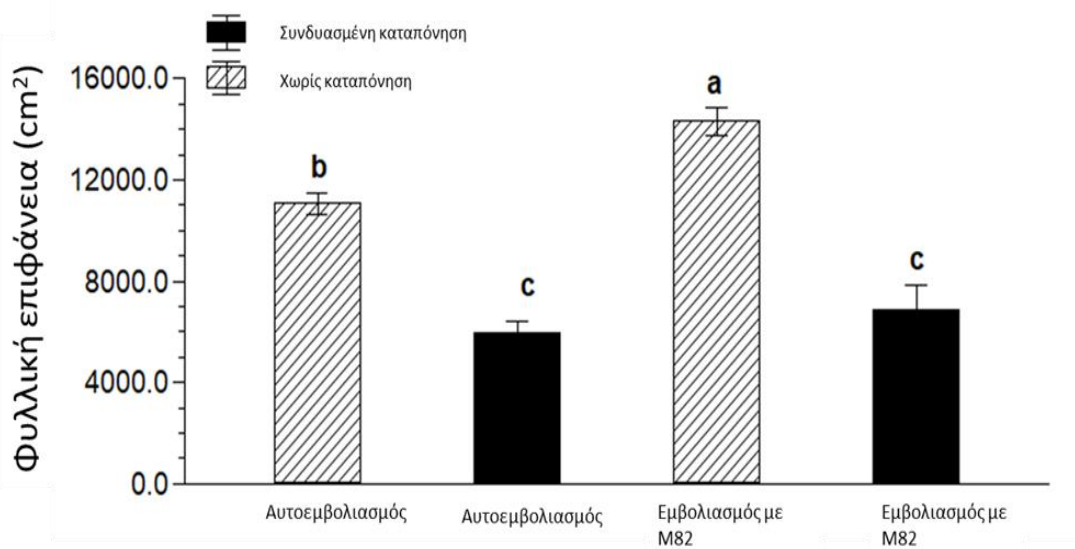
3.4.2. Φυλλική επιφάνεια

Η φυλλική επιφάνεια των φυτών κατά το πέρας της καλλιέργειας επηρεάστηκε σημαντικά από την εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης, τα PGPR και τον εμβολιασμό στο υποκείμενο M82. Όσον αφορά τα PGPR, η εφαρμογή τους σε συνθήκες χωρίς καταπόνηση δεν επηρέασε την φυλλική επιφάνεια των φυτών, με εξαίρεση το PGPR-2 το οποίο μείωσε την φυλλική επιφάνεια σε σύγκριση με τον μάρτυρα (Διαγρ. 3.4.2.1). Σε αντίθεση όμως με τις ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης, κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών, το PGPR-2 αύξησε την φυλλική επιφάνεια σε σύγκριση με τον μάρτυρα, ενώ τα PGPR-3 και PGPR-4 είχαν μειωμένη φυλλική επιφάνεια σε σύγκριση με τον μάρτυρα.



Διάγραμμα 3.4.2.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης (μείωση του νερού, του αζώτου και του φωσφόρου κατά 50%) και του εμβολιασμού στη συνολική φυλλική επιφάνεια των φυτών τομάτας στο τέλος της καλλιέργειας. Οι μέσοι ($n = 3$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$).

Ο εμβολιασμός στο υποκείμενο M82 αύξησε κατά 29% την φυλλική επιφάνεια των φυτών σε συνθήκες χωρίς καταπόνηση συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά (Διαγρ. 3.4.2.2). Η αύξηση όμως αυτή δεν παρατηρήθηκε κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης αφού τα φυτά που ήταν εμβολιασμένα στο M82 δεν είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές με τα φυτά που ήταν αυτοεμβολιασμένα. Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι δεν παρατηρήθηκε κάποια αλληλεπίδραση μεταξύ της εφαρμογής των PGPR και του εμβολιασμού ή μη στο υποκείμενο M82.



Διάγραμμα 3.4.2.2. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης (μείωση του νερού, του αζώτου και του φωσφόρου κατά 50%) και του εμβολιασμού στη συνολική φυλλική επιφάνεια των φυτών τομάτας. Οι μέσοι ($n = 3$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$).

3.4.3. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας

Με βάση τον πίνακα 3.4.3.1, η συνδυασμένη καταπόνηση μείωσε την συνολική παραγωγή των φυτών της τομάτας κατά 34,8% συγκριτικά με τα φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς καταπόνηση. Η μείωση της συνολικής παραγωγής ήταν απόρροια τόσο του μειωμένου αριθμού καρπών (-15,7%) και του μειωμένου μέσου βάρους καρπών (-22,7%) στα φυτά με συνδυασμένη καταπόνηση. Η σημαντική μείωση της παραγωγής των καταπονημένων φυτών προήλθε κυρίως από μείωση των καρπών που κατατάχθηκαν στην κατηγορία Extra Class και Class I, ενώ στην κατηγορία Class II τα φυτά με συνδυασμένη καταπόνηση είχαν κατά 24% περισσότερους καρπούς ανά τετραγωνικό μέτρο.

Η εφαρμογή των PGPR βακτηρίων δεν είχε σημαντική επίδραση στην συνολική παραγωγή των φυτών της τομάτας σε καρπούς, ούτε επηρέασε τον αριθμό των καρπών ανά φυτό, το μέσο βάρος καρπού ή την ποιοτική κατάταξη των καρπών.

Ο εμβολιασμός στο υποκείμενο M82 δεν επηρέασε σημαντικά το μέσο βάρος των καρπών της τομάτας, όμως αύξησε τον αριθμό των καρπών κατά 11,6% συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά. Επιπλέον, ο εμβολιασμός στο υποκείμενο M82 αύξησε κατά 12,8% και τους καρπούς που κατατάχθηκαν στις κατηγορίες Extra Class και Class I συγκριτικά με τα εμβολιασμένα φυτά, ενώ τέλος, δεν επηρέασε σημαντικά τους καρπούς της κατηγορίας Class II.

Πίνακας 3.4.3.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης (μείωση του νερού, του αζώτου και του φωσφόρου κατά 50%), της εφαρμογής PGPR και του εμβολιασμού στην συνολική παραγωγή της τομάτας, τον αριθμό καρπών το μέσο βάρος καρπού, το συνολικό βάρος των καρπών κατηγορίας Extra class, Class I και το συνολικό βάρος καρπών κατηγορίας Class II.

Μεταχείριση	Συνολική παραγωγή (kg/m ²)	Αριθμός καρπών /m ²	Μέσο βάρος καρπού (g)	Καρποί κατηγορίας Extra class και Class I (kg/m ²)	Καρποί κατηγορίας Class II (kg/m ²)
ΧΚ	4.20 a	26.4 a	159.2 a	3.99 a	0,21 b
ΣΚ	2.74 b	20.4 b	134.2 b	2.48 b	0,26 a
Μάρτυρας	3.33	23.3	142.7	3.09	0,23
PGPR-1	3.55	24.4	145.3	3.28	0,27
PGPR-2	3.54	23.7	149.2	3.30	0,24
PGPR-3	3.49	23.5	148.2	3.31	0,18
PGPR-4	3.43	23.2	148.1	3,18	0,24
Αυτοεμβολιασμός	3.28 b	22.1 b	148.4	3.04 b	0,24
Έμβ. με M82	3.66 a	25.2 a	145.0	3.43 a	0,23
Στατιστικές αλληλεπιδράσεις					
ΧΚ × ΑΕ	3,88	24,19	160,41	3.65 b	0,23
ΧΚ × M82	4,52	28,62	157,93	4.34 a	0,19
ΣΚ × ΑΕ	2,68	19,64	136,44	2.43 c	0,25
ΣΚ × M82	2,79	21,13	132,01	2.53 c	0,27
Στατιστική σημαντικότητα					
Καταπόνηση	***	***	***	***	***
PGPR	ns	ns	ns	ns	ns
Υποκείμενο	*	*	ns	*	ns
Κ × PGPR	ns	ns	ns	ns	ns
Κ × Υ	ns	ns	ns	**	ns
PGPR × Υ	ns	ns	ns	ns	ns
Κ × PGPR × Υ	ns	ns	ns	ns	ns

ΧΚ, Χωρίς καταπόνηση: Καλλιέργεια υπό ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης.

ΣΚ, Συνδυασμένη καταπόνηση: Καλλιέργεια με 50% μειωμένη παροχή νερού και θρεπτικών Ν, Ρ.

PGPR-1: Εμβολιασμός με την μίξη των PGPR *Enterobacter* sp. C1.2, *Enterobacter* sp. C1.5.

PGPR-2 Εμβολιασμός με PGPR *Raenibacillus* sp. DN1.2.

PGPR-3 Εμβολιασμός με PGPR *Enterobacter mori* C3.1.

PGPR-4 Εμβολιασμός με PGPR *Lelliottia* sp. D2.4.

ΑΕ: Αυτοεμβολιασμός

M82: Εμβολιασμός στο υποκείμενο M82

Οι μέσοι (n = 3) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan (p <0,05), *, **, *** σημαντική σε p <0,05 και p <0,01 και p <0,001, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

3.4.4. Θρεπτική κατάσταση φύλλων και καρπών

Η περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία στα φύλλα αυξήθηκε σημαντικά με την εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης, όμως η συγκέντρωση του αζώτου, του φωσφόρου και του καλίου στο ξηρό βάρος των φύλλων ήταν σημαντικά μειωμένη στα υπό καταπόνηση φυτά συγκριτικά με τα φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς καταπόνηση (Πίνακας 3.4.4.1). Βέβαια, παρόλο που το ολικό άζωτο των φύλλων ήταν μειωμένο λόγω της συνδυασμένης καταπόνησης, η εφαρμογή των PGPR-2 και PGPR-4 οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του ολικού αζώτου στα φύλλα των φυτών που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση, με αποτέλεσμα τα φυτά αυτά να μην εμφανίζουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές συγκριτικά με τα φυτά που αναπτύσσονταν σε ιδανικές συνθήκες (Διαγρ. 3.4.4.1). Η επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης στις συγκεντρώσεις K και P ήταν ανεξάρτητη από την εφαρμογή PGPR και εμβολιασμού. Η εφαρμογή του εμβολιασμού δεν επηρέασε το ποσοστό του ξηρού βάρους ή την συγκέντρωση του αζώτου στα φύλλα, ανεξάρτητα από την εφαρμογή συνδυασμένης καταπόνησης ή PGPR.

Η συγκέντρωση του φωσφόρου στα φύλλα, δεν επηρεάστηκε από την εφαρμογή των PGPR, όμως ο εμβολιασμός στο υποκείμενο M82 επηρέασε σημαντικά την συγκέντρωση φωσφόρου, με τα εμβολιασμένα φυτά να έχουν κατά 14% μειωμένη συγκέντρωση φωσφόρου, χωρίς να παρατηρείται αλληλεπίδραση με την καταπόνηση ή τα PGPR. Τέλος, το κάλιο στα φύλλα δεν επηρεάστηκε από τα PGPR ή τον εμβολιασμό στα φυτά της τομάτας στην παρούσα μελέτη.

Η περιεκτικότητα των καρπών της τομάτας σε ξηρή ουσία επηρεάστηκε σημαντικά από την συνδυασμένη καταπόνηση, με τα φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση να έχουν σημαντικά αυξημένο ποσοστό ξηρής ουσίας. Εν αντιθέσει, η συγκέντρωση του φωσφόρου και του καλίου ήταν σημαντικά μειωμένη στην ξηρή ουσία των καρπών από φυτά που εκτέθηκαν σε συνδυασμένη καταπόνηση συγκριτικά με καρπούς από φυτά που αναπτύσσονταν δίχως καταπόνηση, χωρίς αλληλεπιδράσεις με τα PGPR ή τον εμβολιασμό. Η εφαρμογή των PGPR και του εμβολιασμού δεν επηρέασε σημαντικά το ποσοστό της ξηρής ουσίας στους καρπούς ή την συγκέντρωση φωσφόρου και καλίου σε αυτούς.

Πίνακας 3.4.4.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης (μείωση του νερού, του αζώτου και του φωσφόρου κατά 50%), της εφαρμογής PGPR και του εμβολιασμού στο ποσοστό του ξηρού βάρους, την συγκέντρωση αζώτου, φωσφόρου και καλίου στα φύλλα και το ποσοστό ξηρού βάρους, την συγκέντρωση φωσφόρου και καλίου στους καρπούς της τομάτας.

Μεταχείριση	Φύλλα				Καρποί		
	Περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία %	N (g kg ⁻¹ ΞΒ)	P (g kg ⁻¹ ΞΒ)	K (g kg ⁻¹ ΞΒ)	Περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία %	P (g kg ⁻¹ ΞΒ)	K (g kg ⁻¹ ΞΒ)
ΧΚ	5,1 b	35,2 a	7,30 a	51,4 a	5,39 b	6,06 a	59,7 a
ΣΚ	7,1 a	32,1 b	2,60 b	45,2 b	6,55 a	4,85 b	56,6 b
Μάρτυρας	5,77	32,3 b	5,36	53,8	6,50	5,62	57,7
PGPR-1	6,29	31,2 b	4,69	49,3	6,72	5,45	57,5
PGPR-2	5,77	37,0 a	4,57	48,2	6,07	5,05	59,2
PGPR-3	6,13	33,2 b	5,17	46,8	5,40	5,74	62,2
PGPR-4	6,94	34,5 ab	4,99	43,8	5,17	5,43	54,2
Αυτόεμβολιασμός	6,32	34,6	5,33 a	48,3	5,65	5,59	59,0
Εμβ. με M82	5,97	32,7	4,58 b	48,2	6,30	5,33	57,3
Στατιστική σημαντικότητα							
Καταπόνηση	***	**	***	*	***	***	***
PGPR	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
Υποκείμενο	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns
K × PGPR	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
K × Y	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PGPR × Y	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
K × PGPR × Y	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ΧΚ, Χωρίς καταπόνηση: Καλλιέργεια υπό ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης.

ΣΚ, Συνδυασμένη καταπόνηση: Καλλιέργεια με 50% μειωμένη παροχή νερού και θρεπτικών Ν, Ρ.

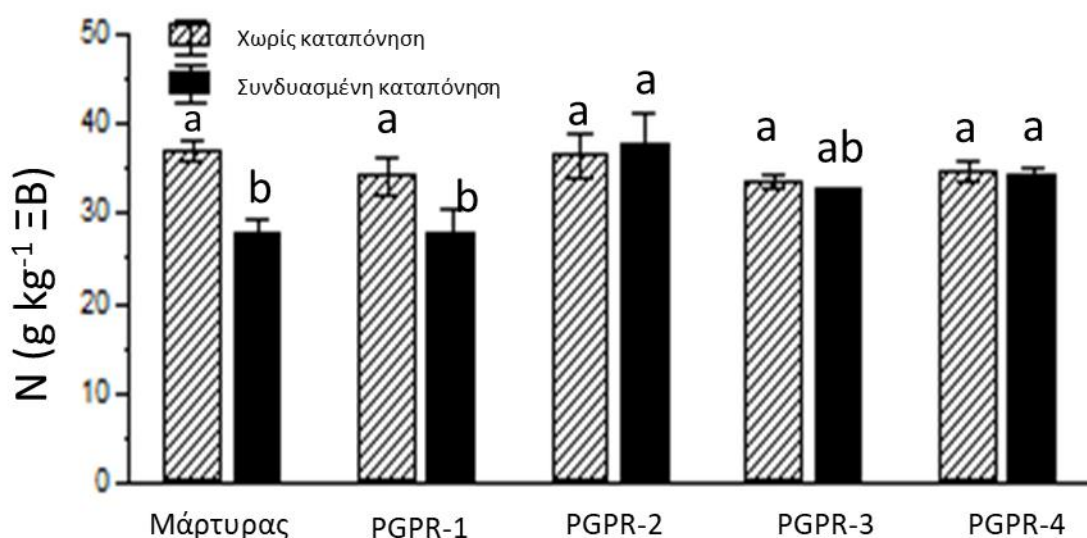
PGPR-1: Εμβολιασμός με την μίξη των PGPR *Enterobacter* sp. C1.2 και *Enterobacter* sp. C1.5.

PGPR-2 Εμβολιασμός με PGPR *Raenibacillus* sp. DN1.2.

PGPR-3 Εμβολιασμός με PGPR *Enterobacter mori* C3.1.

PGPR-4 Εμβολιασμός με PGPR *Lelliottia* sp. D2.4.

Οι μέσοι (n = 3) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan (p <0,05), *, **, *** σημαντική σε p <0,05 και p <0,01 και p <0,001, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

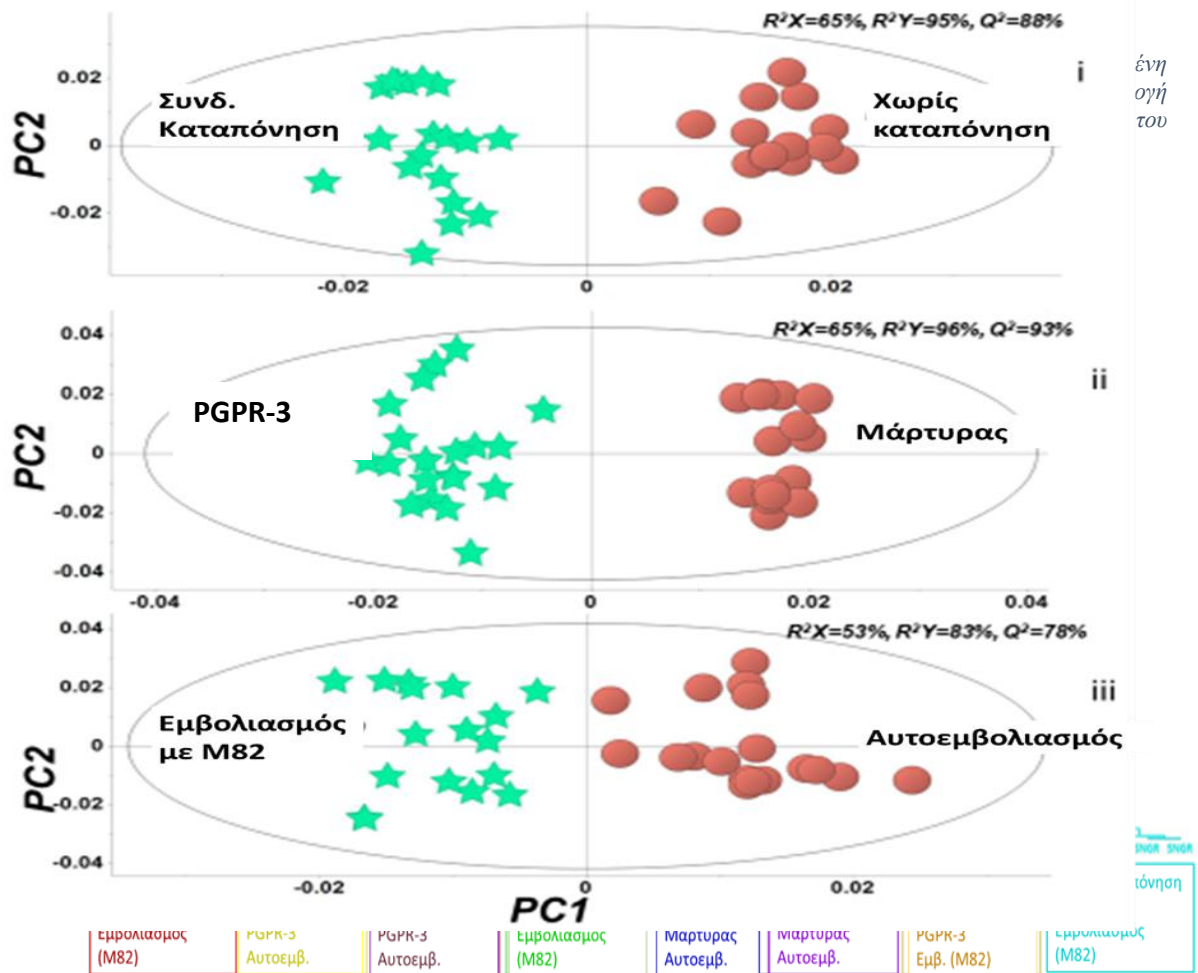


Διάγραμμα 3.4.4.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης σε συνδυασμό με την εφαρμογή PGPR στη συγκέντρωση αζώτου στα φύλλα της τομάτας. Χωρίς καταπόνηση: Καλλιέργεια υπό ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης. Συνδυασμένη καταπόνηση: Καλλιέργεια με 50% μειωμένη παροχή νερού και θρεπτικών N, P. PGPR-1: Εμβολιασμός με την μίξη των PGPR *Enterobacter* sp. C1.2, *Enterobacter* sp. C1.5. PGPR-2 Εμβολιασμός με PGPR *Paenibacillus* sp. DNI.2. PGPR-3 Εμβολιασμός με PGPR *Enterobacter mori* C3.1. PGPR-4 Εμβολιασμός με PGPR *Lelliottia* sp. D2.4. Οι μέσοι ($n = 3$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$).

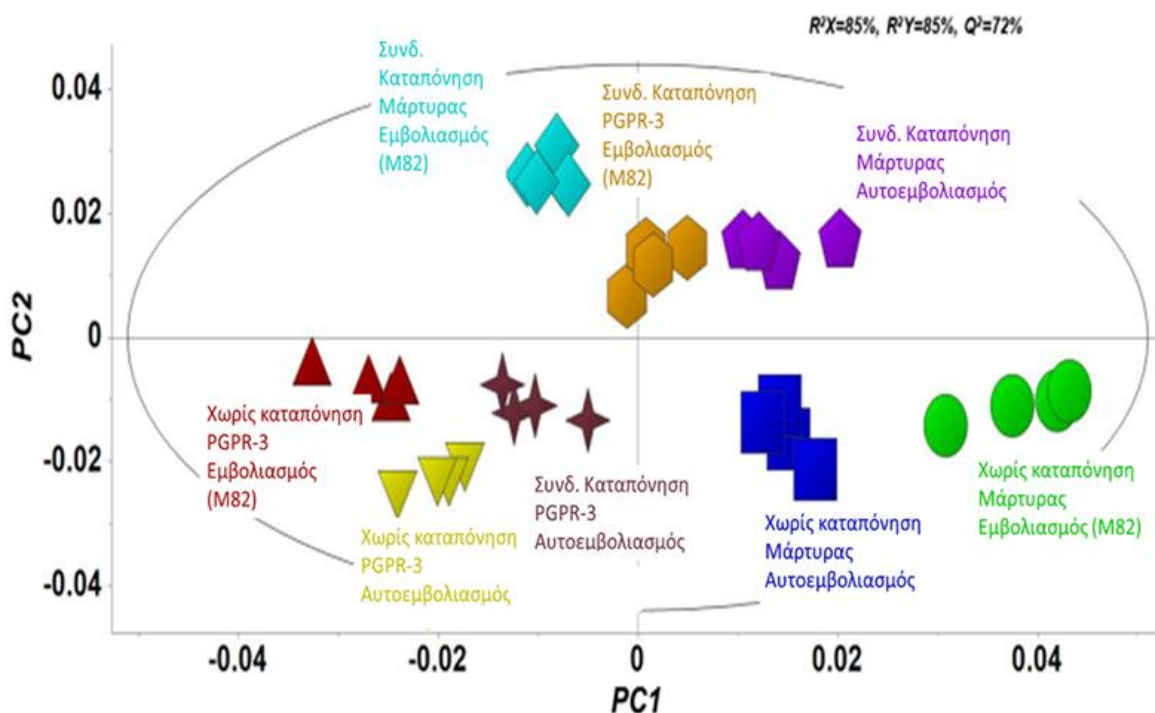
3.4.5. Μεταβολομική ανάλυση

Με την εφαρμογή της μεταβολομικής ανάλυσης των φύλλων της τομάτας, προσδιορίστηκαν 167 μεταβολίτες οι οποίοι ανήκαν σε διαφορετικές χημικές ομάδες (αλκοόλες, αμινοξέα, υδατάνθρακες, καρβοξυλικά οξέα, λιπαρά οξέα, φωσφορικό οξύ και παράγωγα και νιτρίλια). Η εφαρμογή του OPLS-DA οδήγησε σε διαμόρφωση ξεχωριστών και διακριτών ομαδοποιήσεων για την κάθε επέμβαση (συνδυασμένη καταπόνηση, εφαρμογή PGPR και εμβολιασμός στο M82) χωρίς να υπάρχουν ακραίες τιμές (Διαγρ. 3.4.5.1.). Η ιεραρχική ομαδοποίηση του διαγράμματος 3.4.5.2. δείχνει ότι η εφαρμογή του PGPR-3 οδήγησε στην μέγιστη διαφοροποίηση του μεταβολισμού των φύλλων της τομάτας συγκριτικά με τα φυτά χωρίς εφαρμογή PGPR (φυτά μάρτυρες), με εξαίρεση τα φυτά που εφαρμόστηκε το PGPR-3 αλλά αναπτύχθηκαν σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης και ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο M82. Με την πολυπαραγοντική ανάλυση που παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.4.5.3. παρατηρείται επίσης ότι το PGPR-3 διαχωρίστηκε ξεκάθαρα από τα φυτά μάρτυρες (χωρίς εφαρμογή PGPR), με εξαίρεση τα φυτά που εφαρμόστηκε το βακτήριο PGPR-3 αλλά ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο M82 και αναπτύχθηκαν κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης. Επιπλέον, στο Διάγραμμα 3.4.5.3. παρατηρείται ότι το

μεταβολικό προφίλ των φυτών όπου αναπτύχθηκαν χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση διαχωρίστηκαν ξεκάθαρα από τα φυτά που αναπτύχθηκαν με συνδυασμένη καταπόνηση, με εξαίρεση τα αυτοεμβολιασμένα φυτά όπου είχε εφαρμοστεί το PGPR-3.



Διάγραμμα 3.4.5.2. Δενδρόγραμμα OPLS για την καταγεγραμμένο GC/EI/MS μεταβολικό προφίλ των φύλλων τομάτας. Η απόσταση μεταξύ των συστάδων υπολογίστηκε με βάση τη μέθοδο σύνδεσης Ward.

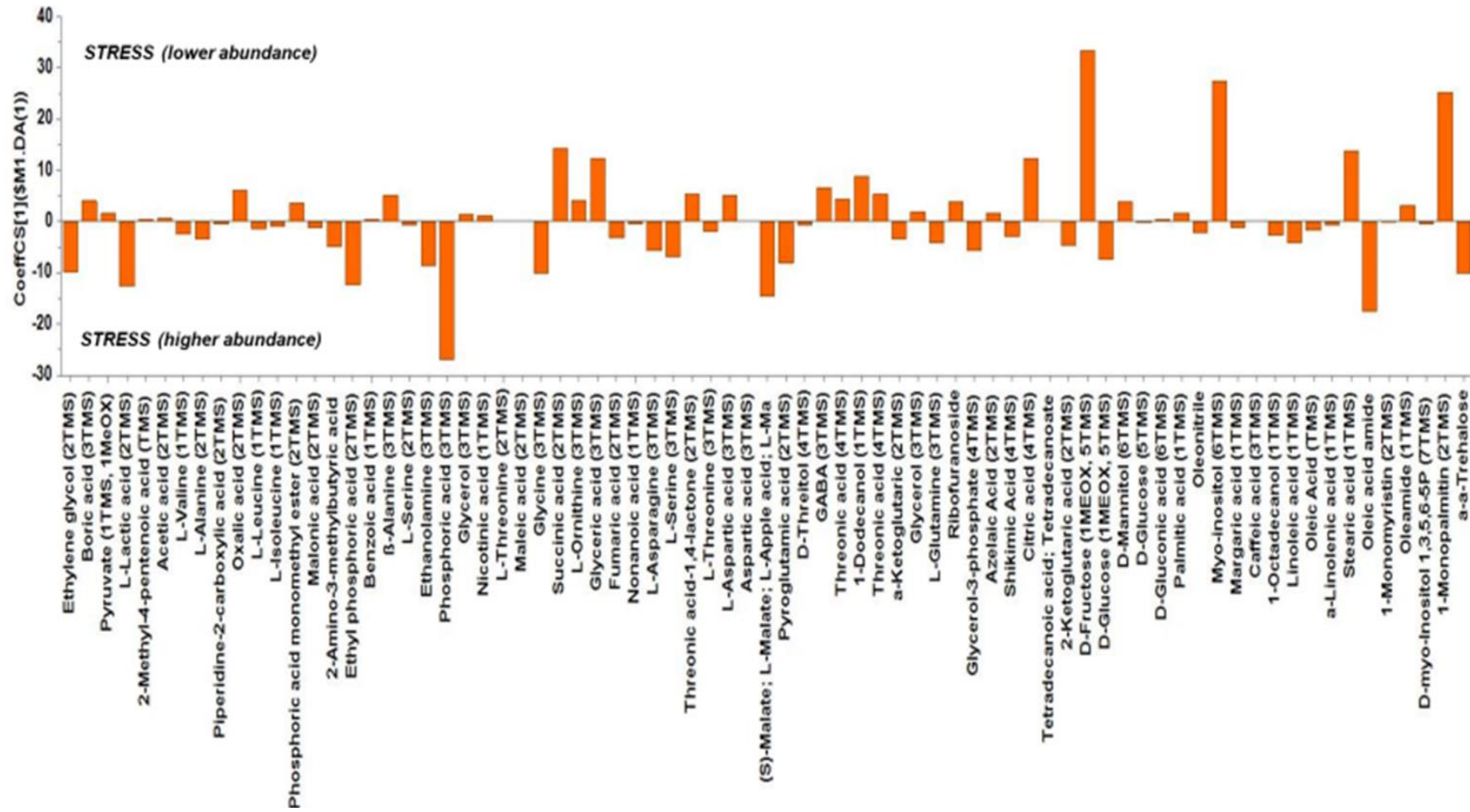


Διάγραμμα 3.4.5.3. OPLS-DA score-plots πολυπαραγοντικών αναλύσεων των GC/EI/MS μεταβολικών προφίλ των μεταχειρίσεων με συνδυασμένη καταπόνηση συνδυασμένη καταπόνηση (μείωση του νερού, του αζώτου και του φωσφόρου κατά 50%) ή χωρίς καταπόνηση, της εφαρμογής του PGPR-3 (*Enterobacter mori* C3.1.) ή μη, και του εμβολιασμού στο υποκείμενο M82 η τον αυτοεμβολιασμό στα φύλλα της τομάτας.

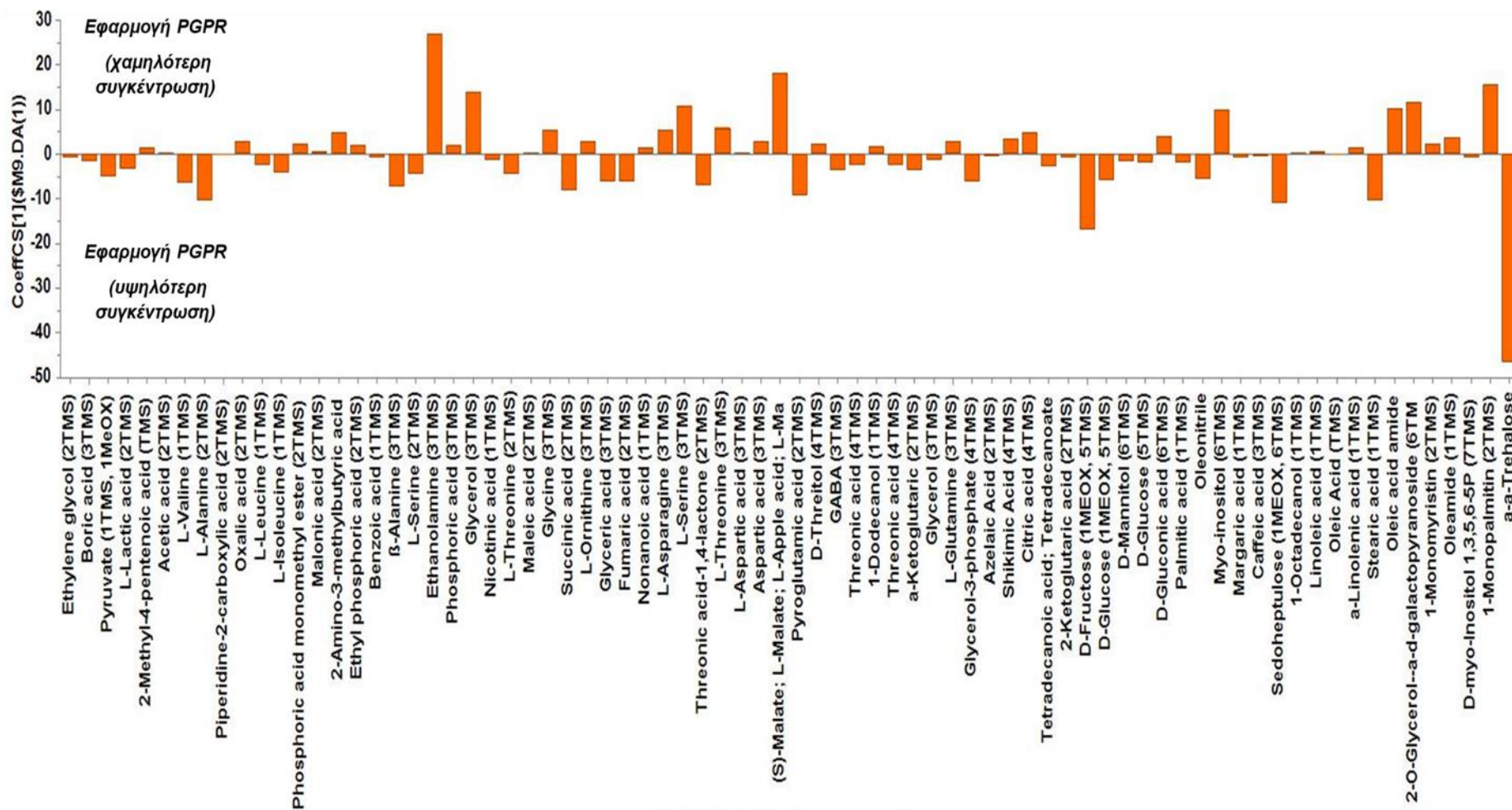
Πλήθος δευτερογενών μεταβολιτών παρουσίασαν αύξηση ή μείωση της συγκέντρωσής τους στα φύλλα των φυτών της τομάτας λόγω της επίδρασης της συνδυασμένης καταπόνησης (Διάγρ. 3.4.5.4.), της εφαρμογής του PGPR-3 (Διάγρ. 3.4.5.5.) και του εμβολιασμού στο υποκείμενο M82 (Διάγρ. 3.4.5.6.). Όσον αφορά την καταπόνηση, με την εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης οι μεταβολίτες ethylene glycol, L-lactic acid, ethyl phosphoric acid, phosphoric acid, glycine, malate, pyroglutaminic acid, oleic acid και α-α-trehalose ήταν αυτοί που παρουσίασαν πέραν του 10 φορές αυξημένη βιοσύνθεση συγκριτικά με την μη εφαρμογή συνδυασμένης καταπόνησης. Στον αντίποδα, οι μεταβολίτες succinic acid, glyceric acid, citric acid, D-fructose, myo-inositol, stearic acid και 1-monopalmitin παρουσίασαν πέραν του 10 φορές μειωμένη συγκέντρωση συγκριτικά με την μη εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης (Διαγρ. 3.4.5.4).

Οι μεταβολίτες με την σημαντικότερη αύξηση της συγκέντρωσής τους (πέραν από 10 φορές αύξηση) στα φύλλα της τομάτας λόγω της εφαρμογής του PGPR-3 ήταν οι D-fructose και α-α-trehalose συγκριτικά με τον μάρτυρα, ενώ οι μεταβολίτες με την σημαντικότερη μείωση της συγκέντρωσής τους ήταν οι ethanolamine, glycerol, malate, myo-inositol, oleic

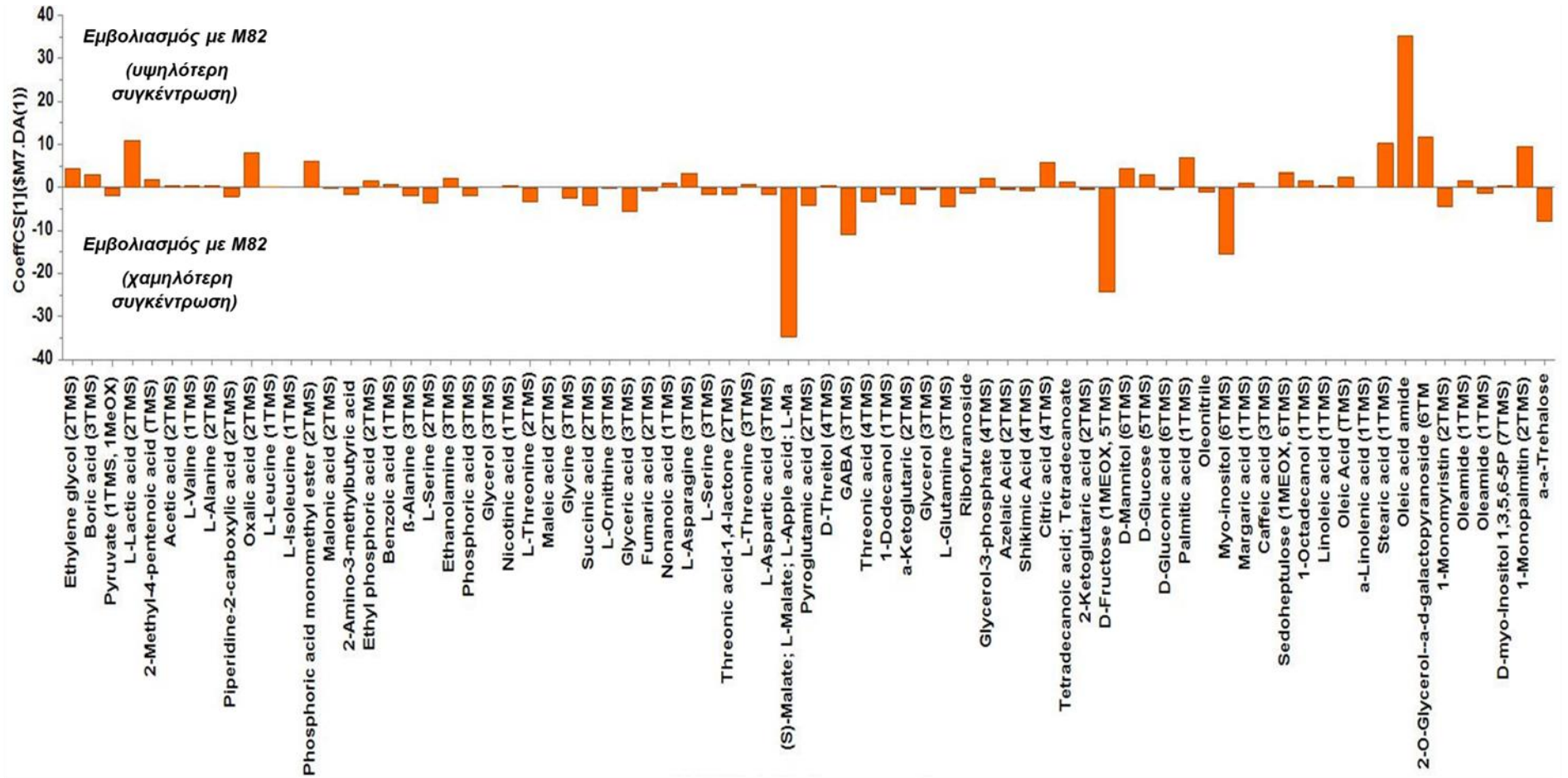
acid, 2-O-glyceron- α -D-galactopyranoside και ο 1-monopalmitin συγκριτικά με τον μάρτυρα (Διαγρ. 3.4.5.5). Τέλος, ο εμβολιασμός της ποικιλίας Belladonna στο υποκείμενο M82 οδήγησε σε μεγαλύτερη από 10 φορές αύξηση της βιοσύνθεσης των μεταβολιτών των stearic acid, oleic acid, 2-Oglycerol- α -D-galactopyranoside και 1- monopalmitin συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά, ενώ μείωσε περισσότερο από 10 φορές την συγκέντρωση των μεταβολιτών malate, D-fructose και myo-inositol συγκριτικά με τα φύλλα των αυτοεμβολιασμένων φυτών Belladonna (Διαγρ. 3.4.5.6).



Διάγραμμα 3.4.5.4. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης (μείωση του νερού, του αζώτου και του φωσφόρου κατά 50%) στην χημική σύνθεση του μεταβολισμού των φύλλων της τομάτας. Οι μεταβολίτες που παρουσιάζουν θετικό CoeffCS έχουν μειωμένη παραγωγή στα φύλλα της τομάτας λόγω της επίδρασης της συνδυασμένης καταπόνησης. Οι μεταβολίτες που παρουσιάζουν αρνητικό CoeffCS έχουν υπερπαραχθεί στα φύλλα των φυτών τομάτας λόγω της επίδρασης της συνδυασμένης καταπόνησης.



Διάγραμμα 3.4.5.5. Επίδραση της εφαρμογής PGPR-3 (εμβολιασμός με *Enterobacter mori* C3.1.) στην χημική σύνθεση του μεταβολισμού των φύλλων της τομάτας. Οι μεταβολίτες που παρουσιάζουν θετικό CoeffCS έχουν μειωμένη παραγωγή στα φύλλα της τομάτας λόγω της επίδρασης του PGPR. Οι μεταβολίτες που παρουσιάζουν αρνητικό CoeffCS έχουν υπερπαραχθεί στα φύλλα των φυτών τομάτας λόγω της επίδρασης του PGPR



Διάγραμμα 3.4.5.6. Επίδραση του εμβολιασμού στο υποκείμενο M82 στην χημική σύνθεση του μεταβολισμού των φύλλων της τομάτας. Οι μεταβολίτες που παρουσιάζουν θετικό CoeffCS έχουν υπερπαραχθεί στα φύλλα της τομάτας λόγω της επίδρασης του εμβολιασμού στο υποκείμενο M82. Οι μεταβολίτες που παρουσιάζουν αρνητικό CoeffCS έχουν μειωμένη παραγωγή στα φύλλα των φυτών τομάτας λόγω της επίδρασης του εμβολιασμού στο υποκείμενο M82.

3.5. Συζήτηση

3.5.1. Βιομάζα και φυλλική επιφάνεια των φυτών

Είναι γνωστό ότι η συνδυασμένη μείωση του νερού και των θρεπτικών στοιχείων οδηγεί σε μείωση της ανάπτυξης των φυτών σε βιομάζα και φυλλική επιφάνεια στην υδροπονική καλλιέργεια τομάτας (Ullah et al., 2021). Βέβαια η χρήση των PGPR μπορεί να οδηγήσει στην προώθηση της ανάπτυξης των φυτών υπό συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης (Yang et al., 2009) μέσα από ένα εύρος μηχανισμών όπως η έκκριση ωφέλιμων ουσιών που προωθούν την ανάπτυξη, τη βελτίωση της απορροφητικότητας των θρεπτικών και την επίκτητη ανθεκτικότητα που προσφέρουν στην ανάπτυξη ασθενειών από μύκητες και βακτήρια (Raaijmakers et al., 2009; Choudhary et al., 2011). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε τομάτα και πιπεριά οι οποίες αναπτύχθηκαν σε ιδανικές συνθήκες και συνθήκες έλλειψης νερού παρατηρήθηκε ότι ο εμβολιασμός της ρίζας με PGPR αύξησε την βιομάζα των φυτών τόσο στις ιδανικές συνθήκες όσο και κάτω από υδατική καταπόνηση (Mayak et al., 2004). Βέβαια, σε άλλη μελέτη, οι Shen et al. (2012) παρατήρησαν ότι οι τομάτες που εμβολιάστηκαν με στελέχη PGPR είχαν καλύτερη ανάπτυξη μόνο κάτω από συνθήκες καταπόνησης, ενώ τα φυτά μάρτυρες δεν ωφελήθηκαν από την εφαρμογή των PGPR. Τα αντικρουόμενα παραπάνω αποτελέσματα, καθώς και όπως αναφέρουν οι Dey et al. (2004), δείχνουν ότι η επίδραση των PGPR βακτηρίων στην κάθε καλλιέργεια εξαρτάται σημαντικά από την καλλιέργεια και το στέλεχος των PGPR που θα επιλεγεί.

Η τομάτα έχει μελετηθεί εκτενώς για την βελτίωση της ανάπτυξής της λόγω της εφαρμογή PGPR γενικά, όμως τα συγκεκριμένα στελέχη PGPR που εφαρμόστηκαν στην παρούσα πειραματική μελέτη δεν έχουν δοκιμαστεί στο παρελθόν για την δυνατότητά τους να προωθούν την ανάπτυξη των φυτών. Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε ότι όλα τα στελέχη PGPR οδήγησαν σε αύξηση του υπέργειου τμήματος των φυτών τομάτας και της ρίζας κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών. Μέσα από τα στελέχη που εξετάστηκαν, το στέλεχος *E. mori* C3.1 ήταν αυτό που ξεχώρισε, αφού αύξησε σημαντικά την ανάπτυξη της ρίζας και του υπέργειου μέρους των φυτών συγκριτικά τόσο με τον μάρτυρα, όσο και με τα άλλα στελέχη που εξετάστηκαν. Μάλιστα, η βελτίωση της ανάπτυξης των φυτών όπου εφαρμόστηκε το *E. mori* C3.1 ήταν εμφανής τόσο σε ιδανικές συνθήκες, όσο και σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης, στις πρώτες 6 εβδομάδες ανάπτυξης των φυτών τομάτας.

Η θετική επίδραση που είχε το στέλεχος *E. mori* C3.1 στην ανάπτυξη της βιομάζας των φυτών της τομάτας κατά τις πρώτες 6 εβδομάδες καλλιέργειας δεν φαίνεται να διατηρήθηκε μέχρι το τέλος της καλλιέργειας όταν τα φυτά αναπτύσσονταν υπό συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης, αφού τα φυτά που εμβολιάστηκαν με το συγκεκριμένο στέλεχος είχαν μειωμένη βιομάζα υπέργειου και φυλλική επιφάνεια συγκριτικά με τον μάρτυρα. Μια πιθανή εξήγηση στο συγκεκριμένο αποτέλεσμα θα ήταν η μείωση του πληθυσμού των βακτηρίων στην ρίζα της τομάτας όσο περνάει η διάρκεια της καλλιέργειας με αποτέλεσμα την μείωση της επιρροής τους στην προώθηση της ανάπτυξης των φυτών. Μια τέτοια περίπτωση έχει μελετηθεί από τους Patakioutas et al. (2015) όπου αναφέρουν ότι το PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* είχε σημαντική μείωση του πληθυσμού στην ρίζα της υδροπονικής τομάτας μετά από 30 εβδομάδες καλλιέργειας. Το αποτέλεσμα αυτό υποδεικνύει ότι η εφαρμογή των βακτηρίων μόνο στην αρχή της καλλιέργειας ίσως δεν είναι αρκετό για την διατήρηση της προώθησης της ανάπτυξης των φυτών για μεγάλο χρονικό διάστημα και μάλλον θα πρέπει να πραγματοποιούνται επαναληπτικές εφαρμογές. Σε παρόμοια συμπεράσματα είχαν καταλήξει και οι Yan et al. (2003) σε μελέτες με στελέχη ριζοβακτηρίων του γένους *Pseudomonas*. Παρόλα αυτά, η συγκεκριμένη παρατήρηση πρέπει να αποδειχθεί και πειραματικά σε επόμενες μελέτες.

Από την άλλη πλευρά, η εφαρμογή του PGPR-1 (μίξη των στελεχών *Enterobacter sp.* C1.2, *Enterobacter sp.* C1.5.) και του PGPR-2 (*Paenibacillus sp.* DN1.2) παρόλο που δεν ωφέλησαν σημαντικά την ανάπτυξη των φυτών στα πρώιμα στάδια της καλλιέργειας, εν τέλει, κατάφεραν να αναπτύξουν μεγαλύτερη βιομάζα και φυλλική επιφάνεια αντίστοιχα στα φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης κατά το τέλος της καλλιέργειας. Μάλιστα το PGPR-1 αύξησε την βιομάζα των φυτών σε επίπεδα που ήταν συγκρίσιμα με τα φυτά που αναπτύσσονταν κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης.

Ο εμβολιασμός στο υποκείμενο M82 φαίνεται πως μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση της βιομάζας και της φυλλικής επιφάνειας των φυτών, αλλά αυτό το αποτέλεσμα εμφανίζεται μόνο σε συνθήκες χωρίς καταπόνηση από έλλειψη νερού και θρεπτικών στοιχείων. Βέβαια, η χρήση του συγκεκριμένου υποκειμένου σε φυτά τομάτας που αναπτύσσονται κάτω από συνδυασμένη καταπόνηση δεν φαίνεται να οδηγεί σε αύξηση της ανοχής της καταπόνησης. Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνεται και από τους Rigano et al. (2016) οι οποίοι αναφέρουν ότι το M82 αν και σθεναρό υποκείμενο, είναι ευαίσθητο στην έλλειψη νερού.

3.5.2. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας

Όπως και στην περίπτωση της βιομάζας, η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης οδήγησε σε σημαντική μείωση της συνολικής παραγωγής της υδροπονικής καλλιέργειας τομάτας (Ullah et al. 2021), με επίδραση τόσο στο μέγεθος και τον αριθμό των καρπών, όσο και στην μείωση των καρπών που κατατάχθηκαν στις ποιοτικές κατηγορίες Extra Class και Class I. Η χρήση των PGPR έχει μελετηθεί παλαιότερα για την επίδρασή που έχουν στην τελική παραγωγή των φυτών τομάτας και μελέτες όπως αυτή των Gravel et al. (2007) αναφέρουν ότι η παραγωγή σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας μπορεί να αυξηθεί με την χρήση PGPR. Στην συγκεκριμένη μελέτη είχαν μελετηθεί τα ριζοβακτήρια *Pseudomonas brevicompactum*, *Pseudomonas marginalis*, *Pseudomonas putida*, και *Trichoderma atroviride*. Σε άλλη παλιότερη μελέτη, οι Gagne et al. (1993) είχαν παρατηρήσει ότι η φθινοπωρινή καλλιέργεια τομάτας που ήταν εμβολιασμένη με το ριζοβακτήριο *Pseudomonas fluorescence* είχε αυξημένη παραγωγή σε καρπούς. Βέβαια, οι Gagne et al. (1993) αναφέρουν ότι σε μετέπειτα πείραμα σε ανοιξιάτικη καλλιέργεια, όπου οι συνθήκες ηλιοφάνειας ήταν ευνοϊκότερες, τα PGPR δεν ωφέλησαν σημαντικά την τελική παραγωγή. Στην παρούσα μελέτη, το PGPR-3, κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης, και το PGPR-1, κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης, αύξησαν την βιομάζα των φυτών, όμως αυτή η επίδραση δεν οδήγησε τελικώς σε αυξημένη παραγωγή καρπών. Η παρατήρηση αυτή έρχεται να συμπληρώσει τις προηγούμενες ενδείξεις στο κεφάλαιο 3.5.1. ότι η πιθανή μείωση του πληθυσμού των PGPR στην ρίζα ίσως να έπαιξε ρόλο στο ότι δεν αυξήθηκε η παραγωγή των φυτών και ένας πιθανός επανεμβολιασμός να ήταν απαραίτητος για την διατήρηση της προώθησης της ανάπτυξης των φυτών.

Το υποκείμενο M82 αύξησε την τελική παραγωγή των φυτών σε καρπούς, με τις κατηγορίες Extra Class και Class I να έχουν σημαντική αύξηση, κυρίως βέβαια κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης. Το αποτέλεσμα αυτό έρχεται να επιβεβαιώσει τις αναφορές των Ntatsi et al. (2014) και Rouphael et al. (2017b) ότι τα σθεναρά υποκείμενα έχουν την δυνατότητα να αυξάνουν την ανάπτυξη και παραγωγή των φυτών τομάτας. Επιπλέον, η αύξηση της συνολικής παραγωγής των εμβολιασμένων φυτών κάτω από οποιοσδήποτε συνθήκες, αλλά μόνο η αύξηση των ποιοτικά ανώτερων καρπών κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης συμφωνεί εν μέρει με τις παρατηρήσεις των Rigano et al. (2016) που αναφέρουν ότι το υποκείμενο M82, αν και σθεναρό υποκείμενο, είναι ευαίσθητο στην έλλειψη νερού.

3.5.3. Θρεπτική κατάσταση φύλλων και καρπών

Η εφαρμογή της μειωμένης χορήγησης θρεπτικού διαλύματος, το οποίο περιείχε και κατά 50% μειωμένη συγκέντρωση N και P, οδήγησε σε σημαντική μείωση του ολικού αζώτου, του φωσφόρου και του καλίου στα φύλλα και τους καρπούς των φυτών τομάτας όπως έχει περιγράψει και παλαιότερα από αντίστοιχες μελέτες (Biddinger et al., 1998; Nahar and Gretzmacher, 2002), ενώ αύξησε το ποσοστό της ξηρής ουσίας στους ιστούς της τομάτας, κάτι το οποίο έχει ήδη αναφερθεί από τους Ullah et al. (2021). Βέβαια, η συγκέντρωση του αζώτου, όταν εφαρμόστηκαν τα βακτηριακά στελέχη PGPR-2, PGPR-3 και PGPR-4 διατηρήθηκε σε παρόμοια επίπεδα στα φυτά που αναπτύσσονταν σε συνδυασμένη καταπόνηση συγκριτικά με αυτά χωρίς καταπόνηση. Τα αποτέλεσμα αυτό δείχνει ότι τα συγκεκριμένα ριζοβακτήρια έχουν τη δυνατότητα να αυξάνουν την αποδοτικότητα χορήγησης αζώτου όταν αυτό βρίσκεται σε έλλειψη στην ριζόσφαιρα. Η αύξηση της συγκέντρωσης του αζώτου στα φυτά που αναπτύσσονται με έλλειψη χορήγησης του συγκεκριμένου θρεπτικού στοιχείου έχει μελετηθεί και από τους Cordero et al. (2018) οι οποίοι σε αντίστοιχη μελέτη παρατήρησαν ότι τα PGPR αύξησαν το άζωτο στα φύλλα της τομάτας. Τα PGPR ωφελούν τα φυτά όσον αφορά την απορρόφηση θρεπτικών μέσω διαφορετικών μηχανισμών όπως η αυξημένη ριζική επιφάνεια, η προώθηση των μεταβολικών διεργασιών που σχετίζονται με την κινητοποίηση των θρεπτικών και η αξιοποίηση της μικροβιακής δραστηριότητας για την μετατροπή του αζώτου σε αφομοιώσιμη μορφή για τα φυτά (Adesemoye et al., 2010; Cordero et al., 2018). Παρόλα αυτά όμως, η αύξηση του αζώτου στα φύλλα των φυτών της τομάτας λόγω της χρήσης των PGPR-2, PGPR-3 και PGPR-4 δεν οδήγησε τελικά σε αυξημένη τελική παραγωγή σε καρπούς για τα φυτά της τομάτας.

Σε αντίθεση με το άζωτο, ο φώσφορος και το κάλιο στα φύλλα και τους καρπούς της τομάτας δεν επηρεάστηκαν από την εφαρμογή των PGPR στην ρίζα της τομάτας. Όσον αφορά τον φώσφορο, η καλλιέργεια της τομάτας σε υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας χορηγείται με φώσφορο σε ποσότητες που μπορούν να είναι και 100 φορές μεγαλύτερες συγκριτικά με αυτές που θα συναντούσαν τα φυτά στο έδαφος (Schachtman et al., 1998; Savvas and Gruda, 2018), ενώ ο φώσφορος είναι και άμεσα διαθέσιμος αφού δεν συγκρατείται από το υπόστρωμα. Συνεπώς, τα PGPR δεν ωφελούν με κάποιο μηχανισμό την επάρκεια φωσφόρου στην ριζόσφαιρα. Το συγκεκριμένο γεγονός έχει παρατηρηθεί και από τους Gravel et al. (2007), οι οποίοι

αναφέρουν ότι τα PGPR δεν είχαν κάποια επίδραση στην συγκέντρωση φωσφόρου στα φύλλα της τομάτας που καλλιεργήθηκε υδροπονικά, σε αντίθεση με τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε οργανικό υπόστρωμα και τα PGPR αύξησαν τον διαθέσιμο φώσφορο. Ομοίως και το κάλιο, με βάση τους Gravel et al. (2007), δεν επηρεάζεται στα φύλλα της τομάτας από την εφαρμογή των PGPR.

Ο εμβολιασμός της τομάτας *Belladonna* στο υποκείμενο M82 δεν φαίνεται να επηρέασε θετικά την συγκέντρωση των θρεπτικών στα φύλλα και τους καρπούς της τομάτας. Μάλιστα, όσον αφορά την συγκέντρωση φωσφόρου στα φύλλα της τομάτας, το υποκείμενο M82 μείωσε την συγκέντρωσή του συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά. Συνεπώς, το συγκεκριμένο υποκείμενο δεν ενδείκνυται να χρησιμοποιείται για την βελτίωση της θρέψης των φυτών της τομάτας.

3.5.4. Μεταβολομική ανάλυση

Η μεταβολομική ανάλυση στα φύλλα της τομάτας ανέδειξε μια καθαρή διαφοροποίηση του μεταβολισμού μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Η εφαρμογή του PGPR-3 είχε την σημαντικότερη επίδραση στον μεταβολισμό των φύλλων της τομάτας με την συνδυασμένη καταπόνηση και τον εμβολιασμό να ακολουθούν. Εξάιρεση αποτελεί η εφαρμογή του PGPR-3 σε φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση και ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο M82, κάτι που εγείρει ερωτήματα στο κατά πόσο το ριζικό σύστημα του M82, όταν βρισκόταν σε συνθήκες καταπόνησης, κατάφερε να αναπτύξει μια επιτυχημένη σχέση με το βακτήριο *Enterobacter mori* C3.1.

3.5.4.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης στον μεταβολισμό των φύλλων

Η συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων αποτελεί μια πολύπλοκη μορφή καταπόνησης που δεν έχει μελετηθεί στο παρελθόν όσον αφορά τις μεταβολικές αλλαγές που επιφέρει στα φυτά της τομάτας. Για παράδειγμα, οι Sung et al. (2015) μελέτησαν τον μεταβολισμό της τομάτας κάτω από καταπόνηση αζώτου, φωσφόρου και καλίου ξεχωριστά για το φυτό της τομάτας και παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση της γλυκίνης (glycine) μειώνεται στα φύλλα της τομάτας όταν εφαρμόζεται έλλειψη αζώτου αλλά αυξάνεται με την έλλειψη φωσφόρου. Στην παρούσα μελέτη η γλυκίνη αυξήθηκε λόγω της επίδρασης της συνδυασμένης καταπόνησης. Συνεπώς, είναι πιθανό, όσον αφορά την συγκέντρωση της γλυκίνης, η

έλλειψη φωσφόρου να είχε σημαντικότερη επίδραση σε σύγκριση με αυτή που προκάλεσε η έλλειψη αζώτου. Αντίθετα με την γλυκίνη, το κιτρικό οξύ μειώθηκε στην παρούσα μελέτη λόγω της εφαρμογής της συνδυασμένης καταπόνησης, κάτι το οποίο συμφωνεί με τα ευρήματα των Sung et al. (2015) για τα φυτά τομάτας που αναπτύσσονται υπό έλλειψη αζώτου, αλλά όχι με τα φυτά που αναπτύσσονται υπό έλλειψη φωσφόρου.

Στην περίπτωση του γλυκερικού οξέος (glyceric acid) και της φρουκτόζης, η μείωση λόγω της συνδυασμένης καταπόνησης της παρούσας μελέτης, παρατηρήθηκε και από τους Sung et al. (2015) σε συνθήκες έλλειψης τόσο του αζώτου όσο και του φωσφόρου. Το μηλικό οξύ (malic acid) και η τρεχαλόζη (α -D-Trehalose) αυξήθηκαν λόγω της συνδυασμένης καταπόνησης. Οι ενώσεις αυτές είναι γνωστό ότι έχουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση της ωσμωτικής και οξειδωτικής καταπόνησης λόγω της έλλειψης νερού από τα φυτά (Cortina and Culiáñez-Macià, 2005; Semel et al., 2007), ενώ για την περίπτωση της μυο-ινοσιτόλης (myo-inositol) υπάρχουν αναφορές ότι αποτελεί μόριο ρύθμισης της ωσμωτικής ισορροπίας του φυτού κάτω από συνθήκες καταπόνησης λόγω αλατότητας (Cui et al., 2020). Βέβαια, η μυο-ινοσιτόλη μειώθηκε στην παρούσα μελέτη. Συνεπώς, φαίνεται ότι στα φυτά της τομάτας η καταπόνηση λόγω έλλειψης νερού δεν συνοδεύτηκε και από καταπόνηση αλατότητας, καθώς η μείωση της παροχής νερού συνδυάστηκε με μειωμένη παροχή θρεπτικών στοιχείων σε αυτά..

Αξιοσημείωτο είναι και το γεγονός ότι η συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών (N, P) αύξησε την συγκέντρωση του φωσφορικού οξέος στα φύλλα των φυτών τομάτας. Οι Wasaki et al. (2003) υποστηρίζουν ότι η έλλειψη φωσφόρου οδηγεί σε αύξηση της βιοσύνθεσης μεταβολιτών που αντικαθιστούν τον φώσφορο από τα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών με άλλα μη φωσφορικά λιπίδια, με αποτέλεσμα την αύξηση των υπόλοιπων φωσφορικών ενώσεων μέσα στο κύτταρο, ενώ επιπλέον μειώνεται και η παραγωγή μεταβολιτών που οδηγούν σε καταβολισμό του φωσφόρου. Συνεπώς η έλλειψη φωσφόρου μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένες συγκεντρώσεις φωσφορικού οξέος και των παραγόντων του μέσα στο κύτταρο.

Για τους μεταβολίτες ethylene glycol, L-lactic acid, ethyl phosphoric acid, glycine, pyroglutaminic acid και oleic acid οι οποίοι αυξήθηκαν σημαντικά λόγω της συνδυασμένης καταπόνησης, καθώς και για τους succinic acid, D-fructose, stearic acid και 1-monopalmitin οι οποίοι μειώθηκαν σημαντικά λόγω της συνδυασμένης καταπόνησης, δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για τον ακριβή μηχανισμό δράσης τους

στα φυτά της τομάτας σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων.

3.5.4.2. Επίδραση των PGPR στον μεταβολισμό των φύλλων

Η εφαρμογή των PGPR στις ρίζες της τομάτας επηρέασε σημαντικά τον μεταβολισμό των φυτών της τομάτας, με τον μεταβολίτη που επηρεάστηκε περισσότερο από όλους να είναι η τρεχαλόζη. Ο πρωταρχικός ρόλος της τρεχαλόζης είναι η σύνθεση δευτερογενών ενώσεων για τα κύτταρα και η αποθήκευση ενέργειας. Η τρεχαλόζη όμως συμμετέχει και στην προστασία των μεμβρανών και των πρωτεϊνών απέναντι σε καταπονήσεις των φυτών (Elbein et al., 2003). Επιπρόσθετα όμως, η τρεχαλόζη έχει παρατηρηθεί ότι συμμετέχει και στις αλληλεπιδράσεις των φυτών με μικροοργανισμούς, τόσο συμβιωτικούς (Muller et al., 1994), όσο και με παθογόνους για τα φυτά (Streeter and Gomez, 2006). Τα παραπάνω υποδηλώνουν ότι ο μεταβολισμός της τρεχαλόζης σχετίζεται με τις αλληλεπιδράσεις των φυτών με τους μικροοργανισμούς, είτε αυτοί είναι ωφέλιμοι για το φυτό, είτε επηρεάζουν την σχέση παθογόνου-ξενιστή. Συνεπώς, στην συγκεκριμένη περίπτωση, πάνω από 10 φορές αυξημένη βιοσύνθεση τρεχαλόζης στα φύλλα της τομάτας, συγκριτικά με τα φυτά-μάρτυρες, είναι πιθανώς απόρροια της αλληλεπίδρασης της τομάτας με τα PGPR.

Το μηλικό οξύ μειώθηκε σημαντικά στα φύλλα της τομάτας στην παρούσα μελέτη λόγω της επίδρασης του PGPR-3. Το μηλικό οξύ είναι ένας μεταβολίτης που συμμετέχει και προωθεί την επικοινωνία των φυτών με τα PGPR. Η παρατήρηση αυτή προκύπτει από την μελέτη των Rudrappa et al. (2008), η οποία έδειξε ότι μεταλλαγμένα φυτά *Arabidopsis* όπου δεν εκφραζόταν το γονίδιο που παράγει τους μεταφορείς του μηλικού οξέος, δεν μπορούσαν να αλληλεπιδράσουν με τα PGPR στις ρίζες. Βέβαια, στην παρούσα μελέτη το μηλικό οξύ ήταν μειωμένο στα φύλλα της τομάτας, κάτι που πιθανώς υποδηλώνει ότι υπήρξε μετακίνηση του μηλικού οξέος από τα φύλλα της τομάτας προς τις ρίζες των φυτών για την αλληλεπίδραση με τα PGPR. Αυτή η υπόθεση όμως δεν μπορεί να επιβεβαιωθεί με τα υπάρχοντα δεδομένα της παρούσας εργασίας.

Η μονοπαλμιτίνη (1-monopalmitin) είναι επίσης ένας ακόμη μεταβολίτης που σχετίζεται με την συμβιωτική σχέση φυτών και μικροβίων αφού έχει βρεθεί σε εκκρίματα ριζών κατά την συμβίωση με μυκόρριζες (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) (Feng et al., 2019). Σε μελέτη των Aguiar et al. (2018) είχε παρατηρηθεί η αύξηση της συσσώρευσης μονοπαλμιτίνης στα ζαχαρότευτλα όπου εφαρμόστηκαν τα

PGPR *Gluconacetobacter diazotrophicus* και *Herbaspirillum seropedicae*,. Παρόλα αυτά, ο συγκεκριμένος μεταβολίτης δεν έχει μελετηθεί εκτενώς για τον ακριβή μηχανισμό δράσης του και γι' αυτό δεν μπορεί να δικαιολογηθεί πλήρως το γεγονός ότι μειώθηκε στην παρούσα μελέτη με την εφαρμογή του PGPR-3.

Για τον μεταβολίτη D-fructose ο οποίος αυξήθηκε σημαντικά λόγω της επίδρασης του PGPR-3 και για τους ethanolamine, glycerol, myo-inositol, oleic acid και 2-O-glyceron- α -D-galactopyranoside οι οποίοι μειώθηκαν σημαντικά λόγω της επίδρασης του PGPR-3 δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για το πως η αλληλεπίδραση των βακτηρίων με ρίζες της τομάτας μπορούν να επηρεάσουν τον μεταβολισμό των φύλλων των φυτών.

3.5.4.3. Επίδραση του εμβολιασμού στο M82 στο μεταβολισμό των φύλλων

Ο εμβολιασμός των φυτών Belladonna στο υποκείμενο M82 είχε μικρή ή και καθόλου επίδραση για τους περισσότερους μεταβολίτες που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη. Παρόλα αυτά, ένας μεταβολίτης (ολεϊκό οξύ) αυξήθηκε σημαντικά από τον εμβολιασμό ενώ τρεις μεταβολίτες (μηλικό οξύ, D-φρουκτόζη και μυο-ινοσιτόλη) μειώθηκαν.

Το ολεϊκό οξύ, μαζί με το παλμιτικό και το λινολεϊκό οξύ, είναι τα τρία λιπαρά οξέα που επηρεάζουν το άρωμα των περισσότερων καρπών, όπως οι καρποί της τομάτας, του πεπονιού και του αγγουριού, αφού αποτελούν πρόδρομες ουσίες για την παραγωγή των πτητικών αρωματικών εστέρων σε αυτούς (Hao et al., 2018). Στα φύλλα της τομάτας, τα λιπαρά αυτά οξέα είναι επίσης υπεύθυνα για το άρωμα των φύλλων (Wang et al., 2001). Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, είναι γνωστό ότι τα εμβολιασμένα φυτά μπορούν να επηρεάσουν την συγκέντρωση των τριών αυτών λιπαρών οξέων (ολεϊκό οξύ, παλμιτικό και λινολεϊκό οξύ) στους καρπούς και να επιδράσουν στο άρωμα των καρπών (Hao et al., 2018). Συνεπώς, θα χρειαστούν περισσότερες μελέτες σχετικά με τον εμβολιασμό σε σθεναρά υποκείμενα και την συγκέντρωση ολεϊκού οξέος σε φύλλα και καρπούς για να διαπιστωθεί η ακριβής σχέση τους και η επίδραση στο άρωμα του τελικού προϊόντος.

Το μηλικό οξύ φαίνεται πως σχετίζεται με την ανάπτυξη της ρίζας στα φυτά της τομάτας αφού μειωμένη παραγωγή μηλικού οξέος οδηγεί σε μειωμένη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος (Van Der Merwe et al., 2009). Παρόλα αυτά, στην παρούσα μελέτη οι μετρήσεις βιομάζας της ρίζας 6 βδομάδες μετά την μεταφύτευση δεν έδειξαν

διαφορές μεταξύ των αυτοεμβολιασμένων και των αυτόριζων φυτών. Πιο ξεκάθαρη φαίνεται να είναι η περίπτωση της D-φρουκτόζης όπου καταγράφηκε μείωση στα φύλλα της τομάτας που ήταν εμβολιασμένη στο M82. Η μείωση αυτή πιθανόν να σχετίζεται με την εναπόθεση της φρουκτόζης στην ρίζα, κάτι το οποίο, με βάση τους Rouphael et al. (2017b) συμβαίνει σε φυτά που είναι εμβολιασμένα πάνω σε σθεναρά υποκείμενα. Τέλος, η μείωση της μυο-ινοσιτόλης δεν μπορεί να εξηγηθεί με την υπάρχουσα γνώση για αυτόν τον μεταβολίτη.

Για τους μεταβολίτες stearic acid, 2-Oglycerol- α -D-galactopyranoside και 1-monopalmitin οι οποίοι αυξήθηκαν σημαντικά λόγω της επίδρασης του εμβολιασμού στο υποκείμενο M82 και για την μυο-ινοσιτόλη η οποία μειώθηκε σημαντικά λόγω της επίδρασης του υποκειμένου αυτού δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για τους μηχανισμούς του ριζικού συστήματος που μπορούν να επηρεάσουν την συγκέντρωσή τους στα φύλλα των φυτών της τομάτας.

3.6. Συμπεράσματα

Η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων οδηγεί σε σημαντική μείωση της ανάπτυξης των φυτών σε βιομάζα και φυλλική επιφάνεια, κάτι που τελικά οδηγεί τόσο σε μια σημαντική μείωση της παραγωγής, όσο και σε σημαντική υποβάθμιση της ποιότητας των καρπών, αφού οι καρποί που κατατάχτηκαν στις κατηγορίες Extra Class και Class I ήταν σημαντικά μειωμένοι.

Η συνδυασμένη καταπόνηση επηρέασε μεταβολίτες όπως η τρεχαλόζη η οποία συνδέεται με το ωσμωτική καταπόνηση και μεταβολίτες όπως η γλυκίνη, το γλυκερικό οξύ και το κιτρικό οξύ για τους οποίους έχει αναφερθεί στο παρελθόν ότι επηρεάζονται από την έλλειψη νερού ή θρεπτικών στοιχείων,. Δεν υπάρχουν όμως επαρκή βιβλιογραφικά δεδομένα για να μπορεί να δικαιολογηθεί για όλους τους καταγεγραμμένους μεταβολίτες ο ακριβής λόγος που μεταβλήθηκε η συγκέντρωσή τους στους φυτικούς ιστούς.

Η εφαρμογή των ριζοβακτηρίων που προωθούν την ανάπτυξη των φυτών, έδειξε να αυξάνει την νωπή βιομάζα των φυτών. Η επιλογή βέβαια του κατάλληλου βακτηριακού στελέχους είναι πολύ σημαντική, καθώς διαπιστώθηκε ότι το ριζοβακτήριο *E. mori* C3.1 αύξησε την νωπή βιομάζα σε συνθήκες χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση, αλλά μείωσε την νωπή βιομάζα και την φυλλική επιφάνεια σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης κατά το πέρας της καλλιέργειας συγκριτικά με τον

μάρτυρα. Βέβαια, η αύξηση της νωπής βιομάζας που προέκυψε από την εφαρμογή των PGPR δεν οδήγησε τελικά στην αύξηση της τελικής παραγωγής. Μια πιθανή εξήγηση είναι η μείωση του πληθυσμού των βακτηρίων στην ρίζα με αποτέλεσμα της μείωσης της συνέχισης της προώθησης της ανάπτυξης των φυτών, συνεπώς επαναληπτικοί εμβολιασμοί με PGPR ίσως να αύξαναν την διάρκεια της επίδρασής τους στην καλλιέργεια.

Ο μεταβολισμός των φυτών επηρεάστηκε σημαντικά από το PGPR *E. mori* C3.1. Το συγκεκριμένο στέλεχος PGPR οδήγησε σε μεταβολή της συγκέντρωσης ορισμένων μεταβολιτών, όπως η τρεχαλόζη το μηλικό οξύ και η μονοπαλμιτίνη, σε σχέση με τα φυτά όπου δεν εφαρμόστηκε κάποιο PGPR. Οι μεταβολίτες αυτοί έχουν μελετηθεί από προηγούμενους ερευνητές και έχει παρατηρηθεί ότι επιδρούν στην αλληλεπίδραση μεταξύ φυτών και ριζοβακτηρίων, συνεπώς δικαιολογείται η μεταβολή της βιοσύνθεσής τους. Για άλλους μεταβολίτες όπως οι D-fructose, ethanolamine, glycerol, myo-inositol, oleic acid και 2-O-glyceron- α -D-galactopyranoside δεν είναι γνωστός ο μηχανισμός δράσης τους σχετικά με την εφαρμογή των PGPR και πιθανόν επόμενες μελέτες να αποκαλύψουν την επίδρασή των PGPR σε αυτούς.

Το υποκείμενο M82 αύξησε τη συνολική παραγωγή στα φυτά που αναπτύσσονταν σε συνθήκες χωρίς, αλλά και με συνδυασμένη καταπόνηση. Με βάση όμως τις υπόλοιπες μετρήσεις, το συγκεκριμένο υποκείμενο φαίνεται πως αποδίδει σημαντικά κάτω από συνθήκες χωρίς καταπόνηση αφού αυξάνει σημαντικά την βιομάζα, τη φυλλική επιφάνεια και τους καρπούς που κατατάσσονται στις κατηγορίες Extra Class και Class I. Συνεπώς, ο συγκεκριμένος γονότυπος, φαίνεται πως παρουσιάζει κάποια χαρακτηριστικά ενός σθεναρού υποκειμένου που ενδείκνυται να επιλέγεται για την αύξηση της παραγωγής στην καλλιέργεια της τομάτας, αλλά όχι όταν τα φυτά αναπτύσσονται κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων.

Τέλος, η εφαρμογή του M82 ως υποκειμένου δεν επηρέασε τόσο σημαντικά τον μεταβολισμό των φύλλων της τομάτας συγκριτικά με την επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης και της εφαρμογής των PGPR. Παρόλα αυτά, υπήρχαν μεταβολίτες όπως το ολεϊκό οξύ, το μηλικό οξύ και η D-φρουκτόζη οι οποίοι έχουν καταγραφεί στο παρελθόν από άλλους ερευνητές ότι επηρεάζονται λόγω της επίδρασης του υποκειμένου στα φυτά της τομάτας.

4. 2^η πειραματική μελέτη: Επίδραση του εμβολιασμού και της χρήσης γαιοσκωλήκων στην αύξηση της ανοχής των φυτών σε έλλειψη θρεπτικών στοιχείων λόγω της μειωμένης εισροής θρεπτικών σε βιολογική καλλιέργεια τομάτας

4.1. Δομή και στόχοι 2^{ης} πειραματικής μελέτης

Η καλλιέργεια της τομάτας που αναπτύσσεται σε βιολογικό σύστημα, πραγματοποιείται με τη χορήγηση θρεπτικών μόνο από βιολογικές πηγές όπως είναι η κοπριά, η χλωρή λίπανση και το κομπόστ. Η μειωμένη παροχή των θρεπτικών στοιχείων μπορεί οδηγεί σε καταπόνηση των φυτών λόγω των τροφοπενιών που ενδέχεται να προκύψουν κατά την διάρκεια της καλλιέργειας. Στόχος της 2^{ης} πειραματικής μελέτης ήταν να εξετασθεί η επίδραση του εμβολιασμού με 4 διαφορετικά υποκείμενα και της εφαρμογής γαιοσκωλήκων στην βελτίωση της θρέψης των φυτών που αναπτύσσονται σε βιολογικό σύστημα καλλιέργειας, συνεπώς και η διατήρηση της παραγωγής σε επίπεδα που θα είναι συγκρίσιμα με αυτά μιας συμβατικής καλλιέργειας. Η μελέτη περιλάμβανε την διενέργεια ενός πειράματος μιας καλλιεργητικής περιόδου σε καλλιέργεια στο έδαφος θερμοκηπίου. Το θερμοκήπιο χωρίστηκε σε δυο τμήματα, το βιολογικό και το συμβατικό. Στο βιολογικό τμήμα του θερμοκηπίου, πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας προηγήθηκε η καλλιέργεια αμπελοφάσουλου (*Vigna unguiculata*) το οποίο ενσωματώθηκε στο έδαφος ως χλωρή λίπανση. Τα υποκείμενα που επιλέχθηκαν για την μελέτη προήλθαν από προηγούμενες μελέτες και παρατηρήσεις άλλων ερευνητών που συμμετείχαν στο πρόγραμμα TOMRES, ενώ και η ποικιλία που επιλέχθηκε είχε και αυτή μελετηθεί για την ανοχή της στην καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων. Ο απώτερος σκοπός της μελέτης είναι να εξετασθεί α) αν εφαρμογή των γαιοσκωλήκων θα ενισχύσει την αποδόμηση της οργανικής ουσίας μετά την χλωρή λίπανση, με αποτέλεσμα την αύξηση της διαθεσιμότητας των θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος και β) αν τα υποκείμενα της τομάτας θα βελτιώσουν την θρέψη και κατά συνέπεια την παραγωγή των φυτών τομάτας που αναπτύσσονται με μειωμένες εισροές λόγω του βιολογικού συστήματος καλλιέργειας.

Κατά την 2^η πειραματική μελέτη, πραγματοποιήθηκαν και μετρήσεις αερίων θερμοκηπίου στο έδαφος της καλλιέργειας με σκοπό να εκτιμηθούν οι εκπομπές αερίων θερμοκηπίου μεταξύ συμβατικού και βιολογικού συστήματος καλλιέργειας καθώς και

να εξακριβωθεί η επίδραση των γαιοσκωλήκων στις εκπομπές αερίων θερμοκηπίου όταν προστίθενται εξωγενώς στο έδαφος των καλλιεργειών.

4.2. Πρόσθετα εισαγωγικά στοιχεία

4.2.1. Η λίπανση στην βιολογική καλλιέργεια τομάτας

Από το 2008 και μετά η Ευρωπαϊκή οδηγία ΕΕ 889/2008 επέβαλε περιορισμούς στην εφαρμογή της ζωικής κόπρου στην βιολογική καλλιέργεια. Πιο συγκεκριμένα η ποσότητα ζωικής κόπρου που μπορεί να εφαρμοστεί σε μια βιολογική καλλιέργεια πρέπει να περιέχει άζωτο που να μην ξεπερνά τα 17 κιλά Ν ανά στρέμμα τον χρόνο. Η συγκεκριμένη ποσότητα μπορεί να είναι επαρκής για μια υπαίθρια καλλιέργεια τομάτας, όμως δεν μπορεί να καλύψει την ανάγκες των φυτών τομάτας που καλλιεργούνται σε ένα θερμοκήπιο λόγω της υψηλής παραγωγικότητας της τομάτας, άρα και των υψηλών απαιτήσεων σε θρεπτικά στοιχεία (Gatsios et al., 2019). Με βάση τους Colla et al. (2020) η θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας που παράγει 20 τόνους το στρέμμα αφαιρεί κατά προσέγγιση 24 κιλά αζώτου ανά στρέμμα σε όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας. Εναλλακτικές λύσεις είναι η χρήση χλωρής λίπανσης (Gatsios et al., 2019, Gatsios et al., 2021a), η χρήση κομπόστ (Gatsios et al., 2021b) ή η εφαρμογή πέλετ μηδικής (Gatsios et al., 2021c.). Η χρήση κομπόστ φαίνεται πως δεν ευνοεί σημαντικά την καλλιέργεια διότι αποδεσμεύει σε αργό βαθμό τα θρεπτικά στοιχεία που περιέχει (Gatsios et al., 2021b) ενώ αντίθετα η χλωρή λίπανση και η χρήση πέλετ μηδικής φαίνεται πως μπορούν να καλύψουν ορισμένες από τις ανάγκες των φυτών για το άζωτο (Gatsios et al., 2021c). Παρόλα αυτά, τα φυτά της τομάτας μπορεί να οδηγηθούν σε τροφοπενία αζώτου, ειδικά κατά το τελευταίο διάστημα της καλλιέργειας (Gatsios et al., 2021c), κάτι το οποίο ενδέχεται να μπορεί να αντιμετωπιστεί σε έναν βαθμό με την χρήση κατάλληλων υποκειμένων που θα δημιουργούσαν ένα πιο εκτεταμένο ριζικό σύστημα από αυτό των αυτόρριζων φυτών.

4.2.2. Η απευθείας εφαρμογή γαιοσκωλήκων στο έδαφος των καλλιεργειών

Η απευθείας εφαρμογή γαιοσκωλήκων στο έδαφος καλλιέργειας τομάτας και άλλων λαχανικών έχει μελετηθεί για την αποτελεσματικότητά της στην μείωση της προσβολής των φυτών μελιτζάνας από εδαφογενείς ασθένειες από το βερτισίλιο (*Verticillium sp.*) (Elmer, 2009). Στην έρευνα του Elmer (2009) αναφέρεται ότι η μεταβολή της μικροβιακής δραστηριότητας του εδάφους από τους γαιοσκώληκες

μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση ορισμένων ωφέλιμων βακτηρίων οι οποίοι έχουν την δυνατότητα να συναγωνίζονται τα παθογόνα εδάφους. Οι γαιοσκώληκες έχουν μελετηθεί και για την αντιμετώπιση των θριπών μέσω της παραγωγής ορισμένων ουσιών που αυξάνουν την άμυνα των φυτών στους συγκεκριμένους εχθρούς (Xiao et al., 2019). Σχετικά με την θρέψη των φυτών, η απευθείας εφαρμογή γαιοσκωλήκων στο έδαφος μπορεί να αυξήσει την ανοργανοποίηση του αζώτου με αποτέλεσμα την καλύτερη ανάπτυξη των σιτηρών (Baker et al., 2003). Βέβαια, οι Baker et al. (2003) επισήμαναν ότι οι γαιοσκώληκες έχουν την δυνατότητα να αυξήσουν την αποδοτικότητα ορισμένων καλλιεργειών αλλά όχι όλων. Για παράδειγμα, οι Doan et al. (2013) μελέτησαν την εφαρμογή του γαιοσκώληκα *Metaphire posthuma* καθώς και την εφαρμογή vermicompost σε φυτά τομάτας. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι το vermicompost μπορεί να αυξήσει την παραγωγή της τομάτας συγκριτικά με το compost αλλά δεν επαρκεί για να αντικαταστήσει την εφαρμογή χημικών λιπασμάτων, ενώ η εφαρμογή του *M. posthuma* δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη και την παραγωγή των φυτών της τομάτας.

Στην παρούσα πειραματική μελέτη εφαρμόστηκε το είδος *Eisenia fetida*. Το είδος *E. fetida*, αποτελεί ένα είδος επίγειου γαιοσκώληκα που μπορεί να αναπτυχθεί επιτυχώς σε διαφορετικές οργανικές πρώτες ύλες (Reinecke et al., 1992; Edwards et al., 1998; Loh et al., 2005; Plaza et al., 2007; Suthar, 2009) ενώ παρουσιάζει και μεγάλη προσαρμοστικότητα σε διαφορετικές εδαφικές συνθήκες όπως η θερμοκρασία του εδάφους, το εδαφικό pH και η σχετική υγρασία, κάτι που έχει οδηγήσει τους επιστήμονες να το επιλέγουν συχνά για πειραματικούς σκοπούς (Singh & Suthar, 2012). Γενικά η εφαρμογή επίγειων γαιοσκωλήκων (epigeic worms) είναι αρκετά διαδεδομένη μεταξύ των παραγωγών βιολογικής τομάτας τόσο απευθείας στο έδαφος που φιλοξενεί την καλλιέργεια όσο και για την παραγωγή vermicompost (Yadav & Garg, 2011).

4.2.3. Οι εκπομπές αερίων θερμοκηπίου από το έδαφος

Οι ατμοσφαιρικές συγκεντρώσεις στα αέρια διοξείδιο του άνθρακα (CO₂), μεθάνιο (CH₄) και το υποξείδιο του αζώτου (N₂O) έχουν αυξηθεί κατά 0,4, 0,5 και 0,2 φορές αντίστοιχα σε σχέση με αυτές που είχαν καταγραφεί πριν από 250 χρόνια (IPCC, 2013), ενώ μια από τις σημαντικότερες πηγές εκπομπών είναι το έδαφος. Μάλιστα, τα εδάφη κατέχουν ένα μεγάλο ποσοστό από τις συνολικές παγκόσμιες εκπομπές αερίων

θερμοκηπίου (35% CO₂, 47% CH₄, 53%, N₂O, και 21 % μονοξειδίο του αζώτου (NO) (IPCC, 2007). Βέβαια όταν χρησιμοποιείται ο όρος ‘εδάφη’, συμπεριλαμβάνονται τόσο οι καλλιεργούμενες εκτάσεις όσο και τα δάση (Oertel et al., 2016).

Όσον αφορά τις καλλιεργούμενες εκτάσεις, υπάρχουν διάφοροι λόγοι που συνεισφέρουν στην αύξηση των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου. Οι πρωταρχικοί λόγοι για την αυξημένη απελευθέρωση του N₂O από τα καλλιεργούμενα εδάφη είναι οι αυξημένες εισροές N από τα ανόργανα λιπάσματα, τα ζωικά απόβλητα, αλλά και τα υπολείμματα των ψυχανθών μετά από χλωρή λίπανση (Ball et al., 2007; Ball et al., 2014). Σχετικά με το μεθάνιο, παρόλο που η γεωργία και οι συναφείς δραστηριότητες αντιπροσωπεύουν περίπου τα δύο τρίτα όλων των ανθρωπογενών εκπομπών CH₄ (Lauren and Duxbury, 1993), η εντερική ζύμωση στα μηρυκαστικά, και η επεξεργασία ζωικών αποβλήτων αποτελούν την κύρια πηγή CH₄ από τη γεωργία (IPCC, 1996). Αντίθετα, οι καλλιεργούμενες εκτάσεις και τα δάση μειώνουν την ατμοσφαιρική συγκέντρωση του CH₄ αφού τα εδάφη τους έχουν την δυνατότητα να απορροφούν και να λειτουργούν ως αποθήκες μεθανίου κάτω από αερόβιες συνθήκες (Fiedler et al., 2005). Το διοξείδιο του άνθρακα εκπέμπεται από το έδαφος λόγω της αναπνοής των ριζών και των μικροοργανισμών (Oertel et al., 2016), όμως το ισοζύγιο εκπομπής η συσσώρευσης του οικοσυστήματος εξαρτάται και από βαθμό της φωτοσύνθεσης της καλλιέργειας. Το καθαρό ισοζύγιο εκπομπής/απορρόφησης CO₂ από ένα συγκεκριμένο οικοσύστημα μπορεί να είναι θετικό ή αρνητικό, ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες (καλλιέργεια, θερμοκρασία, υγρασία, θρεπτική κατάσταση εδάφους, pH εδάφους κ.α.) (Oertel et al., 2016). Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η άμεση συνεισφορά της φυτικής παραγωγής στις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου συνίσταται κυρίως στις εκπομπές υποξειδίου του αζώτου (N₂O).

Κατά την εφαρμογή γαιοσκωλήκων πραγματοποιείται αποδόμηση της οργανικής ουσίας και απελευθερώνονται θρεπτικά στοιχεία που είναι άμεσα διαθέσιμα για τα φυτά. Η μεταβολή των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στο έδαφος, η αύξηση της οργανικής ουσίας και κατά συνέπεια και της μικροβιακής δραστηριότητας όμως ενδέχεται να επηρεάζουν σημαντικά τις εκπομπές αερίων θερμοκηπίου από το έδαφος. Συνεπώς είναι σημαντικό να μελετηθεί το κατά πόσο η δραστηριότητά των γαιοσκωλήκων συμβάλλει στις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου. Ερευνητές που μελέτησαν τις εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα παρατήρησαν αύξηση του συγκεκριμένου αερίου λόγω της δραστηριότητας των γαιοσκωλήκων. (Lubbers et al., 2013; Chapuis-Lardy et al., 2010; Speratti and Whalen, 2008; Chan et al., 2011). Για

την περίπτωση του υποξειδίου του αζώτου, οι Hobson et al. (2005) παρατήρησαν ότι η δράση των γαιοσκωλήκων αυξάνει επίσης τις εκπομπές, ένα αποτέλεσμα όμως στο οποίο δεν συμφωνούν μελέτες άλλων ερευνητών (Ngo et al., 2011; Nigussie et al., 2017, Chan et al., 2011). Παρομοίως, οι Chan et al. (2011) παρατήρησαν ότι η δραστηριότητα των γαιοσκωλήκων για την παραγωγή vermicompost αυξάνει τις εκπομπές μεθανίου, ενώ αντίθετα οι Hobson et al. (2005) διαπίστωσαν ότι το μεθάνιο δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τους γαιοσκώληκες.

4.3. Υλικά και μέθοδοι

4.3.1. Βασικές πληροφορίες της καλλιέργειας

Το πείραμα διεξήχθη στο πλαστικό θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Κηπευτικών Καλλιέργειών και περιλάμβανε μια φθινοπωρινή καλλιέργεια τομάτας σε συμβατικό και βιολογικό σύστημα καλλιέργειας. Στο βιολογικό τμήμα της καλλιέργειας προηγήθηκε η καλλιέργεια αμπελοφάσουλου (*Vigna Unguiculata*) και ενσωμάτωσή στο έδαφος ως χλωρή λίπανση. Για την πραγματοποίηση χλωρής λίπανσης στο βιολογικό τμήμα του θερμοκηπίου, καλλιεργήθηκε αμπελοφάσουλο (*Vigna Unguiculata*) (Εικ. 4-1Γ). Πιο συγκεκριμένα το αμπελοφάσουλο σπάρθηκε στις 25 Απριλίου 2018. Πριν την σπορά των φυτών πραγματοποιήθηκε ο εμβολιασμός των σπόρων με το ριζόβιο *Bradyrhizobium* sp. VUL11.1 για την αύξηση της αζωτοδέσμευσης. Ο εμβολιασμός των σπόρων πραγματοποιήθηκε με εμφύσηση τους σε 500 ml εναιωρήματος βακτηρίων (Εικ. 4.1Α) και προσθήκη αραβικού κόμμεος (Εικ. 4.1Β)

Τα φυτά του αμπελοφάσουλου βρίσκονταν στο 50% της άνθισης στις 13 Ιουλίου 2018. Στο στάδιο αυτό πραγματοποιήθηκε η κοπή των φυτών (Εικ. 4.1Δ), η ζύγιση του συνολικού νωπού βάρους και η ενσωμάτωσή τους στο έδαφος. Το συνολικό νωπό βάρος του αμπελοφάσουλου ήταν 125 κιλά σε 80 τ.μ. θερμοκηπίου, το οποίο αντιστοιχεί σε περίπου 1,5 τόνο νωπής βιομάζας το στρέμμα. Τα φυτά αφέθηκαν να ξηραθούν σε συνθήκες αγρού και ενσωματώθηκαν στο έδαφος του θερμοκηπίου στις 23 Ιουλίου 2018.



Εικόνα 4-1. Α) προετοιμασία του εναιωρήματος του βακτηρίου *Brady Vulii*. Β) ανάμειξη σπόρων με αραβικό κόμμα 20% και εναιώρημα βακτηρίων *Bradyrhizobium* sp. VULII.1. Γ) Καλλιέργεια αμπελοφάσουλου στο θερμοκήπιο. Δ) Κοπή αμπελοφάσουλου στο στάδιο της άνθισης κατά 50%.

Ακολούθησε η καλλιέργεια της τομάτας όπου χρησιμοποιήθηκαν 284 φυτά *Solanum lycopersicum* Palamos F1 και 72 φυτά ποικιλίας Elpida F1 τα οποία συμμετείχαν ως φυτά περιθωρίου (border plants) και δεν μελετήθηκαν. Η μεταφύτευση στο θερμοκήπιο πραγματοποιήθηκε στις 10/10/2018 με πυκνότητα φύτευσης 2,5 φυτά ανά τετραγωνικό μέτρο. Προτού της εγκατάστασης των φυτών, εφαρμόστηκε η βασική λίπανση, το φρεζάρισμα του χώματος, η εγκατάσταση παγίδων για παρακολούθηση των εντομολογικών εχθρών και εγκατάσταση αρδευτικού



Εικόνα 4-2. Άρδευση των φυτών τομάτας με καταιονισμό από μικροεκτοξευτήρες.

συστήματος. Το αρδευτικό σύστημα που επιλέχτηκε για την καλλιέργεια ήταν το σύστημα καταιονισμού με μικροεκτοξευτήρες. Με αυτόν τον τρόπο διασφαλιζόταν ότι θα υπήρχε επαρκής υγρασία στην επιφάνεια όλης της έκτασης του πειραματικού τεμαχίου, ώστε να μπορούν να δραστηριοποιούνται και να μετακινούνται οι γαιοσκώληκες εντός κάθε πειραματικού τεμαχίου. Τέλος, για την καλύτερη επικοινωνία και καρπόδεση της τομάτας τοποθετήθηκε και κυψέλη βομβίνων στις 12/12/2018. Η καλλιέργεια ολοκληρώθηκε στις 10 Μαΐου 2019.

4.3.1.1. Επιλογή καλλιεργούμενου γονότυπου

Το υβρίδιο που επιλέχτηκε για να χρησιμοποιηθεί ως εμβόλιο ήταν το Palamos F1 (Palamos, Semillas Fito, Barcelona). Το συγκεκριμένο υβρίδιο προέρχεται από τομάτες που φέρουν τα χαρακτηριστικά των τοματών Ramellet. Οι ποικιλίες και τα υβρίδια που ανήκουν στην ευρύτερη «οικογένεια» Ramellet έχουν ως κύριο χαρακτηριστικό την εξαιρετικά μεγάλη διάρκεια ζωής του καρπού σε θερμοκρασίες δωματίου. Οι συγκεκριμένες ποικιλίες και υβρίδια καλλιεργούνται σε παραδοσιακές περιοχές της λεκάνης της Μεσογείου (Casals et al., 2012; Bota et al., 2014; Mercati et al., 2015). Τα αγροκτήματα αυτά είναι κοινώς γνωστά ως "de colgar" στα ισπανικά, «de penjar» ή «de ramellet» στα Καταλανικά ή «da serbo» στα ιταλικά (Bota et al., 2014, Cortés-Olmos et al. et al., 2015). Αυτά τα τοπικά ονόματα αναφέρονται στη μετασυλλεκτική διατηρησιμότητα των καρπών και στο ότι κρέμονται σε χορδές («de colgar» και «de penjar»), στο γεγονός ότι συνήθως τοποθετούνται σε ομάδες ("de ramellet") ή έχουν μακρά περίοδο αποθήκευσης ("da serbo "). Το χαρακτηριστικό αυτό έκανε την καλλιέργειά τους πολύ δημοφιλή σε αρκετές μεσογειακές περιοχές, όπως στη Μαγιόρκα το πρώτο μισό του εικοστού αιώνα (Fairchild, 1927).

Διάφορες μελέτες αποκαλύπτουν ότι η παρατεταμένη διάρκεια ζωής των καρπών των περισσότερων μεσογειακών ποικιλιών και υβριδίων προκαλείται από το αλληλόμορφο *alcobaça* του NAC. NOR (Casals et al., 2012, Bota et al., 2014). Το αλληλόμορφο *alc* αντιπροσωπεύει επίσης τη μεγάλη διάρκεια ζωής του ιταλικού τύπου "*da serbo*" (Mercati et al., 2015), Η μετάλλαξη *alc* παρέχει έναν ειδικό φαινότυπο που σχετίζεται με μια καθυστερημένη ωρίμανση και μειωμένη αναλογία λυκοπενίου / β-καροτίνης στους καρπούς (Mutschler et al., 1992). Αυτό δείχνει ότι κατά τη διάρκεια των χρόνων οι παραδοσιακοί αγρότες έκαναν μια αποτελεσματική επιλογή ενός ποικίλου συνόλου τομάτας που μεταφέρει αυτή τη μετάλλαξη. Ως εκ τούτου, υπάρχουν

πολλές τοπικές ποικιλίες στην περιοχή της Μεσογείου με μεταλλαγή *alc*, με ευρεία μορφολογική ποικιλομορφία (Cebolla-Cornejo et al., 2013, Bota et al., 2014, Figs. et al., 2015, Mercati et al., 2015b), με μέγεθος καρπού που συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 25-60 γρ. (Conesa et al., 2020). Είναι αξιοσημείωτο ότι αυτές οι μεσογειακές ντομάτες χρησιμοποιούνται για να έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε ξηρά ουσία από τις τυποποιημένες ποικιλίες (Figs et al., 2015b).

Παρά τις γενικές απώλειες στις καλλιεργούμενες εκτάσεις που αξιοποιούνται για την παραγωγή των συγκεκριμένων ποικιλιών τομάτας, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αυξημένο ενδιαφέρον για αυτές. Ο λόγος είναι το ενδιαφέρον που έχουν τοπικά στην παραδοσιακή γαστρονομία (Romero del Castillo et al., 2014), καθώς και ότι παρουσιάζουν ανθεκτικότητά και ανοχή στις ξηρασία ως ποικιλίες που έχουν προσαρμοστεί στις ξηρικές κλιματικές συνθήκες της Μεσογείου (Maamar et al., 2015, Fullana-Pericàs et al., 2017, 2018).

4.3.1.2. Επιλογή γονοτύπων για χρήση ως υποκειμένων

Οι ποικιλίες και τα υβρίδια που χρησιμοποιήθηκαν ως υποκείμενα για την συγκεκριμένη καλλιέργεια επιλέχθηκαν με βάση την βιβλιογραφία, τις παρατηρήσεις άλλων ερευνητών που συμμετείχαν στο πρόγραμμα TOMRES καθώς και τα αποτελέσματα της 1^{ης} πειραματικής μελέτης της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Πιο συγκεκριμένα, οι γονότυποι που επιλέχθηκαν ήταν οι εξής:

- α) αυτό-εμβολιασμένα φυτά του υβριδίου Palamos F1
- β) φυτά τοπικής ποικιλίας «de Ramellet»
- γ) φυτά M82 (*Solanum lycopersicum* Mill. cv. M82)
- δ) φυτά του υποκειμένου Maxifort F1 (διειδικό υβρίδιο προερχόμενο από τα είδη *S. lycopersicum* L. x *S. Habrochaites*)
- ε) φυτά προερχόμενα από γενετική βελτίωση μετά από σταυρογονιμοποίηση του *S. lycopersicum* με *S. pennelli* (BIL-6335).

Τα φυτά τοπικής ποικιλίας «de Ramellet» προέρχονταν από το Πανεπιστήμιο των Βαlearίδων Νήσων (University of Balearic Islands, UIB) το οποίο ήταν εταίρος του προγράμματος TOMRES και ασχολούταν με την εύρεση τοπικών ποικιλιών Ramellet που παρουσιάζουν ανοχή στην συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων. Το υποκείμενο M82 επιλέχτηκε διότι μελετήθηκε και στην 1^η πειραματική μελέτη σε υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας και σε συνθήκες

συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων όπου εμφάνισε αποτελέσματα αυξημένης παραγωγής σε καρπούς. Το υποκείμενο Maxifort αποτελεί ένα εμπορικό υβρίδιο το οποίο χρησιμοποιείται ως υποκείμενο στην τομάτα αφού έχει παρατηρηθεί ότι είναι ανθεκτικό στις ασθένειες του εδάφους (Fullana-Pericas et al., 2018) ενώ μπορεί να αυξήσει και την νωπή βιομάζα των φυτών (Savvas et al., 2017). Τέλος το υποκείμενο BIL-6335 αποτελεί και αυτό ένα διαειδικό υβρίδιο μεταξύ των φυτών *S. lycopersicum* με *S. Pennelli* και προέρχεται από συνεχείς επανασταυρογονιμοποιήσεις μεταξύ των φυτών ύστερα από προγράμματα γενετικής βελτίωσης του Εβραϊκού Πανεπιστημίου της Ιερουσαλήμ (Hebrew University of Jerusalem, HUI) το οποίο ειδικεύεται στην αύξηση της ανοχής των φυτών τομάτας στις συνθήκες έλλειψης νερού (Ofner et al., 2016).

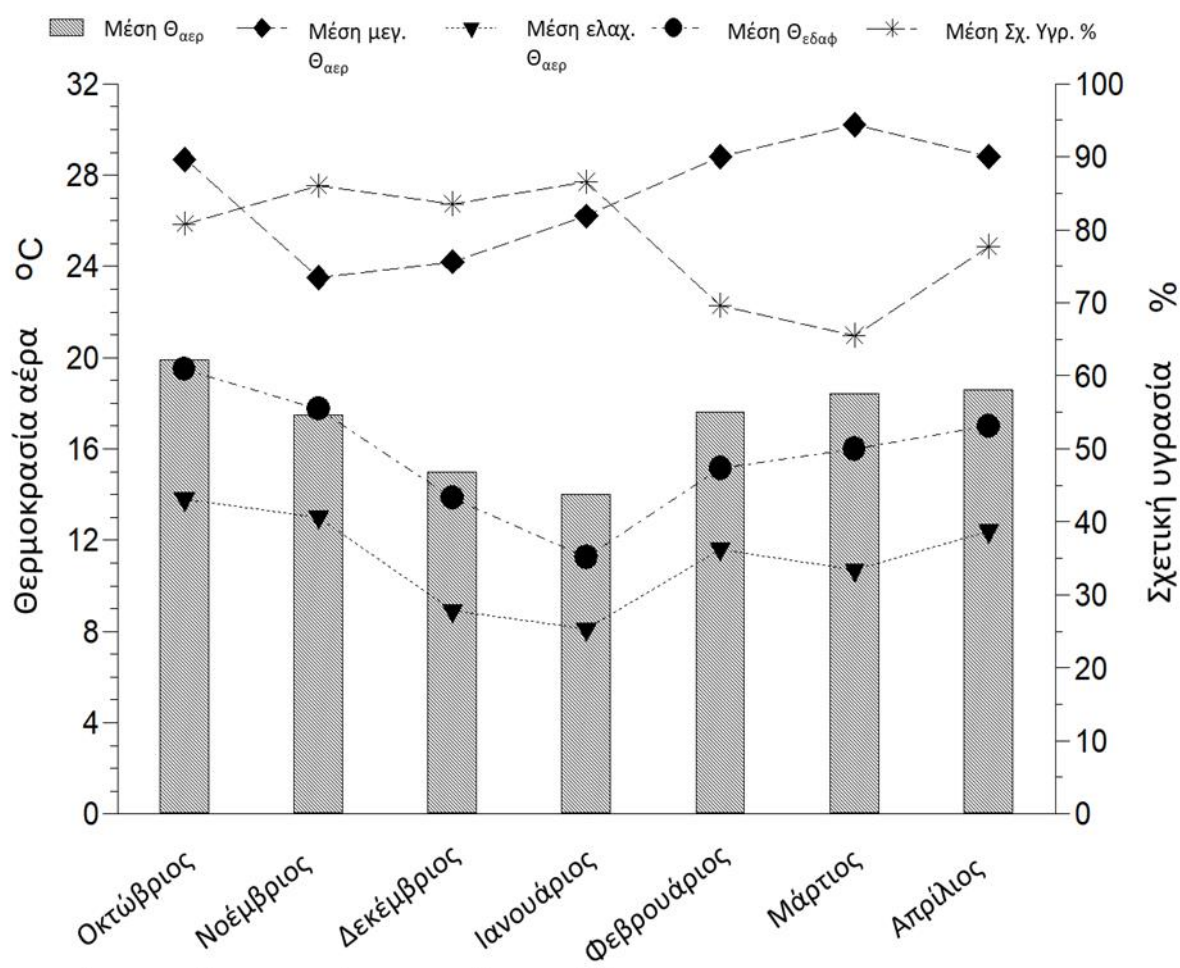
4.3.1.3. Η λίπανση της καλλιέργειας και η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης

Η λίπανση της καλλιέργειας διέφερε μεταξύ του βιολογικού και του συμβατικού τμήματος της καλλιέργειας. Για τη λίπανση του συμβατικού τμήματος, μετά την βασική λίπανση η οποία περιλάμβανε προσθήκη κοπριάς και λιπασμάτων, πραγματοποιούνταν και επιφανειακή λίπανση με την μορφή υδρολίπανσης. Για την εφαρμογή της υδρολίπανσης παρασκευάστηκαν πυκνά διαλύματα τα οποία αραιώνονταν στο νερό άρδευσης με την χρήση της κεφαλής υδρολίπανσης.

Στο βιολογικό τμήμα, πέρα από την χλωρή λίπανση, η βασική λίπανση που εφαρμόστηκε πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας περιλάμβανε την προσθήκη κοπριάς σε μεγαλύτερες ποσότητες από ό,τι της συμβατικής λίπανσης καθώς και του βιολογικού λιπάσματος ΠΑΤΕΝΤΚΑΛΙ (PATENTKALI, <http://www.ks-kali.com/grgr/fertiliser/news/news-20190902-patentkali-video.html>),. Επιπλέον, ακολούθησε και επιφανειακή προσθήκη κοπριάς σε μικρότερη ποσότητα σε σχέση με την βασική λίπανση. Η συνολική ποσότητα N και K₂O που εφαρμόστηκε στο συμβατικό τμήμα ήταν 45 και 140 μονάδες στο στρέμμα αντίστοιχα, ενώ στην βιολογικό τμήμα ήταν 17 και 54 μονάδες στο στρέμμα αντίστοιχα, συνεπώς τα φυτά που αναπτύσσονταν στο βιολογικό τμήμα της καλλιέργειας αναπτύσσονταν σε συνθήκες οριακής συνδυασμένης καταπόνησης θρεπτικών στοιχείων (Warner et al., 2004).

4.3.1.4. Καταγραφή κλιματικών συνθηκών εντός του θερμοκηπίου

Η μέση μηνιαία θερμοκρασία, μέση ανώτατη και κατώτατη θερμοκρασία, μέση μηνιαία θερμοκρασία εδάφους και μέση μηνιαία σχετική υγρασία στο περιβάλλον του θερμοκηπίου παρουσιάζονται στο Διαγρ. 4.3.2.1. για τους μήνες Οκτώβριο 2018 έως Απρίλιο 2019, όπως αυτές καταγράφονταν καθημερινώς από το θερμόμετρο και το υγρασιόμετρο του θερμοκηπίου. Στο Διαγρ. 4.3.2.1 παρατηρείται ότι ο μήνας με την μεγαλύτερη μέση θερμοκρασία είναι ο Οκτώβριος με (19,9 °C) ενώ με την μικρότερη είναι ο Ιανουάριος με (14,0 °C). Οι πολύ χαμηλές θερμοκρασίες τόσο στον αέρα, όσο και στο έδαφος του θερμοκηπίου, καθώς και η αυξημένη σχετική υγρασία κατά τους μήνες Δεκέμβριο 2018 και Ιανουάριο 2019 διαδραμάτισαν σημαντικό ρόλο στην πορεία της καλλιέργειας λόγω της ανάπτυξης μυκητολογικών προσβολών, όπως θα αναλυθεί και παρακάτω.



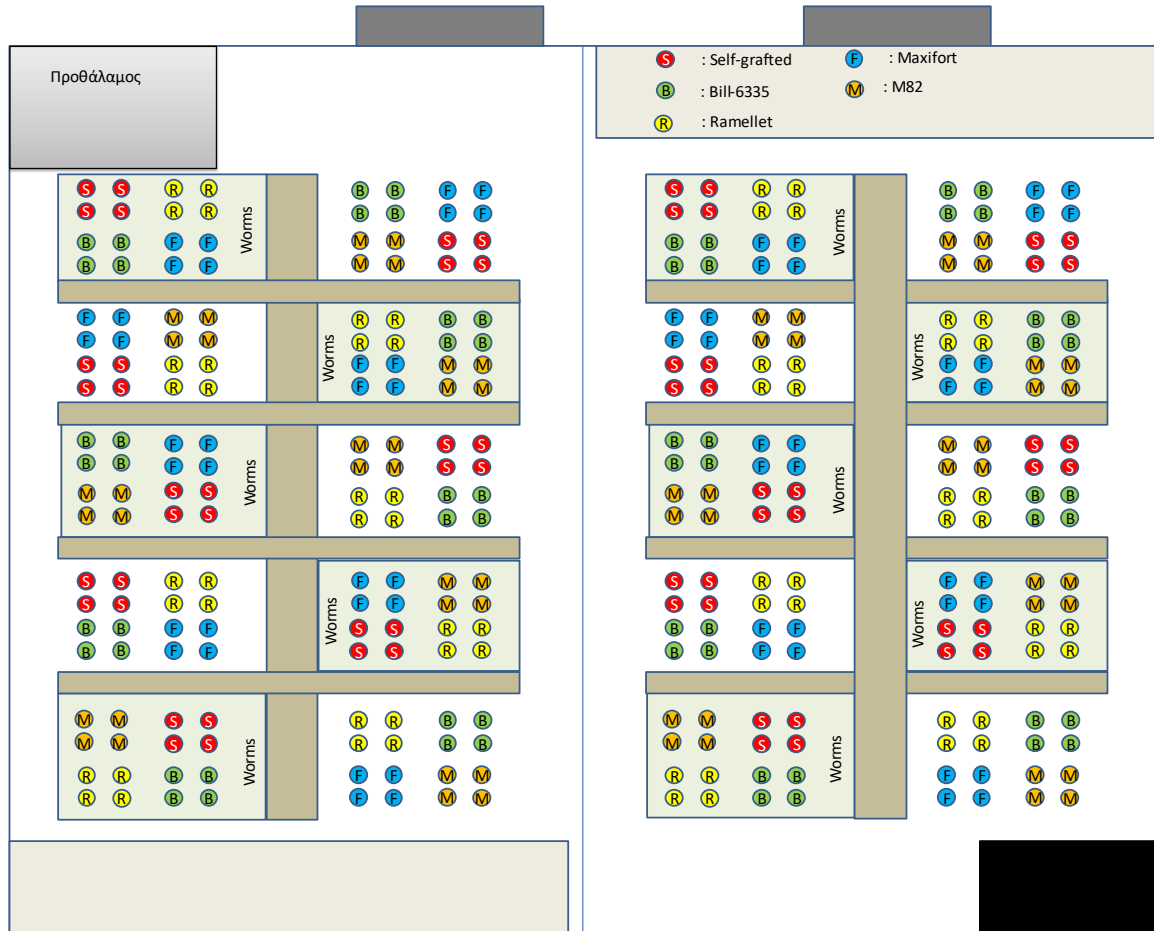
Διάγραμμα 4.3.1.1. Μέση μηνιαία θερμοκρασία αέρα, μέση ανώτατη και μέση κατώτατη θερμοκρασία αέρα, μέση μηνιαία θερμοκρασία εδάφους και μέση μηνιαία σχετική υγρασία στο περιβάλλον του θερμοκηπίου για τους μήνες Οκτώβριο 2018 έως Απρίλιο 2019.

4.3.2. Εφαρμογή των γαιοσκωλήκων

Στις 31/10/2018, δηλαδή 20 ημέρες μετά την μεταφύτευση της τομάτας, εφαρμόστηκαν 2-3 χιλιάδες γαιοσκώληκες του είδους *Eisenia fetida* στο έδαφος του θερμοκηπίου. Η εφαρμογή των γαιοσκωλήκων μοιράστηκε ισόποσα, όσο αυτό ήταν δυνατόν, στα μισά πειραματικά τεμάχια του βιολογικού και στα μισά πειραματικά τεμάχια του συμβατικού τμήματος του θερμοκηπίου (Εικ. 4-3Α, 4-3Β). Τα πειραματικά τεμάχια που περιείχαν γαιοσκώληκες διαχωρίζονταν με τα πειραματικά τεμάχια που δεν περιείχαν γαιοσκώληκες μέσω διαδρόμων του θερμοκηπίου, πλάτους ενός μέτρου και αρκετής συμπίεσης ώστε να αποτρέπεται σε μεγάλο βαθμό η μετακίνηση των γαιοσκωλήκων από το πειραματικό τεμάχιο που είχαν τοποθετηθεί σε άλλο πειραματικό τεμάχιο όπου δεν είχαν τοποθετηθεί γαιοσκώληκες. Παρόλα αυτά οι διάδρομοι των φυτών δημιουργούσαν διακριτά τμήματα εδάφους όπου περιείχαν φυτά τομάτας εμβολιασμένα σε διαφορετικά υποκείμενα. Κατά συνέπεια, κατά την μέτρηση του αριθμού των γαιοσκωλήκων στο έδαφος, τα πειραματικά τεμάχια δεν διαχωρίζονται ως προς τα υποκείμενα εμβολιασμού, παρά μόνο ως προς το σύστημα της καλλιέργειας (βιολογικό και συμβατικό) και ως προς την εφαρμογή των γαιοσκωλήκων (εφαρμογή *E. fetida* ή μη εφαρμογή) (Εικ. 4-4).



Εικόνα 4-3. Α) Ισόποση εφαρμογή του αρχικού κομπόστ με τους γαιοσκώληκες. Β) Εφαρμογή των γαιοσκωλήκων στο έδαφος του θερμοκηπίου ανάμεσα στα φυτά της τομάτας. Γ) Δειγματοληψία εδάφους με δειγματολήπτη για μέτρηση ατόμων *E. fetida*. Δ) Γαιοσκώληκας *E. fetida* μέσα στο έδαφος μετά την δειγματοληψία εδάφους.



Εικόνα 4-4. Σχέδιο κάτοψης του πειραματικού θερμοκηπίου.

4.3.3. Αντιμετώπιση εχθρών και ασθενειών

Ιολογικές προσβολές: Μετά από παρατήρηση ορισμένων φυτών που εμφάνιζαν συμπτώματα ιολογικής φύσεως, πάρθηκαν δείγματα φύλλων και στάλθηκαν στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε στις 14/11/2018 όπου 8 φυτά τομάτας αφαιρέθηκαν από το πείραμα και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Ιολογίας. Από τις αναλύσεις βρέθηκε η προσβολή ορισμένων φυτών από τον Ίο CMV της αγγουριάς (Εικ. 4-5). Ένα ακόμη φυτό αφαιρέθηκε στις 27/11/18 λόγω εμφάνισης παρόμοιων συμπτωμάτων, παρόλα αυτά δεν πραγματοποιήθηκε κάποια άλλη ενέργεια αφού δεν υπήρξε περαιτέρω έξαρση των συμπτωμάτων.



Εικόνα 4-5. Συμπτώματα CMV σε φύλλα της τομάτας.

Εντομολογικές προσβολές: Κατά τη διάρκεια του πειράματος η καλλιέργεια προσβλήθηκε από το έντομο *Tuta absoluta*. Αρχικά, για την προληπτική αντιμετώπιση του λεπιδόπτερου στερεώθηκαν τρία είδη παγίδων σύλληψης ακμαίων. Πιο συγκεκριμένα, τοποθετήθηκε μια τριγωνική τύπου ‘Δέλτα’ με χρήση φερομόνης, μαύρες κολλητικές παγίδες και κολλητική παγίδα με λαμπτήρες. Στη συνέχεια, κατά την εμφάνιση των πρώτων προσβολών στα φύλλα έγινε ψεκασμός της καλλιέργειας με το βιολογικό σκεύασμα LASER (διμεθυλαμινο άλας) στις 11/01/2019. Σε γενικές γραμμές, ο πληθυσμός του εντόμου διατηρήθηκε σε χαμηλά επίπεδα και δεν δημιούργησε σημαντικό πρόβλημα στην καλλιέργεια

Μυκητολογικές προσβολές: Η καλλιέργεια της τομάτας προσβλήθηκε σημαντικά από τον περονόσπορο της τομάτας (*Phytophthora infestans*). Ο μύκητας προσβάλλει φύλλωμα (Εικ. 4-6) και καρπούς και επιβιώνει συνήθως ως μυκήλιο πάνω σε προσβεβλημένους καρπούς. Λόγω των ευνοϊκών συνθηκών που επικράτησαν εκείνο το διάστημα, δηλαδή τον Δεκέμβριο 2018 και Ιανουάριο 2019, (υψηλή υγρασία, χαμηλές θερμοκρασίες και συνεχής βροχόπτωση) η ασθένεια εξαπλώθηκε γρήγορα και αυτό είχε ως αποτέλεσμα την καταστροφή μεγάλου αριθμού φυτών τόσο στο συμβατικό όσο και στο βιολογικό τμήμα. Για την αντιμετώπισή του μύκητα πραγματοποιήθηκαν ψεκασμοί με βιολογικά σκευάσματα στην βιολογική καλλιέργεια και με βιολογικά και συμβατικά σκευάσματα στην συμβατική. Πιο συγκεκριμένα, στις 01/01/2019 πραγματοποιήθηκε



Εικόνα 4-6. Συμπτώματα περονόσπορου (*Phytophthora infestans* σε φύλλα τομάτας.

ψεκασμός στο βιολογικό και συμβατικό τμήμα με βορδιγάλειο πολτό, αφού η ασθένεια βρισκόταν ακόμη σε πρωταρχικό στάδιο. Ακολούθησε παρόμοιος ψεκασμός με βορδιγάλειο πολτό στις 07/01/2019, ενώ στις 11/1/19 πραγματοποιήθηκε και ψεκασμός με το σκεύασμα ALIETTE (fosetyl-Al) στο συμβατικό τμήμα. Για την ενίσχυση της άμυνας των φυτών εφαρμόστηκε και το βιολογικό σκεύασμα DEFENCE (<https://oraservices.gr/product/defense/>). Λόγω του εύρους της ζημιάς, πραγματοποιήθηκαν άλλοι τρεις ψεκασμοί στις 29/01/2019, 06/02/2019 και 15/02/22 με ALIETTE, Revus (25%mandipropamid) και ALIETTE αντίστοιχα. Επιπλέον

πραγματοποιούνταν αφαίρεση των προσβεβλημένων φύλλων και βλαστών για τον περιορισμό της εξάπλωσης του μύκητα καθώς και επάλειψη των βλαστών με βορδιγάλειο πολτό. Το αποτέλεσμα ήταν τελικώς να καταστραφεί το βιολογικό τμήμα περίπου στα τέλη Φεβρουαρίου, ενώ στο συμβατικό τμήμα επηρεάστηκε σημαντικά η ανάπτυξη και η τελική παραγωγή των φυτών.

4.3.4. Πρόσθετες μετρήσεις και τροποποιήσεις μετρήσεων

4.3.4.1. Η επίδραση του περονόσπορου στις μετρήσεις βιομάζας και παραγωγής

Η επίδραση του περονόσπορου στην καλλιέργεια της τομάτας ήταν ιδιαίτερα σημαντική και για αυτό τον λόγο δεν πάρθηκαν μετρήσεις νωπής και ξηρής βιομάζας των φυτών. Επιπλέον, λόγω της καταστροφής του βιολογικού τμήματος της καλλιέργειας τον Φεβρουάριο του 2019 από τον περονόσπορο της τομάτας, δεν πάρθηκαν και μετρήσεις παραγωγής και θρεπτικής κατάστασης φύλλων και καρπών και φυλλικής επιφάνειας για το τμήμα αυτό. Παρόλα αυτά, συλλέχθηκαν δεδομένα παραγωγής και θρεπτικής κατάστασης καρπών που αφορούν το συμβατικό κομμάτι της καλλιέργειας. Όσον αφορά τις αναλύσεις εδάφους, οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν κανονικά και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται πλήρως στο Κεφ. 4.4.2.

4.3.4.2. Μετρήσεις πληθυσμού γαιοσκωλήκων

Οι μετρήσεις πληθυσμού γαιοσκωλήκων πραγματοποιούνταν μία φορά κάθε μήνα με την βοήθεια ενός δειγματολήπτη εδάφους. Πιο συγκεκριμένα, σε κάθε πειραματικό τεμάχιο πραγματοποιούνταν 3 δειγματοληψίες χώματος σε βάθος 10εκ. και καταγράφονταν τα ενήλικα άτομα γαιοσκωλήκων που βρέθηκαν μέσα στο δείγμα χώματος (Εικ 4.4Γ, 4.4.Δ). Από τις 3 δειγματοληψίες προέκυπτε ο μέσος όρος του αριθμού των γαιοσκωλήκων που καταγράφηκαν σε κάθε πειραματικό τεμάχιο. Δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν ομοιοτρόπως και στα πειραματικά τεμάχια όπου δεν εφαρμόστηκαν γαιοσκώληκες. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν κάθε 1^η του μήνα με τελευταία μέτρηση να πραγματοποιείται στις 1 Μαρτίου 2019. Παρόλο που εκείνη την ημερομηνία τα φυτά της τομάτας είχαν αφαιρεθεί από το βιολογικό τμήμα της καλλιέργειας, πάρθηκαν μετρήσεις διότι υπήρχε περίπτωση οι γαιοσκώληκες να είναι ακόμη παρόντες στο έδαφος.

4.3.4.3. Μετρήσεις αερίων θερμοκηπίου

Η 2^η πειραματική μελέτη περιλάμβανε μετρήσεις αερίων θερμοκηπίου από το έδαφος της καλλιέργειας. Λόγω του κόστους και της πολυπλοκότητας της μεθόδου, οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν μόνο για τις μεταχειρίσεις των αυτόρριζων και των εμβολιασμένων φυτών στο υποκείμενο M82, σε φυτά που αναπτύσσονταν σε βιολογικό ή συμβατικό σύστημα καλλιέργειας, με ή χωρίς προσθήκη γαιοσκωλήκων.

Για την συλλογή των δειγμάτων, τοποθετήθηκαν στο έδαφος ειδικοί θάλαμοι συλλογής αέριων, κοινώς ονομαζόμενες chambers (Clayton et al., 1994). Τα chambers είχαν ύψος 15 εκ. και βρίσκονταν κοντά στα φυτά αλλά και σε σημείο που να είναι εύκολα προσβάσιμο για τις μετρήσεις (Εικ. 4-7). Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν

κάθε 15 ημέρες μεταξύ των ωρών 10:00 και 12:00 (Clayton et al., 1994). Κατά την διάρκεια της μέτρησης, τα chambers σφραγίζονταν από την πάνω πλευρά με ειδικό πώμα και αφήνονταν για μια ώρα. Στην συνέχεια, με τη χρήση σύριγγας των 50 ml, συλλεγόταν δείγμα αερίου και τοποθετείτο σε ειδική φιάλη αερίων



όπως περιγράφεται και από τους Ball et al. (1999). Παράλληλα με την συλλογή

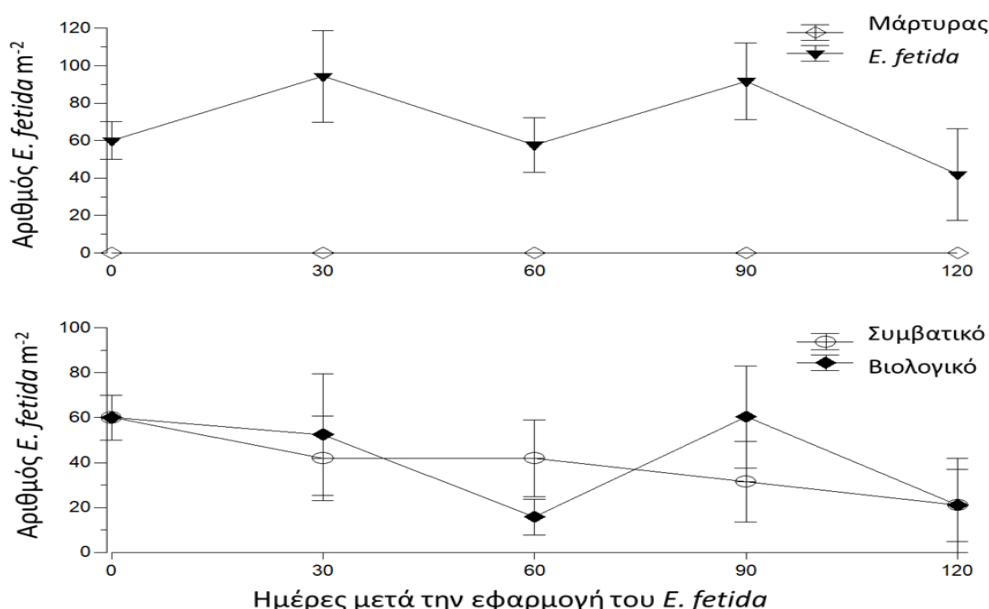
Εικόνα 4-7. Συλλογή αερίων θερμοκηπίου από το έδαφος του θερμοκηπίου με ειδικές συσκευές «chambers».

των δειγμάτων πραγματοποιούνταν και μετρήσεις θερμοκρασίας εδάφους στο έδαφος της καλλιέργειας. Η ανάλυση των δειγμάτων για τις συγκεντρώσεις μεθανίου (CH₄), διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) και υποξειδίου του αζώτου (N₂O) πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Οικολογίας με την χρήση του GC/MS (GC/EI/MS Agilent 6890n, Agilent Technologies In.) με ανιχνευτή μάζας 5973 (inert mass selective detector, MSD) και αυτόματο δειγματολήπτη (7683 autosampler). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αναλύθηκαν τόσο ως στιγμιαίες μετρήσεις αερίων όσο και ως άθροισμα-συσσώρευση αερίων κατά την διάρκεια της καλλιέργειας. Οι ημερομηνίες συλλογής δειγμάτων ήταν 7/11/2018, 23/11/2018, 7/12/2018, 21/12/2018, 7/1/2019 για το βιολογικό και συμβατικό σύστημα καλλιέργειας και 25/1/2019, 7/2/2019, 22/2/2019 και 13/3/2019 για το συμβατικό σύστημα καλλιέργειας μόνο.

4.4. Αποτελέσματα

4.4.1. Μέτρηση πληθυσμού γαιοσκωλήκων

Όπως παρατηρείται από το Διάγραμμα 4.4.1.1, ο γαιοσκώληκας *Eisenia fetida* ανέπτυξε πληθυσμούς στο έδαφος του θερμοκηπίου όπου πραγματοποιήθηκε εφαρμογή του εν λόγω γαιοσκώληκα, σε αντίθεση με τα πειραματικά τεμάχια όπου δεν έγινε εφαρμογή του γαιοσκώληκα και δεν βρέθηκε κανένα άτομο *E. fetida* καθ' όλη την διάρκεια της μελέτης. Από το Διάγραμμα 4.4.1.1 προκύπτει επίσης ότι ο πληθυσμός του *E. fetida* δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το σύστημα καλλιέργειας καθώς η πυκνότητά του ήταν παρόμοια στο βιολογικό και στο συμβατικό σύστημα καλλιέργειας. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε κάποια αλληλεπίδραση μεταξύ του συστήματος καλλιέργειας και της εφαρμογής ή μη του γαιοσκώληκα *E. fetida*.



Διάγραμμα 4.4.1.1. Επίδραση της εφαρμογής ή μη (μάρτυρας) του γαιοσκώληκα *E. fetida* (πάνω) και του συστήματος καλλιέργειας (Συμβατικό ή Βιολογικό σύστημα καλλιέργειας, κάτω) στον πληθυσμό γαιοσκωλήκων *E. fetida* στο έδαφος του θερμοκηπίου 30, 60, 90 και 120 ημέρες μετά την εφαρμογή των γαιοσκωλήκων.

4.4.2. Αναλύσεις εδάφους

4.4.2.1. Συγκέντρωση νιτρικών

Η συγκέντρωση των νιτρικών στο έδαφος επηρεάστηκε σημαντικά από το σύστημα καλλιέργειας. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση των νιτρικών ήταν αυξημένη στην βιολογική καλλιέργεια σε σύγκριση με την συμβατική 30 ημέρες μετά την μεταφύτευση της τομάτας (Πίνακας 4.4.2.1). Στην πορεία όμως της καλλιέργειας,

η συγκέντρωση των νιτρικών στο βιολογικό τμήμα μειώθηκε σημαντικά και ήταν σημαντικά χαμηλότερη συγκριτικά με το συμβατικό τμήμα για έως και το τέλος της καλλιέργειας. Η εφαρμογή γαιοσκωλήκων και η καλλιέργεια σε διαφορετικά υποκείμενα τομάτας δεν επηρέασαν την συγκέντρωση νιτρικών στο έδαφος του θερμοκηπίου σε κανένα στάδιο ανάπτυξης των φυτών.

Πίνακας 4.4.2.1. Επίδραση του συστήματος καλλιέργειας (συμβατικό, βιολογικό σύστημα καλλιέργειας) της εφαρμογής γαιοσκωλήκων (μάρτυρας, εφαρμογή *E. fetida*) και του εμβολιασμού (αυτοεμβολιασμός, εμβολιασμός στα υποκείμενα M82, BIL-6335, Ramellet ή Maxifort) στην συγκέντρωση (mg kg^{-1}) νιτρικών (NO_3) στο έδαφος του θερμοκηπίου 30, 90 και 150 ημέρες μετά την μεταφύτευση.

Μεταχείριση	30	90	150
Συμβατικό	18,3 b	29,8 a	22,4 a
Βιολογικό	31,8 a	23,6 b	10,9 b
Μάρτυρας	24,6	27,4	15,4
<i>E. fetida</i>	25,6	26,0	17,9
Αυτοεμβολιασμός	20,5	21,4	14,0
M82	30,5	24,2	17,6
BIL-6335	25,5	29,3	13,7
Ramellet	25,8	29,2	13,7
Maxifort	23,0	29,3	24,1
Στατιστική σημαντικότητα			
Σύστημα καλλιέργειας	***	*	***
Γαιοσκώληκας	ns	ns	ns
Υποκείμενο	ns	ns	ns
$\Sigma \times \Gamma$	ns	ns	ns
$\Sigma \times \Upsilon$	ns	ns	ns
$\Gamma \times \Upsilon$	ns	ns	ns
$\Sigma \times \Gamma \times \Upsilon$	ns	ns	ns

Αυτοεμβολιασμός: Αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1

Σ : Σύστημα καλλιέργειας, Γ : Γαιοσκώληκας *E. fetida*, Υ : Υποκείμενο εμβολιασμού

Οι μέσοι ($n = 4$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$), *, *** σημαντική σε $p < 0,05$ και $p < 0,001$, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

4.4.2.2. Συγκέντρωση αμμωνιακών

Η συγκέντρωση αμμωνιακών ήταν αυξημένη κατά 13% και 31% τις πρώτες 30 και 90 ημέρες της καλλιέργειας αντίστοιχα στο βιολογικό τμήμα του θερμοκηπίου συγκριτικά με το συμβατικό (Πίνακας 4.4.2.2). Σε αντίθεση, κατά το τέλος της καλλιέργειας (150 ημέρες μετά την μεταφύτευση) το συμβατικό τμήμα είχε μεγαλύτερη συγκέντρωση αμμωνιακών συγκριτικά με το βιολογικό. Η εφαρμογή των γαιοσκωλήκων επηρέασε σημαντικά την συγκέντρωση αμμωνιακών στο έδαφος του θερμοκηπίου μόνο κατά τον πρώτο μήνα της καλλιέργειας, ενώ δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές στην συνέχεια και έως το τέλος της καλλιέργειας, συγκριτικά με τον μάρτυρα. Τέλος, ο εμβολιασμός της τομάτας στα διαφορετικά υποκείμενα δεν επηρέασε σημαντικά την συγκέντρωση αμμωνιακών στο έδαφος του θερμοκηπίου.

Πίνακας 4.4.2.2. Επίδραση του συστήματος καλλιέργειας (συμβατικό, βιολογικό σύστημα καλλιέργειας) της εφαρμογής γαιοσκωλήκων (μάρτυρας, εφαρμογή *E. fetida*) και του εμβολιασμού (αυτοεμβολιασμός, εμβολιασμός στα υποκείμενα M82, BIL-6335, Ramellet ή Maxifort) στην συγκέντρωση (mg kg^{-1}) αμμωνιακών (NH_4) στο έδαφος του θερμοκηπίου 30, 90 και 150 ημέρες μετά την μεταφύτευση.

Μεταχείριση	30	90	150
Συμβατικό	12,2 b	9,9 b	7,8 a
Βιολογικό	13,8 a	13,0 a	6,1 b
Μάρτυρας	11,7 b	11,5	6,8
<i>E. fetida</i>	14,3 a	11,3	7,1
Αυτοεμβολιασμός	13,6	11,2	7,0
M82	13,5	12,6	7,0
BIL-6335	12,7	11,5	6,9
Ramellet	12,7	11,3	7,6
Maxifort	12,6	10,5	6,3
Στατιστική σημαντικότητα			
Σύστημα καλλιέργειας	*	***	***
Γαιοσκώληκας	**	ns	ns
Υποκείμενο	ns	ns	ns
$\Sigma \times \Gamma$	ns	ns	ns
$\Sigma \times \Upsilon$	ns	ns	ns
$\Gamma \times \Upsilon$	ns	ns	ns
$\Sigma \times \Gamma \times \Upsilon$	ns	ns	ns

Αυτοεμβολιασμός: Αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1

Σ : Σύστημα καλλιέργειας, Γ : Γαιοσκώληκας *E. fetida*, Υ : Υποκείμενο εμβολιασμού

Οι μέσοι ($n = 4$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$), *, **, *** σημαντική σε $p < 0,05$, $p < 0,01$ και $p < 0,001$, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

4.4.2.3. Συγκέντρωση καλίου

Το κάλιο στο έδαφος επηρεάστηκε σημαντικά από το σύστημα της καλλιέργειας κατά το μέσον (90 ημέρες μετά την μεταφύτευση) και κατά το τέλος (150 ημέρες μετά την μεταφύτευση) της καλλιεργητικής περιόδου. Πιο συγκεκριμένα, το κάλιο ήταν αυξημένο στο βιολογικό σύστημα συγκριτικά με το συμβατικό σύστημα καλλιέργειας 90 ημέρες μετά την μεταφύτευση (Πίνακας. 4.4.2.3). Αντίθετα, στις 150 ημέρες μετά την μεταφύτευση, το συμβατικό σύστημα καλλιέργειας εμφάνισε υψηλότερες συγκεντρώσεις καλίου συγκριτικά με το βιολογικό σύστημα. Η εφαρμογή του γαιοσκώληκα *E. fetida* και ο εμβολιασμός της τομάτας σε διαφορετικά υποκείμενα δεν επηρέασαν την συγκέντρωση καλίου στο έδαφος.

Πίνακας 4.4.2.3. Επίδραση του συστήματος καλλιέργειας (συμβατικό, βιολογικό σύστημα καλλιέργειας) της εφαρμογής γαιοσκώληκων (μάρτυρας, εφαρμογή *E. fetida*) και του εμβολιασμού (αυτοεμβολιασμός, εμβολιασμός στα υποκείμενα M82, BIL-6335, Ramellet ή Maxifort) στην συγκέντρωση (mg kg^{-1}) καλίου (Κ) στο έδαφος του θερμοκηπίου 30, 90 και 150 ημέρες μετά την μεταφύτευση.

Μεταχείριση	30	90	150
Συμβατικό	491,9	77,7 b	97,7 a
Βιολογικό	546,9	137,9 a	60,2 b
Μάρτυρας	509,4	110,7	77,6
<i>E. fetida</i>	529,4	104,9	80,3
Αυτοεμβολιασμός	579,7	104,6	85,9
M82	571,9	106,0	76,1
BIL-6335	456,3	104,6	74,5
Ramellet	489,1	126,6	74,5
Maxifort	500,0	97,1	83,7
Στατιστική σημαντικότητα			
Σύστημα καλλιέργειας	ns	***	***
Γαιοσκώληκας	ns	ns	ns
Υποκείμενο	ns	ns	ns
$\Sigma \times \Gamma$	ns	ns	ns
$\Sigma \times \Upsilon$	ns	ns	ns
$\Gamma \times \Upsilon$	ns	ns	ns
$\Sigma \times \Gamma \times \Upsilon$	ns	ns	ns

Αυτοεμβολιασμός: Αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1

Σ : Σύστημα καλλιέργειας, Γ : Γαιοσκώληκας *E. fetida*, Υ : Υποκείμενο εμβολιασμού

Οι μέσοι ($n = 4$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$) *** σημαντική σε $p < 0,001$, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

4.4.2.4. Ποσοστό οργανικής ουσίας

Η οργανική ουσία του εδάφους ήταν αυξημένη στο συμβατικό τμήμα του θερμοκηπίου τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας συγκριτικά με το βιολογικό

τμήμα, ενώ στην συνέχεια και έως το τέλος της καλλιέργειας τα δυο συστήματα καλλιέργειας δεν εμφάνισαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (Πίνακας 4.4.2.4). Η εφαρμογή του *E. fetida* αύξησε την συγκέντρωση οργανικής ουσίας κατά 30% αλλά μόνο κατά το μέσον της καλλιέργειας (90 ημέρες μετά την μεταφύτευση). Τα υποκείμενα της τομάτας που μελετήθηκαν δεν εμφάνισαν διαφορές όσον αφορά την συγκέντρωση οργανικής ουσίας στο έδαφος του θερμοκηπίου.

Πίνακας 4.4.2.4. Επίδραση του συστήματος καλλιέργειας (συμβατικό, βιολογικό σύστημα καλλιέργειας) της εφαρμογής γαιοσκώληκων (μάρτυρας, εφαρμογή *E. fetida*) και του εμβολιασμού (αυτοεμβολιασμός, εμβολιασμός στα υποκείμενα M82, BIL-6335, Ramellet ή Maxifort) στο ποσοστό % της οργανικής ουσίας στο έδαφος του θερμοκηπίου 30,90 και 150 ημέρες μετά την μεταφύτευση.

Μεταχείριση	30	90	150
Συμβατικό	5,15 a	1,71	2,03
Βιολογικό	4,68 b	1,76	1,93
Μάρτυρας	4,88	1,50 b	2,06
<i>E. fetida</i>	4,94	1,96 a	1,97
Αυτοεμβολιασμός	4,59	2,04	2,01
M82	5,13	1,60	1,86
BIL-6335	4,76	1,58	1,90
Ramellet	5,08	1,86	2,26
Maxifort	5,01	1,58	2,03
Στατιστική σημαντικότητα			
Σύστημα καλλιέργειας	**	ns	ns
Γαιοσκώληκας	ns	*	ns
Υποκείμενο	ns	ns	ns
Σ × Γ	ns	ns	ns
Σ × Υ	ns	ns	ns
Γ × Υ	ns	ns	ns
Σ × Γ × Υ	ns	ns	ns

Αυτοεμβολιασμός: Αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1

Σ: Σύστημα καλλιέργειας, Γ: Γαιοσκώληκας *E. fetida*, Υ: Υποκείμενο εμβολιασμού

Οι μέσοι (n = 4) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan (p < 0,05) *, ** σημαντική σε p < 0,05 και p < 0,01, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

4.4.3. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας

Οι μετρήσεις παραγωγής των φυτών σε καρπούς πραγματοποιήθηκε μόνο από το συμβατικό τμήμα της καλλιέργειας αφού το βιολογικό τμήμα καταστράφηκε από τον περονόσπορο της τομάτας πριν την έναρξη της συγκομιδής καρπών. Η μέση συνολική παραγωγή των φυτών στη συμβατική καλλιέργεια ήταν $1,17 \text{ kg m}^{-2}$ για διάρκεια συγκομιδής 2,5 μηνών (Πίνακας 4.4.3.1). Η εφαρμογή του γαιοσκώληκα *E. fetida* αύξησε κατά 37% την συνολική παραγωγή των φυτών της τομάτας συγκριτικά με τα φυτά χωρίς εφαρμογή του γαιοσκώληκα. Η αύξηση της συνολικής παραγωγής ήταν απόρροια των περισσότερων καρπών ανά φυτό, ενώ το μέσο βάρος καρπών δεν αυξήθηκε λόγω της εφαρμογής των γαιοσκωλήκων.

Ο εμβολιασμός της τομάτας Palamos F1 στα διαφορετικά υποκείμενα οδήγησε σε στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την συνολική παραγωγή των φυτών και τον αριθμό καρπών ανά φυτό, ενώ δεν επηρέασε το μέσο βάρος καρπού. Πιο συγκεκριμένα, τα φυτά που ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο BIL-6335 αύξησαν την συνολική παραγωγή και τον αριθμό καρπών ανά φυτό συγκριτικά με όλα τα άλλα υποκείμενα που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη καθώς και τα αυτοεμβολιασμένα φυτά.

Πίνακας 4.4.3.1. Συνολική παραγωγή, αριθμός καρπών ανά φυτό και μέσο βάρος καρπού στο συμβατικό σύστημα καλλιέργειας και επίδραση της εφαρμογής γαιοσκώληκων (μάρτυρας, εφαρμογή *E. fetida*) και του εμβολιασμού (αυτοεμβολιασμός, εμβολιασμός στα υποκείμενα M82, BIL-6335, Ramellet ή Maxifort) στην συνολική παραγωγή, τον αριθμό καρπών ανά φυτό και μέσο βάρος καρπού των φυτών τομάτας.

Μεταχείριση	Συνολική παραγωγή (kg m ⁻²)	Αριθμός καρπών ανά φυτό	Μέσο βάρος καρπού
Συμβατικό	1,17	9,5	50,9
Βιολογικό	-	-	-
Μάρτυρας	0,99 b	8,1 b	51,7
<i>E. fetida</i>	1,36 a	11,0 a	50,1
Αυτοεμβολιασμός	0,74 b	8,7 b	51,0
M82	1,06 b	7,7 b	50,0
BIL-6335	1,69 a	14,1 a	52,5
Ramellet	1,20 b	8,1 b	52,4
Maxifort	1,16 b	8,9 b	48,6
Στατιστική σημαντικότητα			
Σύστημα καλλιέργειας	-	-	-
Γαιοσκώληκας	**	*	ns
Υποκείμενο	**	*	ns
Γ × Υ	ns	ns	ns

Αυτοεμβολιασμός: Αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1

Γ: Γαιοσκώληκας *E. fetida*, Υ: Υποκείμενο εμβολιασμού

Οι μέσοι (n = 4) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan (p < 0,05) *, ** σημαντική σε p < 0,05 και p < 0,01, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

4.4.4. Θρεπτική κατάσταση φύλλων και καρπών

Η περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία, η συγκέντρωση του φωσφόρου και η συγκέντρωση του καλίου στα φύλλα της τομάτας δεν επηρεάστηκαν από το σύστημα καλλιέργειας, την εφαρμογή των γαιοσκωλήκων ή τον εμβολιασμό της τομάτας (Πίνακας 4.4.4.1). Αντίθετα, το ποσοστό του αζώτου διέφερε σημαντικά μεταξύ του βιολογικού και συμβατικού συστήματος, με τα φυτά που αναπτύσσονταν σε συμβατικό σύστημα καλλιέργειας να έχουν αυξημένη συγκέντρωση αζώτου κατά 10% συγκριτικά με τα φυτά στο βιολογικό σύστημα. Η εφαρμογή του *E. fetida* αύξησε σημαντικά την συγκέντρωση του αζώτου στα φύλλα της τομάτας, αλλά μόνο όταν εφαρμόστηκε σε φυτά που ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο BIL-6335. Αντίθετα, η εφαρμογή του γαιοσκώληκα στην καλλιέργεια των υπόλοιπων υποκειμένων τομάτας δεν αύξησε την συγκέντρωση του αζώτου στα φύλλα συγκριτικά με τα φυτά που αναπτύσσονταν χωρίς την προσθήκη γαιοσκώληκα.

Η συγκέντρωση φωσφόρου και καλίου στους καρπούς της τομάτας μελετήθηκε μόνο για τα φυτά που αναπτύσσονταν σε συμβατικό σύστημα καλλιέργειας αφού δεν συλλέχθηκαν καρποί από το βιολογικό τμήμα του θερμοκηπίου. Η χρήση γαιοσκωλήκων και ο εμβολιασμός στα υποκείμενα M82, BIL-6335, Ramellet και Maxifort δεν επηρέασαν σημαντικά την συγκέντρωση φωσφόρου και καλίου στους καρπούς της τομάτας.

Πίνακας 4.4.4.1. Επίδραση του συστήματος καλλιέργειας (συμβατικό, βιολογικό σύστημα καλλιέργειας) της εφαρμογής γαιοσκώληκων (μάρτυρας, εφαρμογή *E. fetida*) και του εμβολιασμού (αυτοεμβολιασμός, εμβολιασμός στα υποκείμενα M82, BIL-6335, Ramellet ή Maxifort) στην περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία των φύλλων, την συγκέντρωση N, P, K στα φύλλα και την συγκέντρωση P, K στους καρπούς της τομάτας.

Μεταχείριση	Φύλλα			Καρποί		
	Περιεκτικ ότητα σε ξηρή Ουσία %	N (g kg ⁻¹ ΞΒ)	P (g kg ⁻¹ ΞΒ)	K (g kg ⁻¹ ΞΒ)	P (g kg ⁻¹ ΞΒ)	K (g kg ⁻¹ ΞΒ)
Συμβατικό	7,4	45,0 a	3,98	27,7	3,61	41,1
Βιολογικό	8,6	40,9 b	4,07	28,2	-	-
Μάρτυρας	7,3	42,2 b	4,09	27,8	3,89	41,8
<i>E. fetida</i>	8,7	43,7 a	3,96	28,1	3,33	40,3
Αυτοεμβολιασμός	7,4	43,1	3,48	27,7	3,61	41,5
M82	7,3	42,0	4,16	29,9	4,34	43,4
BIL-6335	7,7	44,3	4,13	26,3	3,23	38,6
Ramellet	6,8	42,1	4,08	28,4	3,39	42,3
Maxifort	10,6	43,3	4,26	27,6	3,47	39,4
Αλληλεπίδραση						
M X Αυτοεμβ.		42,6 b				
M X M82		41,5 b				
M X BIL-6335		41,7 b				
M X Ramellet		40,9 b				
M X Maxifort		44,4 ab				
Γ X Αυτοεμβ.		43,5 ab				
Γ X M82		42,4 b				
Γ X BIL-6335		46,8 a				
Γ X Ramellet		43,4 b				
Γ X Maxifort		42,3 b				
Στατιστική σημαντικότητα						
Σύστημα καλλιέργειας	ns	***	ns	ns	-	-
Γαιοσκώληκας	ns	*	ns	ns	ns	ns
Υποκείμενο	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Σ × Γ	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Σ × Υ	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Γ × Υ	ns	*	ns	ns	ns	ns
Σ × Γ × Υ	ns	ns	ns	ns	ns	ns

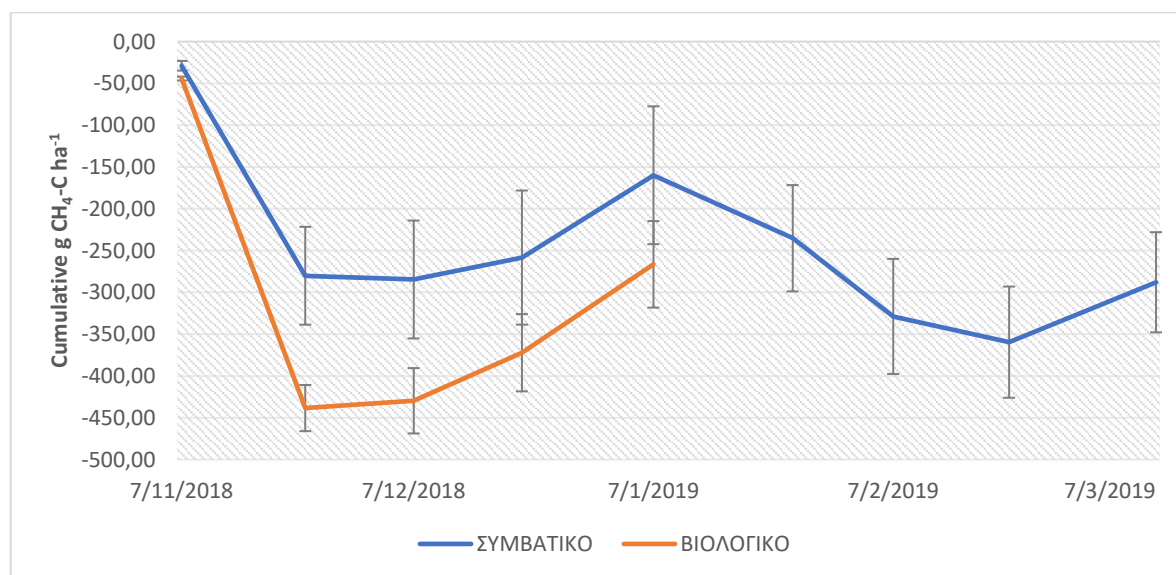
Αυτοεμβολιασμός: Αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1

Σ: Σύστημα καλλιέργειας, Γ: Γαιοσκώληκας *E. fetida*, Υ: Υποκείμενο εμβολιασμού
Οι μέσοι (n = 4) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan (p < 0,05), *, *** σημαντική σε p < 0,05 και p < 0,001, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

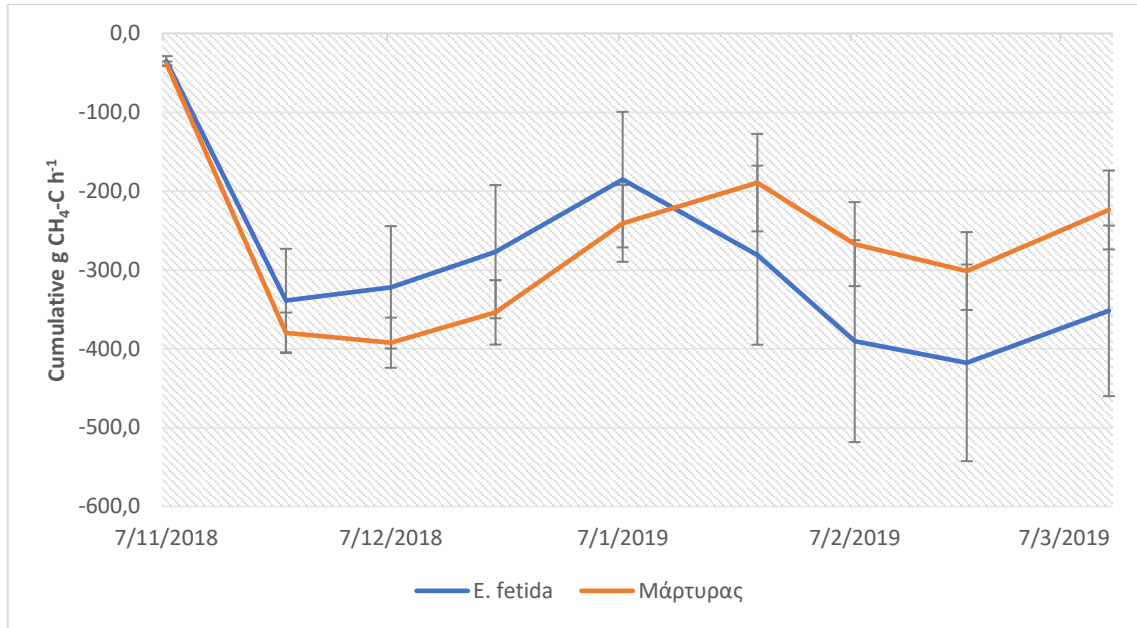
4.4.5. Μετρήσεις εκπομπών αερίων θερμοκηπίου

4.4.5.1. Εκπομπές μεθανίου (CH_4)

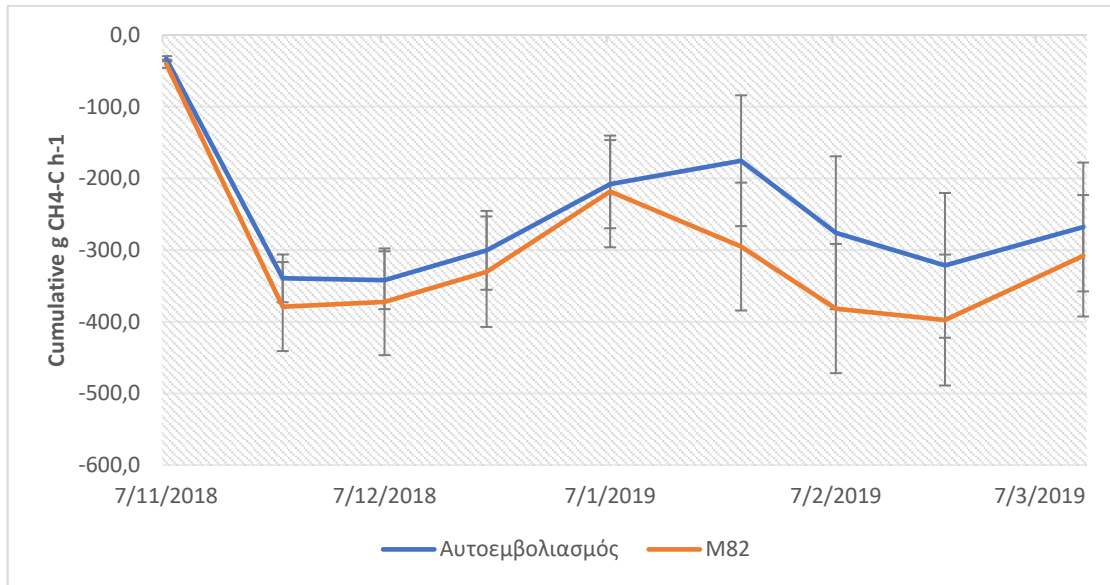
Το μεθάνιο (CH_4) εμφάνισε εκπομπή και απορρόφηση από το έδαφος κατά την διάρκεια της καλλιέργειας, αλλά συσσωρευτικά κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας παρατηρήθηκε απορρόφηση μεθανίου (Διαγρ. 4.4.5.1, 4.4.5.2, 4.4.5.3). Κατά την διάρκεια 7/11/18 έως και 7/1/19 όπου καταγράφονταν οι μετρήσεις τόσο του συμβατικού όσο και του βιολογικού συστήματος καλλιέργειας, διαπιστώθηκε ότι το βιολογικό σύστημα καλλιέργειας είχε αρχικά σημαντικά υψηλότερη απορρόφηση μεθανίου από το έδαφος. Μετά όμως από την 23/11/18 και έως την 7/1/19 όπου αρχίζει να παρατηρείται εκπομπή μεθανίου, το βιολογικό σύστημα καλλιέργειας απορρόφησε σημαντικά περισσότερο μεθάνιο συγκριτικά με το συμβατικό σύστημα καλλιέργειας (Διαγρ. 4.4.5.1). Η εφαρμογή του γαιοσκώληκα *E. fetida* δεν επηρέασε σημαντικά την απορρόφηση και την εκπομπή μεθανίου κατά την διάρκεια της καλλιέργειας, συγκριτικά με τον μάρτυρα (Διαγρ. 4.4.5.2). Ομοίως ο εμβολιασμός των φυτών με το υποκείμενο M82 δεν επηρέασε σημαντικά την εκπομπή ή την απορρόφηση μεθανίου από το έδαφος συγκριτικά με το έδαφος όπου καλλιεργήθηκαν αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1 (Διαγρ. 4.4.5.3).



Διάγραμμα 4.4.5.1. Επίδραση του συστήματος καλλιέργειας (συμβατικό, βιολογικό σύστημα καλλιέργειας) στις συσσωρευτικές (cumulative) εκπομπές μεθανίου (CH_4) από το έδαφος του θερμοκηπίου.



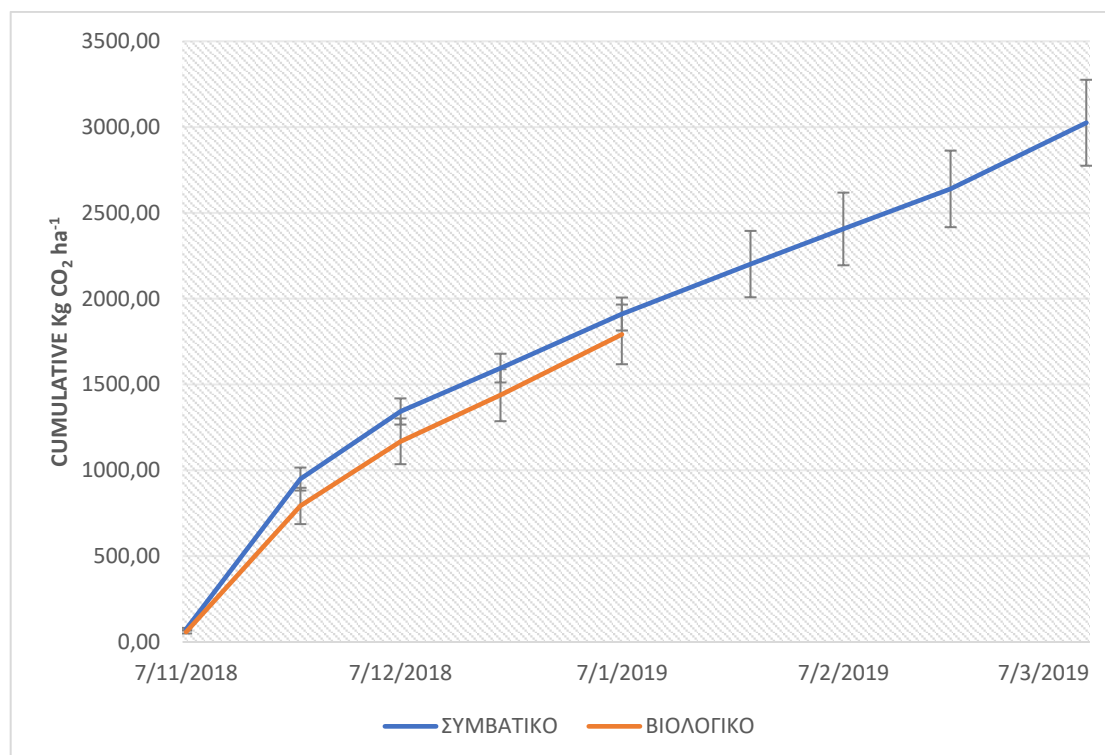
Διάγραμμα 4.4.5.2. Επίδραση της εφαρμογής γαιοσκωλήκων *E. fetida* στις συσσωρευτικές (cumulative) εκπομπές μεθανίου (CH₄) από το έδαφος του θερμοκηπίου.



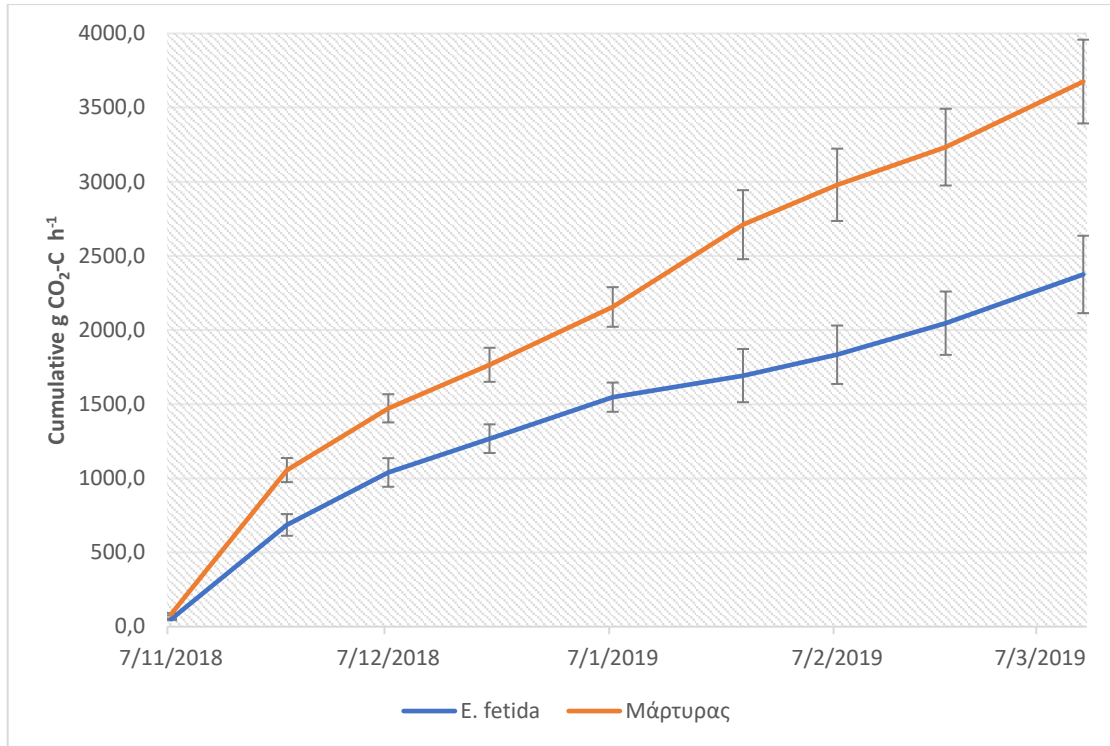
Διάγραμμα 4.4.5.3. Επίδραση του εμβολιασμού της τομάτας (αυτοεμβολιασμός, εμβολιασμός στο υποκείμενο M82) στις συσσωρευτικές (cumulative) εκπομπές μεθανίου (CH₄) από το έδαφος του θερμοκηπίου.

4.4.5.2. Διοξείδιο του άνθρακα (CO₂)

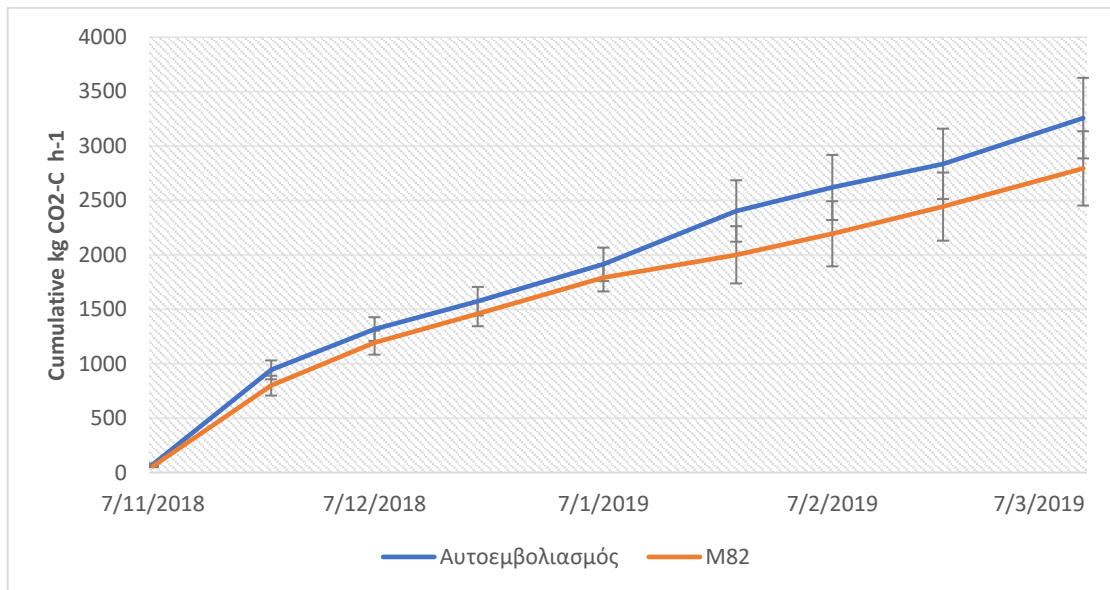
Σχετικά με το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂), παρατηρήθηκε μόνο εκπομπή από το έδαφος του θερμοκηπίου καθ' όλη την διάρκεια της καλλιέργειας (Διαγρ. 4.4.5.4, 4.4.5.5, 4.4.5.6). Τα δυο συστήματα καλλιέργειας (βιολογικό και συμβατικό σύστημα καλλιέργειας) δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την συσσωρευτική εκπομπή CO₂ από την αρχή της καλλιέργειας έως τις 7/1/18 ενώ το συμβατικό σύστημα συνέχισε την εκπομπή CO₂ με παρόμοιες εκπομπές έως και το τέλος της καλλιέργειας (Διαγρ. 4.4.5.4). Η εφαρμογή του γαιοσκώληκα *E. fetida* μείωσε σημαντικά τις εκπομπές CO₂ συγκριτικά με τον μάρτυρα και το έδαφος της καλλιέργειας κατέληξε να εκπέμπει συνολικά 2,37 τόνους CO₂ ανά εκτάριο κατά το πέρας της καλλιέργειας, ποσότητα κατά 55% μειωμένη συγκριτικά με το έδαφος των φυτών όπου δεν δραστηριοποιήθηκαν οι γαιοσκώληκες (3,68 τόνους CO₂ ανά εκτάριο) (Διαγρ. 4.4.5.5). Τέλος, η εφαρμογή του M82 ως υποκειμένου στα φυτά της τομάτας δεν επηρέασε σημαντικά τις εκπομπές CO₂ συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1 (Διαγρ. 4.4.5.6).



Διάγραμμα 4.4.5.4. Επίδραση του συστήματος καλλιέργειας (συμβατικό, βιολογικό σύστημα καλλιέργειας) στις συσσωρευτικές (cumulative) εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) από το έδαφος του θερμοκηπίου.



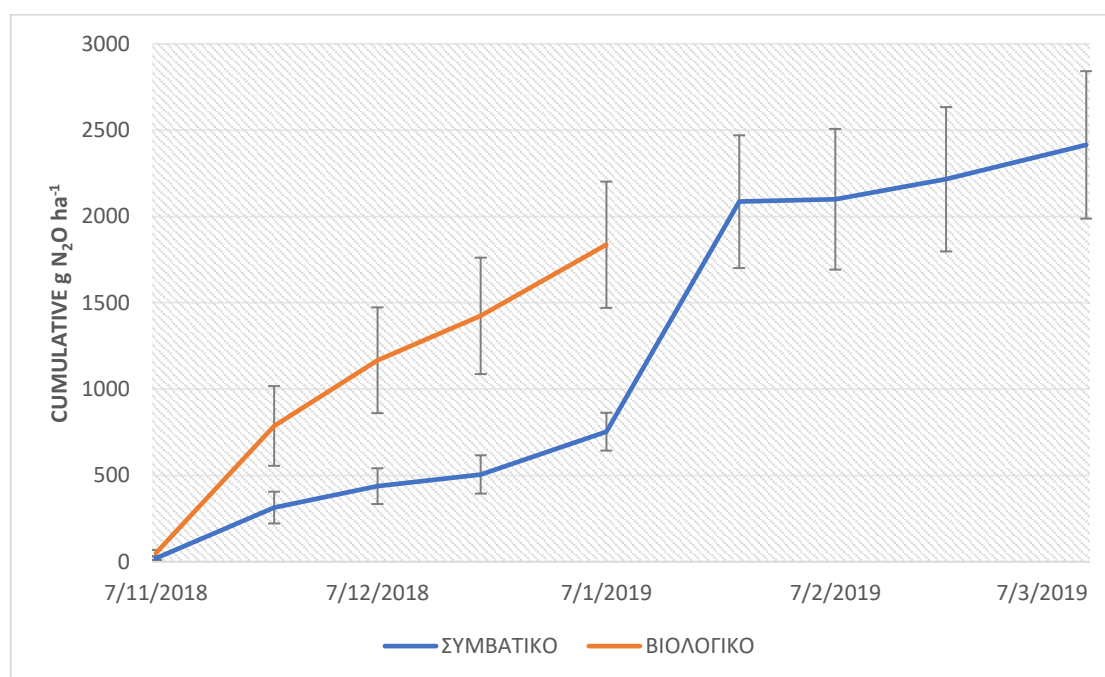
Διάγραμμα 4.4.5.5. Επίδραση της εφαρμογής γαιοσκωλήκων *E. fetida* στις συσσωρευτικές (cumulative) εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) από το έδαφος του θερμοκηπίου.



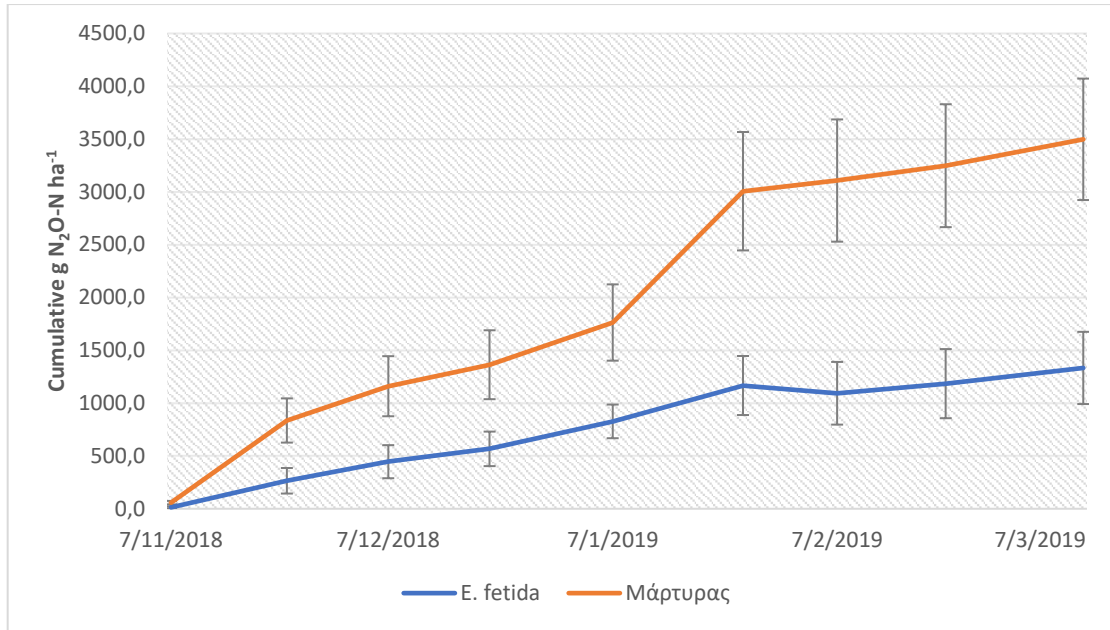
Διάγραμμα 4.4.5.6. Επίδραση του εμβολιασμού της τομάτας (αυτοεμβολιασμός, εμβολιασμός στο υποκείμενο M82) στις συσσωρευτικές (cumulative) εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) από το έδαφος του θερμοκηπίου.

4.4.5.3. Υποξείδιο του αζώτου

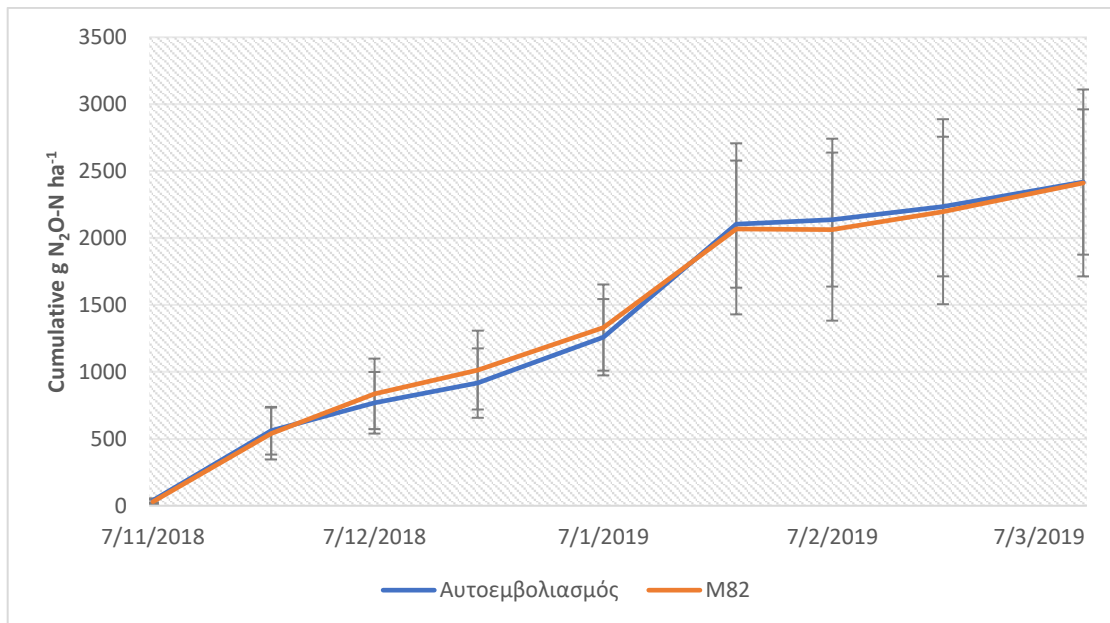
Υποξείδιο του αζώτου (N_2O) εκπεμπόταν από το έδαφος του θερμοκηπίου καθ' όλη την διάρκεια της καλλιέργειας (Διαγρ. 4.4.5.7, 4.4.5.8, 4.4.5.9), με το βιολογικό σύστημα καλλιέργειας να έχει σημαντικά αυξημένη εκπομπή N_2O συγκριτικά με το συμβατικό τμήμα έως την 07/01/19 που η βιολογική καλλιέργεια τερματίστηκε. Συνολικά οι εκπομπές N_2O στη συμβατική καλλιέργεια ανήλθαν στα 2,4 κιλά N_2O ανά εκτάριο κατά το χρονικό διάστημα της τετράμηνης καλλιέργειας (Διαγρ. 4.4.5.7). Η εφαρμογή του γαιοσκώληκα *E. fetida* μείωσε την εκπομπή N_2O από το έδαφος του θερμοκηπίου με αποτέλεσμα τα πειραματικά τεμάχια στα οποία είχαν εφαρμοσθεί γαιοσκώληκες να έχουν κατά 62% μειωμένη εκπομπή N_2O συγκριτικά με αυτά του μάρτυρα (Διαγρ. 4.4.5.8). Τέλος, ο εμβολιασμός των φυτών τομάτας Palamos F1 στο υποκείμενο M82 δεν επηρέασε σημαντικά τις εκπομπές N_2O συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά (Διαγρ. 4.4.5.9).



Διάγραμμα 4.4.5.7. Επίδραση του συστήματος καλλιέργειας (συμβατικό, βιολογικό σύστημα καλλιέργειας) στις συσσωρευτικές (cumulative) εκπομπές υποξειδίου του αζώτου (N_2O) από το έδαφος του θερμοκηπίου.



Διάγραμμα 4.4.5.8. Επίδραση της εφαρμογής γαιοσκωλήκων (μάρτυρας, εφαρμογή του γαιοσκώληκα *E. fetida*) στις συσσωρευτικές (cumulative) εκπομπές υποξειδίου του αζώτου (N_2O) από το έδαφος του θερμοκηπίου.



Διάγραμμα 4.4.5.9. Επίδραση του εμβολιασμού της τομάτας (αυτοεμβολιασμός, εμβολιασμός στο υποκείμενο M82) στις συσσωρευτικές (cumulative) εκπομπές υποξειδίου του αζώτου (N_2O) από το έδαφος του θερμοκηπίου.

4.5. Συζήτηση

4.5.1. Πληθυσμός γαιοσκωλήκων

Από τις μετρήσεις του πληθυσμού γαιοσκωλήκων διαπιστώθηκε ότι η απευθείας εφαρμογή του γαιοσκώληκα *E. fetida* στο έδαφος οδήγησε τόσο στην εγκατάσταση των συγκεκριμένων γαιοσκωλήκων όσο και στην επιτυχή ανάπτυξη του πληθυσμού τους. Ο πληθυσμός των γαιοσκωλήκων στα πειραματικά τεμάχια όπου εφαρμόστηκαν οι γαιοσκώληκες ήταν σχετικά σταθερός καθ' όλη την διάρκεια της καλλιέργειας, ενώ δεν παρατηρήθηκαν γαιοσκώληκες στα πειραματικά τεμάχια όπου δεν έγινε εφαρμογή. Συνεπώς, η βασική διαμόρφωση του πειραματικού σχεδίου απέτρεψε τελικά την μεταφορά ατόμων γαιοσκωλήκων μεταξύ των πειραματικών τεμαχίων. Η θερμοκρασία του εδάφους, όπως παρατηρείται από το Διάγραμμα 4.3.1.1, ήταν χαμηλότερη των 12 °C κατά τους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο και φαίνεται πως επηρέασε και τους πληθυσμούς των γαιοσκωλήκων οι οποίοι ήταν μειωμένοι κατά την περίοδο αυτή, ενώ στην συνέχεια ανέκαμψαν ελαφρώς. Η θερμοκρασία του εδάφους αποτελεί ουσιαστικό παράγοντα της ανάπτυξης των πληθυσμών των γαιοσκωλήκων στο έδαφος (Reinecke et al., 1992; Uvarov et al., 2010). Μάλιστα, οι Reinecke et al. (1992) στην μελέτη τους με τον γαιοσκώληκα *E. fetida* αναφέρουν ότι ο συγκεκριμένος γαιοσκώληκας έχει ιδιαίτερη αντοχή τόσο σε ακραίες θερμοκρασίες (υψηλές και χαμηλές) όσο και στις συχνές διακυμάνσεις της θερμοκρασίας. Το γεγονός αυτό εξηγεί το αποτέλεσμα της παρούσας πειραματικής μελέτης, όπου παρόλο που παρατηρήθηκε μείωση του πληθυσμού των γαιοσκωλήκων με τις χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα, οι πληθυσμοί ανέκαμψαν ταχέως με το πέρας των χαμηλών θερμοκρασιών.

Το βιολογικό ή συμβατικό σύστημα καλλιέργειας δεν επηρέασε σημαντικά τους πληθυσμούς των γαιοσκωλήκων στο έδαφος του θερμοκηπίου. Σύμφωνα με τους Doan et al. (2013) η εφαρμογή λιπασμάτων σε καλλιέργεια τομάτας έχει παρατηρηθεί ότι μειώνει τους πληθυσμούς του *E. fetida*. Παρόλα αυτά, στην παρούσα μελέτη η εφαρμογή υδρολίπανσης στο συμβατικό τμήμα της καλλιέργειας δεν οδήγησε σε σημαντική μείωση του πληθυσμού των γαιοσκωλήκων. Όσον αφορά την βιολογική καλλιέργεια, ο Irmeler (2010) μελέτησε για 8 χρόνια του πληθυσμούς γαιοσκωλήκων σε μια έκταση 1760 καλλιεργούμενων στρεμμάτων στην βόρεια Γερμανία με σκοπό να παρατηρήσει τις διακυμάνσεις του πληθυσμού τους, ιδιαίτερα στις καλλιέργειες που από συμβατικές, μετατράπηκαν σε βιολογικές. Με βάση τις παρατηρήσεις του Irmeler

(2010), η βιολογική καλλιέργεια μπορεί να αυξήσει τους πληθυσμούς ορισμένων ειδών γαιοσκωλήκων όπως το *Lumbricus terrestris*, αλλά όχι όλων, με σημαντικότερη αύξηση ή μείωση στους πληθυσμούς κάθε χρονιάς να οφείλεται στην αυξημένη βροχόπτωση ή ξηρασία αντίστοιχα. Τα αποτελέσματά του, όπως αναφέρει ο ίδιος, έρχονται σε αντίθεση με τους Fisler et al. (1999) που παρατήρησαν ότι σε βάθος έξι χρόνων, η εναλλαγή των καλλιεργούμενων εκτάσεων από συμβατικές σε βιολογικές οδήγησε σε αύξηση των γαιοσκωλήκων. Είναι συνεπώς προφανές ότι με τις μετρήσεις των 120 ημερών της παρούσας πειραματικής μελέτης είναι αδύνατον να παρατηρηθεί αν η εφαρμογή της βιολογικής καλλιέργειας μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του πληθυσμού των γαιοσκωλήκων συγκριτικά με την συμβατική.

4.5.2. Θρεπτική κατάσταση και οργανική ουσία εδάφους

Η εφαρμογή μεγαλύτερης ποσότητας κοπριάς στην βασική λίπανση της βιολογικής καλλιέργειας πιθανόν να οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρικών και αμμωνιακών ιόντων στο έδαφος κατά τους πρώτες 30 ημέρες συγκριτικά με την συμβατική καλλιέργεια όπου η βασική λίπανση δεν περιλάμβανε όλη την ποσότητα του λιπάσματος που θα χορηγούνταν στην καλλιέργεια. Στην συνέχεια όμως, η εφαρμογή χημικών λιπασμάτων μέσω της υδρολίπανσης στην συμβατική καλλιέργεια είχε ως αποτέλεσμα την αυξημένη συγκέντρωση νιτρικών, αμμωνιακών και καλίου κατά το πέρας της καλλιεργητικής περιόδου. Είναι γνωστό από τις μελέτες των Gatsios et al. (2021a, 2021b, 2021c) ότι κατά την βιολογική καλλιέργεια τομάτας η συγκέντρωση των νιτρικών και αμμωνιακών στο έδαφος εμφανίζει αύξηση με την προσθήκη κοπριάς και χλωρής λίπανσης αλλά η αύξηση αυτή διαρκεί περίπου 30-60 ημέρες, ενώ έπειτα επέρχεται σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων, με τα νιτρικά και αμμωνιακά να υποχωρούν σε συγκεντρώσεις κάτω από 50 και 5 mg g⁻¹ εδάφους αντίστοιχα (Gatsios et al., 2021a; Gatsios et al., 2021b).

Η εφαρμογή γαιοσκωλήκων επιτάχυνε την ανοργανοποίηση του αζώτου που εμπεριέχεται στην οργανική ουσία, σε συμφωνία με τις μελέτες των Baker et al. (2003). Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση των αμμωνιακών στο έδαφος ήταν αυξημένη κατά 22% κατά τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας, συγκριτικά με το έδαφος όπου δεν προστέθηκαν ούτε παρατηρήθηκαν γαιοσκώληκες στις δειγματοληψίες. Το ίδιο βέβαια δεν συνέβη με τα νιτρικά ιόντα όπου δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην συγκέντρωσή τους στο έδαφος που δραστηριοποιήθηκαν γαιοσκώληκες. Η σταδιακή μετατροπή της

οργανικής ουσίας σε vermicompost λόγω της δράσης των γαιοσκωλήκων (Atiyeh et al., 2000a) διατήρησε επίσης και το ποσοστό της οργανικής ουσίας του εδάφους κατά τις 90 ημέρες σε υψηλότερα επίπεδα συγκριτικά με τον μάρτυρα όπου η διάσπαση της οργανικής ουσίας σε μη οργανική μορφή ήταν ταχύτερη. Σχετικά με το κάλιο, η συγκέντρωσή του δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την εφαρμογή η μη των γαιοσκωλήκων στο έδαφος, ένα αποτέλεσμα σύμφωνο με τα ευρήματα των Doan et al. (2013) όπου επίσης δεν παρατήρησαν μεταβολές στην συγκέντρωση του καλίου με την προσθήκη του γαιοσκώληκα *M. posthuma*.

Η καλλιέργεια της τομάτας Palamos F1 στα διαφορετικά υποκείμενα δεν επηρέασε τις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων NO₃, NH₄, K ή το ποσοστό της οργανικής ουσίας του εδάφους. Είναι γνωστό ότι ορισμένα σθεναρά υποκείμενα έχουν την δυνατότητα να αυξάνουν την απορρόφηση ορισμένων θρεπτικών όπως είναι το άζωτο, ο φώσφορος, το κάλιο και το ασβέστιο (Savvas 2010; Savvas et al. 2017; Fernandez-Garcia et al., 2004; Sánchez-Rodríguez et al., 2014) και πράγματι το υποκείμενο BIL-6335 σε συνδυασμό με την δράση των γαιοσκωλήκων οδήγησε σε αύξηση του αζώτου στα φύλλα της τομάτας, συγκριτικά με την εφαρμογή γαιοσκωλήκων, αλλά ταυτόχρονα με εμβολιασμό στα υποκείμενα M82, Ramellet και Maxifort. Είναι πιθανό λοιπόν, να μην παρατηρήθηκαν διαφορές στην συγκέντρωση των θρεπτικών όπως το άζωτο στο έδαφος αφού η αύξηση των αμμωνιακών στο έδαφος του θερμοκηπίου λόγω της δράσης των γαιοσκωλήκων ενίσχυσε την απορρόφηση του αζώτου σε αμμωνιακή μορφή από τα φυτά που ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο BIL-6335 και κατά συνέπεια η συγκέντρωσή του μειώθηκε στο έδαφος κατ'αντιστοιχία.

4.5.3. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας και θρεπτική κατάσταση φύλλων και καρπών

Η εκτεταμένη καταστροφή της βιολογικής καλλιέργειας από το παθογόνο *Phytophthora infestans* οδήγησε στην αδυναμία συλλογής καρπών και συνεπώς και σε αδυναμία εκτίμησης της απόδοσης του βιολογικού τμήματος του θερμοκηπίου. Το συμβατικό τμήμα επίσης επηρεάστηκε σημαντικά από την ασθένεια και, παρόλο που τα φυτά επιβίωσαν και πραγματοποιήθηκε συλλογή καρπών, η παραγωγή ήταν αισθητά μειωμένη. Το υβρίδιο Palamos F1 έχει μελετηθεί και από τους Fullana-Pericas et al. (2020) στην Μαγιόρκα της Ισπανίας και αναφέρεται ως ένα υβρίδιο 'de Ramellet' το

οποίο υπό συνθήκες θερμοκηπίου μπορεί να αποδώσει υψηλή παραγωγή και να παρουσιάσει αυξημένη μετασυλλεκτική διατηρησιμότητα των καρπών. Με βάση την μελέτη των Fullana-Pericas et al. (2020), τα αυτόριζα φυτά παρήγαγαν 17,2 κιλά το τετραγωνικό μέτρο με απόδοση 89 καρπούς ανά φυτό και μέσο βάρος καρπού 94,3 γραμμάρια. Είναι συνεπώς προφανές ότι τα φυτά της παρούσας πειραματικής μελέτης είχαν ιδιαίτερα χαμηλή παραγωγή, τόσο λόγω του μειωμένου αριθμού καρπών όσο και του μειωμένου μέσου βάρους των καρπών.

Η εφαρμογή των γαιοσκωλήκων *E. fetida* στο έδαφος του θερμοκηπίου αύξησε σημαντικά την παραγωγή των φυτών τομάτας συγκριτικά με τα φυτά μάρτυρες, όπου δεν υπήρχε δράση γαιοσκωλήκων. Με την δράση των γαιοσκωλήκων διαπιστώθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των αμμωνιακών στο έδαφος κατά τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας και αύξηση της οργανικής ουσίας του εδάφους κατά την δειγματοληψία στις 90 ημέρες της καλλιέργειας συγκριτικά με τον μάρτυρα. Η βελτίωση των χημικών ιδιοτήτων του εδάφους, φαίνεται πως οδήγησε σε καλύτερη θρεπτική κατάσταση των φυτών τομάτας αφού παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση αζώτου στα φύλλα και εν τέλει αυξημένη παραγωγή σε καρπούς. Αντίστοιχα, διαφορές δεν παρατηρήθηκαν στην συγκέντρωση του καλίου στο έδαφος λόγω της δράσης των γαιοσκωλήκων με αποτέλεσμα να μην επηρεαστούν και οι συγκεντρώσεις του καλίου στα φύλλα και τους καρπούς των φυτών τομάτας.

Τα υποκείμενα της τομάτας αλληλοεπέδρασαν με την εφαρμογή γαιοσκωλήκων όσον αφορά την συγκέντρωση του αζώτου στα φύλλα των φυτών, ενώ δεν εμφάνισαν διαφορές μεταξύ τους σχετικά με τις συγκεντρώσεις των στοιχείων φώσφορο και κάλιο στα φύλλα και τους καρπούς. Το υποκείμενο BIL-6335 αύξησε την συγκέντρωση του αζώτου στα φύλλα της τομάτας μόνο όταν συνδυάστηκε με προσθήκη του *E. fetida* στο έδαφος του θερμοκηπίου με εξαίρεση τα αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1 που, όταν συνδυάστηκαν επίσης με *E. fetida* δεν εμφάνισαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές με τα φυτά που ήταν εμβολιασμένα στο BIL-6335. Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει πως το ριζικό σύστημα του υποκειμένου BIL-6335 εκμεταλλεύτηκε σε μεγαλύτερο βαθμό την συγκέντρωση της οργανικής ουσίας και των αμμωνιακών του εδάφους λόγω της δράσης των γαιοσκωλήκων και η μεγαλύτερη απορρόφηση του αζώτου οδήγησε σε αυξημένη συγκέντρωση αζώτου στα φύλλα των φυτών και εν τέλει αυξημένη παραγωγή συγκριτικά με υποκείμενα Ramellet, M82 και Maxifort. Για το υποκείμενο Maxifort υπάρχουν αναφορές ότι έχει την δυνατότητα να αυξάνει την απορρόφηση του αζώτου και κατά συνέπεια την συγκέντρωσή του στα φύλλα (Savvas

et al., 2017) σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας. Παρόλα αυτά, στην μελέτη των Fullana-Pericas et al. (2020), το υποκείμενο Maxifort και ένα άλλο υποκείμενο Ramellet δεν αύξησαν την παραγωγή ή την ποιότητα των καρπών συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1. Τέλος το υποκείμενο M82, αν και παρουσιάζει χαρακτηριστικά σθεναρού υποκειμένου (Rigano et al., 2016) δεν κατάφερε να αυξήσει την παραγωγή των φυτών Palamos F1. Το υποκείμενο M82 αποτελεί ένα από τα είδη τομάτας που χρησιμοποιήθηκαν ως ‘φυτά γονείς’ στα προγράμματα γενετικής βελτίωσης για την παραγωγή του BIL-6335 (Lippman et al., 2007; Ofner et al., 2016). Συνεπώς είναι λογικό το υποκείμενο BIL-6335 να παρουσιάζει αυξημένη σθεναρότητα σε σύγκριση με το υποκείμενο M82.

4.5.4. Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου

4.5.4.1. Μεθάνιο

Με βάση το Διάγραμμα 4.4.5.1, τον περισσότερο χρόνο της καλλιέργειας πραγματοποιείται απορρόφηση μεθανίου από το έδαφος του θερμοκηπίου, τόσο στο βιολογικό όσο και στο συμβατικό τμήμα. Μόνο για ένα συγκεκριμένο διάστημα μεταξύ 7/12 με 7/1 παρατηρείται εκπομπή μεθανίου προς την ατμόσφαιρα. Οι μεταβολές της θερμοκρασίας και της υγρασίας του εδάφους μειώνουν σημαντικά την μικροβιακή δραστηριότητα και κατά συνέπεια αυξάνουν την εκπομπή μεθανίου από το έδαφος (Ye et al., 2020). Συνεπώς δικαιολογείται η εκπομπή του μεθανίου κατά το διάστημα που επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ αντίθετα η απορρόφηση μεθανίου αυξήθηκε κατά τους θερμότερους μήνες της καλλιέργειας κάτι το οποίο είχαν παρατηρήσει και οι Qi et al. (2002). Και τα δύο συστήματα καλλιέργειας απορροφούσαν και εξέπεμπαν μεθάνιο με τον ίδιο ρυθμό σε όλη την διάρκεια του πειράματος με μόνη σημαντική διαφορά ότι το βιολογικό τμήμα του θερμοκηπίου είχε μεγαλύτερη απορρόφηση κατά τα πρώτα στάδια καλλιέργειας. Είναι γενικά γνωστό ότι όταν πραγματοποιείται ελάχιστη ή καθόλου λίπανση, απορροφάται 25% περισσότερο μεθάνιο σε σχέση με την περίπτωση που πραγματοποιείται κανονική λίπανση (Qi et al., 2002). Αυτή η παρατήρηση δικαιολογεί την μεγαλύτερη απορρόφηση μεθανίου από το έδαφος στη βιολογική μεταχείριση.

Σχετικά με την δραστηριότητα των γαιοσκωλήκων στο έδαφος, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην εκπομπή ή απορρόφηση του μεθανίου λόγω της δράσης του *E. fetida*. Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές

διαφορές στα νιτρικά του εδάφους ανάμεσα στο μάρτυρα και στα τεμάχια που εφαρμόστηκε γαιοσκώληκας και επομένως είναι λογικό οι εκπομπές μεθανίου επίσης να μην παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές. Είναι επίσης γνωστό ότι ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει την εκπομπή και απορρόφηση μεθανίου είναι η παρουσία οξυγόνου στο έδαφος. Όσο περισσότερο είναι το οξυγόνο στο έδαφος τόσο αυξάνεται και η απορρόφηση μεθανίου (Ye et al., 2020). Σύμφωνα με τους (Stockdill and Cossens, 1996), οι γαιοσκώληκες δημιουργούν πόρους μεγάλης διαμέτρου στο έδαφος οι οποίοι βοηθούν στον αερισμό του εδάφους. Επομένως, η αύξηση της αεροπερατότητας του εδάφους λόγω των γαιοσκωλήκων θα έπρεπε να οδηγεί σε υψηλότερη απορρόφηση μεθανίου συνολικά για την καλλιέργεια, κάτι το οποίο όμως δεν παρατηρήθηκε στην παρούσα μελέτη.

Η μελέτη των εκπομπών μεθανίου μεταξύ αυτοεμβολιασμένων φυτών τομάτας και φυτών εμβολιασμένων στο υποκείμενο M82 δεν οδήγησε σε στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ δεν υπάρχουν και αντίστοιχες μελέτες σχετικά με τις εκπομπές αερίων θερμοκηπίου και τον εμβολιασμό της τομάτας.

4.5.4.2. Διοξείδιο του άνθρακα

Όσο αφορά το διοξείδιο του άνθρακα, παρατηρείται εκπομπή του από το έδαφος καθ' όλη την διάρκεια της καλλιέργειας χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του βιολογικού και συμβατικού τμήματος του θερμοκηπίου. Με βάση την μελέτη των Wang et al. (2014), οι εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα επηρεάζονται κυρίως από την ποσότητα οργανικής ουσίας του υποστρώματος. Συνεπώς, εφόσον η περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ουσία δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές μεταξύ του βιολογικού και συμβατικού τμήματος, είναι λογικό να μην παρατηρούνται διαφορές και στις εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα. Οι συνολικές εκπομπές του CO₂ για το συμβατικό τμήμα προσέγγισαν τα 3000 kg ha⁻¹, τιμή αρκετά χαμηλότερη συγκριτικά με την μελέτη των Chen et al. (2018) όπου συνολικά καταγράφηκαν 8452 kg ha⁻¹ εκπομπές CO₂ σε χειμερινή καλλιέργεια τομάτας στο θερμοκήπιο (Αύγουστος έως Ιανουάριος) (Chen et al., 2018).

Η εφαρμογή των γαιοσκωλήκων *E. fetida* μείωσε σημαντικά την εκπομπή διοξειδίου του άνθρακα καθ' όλη την διάρκεια της καλλιέργειας, με αποτέλεσμα η εφαρμογή τους στην καλλιέργεια να οδηγήσει στην μείωση των εκπομπών CO₂ κατά 1 τόνο ανά εκτάριο έως το πέρας της καλλιέργειας. Σχετικά με την χρήση

γαιοσκωλήκων, πολλοί ερευνητές (Lubbers et al., 2013; Chapuis-Lardy et al., 2010; Speratti and Whalen, 2008; Chan et al., 2011) έχουν αναφέρει ότι η χρήση τους σε καλλιέργειες αλλά και για την δημιουργία vermicompost αυξάνει τις εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα από το έδαφος. Βέβαια, στην μελέτη των Wang et al. (2014) διαπιστώθηκε ότι η χρήση γαιοσκωλήκων για την επεξεργασία κοπριάς από πτηνά, δεν αύξησε την εκπομπή διοξειδίου του άνθρακα. Με βάση τους Wang et al. (2014), οι εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα επηρεάζονται κυρίως από την ποσότητα οργανικής ουσίας του υποστρώματος, και ενώ σε γενικές γραμμές οι γαιοσκώλικες αυξάνουν τις εκπομπές CO₂, σε ορισμένα υποστρώματα η δράση τους ενδέχεται να μην οδηγεί σε αύξηση της εκπομπής. Σε γενικές γραμμές όμως δεν μπορεί να εξηγηθεί πως στην παρούσα πειραματική εργασία η εκπομπή του διοξειδίου του άνθρακα ήταν μειωμένη όταν εφαρμόστηκε στο έδαφος το είδος *E. fetida*.

Όπως και στην απορρόφηση του μεθανίου, η εκπομπή CO₂ δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτοεμβολιασμένων φυτών τομάτας και φυτών εμβολιασμένων στο υποκείμενο M82, ενώ επιπρόσθετα, δεν υπάρχουν και αντίστοιχες μελέτες σχετικά με την επίδραση του εμβολιασμού της τομάτας στις τις εκπομπές αερίων θερμοκηπίου. Έχει αναφερθεί ότι μία θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας διάρκειας 4,5 μηνών εκπέμπει περίπου 5,5 με 9,0 τόνους CO₂-C ανά εκτάριο (Chen et al., 2018). Συνεπώς, στην παρούσα πτυχιακή μελέτη, τόσο τα αυτοεμβολιασμένα, όσο και τα φυτά που ήταν εμβολιασμένα στο M82 είχαν μειωμένη συνολική εκπομπή διοξειδίου του άνθρακα σε σύγκριση με αυτές που αναφέρουν οι Chen et al. (2018).

4.5.4.3. Υποξείδιο του αζώτου

Για το υποξείδιο του αζώτου, έχει παρατηρηθεί ότι η εφαρμογή αζωτούχου λίπανσης μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση της εκπομπής του από το έδαφος, με τους Edwards et al. (2018) να αναφέρουν ότι το 2% της αζωτούχου λίπανσης που εφαρμόζεται σε μια καλλιέργεια εκπέμπεται ως N₂O. Αυτή η παρατήρηση ενδέχεται να δικαιολογεί την αυξημένη εκπομπή N₂O στη βιολογική μεταχείριση σε σύγκριση με την συμβατική μεταχείριση, αφού κατά τους πρώτους μήνες της καλλιέργειας η βιολογική μεταχείριση έχει περισσότερο διαθέσιμο άζωτο για τα φυτά στο έδαφος και στις δύο μορφές (νιτρικό, αμμωνιακό).

Η εφαρμογή του γαιοσκώληκα *E. fetida* μείωσε σημαντικά τις εκπομπές υποξειδίου του αζώτου καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας. Οι γαιοσκώληκες μπορούν να έχουν θετική επίδραση στο μετριασμό της συνολικής εκπομπής υποξειδίου του αζώτου, αφού σύμφωνα με τους Wang et al. (2014) η χρήση vermicompost σε ένα ποσοστό οδηγεί σε μείωση εκπομπών N₂O από το έδαφος. Συνεπώς θα μπορούσε να εξηγηθεί η μείωση των εκπομπών του υποξειδίου του αζώτου στα τεμάχια με τους γαιοσκώληκες συγκριτικά με αυτές του μάρτυρα.

Όπως και στην περίπτωση του CH₄ και του CO₂, η εκπομπή N₂O δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτοεμβολιασμένων φυτών τομάτας και φυτών εμβολιασμένων στο υποκείμενο M82, ενώ δεν υπάρχουν άλλες αντίστοιχες μελέτες σχετικά με τις εκπομπές αερίων θερμοκηπίου και τον εμβολιασμό της τομάτας. Από προηγούμενες μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι μία θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας διάρκειας 4,5 μηνών εκπέμπει περίπου 0,77 τόνους N₂O ανά εκτάριο (Chen et al., 2018), ποσότητα αρκετά χαμηλότερη από αυτήν των 2,5 κιλών ανά εκτάριο που παρατηρήθηκε τόσο στα αυτοεμβολιασμένα φυτά όσο και στα φυτά που ήταν εμβολιασμένα στο M82.

4.6. Συμπεράσματα

Η προσβολή της καλλιέργειας από τον περονόσπορο της τομάτας (*Phytophthora infestans*) οδήγησε στην συνολική καταστροφή των φυτών του βιολογικού τμήματος της καλλιέργειας, ενώ και τα φυτά του συμβατικού τμήματος υπέστησαν σημαντική επιβράδυνση της ανάπτυξής τους και ως συνέπεια είχαν ιδιαίτερα μειωμένη παραγωγή σε καρπούς. Παρόλα αυτά, η μελέτη εμφάνισε ιδιαίτερα ενδιαφέροντα αποτελέσματα όσον αφορά την προσθήκη των γαιοσκωλήκων στο έδαφος.

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, ο γαιοσκώληκας *E. fetida* αποτελεί ένα είδος που μπορεί να προστεθεί στο έδαφος ενός θερμοκηπίου και να αναπτύξει πληθυσμούς. Ο γαιοσκώληκας αυτός είναι ιδιαίτερα ανθεκτικός στις χαμηλές θερμοκρασίες του εδάφους και δεν επηρεάζεται σημαντικά από την προσθήκη χημικών λιπασμάτων σε χαμηλές ποσότητες μέσω της υδρολίπανσης, αφού κατάφερε να επιβιώσει και να αναπτύξει παρόμοια πληθυσμιακή πυκνότητα στα δυο συστήματα καλλιέργειας (βιολογικό, συμβατικό). Η χημική ανάλυση του εδάφους έδειξε ότι οι γαιοσκώληκες αύξησαν την συγκέντρωση των αμμωνιακών στις 30 ημέρες τις

καλλιέργειας και το ποσοστό της οργανικής ουσίας στις 90 ημέρες της καλλιέργειας. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα το σθεναρό υποκείμενο BIL-6335 να αυξήσει την συγκέντρωση του αζώτου στα φύλλα του εμβολίου Palamos F1 και εν τέλει να οδηγήσει σε αυξημένη τελική παραγωγή καρπών στη συμβατική καλλιέργεια συγκριτικά με τα υποκείμενα M82, Ramellet, Maxifort και τα αυτοεμβολιασμένα φυτά. Αντίστοιχα, η χρήση γαιοσκωλήκων φαίνεται πως αυξάνει την παραγωγή των φυτών τομάτας ανεξαρτήτως υποκειμένου, συγκριτικά με αντίστοιχη καλλιέργεια χωρίς εφαρμογή γαιοσκωλήκων.

Οι μετρήσεις αερίων του θερμοκηπίου είχαν επίσης ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι η βιολογική καλλιέργεια τομάτας παρουσίασε μεγαλύτερη απορρόφηση μεθανίου συγκριτικά με την συμβατική καλλιέργεια, αλλά ταυτόχρονα είχε μεγαλύτερη εκπομπή υποξειδίου του αζώτου. Από την άλλη, η χρήση γαιοσκωλήκων δεν επηρέασε τις εκπομπές μεθανίου και υποξειδίου του αζώτου, όμως μείωσε τις εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα, ένα αποτέλεσμα το οποίο δεν συμφωνεί με αντίστοιχες προγενέστερες μελέτες. Τέλος, η σύγκριση των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου μεταξύ αυτοεμβολιασμένων φυτών Palamos F1 και φυτών εμβολιασμένων στο υποκείμενο M82 δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές οφειλόμενες στον εμβολιασμό.

5. 3^η πειραματική μελέτη: Επίδραση των χημικών βιοδιεγερτών στην αύξηση της ανοχής στην συνδυασμένη καταπόνηση σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας

5.1. Δομή και στόχοι 3^{ης} πειραματικής μελέτης

Στην 1^η και στην 2^η πειραματική μελέτη διερευνήθηκε η δυνατότητα αύξησης της ανοχής των φυτών σε καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων μέσω της χρήσης των PGPR ως βιοδιεγερτών, του εμβολιασμού σε σθεναρά υποκείμενα ή της χρήσης γαιοσκωλήκων. Η διερεύνηση πραγματοποιήθηκε τόσο σε υδροπονική καλλιέργεια (1^η πειραματική μελέτη) όσο και σε καλλιέργεια στο έδαφος (2^η πειραματική μελέτη). Η 3^η πειραματική μελέτη έχει σκοπό να διερευνήσει την δυνατότητα επίτευξης του προαναφερόμενου σκοπού μέσω της χρήσης άλλων κατηγοριών βιοδιεγερτών όπως τα εκχυλίσματα φυκών, οι υδρολυμένες πρωτεΐνες, τα ανόργανα στοιχεία και οι φυτορμόνες. Με βάση τα αποτελέσματα της 1^{ης} πειραματικής μελέτης, στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε διαφοροποίηση της καταπόνησης, εφαρμόζοντας μια πιο ήπια συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων, ενώ με βάση τα αποτελέσματα της 2^{ης} πειραματικής μελέτης, επιλέχτηκε το υποκείμενο BIL-6335 για τον εμβολιασμό της καλλιεργούμενου υβριδίου. Η καλλιέργεια τομάτας πραγματοποιήθηκε υπό κάλυψη σε ανοικτό υδροπονικό σύστημα. Οι βιοδιεγέρτες αφορούσαν κοινά εμπορικά σκευάσματα από εκχυλίσματα φυκών (Maxicrop), υδρολυμένες πρωτεΐνες (Edypro: COUPÉ REGENERACIÓN Plus), ανόργανα στοιχεία (Edypro: PROCUAJE RADICULAR) και φυσικά ορμονικά σκευάσματα που ερευνώνται ακόμη σε πανεπιστημιακό επίπεδο (στριγγολακτόνες).

Η 3^η πειραματική μελέτη δομήθηκε με τέτοιο τρόπο που να μειώνει τα στατιστικά σφάλματα συγκριτικά με τις προηγούμενες δυο πειραματικές μελέτες. Η καλλιέργεια πραγματοποιήθηκε σε 2 θαλάμους του υαλόφρακτου θερμοκηπίου σε ένα διπαραγοντικό πείραμα το οποίο περιλάμβανε 4 επαναλήψεις ανά επέμβαση και 9 φυτά ανά επανάληψη με σύνολο 288 φυτά. Οι επάκριες σειρές του θερμοκηπίου δεν συμμετείχαν στις αναλύσεις (φυτά border) ενώ σχεδιάστηκαν και αποτελεσματικότερα μέτρα διαχείρισης των εχθρών και των παρασίτων της καλλιέργειας. Με τις μετρήσεις της θρεπτικής κατάστασης του υποστρώματος της καλλιέργειας πραγματοποιήθηκαν οι απαραίτητες τροποποιήσεις της σύστασης του θρεπτικού διαλύματος τροφοδοσίας ενώ, όσον αφορά τις μετρήσεις, εξετάστηκε τόσο η πρόωμη παραγωγή βιομάζας των φυτών όσο και η πρόωμη παραγωγή καρπών καθώς και η τελική βιομάζα και παραγωγή.

Τέλος, για την αξιολόγηση της ποιότητας των καρπών των φυτών, πραγματοποιήθηκαν και μετρήσεις οξύτητας και ολικών διαλυτών στερών στους καρπούς.

5.2. Πρόσθετα εισαγωγικά στοιχεία

5.2.1. Χημικοί βιοδιεγέρτες που εξετάστηκαν στην μελέτη

Όπως έχει αναφερθεί και στο Κεφ. 1.5, οι βιοδιεγέρτες χωρίζονται σε επιμέρους κατηγορίες ανάλογα με τα βασικά συστατικά που εμπεριέχουν. Οι κατηγορίες με βάση τον du Jardin (2015) είναι: εκχυλίσματα φυκών και φυτικών μερών, χουμικά και φουλβικά οξέα, προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και αμινοξέα, εμβόλια μικροοργανισμών (μύκητες, βακτήρια), χιτοζάνη και άλλα βιοπολυμερή και, τέλος, ανόργανες ενώσεις (Al, Co, Na, Se και Si). Τα εμβόλια μικροοργανισμών με βακτήρια εξετάστηκαν στην 1^η πειραματική μελέτη. Από τις υπόλοιπες κατηγορίες, τα εκχυλίσματα φυκών, τα προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών και τα αμινοξέα αποτελούν βιοδιεγέρτες που έχουν μελετηθεί σε μεγαλύτερο βαθμό από προηγούμενους ερευνητές (Hernandez-Herrera et. al., 2013; Petrozza et al., 2014; Kolečka et. al., 2017; Yakhin et. al., 2017) ενώ κυκλοφορούν ήδη και αρκετά εμπορικά σκευάσματα. Για αυτό τον λόγο, επιλέχτηκαν:

A) ο εμπορικός βιοδιεγέρτης Maxicrop που περιέχει εκχυλίσματα φυκών.

B) δυο εμπορικά σκευάσματα της εταιρείας Edypro που το ένα περιέχει υδρολυμένες πρωτεΐνες (COUPÉ REGENERACIÓN Plus) και το άλλο ανόργανα στοιχεία (PROCUAJE RADICULAR).

Γ) σκεύασμα της φυτορμόνης στριγγολακτόνη που εξετάζεται ερευνητικά σε αυτό το στάδιο από εταίρους του προγράμματος TOMRES.

Το εμπορικό σκεύασμα Maxicrop περιέχει εκχυλίσματα φυκών από το είδος *Ascophyllum nodosum*. Το είδος αυτό είναι το πιο διαδεδομένο για την παραγωγή εμπορικών σκευασμάτων (Halperin et al., 2015) και η εφαρμογή του μπορεί να γίνει είτε με την μορφή ψεκαστικού υγρού, είτε ως διάλυμα ριζοποτίσματος (du Jardin, 2015; Xu and Leskovar, 2015). Τα εκχυλίσματα φυκών έχουν αναφερθεί ότι μπορούν να ενισχύσουν την ανοχή των φυτών στην βιοτική και αβιοτική καταπόνηση όπως η ξηρασία, οι τροφοπενίες, η καταπόνηση λόγω αλατότητας και η θερμική καταπόνηση (Xu and Leskovar, 2015).

Τα προϊόντα που περιέχουν πρωτεΐνες ή υδρολυμένες πρωτεΐνες συνήθως περιλαμβάνουν oligοπεπίδια που προέρχονται από μίγματα αμινοξέων φυτικής ή ζωικής προέλευσης. Βέβαια, η οδηγία της Ευρωπαϊκής ένωσης (ΕΕ) 354/2014 αναφέρει ότι καμία ζωική πρωτεΐνη δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε βρώσιμα τμήματα των καλλιεργούμενων φυτών κατά την βιολογική καλλιέργεια. Τα σκευάσματα της εταιρείας Edypro, περιέχουν πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης. Σε προηγούμενες μελέτες, έχει παρατηρηθεί ότι η χρήση βιοδιεγερτών που περιέχουν πρωτεΐνες μπορεί να αυξήσει την ανοχή των φυτών σε ελλείψεις θρεπτικών στοιχείων, θερμική καταπόνηση, καταπόνηση λόγω αλατότητας και αλκαλική καταπόνηση (Botta, 2013; Cerdan et al., 2013; Ertani et al., 2013; Lucini et al., 2015; Visconti et al., 2015).

Η φυτορμόνη στριγγολακτόνη έχει παρατηρηθεί ότι ενισχύει τον εγκλιματισμό των φυτών στην έλλειψη του νερού (Marzec et al., 2013; Cardinale et al., 2018; Chesterfield et al., 2020). Η στριγγολακτόνη έχει κοινές τις πρόδρομες ενώσεις με το αψισικό οξύ (ABA) (Matusova et al., 2005). Το ABA είναι μια φυτορμόνη η οποία συσσωρεύεται ταχέως κάτω από συνθήκες έλλειψης νερού και λειτουργεί ως σήμα για το κλείσιμο των στομάτων των φύλλων (Zhu, 2002). Όσον αφορά την δράση των στριγγολακτόνων συγκριτικά με το ABA, υπάρχουν αντιφάσεις στις γνώμες των ερευνητών. Σε ορισμένα φυτά, όπως η τομάτα, οι μελέτες των López-Ráez and Bouwmeester (2008) και López-Ráez et al. (2010) έδειξαν ότι το ABA και οι στριγγολακτόνες έχουν θετική συσχέτιση αφού η αύξηση της μιας ορμόνης συνοδεύτηκε και με την αύξηση της άλλης. Αντίθετα, οι Toh et al. (2012) αναφέρουν ότι η συνθετική στριγγολακτόνη GR24 η οποία εφαρμόστηκε σε φυτά *Arabidopsis* οδήγησε σε μείωση της συγκέντρωσης του ABA. Τέλος, οι στριγγολακτόνες αποτελούν και ουσίες που συμμετέχουν στην προσαρμογή των φυτών σε έλλειψη φωσφόρου (Koltai, 2013), αφού επηρεάζουν την αρχιτεκτονική του ριζικού συστήματος των φυτών (Chesterfield et al., 2020, Koltai, 2013) ενώ παράλληλα προάγουν την αλληλεπίδραση με βακτήρια και δενδροειδείς μυκορριζικούς μύκητες (Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) (Marzec et al., 2013, Umehara, 2011; Ruiz-Lozano et al., 2016; Mostofa et al., 2018).

5.3. Υλικά και μέθοδοι

5.3.1. Βασικές πληροφορίες της καλλιέργειας

Φυτά τομάτας υβριδίου Nostymi F1 καλλιεργήθηκαν σε δυο θαλάμους του υαλόφρακτου θερμοκηπίου σε ανοικτό υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας. Οι σπόροι της τομάτας (ποικιλία και υποκείμενο) σπάρθηκαν στην σποροπαραγωγική εταιρεία (Plantas A.E) σε κύβους πετροβάμβακα (Εικ. 5-1Α). Τα φυτάρια παραλήφθηκαν και μεταφυτεύτηκαν στο θερμοκήπιο στις 12 Σεπτεμβρίου 2017, στο στάδιο των 5 πραγματικών φύλλων (Εικ. 5-1Γ). Οι κύβοι πετροβάμβακα τοποθετήθηκαν και στηρίχθηκαν πάνω στις πλάκες (slabs) πετροβάμβακα (Εικ. 5-1Β). Η πυκνότητα των φυτών ήταν $2,25 \text{ φυτά m}^{-2}$ και η καλλιέργεια τερματίστηκε 120 ημέρες μετά την μεταφύτευση (17 Ιανουαρίου 2020). Τα φυτά υβριδίου Nostymi F1 ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο BIL-6335, με εξαίρεση τα φυτά των επάκριων σειρών τα οποία δεν συμμετείχαν στις πειραματικές μετρήσεις (φυτά περιθωρίου) και ήταν εμβολιασμένα στο υβρίδιο Emperor F1.

Για την διασφάλιση της επικονίασης των φυτών, τοποθετήθηκε μια κυψέλη βομβίνων στον θάλαμο του θερμοκηπίου στις 3 Οκτωβρίου 2019. Στις 21 Νοεμβρίου 2019, 6 εβδομάδες μετά την μεταφύτευση πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία ολόκληρων φυτών τομάτας (1 αντιπροσωπευτικό φυτό ανά επανάληψη) για την μέτρηση βιομάζας του υπέργειου μέρους των φυτών. Με την αφαίρεση αυτών των φυτών, η πυκνότητα φυτών στην καλλιέργεια μεταβλήθηκε σε $2,0 \text{ φυτά m}^{-2}$ έως και την λήξη του πειράματος. Η συγκομιδή των ώριμων καρπών ξεκίνησε στις 15 Νοεμβρίου του 2019 (Εικ. (5-1Δ) και η καλλιέργεια ολοκληρώθηκε στις 10 Ιανουαρίου 2020 όπου έγινε η εξαγωγή των φυτών και η δεύτερη μέτρηση νωπής βιομάζας του υπέργειου τμήματος των φυτών. Η θερμοκρασία στο θερμοκήπιο διατηρούνταν πάνω από τους 18 βαθμούς κατά την διάρκεια της ημέρα και πάνω από 13 βαθμούς κατά την διάρκεια της νύχτας.

Σχετικά με την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta*, δόθηκε μεγάλη έμφαση στην παρακολούθηση των πληθυσμών και την εφαρμογή των ανάλογων ψεκασμών. Αρχικά, πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας τοποθετήθηκαν δύο παγίδες φωτός με κολλητική ταινία, μια σε κάθε θάλαμο του θερμοκηπίου. Κατά την μεταφύτευση των φυτών τοποθετήθηκαν και μαύρες κολλητικές ταινίες κατά μήκος της κάθε σειράς και ανάμεσα στα ζεύγη σειρών, που ουσιαστικά αποτελούσαν παγίδες μαζικής παγίδευσης (Εικ. 5-1Γ). Ακόμα, τοποθετήθηκαν 2 φερομονικές παγίδες τύπου

‘Δ’ (μία ανά θάλαμο) με κολλητικό χαρτί για την παρακολούθηση των πληθυσμών των αρσενικών ατόμων. Για την αντιμετώπιση του εντόμου πραγματοποιήθηκε και εισαγωγή ωφέλιμων εντόμων (*Trichogramma achaeae*) στις 03/10/19. Στην συνέχεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν και δυο ψεκασμοί με εντομοκτόνα, ένας ψεκασμός στις 10/12/19 με το χημικό σκεύασμα Steward (δραστική ουσία: Indoxacarb) και ένας ψεκασμός στις 31/12/19 με Voliam targo (δραστική ουσία: 4,5% chloratraniliprole + 1,8% abamectin)



Εικόνα 5-1. Α) φυτό τομάτας πριν την μεταφύτευση στο θερμοκήπιο. Β) Εσωτερικό του θερμοκηπίου πριν την μεταφύτευση των φυταρίων τομάτας. Γ) Φυτά τομάτας στο στάδιο των 6 πραγματικών φύλλων. Δ) Καρποί τομάτας Nostymi F1.

5.3.2. Υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας και εφαρμογή της καταπόνησης

Η καλλιέργεια της τομάτας πραγματοποιήθηκε σε ανοικτό υδροπονικό σύστημα με υπόστρωμα τον πετροβάμβακα ο οποίος ήταν τοποθετημένος μέσα σε σάκους (Εικ. 5-1B). Στις 06 Σεπτεμβρίου 2019, πραγματοποιήθηκε η διαβροχή του υποστρώματος με θρεπτικό διάλυμα διαβροχής. Κατά τις πρώτες 45 ημέρες της καλλιέργειας, η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης πραγματοποιούνταν με την μικρότερη χορήγηση δόσης θρεπτικού διαλύματος σε κάθε κύκλο άρδευσης. Πιο συγκεκριμένα, στα φυτά που αναπτύσσονταν χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση, η χορήγηση του θρεπτικού διαλύματος πραγματοποιούνταν με δυο σταλάκτες οι οποίοι είχαν σταθερή ροή 4 και 2 λίτρα την ώρα (Εικ. 5-2). Σε αντίθεση, στα φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης, η χορήγηση πραγματοποιούνταν με έναν σταλάκτη παροχής 4 λίτρων ανά ώρα. Με αυτόν τον τρόπο, στα φυτά stress χορηγούνταν 33% λιγότερο θρεπτικό διάλυμα σε σύγκριση με τα φυτά no stress.



Εικόνα 5-2. Χορήγηση θρεπτικού διαλύματος στα φυτά χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση με την χρήση δυο σταλαχτών ροής τεσσάρων (αριστερά) και δύο (δεξιά) λίτρων ανά ώρα.

Ο ημερήσιος αριθμός των κύκλων άρδευσης (κύκλος χορήγησης θρεπτικού διαλύματος) ήταν μεταβλητός και εξαρτιόνταν από την ηλιοφάνεια της κάθε ημέρας. Πιο συγκεκριμένα, οι θάλαμοι του θερμοκηπίου διέθεταν ηλιόμετρο το οποίο καθόριζε την συχνότητα των ποτισμάτων ώστε το ποσοστό απορροής των φυτών που δεν υποβαλλόταν σε συνδυασμένη καταπόνηση να διατηρείται περίπου στο 20%.

Η συγκεκριμένη μέθοδος που περιεγράφηκε παραπάνω τροποποιήθηκε μετά τις πρώτες 45 ημέρες της καλλιέργειας. Για την χορήγηση θρεπτικού διαλύματος στα φυτά όπου εφαρμόζονταν η συνδυασμένη καταπόνηση, η παρασκευή των θρεπτικών διαλυμάτων ξεκίνησε να πραγματοποιείται ξεχωριστά από το υδροπονικό μηχάνημα μέσω χειρωνακτικής αραιώσης και παρασκευής του θρεπτικού διαλύματος, το οποίο αποθηκευόταν σε δεξαμενές. Με αυτόν τον τρόπο, το θρεπτικό διάλυμα τροποποιήθηκε ώστε να περιέχει μικρότερες συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων, ενώ παράλληλα

ήταν δυνατή και η μείωση της συχνότητας ποτισμάτων. Με την συγκεκριμένη επέμβαση, στα φυτά με συνδυασμένη καταπόνηση χορηγούνταν 40% λιγότερη ποσότητα θρεπτικού διαλύματος, συγκριτικά με αυτά που αναπτύσσονταν χωρίς καταπόνηση ενώ και το θρεπτικό διάλυμα περιείχε σε μειωμένες συγκεντρώσεις τα θρεπτικά στοιχεία N, P, K, Ca, Mg, S. Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι η αρχική μείωση του διαλύματος τροφοδοσίας κατά 33% και η αναπροσαρμογή έπειτα στο 40% στα φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση είχε ως αποτέλεσμα τα συγκεκριμένα πειραματικά τεμάχια να έχουν μηδενικά ποσοστά απορροής για το μεγαλύτερο διάστημα της καλλιέργειας. Οι αναλυτικές συνταγές για όλα τα θρεπτικά διαλύματα που παρασκευάστηκαν κατά την διάρκεια της καλλιέργειας είναι διαθέσιμες στο Παράρτημα (Κεφ. 8).

5.3.3. Η εφαρμογή των βιοδιεγερτών

5.3.3.1. Εφαρμογή του βιοδιεγέρτη *Edypro*

Η εφαρμογή του βιοδιεγέρτη της εταιρείας *Edypro* περιλάμβανε την χρήση δυο διαφορετικών προϊόντων. Το πρώτο προϊόν ονομάζεται **COUPÉ REGENERACIÓN Plus** και το δεύτερο προϊόν ονομάζεται **PROCUAJE RADICULAR**. Το **COUPÉ REGENERACIÓN Plus** αποτελείται από πρωτεΐνες και εκχυλίσματα φυτών (Εικ. 5-3Α). Το συγκεκριμένο σκεύασμα έχει παρασκευαστεί με ένα συνδυασμό αμινοξέων και ενζυματικά υδρολυμένων φυτικών πρωτεϊνών μετά από ζύμωση με *Lactobacillus sp.* Το σκεύασμα **PROCUAJE RADICULAR** περιέχει ιχνοστοιχεία και διεισδυτικούς παράγοντες καθώς και πρόδρομα στοιχεία λίπανσης (Εικ. 5-3Β). Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα προϊόντα της εταιρείας *Edypro* μπορούν να αναζητηθούν μέσω της ηλεκτρονικής διεύθυνση της εταιρείας <https://www.edypro-online.com>. Το σκεύασμα **COUPÉ REGENERACIÓN Plus** εφαρμόστηκε την ημέρα της μεταφύτευσης και 14 ημέρες αργότερα. Η εφαρμογή του γίνεται με την διάλυση 3.5 ml βιοδιεγέρτη σε κάθε φυτό με την εφαρμογή ριζοποτίσματος (Εικ. 5-3Γ). Το σκεύασμα **PROCUAJE RADICULAR** ξεκίνησε να εφαρμόζεται κατά την έναρξη της άνθισης ενώ έπειτα εφαρμοζόταν κάθε 7 ημέρες με δόση 0,69 ml ανά φυτό. Η χορήγησή του πραγματοποιούνταν επίσης με την εφαρμογή ριζοποτίσματος (Εικ. 5-3Δ).



Εικόνα 5-3. Α) Εμπορική συσκευασία βιοδιεγέρτη COUPÉ REGENERACIÓN Plus, Β) Εμπορική συσκευασία PROCUAJE RADICULAR και αραιώση στο θρεπτικό διάλυμα τροφοδοσίας, Γ) Δοσομέτρηση αραιωμένου βιοδιεγέρτη, Δ) Εφαρμογή βιοδιεγέρτη με ριζοπότισμα.

5.3.3.2. Εφαρμογή του βιοδιεγέρτη Strigolab

Ο βιοδιεγέρτης της Strigolab είναι ένας βιοδιεγέρτης βασισμένος σε συνθετικές στριγγολακτόνες οι οποίες εκχυλίζονται από εξιδρώματα ριζών από φυτά τομάτας που αναπτύσσονται σε σύστημα αεροπονίας. Η προετοιμασία του σκευάσματος γίνεται με την διάλυση 3 ml βιοδιεγέρτη σε 3 ml ακετόνης (Εικ. 5-4Α). Τα 6 ml που προκύπτουν, διαλύονται σε 20 λίτρα ψεκαστικού υγρού (Εικ. 5-4Β) το οποίο εφαρμόζεται με ψεκασμό στο φύλλωμα των φυτών (Εικ. 5-4Δ). Ο ψεκασμός των φυτών πραγματοποιήθηκε στις 25 Σεπτεμβρίου 2019 (13 ημέρες μετά την μεταφύτευση). Για την αποφυγή ψεκασμού διπλανών σειρών, ανάμεσα στις σειρές της τομάτας τοποθετήθηκε μαύρο πλαστικό (Εικ. 5-4Γ).



Εικόνα 5-4. Α) Βιοδιεγέρτης Strigolab και διάλυμα ακετόνης, Β) Ψεκαστήρας προπιέσεως για την εφαρμογή του βιοδιεγέρτη, Γ) Κάλυψη των σειρών με μαύρο πλαστικό για την αποφυγή της διασποράς του ψεκαστικού υγρού σε άλλες μεταχειρίσεις, Δ) Εφαρμογή του βιοδιεγέρτη Strigolab στο φύλλωμα της τομάτας με ψεκασμό.

5.3.3.3. Εφαρμογή του βιοδιεγέρτη Maxicrop

Ο βιοδιεγέρτης Maxicrop αποτελείται κυρίως από εκχυλίσματα φυκών του είδους *A. nodosum* και είναι διαθέσιμος στην ελληνική αγορά από την εταιρεία Ελλαγρέτ (Εικ. 5-5Α) (www.ellagret.gr). Ο συγκεκριμένος βιοδιεγέρτης μπορεί να εφαρμοστεί στα φυτά της τομάτας είτε με ψεκασμό είτε με ριζοπότισμα. Σε μελέτη των Steveni et al. (1992) παρατηρήθηκε ότι σε υδροπονική καλλιέργεια με κριθάρι, το ριζοπότισμα έδωσε καλύτερα αποτελέσματα (φυλλική επιφάνεια, νωπό και ξηρό βάρος φυτών) συγκριτικά με τον ψεκασμό του βιοδιεγέρτη στο φύλλωμα. Συνεπώς, με βάση την βιβλιογραφία, αλλά και για πρακτικούς λόγους, ο συγκεκριμένος βιοδιεγέρτης εφαρμόστηκε με ριζοπότισμα στα φυτά της καλλιέργειας. Η εφαρμογή πραγματοποιούνταν με ριζοπότισμα (Εικ. 5-5Δ). Η εφαρμογή ξεκίνησε κατά την μεταφύτευση και επαναλαμβανόταν κάθε 14 ημέρες με την χορήγηση 1 ml βιοδιεγέρτη σε ένα κύκλο χορήγησης θρεπτικού διαλύματος στα φυτά (Εικ. 5-5Β,Γ). Με βάση τις οδηγίες της ετικέτας, η πρώτη εφαρμογή πρέπει να γίνεται με μικρότερη ποσότητα

σκευάσματος και γι' αυτό η πρώτη εφαρμογή πραγματοποιήθηκε με 0,5 ml βιοδιεγέρτη.



Εικόνα 5-5. Α) Εμπορική συσκευασία βιοδιεγέρτη Maxicrop, Β) Δοσομέτρηση πυκνού βιοδιεγέρτη, Γ) Διάλυση βιοδιεγέρτη σε θρεπτικό διάλυμα τροφοδοσίας, Δ) Εφαρμογή βιοδιεγέρτη με ριζοπότισμα.

5.3.4. Πρόσθετες μετρήσεις ποιότητας καρπών

Στην 3^η πειραματική μελέτη πραγματοποιήθηκαν και επιπλέον μετρήσεις της ποιότητας των καρπών. Πιο συγκεκριμένα, έγιναν μετρήσεις χρώματος των καρπών, ολικών διαλυτών στερεών (ΟΔΣ) και οξύτητας. Κατά την συγκομιδή στις 3/12/2019 επιλέχθηκαν 2 καρποί από την 5^η ταξιανθία των φυτών για να χρησιμοποιηθούν σε μέτρηση χρώματος καρπών. Η μέτρηση χρώματος καρπών πραγματοποιήθηκε με την χρήση Χρωματόμετρου (Minolta CR-300) (Εικ. 5-6). Το χρωματόμετρο χρησιμοποιούσε τον χρωματικό χώρο Lab, όπου το L αντιστοιχεί στην φωτεινότητα η οποία εμφανίζει τιμές από 0



Εικόνα 5-6. Χρωματόμετρο Minolta CR-300.

(μαύρο) έως 100 (λευκό), το a στην ανάμειξη κόκκινου - πράσινου και το b στην ανάμειξη κίτρινου - μπλε. Η μέτρηση εφαρμόζονταν 3 φορές και σε τρία διαφορετικά σημεία για κάθε καρπό. Το τελικό αποτέλεσμα προκύπτει από τον μέσο ορό των τριών μετρήσεων για κάθε καρπό.

Κατά την συγκομιδή στις 9/12/2019 επιλέχθηκαν δυο καρποί από κάθε σειρά για να χρησιμοποιηθούν στην ανάλυση για ΟΔΣ και οξύτητα καρπών. Οι καρποί αρχικά τεμαχίζονταν με μαχαίρι και στην συνέχεια πολτοποιούνται με την χρήση πολυκοπτικού μηχανήματος οικιακής χρήσης. Για την μέτρηση των Ολικών Διαλυτών Στέρεων μια σταγόνα από τους πολτοποιημένους καρπούς τοποθετούνταν στην ειδική υποδοχή διαθλασίμετρου χειρός (Schmidt & Haensch HR32B). Η διαδικασία πραγματοποιούνταν 2 ή 3 φορές για κάθε καρπό, ενώ για όλους τους καρπούς η μέτρηση πραγματοποιούνταν σε σταθερό φως και σταθερή θερμοκρασία. Η μέτρηση της οξύτητας των καρπών έγινε με την μέθοδο της τιτλοδότησης. Κατά την συγκεκριμένη μέθοδο, 10 g πολτοποιημένου χυμού τομάτας αραιώνεται με απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 150 ml. Στην συνέχεια πραγματοποιείται διήθηση του χυμού και το διήθημα μοιράζεται σε 2 ποτήρια ζέσεως των 50 ml. Κάθε ποτήρι ζέσεως τιτλοδοτείται με την χρήση NaOH 0,02M μέχρι το pH του διαλύματος να φτάσει στο 8,1. Ο μέσος όρος των δυο επαναλήψεων από κάθε μεταχείριση χρησιμοποιείται για να εκφραστεί η οξύτητα σε γραμμάρια κιτρικού οξέος ανά 100 g νωπού βάρους καρπού με την χρήση της σχέσης : $\text{g κιτρικού οξέος}/100 \text{ g καρπού} = \text{ml NaOH} \times 0,0512$.

5.4. Αποτελέσματα

5.4.1. Αναλύσεις θρεπτικών διαλυμάτων

Η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων στην ριζόσφαιρα της τομάτας δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των φυτών που αναπτύσσονταν χωρίς καταπόνηση σε σχέση με αυτά που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση κατά τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας (Πίνακας 5.4.1.1). Από τις 60 ημέρες και έπειτα, η συγκέντρωση των νιτρικών μειώθηκε σημαντικά στα φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση με αποτέλεσμα να διαφέρουν σημαντικά συγκριτικά με την συγκέντρωση των νιτρικών στα φυτά χωρίς καταπόνηση η οποία διατηρήθηκε περίπου στα 10 mmol L⁻¹ καθ' όλη την διάρκεια της καλλιέργειας. Η εφαρμογή των βιοδιεγερτών επηρέασε σημαντικά την συγκέντρωση νιτρικών στην ριζόσφαιρα, με σημαντικότερη όμως επίδραση να εμφανίζεται όταν τα φυτά αναπτύσσονταν κάτω από συνδυασμένη καταπόνηση. Κατά τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας παρατηρήθηκε ότι ο βιοδιεγέρτης Maxicrop αύξησε την συγκέντρωση του αζώτου στην ριζόσφαιρα, συγκριτικά με τον βιοδιεγέρτη Strigolab και τον μάρτυρα, αλλά μόνο στην περίπτωση των φυτών που αναπτύσσονταν χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση. Ο βιοδιεγέρτης Strigolab μάλιστα, είχε μειωμένη συγκέντρωση αζώτου στην ριζόσφαιρα των φυτών χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση συγκριτικά με την χρήση του ίδιου βιοδιεγέρτη, αλλά σε φυτά με συνδυασμένη καταπόνηση. Ενώ κατά τις 60 ημέρες της καλλιέργειας δεν παρατηρούνται σημαντικές επιδράσεις των βιοδιεγερτών στην συγκέντρωση αζώτου στην ριζόσφαιρα, κατά τις 90 ημέρες της καλλιέργειας, η εφαρμογή του βιοδιεγέρτη Strigolab σε φυτά με συνδυασμένη καταπόνηση οδήγησε σε αυξημένη συγκέντρωση νιτρικών στην ριζόσφαιρα συγκριτικά με τον βιοδιεγέρτη Edypro και του μάρτυρα, ενώ δεν διέφερε σημαντικά συγκριτικά με την εφαρμογή του Maxicrop. Μάλιστα, οι συγκεντρώσεις αζώτου στην ριζόσφαιρα ήταν σε παρόμοια επίπεδα και δεν διέφεραν σημαντικά με τις συγκεντρώσεις των νιτρικών των φυτών που αναπτύσσονταν σε ιδανικές συνθήκες και δεν εφαρμόστηκε βιοδιεγέρτης ή εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες Edypro και Maxicrop. Αντιθέτως, κατά τις 120 ημέρες μετά την μεταφύτευση, η εφαρμογή του βιοδιεγέρτη Strigolab σε φυτά με συνδυασμένη καταπόνηση οδήγησε σε μειωμένη συγκέντρωση νιτρικών στην ριζόσφαιρα συγκριτικά με τον βιοδιεγέρτη Edypro, ενώ δεν διέφερε σημαντικά συγκριτικά με τον μάρτυρα ή την εφαρμογή του Maxicrop. Μάλιστα, ο βιοδιεγέρτης Maxicrop σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης είχε την χαμηλότερη συγκέντρωση νιτρικών, καθώς αυτή διέφερε

σημαντικά τόσο σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες όσο και με τα φυτά στα οποία εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες της Edypro.

Σχετικά με την συγκέντρωση φωσφόρου στην ριζόσφαιρα των φυτών τομάτας, κατά τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ φυτών χωρίς και με συνδυασμένη καταπόνηση. Στη συνέχεια όμως, δηλαδή από την 60^η ημέρα και έως το τέλος της καλλιέργειας παρατηρείται μειωμένη συγκέντρωση φωσφόρου στα φυτά που αναπτύσσονται υπό συνδυασμένη καταπόνηση συγκριτικά με αυτά που αναπτύσσονται χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση. Όσον αφορά την χρήση βιοδιεγερτών, ο βιοδιεγέρτης Maxicrop αύξησε τη συγκέντρωση φωσφόρου στην ριζόσφαιρα κατά τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας, συγκριτικά με τον μάρτυρα και τους βιοδιεγέρτες της Edypro. Ο βιοδιεγέρτης Maxicrop δεν φαίνεται να επηρεάζει τις συγκεντρώσεις φωσφόρου στην συνέχεια της καλλιέργειας, όπως και οι υπόλοιποι βιοδιεγέρτες που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Εξαιρέση αποτελεί η εφαρμογή των βιοδιεγερτών της Edypro που στις 90 ημέρες της καλλιέργειας αύξησαν την συγκέντρωση φωσφόρου στην ριζόσφαιρα συγκριτικά με τον μάρτυρα και την εφαρμογή του βιοδιεγέρτη Strigolab και Maxicrop, αλλά μόνο για τα φυτά που αναπτύσσονταν χωρίς συνδυασμένη καταπόνηση.

Το κάλιο επηρεάστηκε επίσης από την εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης, μόνο που κατά τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας, η συγκέντρωση καλίου στην ριζόσφαιρα των φυτών που αναπτύσσονταν υπό συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης ήταν αυξημένη σε σύγκριση με την ριζόσφαιρα των φυτών χωρίς καταπόνηση. Το αποτέλεσμα αυτό αντιστράφηκε από τις 60 ημέρες και έως το τέλος της καλλιέργειας αφού τα φυτά με συνδυασμένη καταπόνηση είχαν σταθερά χαμηλότερη συγκέντρωση καλίου στο περιβάλλον των ριζών. Από την εφαρμογή των βιοδιεγερτών, μόνο ο βιοδιεγέρτης Strigolab επηρέασε την συγκέντρωση του καλίου κατά τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας. Πιο συγκεκριμένα, η εφαρμογή του Strigolab στα φυτά χωρίς καταπόνηση οδήγησε σε μειωμένη συγκέντρωση καλίου στην ριζόσφαιρα συγκριτικά με τον μάρτυρα τον Maxicrop. Αντίθετα, κατά την καλλιέργεια υπό συνδυασμένη καταπόνηση, η εφαρμογή του Strigolab οδήγησε σε αυξημένη συγκέντρωση καλίου στην ριζόσφαιρα συγκριτικά με τον μάρτυρα.

Πίνακας 5.4.1.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης και της εφαρμογής βιοδιεγερτών (Μάρτυρας: Μη εφαρμογή βιοδιεγέρτη, Edypro: Εφαρμογή των βιοδιεγερτών COUPÉ REGENERACIÓN και PROCUAJE RADICULAR, Strigolab και Maxicrop) στην συγκέντρωση νιτρικών NO₃ (mmol L⁻¹), P και K στην ριζόσφαιρα της τομάτας 30, 60, 90 και 120 ημέρες μετά την μεταφύτευση.

Θρ. στοιχείο Ημέρες από την μεταφύτευση	NO ₃ (mmol/L)				P (mmol/L)				K (mmol/L)			
	30	60	90	120	30	60	90	120	30	60	90	120
Χωρίς καταπόνηση	10.3	10.7 a	10.5 a	10.2 a	1.7	1.9 a	2.1 a	1.4 a	11.5 b	6.3 a	6.9 a	6.2 a
Συνδ. Καταπόνηση	10.3	8.0 b	6.8 b	5.3 b	1.7	0.9 b	1.0 b	0.9 b	12.8 a	3.9 b	4.8 b	4.6 b
Μάρτυρας	9.9	9.4	7.9	7.8	1.5	1.6	1.5 b	1.2	12.3	4.7	6.0	5.2
Edypro	9.8	8.2	8.1	8.2	1.7	1.4	2.0 a	1.2	11.8	5.1	6.1	5.3
Strigolab	10.4	10.1	9.7	7.9	1.8	1.3	1.4 b	1.2	11.9	4.9	5.1	5.4
Maxicrop	11.4	9.6	9.0	7.3	1.9	1.3	1.4 b	1.0	12.6	5.6	6.2	5.6
ΧΚ × Μάρτυρας	9.8 bc		11.9 a	9.7 a	1.5 b		2.2 b		13.3 ab			
ΧΚ × Edypro	10.2 abc		10.4 ab	9.6 a	1.4 b		2.8 a		10.7 cd			
ΧΚ × Strigolab	9.4 c		9.4 ab	10.9 a	1.9 ab		1.8 b		9.7 d			
ΧΚ × Maxicrop	11.7 a		10.5 ab	10.7 a	2.1 a		1.7 b		12.3 abc			
ΣΚ × Control	10.0 abc		3.9 d	5.8 bc	1.5 b		0.9 c		11.3 bcd			
ΣΚ × Edypro	9.4 c		5.8 cd	6.8 b	2.0 ab		1.2 c		12.9 abc			
ΣΚ × Strigolab	11.4 ab		9.9 ab	4.8 cd	1.8 ab		1.0 c		14.2 a			
ΣΚ × Maxicrop	10.5 abc		7.5 bc	3.9 d	1.6 ab		1.1 c		12.9 abc			
Στατιστική σημαντικότητα												
Καταπόνηση	ns	*	***	***	ns	*	***	***	*	***	***	***
Βιοδιεγέρτης	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
K × B	*	ns	*	**	*	ns	*	ns	**	ns	ns	ns

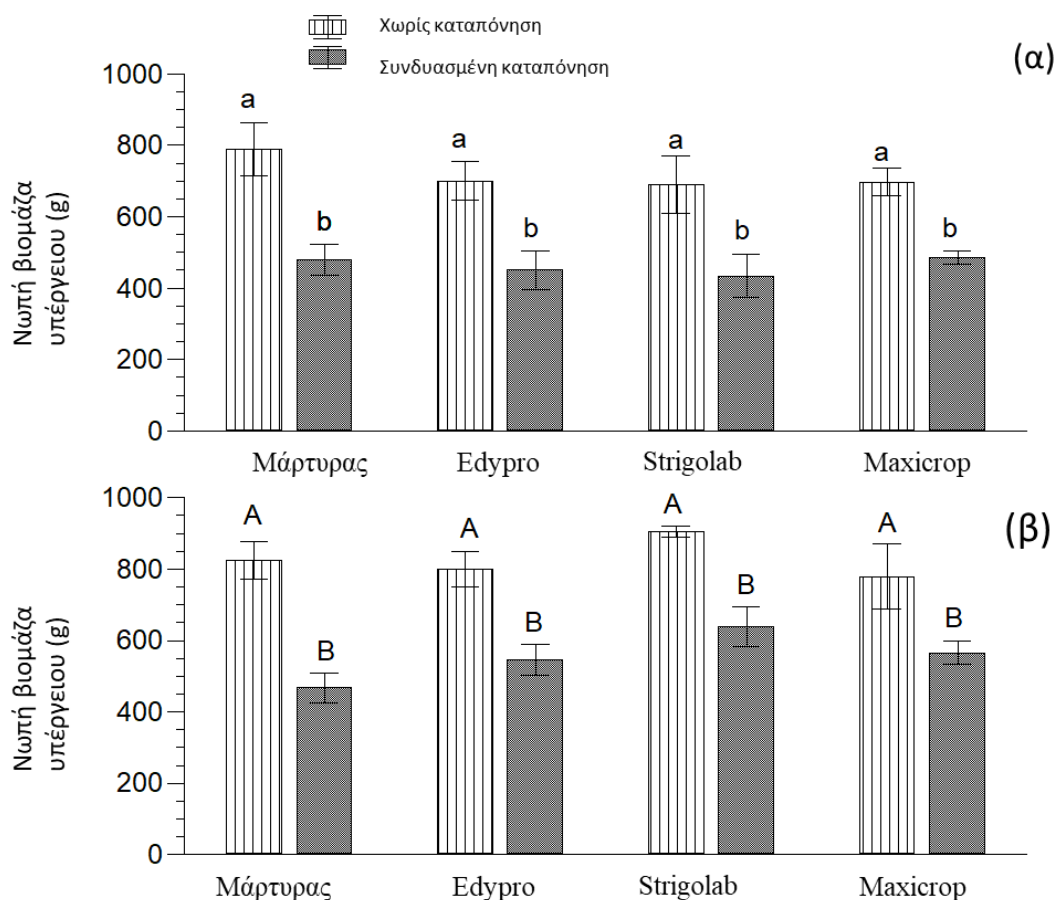
ΧΚ: Χωρίς καταπόνηση

ΣΚ: Συνδυασμένη καταπόνηση

Οι μέσοι (n = 4) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan (p < 0,05) *, **, *** σημαντική σε p < 0,05, p < 0,01 και p < 0,001, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

5.4.2. Νωπή βιομάζα φυτών

Η νωπή βιομάζα του υπέργειου μέρους του φυτού της τομάτας μειώθηκε σημαντικά λόγω της επίδρασης της συνδυασμένης καταπόνησης τόσο στις 70 όσο και στις 120 ημέρες καλλιέργειας (Διάγρ. 5.4.2.1). Από την άλλη πλευρά, η εφαρμογή των βιοδιεγερτών Edypro, Strigolab και Maxicrop δεν επηρέασε την νωπή βιομάζα του υπέργειου μέρους των φυτών, ενώ δεν παρατηρήθηκε και κάποια αλληλεπίδραση μεταξύ της καταπόνησης και της εφαρμογής βιοδιεγερτών.

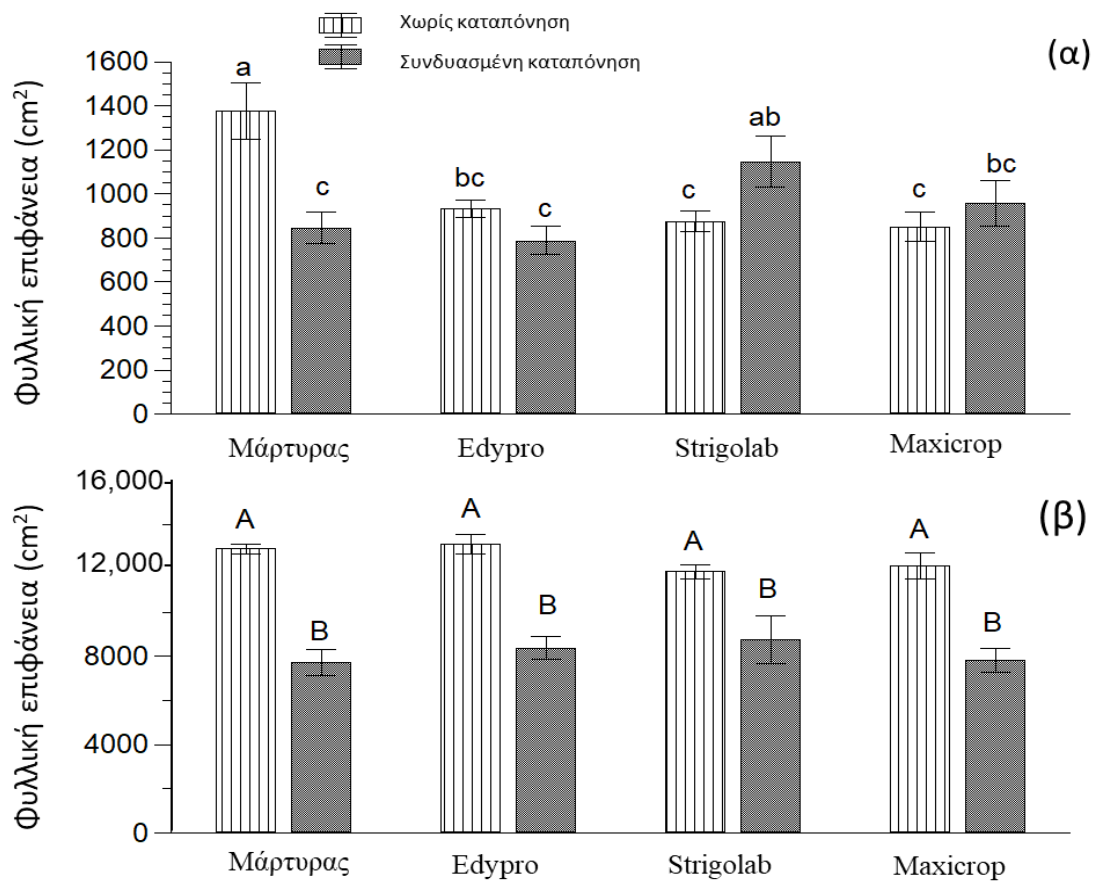


Διάγραμμα 5.4.2.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης και της εφαρμογής βιοδιεγερτών (Μάρτυρας: Μη εφαρμογή βιοδιεγέρτη, Edypro: Εφαρμογή των βιοδιεγερτών COUPÉ REGENERACIÓN και PROCUAJE RADICULAR, Strigolab και Maxicrop) στην νωπή βιομάζα του υπέργειου μέρους των φυτών α) 70 ημέρες μετά την μεταφύτευση και β) στο τέλος της καλλιέργειας. Οι μέσοι ($n = 4$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$).

5.4.3. Φυλλική επιφάνεια

Σε αντίθεση με την νωπή βιομάζα, στις 70 ημέρες της καλλιέργειας η φυλλική επιφάνεια επηρεάστηκε τόσο από την συνδυασμένη καταπόνηση, όσο και από την εφαρμογή των βιοδιεγερτών (Διάγρ. 5.4.3.2α). Όταν τα φυτά αναπτύχθηκαν χωρίς την ύπαρξη συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων, η εφαρμογή βιοδιεγερτών δεν ωφέλησε την φυλλική επιφάνεια, αφού τα φυτά στα οποία εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες της Edypro, της Strigolab και του Maxicrop είχαν μειωμένη φυλλική επιφάνεια συγκριτικά με τον μάρτυρα. Αντίθετα, κατά την καλλιέργεια των φυτών σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης, τα φυτά όπου εφαρμόστηκε ο Strigolab είχαν αυξημένη φυλλική επιφάνεια συγκριτικά με τον μάρτυρα και τα φυτά όπου εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες της Edypro. Μάλιστα, η φυλλική επιφάνεια των φυτών στα οποία έγινε εφαρμογή του Strigolab κάτω από συνδυασμένη καταπόνηση ήταν μεγαλύτερη συγκριτικά με την φυλλική επιφάνεια των φυτών στα οποία εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες Strigolab και Maxicrop αλλά αναπτύσσονταν υπό ιδανικές συνθήκες. Δεν διέφερε σημαντικά όμως σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες και τα φυτά στα οποία εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες της Edypro όταν αυτά αναπτύσσονταν χωρίς να υφίστανται συνδυασμένη καταπόνηση.

Κατά το πέρας της καλλιέργειας (120 ημέρες μετά την μεταφύτευση) η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης οδήγησε σε σημαντική μείωση της φυλλικής επιφάνειας των φυτών συγκριτικά με τα φυτά όπου δεν πραγματοποιήθηκε καταπόνηση (Διάγρ. 5.4.3.2β). Από την άλλη, η επίδραση των βιοδιεγερτών στην φυλλική επιφάνεια κατά τις 70 ημέρες μετά την μεταφύτευση δεν συνεχίστηκε έως και το τέλος της καλλιέργειας, αφού δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των βιοδιεγερτών και του μάρτυρα κάτω από τις δυο διαφορετικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης. Τέλος, κατά το πέρας της καλλιέργειας δεν παρατηρήθηκε και αλληλεπίδραση μεταξύ της επέμβασης της καταπόνησης και της εφαρμογής βιοδιεγερτών στην συνολική φυλλική επιφάνεια των φυτών.



Διάγραμμα 5.4.3.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης και της εφαρμογής βιοδιεγερτών (Μάρτυρας: Μη εφαρμογή βιοδιεγέρτη, Edypro: Εφαρμογή των βιοδιεγερτών COUPÉ REGENERACIÓN και PROCUAJE RADICULAR, Strigolab και Maxicrop) στην φυλλική επιφάνεια των φυτών τομάτας α) 70 ημέρες μετά την μεταφύτευση και β) στο τέλος της καλλιέργειας. Οι μέσοι ($n = 4$) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan ($p < 0,05$).

5.4.4. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας

Όπως παρατηρείται στον Πίνακα 5.4.4.1, η παραγωγή κατά τον πρώτο μήνα δεν επηρεάστηκε από την συνδυασμένη καταπόνηση που εφαρμόστηκε στα φυτά της τομάτας. Σε ότι αφορά βέβαια την τελική παραγωγή των φυτών, παρατηρήθηκε ότι η συνδυασμένη καταπόνηση μείωσε σημαντικά την παραγωγή των καρπών συγκριτικά με τα φυτά που αναπτύσσονταν σε ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης. Η συνδυασμένη καταπόνηση μείωσε επίσης και το μέσο βάρος καρπών, τον αριθμό καρπών ανά φυτό και την ποσότητα των καρπών που κατατάχτηκαν σε όλες τις κατηγορίες ποιότητας (Extra class, Class I, Class II).

Σχετικά με την εφαρμογή των βιοδιεγερτών, τα φυτά όπου εφαρμόστηκε ο βιοδιεγέρτης Strigolab έδωσαν σημαντικά υψηλότερη πρώιμη παραγωγή καρπών συγκριτικά με τον βιοδιεγέρτη Maxicrop και τα φυτά-μάρτυρες. Επιπλέον, η παραγωγή των φυτών όπου εφαρμόστηκε ο βιοδιεγέρτης Maxicrop και τα φυτά μάρτυρες είχαν με την σειρά τους υψηλότερη πρώιμη παραγωγή σε σχέση με τα φυτά όπου πραγματοποιήθηκε εφαρμογή των βιοδιεγερτών της Edypro. Όσον αφορά βέβαια την τελική παραγωγής καρπών, η χρήση των βιοδιεγερτών Strigolab και Maxicrop δεν διέφεραν σημαντικά από τα φυτά όπου δεν εφαρμόστηκε βιοδιεγέρτης. Παρόλα αυτά, όλες οι παραπάνω μεταχειρίσεις αύξησαν την παραγωγή συγκριτικά με τα φυτά όπου εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες της Edypro. Το μέσο βάρος καρπών και ο αριθμός καρπών ανά φυτό δεν επηρεάστηκαν από την χρήση των βιοδιεγερτών, με εξαίρεση να αποτελεί ο αριθμός καρπών ανά φυτό που μειώθηκε με την χρήση του βιοδιεγέρτη Edypro σε σύγκριση με τις άλλες μεταχειρίσεις βιοδιεγερτών. Όσον αφορά την ποιοτική κατάταξη των καρπών στην κατηγορία Extra Class, η μη εφαρμογή βιοδιεγέρτη και η εφαρμογή του βιοδιεγέρτη Strigolab έδωσαν αυξημένο βάρος καρπών, συγκριτικά με τα φυτά Edypro, ενώ ο βιοδιεγέρτης Maxicrop έδωσε τιμές στο ενδιάμεσο των παραπάνω χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά με καμία μεταχείριση. Στις κατηγορίες Class I και Class II, δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.

Πίνακας 5.4.4.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης και της εφαρμογής βιοδιεγερτών (Μάρτυρας: Μη εφαρμογή βιοδιεγέρτη, Edypro: Εφαρμογή των βιοδιεγερτών COUPÉ REGENERACIÓN και PROCUAJE RADICULAR, Strigolab και Maxicrop) στην πρώιμη παραγωγή (πρώτες 30 ημέρες συγκομιδής), την τελική παραγωγή, το μέσο βάρος καρπού, το βάρος των καρπών κατηγορίας Extra class, Class I και Class II και το ποσοστό του ξηρού βάρους των καρπών της τομάτας.

	Πρώιμη παραγωγή (kg m ⁻²)	Συνολική παραγωγή (kg m ⁻²)	Αριθμός καρπών m ⁻²	Μέσο βάρος καρπού (g)	Extra Class (kg m ⁻²)	Class I (kg/m ²)	Class II (kg/m ²)
Χωρίς καταπόνηση	1.75	3.35 a	13.4 a	125.7 a	0.85 a	1.84 a	0.65 a
Συνδυασμένη Καταπόνηση	1.68	2.69 b	11.5 b	115.9 b	0.65 b	1.52 b	0.52 b
Μάρτυρας	1.82 b	3.29 a	13.1 a	125.6	0.92 a	1.74	0.63
Edypro	1.27 c	2.51 b	10.8 b	116.2	0.52 b	1.45	0.55
Strigolab	2.07 a	3.17 a	13.1 a	121.2	0.83 a	1.80	0.54
Maxicrop	1.71 b	3.10 a	12.9 a	120.3	0.73 ab	1.75	0.62
Στατιστική σημαντικότητα							
Καταπόνηση	ns	***	**	***	*	*	**
Βιοδιεγέρτης	***	**	*	ns	*	ns	ns
K × B	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Οι μέσοι (n = 4) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan (p < 0,05) *, **, *** σημαντική σε p < 0,05, p < 0,01 και p < 0,001, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

5.4.5. Θρεπτική κατάσταση φύλλων, καρπών - ποιοτικά χαρακτηριστικά καρπών

Στα φύλλα των φυτών όπου εφαρμόστηκε συνδυασμένη καταπόνηση υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις ολικού αζώτου και φωσφόρου με τιμές μικρότερες από εκείνες των φυτών που δεν είχαν υποβληθεί στην καταπόνηση (Πίνακας 5.4.5.1). Σχετικά με την περιεκτικότητα των καρπών σε ξηρή ουσία, κάλιο και ψευδάργυρο, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο επεμβάσεων καταπόνησης. Ωστόσο, όσον αφορά τους καρπούς, υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις του καλίου με μεγαλύτερες τιμές να εμφανίζουν οι συγκεντρώσεις των καρπών που προέρχονται από τις επεμβάσεις χωρίς καταπόνηση. Η περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία και η συγκέντρωση του φωσφόρου στους καρπούς δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των επεμβάσεων καταπόνησης (εφαρμογή η μη της συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων).

Η εφαρμογή των βιοδιεγερτών δεν επηρέασε την περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία, τις συγκεντρώσεις του ολικού αζώτου και του φωσφόρου στα φύλλα σε σχέση με τα φυτά των επεμβάσεων στα οποία δεν έγινε εφαρμογή βιοδιεγερτών. Επίσης οι

επεμβάσεις με βιοδιεγέρτες δεν επηρέασαν το ποσοστό ξηρής ουσίας και τις συγκεντρώσεις του φωσφόρου στους καρπούς σε σύγκριση με τα φυτά στα οποία δεν εφαρμόστηκαν βιοδιεγέρτες. Σε αντίθεση, στα φύλλα των φυτών, η εφαρμογή των βιοδιεγερτών της Edypro αύξησε την συγκέντρωση καλίου συγκριτικά με τον μάρτυρα, την εφαρμογή Strigolab και Maxicrop. Για τη συγκέντρωση ψευδαργύρου στα φύλλα, επίσης με την εφαρμογή των βιοδιεγερτών Edypro, παρατηρήθηκε σημαντική αύξησή συγκριτικά με τον μάρτυρα και το Maxicrop. Τέλος, και στην περίπτωση τη συγκέντρωσης του καλίου στους καρπούς της τομάτας, οι βιοδιεγέρτες Edypro και Maxicrop οδήγησαν σε σημαντικά αυξημένα επίπεδα συγκριτικά με τον μάρτυρα, ενώ οι υπόλοιπες επεμβάσεις βιοδιεγερτών δεν επέφεραν σημαντικές μεταβολές.

Πίνακας 5.4.5.1. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης και της εφαρμογής βιοδιεγερτών (Μάρτυρας: Μη εφαρμογή βιοδιεγέρτη, Edypro: Εφαρμογή των βιοδιεγερτών COUPÉ REGENERACIÓN και PROCUAJE RADICULAR, Strigolab και Maxicrop) στο ξηρό βάρος των φύλλων, την συγκέντρωση ολικού αζώτου, φωσφόρου, καλίου και ψευδαργύρου των φύλλων, το ξηρό βάρος των καρπών και την συγκέντρωση φωσφόρου και καλίου των καρπών.

	Φύλλα					Καρποί		
	Περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία %	Ολικό N %	P %	K %	Zn (ppm)	Περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία %	P %	K %
Χωρίς καταπόνηση	10.4	3.86 a	0.86 a	4.68	37,58	4.83	0.59	3.81 a
Συνδ. Καταπόνηση	11.0	3.49 b	0.70 b	4.70	45,25	5.07	0.63	3.34 b
Μάρτυρας	10,3	3,74	0,77	4,54 b	31,75 b	4,76	0,63	3,16 b
Edypro	10,3	3,47	0,68	5,03 a	58,50 a	5,15	0,61	3,89 a
Strigolab	11,2	3,7	0,91	4,59 b	44,50 ab	5,15	0,59	3,49 ab
Maxicrop	11,1	3,76	0,76	4,59 b	30,92 b	4,73	0,62	3,76 a
Στατιστική σημαντικότητα								
Καταπόνηση	ns	**	*	ns	ns	ns	ns	*
Βιοδιεγέρτης	ns	ns	ns	*	**	ns	ns	*
K × B	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Οι μέσοι (n = 4) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan (p <0,05) *, ** σημαντική σε p <0,05 και p<0,01, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

Τα ολικά διαλυτά στερεά, η οξύτητα και ο δείκτης L του χρώματος στους καρπούς δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων στις οποίες εφαρμόστηκε συνδυασμένη καταπόνηση και αυτών στις οποίες δεν εφαρμόστηκε καταπόνηση (Πίνακας 5.4.5.2). Ωστόσο οι καρποί των επεμβάσεων με συνδυασμένη καταπόνηση παρουσίασαν υψηλότερες τιμές στους δείκτες a και b του χρώματος έχοντας στατιστικά σημαντική διαφορά από τις επεμβάσεις χωρίς καταπόνηση.

Σχετικά με τις επεμβάσεις των βιοδιεγερτών, στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρχε μόνο στο δείκτη L του χρώματος, ενώ για τα ολικά διαλυτά στερεά, την οξύτητα και τους δείκτες χρώματος a και b δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Οι καρποί των φυτών όπου εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες της Edypro παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά δίνοντας υψηλότερη τιμή στο δείκτη L σε σύγκριση με τον μάρτυρα και τους καρπούς των φυτών όπου εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες Strigolab και Maxicrop.

Πίνακας 5.4.5.2. Επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης και της εφαρμογής βιοδιεγερτών (Μάρτυρας: Μη εφαρμογή βιοδιεγέρτη, Edypro: Εφαρμογή των βιοδιεγερτών COUPÉ REGENERACIÓN και PROCUAJE RADICULAR, Strigolab και Maxicrop) στα ολικά διαλυτά στερεά (ΟΔΣ), την οξύτητα και το χρώμα των καρπών.

	ΟΔΣ (° Brix)	Οξύτητα γρ κιτρικού οξέως/ 100 γρ NB	L	a	b
Χωρίς καταπόνηση	3,45	0,33	45,2	18,9 b	22,1 b
Συνδ. Καταπόνηση	3,74	0,34	44,5	21,7 a	23,4 a
Μάρτυρας	3,68	0,34	44,5 b	21,0	23,1
Edypro	3,66	0,35	46,0 a	19,3	23,0
Strigolab	3,59	0,35	44,4 b	20,6	22,8
Maxicrop	3,46	0,33	44,3 b	20,3	22,3
Στατιστική σημαντικότητα					
Καταπόνηση	ns	ns	ns	***	**
Βιοδιεγέρτης	ns	ns	*	ns	ns
K × B	ns	ns	ns	ns	ns

Οι μέσοι (n = 4) που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Duncan (p <0,05) *, **, *** σημαντική σε p <0,05, p<0,01 και p<0,001, αντίστοιχα, ns = μη σημαντική.

5.5. Συζήτηση

5.5.1. Αναλύσεις θρεπτικών διαλυμάτων και θρεπτικής κατάστασης των φυτών

Οι συγκεντρώσεις των νιτρικών ιόντων, του φωσφόρου και του καλίου αποτελούν μια ένδειξη για την πορεία της θρέψης της τομάτας και πραγματοποιήθηκαν τόσο για την παρατήρηση και αναπροσαρμογή του θρεπτικού διαλύματος, όσο και για την εξαγωγή συμπερασμάτων όσον αφορά τους παράγοντες που μελετήθηκαν στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη, δηλαδή την επίδραση της καταπόνησης λόγω έλλειψης νερού και θρεπτικών στοιχείων και την επίδραση των βιοδιεγερτών στην αντιμετώπιση της καταπόνησης αυτής.

Η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων στα φυτά που αναπτύχθηκαν δίχως συνδυασμένη καταπόνηση κυμαίνεται σε χαμηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με τα επίπεδα που περιγράφουν οι Savvas & Gruda (2018). Πιο συγκεκριμένα, οι Savvas & Gruda (2018) αναφέρουν συγκεντρώσεις 18 και 17,2 mmol/L στη ριζόσφαιρα για τα φυτά της τομάτας που βρίσκονται στο βλαστητικό και στο αναπαραγωγικό στάδιο, αντίστοιχα. Βέβαια, οι Savvas & Gruda (2018) προτείνουν και υψηλότερη συγκέντρωση νιτρικών ιόντων στο διάλυμα τροφοδοσίας σε σύγκριση με την συγκέντρωση που εφαρμόστηκε στο συγκεκριμένο πείραμα (10,5 έως 14,8 mmol/L). Η μειωμένη συγκέντρωση αζώτου στη ριζόσφαιρα των φυτών που αναπτύσσονταν με συνδυασμένη καταπόνηση οδήγησε τελικά και σε χαμηλότερη συγκέντρωση αζώτου και στα φύλλα της τομάτας, χωρίς βέβαια η συγκέντρωση αυτή να βρίσκεται σε επίπεδα τροφοπενίας που να οδηγήσουν σε εμφάνιση συμπτωμάτων (Gatsios et al., 2019)

Σχετικά με την συγκέντρωση του φωσφόρου στα φυτά που αναπτύχθηκαν σε ιδανικές συνθήκες, η συγκέντρωση διατηρήθηκε πάνω από 1 mmol/L για όλη την διάρκεια της καλλιέργειας, πράγμα που σημαίνει ότι τα φυτά τα οποία αναπτύσσονταν σε ιδανικές συνθήκες, είχαν όντως επάρκεια φωσφόρου στο διάλυμα του ριζοστρώματος (Savvas & Gruda, 2018). Αντιθέτως, στα φυτά όπου εφαρμόστηκε η συνδυασμένη καταπόνηση, τα επίπεδα φωσφόρου στο διάλυμα ριζοστρώματος ήταν οριακά για την υδροπονική καλλιέργεια της τομάτας σε ανοικτό σύστημα καλλιέργειας από τις 60 ημέρες μέχρι και το τέλος της καλλιέργειας. Όμως, όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι συγκεντρώσεις φωσφόρου κατά την επέμβαση της καταπόνησης, φαίνεται πως είναι υπεραρκετές για την καλλιέργεια της τομάτας (Biddinger et al., 1998) γι αυτό και, παρόλο που η συγκέντρωση του φωσφόρου στα φύλλα της τομάτας ήταν μειωμένη

λόγω της εφαρμογής της καταπόνησης, τα επίπεδα ήταν πάνω από τα όρια τροφοπενίας (Σάββας, 2016).

Όσον αφορά την συγκέντρωση του καλίου στο διάλυμα ριζοστρώματος, η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά τις πρώτες 30 ημέρες στα φυτά τα οποία αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση, είναι αυτή που οδήγησε στην αναπροσαρμογή της επέμβασης της συνδυασμένης καταπόνησης από εκεί και έπειτα μέχρι και το τέλος του πειράματος στο θερμοκήπιο. Η μείωση του καλίου στο θρεπτικό διάλυμα τροφοδοσίας των καταπονημένων φυτών οδήγησε τελικά στην μειωμένη συγκέντρωσή του στην ριζόσφαιρα για τους υπόλοιπους μήνες της καλλιέργειας κάτι το οποίο αποτελεί ιδιαίτερα μειωμένη συγκέντρωση καλίου για την ανάπτυξη της τομάτας (Savvas & Gruda, 2018). Αντιθέτως, η συγκέντρωση του καλίου στην ριζόσφαιρα των φυτών που αναπτύσσονταν υπό ιδανικές συνθήκες διατηρήθηκε σε ικανοποιητικά επίπεδα για την ανάπτυξη των φυτών τομάτας, ενώ επιπρόσθετα, η μείωση που παρατηρήθηκε από τις 30 ημέρες και έπειτα, είναι δικαιολογημένη, αφού τα φυτά τομάτας είναι απαιτητικά σε κάλιο όταν αρχίσουν να εισέρχονται στο αναπαραγωγικό στάδιο (Savvas & Gruda, 2018; Passam et al., 2007). Οι επαρκείς ποσότητες καλίου στο διάλυμα ριζοστρώματος είχε ως αποτέλεσμα και την μη εμφάνιση σημαντικών διαφορών στην συγκέντρωση του καλίου στα φύλλα της τομάτας, παρόλα αυτά, οι καρποί, λόγω των υψηλών απαιτήσεων σε κάλιο είχαν σε μειωμένη συγκέντρωση συγκριτικά με τα φυτά που αναπτύσσονταν χωρίς συνθήκες έλλειψης καλίου.

Η επίδραση της χρήσης των βιοδιεγερτών στην συγκέντρωση των θρεπτικών στοιχείων στο περιβάλλον των ριζών των φυτών που καλλιεργούνται σε υδροπονικό σύστημα δεν έχει μελετηθεί ακόμη εκτενώς. Με βάση τον ορισμό των βιοδιεγερτών (du Jardin, 2015), η αύξηση ή μείωση των θρεπτικών στοιχείων στη ριζόσφαιρα δεν μπορεί να οφείλεται σε τυχόν θρεπτικά στοιχεία που μπορεί να περιέχονται στα σκευάσματα των βιοδιεγερτών, αφού η δοσολογία των βιοδιεγερτών ήταν πολύ μικρή και η εφαρμογή τους πραγματοποιήθηκε σε πολύ αραιά διαστήματα. Με την υπάρχουσα διαθέσιμη βιβλιογραφία, είναι γνωστό ότι τα σκευάσματα πρωτεϊνών που χρησιμοποιούνται ως βιοδιεγέρτες, μπορούν να επηρεάσουν την συγκέντρωση του αζώτου στην ριζόσφαιρα (Sestili et al., 2018), παρόλα αυτά ο βιοδιεγέρτης της Edypro ο οποίος περιείχε πρωτεΐνες δεν έδειξε σημαντική επίδραση στην συγκέντρωση του αζώτου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι ο βιοδιεγέρτης της Strigolab μετέβαλε την συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων και του καλίου, ειδικά κατά τον πρώτο

μήνα της καλλιέργειας συγκριτικά με τον μάρτυρα. Είναι προφανές ότι ο βιοδιεγέρτης *Strigolab* αφού εφαρμόστηκε μέσα στον πρώτο μήνα της καλλιέργειας, θα είχε και την μεγαλύτερη επίδραση στην ανάπτυξη των φυτών κατά το διάστημα αυτό. Οι συνθετικές στριγγολακτόνες μπορούν να επηρεάσουν το άνοιγμα και το κλείσιμο των στομάτων και να εγκλιματίσουν τα φυτά σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων (Visentin et al., 2016; Lv et al., 2018) και η εφαρμογή στριγγολακτόνης μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη της ρίζας, ειδικά κάτω από έλλειψη φωσφόρου, με αποτέλεσμα να επηρεαστεί η απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά (Mostofa et al., 2018; Chesterfield et al., 2020). Και πάλι όμως, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δεν μπορούν να δικαιολογηθούν πλήρως με βάση την υπάρχουσα βιβλιογραφία, για το πως έδρασε ακριβώς ο βιοδιεγέρτης *Strigolab* και μεταβλήθηκαν οι συγκεντρώσεις, κυρίως των νιτρικών ιόντων και του καλίου. Η συγκέντρωση του φωσφόρου στην ριζόσφαιρα αυξήθηκε σημαντικά από την εφαρμογή του βιοδιεγέρτη *Maxicrop* μόνο κατά τις πρώτες 30 ημέρες της καλλιέργειας και των βιοδιεγερτών της *Edypro* μόνο κατά τις 90 ημέρες της καλλιέργειας και μόνο για τα φυτά που αναπτύσσονταν χωρίς καταπόνηση. Η μειωμένη απορρόφηση φωσφόρου από τα φυτά όπου εφαρμόστηκε το *Maxicrop* δεν επηρέασε γενικά την συγκέντρωση των θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα και στους καρπούς με εξαίρεση την συγκέντρωση του καλίου στους καρπούς, συνεπώς δεν μπορεί να δικαιολογηθεί κάποια σχέση μεταξύ των απορροφήσεων από την ριζόσφαιρα και την συσσώρευση στα φυτά. Αντίθετα, η μειωμένη απορρόφηση του φωσφόρου από τα φυτά με *Edypro* στα μέσα προς τέλος της καλλιέργειας πιθανόν να συνδέονται με την αύξηση του του ψευδαργύρου στα φύλλα της τομάτας. Η συγκέντρωση ψευδαργύρου στα φύλλα της τομάτας είναι γνωστό ότι επηρεάζεται από τις απορροφήσεις φωσφόρου (Kaya and Higgs, 2001), συνεπώς η μείωση της απορρόφησης φωσφόρου ενδέχεται να συνδέεται με την αυξημένη συγκέντρωση ψευδαργύρου στα φύλλα. Όσον αφορά το αυξημένο κάλιο στα φύλλα και τους καρπούς των φυτών *Edypro* συγκριτικά με τα φυτά μάρτυρες, έχει παρατηρηθεί και από άλλους ερευνητές όπου μελέτησαν την εφαρμογή βιοδιεγερτών με υδρολύματα πρωτεϊνών αφού με βάση τους Roupheal et al. (2017), η αύξηση του ριζικού συστήματος και η αύξηση της παραγωγής μεταφορέων θρεπτικών στις μεμβράνες των φυτικών κυττάρων μπορούν να οδηγήσουν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις καλίου στα φυτά της τομάτας.

5.5.2. Μετρήσεις βιομάζας και φυλλικής επιφάνειας φυτών

Η νωπή βιομάζα των φυτών και η φυλλική επιφάνειά τους, στο ήμισυ και στο τέλος της καλλιέργειας, μειώθηκε σημαντικά από την συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων. Όπως αναφέρθηκε και στην 1^η πειραματική μελέτη, οι Ullah et al. (2021) έχουν ήδη προαναφέρει ότι η συνδυασμένη μείωση του νερού και των θρεπτικών στοιχείων οδηγεί σε μείωση της ανάπτυξης των φυτών σε βιομάζα και φυλλική επιφάνεια στην υδροπονική καλλιέργεια τομάτας. Αντίστοιχες μελέτες με έλλειψη νερού ή θρεπτικών στοιχείων συμπληρώνουν τα ευρήματα των Ullah et al. (2021) ότι τόσο το ύψος των φυτών τομάτας η φυλλική επιφάνεια και η συνολική νωπή βιομάζα μειώνονται σημαντικά λόγω της καταπόνησης (Warner J. et. al. 2004; Biddinger et. al. 1998; Patanè & Cosentino, 2010).

Από την άλλη, η χρήση των βιοδιεγερτών είχε μηδενική επίδραση στην νωπή βιομάζα των φυτών στο μέσον και στο τέλος της καλλιέργειας, κάτι το οποίο δεν ισχύει και για την φυλλική επιφάνεια, αφού αυτή επηρεάστηκε σημαντικά από την εφαρμογή των βιοδιεγερτών. Η χρήση των βιοδιεγερτών σε φυτά που αναπτύσσονταν υπό ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης εμφάνισαν μειωμένη φυλλική επιφάνεια στις πρώτες 70 ημέρες της καλλιέργειας σε σύγκριση με τον μάρτυρα, ενώ αντίθετα, τα φυτά στα οποία εφαρμόστηκε η συνδυασμένη καταπόνηση και ο βιοδιεγέρτης Strigolab αύξησαν την φυλλική τους επιφάνεια συγκριτικά με τα φυτά που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση και δεν εφαρμόστηκε βιοδιεγέρτης ή εφαρμόστηκε ο βιοδιεγέρτης Edypro.

Σχετικά με τον βιοδιεγέρτη Edypro, παρόμοιες μελέτες σε φυτά τομάτας όπου εφαρμόστηκαν σκευάσματα πρωτεϊνών (Rouphael et al., 2017) έδειξαν ότι κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης τα φυτά της τομάτας είχαν αυξημένο ύψος και βιομάζα αντίστοιχα, κάτι το οποίο δεν παρατηρήθηκε στην παρούσα μελέτη.

Για την χρήση των στριγγολακτόνων, τα φυτά που αναπτύσσονταν σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης εμφάνισαν αυξημένη συγκέντρωση νιτρικών ιόντων και καλίου στην ριζόσφαιρα κατά τον πρώτο μήνα της καλλιέργειας, η οποία στην πορεία μειώθηκε σημαντικά μέσα στους επόμενους μήνες. Ο εγκλιματισμός αυτός των φυτών κατά τον πρώτο μήνα της καλλιέργειας στην συνδυασμένη καταπόνηση, ίσως είναι αυτό που οδήγησε στην αύξηση της φυλλικής επιφάνειας στο μέσον της καλλιέργειας, χωρίς βέβαια αυτή η υπόθεση να μπορεί να δικαιολογηθεί πλήρως από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

Ο βιοδιεγέρτης Maxicrop δεν επηρέασε σημαντικά την βιομάζα ή την φυλλική επιφάνεια των φυτών. Η εφαρμογή εκχυλισμάτων φυκιών βέβαια έχει αναφερθεί από προηγούμενους ερευνητές ότι δύναται να αυξήσει τη βιομάζα και τη φυλλική επιφάνεια τομάτας που καλλιεργείται με υψηλή και χαμηλή παροχή αζώτου (Ali et al., 2016; Goñi et al., 2018; González-González et al., 2020). Σε άλλη αντίστοιχη μελέτη, όταν τα εκχυλίσματα φυκιών εφαρμόστηκαν σε φυτά τομάτας οι οποίες αναπτύσσονταν κάτω από ιδανικές συνθήκες, τα φυτά είχαν αυξημένο ύψος και βιομάζα (Zodape et al., 2011), ενώ κάτω από συνθήκες έλλειψης νερού, οι Oancea et. al. (2013) παρατήρησαν ότι ο βιοδιεγέρτης Maxicrop αύξησε το μήκος της ρίζας και τον αριθμό των φύλλων 56 μέρες μετά την μεταφύτευση, χωρίς να επηρεάζεται το ύψος του φυτού. Οι προηγούμενες μελέτες λοιπόν με την χρήση εκχυλισμάτων φυκών δεν επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

5.5.3. Στοιχεία αποδόσεων τομάτας

Η μείωση των εισροών των φυτών που αναπτύσσονταν σε συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων οδήγησε σε μειωμένη φυλλική επιφάνεια, μειωμένη ανάπτυξη βιομάζας και κατά συνέπεια χαμηλότερη παραγωγή. Η μειωμένη παραγωγή ήταν απόρροια της μείωσης του μέσου βάρους των καρπών αλλά και του αριθμού των καρπών ανά φυτό. Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με την επίδραση της καταπόνησης νερού ή των θρεπτικών στοιχείων στην καλλιέργεια της τομάτας και στις περισσότερες περιπτώσεις προκύπτουν παρόμοιας λογικής αποτελέσματα με τα παραπάνω (Patanè & Cosentino, 2010; Ullah et al. 2021). Η επίδραση της συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων μείωσε και την ποσότητα των καρπών σε κάθε κατηγορία ποιότητας χωρίς όμως να μεταβάλει το ποσοστό που συμμετείχε η κάθε κατηγορία ποιότητας στην συνολική παραγωγή. Το αποτέλεσμα αυτό διαφέρει από τα αποτελέσματα της 1^{ης} πειραματικής μελέτης της παρούσας διδακτορικής διατριβής, όπου η συνδυασμένη καταπόνηση, παρόλο που μείωσε τους καρπούς στις κατηγορίες Extra Class και Class I, αύξησε την ποσότητα των καρπών στην κατηγορία Class II.

Η εφαρμογή των βιοδιεγερτών φαίνεται πως επηρεάζει την παραγωγή και τις παραμέτρους αυτής, και πιο συγκεκριμένα την ποσοτική παραγωγή, τον αριθμό καρπών ανά φυτό, καθώς την κατηγορία ποιοτικής κατάταξης “Extra Class”. Τα φυτά όπου εφαρμόστηκε ο βιοδιεγέρτης Strigolab παρήγαγαν περισσότερους πρώιμους

καρπούς σε σύγκριση με τον μάρτυρα, αλλά και με τους υπόλοιπους βιοδιεγέρτες που μελετήθηκαν. Η αύξηση της φυλλικής επιφάνειας κατά τα πρώτα στάδια της καλλιέργειας, είναι πιθανό να οδήγησε στην αυξημένη πρώιμη παραγωγή (Heuvelink et al., 2004). Παρόλα αυτά, τα φυτά Strigolab δεν είχαν αυξημένη τελική παραγωγή ούτε παρατηρήθηκε κάποια βελτίωση της ποιότητας των καρπών συγκριτικά με τον μάρτυρα.

Στον αντίποδα, η χρήση του βιοδιεγέρτη Edypro μείωσε την πρώιμη και την τελική παραγωγή συγκριτικά με τον μάρτυρα. Η μειωμένη συνολική παραγωγή ήταν αποτέλεσμα του μειωμένου αριθμού καρπών ανά φυτό, αφού το μέσο βάρος καρπού δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την χρήση του συγκεκριμένου βιοδιεγέρτη, ενώ τέλος η μειωμένη παραγωγή ήταν αποτέλεσμα μείωσης κυρίως των καρπών που κατατάχτηκαν στην κατηγορία Extra class. Η εφαρμογή του βιοδιεγέρτη Edypro και συγκεκριμένα η εφαρμογή του COUPÉ REGENERACIÓN Plus μετέβαλλε σημαντικά την απορρόφησης ορισμένων θρεπτικών στοιχείων από την ριζόσφαιρα, όπως αναφέρθηκε και στο Κεφ. 5.5.1.



Εικόνα 5-7. Συμπτώματα στα φύλλα των φυτών όπου εφαρμόστηκε ο βιοδιεγέρτης Edypro.

Αυτές οι διαταραχές θρέψης πιθανόν να οδήγησαν στην μειωμένη παραγωγή των φυτών. Τα φύλλα των φυτών όπου εφαρμόστηκαν οι βιοδιεγέρτες της Edypro εμφάνισαν κάποια συμπτώματα τοξικότητας (Εικ. 5-7), χωρίς βέβαια να έχει παρατηρηθεί κάποια τοξικότητα στα στοιχεία που μελετήθηκαν.

Όσον αφορά την επίδραση του βιοδιεγέρτη Maxicrop, η εφαρμογή του συγκεκριμένου βιοδιεγέρτη δεν εμφάνισε στατιστικώς σημαντικές διαφορές σχετικά με την παραγωγή και την ποιοτική κατάταξη των φυτών συγκριτικά με τον μάρτυρα. Το αποτέλεσμα αυτό έρχεται σε αντίθεση με τους Oancea et al. (2013) όπου παρατήρησαν ότι το Maxicrop αύξησε την παραγωγή της τομάτας τόσο σε ιδανικές συνθήκες όσο και σε συνθήκες έλλειψης νερού. Τα εκχυλίσματα φυκών έχουν μελετηθεί αρκετά από πολλούς ερευνητές για καλλιέργεια τομάτας στο έδαφος και έχουν εμφανίσει θετικά αποτελέσματα παραγωγής (Heuvelink et al., 2004; Zodape et al., 2011; Colla et al., 2017). Σχετικά με την πρώιμη παραγωγή, οι (Colla et al., 2017) δήλωσαν ότι τα εκχυλίσματα φυκών είναι ικανά να αυξήσουν την πρώιμη παραγωγή της τομάτας που καλλιεργείται στο έδαφος σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες. Παρόλα αυτά, η χρήση

τους σε υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας δεν έχει μελετηθεί εκτενώς, ενώ ορισμένες μελέτες με εκχυλίσματα φυκών σε υδροπονική καλλιέργεια ρόκας και πιπεριάς δεν έδειξαν κάποια ιδιαίτερη επίδραση στην τελική παραγωγή των φυτών (Vernieri et al., 2006; Singh and Shono, 2012).

5.5.4. Ποιοτικά χαρακτηριστικά καρπών

Η οξύτητα και τα ολικά διαλυτά στερεά δεν επηρεάστηκαν ούτε από την εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων ούτε από την εφαρμογή των βιοδιεγερτών. Σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη, άλλοι ερευνητές έχουν παρατηρήσει ότι τόσο η συνδυασμένη καταπόνηση, όσο και η χρήση των βιοδιεγερτών οδηγούν σε αύξηση των ολικών διαλυτών στερεών και της οξύτητας στους καρπούς της τομάτας (Liu et al., 2011, Colla et al., 2017, Peripolli et al., 2020).

Το χρώμα των καρπών αποτελεί επίσης σημαντικό κριτήριο ποιότητας για τους καρπούς της τομάτας. Το χρώμα των καρπών μπορεί να επηρεαστεί από την έλλειψη νερού στα φυτά της τομάτας, αλλά και από την εφαρμογή βιοδιεγερτών (Nurudin et al., 2003; Carouso et al., 2019). Στην μελέτη των Nurudin et al. (2003) παρατηρήθηκε ότι όταν η έλλειψη νερού εφαρμόστηκε καθ' όλη την διάρκεια της καλλιέργειας ή από την ανάπτυξη των καρπών κι έπειτα, το χρώμα των καρπών μεταβλήθηκε, ενώ όταν η υδατική καταπόνηση εφαρμόστηκε μόνο κατά την άνθιση και καρπόδεση, το χρώμα δεν μεταβλήθηκε συγκριτικά με τα φυτά όπου δεν εφαρμόστηκε υδατική καταπόνηση. Σχετικά με την χρήση βιοδιεγερτών, κατά τη μελέτη των Carouso et al. (2019), όπου εξετάστηκε η επίδραση των βιοδιεγερτών στο χρώμα των καρπών σε υπαίθρια καλλιέργεια τομάτας παρατηρήθηκε ότι η εφαρμογή υδρολυμένων πρωτεϊνών και τα εκχυλίσματα τροπικών φυτών αυξάνουν το L και το a των καρπών της τομάτας, ενώ δεν επηρεάζουν σημαντικά το b. Στην παρούσα μελέτη, η φωτεινότητα των καρπών επηρεάστηκε μόνο από την εφαρμογή του βιοδιεγέρτη Edypro, ένας βιοδιεγέρτης που περιέχει υδρολυμένες πρωτεΐνες. Αντίθετα, το 'a' και το 'b' δεν επηρεάστηκε από κανέναν από τους βιοδιεγέρτες που μελετήθηκαν.

5.6. Συμπεράσματα

Η συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων αποτελεί μια έντονη καταπόνηση για τα φυτά της τομάτας και αναπόφευκτα οδηγεί σε μείωση τόσο της ανάπτυξης, όσο και της παραγωγής των φυτών. Η εφαρμογή των βιοδιεγερτών

Edypro, Strigolab και Maxicrop, παρόλο που επηρέασαν ορισμένα χαρακτηριστικά της ανάπτυξης των φυτών (φυλλική επιφάνεια, απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων) δεν κατάφεραν εν τέλει να αυξήσουν την παραγωγή των φυτών ούτε σε ιδανικές συνθήκες ούτε σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης. Εξάιρεση αποτελεί το γεγονός ότι ο βιοδιεγέρτης Strigolab, ο οποίος εφαρμόστηκε μόνο στην αρχή της καλλιέργειας, κατάφερε να αυξήσει την πρώιμη παραγωγή των καρπών συγκριτικά με τα φυτά μάρτυρες. Το αποτέλεσμα αυτό πιθανόν να οφείλεται σε ορισμένες μεταβολές στην θρέψη και ανάπτυξη των φυτών που οδήγησαν στην αύξηση της αρχικής φυλλικής επιφάνειας των φυτών. Αντίθετα με τα φυτά στα οποία εφαρμόστηκε ο βιοδιεγέρτης Strigolab, τα φυτά στα οποία εφαρμόστηκε ο βιοδιεγέρτης Edypro μείωσαν την πρώιμη και την τελική παραγωγή των φυτών της τομάτας, ένα αποτέλεσμα που πιθανόν να οφείλεται σε ορισμένες διαταραχές στην θρέψη των φυτών. Τέλος τα φυτά στα οποία εφαρμόστηκε ο βιοδιεγέρτης Maxicrop δεν μετέβαλλαν σημαντικά την ανάπτυξη, την παραγωγή, την θρεπτική κατάσταση των φυτών και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών.

Η εφαρμογή των βιοδιεγερτών έχει αποδειχτεί από προηγούμενες μελέτες ότι μπορεί να ενισχύσει την ανάπτυξη και την παραγωγή των φυτών της τομάτας, κυρίως επιδρώντας στους μηχανισμούς της θρέψης και αυξάνοντας την αποδοτικότητα χρήσης ορισμένων θρεπτικών στοιχείων. Παρόλα αυτά, οι περισσότερες αντίστοιχες μελέτες τομάτας έχουν εστιάσει σε καλλιέργεια στο έδαφος, ενώ λίγες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί σε υδροπονική καλλιέργεια. Οι κυριότεροι μηχανισμοί αύξησης της αποδοτικότητας χρήσης των θρεπτικών στοιχείων βασίζονται στην καλύτερη ανάπτυξη της ρίζας και της βελτίωσης των ιδιοτήτων του εδάφους. Οι μηχανισμοί αυτοί φαίνεται πως δεν μπορούν να συνεισφέρουν στον ίδιο βαθμό στην ανάπτυξη των φυτών κατά την καλλιέργεια εκτός εδάφους. Βέβαια, τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι ο βιοδιεγέρτης Strigolab με την μια εφαρμογή του στην αρχή της καλλιέργειας επηρέασε θετικά την πρώιμη ανάπτυξη και πρώιμη παραγωγή των φυτών. Συνεπώς, μεταγενέστερες μελέτες με επαναληπτικές εφαρμογές του συγκεκριμένου βιοδιεγέρτη ίσως να παρατείνουν την αύξηση της ανάπτυξης και παραγωγής των φυτών και για τα επόμενα στάδια της καλλιέργειας.

6. Γενική συζήτηση- Συμπεράσματα

6.1. Η συνδυασμένη καταπόνηση σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας

Η εφαρμογή της συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων αποτελεί μια ιδιαίτερα οξεία μορφή καταπόνησης που οδηγεί σε σημαντική μείωση της βιομάζας και κατά συνέπεια και της παραγωγής των φυτών της τομάτας. Επαρκή συμπεράσματα όσον αφορά την ανάπτυξη και παραγωγή των φυτών εξήχθησαν μόνο από την 1^η και 3^η πειραματική μελέτη που αφορούσαν καλλιέργεια εκτός εδάφους. Για την περίπτωση της καλλιέργειας στο έδαφος (2^η πειραματική μελέτη), δεν εξήχθησαν τελικά συμπεράσματα για την περίπτωση της εφαρμογής βιολογικής καλλιέργειας με μειωμένη χορήγηση θρεπτικών στοιχείων έναντι της συμβατικής, διότι δεν πάρθηκε εν τέλει παραγωγή από τα φυτά που καλλιεργήθηκαν βιολογικά λόγω αδυναμίας ελέγχου του περονόσπορου με αποτέλεσμα την ολοσχερή καταστροφή των φυτών

Οι μελέτες σε καλλιέργεια εκτός εδάφους έδειξαν ότι η κατά 50% μείωση της χορήγησης θρεπτικού διαλύματος με την αντίστοιχη ταυτόχρονη μείωση του αζώτου και του φωσφόρου στο θρεπτικό διάλυμα, οδήγησε σε μείωση της παραγωγής κατά 35%, ενώ μειώθηκε σημαντικά η συγκέντρωση του αζώτου του φωσφόρου και του καλίου στα φύλλα και του φωσφόρου και καλίου στους καρπούς. Λιγότερο αρνητική ως προς την παραγωγή, αποδείχθηκε η μείωση του θρεπτικού διαλύματος κατά 33-40%, όπως εφαρμόστηκε κατά την 3^η πειραματική μελέτη, η οποία οδήγησε σε μείωση της συνολικής παραγωγής κατά 20%.

Συνεπώς, η συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων θα πρέπει να αποφεύγεται για να μην οδηγηθούν τα φυτά σε σημαντική μείωση της παραγωγής. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν σε μεγάλο βαθμό με την μελέτη των Ullah et al. (2021) οι οποίοι ανέφεραν ότι ο συνδυασμένος περιορισμός νερού και αζώτου κατά 20% οδήγησε σε 15-20% μείωση της παραγωγής σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας, σε αντίθεση με τη διατήρηση του νερού στα ιδανικά επίπεδα σε συνδυασμό με μείωση του αζώτου στο 75% ή την διατήρηση της ιδανικής λίπανσης αζώτου και τη μείωση του νερού κατά 20% τα οποία δεν οδήγησαν σε απώλεια παραγωγής (Ullah et al., 2021).

Με τη χρήση της μεταβολομικής ανάλυσης, καταγράφηκαν διακυμάνσεις αρκετών μεταβολιτών που οφειλόταν στην συνδυασμένη καταπόνηση. Για τους μεταβολίτες γλυκίνη, κιτρικό οξύ, γλυκερικό οξύ, φρουκτόζη, μηλικό οξύ, τρεχαλόζη και μυο-ινοσιτόλη υπάρχουν προηγούμενες αναφορές ότι η συγκέντρωσή τους

μεταβάλλεται λόγω της μεμονωμένης καταπόνησης από έλλειψη νερού, αζώτου ή φωσφόρου, όμως σε αρκετούς από τους παραπάνω μεταβολίτες, η αύξηση ή η μείωση της συγκέντρωσής τους διέφερε ανάλογα με την μεμονωμένη καταπόνηση που εφαρμόστηκε. Θα χρειαστούν συνεπώς περισσότερες μελέτες που θα εστιάσουν στην μεταβολομική ανάλυση για να εξηγήσουν τις μεταβολομικές αλλαγές των φυτών που αναπτύσσονται σε συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων.

6.2. Τα PGPR ως βιοδιεγέρτες για αύξηση ανοχής στην συνδ. καταπόνηση

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η δράση 5 διαφορετικών στελεχών PGPR. Τα στελέχη ήταν τα: *Enterobacter sp.* C1.2, *Enterobacter sp.* C1.5, *Paenibacillus sp.* DN1.2, *Enterobacter mori* C3.1 και *Lelliottia sp.* D2.4. Μάλιστα τα στελέχη *Enterobacter sp.* C1.2 και *Enterobacter sp.* C1.5 εξετάστηκαν ως μια μεταχείριση και όχι ως ξεχωριστά εμβόλια PGPR. Όλα τα παραπάνω βακτηριακά στελέχη δεν έχουν μελετηθεί στο παρελθόν για την δράση τους ως προωθητές ανάπτυξης των φυτών, συνεπώς δεν υπάρχει διαθέσιμη βιβλιογραφία όπου να έχουν πραγματοποιηθεί παρόμοιες μελέτες. Η παρούσα μελέτη εξέτασε την δράση των συγκεκριμένων στελεχών κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης και κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης σε καλλιέργεια εκτός εδάφους.

Από τα αποτελέσματα της 1^{ης} πειραματικής μελέτης παρατηρήθηκε ότι κάθε βακτηριακό στέλεχος ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης των φυτών ενισχύει σε διαφορετικά σημεία την ανάπτυξη των φυτών. Η μίξη των στελεχών *Enterobacter sp.* C1.2 και *Enterobacter sp.* C1.5 μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση της τελικής νωπής βιομάζας του υπέργειου μέρους των φυτών τομάτας, κατά την ανάπτυξή τους σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης, σε σημείο που να μην διαφέρει σημαντικά με την βιομάζα των φυτών που αναπτύσσονται χωρίς καταπόνηση και εμβολιάστηκαν με την ίδια μίξη στελεχών. Το στέλεχος *Paenibacillus sp.* DN1.2 δεν οδηγεί στην αύξηση της βιομάζας των φυτών, όμως μπορεί να αυξήσει την συγκέντρωση του αζώτου στα φύλλα της τομάτας κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης. Το βακτήριο *Enterobacter mori* C3.1 έχει την δυνατότητα να αυξήσει την υπέργεια και υπόγεια νωπή βιομάζα των φυτών κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης, όμως η χρήση του συγκεκριμένου στελέχους κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης οδηγεί σε σημαντικά μειωμένη ανάπτυξη σε νωπή βιομάζα και φυλλική επιφάνεια συγκριτικά με τα φυτά μάρτυρες. Τέλος, το στέλεχος *Lelliottia sp.* D2.4,

παρόλο που οδήγησε στην ταχύτερη ανάπτυξη της νωπής βιομάζας κατά το μέσον της καλλιέργειας και κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης, εν τέλει δεν διέφερε σημαντικά στην τελική ανάπτυξη των φυτών συγκριτικά με τον μάρτυρα. Το σημαντικότερο βέβαια γεγονός είναι ότι κανένα από τα παραπάνω βακτηριακά στελέχη δεν κατάφερε να οδηγήσει σε αύξηση της συνολικής παραγωγής των φυτών για τους 2 μήνες όπου διήρκησε η συγκομιδή.

Με την εφαρμογή της μεταβολομικής ανάλυσης παρατηρήθηκαν και οι διαφορές στο μεταβολισμό των φυτών και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η εφαρμογή του PGPR *Enterobacter mori* C3.1 επηρέασε σημαντικά αρκετούς μεταβολίτες συγκριτικά με την μη εφαρμογή του συγκεκριμένου PGPR. Μάλιστα, από τους μεταβολίτες που μελετήθηκαν και είχαν τις μεγαλύτερες διακυμάνσεις, η τρεχαλόζη, το μηλικό οξύ και η μονοπαλμιτίνη έχουν μελετηθεί στο παρελθόν και έχουν χαρακτηριστεί ως μεταβολίτες που συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση μεταξύ φυτών και βακτηρίων.

Συμπεραίνεται λοιπόν ότι τα συγκεκριμένα βακτηριακά στελέχη πρέπει να μελετηθούν περεταίρω ώστε να υπάρχουν σαφή συμπεράσματα. Θα πρέπει να πραγματοποιηθούν μελέτες τόσο στο έδαφος, όσο και σε υδροπονικό σύστημα αλλά με διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης των φυτών. Επίσης, είναι σημαντικό να μελετηθεί τόσο η περίπτωση επανεμβολιασμού των βακτηρίων σε επόμενα στάδια της καλλιέργειας, όσο και η επέκταση της διάρκειας συγκομιδής για να εξακριβωθεί αν τα φυτά με αυξημένη νωπή βιομάζα έδιναν σε βάθος περισσότερων μηνών υψηλότερη παραγωγή. Τέλος, συμπεράσματα από τη μελέτη της συγκέντρωσης των μεταβολιτών που συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση φυτών και βακτηρίων ίσως να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον ως βιοδείκτες για τον έλεγχο της επιτυχούς ή μη αλληλεπίδρασης.

6.3. Οι χημικοί βιοδιεγερτες για αύξηση ανοχής στην συνδ. καταπόνηση

Στην παρούσα διδακτορική μελέτη εξετάστηκαν 3 σκευάσματα χημικών βιοδιεγερτών σε εκτός εδάφους καλλιέργεια τομάτας με σκοπό να μελετηθεί η επίδρασή τους στην συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων.

Από την κατηγορία των υδρολυμένων πρωτεϊνών, μελετήθηκε το σκεύασμα του βιοδιεγέρτη Edypro (COUPÉ REGENERACIÓN Plus) το οποίο σε συνδυασμό με το PROCUAJE RADICULAR δεν κατάφεραν να αυξήσουν την ανάπτυξη και την παραγωγή των φυτών τομάτας. Η πιθανότερη εξήγηση είναι ότι εσφαλμένες δοσολογίες των συγκεκριμένων σκευασμάτων δόθηκαν από την εταιρεία και οδήγησαν σε διαταραχές θρέψης των φυτών. Οι συγκεκριμένοι βιοδιεγέρτες της EDYPRO δεν έχουν δοκιμαστεί προηγουμένως σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας και μελλοντικές μελέτες με τροποποιήσεις στις δόσεις των βιοδιεγερτών θα μπορούσαν ενδεχομένως να αποκαλύψουν διαφορετικά αποτελέσματα απόδοσης.

Από την κατηγορία των εκχυλισμάτων φυκών, μελετήθηκε ο βιοδιεγέρτης Maxirop. Η εφαρμογή του συγκεκριμένου βιοδιεγέρτη στην υδροπονική καλλιέργεια τομάτας δεν κατάφερε να αυξήσει την ανάπτυξη και παραγωγή των φυτών σε ιδανικές συνθήκες ή συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης, παρά την ύπαρξη αρκετών μελετών που αναφέρουν ότι τα εκχυλίσματα φυκών έχουν την δυνατότητα να αυξήσουν τις αποδόσεις της τομάτας (Heuvelink et al., 2004; Zodape et al., 2011; Colla et al., 2017). Οι μελέτες αυτές έχουν πραγματοποιηθεί στο έδαφος όπου η ενίσχυση της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών οφείλεται κυρίως στη βελτίωση της δομής του εδάφους, με τη διαλυτοποίηση των ιχνοστοιχείων και την αύξηση του αποικισμού από μυκόρριζες (Halpern et al., 2015). Οι Zodape et al. (2011) αναφέρουν μάλιστα ότι τα εκχυλίσματα φυκών θα μπορούσαν να είναι ανώτερα από τα χημικά λιπάσματα επειδή η οργανική τους ύλη όχι μόνο συγκρατεί την υγρασία πιο αποτελεσματικά, αλλά και τα μέταλλα που περιέχονται στην οργανική ύλη μπορούν να παραμείνουν στο ανώτερο επίπεδο του εδάφους και να είναι εύκολα διαθέσιμα από τις ρίζες. Ωστόσο, οι περισσότεροι από αυτούς τους μηχανισμούς δεν αξιοποιούνται κατά την καλλιέργεια εκτός εδάφους. Συμπεραίνεται λοιπόν, ότι ο βιοδιεγέρτης Maxirop δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη και την παραγωγή των φυτών τα οποία καλλιεργούνται σε υδροπονική καλλιέργεια, άρα δεν προσδίδει στην ανοχή έναντι της συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων.

Τέλος, ο βιοδιεγέρτης Strigolab αποτελεί έναν βιοδιεγέρτη που δεν ανήκει σε κάποια κατηγορία όπως αυτές αναφέρονται από τον du Jardin (2015). Ο βιοδιεγέρτης Strigolab περιέχει στριγγολακτόνες, που αποτελούν ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών. Με βάση την τρέχουσα γνώση, κάτω από περιορισμένη παρουσία θρεπτικών στοιχείων, η εφαρμογή στριγγολακτονών μπορεί να αυξήσει τον σχηματισμό πλευρικών ριζών και να επιμηκύνει τα ριζικά τριχίδια, με συνέπεια τα φυτά να έχουν στην συνέχεια την ικανότητα να αυξήσουν την ικανότητα πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων (Mostofa et al., 2018), αποτέλεσμα που όμως δεν παρατηρείται υπό βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης (Chesterfield et al., 2020). Η εφαρμογή του Strigolab οδήγησε σε διαφορές στην πρόσληψη των θρεπτικών στοιχείων άζωτο και κάλιο από την ριζόσφαιρα και τα αποτελέσματα ανάπτυξης και παραγωγής έδειξαν ότι η εφαρμογή του συγκεκριμένου βιοδιεγέρτη αύξησε την πρώιμη φυλλική επιφάνεια κάτω από συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης και την πρώιμη παραγωγή των φυτών κάτω από ιδανικές συνθήκες και συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης, χωρίς όμως να είναι αυξημένη και η συνολική παραγωγή των φυτών συγκριτικά με τον μάρτυρα. Παρόλα αυτά, θα χρειαστούν περισσότερες έρευνες για να εξακριβωθούν οι μηχανισμοί των φυτών που οδήγησαν στα παραπάνω αποτελέσματα.

6.4. Ο εμβολιασμός για την αύξηση ανοχής στην συνδ. καταπόνηση

Κατά την 1^η πειραματική μελέτη, εξετάστηκε η εφαρμογή του υποκειμένου M82 συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά του υβριδίου Belladonna κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης και κάτω από 50% μείωση νερού και θρεπτικών στοιχείων. Κατά την 2^η πειραματική μελέτη εξετάστηκαν 5 διαφορετικά υποκείμενα, αυτοεμβολιασμένα φυτά του υβριδίου Palamos F1 και της τοπικής ποικιλίας Ramellet, το υποκείμενο M82, το υποκείμενο Maxifort F1 και το υποκείμενο BIL-6335 σε συμβατική καλλιέργεια με ιδανικές συνθήκες λίπανσης και σε βιολογική καλλιέργεια με μειωμένη χορήγηση θρεπτικών στοιχείων. Κατά την 3^η πειραματική μελέτη το υποκείμενο BIL-6335 χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό του υβριδίου Nostymi F1 χωρίς όμως να πραγματοποιηθούν συγκρίσεις μεταξύ διαφορετικών υποκειμένων.

Η χρήση του υποκειμένου M82 στην υδροπονική καλλιέργεια τομάτας αύξησε την συνολική παραγωγή στα φυτά που αναπτύσσονταν σε συνθήκες ιδανικής χορήγησης νερού και θρεπτικών στοιχείων και υπό συνθήκες συνδυασμένης

καταπόνησης. Με βάση όμως την επίδραση στη βιομάζα, τη φυλλική επιφάνεια και την ποιοτική κατάταξη των καρπών φαίνεται πως ο συγκεκριμένος γονότυπος έχει σημαντικότερη θετική επίδραση όταν τα φυτά δεν αναπτύσσονται κάτω από ιδανικές συνθήκες παροχής νερού και θρεπτικών στοιχείων.

Κατά την καλλιέργεια στο έδαφος (2^η πειραματική μελέτη) η χρήση του υποκειμένου M82 δεν επηρέασε σημαντικά την παραγωγή των φυτών κατά την συμβατική καλλιέργεια. Ομοίως και τα υποκείμενα Ramellet και Maxifort δεν εμφάνισαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ως προς την παραγωγή των φυτών συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά Palamos F1 στην συμβατική καλλιέργεια. Σε αντίθεση, το υποκείμενο BIL-6335 εμφάνισε σημαντικά αυξημένη παραγωγή συγκριτικά με τα αυτοεμβολιασμένα φυτά κατά την συμβατική καλλιέργεια. Για την βιολογική καλλιέργεια δεν προέκυψαν μετρήσεις παραγωγής αφού τα φυτά προσβλήθηκαν σημαντικά από την ασθένεια του περονόσπορου της τομάτας. Συνεπώς, για την περίπτωση της καλλιέργειας στο έδαφος σε βιολογικό σύστημα θα πρέπει να πραγματοποιηθούν αντίστοιχες μελέτες για να εξακριβωθεί αν τα υποκείμενα της τομάτας που μελετήθηκαν είχαν κάποια επίδραση στην ανάπτυξη και την παραγωγή των φυτών.

Η αξιολόγηση αύξηση των αποδόσεων της καλλιέργειας με την χρήση του υποκειμένου BIL-6335 ήταν αυτή που οδήγησε στην επανεπιλογή του ως υποκείμενο κατά την 3^η πειραματική μελέτη. Στην συγκεκριμένη μελέτη, δεν εξετάστηκαν διαφορετικά υποκείμενα αφού όλα τα φυτά της μελέτης ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο BIL-6335. Συνεπώς δεν υπάρχουν δεδομένα για την επίδραση του υποκειμένου στην ανάπτυξη και παραγωγή των φυτών.

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα, η παρούσα διδακτορική μελέτη δεν καταλήγει σε κάποιο υποκείμενο το οποίο ξεχώρισε σημαντικά κάτω από συνθήκες καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων. Τα αποτελέσματα της 1^{ης} και 2^{ης} πειραματικής μελέτης υποδεικνύουν ότι τα υποκείμενα M82 και BIL-6335 θα πρέπει να μελετηθούν περεταίρω σε διαφορετικά συστήματα καλλιέργειας και με διαφορετική ένταση καταπόνησης ώστε να προκύψουν σαφείς και ευδιάκριτες επιδράσεις και συμπεράσματα.

6.5. Οι γαιοσκώληκες και η αύξηση της διαθεσιμότητας των θρεπτικών στο έδαφος

Η εφαρμογή του γαιοσκώληκα *Eisenia fetida* στο έδαφος του θερμοκηπίου όπου δεν προϋπήρχαν γαιοσκώληκες οδήγησε στην επιτυχή εγκατάστασή τους και στην διατήρηση των πληθυσμών τους καθ' όλη την διάρκεια της καλλιέργειας. Μάλιστα, ο πληθυσμός των γαιοσκωλήκων δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ βιολογικού και συμβατικού συστήματος καλλιέργειας. Η δράση των γαιοσκωλήκων οδήγησε σε αύξηση των συγκεντρώσεων αμμωνιακών και οργανικής ουσίας στο έδαφος του θερμοκηπίου τόσο στο βιολογικό όσο και στο συμβατικό σύστημα καλλιέργειας της τομάτας και αυτό είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της τελικής παραγωγής καρπών. Βέβαια, η τελική παραγωγή των φυτών του συγκεκριμένου πειράματος κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα λόγω της ασθένειας του περονόσπορου που πρόσβαλλε την τομάτα. Λόγω του ότι η απευθείας εφαρμογή γαιοσκωλήκων στο έδαφος της καλλιέργειας δεν έχει μελετηθεί εκτενώς, η παρούσα εργασία θα μπορούσε να βοηθήσει μελλοντικούς ερευνητές που θα μελετήσουν την χρήση των γαιοσκωλήκων.

Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσίασαν οι μετρήσεις των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου. Ως προς το αέριο μεθάνιο (CH_4) παρατηρήθηκαν μεγάλες απορροφήσεις που οφείλονται στον καλό αερισμό του εδάφους λόγω των γαιοσκωλήκων. Σχετικά με το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) και το υποξείδιο του αζώτου (N_2O) παρατηρήθηκαν εκπομπές, αλλά ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι στα τεμάχια που έγινε εφαρμογή του γαιοσκώληκα *E. fetida* οι συνολικές εκπομπές ήταν μειωμένες συγκριτικά με αυτές του μάρτυρα. Για την περίπτωση του διοξειδίου του άνθρακα, το γεγονός ότι οι γαιοσκώληκες μείωσαν τις εκπομπές δεν μπορεί να δικαιολογηθεί αφού οι περισσότεροι ερευνητές έχουν καταλήξει ότι οι γαιοσκώληκες αυξάνουν τις εκπομπές του συγκεκριμένου αερίου. Αντίθετα, για το υποξείδιο του αζώτου, υπάρχουν αναφορές ότι με την δράση των γαιοσκωλήκων, τα οργανικά προϊόντα που προκύπτουν οδηγούν σε ένα έδαφος με μειωμένες εκπομπές του αερίου N_2O .

6.6. Βασικά συμπεράσματα

Εν συντομία, τα βασικά συμπεράσματα της παρούσας διατριβής με βάση τα δεδομένα που προέκυψαν είναι:

A) η συνδυασμένη μείωση του νερού και των θρεπτικών στοιχείων άζωτο και φώσφορος κατά 50% σε υδροπονική καλλιέργεια τομάτας οδηγεί σε μείωση της παραγωγής κατά 35% και η χρήση των PGPR και του εμβολιασμού στο υποκείμενο M82 δεν μπορούν να οδηγήσουν σε αύξηση της ανοχής των φυτών στην συγκεκριμένη καταπόνηση

B) Τα 5 διαφορετικά στελέχη PGPR που μελετήθηκαν οδήγησαν σε διαφορές στην ανάπτυξη της βιομάζας και της φυλλικής επιφάνειας των φυτών με το κάθε στέλεχος να επιδρά διαφορετικά στην ανάπτυξη των φυτών ανάλογα με το υποκείμενο και τις συνθήκες ανάπτυξης. Από τα στελέχη που εξετάστηκαν αξίζει να σημειωθεί ότι το στέλεχος *Enterobacter mori* C3.1 αυξάνει σημαντικά τη νωπή βιομάζα και την φυλλική επιφάνεια των φυτών αλλά μόνο κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης, ενώ αντίθετα η μίξη των στελεχών *Enterobacter sp.* C1.2 και *Enterobacter sp.* C1.5 αυξάνει την υπέργεια βιομάζα των φυτών σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης.

Γ) Η χρήση του υποκειμένου M82 στην υδροπονική καλλιέργεια τομάτας μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της παραγωγής στα φυτά που αναπτύσσονται σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνησης, όμως με βάση όμως τις υπόλοιπες μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν, φαίνεται πως το M82 έχει σημαντικότερη θετική επίδραση κάτω από ιδανικές συνθήκες άρδευσης και λίπανσης.

Δ) Η εφαρμογή μεταβολομικής ανάλυσης στα φύλλα της τομάτας ανέδειξε τις διαφορές των συγκεντρώσεων ορισμένων μεταβολιτών που σχετίζονται με τους παράγοντες καταπόνηση, PGPR και εμβολιασμός. Η συνδυασμένη καταπόνηση επηρέασε μεταβολίτες όπως η τρεχαλόζη, η γλυκίνη, το γλυκερικό οξύ και το κιτρικό οξύ που σχετίζονται με την έλλειψη νερού ή θρεπτικών στοιχείων. Η εφαρμογή PGPR οδήγησε επίσης σε μεταβολή της συγκέντρωσης της τρεχαλόζης, του μηλικού οξέος και της μονοπαλμιτίνης, μεταβολίτες που έχουν σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση μεταξύ φυτών και ριζοβίων, ενώ τέλος το υποκείμενο M82 επηρέασε λιγότερο σημαντικά τον μεταβολισμό των φύλλων. Τα αποτελέσματα της μεταβολομικής ανάλυσης ενδέχεται να βοηθήσουν στο μέλλον την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που επιδρούν στα φυτά της τομάτας όσον αφορά τους παραπάνω παράγοντες με αποτέλεσμα να βοηθήσουν τις επόμενες έρευνες σχετικά με την αύξηση

της ανοχής της τομάτας στη περιορισμένη παροχή νερού και θρεπτικών στοιχείων μέσω του εμβολιασμού ή της χρήσης PGPR.

Ε) Η χρήση του γαιοσκώληκα *Eisenia fetida* στο έδαφος, σε συνδυασμό με εμβολιασμό σε σθεναρά υποκείμενα, όπως το BIL-6335, έχει την δυνατότητα να αυξήσει ταυτόχρονα την διαθεσιμότητα και την απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος και κατά συνέπεια να οδηγήσει στην αύξηση της παραγωγής των φυτών.

ΣΤ) Η εφαρμογή εκχυλισμάτων φυκών από το είδος *Ascophyllum nodosum* δεν φαίνεται πως αυξάνει την ανοχή των φυτών τομάτας σε συνθήκες συνδυασμένης καταπόνηση νερού και θρεπτικών σε υδροπονικό σύστημα καλλιέργειας. Για τους συγκεκριμένους βιοδιεγέρτες, ενώ υπάρχουν αρκετές αναφορές ότι επιδρούν θετικά όταν εφαρμόζονται σε καλλιέργεια εδάφους, η πιθανότερη εξήγηση είναι ότι οι μηχανισμοί δράσης τους δεν αξιοποιούνται κατά την εκτός εδάφους καλλιέργεια.

Ζ) Η εφαρμογή της φυτοορμόνης στριγγολακτόνης στην αρχή της καλλιέργειας τομάτας επηρέασε σημαντικά την απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων από το θρεπτικό διάλυμα και οδήγησε στην αύξηση της φυλλικής επιφάνειας και της πρώιμης παραγωγής των φυτών που αναπτύσσονταν υπό συνδυασμένη καταπόνηση νερού και θρεπτικών στοιχείων. Η τελική παραγωγή βέβαια δεν ήταν αυξημένη συγκριτικά με τον μάρτυρα, συνεπώς το συγκεκριμένο σκεύασμα θα είχε ενδιαφέρον να μελετηθεί περεταίρω για την αύξηση της ανοχής των φυτών σε συνδυασμένη καταπόνηση σε μελέτες όπου θα περιλαμβάνουν και επαναληπτικές εφαρμογές του βιοδιεγέρτη στα διάφορα στάδια της καλλιέργειας.

7. Βιβλιογραφία

7.1. Ξενόγλωσση

- Adams, P. (2002). Nutritional control in hydroponics. Hydroponic production of vegetables and ornamental.
- Aguiar, N. O., Olivares, F. L., Novotny, E. H., Canellas, L. P. (2018). Changes in metabolic profiling of sugarcane leaves induced by endophytic diazotrophic bacteria and humic acids. *PeerJ* 6:e5445. doi: 10.7717/peerj.5445
- Akula, R., Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11), 1720-1731.
- Alan, Ö., Özdemir, N., Günen, Y. Effect of grafting on watermelon plant growth, yield and quality, *J Agron* 6 (2007) :362–365.
- Al-Harbi, A., Hejazi, A., Al-Omran, A. (2017). Responses of grafted tomato (*Solanum lycopersicon* L.) to abiotic stresses in Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci*, 24(6), 1274-1280.
- Ali, N., Farrell, A., Ramsubhag, A., Jayaraman, J. (2016). The effect of *Ascophyllum nodosum* extract on the growth, yield and fruit quality of tomato grown under tropical conditions. *J Aapp Phycol*, 28(2), 1353-1362.
- Almaghrabi, O.A., Massoud, S.I., Abdelmoneim, T.S. (2013). Influence of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on tomato plant growth and nematode reproduction under greenhouse conditions. *Saudi J. Biol. Sci.* 20, 57-61.
- Amareesan, N., Kumar, M. S., Annapurna, K., Kumar, K., Sankaranarayanan, A. (eds) (2020). *Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi*. Florida, FL: Academic Press.
- Andersen, P. C., Rhoads, F. M., Olson, S. M. Brodbeck, B. V. (1999). Relationships of nitrogenous compounds in petiole sap of tomato to nitrogen fertilization and the value of these compounds as a predictor of yield. *HortSci* 34, 254–258.
- Anjum F, Yaseen M, Rasul E, Wahid A, Anjum S. (2003). Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). II. Effect on chemical composition and chlorophyll contents. *Pak J Agric Sci*, 40:45-9.
- Atiyeh, R. M., Arancon, N., Edwards, C. A., Metzger, J. D. (2000a). Influence of earthworm-processed pig manure on the growth and yield of greenhouse tomatoes. *Bior. Tech*, 75(3), 175-180.
- Atiyeh, R. M., Subler, S., Edwards, C. A., Bachman, G., Metzger, J. D., Shuster, W. (2000b). Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil. *Pedobiol*, 44(5), 579-590.
- Atiyeh, R. M., Edwards, C. A., Subler, S., Metzger, J. D. (2001). Pig manure vermicompost as a component of a horticultural bedding plant medium: effects on physicochemical properties and plant growth. *Biores Tech*, 78(1), 11-20.
- Baker, G. H., Chan, K. Y., Munro, K. (2003). Influences of native (Megascolecidae) and exotic (Lumbricidae) earthworms on ryegrass production in acidic pasture soils from south-eastern Australia: The 7th international symposium on earthworm ecology· Cardiff· Wales· 2002. *Pedobiol*, 47(5-6), 830-834.
- Baker, G. (2007). Differences in nitrogen release from surface and incorporated plant residues by two endogeic species of earthworms (Lumbricidae) in a red–brown earth soil in southern Australia. *Eur J Soil Biol*, 43, S165-S170.
- Ball, B. C., Scott, A., Parker, J. P. (1999). Field N₂O, CO₂ and CH₄ fluxes in relation to tillage, compaction and soil quality in Scotland. *Soil Tillage Res*, 53(1), 29-39.
- Ball, B.C., Watson, C.A., Crichton, I. (2007). Nitrous oxide emissions, cereal growth, N recovery and soil nitrogen status after ploughing organically managed grass/clover swards. *Soil Use Man*, 23, 145-155
- Ball, B. C., Griffiths, B. S., Topp, C. F., Wheatley, R., Walker, R. L., Rees, R. M., Watson, C. A., Gordon, H., Hallett, P. D., Mckenzie, B. M., Nevison, I. M. (2014). Seasonal nitrous

- oxide emissions from field soils under reduced tillage, compost application or organic farming. *Agric Ecosyst Environ*, 189, 171-180.
- Bhattacharyya, P. N., Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microb. Biotechn.* 28, 1327–1350. doi: 10.1007/s11274-011-0979-9
- Biddinger, E. J., Liu, C., Joly, R. J., Raghothama, K. G. (1998). Physiological and molecular responses of aeroponically grown tomato plants to phosphorus deficiency. *J Amer Soc Hort Sci*, 123(2), 330-333.
- Borgognone, D., Colla, G., Roupshael, Y., Cardarelli, M., Rea, E., & Schwarz, D. (2013). Effect of nitrogen form and nutrient solution pH on growth and mineral composition of self-grafted and grafted tomatoes. *Scientia horticulturnae*, 149, 61-69.
- Botta, A. (2013). Enhancing plant tolerance to temperature stress with amino acids: An approach to their mode of action. *Acta Hort*, 1009, 29–35.
- Bota, J., Conesa, M. À., Ochogavia, J. M., Medrano, H., Francis, D. M., Cifre, J. (2014). Characterization of a landrace collection for Tomàtiga de Ramellet (*Solanum lycopersicum* L.) from the Balearic Islands. *Genet Resour Crop Evol* 61, 1131–1146. doi: 10.1007/s10722-014-0096-3
- Brown, P.; Saa, S. (2015). Biostimulants in agriculture. *Front. Plant Sci.*, 6, 671.
- Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*, 383(1), 3-41.
- Cardinale, F.; Korwin Krukowski, P.; Schubert, A.; Visentin, I. (2018). Strigolactones: Mediators of osmotic stress responses with a potential for agrochemical manipulation of crop resilience. *J Exp Bot* 69, 2291–2303.
- Caruso, G., De Pascale, S., Cozzolino, E., Cuciniello, A., Cenvinzo, V., Bonini, P., Colla, G., Roupshael, Y. (2019). Yield and nutritional quality of Vesuvian Piennolo tomato PDO as affected by farming system and biostimulant application. *Agron*, 9(9), 505.
- Casals, J., Pascual, L., Cañizares, J., Cebolla-Cornejo, J., Casañas, F., Nuez, F. (2012). Genetic basis of long shelf life and variability into Penjar tomato. *Genet Resour Crop Evol* 59, 219–229. doi: 10.1007/s10722-011-9677-6
- Cebolla-Cornejo, Jaime, Salvador Roselló, Fernando Nuez. (2013). Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. *Sci Hort* 162:150-164.
- Cerdán, M.; Sánchez-Sánchez, A.; Jordá, D.J.; Juárez, M.; Andreu, J.S. (2013) Effect of commercial amino acids on iron nutrition of tomato plants grown under lime-induced iron deficiency. *J Plant Nutr Soil Sci*, 176, 1–8.
- Chalker-Scott, L., Fuchigami, L. H. (2018). The role of phenolic compounds in plant stress responses. In *Low temperature stress physiology in crops* (pp. 67-80). CRC press.
- Chan, Y. C., Sinha, R. K., Wang, W. (2011). Emission of greenhouse gases from home aerobic composting, anaerobic digestion and vermicomposting of household wastes in Brisbane (Australia). *Waste Manag Res*, 29(5), 540-548.
- Chapuis-Lardy, L., Brauman, A., Bernard, L., Pablo, A. L., Toucet, J., Mano, M. J., Weber, L., Brunet, D., Razafimbelo, T., Chotte, J.L., Blanchart, E. (2010). Effect of the endogeic earthworm *Pontoscolex corethrurus* on the microbial structure and activity related to CO₂ and N₂O fluxes from a tropical soil (Madagascar). *Appl Soil Ecol*, 45(3), 201-208.
- Chatzigianni, M., Aliferis, K. A., Ntasi, G., Savvas, D. (2020). Effect of N supply level and N source ratio on *Cichorium spinosum* L. metabolism. *Agron* 10:952. doi: 10.3390/agronomy10070952
- Chen, J., Kang, S., Du, T., Qiu, R., Guo, P., Chen, R. (2013). Quantitative response of greenhouse tomato yield and quality to water deficit at different growth stages. *Agri Water Manag*, 129, 152-162.
- Chen, J. H. (2006). The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. In *International workshop on sustained management of the soil-rhizosphere system for efficient crop production and fertilizer use* (Vol. 16, No. 20, pp. 1-11). Land Development Department Bangkok Thailand.

- Chen, H., Hou, H., Wang, X., Zhu, Y., Saddique, Q., Wang, Y., & Cai, H. J. (2018). The effects of aeration and irrigation regimes on soil CO₂ and N₂O emissions in a greenhouse tomato production system. *J Integ Agric*, 17(2), 449-460.
- Chesterfield, R.J.; Vickers, C.E.; Beveridge, C.A. (2020). Translation of strigolactones from plant hormone to agriculture: Achievements, future perspectives, and challenges. *Trends Plant Sci*, 25, 1087–1106.
- Choudhary, D. K., Sharma, K. P., Gaur, R. K. (2011). Biotechnological perspectives of microbes in agro-ecosystems. *Biotechnol. Lett.* 33, 1905–1910. doi: 10.1007/s10529-011-0662-0
- Cisse, L., Mrabet, T. (2004). World phosphate production: overview and prospects. *Phosphorus Res Bull*, 15, 21-25.
- Clayton, H., Arah, J.R.M. Smith, K.A. (1994). Measurements of nitrous oxide emissions from fertiliser grassland using closed chambers. *J Geophys Res*, 99, 16599–16607.
- Colla, G., Mitchell, J. P., Poudel, D. D., Temple, S. R. (2002). Changes of tomato yield and fruit elemental composition in conventional, low input, and organic systems. *J Sustain Agric*, 20(2), 53-67.
- Colla, G., Roupheal, Y., Leonardi, C., Bie, Z. (2010). Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions. *Sci Hort*, 127(2), 147-155.
- Colla, G.; Cardarelli, M.; Bonini, P.; Roupheal, Y. Foliar applications of protein hydrolysate, plant and seaweed extracts increase yield but differentially modulate fruit quality of greenhouse tomato. *HortSci*. 2017, 52, 1214-1220.
- Conesa, M. À., Fullana-Pericàs, M., Granell, A., Galmés, J. (2020). Mediterranean long shelf-life landraces: an untapped genetic resource for tomato improvement. *Front Plant Sci*, 10, 1651.
- Cordell, D., Drangert, J. O., White, S. (2009). The story of phosphorus: global food security and food for thought. *Glob Environ change*, 19(2), 292-305.
- Cordell, D., White, S. (2011). Peak phosphorus: clarifying the key issues of a vigorous debate about long-term phosphorus security. *Sust*, 3(10), 2027-2049.
- Cortés-Olmos, C., Valcárcel, J. V., Roselló, J., Díez, M. J., and Cebolla-Cornejo, J. (2015). Traditional eastern spanish varieties of tomato. *Sci. Agric*. 5, 420–431. doi: 10.1590/0103-9016-2014-0322
- Cortina, C., Culiáñez-Macià, F. A. (2005). Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis. *Plant Sci*, 169(1), 75-82.
- Costa, J. M., Ortuño, M. F., Chaves, M. M. (2007). Deficit irrigation as a strategy to save water: physiology and potential application to horticulture. *J Integr Plant Biol*, 49(10), 1421-1434.
- Cuartero, J., Fernández-Muñoz, R. (1999): Tomato and salinity. *Sci. Hort*. 78, 83–125.
- Cui, W., Ma, A., Huang, Z., Liu, Z., Yang, K., Zhang, W. (2020). myo-inositol facilitates salinity tolerance by modulating multiple physiological functions in the turbot *Scophthalmus maximus*. *Aquacult*, 527, 735451.
- De Brito, A. M., Gagne, S., Antoun, H. (1995). Effect of compost on rhizosphere microflora of the tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizobacteria. *Appl. Environ. Microb.* 61, 194-199.
- De Groot, C. C., Marcelis, L. F., van den Boogaard, R., Lambers, H. (2002). Interactive effects of nitrogen and irradiance on growth and partitioning of dry mass and nitrogen in young tomato plants. *Funct Plant Biol*, 29(11), 1319-1328.
- De Pascale, S., Roupheal, Y., Colla, G. (2018). Plant biostimulants: Innovative tool for enhancing plant nutrition in organic farming. *Eur. J. Hort. Sci.* 82, 277–285. doi: 10.17660/ejhs.2017/82.6.2
- Desmidt, E., Ghyselbrecht, K., Zhang, Y., Pinoy, L., Van der Bruggen, B., Verstraete, W., Rabaey Korneel Meesschaert, B. (2015). Global phosphorus scarcity and full-scale P-recovery techniques: a review. *Crit Rev Environ Sci Technol*, 45(4), 336-384.
- Dey, R., Pal, K. K., Bhatt, D. M., Chauhan, S. M. (2004). Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiol Res* 159, 371–394. doi: 10.1016/j. micres.2004.08.004

- Doan, T. T., Ngo, P. T., Rumpel, C., Van Nguyen, B., Jouquet, P. (2013). Interactions between compost, vermicompost and earthworms influence plant growth and yield: A one-year greenhouse experiment. *Sci Hort*, 160, 148-154.
- Dorji, K., Behboudian, M. H., Zegbe-Dominguez, J. A. (2005). Water relations, growth, yield, and fruit quality of hot pepper under deficit irrigation and partial rootzone drying. *Sci Hort*, 104(2), 137-149.
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci Hort*, 196, 3-14.
- Du, Y., Cao, H., Liu, S., Gu, X., Cao, Y. (2017). Response of yield, quality, water and nitrogen use efficiency of tomato to different levels of water and nitrogen under drip irrigation in Northwestern China. *J Integr Agr*, 16, 1153–1161. [https://doi.org/ 10.1016/S2095-3119\(16\)61371-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61371-0).
- Edwards, C. A., Bohlen, P. J. (1996) *Biology of Earthworms*. 3rd Edn. Chapman & Hall, New York.
- Edwards, C. A., Burrows, I. (1988). Potential of earthworm composts as plant growth media. *Earthworms in waste and environmental management*/edited by Clive A. Edwards and Edward F. Neuhauser.
- Edwards, K. P., Madramootoo, C. A., Whalen, J. K., Adamchuk, V. I., Mat Su, A. S., & Benslim, H. (2018). Nitrous oxide and carbon dioxide emissions from surface and subsurface drip irrigated tomato fields. *Canadian J Soil Sci*, 98(3), 389-398.
- Elbein, A. D., Pan, Y. T., Pastuszak, I., Carroll, D. (2003). Review. New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiol* 13, 17R–27R.
- Elia, A., Conversa, G. (2012). Agronomic and physiological responses of a tomato crop to nitrogen input. *European J Agron*, 40, 64-74.
- Elmer, W. H. (2009). Influence of biochar and earthworms on plant growth, Fusarium crown and root rot, and mycorrhizal colonization of asparagus. In XII International Asparagus Symposium 950 (263-270).
- Ertani, A., Schiavon, M., Muscolo, A., Nardi, S. (2013) Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed *Zea mays* L. plants. *Plant Soil* 2013, 364, 145–158.
- Fairchild, D. (1927). The tomato terraces of bañalbufar: an agricultural monopoly built on a single variety of tomato. *J. Hered.* 18, 245–251. doi: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a102861
- Feng, H., Zhang, N., Fu, R., Liu, Y., Krell, T., Du, W., Shao, J., Shen, Q., Zhang, R. (2019). Recognition of dominant attractants by key chemoreceptors mediates recruitment of plant growth-promoting rhizobacteria. *Environ. Microb.* 21, 402–415. doi: 10.1111/1462-2920.14472
- Fernandez, O., Béthencourt, L., Quero, A., Sangwan, R. S., Clément, C. (2010). Trehalose and plant stress responses: friend or foe?. *Trends Plant Sci*, 15(7), 409-417.
- Fernández-García, N., Martínez, V., Carvajal, M. (2004). Effect of salinity on growth, mineral composition, and water relations of grafted tomato plants. *J Plant Nutr Soil Sci*, 167(5), 616-622.
- Fiedler, S., Höll, B.S., Jungkunst, H.F. (2005). Methane budget of a Black Forest spruceecosystem considering soil pattern. *Biogeochem*, 76, 1–20.
- Figàs, M. R., Prohens, J., Raigón, M. D., Fita, A., García-Martínez, M. D., Casanova, C., Borrás, D., Plazas, M. Andujar, I., Soler, S. (2015). Characterization of composition traits related to organoleptic and functional quality for the differentiation, selection and enhancement of local varieties of tomato from different cultivar groups. *Food Chem*, 187, 517-524.
- Filser, J., Dette, A., Fromm, H., Lang, A., Mebes, K. H., Munch, J. C., Beese, F. (1999). Reactions of soil organisms to site-specific management: The first long-term study at the landscape level. *Ecosystem*, 28, 139-47.
- Francesca, S., Cirillo, V., Raimondi, G., Maggio, A., Barone, A., Rigano, M. M. (2021). A Novel protein hydrolysate-based biostimulant improves tomato performances under drought stress. *Plants*, 10, 783.

- Francis, G.S., Tabley, F.J., Butler, R.C., Fraser, P.M. (2001). The burrowing characteristics of three common earthworm species. *Soil Res*, 39(6), 1453–1465.
- Fullana-Pericàs, M., Conesa, M. À., Ribas-Carbó, M., Galmés, J. (2020). The use of a tomato landrace as rootstock improves the response of commercial tomato under water deficit conditions. *Agron*, 10(5), 748.
- Gagné, S., Dehbi, L., Le Quéré, D., Cayer, F., Morin, J. L., Lemay, R., Fournier, N. (1993). Increase of greenhouse tomato fruit yields by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculated into the peat-based growing media. *Soil Biol Biochem* 25, 269-272.
- Gatsios, A., Ntatsi, G., Celi, L., Said-Pullicino, D., Tampakaki, A., Giannakou, I., Savvas, D. (2019). Nitrogen nutrition optimization in organic greenhouse tomato through the use of legume plants as green manure or intercrops. *Agron*, 9(11), 766.
- Gatsios, A., Ntatsi, G., Celi, L., Said-Pullicino, D., Tampakaki, A., Savvas, D. (2021a). Impact of legumes as a pre-crop on nitrogen nutrition and yield in organic greenhouse tomato. *Plants*, 10(3), 468.
- Gatsios, A., Ntatsi, G., Yfantopoulos, D., Baltzoi, P., Karapanos, I. C., Tsirogiannis, I., Patakioutas, G., Savvas, D. (2021b). Effects of different organic soil amendments on nitrogen nutrition and yield of organic greenhouse tomato *Crop. Nitrogen*, 2(3), 347-358.
- Gatsios, A., Ntatsi, G., Celi, L., Said-Pullicino, D., Tampakaki, A., Savvas, D. (2021c). Legume-based mobile green manure can increase soil nitrogen availability and yield of organic greenhouse tomatoes. *Plants*, 10(11), 2419.
- Giorgi, F. (2006). Climate change hot-spots. *Geophys Res Letters*, 33(8).
- Giorgi, F., Lionello, P. (2008). Climate change projections for the Mediterranean region. *Glob Planetary Change*, 63(2-3), 90-104.
- Giuliani, M. M., Gatta, G., Nardella, E., Tarantino, E. (2016). Water saving strategies assessment on processing tomato cultivated in Mediterranean region. *Italian Journal of Agron*, 11(1), 69-76.
- Giuliani, M. M., Gatta, G., Cappelli, G., Gagliardi, A., Donatelli, M., Fanchini, D., Nart, D. D., Mongiano, G., Bregaglio, S. (2019). Identifying the most promising agronomic adaptation strategies for the tomato growing systems in Southern Italy via simulation modeling. *Europ J Agron*, 111, 125937.
- Glick, B. R., Patten, C. L., Holguin, G., Penrose, D. M. (1999). *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria*. London: Imperial College Press.
- Gould, W. A. (1983). *Tomato production, processing and quality evaluation*.
- Givan, C. V. (1979). Metabolic detoxification of ammonia in tissues of higher plants. *Phytochem*, 18(3), 375-382.
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M. Toulmin, C. (2010). Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Sci*, 327(5967), 812-818.
- Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T., Yermiyahu, U. (2015). The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. *Adv Agron*, 130, 141–174
- Hanson, B. R., Herrero, E. V., Snyder, R. L., Cahn, M. D. (2000, June). Water management strategies for improving fruit quality of drip-irrigated processing tomatoes. In VII International Symposium on the Processing Tomato 542 (111-116).
- Hao, J. H., Qi, Z. Y., Li, J. R., Liu, C. J., Wang, L., Jin, W. T., Li, X., Qi, H. Y. (2018). Effects of grafting on free fatty acid contents and related synthetic enzyme activities in peel and flesh tissues of oriental sweet melon during the different development period. *Earth Environ Sci* 185:012009. doi: 10.1088/1755-1315/185/1/012009
- Hariprasad, P., Niranjana, S.R. (2009). Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. *Plant Soil*, 316, 13-24.
- Helyes, L., Lugasi, A., Pogonyi, A., Pek, Z. (2009). Effect of variety and grafting on lycopene content of tomato (*Lycopersicon lycopersicum* L. Karsten) fruit. *Acta Aliment*, 38, 27-34.

- Hernández-Herrera, R. M., Santacruz-Ruvalcaba, F., Ruiz-López, M. A., Norrie, J., Hernández-Carmona, G. (2014). Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *J Appl Phycol*, 26(1), 619-628.
- Herrero, E. V., Mitchell, J. P., Lanini, W. T., Temple, S. R., Miyao, E. M., Morse, R. D., Campiglia, E. (2001). Use of cover crop mulches in a no-till furrow-irrigated processing tomato production system. *HortTechnol*, 11, 43-48.
- Heuvelink, E., Bakker, M. J., Elings, A., Kaarsemaker, R. C., Marcelis, L. F. M. (2004). Effect of leaf area on tomato yield. In *International Conference on Sustainable Greenhouse Systems-Greensys2004*, 691, 43-50.
- Hobson, A. M., Frederickson, J., Dise, N. B. (2005). CH₄ and N₂O from mechanically turned windrow and vermicomposting systems following in-vessel pre-treatment. *Waste Manage*, 25(4), 345-352.
- Hooshmand, M., Albaji, M., zadeh Ansari, N. A. (2019). The effect of deficit irrigation on yield and yield components of greenhouse tomato (*Solanum lycopersicum*) in hydroponic culture in Ahvaz region, Iran. *Sci Hort*, 254, 84-90.
- Ibrahim, A., Wahb-Allah, M., Abdel-Razzak, H., Alsadon, A. (2014). Growth, yield, quality and water use efficiency of grafted tomato plants grown in greenhouse under different irrigation levels. *Life Sci J*, 11(2), 118-126.
- Illouz-Eliaz, N., Nissan, I., Nir, I., Ramon, U., Shohat, H., Weiss, D. (2020). Mutations in the tomato gibberellin receptors suppress xylem proliferation and reduce water loss under water-deficit conditions. *J Exp Bot*, 71(12), 3603-3612.
- Irmeler, U. (2010). Changes in earthworm populations during conversion from conventional to organic farming. *Agric Ecos Environ*, 135(3), 194-198.
- IPCC. 1996. IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gl/invs1.html>
- IPCC, 2007. In: Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M., Miller, H.L. (Eds.), *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- IPCC, A. (2013). *Climate change 2013: the physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*, 1535.
- Jha, C. K., Aeron, A., Patel, B. V., Maheshwari, D. K., Saraf, M. (2011). "Enterobacter: role in plant growth promotion," in *Bacteria in agrobiolgy: plant growth responses*, ed. D. K. Maheshwari (Heidelberg: Springer), 159-182. doi: 10.1007/978-3-642-20332-9_8
- Jones Jr, J. B. (1998). Phosphorus toxicity in tomato plants: when and how does it occur?. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 29(11-14), 1779-1784.
- Kalozoumis, P., Savvas, D., Aliferis, K., Ntatsi, G., Marakis, G., Simou, E., Tampakaki, A., Karapanos, I. (2021). Impact of plant growth-promoting rhizobacteria inoculation and grafting on tolerance of tomato to combined water and nutrient stress assessed via metabolomics analysis. *Front Pant Sci*, 814.
- Kaniszewski, S., Elkner, K. (1990). Effect of nitrogen fertilization and irrigation on yield and fruit quality of 2 staked tomato cultivars. *Biuletyn Warzywniczy*, (36), 85-94.
- Kirda, C., Çetin, M., Dasgan, Y., Topçu, S., Kaman, H., Ekici, B., Deric, M. R., Ozguven, A. I. (2004). Yield response of greenhouse grown tomato to partial root drying and conventional deficit irrigation. *Agric Water Manage*, 69(3), 191-201.
- Karamanou, D. A., Aliferis, K. A. (2020). The yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) YCF1 vacuole transporter: Evidence on its implication into the yeast resistance to flusilazole as revealed by GC/EI/MS metabolomics. *Pestic. Biochem. Physiol.* 165:104475. doi: 10.1016/j.pestbp.2019.09.013
- Kaya, C., Higgs, D. (2002). Improvements in physiological and nutritional developments of tomato cultivars grown at high zinc by foliar application of phosphorus and iron. *J Plant Nutr*, 25(9), 1881-1894.

- Keeney, D. R., Nelson, D. W. (1983). Nitrogen—inorganic forms. *Methods of soil analysis: Part 2 chemical and microbiological properties*, 9, 643-698.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A. T., Craigie, J. S., Norrie, J., Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J Plant Growth Regul*, 28(4), 386-399.
- Koleška, I., Hasanagić, D., Todorović, V., Murtić, S., Klokić, I., Parađiković, N., Kukavica, B. (2017). Biostimulant prevents yield loss and reduces oxidative damage in tomato plants grown on reduced NPK nutrition. *K Plant Inter*, 12(1), 209-218.
- Koltai, H. (2013). Strigolactones activate different hormonal pathways for regulation of root development in response to phosphate growth conditions. *Ann Bot*, 112, 409–415.
- Kostopoulou, S., Ntatsi, G., Arapis, G., Aliferis, K. A. (2020). Assessment of the effects of metribuzin, glyphosate, and their mixtures on the metabolism of the model plant *Lemna minor* L. applying metabolomics. *Chemosphere* 239:124582. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124582
- Kreij, C. D., Voogt, W., Van den Bos, A. L., Baas, R. (1999). *Bemestings Adviesbasis Substraten*. PBG brochure. ISSN, 1387, 2427.
- Krumbein, A, Schwarz, D., Kläring, H. P. (2008). Aroma volatiles in hydroponically grown tomato (*Lycopersicon esculentum* L. Mill.) as affected by the nutrient solution concentration, in Hofmann, T., Meyerhof, W., Schieberle, P.: *Recent Highlights in Flavor Chemistry & Biology*. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching, Germany, 288–291.
- Krumbein, A., Schwarz, D. (2013). Grafting: A possibility to enhance health-promoting and flavour compounds in tomato fruits of shaded plants?. *Sci Hort*, 149, 97-107.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiol Biochem*. 45, 244–249
- Kumar, P., Rouphael, Y., Cardarelli, M., Colla, G. (2015). Effect of nickel and grafting combination on yield, fruit quality, antioxidative enzyme activities, lipid peroxidation, and mineral composition of tomato. *J Plant Nutr Soil Sci*, 178(6), 848-860.
- Kumar, P., Rouphael, Y., Cardarelli, M., Colla, G. (2017). Vegetable grafting as a tool to improve drought resistance and water use efficiency. *Front Plant Sci*, 8, 1130.
- Kuşçu, H., Turhan, A., Demir, A. O. (2014). The response of processing tomato to deficit irrigation at various phenological stages in a sub-humid environment. *Agric Water Manage*, 133, 92-103
- Larson, R. A. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochem*, 27(4), 969-978.
- Lauren, J. G., Duxbury, J. M. (1993). Methane emissions from flooded rice amended with a green manure. *Agric Ecosys Effects Trace Gases Glob Climate Change*, 55, 183-192.
- Lee, K. E. (1985) *Earthworms. Their ecology and relationships with soils and land use*. Academic Press, Sydney
- Lee, J. M., Kubota, C., Tsao, S. J., Bie, Z., Echevarria, P. H., Morra, L., Oda, M. (2010). Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. *Sci Hort*, 127(2), 93-105.
- Li, R., Wu, X., Zhang, Y., Wang, L., Li, X., Chen, L., Zhai, F., 2015. Nitrate nitrogen contents and quality of greenhouse soil applied with different N rates under drip irrigation. *J. Plant Nutri. Fertil.*, 21, 1642–1651. <https://doi.org/10.11674/zwyf.2015.0632> (in Chinese with English abstract).
- Lingle, J. C., Davis, R. M. (1959). The influence of soil temperature and phosphorus fertilization on the growth and mineral absorption of tomato seedlings. In *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci*, 73, 312-322.
- Lippman, Z. B., Semel, Y., Zamir, D. (2007). An integrated view of quantitative trait variation using tomato interspecific introgression lines. *Curr Opin Gen Dev*, 17(6), 545-552.
- Liu, K., Zhang, T. Q., Tan, C. S., Astatkie, T. (2011). Responses of fruit yield and quality of processing tomato to drip-irrigation and fertilizers phosphorus and potassium. *Agron*, 103, 1339-1345.

- Loh, T.C., Lee, Y.C., Liang, J.B., Tan, D. (2005). Vermicomposting of cattle and goat manures by *Eisenia fetida* and their growth and reproduction preference. *Biores Tech*, 96, 111–114.
- López-Marín, J., Gálvez, A., del Amor, F. M., Albacete, A., Fernández, J. A., Egea-Gilabert, C., Pérez-Alfocea, F. (2017). Selecting vegetative/generative/dwarfing rootstocks for improving fruit yield and quality in water stressed sweet peppers. *Sci Hort*, 214, 9-17.
- López-Ráez, J.A., Bouwmeester, H. (2008). Fine-tuning regulation of strigolactone biosynthesis under phosphate starvation. *Plant Signal Behav*, 3, 963–965.
- López-Ráez, J. A., Kohlen, W., Charnikhova, T., Mulder, P., Undas, A. K., Sergeant, M. J., Verstappen, F., Bugg, T. D. H., Thompson, A. J., Ruyter-Spira, C.; Bouwmeester, H. (2010). Does abscisic acid affect strigolactone biosynthesis? *New Phytol*, 187, 343–354.
- Lubbers, I. M., Van Groenigen, K. J., Fonte, S. J., Six, J., Brussaard, L., Van Groenigen, J. W. (2013). Greenhouse-gas emissions from soils increased by earthworms. *Nat Clim Change*, 3(3), 187-194.
- Lucini, L., Roupheal, Y., Cardarelli, M., Canguier, R., Kumar, P., Colla, G. (2015). The effect of a plant-derived biostimulant on metabolic profiling and crop performance of lettuce grown under saline conditions. *Sci Hort*, 182, 124–133.
- Lv, S., Zhang, Y., Li, C., Liu, Z., Yang, N., Pan, L., Wu, J., Wang, J., Yang, J., Lv, Y., Zhang, Y., Jiang, W., She, X., Wand, G. (2018). Strigolactone-triggered stomatal closure requires hydrogen peroxide synthesis and nitric oxide production in an abscisic acid-independent manner. *New Phytol*, 217, 290–304.
- Lynch, J. P., Beebe, S. E. (1995). Adaptation of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to low phosphorus availability. *Hort Sci*, 30(6), 1165-1171.
- Maamar, B., Maatoug, M., Iriti, M., Dellal, A., Ait, M. (2015). Physiological effects of ozone exposure on De Colgar and Rechaiga II tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars. *Environ Sci Pollut Res* 22, 12124–12132. doi: 10.1007/s11356-015-4490-y
- Marzec, M., Muszynska, A., Gruszka, D. (2013). The role of strigolactones in nutrient-stress responses in plants. *Int J Mol Sci*, 14, 9286–9304.
- Matusova, R.; Rani, K.; Verstappen, F.W.; Franssen, M.C.; Beale, M.H.; Bouwmeester, H.J. (2005). The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanche spp.* are derived from the carotenoid pathway. *Plant Physiol*, 139, 920–934.
- Mayak, S., Tirosh, T., Glick, B. R. (2004). Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Sci*, 166, 525–530. doi: 0.1016/j.plantsci.2003.10.025
- May, D. M. Gonzales, J. (1994). Irrigation and nitrogen management as they affect fruit quality and yield of processing tomatoes. *Acta Hort*, 376, 227–234.
- McAvoy, T., Freeman, J. H., Rideout, S. L., Olson, S. M., Paret, M. L. (2012). Evaluation of grafting using hybrid rootstocks for management of bacterial wilt in field tomato production. *Hort Sci*, 47(5), 621-625.
- Mercati, F., Longo, C., Poma, D., Araniti, F., Lupini, A., Mammano, M. M., Fiore, M. K., Abenavoli, M. R., Sunseri, F. (2015). Genetic variation of an Italian long shelf-life tomato (*Solanum lycopersicon* L.) collection by using SSR and morphological fruit traits. *Genet Resour Crop Evol*, 62, 721–732. doi: 10.1007/s10722-014-0191-5
- Meric, M. K., Tuzel, I. H., Tuzel, Y., Oztekin, G. B. (2011). Effects of nutrition systems and irrigation programs on tomato in soilless culture. *Agric Water Manage*, 99(1), 19-25.
- Mostofa, M.G., Li, W., Nguyen, K.H., Fujita, M., Tran, L.S.P. (2018). Strigolactones in plant adaptation to abiotic stresses: An emerging avenue of plant research. *Plant Cell Environ*, 41, 2227–2243.
- Müller, J., Xie, Z. P., Staehelin, C., Mellor, R. B., Boller, T., Wiemken, A. (1994). Trehalose and trehalase in root nodules from various legumes. *Physiol Plant*, 90, 86–92. doi: 10.1034/j.1399-3054.1994.900113.x
- Murphy, J. A. M. E. S., Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31-36.

- Mutschler, M. A., Wolfe, D. W., Cobb, E. D., Yourstone, K. S. (1992). Tomato fruit quality and shelf life in hybrids heterozygous for the alc ripening mutant. *HortSci*, 27(4), 352-355.
- Nahar, K., Gretzmacher, R. (2002). Effect of water stress on nutrient uptake, yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under subtropical conditions. *Bodenkultur*, 53(1), 45-51.
- Needham, P. (1973). Nutritional disorders. The UK Tomato Manual. Grower Books, London.
- Nelson, W. L. (1978). Phosphorus and moisture. Phosphorus for Agriculture. Phosphate and Potash Institute, Atlanta, GA, 160.
- Neocleous, D., Nikolaou, G., Ntatsi, G., Savvas, D. (2021). Nitrate supply limitations in tomato crops grown in a chloride-amended recirculating nutrient solution. *Agric Water Manage*, 258, 107163.
- Ngo, P. T., Rumpel, C., Dignac, M. F., Billou, D., Duc, T. T., Jouquet, P. (2011). Transformation of buffalo manure by composting or vermicomposting to rehabilitate degraded tropical soils. *Ecol Engin*, 37(2), 269-276.
- Ngouajio, M., Wang, G., Goldy, R. (2007). Withholding of drip irrigation between transplanting and flowering increases the yield of field-grown tomato under plastic mulch. *Agric Water Manage*, 87(3), 285-291.
- Nigussie, A., Bruun, S., de Neergaard, A., Kuyper, T. W. (2017). Earthworms change the quantity and composition of dissolved organic carbon and reduce greenhouse gas emissions during composting. *Waste Manage*, 62, 43-51.
- Nuruddin, M. M., Madramootoo, C. A., Dodds, G. T. (2003). Effects of water stress at different growth stages on greenhouse tomato yield and quality. *HortSci*, 38(7), 1389-1393.
- Oancea, F., Velea, S., Fătu, V., Mincea, C., Ilie, L. (2013). Micro-algae based plant biostimulant and its effect on water stressed tomato plants. *Rom. J Plant Prot*, 6, 104-117.
- Obreza, T. A., Pitts, D. J., McGovern, R. J., Spreen, T. H. (1996). Deficit irrigation of micro-irrigated tomato affects yield, fruit quality, and disease severity. *J Prod Agric*, 9(2), 270-275.
- Ofner, I., Lashbrooke, J., Pleban, T., Aharoni, A., Zamir, D. (2016). *Solanum pennellii* backcross inbred lines (BIL s) link small genomic bins with tomato traits. *Plant J*, 87(2), 151-160.
- Olsen, S. R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate (No. 939). US Department of Agriculture.
- Ordookhani, K., Khavazi, K., Moezzi, A., Rejali, F. (2010). Influence of PGPR and AMF on antioxidant activity, lycopene and potassium contents in tomato. *African J Agric Res*, 5, 1108-1116.
- Orozco, F. H., Cegarra, J., Trujillo, L. M., Roig, A. (1996). Vermicomposting of coffee pulp using the earthworm *Eisenia fetida*: effects on C and N contents and the availability of nutrients. *Biol Fertility Soils*, 22(1-2), 162-166.
- Orozco-Mosqueda, M., Gustavo, S. (2020). Plant-microbial endophytes interactions: scrutinizing their beneficial mechanisms from genomic explorations. *Curr. Plant Biol*. 25:100189. doi: 10.1016/j.cpb.2020.100189
- Passam, H. C., Karapanos, I. C., Bebeli, P. J., Savvas, D. (2007). A review of recent research on tomato nutrition, breeding and post-harvest technology with reference to fruit quality. *Eur J Plant Sci Biotechnol*, 1(1), 1-21.
- Patakioutas, G., Dimou, D., Yfanti, P., Karras, G., Ntatsi, G., Savvas, D. (2015). Root inoculation with beneficial micro-organisms as a means to control *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in two Greek landraces of tomato grown on perlite. *Acta Hort*. 1107, 277–286. doi: 10.17660/actahortic.2017.1168.36
- Patanè, C., Cosentino, S. L. (2010). Effects of soil water deficit on yield and quality of processing tomato under a Mediterranean climate. *Agricultural water management*, 97(1), 131-138.
- Peripolli, M., Silva, A. C. F. D., Dornelles, S. H. B., Sanchotene D., Trivisiol, V. S. (2020). Use of seed+® and crop+® bioestimulants on the quality of tomato fruits under water stress. *Revista Caatinga*, 33, 266-273.

- Petrozza, A., Santaniello, A., Summerer, S., Di Tommaso, G., Di Tommaso, D., Paparelli, E., Piaggese, A., Perata, P., Cellini, F. (2014). Physiological responses to Megafol® treatments in tomato plants under drought stress: A phenomic and molecular approach. *Sci Hort*, 174, 185-192.
- Pinton, R., Cesco, S., Iacoletti, G., Astolfi, S., Varanini, Z. (1999). Modulation of NO₃-uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrane H⁺ ATPase. *Plant Soil*, 215(2), 155-161.
- Plaza, C., Nogales, R., Senesi, N., Benitez, E., Polo, A. (2007). Organic matter humification by vermicomposting of cattle manure alone and mixed with two-phase olive pomace. *Biores Technol*, 9, 5085–5089.
- Poulton, J. L., Koide, R. T., Stephenson, A. G. (2001). Effects of mycorrhizal infection and soil phosphorus availability on in vitro and in vivo pollen performance in *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). *Amer J Bot*, 88(10), 1786-1793.
- Pulupol, L. U., Behboudian, M. H., Fisher, K. J. (1996). Growth, yield, and postharvest attributes of glasshouse tomatoes produced under deficit irrigation. *HortSci*, 31(6), 926-929.
- Qi, Y. C., Dong, Y. S., Zhang, S. (2002). Methane fluxes of typical agricultural soil in the north china plain. *Rural Ecol Environ*, 18, 56-60.
- Raaijmakers, M. J., Paulitz, C. T., Steinberg, C., Alabouvette, C., Moëgne- Loccoz, Y. (2009). The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil*, 321, 341–361. doi: 10. 1007/s11104-008-9568-6
- Ramachandra, R. (2002). S. y GA Ravishankar. Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology advances*, 20, 101-153.
- Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., Samiyappan, R. (2001). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protect*, 20, 1–11. doi: 10.1016/s0261-2194(00)00056-9
- Reinecke, A. J., Viljoen, S. A., Saayman, R. J. (1992). The suitability of *Eudrilus eugeniae*, *Perionyx excavatus* and *Eisenia fetida* (Oligochaeta) for vermicomposting in southern Africa in terms of their temperature requirements. *Soil Biol Biochem*, 24(12), 1295-1307.
- Rigano, M. M., Arena, C., Di Matteo, A., Sellitto, S., Frusciante, L., Barone, A. (2016). Eco-physiological response to water stress of drought-tolerant and drought-sensitive tomato genotypes. *Plant Biosys*, 150, 682-691.
- Romano, D., Paratore, A. (2000, March). Effects of grafting on tomato and eggplant. In V International Symposium on Protected Cultivation in Mild Winter Climates: Curr Trends Sust Technol, 559 (149-154).
- Romero del Castillo, R., Puig-Pey, M., Biarnés, J., Vilaseca, H., Simó, J., Plans, M., Casañas, F. (2014). Using trendsetting chefs to design new culinary preparations with the “Penjar” tomato. *J Culinary Sci Technol*, 12(3), 196-214.
- Rose, M. T., Patti, A. F., Little, K. R., Brown, A. L., Jackson, W. R., Cavagnaro, T. R. (2014). A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Adv Agron*, 124, 37-89. Academic Press.
- Rouphael, Y., Cardarelli, M., Colla, G., Rea, E. (2008). Yield, mineral composition, water relations, and water use efficiency of grafted mini-watermelon plants under deficit irrigation. *HortSci*, 43(3), 730-736.
- Rouphael, Y., Colla, G., Giordano, M., El-Nakhel, C., Kyriacou, M. C., De Pascale, S. (2017a) Foliar applications of a legume-derived protein hydrolysate elicit dose-dependent increases of growth, leaf mineral composition, yield and fruit quality in two greenhouse tomato cultivars. *Sci Hort*, 226, 353-360.
- Rouphael, Y., Venema, J. H., Edelstein, M., Savvas, D., Colla, G., Ntatsi, G., Ben-Hur, M., Kumar P. K. P., Schwarz, D. (2017b). Grafting as a tool for tolerance of abiotic stress. In *Vegetable Grafting: Principles and Practices*. Wallingford, UK, (171–215)

- Rouphael, Y., Colla, G. (2020). Toward a sustainable agriculture through plant biostimulants: from experimental data to practical applications. *Agron*, 10-1461. doi: 0.3390/agronomy10101461
- Rudrappa, T., Czymmek, K. J., Paré, P. W., Bais, H. P. (2008). Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria. *Plant Physiol*, 148, 1547–1556. doi: 10.1104/pp.108.127613
- Ruiz-Lozano, J.M., Aroca, R., Zamarreño, Á.M., Molina, S., Andreo-Jiménez, B., Porcel, R., García-Mina, G.M., Ruyter-Spira, C., López-Ráez, J.A. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant Cell Environ*, 39, 441–452.
- Saadi, S., Todorovic, M., Tanasijevic, L., Pereira, L. S., Pizzigalli, C., Lionello, P. (2015). Climate change and Mediterranean agriculture: Impacts on winter wheat and tomato crop evapotranspiration, irrigation requirements and yield. *Agric Water Manage*, 147, 103-115.
- Sainju, U. M., Dris, R., Singh, B. (2003). Mineral nutrition of tomato. *Food Agric Environ*, 1(2), 176-183.
- Sánchez-Rodríguez, E., Moreno, D. A., Ferreres, F., del Mar Rubio-Wilhelmi, M., Ruiz, J. M. (2011a). Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochem*, 72(8), 723-729.
- Sánchez-Rodríguez, E., Ruiz, J. M., Ferreres, F., Moreno, D. A. (2011b). Phenolic metabolism in grafted versus nongrafted cherry tomatoes under the influence of water stress. *J Agric Food Chem*, 59(16), 8839-8846.
- Sánchez-Rodríguez, E., Leyva, R., Constán-Aguilar, C., Romero, L., Ruiz, J. M. (2012). Grafting under water stress in tomato cherry: improving the fruit yield and quality. *Annals Appl Biol*, 161(3), 302-312.
- Sánchez-Rodríguez, E., Romero, L., Ruiz, J. M. (2013). Role of grafting in resistance to water stress in tomato plants: ammonia production and assimilation. *J Plant Growth Regul*, 32(4), 831-842.
- Sánchez-Rodríguez, E., Leyva, R., Constán-Aguilar, C., Romero, L., Ruiz, J. M. (2014). How does grafting affect the ionome of cherry tomato plants under water stress?. *Soil Sci Plant Nutr*, 60(2), 145-155.
- Sanjuan-, D., Josa, A., Muñoz, P., Gassó, S., Rieradevall, J., Gabarrell, X. (2020). Applying nutrient dynamics to adjust the nutrient-water balance in hydroponic crops. A case study with open hydroponic tomato crops from Barcelona. *Sci Hort*, 261, 108908..
- Savvas, D., Ntatsi, G., Passam, H. C. (2008). Plant nutrition and physiological disorders in greenhouse grown tomato, pepper and eggplant. *Eur J Plant Sci Biotechnol*, 2(1), 45-61.
- Savvas, D., Colla, G., Rouphael, Y., Schwarz, D. (2010). Amelioration of heavy metal and nutrient stress in fruit vegetables by grafting. *Sci Hort*, 127(2), 156-161.
- Savvas, D., Savva, A., Ntatsi, G., Ropokis, A., Karapanos, I., Krumbein, A., Olympios, C. (2011). Effects of three commercial rootstocks on mineral nutrition, fruit yield, and quality of salinized tomato. *J Plant Nutr Soil Sci*, 174(1), 154-162.
- Savvas, D., Gianquinto, G., Tuzel, Y., Gruda, N. (2013). Good agricultural practices for greenhouse vegetable crops—principles for mediterranean climate areas, 12: soilless culture. *FAO Plant Production and Protection Paper*. (Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations).
- Savvas, D., Ntatsi, G., Barouchas, P. (2013b). Impact of grafting and rootstock genotype on cation uptake by cucumber (*Cucumis sativus* L.) exposed to Cd or Ni stress. *Sci Hort*, 149, 86-96.
- Savvas, D., Öztekin, G. B., Tepecik, M., Ropokis, A., Tüzel, Y., Ntatsi, G., Schwarz, D. (2017). Impact of grafting and rootstock on nutrient-to-water uptake ratios during the first month after planting of hydroponically grown tomato. *J Hort Sci Biotechnol*, 92(3), 294-302.
- Savvas, D., Gruda, N. (2018). Application of soilless culture technologies in the modern greenhouse industry—A review. *Eur J Hortic Sci*, 83(5), 280-293.

- Schröder, J. J., Smit, A. L., Cordell, D., Rosemarin, A. (2011). Improved phosphorus use efficiency in agriculture: a key requirement for its sustainable use. *Chemosphere*, 84(6), 822-831.
- Schwarz, D., Roupshael, Y., Colla, G., Venema, J. H. (2010). Grafting as a tool to improve tolerance of vegetables to abiotic stresses: Thermal stress, water stress and organic pollutants. *Sci Hort*, 127(2), 162-171.
- Seigler, D. S. (1998). *Plant secondary metabolism*. Springer Science & Business Media.
- Seleim, M. A. A., Saeed, F. A., Abd-El-Moneem, K. M. H., Abo-ELyousr, K. A. M. (2011). Biological control of bacterial wilt of tomato by plant growth promoting rhizobacteria. *Plant Patho J*, 10, 146-153
- Semel, Y., Schauer, N., Roessner, U., Zamir, D., Fernie, A. R. (2007). Metabolite analysis for the comparison of irrigated and non-irrigated field grown tomato of varying genotype. *Metabolomics* 3, 289–295. doi: 10.1007/s11306-007-0055-5
- Sepaskhah, A. R., Kamgar-Haghighi, A. A. (1997). Water use and yields of sugarbeet grown under every-other-furrow irrigation with different irrigation intervals. *Agric Water Manage*, 34(1), 71-79.
- Sestili, F., Roupshael, Y., Cardarelli, M., Pucci, A., Bonini, P., Canaguier, R., Colla, G. (2018). Protein hydrolysate stimulates growth in tomato coupled with N-dependent gene expression involved in N assimilation. *Front Plant Sci*, 9, 1233.
- Shanmugam, V. Kanoujia, N. (2011). Biological management of vascular wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by plant growth-promoting rhizobacterial mixture. *Biol Control*, 57, 85-93.
- Sharpley, A. N., Syers, J. K., Springett, J. A. (1979). Effect of surface-casting earthworms on the transport of phosphorus and nitrogen in surface runoff from pasture. *Soil Biol Biochem*, 11(5), 459-462.
- Shen, M., Kang, Y. J., Wang, H. L., Zhang, X. S., Zhao, Q. X. (2012). Effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs) on plant growth, yield, and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under simulated seawater irrigation. *J General Appl Microbiol* 58, 253–262. doi: 10.2323/jgam.58.253
- Siddiqi, M. Y., Kronzucker, H. J., Britto, D. T., Glass, A. D. M. (1998). Growth of a tomato crop at reduced nutrient concentrations as a strategy to limit eutrophication. *J Plant Nutr*, 21(9), 1879-1895.
- Singh, D., Suthar, S. (2012). Vermicomposting of herbal pharmaceutical industry waste: earthworm growth, plant-available nutrient and microbial quality of end materials. *Biores Technol*, 112, 179-185.
- Singh, I. M., Shono, M. (2012). Heat-stress effects on dry matter partitioning, pollen viability and fruit yield in tomato genotypes. *Indian J Plant Physiol*, 17, 103–112
- Sonneveld, C., van der Burg, A. M. M. (1991): Sodium chloride salinity in fruit vegetable crops in soilless culture. *Netherlands J Agric Sci*, 39, 115–122.
- Sonneveld, C., Voogt, W. (2009). Plant nutrition in future greenhouse production. In *Plant nutrition of greenhouse crops* (pp. 393-403). Springer, Dordrecht.
- Speratti, A. B., Whalen, J. K. (2008). Carbon dioxide and nitrous oxide fluxes from soil as influenced by anecic and endogeic earthworms. *Appl Soil Ecol*, 38(1), 27-33.
- Stanghellini, C., Pardossi, A., & Tognoni, F. (2004). Il valore dell'acqua nelle produzioni intensive: ciclo chiuso o ciclo aperto. *Italus Hortus*, 11(6), 11-16.
- Stockdill, S. M. J., Cossens, G. G. (1966). The role of earthworms in pasture production and moisture conservation. In *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* (Vol. 28, pp. 168-183).
- Streeter, J. G., Gomez, M. L. (2006). Three enzymes for trehalose synthesis in bradyrhizobium cultured bacteria and in bacteroids from soybean nodules. *Appl Environ Microbiol*, 72, 4250–4255. doi: 10.1128/aem.00256-06
- Sung, J., Lee, S., Lee, Y., Ha, S., Song, B., Kim, T., Waters, B. M., Krishnan, H. B. (2015). Metabolomic profiling from leaves and roots of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants grown under nitrogen, phosphorus or potassium-deficient condition. *Plant Sci*, 241, 55-64.

- Suthar, S. (2009). Bioremediation of agricultural wastes through vermicomposting. *Bioremediation J*, 13(1), 21-28.
- Toh, S., Kamiya, Y., Kawakami, N., Nambara, E., McCourt, P., Tsuchiya, Y. (2012). Thermoinhibition uncovers a role for strigolactones in *Arabidopsis* seed germination. *Plant Cell Physiol*, 53, 107–117.
- Tremblay, N., Scharpf, H-C., Weier, U., Laurence, H. Owen, J. 2001. Nitrogen management in field vegetables: a guide to efficient fertilization. AAFC, Ottawa, ON. Cat. No. A42-92/2001E.
- Turhan, A., Ozmen, N., Serbeci, M. S., Seniz, V. (2011). Effects of grafting on different rootstocks on tomato fruit yield and quality. *Hort Sci*, 38(4), 142-149.
- Ullah, I., Mao, H., Rasool, G., Gao, H., Javed, Q., Sarwar, A., Khan, M. I. (2021). Effect of deficit irrigation and reduced N fertilization on plant growth, root morphology and water use efficiency of tomato grown in soilless culture. *Agron*, 11(2), 228.
- Umehara, M. (2011). Strigolactone, a key regulator of nutrient allocation in plants. *Plant Biotechnol*, 28, 429–437.
- Uvarov, A. V., Tiunov, A. V., Scheu, S. (2011). Effects of seasonal and diurnal temperature fluctuations on population dynamics of two epigeic earthworm species in forest soil. *Soil Biol Biochem*, 43(3), 559-570.
- Valenzano, V., Parente, A., Serio, F., Santamaria, P. (2008). Effect of growing system and cultivar on yield and water-use efficiency of greenhouse-grown tomato. *J Hort Sci Biotechnol*, 83(1), 71-75.
- Van Der Merwe, M. J., Osorio, S., Moritz, T., Nunes-Nesi, A., Fernie, A. R. (2009). Decreased mitochondrial activities of malate dehydrogenase and fumarase in tomato lead to altered root growth and architecture via diverse mechanisms. *Plant Physiol*, 149, 653–669. doi: 10.1104/pp.108.130518
- Van Vuuren, D. P., Bouwman, A. F., Beusen, A. H. (2010). Phosphorus demand for the 1970–2100 period: a scenario analysis of resource depletion. *Glob Environ Change*, 20(3), 428-439.
- Vaneekhaute, C., Meers, E., Michels, E., Buysse, J., Tack, F. M. G. (2013). Ecological and economic benefits of the application of bio-based mineral fertilizers in modern agriculture. *Biomass Bioenergy*, 49, 239-248.
- Vazquez, N., Pardo, A., Suso, M.L., Quemada, M. (2006). Drainage and leaching under processing tomato growth with drip irrigation and plastic mulch. *Agr Ecosyst* 112, 313–323.
- Vernieri, P., Borghesi, E., Tognoni, F., Serra, G., Ferrante, A., Piagessi, A. (2006). Use of biostimulants for reducing nutrient solution concentration in floating system. In III International Symposium on Models for Plant Growth, Environmental Control and Farm Management in Protected Cultivation, 718, pp. 477-484.
- Visconti, F., de Paz, J.M., Bonet, L., Jordà, M., Quinones, A., Intrigliolo, D.S. (2015). Effects of a commercial calcium protein hydrolysate on the salt tolerance of *Diospyros kaki* L. cv. Rojo Brillante grafted on *Diospyros lotus* L. *Sci Hort*, 185, 129–138.
- Visentin, I., Vitali, M., Ferrero, M., Zhang, Y., Ruyter-Spira, C., Novák, O., Strnad, M., Lovisolò, C., Schubert, A., Cardinale, F. (2016). Low levels of strigolactones in roots as a component of the systemic signal of drought stress in tomato. *New Phytol*, 212, 954–963.
- Walkley, A. Black, T.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci*, 37: 29–38.
- Wang, C., Xing, J., Chin, C.-K., Ho, C.-T., Martin, C. E. (2001). Modification of fatty acids changes the flavor volatiles in tomato leaves. *Phytochem*, 58, 227–232. doi: 10.1016/s0031-9422(01)00233-3
- Wang, J., Hu, Z., Xu, X., Jiang, X., Zheng, B., Liu, X., Pan, X., Kardol, P. (2014). Emissions of ammonia and greenhouse gases during combined pre-composting and vermicomposting of duck manure. *Waste Manage*, 34(8), 1546-1552.

- Wang, C., Gu, F., Chen, J., Yang, H., Jiang, J., Du, T., Zhang, J. (2015). Assessing the response of yield and comprehensive fruit quality of tomato grown in greenhouse to deficit irrigation and nitrogen application strategies. *Agric Water Manag*, 161, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.07.010>.
- Ward Jr, J. H. (1963). Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J American Statist Assoc*, 58(301), 236-244.
- Warman, P. R., AngLopez, M. J. (2010). Vermicompost derived from different feedstocks as a plant growth medium. *Biores Technol*, 101(12), 4479-4483.
- Warner, J., Zhang, T. Q., Hao, X. (2004). Effects of nitrogen fertilization on fruit yield and quality of processing tomatoes. *Canadian J Plant Sci*, 84(3), 865-871.
- Wasaki, J., Yonetani, R., Kuroda, S., Shinano, T., Yazaki, J., Fujii, F., Shimbo, K., Yamamoto, K., Sakata, K., Sasaki, T., Kishimoto, N., Kikuchi, S., Yamagishi, M., Osaki, M. (2003). Transcriptomic analysis of metabolic changes by phosphorus stress in rice plant roots. *Plant Cell Env*, 26, 1515–1523. doi: 10.1046/j.1365-3040.2003.01074.
- Weichmann, J. (1986). The effect of controlled-atmosphere storage on the sensory and nutritional quality of fruits and vegetables. *Hort Rev*, 8(10), 1-127.
- Winsor, G. W., Davies, J. N., Long, M. I. E. (1967). The effects of nitrogen, phosphorus, potassium, magnesium and lime in factorial combination on the yields of glasshouse tomatoes. *J Hort Sci*, 42(3), 277-288.
- Winsor, G. W. (1973). *Nutrition in the UK Tomato manual*. Grower books, London, 8, 1246-1252.
- Wu, Y., Yan, S., Fan, J., Zhang, F., Xiang, Y., Zheng, J., Guo, J. (2021). Responses of growth, fruit yield, quality and water productivity of greenhouse tomato to deficit drip irrigation. *Sci Hort*, 275, 109710.
- Xiao, Z., Jiang, L., Chen, X., Zhang, Y., Defosse, E., Hu, F., Liu, M., Rasmann, S. (2019). Earthworms suppress thrips attack on tomato plants by concomitantly modulating soil properties and plant chemistry. *Soil Biol Biochem*, 130, 23-32.
- Xu, C., Leskovar, D.I. (2011). Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition value under drought stress. *Sci Hort*, 183, 39–47.
- Yadav, A., Garg, V. K. (2011). Recycling of organic wastes by employing *Eisenia fetida*. *Biores Technol*, 102(3), 2874-2880.
- Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Front Plant Sci*, 7, 2049.
- Yan, Z., Reddy, M.S., Kloepper, J.W. (2003). Survival and colonization of rhizobacteria in a tomato transplant system. *Canad. J. Microb*, 49, 383-389.
- Yang, J., Kloepper, W. J., Ryu, C.-M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci*, 14, 1–4. doi: 10.1016/j.tplants.2008. 10.004
- Ye, X., Liu, H., Zhang, X., Ma, J., Han, B., Li, W., Zou, H., Zhang, Y., Lin, X. (2020). Impacts of irrigation methods on greenhouse gas emissions/absorptions from vegetable soils. *J Soils Sediments*, 20(2), 723-733.
- Yu, K. (2019). *Chemical communication in the root microbiome* (Doctoral dissertation, Utrecht University).
- Zhang, W., Zhang, X. (2007). A forecast analysis on fertilizers consumption worldwide. *Environ Monit Assess*, 133(1), 427-434.
- Zhu, J.K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 53, 247–273.
- Zhu, Q., Ozores-Hampton, M., Li, Y. C., Morgan, K. T. (2018). Phosphorus application rates affected phosphorus partitioning and use efficiency in tomato production. *Agron*, 110(5), 2050-2058.
- Zegbe-Dominguez, J. A., Behboudian, M. H., Lang, A., Clothier, B. E. (2003). Deficit irrigation and partial rootzone drying maintain fruit dry mass and enhance fruit quality in ‘Petopride’ processing tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill.). *Sci Hort*, 98(4), 505-510.
- Zobel, M. B. (1966, December). Mechanization of tomato production. In *Processors National Conference on Tomatoes*.

- Zodape, S. T., Gupta, A., Bhandari, S. C., Rawat, U. S., Chaudhary, D. R., Eswaran, K., Chikara, J. (2011). Foliar application of seaweed sap as biostimulant for enhancement of yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. J Sci Ind Res, 70, 215–219.
- Zotarelli, L., Dukes, M. D., Scholberg, J. M. S., Muñoz-Carpena, R., Icerman, J. (2009a). Tomato nitrogen accumulation and fertilizer use efficiency on a sandy soil, as affected by nitrogen rate and irrigation scheduling. Agric Water Manage, 96(8), 1247-1258.
- Zotarelli, L., Scholberg, J. M., Dukes, M. D., Muñoz-Carpena, R., Icerman, J. (2009b). Tomato yield, biomass accumulation, root distribution and irrigation water use efficiency on a sandy soil, as affected by nitrogen rate and irrigation scheduling. Agric Water Manageme, 96(1), 23-34.

7.2. Ελληνική

- Γιαννακοπούλου Μ. 2019. Μελέτη των ιδιοτήτων που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών σε βακτήρια που απομονώθηκαν από φυμάτια μαυρομάτικου φασολιού. Διατριβή Μάστερ, ΓΠΑ.
- Ολύμπιος Χ. 2015. Η Τεχνική της Καλλιέργειας των Υπαίθριων Κηπευτικών. Εκδόσεις Σταμούλη
- Ολύμπιος Χ. 2001. Η τεχνική της καλλιέργειας των κηπευτικών στα θερμοκήπια. Εκδόσεις Σταμούλη.
- Κορνάκος Ι. (1988): Η καλλιέργεια της τομάτας στο θερμοκήπιο. Εκδόσεις Π. Κούλη.
- Μαυρογιανόπουλος Γ. Ν. (2005) Θερμοκήπια. Εκδόσεις Σταμούλη.
- Σάββας Δ. (2011) Καλλιέργειες εκτός εδάφους. Εκδόσεις Αγρότυπος.
- Σάββας Δ. (2016). Γενική λαχανοκομία. Εκδόσεις Πεδίο.

7.3. Πηγές διαδικτύου

www.statistics.gr

www.biostimulants.eu

www.valagro.com

<https://www.nist.gov>

<http://www.ks-kali.com/grgr/fertiliser/news/news-20190902-patentkali-video.html>

<https://www.edypro-online.com>

www.ellagret.gr

7.4. Δημοσιεύσεις

Δημοσιεύσεις σε έγκριτα επιστημονικά περιοδικά

- Kalozoumis, P., Savvas, D., Aliferis, K., Ntatsi, G., Marakis, G., Simou, E., Tampakaki, A., Karapanos, I. (2021). Impact of plant growth-promoting rhizobacteria inoculation and grafting on tolerance of tomato to combined water and nutrient stress assessed via metabolomics analysis. *Frontiers in Plant Science*, 12, 670236.
- Kalozoumis, P., Vourdas, C., Ntatsi, G., & Savvas, D. (2021). Can Biostimulants Increase Resilience of Hydroponically-Grown Tomato to Combined Water and Nutrient Stress?. *Horticulturae*, 7(9), 297.

Δημοσιεύσεις σε Πρακτικά Διεθνών και Εγχώριων Συνεδρίων και Συμποσίων

- Kalozoumis, P., Ntatsi, G., Marakis, G., Simou, E., Tampakaki, A., Savvas, D. (2018, August). Impact of grafting and different strains of plant growth promoting rhizobacteria on tomato plants grown hydroponically under combined drought and nutrient stress. In *XXX International Horticultural Congress IHC2018: II International Symposium on Soilless Culture and VIII International 1273* (pp. 153-160). Doi: 10.17660/ActaHortic.2020.1273.21
- Καλοζούμης, Π., Ντάτση, Γ., Αλιφέρης, Κ., Σάββας, Δ. 2019. Η επίδραση του εμβολιασμού στο μεταβολισμό της τομάτας σε υδροπονική καλλιέργεια συνδυασμένης καταπόνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων. Πρακτικά 29ου Επιστημονικού Συνεδρίου της Ελληνικής Εταιρίας Επιστήμης Οπωροκηπευτικών (ΕΕΕΟ), 15-18 Οκτωβρίου 2019, Πάτρα

8. Παράρτημα

Πίνακας 8.1. Συγκέντρωση των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων στο θρεπτικό διάλυμα τροφοδοσίας των φυτών της 1^{ης} πειρ. μελέτης για τα φυτά που αναπτύσσονταν χωρίς καταπόνηση και με συνδυασμένη καταπόνηση κατά το βλαστητικό στάδιο και το στάδιο καρποφορίας.

Θρεπτικό στοιχείο	Χωρίς καταπόνηση		Συνδ. καταπόνηση		Μονάδες
	Βλαστητικό στάδιο	Στάδιο καρποφορίας	Βλαστητικ ό στάδιο	Στάδιο καρποφορίας	
NO_3^-	14.00	12.50	7.00	6.25	mM
K	7.00	8.00	7.00	8.00	mM
Ca	5.10	5.00	5.10	5.00	mM
Mg	2.40	2.50	2.40	2.50	mM
SO_4^{2-}	5.40	5.40	5.40	5.40	mM
$H_2PO_4^-$	1.50	1.50	0.75	0.75	mM
NH_4^+	1.50	1.50	0.75	0.75	mM
Fe	15.00	15.00	15.00	15.00	μ M
Mn	10.00	10.00	10.00	10.00	μ M
Zn	5.00	5.00	5.00	5.00	μ M
B	30.00	30.00	30.00	30.00	μ M
Cu	0.80	0.80	0.80	0.80	μ M
Mo	0.50	0.50	0.50	0.50	μ M

Πίνακας 8.2. Συγκέντρωση των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων στο θρεπτικό διάλυμα τροφοδοσίας των φυτών της 3^{ης} πειρ. μελέτης για τα φυτά που αναπτύσσονταν χωρίς καταπόνηση κατά το βλασθητικό στάδιο (A', B' βλασθητικό στάδιο) και το στάδιο καρποφορίας (A', B' στάδιο καρποφορίας).

Θρεπτικό στοιχείο	Χωρίς καταπόνηση					Μονάδες
	Διάλυμα διαβροχής	A' Βλασθητικ ό στάδιο	B' Βλασθητικ ό στάδιο	A' στάδιο καρποφορία ς	B' στάδιο καρποφορία ς	
<i>EC</i>	2.80	2.71	2,40	2,20	2,60	
<i>pH</i>	5.60	5,60	5,60	5,60	5,60	
<i>NO₃⁻</i>	15.00	14,80	12,36	10,15	12,40	mM
<i>K</i>	6.80	7.30	6,29	6,45	7,60	mM
<i>Ca</i>	5.80	5.25	4,52	3,99	4,70	mM
<i>Mg</i>	3,00	2.60	2,24	1,87	2.65	mM
<i>SO₄²⁻</i>	4.40	4.00	3,72	3,84	4,70	mM
<i>H₂PO₄⁻</i>	1.40	1.50	1,50	1,50	1,50	mM
<i>NH₄⁺</i>	1.00	1.50	1,69	1,38	1,20	mM
<i>Fe</i>	20.00	15.00	15.00	15.00	22.00	μM
<i>Mn</i>	12.00	10.00	10.00	10.00	10.00	μM
<i>Zn</i>	7.00	5.00	5.00	5.00	5.00	μM
<i>B</i>	40.00	30.00	30.00	30.00	40.00	μM
<i>Cu</i>	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	μM
<i>Mo</i>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	μM

Πίνακας 8.3. Συγκέντρωση των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων στο θρεπτικό διάλυμα τροφοδοσίας των φυτών της 1^{ης} πειρ. μελέτης για τα φυτά που αναπτύσσονταν με συνδυασμένη καταπόνηση κατά βλαστικό στάδιο (A', B' βλαστικό στάδιο) και το στάδιο καρποφορίας (A', B' στάδιο καρποφορίας).

Θρεπτικό στοιχείο	Με καταπόνηση					Μονάδες
	Διάλυμα διαβροχής	A' Βλαστικ ό στάδιο	B' Βλαστικ ό στάδιο	A' στάδιο καρποφορία ς	B' στάδιο καρποφορία ς	
<i>EC</i>	2.77	2.71	2,40	1,20	2,00	
<i>pH</i>	5.60	5,60	5,60	5,60	5,60	
<i>NO₃⁻</i>	7,25	14,80	12,36	5,08	6,00	mM
<i>K</i>	6.80	7.30	6,29	3,21	6,00	mM
<i>Ca</i>	5.80	5.25	4,52	1,98	3,50	mM
<i>Mg</i>	3,00	2.60	2,24	0,93	1,80	mM
<i>SO₄²⁻</i>	5,95	4.00	3,72	1,84	4,35	mM
<i>H₂PO₄⁻</i>	0,70	1.50	1,50	0,75	0,60	mM
<i>NH₄⁺</i>	0,75	1.50	1,69	0,69	1,00	mM
<i>Fe</i>	20.00	15.00	15.00	15.00	23.00	μM
<i>Mn</i>	12.00	10.00	10.00	10.00	10.00	μM
<i>Zn</i>	7.00	5.00	5.00	5.00	5.00	μM
<i>B</i>	40.00	30.00	30.00	30.00	40.00	μM
<i>Cu</i>	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	μM
<i>Mo</i>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	μM