



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

Διδακτορική Διατριβή

Επίδρασης αλατότητας και λίπανσης σε καλλιέργεια Τριγωνέλλας
(*Trigonella foenum-graecum* L., Fabaceae)

Ελένη Αντιγόνη Α. Φωλίνα

Επιβλέπων Καθηγητής:

Δημήτριος Μπιλάλης, Καθηγητής ΓΠΑ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Δημήτριος Μπιλάλης, Καθηγητής ΓΠΑ

Νεκτάριος Αληγιάννης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Ιμπραχίμ Αβραάμ Χα, Ομότιμος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας



**ΑΘΗΝΑ
2024**

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

Διδακτορική Διατριβή

Επίδρασης αλατότητας και λίπανσης σε καλλιέργεια Τριγωνέλλας
(*Trigonella foenum-graecum* L., Fabaceae)

Effect of Salinity and Fertilization on Fenugreek Cultivation
(*Trigonella foenum-graecum* L., Fabaceae)

Ελένη Αντιγόνη Α. Φωλίνα

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Δημήτριος Μπιλάλης, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Νεκτάριος Αληγιάννης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Ιμπραχίμ-Αβραάμ Χα, Ομότιμος Καθηγητής Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ελένη Τσιπλάκου, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Ασπασία Ευθυμιάδου, Κύρια Ερευνήτρια ΕΛΓΟ- «ΔΗΜΗΤΡΑ»

Κωνσταντίνος Αλιφέρης, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

Ιωάννα Κακαμπούκη, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Επίδρασης αλατότητας και λίπανσης σε καλλιέργεια Τριγωνέλλας (*Trigonella foenum-graecum* L., Fabaceae)

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Γεωργίας

Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Η

Σκοπός της παρούσας Διδακτορικής διατριβής είναι η συλλογή και επεξεργασία όλων εκείνων των χαρακτηριστικών της καλλιέργειας τριγωνέλλας κάτω από ποικίλες συνθήκες λίπανσης και αλατότητας. Η τριγωνέλλα είναι ένα βότανο με μακραίωνη ιστορία στην παραδοσιακή ιατρική και έχει χρησιμοποιηθεί ποικιλοτρόπως σε διαφορετικές κουλτούρες για τη θεραπεία πληθώρας παθήσεων. Η καλλιέργεια της τριγωνέλλας παρουσιάζει επιστημονικό ενδιαφέρον λόγω της ανθεκτικότητας και των διατροφικών της ιδιοτήτων. Στην παρούσα έρευνα, ένα πείραμα αγρού εγκαταστάθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών κατά τη χρονική περίοδο 2018-2021, σε ένα σχέδιο split-split με τις 2 κύριες επεμβάσεις αλατότητας (Υψηλή αλατότητα- HS & Συμβατική αλατότητα- CS) και 5 μεταχειρίσεις λίπανσης (βιοκυκλική-βίγκαν (BHS), κοπριά (FYM), κομπόστ (COMP), ανόργανη λίπανση (11-15-15) και ο μάρτυρας (C). Σκοπός των πειραμάτων ήταν να μελετηθούν τυχόν γονοτυπικές διαφορές ως προς τα αγρονομικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά, τις φυσικές ιδιότητες του εδάφους, το ριζικό σύστημα του φυτού, την ποιότητά του ως ζωτροφική και τη μεταβολομική τους ανταπόκριση στις προαναφερόμενες πειραματικές επεμβάσεις.

Η ανάπτυξη και η απόδοση των φυτών τριγωνέλλας έδειξαν ότι η λίπανση είχε σημαντικό θετικό αντίκτυπο στο ύψος των φυτών, με τη μέση τιμή να κυμαίνεται από 34 έως 75 εκατοστά κατά τη διάρκεια των τριών χρονιών του πειράματος. Η υψηλή αλατότητα μείωσε τον αριθμό των βλαστών, ενώ η βιολογική λίπανση αύξησε τον αριθμό των φύλλων.

Επιπλέον, οι δείκτες ανάπτυξης όπως ο AGR (Absolute Growth Rate) και ο NAR (Net Assimilation Rate) επηρεάστηκαν από τη λίπανση, με τις βιολογικές λιπάνσεις να εμφανίζουν υψηλότερες τιμές στον AGR. Οι βιολογικές λιπάνσεις προώθησαν επίσης την ανάπτυξη των φύλλων και τη φωτοσύνθεση, ενισχύοντας τους δείκτες LA (Leaf Area) και LAR (Leaf Area Ratio). Η αλληλεπίδραση μεταξύ λίπανσης και αλατότητας επηρέασε τον RGR (Relative Growth Rate), ενώ οι δείκτες LAI (Leaf Area Index) και LAD (Leaf Area Duration) βελτιώθηκαν με τη λίπανση, επιδεικνύοντας μακροπρόθεσμα οφέλη από την βιολογική λίπανση. Η απόδοση των φυτών σε βιομάζα και η παραγωγή σπόρων ενισχύθηκαν σημαντικά από τη βιολογική λίπανση, αναδεικνύοντας τα οφέλη από την χρήση βιολογικών λιπασμάτων για βελτίωση της παραγωγικότητας.

Η μελέτη ανέδειξε τη σημαντική επίδραση του είδους λίπανσης σε διάφορες εδαφικές παραμέτρους, υπογραμμίζοντας την ανωτερότητα της βιολογικής λίπανσης, ειδικά της επέμβασης BHS, στην αύξηση των εδαφικών δεικτών STN (Soil Total Nitrogen), CEC (Cation exchange capacity) και SOM (Soil Organic Matter). Η βιολογική λίπανση έδειξε υψηλότερες τιμές σε δείκτες αποδοτικότητας του αζώτου (NUEcrop, PFP, REfertN, NUPE) σε σύγκριση με τα ανόργανα λιπάσματα. Ωστόσο, η αλατότητα παρουσιάζεται ως εμπόδιο στην αποτελεσματική απορρόφηση του αζώτου, επισημαίνοντας την ανάγκη διαχείρισης των επιπέδων αλατότητας για βελτιστοποίηση της υγείας του εδάφους και της απόδοσης της λίπανσης.

Η βιολογική λίπανση επηρέασε θετικά την ποιότητα της ζωτροφής από τριγωνέλλα, ενισχύοντας την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες χωρίς να υπάρχει στατιστική διαφορά από την ανόργανη λίπανση. Η αλατότητα επηρέασε την απόδοση των πρωτεϊνών των σπόρων και αύξησε την περιεκτικότητα σε τέφρα λόγω της συσσώρευσης ορυκτών.

Η εφαρμογή της βιολογικής λίπανσης BHS στην καλλιέργεια τριγωνέλλας βελτίωσε σημαντικά την ανάπτυξη των ριζών και την ποιότητα του εδάφους. Η βιολογική λίπανση αύξησε την περιεκτικότητα σε οργανική ουσία, βελτιώνοντας τη δομή του εδάφους. Επιπλέον, η επιφάνεια

και η διάμετρος των ριζών αυξήθηκαν με τη βιολογική λίπανση, ενώ το μήκος και ο όγκος των ριζών επηρεάστηκαν θετικά, βελτιώνοντας την αντοχή των φυτών σε αλατότητα και αυξάνοντας τη διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων. Η υψηλή αλατότητα όμως μείωσε τον αριθμό των φυματίων και το μήκος των ριζών, περιορίζοντας την πρόσληψη νερού.

Διαπιστώθηκε ότι οι διαφορές στις αποδόσεις των εκχυλισμάτων σχετίζονται περισσότερο με το συγκεκριμένο μέρος του φυτού παρά με την επέμβαση λίπανσης. Η ανάλυση χρωματογραφίας και η φασματομετρία NMR δεν έδειξαν σαφείς διαχωρισμούς μεταξύ των δειγμάτων από διαφορετικές λιπάνσεις, παρά μόνο μικρές ποσοτικές διαφορές, υποδεικνύοντας ότι άλλοι παράγοντες ενδέχεται να επηρεάζουν τη χημική σύνθεση των φυτών. Η περαιτέρω ανάλυση μεγαλύτερου αριθμού δειγμάτων και καλλιεργητικών περιόδων θεωρείται απαραίτητη για να επιβεβαιωθούν αυτά τα ευρήματα.

Παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στους δευτερογενείς μεταβολίτες και τα ένζυμα του φυτού, καθώς και στο μεταβολικό του προφίλ υπό διαφορετικές συνθήκες αλατότητας και λίπανσης, χρησιμοποιώντας τεχνικές όπως η GC/EI/MS και OPLS-DA. Η αύξηση στα επίπεδα τρεχαζόλης και ορισμένων οργανικών οξέων σε αυτές τις συνθήκες φαίνεται να παρέχει προστασία στα φυτά από τις τοξικές επιπτώσεις της αλατότητας και να συμβάλλει στη διατήρηση της ενδοκυτταρικής ισορροπίας. Επιπλέον, η αύξηση στα επίπεδα αμινοξέων όπως η L-προλίνη, η γλυκίνη και η β-αλανίνη υπογραμμίζει τον ρόλο τους στην αντοχή των φυτών σε στρεσογόνες συνθήκες. Τα ευρήματα δείχνουν ότι το φυτό τριγωνέλλα ενεργοποιεί πολλαπλούς μηχανισμούς προσαρμογής για να ανταπεξέλθει στις αλατούχες συνθήκες, βελτιώνοντας την επιβίωση και ανάπτυξή του σε αυτά τα περιβάλλοντα.

Συμπερασματικά, η μελέτη ανέδειξε τον θετικό ρόλο της βιολογικής λίπανσης στην ανάπτυξη και απόδοση της τριγωνέλλας, προωθώντας την ανάπτυξη των φυτών, την ποιότητα της βιομάζας και τη βελτίωση των εδαφικών δεικτών. Οι βιολογικές λιπάνσεις, σε σύγκριση με τις ανόργανες, προσέφεραν σταθερότερη απελευθέρωση θρεπτικών συστατικών και βελτίωσαν τη δομή του εδάφους, αυξάνοντας την περιεκτικότητα σε οργανική ουσία. Παρόλο που η αλατότητα επηρέασε αρνητικά την ανάπτυξη και την απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων, η βιολογική λίπανση φάνηκε να ενισχύει την αντοχή των φυτών στις αλατούχες συνθήκες. Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να διερευνηθούν πλήρως οι μακροπρόθεσμες επιδράσεις της αλατότητας και των λιπάνσεων στην παραγωγικότητα της καλλιέργειας.

Επιστημονική περιοχή: βιολογική γεωργία

Λέξεις κλειδιά: Τριγωνέλλα, Εδαφική αλατότητα, λίπανση, Βιοκυκλικό Χουμόχωμα, Δευτερογενείς Μεταβολίτες, Ζωοτροφή

Effect of Salinity and Fertilization on Fenugreek Cultivation (*Trigonella foenum-graecum* L., Fabaceae)

Department of Crop Science
Laboratory of Agronomy

ABSTRACT

Fenugreek is an herb with a long history in traditional medicine and has been used in various cultures to treat numerous ailments. The cultivation of fenugreek is of scientific interest due to its resilience and nutritional properties. In this study, a field experiment was conducted at the Agricultural University of Athens during the period 2018-2021, using a split-plot design with two main salinity treatments (High Salinity - HS & Conventional Salinity - CS) and five fertilization treatments (bio-cyclical-vegan (BHS), manure (FYM), compost (COMP), inorganic fertilizer (11-15-15), and a control group (C)). The purpose of the experiments was to investigate potential genotypic differences in agronomic and quality characteristics, soil physical properties, the plant's root system, its quality as animal feed, and its metabolomic response to the aforementioned experimental treatments.

The growth and yield of fenugreek plants showed that fertilization had a significant positive impact on plant height, with the average height ranging from 34 to 75 cm over the three years of the experiment. High salinity reduced the number of shoots, while organic fertilization increased the number of leaves. Furthermore, growth indices such as AGR (Absolute Growth Rate) and NAR (Net Assimilation Rate) were affected by fertilization, with organic fertilizers showing higher AGR values. Organic fertilization also promoted leaf growth and photosynthesis, enhancing LA (Leaf Area) and LAR (Leaf Area Ratio) indices. The interaction between fertilization and salinity influenced the RGR (Relative Growth Rate), while LAI (Leaf Area Index) and LAD (Leaf Area Duration) improved with fertilization, demonstrating long-term benefits of organic fertilization. Biomass yield and seed production were significantly enhanced by organic fertilization, highlighting the advantages of using organic fertilizers for improving productivity.

The study highlighted the significant effect of the type of fertilization on various soil parameters, emphasizing the superiority of organic fertilization, particularly the BHS treatment, in increasing soil indicators such as STN (Soil Total Nitrogen), CEC (Cation Exchange Capacity), and SOM (Soil Organic Matter). Organic fertilization showed higher values in nitrogen efficiency indices (NUEcrop, PFP, REfertN, NUPE) compared to inorganic fertilizers. However, salinity presents a challenge for effective nitrogen uptake, underscoring the need for managing salinity levels to optimize soil health and fertilization effectiveness.

Organic fertilization positively impacted the quality of fenugreek as animal feed, enhancing its protein content without significant statistical difference from inorganic fertilization. Salinity affected the seed protein yield and increased ash content due to mineral accumulation. The application of BHS organic fertilization in fenugreek cultivation significantly improved root development and soil quality. Organic fertilization increased organic matter content, improving soil structure. Additionally, root surface area and diameter increased with organic fertilization, while root length and volume were positively affected, improving plant resistance to salinity and increasing nutrient availability. However, high salinity reduced the number of nodules and root length, limiting water uptake.

It was found that differences in extract yields were more related to the specific part of the plant than to the fertilization treatment. Chromatography analysis and NMR spectroscopy did not show clear separations between samples from different fertilization treatments, except for small quantitative differences, suggesting that other factors may influence the chemical composition of the plants. Further analysis of a larger number of samples and cultivation periods is necessary to confirm these findings.

Significant changes were observed in the plant's secondary metabolites and enzymes, as well as in its metabolic profile under different salinity and fertilization conditions, using techniques such as GC/EI/MS and OPLS-DA. The increase in levels of trehalose and certain organic acids under these conditions seems to provide protection to the plants from the toxic effects of salinity and helps maintain intracellular balance. Additionally, the increase in amino acids such as L-proline, glycine, and β -alanine highlights their role in plant resistance to stressful conditions. The findings indicate that fenugreek activates multiple adaptation mechanisms to cope with saline conditions, improving its survival and growth in these environments.

In conclusion, the study highlighted the positive role of organic fertilization in fenugreek growth and yield, promoting plant growth, biomass quality, and improving soil indicators. Organic fertilizers, compared to inorganic ones, provided more stable nutrient release and improved soil structure by increasing organic matter content. Although salinity negatively affected growth and nutrient uptake, organic fertilization appeared to enhance plant resilience in saline conditions. However, further research is needed to fully explore the long-term effects of salinity and fertilization on crop productivity.

Scientific area: organic agriculture

Keywords: Trigonella foenum-graecum, Soil salinity, fertilization, Biocycling Humus Soil, Secondary Metabolites, Animal feed

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες προς όλα τα μέλη της επταμελούς επιτροπής για την πολύτιμη συμβολή τους στην ολοκλήρωση της διδακτορικής μου διατριβής. Συγκεκριμένα, ευχαριστώ θερμά τον Δημήτριο Μπιλάλη, Καθηγητή Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την επιβλέπουσα καθοδήγησή του και την αδιάλειπτη υποστήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια της έρευνας. Επίσης, Τον κ. Αληγιάννη Νεκτάριο, Αναπληρωτή Καθηγητή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την πολύτιμη συμμετοχή του και τις επιστημονικές του συμβουλές. Τον Χα Ιμπραχίμ-Αβραάμ, Ομότιμο Καθηγητή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τις χρήσιμες παρατηρήσεις και την υποστήριξή του. Την Τσιπλάκου Ελένη, Καθηγήτρια του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για τις εποικοδομητικές της συμβουλές και την καθοδήγησή της. Την Ευθυμιάδου Ασπασία, Ερευνήτρια Γ του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, για τη σημαντική συμβολή της και την υποστήριξή της στην έρευνά μου. Τον Αλιφέρη Κων/νο, Επίκουρο Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την πολύτιμη συνεισφορά του και τις καθοδηγητικές του συμβουλές. Την Κακαμπούκη Ιωάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την υποστήριξη και τις σημαντικές της παρατηρήσεις. Η συμβολή τους ήταν ανεκτίμητη και τους ευχαριστώ από καρδιάς για την αφοσίωση και την υποστήριξή τους. Χωρίς τη βοήθειά τους, αυτή η διατριβή δεν θα είχε ολοκληρωθεί με την ίδια επιτυχία.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους φοιτητές/τριες και τις υποψήφιες διδακτόρισσες με τους οποίους συνεργάστηκα στο εργαστήριο. Η παρουσία τους, η υποστήριξή τους και οι ατελείωτες ώρες συζητήσεων και συνεργασίας ήταν ανεκτίμητες. Μαζί αντιμετωπίσαμε προκλήσεις, μοιραστήκαμε ιδέες και υποστηρίξαμε ο ένας τον άλλο σε κάθε βήμα αυτής της επιστημονικής διαδρομής. Η συντροφικότητα και η αλληλεγγύη τους με ενέπνευσαν και έδωσαν δύναμη στις προσπάθειές μου. Τους ευχαριστώ θερμά για τη φιλία τους και την αδιάλειπτη συνεργασία τους.

Τέλος, δεν θα μπορούσα να παραλείψω να εκφράσω την απέραντη ευγνωμοσύνη μου προς την οικογένεια και τους φίλους μου, που ήταν πλάι μου σε κάθε βήμα αυτής της μακράς και απαιτητικής διαδρομής. Η αδιάκοπη υποστήριξή τους, η αγάπη και η πίστη τους σε μένα αποτέλεσαν την κινητήρια δύναμη που με ενθάρρυνε να συνεχίσω και να ξεπεράσω κάθε εμπόδιο. Στους γονείς μου, για τις θυσίες και την ανεξάντλητη υπομονή τους, στους φίλους μου, για τις στιγμές ξεγνοιασιάς και ανακούφισης που μου προσέφεραν, και σε όλους όσους στάθηκαν δίπλα μου με την ενθάρρυνσή τους, απευθύνω ένα βαθύτατο ευχαριστώ.

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε για την εγκυρότητα και την πρωτοτυπία της από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το Πανεπιστήμιο

Στους γονείς μου, Μαριάνθη και Θανάση

मेथिका पित्तस्य हन्त्री च वात-कफापहं, योनि-व्रण-अपहा चैव श्लेष्मापहा च विषापहा।

Αρχαίο Αγιουρβεδικό κείμενο, Charaka Samhita (300-200 BCE)

Ο στίχος αποδίδει τις αρετές της τριγωνέλλας ως θεραπευτή και εξισορροπητή των Doshas, απεικονίζοντας τον διαχρονικά τιμημένο ρόλο της στην προαγωγή της υγείας και της ευεξίας.

Περιεχόμενα

1. Βιβλιογραφική ανασκόπηση	23
1.1 Η τριγωνέλλα, σύντομη περιγραφή και χρήσεις	23
1.2 Η τριγωνέλλα στην υγεία των γυναικών	26
1.3 Κριτική στη βιολογική γεωργία.....	27
1.3.1 Βιοποικιλότητα	28
1.3.2 Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου	28
1.3.3 Απώλειες θρεπτικών στοιχείων	29
1.3.4 Γονιμότητα του εδάφους.....	29
1.3.5 Ανθρώπινη διατροφή και υγεία.....	30
1.3.6 Κερδοφορία των εκμεταλλεύσεων	30
1.4 Το βιοκυκλικό-vegan πρότυπο.....	31
1.4.1 Πρότυπο Βιοκυκλικής Φυτοπονίας.....	32
1.5 Αλατότητα και καλλιέργειες	35
1.6 Γενικός σκοπός μελέτης	37
2. Επίδραση λίπανσης (βιολογικής και ανόργανης) και αλατότητας στα αγρονομικά χαρακτηριστικά, δείκτες ανάπτυξης και αποδόσεις τριγωνέλλας.	41
2.1 Εισαγωγή.....	41
2.1.1 Καλλιεργητικές συνθήκες	41
2.1.1.1 Συνθήκες σποράς.....	42
2.1.1.2 Απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά	43
2.1.2 Τριγωνέλλα και λίπανση	43
2.1.3 Τριγωνέλλα και αλατότητα	45
2.1.4 Σκοπός μελέτης.....	47
2.2 Υλικά και Μέθοδοι	48
2.2.1 Περιοχή έρευνας.....	48
2.2.1.1 Θέση και ιστορικό πειραματικών τεμαχίων	48
2.2.1.2 Προσδιορισμός εδαφικών παραμέτρων.....	49
2.2.2 Πειραματικό σχέδιο	49
2.2.3 Φυτικό υλικό και επεμβάσεις.....	51
2.2.3.1 Βιοκυκλική-vegan (BHS).....	52
2.2.3.2 Κοπριά (FYM)	53
2.2.3.3 Κομπόστ (COMP).....	53
2.2.3.4 Ανόργανη λίπανση (11-15-15)	53
2.2.3.5 Μάρτυρας (C).....	53
2.2.4 Καλλιεργητικές φροντίδες	53
2.2.5 Παρατηρήσεις και μετρήσεις.....	54
2.2.5.1 Χαρακτηριστικά ανάπτυξης	54
2.2.5.1.1 Ανάδυση των φυτών (φυτά m ²).....	54
2.2.5.1.2 Ύψος φυτών	54
2.2.5.1.3 Αριθμός βλαστών	54
2.2.5.1.4 Αριθμός φύλλων ανά φυτό.....	54
2.2.5.1.5 Ξηρό βάρος φυτού.....	55
2.2.5.2 Δείκτες ανάπτυξης	55

2.2.5.2.1	Απόλυτος ρυθμός ανάπτυξης (Absolute Growth Rate - AGR)	55
2.2.5.2.2	Καθαρό ποσοστό αφομοίωσης (Net Assimilation Rate - NAR).....	55
2.2.5.2.3	Επιφάνεια φύλλων ανά φυτό (Leaf Area per plant - LA)	55
2.2.5.2.4	Συντελεστής Φωτοσυνθετικής Επιφάνειας (Leaf Area Ratio - LAR)	56
2.2.5.2.5	Σχετικός Ρυθμός Ανάπτυξης (Relative growth rate - RGR)	56
2.2.5.2.6	Δείκτης φυλλικής επιφάνειας (Leaf area index - LAI)	56
2.2.5.2.7	Χρονική μεταβολή φυλλικής επιφάνειας (Leaf Area Duration - LAD)	57
2.2.5.3	Συντελεστές απόδοσης	57
2.2.5.3.1	Αριθμός ανθών ανά φυτό.....	57
2.2.5.3.2	Αριθμός λοβών ανά φυτό.....	57
2.2.5.3.3	Αριθμός διπλών λοβών ανά φυτό	57
2.2.5.3.4	Μήκος λοβών.....	57
2.2.5.3.5	Αριθμός σπόρων ανά λοβό.....	58
2.2.5.3.6	Απόδοση σε βιομάζα	58
2.2.5.3.7	Απόδοση σε σπόρο	58
2.2.5.3.8	Βάρος χιλίων σπόρων (ΒΧΣ).....	59
2.2.5.3.9	Δείκτης συγκομιδής (Harvest index - HI)	59
2.2.5.3.10	Ποσοστό μετατόπισης (Translocation percentage - TP)	59
2.2.5.3.11	Αποδοτικότητα βιομάζας (Dry Matter Efficiency- DME)	60
2.2.5.3.12	Αποδοτικότητα μονάδας επιφάνειας (Unit area efficiency- UAE).....	60
2.2.6	Στατιστική ανάλυση	60
2.3	Αποτελέσματα	60
2.3.1	Περιβαλλοντικές συνθήκες.....	61
2.3.2	Χαρακτηριστικά ανάπτυξης	61
2.3.2.1	Ανάδυση των φυτών	62
2.3.2.2	Ύψος φυτών	62
2.3.2.3	Αριθμός βλαστών ανά φυτό	62
2.3.2.4	Αριθμός φύλλων ανά φυτό.....	64
2.3.2.5	Ξηρό βάρος φυτού	64
2.3.3	Δείκτες ανάπτυξης	65
2.3.3.1	Απόλυτος ρυθμός ανάπτυξης (AGR).....	65
2.3.3.2	Καθαρό ποσοστό αφομοίωσης (NAR)	66
2.3.3.3	Επιφάνεια φύλλων ανά φυτό (LA)	66
2.3.3.4	Συντελεστής Φωτοσυνθετικής Επιφάνειας (LAR)	67
2.3.3.5	Σχετικός Ρυθμός Ανάπτυξης (RGR)	67
2.3.3.6	Δείκτης φυλλικής επιφάνειας (Leaf area index (LAI)	69
2.3.3.7	Χρονική μεταβολή φυλλικής επιφάνειας (LAD).....	69
2.3.4	Συντελεστές απόδοσης	70
2.3.4.1	Αριθμός ανθών ανά φυτό	70
2.3.4.2	Αριθμός λοβών ανά φυτό	70
2.3.4.3	Αριθμός διπλών λοβών ανά φυτό	71
2.3.4.4	Μήκος λοβών.....	71
2.3.4.5	Αριθμός σπόρων ανά λοβό.....	71
2.3.4.6	Βάρος λοβών ανά φυτό	73
2.3.4.7	Απόδοση σε βιομάζα	73
2.3.4.8	Απόδοση σε σπόρο	73
2.3.4.9	Βάρος χιλίων σπόρων (ΒΧΣ).....	74
2.3.4.10	Δείκτης συγκομιδής (HI)	74
2.3.4.11	Ποσοστό μετατόπισης (TP)	74

2.3.4.12	Αποδοτικότητα βιομάζα (DME)	74
2.3.4.13	Αποδοτικότητα μονάδας επιφάνειας (UAE)	75
2.4	Συζήτηση	76
2.5	Συμπεράσματα	82
3.	Αξιολόγηση της βιολογικής και ανόργανης λίπανσης με την χρήση δεικτών αζώτου	85
3.1	Εισαγωγή.....	85
3.1.1	Σκοπός μελέτης.....	86
3.2	Υλικά και μέθοδοι.....	87
3.2.1	Σχεδιασμός πειράματος.....	87
3.2.2	Μετρήσεις στο έδαφος.....	87
3.2.3	Δείκτες βασισμένοι στη λίπανση	87
3.2.3.1	Συντελεστής Μερικής παραγωγικότητας σπόρου (Partial-factor Seed Productivity - PFPseed) 87	
3.2.3.2	Συντελεστής Μερικής παραγωγικότητας βιομάζας (Partial-factor Biomass Productivity - PFPbiomass).....	88
3.2.3.3	Δείκτης ισοζυγίου έντασης αζώτου (N Balance Intensity- NBI)	88
3.2.3.4	Δείκτης αποδοτικότητας χρήσης αζώτου καλλιέργειας (NUEcrop).....	88
3.2.3.5	Συντελεστής μερικού ισοζυγίου αζώτου Partial N Balance - PNB)	88
3.2.3.6	Αγρονομική Αποδοτικότητα (Agronomic Efficiency - AE)	89
3.2.3.7	Αποδοτικότητα ανάκτησης αζώτου (Fertilizer-N Recovery Efficiency - REfertN)	89
3.2.4	Δείκτες βασισμένοι στο φυτό	90
3.2.4.1	Δείκτης φυσιολογικής απόδοσης (Physiological Efficiency- PE)	90
3.2.4.2	Δείκτης αποδοτικής αξιοποίησης αζώτου (N Utilization Efficiency - NUtE)	90
3.2.4.3	Δείκτης εσωτερικής αποδοτικότητας (Internal Efficiency - IE)	90
3.2.4.4	Δείκτης συγκομιδής αζώτου (N Harvest Index - NHI)	90
3.2.4.5	Δείκτης αποδοτικότητας χρήσης αζώτου εδάφους (NUEsoil)	91
3.2.5	Δείκτες βασισμένοι στο έδαφος	91
3.2.5.1	Δείκτης αποδοτικότητας πρόσληψης αζώτου (N Uptake Efficiency - NUPE)	91
3.2.5.2	Δείκτης αποδοτικότητας αζώτου εσοδείας (NUEyield)	91
3.2.5.3	Ισοζύγιο αποδοτικότητας χρήσης αζώτου (NUEbalance)	92
3.2.6	Δείκτες βασισμένοι στην οικολογία	92
3.2.6.1	Παραγωγικότητα Αζώτου (Nitrogen Productivity - NP)	92
3.2.6.2	Οικολογική αποδοτικότητας χρήσης αζώτου (NUEecology)	92
3.2.7	Στατιστική ανάλυση	92
3.2.8	Μετρήσεις στο έδαφος.....	93
3.2.8.1	Εδαφικό άζωτο (STN)	93
3.2.8.2	Ικανότητα Ανταλλαγή προϊόντων (CEC).....	93
3.2.8.3	Εδαφική Οργανική Ουσία (SOM).....	93
3.2.9	Δείκτες βασισμένοι στη λίπανση	95
3.2.9.1	Συντελεστής Μερικής παραγωγικότητας σπόρου (PFPseed)	95
3.2.9.2	Συντελεστής Μερικής παραγωγικότητας βιομάζας (PFPbiomass)	95
3.2.9.3	Δείκτης ισοζυγίου έντασης αζώτου (NBI)	95
3.2.9.4	Δείκτης αποδοτικότητας χρήσης αζώτου καλλιέργειας (NUEcrop).....	95
3.2.9.5	Συντελεστής μερικού ισοζυγίου αζώτου (PNB)	95
3.2.9.6	Αγρονομική Αποδοτικότητα (AE).....	96
3.2.9.7	Αποδοτικότητα ανάκτησης αζώτου (REfertN)	96
3.2.10	Δείκτες βασισμένοι στο φυτό	97

3.2.10.1	Δείκτης φυσιολογικής απόδοσης (PE)	97
3.2.10.2	Δείκτης αποδοτικής αξιοποίησης αζώτου (NUtE).....	97
3.2.10.3	Δείκτης εσωτερικής αποδοτικότητας (IE)	97
3.2.10.4	Δείκτης συγκομιδής αζώτου (NHI).....	97
3.2.10.5	Δείκτης αποδοτικότητας χρήσης αζώτου εδάφους (NUEsoil)	98
3.2.11	Δείκτες βασισμένοι στο έδαφος	99
3.2.11.1	Δείκτης αποδοτικότητας πρόσληψης αζώτου (N Uptake Efficiency- NUPE)	99
3.2.11.2	Δείκτης αποδοτικότητας αζώτου εσοδείας (NUEyield)	99
3.2.11.3	Ισοζύγιο αποδοτικότητας χρήσης αζώτου (NUEbalance)	99
3.2.12	Δείκτες βασισμένοι στην οικολογία	100
3.2.12.1	Παραγωγικότητα Αζώτου (NP).....	100
3.2.12.2	Οικολογική αποδοτικότητα χρήσης αζώτου (NUEecology)	101
3.3	Συζήτηση	102
3.4	Συμπέρασμα.....	107
4.	Σύγκριση επίδρασης βιολογικής - ανόργανης λίπανσης και αξιολόγηση υψηλής αλατότητας στην ποιότητα ζωοτροφής τριγωνέλλας.....	110
4.1	Εισαγωγή.....	110
4.1.1	Η σημαντικότητα της τριγωνέλλας ως ζωοτροφή	110
4.1.1	Παράγοντες που επηρεάζουν την χορτονομή τριγωνέλλας.....	111
4.2	Σκοπός μελέτης.....	112
4.3	Υλικά και Μέθοδοι	113
4.3.1	Περιεκτικότητα αζώτου - πρωτεΐνης	113
4.3.2	Απόδοση σε πρωτεΐνη	114
4.3.3	Τέφρα.....	114
4.3.4	Ξηρά ουσία (ΞΟ).....	115
4.3.5	Λιπαρές ουσίες	116
4.3.6	Ινώδεις Ουσίες.....	116
4.3.7	Αντιδιαιτητικοί παράγοντες Acid Detergent Fiber (ADF) και Neutral Detergent Fiber (NDF)	117
4.3.8	Πεπτικότητα ξηρής ύλης (Digestible Dry Matter - DDM).....	118
4.3.9	Πρόσληψη ξηρής ύλης (Dry Matter Intake as a percent of body weight - DMI)	118
4.3.10	Σχετική αξία ζωοτροφών (Relative Feed Value - RFV)	119
4.3.11	Στατιστική ανάλυση	119
4.4	Αποτελέσματα.....	119
4.4.1	Σπόρος	119
4.4.1.1	Πρωτεΐνη σπόρου (%).....	119
4.4.1.2	Απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου (kg ha ⁻¹)	119
4.4.1.3	Τέφρα σπόρου	120
4.4.1.4	ΞΟ σπόρου	120
4.4.1.5	Λιπαρές ουσίες σπόρου.....	120
4.4.1.6	Ινώδεις ουσίες σπόρου	120
4.4.2	Φυτικός ιστός.....	121
4.4.2.1	Πρωτεΐνη σε φυτικό ιστό	121
4.4.2.2	Απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού	122
4.4.2.3	Τέφρα φυτικού ιστού.....	122
4.4.2.4	ΞΟ φυτικού ιστού.....	122
4.4.2.5	Λιπαρές ουσίες φυτικού ιστού	123

4.4.2.6	ADF φυτικού ιστού (%).....	123
4.4.2.7	NDF φυτικού ιστού (%)	123
4.4.2.8	Πεπτικότητα ξηρής ύλης φυτικού ιστού (DDM)	124
4.4.2.9	Πρόσληψη ξηρής ύλης (DMI).....	125
4.4.2.10	Σχετική αξία ζωοτροφών (RFV)	125
4.5	Συζήτηση	126
4.6	Συμπεράσματα	128
5.	Επίδραση λίπανσης και αλατότητας στις χημικές ιδιότητες εδάφους και στην πρόσληψη ιχνοστοιχείων από σπόρο και φυτικό ιστό τριγωνέλλας	130
5.1	Εισαγωγή.....	130
5.1.1	Εδαφικές ιδιότητες	130
5.1.2	Θρεπτικά μακροστοιχεία	131
5.1.3	Σκοπός μελέτης.....	132
5.2	Υλικά και μέθοδοι.....	133
5.2.1	Σχεδιασμός πειράματος.....	133
5.2.2	Παρατηρήσεις και μετρήσεις.....	133
5.2.2.1	Εδαφικές αναλύσεις	133
5.2.2.1.1	Φωσφορικά	133
5.2.2.1.2	Ηλεκτρική αγωγιμότητα (E.C.)	133
5.2.2.1.3	Ολικό Ανθρακικό Ασβέστιο (Ολικό CaCO ₃)	133
5.2.2.1.4	Ενεργό Ανθρακικό Ασβέστιο (Ενεργό CaCO ₃)	133
5.2.2.1.5	Αναλογία ανταλλάξιμου νατρίου (Exchangeable sodium ratio - ESR)	133
5.2.2.2	Αναλύσεις μακροστοιχείων- ιχνοστοιχείων.....	134
5.2.2.2.1	Άζωτο (N)	134
5.2.2.2.2	Ασβέστιο (Ca).....	134
5.2.2.2.3	Κάλιο (K)	134
5.2.2.2.4	Σίδηρος (Fe)	134
5.2.2.2.5	Φώσφορος (P).....	134
5.2.2.2.6	Μαγνήσιο (Mg, %)	134
5.2.3	Στατιστική ανάλυση	134
5.3	Αποτελέσματα.....	134
5.3.1	Εδαφικές αναλύσεις	134
5.3.1.1	Φωσφορικά εδάφους	135
5.3.1.2	E.C.	136
5.3.1.3	Ολικό CaCO ₃	136
5.3.1.4	Ενεργό CaCO ₃	137
5.3.1.5	Αναλογία ανταλλάξιμου νατρίου (ESR)	138
5.3.2	Αναλύσεις μικροστοιχείων και ιχνοστοιχείων σπόρου	138
5.3.2.1	Περιεκτικότητα N σπόρου	139
5.3.2.2	Περιεκτικότητα Ca σπόρου	139
5.3.2.3	Περιεκτικότητα K σπόρου	140
5.3.2.4	Περιεκτικότητα Fe σπόρου	141
5.3.2.5	Περιεκτικότητα P σπόρου	141
5.3.2.6	Περιεκτικότητα Mg σπόρου	142
5.3.3	Αναλύσεις μικροστοιχείων και ιχνοστοιχείων φυτού	142
5.3.3.1	Περιεκτικότητα N φυτού.....	143
5.3.3.2	Περιεκτικότητα Ca φυτού	144

5.3.3.3	Περιεκτικότητα Κ φυτού	144
5.3.3.4	Περιεκτικότητα Fe φυτού	145
5.3.3.5	Περιεκτικότητα Ρ φυτού	146
5.3.3.6	Περιεκτικότητα Mg φυτού	146
5.4	Συζήτηση	147
5.5	Συμπεράσματα	152
6.	Επίδραση λίπανσης και αλατότητας στις φυσικές ιδιότητες εδάφους και στο ριζικό σύστημα	155
6.1	Εισαγωγή.....	155
6.1.1	Μηχανισμοί βελτίωσης εδάφους με προσθήκη βιολογικής λίπανσης	155
6.1.2	Ριζικό σύστημα	156
6.1.3	Σκοπός μελέτης.....	157
6.2	Υλικά και Μέθοδοι	158
6.2.1	Σχεδιασμός πειράματος.....	158
6.2.2	Παρατηρήσεις και μετρήσεις.....	158
6.2.2.1	Εδαφικές αναλύσεις	158
6.2.2.1.1	Πορώδες (%)	158
6.2.2.1.2	Ριζικό σύστημα	159
6.2.2.1.3	Επιφάνεια ρίζας	160
6.2.2.1.4	Μέση διάμετρος ρίζας.....	160
6.2.2.1.5	Όγκος ρίζας.....	161
6.2.2.1.6	Μήκος ρίζας.....	161
6.2.2.1.7	Αριθμός φυματίων.....	161
6.2.3	Στατιστική ανάλυση	161
6.3	Αποτελέσματα.....	161
6.3.1	Πορώδες εδάφους (%).....	162
6.3.2	Επιφάνεια ρίζας	162
6.3.3	Μέση διάμετρος ρίζας	163
6.3.4	Όγκος ρίζας	164
6.3.5	Μήκος ρίζας	165
6.2.1	Αριθμός φυματίων.....	165
6.4	Συζήτηση	167
6.5	Συμπεράσματα	170
7.	Μεταβολομική ανάλυση εκχυλισμάτων του είδους <i>Trigonella foenum-graecum</i> με χρήση NMR.....	173
7.1	Εισαγωγή.....	173
7.2	Σκοπός μελέτης.....	173
7.3	Υλικά και μέθοδοι.....	174
7.3.1	Πειραματικό σχέδιο και φυτικό υλικό	174
7.3.2	Προετοιμασία δειγμάτων	174
7.3.2.1	Κωδικοποίηση δειγμάτων.....	174
7.3.2.2	Ζύγιση και Κονιοποίηση δειγμάτων	174
7.3.3	Τεχνικές εκχύλισης: Εκχύλιση υποβοηθούμενη με Υπέρηχους (UAE).....	174
7.3.4	Χρωματογραφικές τεχνικές: Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας υψηλής απόδοσης (HPTLC).....	176
7.3.5	Φασματοσκοπικές τεχνικές: Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR).....	177
7.3.6	Διαλύτες.....	177

7.4	Αποτελέσματα	177
7.4.1	Εκχυλίσεις σπόρων και υπέργειων φυτικών τμημάτων	177
7.4.2	Έλεγχος φυτοχημικού προφίλ με HPTLC	178
7.4.2.1	Φυτοχημικό προφίλ εξανικών εκχυλισμάτων σπόρου	178
7.4.2.2	Φυτοχημικό προφίλ μεθανολικών εκχυλισμάτων σπόρου	180
7.4.2.3	Φυτοχημικό προφίλ υδατο-μεθανολικών εκχυλισμάτων φυτικών ιστών.....	182
7.4.3	Φασματοσκοπία πηληνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)	184
7.4.3.1	Προετοιμασία δειγμάτων	184
7.4.3.2	Προεπεξεργασία φασματικών δεδομένων NMR για Μεταβολομική Ανάλυση	185
7.4.3.3	Αποτελέσματα φασματοσκοπίας NMR εκχυλισμάτων σπόρου	186
7.4.3.4	Πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση (NMR) των δειγμάτων των σπόρων.....	187
7.4.3.5	Αποτελέσματα φασματοσκοπίας NMR εκχυλισμάτων φυτικών ιστών.....	189
7.4.4	Πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση (NMR) των φυτικών ιστών.....	190
7.5	Συμπεράσματα	192
8.	Επίδραση Λίπανσης (Βιολογικής και Ανόργανης) και Αλατότητας στο Μεταβολισμό Φυτών Τριγωνέλλας	195
8.1	Εισαγωγή	195
8.2	Σκοπός μελέτης	195
8.3	Υλικά και μέθοδοι	196
8.3.1	Σχεδιασμός πειράματος.....	196
8.3.2	Ανάλυση μεταβολομικής χρωματογραφίας αερίων-ηλεκτρονικής πρόσκρουσης-φασματομετρίας μάζας (GC/EI/MS) τριγωνέλλας.....	196
8.3.2.1	Χημικές ουσίες και αντιδραστήρια.....	196
8.3.2.2	Δειγματοληψία και προετοιμασία φύλλων για μεταβολομική ανάλυση.....	196
8.3.2.3	Αναλύσεις αερίου χρωματογραφίας – κρούσης ηλεκτρονίων – φασματομετρίας μάζας (GC/EI/MS) και βιοπληροφορική ανάλυση	197
8.3.3	Στατιστική ανάλυση	197
8.4	Αποτελέσματα και συζήτηση	198
8.4.1	Γενική επισκόπηση μεταβολομικής ανάλυση GC/EI/MS.....	198
8.4.2	Επίδραση παραγόντων στην περιεκτικότητα των φύλλων τριγωνέλλας σε επιλεγμένους μεταβολίτες	202
8.4.2.1	Υδατάνθρακες.....	202
8.4.2.2	Κύκλος Krebs.....	205
8.4.2.3	Καρβολικά οξέα, λιπαρά οξέα και επιλεγμένοι μεταβολίτες	208
8.4.2.4	Αμινοξέα	215
8.5	Συμπεράσματα	222
9.	Γενικά συμπεράσματα και πρωτοτυπία διατριβής	224
10.	Βιβλιογραφία	226

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1-1 Οι βασικές αρχές του Βιοκυκλικού-vegan προτύπου γεωργίας.....	34
Πίνακας 2-1 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά πειραματικού αγρού πριν από την εγκατάσταση του πειράματος	49
Πίνακας 2-2 Η συστηματική ταξινόμηση της τριγωνέλλας	51
Πίνακας 2-3 Χαρακτηριστικά βιοκυκλικού-vegan χουμοχώματος	52
Πίνακας 2-4 Χαρακτηριστικά κοπριάς.....	53
Πίνακας 2-5 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην ανάδυση φυταρίων, ύψος φυτών 90, 110, 130 ΗΑΣ και αριθμό βλαστών ανά φυτό 90, 110, 130 ΗΑΣ.....	63
Πίνακας 2-6 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στον αριθμό φύλλων ανά φυτών για 90, 110, 130 ΗΑΣ, το ξηρό βάρος φυτού 90, 110 και 130 ΗΑΣ (g).....	64
Πίνακας 2-7 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: Farm Yard Manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Absolute Growth Rate (AGR) 90-110 110-130, 90-130 ΗΑΣ, Net Assimilation Rate (NAR) 90-110, 110-130, 90-130, Leaf area (LA) 90, 110, 130 ΗΑΣ.....	66
Πίνακας 2-8 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Leaf Area Ratio (LAR) 90, 110, 130 ΗΑΣ, Relative Growth Rate (RGR) 90- 110, 110-130, 90-130 ΗΑΣ.....	68
Πίνακας 2-9 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Leaf Area Index (LAI) 90, 110, 130 ΗΑΣ, Leaf Area Duration (LAD) 90- 110, 110- 130, 90- 130.	69
Πίνακας 2-10 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στον αριθμό ανθών 90, 110 ΗΑΣ, αριθμό λοβών ανά φυτό 110, 130 ΗΑΣ, αριθμό διπλών λοβών ανά φυτό 110, 130 ΗΑΣ, μήκος λοβού 110, 130 ΗΑΣ και αριθμό σπόρων ανά λοβό 110, 130 ΗΑΣ.	72
Πίνακας 2-11 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο βάρος λοβών ανά φυτό 90, 110, 130 ΗΑΣ, απόδοση σε βιομάζα, απόδοση σε σπόρους, Βάρος Χιλίων Σπόρων (ΒΧΣ), Harvest Index (HI), Translocation percentage (TP), Dry Matter Efficiency (DME) και Unit area efficiency (UAE).	75
Πίνακας 3-1 Ανάλυση Two-way ANOVA της επίδρασης της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: com-232 post, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο ολικό εδαφικό άζωτο εδάφους (STN), την ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (IAK) και την οργανική ουσία εδάφους (SOM).	94
Πίνακας 3-2 Ανάλυση Two-way ANOVA για την επίδρασης της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) σε δείκτες με βάση τη λίπανση· Partial-factor Seed Productivity (PFPseed), Partial-factor Biomass Productivity (PFPbiomass), N Balance Intensity (NBI), NUEcrop, Partial N Balance (PNB), Agronomic Efficiency (AE), and Fertilizer-N Recovery Efficiency (REfertN)	96
Πίνακας 3-3 Ανάλυση Two-way ANOVA για την επίδρασης της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) σε δείκτες με βάση τη λίπανση· Physiological Efficiency (PE), N Utilization Efficiency (NutE), Internal Efficiency (IE), N Harvest Index (NHI), NUEsoil.	98
Πίνακας 3-4 Ανάλυση Two-way ANOVA για την επίδρασης της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) σε δείκτες με βάση το έδαφος· N Uptake Efficiency (NUpE), NUEyield, NUEbalance	100

Πίνακας 3-5 Ανάλυση Two-way ANOVA για την επίδρασης της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) σε δείκτες με βάση την οικολογία Nitrogen Productivity (NP), and NUEecology... 101	101
Πίνακας 4-1 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil , COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην πρωτεΐνη σπόρου (%), απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου (kg ha^{-1}), τέφρα σπόρου, ξηρά ουσία σπόρου (%), λιπαρές ουσίες σπόρου και ινώδεις ουσίες σπόρου 121	121
Πίνακας 4-2 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην πρωτεΐνη φυτικού ιστού (%), απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού (kg ha^{-1}), τέφρα φυτικού ιστού, ξηρά ουσία φυτικού ιστού (%), λιπαρές ουσίες φυτικού ιστού (%), ADF φυτικού ιστού (%) και NDF φυτικού ιστού (%) 124	124
Πίνακας 4-3 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στους δείκτες Πεπτικότητα ξηρής ύλης φυτικού ιστού (DDM), πρόσληψη ξηρής ύλης (DMI) και Σχετική αξία ζωοτροφών (RFV) 125	125
Πίνακας 5-1 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στα χαρακτηριστικά του εδάφους (φωσφορικά, ΙΑΚ, E.C.,ολικό CaCO_3 ,ενεργό CaCO_3 , ESR). 135	135
Πίνακας 5-2 Ανάλυση two-way ANOVA για τους N, Ca, K, Fe, P και Mg σπόρου για τις 3 ΚΠ σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ 138	138
Πίνακας 5-3 Ανάλυση two-way ANOVA για τους N, Ca, K, Fe, P και Mg φυτού για τις 3 ΚΠ σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ 143	143
Πίνακας 6-1 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο πορώδες του εδάφους, οργανικής ουσίας εδάφους..... 162	162
Πίνακας 6-2 Two-way ANOVA analysis της επίδρασης λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil , COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure , NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην επιφάνεια και μέση διάμετρο ρίζας για 90, 110 και 130 ΗΑΣ. 163	163
Πίνακας 6-3 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στον όγκο ρίζας στις 90, 110, 130 ΗΑΣ. 164	164
Πίνακας 6-4 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο μήκος της ρίζας και στον αριθμό φυματίων στις 90, 110 και 130 ΗΑΣ..... 166	166
Πίνακας 7-1 Κωδικοποίηση και αρίθμηση δειγμάτων υπέργειου φυτικού υλικού και σπόρου..... 174	174
Πίνακας 7-3 Απόδοση επί τις εκατό σε ξηρό βάρος των εκχυλισμάτων..... 178	178

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1-1 Τριγωνέλλα στην αρχή της άνθησης.....	23
Εικόνα 1-2 Λοβοί τριγωνέλλας	24
Εικόνα 1-3 Ωριμασμένοι σπόροι τριγωνέλλας.....	24
Εικόνα 1-4 De materia medica, fenugreek (Popova, 2017)	26
Εικόνα 1-5 Biocyclic-Vegan Standards label.....	32
Εικόνα 2-1 Γεωγραφική εξάπλωση του γένους <i>Trigonella</i> (γκρι χρώματισμός) (Ranjbar & Zahra, 2016.....	42
Εικόνα 2-2 Το πειραματικό τεμάχιο, με συντεταγμένες 37° 59' 01.93'' N, 23° 42' 07.39'' E και 28.04 m υψόμετρο, όπου καλλιεργήθηκε η τριγωνέλλα για 3 επί συναπτά έτη.	48
Εικόνα 2-3 Ο πειραματικός αγρός.....	50
Εικόνα 2-4 Η χάραξη του πειράματος και σπορά	51
Εικόνα 2-5 Προετοιμασία εδάφους, εδαφοκαλλιεργητής	54
Εικόνα 2-6 Συσσκευή LAI	56
Εικόνα 2-7 Φυτό τριγωνέλλας, διακρίνονται ο διπλός λοβός	58
Εικόνα 2-8 Συγκομιδή	59
Εικόνα 4-1 Αυτόματη συσκευή Foss - Kjeltec 8400	114
Εικόνα 4-2 Συσσκευή SOXTEC AVANTI 2055.....	116
Εικόνα 6-1 Εδαφολήπτης.....	159
Εικόνα 6-2 Root- washer και τελικός διαχωρισμός- συλλογή ριζών	159
Εικόνα 6-3 Το πρόγραμμα DT- Scan	160
Εικόνα 6-4 Αποτελέσματα από το πρόγραμμα DT- Scan.....	160
Εικόνα 6-5 Ανάλυση μήκους εικόνας	161
Εικόνα 7-1 Πορεία επεξεργασίας όλων των δειγμάτων	175
Εικόνα 7-2 Πορεία εκχυλίσεων (Ζύγιση- Κοινοποίηση- Προσθήκη διαλύτη- Λουτρό υπερήχων- Φυγοκέντρηση- Διήθηση- Συμπύκνωση)	175
Εικόνα 7-3 Εξοπλισμός HPTLC CAMAG	176
Εικόνα 7-4 Χρωματογραφήματα HPTLC των εξανικών εκχυλισμάτων σπόρου τριγωνέλλας σε TLC κανονικής φάσης. Παρατήρηση α) στα 254 nm, b) στα 366 nm, c) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θεικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: toluene: EtOAc σε αναλογία 95:5.	179
Εικόνα 7-5 TLC παλιών (αριστερά) και νέων (δεξιά) εξανικών εκχυλισμάτων σπόρου TFG σε TLC κανονικής φάσης, toluene:EtOAc (95:5) και παρατήρηση στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θεικής βανιλίνης..	180
Εικόνα 7-6 Χρωματογραφήματα HPTLC των μεθανολικών εκχυλισμάτων σπόρου του φυτού τριγωνέλλας σε TLC κανονικής φάσης. Παρατήρηση α) στα 254 nm, b) στα 366 nm, c) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θεικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: EtOAc:MeOH:H ₂ O:FA με αναλογία 50:10:7:1	181
Εικόνα 7-7 Χρωματογραφήματα HPTLC των μεθανολικών εκχυλισμάτων σπόρου του φυτού <i>Trigonella foenum-graecum</i> σε TLC αντίστροφης φάσης. Παρατήρηση α)στα 254 nm, b) στα 366 nm, c) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θεικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: H ₂ O:ACN με αναλογία 72:28	182
Εικόνα 7-8 Χρωματογραφήματα HPTLC των εκχυλισμάτων φυτικών ιστών τριγωνέλλας σε TLC κανονικής φάσης. Παρατήρηση α) στα 254 nm, b) στα 366 nm, c) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θεικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: EtOAc:MeOH:H ₂ O:FA με αναλογία 50:10:7:1	183
Εικόνα 7-9 Χρωματογραφήματα HPTLC των υδατο-μεθανολικών εκχυλισμάτων των φυτικών τμημάτων τριγωνέλλας σε TLC αντίστροφης φάσης. Παρατήρηση α) στα 254 nm, b) στα 366 nm, c) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θεικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: H ₂ O:ACN με αναλογία 72:28.	184
Εικόνα 7-10 Επέμβαση ευθυγράμμισης κορυφών στα φασματικά δεδομένα των υπέργειων φυτικών τμημάτων. Αριστερά πριν την εφαρμογή της ευθυγράμμισης. Δεξιά μετά την εφαρμογή της ευθυγράμμισης.	186
Εικόνα 7-11 (α) Φάσμα NMR του δείγματος σπόρου TFGS10, (b) Φάσμα NMR του συνόλου των δειγμάτων σπόρων, τοποθετημένα διαδοχικά το ένα κάτω από το άλλο	187
Εικόνα 7-12 Διάγραμμα συντεταγμένων α) PCA, b) PLS-DA των φασματικών δεδομένων NMR των σπόρων με κλιμάκωση Pareto και χρωματισμό με βάση την καλλιεργητική μέθοδο	189

Εικόνα 7-13 α) Φάσμα ¹ H NMR φυτικού υλικού TFGA06, 190 ΗΑΣ β) Φάσμα NMR του δείγματος υπέργειου φυτικού υλικού TFGA18, 217 ΗΑΣ γ) Φάσματα NMR του συνόλου των δειγμάτων των φυτικών ιστών τοποθετημένα το ένα κάτω από το άλλο.....	190
Εικόνα 7-14 α) Διάγραμμα συντεταγμένων PCA των φασματικών δεδομένων NMR των υπέργειων φυτικών τμημάτων με κλιμάκωση Pareto και χρωματισμό με βάση την ημερομηνία δειγματοληψίας β) Διάγραμμα συντεταγμένων PCA των φασματικών δεδομένων NMR των φυτικών ιστών με κλιμάκωση Pareto και χρωματισμό ανά επέμβαση σε συνδυασμό με την ημερομηνία δειγματοληψίας γ) Διάγραμμα συντεταγμένων PLS-DA των φασματικών δεδομένων NMR των υπέργειων φυτικών ιστών με κλιμάκωση Pareto και χρωματισμό ανά επέμβαση και σε συνδυασμό με την ημερομηνία δειγματοληψίας	192

Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 2-1 Πειραματικό σχέδιο τριγωνέλλας	50
Διάγραμμα 2-2 Κλιματολογικές συνθήκες πειραματικών χρόνων.....	61
Διάγραμμα 3-1 Πίνακας συσχέτισης Pearson με τιμές r και p μεταξύ των δεικτών αζώτου και των χαρακτηριστικών του εδάφους.....	104
Διάγραμμα 5-1 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στα φωσφορικά εδάφους. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	135
Διάγραμμα 5-2 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην E.C.. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.....	136
Διάγραμμα 5-3 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Ολικό CaCO ₃ . Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.....	137
Διάγραμμα 5-4 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Ενεργό CaCO ₃ . Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.....	137
Διάγραμμα 5-5 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο δείκτη ESR. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.....	138
Διάγραμμα 5-6 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις N σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	139
Διάγραμμα 5-7 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Ca σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	140
Διάγραμμα 5-8 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις K σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	140

Διάγραμμα 5-9 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Fe σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	141
Διάγραμμα 5-10 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις P σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	142
Διάγραμμα 5-11 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Mg σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	142
Διάγραμμα 5-12 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις N φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	143
Διάγραμμα 5-13 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Ca φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	144
Διάγραμμα 5-14 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις K φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	145
Διάγραμμα 5-15 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Fe φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	145
Διάγραμμα 5-16 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις P φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	146
Διάγραμμα 5-17 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Mg φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.	147
Διάγραμμα 5-18 Πίνακας συσχέτισης Pearson με τιμές r και p μεταξύ των χαρακτηριστικών του εδάφους και των ιχνοστοιχείων και μακροστοιχείων φυτικού ιστού και σπόρου	148
Διάγραμμα 6-1 Πίνακας συσχέτισης Pearson με τιμές r και p μεταξύ των χαρακτηριστικών του εδάφους και της ρίζας.....	168
Διάγραμμα 8-1 OPLS-DA score plot για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/EI/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity). Η έλλειψη αντιπροσωπεύει το Hotelling's T2 σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%. PC: Κύριες Συνιστώσες, Principal Component.....	199
Διάγραμμα 8-2 Το δενδρόγραμμα ιεραρχικής ανάλυσης κατά συστάδες (Hierarchical Cluster Analysis, HCA dendrogram) για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/EI/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity).....	199

Διάγραμμα 8-3 OPLS-DA score plot για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/EI/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity). Η έλλειψη αντιπροσωπεύει το Hotelling's T2 σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%. PC: Κύριες Συνιστώσες, Principal Component.	200
Διάγραμμα 8-4 OPLS-DA score plot για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/EI/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και την επέμβαση HS: high salinity. Η έλλειψη αντιπροσωπεύει το Hotelling's T2 σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%. PC: Κύριες Συνιστώσες, Principal Component.	200
Διάγραμμα 8-5 OPLS-DA score plot για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/EI/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και την επέμβαση CS: conventional salinity. Η έλλειψη αντιπροσωπεύει το Hotelling's T2 σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%. PC: Κύριες Συνιστώσες, Principal Component.	201
Διάγραμμα 8-6 Vnr plot των μεταβολιτών των φυτών τριγωνέλλας.	201
Διάγραμμα 8-7 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα α-α-Trehalose (A) και Μγo-Inositol (B) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$	204
Διάγραμμα 8-8 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα Citric Acid (A) και Fumaric Acid (B) Malic Acid (C) και Shikimic Acid (D) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$	208
Διάγραμμα 8-9 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα Adenosine (A), a-Linolenic acid (B), Pantothenic acid (C), Histamine (D), Niacin (E) και Ascorbic acid (F) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$	212
Διάγραμμα 8-10 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα Traumatic Acid (A) και Uridine (B) και Trigonelline (C) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$	215
Διάγραμμα 8-11 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα b-alanine (A), Glycine (B), L- Proline (C), L-Serine (D), και L-Valine(E) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$	219
Διάγραμμα 8-12 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα L-alanine (A), L-Asparagine (B), L- Aspartic acid (C), L-Glutamic acid (D), και L-Glutamine (E) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$	220
Διάγραμμα 8-13 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα L-Homoserine (A), L-Isoleucine (B), L- Leucine (C), L-Methionine (D), L-Threonine (E) και L-Tryptophan (F) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$	221

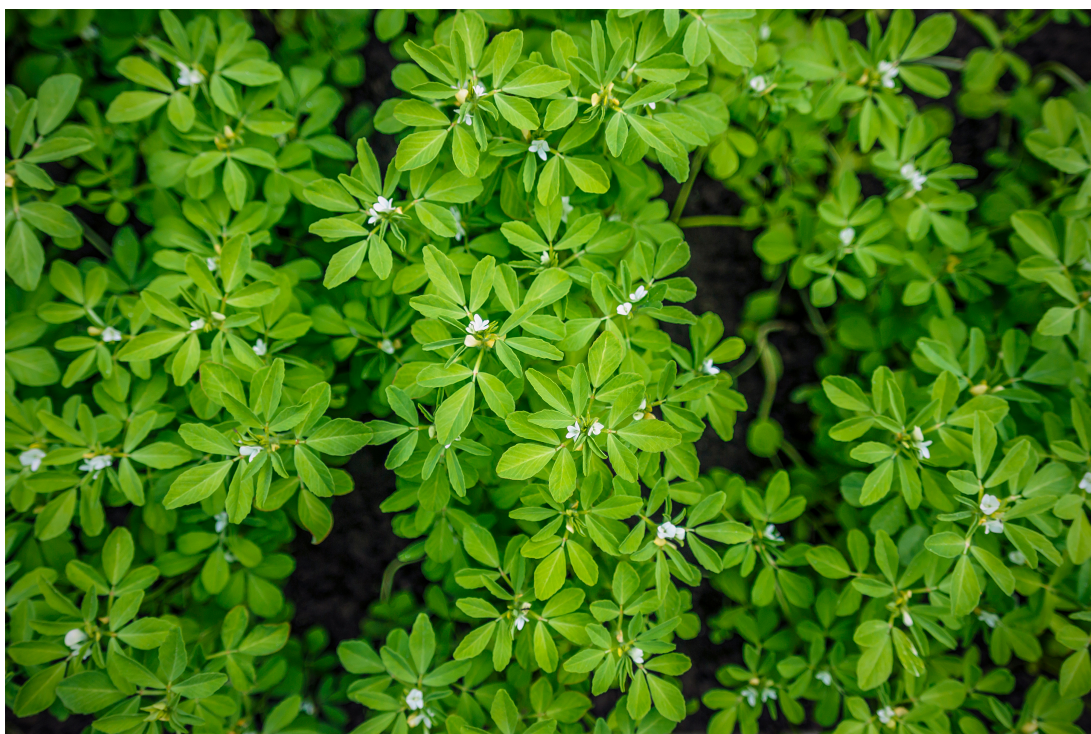
1 Βιβλιογραφική ανασκόπηση

1.1 Η τριγωνέλλα, σύντομη περιγραφή και χρήσεις

Η τριγωνέλλα (*Trigonella foenum-graecum* L.) είναι ένα αρωματικό, φαρμακευτικό φυτό και πλούσιο σε πολλά φυτοχημικά στοιχεία [1-4]. Η έρευνα έχει αναδείξει τη σημαντική ιστορική χρήση της τριγωνέλλας ως παραδοσιακού φαρμακευτικού βοτάνου με πολλαπλές εφαρμογές. Έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στα Ινδικά συστήματα Ayurvedic, καθώς και στις παραδοσιακές Κινεζικές και Θιβετιανές ιατρικές πρακτικές για τη θεραπεία ανθρώπων και ζώων επί αιώνες [5-8]. Επιπλέον, αναγνωρίζεται ως φαρμακευτικό βότανο σε σημαντικούς αρχαίους πολιτισμούς της Ευρασιατικής περιοχής, όπως οι Κινέζικοι πολιτισμοί και οι πολιτισμοί της κοιλάδας του Ινδού [5-8].

Το όνομα του είδους «foenum-graecum» μεταφράζεται ως «ελληνικό σανό», υποδηλώνοντας ότι η τριγωνέλλα ήταν γνωστή ως κτηνοτροφική καλλιέργεια ακόμη και στο μακρινό παρελθόν [1, 2, 9-13].

Η τριγωνέλλα είναι ένα αυτογονιμοποιούμενο φυτό με συνεχή αναπτυξιακή συνήθεια, γεγονός που υποδηλώνει ότι το φυτό αναπτύσσεται καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου [4, 5, 9, 14]. Το φυτό της τριγωνέλλας είναι πώδες, όρθιας ανάπτυξης που ποικίλλει σε ύψος ανάλογα με την καλλιέργεια και την ποικιλία. Σημειώνεται ότι το ύψος του φυτού σε ξηρική καλλιέργεια είναι μικρότερο σε σύγκριση με το ύψος της αρδευόμενης. Οι λεπτοί βλαστοί της τριγωνέλλας είναι όρθιοι, κοίλοι, με σκούρα ανθοκυανίνη ή εντελώς πράσινοι και φέρουν ανοιχτοπράσινα σύνθετα τρίφυλλα φύλλα με ωχροκίτρινα έως λευκά μικρά άνθη που είναι είτε τερματικά είτε μασχαλιαία (Εικόνα 1-1).



Εικόνα 1-1 Τριγωνέλλα στην αρχή της άνθησης



Εικόνα 1-2 Λοβοί τριγωνέλλας

γίνουν αντιληπτές με τη χρήση τεχνολογίας ή ειδικών εργαλείων. Οι λοβοί είναι πρασινωποί έως ελαφρώς πορφυροί όταν είναι νέοι και καφέ στην ωριμότητα [5, 16].

Οι σπόροι τριγωνέλλας είναι μικροί, με μήκος περίπου 2-3 χιλιοστά, έχουν ένα ακανόνιστο, ελαφρώς κυβικό ή ρομβοειδές σχήμα και το χρώμα τους κυμαίνεται από κίτρινο-καφέ έως σκούρο καφέ. Η επιφάνειά τους είναι λεία, αλλά μπορεί να έχει μικρές ραβδώσεις ή ανωμαλίες (Εικόνα 1-3) [4, 17].

Η τριγωνέλλα, αν και ξηρική καλλιέργεια, μπορεί να καλλιεργηθεί με επιτυχία και υπό άρδευση για την παραγωγή χορτονομής και σπόρων [6]. Εξαιτίας της ικανότητας του φυτού να δεσμεύει ατμοσφαιρικό άζωτο μέσω φυματίων, εγκαθίσταται εύκολα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο σε μεγάλους όσο και σε σύντομους κύκλους αμειψισποράς με άλλες τοπικές καλλιέργειες για τη διατήρηση και βελτίωση των επιπέδων αζώτου στο έδαφος, προσφέροντας οικολογικά οφέλη και βελτίωση της ποιότητας του εδάφους για άλλες καλλιέργειες. Ωστόσο, η καλλιέργεια είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε μυκητιασικές ασθένειες στα φύλλα, καθώς και σε ασθένειες του ωιδίου υπό υγρές συνθήκες [18]. Επιπλέον, ασθένειες από βακτήρια, ιούς και έντομα μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την παραγωγικότητά της. Η τριγωνέλλα μπορεί να ανταγωνιστεί τα ζιζάνια αρκετές εβδομάδες μετά την σπορά αφού τότε αναπτύσσει μεγάλο φύλλωμα. Η απόδοση της καλλιέργειας τριγωνέλλας μπορεί να επηρεαστεί από την ανταγωνιστική πίεση των ετήσιων ζιζανίων, επιδρώντας στην ποσότητα και ποιότητα των σπόρων ή της χορτονομής που παράγεται [5, 7, 16].

Εξαιτίας της απροσδιόριστης ανάπτυξής του, το φυτό συνεχίζει να αναπτύσσεται καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, γεγονός που το καθιστά ακατάλληλο για σύντομες καλλιεργητικές περιόδους. Γι' αυτό το λόγο έχουν αναπτυχθεί ποικιλίες κατάλληλες για σύντομες καλλιεργητικές περιόδους. Ένας τρόπος παραγωγής ποικιλιών με καθορισμένη



Εικόνα 1-3 Ωριμασμένοι σπόροι τριγωνέλλας

Το φυτό παράγει άφθονους επιμήκεις λοβούς που ποικίλλουν σε μήκος μεταξύ 10 και 15 cm και φέρουν κατά μέσο όρο 14 με 20 σπόρους. Επίσης, παρατηρούνται συχνά διπλοί λοβοί (**Error! Reference source not found.**) [2, 15]. Οι λοβοί έχουν μικρές κυρτές τρίχες στην επιφάνειά τους, οι οποίες συχνά δεν είναι ορατές με γυμνό μάτι, αλλά μπορούν να

αναπτυξιακή συνήθεια είναι η εφαρμογή μεταλλαξογόνων χημικών στον σπόρο (μεθανοσουλφονικός αιθυλεστέρας, διμεθυλοσουλφοξείδιο, χολχικίνη), ο οποίος προσφέρει επιπλέον μεγαλύτερους σπόρους, υψηλότερο αριθμό διπλών λοβών, υψηλότερα επίπεδα συστατικών σπορέλαιου και καλύτερο προφίλ αρκετών φυτοχημικών [8, 14, 15, 17, 19].

Επιπλέον, το φυτό παρουσιάζει ποικίλες αλληλεπιδράσεις με το περιβάλλον, με υψηλή παραγωγικότητα κάτω από διάφορες περιβαλλοντικές παραμέτρους, σε ποικίλες γεωγραφικές περιοχές και κλιματικές συνθήκες [11-13, 17].

Σήμερα, το φυτό χρησιμοποιείται κυρίως ως μπαχαρικό σε περιοχές της Νότιας Ασίας, της Μέσης Ανατολής, της Βόρειας Αφρικής και της Μεσογειακής Ευρώπης, και αποτελεί βασικό συστατικό του κάρυ της Ινδικής υποηπείρου [10-13]. Στην Ελλάδα, χρησιμοποιείται εκτενώς στην παραγωγή παστοურμά, καθώς αποτελεί συστατικό του τσιμενιού. Ως εκ τούτου, η τριγωνέλλα είναι ένα διαδεδομένο παραδοσιακό μπαχαρικό και αποτελεί ένα σημαντικό συστατικό της ευρέως διαδεδομένης Νοτιοασιατικής κουζίνας σε όλο το κόσμο.

Επίσης, η τριγωνέλλα καλλιεργείται ως κτηνοτροφή σε μέρη της Μεσογειακής Ευρασίας, της Ρωσίας, της Βόρειας Αφρικής, της Μέσης Ανατολής, της Ινδικής υποηπείρου και σε μέρη της Νότιας Ασίας [1-3]. Η τριγωνέλλα είναι ένα ετήσιο, κτηνοτροφικό ψυχανθές που ανήκει στην οικογένεια των ψυχανθών *Fabaceae* (Leguminosae). Στην ίδια οικογένεια ανήκει η μηδική (*Medicago sativa* L.), κοινώς γνωστή ως «Βασίλισσα των Ζωοτροφών». Η ποιότητα της ζωοτροφής της τριγωνέλλας είναι συγκρίσιμη με τη μηδική σε πρωτεΐνες, φυτικές ίνες, βιταμίνες και μέταλλα, και δεν προκαλεί φούσκωμα όπως πολλές ποικιλίες μηδικής λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε λιπαρά, ή άλλα συστατικά που μπορούν να επηρεάσουν την πέψη των ζώων. Το φυτό υποστηρίζει την ανάπτυξη των μυών και προάγει σημαντικό βάρος σφαγίου [20]. Μια επιπλέον χρήση της τριγωνέλλας, ως ετήσιο ψυχανθές, είναι για χλωρή λίπανση και για φυσικό εμπλουτισμό του εδάφους με άζωτο σε τοπικά συστήματα καλλιέργειας [21, 22].

Επιπρόσθετα, οι σπόροι και τα φύλλα της τριγωνέλλας περιέχουν φυτοχημικά συστατικά όπως φυτοστερόλες, φυτοιστρογόνα, φλαβονοειδή, πρωτεΐνες, αμινοξέα και άλλα ενεργά συστατικά με δυνητικές ιδιότητες που μπορεί να είναι ωφέλιμα για την υγεία του ανθρώπου [15, 23]. Η παρουσία φυτοχημικών συστατικών στην τριγωνέλλα έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον της βιομηχανίας τροφίμων για διάφορες εφαρμογές πέραν της παραγωγής χορτονομής και σπόρων ως άμεσα αγρονομικά προϊόντα, όπως η χρήση της σε λειτουργικές τροφές που, εκτός από τη διατροφική τους αξία, προσφέρουν επιπρόσθετα οφέλη για την υγεία, όπως προστασία από ασθένειες και βελτίωση της γενικής ευεξίας [8].

Οι σημαντικότερες φυτοχημικές ουσίες που έχουν εντοπιστεί στους σπόρους και στα φύλλα της τριγωνέλλας είναι [1, 17, 23, 24]:

1. Στεροειδής σαπωνίνη (διοσγενίνη, τιγογενίνη, *gamma*-ogen-in), οι οποίες έχουν αναφερθεί για τις πιθανές αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους, καθώς και για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος.

2. Φλαβονοειδή (τριγωνελλίνη), τα οποία έχουν συσχετιστεί με πολλαπλά οφέλη για την υγεία, συμπεριλαμβανομένων των αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων τους.

3. Αλκαλοειδή (fenugreekine), τα οποία έχουν μελετηθεί για τις πιθανές ευεργετικές επιδράσεις τους στην υγεία του ανθρώπου, όπως η ενίσχυση της μεταβολικής λειτουργίας.

4. Σύνθετοι υδατάνθρακες (galactommanan), οι οποίοι έχουν εντοπιστεί να έχουν πιθανές ευεργετικές επιδράσεις στον έλεγχο του σακχάρου και της χοληστερόλης.

5. Αμινοξέα (4-hydroxyisoleucine), τα οποία έχουν αναφερθεί για τις πιθανές ευεργετικές επιδράσεις τους στην αντιμετώπιση του διαβήτη.

Στη βιομηχανία τροφίμων, οι σπόροι της τριγωνέλλας χρησιμοποιούνται επιπλέον στην παραγωγή συνθετικού σιροπιού σφενδάμου [15, 25].

Οι ανωτέρω σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες ενισχύουν περαιτέρω τη σημασία της χρήσης του φυτού από τις παγκόσμιες φαρμακευτικές και διατροφικές βιομηχανίες [8]. Οι εν λόγω ιδιότητες δείχνουν την πολλά

υποσχόμενη φύση της τριγωνέλλας ως θεραπευτικό βότανο και ενισχύουν τη συνεχή έρευνα για τις ιδιότητές της και τις εφαρμογές της στον τομέα της ιατρικής.

1.2 Η τριγωνέλλα στην υγεία των γυναικών

Η τριγωνέλλα έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην παραδοσιακή και σύγχρονη ιατρική για την αντιμετώπιση διαφόρων γυναικολογικών προβλημάτων. Μία από τις θεραπευτικές της χρήσεις είναι η παραδοσιακή χρήση της ως γαλακταγωγό, για την αύξηση της παραγωγής γάλακτος σε θηλάζουσες μητέρες και στη βελτίωση της ανάπτυξης των βρεφών, το οποίο επιβεβαιώνεται από κλινικές μελέτες. Μία μελέτη περίπτωσης ανέφερε αύξηση στην παραγωγή γάλακτος σε θηλάζουσα μητέρα μετά από μία εβδομάδα χορήγησης τριγωνέλλας μαζί με συμβατικές θεραπείες [26].

Η τριγωνέλλα χρησιμοποιείται για τη θεραπεία πόνου, φλεγμονής και ενδομητρικών συμφύσεων, που είναι προβλήματα της μήτρας [29]. Επίσης, χρησιμοποιείται για την πρόκληση εμμήνου ρύσεως σε περιπτώσεις αμηνόρροιας [27] και για την ανακούφιση από τον πόνο της εμμηνόρροιας, γνωστή ως δυσμηνόρροια [28]. Μελέτες έχουν δείξει ότι δόσεις από 1800 έως 3000 mg τριγωνέλλας την ημέρα μειώνουν σημαντικά την ένταση και τη διάρκεια του πόνου της εμμηνόρροιας [30]. Στην Αγιουρβέδα, η τριγωνέλλα



Εικόνα 1-4 De materia medica, fenugreek (Popova, 2017)

χρησιμοποιείται ως τονωτικό του αίματος για τη θεραπεία της αναιμίας που προκύπτει από την εμμηνόρροια. Επιπλέον, η τριγωνέλλα έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τα συμπτώματα της εμμηνόπαυσης, όπως οι εξάψεις, όταν λαμβάνεται σε δοσολογίες από 500 έως 1000 mg εκχυλίσματος σπόρων την ημέρα ή έως 6 g σκόνης σπόρων

[31]. Ορισμένες μελέτες έχουν παρουσιάσει τα ευεργετικά αποτελέσματα της τριγωνέλλας σε ασθενείς με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, αν και απαιτούνται περισσότερες έρευνες για την επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας [32]. Αναφορικά με την ασφάλεια, η τριγωνέλλα δεν πρέπει να χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης λόγω πιθανών εκτροπικών και τερατογόνων ιδιοτήτων. Επίσης, άτομα με ιστορικό αλλεργιών σε φυτά της οικογένειας των οσπρίων, όπως τα φιστίκια, πρέπει να αποφεύγουν την τριγωνέλλα λόγω πιθανής διασταυρούμενης αντιδραστικότητας [33].

1.3 Κριτική στη βιολογική γεωργία

Η διαρκής αύξηση της ζήτησης των καταναλωτών για βιολογικά προϊόντα αποτελεί μια παγκόσμια τάση, με αποτέλεσμα οι πωλήσεις τους να έχουν τριπλασιαστεί από την αρχή του αιώνα [34]. Στη Σουηδία, οι πωλήσεις τροφίμων αυξήθηκαν κατά 18% το 2016 σε σύγκριση με το προηγούμενο έτος, με τα βιολογικά προϊόντα να αποτελούν το 8,7% των συνολικών πωλήσεων τροφίμων [35]. Στην Ελλάδα, η παραγωγή βιολογικών τροφίμων επικεντρώνεται σε συγκεκριμένα προϊόντα όπως βιολογικά φρούτα, σταφίδες, ελιές και ελαιόλαδο, κυρίως για εξαγωγή. Αντίθετα, οι εισαγωγές βιολογικών προϊόντων περιλαμβάνουν υψηλής ποιότητας μεταποιημένα και συσκευασμένα προϊόντα όπως φακές, ζάχαρη, δημητριακά, μαρμελάδες και σοκολάτες [27]. Παρά την αρχικά χαμηλή κατανάλωση, η ζήτηση για βιολογικά προϊόντα στην Ελλάδα παρουσιάζει αισιόδοξες προοπτικές και αναμένεται να συνεχίσει να αυξάνεται στο μέλλον.

Η βιολογική γεωργία προέκυψε ως αντίδραση στην εκβιομηχάνιση της γεωργίας και των σχετικών περιβαλλοντικών και κοινωνικών προβλημάτων, όπως η απώλεια βιοποικιλότητας, η ρύπανση του εδάφους και των υδάτων, η διάβρωση του εδάφους, η εξάρτηση από τα χημικά λιπάσματα και τα φυτοφάρμακα, καθώς και οι επιπτώσεις στην υγεία των αγροτών και των καταναλωτών. Η βιολογική γεωργία αποσκοπεί στην παραγωγή τροφίμων με μειωμένη χρήση χημικών λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων, ενώ προωθεί τη χρήση φυσικών μεθόδων για την πρόληψη ασθενειών.

Η σύγκριση μεταξύ βιολογικής και συμβατικής γεωργίας ως προς τα πλεονεκτήματά τους είναι ένα πολύπλοκο και πολυδιάστατο θέμα. Κάθε προσέγγιση έχει τους υποστηρικτές της, και οι διαφορές συχνά πηγάζουν από την ερμηνεία των επιστημονικών αποτελεσμάτων και των κριτηρίων αξιολόγησης. Μελέτες ισχυρίζονται ότι τα βιολογικά συστήματα γεωργίας είναι πιο κερδοφόρα και φιλικά προς το περιβάλλον [34], ενώ άλλες αμφισβητούν το ρόλο της βιολογικής γεωργίας σε μελλοντικά βιώσιμα συστήματα διατροφής [36].

Η κύρια κριτική της βιολογικής γεωργίας σε σύγκριση με τη συμβατική είναι η χαμηλότερη παραγωγικότητά της, καθώς συνδέεται σε μια εποχή που υπάρχει ανάγκη για αύξηση της παραγωγή τροφίμων με σκοπό να καλυφθεί η ζήτηση του αυξανόμενου παγκόσμιου πληθυσμού. Οι επικριτές της βιολογικής γεωργίας υποστηρίζουν ότι η χαμηλότερη απόδοση ανά εκτάριο απαιτεί περισσότερη γεωργική γη για την παραγωγή των ίδιων ποσοτήτων τροφίμων, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω επέκταση της γεωργικής γης εις βάρος των φυσικών οικοσυστημάτων, προκαλώντας περιβαλλοντικές επιπτώσεις [36, 37]. Από την άλλη πλευρά, οι επιστήμονες υποστηρίζουν την έννοια της «οικολογικής εντατικοποίησης» των

συστημάτων καλλιέργειας, η οποία αποσκοπεί στη βελτίωση της παραγωγικότητας της γεωργίας μέσω της χρήσης και διαχείρισης των οικοσυστημικών υπηρεσιών. Αυτή η προσέγγιση δεσμεύει τη βιοποικιλότητα και τις φυσικές διεργασίες για να αυξήσει την παραγωγή τροφίμων χωρίς την χρήση ανθρωπογενών (κυρίως χημικών) εισροών ή την αύξηση της γεωργικής γης, με ταυτόχρονη μείωση των περιβαλλοντικών πιέσεων [38, 39].

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η σύγκριση ανάμεσα στις δύο μεθόδους γεωργίας δεν είναι απόλυτη, και οι επιπτώσεις τους μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με το περιβάλλον, τις κλιματικές συνθήκες, τους πόρους και άλλους παράγοντες. Η διατροφική ασφάλεια, η βιωσιμότητα και η προστασία του περιβάλλοντος παραμένουν σημαντικά θέματα συζήτησης για τη βιολογική γεωργία έναντι της συμβατικής.

Σύμφωνα με τις αρχές της βιολογικής γεωργίας, οι στόχοι της δεν περιορίζονται μόνο στην παραγωγή τροφίμων, αλλά περιλαμβάνουν επίσης τη φροντίδα και την προστασία του περιβάλλοντος (περιοχές, κλίμα, βιότοποι, βιοποικιλότητα, αέρας και νερό) και την ευημερία των ανθρώπων και των ζώων [40-43]. Επομένως, είναι κρίσιμο να διερευνηθεί πώς η εστίαση αποκλειστικά στην αύξηση των αποδόσεων μπορεί να επηρεάσει την επίτευξη αυτών των ευρύτερων στόχων. Παρακάτω παρουσιάζονται κάποιες κριτικές πτυχές της βιολογικής γεωργίας.

1.3.1 Βιοποικιλότητα

Σημαντικές επιπτώσεις στην παγκόσμια βιοποικιλότητα προκύπτουν από την επέκταση της γεωργικής γης, τη μείωση της ετερογένειας του τοπίου, την αυξημένη χρήση λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων, καθώς και τη μετατροπή σε συστήματα με μειωμένη ποικιλία καλλιεργειών [44]. Η βιολογική γεωργία ενισχύει τη βιοποικιλότητα, καθώς αυξάνει την ετερογένεια των καλλιεργειών και του τοπίου σε σύγκριση με τη συμβατική γεωργία. Έρευνες έχουν δείξει ότι ο συνολικός αριθμός των ειδών στα βιολογικά αγροκτήματα είναι κατά μέσο όρο 34% υψηλότερος σε σύγκριση με τα συμβατικά, με τους επικονιαστές να σημειώνουν αύξηση της τάξης του 50% [45]. Τα θετικά αποτελέσματα της βιολογικής γεωργίας στη βιοποικιλότητα μίας περιοχής παρουσιάζουν μεγάλη διακύμανση μεταξύ των περιοχών. Σε περιοχές με υψηλή βιοποικιλότητα, η επίδραση της βιολογικής γεωργίας είναι χαμηλότερη [34]. Παρόλο που υπάρχει μια γενική τάση αύξησης της βιοποικιλότητας στα βιολογικά αγροκτήματα, ορισμένες μελέτες υποδεικνύουν ότι τα οφέλη σε επίπεδο αγρού μπορεί να μην είναι τόσο έντονα [35, 36].

1.3.2 Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου

Η επίδραση της γεωργίας στο κλίμα της Ευρώπης προκύπτει κυρίως από τις εκπομπές αερίων θερμοκηπίου. Οι κύριες πηγές εκπομπών στην Ευρώπη που συνδέονται με τη γεωργία περιλαμβάνουν [46]:

1. Οξείδιο του αζώτου (N_2O): Οι εκπομπές N_2O από τα εδάφη, ιδίως από την εφαρμογή λιπασμάτων ή άλλων πηγών αζώτου, αποτελούν το σημαντικότερο μέρος των εκπομπών αερίου του θερμοκηπίου (~ 44%).

2. Διοξείδιο του άνθρακα (CO₂): Ορισμένες δραστηριότητες στη γεωργία, όπως η αλλαγή χρήσης γης και η αποψίλωση των δασών, μπορούν να προκαλέσουν εκπομπές CO₂ από τα εδάφη (~ 12%).

3. Μεθάνιο (CH₄): Οι εκπομπές CH₄ από ζυμώσεις που προέρχονται από μηρυκαστικά, όπως τα βοοειδή, αποτελούν μεγάλο μέρος των εκπομπών αερίου του θερμοκηπίου στον γεωργικό τομέα (~ 26%).

4. Εκπομπές από τη διαχείριση κοπριάς: Η διαχείριση των ζωικών κοπριών μπορεί να προκαλέσει εκπομπές N₂O και CH₄, που ανέρχονται σε περίπου 5% των συνολικών εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου από τον γεωργικό τομέα.

Η χρήση ορυκτών πηγών ενέργειας στη γεωργία συμβάλλει επιπλέον στις εκπομπές αερίων θερμοκηπίου. Ωστόσο, οι πρακτικές της βιολογικής γεωργίας αποφεύγουν τη χρήση συνθετικών λιπασμάτων, τη χρήση μηχανημάτων στον αγρό, την στέγαση των ζώων, τη μεταφορά των προϊόντων και άλλες διεργασίες που απαιτούν σημαντικές ποσότητες ενέργειας, οι οποίες προέρχονται από ορυκτά καύσιμα, μειώνοντας κατά συνέπεια τις εκπομπές.

Στη συμβατική γεωργία, η παραγωγή ανόργανων λιπασμάτων είναι μία επιπλέον σημαντική πηγή εκπομπής αερίων θερμοκηπίου. Παρόλο που στη βιολογική γεωργία δεν χρησιμοποιούνται ανόργανα λιπάσματα που απαιτούν ενέργεια, η παραγωγή και η μεταφορά των βιολογικών λιπασμάτων καθώς και η αποθήκευση των προϊόντων απαιτούν σημαντικές ποσότητες ενέργειας, συμβάλλοντας αρνητικά στις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου [47].

1.3.3 Απώλειες θρεπτικών στοιχείων

Η απώλεια αζώτου και φωσφόρου μέσω των γεωργικών εδαφών στα υδάτινα σώματα είναι σημαντικό πρόβλημα και μπορεί να προκαλέσει σοβαρές επιπτώσεις όπως ο ευτροφισμός. Επίσης, η γεωργία είναι η κύρια πηγή εκπομπών αμμωνίας (NH₃), ιδιαίτερα λόγω της διαχείρισης της κοπριάς [48].

Η αύξηση των εισροών θρεπτικών ουσιών, ειδικά του αζώτου, μπορεί να αυξήσει τις αποδόσεις στη βιολογική γεωργία [49]. Ωστόσο, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος απωλειών θρεπτικών ουσιών με υψηλότερες εισροές αζώτου, ειδικά όταν δεν συμβαδίζουν με την απορρόφηση από τις καλλιέργειες ή όταν οι ρυθμοί λίπανσης πλησιάζουν ή υπερβαίνουν το «βέλτιστο οικονομικό επίπεδο» [50]. Σήμερα, οι εισροές αζώτου στη βιολογική παραγωγή είναι συχνά χαμηλότερες από το βέλτιστο επίπεδο. Επίσης, απαιτείται προσοχή στη διαχείριση της κοπριάς για να ελαχιστοποιηθούν οι απώλειες NH₃. Οι ενέργειες διαχείρισης θα μπορούσαν να περιλαμβάνουν τη χρήση καλυμμάτων στις εγκαταστάσεις αποθήκευσης της κοπριάς και η ακριβής εφαρμογή της [51].

1.3.4 Γονιμότητα του εδάφους

Τα γεωργικά εδάφη επηρεάζονται από πολλές ανθρωπογενείς πιέσεις, όπως η απώλεια εδαφικού οργανικού άνθρακα, η εξάντληση θρεπτικών ουσιών, η συμπίεση του εδάφους και η εναπόθεση βαρέων μετάλλων [52, 53].

Στη Ελλάδα, τα καλλιεργούμενα εδάφη έχουν μια μέση περιεκτικότητα σε οργανική ουσία η οποία κυμαίνεται περίπου στο 2% και θεωρείται επαρκής για τη διατήρηση της γονιμότητας του εδάφους για τη φυτική παραγωγή [54]. Τα υψηλά επίπεδα οργανικού άνθρακα στο έδαφος είναι κρίσιμα για την υγεία του, καθώς αποτελεί βασικό στοιχείο της γονιμότητας του εδάφους. Προάγει τη δομή του εδάφους, τον αερισμό, την ικανότητα συγκράτησης νερού, την ΙΑΚ, τη μικροβιακή δραστηριότητα, την ανάπτυξη των ριζών των φυτών και τη συνεχή απελευθέρωση θρεπτικών στοιχείων μέσω της ανοργανοποίησης. Σύμφωνα με παγκόσμια ανασκόπηση, τα εδάφη που χρησιμοποιούνται σε συστήματα βιολογικής καλλιέργειας έχουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα εδαφικού οργανικού άνθρακα σε σχέση με τα εδάφη σε συμβατικά συστήματα [55].

1.3.5 Ανθρώπινη διατροφή και υγεία

Είναι ευρέως γνωστό ότι τα επίπεδα εισροών των θρεπτικών συστατικών των φυτών επηρεάζουν την ανάπτυξη και την σύνθεσή τους [56, 57], καθώς και τις αποδόσεις των καλλιεργειών. Ωστόσο, ιστορικά καταγράφετε ότι η βελτίωση και η παραγωγή ποικιλιών υψηλής απόδοσης οδήγησε σε μειωμένη περιεκτικότητα ορισμένων μετάλλων σε καλλιέργειες λαχανικών και σιτηρών [58].

Στη μέχρι σήμερα βιβλιογραφία καταγράφεται ότι το σύστημα παραγωγής, βιολογικό ή συμβατικό, γενικά δεν έχει καθόλου ή έχει μικρή επίδραση στις συγκεντρώσεις των περισσότερων θρεπτικών ουσιών και δευτερογενών μεταβολιτών στις καλλιέργειες. Εξαιρέση αποτελούν οι φαινολικές ενώσεις, όπου διάφορες αναλύσεις αναφέρουν μια συνολική -συγκρατημένα- υψηλότερη συγκέντρωσή (14–26%) τους σε βιολογικές καλλιέργειες [59]. Επιπλέον, έρευνες δείχνουν ότι η αυξημένη αζωτούχα λίπανση έχει αρνητική επίδραση στη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων σε διάφορες καλλιέργειες [60]. Οι φαινολικές ενώσεις από φυτικές πηγές θεωρείται ότι έχουν οφέλη στην ανθρώπινη υγεία, αν και αυτό δεν είναι πλήρως αποδεκτό [61]. Με βάση τις τρέχουσες έρευνες, δεν είναι δυνατό να αποκομίσουμε κάποιο συγκεκριμένο όφελος για την υγεία από την ελαφρώς υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων λόγω βιολογικής καλλιέργειας.

1.3.6 Κερδοφορία των εκμεταλλεύσεων

Η σύγκριση της κερδοφορίας μεταξύ της βιολογικής και συμβατικής γεωργίας είναι ένα πολύπλοκο ζήτημα που επηρεάζεται από πολλούς όπως παράγοντες, όπως οι τιμές των προϊόντων, οι κρατικές ενισχύσεις, τα κόστη παραγωγής και η ανταπόκριση των καταναλωτών. Πολλές μελέτες, ωστόσο, έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι οι βιολογικές εκμεταλλεύσεις είναι συχνά πιο κερδοφόρες από τις συμβατικές λόγω υψηλότερων τιμών, κρατικής υποστήριξης ή/και χαμηλότερου κόστους [62].

Σε μια πρόσφατη μελέτη, διαπιστώθηκε ότι χωρίς τις υψηλότερες τιμές, η βιολογική γεωργία θα ήταν σημαντικά λιγότερο κερδοφόρα από τη συμβατική γεωργία εξαιτίας χαμηλότερων αποδόσεων (10-18%), δείχνοντας τη σημασία της τιμολόγησης για την κερδοφορία στη βιολογική γεωργία [63]. Το κέρδος του αγρότη από τη βιολογική γεωργία είναι συνδεδεμένο αφενός με το πώς αντιδρούν οι καταναλωτές σε αυτήν την

αλλαγή στη μέθοδο παραγωγής και αφετέρου πόσοι είναι διατεθειμένοι να πληρώσουν υψηλότερες τιμές βιολογικά για προϊόντα.

Η κερδοφορία της βιολογικής γεωργίας είναι, συνεπώς, στενά συνδεδεμένη με τον τρόπο που εκτιμάται από την αγορά η βιωσιμότητα και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις της. Έρευνες το 2015 διαπίστωσαν ότι απαιτείται αύξηση της τιμής κατά 5-7% ώστε τα κέρδη στη βιολογική γεωργία να είναι ίσα με αυτά της συμβατικής, παρόλο που η εμπορική διαφορά ανέρχεται περίπου στο 30% [63]. Αυτό υποδηλώνει τη σημασία της κατανόησης και της εκτίμησης των καταναλωτών για την ποιότητα, τη βιωσιμότητα και τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις των γεωργικών προϊόντων.

1.4 Το βιοκυκλικό-vegan πρότυπο

Αναγνωρίζεται ευρέως ότι η διατροφή ευθύνεται για ένα υψηλό μερίδιο των περιβαλλοντικών επιπτώσεων στη γεωργία [64]. Στην Ευρώπη, η ανθρώπινη διατροφή ευθύνεται για το 20% έως 30% των περιβαλλοντικών επιπτώσεων στην δυνητική υπερθέρμανση του πλανήτη [65]. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να βρεθούν προσεγγίσεις για την παραγωγή τροφίμων που να ελαχιστοποιούν τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις της ανθρώπινης διατροφής. Η παραγωγή κρέατος είναι ο μεγαλύτερος παράγοντας που συμβάλλει στην κλιματική αλλαγή στον τομέα της γεωργίας [65, 66]. Έρευνες διαπίστωσαν ότι οι μειώσεις των αερίων του θερμοκηπίου εξαρτώνται κυρίως από την ποσότητα και τον τύπο του κρέατος που περιλαμβάνεται στη διατροφή, καθώς και από τα τρόφιμα που χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα κρέατος [67]. Ερευνητές συνιστούν τη μείωση της κατανάλωσης κρέατος στις δυτικές χώρες κατά 50-75% για να επιτευχθεί μια βιώσιμη διατροφή [66]. Οι Eker *et al.* προτείνουν μια διατροφική προσέγγιση, γνωστή ως «flexitarian», η οποία προβλέπει τη μείωση της κατανάλωσης κόκκινου κρέατος σε μία μερίδα την εβδομάδα και του λευκού κρέατος σε μισή μερίδα την ημέρα [68]. Αυτή η μετάβαση σε μια διατροφική προσέγγιση που εστιάζει σε μικρότερες ποσότητες κρέατος μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο στις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου που προέρχονται από τη γεωργία. Συγκεκριμένα, οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου από τον γεωργικό τομέα θα μπορούσαν να μειωθούν κατά περίπου 50% [69]. Αντίστοιχα, η Διακυβερνητική Επιτροπή για την Κλιματική Αλλαγή (Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC) δηλώνει ότι η μείωση της κατανάλωσης κρέατος και η αύξηση των φυτικών τροφίμων είναι επωφελείς για την ανθρώπινη υγεία και το κλίμα [69]. Τα τελευταία χρόνια, όλο και περισσότεροι άνθρωποι έχουν υιοθετήσει μια «flexitarian» διατροφική προσέγγιση [70], χορτοφαγική ή vegan [71]. Μια πρόσφατη βιβλιογραφική ανασκόπηση δείχνει ότι οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου που προκαλούνται από μια vegan διατροφή είναι χαμηλότερες από εκείνες μιας παμφάγου διατροφής [72]. Οι Baroni *et al.* σημείωσαν ακόμη ότι μια vegan διατροφή που βασίζεται σε βιολογικά προϊόντα έχει τις χαμηλότερες περιβαλλοντικές επιπτώσεις με βάση τις αξιολογήσεις του κύκλου ζωής (Life Cycle Assessment - LCA) [73].

Ένα άλλο σημαντικό σημείο είναι ότι επί του παρόντος, ορισμένοι παραγωγοί επισημαίνουν τα προϊόντα τους ως 100% βιολογικά και 100% vegan. Ωστόσο, αυτές οι ετικέτες αναφέρονται μόνο στη βιολογική μέθοδο

καλλιέργειας και στα vegan συστατικά του προϊόντος. Δεν λαμβάνεται υπόψη ο αποκλεισμός των ζωικών υποπροϊόντων κατά την καλλιέργεια.

Η βιολογική γεωργία χωρίς ζωικές εισροές είναι μια αναδυόμενη μέθοδος καλλιέργειας που εστιάζει στην παραγωγή φυτικών προϊόντων χωρίς να επικαλείται ή να χρησιμοποιεί ζωικά παράγωγα ή προϊόντα κατά τη διαδικασία καλλιέργειας. Αυτό υποδηλώνει ότι κανένα ζώο δεν περιλαμβάνεται σε κάποιο μέρος της παραγωγικής διαδικασίας και η εκμετάλλευση δεν χρησιμοποιεί κανένα ζωικό υποπροϊόν ως λίπασμα για το έδαφος, όπως κοπριά, αιματάλευρα, οστεάλευρα και γαλάκτωμα ψαριών [74]. Η συγκεκριμένη προσέγγιση αντιπροσωπεύει μια εναλλακτική γεωργική μέθοδο που απευθύνεται σε αυτούς που επιθυμούν να υιοθετήσουν έναν τρόπο ζωής χωρίς ζωικά προϊόντα για ηθικούς ή διατροφικούς λόγους. Η βιολογική γεωργία χωρίς ζωικές εισροές αποτελεί τη μόνη μέθοδο καλλιέργειας που προσπαθεί να διατηρήσει τη γονιμότητα του εδάφους και να παράγει φυτικά προϊόντα χωρίς να χρησιμοποιεί ζωικά παράγωγα κατά τη διαδικασία καλλιέργειας. Είναι μια μέθοδος που συνάδει με τις ανησυχίες πολλών ανθρώπων για την ηθική προέλευση των τροφίμων τους και τον αποκλεισμό της χρήσης ζώων στη γεωργία. Ως κύρια πηγή γονιμότητας, συνιστάται το φυτικό κομπόστ ή η χλωρή λίπανση. Οι εταιρείες των οποίων τα προϊόντα είναι πιστοποιημένα με το σήμα «stockfree-organic» λειτουργούν σύμφωνα με τη Διεθνή Ομοσπονδία Κινημάτων Βιολογικής Γεωργίας, τη λεγόμενη «Οικογένεια Προτύπων (International Federation of Organic Agriculture Movements - IFOAM)».

1.4.1 Πρότυπο Βιοκυκλικής Φυτοπονίας

Βιοκυκλική Φυτοπονία σημαίνει βιολογική γεωργία με καθαρά φυτικά μέσα εξαιρώντας κάθε μορφή κτηνοτροφίας ή χρήσης σκευασμάτων ζωικής προέλευσης. Βασικοί πυλώνες της Βιοκυκλικής Φυτοπονίας είναι:

1. Η ενίσχυση της βιοποικιλότητας και των μικροοργανισμών του εδάφους,
2. Το κλείσιμο του κύκλου της οργανικής ουσίας, και
3. Η σταδιακή αύξηση της οργανικής ουσίας σε μορφή χούμους.



Εικόνα 1-5 Biocyclic-Vegan Standards label

Το Πρότυπο Βιοκυκλικής Φυτοπονίας βασίζεται στα θεμελιώδη καλλιεργητικά και κοινωνικο-οικολογικά ευρήματα του πρωτοπόρου βιοκαλλιεργητή Adolf Hoops (1932-1999), ο οποίος ήδη από την δεκαετία του 1950

έθεσε τη βάση για μια γεωργία με καθαρά φυτικά μέσα λίπανσης χωρίς την εκμετάλλευση ζώων. Στη δεκαετία του 1990, ο Dr. Johannes Eisenbach προσάρμοσε τη «βιοκυκλική ιδέα» στις συνθήκες της μεσογειακής γεωργίας της Ελλάδας και της Κύπρου και τεκμηρίωσε επιστημονικά τις κυρίως εμπειρικές μέχρι τότε προσεγγίσεις. Σε συνεργασία με τον Arne Hoops, παιδί του Adolf Hoops, επιτεύχθηκε μια περαιτέρω συστηματοποίηση που οδήγησε στη διατύπωση των πρώτων Βιοκυκλικών Προδιαγραφών, οι οποίες άρχισαν να εφαρμόζονται στον τομέα της πιστοποίησης, της τεχνικής υποστήριξης βιοκαλλιεργητών και της διάθεσης «βιοκυκλικών» προϊόντων από το 2010.

Η θεμελιώδης αρχή της βιοκυκλικής-vegan γεωργίας, με παγκόσμια έννοια, είναι η διατήρηση ή η αποκατάσταση υγιών κύκλων ζωής. Αυτό απαιτεί μια υπεύθυνη αλληλεπίδραση με το περιβάλλον, το οποίο οι άνθρωποι χρησιμοποιούν και επηρεάζουν σημαντικά. Επομένως, κάθε προσωπική και οικονομική δραστηριότητα που θεωρείται ότι λαμβάνει χώρα σε ένα ολιστικό πλαίσιο, έχει στόχο τη συνειδητή και βιώσιμη συμβολή. Θα πρέπει να είναι μια ανάπτυξη κατάλληλα προσαρμοσμένη για το μέλλον στον τομέα της γεωργίας και της βιομηχανίας τροφίμων, όπου το υγιές έδαφος θα οδηγήσει, μέσω υγιών φυτών, σε υγιείς ανθρώπους. Οπότε, ο βιοκυκλικός ή «κύκλος της ζωντανής ουσίας» (όπως αναφέρει ο Dr. Hans-Peter Rusch) μπορεί να επηρεαστεί και να ενισχυθεί με βιώσιμο τρόπο.

Η βιοκυκλική-vegan γεωργία στοχεύει στην ενεργοποίηση της δυνατότητας αυτοθεραπείας ενός γεωργικού οικοσυστήματος παρέχοντας συνθήκες ανάπτυξης όσο το δυνατόν πιο κοντά στη φύση, αυξάνοντας έτσι τις υπηρεσίες του οικοσυστήματος συνολικά. Αυτή η ενεργοποίηση ξεκινάει ουσιαστικά από το επίπεδο των μακρομορίων και τη ζωή του εδάφους, όπου μπορεί στη συνέχεια να έχει θετική επίδραση σε ολόκληρη την τροφική αλυσίδα.

Η βιοκυκλική-vegan γεωργία βασίζεται σε μελέτες διάσημων ερευνητών του 18^{ου}, 19^{ου} και 20^{ου} αιώνα (Albrecht Thaer 1752-1828, Justus von Liebig 1803-1873, Sir Albert Howard 1873-1947 και Dr. Hans-Peter Rusch 1906-1977) και συνδυάζει τις πρακτικές εμπειρίες της βιολογικής γεωργίας και της κομποστοποίησης για τη βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους. Η προσέγγιση των Βιοκυκλικών προδιαγραφών στον τομέα της φυτοπονίας έχει αναπτύξει ένα πρότυπο που συνδυάζει τις αρχές της χορτοφαγίας και της προστασίας των ζώων. Αυτό έχει οδηγήσει στη δημιουργία του Προτύπου Βιοκυκλικής Φυτοπονίας, το οποίο συμπεριλαμβάνεται από το 2017 επίσημα στην IFOAM Family of Standard (Εικόνα 1-5). Η χρήση του σήματος ποιότητας της Βιοκυκλικής Φυτοπονίας βασίζεται σε ένα διαπιστευμένο σύστημα πιστοποίησης και εξασφαλίζει απέναντι στους καταναλωτές πλήρη διαφάνεια σε όλα τα επίπεδα της εφοδιαστικής αλυσίδας «από το χωράφι ως το ράφι» και την βεβαιότητα ότι ένα προϊόν Βιοκυκλικής Φυτοπονίας δεν είναι «μόνο» βιολογικό και φυτικό, αλλά έχει παραχθεί σύμφωνα με vegan κριτήρια. Τα σημαντικά στοιχεία αυτού του προτύπου αναφέρονται σε μια σειρά αρχών που επιδιώκουν να προάγουν τη βιολογική γεωργία και την αειφορία στη γεωργία (Πίνακας 1-1).

Πίνακας 1-1 Οι βασικές αρχές του Βιοκυκλικού-vegan προτύπου γεωργίας

I	Προστασία του κλίματος	<p>Η ανάπτυξη της βιοκυκλικής γεωργίας μπορεί να έχει σημαντικές επιδράσεις στο κλίμα και να συμβάλλει στη διατήρηση των επιπέδων διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα μέσω της κατάργησης της βιομηχανικής κτηνοτροφίας και της συστηματικής χρήσης φυτικού κομπόστ ή Βιοκυκλικού Χουμοχώματος. Η βιομηχανική κτηνοτροφία συχνά συνδέεται με μεγάλη παραγωγή μεθανίου λόγω της παραγωγής και της αποθήκευσης κοπριάς από τα ζώα. Οπότε, η μείωση της μαζικής εκτροφής ζώων μειώνει την παραγωγή μεθανίου. Αντίστοιχα, η χρήση φυτικού κομπόστ ή Βιοκυκλικού Χουμοχώματος στην καλλιέργεια φυτών βοηθάει στην αύξηση της οργανικής ύλης στο έδαφος και στην αποθήκευση άνθρακα στο έδαφος, αντί να εκπέμπεται στην ατμόσφαιρα ως διοξείδιο του άνθρακα.</p>
II	Προστασία των υδάτινων πόρων	<p>Η αντικατάσταση των συμβατικών λιπασμάτων με πλήρως ώριμου κομπόστ φυτικής προέλευσης ή Βιοκυκλικό Χουμοχώμα βοηθάει στη διατήρηση της οργανικής ύλης στο έδαφος και μειώνει την πιθανότητα έκπλυσης των θρεπτικών ουσιών, όπως του αζώτου, στα υδάτινα συστήματα. Η μείωση της έκπλυσης των θρεπτικών ουσιών με βιοκυκλικές πρακτικές συνεισφέρει στη μείωση της μόλυνσης των υδάτινων πόρων. Η υπερβολική παρουσία θρεπτικών ουσιών σε λίμνες και ποτάμια μπορεί να οδηγήσει σε ευτροφισμό, μια κατάσταση όπου η υπερβολική ποσότητα θρεπτικών μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητη αύξηση του φυτοπλαγκτόν, της αλγώδους βλάστησης και των ευνοϊκών συνθηκών για την αύξηση των εντόμων, που μπορεί να δημιουργήσει ανισορροπίες στο οικοσύστημα του υδάτινου περιβάλλοντος.</p>
III	Προαγωγή της υγείας του εδάφους	<p>Η προσθήκη χλωρής λίπανσης στο έδαφος και η εδαφοκάλυψη με ψυχανθή μπορούν να παρέχουν οργανική ύλη στο έδαφος, συμβάλλοντας στη διατήρηση της υγρασίας, την προστασία από τη διάβρωση, και τη διατήρηση της δομής του εδάφους. Η χορήγηση ώριμου κομπόστ προσθέτει πλούσια οργανική ύλη στο έδαφος και βελτιώνει την δομή του. Το κομπόστ προσφέρει θρεπτικά στοιχεία και ενθαρρύνει τη μικροβιακή δραστηριότητα, βοηθώντας στην αύξηση της βιολογικής δραστηριότητας στο έδαφος. Η χρήση του Βιοκυκλικού Χουμοχώματος που περιέχει οργανική ύλη από διαφορετικές πηγές μπορεί να βοηθήσει στην αποκατάσταση της γονιμότητας του εδάφους. Το Χουμοχώμα προάγει την υγεία του εδάφους, διατηρεί την υγρασία και προωθεί τη μακροχρόνια γονιμότητά του. Μέσα από αυτές τις δράσεις, τα εδάφη μπορούν να διατηρήσουν τη φυσική τους γονιμότητα, να αντισταθμίσουν τη διάβρωση</p>

		και τη ξήρανση, και να διατηρήσουν την υψηλή ποιότητά τους για αειφόρο παραγωγή τροφίμων.
IV	Ενίσχυση της βιοποικιλότητας	Η εφαρμογή του Προτύπου Βιοκυκλικής Φυτοπονίας συμβάλλει στη δημιουργία ενός ανθεκτικού και ισορροπημένου οικοσυστήματος. Η χρήση μη χημικών μεθόδων προστασίας των φυτών επιφέρει ισορροπία στο οικοσύστημα ενισχύοντας τη βιοποικιλότητα. Η εφαρμογή του προτύπου προάγει την αμειψισπορά, τη συγκαλλιέργεια και τη χρήση εναλλασσόμενων μεθόδων καλλιέργειας του εδάφους που συμβάλλουν στη δημιουργία ποικιλότητας στο περιβάλλον, προσελκύοντας διαφορετικά είδη φυτών και ζώων.
V	Σεβασμός στα ζώα	Στη Βιοκυκλική Φυτοπονία καταργούνται όλες οι μορφές εκμετάλλευσης των ζώων και η λίπανση με υλικά ζωικής προέλευσης όπως κοπριά, κρεατάλευρα, αιματάλευρα αντικαθιστάτε με καθαρά φυτικά μέσα θρέψης. Πέραν τούτου, εκτάσεις που καλλιεργούνται σύμφωνα με το Πρότυπο Βιοκυκλικής Φυτοπονίας αποτελούν καταφύγια για εκατομμύρια μικροοργανισμούς και σπάνια άγρια ζώα, πουλιά και ωφέλιμα έντομα, βοηθώντας στη διατήρηση των οικοσυστημάτων.
VI	Εξασφάλιση θρέψης του παγκόσμιου πληθυσμού	Η συστηματική αύξηση της γονιμότητας του εδάφους και η αντικατάσταση εκτάσεων κτηνοτροφικών φυτών με εδώδιμες καλλιέργειες με Βιοκυκλικό πρότυπο μειώνουν τις επισιτιστικές ανησυχίες.
VII	Προαγωγή της υγείας	Η απουσία του ρίσκου επιμόλυνσης των εδαφών από αντιβιοτικά από την κτηνοτροφία ή άλλων παθογόνων από τα κόπρανα ζώων, δημιουργούν ένα υγιές, ανθεκτικό και ζωντανό έδαφος που αποτελεί τη βάση για την παραγωγή εύρωστων φυτών υψηλής διατροφικής αξίας για τον άνθρωπο.

1.5 Αλατότητα και καλλιέργειες

Η αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού και η αυξανόμενη ζήτηση για τρόφιμα αποτελούν αυταπόδεικτες προκλήσεις για τη γεωργία του μέλλοντος. Σύμφωνα με εκτιμήσεις, η αγροτική παραγωγή πρέπει να αυξηθεί σημαντικά, πάνω από 60%, προκειμένου να καλύψει τις αυξημένες ανάγκες του πληθυσμού μέχρι το 2050 [75]. Ωστόσο, η γεωργική παραγωγή απειλείται πάντα από συνθήκες στρες όπως η αλατότητα. Η κλιματική αλλαγή, η αναρροή θαλασσινού νερού, η διεύδυση υπόγειων υδάτων και οι ανθρώπινες δραστηριότητες όπως η άρδευση και η εφαρμογή λιπασμάτων αύξησαν τη συγκέντρωση αλατότητας στο έδαφος, με αποτέλεσμα την αλάτωση του εδάφους [76, 77]. Η αλατότητα στο έδαφος και στο νερό αποτελεί από τις σημαντικότερες περιβαλλοντικές προκλήσεις που επηρεάζουν την παραγωγικότητα των φυτών, ιδιαίτερα σε άνυδρες περιοχές ή περιοχές με ξηρό κλίμα [78, 79]. Η αλατότητα στο νερό άρδευσης και στα εδάφη είναι ένας από τους

σημαντικότερους αβιοτικούς περιορισμούς στη γεωργία παγκοσμίως και η κατάσταση έχει επιδεινωθεί τα τελευταία 20 χρόνια λόγω της αύξησης των αναγκών άρδευσης σε άγονες και ημιάνυδρες περιοχές, όπως εκείνες στην περιοχή της Μεσογείου [80-85]. Η αλατότητα στα εδάφη μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στα φυτά, όπως αναστολή στην ανάπτυξή τους [86, 87], λόγω της αυξημένης περιεκτικότητας σε ορισμένα ιόντα όπως το νάτριο (Na^+), το οποίο μπορεί να επιβαρύνει τις φυσιολογικές διεργασίες των φυτών και να προκαλέσει χλωρώσεις και νέκρωσή τους [82]. Η αλατότητα του εδάφους επηρεάζει περισσότερο από 800 εκατομμύρια εκτάρια αρόσιμων γαιών παγκοσμίως [86-88]. Μια τιμή ηλεκτρικής αγωγιμότητας (Electrical Conductivity - EC) περίπου 4 dS m^{-1} (ισοδύναμη με 40 mM NaCl) θεωρείται ότι έχει ήδη δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη των φυτών, δημιουργώντας οσμωτική πίεση περίπου 0.2 MPa. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των παραγωγών στις περισσότερες καλλιέργειες λόγω της δυσχέρειας των φυτών να απορροφήσουν το νερό και τα θρεπτικά συστατικά [88].

Η ανταπόκριση των φυτών στην αλατότητα είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο που εξαρτάται από πολλούς παράγοντες [89]. Ανάλογα με την ικανότητα των φυτών να αντέχουν στο στρες της αλατότητας και να αναπτύσσονται σε αλατούχα περιβάλλοντα, κατηγοριοποιούνται σε γλυκόφυτα ή αλόφυτα. Η ανταπόκρισή τους στο στρες αλατότητας διαφέρει όσον αφορά την ικανότητα πρόσληψης τοξικών ιόντων, τον αποκλεισμό ιόντων, την οσμωτική ρύθμιση, την αφομοίωση CO_2 , την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη, την παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και την αντιοξειδωτική άμυνα [89-92]. Οι περισσότεροι προσαρμοστικοί μηχανισμοί αλατότητας στα φυτά συνοδεύονται από ορισμένες μορφολογικές και ανατομικές αλλαγές, όπως η αλλαγή στη μορφή ή τη δομή των φύλλων και ο αυξημένος όγκος των ριζών [93].

Τα γλυκόφυτα, στα οποία ανήκουν τα περισσότερα φυτά καλλιέργειας, δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε εδάφη με παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων αλατιού. Αντίστοιχα, η ανάπτυξή τους μπορεί να ανασταλεί ή ακόμη και να αποτραπεί πλήρως σε εδάφη με σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις αλατιού (περίπου 100-200 mM NaCl) [94]. Η αναστολή της ανάπτυξής τους μπορεί να συμβεί ακόμη και βραχυπρόθεσμα [95].

Αντίθετα, τα αλόφυτα έχουν εξελιχθεί με μηχανισμούς ανοχής που τους επιτρέπουν να διαχειρίζονται και να αντιμετωπίζουν το στρες από την αλατότητα, με αποτέλεσμα να μπορούν να επιβιώσουν και να αναπτύσσονται σε περιβάλλοντα υψηλής αλατότητας (300-500 mM NaCl) [96, 97]. Ορισμένοι από αυτούς τους μηχανισμούς περιλαμβάνουν [93]:

- Αποκλεισμός αλατιού (Salt exclusion): Αυτός ο μηχανισμός αποτρέπει την είσοδο των αλάτων στο αγγειακό σύστημα των φυτών. Αυτό πραγματοποιείται με μηχανισμούς που ελέγχουν τη διέλευση των ιόντων αλατιού από τα ριζικά κύτταρα στα αγγεία των φύλλων.
- Αποβολή αλατιού (Salt elimination): Ορισμένα αλόφυτα έχουν αδένες και τρίχες που εκκρίνουν ενεργά τα άλατα, εξαλείφοντας τα από τους ιστούς. Αυτή η ικανότητα τους επιτρέπει να διατηρούν χαμηλότερες συγκεντρώσεις αλατιού στα ενεργά τμήματα του φυτού.

- Χυμώδης αλατιού (Salt succulence): Ορισμένα αλόφυτα αυξάνουν τον όγκο των αποθηκευτικών κυττάρων τους με την πρόσληψη αλατιού, το οποίο τους επιτρέπει να διατηρούν σταθερές συγκεντρώσεις αλατιού στα φύλλα τους για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα.

- Ανακατανομή άλατος: Τα αλόφυτα έχουν την ικανότητα να μετατοπίζουν τα ιόντα αλατιού, όπως το Na^+ και το Cl^- , σε διάφορα μέρη του φυτού, επιτρέποντας την αναδιανομή τους για τη μείωση της συγκέντρωσης αλατιού στα ενεργά φυτικά μέρη, όπου είναι πιο βλαβερά.

Επιπλέον, πέρα από τα άλατα, η συσσώρευση διαλυτών υδατανθράκων συμβάλει στη διατήρηση χαμηλού οσμωτικού δυναμικού χυμού κυττάρων. Η ικανότητα του πρωτοπλάσματος να ανέχεται υψηλές συγκεντρώσεις άλατος εξαρτάται επίσης από την επιλεκτική διαμερισματοποίηση των ιόντων που εισέρχονται στο κύτταρο. Η πλειοψηφία των ιόντων άλατος συσσωρεύεται στα κενοτόπια.

Η αλατότητα μπορεί να έχει διάφορες επιβλαβείς επιδράσεις στα φυτά που αρχικά επηρεάζουν το ριζικό σύστημα και στη συνέχεια έχουν μακροπρόθεσμες επιπτώσεις στην ανάπτυξη τους. Η καταπόνηση από την αλατότητα γίνεται αρχικά αντιληπτή από το ριζικό σύστημα και στη συνέχεια μειώνει την ανάπτυξη των φυτών τόσο βραχυπρόθεσμα, προκαλώντας οσμωτικό στρες που προκαλείται από μειωμένη διαθεσιμότητα νερού, όσο και μακροπρόθεσμα, από την τοξικότητα ιόντων που προκαλείται από αλάτι λόγω ανισορροπίας θρεπτικών ουσιών στο κυταρόπλασμα [90]. Ως εκ τούτου, οι δύο κύριες απειλές που επιβάλλονται από την αλατότητα προκαλούνται από το οσμωτικό στρες και την ιοντική τοξικότητα που σχετίζεται με την υπερβολική πρόσληψη Cl^- και Na^+ , οδηγώντας σε ανεπάρκεια Ca^{2+} και K^+ και σε άλλες ανισορροπίες θρεπτικών ουσιών [98]. Όλες αυτές οι επιπτώσεις της αλατότητας μπορούν να οδηγήσουν σε ανεπαρκή ανάπτυξη, απόδοση και γενικά επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία των φυτών [99-101].

Ορισμένα αλόφυτα έχουν υψηλή οικονομική και οικολογική αξία στην ανάπτυξη της γεωργίας σε αλατούχα εδάφη, καθώς μπορούν με φυσικό τρόπο να προσαρμοστούν σε τέτοια περιβάλλοντα [102]. Τα αλατούχα εδάφη περιέχουν συνήθως υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού αλλά χαμηλές συγκεντρώσεις άζωτου [103]. Το άζωτο είναι ένα απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για την ανάπτυξη των φυτών και σχετίζεται στενά με την ανοχή των φυτών στο αλάτι. Σύμφωνα με αναφορές, σε ορισμένα αλόφυτα, η αλατότητα δεν φαίνεται να επηρεάζει δυσμενώς την απορρόφηση του άζωτου, παρά τις υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού στο έδαφος [104-106]. Αυτή η ενδιαφέρουσα ιδιότητα των αλόφυτων να διατηρούν την ικανότητα απορρόφησης άζωτου μπορεί να συμβάλει στην οικολογική και γεωργική τους αξία, καθώς επιτρέπει την ανάπτυξή τους σε περιβάλλοντα με υψηλά επίπεδα αλατιού χωρίς να μειώνεται η απορρόφηση του αναγκαίου θρεπτικού συστατικού του άζωτου.

1.6 Γενικός σκοπός μελέτης

Ο σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής αφορά τη διερεύνηση της επίδρασης δύο κρίσιμων παραγόντων, της αλατότητας και της λίπανσης, στην καλλιέργεια της τριγωνέλλας (*Trigonella foenum-graecum* L.). Το συγκεκριμένο φυτό, το οποίο ανήκει στην οικογένεια Fabaceae, έχει μεγάλη σημασία τόσο για την αγροτική παραγωγή όσο και για τη φαρμακευτική βιομηχανία λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων του. Η μελέτη

αυτή αποσκοπεί στην κατανόηση των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των διαφορετικών τύπων λίπανσης (βιολογικής και ανόργανης) και των επιπέδων αλατότητας στο έδαφος, με στόχο την εύρεση βέλτιστων πρακτικών για την καλλιέργεια της τριγωνέλλας.

Η έρευνα επικεντρώνεται αρχικά στην επίδραση της αλατότητας, η οποία αποτελεί μία από τις μεγαλύτερες περιβαλλοντικές προκλήσεις για τις καλλιέργειες σε όλο τον κόσμο. Η τριγωνέλλα θεωρείται ένα φυτό ανθεκτικό σε αντίξοες συνθήκες, ωστόσο η αλατότητα μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ανάπτυξη και την απόδοση του φυτού, καθώς προκαλεί φυσιολογικές και βιοχημικές αλλαγές. Η παρούσα μελέτη διερευνά πώς η τριγωνέλλα ανταποκρίνεται σε διάφορα επίπεδα αλατότητας, εστιάζοντας στους μηχανισμούς ανθεκτικότητας που αναπτύσσει το φυτό υπό αυτές τις συνθήκες. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τις περιοχές με υψηλή συγκέντρωση αλάτων στο έδαφος, όπου οι καλλιέργειες αντιμετωπίζουν συνεχώς αυξημένα επίπεδα αλατότητας.

Παράλληλα, η μελέτη εξετάζει την επίδραση της λίπανσης στην τριγωνέλλα, εστιάζοντας σε διάφορα συστήματα λίπανσης, όπως η βιολογική και η ανόργανη. Η βιολογική λίπανση βασίζεται σε οργανικές ουσίες και αποσκοπεί στη βελτίωση της δομής και της γονιμότητας του εδάφους, ενώ η ανόργανη λίπανση περιλαμβάνει τη χρήση συνθετικών λιπασμάτων που παρέχουν άμεσα τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία στα φυτά. Η σύγκριση αυτών των δύο τύπων λίπανσης αποσκοπεί στο να καθοριστεί ποιος τύπος είναι πιο αποδοτικός για την ανάπτυξη του φυτού, την αύξηση της βιομάζας και τη βελτίωση της ποιότητας των παραγόμενων σπόρων. Επίσης, η έρευνα εστιάζει στην αξιολόγηση της αποδοτικότητας χρήσης του αζώτου από τα φυτά, και την επίδραση της λίπανσης στις χημικές ιδιότητες του εδάφους.

Μια άλλη σημαντική πτυχή της έρευνας είναι η μελέτη της μεταβολικής απόκρισης των φυτών υπό διαφορετικές συνθήκες λίπανσης και αλατότητας. Με τη χρήση προηγμένων τεχνικών μεταβολομικής ανάλυσης, όπως η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και η χρωματογραφία αερίων με φασματομετρία μάζας (GC/EI/MS), η έρευνα στοχεύει στην κατανόηση των αλλαγών στον μεταβολισμό των φυτών που προκαλούνται από τις συνθήκες αυτές. Η ανάλυση των μεταβολιτών των σπόρων και των υπέργειων φυτικών τμημάτων της τριγωνέλλας βοηθά στην κατανόηση των μηχανισμών αντίδρασης του φυτού σε συνθήκες πίεσης και μπορεί να προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες για τη βελτίωση της ανθεκτικότητας του φυτού σε ακραίες συνθήκες καλλιέργειας.

Επιπλέον, η έρευνα εξετάζει τις χημικές και φυσικές ιδιότητες του εδάφους υπό τις συνθήκες αυτές, με έμφαση στην ανάλυση των αλλαγών στην ηλεκτρική αγωγιμότητα, το περιεχόμενο σε οργανική ουσία και τη συγκέντρωση θρεπτικών στοιχείων, όπως το άζωτο, ο φώσφορος, και το κάλιο. Η επίδραση των διαφόρων πρακτικών λίπανσης στις ιδιότητες του εδάφους είναι κρίσιμη για την κατανόηση του πώς η λίπανση μπορεί να βελτιώσει τη γονιμότητα και να ενισχύσει την παραγωγικότητα της καλλιέργειας της τριγωνέλλας.

Συνολικά, ο σκοπός της έρευνας είναι η ανάπτυξη βιώσιμων στρατηγικών καλλιέργειας της τριγωνέλλας σε περιοχές με υψηλή αλατότητα, η βελτιστοποίηση των πρακτικών λίπανσης για τη μέγιστη απόδοση και η μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων. Η μελέτη φιλοδοξεί να συμβάλει στην ενίσχυση της γεωργικής

παραγωγής με ταυτόχρονη προστασία του περιβάλλοντος, παρέχοντας νέα δεδομένα που θα μπορούσαν να οδηγήσουν στη βελτίωση των γεωργικών πρακτικών και της ποιότητας των προϊόντων.

1° Πείραμα

Επίδραση λίπανσης (βιολογικής και ανόργανης) και αλατότητας στα αγρονομικά χαρακτηριστικά, δείκτες ανάπτυξης και αποδόσεις τριγωνέλλας



2 Επίδραση λίπανσης (βιολογικής και ανόργανης) και αλατότητας στα αγρονομικά χαρακτηριστικά, δείκτες ανάπτυξης και αποδόσεις τριγωνέλλας

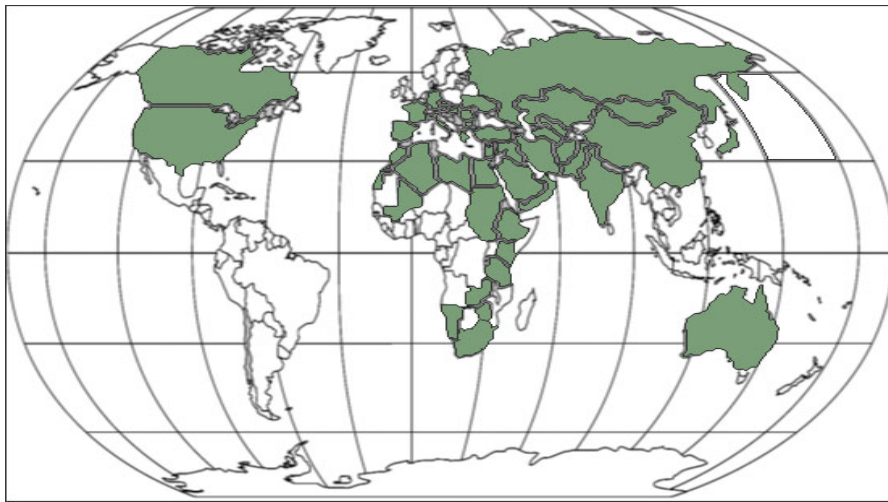
Μηδενική Υπόθεση (H₀): Η εφαρμογή βιολογικής και ανόργανης λίπανσης καθώς και η αλατότητα δεν έχουν καμία στατιστικά σημαντική επίδραση στα αγρονομικά χαρακτηριστικά, τους δείκτες ανάπτυξης και τις αποδόσεις της τριγωνέλλας.

2.1 Εισαγωγή

2.1.1 Καλλιεργητικές συνθήκες

Η καταγωγή της τριγωνέλλας εντοπίζεται στη μεσογειακή περιοχή της Ευρώπης, αλλά εξαιτίας της προσαρμοστικότητας της έχει την ικανότητα να καλλιεργείται σε διάφορες περιοχές του κόσμου, σε ποικίλες κλιματικές συνθήκες και περιβάλλοντα ανάπτυξης. Υπό αυτό το πρίσμα, η τριγωνέλλα επιτρέπει στους αγρότες να καλλιεργούν το φυτό σε διαφορετικούς τύπους εδάφους και κλιματικές συνθήκες, επιτρέποντας την παραγωγή του σε πολλές γεωγραφικές περιοχές, συμπεριλαμβανομένων της κεντρικής Ευρώπης, του Ηνωμένου Βασιλείου, των ΗΠΑ και άλλων περιοχών.

Η τριγωνέλλα είναι κατάλληλη για περιοχές με μέτριες ή χαμηλές βροχοπτώσεις. Μια εύκρατη και δροσερή καλλιεργητική περίοδος χωρίς ακραίες θερμοκρασίες είναι ευνοϊκή για την καλύτερη ανάπτυξή της. Η ανθεκτικότητά της στην ξηρασία είναι υψηλή [107], αλλά εμφανίζεται να είναι ευαίσθητη στον παγετό [107, 108]. Σύμφωνα με τον Del' Gaudio, η τριγωνέλλα είναι ανθεκτική σε καλοκαιρινές ξηρασίες και βροχερό χειμώνα, αλλά μπορεί να πληγεί από βαριές βροχές κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού ή από ένα βαρύ χειμώνα [109]. Στην Ελλάδα, η τριγωνέλλα καλλιεργείται γενικά ως χειμερινή καλλιέργεια σε περιοχές με ήπιο χειμώνα και ως ανοιξιάτικη καλλιέργεια σε περιοχές με έδαφος που συγκρατεί υγρασία το καλοκαίρι [107]. Σε περιοχές με ήπιους χειμώνες, η σπορά της γίνεται το φθινόπωρο για να ωριμάσει την άνοιξη [108]. Στην Αιθιοπία, η τριγωνέλλα καλλιεργείται κυρίως σε περιοχές όπου οι κλιματικές συνθήκες πλησιάζουν εκείνες της περιοχής της Μεσογείου [110]. Το κλίμα αυτών των περιοχών είναι κυρίως υποτροπικό και χαρακτηρίζεται από υγρή και ξηρή περίοδο. Η προσαρμοστικότητα της καλλιέργειας της τριγωνέλλας σε βόρεια κλίματα όπως ο Καναδάς έχει αποδειχθεί σε διάφορες μελέτες [10, 12, 13].



Εικόνα 2-1 Γεωγραφική εξάπλωση του γένους *Trigonella* (γκρι χρώματισμός) (Ranjbar & Zahra, 2016)

Σχετικά με το έδαφος, η τριγωνέλλα δεν απαιτεί συγκεκριμένες εδαφολογικές συνθήκες. Η διατήρηση ενός επαρκούς επιπέδου υγρασίας στο έδαφος, καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, είναι σημαντική για την ευνοϊκή ανάπτυξη της τριγωνέλλας. Ο Rosengarten σημειώνει ότι η τριγωνέλλα καλλιεργείται σε καλά στραγγιζόμενα εδάφη, με ικανοποιητική ισορροπία μεταξύ άμμου, ιλύος και αργίλου [111]. Οι πληροφορίες που παρέχονται από τους Duke *et al.* περιγράφουν περαιτέρω τις προτιμήσεις της τριγωνέλλας σχετικά με το εδαφικό περιβάλλον και τις συνθήκες ανάπτυξής της [108]. Συγκεκριμένα, η τριγωνέλλα φαίνεται να αναπτύσσεται καλά σε αμμώδη εδάφη και να είναι αρκετά ανεκτική στην αλατότητα, ενώ δεν προσαρμόζεται καλά σε βαριά, αργιλώδη και υγρά εδάφη. Επιπλέον, το επιθυμητό pH του εδάφους για την βέλτιστη ανάπτυξη της τριγωνέλλας είναι περίπου στα επίπεδα 8-8.5.

Η ποιότητα των σπόρων που χρησιμοποιούνται για τη σπορά της τριγωνέλλας είναι ένας κρίσιμος παράγοντας για την επιτυχία της καλλιέργειας. Χαρακτηριστικά όπως η γνησιότητα, η καθαρότητα και η βιωσιμότητα των σπόρων κρίνονται σημαντικά. Ο Heeger προτείνει ότι οι σπόροι σποράς της τριγωνέλλας θα πρέπει να έχουν τουλάχιστον 95% καθαρότητα και 80% φυτρωτική ικανότητα [112].

Επίσης, η διάταξη των φυτών είναι σημαντική για την καλύτερη απόδοση της καλλιέργειας της τριγωνέλλας. Η φύτευσή της σε σειρές έχει περισσότερα πλεονεκτήματα από τη χύδην κατανομή, όπως η καλύτερη διανομή και ομοιογένεια των φυτών, περισσότερα όρθια φυτά, μικρότερες ποσότητες σπόρων σποράς, καλύτερη διεύθυνση των χημικών ουσιών και μειωμένη υγρασία στο θόλο του φυτού. Επιπλέον, η πυκνότητα των φυτών εντός της σειράς επηρεάζει την απόδοση και μπορεί να ρυθμιστεί από την ποσότητα των σπόρων που χρησιμοποιούνται [113].

2.1.1.1 Συνθήκες σποράς

Οι τοποθετήσεις των ερευνητών για τις συνθήκες σποράς της τριγωνέλλας δεν είναι ενιαίες. Οπότε, η σπορά της τριγωνέλλας συνήθως πραγματοποιείται και στους δύο καλλιεργητικούς κύκλους των ετήσιων αροτραίων καλλιεργειών στην Ελλάδα, στα τέλη Μαρτίου και τέλη Οκτωβρίου. Ωστόσο, σύμφωνα με τους Slinkard *et al.* διαπιστώθηκε ότι η βέλτιστη περίοδος για τη σπορά είναι στις αρχές Μαΐου. Σε ό,τι αφορά την απόσταση

μεταξύ των φυτών, στην Ινδία, έχει εντοπιστεί ότι η βέλτιστη παραγωγικότητα της τριγωνέλλας εμφανίζεται σε απόσταση μεταξύ 20 - 30 cm [114, 115]. Σε καλώς στραγγιζόμενα εδάφη, έχει εντοπιστεί ότι η απόσταση των σειρών μεταξύ 15 - 30cm οδηγεί σε υψηλότερη απόδοση, με τη βέλτιστη πυκνότητα φυτών να είναι στα 135 φυτά m^{-2} ή 18 φυτά ανά μέτρο σειράς [116].

Οι ποσότητες σπόρων σποράς επίσης ποικίλουν. Για παράδειγμα, σύμφωνα με τη μελέτη [116], ο ρυθμός σποράς πρέπει να είναι 27-33 $kg\ ha^{-1}$ σε βάθος 2-4 cm. Σε άλλες μελέτες η ποσότητα σποράς σημειώνεται 38 $kg\ ha^{-1}$ [117], και 30 $kg\ ha^{-1}$ με 17.5 cm μεταξύ των γραμμών σποράς και βάθος 2.5 cm βάθος [118]. Το εύρος αυτών των ποσοστών σποράς ποικίλλει ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας [113].

2.1.1.2 Απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά

Η τριγωνέλλα ωφελείται από την προσθήκη οργανικών και ανόργανων πηγών αζώτου και φωσφόρου στο έδαφος. Μελέτες αναφέρουν ότι αυτές οι πηγές θρεπτικών στοιχείων αυξάνουν την απόδοση της τριγωνέλλας [119, 120]. Επίσης καταγράφονται και εμβολιασμένοι σπόροι στην αγορά, οι οποίοι ικανοποιούν τις ανάγκες της καλλιέργειας σε άζωτο ώστε να μην απαιτούνται επιπρόσθετες εφαρμογές λίπανσης. Εάν παρέχεται περίσσεια αζωτούχων λιπασμάτων, η βλαστική ανάπτυξη θα υπερβεί την αναπαραγωγική ανάπτυξη, με αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή σπόρων και την καθυστέρηση της ωρίμανσης των σπόρων [116], κάτι που μπορεί όμως να αποτελέσει πλεονέκτημα για σκοπούς παραγωγής ζωοτροφών. Όσον αφορά το φώσφορο, είναι απαραίτητος για τη βελτιστοποίηση της αζωτοδεύσμησης, την παραγωγή ανθών και σπόρων, και την εξασφάλιση της ωρίμανσης του φυτού. Η προσθήκη φωσφόρου στο έδαφος μπορεί να βελτιώσει την απόδοση της τριγωνέλλας, καθώς είναι ουσιώδης για την ανάπτυξη και την ωρίμανση του φυτού [116].

2.1.2 Τριγωνέλλα και λίπανση

Η ποσότητα λιπάσματος που απαιτείται στην καλλιέργεια τριγωνέλλας επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες και οι απαιτήσεις της καλλιέργειας για θρεπτικά συστατικά διαφέρουν ανάλογα με τις κλιματικές και εδαφικές συνθήκες. Επομένως, είναι απαραίτητη η καλή εξέταση της επίδρασης των κλιματικών και εδαφικών παραγόντων καθώς και των καλλιεργητικών πρακτικών στην ανάπτυξη της, προκειμένου να διασφαλιστούν επαρκή επίπεδα των βασικών στοιχείων καθ' όλη την περίοδο ανάπτυξης. Μερικοί παράγοντες που επηρεάζουν τις ανάγκες σε θρεπτικά συστατικά είναι το έδαφος, η βροχόπτωση, η θερμοκρασία, οι πρακτικές συγκαλλιέργειας, το στάδιο συγκομιδής και τα θρεπτικά στοιχεία που αφαιρούνται μετά από κάθε καλλιεργητική περίοδο.

Παλιότερες μελέτες έδειχναν ότι η εφαρμογή αζώτου σε καλλιέργειες τριγωνέλλας είναι σπάνια [109], και συνήθως περιοριζόταν σε μικρές ποσότητες περίπου ίσες με 20 $kg\ ha^{-1}$ στην σπορά και σε εδάφη που έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία [109, 112, 121]. Αυτό είναι ευεργετικό γιατί παρέχει άζωτο στην αρχική και ταχεία ανάπτυξη των φυτών τριγωνέλλας, μέχρι να σχηματιστούν τα φυμάτια στις ρίζες και το *Rhizobium* να είναι σε θέση να δεσμεύσει μεγάλες ποσότητες ατμοσφαιρικού αζώτου [122].

Πρόσφατες έρευνες υποδεικνύουν ότι η απόδοση της τριγωνέλλας επηρεάζεται θετικά από την εφαρμογή οργανικών και ανόργανων λιπασμάτων που περιέχουν άζωτο, φώσφορο και άλλα μακροστοιχεία [123]. Πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στην Τουρκία, τα έτη 2006 και 2007, επισημαίνουν τη σημαντική επίδραση των λιπασμάτων στην απόδοση της καλλιέργειας της τριγωνέλλας, καθώς παρατηρήθηκε ότι η τριγωνέλλα αξιοποίησε τις εφαρμοζόμενες μονάδες λιπάσματος στο έπακρον, ιδίως το άζωτο και το φώσφορο [124]. Συγκεκριμένα, η επίδραση διαφορετικών δόσεων αζώτου βρέθηκε στατιστικά σημαντική σε όλα τα στοιχεία απόδοσης της καλλιέργειας της τριγωνέλλας. Ομοίως, η επίδραση των δόσεων θείου ήταν στατιστικά σημαντική σε όλες τις παραμέτρους εκτός από τον αριθμό των βλαστών [124]. Επιπρόσθετα, σε ένα πείραμα με πέντε επίπεδα αζώτου, δηλαδή 0, 30, 60, 90 και 120 kg ha⁻¹ και πέντε επίπεδα φωσφόρου, δηλαδή 0, 15, 30, 45 και 60 kg ha⁻¹, διαπιστώθηκε ότι η βλαστική ανάπτυξη ως προς το ύψος του φυτού, ο αριθμός των φύλλων και ο αριθμός των βλαστών αυξήθηκαν με τις μέγιστες εφαρμοζόμενες ποσότητες [125].

Πείραμα που πραγματοποιήθηκε στον ερευνητικό αγρό του Πανεπιστημίου Tarbiat Modares στην Τεχεράνη, Ιράν, εστίαζε στην αξιολόγηση της αντοχής της τριγωνέλλας σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης σε συνδυασμό με τη χρήση διαφορετικών τύπων λιπασμάτων. Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι το φυτό ανταπεξήλθε καλύτερα στην υδατική καταπόνηση σε συνδυασμό με τις οργανικές λίπανσεις και όχι με τις ανόργανες [126]. Πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Instructional Farm of Agronomy, Rajasthan College of Agriculture, Udaipur για τη μελέτη των επιδράσεων ανόργανης και οργανικής λίπανσης κατέδειξε ότι η λίπανση σε συνδυασμό με διαλυτά φωσφορικά βακτήρια ήταν αποτελεσματικά στην ενίσχυση της απόδοσης της τριγωνέλλας [127], κάτι το οποίο είναι σε αντίθεση με τα αποτελέσματα του πειράματος των Arani *et al.* όπου η τριγωνέλλα δεν αξιοποίησε όλες τις μονάδες αζώτου που εφαρμόστηκαν [126]. Μια ακόμα έρευνα, σε περιοχές με περιορισμένη διαθεσιμότητα νερού, διαπίστωσε ότι ο εμβολιασμός του σπόρου σποράς με *Azotobacter chroococcum* και *Pseudomonas fluorescense* μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τις αποδόσεις τριγωνέλλας και την περιεκτικότητα σε τριγωνελλίνη. Συγκεκριμένα, ο συνδυασμός οργανικής λίπανσης με εμβολιασμένο σπόρο με *A. chroococcum* and *P. fluorescense* απέδωσε πολύ καλύτερα σε σύγκριση με την εφαρμογή ανόργανης λίπανσης [128].

Ο φώσφορος και το θείο είναι στοιχεία που έχουν μελετηθεί στη βιβλιογραφία για την καλλιέργεια της τριγωνέλλας. Ο φώσφορος είναι απαραίτητος για τη γενική υγεία του φυτού, την ανάπτυξη των ριζών και τη δημιουργία ανθεκτικών στελεχών. Το θείο αποτελεί ένα σημαντικό θρεπτικό συστατικό που επηρεάζει την ανάπτυξη και την απόδοση της τριγωνέλλας [129].

Τα τελευταία χρόνια έχουν εφαρμοστεί διάφορα οργανικά και βιολογικά υλικά στην καλλιέργεια τριγωνέλλας με σκοπό να αυξήσουν τις αποδόσεις της και να μειώσουν το περιβαλλοντικό αποτύπωμα. Μελετήθηκε η εφαρμογή biochar στις φαρμακευτικές ενώσεις των σπόρων τριγωνέλλας με πολύ θετικά αποτελέσματα σε καλλιέργεια που εκτίθενται σε υδατική καταπόνηση [130]. Η εφαρμογή biochar στο χωράφι είναι μια δυνητικά πολύτιμη γεωργική πρακτική που βελτιώνει τις φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητες του εδάφους. Επιπλέον, το biochar μέσω της καύσης των αερίων πυρόλυσης, μπορεί να μειώσει την εκπομπή

αερίων του θερμοκηπίου [131-134]. Σε πειράματα σε γλάστρες, αποδείχθηκε ότι η εφαρμογή βιολογικών λιπασμάτων βελτίωσε σημαντικά τη βλαστική ανάπτυξη καθώς και την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Συγκεκριμένα, η εφαρμογή της AS (*Azotobacter chroococum* και *Pseudomonas fluorescence*) ενίσχυσε τη βλαστική ανάπτυξη της τριγωνέλλα καθώς και την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών [135].

2.1.3 Τριγωνέλλα και αλατότητα

Η αλατότητα είναι μια σημαντική αβιοτική καταπόνηση που επηρεάζει σοβαρά την ανάπτυξη και την εξέλιξη των καλλιεργειών από το φύτευμα των σπόρων μέχρι τη συγκομιδή. Τα τελευταία χρόνια παρατηρούνται αυξανόμενες επιβλαβείς επιπτώσεις στη γεωργική παραγωγή, ιδίως σε άγονες και ημιξηρικές περιοχές όπου οι βροχοπτώσεις είναι χαμηλές και η εξατμισοδιαπνοή υψηλή [136]. Η τρέχουσα προοδευτική αύξηση της αλάτωσης του εδάφους μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια περίπου 30% της καλλιεργήσιμης γης μέσα στα επόμενα 25 χρόνια. Για να καλυφθεί η προβλεπόμενη ζήτηση τροφίμων των 9.3 δισεκατομμυρίων ανθρώπων έως το 2050 [137], πρέπει να αυξηθεί η παγκόσμια γεωργική παραγωγή. Ως εκ τούτου, απαιτούνται εντατικές προσπάθειες για τη βελτίωση της γεωργικής παραγωγής [138].

Η αλατότητα του εδάφους είναι ένας σημαντικός παράγοντας που εμποδίζει τη συμβατική παραγωγή καλλιεργειών. Η συνεχής καλλιέργεια σε συνδυασμό με την κακοδιαχείριση της άρδευσης έχει μετατρέψει εκατοντάδες καλλιεργούμενα εύφορα χωράφια σε αλατούχα. Ένας εφικτός τρόπος αντιμετώπισης αυτής της πρόκλησης είναι η βελτίωση ανθεκτικών καλλιεργειών που αντέχουν στην αλατότητα. Η κατανόηση των μηχανισμών που διέπουν την ανοχή των φυτών στο αλάτι θα ήταν επωφελής για την αναπαραγωγή φυτών και τον μετριασμό των μελλοντικών ελλείψεων τροφίμων [138]. Τα φυτά επηρεάζονται από την καταπόνηση αλατότητας και αναπτύσσουν πολλούς μηχανισμούς για να την ανεχθούν.

Γενικά, η αλατότητα έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην παραγωγή καλλιεργειών και επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών με δύο τρόπους. Πρώτον, η ανάπτυξη των φυτών μειώνεται λόγω των οσμωτικών επιδράσεων των ιόντων αλατιού και στη συνέχεια οι τοξικές επιδράσεις του αλατιού οδηγούν στην αποξήρανση των φύλλων και στη μείωση της φωτοσύνθεσης και της ανάπτυξης [139]. Εάν τα φύλλα δεν έχουν το απαραίτητο δυναμικό για τη μεταφορά ιόντων νατρίου και χλωρίου στις κεντρικές κυτταρικές δομές, τα ιόντα μπορεί να συσσωρευτούν σε τοξικά επίπεδα και να αναστείλουν τη φωτοσύνθεση [140]. Το στρες αλατότητας μπορεί να μεταβάλει διάφορες φυσιολογικές δραστηριότητες των φυτών, να διακόψει τη δραστηριότητα των μεμβρανών, να επηρεάσει τη φωτοσύνθεση, να δημιουργήσει ανισορροπία θρεπτικών συστατικών και να βλάψει τα βιομόρια όπως λιπίδια, διαλυτές πρωτεΐνες και ένζυμα [141].

Η τριγωνέλλα θεωρείται ως ένα από τα ανθεκτικά στην αλατότητα φαρμακευτικά βότανα που έχει μακρά ιστορία χρήσης στην παραδοσιακή ιατρική με πολλές θεραπευτικές ιδιότητες [142]. Έχουν διεξαχθεί λίγες μελέτες σχετικά με τις επιπτώσεις της καταπόνησης αλατότητας στην τριγωνέλλα, κυρίως σχετικά με την εκβλάστηση των σπόρων. Η τριγωνελλίνη παίζει οσμωρυθμιστικό ρόλο στο αβιοτικό στρες. Η αύξηση της ενδογενούς μελατονίνης και τριγωνελλίνης αποτελεί οσμωρυθμιστική ιδιότητα του φυτού και το καθιστά ένα

φυτό ανεκτικό στο περιβαλλοντικό στρες, καθώς και στις γενικές φυσιολογικές αποκρίσεις [143]. Οπότε, η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο η αλατότητα γίνεται αντιληπτή από το φυτό και επηρεάζει την ανάπτυξη του, μπορεί να βοηθήσει τους ερευνητές και τους κτηνοτρόφους να την εντάξουν στις καλλιέργειες με αντοχή στην αλατότητα.

Σε πειράματα θερμοκηπίου, αξιολογήθηκε η επίδραση της αλατότητας του εδάφους σε καλλιέργεια τριγωνέλλας καθώς και η ανοχής της στην αλατότητα χρησιμοποιώντας ορισμένα εμπειρικά μοντέλα [144]. Οι επεμβάσεις περιλάμβαναν διαφορετικά επίπεδα αλατότητας του νερού άρδευσης (0.5, 2, 4, 6, 8, 10 και 12 dS m⁻¹) και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αλατότητα μείωσε την επιφάνεια των φύλλων, αλλά αύξησε το πάχος των φύλλων και άλλα ποιοτικά χαρακτηριστικά (π.χ. αλδεΐδες). Επιπρόσθετα, οι Agarwal & Gurta σημείωσαν τη δυνατότητα της καλλιέργειας σε συνθήκες υψηλής αλατότητα [145]. Επιπλέον, μελέτες των Chowdhury *et al.* έδειξαν ότι όταν η αλατότητα του εδάφους αυξάνεται πάνω από 4 dS m⁻¹ η ανθεκτικότητα των φυτών τριγωνέλλας κινδυνεύει σε μεγάλο βαθμό [146]. Ωστόσο, στα τελευταία στάδια ανάπτυξης μέχρι την ωρίμανση, το φυτό είναι σε θέση να ανεχθεί υψηλότερα επίπεδα αλατότητας (4–12 dS m⁻¹). Σε αντίθεση, οι Ratnakar & Rai διαπίστωσαν ότι η τριγωνέλλα είναι ευαίσθητη στην αλατότητα και ότι η αυξανόμενη συγκέντρωση NaCl στο μέσο ανάπτυξης της επηρεάζει αρνητικά τη βλάστησή της [147]. Οι σπόροι τοποθετήθηκαν για βλάστηση και τα σπορόφυτα αφέθηκαν να αναπτυχθούν για επτά ημέρες σε διαφορετικά επίπεδα αλατότητας NaCl (0 mM έως 100 mM). Το συμπέρασμα ήταν ότι οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις NaCl (έως 40 mM) δεν επηρέασαν το ποσοστό βλάστησης αλλά η βλάστηση βρέθηκε να καθυστερεί. Σε υψηλά επίπεδα αλατότητας (NaCl >80mM), καταγράφηκε ανασταλτική επίδραση στη βλάστηση σε βαθμό που οι σπόροι δεν βλάστησαν [147].

Οι Tavangar *et al.* μελέτησαν την καταπόνηση σε αλατότητα και ξηρασία στις μορφολογικές και βιοχημικές ιδιότητες δύο πληθυσμών ιρανικής τριγωνέλλας με στόχο να αποδείξουν ότι η *in vitro* καλλιέργεια θα μπορούσε να είναι ένα σημαντικό μέσο για τη βελτίωση της ανοχής και της απόδοσης των καλλιεργειών μέσω γενετικού μετασχηματισμού. Τα αποτελέσματά τους ανέδειξαν ότι η αλατότητα και η ξηρασία μείωσαν τον κάλο αλλά αύξησαν την πρωτεΐνη [148].

Η διαφυλλική εφαρμογή εκχυλίσματος φρέσκων φύλλων *Moringa* βελτίωσαν τις αλλοιώσεις που σημειώθηκαν στη φυσιολογική ανάπτυξη της τριγωνέλλας από το στρες αλατότητας [149]. Η διαφυλλική εφαρμογή του εκχυλίσματος βελτίωσε την ανάπτυξη ενισχύοντας τις φωτοσυνθετικές χρωστικές, τους οσμολύτες, τις ολικές φαινόλες, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺. Ως εκ τούτου, θα μπορούσε να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η διαφυλλική εφαρμογή εκχυλίσματος φρέσκων φύλλων *Moringa* μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη μείωση των αρνητικών επιπτώσεων της καταπόνησης λόγω αλατότητας. Επιπλέον, αυτή η τεχνική είναι εύκολη στην εφαρμογή και είναι φιλική προς το περιβάλλον και θα μπορούσε να γίνει αποδεκτή από τους αγρότες για χρήση στο χωράφι για τη βελτίωση της ανάπτυξης και της απόδοσης των φυτών.

Επιπλέον, σε πειράματα αγρού με 5 επίπεδα ανταλλάξιμου ποσοστού νατρίου (ESP10, 20, 30, 40 και 50) και 4 ποικιλίες (HM-346, RMt-1, Hissar Sonali και Kalyanpur Selection) βρέθηκε ότι η καλλιέργεια μπορεί να

αντέξει το νάτριο στο στάδιο της βλάστησης. Ωστόσο, παρατηρήθηκε αρνητική επίδραση στην εμφάνιση των βλαστών του φυτού, αλλά όχι στο ύψος του [150].

2.1.4 Σκοπός μελέτης

Το στρες της αλατότητας είναι μία από τις επικρατούσες αβιοτικές καταπονήσεις που έχει ως αποτέλεσμα σημαντικές απώλειες στη γεωργική παραγωγή, ιδιαίτερα σε άνυδρες και ημίξηρες περιοχές. Σύμφωνα με τον οργανισμό FAO, περίπου 800 εκατομμύρια εκτάρια γης επηρεάζονται από την αλατότητα παγκοσμίως. Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας η γνώση των μηχανισμών ανοχής στην αλατότητα προκειμένου να αποκτηθούν φυτά με καλύτερη απόκριση σε αυτό το αβιοτικό στρες. Ταυτόχρονα, είναι απαραίτητο να επιτευχθούν αυτοί οι στόχοι με βιώσιμες γεωργικές πρακτικές που επιτρέπουν την απόκτηση παραγωγικότερων καλλιεργειών σε ένα μελλοντικό σενάριο κλιματικής αλλαγής.

Η αλατότητα είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που περιορίζει τη γεωγραφική κατανομή των φυτών και επηρεάζει αρνητικά την παραγωγικότητα και την ποιότητα των καλλιεργειών. Η αλατότητα επηρεάζει περίπου το 30% της αρδευόμενης γης στον κόσμο, αυξάνοντας αυτή την έκταση περίπου 1-2% ετησίως λόγω των επιφανειών γης που επηρεάζονται από το αλάτι [151]. Στην Ευρώπη, περίπου 3 εκατομμύρια εκτάρια γης επηρεάζονται από την αλατότητα. Αυτή η κατάσταση ενδέχεται να επιδεινωθεί εξαιτίας της κλιματικής αλλαγής, όπου θα υπάρξει συνολική αύξηση της θερμοκρασίας και μείωση της μέσης ετήσιας βροχόπτωσης παγκοσμίως.

Η κατανόηση των επιδράσεων της λίπανσης (βιολογικής και ανόργανης) και της αλατότητας στην ανάπτυξη και την απόδοση της τριγωνέλλας μπορεί να προσφέρει πολύτιμες γνώσεις για τους αγρότες και τους επαγγελματίες της γεωργίας. Η τριγωνέλλα είναι μια σημαντική καλλιέργεια σε κάποιες περιοχές και η βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάπτυξής της μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη παραγωγικότητα και καλύτερες αποδόσεις.

Η παρούσα έρευνα επικεντρώνεται στη μελέτη του αντίκτυπου των διαφόρων μεθόδων λίπανσης (βιολογικών και ανόργανων) σε υψηλά και συμβατικά επίπεδα αλατότητας. Η έρευνα μπορεί να παράσχει καθοδήγηση για βιώσιμες γεωργικές πρακτικές. Τα βιολογικά λιπάσματα προτιμώνται συχνά για τα περιβαλλοντικά τους οφέλη, αλλά είναι σημαντικό να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητά τους σε σύγκριση με τα συμβατικά, ανόργανα λιπάσματα. Επιπλέον, η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο η αλατότητα επηρεάζει την ανάπτυξη της τριγωνέλλας μπορεί να βοηθήσει τους αγρότες να διαχειριστούν πιο αποτελεσματικά τα αλατούχα εδάφη. Ένας ακόμη σημαντικός λόγος για την πραγματοποίηση αυτής της έρευνας είναι η επισιτιστική ασφάλεια και διατροφή. Η τριγωνέλλα δεν είναι μόνο μια πολύτιμη καλλιέργεια για τους αγρότες, αλλά και ένα σημαντικό συστατικό της διατροφής σε πολλούς πολιτισμούς. Χρησιμοποιείται τόσο ως μαγειρικό βότανο όσο και για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες.

Η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα διάφορα λιπάσματα και οι εδαφικές συνθήκες επηρεάζουν την ανάπτυξη των φυτών μπορεί να βοηθήσει στην ελαχιστοποίηση των αρνητικών περιβαλλοντικών συνεπειών,

όπως η απορροή θρεπτικών ουσιών και η υποβάθμιση του εδάφους. Τέλος, η έρευνα αυτή συμβάλλει στην ευρύτερη επιστημονική κατανόηση της φυσιολογίας των φυτών και της γεωργίας. Με τη διερεύνηση των συγκεκριμένων αντιδράσεων της τριγωνέλλας στη λίπανση και την αλατότητα, προωθείται η γνώση στη βιολογία των φυτών, στη γεωπονία και στην επιστήμη του εδάφους, η οποία μπορεί να έχει επιπτώσεις πέραν της καλλιέργειας της τριγωνέλλας και σε άλλες καλλιέργειες.

2.2 Υλικά και Μέθοδοι

2.2.1 Περιοχή έρευνας

2.2.1.1 Θέση και ιστορικό πειραματικών τεμαχίων

Τα πειράματα καλλιέργειας τριγωνέλλας, για την πραγματοποίηση της παρούσας διατριβής, διεξήχθησαν στον πειραματικό αγρό του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α.) του Εργαστηρίου Γεωργίας (πειραματικός αγρός αροτραίων καλλιεργειών) ($37^{\circ}59'02.1''\text{N}$ $23^{\circ}42'08.4''\text{E}$ και υψόμετρο 28.04 m) για τρεις διαδοχικές καλλιεργητικές περιόδους (Εικόνα 2-2). Η εγκατάσταση έγινε στον βιολογικό αγρό (ΕΚ 834/2007). Η πρώτη καλλιεργητική περίοδος (ΚΠ) του πειράματος ήταν το 2018-2019 και ακολούθησαν οι καλλιεργητικοί περίοδοι το 2019-2020 και το 2020-2021, όπου καλλιεργήθηκε μία ποικιλία τριγωνέλλας σε όλη την έκταση του πειράματος. Η προηγούμενη καλλιέργεια ήταν βιολογικός καπνός με χλωρή λίπανση βίκου.



Εικόνα 2-2 Το πειραματικό τεμάχιο, με συντεταγμένες $37^{\circ} 59' 01.93'' \text{ N}$, $23^{\circ} 42' 07.39'' \text{ E}$ και 28.04 m υψόμετρο, όπου καλλιεργήθηκε η τριγωνέλλα για 3 επί συναπτά έτη.

Η Αθήνα είναι μία από τις θερμότερες πόλεις της ηπειρωτικής Ευρώπης και σύμφωνα με την Εθνική Μετεωρολογική Υπηρεσία το Λεκανοπέδιο της Αθήνας είναι επίσης η θερμότερη περιοχή της χώρας με μια μέση ετήσια θερμοκρασία στους 19.8°C . Το κυριότερο χαρακτηριστικό του Αθηναϊκού κλίματος είναι η εναλλαγή παρατεταμένων ζεστών και ξηρών καλοκαιριών και ήπιων και υγρών χειμώνων. Με μέση ετήσια

βροχόπτωση 433.1mm, βροχές εμφανίζονται μεταξύ των μηνών Οκτωβρίου και Απριλίου. Ο Ιούλιος και ο Αύγουστος είναι οι ξηρότεροι μήνες με καμία έως μία βροχόπτωση το μήνα.

2.2.1.2 Προσδιορισμός εδαφικών παραμέτρων

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2-1) παρουσιάζονται οι φυσικές και χημικές ιδιότητες του εδάφους από το πειραματικό αγρό. Η ανάλυση έγινε από 5 εδαφικά δείγματα βάθους 0-30 cm που επιλέχθηκαν με τυχαιοποίηση.

Πίνακας 2-1 Φυσιχοημικά χαρακτηριστικά πειραματικού αγρού πριν από την εγκατάσταση του πειράματος

Παράμετρος	Περιεκτικότητα	
Κοκκομετρική σύσταση	Άμμος (S)	35.5 %
	Ίλύς (Si)	35.5 %
	Άργιλος (C)	29.0 %
pH	7.54	
Οργανική ουσία	2.37 %	
CaCO ₃	29 %	
Άζωτο (N)	101.3 ppm	
Φώσφορος (P)	20.3 ppm	
Κάλιο (K)	235 ppm	

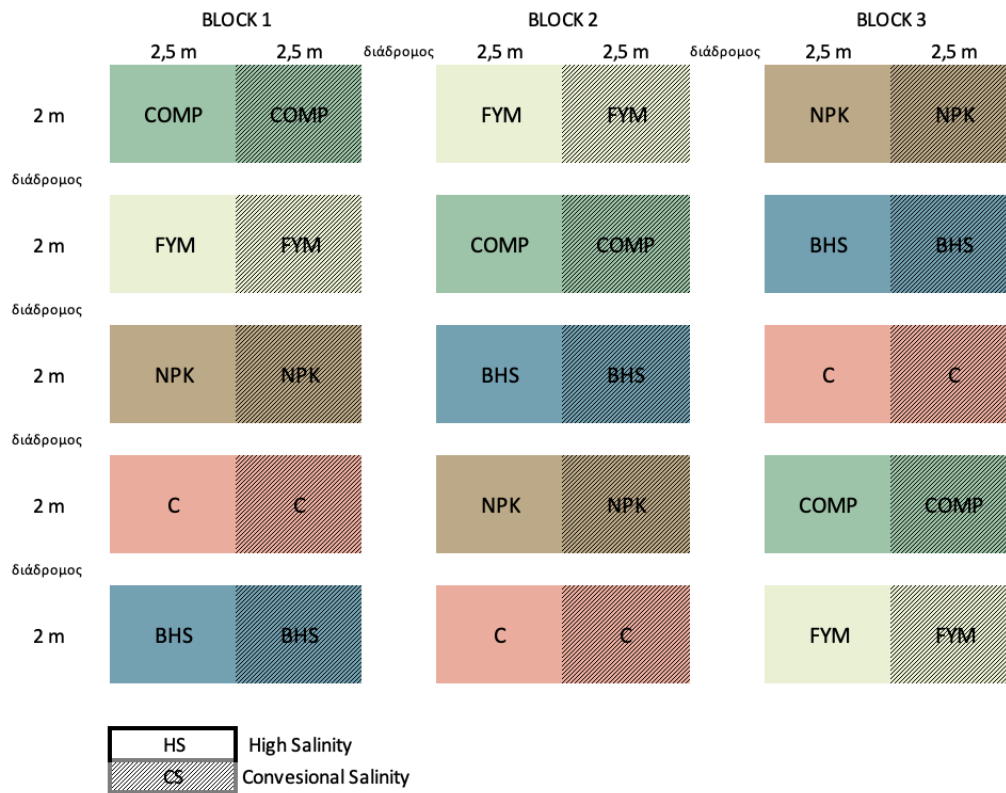
Το pH του εδάφους χαρακτηρίζεται ως αργιλοπηλώδες, ελαφρά αλκαλικό και με ικανοποιητική περιεκτικότητα σε οργανική ουσία (2.37 %).

2.2.2 Πειραματικό σχέδιο

Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν αυτό των υποδιαιρεμένων τεμαχίων (Split plot design). Το σχέδιο των υποδιαιρεμένων τεμαχίων είναι παραγοντικό σχέδιο σύμφωνα με το οποίο μεγάλα πειραματικά τεμάχια στα οποία εφαρμόζεται μια κύρια επέμβαση και διαιρούνται σε υποτεμάχια στα οποία εφαρμόζονται δευτερεύουσες επεμβάσεις.

Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 15 μεγάλα τεμάχια (κύριες επεμβάσεις) όπου εφαρμόστηκαν οι 2 κύριες επεμβάσεις της αλατότητας (HS = υψηλή αλατότητα & CS= κανονική αλατότητα) και 30 υποτεμάχια (5 m²) με τις 4 λιπάνσεις (βιοκυκλική-vegan (BHS), κοπριά (FYM), κομπόστ (COMP), ανόργανη λίπανση (11-15-15) και το μάρτυρα (C)). Κάθε μεγάλο τεμάχιο είχε μέγεθος 10 m² και ανάμεσά τους ο διάδρομος είχε πλάτος 1m. Έγιναν 3 επαναλήψεις (Διάγραμμα 2-1).

Στη διάρκεια των τριών καλλιεργητικών περιόδων το πειραματικό σχέδιο παρέμεινε अपαράλλακτο.



Διάγραμμα 2-1 Πειραματικό σχέδιο τριγωνέλλας



Εικόνα 2-3 Ο πειραματικός αγρός

2.2.3 Φυτικό υλικό και επεμβάσεις

Το αναπαραγωγικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν σπόροι τριγωνέλλας (*Trigonella foenum graecum* L.). Η επίσημη διώνυμη ονομασία του φυτού δόθηκε από τον Σουηδό βοτανολόγο Κάρολος Λινναίος και η συστηματική ταξινόμηση παρουσιάζεται στον Πίνακα 2-2.

Πίνακας 2-2 Η συστηματική ταξινόμηση της τριγωνέλλας

Βασίλειο	Φυτά (Plantae)
Συνομοταξία	Αγγειόσπερμα (Angiosperms)
Ομοταξία	Ευδικότυλα (Eudicots)
Υφομοταξία	Ροδίδες (Rosids)
Τάξη	Κυαμώδη (Fabales)
Οικογένεια	Φαβίδες (Fabaceae)
Γένος	Τριγωνίσκος (<i>Trigonella</i>)
Είδος	Τ. ο Ελληνικός (<i>T. foenum-graecum</i>)

Η χάραξη των γραμμών έγινε χειρονακτικά με γραμμοχαράκτη (Εικόνα 2-4). Η σπορά του πειραματικού αγρού πραγματοποιήθηκε με το χέρι με απόσταση γραμμών σποράς 30 cm. Η ποσότητα σπόρου σποράς είναι 30 kg ha⁻¹.



Εικόνα 2-4 Η χάραξη του πειράματος και σπορά

Οι σπορές πραγματοποιήθηκαν στις 30 Οκτωβρίου 2018, 04 Νοεμβρίου 2019 και 7 Νοεμβρίου 2020.

Η επέμβαση της αλατότητας πραγματοποιήθηκε 1 εβδομάδα μετά την σπορά, όπου 200 kg ha⁻¹ εφαρμόζονταν χύδην στην επιφάνεια των τεμαχίων (Εικόνα 2-3) βάση πειραματικού. Τα τεμάχια CS δέχτηκαν μηδενική ποσότητα αλατιού.

Για την επέμβαση της λίπανσης εφαρμόστηκαν 4 είδη λιπάνσεων:

1. Βιοκυκλική-vegan (BHS),
2. Κοπριά (FYM),
3. Κομπόστ (COMP),
4. Ανόργανη λίπανση (11-15-15), και
5. Ο μάρτυρας (C).

Οι ποσότητες που εφαρμόστηκαν υπολογίστηκαν ώστε να είναι ίδιες μονάδες αζώτου ανά επέμβαση, 110 kg N ha⁻¹.

2.2.3.1 Βιοκυκλική-vegan (BHS)

Το Biocyclic Humus Soil (BHS) είναι ένα έτοιμο πλήρως ωριμασμένο εδαφοβελτιωτικό χουμόχωμα φυτικής προέλευσης με έντονη ενισχυτική δράση για τη ριζοβολία και την ανάπτυξη των φυτών. Το BHS είναι πλούσιο σε θρεπτικά στοιχεία σε φυσιολογικές αναλογίες (Πίνακας 2-3), μπορεί να χρησιμοποιηθεί χωρίς προσμίξεις, και δεν εμφανίζει κίνδυνο έκπλυσης ή υπερλίπανσης. Το BHS είναι εγκεκριμένο για Βιολογική Γεωργία και Βιοκυκλική Φυτοπονία (Biocyclic Vegan Standard) και είναι κατάλληλο για όλες τις καλλιέργειες.

Το BHS συνιστάται ως υποκατάστατο κοπριάς ή άλλων λιπασμάτων ζωικής προέλευσης για τους παραγωγούς που εφαρμόζουν το Πρότυπο Βιοκυκλικής Φυτοπονίας.

Το BHS παράγεται στο πλαίσιο της βιολογικής καλλιέργειας κηπευτικών σύμφωνα με το Πρότυπο Βιοκυκλικής Φυτοπονίας στο ΒΙΟΚΥΚΛΙΚΟ ΠΑΡΚΟ, Καλαμάτας. Το βιοκυκλικό χουμόχωμα που εφαρμόστηκε στο πείραμα ήταν 3.928 ton ha⁻¹.

Πίνακας 2-3 Χαρακτηριστικά βιοκυκλικού-vegan χουμοχώματος

Παράμετρος	Προσδιορισμός
Απώλεια πύρωσης (105 °C)	41.0 g/ 100 g
Δοκιμή φυτοτοξικότητας	114%
pH	7.6
Ηλεκτρική αγωγιμότητα	406 μS/ cm ²
Τέφρα (550°C)	53.7 g/ 100 g
Οργανική ουσία	46.3 g/ 100 g
Οργανικός Άνθρακας (C)	22.8 g /100g
Water Holding Capacity	86 ml H ₂ O/ 100 g
I.A.K. (C.E.C.)	91.9 meq N/ 100 g
Ανταλλάξιμο Νάτριο (N)	1.0 meq Na/ 100 g
Ανταλλάξιμο Κάλιο (Ka)	1.5 meq K/ 100 g
Ανταλλάξιμο Ασβέστιο (Ca)	73.1 meq Ca/ 100 g
Ανταλλάξιμο Μαγνήσιο (Mg)	15.8 meq Mg/ 100 g
Ισοδύναμο ανθρακικό ασβέστιο	4.2 g/ 100 g
Ολικό άζωτο (N)	2.8 g/ 100 g

Αμμωνιακό άζωτο	4.2 mg/ kg
Λόγος C/N	8.1
Ολικό Κάλιο	0.6 g/ 100 g
Ολικό Νάτριο	0.1 g/ 100 g
Ολικό Ασβέστιο	9.6 g/ 100 g
Ολικό Μαγνήσιο	2.2 g/ 100 g
Ολικό Θείο	<0.1 g/ 100 g

2.2.3.2 Κοπριά (FYM)

Η κοπριά (FYM) που εφαρμόστηκε στο πειραματικό προέρχεται από τις σταβλικές εγκαταστάσεις του Γ.Π.Α. και ήταν 6.875 ton ha⁻¹. Ο Πίνακας 2-4 παρουσιάζει τη φυσικοχημική σύσταση της κοπριάς.

Πίνακας 2-4 Χαρακτηριστικά κοπριάς

Παράμετρος	Περιεκτικότητα
pH	7.39
Ολικό N	1.60 %
P (Olsen)	8.9 ppm
Οργανικός C	4.4%
Υγρασία	15%

2.2.3.3 Κομπόστ (COMP)

Το κομπόστ (COMP) που εφαρμόστηκε στο πειραματικό είναι εμπορικό σκεύασμα και η εφαρμοζόμενη ποσότητα ήταν 9.166 ton ha⁻¹. Η σύνθεση του COMP ήταν 70% κομπόστ, 15% μαύρη τύρφη, 10% οργανικά υλικά, 5% περλίτη με pH 5.5 - 6.8 και άζωτο 1.2%.

2.2.3.4 Ανόργανη λίπανση (11-15-15)

Το ανόργανο λίπασμα που εφαρμόστηκε στο πειραματικό είναι το εμπορικό σκεύασμα 11-15-15 με χημική σύνθεση 11% ολικό άζωτο, 15% P₂O₅ και 15% K₂O. Η ποσότητα που εφαρμόστηκε ήταν 1 ton ha⁻¹.

2.2.3.5 Μάρτυρας (C)

Τα αντίστοιχα τεμάχια δεν δέχτηκαν κάποιο είδος λίπανσης.

2.2.4 Καλλιεργητικές φροντίδες

Στις τρεις καλλιεργητικές περιόδους, η κατεργασία του εδάφους παρέμεινε ίδια. Αμέσως μετά την προηγούμενη καλλιέργεια έγινε πρωτογενής κατεργασία με καλλιεργητή με κύριο στόχο να επαναδιαμορφώσει το πορώδες του εδάφους (Εικόνα 2-5). Πραγματοποιήθηκε ελαφριά εδαφοκατεργασία με φρέζα για την προετοιμασία του εδάφους πριν την σπορά.

Κατά τη διάρκεια του πειράματος, δεν εφαρμόστηκε κάποια εδαφοκατεργασία ή επιπρόσθετη λίπανση και η διαχείριση των ζιζανίων γινόταν με χειρωνακτικό βοτάνισμα ανάμεσα από τις γραμμές φύτευσης. Η συγκομιδή πραγματοποιήθηκε στις 4 Ιουνίου 2019, 2 Ιουνίου 2020 και 28 Μαΐου 2021.



Εικόνα 2-5 Προετοιμασία εδάφους, εδαφοκαλλιεργητής

2.2.5 Παρατηρήσεις και μετρήσεις

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης, οι δείκτες με τους οποίους αξιολογήθηκε η ανάπτυξη της καλλιέργειας και οι αποδόσεις σε σπόρο και βιομάζα.

2.2.5.1 Χαρακτηριστικά ανάπτυξης

Τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης που μελετήθηκαν είναι τα εξής:

2.2.5.1.1 Ανάδυση των φυτών (φυτά m⁻²)

Στις 40 ημέρες από σπορά (ΗΑΣ) μετρήθηκε ο αριθμός των φυτών που είχαν φυτρώσει από το έδαφος. Η μέτρηση έγινε με quadrat 0.25 m² σε φυτά m⁻².

2.2.5.1.2 Ύψος φυτών

Σε κάθε μέτρηση, επιλέγονταν 5 τυχαία φυτά από κάθε επέμβαση. Τα φυτά αυτά μεταφέρονταν στο εργαστήριο όπου ακολουθούσε η καταγραφή των αγρονομικών χαρακτηριστικών. Αρχικά, μετρήθηκε η απόσταση από τον λαιμό του φυτού μέχρι το ακραίο μερίστωμα του στελέχους για να καθοριστεί το ύψος (σε cm). Το ύψος των φυτών μετρήθηκε στις 90, 110 και 130 ΗΑΣ.

2.2.5.1.3 Αριθμός βλαστών

Από τα συλλεχθέντα φυτά καταγραφόταν ο αριθμός των βλαστών. Η καταγραφή αυτή έγινε στις 90, 110 και 130 ΗΑΣ.

2.2.5.1.4 Αριθμός φύλλων ανά φυτό

Από τα συλλεχθέντα φυτά μετρήθηκε ο αριθμός των φύλλων ανά φυτό. Ο αριθμός φύλλων ανά φυτό καταγράφηκε στις 90, 110 και 130 ΗΑΣ.

2.2.5.1.5 Ξηρό βάρος φυτού

Τα φυτά τοποθετούνταν σε χάρτινη σακούλα και αποξηραίνονταν σε κλίβανο για 48 ώρες στους 58°C. Με το πέρας της αποξήρανσης ζυγίζονταν σε ζυγαριά ακριβείας. Το ξηρό βάρος φυτού μετρήθηκε στις 90, 110 & 130 ΗΑΣ (σε g).

2.2.5.2 Δείκτες ανάπτυξης

Οι δείκτες ανάπτυξης που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι εξής:

2.2.5.2.1 Απόλυτος ρυθμός ανάπτυξης (Absolute Growth Rate - AGR)

Ο δείκτης AGR (cm day^{-1}) υπολογίστηκε για τα χρονικά διαστήματα 90-110, 110-130, 90-130 ΗΑΣ. Ο δείκτης AGR είναι ένα μέτρο που ποσοτικοποιεί την αύξηση του μεγέθους ή της μάζας ενός οργανισμού ή ενός φυτού κατά τη διάρκεια μιας συγκεκριμένης χρονικής περιόδου. Για τις καλλιέργειες, ο δείκτης αναφέρεται συνήθως στον ρυθμό με τον οποίο αναπτύσσονται διάφορα μέρη του φυτού, όπως τα φύλλα, οι βλαστοί ή οι ρίζες. Ο δείκτης AGR εκφράζεται συνήθως σε μονάδες αύξησης (π.χ. γραμμάρια) ανά μονάδα χρόνου (π.χ. ημέρες).

Ο δείκτης AGR είναι η συνάρτηση της ποσότητας του αναπτυσσόμενου υλικού που υπάρχει και επηρεάζεται από το περιβάλλον (Εξίσωση 2-1). Χρησιμοποιείται κυρίως για ένα μόνο φυτό ή μεμονωμένο φυτικό όργανο, π.χ. ανάπτυξη φύλλων, βάρος φυτού κ.λπ.

$$AGR = \frac{h_2 - h_1}{t_2 - t_1} \quad 2-1$$

Όπου, h_1 και h_2 το ύψος φυτών (cm) σε t_1 και t_2 (day) αντίστοιχα, και $t_1 - t_2$ είναι το χρονικό διάστημα σε ημέρες.

2.2.5.2.2 Καθαρό ποσοστό αφομοίωσης (Net Assimilation Rate - NAR)

Ο δείκτης NAR υπολογίστηκε για τα χρονικά διαστήματα 90-110, 110-130, 90-130 ΗΑΣ. Ο δείκτης NAR χρησιμοποιήθηκε από τον Williams [152] και ορίζεται ως η προσαύξηση της ξηρής ύλης ανά μονάδα επιφάνειας φύλλων ή ανά μονάδα ξηρού βάρους φύλλου ανά μονάδα χρόνου (Εξίσωση 2-2). Ο δείκτης NAR είναι ένα μέτρο της μέσης φωτοσυνθετικής αποτελεσματικότητας των φύλλων σε μια κοινότητα καλλιεργειών.

$$NAR = \frac{(W_2 + W_1)}{(t_2 - t_1)} * \frac{((\text{Loge}L_2) + (\text{Loge}L_1))}{(L_2 - L_1)} \quad 2-2$$

Όπου, το W_1 και το W_2 είναι ξηρό βάρος ολόκληρου του φυτού (g) τη χρονική στιγμή t_1 και t_2 (day) αντίστοιχα, τα L_1 και L_2 είναι η επιφάνεια των φύλλων (cm) στο t_1 και t_2 αντίστοιχα, και $t_1 - t_2$ είναι το χρονικό διάστημα σε ημέρες. Ο δείκτης NAR εκφράζεται ως τα γραμμάρια ξηρού βάρους που αυξάνονται ανά μονάδα επιφάνειας ανά μονάδα χρόνου ($\text{g cm}^{-1} \text{ day}^{-1}$).

2.2.5.2.3 Επιφάνεια φύλλων ανά φυτό (Leaf Area per plant - LA)

Ο δείκτης LA υπολογίστηκε στις 90, 110, 130 ΗΑΣ. Αυτή είναι η περιοχή της φωτοσυνθετικής επιφάνειας που παράγεται από ένα μεμονωμένο φυτό σε μια χρονική περίοδο ($\text{cm}^2 \text{ plant}^{-1}$).

2.2.5.2.4 Συντελεστής Φωτοσυνθετικής Επιφάνειας (Leaf Area Ratio - LAR)

Ο δείκτης LAR υπολογίστηκε στις 90, 110, 130 ΗΑΣ. Ο δείκτης LAR προτάθηκε από τον Radford [153] και εκφράζει την αναλογία μεταξύ της επιφάνειας του ελάσματος των φύλλων προς την συνολική φυτική βιομάζα ή την ποσότητα της φυλλικής επιφάνειας που σχηματίζεται ανά μονάδα βιομάζας ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ξηρού βάρους φυτού) (Εξίσωση 2-3).

$$LAR = \frac{\text{επιφάνεια φύλλων ανά φυτό (cm}^2\text{)}}{\text{ξηρό βάρος φυτού (g)}} \quad 2-3$$

2.2.5.2.5 Σχετικός Ρυθμός Ανάπτυξης (Relative growth rate - RGR)

Ο δείκτης RGR υπολογίστηκε για τα χρονικά διαστήματα 90-110, 110-130, 90-130 ΗΑΣ. Ο όρος επινοήθηκε από τον Williams [152] και εκφράζει τη συνολική αύξηση ξηρού βάρους του φυτού σε ένα χρονικό διάστημα σε σχέση με το αρχικό βάρος ή την αύξηση της ξηρής ύλης ανά μονάδα βιομάζας ανά μονάδα χρόνου ή γραμμάρια ξηρού βάρους αύξηση ανά γραμμάριο ξηρού βάρους ($\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$) (Εξίσωση 2-4).

$$RGR = \frac{((\ln W_2) - (\ln W_1))}{(t_2 - t_1)} \quad 2-4$$

Όπου τα W_1 και W_2 είναι ξηρό βάρος ολόκληρου του φυτού (g) σε t_1 και t_2 (day) αντίστοιχα, και $t_1 - t_2$ είναι το χρονικό διάστημα σε ημέρες.

2.2.5.2.6 Δείκτης φυλλικής επιφάνειας (Leaf area index - LAI)

Ο δείκτης LAI μετρήθηκε στις 90, 110, 130 ΗΑΣ. Παράλληλα με την συλλογή των δειγμάτων γινόταν μέτρηση του δείκτη LAI στον αγρό με το μηχάνημα SunScan Canopy Analysis System (Delta-T Devices Ltd., UK) (Εικόνα 2-6). Ο δείκτης LAI προτάθηκε από Williams [152] και εκφράζει την αναλογία του φύλλου της καλλιέργειας προς την επιφάνεια του εδάφους σε μια χρονική περίοδο (Εξίσωση 5). Η τιμή του δείκτη LAI θα πρέπει να είναι η βέλτιστη στη μέγιστη περιοχή κάλυψης του εδάφους στην οποία ο θόλος των καλλιεργειών λαμβάνει τη μέγιστη ηλιακή ακτινοβολία (Εξίσωση 2-5).

$$LAI = \frac{A}{P} \quad 2-5$$

Όπου A είναι η επιφάνεια φύλλων (cm^2), και P είναι η επιφάνεια του εδάφους (cm^2) στο οποίο μετρήθηκε η επιφάνεια φύλλων.



Εικόνα 2-6 Συσκευή LAI

2.2.5.2.7 Χρονική μεταβολή φυλλικής επιφάνειας (Leaf Area Duration - LAD)

Για να συσχετίσουν την απόδοση ξηρής ύλης με το δείκτη LAI, οι Power *et al.* ενσωμάτωσε το δείκτη LAI με το χρόνο και ονομάστηκε *Χρονική μεταβολή φυλλικής επιφάνειας* (Leaf Area Duration - LAD) [154]. Ο δείκτης LAD λαμβάνει υπόψη, τόσο τη διάρκεια όσο και την έκταση του φωτοσυνθετικού ιστού του θόλου της καλλιέργειας. Ο δείκτης LAD εκφράζεται σε ημέρες (Εξίσωση 2-6).

$$LAD = \frac{L_2 + L_1}{2} * (t_2 - t_1) \quad 2-6$$

Όπου L_1 είναι ο δείκτης LAI στο πρώτο στάδιο, L_2 είναι ο δείκτης LAI στο δεύτερο στάδιο και $t_1 - t_2$ είναι το χρονικό διάστημα σε ημέρες.

2.2.5.3 Συντελεστές απόδοσης

Η απόδοση αξιολογήθηκε με τις παρακάτω μετρήσεις:

2.2.5.3.1 Αριθμός ανθών ανά φυτό

Στις 90 και 110 ΗΑΣ καταγραφόταν ο αριθμός των ανθών. Αυτή η μέτρηση επιτρέπει την εκτίμηση της αναπαραγωγικής ικανότητας των φυτών και αποτελεί έναν κρίσιμο δείκτη της απόδοσης.

2.2.5.3.2 Αριθμός λοβών ανά φυτό

Από τα δείγματα που συλλέχθηκαν από τον αγρό μετρήθηκε επιπλέον ο αριθμός των λοβών στις 110 και 130 ΗΑΣ. Ο αριθμός των λοβών είναι σημαντικός για την αξιολόγηση της παραγωγικής ικανότητας του φυτού και της τελικής απόδοσης σε σπόρους.

2.2.5.3.3 Αριθμός διπλών λοβών ανά φυτό

Στην τριγωνέλλα φύονται δύο λοβοί από το ίδιο σημείο την ίδια περίοδο με τους μονούς λοβούς. Στις 110 και 130 ΗΑΣ καταγράφηκε ο αριθμός των διπλών λοβών. Αυτή η μέτρηση βοηθά στην κατανόηση της αναπαραγωγικής δυναμικής και της αποδοτικότητας του φυτού (Εικόνα 2-7).

2.2.5.3.4 Μήκος λοβών

Στις 110 και 130 ΗΑΣ μετρήθηκε το μήκος των λοβών (σε cm) από τα φυτά που είχαν συλλεχθεί από τον πειραματικό αγρό. Το μήκος των λοβών είναι ένας άλλος σημαντικός δείκτης της υγείας και της παραγωγικότητας του φυτού, παρέχοντας πληροφορίες για την ανάπτυξη και την ποιότητα των λοβών.



Εικόνα 2-7 Φυτό τριγωνέλλας, διακρίνονται ο διπλός λοβός

2.2.5.3.5 Αριθμός σπόρων ανά λοβό

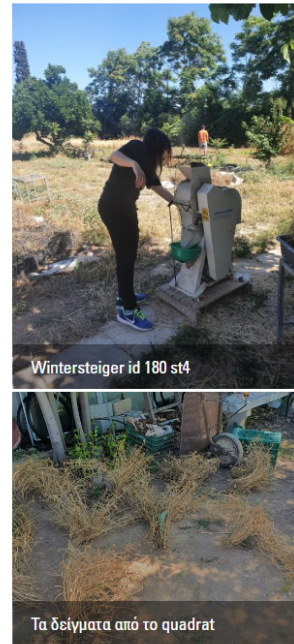
Από τα ίδια δείγματα συνεχίστηκε και η καταγραφή του αριθμού των σπόρων ανά λοβό. Παρομοίως μετρήθηκε ο αριθμός σπόρων ανά λοβό στις 110 και 130 ΗΑΣ.

2.2.5.3.6 Απόδοση σε βιομάζα

Η απόδοση σε βιομάζα μετρήθηκε στις 90 ΗΑΣ (σε kg ha^{-1}) και την ημέρα της συγκομιδής στις 180 ΗΑΣ. Η δειγματοληψία έγινε με quadrat (0.25 m^2). Συλλέχθηκαν 1 quadrat ανά επέμβαση και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου ζυγίστηκαν. Τα δείγματα που συλλέχθηκαν με την συγκομιδή δεν χρειάστηκαν αποξήρανση. Στις 90 ΗΑΣ τα δείγματα τοποθετούνταν σε χάρτινες σακούλες και αποξηραίνονταν σε κλίβανο για 48 ώρες στους 58°C . Με το πέρας της αποξήρανσης ζυγίζονταν σε ζυγαριά ακριβείας.

2.2.5.3.7 Απόδοση σε σπόρο

Χρησιμοποιώντας τις δειγματοληψίες της απόδοσης σε βιομάζα, απομονώθηκαν οι λοβοί. Στη συνέχεια πέρασαν από την εργαστηριακή αλωνιστή Wintersteiger id 180 st4 (Εικόνα 2-8). Στη συνέχεια τα δείγματα ζυγίστηκαν. Η μηχανή Wintersteiger id 180 st4 είναι εργαστηριακός εξοπλισμός για χρήση με μεμονωμένα φυτά, δεσμίδες και μικρά αγροτεμάχια. Η μηχανή μπορεί να αλωνίσει ένα ευρύ φάσμα καλλιεργειών από πολύ μικρούς σπόρους λαχανικών έως μεγάλα φασόλια. Η απόδοση σε σπόρο μετρήθηκε σε kg ha^{-1} .



Εικόνα 2-8 Συγκομιδή

2.2.5.3.8 Βάρος χιλίων σπόρων (ΒΧΣ)

Από τα δείγματα, δημιουργήθηκαν 3 ομάδες των 200 σπόρων από κάθε πειραματικό τεμάχιο και ζυγίστηκαν, με σκοπό την μέτρηση του βάρους των χιλίων σπόρων (σε g).

2.2.5.3.9 Δείκτης συγκομιδής (Harvest index - HI)

Ο δείκτης HI εκφράζεται ως η ποσοστιαία αναλογία μεταξύ της οικονομικής απόδοσης και της συνολικής βιολογικής απόδοσης. Ο δείκτης HI προτάθηκε από τον Nichiporovich (Εξίσωση 2-7) [155].

$$HI = \frac{\text{seed yield } \left(\frac{kg}{ha}\right)}{\text{biological yield } \left(\frac{kg}{ha}\right)} * 100 \quad 2-7$$

2.2.5.3.10 Ποσοστό μετατόπισης (Translocation percentage - TP)

Ο δείκτης TP στις καλλιέργειες αναφέρεται στο ποσοστό της συνολικής ξηράς ουσίας που παράγεται από ένα φυτό και μεταφέρεται από τα όργανα προέλευσης (συνήθως φύλλα) στα όργανα απόδοσης (συνήθως καρποί, σπόροι ή αποθηκευτικά όργανα) (Εξίσωση 2-8). Είναι ένας δείκτης που δείχνει πόσο αποτελεσματικά ένα φυτό κατανέμει τους πόρους, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την απόδοση και τη συνολική παραγωγικότητα της καλλιέργειας:

$$TP = \frac{SWf (g) - SWh (g)}{FWf (g) - FWh (g)} \quad 2-8$$

Όπου SWf είναι το βάρος βλαστών κατά την ανθοφορία (g), SWh είναι το βάρος βλαστού κατά τη συγκομιδή (g), FWf είναι το Βάρος λοβών κατά την ανθοφορία (g) και FWh είναι το βάρος λοβών κατά τη συγκομιδή (g).

2.2.5.3.11 Αποδοτικότητα βιομάζας (Dry Matter Efficiency- DME)

Ο δείκτης DME ορίζεται ως το ποσοστό της ξηρής ύλης που συσσωρεύεται στους σπόρους από τη συνολική ξηρή ύλη που παράγεται κατά την περίοδο ανάπτυξης της καλλιέργειας (Εξίσωση 2-9).

$$DME = \frac{\text{seed yield} \left(\frac{kg}{ha}\right)}{\text{biological yield} \left(\frac{kg}{ha}\right)} * \frac{100}{\text{crop duration (days)}} \quad 2-9$$

Όπου Crop duration είναι η διάρκεια της καλλιέργειας στο χωράφι (days).

2.2.5.3.12 Αποδοτικότητα μονάδας επιφάνειας (Unit area efficiency- UAE)

Ο δείκτης UAE είναι ένα μέτρο της γεωργικής παραγωγικότητας, το οποίο εκφράζεται ως το ποσό της απόδοσης σε σπόρους που παράγεται σε μια μονάδα επιφάνειας γης για μια συγκεκριμένη περίοδο ανάπτυξης της καλλιέργειας (Εξίσωση 2-10) [156].

$$UAE = \frac{\text{seed yield} \left(\frac{kg}{ha}\right)}{\text{land use (ha)}} * \frac{100}{\text{crop duration (days)}} \quad 2-10$$

2.2.6 Στατιστική ανάλυση

Τα πειραματικά δεδομένα αξιολογήθηκαν με την ανάλυση της παραλλακτικότητας (ANOVA) για όλα τα έτη. Επιπρόσθετα, διαμορφώθηκαν οι ομογενείς ομάδες μέσων μέσω της μεθόδου Tukey (Tukey's Method) καθώς το πείραμα είναι διπαραγοντικό. Για τις ομογενείς ομάδες, η μηδενική υπόθεση της ισότητας των μέσων τιμών εντός αυτών δεν απορρίπτεται. Όλες οι αναλύσεις έγιναν σε επίπεδο σημαντικότητας ίσο με 5% ($\alpha=0.05$) και χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Sigma Plot (ver. 10; Systat Software Inc., CA, USA). Επιπρόσθετα, ο συντελεστής συσχέτισης Pearson (PCC) υπολογίστηκε με το λογισμικό R, με όλες τις αναλύσεις να πραγματοποιούνται σε επίπεδο σημαντικότητας ίσο με 5% ($\alpha=0.05$).

2.3 Αποτελέσματα

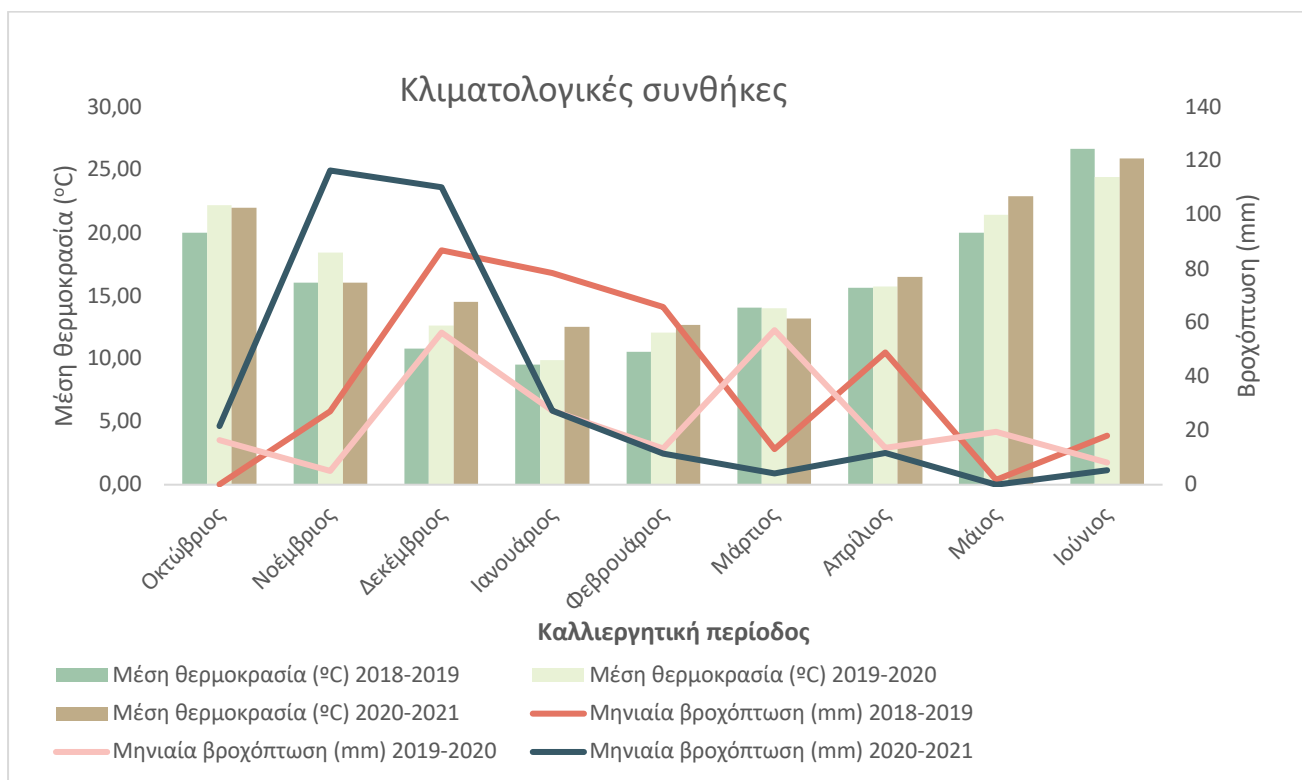
Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης. Επιπρόσθετα, περιγράφονται οι πίνακες οι οποίοι παρουσιάζουν την ανάλυση της παραλλακτικότητας και τις ομογενείς ομάδες για τις οποίες η υπόθεση της ισότητας των μέσων τιμών εντός αυτών δεν απορρίπτεται από τις αντίστοιχες p-τιμές.

2.3.1 Περιβαλλοντικές συνθήκες

Οι μέσες μηνιαίες θερμοκρασίες παρουσιάζουν διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια των τριών πειραματικών ετών, με ορισμένους μήνες να παρουσιάζουν υψηλότερες ή χαμηλότερες θερμοκρασίες σε σύγκριση με άλλους. Στους καλοκαιρινούς μήνες, Ιούνιο, Ιούλιο Αύγουστο, σημειώνονται οι υψηλότερες θερμοκρασίες, γεγονός που συνάδει με το μεσογειακό κλίμα που χαρακτηρίζεται από ζεστά και ξηρά καλοκαίρια (**Διάγραμμα 2-2**).

Το κλίμα της Ελλάδας χαρακτηρίζεται από διακριτές υγρές και ξηρές εποχές, με τις περισσότερες βροχοπτώσεις να σημειώνονται κατά τους χειμερινούς μήνες. Τα δεδομένα στις 3 καλλιεργητικές περιόδους αντικατοπτρίζουν αυτό το πρότυπο, με υψηλότερες βροχοπτώσεις να καταγράφονται κατά τους μήνες Νοέμβριο, Δεκέμβριο και Ιανουάριο, ενώ οι καλοκαιρινοί μήνες παρουσιάζουν συνήθως ελάχιστες βροχοπτώσεις (**Διάγραμμα 2-2**).

Τα δεδομένα ευθυγραμμίζονται με τα γενικά κλιματικά πρότυπα της Ελλάδας, με τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και των βροχοπτώσεων να αντικατοπτρίζουν τη μεταβλητότητα που είναι εγγενής στο μεσογειακό κλίμα.



Διάγραμμα 2-2 Κλιματολογικές συνθήκες πειραματικών χρόνων

2.3.2 Χαρακτηριστικά ανάπτυξης

Κατά τη σύγκριση διαφορετικών επεμβάσεων, γονότυπων ή ειδών, ο απλούστερος τρόπος ανάλυσης της ανάπτυξης είναι η αξιολόγηση του μεγέθους των φυτών μετά από μια ορισμένη περίοδο ανάπτυξης, συνήθως από τη στιγμή της βλάστησης. Στη βιολογία των φυτών, το μέγεθος μετρείται συχνά ως η ξηρή μάζα ολόκληρων φυτών ή του υπέργειου τμήματός τους.

2.3.2.1 Ανάδυση των φυτών

Η ανάδυση φυτών 40 ΗΑΣ επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα της λίπανσης ($p \leq 0.001$) και όχι από τα επίπεδα αλατότητας (Πίνακας 2-5). Όσον αφορά τις λιπάνσεις, όλες διέφεραν σημαντικά σε σύγκριση με την επέμβαση C, χωρίς να διαφέρουν μεταξύ τους. Στην 1^η ΚΠ, η ανάδυση εμφάνισε τη μέγιστη τιμή της με την επέμβαση FYM (118.83 ± 2.35 φυτά m^{-2}) και την ελάχιστη με την επέμβαση C (105.33 ± 2.35 φυτά m^{-2}). Η BHS (117.17 ± 2.35 φυτά m^{-2}) διέφερε με την FYM μόλις 1.4%. Στη 2^η ΚΠ, τα περισσότερα φυτά αναδύθηκαν στην επέμβαση NPK (109.67 ± 1.57 φυτά m^{-2}). Στην 3^η ΚΠ, τα περισσότερα φυτά αναδύθηκαν στην FYM (134.50 ± 2.24 φυτά m^{-2}) Η BHS (134.33 ± 2.24 φυτά m^{-2}) αναδύθηκαν μόλις 0.13% λιγότερα φυτά σε σύγκριση με FYM.

2.3.2.2 Ύψος φυτών

Το ύψος φυτών μετρήθηκε στις 90, 110 και 130 ΗΑΣ για κάθε καλλιεργητική περίοδο. Στις 3 ΚΠ, ο παράγοντας λίπανση επηρέασε στατιστικά σημαντικά το ύψος ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 2-5). Επιπλέον, στη 2^η ΚΠ στις 90 ΗΑΣ και στην 3^η ΚΠ στις 110 ΗΑΣ κρίνεται στατιστικά σημαντικός επιπλέον ο παράγοντας αλατότητα. Στην 1^η ΚΠ στις 90 ΗΑΣ, το ύψος μεγιστοποιήθηκε στην επέμβαση NPK (41.58 ± 0.76 cm) και πήρε την ελάχιστη τιμή του στην επέμβαση C (32.33 ± 0.76 cm). Στις 130 ΗΑΣ, οι επεμβάσεις NPK, FYM και BHS δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Στη 2^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η FYM (72.63 ± 1.46 cm) και η NPK (70.21 ± 1.46 cm) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά με την BHS, ενώ η εφαρμογή COMP (60.45 ± 1.46 cm) παρουσίασε 22.13% κοντύτερα φυτά σε σχέση με την BHS. Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η επέμβαση FYM (71.08 ± 1.71 cm) παρουσίασε 5.75% μικρότερο ύψος φυτών σε σύγκριση με την BHS, ενώ η NPK (67.41 ± 1.71 cm) και η COMP (59.31 ± 1.71 cm) εμφάνισαν 11.51% και 26.74% μικρότερο ύψος από την BHS αντίστοιχα (Πίνακας 2-5).

2.3.2.3 Αριθμός βλαστών ανά φυτό

Στην 1^η ΚΠ στις 90 και 110 ΗΑΣ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός ήταν η λίπανση ($p \leq 0.001$), ενώ στις 130 ΗΑΣ, τόσο η λίπανση όσο και η αλατότητα επηρέασαν στατιστικά σημαντικά τον αριθμό βλαστών ανά φυτό (Πίνακας 2-5). Η HS (5.6 ± 0.13) έδειξε σημαντική διαφορά, καθώς έδωσε 18.93% λιγότερους βλαστούς ανά φυτό σε σύγκριση στην επέμβαση CS (6.67 ± 0.13). Ο μεγαλύτερος αριθμός βλαστών ανά φυτό παρατηρήθηκε στην NPK (6.83 ± 0.49) ενώ ο μικρότερος στην C (4.5 ± 0.49). Οι λιπάνσεις διέφεραν στατιστικά σημαντικά μόνο με την επέμβαση C. Στη 2^η ΚΠ, η λίπανση επηρέασε το αριθμό βλαστών ανά φυτό. Στις 130 ΗΑΣ, ο μεγαλύτερος αριθμός βλαστών ανά φυτό παρατηρήθηκε στην επέμβαση NPK (7.67 ± 0.45) και ο μικρότερος στην επέμβαση C (3.83 ± 0.45). Η BHS (7.33 ± 0.45) και η FYM (7.16 ± 0.45) εμφάνισαν αντίστοιχα 4.64% και 7.12% λιγότερους βλαστούς ανά φυτό σε σύγκριση με την NPK, ενώ η εφαρμογή COMP (6.67 ± 0.45) παρουσίασε 14.99% λιγότερους βλαστούς σε σχέση με την NPK. Στην 3^η ΚΠ, η λίπανση και η αλατότητα επηρέασαν στατιστικά σημαντικά τον αριθμό βλαστών ανά φυτό. Στις δύο πρώτες μετρήσεις, μόνο η λίπανση είχε στατιστικά σημαντική επίδραση, ενώ στις 130 ΗΑΣ, οι παράγοντες που αξιολογήθηκαν ως στατιστικά

σημαντικοί ήταν η αλατότητα ($p \leq 0.05$) και η λίπανση ($p \leq 0.01$). Η HS (5.6 ± 0.13) έδωσε 19.11% περισσότερους βλαστούς ανά φυτό σε σχέση με τη CS (6.67 ± 0.13) (Πίνακας 2-5).

Πίνακας 2-5 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην ανάπτυξη φυταρίων, ύψος φυτών 90, 110, 130 ΗΑΣ και αριθμό βλαστών ανά φυτό 90, 110, 130 ΗΑΣ.

		Ανάδυση φυταρίων (φυτά m ⁻²) 40 ΗΑΣ	Ύψος φυτών 90 ΗΑΣ (cm)	Ύψος φυτών 110 ΗΑΣ (cm)	Ύψος φυτών 130 (cm)	Αριθμός βλαστών ανά φυτό 90 ΗΑΣ	Αριθμός βλαστών ανά φυτό 110 ΗΑΣ	Αριθμός βλαστών ανά φυτό 130 ΗΑΣ
1^η ΚΠ								
Λίπανση	BHS	117.17 ^a	37.50 ^b	61.67 ^a	75.13 ^a	3.50 ^{ab}	6.30 ^{ab}	6.50 ^a
	COM P	118.33 ^a	36.16 ^b	55.83 ^b	66.22 ^b	3.33 ^b	6.00 ^b	6.17 ^a
	C	105.33 ^b	32.33 ^c	46.16 ^c	53.88 ^c	2.167 ^c	3.80 ^c	4.50 ^b
	FYM	118.83 ^a	40.33 ^a	63.33 ^a	75.78 ^a	4.00 ^a	7.20 ^a	6.67 ^a
	NPK	118.50 ^a	41.58 ^a	64.50 ^a	76.00 ^a	3.83 ^{ab}	6.90 ^{ab}	6.83 ^a
Αλατότητα	CS	115.87 ^a	40.76 ^a	59.93 ^a	70.84 ^a	3.53 ^a	6.36 ^a	6.67 ^a
	HS	115.40 ^a	34.40 ^a	56.67 ^a	67.97 ^a	3.20 ^a	5.72 ^a	5.60 ^b
ANOVA	Df							
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	64.00*
F Λίπανσης	4	12.14***	44.91***	81.74***	36.12***	23.37***	24.23***	7.24**
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2^η ΚΠ								
Λίπανση	BHS	107.83 ^a	39.61 ^a	63.00 ^a	73.83 ^a	3.83 ^a	6.90 ^a	7.33 ^a
	COM P	105.50 ^a	35.66 ^b	54.33 ^b	60.45 ^b	3.33 ^a	6.00 ^a	6.67 ^a
	C	97.83 ^b	31.00 ^c	45.67 ^c	50.68 ^c	2.17 ^b	3.80 ^b	3.83 ^b
	FYM	106.50 ^a	39.75 ^a	62.08 ^a	72.63 ^a	3.50 ^a	6.30 ^a	7.17 ^a
	NPK	109.67 ^a	39.33 ^a	61.17 ^a	70.22 ^a	3.67 ^a	6.60 ^a	7.67 ^a
Αλατότητα	CS	106.07 ^a	38.67 ^a	58.27 ^a	65.58 ^a	3.40 ^a	6.12 ^a	6.80 ^a
	HS	104.87 ^a	35.48 ^b	56.23 ^a	65.54 ^a	3.20 ^a	5.72 ^a	6.27 ^a
ANOVA	Df							
F Αλατότητας	1	ns	20.47*	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	16.65***	21.90***	146.21***	90.28***	10.13***	10.72***	23.75***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	11.74***	6.31**	ns	ns	ns	ns
3^η ΚΠ								
Λίπανση	BHS	134.33 ^a	46.00 ^a	67.00 ^a	75.17 ^a	3.83 ^a	6.90 ^a	6.50 ^a
	COM P	130.33 ^a	41.27 ^b	55.50 ^c	59.32 ^c	2.83 ^b	5.10 ^b	6.17 ^a
	C	116.33 ^b	33.17 ^c	47.00 ^d	51.22 ^d	1.67 ^c	3.00 ^c	4.50 ^b
	FYM	134.50 ^a	44.75 ^a	64.50 ^{ab}	71.08 ^{ab}	3.5 ^a	6.30 ^a	6.67 ^a
	NPK	130.33 ^a	43.33 ^{ab}	61.50 ^b	67.42 ^b	2.83 ^b	5.10 ^b	6.83 ^a
Αλατότητα	CS	128.07 ^a	45.54 ^a	61.33 ^a	65.45 ^a	2.73 ^a	4.92 ^a	6.67 ^a
	HS	130.27 ^a	37.87 ^a	56.87 ^b	64.23 ^a	3.13 ^a	5.64 ^a	5.60 ^b
ANOVA	Df							
F Αλατότητας	1	ns	ns	22.56*	ns	ns	ns	64.00*
F Λίπανσης	4	22.04***	66.31***	100.45***	62.67***	29.18***	29.15***	7.24**
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16							
Σύνολο	29							

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. ns: μη σημαντικό ($p > 0.05$).

2.3.2.4 Αριθμός φύλλων ανά φυτό

Στις 3 ΚΠ, για τον αριθμό φύλλων ανά φυτό ο παράγοντας που κρίθηκε στατιστικά σημαντικός είναι της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Στην 1^η ΚΠ, 130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην FYM και NPK (50.83 ± 1.72) και η ελάχιστη στην C (30.00 ± 1.72). Η BHS (43.00 ± 1.72) και η COMP (41.25 ± 1.72) έδωσαν φυτά με 18.21% και 23.22% λιγότερα φύλλα σε σχέση με την FYM και την NPK. Στη 2^η ΚΠ, ο παράγοντας λίπανση επηρέασε στατιστικά σημαντικά τον αριθμό φύλλων ανά φυτό ($p \leq 0.001$). Στις 130 ΗΑΣ, τα φυτά με τα περισσότερα φύλλα εντοπίστηκαν στην επέμβαση BHS (50.00 ± 1.58) και με τα λιγότερα στην επέμβαση C (30.00 ± 1.58). Η FYM (46.66 ± 1.58) παρουσίασε φυτά με 7.16% λιγότερα φύλλα σε σύγκριση με την BHS, ενώ η NPK (42.91 ± 1.58) και η εφαρμογή COMP (41.25 ± 1.58) εμφάνισαν αντίστοιχα 16.52% και 21.21% λιγότερα φύλλα. Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, τα φυτά με τα περισσότερα φύλλα παρατηρήθηκαν στην επέμβαση BHS (57.97 ± 1.60) και τα λιγότερα στην επέμβαση C (34.5 ± 1.60) σε 130 ΗΑΣ (Πίνακας 2-6).

2.3.2.5 Ξηρό βάρος φυτού

Το ξηρό βάρος φυτού μετρήθηκε στις 90, 110 και 130 ΗΑΣ κάθε καλλιεργητικής περιόδου. Στις 3 ΚΠ, ο παράγοντας λίπανση επηρέασε στατιστικά σημαντικά το ξηρό βάρος φυτού ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 2-6). Στην 1^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μεγαλύτερη τιμή καταγράφηκε στην NPK (3.30 ± 0.09 g) και η μικρότερη στην C (2.34 ± 0.09 g). Η FYM (3.29 ± 0.09 g) και η BHS (3.26 ± 0.09 g) δεν παρουσιάζει σημαντική διαφορά με την NPK. Στη 2^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή για το ξηρό βάρος φυτού καταγράφηκε στην BHS (3.21 ± 0.06 g) και η ελάχιστη στην C (2.20 ± 0.06 g). Η FYM (3.15 ± 0.06 g) και η NPK (3.05 ± 0.06 g) παρουσίασαν αντίστοιχα 1.90% και 5.25% μικρότερο ξηρό βάρος ανά φυτό σε σύγκριση με την BHS, ενώ η εφαρμογή COMP (2.66 ± 0.06 g) εμφάνισε 20.68% μικρότερο από την BHS. Στην 3^η ΚΠ, στην τελική μέτρηση η FYM (3.09 ± 0.07 g) δεν διέφερα στατιστικά σημαντικά με την BHS (Πίνακας 2-6).

Πίνακας 2-6 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στον αριθμό φύλλων ανά φυτών για 90, 110, 130 ΗΑΣ, το ξηρό βάρος φυτού 90, 110 και 130 ΗΑΣ (g)

		Αριθμός φύλλων ανά φυτό 90 ΗΑΣ	Αριθμός φύλλων ανά φυτό 110 ΗΑΣ	Αριθμός φύλλων ανά φυτό 130 ΗΑΣ	Ξηρό βάρος φυτού 90 ΗΑΣ (g)	Ξηρό βάρος φυτού 110 ΗΑΣ (g)	Ξηρό βάρος φυτού 130 ΗΑΣ (g)
1^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	16.50 ^b	29.73 ^b	43.00 ^b	0.85 ^{bc}	1.76 ^a	3.27 ^a
	COMP	16.50 ^b	28.05 ^b	41.25 ^b	0.81 ^c	1.60 ^b	2.88 ^b
	C	12.00 ^c	20.40 ^c	30.00 ^c	0.72 ^d	1.32 ^c	2.34 ^c
	FYM	20.33 ^a	34.57 ^a	50.83 ^a	0.89 ^{ab}	1.81 ^a	3.30 ^a
	NPK	20.33 ^a	34.57 ^a	50.83 ^a	0.92 ^a	1.84 ^a	3.30 ^a
Αλατότητα	NS	18.13 ^a	30.83 ^a	45.33 ^a	0.91 ^a	1.71 ^a	3.08 ^a
	HS	16.13 ^a	28.10 ^a	41.03 ^a	0.77 ^a	1.62 ^a	2.95 ^a
ANOVA	Df						
F _{Αλατότητας}	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F _{Λίπανσης}	4	36.33***	45.38***	49.29***	55.55***	81.74***	36.12***
F _{Λίπαν x Αλατότ}	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns

2 ^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	20.00 ^a	34.00 ^a	50.00 ^a	0.88 ^a	1.80 ^a	3.21 ^a
	COMP	16.50 ^c	28.05 ^c	41.25 ^c	0.81 ^b	1.59 ^b	2.66 ^b
	C	12.00 ^d	20.40 ^d	30.00 ^d	0.65 ^c	1.31 ^c	2.20 ^c
	FYM	18.67 ^{ab}	31.73 ^{ab}	46.67 ^{ab}	0.88 ^a	1.77 ^a	3.16 ^a
	NPK	17.17 ^{bc}	29.18 ^{bc}	42.92 ^{bc}	0.86 ^{ab}	1.75 ^a	3.05 ^a
Αλατότητα	NS	17.07 ^a	29.01 ^a	42.67 ^a	0.86 ^a	1.67 ^a	2.85 ^a
	HS	16.67 ^a	28.33 ^a	41.67 ^a	0.77 ^a	1.61 ^a	2.86 ^a
ANOVA	Df						
F _{Αλατότητας}	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F _{Λίπανσης}	4	46.21***	46.21***	46.21***	45.3***	139.59***	86.86***
F _{Λίπαν x Αλατότ}	4	ns	ns	ns	9.53***	6.19**	ns
3 ^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	23.19 ^a	39.42 ^a	57.98 ^a	1.03 ^a	1.92 ^a	3.27 ^a
	COMP	18.55 ^c	31.53 ^c	46.37 ^c	0.92 ^c	1.60 ^c	2.58 ^c
	C	13.80 ^d	23.46 ^d	34.50 ^d	0.74 ^d	1.34 ^d	2.23 ^d
	FYM	21.35 ^{ab}	36.29 ^{ab}	53.37 ^{ab}	0.99 ^{ab}	1.84 ^{ab}	3.09 ^{ab}
	NPK	19.43 ^{bc}	33.03 ^{bc}	48.58 ^{bc}	0.96 ^{bc}	1.75 ^b	2.93 ^b
Αλατότητα	NS	19.53 ^a	33.21 ^a	48.83 ^a	1.01 ^a	1.76 ^a	2.84 ^a
	HS	18.99 ^a	32.29 ^a	47.49 ^a	0.84 ^a	1.63 ^b	2.79 ^a
ANOVA	Df						
F _{Αλατότητας}	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F _{Λίπανσης}	4	61.19***	61.08***	61.24***	73.69***	78.38***	62.67***
F _{Λίπαν x Αλατότ}	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16						
Σύνολο	29						

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001. ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

2.3.3 Δείκτες ανάπτυξης

Οι δείκτες ανάπτυξης εφαρμόζονται στην ανάλυση της ανάπτυξης μεμονωμένων φυτών, και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μια κατάσταση όπου η ανάπτυξη των καλλιεργειών παρακολουθείται με την πάροδο του χρόνου.

2.3.3.1 Απόλυτος ρυθμός ανάπτυξης (AGR)

Στην 1^η ΚΠ, για την περίοδο 90-130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή του AGR σημειώθηκε στην επέμβαση BHS (0.94±0.06 cm day⁻¹) ενώ η μικρότερη στην επέμβαση C (0.53±0.06 cm day⁻¹). Η FYM (0.88±0.06 cm day⁻¹) και COMP (0.75±0.06 cm day⁻¹) μείωσαν τον AGR κατά 6.82% και 25.33% αντίστοιχα σε σύγκριση με την BHS. Στη 2^η ΚΠ, για την περίοδο 90-130 ΗΑΣ, η μεγαλύτερη τιμή AGR καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (0.85±0.05 cm day⁻¹) και η μικρότερη στην επέμβαση C (0.49±0.05 cm day⁻¹). Η FYM (0.82±0.05 cm day⁻¹) και η NPK (0.77±0.05 cm day⁻¹) παρουσίασαν αντίστοιχα 3.66% και 10.39% μικρότερο AGR σε σύγκριση με την BHS, ενώ η επέμβαση COMP (0.61±0.05 cm day⁻¹) εμφάνισε 29.34% μικρότερος σε σχέση με την BHS. Στην 3^η ΚΠ, για την περίοδο 90-130 ΗΑΣ, η μεγαλύτερη τιμή για το δείκτη AGR καταγράφηκε στην BHS (0.72±0.04 cm day⁻¹) και η μικρότερη στην COMP και στην C (0.45±0.04 g day⁻¹). Η FYM (0.65±0.04 cm day⁻¹), BHS NPK (0.73±0.04 cm day⁻¹) και NPK (0.60±0.04 cm day⁻¹) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά (Πίνακας 2-7).

2.3.3.2 Καθαρό ποσοστό αφομοίωσης (NAR)

Στην 1^η ΚΠ ο δείκτης NAR δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά ούτε από τη λίπανση ούτε από τον παράγοντα αλατότητα (Πίνακας 2-7). Στη 2^η ΚΠ, στο διάστημα 90-110 ΗΑΣ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p \leq 0.01$). Στην 3^η ΚΠ, την περίοδο 90-110 ΗΑΣ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός, ήταν αυτός της λίπανσης ($p \leq 0.05$). Η μέγιστη τιμή NAR καταγράφηκε στην επέμβαση C.

2.3.3.3 Επιφάνεια φύλλων ανά φυτό (LA)

Ο δείκτης LA επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης και στις 3 ΚΠ. Στην 1^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην FYM και στην NPK ($15.25 \pm 0.51 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$) ενώ η ελάχιστη στην C ($9.00 \pm 0.51 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$). Η BHS ($12.90 \pm 0.51 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$) και η COMP ($12.37 \pm 0.51 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$) παρουσίασαν αντίστοιχα 18.22% και 23.28% μικρότερο LA σε σύγκριση με τη FYM. Στη 2^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή LA παρατηρήθηκε στην BHS ($15.00 \pm 0.47 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$) και η ελάχιστη στην C ($9.00 \pm 0.47 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$). Η FYM ($14.00 \pm 0.47 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$) δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με την BHS ενώ κατέγραψε 6.67% μικρότερη τιμή. Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μεγαλύτερη τιμή LA σημειώθηκε στην BHS ($17.39 \pm 0.48 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$) και η μικρότερη στην C ($10.35 \pm 0.48 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$). Οι επεμβάσεις FYM ($16.01 \pm 0.48 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$) και NPK ($14.57 \pm 0.48 \text{ cm}^2 \text{ plant}^{-1}$) κατέγραψαν 8.62% και 19.35% μικρότερη τιμή LA σε σύγκριση με την BHS, αντίστοιχα (Πίνακας 2-7).

Πίνακας 2-7 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: Farm Yard Manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Absolute Growth Rate (AGR) 90-110, 110-130, 90-130 ΗΑΣ, Net Assimilation Rate (NAR) 90-110, 110-130, 90-130, Leaf area (LA) 90, 110, 130 ΗΑΣ

		AGR 90-110 ΗΑΣ	AGR 110-130 ΗΑΣ	AGR 90-130 ΗΑΣ	NAR 90-110 ΗΑΣ	NAR 110-130 ΗΑΣ	NAR 90-130 ΗΑΣ	LA 90 ΗΑΣ	LA 110 ΗΑΣ	LA 130 ΗΑΣ
1^η ΚΠ										
Λίπανση	BHS	1.21 ^a	0.67 ^a	0.94 ^a	0.0068 ^a	0.0071 ^a	0.0114	4.95 ^b	8.92 ^b	12.90 ^b
	COMP	0.98 ^b	0.52 ^{ab}	0.75 ^b	0.0063 ^a	0.0064 ^a	0.0105	4.95 ^b	8.41 ^b	12.37 ^b
	C	0.69 ^c	0.38 ^b	0.54 ^c	0.0064 ^a	0.0069 ^a	0.0110	3.60 ^c	6.12 ^c	9.00 ^c
	FYM	1.15 ^{ab}	0.62 ^a	0.88 ^{ab}	0.0058 ^a	0.0060 ^a	0.0097	6.10 ^a	10.28 ^a	15.25 ^a
	NPK	1.15 ^{ab}	0.57 ^{ab}	0.86 ^{ab}	0.0059 ^a	0.0060 ^a	0.0097	6.10 ^a	10.37 ^a	15.26 ^a
Αλατότητα	CS	0.95 ^a	0.54 ^a	0.75 ^a	0.0057 ^a	0.0062 ^a	0.0098	5.44 ^a	9.25 ^a	13.60 ^a
	HS	1.12 ^a	0.56 ^a	0.83 ^a	0.0068 ^a	0.0068 ^a	0.0111	4.84 ^a	8.43 ^a	12.31 ^a
ANOVA	Df									
F _{αλατότητας}	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F _{λίπανσης}	4	20.87***	5.25**	13.73***	ns	ns	ns	36.33***	45.38***	49.29***
F _{λίπαν x αλατότ}	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2^η ΚΠ										
Λίπανση	BHS	1.17 ^a	0.54 ^a	0.85 ^a	0.0059 ^b	0.0057 ^a	0.0094 ^{ab}	6.00 ^a	10.20 ^a	15.00 ^a
	COMP	0.93 ^b	0.31 ^{bc}	0.62 ^{bc}	0.0059 ^b	0.0053 ^a	0.0091 ^b	4.95 ^c	8.41 ^c	12.37 ^c
	C	0.73 ^c	0.25 ^c	0.49 ^c	0.0070 ^a	0.0061 ^a	0.0105 ^a	3.60 ^d	6.12 ^d	9.00 ^d
	FYM	1.12 ^a	0.52 ^a	0.82 ^a	0.0061 ^{ab}	0.0060 ^a	0.0099 ^{ab}	5.60 ^{ab}	9.52 ^{ab}	14.00 ^{ab}

	NPK	1.09 ^{ab}	0.45 ^{ab}	0.77 ^{ab}	0.0066 ^a	0.0062 ^a	0.0103 ^{ab}	5.15 ^{bc}	8.75 ^{bc}	12.87 ^{bc}
Αλατότητα	CS	0.98 ^a	0.36 ^a	0.67 ^a	0.0062 ^{ab}	0.0056 ^a	0.0095 ^a	5.12 ^a	8.70 ^a	12.80 ^a
	HS	1.04 ^a	0.46 ^a	0.75 ^a	0.0065 ^a	0.0060 ^a	0.0102 ^a	5.00 ^a	8.50 ^a	12.50 ^a
ANOVA	Df									
F _{Αλατότητας}	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F _{Λίπανσης}	4	21.90 ^{***}	10.90 ^{***}	16.93 ^{***}	6.19 ^{**}	2.49 ^{ns}	4.01 [*]	46.21 ^{***}	46.21 ^{***}	46.21 ^{***}
F _{Λίπαν x Αλατότ}	4	ns	4.56 [*]	3.96 [*]	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3^η ΚΠ										
Λίπανση	BHS	1.05 ^a	0.41 ^a	0.73 ^a	0.0048 ^{ab}	0.0047 ^{ab}	0.0047 ^{ab}	6.95 ^a	11.82 ^a	17.39 ^a
	COMP	0.72 ^b	0.19 ^b	0.45 ^b	0.0047 ^b	0.0042 ^b	0.0042 ^b	5.56 ^c	9.46 ^c	13.91 ^c
	C	0.69 ^b	0.21 ^b	0.45 ^b	0.0055 ^a	0.0052 ^a	0.0052 ^a	4.14 ^d	7.04 ^d	10.35 ^d
	FYM	0.98 ^a	0.32 ^{ab}	0.66 ^a	0.0051 ^{ab}	0.0047 ^{ab}	0.0047 ^{ab}	6.40 ^{ab}	10.88 ^{ab}	16.01 ^{ab}
	NPK	0.91 ^a	0.29 ^{ab}	0.60 ^a	0.0052 ^{ab}	0.0049 ^{ab}	0.0049 ^{ab}	5.83 ^{bc}	9.91 ^{bc}	14.57 ^{bc}
Αλατότητα	CS	0.79 ^a	0.21 ^a	0.49 ^a	0.0049 ^a	0.0045 ^a	0.0045 ^a	5.86 ^a	9.96 ^a	14.65 ^a
	HS	0.95 ^a	0.37 ^a	0.66 ^a	0.0053 ^a	0.0050 ^a	0.0050 ^a	5.69 ^a	9.68 ^a	14.25 ^a
ANOVA	Df									
F _{Αλατότητας}	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F _{Λίπανσης}	4	18.31 ^{***}	6.38 ^{**}	13.37 ^{***}	3.28 [*]	3.93 [*]	3.82 [*]	61.08 ^{***}	60.20 ^{***}	61.21 ^{***}
F _{Λίπαν x Αλατότ}	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16									
Σύνολο	29									

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001. ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

2.3.3.4 Συντελεστής Φωτοσυνθετικής Επιφάνειας (LAR)

Ο δείκτης LAR επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης. Στην 1^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή παρατηρήθηκε στην FYM και NPK (4.64±0.23) και η ελάχιστη στην C (3.84±0.23). Η COMP (4.31±0.23) και η BHS (3.93±0.23) κατέγραψαν αντίστοιχα 7.66% και 18.07% μικρότερη τιμή LAR σε σύγκριση με τις επεμβάσεις FYM και NPK. Στη 2^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης (p<=0.05) και η αλληλεπίδραση λίπανσης και αλατότητας. Η μέγιστη τιμή του LAR καταγράφηκε στην επέμβαση COMP (4.67±0.18). Η BHS (4.66±0.18) έδωσε μόλις 0.21% μικρότερη τιμή LAR σε σύγκριση με τη COMP. Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός, είναι αυτός λίπανσης (p<=0.01). Η μέγιστη τιμή LAR καταγράφηκε στην επέμβαση COMP (5.39±0.15) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (4.67±0.15). Η BHS (5.31±0.15) και η FYM (5.17±0.15) κατέγραψαν αντίστοιχα 1.51% και 4.26% μικρότερη τιμή LAR σε σύγκριση με τη COMP, ενώ η NPK (4.96±0.15) έδωσε 8.67% μικρότερη τιμή LAR σε σύγκριση με τη COMP (Πίνακας 2-8).

2.3.3.5 Σχετικός Ρυθμός Ανάπτυξης (RGR)

Ο δείκτης RGR επηρεάστηκε σημαντικά από το είδος της λίπανσης και στις 3 ΚΠ. Επιπλέον στην 3^η ΚΠ κρίνεται στατιστικά σημαντική και η επέμβαση της αλατότητας (Πίνακας 2-8). Στην 1^η ΚΠ, για την περίοδο 90-130 ΗΑΣ η μεγαλύτερη τιμή του RGR παρατηρήθηκε στην NPK (1.19±0.03) ενώ η μικρότερη στην C (0.85±0.03). Η COMP (1.06±0.03) παρουσίασε μειωμένη τιμή RGR κατά 12.26% σε σύγκριση με την NPK. Στη 2^η ΚΠ, για το

διάστημα 90-130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή για το RGR καταγράφηκε στην BHS (1.16±0.02) και η ελάχιστη στην C (0.79±0.02). Η FYM (1.15±0.02) και η NPK (1.11±0.02) εμφάνισαν αντίστοιχα 0.87% και 4.50% μικρότερη τιμή RGR σε σύγκριση με την BHS. Η επέμβαση COMP (0.98±0.02) παρουσίασε 15.92% μικρότερη τιμή RGR σε σύγκριση με την BHS. Στην 3^η ΚΠ, στην περίοδο 90-130 ΗΑΣ, η FYM (1.12±0.02) δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με την BHS (1.18±0.02) (Πίνακας 2-8).

Πίνακας 2-8 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Leaf Area Ratio (LAR) 90, 110, 130 ΗΑΣ, Relative Growth Rate (RGR) 90- 110, 110-130, 90-130 ΗΑΣ

		LAR 90 ΗΑΣ	LAR 110 ΗΑΣ	LAR 130 ΗΑΣ	RGR 90- 110 ΗΑΣ	RGR 110-130 ΗΑΣ	RGR 90-130 ΗΑΣ
1^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	5.81 ^{bc}	5.03 ^{bc}	3.94 ^{ab}	0.57 ^a	1.15 ^a	1.18 ^a
	COMP	6.15 ^{ab}	5.26 ^{abc}	4.31 ^{ab}	0.47 ^b	1.03 ^b	1.06 ^b
	C	5.10 ^c	4.64 ^c	3.85 ^b	0.29 ^c	0.83 ^c	0.85 ^c
	FYM	6.83 ^a	5.73 ^a	4.65 ^a	0.59 ^a	1.16 ^a	1.19 ^a
	NPK	6.59 ^{ab}	5.63 ^{ab}	4.65 ^a	0.61 ^a	1.16 ^a	1.19 ^a
Αλατότητα	CS	5.97 ^a	5.37 ^a	4.43 ^a	0.53 ^a	1.07 ^a	1.11 ^a
	HS	6.22 ^a	5.15 ^a	4.14 ^a	0.48 ^a	1.08 ^a	1.07 ^a
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	10.02 ^{***}	7.94 ^{**}	5.17 ^{**}	71.67 ^{***}	32.49 ^{***}	32.72 ^{***}
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	6.85 ^a	5.68 ^a	4.67 ^a	0.59 ^a	1.13 ^a	1.16 ^a
	COMP	6.18 ^{abc}	5.32 ^{ab}	4.68 ^a	0.47 ^b	0.95 ^b	0.98 ^b
	C	5.57 ^c	4.71 ^c	4.11 ^a	0.28 ^c	0.77 ^c	0.79 ^c
	FYM	6.38 ^{ab}	5.38 ^{ab}	4.44 ^a	0.57 ^a	1.12 ^a	1.15 ^a
	NPK	6.01 ^{bc}	5.02 ^{bc}	4.23 ^a	0.56 ^a	1.08 ^a	1.11 ^a
Αλατότητα	CS	5.96 ^a	5.19 ^a	4.48 ^a	0.52 ^a	1.01 ^a	1.04 ^a
	HS	6.43 ^a	5.25 ^a	4.34 ^a	0.48 ^a	1.01 ^a	1.04 ^a
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	6.51 ^{**}	10.64 ^{***}	3.76 [*]	114.79 ^{***}	76.00 ^{***}	75.78 ^{***}
F Λίπαν x Αλατότ	4	4.18 [*]	3.69 [*]	ns	5.05 ^{**}	ns	ns
3^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	6.83 ^a	6.18 ^a	5.32 ^a	0.64 ^a	1.15 ^a	1.18 ^a
	COMP	6.11 ^{bc}	5.92 ^a	5.39 ^a	0.47 ^c	0.92 ^c	0.94 ^c
	C	5.72 ^c	5.25 ^b	4.67 ^b	0.31 ^d	0.78 ^d	0.81 ^d
	FYM	6.51 ^{ab}	5.93 ^a	5.17 ^a	0.61 ^{ab}	1.09 ^{ab}	1.12 ^{ab}
	NPK	6.16 ^{bc}	5.65 ^{ab}	4.96 ^{ab}	0.56 ^b	1.04 ^b	1.07 ^b
Αλατότητα	CS	5.76 ^a	5.65 ^a	5.12 ^a	0.56 ^a	0.99 ^b	1.03 ^a
	HS	6.75 ^a	5.93 ^a	5.08 ^a	0.48 ^b	1.05 ^a	1.02 ^b
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	18.82 [*]	24.21 [*]	19.09 [*]
F Λίπανσης	4	8.47 ^{***}	5.73 ^{**}	7.32 ^{**}	78.57 ^{***}	61.56 ^{***}	60.90 ^{***}
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16						
Σύνολο	29						

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001. ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

2.3.3.6 Δείκτης φυλλικής επιφάνειας (Leaf area index (LAI))

Ο LAI επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Στην 1^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή LAI καταγράφηκε στην FYM και NPK (2.54 ± 0.08) και η ελάχιστη στην C (1.50 ± 0.08). Η BHS (2.15 ± 0.08) δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με την COMP (2.06 ± 0.08). Στη 2^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή LAI καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (2.50 ± 0.07) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (1.50 ± 0.07), η οποία δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με την FYM (2.33 ± 0.07). Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή LAI καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (2.89 ± 0.08) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (1.72 ± 0.08). Η FYM (2.66 ± 0.08) εμφάνισε 7.94% μικρότερη τιμή LAI σε σύγκριση με την BHS, ενώ η NPK (2.42 ± 0.08) και η COMP (2.31 ± 0.08) κατέγραψαν αντίστοιχα 16.21% και 20.02% μικρότερη τιμή σε σχέση με την BHS (Πίνακας 2-9).

2.3.3.7 Χρονική μεταβολή φυλλικής επιφάνειας (LAD)

Ο δείκτης LAD επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Στην 1^η ΚΠ, για το διάστημα 90-130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή για το LAD καταγράφηκε στην FYM και NPK (0.029 ± 0.001268) ενώ η ελάχιστη στην C (0.017 ± 0.001268) (Πίνακας 2-9). Η BHS (0.026 ± 0.001268) και η COMP (0.024 ± 0.001268) έδωσαν αντίστοιχα μικρότερο LAD κατά 11.54% και 20.83% σε σύγκριση με την NPK. Στην 3^η ΚΠ, για την περίοδο 90-130 ΗΑΣ η μεγαλύτερη τιμή σημειώθηκε στην επέμβαση BHS (0.033 ± 0.0009337) και η μικρότερη στην C (0.020 ± 0.0009337). Η FYM (0.031 ± 0.0009337) έδωσε 6.45% μικρότερη τιμή LAD σε σύγκριση με την BHS, ενώ η NPK (0.028 ± 0.0009337) και η COMP (0.027 ± 0.0009337) έδωσαν αντίστοιχα 17.86% και 22.22% μικρότερη τιμή σε σχέση με την BHS (Πίνακας 2-9).

Πίνακας 2-9 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Leaf Area Index (LAI) 90, 110, 130 ΗΑΣ, Leaf Area Duration (LAD) 90- 110, 110- 130, 90- 130.

		LAI 90 ΗΑΣ	LAI 110 ΗΑΣ	LAI 130 ΗΑΣ	LAD 90-110	LAD 110-130	LAD 90-130
1^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	1.10 ^b	1.74 ^b	2.15 ^b	0.032 ^a	0.020 ^b	0.026 ^{ab}
	COMP	1.10 ^b	1.65 ^b	2.06 ^b	0.027 ^{ab}	0.021 ^b	0.024 ^b
	C	0.80 ^c	1.20 ^c	1.50 ^c	0.020 ^b	0.015 ^c	0.017 ^c
	FYM	1.35 ^a	2.03 ^a	2.54 ^a	0.033 ^a	0.025 ^a	0.029 ^a
	NPK	1.35 ^a	2.03 ^a	2.54 ^a	0.033 ^a	0.025 ^a	0.029 ^a
Αλατότητα	CS	1.81 ^a	1.81 ^a	2.26 ^a	0.030 ^a	0.022 ^a	0.026 ^a
	HS	1.65 ^a	1.65 ^a	2.05 ^a	0.028 ^a	0.019 ^a	0.024 ^a
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	36.33***	45.38***	49.29***	9.79***	24.53***	31.46***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	1.33 ^a	2.00 ^a	2.50 ^a	0.033 ^a	0.025 ^a	0.029 ^a
	COMP	1.10 ^c	1.65 ^c	2.06 ^c	0.027 ^c	0.021 ^c	0.024 ^c
	C	0.80 ^d	1.20 ^d	1.50 ^d	0.020 ^d	0.015 ^d	0.017 ^d
	FYM	1.24 ^{ab}	1.86 ^{ab}	2.33 ^{ab}	0.031 ^{ab}	0.023 ^{ab}	0.027 ^{ab}
	NPK	1.14 ^{bc}	1.71 ^{bc}	2.14 ^{bc}	0.028 ^{bc}	0.021 ^{bc}	0.025 ^{bc}
Αλατότητα	CS	1.13 ^a	1.70 ^a	2.133 ^a	0.028 ^a	0.021 ^a	0.024 ^a
	HS	1.11 ^a	1.66 ^a	2.08 ^a	0.027 ^a	0.021 ^a	0.024 ^a

ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	46.21***	46.21***	46.21***	46.21***	46.21***	46.21***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3 ^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	1.54 ^a	2.31 ^a	2.89 ^a	0.038 ^a	0.029 ^a	0.033 ^a
	COMP	1.23 ^c	1.85 ^c	2.31 ^c	0.030 ^c	0.023 ^c	0.027 ^c
	C	0.92 ^d	1.38 ^d	1.72 ^d	0.023 ^d	0.017 ^d	0.020 ^d
	FYM	1.42 ^{ab}	2.13 ^{ab}	2.66 ^{ab}	0.035 ^{ab}	0.026 ^{ab}	0.031 ^{ab}
	NPK	1.29 ^{bc}	1.94 ^{bc}	2.42 ^{bc}	0.032 ^{bc}	0.024 ^{bc}	0.028 ^{bc}
Αλατότητα	CS	1.30 ^a	1.95 ^a	2.44 ^a	0.032 ^a	0.024 ^a	0.028 ^a
	HS	1.26 ^a	1.89 ^a	2.37 ^a	0.031 ^a	0.024 ^a	0.027 ^a
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	61.17***	60.23***	61.68***	61.17***	62.19***	62.08***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16						
Σύνολο	29						

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001. ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

2.3.4 Συντελεστές απόδοσης

2.3.4.1 Αριθμός ανθών ανά φυτό

Ο αριθμός ανθών ανά φυτό για τις 3 ΚΠ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης σε επίπεδο σημαντικότητας ($p < 0.01$). Στην 1^η ΚΠ, στις 110 ΗΑΣ, ο μέγιστος αριθμός ανθών παρατηρήθηκε στην ΝΡΚ (35.16 ± 2.14) και ο ελάχιστος στην C (25.56 ± 2.14). Η ΒΗΣ (34.68 ± 2.14) έδωσε φυτά με μόλις 1.38% λιγότερα άνθη σε σχέση με την ΝΡΚ. Η FYM (34.20 ± 2.14) και η COMP (32.76 ± 2.14) έδωσαν φυτά με 2.81% και 7.33% λιγότερα άνθη σε σύγκριση με την ΝΡΚ. Στη 2^η ΚΠ, στις 110 ΗΑΣ, ο μεγαλύτερος αριθμός ανθών ανά φυτό παρατηρήθηκε στην επέμβαση ΒΗΣ (45.24 ± 3.5) και ο μικρότερος στην επέμβαση C (27.96 ± 3.5). Η FYM (44.76 ± 3.5) και η ΝΡΚ (44.76 ± 3.5) έδωσαν μόλις 1.06% λιγότερα άνθη ανά φυτό. Η COMP (34.2 ± 3.5) εμφάνισε 24.40% λιγότερα άνθη σε σχέση με την ΒΗΣ. Στην 3^η ΚΠ, τα περισσότερα άνθη ανά φυτό καταγράφηκαν στην επέμβαση ΒΗΣ (54.36 ± 2.50) και τα λιγότερα στην επέμβαση C (35.15 ± 2.50). Η FYM (48.6 ± 2.50) και ΝΡΚ (48.12 ± 2.50) έδωσαν φυτά με 10.60% και 11.48% λιγότερα άνθη σε σύγκριση με την ΒΗΣ. Η COMP (43.8 ± 2.50) παρουσίασε 19.43% λιγότερα άνθη σε σύγκριση με την ΒΗΣ (Πίνακας 2-10).

2.3.4.2 Αριθμός λοβών ανά φυτό

Ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p < 0.001$). Στην 1^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η επέμβαση με τους περισσότερους λοβούς ανά φυτό ήταν στην ΝΡΚ (25.11 ± 1.53) ενώ με τους λιγότερους στην C (18.25 ± 1.53). Η ΒΗΣ (24.77 ± 1.53) έδωσε φυτά με 1.37% λιγότερους λοβούς σε σχέση με την ΝΡΚ, ενώ η FYM (24.42 ± 1.53) και η COMP (23.40 ± 1.53) κατέγραψαν αντίστοιχα 2.73% και 6.82% λιγότερους λοβούς ανά φυτό σε σύγκριση με την ΝΡΚ. Στη 2^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, ο μεγαλύτερος αριθμός λοβών ανά φυτό παρατηρήθηκε στην επέμβαση ΒΗΣ (32.31 ± 2.5) και ο μικρότερος στην επέμβαση C (19.97 ± 2.5). Η FYM (31.97 ± 2.5) και η ΝΡΚ (31.97 ± 2.5) έδωσαν μόλις 1.06% λιγότερους λοβούς ανά φυτό, ενώ η COMP

(24.42±2.5) έδωσε 32.31% λιγότερους σε σχέση με την BHS. Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, ο μέγιστος αριθμός λοβών ανά φυτό παρατηρήθηκε στην BHS (38.82±1.78) και ο ελάχιστος στην C (25.11±1.78). Η BHS, FYM και η NPK δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Πίνακας 2-10).

2.3.4.3 Αριθμός διπλών λοβών ανά φυτό

Ο αριθμός διπλών λοβών ανά φυτό επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p \leq 0.001$). Στην 1^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, οι περισσότεροι διπλοί λοβοί παρατηρήθηκαν στην FYM (3.66±0.44) ενώ οι λιγότεροι στην C (0.66±0.44). Στη 2^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η επέμβαση στην οποία παρατηρήθηκαν οι περισσότεροι διπλοί λοβοί ανά φυτό ήταν στην BHS (3.85±0.35) και οι λιγότεροι στην C (1±0.35). Η COMP (3.16±0.35), η FYM (3.16±0.35) και η NPK (3.16±0.35) παρουσίασαν 21.84% λιγότερους διπλούς λοβούς ανά φυτό σε σύγκριση με την BHS. Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, ο μέγιστος αριθμός διπλών λοβών ανά φυτό παρατηρήθηκε με την BHS (5.16±0.47) και ο ελάχιστος στην C (0.83±0.47). Η BHS και FYM διέφεραν στατιστικά σημαντικά (Πίνακας 2-10).

2.3.4.4 Μήκος λοβών

Το μήκος λοβών επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p \leq 0.001$). Στην 1^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ το μέγιστο μήκος λοβών παρατηρήθηκε στην FYM και NPK (19.83±1.40 cm) ενώ το ελάχιστο μήκος λοβών παρουσιάστηκε στην C (13.5±1.40 cm) (Πίνακας 2-10). Η COMP (19.16±1.40 cm) και η BHS (18.66±1.40) εμφάνισαν 3.55% και 6.27% μικρότερους σε μήκος λοβούς σε σύγκριση με την NPK. Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, το μέγιστο μήκος λοβών παρατηρήθηκε στην επέμβαση BHS (24.83±0.77 cm) και το ελάχιστο στην C (16.33±0.77 cm). Η FYM (23.66±0.77 cm) εμφάνισε 4.95% μικρότερο μήκος λοβών σε σύγκριση με την BHS, ενώ η NPK (22.33±0.77 cm) και η COMP (20.66±0.77 cm) έδωσαν αντίστοιχα 11.20% και 20.18% μικρότερο μήκος λοβών σε σχέση με την BHS.

2.3.4.5 Αριθμός σπόρων ανά λοβό

Ο παράγοντας της λίπανσης αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός ($p \leq 0.001$) για τον αριθμό σπόρων ανά λοβό και στις 3 ΚΠ (Πίνακας 2-10). Στην 1^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή για τον αριθμό σπόρων ανά λοβό παρατηρήθηκε στην FYM και στην NPK (23.80±1.68). Η COMP (23.00±1.68) και BHS (22.40±1.68) έδωσαν αντίστοιχα 3.48% και 6.25% λιγότερους σπόρους ανά λοβό σε σύγκριση με την NPK. Στην 2^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, ο μέγιστος αριθμός σπόρων ανά λοβό καταγράφηκε στην επέμβαση NPK (22±1.02) και ο ελάχιστος στην επέμβαση C (12.6±1.02). Η FYM (21.8±1.02) παρουσίασε μόλις 0.91% λιγότερους σπόρους ανά λοβό σε σύγκριση με την NPK, ενώ η BHS (21.2±1.02) και η COMP (20.2±1.02) έδωσαν αντίστοιχα 3.64% και 8.18% λιγότερους σπόρους ανά λοβό σε σύγκριση με την NPK. Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, ο μέγιστος αριθμός σπόρων ανά λοβό καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (29.8±0.92) και ο ελάχιστος στην επέμβαση C (19.60±0.92). Οι επεμβάσεις BHS και FYM δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά.

Πίνακας 2-10 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στον αριθμό ανθών 90, 110 ΗΑΣ, αριθμό λοβών ανά φυτό 110, 130 ΗΑΣ, αριθμό διπλών λοβών ανά φυτό 110, 130 ΗΑΣ, μήκος λοβού 110, 130 ΗΑΣ και αριθμό σπόρων ανά λοβό 110, 130 ΗΑΣ.

		Αριθμός ανθών 90 ΗΑΣ	Αριθμός ανθών 110 ΗΑΣ	Αριθμός λοβών ανά φυτό 110 ΗΑΣ	Αριθμός λοβών ανά 130 ΗΑΣ	Αριθμός διπλών λοβών ανά φυτό 110 ΗΑΣ	Αριθμός διπλών λοβών ανά φυτό 130 ΗΑΣ	Μήκος λοβού 110 ΗΑΣ (cm)	Μήκος λοβού 130 ΗΑΣ (cm)	Αριθμός σπόρων ανά λοβό 110 ΗΑΣ	Αριθμός σπόρων ανά λοβό 130 ΗΑΣ
1^η ΚΠ											
Λίπανση	BHS	21.90 ^a	34.68 ^a	15.64 ^a	24.77 ^a	2.20 ^a	3.17 ^a	12.50 ^a	18.67 ^a	15.00 ^a	22.40 ^a
	COMP	20.70 ^a	32.76 ^a	14.79 ^a	23.40 ^a	1.67 ^a	2.67 ^a	11.67 ^a	19.17 ^a	14.00 ^a	23.00 ^a
	C	16.20 ^b	25.56 ^b	11.57 ^b	18.26 ^b	2.20 ^b	0.67 ^b	7.33 ^b	13.50 ^b	8.80 ^b	16.20 ^b
	FYM	21.60 ^a	34.20 ^a	15.43 ^a	24.43 ^a	2.67 ^a	3.67 ^a	14.50 ^a	19.83 ^a	1.40 ^a	23.80 ^a
	NPK	22.20 ^a	35.16 ^a	15.86 ^a	25.11 ^a	2.50 ^a	3.00 ^a	13.83 ^a	19.83 ^a	16.60 ^a	23.80 ^a
Αλατότητα	CS	22.08 ^a	34.97 ^a	15.77 ^a	24.97 ^a	2.00 ^a	2.80 ^a	12.67 ^a	18.27 ^a	15.20 ^a	21.92 ^a
	HS	18.96 ^a	29.97 ^a	13.54 ^a	21.41 ^a	1.67 ^a	2.47 ^a	11.27 ^a	18.13 ^a	13.52 ^a	21.76 ^a
ANOVA	Df	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	6.83**	6.72**	6.65**	6.93**	10.58**	13.39**	9.41***	7.36**	9.46***	7.28**
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2^η ΚΠ											
Λίπανση	BHS	28.50 ^a	45.24 ^a	20.36 ^a	32.31 ^a	2.33 ^a	3.85 ^a	12.83 ^{bc}	17.67 ^a	15.40 ^{bc}	21.20 ^a
	COMP	21.60 ^{bc}	34.20 ^{bc}	15.43 ^{bc}	24.43 ^{bc}	2.17 ^a	3.17 ^a	11.83 ^c	16.83 ^a	14.20 ^c	20.20 ^a
	C	17.70 ^c	27.96 ^c	12.64 ^c	19.97 ^c	0.17 ^b	1.00 ^b	7.67 ^d	10.50 ^b	9.20 ^d	12.60 ^b
	FYM	28.20 ^{ab}	44.76 ^{ab}	20.14 ^{ab}	31.97 ^{ab}	2.17 ^a	3.17 ^a	14.50 ^a	18.17 ^a	17.40 ^a	21.80 ^a
	NPK	28.20 ^{ab}	44.76 ^{ab}	20.14 ^{ab}	31.97 ^{ab}	2.17 ^a	3.17 ^a	14.00 ^{ab}	18.33 ^a	16.80 ^{ab}	22.00 ^a
Αλατότητα	CS	24.00 ^a	38.04 ^a	17.14 ^a	27.17 ^a	1.60 ^a	2.60 ^b	11.87 ^a	16.67 ^a	14.24 ^a	20.00 ^a
	HS	25.68 ^a	40.73 ^a	18.34 ^a	29.09 ^a	2.00 ^a	3.10 ^a	12.47 ^a	15.93 ^a	14.96 ^a	19.12 ^a
ANOVA	Df	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	56.63*	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	10.16**	11.01**	9.79***	10.18**	9.01***	22.31**	62.71**	29.94**	62.73**	29.91**
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3^η ΚΠ											
Λίπανση	BHS	34.20 ^a	54.36 ^a	24.43 ^a	38.83 ^a	4.17 ^a	5.17 ^a	21.33 ^a	24.83 ^a	25.60 ^a	29.80 ^a
	COMP	27.60 ^b	43.80 ^b	19.71 ^b	31.28 ^b	1.17 ^{cd}	2.17 ^{cd}	19.50 ^a	20.67 ^c	23.40 ^a	24.80 ^c
	C	22.20 ^c	35.16 ^c	15.86 ^c	25.11 ^c	0.17 ^d	0.83 ^d	13.50 ^b	16.33 ^d	16.20 ^b	19.60 ^d
	FYM	30.60 ^{ab}	48.60 ^{ab}	21.86 ^{ab}	34.71 ^{ab}	3.00 ^{ab}	4.00 ^{ab}	19.67 ^a	23.67 ^{ab}	23.60 ^a	28.40 ^{ab}
	NPK	30.30 ^{ab}	48.12 ^{ab}	21.64 ^{ab}	34.37 ^{ab}	2.33 ^{bc}	3.33 ^{bc}	18.83 ^a	22.33 ^{bc}	22.60 ^a	26.80 ^{bc}
Αλατότητα	CS	30.60 ^a	48.60 ^a	21.86 ^a	34.71 ^a	2.13 ^a	3.07 ^a	18.87 ^a	21.93 ^a	22.64 ^a	26.32 ^a
	HS	27.36 ^a	43.42 ^a	19.54 ^a	31.01 ^a	2.20 ^a	3.13 ^a	18.27 ^a	21.20 ^a	21.92 ^a	25.44 ^a
ANOVA	Df	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	16.24**	16.88**	15.74**	16.37**	27.34**	24.77**	18.19**	36.71**	18.22**	36.73**
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16										
Σύνολο	29										

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001. ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

2.3.4.6 Βάρος λοβών ανά φυτό

Το βάρος λοβών ανά φυτό μετρήθηκε στις 90, 110 και 130 ΗΑΣ για κάθε καλλιεργητική περίοδο και επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p < 0.001$). Στην 1^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, το μέγιστο βάρος λοβών ανά φυτό παρατηρήθηκε στην ΝΡΚ (0.29 ± 0.008739 g) και το ελάχιστο στην C (0.21 ± 0.008739 g). Η FYM, ΝΡΚ και ΒΗΣ δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά. Όμοια για την 2^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ. Στην 3^η ΚΠ, στις 130 ΗΑΣ, το μέγιστο βάρος λοβών ανά φυτό καταγράφηκε στην επέμβαση ΒΗΣ (0.29 ± 0.006637 g) και το ελάχιστο στην επέμβαση C (0.1983 ± 0.006637 g). Η FYM (0.27 ± 0.006637 g) έδωσε 7.41% μικρότερο βάρος λοβών ανά φυτό σε σύγκριση με την ΒΗΣ, ενώ η ΝΡΚ (0.26 ± 0.006637 g) και η COMP (0.23 ± 0.006637 g) κατέγραψαν αντίστοιχα 11.54% και 26.09% μικρότερο βάρος λοβών σε σχέση με την ΒΗΣ (Πίνακας 2-11).

2.3.4.7 Απόδοση σε βιομάζα

Για την απόδοση σε βιομάζα, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p < 0.001$) (Πίνακας 2-11). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για την απόδοση σε βιομάζα παρατηρήθηκε με την ΝΡΚ (4702.1 ± 124.75 kg ha⁻¹) ενώ η ελάχιστη στην C (3333.7 ± 124.75 kg ha⁻¹). Η FYM (4688.7 ± 124.175 kg ha⁻¹) και η ΒΗΣ (4648.5 ± 124.75 kg ha⁻¹) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά. Στη 2^η ΚΠ, την μεγαλύτερη απόδοση σε βιομάζα έδωσε η ΒΗΣ (4568 ± 90.59 kg ha⁻¹) και την μικρότερη η C (3135.80 ± 90.59 kg ha⁻¹). Η FYM (4493.8 ± 90.59 kg ha⁻¹) και η ΝΡΚ (4344.3 ± 90.59 kg ha⁻¹) παρουσίασαν αντίστοιχα 1.65% και 5.15% μικρότερη απόδοση σε βιομάζα σε σύγκριση με την ΒΗΣ, ενώ η COMP (3787.4 ± 90.59 kg ha⁻¹) έδωσε 20.91% μικρότερη απόδοση σε βιομάζα σε σχέση με την ΒΗΣ. Στην 3^η ΚΠ, η απόδοση σε βιομάζα εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή της στην επέμβαση ΒΗΣ (4650.50 ± 88.72 kg ha⁻¹) και τη μικρότερη στην C (3168.8 ± 88.72 kg ha⁻¹). Η FYM (4397.9 ± 88.72 kg ha⁻¹) έδωσε 5.74% λιγότερη βιομάζα σε σύγκριση με την ΒΗΣ. Η ΝΡΚ (4171 ± 88.72 kg ha⁻¹) και η COMP (3669.90 ± 88.72 kg ha⁻¹) έδωσαν αντίστοιχα 11.50% και 26.72% μικρότερη βιομάζα σε σύγκριση με την ΒΗΣ.

2.3.4.8 Απόδοση σε σπόρο

Για την απόδοση σε σπόρο, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p < 0.001$). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη απόδοση σε σπόρο σημειώθηκε στην επέμβαση FYM (1645.20 ± 75.67 kg ha⁻¹) ενώ η ελάχιστη στην επέμβαση C (925.30 ± 75.67 kg ha⁻¹). Η ΝΡΚ (1591.80 ± 75.67 kg ha⁻¹) παρουσίασε μικρότερη απόδοση σε σπόρο μόλις κατά 3.35% σε σύγκριση με την FYM, ενώ η COMP (1404.00 ± 75.67 kg ha⁻¹) και η ΒΗΣ (1369.00 ± 75.67 kg ha⁻¹) εμφάνισαν αντίστοιχα 17.18% και 20.18% μικρότερη απόδοση σε σπόρο σε σύγκριση με την FYM. Στη 2^η ΚΠ, η μέγιστη απόδοση σε σπόρο καταγράφηκε στην FYM (2013.5 ± 100.13 kg ha⁻¹) και η ελάχιστη στην C (1168.4 ± 100.13 kg ha⁻¹). Η ΝΡΚ (1866.8 ± 100.13 kg ha⁻¹) έδωσε 7.86% λιγότερο σπόρο σε σύγκριση με την FYM, ενώ η COMP (1750.5 ± 100.13 kg ha⁻¹) και η ΒΗΣ (1721.8 ± 100.13 kg ha⁻¹) έδωσαν αντίστοιχα 15.02% και 16.94% λιγότερο σπόρο σε σύγκριση με την FYM. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη απόδοση σε σπόρο σημειώθηκε στην επέμβαση ΒΗΣ (2101.6 ± 68.06 kg ha⁻¹) και η ελάχιστη στην επέμβαση C

(1300.9±68.06 kg ha⁻¹). Η BHS και FYM (1994.4±68.06 kg ha⁻¹) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά (Πίνακας 2-11).

2.3.4.9 Βάρος χιλίων σπόρων (ΒΧΣ)

Το ΒΧΣ επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανσης ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 2-11). Στην 1^η ΚΠ, το μέγιστο ΒΧΣ παρατηρήθηκε στην επέμβαση FYM (18.37± 0.63g) και το ελάχιστο στην επέμβαση C (11.70±0.63 g). Η NPK (18.09±0.63 g) κατέγραψε μόλις 1.55% μικρότερο ΒΧΣ σε σύγκριση με την FYM, ενώ η BHS (16.24±0.63 g) και η COMP (14.91±0.63 g) εμφάνισαν αντίστοιχα 13.12% και 23.21% μικρότερο ΒΧΣ σε σχέση με την FYM. Στην 2^η ΚΠ, το ΒΧΣ πήρε την μέγιστη τιμή του στην επέμβαση BHS (17.00±0.33 g) και την ελάχιστη στην επέμβαση C (9.87±0.33 g). Η FYM (16±0.33 g) εμφάνισε 6.25% μικρότερο ΒΧΣ σε σύγκριση με την BHS, ενώ η NPK (15.09±0.33 g) και η COMP (13.40±0.33 g) έδωσαν αντίστοιχα 12.66% και 26.87% μικρότερο ΒΧΣ σε σχέση με την BHS. Στην 3^η ΚΠ, το μεγαλύτερο ΒΧΣ καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (17.71±0.47 g) και το μικρότερο στην επέμβαση C (11.85±0.47 g). Η FYM (16.91±0.47 g) παρουσίασε 4.73% μικρότερο ΒΧΣ σε σύγκριση με την BHS. Η NPK (15.71±0.47 g) και η COMP (15.18±0.47 g) εμφάνισαν 12.73% και 16.67% μικρότερο ΒΧΣ σε σύγκριση με την BHS.

2.3.4.10 Δείκτης συγκομιδής (HI)

Ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός για το HI, είναι αυτός της λίπανσης ($p \leq 0.05$) στην 1^η ΚΠ. Στην 2^η και 3^η ΚΠ δεν κρίνεται κάποιος παράγοντας σημαντικός. Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για το δείκτη HI προέκυψε στην FYM (35.42±2.20) και η ελάχιστη στην C (28.15±2.20). Η COMP (34.42±2.20), η NPK (34.25±2.20) και η BHS (29.53±2.20) εμφάνισαν μειωμένο δείκτη συγκομιδής κατά 2.91%, 3.42% και 19.95% σε σύγκριση με την FYM αντίστοιχα ενώ δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Πίνακας 2-11).

2.3.4.11 Ποσοστό μετατόπισης (TP)

Ο δείκτης TP επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p \leq 0.05$) (Πίνακας 2-11). Για τις 3 ΚΠ, οι επεμβάσεις BHS, NPK και FYM δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά. Στην 2^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή TP καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (50.25±1.57) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (35.87±1.57). Η FYM (48.77±1.57) και η NPK (48.39±1.57) παρουσίασαν 3.03% και 3.84% μικρότερη τιμή TP σε σύγκριση με την BHS αντίστοιχα. Η COMP (42.46±1.57) έδωσε 18.35% μικρότερη τιμή TP σε σύγκριση με την BHS. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή TP καταγράφηκε στην BHS (48.45±1.78) και η ελάχιστη στην C (33.10±1.78).

2.3.4.12 Αποδοτικότητα βιομάζα (DME)

Ο δείκτης DME επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p \leq 0.05$). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή DME καταγράφηκε στην επέμβαση FYM (0.196±0.012) ενώ η ελάχιστη στην επέμβαση C (0.156±0.012). Η COMP (0.190±0.012) και η NPK (0.191±0.012) έδωσαν αντίστοιχα 2.79% και 3.30% μικρότερο

DME σε σύγκριση με την FYM, ενώ η BHS (0.164±0.012) σε σύγκριση με την FYM εμφάνισε 16.62% μικρότερη τιμή. Στη 2^η και στην 3^η ΚΠ δεν κρίθηκε κάποιος παράγοντας σημαντικός (Πίνακας 2-11).

2.3.4.13 Αποδοτικότητα μονάδας επιφάνειας (UAE)

Ο UAE επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p=0.001$) και στις 3 ΚΠ. Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή UAE καταγράφηκε στην επέμβαση FYM (9140±420.39) (Πίνακας 2-11). Οι επεμβάσεις NPK, COMP και BHS δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους. Στη 2^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή UAE καταγράφηκε στην FYM (11186±556.26) και η ελάχιστη στην C (6491±556.26). Η NPK (10371±556.26) έδωσε 7.86% μικρότερη τιμή UAE σε σύγκριση με την FYM, ενώ η COMP (9725±556.26) και η BHS (9565±556.26) παρουσίασαν 15.02% και 16.95% μικρότερη τιμή UAE σε σύγκριση με την FYM. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή UAE καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (11675±378.16) και δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με την επέμβαση FYM (11080±378.16).

Πίνακας 2-11 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο βάρος λοβών ανά φυτό 90, 110, 130 ΗΑΣ, απόδοση σε βιομάζα, απόδοση σε σπόρους, Βάρος Χιλίων Σπόρων (ΒΧΣ), Harvest Index (HI), Translocation percentage (TP), Dry Matter Efficiency (DME) και Unit area efficiency (UAE).

		Βάρος λοβών ανά φυτό 90 ΗΑΣ	Βάρος λοβών ανά φυτό 110 ΗΑΣ	Βάρος λοβών ανά φυτό 130 ΗΑΣ	Απόδοση σε βιομάζα (kg ha ⁻¹)	Απόδοση σε σπόρους (kg ha ⁻¹)	ΒΧΣ (g)	HI (%)	TP	DME	UAE
1^η ΚΠ											
Λίπανση	BHS	0.14 ^a	0.16 ^a	0.29 ^a	4648.50 ^a	1369.00 ^b	16.24 ^{bc}	29.53 ^{ab}	49.85 ^a	0.164 ^{ab}	7605.70 ^b
	COMP	0.13 ^b	0.14 ^b	0.26 ^b	4096.80 ^b	1404.00 ^b	14.92 ^c	34.43 ^{ab}	43.25 ^b	0.191 ^{ab}	7800.10 ^b
	C	0.09 ^c	0.12 ^c	0.21 ^c	3333.70 ^c	925.30 ^c	11.71 ^d	28.16 ^b	32.82 ^c	0.156 ^b	5140.70 ^c
	FYM	0.14 ^a	0.16 ^a	0.29 ^a	4688.70 ^a	1645.20 ^a	18.37 ^a	35.42 ^a	49.90 ^a	0.197 ^a	9140.00 ^a
	NPK	0.15 ^a	0.16 ^a	0.29 ^a	4702.10 ^a	1591.80 ^{ab}	18.09 ^{ab}	34.25 ^{ab}	50.21 ^a	0.190 ^{ab}	8843.60 ^{ab}
Αλατότητα	CS	0.14 ^a	0.15 ^a	0.27 ^a	4423.70 ^a	1465.30 ^a	16.48 ^a	32.81 ^a	44.07 ^a	0.182 ^a	8140.40 ^a
	HS	0.13 ^a	0.14 ^a	0.26 ^a	4164.20 ^a	1308.90 ^a	15.25 ^a	31.91 ^a	46.34 ^a	0.177 ^a	7271.60 ^a
ANOVA	Df										
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	81.74***	81.53***	36.12***	45.27***	28.15***	37.08***	4.42*	28.42***	4.40*	28.15***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2^η ΚΠ											
Λίπανση	BHS	0.14 ^a	0.16 ^a	0.29 ^a	4568.00 ^a	1721.80 ^a	17.01 ^a	37.48 ^a	50.25 ^a	0.208 ^a	9565.00 ^a
	COMP	0.13 ^b	0.14 ^b	0.24 ^b	3787.40 ^b	1750.50 ^a	13.40 ^c	46.08 ^a	42.47 ^b	0.256 ^a	9725.00 ^a
	C	0.09 ^c	0.12 ^c	0.19 ^c	3135.80 ^c	1168.40 ^b	9.87 ^d	37.64 ^a	35.87 ^c	0.209 ^a	6491.00 ^b
	FYM	0.14 ^a	0.16 ^a	0.28 ^a	4493.80 ^a	2013.50 ^a	16.01 ^{ab}	44.65 ^a	48.77 ^a	0.248 ^a	11186.00 ^a
	NPK	0.14 ^a	0.16 ^a	0.27 ^a	4344.30 ^a	1866.80 ^a	15.09 ^b	42.89 ^a	48.39 ^a	0.238 ^a	10371.00 ^a
Αλατότητα	CS	0.13 ^a	0.15 ^a	0.25 ^a	4209.90 ^a	1912.20 ^a	14.79 ^a	45.19 ^a	44.38 ^a	0.251 ^a	10623.00 ^a
	HS	0.13 ^a	0.15 ^a	0.25 ^a	3921.80 ^a	1496.20 ^a	13.76 ^a	38.30 ^a	45.92 ^a	0.213 ^a	8312.00 ^a
ANOVA	Df										
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	139.27***	139.59***	86.86***	89.48***	20.60***	141.49***	ns	28.93***	ns	20.53***
F Λίπαν x Αλατότ	4	6.20**	6.05**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3^η ΚΠ											
Λίπανση	BHS	0.15 ^a	0.17 ^a	0.29 ^a	4650.50 ^a	2101.60 ^a	17.72 ^a	45.47 ^a	48.46 ^a	0.253 ^a	11675.00 ^a
	COMP	0.12 ^c	0.14 ^c	0.23 ^c	3669.90 ^c	1655.60 ^c	15.18 ^c	45.24 ^a	37.46 ^b	0.251 ^a	9198.00 ^c
	C	0.10 ^d	0.12 ^d	0.19 ^d	3168.80 ^d	1300.90 ^d	11.85 ^d	41.13 ^a	33.11 ^b	0.228 ^a	7227.00 ^d
	FYM	0.15 ^{ab}	0.16 ^{ab}	0.27 ^{ab}	4397.90 ^{ab}	1994.40 ^{ab}	16.92 ^{ab}	45.59 ^a	46.36 ^a	0.253 ^a	11080.00 ^{ab}

	NPK	0.14 ^b	0.16 ^b	0.26 ^b	4171.00 ^b	1813.60 ^{bc}	15.72 ^{bc}	43.90 ^a	43.60 ^a	0.244 ^a	10075.00 ^{bc}
Αλατότητα	CS	0.14 ^a	0.166 ^a	0.25 ^a	4039.90 ^a	1749.50 ^a	15.77 ^a	43.30 ^a	40.82 ^a	0.241 ^a	9719.60 ^a
	HS	0.13 ^b	0.15 ^b	0.25 ^a	3983.40 ^a	1796.90 ^a	15.18 ^a	45.23 ^a	42.77 ^a	0.251 ^a	9982.60 ^a
ANOVA	Df										
F <i>Αλατότητας</i>	1	19.65*	19.87*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F <i>Λίπανσης</i>	4	78.41***	78.38***	62.67***	89.55***	42.66***	46.05***	ns	25.67***	ns	42.35***
F <i>Λίπαν x Αλατότ</i>	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16										
Σύνολο	29										

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01. *** p < 0.001. ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

2.4 Συζήτηση

Το στάδιο της εκβλάστησης είναι η μια κρίσιμη περίοδος για την εγκατάσταση των φυτικών ειδών [157]. Οικοφυσιολογικές μελέτες της βλάστησης των σπόρων έχουν υποδείξει ότι το φως, η θερμοκρασία, το pH, το οσμωτικό δυναμικό, η αλατότητα και η φύτευση βάθους μπορεί να είναι τα πιο αξιόπιστα περιβαλλοντικά σήματα που υποδεικνύουν τον κατάλληλο χρόνο για το φύτεψωμα [158]. Στο πείραμά μας, αποδείχτηκε ότι μόνο η λίπανση, και όχι η αλατότητα, επηρέασε την εκβλάστηση των φυτών τριγωνέλλας στον αγρό. Η ανθεκτικότητα στην αλατότητα επιβεβαιώνεται από τους Saberali & Moradi [159]. Η επαρκής υγρασία είναι απαραίτητη για να απορροφήσουν οι σπόροι νερό και να ξεκινήσει η διαδικασία βλάστησης [160]. Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με το παραπάνω καθώς στην 3^η ΚΠ σημειώθηκε ο μεγαλύτερος αριθμός φυτών ανά m² στις 40 ΗΑΣ, καθώς σημειώθηκε η πιο υψηλή βροχόπτωση σε σχέση με τις 3 χρονιές. Παρόλο που ο αριθμός φυτών που εκβλάστησαν ανά m² στις 40 ΗΑΣ επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση, δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των βιολογικών και ανόργανων λιπάνσεων. Να σημειωθεί ότι ο αριθμός φυτών που εκβλάστησαν ανά m² είναι μεγαλύτερος κάτω από τις βιολογικές λιπάνσεις καθώς η δομή του εδάφους, λόγω της προσθήκης οργανικής ουσίας μέσω της λίπανσης, βελτιώθηκε και επηρέασε τη συγκράτηση του νερού, την αποστράγγιση και τον αερισμό, παράγοντες που βοηθούν στην εκβλάστηση. Οι Randhawa *et al.* σημείωσαν ότι οι χαμηλότερες θερμοκρασίες καθυστερούν την εμφάνιση τριγωνέλλας [161]. Στο πείραμά μας, η μέση θερμοκρασία ανά καλλιεργητική περίοδο είχε διαφορά μέχρι 2 °C, και δεν φαίνεται να επηρέασε την εκβλάστηση των φυτών τριγωνέλλας.

Η διαθεσιμότητα βασικών θρεπτικών συστατικών όπως το άζωτο, ο φώσφορος και το κάλιο στο έδαφος επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών τριγωνέλλας [162]. Πολλές έρευνες αναφέρουν ότι το ύψος των φυτών τριγωνέλλας επηρεάζεται από τη λίπανση [124, 135, 163, 164]. Αυτό επιβεβαιώνεται και στο δικό μας πείραμα. Το ύψος φυτών επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά και στις 3 χρονιές από τη λίπανση. Το ύψος των φυτών ξεκίνησε από μέση τιμή 34 cm και αναπτύχθηκε μέχρι 75 cm. Το μέγιστο ύψος των φυτών στην περιοχή της Άγκυρας ήταν 42.2 cm [124]. Στην περιοχή του Ιράν το μέγιστο ύψος που καταγράφηκε ήταν 25 cm [135] ενώ στην περιοχή της Ινδίας στις 90 ΗΑΣ ήταν 58.3 - 70 cm [165, 166]. Αυτές οι μεγάλες διαφορές στα ύψη των φυτών οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το ύψος του φυτού επηρεάζεται από το γενετικό υλικό, δηλαδή την ποικιλία.

Η μεταβλητότητα των καιρικών συνθηκών, όπως οι περίοδοι ξηρασίας ή οι έντονες βροχοπτώσεις, μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά την ανάπτυξη και το ύψος των φυτών [167]. Στο πείραμά μας δεν επιβεβαιώνεται, καθώς οι καιρικές συνθήκες ήταν ομαλές κατά τις 3 καλλιεργητικές περιόδους, γεγονός που καθιστά το μεσογειακό κλίμα ιδανικό για την καλλιέργεια τριγωνέλλας.

Στο πείραμά μας, ο αριθμός βλαστών ανά φυτό επηρεάστηκε από τη λίπανση και από την αλατότητα. Οι Bhutia *et al.* μετρήσανε μέχρι και 7.5 βλαστούς ανά φυτό [166] και οι Lal *et al.* 6.8 βλαστούς ανά φυτό [168]. Αυτές οι τιμές συμφωνούν με τις δικές μας καθώς ο αριθμός βλαστών ανά φυτό έφτασε μέχρι και 7 βλαστούς ανά φυτό στις 130 ΗΑΣ. Μείωση στον αριθμό των βλαστών ανά φυτό σημειώθηκε με την επέμβαση της αλατότητας, κάτι το οποίο επιβεβαιώνεται από τους Tuncturk και Karoor & Pande [169, 170]. Η μείωση αυτή οφείλεται στη δημιουργία οσμωτικής ανισορροπίας μεταξύ του εδαφικού διαλύματος και του ριζικού συστήματος του φυτού λόγω αλατότητας. Η περίσσεια αλάτων στο έδαφος δημιουργεί υψηλότερο οσμωτικό δυναμικό στο έδαφος από ό,τι στις ρίζες των φυτών. Αυτό δυσκολεύει το φυτό να προσλάβει νερό από το έδαφος, οδηγώντας το σε υδατικό στρες. Ως αποτέλεσμα, το φυτό υφίσταται μειωμένη πρόσληψη νερού και δεν μπορεί να υποστηρίξει την ανάπτυξη πολλών βλαστών [171].

Τα τελευταία χρόνια, ο κλάδος των γαλακτοπαραγωγών βοοειδών ερευνά αν η τριγωνέλλα είναι κατάλληλη ζωοτροφή για τις γαλακτοπαραγωγές αγελάδες και ποια είναι τα οφέλη της. Γι' αυτό ο αριθμός των φύλλων είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό που μετρήθηκε. Οι Acharya *et al.* διαπίστωσε ότι ένα τεμάχιο τριγωνέλλας ήταν ισοδύναμο σε ξηρή ουσία με δύο τεμάχια μηδικής [20].

Ο αριθμός των φύλλων καταγράφηκε μεγαλύτερος στην 1^η ΚΠ με τις επεμβάσεις NPK και FYM, ενώ τον 3^ο χρόνο παρατηρούμε ότι ο υψηλότερος αριθμός φύλλων σημειώθηκε με την επέμβαση BHS. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα θρεπτικά συστατικά απελευθερώνονται στο έδαφος σταδιακά, σε αντίθεση με την ανόργανη λίπανση και την επέμβαση FYM, οι οποίες απελευθερώνουν άμεσα τα θρεπτικά τους συστατικά και θεωρούνται υπεύθυνες για τη νιτρορύπανση. Οι επεμβάσεις NPK και FYM αποτελούν σημαντική πηγή θρεπτικών συστατικών που όταν εφαρμόζονται μπορούν να προσφέρουν άμεση θρεπτική ενίσχυση στα φυτά. Αντίθετα, η επέμβαση BHS που εφαρμόστηκε είναι ένα οργανικό υλικό μακράς διάρκειας που παρέχει μια συνεχή πηγή θρεπτικών συστατικών στα φυτά, καθώς διασπάται αργά με την πάροδο του χρόνου.

Το ξηρό βάρος του φυτού επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τις βιολογικές επεμβάσεις και την επέμβαση NPK και το μέγιστο βάρος ανά φυτό ήταν 3.2 g. Οι Mehta *et al.* κατέγραψαν στην ωρίμανση ότι η συσσώρευση ξηράς ουσίας ανά φυτό ήταν περίπου 15 g [165] και το μεγαλύτερο βάρος εμφανίστηκε με βιολογικά λιπάσματα. Αυτό επιβεβαιώνεται από το δικό μας πείραμα. Οι Sahu *et al.* κατέγραψαν μέγιστο βάρος ανά φυτό ίσο με 8.99 g [172, 173]. Η αύξηση του ξηρού βάρους των φυτών οφείλεται στη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων μέσω της εφαρμογής λιπασμάτων, καθώς και στη χρήση του αζώτου που αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της χλωροφύλλης και οδηγεί σε υψηλότερη φωτοσύνθεση. Επίσης, η αυξημένη φωτοσύνθεση οδηγεί σε μεγαλύτερο ύψος των φυτών, κάτι που συμφωνεί με τα ευρήματα ερευνών [163, 174, 175].

Συγκρίνοντας τις τιμές AGR συμπεραίνεται ότι η τριγωνέλλα έχει υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης μέχρι να εμφανιστούν οι πρώτοι λοβοί. Επίσης, αποδεικνύεται ότι η λίπανση επηρέασε τον AGR της τριγωνέλλας. Συγκεκριμένα, οι βιολογικές και οι ανόργανες λιπάνσεις κατά τη διάρκεια των εξεταζόμενων χρονικών περιόδων δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του δείκτη AGR για την καλλιέργεια τριγωνέλλας. Ωστόσο, οι βιολογικές σημείωσαν μεγαλύτερο AGR. Αυτό το αποτέλεσμα συμφωνεί με τα ευρήματα των Harish *et al.* σε καλλιέργεια ρυζιού [176].

Ο δείκτης NAR είναι υψηλός στα πρώτα βλαστικά στάδια και μειώνεται απότομα καθώς το φυτό μεγαλώνει [177]. Αυτό επιβεβαιώνεται και στο πείραμά μας, όπου ο δείκτης NAR στην καλλιέργεια τριγωνέλλας μειώνεται καθώς αυξάνεται η ηλικία της καλλιέργειας. Ο NAR μειώνεται με την ανάπτυξη της καλλιέργειας εξαιτίας της αμοιβαίας σκίασης των φύλλων και της μειωμένης φωτοσυνθετικής απόδοσης των μεγαλύτερων φύλλων [178]. Επίσης, ο NAR στην καλλιέργεια τριγωνέλλας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση, όμως οι ανόργανες και οι βιολογικές λιπάνσεις δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά. Αυτό το αποτέλεσμα συμφωνεί με τα ευρήματα των Namvar *et al.* [179]. Επίσης, η αλατότητα του εδάφους δεν επηρέασε το NAR στην καλλιέργεια τριγωνέλλας.

Ο δείκτης LA είναι μια κρίσιμη παράμετρος που επηρεάζει άμεσα τη φωτοσυνθετική ικανότητα, την ανάπτυξη και τη συνολική παραγωγικότητα ενός φυτού. Η επαρκής διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων, ιδίως αζώτου, είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των φύλλων. Το άζωτο αποτελεί βασικό συστατικό της χλωροφύλλης και των πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη φωτοσύνθεση και την ανάπτυξη [180]. Αυτό επιβεβαιώνεται στο πείραμά μας, καθώς οι τιμές του δείκτη LA στην καλλιέργεια τριγωνέλλας επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση και σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της NPK και των βιολογικών λιπάνσεων. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα βιολογικά λιπάσματα βελτιώνουν τη γονιμοποίηση των ριζών και παρέχουν ευνοϊκό εδαφικό περιβάλλον για τη ριζόσφαιρα των φυτών, αυξάνοντας τη δέσμευση του αζώτου, το οποίο οδηγεί σε αυξημένη ανάπτυξη επιφάνειας των φύλλων ανά φυτό. Ο δείκτης LA της τριγωνέλλας δεν επηρεάστηκε από την αλατότητα του εδάφους, γεγονός που σημαίνει ότι η καλλιέργεια μπορεί να αναπτυχθεί αποδοτικά και σε τέτοιες συνθήκες. Ο LAR συσχετίζει τη συνολική φυλλική επιφάνεια ενός φυτού με τη συνολική βιομάζα του. Είναι ένας σημαντικός δείκτης που δείχνει πόσο αποτελεσματικά ένα φυτό χρησιμοποιεί τους διαθέσιμους πόρους για την ανάπτυξη και τη φωτοσύνθεση. Ο LAR φαίνεται να επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση στη καλλιέργεια τριγωνέλλας. Η ανόργανη και η βιολογική λίπανση στην καλλιέργεια τριγωνέλλας οδήγησαν σε αυξημένη παραγωγή φύλλων, η οποία με τη σειρά της επηρεάζει το δείκτη LAR. Η υψηλή διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών οδηγεί συχνά σε μεγαλύτερη φυλλική επιφάνεια σε σχέση με τη βιομάζα των φυτών. Αυτό το αποτέλεσμα είναι σύμφωνο με έρευνες σε καλλιέργεια κρεμμυδιού και ρυζιού [181, 182]. Αντίθετα, η αλατότητα του εδάφους δεν επηρέασε το δείκτη LAR στην καλλιέργεια τριγωνέλλας. Αυτό κρίνεται σημαντικό αποτέλεσμα καθώς η τριγωνέλλα μπορεί να χρησιμοποιεί τους πόρους για την ανάπτυξη και τη φωτοσύνθεση και σε εδάφη με υψηλή αλατότητα.

Ο δείκτης RGR μετρά τον ρυθμό με τον οποίο ένα φυτό αναπτύσσεται σε σχέση με το τρέχον μέγεθός του. Ο δείκτης RGR της τριγωνέλλας δεν διέφερε για τις 2 πρώτες καλλιεργητικές περιόδους μεταξύ της ανόργανης και της βιολογικής λίπανσης. Στην 3^η ΚΠ σημειώνεται ότι η αλληλεπίδραση της λίπανσης με την αλατότητα εδάφους επηρέασαν σημαντικά το δείκτη RGR της τριγωνέλλας και ήταν μικρότερος στην επέμβαση NPK. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, σε εδάφη με υψηλό επίπεδο αλατότητας, ο RGR των φύλλων και των στελεχών τριγωνέλλας μειώθηκε κατά 17 και 30% αντίστοιχα σε σχέση με εδάφη με χαμηλό επίπεδο αλατότητας, ενώ ο δείκτης RGR της ρίζας δεν επηρεάστηκε [183]. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι η καταπόνηση με το αλάτι σε συνδυασμό με την ανόργανη λίπανση προκαλεί διαταραχές στη θρέψη των φυτών τριγωνέλλας.

Η επαρκής παροχή θρεπτικών συστατικών οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή φύλλων, επηρεάζοντας το LAI. Το άζωτο, ειδικότερα, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προώθηση της ανάπτυξης των φύλλων στην καλλιέργεια τριγωνέλλας [184, 185]. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τα ευρήματα της συγκεκριμένης έρευνας. Ο δείκτης LAI συνδέεται με τη συνολική παραγωγικότητα του οικοσυστήματος, καθώς αντανακλά την ικανότητα της βλάστησης για παραγωγή βιομάζας. Ο δείκτης LAI δεν επηρεάστηκε από την αλατότητα του εδάφους, γεγονός που δείχνει ότι η καλλιέργεια μπορεί να αναπτυχθεί αποδοτικά ακόμα και σε συνθήκες αλατότητας. Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνεται από τις έρευνες των Hasni *et al.* και Banakar *et al.* [144, 183] και πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι η τριγωνέλλα μπορεί να ενεργοποιήσει διάφορους προσαρμοστικούς μηχανισμούς για να αντιμετωπίσει το στρες της αλατότητας. Αυτοί οι μηχανισμοί μπορεί να περιλαμβάνουν τη ρύθμιση της οσμωτικής ισορροπίας, την παραγωγή οσμολυτών (όπως η προλίνη) και τον έλεγχο της πρόσληψης και της μεταφοράς ιόντων [141].

Ο δείκτης LAD παρέχει πληροφορίες σχετικά με την ικανότητα του φυτού να δεσμεύει ηλιακή ενέργεια, να πραγματοποιεί φωτοσύνθεση και να συμβάλλει στην παραγωγή βιομάζας καθ' όλη τη διάρκεια του κύκλου ζωής. Ο LAD είναι ιδιαίτερα σημαντικός για τη καλλιέργεια τριγωνέλλας, όπου η ανάπτυξη και η διάρκεια των φύλλων μπορεί να επηρεάσει την απόδοση και τη συνολική απόδοση του φυτού [185, 186]. Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη, ο LAD επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση. Στην 1^η πειραματική χρονιά, ο LAD ήταν μεγαλύτερος με την NPK ενώ στην 3^η χρονιά ήταν μεγαλύτερος με την BHS. Αυτό αποδεικνύει πόσο ευεργετική είναι η βιολογική λίπανση σε συνδυασμό με υψηλή εδαφική αλατότητα με την πάροδο του χρόνου σε αντίθεση με την NPK.

Ο αριθμός των ανθών σε μια καλλιέργεια τριγωνέλλας μπορεί να είναι σημαντικός κυρίως επειδή επηρεάζει άμεσα τη συνολική απόδοση σε σπόρο και την ποιότητα της καλλιέργειας. Μεγαλύτερος αριθμός ανθών σημαίνει μεγαλύτερη δυνατότητα σχηματισμού λοβών, η οποία τελικά οδηγεί σε αυξημένη απόδοση σπόρων. Και για τα 3 πειραματικά χρόνια, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός στον αριθμό των ανθών είναι αυτός της λίπανσης ($p \leq 0.01$). Τα περισσότερα άνθη ανά φυτό καταγράφηκαν στην επέμβαση BHS (54.36 ± 2.50). Η FYM (48.6 ± 2.50) και η NPK (48.12 ± 2.50) έδωσαν αντίστοιχα φυτά με 10.60% και 11.48% λιγότερα άνθη σε σύγκριση με την BHS. Τα βιολογικά λιπάσματα αυξάνουν τα μικροβιακά στοιχεία του εδάφους και τη διαθεσιμότητα του φωσφόρου, ο οποίος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μετατροπή και

μεταφορά ενέργειας, βοηθώντας την ανθοφορία και κατ' επέκταση στην αύξηση του αριθμού, του βάρους και του μήκους των λοβών ανά φυτό σε καλλιέργεια τριγωνέλλας [119, 123].

Ο αριθμός λοβών ανά φυτό και ο αριθμός των διπλών λοβών επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο από τη λίπανση και όχι από την αλατότητα. Ο μεγαλύτερος αριθμός λοβών ανά φυτό παρατηρήθηκε στην επέμβαση BHS (32.31. Η FYM (31.97) ενώ η NPK (31.97) έδωσαν μόλις 1.06% λιγότερους λοβούς ανά φυτό σε σχέση με τη BHS. Σημειώνεται ότι οι Zandi *et al.* κατέγραψαν 35 έως 45 [4], οι Nair *et al.* κατέγραψαν 24.88 έως 31.09 [187], και οι Husain *et al.* σημείωσαν 23.67 έως 26.8 λοβούς ανά φυτό [188]. Τα βιολογικά λιπάσματα βελτιώνουν τη γονιμοποίηση των ριζών και παρέχουν ευνοϊκό εδαφικό περιβάλλον στη ριζόσφαιρα των φυτών. Επιπλέον, αυξάνουν τη δέσμευση του αζώτου και τη διαλυτοποίηση του φωσφόρου, τα οποία οδηγούν σε αυξημένη ανάπτυξη του αριθμού των λοβών ανά φυτό. Παρόμοια ευεργετική επίδραση των οργανικών και βιολογικών λιπασμάτων στις παραμέτρους ανάπτυξης της τριγωνέλλας καταγράφηκε από τους Biswas & Anusuya, Sahu *et al.* και Nair *et al.* [172, 173, 187, 189].

Στο πείραμά μας, τα χαρακτηριστικά των λοβών (το μήκος λοβών, ο αριθμός των σπόρων ανά λοβό και το βάρος των λοβών ανά φυτό) επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά μόνο από τη λίπανση και όχι από την αλατότητα. Οι μεγαλύτερες τιμές σημειώθηκαν την 3^η χρονιά, με την βιολογική λίπανση και συγκεκριμένα με την BHS (29.8±0.92). Η FYM έδωσε 4.70% λιγότερους σπόρους ανά λοβό σε σύγκριση με την BHS, κάτι το οποίο εξηγείται από το γεγονός ότι η βιολογική λίπανση προάγει την ανάπτυξη των ωφέλιμων μικροοργανισμών του εδάφους. Η βελτιωμένη μικροβιακή δραστηριότητα λόγω των βιολογικών πρακτικών μπορεί να ενισχύσει την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και την παραγωγή λοβών.

Η απόδοση σε βιομάζα επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο από τη λίπανση και όχι από την αλατότητα. Αυτό επιβεβαιώνεται από πολλές μελέτες [127, 128]. Την 3^η χρονιά, η απόδοση σε βιομάζα έφτασε στη μεγαλύτερη τιμή της στην επέμβαση BHS (4650.5±88.72 kg ha⁻¹). Η FYM (4397.9±88.72 kg ha⁻¹) έδωσε 5.43% λιγότερη βιομάζα σε σύγκριση με την BHS ενώ η NPK (4171±88.72 kg ha⁻¹) και η COMP (3669.9±88.72 kg ha⁻¹) έδωσαν 10.31% και 21.09% λιγότερη βιομάζα αντίστοιχα. Οι Zandi *et al.* κατέγραψαν 5402 - 6336 kg ha⁻¹, με την μέγιστη τιμή να καταγράφεται με τη μεγαλύτερη δόση αζώτου [4]. Αντίθετα, οι Patel *et al.* ανέφεραν ότι η τριγωνέλλα δεν ανταποκρίθηκε στις αζωτούχες λιπάνσεις και αυτό μπορεί να οφείλεται στην ψυχανθή φύση της καλλιέργειας [190]. Αυτή η αντίθεση στο αποτέλεσμα μπορεί να οφείλεται στη γονιμότητα του εδάφους. Σε έδαφος με ικανοποιητική γονιμότητα και σε συνδυασμό με τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια μπορεί η λίπανση να μην κρίνεται απαραίτητη για την καλλιέργεια της τριγωνέλλας. Παρόλα αυτά, η μελέτη μας έδειξε ότι μέσω της βιολογικής λίπανσης αυξήθηκε σημαντικά η απόδοση, καθώς βελτιώθηκε η υγεία και η γονιμότητα του εδάφους. Τα βιολογικά λιπάσματα, όπως το κομπόστ και η FYM, και οι καλλιέργειες κάλυψης, παρέχουν μια ποικιλία θρεπτικών συστατικών που υποστηρίζουν όχι μόνο τα φυτά αλλά και τους ωφέλιμους μικροοργανισμούς του εδάφους. Αυτό προάγει τη βελτίωση της δομής του εδάφους, την ανακύκλωση των θρεπτικών συστατικών και τη συνολική γονιμότητα του εδάφους με την πάροδο του χρόνου. Επίσης, τα βιολογικά λιπάσματα απελευθερώνουν τα θρεπτικά τους συστατικά πιο αργά καθώς αποσυντίθενται,

παρέχοντας συνεχή και ισορροπημένη θρέψη στα φυτά. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα ανόργανα λιπάσματα, τα οποία μπορεί να προκαλέσουν ταχεία έκπλυση θρεπτικών στοιχείων και ανισορροπίες στο έδαφος.

Η απόδοση σε σπόρο στη καλλιέργεια τριγωνέλλας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο από τη λίπανση. Το αποτέλεσμα μας αυτό είναι σύμφωνο με Zandi *et al.* που σημείωσαν 1300 - 1468 kg ha⁻¹, με τη μεγαλύτερη τιμή να καταγράφεται με τις περισσότερες μονάδες αζώτου [4]. Στην πρώτη καλλιεργητική περίοδο, οι λιπάνσεις δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, ενώ στην 3^η καλλιεργητική περίοδο, η βιοκυκλική-vegan λίπανση έδωσε τις μεγαλύτερες αποδόσεις. Αντίθετα, οι Godara *et al.* απέδειξαν ότι η συνιστώμενη δόση θρεπτικών ουσιών μέσω ανόργανων λιπασμάτων παρήγαγε σημαντικά υψηλότερη απόδοση σε σχέση με της οργανικές κοπριές (βερμικοπόστ και κοπριά πουλερικών) [191]. Συγκεκριμένα, η εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης θρεπτικών στοιχείων που παρέχονται μέσω χημικών λιπασμάτων είχε ως αποτέλεσμα την υψηλότερη απόδοση σε κόκκους (27.75 q ha⁻¹).

Αντίθετα, στο πείραμά μας, τον 1^ο χρόνο η μέγιστη απόδοση σε σπόρο σημειώθηκε στην επέμβαση της FYM (1645.2±75.67 kg ha⁻¹) ενώ η NPK (1591.8±75.67 Kg ha⁻¹) έδωσε μικρότερη απόδοση σε σπόρο μόλις κατά 3.25% σε σύγκριση με την FYM. Τον 3^ο χρόνο πειράματος, η μέγιστη απόδοση σε σπόρο σημειώθηκε στην επέμβαση BHS (2101.6±68.06 kg ha⁻¹) ενώ η FYM (1994.4±68.06 kg ha⁻¹) έδωσε 5.10% λιγότερο σπόρο σε σύγκριση με την BHS αλλά δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Οι Sahu *et al.* πρότειναν τη συνδυασμένη χρήση βιολογικών και ανόργανων λιπασμάτων, καθώς ο συνδυασμός τους όχι μόνο βελτιώνει τις φυσιολογικές και βιολογικές ιδιότητες του εδάφους, αλλά παρέχει όλα τα θρεπτικά συστατικά σε διαθέσιμη μορφή στα καλλιεργούμενα φυτά. Αυτό, με τη σειρά του, ενισχύει την καλύτερη ανάπτυξη και τελικά τις παραμέτρους απόδοσης και ποιότητας της τριγωνέλλας. Οι Sahu *et al.* κατέγραψαν αποδόσεις 1451 kg ha⁻¹ (μάρτυρας) - 2762 kg ha⁻¹ (συνδυασμός ανόργανης λίπανσης, οργανικής και εφαρμογή ριζόβιων βακτηρίων) [173].

Η βιβλιογραφία αναφέρει ότι το ΒΧΣ είναι από τα γενετικά χαρακτηριστικά μιας ποικιλίας που επηρεάζεται λιγότερο από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το φως, η υγρασία και η θερμοκρασία και καλλιεργητικές πρακτικές [4, 192]. Παρόλα αυτά, το ΒΧΣ επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο από τη λίπανση και όχι από την αλατότητα στην τριγωνέλλα σε αυτήν τη μελέτη. Η λίπανση παρέχει βασικά θρεπτικά συστατικά στη τριγωνέλλα, όπως αζώτο, φώσφορο και κάλιο, καθώς και μικροθρεπτικά συστατικά. Αυτά τα θρεπτικά συστατικά είναι ζωτικής σημασίας για διάφορες φυσιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης των σπόρων. Μια ισορροπημένη παροχή θρεπτικών συστατικών μέσω της βιολογικής λίπανσης σε συνδυασμό με την χαμηλή οργανική ουσία που είχε το έδαφος οδήγησε σε μεγαλύτερους και βαρύτερους σπόρους, συμβάλλοντας έτσι στην αύξηση του ΒΧΣ.

Ο δείκτης HI είναι το ποσοστό της συνολικής φυτικής βιομάζας που συγκομίζεται ως σπόρος. Ένας αυξημένος δείκτης συγκομιδής υποδηλώνει αποτελεσματικότερη κατανομή των πόρων στο συγκομιζόμενο τμήμα του φυτού. Στα αποτελέσματά μας, ο δείκτης HI ήταν άνω του 30, που κρίνεται αρκετά υψηλός [193]. Παρομοίως και οι Sahu *et al.* κατέγραψαν τιμές HI ίσες με 22.43 έως 40.59 [172, 173]. Οι Zuk-Gołaszewska *et*

al. για διαφορετικές λιπάνσεις και αρδεύσεις, σε συνθήκες Πολωνίας, κατέγραψαν τιμές HI ίση με 15.87 έως 19.47 [194]. Αυτό ενδέχεται να συνέβη επειδή η αυξημένη βροχόπτωση παρήγαγε περισσότερη βιομάζα, μειώνοντας έτσι σημαντικά τον δείκτη συγκομιδής. Στην παρούσα έρευνα, ο δείκτης HI επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο από τη λίπανση και όχι από την αλατότητα και μόνο στην 1^η ΚΠ ενώ στις 2 επόμενες ΚΠ δεν επηρεάστηκε από κανένα παράγοντα. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τους Mehta *et al.* [163].

Ο δείκτης TP στην καλλιέργεια τριγωνέλλας αναφέρεται στο ποσοστό της συνολικής ξηράς ουσίας που παράγεται από ένα φυτό και μεταφέρεται από τα όργανα προέλευσης (φύλλα) στο σπόρο. Είναι ένας δείκτης που φανερώνει πόσο αποτελεσματικά ένα φυτό κατανέμει τους πόρους από τα φύλλα στον προορισμό του, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την απόδοση και τη συνολική παραγωγικότητα της καλλιέργειας. Διάφοροι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν το ποσοστό μετατόπισης σε μια καλλιέργεια όπως η ποικιλία [195]. Στο πείραμά μας αποδεικνύεται ότι ο δείκτης TP στην καλλιέργεια τριγωνέλλας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο από τη λίπανση και όχι από την αλατότητα του εδάφους.

Ο δείκτης DME επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο στην 1^η ΚΠ από τη λίπανση, υποδεικνύοντας ότι οι εδαφικές συνθήκες είναι βέλτιστες για την καλλιέργεια τριγωνέλλας και ότι οι δύο τύποι λιπασμάτων εφαρμόστηκαν σωστά, επιτρέποντας στα φυτά να απορροφήσουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά.

Ο δείκτης UAE στην καλλιέργεια τριγωνέλλας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση. Μια υψηλότερη τιμή UAE υποδηλώνει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα όσον αφορά την παραγωγή αποδόσεων καλλιεργειών ανά μονάδα έκτασης και χρόνου [156]. Ο δείκτης αυτός μπορεί να βοηθήσει τους αγρότες, τους ερευνητές και τους υπεύθυνους χάραξης πολιτικής να αξιολογήσουν την αποτελεσματικότητα διαφορετικών πρακτικών διαχείρισης καλλιεργειών, ποικιλιών ή περιβαλλοντικών συνθηκών για την επίτευξη βέλτιστης παραγωγής σιτηρών εντός συγκεκριμένων περιορισμών πόρων.

2.5 Συμπεράσματα

Η εκβλάστηση των φυτών τριγωνέλλας είναι ένα κρίσιμο στάδιο για την εγκατάσταση των φυτών, όπως προκύπτει από διάφορες οικοφυσιολογικές μελέτες. Αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν ότι παράγοντες όπως το φως, η θερμοκρασία, το pH, το οσμωτικό δυναμικό, η αλατότητα και το βάθος φύτευσης είναι σημαντικοί για τη βλάστηση των σπόρων. Στο πείραμα που διεξήχθη, διαπιστώθηκε ότι η λίπανση επηρέασε την εκβλάστηση των φυτών, ενώ η αλατότητα δεν είχε σημαντική επίδραση. Αυτό επιβεβαιώνει την ανθεκτικότητα της τριγωνέλλας στην αλατότητα. Επίσης, η επαρκής υγρασία είναι απαραίτητη για την εκβλάστηση των σπόρων, κάτι που φάνηκε από την αύξηση του αριθμού των φυτών ανά m², λόγω των υψηλών βροχοπτώσεων. Επιπλέον, η λίπανση, ειδικά η βιολογική, βελτίωσε τη δομή του εδάφους και την ικανότητα συγκράτησης νερού, προωθώντας έτσι την εκβλάστηση.

Η ανάπτυξη των φυτών τριγωνέλλας επηρεάζεται από τη διαθεσιμότητα βασικών θρεπτικών συστατικών όπως το άζωτο, ο φώσφορος και το κάλιο. Η λίπανση αποδείχθηκε ότι επηρέασε σημαντικά το ύψος των φυτών στις τρεις χρονιές του πειράματος, με τη μέση τιμή να κυμαίνεται από 34 έως 75 cm. Παρόλο που οι καιρικές

συνθήκες δεν επηρέασαν σημαντικά την ανάπτυξη των φυτών λόγω της ομαλότητας τους, η λίπανση ήταν καθοριστική για την ανάπτυξη των φυτών.

Ο αριθμός των βλαστών ανά φυτό επηρεάστηκε τόσο από τη λίπανση όσο και από την αλατότητα. Η αλατότητα μείωσε τον αριθμό των βλαστών λόγω οσμωτικής ανισορροπίας. Ο αριθμός των φύλλων ήταν υψηλότερος με τις βιολογικές λιπάνσεις που απελευθερώνουν θρεπτικά συστατικά σταδιακά, αντίθετα με τις ανόργανες λιπάνσεις που τα απελευθερώνουν άμεσα.

Οι δείκτες ανάπτυξης, όπως ο AGR και ο NAR, επηρεάστηκαν από τη λίπανση. Οι βιολογικές λιπάνσεις παρουσίασαν υψηλότερο AGR, ενώ ο NAR μειώθηκε με την ηλικία της καλλιέργειας λόγω της αμοιβαίας σκίασης των φύλλων. Ο LA και ο LAR επηρεάστηκαν επίσης σημαντικά από τη λίπανση. Η βιολογική λίπανση προώθησε την ανάπτυξη των φύλλων και τη φωτοσύνθεση, ενώ η αλατότητα δεν είχε σημαντική επίδραση.

Ο RGR της τριγωνέλλας επηρεάστηκε την 3^η ΚΠ από την αλληλεπίδραση λίπανσης και αλατότητας. Ο LAI και ο LAD επηρεάστηκαν θετικά από τη λίπανση, με τις βιολογικές λιπάνσεις να αποδεικνύονται ευεργετικές μακροπρόθεσμα.

Οι συντελεστές απόδοσης, όπως ο αριθμός ανθών, λοβών και το βάρος των λοβών ανά φυτό, επηρεάστηκαν από τη λίπανση, ενώ η αλατότητα δεν είχε σημαντική επίδραση. Η απόδοση σε βιομάζα επηρεάστηκε επίσης από τη λίπανση, με τις βιολογικές λιπάνσεις να παρέχουν καλύτερα αποτελέσματα. Η απόδοση σε σπόρο επηρεάστηκε από τη λίπανση, με τις βιολογικές πρακτικές να υπερέρχουν μακροπρόθεσμα.

Όσον αφορά τις διαφορές μεταξύ βιοκυκλικού χουμοχώματος όσο και κοπριάς, και τα δύο υλικά έχουν πολύτιμα οργανικά συστατικά που συμβάλλουν στη γονιμότητα του εδάφους και στην ανάπτυξη των φυτών. Το βιοκυκλικό χουμόχωμα παρέχει μακροπρόθεσμη βελτίωση του εδάφους, βελτίωση της δομής και συγκράτησης νερού, σταδιακή απελευθέρωση θρεπτικών συστατικών και προώθηση της μικροβιακής δραστηριότητας. Αντίθετα, η κοπριά προσφέρει άμεσα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά, βελτιώνει τη γονιμότητα και την υγεία του εδάφους, και μπορεί να προκαλέσει ταχεία έκπλυση θρεπτικών συστατικών.

Συνολικά, η χρήση βιολογικών λιπασμάτων μπορεί να συμβάλει στην αειφορία και στη βελτίωση των καλλιεργειών τριγωνέλλας. Οι βιολογικές πρακτικές παρουσίασαν σημαντικά πλεονεκτήματα στην ανάπτυξη και παραγωγικότητα των φυτών.

2° Πείραμα

Αξιολόγηση της βιολογικής και ανόργανης λίπανσης με την χρήση δεικτών αζώτου



3 Αξιολόγηση της βιολογικής και ανόργανης λίπανσης με τη χρήση δεικτών αζώτου

Μηδενική υπόθεση

H0: Η χρήση βιολογικής λίπανσης δεν έχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην επίδραση των δεικτών αζώτου στις καλλιέργειες τριγωνέλλας σε σύγκριση με την χρήση ανόργανης λίπανσης.

3.1 Εισαγωγή

Το άζωτο είναι ένα κύριο θρεπτικό συστατικό που απαιτείται για υψηλές αποδόσεις των γεωργικών καλλιεργειών [196]. Πριν από τη διαθεσιμότητα των εμπορικών λιπασμάτων αζώτου, οι ανάγκες λίπανσης στα γεωργικά συστήματα καλύπτονταν από την αμειψισπορά, με καλλιέργειες που δεσμεύουν το άζωτο όπως τα ψυχανθή, και με τη χρήση κοπριάς. Μετά τον Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο, όταν τα αζωτούχα λιπάσματα έγιναν εύκολα διαθέσιμα και γενικά αποδεκτά, η αντάγκη για τις τεχνικές αυτές μειώθηκε σημαντικά [197]. Έκτοτε, η χρήση εμπορικών λιπασμάτων και άλλων συνθετικών χημικών ουσιών υιοθετήθηκε ευρέως από τη γεωργική βιομηχανία.

Σήμερα, μετά από χρόνια χρήσης συνθετικών λιπασμάτων, έχει σημειωθεί υποβάθμιση της υγείας των εδαφών και αύξηση του κινδύνου νιτροποίησης. Οι συγκεντρώσεις νιτρικών αλάτων στα υπόγεια ύδατα έχουν αυξηθεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, και η ευρέως διαδεδομένη χρήση των εμπορικών αζωτούχων λιπασμάτων έχει ενοχοποιηθεί ως αιτιολογικός παράγοντας. Το άζωτο σε μορφή NO_3^- είναι η πιο κινητή και ευαίσθητη μορφή αζώτου στο έδαφος, γεγονός που το καθιστά άμεσα διαθέσιμο για απορρόφηση από τις ρίζες των φυτών. Ωστόσο, αυτή η μορφή είναι επίσης η πιο ευαίσθητη στη μεταφορά στα υπόγεια ύδατα, προκαλώντας υποβάθμιση της ποιότητας του νερού του υδροφόρου ορίζοντα [32].

Παγκοσμίως, η ικανότητα ανάκτησης του αζώτου στην παραγωγή σιτηρών (ρύζι, σιτάρι, σόργο, κεχρί, κριθάρι [*Hordeum vulgare* L.], καλαμπόκι, βρώμη [*Avena sativa* L.] και σίκαλη [*Secale cereale* L.]) είναι περίπου 33%, με αποτέλεσμα μια ετήσια απώλεια κόστους λιπασμάτων αζώτου περίπου 15.9 δισεκατομμύρια δολάρια. Ωστόσο, τα χημικά λιπάσματα κρίνονται ως σημαντικές συμπληρωματικές πηγές για μεγιστοποίηση της οικονομικής απόδοσης των καλλιεργειών. Οι κύριοι λόγοι ανεπάρκειας αζώτου στις καλλιέργειες είναι η απώλειά του μέσω της έκπλυσης, της αεριοποίησης και της απορρόφησής του από τα ζιζάνια.

Οι επιστήμονες μισό αιώνα πριν έδιναν έμφαση στην ενημέρωση των αγροτών σχετικά με την ευεργετική χρήση των ανόργανων λιπασμάτων, ενώ σήμερα επικεντρώνονται στη μείωση της χρήσης αυτών των λιπασμάτων και στη χρήση εναλλακτικών λύσεων. Η βιολογική γεωργία προωθείται ως μία βιώσιμη και φιλική προς το περιβάλλον πρακτική καλλιέργειας. Οπότε, η ανάγκη για βιολογικά προϊόντα θρέψης έχει αυξηθεί. Η μετάβαση από τα συμβατικά καλλιεργητικά συστήματα σε βιολογικά προωθεί αλλαγές στη γονιμότητα του εδάφους και κατ' επέκταση στην ανάπτυξη των φυτών [40]. Επίσης, ένας από τους στόχους της βιολογικής γεωργίας είναι να μειώσει την πιθανότητα υποβάθμισης των υπόγειων υδάτων από νιτρικά άλατα [54, 198].

Το άζωτο έχει αναγνωριστεί ως μια από τις πέντε κορυφαίες αναδυόμενες απειλές που αντιμετωπίζει η ανθρωπότητα και ο πλανήτης λόγω του αντίκτυπού του στο κλίμα [199], το περιβάλλον και τη δημόσια υγεία, και αποδίδεται στην παγκόσμια εξάρτηση από το αντιδραστικό άζωτο για την παραγωγή τροφίμων [200]. Ως εκ τούτου, νέες πολιτικές και αποφάσεις πρέπει να υιοθετηθούν για τη βιώσιμη διαχείριση του αζώτου. Για τη διασφάλιση της επιτυχίας αυτών των αποφάσεων, είναι χρήσιμο να εντοπιστούν και να παρακολουθηθούν οι δείκτες αζώτου, προκειμένου να αναπτυχθούν πρακτικές διαχείρισης μείωσης της ρύπανσης από το άζωτο. Ένας συχνά χρησιμοποιούμενος δείκτης είναι η αποδοτικότητα χρήσης αζώτου (Nitrogen Use Efficiency - NUE), καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για περιβαλλοντικούς και οικονομικούς στόχους, όπως η ελαχιστοποίηση των απωλειών θρεπτικών συστατικών και των αρνητικών επιπτώσεων στο νερό, τον αέρα και τα οικοσυστήματα, καθώς και στη μείωση του κόστους που σχετίζεται με την υπερβολική χρήση λιπασμάτων [201].

Υπάρχουν πολλές προσεγγίσεις για τον υπολογισμό της αποδοτικότητας χρήσης αζώτου. Στη βιβλιογραφία υπάρχει ένα ευρύ φάσμα υπολογισμών για την αποδοτικότητα χρήσης αζώτου, αναγνωρίζοντας ότι διαφορετικοί δείκτες NUE έχουν διακριτές λειτουργίες. Η πολυπλοκότητα του δείκτη NUE έγκειται στις ποικίλες πηγές αζώτου (ανόργανα και οργανικά λιπάσματα, οργανική ύλη εδάφους, βιολογική δέσμευση αζώτου), στην αλληλεπίδραση μεταξύ της διαθεσιμότητάς του, στον μετασχηματισμό, στην αποθήκευση, στη μετακίνηση και στις απώλειες λόγω εδαφικών συνθηκών και στους γονοτύπους καλλιεργειών [202, 203]. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της αποδοτικότητας χρήσης αζώτου απαιτείται λοιπόν πλήρης κατανόηση των παραγόντων και επεμβάσεων, των χωρικών και χρονικών ορίων και της προβλεπόμενης τελικής χρήσης τους [204]. Η βιβλιογραφία, σχετικά με τη βελτίωση της αποδοτικότητας του αζώτου στις καλλιέργειες, επικεντρώνεται κυρίως στις γεωργικές διαχειρίσεις ή στις καινοτόμες λιπάνσεις ή στις καινοτομίες για τη βελτίωση των φυτών [203, 205-208]. Το άζωτο λοιπόν κατέχει μια μοναδική θέση μεταξύ των βασικών θρεπτικών συστατικών για τις καλλιέργειες, λόγω της ουσιαστικής ανάγκης των φυτών σε αυτό και των μεγάλων απωλειών του στα συστήματα εδάφους-φυτών. Κάτω από αυτές τις καταστάσεις, η αύξηση της αποδοτικότητας χρήσης αζώτου και η σωστή διαχείριση των αζωτούχων λιπασμάτων μπορούν να συμβάλουν σημαντικά στη διατήρηση της ποιότητας του αέρα και του νερού και στη μεγιστοποίηση της ποιότητας των φυτικών προϊόντων [209].

3.1.1 Σκοπός μελέτης

Η σύγχρονη γεωργία απαιτεί αποτελεσματικές, βιώσιμες και περιβαλλοντικά ορθές πρακτικές διαχείρισης. Η αύξηση των αποδόσεων των καλλιεργειών ανά μονάδα επιφάνειας μέσω της χρήσης κατάλληλων πρακτικών διαχείρισης αζώτου έχει γίνει βασικό συστατικό της σύγχρονης φυτικής παραγωγής. Η υιοθέτηση κατάλληλων στρατηγικών διαχείρισης των αζωτούχων λιπασμάτων μπορεί να εξισορροπήσει την παροχή αζώτου που απαιτείται για τη βέλτιστη παραγωγή καλλιεργειών, ενώ ελαχιστοποιεί τις πιθανές απώλειες στο περιβάλλον.

Η μελέτη έχει ως σκοπό την αξιολόγηση της βιολογικής και ανόργανης λίπανσης μέσω της χρήσης δεικτών αζώτου. Στοχεύει να διερευνήσει την αποδοτικότητα χρήσης αζώτου στην καλλιέργεια τριγωνέλλας, να εντοπίσει τις επιπτώσεις των διαφορετικών τύπων λιπασμάτων στην υγεία των εδαφών, και να αναπτύξει πρακτικές διαχείρισης που θα μειώσουν τη ρύπανση από το άζωτο, διασφαλίζοντας παράλληλα τη βιωσιμότητα και την οικονομική απόδοση των γεωργικών συστημάτων. Επιπλέον, σκοπός της μελέτης είναι να διερευνηθεί αν η βιολογική γεωργία, η οποία συχνά επικρίνεται για χαμηλές αποδόσεις, μπορεί να προσφέρει καλύτερη ποιότητα και αξιοποίηση του αζώτου στα φυτά τριγωνέλλας όταν εφαρμόζονται βιολογικές λιπάνσεις.

3.2 Υλικά και μέθοδοι

3.2.1 Σχεδιασμός πειράματος

Ο σχεδιασμός του πειράματος παρουσιάζεται με λεπτομέρεια στο Κεφάλαιο 2.2.2.

3.2.2 Μετρήσεις στο έδαφος

Οι μετρήσεις στο έδαφος που πραγματοποιήθηκαν ήταν:

1. Το ολικό εδαφικό άζωτο (Soil Total Nitrogen, STN), που μετρήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο ISO 11261:1995 [210].
2. Η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (Cation exchange capacity, CEC), που προσδιορίστηκε σύμφωνα με το ISO 11260: 1994 [211].
3. Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε οργανική ύλη (Soil Organic Matter, SOM), που πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Walkley Black [212].

3.2.3 Δείκτες βασισμένοι στη λίπανση

3.2.3.1 Συντελεστής Μερικής παραγωγικότητας σπόρου (Partial-factor Seed Productivity - PFPseed)

Ο δείκτης PFPseed είναι η έκφραση της απόδοσης ανά μονάδα εφαρμοζόμενου λιπάσματος αζώτου. Τα πλεονεκτήματα του δείκτη είναι ότι είναι φιλικός προς τους καλλιεργητές (Εξίσωση 3-1). Επίσης, είναι κατάλληλος για σύγκριση πρακτικών διαχείρισης όταν εστιάζεται σε έναν μεμονωμένο τύπο καλλιέργειας. Οι περιορισμοί που παρουσιάζει ο συγκεκριμένος δείκτης είναι ότι δεν λαμβάνει υπόψη το εδαφικό άζωτο, οπότε περιορίζονται οι συγκρίσεις τοποθεσιών γιατί παραλείπεται η αξιολόγηση του εδαφικού αζώτου. Ο δείκτης δεν λαμβάνει υπόψη άλλους παράγοντες του εδάφους που μπορεί να περιορίζουν την απόκριση στο άζωτο, όπως η έλλειψη άλλων θρεπτικών συστατικών, η κακή δομή του εδάφους ή η παρουσία τοξικών ουσιών [213].

$$PFP_{seed} = \frac{Seed\ yield_{fert} \left(\frac{kg}{ha} \right)}{Fertilizer\ N \left(\frac{kg}{ha} \right)} \quad 3-1$$

Όπου $Seed\ yield_{fert}$ είναι η απόδοση σε σπόρους σε καθεστώς λίπανσης σε $kg\ ha^{-1}$, και $Fertilizer\ N$ είναι η ποσότητα του αζώτου που εφαρμόστηκε ως λίπασμα σε $kg\ ha^{-1}$.

3.2.3.2 Συντελεστής Μερικής παραγωγικότητας βιομάζας (*Partial-factor Biomass Productivity - PFP_{biomass}*)

Ο Συντελεστής Μερικής παραγωγικότητας βιομάζας υπολογίζεται με την Εξίσωση 3-2.

$$PFP_{biomass} = \frac{Biomass\ yield_{fert} \left(\frac{kg}{ha} \right)}{Fertilizer\ N \left(\frac{kg}{ha} \right)} \quad 3-2$$

Όπου $Biomass\ yield_{fert}$ είναι η απόδοση βιομάζας που έχει δεχτεί λίπανση, σε $kg\ ha^{-1}$.

3.2.3.3 Δείκτης ισοζυγίου έντασης αζώτου (*N Balance Intensity- NBI*)

Ο δείκτης NBI ερμηνεύεται ως η διαφορά μεταξύ του αζωτούχου λιπάσματος που εφαρμόζεται και του αζώτου που αφαιρείται ως απόδοση (Εξίσωση 3-3). Ο δείκτης αυτός δείχνει εάν υπάρχει συσσώρευση ή μείωση του αζώτου στο έδαφος σε ένα προκαθορισμένο χρονικό πλαίσιο (δηλαδή καλλιεργητική περίοδο). Ωστόσο, δεν λαμβάνει υπόψη το υπάρχον εδαφικό άζωτο [214].

$$NBI = Seed\ N\ yield \left(\frac{kg}{ha} \right) - Fertilizer\ N \left(\frac{kg}{ha} \right) \quad 3-3$$

Όπου $Seed\ N\ yield$ υπολογίζεται με τον πολλαπλασιασμό της απόδοσης σπόρου ($kg\ ha^{-1}$) με την περιεκτικότητα των σπόρων σε άζωτο (%) και μετριέται σε $kg\ N\ ha^{-1}$

Όσο πιο κοντά είναι η διαφορά στο μηδέν, τόσο μικρότερη είναι η συσσώρευση αζώτου στο σύστημα και οι θετικές τιμές πιθανόν αντικατοπτρίζουν μείωση της γονιμότητας του εδάφους.

3.2.3.4 Δείκτης αποδοτικότητας χρήσης αζώτου καλλιέργειας (*NUEc_{crop}*)

Ο δείκτης $NUEc_{crop}$ ερμηνεύεται ως η έκφραση της αζωτούχας λίπανσης που εφαρμόστηκε και αξιοποιήθηκε για την απόδοση σε άζωτο των σπόρων ως προς ανά μονάδα εφαρμοζόμενου λιπάσματος αζώτου (Εξίσωση 3-4). Οι περιορισμοί του δείκτη NUE είναι ότι δεν λαμβάνει υπόψη το εδαφικό άζωτο ή το ανοργανοποιημένο άζωτο κατά την περίοδο ανάπτυξης [203].

$$NUEc_{crop} = \frac{Seed\ N\ Yield_{fert} \left(\frac{kg}{ha} \right)}{Fertilizer\ N \left(\frac{kg}{ha} \right)} \quad 3-4$$

Τιμές μεγαλύτερες και μικρότερες της μονάδας υποδηλώνουν αφαίρεση και πλεόνασμα αζώτου, αντίστοιχα.

3.2.3.5 Συντελεστής μερικού ισοζυγίου αζώτου *Partial N Balance - PNB*)

Ο δείκτης PNB ερμηνεύεται ως η έκφραση της περιεκτικότητας του αζώτου στο φυτό ανά μονάδα εφαρμοζόμενου λιπάσματος αζώτου (Εξίσωση 3-5). Τα μειονεκτήματα του δείκτη PNB είναι ότι δεν λαμβάνει υπόψη το υπάρχον εδαφικό άζωτο και είναι εξαιρετικά μεταβλητός δείκτης αξιοποίησης αζώτου σε

βραχυπρόθεσμες δοκιμές λόγω διακυμάνσεων στο άζωτο του εδάφους μέσω ανοργανοποίησης και ακινητοποίησης αζώτου [213].

$$PNB = \frac{Plant N_{fert}}{Fertilizer N} \frac{\left(\frac{kg}{ha}\right)}{\left(\frac{kg}{ha}\right)} \quad 3-5$$

Όπου $Plant N_{fert/control}$ είναι ο πολλαπλασιασμός ξηρής ουσίας φυτών (φύλλα & στελέχη) $kg ha^{-1}$ με την περιεκτικότητα φυτών σε άζωτο (%).

Τιμές του δείκτη PNB μεγαλύτερες από μονάδα υποδεικνύουν εξάντληση του εδάφους, ενώ τιμές του δείκτη μικρότερες από μονάδα υποδεικνύουν υπερβολική εφαρμογή αζώτου.

3.2.3.6 Αγρονομική Αποδοτικότητα (Agronomic Efficiency - AE)

Ο δείκτης AE ερμηνεύεται ως η συμβολή του λιπάσματος αζώτου στην απόδοση, σε σύγκριση με το μάρτυρα (Εξίσωση 3-6). Είναι ένας χρήσιμος δείκτης όταν εστιάζουμε στο οικονομικό τμήμα των φυτών (απόδοση) και υποδεικνύει το σχετικό όφελος του λιπάσματος σε σχέση με το άζωτο του εδάφους. Οι βραχυπρόθεσμες δοκιμές μπορεί να υποτιμήσουν την αγρονομική αποδοτικότητα παραβλέποντας τα υπολειμματικά αποτελέσματα των επαναλαμβανόμενων εφαρμογών λιπάσματος. Επίσης ο δείκτης AE δεν είναι κατάλληλος για δοκιμές όπου δεν υπάρχει μάρτυρας [213].

$$AE = \frac{Yield_{fert} - Yield_{control}}{Fertilizer N} \frac{\left(\frac{kg}{ha}\right)}{\left(\frac{kg}{ha}\right)} \quad 3-6$$

3.2.3.7 Αποδοτικότητα ανάκτησης αζώτου (Fertilizer-N Recovery Efficiency - REfertN)

Ο δείκτης REfertN ερμηνεύεται ως το ποσοστό του αζώτου από το λίπασμα που απορροφάται από το φυτό, λαμβάνοντας υπόψη τα επίπεδα εδαφικού αζώτου. Επίσης, αναφέρεται μερικές φορές ως φαινόμενη ανάκτηση (Εξίσωση 3-7). Είναι σημαντικός δείκτης γιατί λαμβάνει υπόψη το εδαφικό άζωτο και είναι χρήσιμος για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης των καλλιεργειών στο εφαρμοσμένο λίπασμα. Ωστόσο, παρουσιάζει δυσκολία στη χρήση μακροχρόνιων δοκιμών εάν τα αποθέματα εδαφικού αζώτου εξαντληθούν. Επίσης, είναι χρήσιμος μόνο σε δοκιμές με υποτεμάχια μάρτυρα (που δεν έχει εφαρμοστεί λίπανση) [213].

$$REfertN = \frac{Plant N_{fert} - Plant N_{control}}{Fertilizer N} \frac{\left(\frac{kg}{ha}\right)}{\left(\frac{kg}{ha}\right)} * 100 \quad 3-7$$

3.2.4 Δείκτες βασισμένοι στο φυτό

3.2.4.1 Δείκτης φυσιολογικής απόδοσης (Physiological Efficiency- PE)

Ο δείκτης PE ερμηνεύεται ως η συμβολή του εφαρμοζόμενου λιπάσματος από τους φυτικούς ιστούς στην απόδοση (Εξίσωση 3-8) και πλεονεκτεί γιατί λαμβάνει υπόψη το εδαφικό άζωτο. Είναι χρήσιμος για την αναγνώριση φυτών που έχουν ανώτερη ικανότητα στην παραγωγή απόδοσης ανά μονάδα διαθέσιμου αζώτου. Οι περιορισμοί του δείκτη PE είναι ότι δεν είναι κατάλληλος για μακροχρόνιες δοκιμές, καθώς η εξάντληση του εδαφικού αζώτου σε μάρτυρα (όπου δεν έχει εφαρμοστεί λίπανση) μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα υψηλά επίπεδα αποδοτικότητας χρήσης αζώτου. Επιπρόσθετα δεν είναι κατάλληλος για δοκιμές χωρίς υποτεμάχια με μάρτυρα [213].

$$PE = \frac{Yield_{fert} - Yield_{control}}{Plant N_{fert} - Plant N_{control}} \frac{\left(\frac{kg}{ha}\right)}{\left(\frac{kg}{ha}\right)} \quad 3-8$$

3.2.4.2 Δείκτης αποδοτικής αξιοποίησης αζώτου (N Utilization Efficiency - NUtE)

Η ερμηνεία του δείκτη NUtE είναι παρόμοια με το δείκτη PE, χωρίς όμως να λαμβάνει υπόψη το υπόβαθρο αζώτου. Είναι ένας χρήσιμος δείκτης για τον εντοπισμό φυτών που έχουν ανώτερη ικανότητα να παράγουν συστατικά απόδοσης σε σχέση με το άζωτο στο φυτικό ιστό (Εξίσωση 3-9). Ωστόσο, δεν λαμβάνει υπόψη το εδαφικό άζωτο [205].

$$NUtE = \frac{Yield}{Plant N} \frac{\left(\frac{kg}{ha}\right)}{\left(\frac{kg}{ha}\right)} \quad (9) \quad 3-9$$

3.2.4.3 Δείκτης εσωτερικής αποδοτικότητας (Internal Efficiency - IE)

Ο δείκτης IE είναι το κλάσμα του αζώτου στο φυτικό ιστό και στα συστατικά απόδοσης (Εξίσωση 3-10). Είναι χρήσιμος για τον εντοπισμό φυτών με υψηλή μετατόπιση αζώτου στην οικονομική του συνιστώσα (απόδοση). Ωστόσο, δεν λαμβάνει υπόψη το εδαφικό άζωτο και τα αποτελέσματα μπορεί να οδηγούν σε σύγχυση για τη πραγματική κατάσταση των θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος. Οπότε, υψηλές τιμές IE μπορεί να υποδηλώνουν ανεπάρκεια αζώτου παρά την αυξημένη αποδοτικότητα χρήσης αζώτου [213].

$$IE = \frac{Seed N Yield_{fert}}{Plant N_{fert}} \frac{\left(\frac{kg}{ha}\right)}{\left(\frac{kg}{ha}\right)} \quad (10) \quad 3-10$$

3.2.4.4 Δείκτης συγκομιδής αζώτου (N Harvest Index - NHI)

Ο δείκτης NHI είναι ο ίδιος με τον δείκτη IE, αλλά εκφράζεται ως ποσοστό (Εξίσωση 3-11) [205].

$$NHI = \frac{Seed\ N\ yield\ \left(\frac{kg}{ha}\right)}{Plant\ N\ \left(\frac{kg}{ha}\right)} * 100 \quad 3-11$$

3.2.4.5 Δείκτης αποδοτικότητας χρήσης αζώτου εδάφους (NUE_{soil})

Ο δείκτης NUE_{soil} ερμηνεύεται ως η παραγωγή βιομάζας ανά μονάδα διαθέσιμου αζώτου (Εξίσωση 3-12). Ο δείκτης NUE_{soil} έχει το πλεονέκτημα ότι μπορεί να εντοπίσει καλλιέργειες με δυνατότητα παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων βιομάζας ανά μονάδα διαθέσιμου αζώτου. Ταυτόχρονα, όμως, έχει τους εξής περιορισμούς [205]:

- Οι μετρήσεις ανόργανου αζώτου του εδάφους συνήθως συλλέγονται πριν από τη φύτευση, καταγράφοντας έτσι μόνο ένα στιγμιότυπο του διαθέσιμου αζώτου καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου.
- Έχει περιορισμένη εφαρμογή σε μεγάλης κλίμακας χωρικές και χρονικές μετρήσεις, καθώς η ανταπόκριση των καλλιεργειών στο εδαφικό άζωτο μπορεί να επηρεάζεται από άλλους παράγοντες.

$$NUE_{soil} = \frac{Plant\ \left(\frac{kg}{ha}\right)}{Fertilizer\ N + Soil\ N\ \left(\frac{kg}{ha}\right)} \quad 3-12$$

3.2.5 Δείκτες βασισμένοι στο έδαφος

3.2.5.1 Δείκτης αποδοτικότητας πρόσληψης αζώτου (N Uptake Efficiency - NU_{pE})

Ο δείκτης NU_{pE} ερμηνεύεται ως το ποσοστό του διαθέσιμου εδαφικού αζώτου που χρησιμοποιείται από το φυτό (Εξίσωση 3-13). Θεωρείται επίσης ως η φαινομενική αποδοτικότητα ανάκτησης του εφαρμοζόμενου αζώτου. Ο δείκτης NU_{pE} μπορεί να υποδείξει ευθυγράμμιση μεταξύ της διαθεσιμότητας του αζώτου και της ζήτησής του από την καλλιέργεια. Επιπλέον, ο δείκτης NU_{pE} διευκολύνει τις συγκρίσεις του δυναμικού απόδοσης μεταξύ διαφορετικών γονότυπων καλλιεργειών [205].

$$NU_{pE} = \frac{Plant\ N\ \left(\frac{kg}{ha}\right)}{Fertilizer\ N + Soil\ N\ \left(\frac{kg}{ha}\right)} * 100 \quad 3-13$$

3.2.5.2 Δείκτης αποδοτικότητας αζώτου εσοδείας (NUE_{yield})

Ο δείκτης NUE_{yield} ερμηνεύεται ως η συμβολή του εδαφικού αζώτου στην απόδοση αζώτου (Εξίσωση 3-14). Δεν επιτρέπει τη σύγκριση μεταξύ εκμεταλλεύσεων, καθώς ποικίλουν οι εδαφολογικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Ένας ακόμη περιορισμός της χρήσης του δείκτη NUE_{yield} είναι ότι η δυνητική απόδοση επηρεάζεται από την χαμηλή γονιμότητα του εδάφους [215].

$$NUE_{yield} = NU_{pE} * NU_{tE} \quad (14) \quad 3-14$$

3.2.5.3 Ισοζύγιο αποδοτικότητας χρήσης αζώτου ($NUE_{balance}$)

Ο δείκτης $NUE_{balance}$ είναι ο λόγος του αζώτου που απορροφάται από το σύστημα ως προς το συνολικό άζωτο που εφαρμόζεται. Ο δείκτης αυτός καταγράφηκε από τους Martinez-Feria *et al.*, και αρχικά αναφερόταν ως NUE_{soil} (Εξίσωση 3-15) [203].

$$NUE_{balance} = \frac{N_{outputs}}{N_{inputs}} \quad 3-15$$

Όπου N_{inputs} είναι το εφαρμοζόμενο άζωτο (οι μονάδες αζώτου ήταν ίδια για όλες τις επεμβάσεις) και $N_{outputs}$ είναι η απορρόφηση αζώτου από τα ανώτερα μέρη και από τους σπόρους ($kg\ ha^{-1}$).

Ο δείκτης $NUE_{balance}$ υποδεικνύει εάν το έδαφος είναι καθαρός αποδέκτης (τιμή μικρότερη της μονάδας) ή πηγή (τιμή μεγαλύτερη της μονάδας). Όταν η τιμή προσεγγίζει τη μονάδα, τότε τα αποθέματα του εδάφους μπορεί να θεωρηθεί σε ισορροπία.

3.2.6 Δείκτες βασισμένοι στην οικολογία

3.2.6.1 Παραγωγικότητα Αζώτου (*Nitrogen Productivity - NP*)

Ο δείκτης NP είναι ο λόγος του σχετικού ρυθμού ανάπτυξης (RGR) προς τη συγκέντρωση του αζώτου στους φυτικούς ιστούς (Εξίσωση 3-16). Ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα του δείκτη NP είναι ότι παρέχει ένα στιγμιότυπο της άμεσης αποδοτικότητας χρήσης του αζώτου του φυτού. Ωστόσο, είναι λιγότερο χρήσιμος για την παροχή πληροφοριών σχετικά με τη μακροπρόθεσμη απόδοση της καλλιέργειας [216].

$$NP = \frac{RGR}{Plant\ N} \quad (16) \quad 3-16$$

3.2.6.2 Οικολογική αποδοτικότητα χρήσης αζώτου ($NUE_{ecology}$)

Ο δείκτης $NUE_{ecology}$ είναι το γινόμενο της παραγωγικότητας του αζώτου με το μέσο χρόνο παραμονής του αζώτου στο φυτό (Εξίσωση 3-17). Ο δείκτης $NUE_{ecology}$ λαμβάνει υπόψη τη χρονική διάσταση της αποδοτικότητας της χρήσης αζώτου και το μέσο χρόνο που παραμένει το άζωτο στο φυτό πριν συγκομιστεί [217-219].

$$NUE_{ecology} = NP * MRT \quad 3-17$$

Όπου NP είναι η παραγωγικότητα αζώτου και MRT είναι ο μέσος χρόνος παραμονής του αζώτου στην καλλιέργεια.

3.2.7 Στατιστική ανάλυση

Βλέπε Κεφάλαιο 2.2.6.

3.2.8 Μετρήσεις στο έδαφος

3.2.8.1 Εδαφικό άζωτο (STN)

Στην 1^η ΚΠ, το εδαφικό άζωτο επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 3-1). Η μέγιστη τιμή STN καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (2.41 ± 0.11) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (0.99 ± 0.11). Η επέμβαση FYM (2.13 ± 0.11) κατέγραψε 13.15% μικρότερη τιμή STN σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ οι επεμβάσεις NPK (1.96 ± 0.11) και COMP (1.81 ± 0.11) κατέγραψαν αντίστοιχα 22.96% και 33.15% μικρότερες τιμές (Πίνακας 3-1). Στη 2^η ΚΠ, ο παράγοντας που επηρέασε στατιστικά σημαντικά το εδαφικό άζωτο ήταν η λίπανση ($p < 0.001$) και η αλληλεπίδραση λίπανσης και αλατότητας ($p < 0.01$). Η μέγιστη τιμή STN καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (2.45 ± 0.06) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (1.13 ± 0.06). Στην 3^η ΚΠ, ο παράγοντας που επηρέασε στατιστικά σημαντικά το εδαφικό άζωτο ήταν η λίπανση ($p < 0.001$) και η αλληλεπίδραση λίπανσης και αλατότητας ($p < 0.05$). Η FYM (2.34 ± 0.07) παρουσίασε 8.51% μικρότερη τιμή STN σε σύγκριση με την BHS, ενώ οι επεμβάσεις NPK (2.17 ± 0.07) και COMP (2.10 ± 0.07) παρουσίασαν αντίστοιχα 17.51% και 21.43% μικρότερες τιμές σε σύγκριση με την BHS.

3.2.8.2 Ικανότητα Ανταλλαγή προϊόντων (CEC)

Η CEC επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο από τον παράγοντα λίπανση ($p < 0.001$) σε όλες τις καλλιεργητικές περιόδους. Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για την CEC σημειώθηκε με την εφαρμογή BHS (19.83 ± 0.40) και η ελάχιστη στην C (15.33 ± 0.40). Η FYM (18.16 ± 0.40) παρουσίασε κατά 9.20% μειωμένη τιμή CEC σε σύγκριση με την BHS, ενώ η NPK (17.50 ± 0.40) και η COMP (16.83 ± 0.40) παρουσίασαν αντίστοιχα 13.31% και 17.83% μικρότερη τιμή (Πίνακας 3-1). Στη 2^η ΚΠ, στην COMP (18.66 ± 0.31) και στην FYM (18.33 ± 0.31) καταγράφηκαν αντίστοιχα 7.18% και 9.11% μειωμένες τιμές CEC σε σύγκριση με την BHS, ενώ στην NPK (17.33 ± 0.31) καταγράφηκε 15.41% μικρότερη τιμή CEC σε σύγκριση με την BHS. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για την CEC καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (19.83 ± 0.30) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (15.66 ± 0.30). Οι επεμβάσεις COMP (18.33 ± 0.30) και FYM (18.33 ± 0.30) παρουσίασαν 8.18% μικρότερη τιμή CEC σε σύγκριση με την BHS, ενώ η επέμβαση NPK (17.33 ± 0.30) κατέγραψε 14.43% μικρότερη τιμή CEC.

3.2.8.3 Εδαφική Οργανική Ουσία (SOM)

Η εδαφική οργανική ουσία επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα της λίπανσης ($p < 0.001$) σε όλες τις καλλιεργητικές περιόδους. Στην 1^η ΚΠ, η εδαφική οργανική ουσία εμφάνισε την μέγιστη τιμή στην επέμβαση BHS ($3.76 \pm 0.15\%$) και την ελάχιστη στην επέμβαση NPK ($2.43 \pm 0.15\%$). Οι επεμβάσεις FYM και COMP εμφάνισαν τιμές για το δείκτη ίσες με $3.5 \pm 0.15\%$ και $3.4 \pm 0.15\%$ αντίστοιχα, ενώ η τιμή του δείκτη για την επέμβαση C ήταν ίση με $2.74 \pm 0.15\%$. Στη 2^η ΚΠ, στην επέμβαση FYM η τιμή του SOM ήταν ίση με $3.51 \pm 0.07\%$, ενώ το SOM για τις επεμβάσεις COMP και NPK ήταν ίσο με $3.41 \pm 0.07\%$ και $2.4 \pm 0.07\%$ αντίστοιχα. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή του SOM καταγράφηκε στην επέμβαση BHS ($3.97 \pm 0.08\%$) και η ελάχιστη στην επέμβαση C

(2.19±0.08%). Στις επεμβάσεις FYM και COMP καταγράφηκαν τιμές για το SOM ίσες με 3.63±0.08% και 3.53±0.08% αντίστοιχα, ενώ στην επέμβαση NPK το SOM ήταν ίσο με 2.40±0.08% (Πίνακας 3-1).

Πίνακας 3-1 Ανάλυση Two-way ANOVA της επίδρασης της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: com- 232 post, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο ολικό εδαφικό άζωτο εδάφους (STN), την ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (IAK) και την οργανική ουσία εδάφους (SOM).

		STN (mg g ⁻¹)	CEC (cmol kg ⁻¹)	SOM (%)
1^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	2.42 ^a	19.83 ^a	3.77 ^a
	COMP	1.82 ^b	16.83 ^c	3.40 ^a
	C	0.99 ^c	15.33 ^d	2.73 ^b
	FYM	2.14 ^{ab}	18.17 ^b	3.50 ^a
	NPK	1.96 ^b	17.50 ^{bc}	2.43 ^b
Αλατότητα	CS	1.96 ^a	17.80 ^a	3.19 ^a
	HS	1.77 ^a	17.27 ^a	3.14 ^a
ANOVA	Df			
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	40.45***	33.07***	26.81***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns
2^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	2.45 ^a	20.00 ^a	3.82 ^a
	COMP	1.74 ^c	18.67 ^b	3.42 ^b
	C	1.14 ^d	15.67 ^d	2.32 ^c
	FYM	2.25 ^b	18.33 ^b	3.52 ^b
	NPK	2.08 ^b	17.33 ^c	2.40 ^c
Αλατότητα	CS	2.03 ^a	18.27 ^a	3.23 ^a
	HS	1.83 ^a	17.73 ^a	2.95 ^a
ANOVA	Df			
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	131.71***	53.71***	161.31***
F Λίπαν x Αλατότ	4	6.35**	ns	ns
3^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	2.55 ^a	19.83 ^a	3.97 ^a
	COMP	2.11 ^c	18.33 ^b	3.54 ^b
	C	1.27 ^d	15.67 ^d	2.19 ^c
	FYM	2.35 ^{ab}	18.33 ^b	3.64 ^b
	NPK	2.17 ^{bc}	17.33 ^c	2.40 ^c
Αλατότητα	CS	2.23 ^a	18.27 ^a	3.28 ^a
	HS	1.96 ^a	17.53 ^a	3.01 ^a
ANOVA	Df			
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	96.51***	51.39***	195.46***
F Λίπαν x Αλατότ	4	3.10*	ns	ns
Υπόλοιπο	16			
Σύνολο	29			

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01. *** p < 0.001. ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

3.2.9 Δείκτες βασισμένοι στη λίπανση

3.2.9.1 Συντελεστής Μερικής παραγωγικότητας σπόρου (PFPseed)

Στην 1^η ΚΠ, ο παράγοντας που επηρέασε στατιστικά σημαντικά το δείκτη PFPseed είναι αυτός της λίπανσης ($p < 0.01$). Η μέγιστη τιμή του δείκτη PFPseed σημειώθηκε στην επέμβαση FYM (14.95 ± 0.67) και ο ελάχιστος στην επέμβαση BHS (12.44 ± 0.67). Η τιμή του δείκτη PFPseed για την επέμβαση NPK ήταν ίση με 144.71 ± 6.77 , ενώ για την επέμβαση COMP ήταν ίση με 127.64 ± 6.77 . Στη 2^η ΚΠ, ο δείκτης PFPseed επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p < 0.001$). Στην 3^η ΚΠ, ο δείκτης PFPseed επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.001$), με τη μεγαλύτερη τιμή να εμφανίζεται στην επέμβαση BHS (19.11 ± 0.64) και η ελάχιστη στην επέμβαση COMP (15.05 ± 0.64) (Πίνακας 3-2).

3.2.9.2 Συντελεστής Μερικής παραγωγικότητας βιομάζας (PFPbiomass)

Ο δείκτης PFPbiomass επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα της λίπανσης ($p < 0.001$) στις 3 ΚΠ (Πίνακας 3-2). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή του του συντελεστή μερικής παραγωγικότητας βιομάζας καταγράφηκε στην επέμβαση NPK (42.75 ± 0.72) και η ελάχιστη στην επέμβαση COMP (37.24 ± 0.72). Η επέμβαση FYM εμφάνισε συντελεστή μερικής παραγωγικότητας βιομάζας ίσο με 42.62 ± 0.72 , ενώ η τιμή του δείκτη με την επέμβαση BHS ήταν ίση με 42.26 ± 0.72 . Στη 2^η ΚΠ, η τιμή του δείκτη PFPbiomass ήταν ίση με 40.85 ± 0.45 για την επέμβαση FYM, ενώ στην επέμβαση NPK ήταν ίση με 39.49 ± 0.45 και δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για το συντελεστή μερικής παραγωγικότητας βιομάζας καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (42.27 ± 0.65) και η ελάχιστη στην επέμβαση COMP (33.36 ± 0.65). Όλες οι λιπάνσεις διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

3.2.9.3 Δείκτης ισοζυγίου έντασης αζώτου (NBI)

Ο δείκτης NBI επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.01$) και την αλατότητα ($p < 0.001$) μόνο στην 1^η ΚΠ, όπου, η μέγιστη τιμή του NBI καταγράφηκε στην επέμβαση FYM (19.04 ± 4.44) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (39.52 ± 4.44). Στη 2^η ΚΠ καμία επέμβαση δεν κρίνεται στατιστικά σημαντική (Πίνακας 3-2).

3.2.9.4 Δείκτης αποδοτικότητας χρήσης αζώτου καλλιέργειας (NUEcrop)

Ο δείκτης NUEcrop επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p < 0.01$) και την αλατότητα ($p < 0.001$) (Πίνακας 3-2). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή NUEcrop καταγράφηκε στην επέμβαση FYM (0.83 ± 0.04) και η ελάχιστη στην COMP (0.64 ± 0.04). Η NPK έδωσε τιμή NUEcrop 0.77 ± 0.41 , ενώ η BHS και η COMP έδωσαν αντίστοιχα 0.71 ± 0.41 και 0.64 ± 0.41 . Στη 2^η ΚΠ, η αλατότητα επηρέασε στατιστικά σημαντικά το NUEcrop ενώ στην 3^η ΚΠ καμία επέμβαση δεν επηρέασε στατιστικά σημαντικά.

3.2.9.5 Συντελεστής μερικού ισοζυγίου αζώτου (PNB)

Στη 2^η και 3^η ΚΠ, ο δείκτης PNB επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p > 0.05$ και $p > 0.001$ αντίστοιχα). Οι επεμβάσεις FYM και NPK δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, με τη μεγαλύτερη τιμή να καταγράφεται στην επέμβαση BHS (0.28 ± 0.02 στη 2^η ΚΠ, και 0.29 ± 0.01 στην 3^η ΚΠ) (Πίνακας 3-2).

3.2.9.6 Αγρονομική Αποδοτικότητα (ΑΕ)

Ο δείκτης ΑΕ επηρεάστηκε στατιστικά από την επέμβαση της λίπανσης στην 1^η ΚΠ ($p < 0.01$) και στην 3^η ΚΠ ($p < 0.001$). Στην 1^η ΚΠ, οι λιπάνσεις παρουσίασαν μεταξύ τους στατιστικά σημαντικές διαφορές. Η μέγιστη τιμή του δείκτη ΑΕ καταγράφηκε στην επέμβαση FYM (6.54 ± 0.06) και η ελάχιστη στην επέμβαση BHS (4.03 ± 0.06). Οι επεμβάσεις NPK και COMP έδωσαν τιμές ίσες με 6.05 ± 0.06 και 4.35 ± 0.06 αντίστοιχα. Οι επεμβάσεις FYM και NPK δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Στην 3^η ΚΠ, οι επεμβάσεις BHS (7.28 ± 0.06) και FYM (6.31 ± 0.06) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Πίνακας 3-2).

3.2.9.7 Αποδοτικότητα ανάκτησης αζώτου (REfertN)

Ο δείκτης REfertN επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.001$) και την αλατότητα ($p < 0.01$) (Πίνακας 3-2). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή του δείκτη REfertN καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (0.14) και η ελάχιστη στην επέμβαση COMP (0.08). Οι επεμβάσεις FYM και NPK παρουσίασαν τιμές ίσες με 0.13 και 0.12, αντίστοιχα. Στη 2^η ΚΠ, οι επεμβάσεις FYM και NPK σημείωσαν τιμές για το δείκτη REfertN ίσες με 0.14 και 0.11, αντίστοιχα. Στην 3^η ΚΠ, η επέμβαση CS (0.13) διέφερε στατιστικά σημαντικά από την επέμβαση HS (0.09).

Πίνακας 3-2 Ανάλυση Two-way ANOVA για την επίδρασης της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) σε δείκτες με βάση τη λίπανση: Partial-factor Seed Productivity (PFPseed), Partial-factor Biomass Productivity (PFPbiomass), N Balance Intensity (NBI), NUEcrop, Partial N Balance (PNB), Agronomic Efficiency (AE), and Fertilizer-N Recovery Efficiency (REfertN)

		PFPseed	PFPbiomass	NBI	NUEcrop	PNB	AE	REfertN
1^η ΚΠ								
Λίπανση	BHS	12.44 ^c	42.26 ^a	-32.12 ^{ab}	0.71 ^{ab}	0.28 ^a	4.03 ^c	0.14 ^a
	COMP	12.76 ^{bc}	37.24 ^b	-39.52 ^b	0.64 ^b	0.22 ^b	4.35 ^{bc}	0.08 ^b
	C							
	FYM	14.95 ^a	42.62 ^a	-19.04 ^a	0.83 ^a	0.26 ^a	6.54 ^a	0.13 ^a
	NPK	14.47 ^{ab}	42.75 ^a	-25.48 ^a	0.77 ^a	0.26 ^a	6.05 ^{ab}	0.12 ^a
Αλατότητα	CS	14.48 ^a	42.07 ^a	-21.227 ^a	0.81 ^a	0.26 ^a	5.80 ^a	0.10 ^b
	HS	12.83 ^a	40.37 ^a	-36.86 ^b	0.66 ^b	0.24 ^a	4.70 ^a	0.14 ^a
ANOVA	Df							
F Αλατότητας	1	ns	ns	13.28***	13.28***	ns	ns	3.49**
F Λίπανσης	4	6.71**	26.74***	49.00**	49.20**	ns	6.71**	23.83**
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2^η ΚΠ								
Λίπανση	BHS	15.65 ^a	41.53 ^a	11.62 ^{ab}	0.90 ^a	0.28 ^a	5.03 ^a	0.15 ^a
	COMP	15.91 ^a	34.43 ^c	-24.862 ^b	0.82 ^a	0.20 ^c	5.30 ^a	0.07 ^d
	C							
	FYM	18.30 ^a	40.85 ^{ab}	2.36 ^a	1.03 ^a	0.26 ^{ab}	7.69 ^a	0.14 ^b
	NPK	16.97 ^a	39.49 ^b	-9.219 ^{ab}	0.92 ^a	0.24 ^b	6.35 ^a	0.11 ^c
Αλατότητα	CS	18.91 ^a	40.39 ^a	-4.983 ^a	1.05 ^a	0.26 ^a	7.64 ^a	0.13 ^a
	HS	14.51 ^b	37.76 ^a	-5.062 ^a	0.79 ^b	0.23 ^a	4.54 ^b	0.09 ^a
ANOVA	Df							
F Αλατότητας	1	15.62**	ns	ns	16.91***	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	ns	97.48***	ns	ns	3.54*	ns	50.72***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3^η ΚΠ								
Λίπανση	BHS	19.11 ^a	42.28 ^a	11.15 ^a	1.02 ^a	0.29 ^a	7.28 ^a	0.16 ^a
	COMP	15.05 ^c	33.36 ^d	-10.65 ^c	0.77 ^a	0.19 ^c	3.23 ^c	0.07 ^d
	C							

	FYM	18.13 ^{ab}	39.98 ^b	8.22 ^{ab}	0.92 ^a	0.26 ^{ab}	6.31 ^{ab}	0.13 ^b
	NPK	16.48 ^{bc}	37.92 ^c	-10.46 ^b	1.11 ^a	0.23 ^b	4.67 ^{bc}	0.09 ^c
Αλατότητα	CS	17.03 ^a	38.96 ^a	-4.87 ^a	0.95 ^a	0.24 ^a	5.62 ^a	0.13 ^a
	HS	17.36 ^a	37.82 ^b	-5.60 ^a	0.95 ^a	0.21 ^a	5.12 ^a	0.09 ^b
ANOVA	Df							
F Αλατότητας	1	ns	26.85*	ns	ns	ns	ns	7.87*
F Λίπανσης	4	15.43***	67.94***	77***	ns	72.23***	15.43***	50.72***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16							
Σύνολο	29							

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001. ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

3.2.10 Δείκτες βασισμένοι στο φυτό

3.2.10.1 Δείκτης φυσιολογικής απόδοσης (PE)

Ο δείκτης PE επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση. Στην 1^η ΚΠ, ο παράγοντας που επηρέασε στατιστικά σημαντικά το δείκτη PE ήταν η λίπανση ($p \leq 0.05$). Η μέγιστη τιμή PE καταγράφηκε στην επέμβαση COMP (59.15 ± 9.35) και η ελάχιστη στην επέμβαση BHS (28.77 ± 9.35), οι οποίες διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Στη 2^η ΚΠ, ο παράγοντας της λίπανσης επηρέασε στατιστικά σημαντικά το δείκτη PE ($p \leq 0.01$). Οι επεμβάσεις NPK και FYM εμφάνισαν τιμές για το δείκτη PE ίσες με 61.11 ± 9.67 και 58.93 ± 9.67 , αντίστοιχα. Στην 3^η ΚΠ, ο δείκτης φυσιολογικής απόδοσης δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από καμία επέμβαση (Πίνακας 3-3).

3.2.10.2 Δείκτης αποδοτικής αξιοποίησης αζώτου (NUE)

Ο δείκτης NUE δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από κανένα παράγοντα (Πίνακας 3-3). Την 1^η ΚΠ οι επεμβάσεις FYM (57.85), BHS (45.67), NPK (57.40) COMP (60.44) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

3.2.10.3 Δείκτης εσωτερικής αποδοτικότητας (IE)

Ο παράγοντας της λίπανσης επηρέασε στατιστικά σημαντικά τον δείκτη IE (Πίνακας 3-3). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή του δείκτη IE καταγράφηκε στην επέμβαση FYM (3.18 ± 0.21) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (2.38 ± 0.21). Στη 2^η ΚΠ, η επέμβαση NPK κατέγραψε τιμή για τον δείκτη IE ίση με 4.05 ± 0.26 , ενώ οι επεμβάσεις FYM και η BHS παρουσίασαν τιμές για το δείκτη IE ίσες με 3.94 ± 0.26 και 3.30 ± 0.26 , αντίστοιχα. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή του δείκτη IE καταγράφηκε στην επέμβαση NPK (4.11 ± 0.19) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (3.46 ± 0.19). Οι τιμές του δείκτη για τις επεμβάσεις COMP και FYM ήταν 4.08 ± 0.19 και 3.99 ± 0.19 , αντίστοιχα. Η BHS παρουσίασε τιμή για το δείκτη ίση με 3.92 ± 0.19 .

3.2.10.4 Δείκτης συγκομιδής αζώτου (NHI)

Ο παράγοντας της λίπανσης επηρέασε στατιστικά σημαντικά το NHI. Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για το δείκτη NHI καταγράφηκε στην επέμβαση FYM ($318,91 \pm 21,43$) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (238.89 ± 21.43). Οι επεμβάσεις NPK και η COMP κατέγραψαν αντίστοιχα τιμές για το NHI ίσες με 304.96 ± 21.43 και 302.38 ± 21.43 , ενώ η τιμή του δείκτη στην επέμβαση BHS ήταν ίση με 259.23 ± 21.43 . Στη 2^η ΚΠ, οι επεμβάσεις NPK και FYM

παρουσίασαν τιμές για το NHI ίσες με 405.86±26.99 και 394.29±26.99, αντίστοιχα. Η επέμβαση BHS εμφάνισε για το δείκτη NHI τιμή ίση με 330.21±26.99. Στην 3^η ΚΠ, ο δείκτης NHI επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p<0.05$). Η μέγιστη τιμή για τον δείκτη NHI καταγράφηκε στην επέμβαση NPK (411.75±19.72) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (346.49±19.72) (Πίνακας 3-3).

3.2.10.5 Δείκτης αποδοτικότητας χρήσης αζώτου εδάφους (NUEsoil)

Ο παράγοντας της λίπανσης επηρέασε στατιστικά σημαντικά το δείκτη NUEsoil ($p<0.001$) σε όλες τις καλλιεργητικές περιόδους (Πίνακας 3-3). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για το δείκτη NUEsoil καταγράφηκε στην επέμβαση NPK (10.24±0.27) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (7.32±0.27). Οι επεμβάσεις FYM και BHS κατέγραψαν αντίστοιχα τιμές για το NUEsoil ίσες με 10.19±0.27 και 10.08±0.27. Οι επεμβάσεις FYM και NPK δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά. Στη 2^η ΚΠ, οι επεμβάσεις FYM, NPK και BHS δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για το δείκτη NUEsoil καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (9.91±0.18) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (6.88±0.18).

Πίνακας 3-3 Ανάλυση Two-way ANOVA για την επίδραση της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) σε δείκτες με βάση τη λίπανση: Physiological Efficiency (PE), N Utilization Efficiency (NutE), Internal Efficiency (IE), N Harvest Index (NHI), NUEsoil.

		PE	NutE	IE	NHI	NUEsoil
1^η ΚΠ						
Λίπανση	BHS	28.77 ^b	45.67 ^a	2.59 ^{ab}	259.23 ^{ab}	10.08 ^{ab}
	COMP	59.15 ^a	60.44 ^a	3.02 ^{ab}	302.38 ^{ab}	8.93 ^b
	C		64.17 ^a	2.38 ^b	238.89 ^b	7.32 ^c
	FYM	53.47 ^{ab}	57.85 ^a	3.18 ^a	318.91 ^a	10.19 ^a
	NPK	52.00 ^{ab}	57.40 ^a	3.05 ^a	304.96 ^a	10.24 ^a
Αλατότητα	CS	44.94 ^a	59.13 ^a	3.03 ^a	302.91 ^a	9.54 ^a
	HS	51.78 ^a	55.08 ^a	2.66 ^a	266.84 ^a	9.17 ^a
ANOVA	Df	F	F	F	F	F
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	4.18*	ns	5.05**	5.05**	19.45***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns
2^η ΚΠ						
Λίπανση	BHS	34.64 ^b	57.27 ^a	3.30 ^{bc}	330.21 ^{bc}	9.91 ^a
	COMP	77.77 ^a	80.98 ^a	4.16 ^a	416.21 ^a	8.27 ^b
	C		82.52 ^a	3.14 ^c	314.81 ^c	6.88 ^c
	FYM	58.93 ^{ab}	70.63 ^a	3.94 ^{abc}	394.29 ^{abc}	9.76 ^a
	NPK	61.11 ^{ab}	73.11 ^a	4.05 ^{ab}	405.86 ^{ab}	9.45 ^a
Αλατότητα	CS	65.26 ^a	76.30 ^a	3.94 ^a	393.92 ^a	8.83 ^a
	HS	50.97 ^a	69.51 ^a	3.51 ^a	350.64 ^a	8.88 ^a
ANOVA	Df			F	F	
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	7.26**	ns	5.91**	5.91**	36.14***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns
3^η ΚΠ						
Λίπανση	BHS	47.91 ^a	97.84 ^a	3.93 ^{ab}	392.70 ^{ab}	9.91 ^a
	COMP	60.17 ^a	79.50 ^a	4.08 ^a	408.09 ^a	8.27 ^c
	C		91.24 ^a	3.46 ^b	346.49 ^b	6.88 ^c

	FYM	50.73 ^a	70.83 ^a	3.99 ^{ab}	399.12 ^{ab}	9.76 ^{ab}
	NPK	50.46 ^a	74.01 ^a	4.12 ^a	411.75 ^a	9.45 ^b
Αλατότητα	CS	45.57 ^a	69.31 ^a	3.58 ^a	358.57 ^a	8.83 ^a
	HS	59.07 ^a	84.06 ^a	4.25 ^a	424.69 ^a	8.88 ^a
ANOVA	Df			F	F	
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	ns	ns	3.56*	3.56*	43.59***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16					
Σύνολο	29					

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. ns: μη σημαντικό ($p > 0.05$).

3.2.11 Δείκτες βασισμένοι στο έδαφος

3.2.11.1 Δείκτης αποδοτικότητας πρόσληψης αζώτου (N Uptake Efficiency- NUpE)

Ο δείκτης NUpE επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p \leq 0.001$) στις 3 ΚΠ. Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για το δείκτη NUpE καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (27.08 ± 7.31) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (13.22 ± 7.31). Οι επεμβάσεις FYM (25.83 ± 7.31) και NPK (25.15 ± 7.31) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Στη 2^η ΚΠ, οι επεμβάσεις FYM και NPK επίσης δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά, ενώ η μεγαλύτερη τιμή NUpE καταγράφηκε στην επέμβαση BHS. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για το δείκτη NUpE καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (28.05 ± 8.29) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (12.96 ± 8.29). Οι επεμβάσεις FYM και NPK εμφάνισαν τιμές για το δείκτη NUpE ίσες με 25.51 ± 8.29 και 22.58 ± 8.29 , αντίστοιχα (Πίνακας 3-4).

3.2.11.2 Δείκτης αποδοτικότητας αζώτου εσοδείας (NUEyield)

Ο δείκτης αποδοτικότητας πρόσληψης αζώτου δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από καμία επέμβαση (Πίνακας 3-4).

3.2.11.3 Ισοζύγιο αποδοτικότητας χρήσης αζώτου (NUEbalance)

Ο δείκτης NUEbalance επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p \leq 0.001$) και την αλατότητα ($p \leq 0.05$) σε όλες τις καλλιεργητικές περιόδους (Πίνακας 3-4).

Στην 1^η ΚΠ, η επέμβαση HS παρουσίασε τιμή για το δείκτη NUEbalance ίση με 0.84 ± 0.19 , ενώ η τιμή του δείκτη με την επέμβαση CS ήταν ίση με 1.00 ± 0.19 . Δηλαδή, στην επέμβαση HS το 84% του αζώτου που χορηγήθηκε στον αγρό απομακρύνθηκε με τη συγκομιδή της καλλιέργειας, ενώ το υπόλοιπο 16% ενδέχεται να υπέστη απώλειες ή να παρέμεινε στο έδαφος. Οι επεμβάσεις NPK, BHS και FYM δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους στην 1^η και 2^η ΚΠ. Στην 3^η ΚΠ, η επέμβαση HS εμφάνισε τιμή για το NUEbalance ίση με 1.02 ± 0.51 , ενώ η τιμή του δείκτη με την επέμβαση CS ήταν ίση με 0.98 ± 0.51 . Η μέγιστη τιμή για το NUEbalance καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (1.30 ± 0.42) και η ελάχιστη στην επέμβαση COMP (0.90 ± 0.42) (Πίνακας 3-4).

Πίνακας 3-4 Ανάλυση Two-way ANOVA για την επίδραση της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) σε δείκτες με βάση το έδαφος: N Uptake Efficiency (NUpE), NUEyield, NUEbalance

		NUpE	NUEyield	NUEbalance
1^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	27.08 ^a	72.74 ^a	0.92 ^a
	COMP	21.15 ^b	81.59 ^a	0.80 ^b
	C	13.22 ^c	77.38 ^a	
	FYM	25.83 ^{ab}	83.68 ^a	1.02 ^a
	NPK	25.15 ^{ab}	82.55 ^a	0.96 ^a
Αλατότητα	CS	23.25 ^a	82.38 ^a	1.00 ^a
	HS	21.71 ^a	76.79 ^a	0.85 ^b
ANOVA	Df			
F Αλατότητας	1	ns	ns	42.54*
F Λίπανσης	4	70.38***	ns	95.61***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns
2^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	27.25 ^a	84.79 ^a	1.11 ^a
	COMP	19.75 ^c	100.73 ^a	0.95 ^b
	C	12.79 ^d	95.31 ^a	
	FYM	25.95 ^{ab}	96.58 ^a	1.20 ^a
	NPK	23.21 ^b	96.61 ^a	1.10 ^a
Αλατότητα	CS	23.43 ^a	99.73 ^a	1.09 ^a
	HS	20.38 ^a	89.89 ^a	0.85 ^b
ANOVA	Df			
F Αλατότητας	1	ns	ns	40.27*
F Λίπανσης	4	68.55***	ns	92.35***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns
3^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	28.05 ^a	95.89 ^a	1.30 ^a
	COMP	19.18 ^c	98.68 ^c	0.90 ^c
	C	12.96 ^d	104.20 ^d	
	FYM	25.51 ^{ab}	96.33 ^{ab}	1.19 ^{ab}
	NPK	22.58 ^b	96.59 ^b	1.06 ^b
Αλατότητα	CS	23.38 ^a	92.69 ^a	1.02 ^a
	HS	19.93 ^a	103.99 ^a	0.98 ^b
ANOVA	Df			
F Αλατότητας	1	ns	ns	55.20*
F Λίπανσης	4	59.66***	ns	95.57***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16			
Σύνολο	29			

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01. *** p < 0.001. ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

3.2.12 Δείκτες βασισμένοι στην οικολογία

3.2.12.1 Παραγωγικότητα Αζώτου (NP)

Ο δείκτης NP επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.001$) στις 3 ΚΠ (Πίνακας 3-5). Οι λιπάνσεις δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη παραγωγικότητα αζώτου καταγράφηκε στην επέμβαση C (0.04 ± 0.002) και η ελάχιστη στην επέμβαση BHS (2.92 ± 0.2). Οι επεμβάσεις COMP και NPK παρουσίασαν τιμές για το δείκτη NP ίσες με 3.32 ± 0.2 και 3.17 ± 0.2 , αντίστοιχα. Η τιμή του δείκτη

με την επέμβαση FYM ήταν ίση με 0.03 ± 0.002 . Στη 2^η ΚΠ, ο δείκτης NP έλαβε τη μέγιστη τιμή του με την επέμβαση C (4.23 ± 0.1) και την ελάχιστη τιμή στην επέμβαση BHS (2.87 ± 0.1). Οι επεμβάσεις COMP και NPK οδήγησαν την τιμή του δείκτη σε 3.30 ± 0.1 και 3.22 ± 0.001 αντίστοιχα, ενώ η επέμβαση FYM σε 2.97 ± 0.1 . Στην 3^η ΚΠ, οι επεμβάσεις COMP και NPK κατέγραψαν τιμές για το δείκτη NP ίσες με 3.32 ± 0.1 και 3.21 ± 0.1 αντίστοιχα, ενώ η επέμβαση FYM κατέγραψε τιμή για το NP ίση με 2.97 ± 0.1 .

3.2.12.2 Οικολογική αποδοτικότητα χρήσης αζώτου (NUEecology)

Ο δείκτης NUEecology επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση. Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή NUEecology παρατηρήθηκε στην επέμβαση C (801.97 ± 53.00) και η ελάχιστη στην επέμβαση BHS (526.96 ± 53.00). Οι επεμβάσεις COMP και η NPK έδωσαν αντίστοιχα τιμές για το δείκτη NUEecology 597.87 ± 53.00 και 572.27 ± 53.00 , ενώ η τιμή του δείκτη με την επέμβαση FYM ήταν 556.68 ± 53.00 . Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για το δείκτη NUEecology καταγράφηκε στην επέμβαση C (752.93 ± 27.00) και η ελάχιστη στην επέμβαση BHS (515.54 ± 27.00). Οι επεμβάσεις COMP και η NPK κατέγραψαν τιμές ίσες με 597.90 ± 27.00 και 578.48 ± 27 αντίστοιχα (Πίνακας 3-5).

Πίνακας 3-5 Ανάλυση Two-way ANOVA για την επίδραση της λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και των επιπέδων αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) σε δείκτες με βάση την οικολογία Nitrogen Productivity (NP), and NUEecology.

		NP	NUEecology
1^η ΚΠ			
Λίπανση	BHS	2.92 ^b	526.96 ^b
	COMP	3.32 ^b	597.87 ^b
	C	4.45 ^a	801.97 ^a
	FYM	3.09 ^b	556.68 ^b
	NPK	3.17 ^b	572.27 ^b
Αλατότητα	CS	3.50 ^a	630.47 ^a
	HS	3.28 ^a	591.83 ^a
ANOVA	Df		
F Αλατότητας	1	ns	ns
F Λίπανσης	4	8.57***	8.57*
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns
2^η ΚΠ			
Λίπανση	BHS	2.87 ^b	516.98 ^b
	COMP	3.30 ^b	594.77 ^b
	C	4.23 ^a	760.75 ^a
	FYM	2.97 ^b	534.97 ^b
	NPK	3.22 ^b	580.00 ^b
Αλατότητα	CS	3.29 ^a	593.03 ^a
	HS	3.34 ^a	601.96 ^a
ANOVA	Df		
F Αλατότητας	1	ns	ns
F Λίπανσης	4	14.96***	14.96***
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns
3^η ΚΠ			

Λίπανση	BHS	2.86 ^b	515.54 ^b
	COMP	3.32 ^b	597.90 ^b
	C	4.18 ^a	752.93 ^a
	FYM	2.97 ^b	535.34 ^b
	NPK	3.21 ^b	578.48 ^b
Αλατότητα	CS	3.10 ^a	558.02 ^a
	HS	3.52 ^a	634.06 ^a
ANOVA	Df		
F <i>Αλατότητας</i>	1	ns	ns
F <i>Λίπανσης</i>	4	23.27***	23.27***
F <i>Λίπαν x Αλατότ</i>	4	ns	ns
Υπόλοιπο	16		
Σύνολο	29		
Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. ns: μη σημαντικό ($p > 0.05$).			

3.3 Συζήτηση

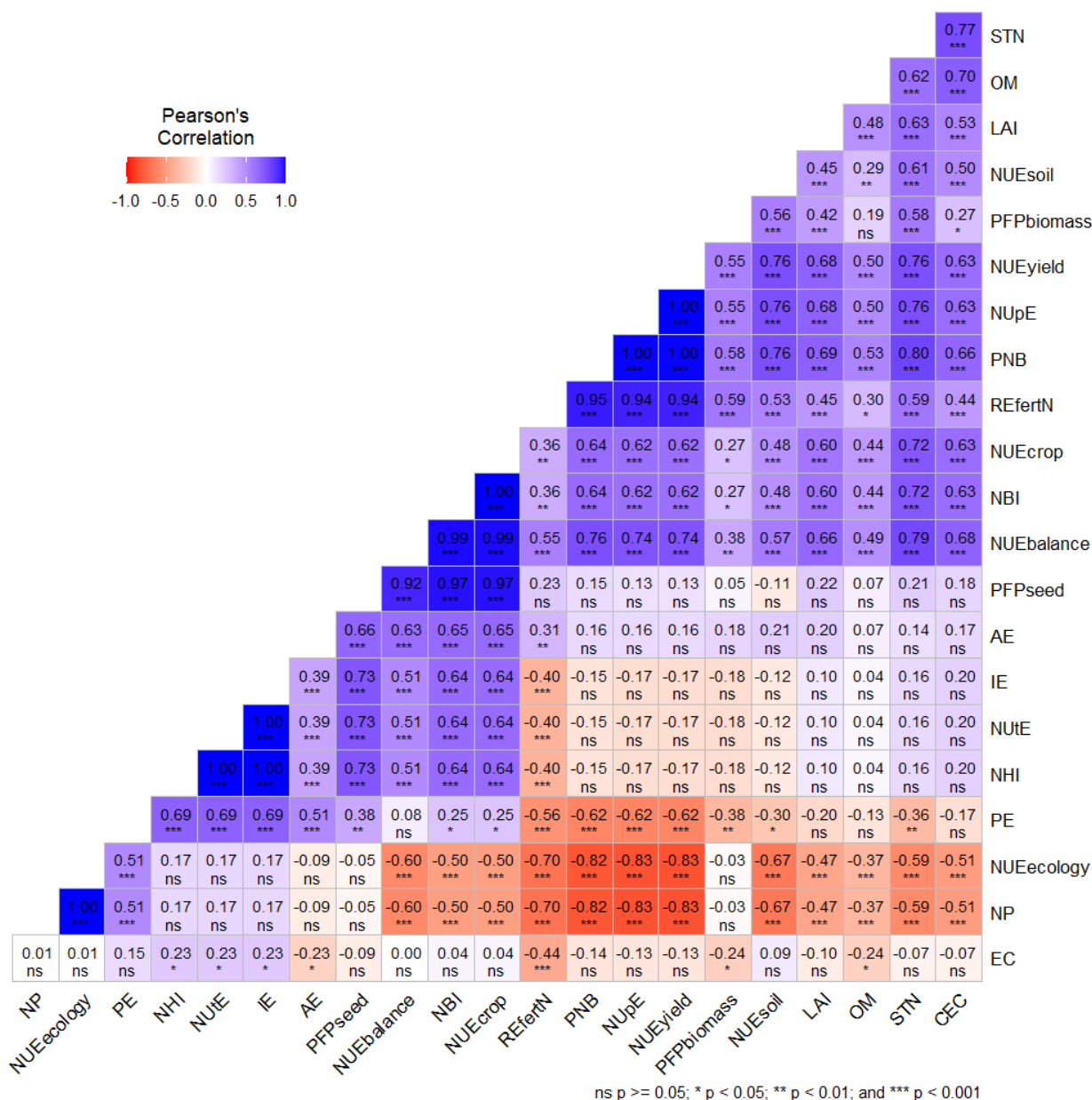
Το εδαφικό άζωτο επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης. Η υψηλότερη τιμή του STN σημειώθηκε με την επέμβαση BHS. Λόγω της σταθερότητας της επέμβασης BHS και της αντίστασής της στην έκπλυση θρεπτικών στοιχείων, ο κίνδυνος υπερλίπανσης ουσιαστικά εξαλείφεται, ακόμη και με την εφαρμογή μεγάλων ποσοτήτων. Κατά συνέπεια, η επέμβαση BHS θα μπορούσε να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση της τρέχουσας παγκόσμιας πρόκλησης για το άζωτο [220]. Η παρουσία και η αποσύνθεση των ριζών των ψυχανθών έχουν μικρή θετική επίδραση στην αύξηση του εδαφικού αζώτου [221, 222]. Επομένως, η παρουσία των ριζών της τριγωνέλλας στο έδαφος μετά τη συγκομιδή των σπόρων μπορεί να έχει θετική επίδραση στην αύξηση του εδαφικού αζώτου. Το εδαφικό άζωτο παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το LAI ($r=0.58$, $p<=0.001$) και το SOM ($r=0,62$, $p<=0,001$) (Διάγραμμα 3-1).

Η ΙΑΚ επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση σε καλλιέργεια τριγωνέλλας. Αυτό το αποτέλεσμα είναι σύμφωνο με τους Brar *et al.* σε καλλιέργεια σιταριού [223]. Όμως, σε αντίθεση με τους Brar *et al.*, στο πείραμά μας μεγαλύτερες τιμές της ΙΑΚ σημειώθηκαν στις βιολογικές λιπάνσεις. Η βιολογική λίπανση μπορεί να μειώσει την οξείδωση των οργανικών μορίων, διατηρώντας τις αρνητικά φορτισμένες θέσεις τους, οι οποίες είναι κρίσιμες για την ΙΑΚ [224]. Η BHS λίπανση εμφάνισε τις μεγαλύτερες τιμές ΙΑΚ, παρουσιάζοντας θετική συσχέτιση με το STN ($r=0.77$, $p<=0.001$) (Διάγραμμα 3-1).

Η γεωργία θεωρείται ότι είναι ένας παράγοντας υποβάθμισης της ποιότητας των φυσικών πηγών. Ένας από τους λόγους που συνέβαλαν σε αυτήν την κατάσταση ήταν οι χαμηλές εισροές οργανικής ύλης στο έδαφος [225]. Επομένως, κρίνεται σημαντική η χρήση βιολογικών λιπασμάτων. Η εδαφική οργανική ουσία επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση σε καλλιέργεια τριγωνέλλας. Αυτό επιβεβαιώνεται και σε πληθώρα καλλιεργειών [226-229]. Οι βιολογικές λιπάνσεις και συγκεκριμένα η BHS λίπανση έδωσε τις μεγαλύτερες τιμές για το SOM. Πολλές μελέτες επιβεβαιώνουν και υποστηρίζουν ότι οι βιολογικές προσθήκες προάγουν την καλύτερη ανάπτυξη των φυτών, η οποία μπορεί να συνδεθεί με τη βελτιωμένη ανάπτυξη των ριζών και την αποτελεσματικότερη χρήση του νερού και των θρεπτικών στοιχείων [230-232].

Οι δείκτες PFPseed και PFPbiomass επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση. Ο δείκτης PFP είναι ένα χρήσιμο μέτρο της αποδοτικότητας χρήσης των θρεπτικών ουσιών, καθώς παρέχει έναν ολοκληρωμένο δείκτη που ποσοτικοποιεί τη συνολική οικονομική παραγωγή σε σχέση με τη χρήση όλων των θρεπτικών πόρων στο σύστημα [138]. Ο δείκτης PFP έδειξε να μειώνεται από την εφαρμογή ανόργανων λιπασμάτων. Η υπερβολική χρήση αζωτούχων λιπασμάτων ευθύνεται για τις χαμηλότερες τιμές του δείκτη [233]. Οπότε, συμπεραίνουμε ότι η εφαρμογή ανόργανων λιπασμάτων σε καλλιέργεια τριγωνέλλας μπορεί να είναι περιττή. Μείωση του δείκτη PFP μπορεί να αποδοθεί σε ανισορροπία θρεπτικών ουσιών, μείωση της παροχής εδαφικού αζώτου, μειωμένος όγκος ριζών και αυξημένη συχνότητα παρασίτων και ασθενειών [234]. Ο δείκτης PFP αυξήθηκε με την προσθήκη βιολογικών λιπασμάτων τόσο στην απόδοση σπόρων, όσο και στην απόδοση βιομάζας. Επίσης, σημειώνεται ότι ο δείκτης PFPbiomass, την 3^η πειραματική χρονιά, μειώθηκε λόγω της υψηλής εδαφικής αλατότητας. Επίσης, ο δείκτης PFPbiomass παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το STN ($r=0.58$, $p<0.001$) (Διάγραμμα 3-1).

Ο δείκτης NBI στην 1^η ΚΠ κατέγραψε αρνητικές τιμές για όλες τις λιπάνσεις, υποδεικνύοντας ότι δεν χρησιμοποιήθηκε όλο το λίπασμα και το υπολειπόμενο παρέμεινε στο έδαφος. Ο δείκτης NBI είναι ένας λόγος που αντικατοπτρίζει την ισορροπία μεταξύ του αζώτου που είναι διαθέσιμο στο φυτό και των πραγματικών αναγκών του φυτού σε άζωτο. Αποτελεί έναν σημαντικό δείκτη για τη γεωργία, καθώς με τη χρήση του μπορεί να διασφαλιστεί ότι οι καλλιέργειες λαμβάνουν τη βέλτιστη ποσότητα αζώτου, αρκετή για να μεγιστοποιήσει την ανάπτυξη και την απόδοση χωρίς να προκαλεί υπερβολική έκπλυση ή απορροφή αζώτου, η οποία μπορεί να είναι επιβλαβής για το περιβάλλον. Όσο πιο κοντά στο μηδέν είναι η τιμή του δείκτη NBI, τόσο μικρότερη είναι η συσσώρευση αζώτου στο σύστημα, με αποτέλεσμα να μειώνονται και οι εκπλύσεις. Στο πείραμά μας επιβεβαιώνουμε ότι η επέμβαση NPK παρουσίασε τις μεγαλύτερες αρνητικές τιμές συνεπώς δημιουργήθηκε περίσσεια αζώτου. Οι αρνητικές τιμές υποδεικνύουν ότι δεν χρησιμοποιήθηκε όλο το λίπασμα και έμεινε στο έδαφος. Αυτό είναι θετικό όταν πρόκειται για βιολογικά λιπάσματα, αλλά αρνητικό όταν πρόκειται για ανόργανα λιπάσματα [214]. Όταν οι τιμές είναι θετικές τότε χρειάζεται να αξιοποιηθούν και άλλες μορφές αζώτου όπως είναι το εδαφικό άζωτο ή η αζωτοδέσμευση. Στην 1^η ΚΠ, φαίνεται ότι επίδρασε σημαντικά στο δείκτη NBI και η αλατότητα. Ο δείκτης NBI παρουσίασε θετική συσχέτιση με το STN ($r=0.72$, $p<0.001$). Αυτό το συμπέρασμα έρχεται σε συμφωνία με τους Salinas-Roco *et al.* (2024) σε καλλιέργεια σιταριού [235]. Η καλλιέργεια τριγωνέλλας θεωρείται καλλιέργεια σχετικά μετρίου προς χαμηλού ρυθμού απορρόφησης αζώτου, σε αντίθεση για παράδειγμα με την καλλιέργεια καλαμποκιού που θεωρείται καλλιέργεια υψηλού ρυθμού απορρόφησης [236], και συνεπώς θα ήταν διαχειρίσιμο να λιπανθεί μόνο με οργανικό άζωτο για να καλύψει τις μέγιστες απαιτήσεις χωρίς να εφαρμόζεται υπερβολικό άζωτο στο έδαφος.



Διάγραμμα 3-1 Πίνακας συσχέτισης Pearson με τιμές r και p μεταξύ των δεικτών αζώτου και των χαρακτηριστικών του εδάφους.

Ο δείκτης NUEcrop επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης. Οι υψηλότερες τιμές του δείκτη NUEcrop καταγράφηκαν με τις βιολογικές λιπάνσεις. Στην 1^η ΚΠ όλες οι τιμές του δείκτη είναι μικρότερες της μονάδας που υποδηλώνεται αφαίρεση αζώτου [203]. Με τις βιολογικές λιπάνσεις οι τιμές ήταν πιο κοντά στη μονάδα, μάλιστα στη 2^η ΚΠ και στην 3^η ΚΠ οι επεμβάσεις BHS και FYM κατέγραψαν τιμές υψηλότερες της μονάδας, άρα το φυτό εκμεταλλεύτηκε καλύτερα τις μονάδες αζώτου που προστέθηκαν. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τους Gaskell & Smith, ο οποίοι σημείωσαν ότι τα βιολογικά λιπάσματα απελευθερώνουν το άζωτο πιο αργά σε σύγκριση με τα ανόργανα λιπάσματα, με αποτέλεσμα να βελτιώνεται μακροπρόθεσμα ο δείκτης NUE, μειώνοντας τον κίνδυνο απώλειας αζώτου και βελτιώνοντας την υγεία του εδάφους [237]. Επίσης, ένας πιθανός λόγος για αυτό μπορεί να είναι ότι η βιολογική λίπανση ενισχύει τη μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους, την περιεκτικότητα σε οργανική ύλη και τη συνολική γονιμότητα του

εδάφους, γεγονός που μπορεί να συμβάλει στη διαρκή βελτίωση του δείκτη NUE [238]. Αυτό επιβεβαιώνεται και από το παρόν πείραμα, καθώς ο δείκτης NUE_{crop} παρουσίασε θετική συσχέτιση με το SOM ($r=0.44$, $p<0.001$) και την IAK ($r=0.63$, $p<0.001$) (Διάγραμμα 3-1).

Ο δείκτης PNB χρησιμοποιείται για την κατανόηση του ρόλου των ψυχανθών στα γεωργικά συστήματα [239]. Τόσο η ανόργανη όσο και η βιολογική λίπανση επηρέασαν σημαντικά τον δείκτη PNB στην καλλιέργεια τριγωνέλλας. Τα ανόργανα λιπάσματα προσφέρουν άμεση διαθεσιμότητα αζώτου, οδηγώντας σε δυνητικά υψηλότερο δείκτη εάν η διαχείριση γίνεται σωστά. Ωστόσο, η ακατάλληλη διαχείριση μπορεί να οδηγήσει σε απώλειες αζώτου και μείωση της τιμής του δείκτη PNB [240]. Τα βιολογικά λιπάσματα βελτιώνουν την υγεία του εδάφους, συμβάλλοντας στη συνεχή πρόσληψη αζώτου και δυνητικά υψηλότερο δείκτη PNB μακροπρόθεσμα [241, 242]. Πράγματι, ο δείκτης PNB παρουσίασε θετική συσχέτιση με το STN ($r=0.80$, $p<0.001$). Επιπρόσθετα, οι Palmero *et al.* έδειξαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του μερικού ισοζυγίου αζώτου και του δείκτη NHI [239].

Ο δείκτης AE επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση, με μεγαλύτερες τιμές να σημειώνονται στις βιολογικές λιπάνσεις. Αυτό το αποτέλεσμα επιβεβαιώνεται και από τους Zheng *et al.* [243]. Οι Efthimiadou *et al.* απέδειξαν ότι ο συνδυασμός βιολογικής και ανόργανης λίπανσης εμφάνισαν υψηλότερες τιμές του δείκτη AE σε σχέση με την εφαρμογή μόνο ανόργανης λίπανσης [244]. Οι υψηλές τιμές του δείκτη AE δηλώνουν ότι οι βιολογικές λιπάνσεις αξιοποιήθηκαν αποτελεσματικότερα από την καλλιέργεια τριγωνέλλας σε σύγκριση με τις ανόργανες. Στο πείραμά μας ο δείκτης AE δεν παρουσίασε καμία συσχέτιση με τα χαρακτηριστικά του εδάφους, κάτι το οποίο έχει επιβεβαιωθεί και σε καλλιέργεια σόγιας [245].

Οι παράγοντες αλατότητας και λίπανσης επηρέασαν το δείκτη REfertN στην καλλιέργεια τριγωνέλλας. Ο δείκτης REfertN αντιπροσωπεύει την απόδοση ανάκτησης του εφαρμοζόμενου αζωτούχου λιπάσματος στα φυτά και υποδηλώνει το ποσοστό του εφαρμοζόμενου αζωτούχου που απορρίφθηκε από τα φυτά. Υψηλότερες τιμές του δείκτη REfertN σημειώθηκαν στις βιολογικές λιπάνσεις, συνεπώς τα φυτά τριγωνέλλας απορρόφησαν πιο αποτελεσματικά το άζωτο σε αυτές τις μορφές σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Επίσης, η υψηλή αλατότητα εμπόδισε την αποτελεσματικότερη απορρόφηση του αζώτου από τα φυτά τριγωνέλλας δηλαδή σημειώθηκαν μικρότερες τιμές του δείκτη REfertN. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την αρνητική συσχέτιση του δείκτη REfertN με την ηλεκτρική αγωγιμότητα εδάφους ($r=0.44$, $p<0.001$). Τα αποτελέσματά μας για το δείκτη καλλιέργεια έρχονται σε συμφωνία με τις μετρήσεις σε καλλιέργεια φασολιού [246].

Ο δείκτης PE επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση στην καλλιέργεια τριγωνέλλας, το οποίο επιβεβαιώνεται και από τους Fatemi *et al.* σε καλλιέργεια αραβοσίτου [247]. Ο δείκτης PE δείχνει την ικανότητα ενός φυτού να μετατρέπει το άζωτο που λαμβάνεται από το λίπασμα πέραν του εδαφικού αζώτου σε οικονομική απόδοση [213]. Στην καλλιέργεια τριγωνέλλας σημειώθηκε ότι η επέμβαση COMP μετέτρεψε το άζωτο που εφαρμόστηκε, πέραν του εδαφικού, σε οικονομική απόδοση. Όμοια, σε καλλιέργεια μπιζελιού ο συνδυασμός βιολογικής και ανόργανης λίπανσης έδωσε υψηλότερες τιμές σε σχέση με την εφαρμογή μόνο ανόργανης λίπανσης [248]. Ο δείκτης PE παρουσίασε αρνητική σχέση με το STN ($r=-0.36$, $p<0.01$).

Στο πείραμά μας ο δείκτης NUtE δεν επηρεάστηκε από το είδος της λίπανσης και την αλατότητα. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τους Ooro *et al.* [249]. Ωστόσο, οι Kakabouki *et al.* σημείωσαν ότι τα διαφορετικά επίπεδα λίπανσης μπορούν να επηρεάσουν το NUtE και οι μεγαλύτερες τιμές σημειώθηκαν στο μάρτυρα [250]. Αυτό δεν μπορεί να επαληθευτεί στο πείραμά μας, καθώς οι εφαρμοζόμενες μονάδες αζώτου ήταν σταθερές.

Ο δείκτης HI επηρεάστηκε σημαντικά από το είδος της λίπανσης στην καλλιέργεια τριγωνέλλας. Οι μεγαλύτερες τιμές του δείκτη HI σημειώθηκαν με την ανόργανη λίπανση. Η καλύτερη κατανόηση της επίδρασης των επεμβάσεων λίπανσης στο NHI είναι απαραίτητη για τη βελτιστοποίηση της αποδοτικότητας της χρήσης αζώτου και της απόδοσης των καλλιεργειών [204]. Ο δείκτης NHI επηρεάστηκε σημαντικά από το είδος της λίπανσης στην καλλιέργεια τριγωνέλλας και συγκεκριμένα στην βιολογική λίπανση σημειώθηκαν χαμηλότερες τιμές του NHI σε σχέση με την ανόργανη λίπανση. Οι μελέτες για το NHI μπορούν να αποκαλύψουν πληροφορίες για το πώς διαφορετικές πρακτικές διαχείρισης μπορούν να βελτιώσουν την κατανομή του αζώτου στα οικονομικά σημαντικά μέρη του φυτού όπως είναι ο σπόρος [251]. Οπότε, με τη χρήση του δείκτη NHI κατανοήθηκε ότι ο καταμερισμός του αζώτου στο συγκομιζόμενο προϊόν που είναι ο σπόρος πραγματοποιήθηκε καλύτερα με τη βιολογική λίπανση. Επίσης, ο δείκτης NHI στην καλλιέργεια τριγωνέλλας δεν παρουσίασε καμία συσχέτιση με το SOM. Αυτό το αποτέλεσμα είναι αντίθετο με τους Kakabouki *et al.* (2020) σε καλλιέργεια σόγια [245, 252].

Ο δείκτης NUESoil επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση, το οποίο έρχεται σε συμφωνία με τους Escuer-Gatius *et al.* [253]. Ενώ στη δεύτερη καλλιεργητική περίοδο η ανόργανη λίπανση δεν διέφερε σημαντικά από τη βιολογική, στην τελευταία πειραματική καλλιεργητική περίοδο σημειώθηκαν μεγαλύτερες τιμές NUESoil στις βιολογικές λιπάνσεις, το οποίο οφείλεται κυρίως στην πιο σταδιακή και διαρκή απελευθέρωση του αζώτου και στη βελτιωμένη υγεία του εδάφους. Αυτοί οι παράγοντες συμβάλλουν συλλογικά στην αποτελεσματικότερη πρόσληψη αζώτου από τα φυτά και στην αύξηση μεγαλύτερης βιομάζας, με αποτέλεσμα υψηλότερη αποδοτικότητα χρήσης αζώτου σε σύγκριση με την ανόργανη λίπανση [254-256]. Αυτό επιβεβαιώνεται και στο πείραμά μας από την θετική συσχέτιση του δείκτη NUESoil με την IAK ($r=0.50$, $p<=0.001$) και το STN ($r=0.61$, $p<=0.001$),

Σύμφωνα με τις τιμές του δείκτη NUpE, ενώ για τις δύο πρώτες καλλιεργητικές περιόδους, η συσσώρευση αζώτου στη φυτική βιομάζα ανά μονάδα διαθέσιμου εδαφικού αζώτου, το οποίο προήλθε από την προσθήκη των λιπασμάτων και του εδαφικού, δεν διέφερε μεταξύ των ανόργανων και βιολογικών λιπάνσεων, στην τελευταία καλλιεργητική περίοδο σημειώνονται μεγαλύτερες τιμές του δείκτη NUpE στις βιολογικές λιπάνσεις. Αυτό το συμπέρασμα είναι σύμφωνο με τους Akter *et al.* που σημείωσαν ότι ο δείκτης NUpE επηρεάζεται από την παροχή αζωτούχων λιπασμάτων [257]. Επίσης, οι μεγαλύτερες τιμές του δείκτη NUpE μπορεί να οφείλονται στη δέσμευση του διαθέσιμου αζώτου από τις ρίζες των φυτών και στη συνέχεια στη χρήση του από το φυτό [258]. Η υψηλή οργανική ουσία βελτιώνει τη δομή του εδάφους, την ικανότητα συγκράτησης νερού και τη μικροβιακή δραστηριότητα, τα οποία ενισχύουν την πρόσληψη αζώτου [259, 260]. Αυτό επιβεβαιώνεται και στο πείραμά μας όπου ο δείκτης NUpE παρουσίασε θετική συσχέτιση με το SOM ($r=0.50$, $p<=0.001$). Επίσης, η

σταδιακή απελευθέρωση του αζώτου από τα βιολογικά λιπάσματα μπορεί να επέτρεψε στα φυτά τριγωνέλλας να εκμεταλλευτούν καλύτερα τις εφαρμοζόμενες μονάδες αζώτου.

Ο δείκτης NUEbalance, δηλαδή η ισορροπία μεταξύ εισροών και εκροών αζώτου στην καλλιέργεια τριγωνέλλας, επηρεάστηκε σημαντικά από τα επίπεδα αλατότητας και το είδος της λίπανσης. Η παρουσία υψηλής αλατότητας μείωσε το δείκτη NUEbalance. Επίσης, οι επεμβάσεις NPK, BHS και FYM δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Στη 2^η ΚΠ, σημειώνεται εξαιρετική αποδοτικότητα χρήσης του αζώτου από την καλλιέργεια τριγωνέλλας, που ταυτόχρονα εγείρει πιθανές ανησυχίες σχετικά με τη μακροπρόθεσμη βιωσιμότητα των επιπέδων αζώτου στο έδαφος. Ο συγκεκριμένος δείκτης φαίνεται από την βιβλιογραφία ότι χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση των υπάρχοντων ορθών καλλιεργητικών πρακτικών [261]. Ο δείκτης NUEbalance σημείωσε θετική συσχέτιση με το LAI ($r=0.66$, $p<=0.001$) και την IAK ($r=0.68$, $p<=0.001$).

Ο δείκτης NP σημείωσε αρνητική σχέση με το STN ($r=-0.37$, $p<=0.001$) και το LAI ($r=-0.47$, $p<=0.001$). Αυτό ενδέχεται να οφείλεται στο γεγονός ότι η οργανική ύλη αποσυντίθεται αργά, απελευθερώνοντας σταδιακά το άζωτο, και η αργή αυτή απελευθέρωση μπορεί να περιορίσει την άμεση διαθεσιμότητά του στα φυτά επηρεάζοντας την ανάπτυξή τους [262, 263]. Ο δείκτης NP επηρεάστηκε από την προσθήκη της λίπανσης αλλά οι βιολογικές λιπάνσεις και η ανόργανη λίπανση δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Υψηλές τιμές του δείκτη NP συνδέονται με ταχεία ανάπτυξη, αποτελεσματική χρήση του αζώτου που επενδύεται στα φύλλα για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης και σχετικά μικρή χρήση άνθρακα στην αναπνοή [217-219].

Ο δείκτης NUEecology σημείωσε αρνητική σχέση με το STN ($r=-0.59$, $p<=0.001$) και την IAK ($r=-0.51$, $p<=0.001$). Επειδή ο δείκτης αυτός περιλαμβάνει το χρόνο παραμονής στο χωράφι, κρίνεται λογικό ότι όσο παραμένει η καλλιέργεια στο χωράφι απορροφά και καταναλώνει STN, και γι' αυτό το λόγο εμφανίζεται αρνητική συσχέτιση μεταξύ NUEecology και STN. Ο δείκτης NUEecology επηρεάστηκε από την προσθήκη λίπανσης αλλά οι βιολογικές και η ανόργανη λίπανση δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

3.4 Συμπέρασμα

Η μελέτη καταδεικνύει ότι το είδος της λίπανσης επηρεάζει σημαντικά διάφορες εδαφικές παραμέτρους. Η βιολογική λίπανση, ιδίως η επέμβαση BHS, έδειξε ανώτερη απόδοση στην αύξηση των STN, IAK και SOM, ενώ παράλληλα μείωσε τους κινδύνους που σχετίζονται με την έκπλυση θρεπτικών στοιχείων και την υπερλίπανση. Αυτό ευθυγραμμίζεται με την παγκόσμια ανάγκη βελτίωσης της αποδοτικότητας της χρήσης αζώτου και της βιώσιμης διαχείρισης της υγείας του εδάφους. Με την αξιολόγηση των δεικτών αζώτου, οι ερευνητές μπορούν να αναπτύξουν καθεστώτα λίπανσης που μεγιστοποιούν τη χρήση του αζώτου στην καλλιέργεια, μειώνοντας τις απώλειες και βελτιώνοντας τη βιωσιμότητα.

Τα βιολογικά λιπάσματα βελτίωσαν διάφορους δείκτες αποδοτικότητας του αζώτου, όπως οι δείκτες NUEcrop, PFP, REfertN και NUpe, υποδεικνύοντας πιο αποτελεσματική και βιώσιμη αξιοποίηση του αζώτου από τα φυτά τριγωνέλλας σε σύγκριση με τα ανόργανα λιπάσματα. Η βελτίωση αυτή αποδίδεται στη βαθμιαία απελευθέρωση αζώτου από οργανικές πηγές, στην καλύτερη δομή του εδάφους και στην ενισχυμένη

μικροβιακή δραστηριότητα. Αξίζει να σημειωθεί ότι η βιολογική λίπανση οδήγησε επίσης σε υψηλές τιμές των δεικτών PNB και ΑΕ. Η αλατότητα εμποδίζει την αποτελεσματική απορρόφηση του αζώτου, μειώνοντας την αποτελεσματικότητα των πρακτικών λίπανσης. Συνεπώς, η διαχείριση των επιπέδων αλατότητας είναι ζωτικής σημασίας για τη βελτιστοποίηση της απορρόφησης αζώτου και τη διατήρηση της υγείας του εδάφους.

Αντίθετα, τα ανόργανα λιπάσματα, ενώ παρείχαν άμεση διαθεσιμότητα αζώτου, συχνά οδηγούσαν σε ανισορροπίες θρεπτικών στοιχείων, όπως χαμηλή τιμή του δείκτη NUE και πιθανές απώλειες αζώτου, υπογραμμίζοντας την ανάγκη για ισορροπημένες και καλά διαχειριζόμενες πρακτικές λίπανσης. Με στόχο να διατηρηθεί η υψηλή παραγωγικότητα χωρίς να εξαντλείται η γονιμότητα του εδάφους, είναι σημαντικό να εφαρμόζονται ολοκληρωμένες πρακτικές διαχείρισης του εδάφους, συμπεριλαμβανομένων των τακτικών εδαφολογικών ελέγχων, της ισορροπημένης λίπανσης και της ενσωμάτωσης βιολογικών επεμβάσεων.

3^ο Πείραμα

Σύγκριση επίδρασης βιολογικής - ανόργανης λίπανσης και αξιολόγηση υψηλής αλατότητας στην ποιότητα ζωοτροφής τριγωνέλλας



4 Σύγκριση επίδρασης βιολογικής - ανόργανης λίπανσης και αξιολόγηση υψηλής αλατότητας στην ποιότητα ζωοτροφής τριγωνέλλας

Μηδενική υπόθεση (Null hypothesis)

H0: Η ποιότητα της ζωοτροφής δεν θα διαφέρει σημαντικά μεταξύ των λιπάνσεων και της επέμβασης της αλατότητας.

4.1 Εισαγωγή

4.1.1 Η σημαντικότητα της τριγωνέλλας ως ζωοτροφή

Πολλά φαρμακευτικά φυτά ή βότανα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως πρόσθετα ζωοτροφών για ζώα, πουλερικά και ψάρια με στόχο την αύξηση της αποτελεσματικότητας της τροφής και κατ' επέκταση της παραγωγής. Τα φαρμακευτικά φυτά έχουν τη δυνατότητα ενίσχυσης διάφορων φυσιολογικών λειτουργιών όπως η καταπολέμηση του στρες, η ενίσχυση του ανοσοποιητικού κ.λπ. Η ενσωμάτωση 10% εκχυλίσματος ενός μείγματος φυτικών υλών, συμπεριλαμβανομένων των σπόρων τριγωνέλλας, μείωσε την παραγωγή αφλατοξίνης από τον *Aspergillus flavus* περίπου 85-90% σε ζώα [264]. Η τριγωνέλλα διεγείρει την έκκριση χολής, αυξάνοντας τη μετατροπή της χοληστερόλης σε χολικά άλατα [265]. Επιπρόσθετα, η τριγωνέλλα παράγει υψηλής ποιότητας ζωοτροφή σε όλα τα στάδια ανάπτυξης της [266], καθώς έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πολλά θρεπτικά συστατικά και φυτοχημικές ουσίες (π.χ. διοσγενίνη) που προάγουν την ανάπτυξη και την παραγωγή γάλακτος στα ζώα [2, 267]. Η θρεπτική αξία της χορτονομής της είναι συγκρίσιμη με αυτήν της μηδικής σε όλα τα στάδια ανάπτυξης μέχρι στην πρώιμη ανθοφορία [118]. Η ενσωμάτωσή της στη διατροφή των βοοειδών είχε ως αποτέλεσμα τη βελτίωση των παραμέτρων ποιότητας του γάλακτος και του μεταβολισμού των ζώων [268]. Επίσης, όταν αυξήθηκε η προσθήκη σπόρων τριγωνέλλας στο σιτηρέσιο προβάτων αυξήθηκε σημαντικά η απόδοσή τους [269].

Η τριγωνέλλα συμβάλει θετικά στην παραγωγή πουλερικών. Στη βιβλιογραφία σημειώνεται η θετική επίδραση της ενσωμάτωσης πολλών βοτάνων, όπως η τριγωνέλλα, στην απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών και στην εξάλειψη των παθογόνων μικροοργανισμών από το γαστρεντερικό σωλήνα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της ανάπτυξης και της παραγωγικότητας των πουλερικών. Η συμπλήρωση του σιτηρεσίου με τριγωνέλλα σε κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής αύξησε το σωματικό βάρος τους [270] και σημειώθηκε μείωση του ποσοστού θνησιμότητας των πουλερικών [271]. Επίσης, μπορεί να αντικαταστήσει τη χρήση αντιβιοτικών όπως η ενροφλοξασίνη [159].

Τα ψάρια θεωρούνται μία από τις καλύτερες πηγές άπαχης πρωτεΐνης. Στην εμπορική παραγωγή ψαριών, τα αντιβιοτικά και οι ορμόνες προστίθενται όλο και περισσότερο στη διατροφή για ταχύτερο ρυθμό ανάπτυξης. Ωστόσο, υπάρχουν αυστηροί κανονισμοί για την εφαρμογή αντιβιοτικών στις ιχθυοτροφές λόγω ανησυχιών για βιοσυσσώρευση [272]. Η προσθήκη διαφορετικών ποσοστών τριγωνέλλας στη διατροφή του κοινού κυπρίνου είχε ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της ανάπτυξης και των αιματολογικών παραμέτρων [273].

4.1.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την χορτονομή τριγωνέλλας

Η τριγωνέλλα μπορεί να δώσει υψηλής ποιότητας και ποσότητας χορτονομή. Η τριγωνέλλα όπως και άλλα ψυχανθή είναι μια σημαντική πηγή φυτικής διατροφικής πρωτεΐνης τόσο για τα ζώα όσο και για τον άνθρωπο [5]. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ποιότητα της τριγωνέλλας ως ζωοτροφή δεν διαφέρει σημαντικά από την μηδική (*Medicago sativa*) [274]. Όμως, η περίοδος συγκομιδής ή βόσκησης αποτελεί σημαντικό παράγοντα, καθώς η τριγωνέλλα που συγκομίζεται στο στάδιο της ωριμότητας έχει χαμηλότερη διατροφική αξία από τη μηδική [275]. Οι Kamalak *et al.* έδειξαν ότι όσο προχωράει η ωριμότητα του φυτού, τόσο μειώνεται η θρεπτική του αξία [276]. Επιπλέον, ο ώριμος σανός τριγωνέλλας είναι συγκρίσιμος σε θρεπτικά συστατικά και πεπτικότητα με τη μηδική [277]. Παρ' όλα αυτά, η χορτονομή της τριγωνέλλας έχει μέτρια προς υψηλή συγκέντρωση σε ακατέργαστη πρωτεΐνη και είναι αρκετά εύπεπτη [276].

Ένας ακόμα παράγοντας που επηρεάζει την ποιότητα της τριγωνέλλας ως ζωοτροφή είναι η βροχόπτωση. Σε συνθήκες συχνών βροχοπτώσεων, η θρεπτική αξία είναι συγκρίσιμη ή μεγαλύτερη από αυτή της μηδικής, ενώ σε ξηρικές συνθήκες η απόδοση σε βιομάζα εμφανίζεται χαμηλότερη από τις μέσες αποδόσεις της μηδικής [278-280].

Το γενετικό υλικό θεωρείται κρίσιμος παράγοντας για την απόδοση και την ποιότητα της τριγωνέλλας ως ζωοτροφή. Στον Καναδά, οι ερευνητές έδειξαν ότι η ποιότητα τριγωνέλλας ως ζωοτροφή επηρεάζεται σημαντικά από την τοποθεσία και το γονότυπο. Συμπέραναν λοιπόν ότι η βελτίωση της χορτονομής είναι δυνατή μέσω της φαινοτυπικής επιλογής [10]. Σε έρευνα που αφορούσε δύο ποικιλίες τριγωνέλλας (Mithe και EP 101), με και χωρίς ανόργανη λίπανση (0 και 40 kg ha⁻¹), σε δύο ημερομηνίες κοπής, διαπιστώθηκε ότι η απόδοση σε χορτονομή δεν επηρεάστηκε από το αζωτούχο λίπασμα, αλλά από τις ποικιλίες και τις κοπές [281]. Αντίθετα, καταγράφεται ότι η χορτονομή τριγωνέλλας επηρεάζεται σημαντικά από τη λίπανση. Σε έρευνα όπου εξετάστηκε εύρος δόσεων φωσφορούχας λίπανσης (0, 30, 40, 50 and 60 kg ha⁻¹), έδειξε ότι η υψηλότερη απόδοση χορτονομής επιτεύχθηκε όταν εφαρμόστηκαν 50 έως 60 kg ha⁻¹ [16].

Σε άλλη συγκριτική μελέτη επίδρασης της ανόργανης και βιολογικής λίπανσης στην απόδοση χορτονομής και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά της, τα αποτελέσματά έδειξαν ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών ειδών λίπανσης ως προς όλα τα ποσοτικά χαρακτηριστικά [282]. Ωστόσο, η υψηλότερη απόδοση νωπής και ξηρής χορτονομής σημειώθηκε με τη χρήση ανόργανης λίπανσης. Αντίθετα, τα καλύτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά (πεπτικότητα ξηρής ύλης, οργανική ύλη φύλλων, οργανική ουσία στελεχών) σημειώθηκαν με την εφαρμογή βιολογικής λίπανσης [282].

Επιπρόσθετα, η τριγωνέλλα λειτουργεί πολύ αποτελεσματικά και σε συστήματα συγκαλλιέργειας [283, 284]. Μία έρευνα έδειξε ότι ο συνδυασμός 50% κριθάρι με 50% τριγωνέλλα με εφαρμογή 36 t ha⁻¹ FYM παρήγαγε τη μέγιστη απόδοση και ποιότητα ξηρής χορτονομής και το υψηλότερο LER σε σύγκριση με τους υπόλοιπους συνδυασμούς [283]. Σε άλλη μελέτη διαπιστώθηκε ότι ο συνδυασμός σόργου-τριγωνέλλας 1:1 απέδωσε πολύ καλά αποτελέσματα σε ξηρά ουσία με την εφαρμογή συνδυασμού βιολογικής και ανόργανης λίπανσης [284].

Στην Αμερική, στον Καναδά και στο Μεξικό καταγράφονται πολλές έρευνες για την χρήση της τριγωνέλλας σε ποιμενικά συστήματα (Agro-pastoral systems). Κρίνεται πολύ σημαντικό το γεγονός ότι η τριγωνέλλα ως ζωοτροφή έχει τη δυνατότητα να μειώσει τη μεγάλη εξάρτηση των βοοειδών που βόσκουν σε δασικές εκτάσεις (τροπικές και υποτροπικές χώρες) όπου η έλλειψη ποιοτικής χορτονομής επηρεάζει την κτηνοτροφική παραγωγή [5].

4.2 Σκοπός μελέτης

Παγκοσμίως, η ζήτηση για βιολογικά γαλακτοκομικά προϊόντα έχει δώσει κίνητρα στους αγρότες να μετατρέψουν τη γη τους σε βιολογική παραγωγή ζωοτροφών. Οι οικονομικές και περιβαλλοντικές ανησυχίες έχουν οδηγήσει σε αυξανόμενο ενδιαφέρον και ζήτηση για βιολογικά παραγόμενα τρόφιμα [285]. Επιπρόσθετα, ένας από τους ταχύτερα αναπτυσσόμενους τομείς της βιολογικής γεωργίας στην Ευρώπη είναι η παραγωγή βιολογικού γάλακτος [286].

Η τριγωνέλλα είναι μία καλλιέργεια που εξετάζεται τα τελευταία χρόνια ως ζωοτροφή. Η κατανόηση των επιπτώσεων των διαφόρων μεθόδων λίπανσης (βιολογικών και ανόργανων) και της υψηλής εδαφικής αλατότητας στην ποιότητα της τριγωνέλλας μπορεί να είναι ζωτικής σημασίας για τη βελτιστοποίηση της διατροφής των ζώων. Η τριγωνέλλα χρησιμοποιείται συχνά στα σιτηρέσια λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και της υψηλής θρεπτικής της αξίας. Ο προσδιορισμός του τρόπου με τον οποίο η λίπανση και η αλατότητα επηρεάζουν την ποιότητά της μπορεί να βοηθήσει τους αγρότες να λαμβάνουν τεκμηριωμένες αποφάσεις σχετικά με τις πρακτικές διαχείρισης των ζωοτροφών, βελτιώνοντας τελικά την υγεία και την παραγωγικότητα του ζωικού τους κεφαλαίου. Παρόλα αυτά υπάρχει έλλειψη στη βιβλιογραφία για την καλλιέργεια της τριγωνέλλας σε βιολογικά συστήματα.

Η ποιότητα των ζωοτροφών επηρεάζει άμεσα την υγεία και την απόδοση των ζώων. Αξιολογώντας τις επιδράσεις της λίπανσης και της αλατότητας στην ποιότητα της ζωοτροφής τριγωνέλλας, οι ερευνητές μπορούν να εντοπίσουν πιθανούς παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την υγεία των ζώων, τους ρυθμούς ανάπτυξης, την παραγωγή γάλακτος και άλλους δείκτες απόδοσης. Οι πληροφορίες αυτές είναι απαραίτητες για τους κτηνοτρόφους που στοχεύουν στη μεγιστοποίηση της αποδοτικότητας και της κερδοφορίας των επιχειρήσεών τους, διασφαλίζοντας παράλληλα την ευημερία των ζώων τους.

Η κτηνοτροφία αποτελεί σημαντική οικονομική δραστηριότητα σε πολλές περιοχές. Η βελτιστοποίηση της ποιότητας των ζωοτροφών μπορεί να οδηγήσει σε κερδοφορία για τους κτηνοτρόφους, μειώνοντας την ανάγκη για συμπληρωματικές ζωοτροφές και κτηνιατρικές παρεμβάσεις. Επιπλέον, οι υψηλής ποιότητας ζωοτροφές μπορούν να ενισχύσουν την αγοραστική αξία των κτηνοτροφικών προϊόντων, όπως το κρέας και τα γαλακτοκομικά, αυξάνοντας την κερδοφορία και την ανταγωνιστικότητα των εκμεταλλεύσεων.

Ταυτόχρονα, η τριγωνέλλα είναι μία καλλιέργεια που έχει αντοχή σε αλατούχα εδάφη. Η αυξημένη αλατότητα είναι αποτέλεσμα της υποβάθμισης και ερημοποίησης της γης, ειδικά στις αρδευόμενες πεδινές

περιοχές με ατελή στράγγιση. Τα αλατούχα εδάφη μειώνουν όχι μόνο τη διαθεσιμότητα του νερού στις καλλιέργειες, αλλά και τη διαθεσιμότητα των μικροθρεπτικών στοιχείων σε αυτές.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι να εξεταστεί η ποιότητα τριγωνέλλας ως χορτονομή αφενός σε βιολογικά και συμβατικά συστήματα λίπανσης και αφετέρου σε εδάφη με υψηλή αλατότητα.

4.3 Υλικά και Μέθοδοι

4.3.1 Περιεκτικότητα αζώτου - πρωτεΐνης

Ο προσδιορισμός των διάφορων μορφών αζώτου που περιέχονται στις ζωοτροφές είναι ένας σημαντικός παράγοντας αξιολόγησης της ποιότητας των ζωοτροφών. Οι πρωτεΐνες αποτελούν ουσιώδες συστατικό του ζωικού σώματος, συναντώνται σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού και στο αίμα και αποτελούν ποσοτικά το μεγαλύτερο μέρος της οργανικής του ουσίας. Το ολικό άζωτο προσδιορίζεται με τη κλασσική μέθοδο Kjeldahl [287]. Τα βήματα της μεθόδου είναι τα εξής:

1. Τοποθετήθηκε σε 20 γυάλινες φιάλες πέψεως 0.5 g δείγματος ζωοτροφής μαζί με 15 g θειικού καλίου και 1 gr θειικού χαλκού.
2. Προστέθηκε στη φιάλη πέψεως (φιάλη Kjeldahl) 20-25 ml πυκνού θειικού οξέος 95-97%, ειδικού βάρους 1,84.
3. Τοποθετήθηκαν οι φιάλες με τη σειρά στην ειδική μεταλλική υποδοχή της συσκευής πέψεως και κατόπιν προσεχτικά στη συσκευή πέψεως εντός της απαγωγού εστίας (Εικόνα 4-1).
4. Θέρμανση της φιάλης πέψεως για περίπου μία (1) ώρα.
5. Απομάκρυνση της φιάλης από τη θερμαντική εστία και παραμονή επί μερικά λεπτά ώστε να κρυώσει ελαφρά.
6. Τοποθέτηση της φιάλης στη συσκευή απόσταξης Varodest 40.
7. Τιτλοδότηση του περιεχομένου της κωνικής φιάλης με δεκατοκανονικό (N/10) διάλυμα υδροχλωρικού οξέος.
8. Ο υπολογισμός της ποσότητας αζώτου και πρωτεΐνης της τροφής πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 4-1 και Εξίσωση 4-2.

$$\text{Ολικό άζωτο (\%)} = \frac{\text{μέτρηση}}{97,4} * 100 (\%) \quad 4-1$$

$$\text{Πρωτεΐνη (\%)} = \text{ολικό άζωτο} * 6,25 (\%) \quad 4-2$$

Η πρωτεΐνη υπολογίστηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο.



Εικόνα 4-1 Αυτόματη συσκευή Foss - Kjeltec 8400

4.3.2 Απόδοση σε πρωτεΐνη

Η απόδοση πρωτεΐνης σπόρων αναφέρεται στην ποσότητα πρωτεΐνης που παράγεται ανά μονάδα σπόρου που συγκομίζεται από μια καλλιέργεια. Είναι ένα μέτρο της ποσότητας πρωτεΐνης που μπορεί να ληφθεί από μια δεδομένη ποσότητα σπόρων. Η απόδοση πρωτεΐνης σπόρων εκφράζεται συνήθως σε όρους μάζας (π.χ. γραμμάρια ή χιλιόγραμμα) πρωτεΐνης ανά μονάδα καλλιεργούμενης έκτασης (π.χ. ανά εκτάριο).

Η απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρων αποτελεί σημαντικό παράγοντα στη γεωργία, ιδίως για καλλιέργειες που καλλιεργούνται για την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες, όπως τα όσπρια (π.χ. σόγια, μπιζέλια, φακές) και οι ελαιούχοι σπόροι (π.χ. ελαιοκράμβη, ηλίανθος). Αποτελεί βασικό παράγοντα για την αξιολόγηση της διατροφικής αξίας και της οικονομικής βιωσιμότητας αυτών των καλλιεργειών για ανθρώπινη κατανάλωση, ζωοτροφές και βιομηχανικές χρήσεις. Η αύξηση της απόδοσης σε πρωτεΐνη σπόρων αποτελεί συχνά στόχο της φυτικής αναπαραγωγής και της γεωργικής έρευνας με στόχο τη βελτίωση της παραγωγικότητας και της βιωσιμότητας των καλλιεργειών.

Η απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου (Seed protein yield (kg ha^{-1})) υπολογίζεται με την Εξίσωση 4-3.

$$\text{seed protein yield} \left(\frac{\text{kg}}{\text{ha}} \right) = \text{crude protein} (\%) * \text{seed yield} \left(\frac{\text{kg}}{\text{ha}} \right) \quad 4-3$$

Η απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού (Plant biological protein yield (kg ha^{-1})) υπολογίζεται με την Εξίσωση 4-4.

$$\text{biological protein yield} \left(\frac{\text{kg}}{\text{ha}} \right) = \text{crude protein} (\%) * \text{biological yield} \left(\frac{\text{kg}}{\text{ha}} \right) \quad 4-4$$

4.3.3 Τέφρα

Με τον όρο ανόργανα στοιχεία νοούνται τα στοιχεία που βρίσκονται στον οργανισμό με τη μορφή ανόργανων αλάτων ή τα στοιχεία που λαμβάνονται με τη μορφή αυτή κατά την αποτέφρωση του εξεταζόμενου δείγματος

τροφής. Χρησιμοποιήθηκε η αναλυτική μέθοδος Weende Henneberg και Stohmann (1864) και σκοπός της μεθόδου ήταν ο έμμεσος προσδιορισμός της οργανικής ουσίας του δείγματος μετά από καύση της οργανικής του ουσίας. Τα βήματα της μεθόδου είναι τα εξής:

1. Καθαρά χωνευτήρια πορσελάνης διαμέτρου 3-5 cm και βάθους όχι μεγαλύτερου των 5 cm τοποθετούνται στο πυραντήριο σε θερμοκρασία 100 °C για μια ώρα.
2. Τα χωνευτήρια, μαζί με τη βοήθεια πυράγρας, μεταφέρονται σε υάλινο ξηραντήρα μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος.
3. Ζυγίζονται τα χωνευτήρια και αμέσως μετά προστίθεται 1 g στο καθένα.
4. Τοποθετούμε τα χωνευτήρια στον κλίβανο αποτέφρωσης.
5. Τα χωνευτήρια, μετά την πάροδο των 4.5 ωρών, μεταφέρονται με τη βοήθεια πυράγρας σε υάλινο ξηραντήρα και στη συνέχεια ζυγίζονται.

Η αποτέφρωση θεωρείται πλήρης όταν το υπόλειμμα έχει χρώμα λευκό ή γκριζό. Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας % της τροφής σε τέφρα χρησιμοποιείται η Εξίσωση 4-5.

$$Τέφρα(g) = \frac{\text{Μεικτό βάρος μετά την καύση} - \text{Βάρος κάψας}}{\text{Καθαρό βάρος δείγματος}} * 100 (g) \quad 4-5$$

Η τέφρα υπολογίστηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο.

4.3.4 Ξηρά ουσία (ΞΟ)

Από πολλούς ερευνητές ο προσδιορισμός της ΞΟ μιας ζωοτροφής δεν θεωρείται ως καθ' αυτό χημικός προσδιορισμός, όμως ο ακριβής προσδιορισμός της ΞΟ είναι απαραίτητος για τον προσδιορισμό των οποιονδήποτε άλλων χημικών συστατικών. Η αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η αναλυτική τακτική Weende Henneberg και Stohmann (1864) και σκοπός της μεθόδου ήταν ο έμμεσος προσδιορισμός της ΞΟ προσδιορίζοντας την υγρασία του δείγματος. Η μέθοδος ήταν η εξής:

1. Τοποθετούνται στο πυραντήριο, σε θερμοκρασία 100°C για μια ώρα, καθαρά γυάλινα φιαλίδια διαμέτρου περίπου 6 cm.
2. Τα φιαλίδια μεταφέρονται με τη βοήθεια πυράγρας σε υάλινο ξηραντήρα μέχρι να αποκτήσουν την θερμοκρασία περιβάλλοντος.
3. Ζυγίζονται τα φιαλίδια και αμέσως μετά προσθέσαμε, 3-4 g δείγματος σε κάθε κάψα.
4. Τοποθετούνται τα φιαλίδια στο πυραντήριο σε θερμοκρασία 103°C για 8 ώρες.
5. Τα φιαλίδια μεταφέρονται με τη βοήθεια πυράγρας σε υάλινο ξηραντήρα μέχρι να αποκτήσουν την θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια γίνεται ζύγιση των δειγμάτων.

Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας % της τροφής σε ξηρή ουσία χρησιμοποιείται η Εξίσωση 4-6.

$$\text{ΞΟ (g)} = \frac{\text{Μεικτό βάρος μετά τη ξήρανση} - \text{Βάρος φιαλίδιο}}{\text{Καθαρό βάρος δείγματος}} * 100 \text{ (g)}$$

4-6

Η ξηρά ουσία υπολογίστηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο.

4.3.5 Λιπαρές ουσίες

Για τον προσδιορισμό των λιπαρών ουσιών χρησιμοποιήθηκε η συσκευή SOXTEC AVANTI 2055 (Εικόνα 4-2). Η αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η αναλυτική τακτική Weende Henneberg και Stohmann (1864) με τα βήματα:

1. Ζύγιση δειγμάτων σε φυσίγγια εκχύλισης στα 2 g σε ζυγό ακριβείας 0.1 mg και εισαγωγή μέσα σε μονάδα εκχύλισης.
2. Προσθήκη πετρελαϊκού αιθέρα (διαλύτη) στα μεταλλικά δοχεία εκχύλισης και το διαλυτό υλικό (λίπος) εκχυλίζεται μέσα στο διαλύτη σε μια διαδικασία δύο σταδίων. Στο πρώτο στάδιο το δείγμα εμβαπτίζεται μέσα σε βραστό διαλύτη για να διαλυθεί όλο το λίπος.
3. Στο δεύτερο στάδιο το δείγμα αναδύεται πάνω από την επιφάνεια του διαλύτη για να επιτρέψει επαρκές ξέπλυμα με το διαλύτη από τους συμπυκνωτές.
4. Μετά το πέρας της εκχύλισης, οι βαλβίδες του συμπυκνωτή κλείνουν, ανεβάζοντας τα δείγματα στην υψηλότερη θέση και μετά από μερικά λεπτά η μεγαλύτερη ποσότητα του διαλύτη συλλέγεται από τον συμπυκνωτή σε δοχείο συλλογής.
5. Τα τελευταία κατάλοιπα του διαλύτη εξατμίζονται όταν ανοίξει η αντλία αέρα.
6. Στο τέλος της διαδικασίας τα φυσίγγια εκχύλισης ξηράθηκαν και ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας 0.1 mg.



Εικόνα 4-2 Συσκευή SOXTEC AVANTI 2055

4.3.6 Ινώδεις Ουσίες

Ο προσδιορισμός των ινωδών ουσιών πραγματοποιήθηκε με συσκευή πέψης (ANKOM200, ANKOM Technology) και η διαδικασία προσδιορισμού τους έχει ως εξής:

1. Ζυγίστηκαν 0.98-0.99 g αλεσμένου δείγματος σε ζυγό ακριβείας 0.1 mg και σημειώθηκαν τα ειδικά σακίδια με ανεξίτηλο μαρκαδόρο. Αφέθηκε ένα κενό σακίδιο για έλεγχο της διαδικασίας.
2. Θερμοσυγκολλήθηκαν τα σακίδια στα 4 mm περίπου από την ανοιχτή πλευρά.
3. Εμβαπτίστηκαν τα σακίδια σε πετρελαϊκό αιθέρα σε δύο ποτήρια ζέσεως των 250 ml για 10 λεπτά και ανακινήθηκαν για ομοιόμορφη κατανομή του δείγματος, επαναλαμβάνοντας τη διαδικασία τρεις φορές.
4. Τοποθετήθηκαν τα σακίδια σε 8 ειδικές θήκες και τοποθετήθηκαν στη συσκευή πέψης. Προστέθηκαν 1900 ml διαλύματος H_2SO_4 (0.255 N), σφραγίστηκε η συσκευή και ενεργοποιήθηκε η ανάδευση και η θέρμανση στους 100 °C για 45 λεπτά.
5. Απενεργοποιήθηκε η συσκευή, απομακρύνθηκε το διάλυμα και ξεπλύθηκαν τα σακίδια τρεις φορές με 1900 ml θερμού (90-95°C) απιονισμένου νερού. Προστέθηκαν 1900 ml διαλύματος NaOH (0,313 N), σφραγίστηκε η συσκευή, ενεργοποιήθηκε η ανάδευση και η θέρμανση στους 100 °C και τα δείγματα παρέμειναν για 45 λεπτά, ακολουθώντας εκπλύσεις με νερό όπως στην πρώτη φάση.
6. Πιέστηκαν ελαφρά τα σακίδια για να απομακρυνθεί η μεγαλύτερη ποσότητα νερού και εμβαπτίστηκαν σε ακετόνη για 8 λεπτά.
7. Τοποθετήθηκαν τα δείγματα για ξήρανση στον κλίβανο (103 °C) για ένα βράδυ και έπειτα σε ξηραντήρα μέχρι να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου, όπου και ζυγίστηκαν με ακρίβεια 0.1 mg.
8. Τοποθετήθηκαν σε προξηραμένες κάψες και αποτεφρώθηκαν για 2 ώρες στους 600 °C.
9. Τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα και, αφού έφθασαν σε θερμοκρασία δωματίου, ζυγίστηκαν με ακρίβεια 0.1 mg για να μετρηθεί η απώλεια βάρους της οργανικής ύλης.

Οι λιπαρές ουσίες υπολογίστηκαν σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο.

4.3.7 Αντιδιαιτητικοί παράγοντες Acid Detergent Fiber (ADF) και Neutral Detergent Fiber (NDF)

Για τον προσδιορισμό των αντιδιαιτητικών παραγόντων NDF και ADF εφαρμόστηκε η διαδοχική μέθοδος Van Soest [288] και χρησιμοποιήθηκε η συσκευή πέψης ANKOM200, ANKOM Technology. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

1. Ζύγιση με ακρίβεια 0.1 mg ειδικών σακιδίων με 0.5 g αλεσμένου δείγματος, καθώς και ενός κενό σακιδίου για έλεγχο.
2. Θερμοσυγκόλληση στα 4 mm από την ανοιχτή πλευρά, εμβάπτιση σε ακετόνη για 10 λεπτά και ανάδευση για ομοιόμορφη κατανομή. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται τρεις φορές.
3. Τοποθέτηση ανά τρία σε 8 ειδικές θήκες και στη συσκευή πέψης με προσθήκη 1900 ml NDS, 20 g θειώδους νατρίου και 4 ml θερμοάντοχης α -αμυλάσης.
4. Σφράγιση και ενεργοποίηση της συσκευής στους 100 °C για 75 λεπτά.

5. Απενεργοποίηση της συσκευής, απομάκρυνση του διαλύματος και ξέπλυμα των σακιδίων τρεις φορές με 1900 ml θερμού απιονισμένου νερού, προσθέτοντας 4 ml θερμοάντοχης α-αμυλάσης στις δύο πρώτες εκπλύσεις. Εμβάπτιση των σακιδίων σε ακετόνη για 3-5 λεπτά και ξήρανση σε κλίβανο (103 °C) για 4 ώρες.
6. Μετά την ψύξη σε ξηραντήρα, καταγραφή του μικτού βάρους. Επανατοποθέτηση στη συσκευή πέψης με 1900 ml ADS για 60 λεπτά.
7. Ξέπλυμα όπως στην πρώτη φάση, χωρίς προσθήκη α-αμυλάσης, εμβάπτιση σε ακετόνη και ξήρανση όπως πριν.
8. Καταγραφή του μικτού βάρους μετά την ψύξη σε ξηραντήρα.
9. Εμβάπτιση σε 72% H₂SO₄ για 3 ώρες, πίεση ανά 30 λεπτά και ξέπλυμα με κρύο νερό για πλήρη απομάκρυνση του οξέος.
10. Εμβάπτιση σε ακετόνη και ξήρανση όπως πριν.
11. Καταγραφή του μικτού βάρους μετά την ψύξη σε ξηραντήρα. Τοποθέτηση των σακιδίων σε προξηραμένες κάψες και αποτέφρωση στους 550±20 °C για 3 ώρες. Τέλος, καταγραφή του μικτού βάρους μετά από ψύξη σε ξηραντήρα.

Οι αντιδιαιτητικοί παράγοντες NDF και ADF υπολογίστηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ).

4.3.8 Πεπτικότητα ξηρής ύλης (Digestible Dry Matter - DDM)

Η ποιότητα της χορτονομής που συγκομίζεται ως σανός ή βρίσκεται στο λιβάδι για βόσκηση εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ωριμότητα της συστάδας. Με την αύξηση της ωριμότητας αυξάνονται οι δομικοί υδατάνθρακες του φυτού, όπως μετρούνται από τους ADF και NDF. Αυτά τα κλάσματα ινών αντιπροσωπεύουν τα πιο δύσπεπτα μέρη του φυτού.

Ως αποτέλεσμα, η πεπτικότητα και η ενέργεια που λαμβάνεται μέσω της ζύμωσης μειώνονται με την ωριμότητα. Ο δείκτης DDM χρησιμοποιείται για τη σύγκριση της ποιότητας της χορτονομής και των σιτηρεσίων από ψυχανθή και ψυχανθή/αγρωστωδών. Η ύπαρξη αυτού του δείκτη είναι πολύ χρήσιμη για τους κτηνοτρόφους και καλλιεργητές ζωοτροφών για την τιμολόγηση του σανού και την πρόβλεψη της απόδοσης των ζώων. Ο υπολογισμός του DDM πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 4-7.

$$DDM = 88.9 - (0.779 * ADF (\%)) \quad 4-7$$

4.3.9 Πρόσληψη ξηρής ύλης (Dry Matter Intake as a percent of body weight - DMI)

Ο δείκτης DMI αναφέρεται στην ποσότητα ξηρής ύλης που καταναλώνει ένα ζώο ως ποσοστό του σωματικού του βάρους (Εξίσωση 4-8).

$$DMI = \frac{120}{NDF (\%)} \quad 4-8$$

Ο αριθμητής υποδηλώνει τη μέγιστη πρόσληψη τροφής σε σιτηρέσια γαλακτοπαραγωγής με βάση τη μηδική, όταν το NDF είναι 1.2 λίβρες ανά 100 λίβρες σωματικού βάρους. Η τιμή προέρχεται από εμπειρικά δεδομένα και χρησιμοποιείται για την προσαρμογή της πρόσληψης ξηρής ύλης βάσει του NDF.

4.3.10 Σχετική αξία ζωοτροφών (Relative Feed Value - RFV)

Ο δείκτης RFV είναι ένας δείκτης που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ποιότητας των ζωοτροφών, κυρίως των χονδροειδών όπως το χόρτο και το σανό (Εξίσωση 4-9). Ο δείκτης RFV βοηθάει στην εκτίμηση της θρεπτικής αξίας των ζωοτροφών και στη σύγκριση διαφορετικών ειδών τροφών.

$$RFV = \frac{DDM * DMI}{1.29} \quad 4-9$$

Όπου DDM είναι η πεπτή ξηρή ύλη, η οποία υπολογίζεται ως ποσοστό της συνολικής ξηρής ύλης που είναι εύπεπτη, και DMI είναι η πρόσληψη ξηρής ύλης, που εκφράζεται ως ποσοστό του σωματικού βάρους του ζώου. Ο σταθερά του διαιρέτη ίση με 1.29 επιλέχθηκε από τη βιβλιογραφία και αναφέρεται στη μηδική σε πλήρη άνθηση.

4.3.11 Στατιστική ανάλυση

Στο Κεφάλαιο 2.2.6 παρέχεται λεπτομερής παρουσίαση της στατιστικής ανάλυσης.

4.4 Αποτελέσματα

4.4.1 Σπόρος

4.4.1.1 Πρωτεΐνη σπόρου (%)

Για τις δύο καλλιεργητικές περιόδους, η πρωτεΐνη σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση ($p \leq 0.001$). Στη 2^η ΚΠ, οι λιπάνσεις σημείωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με την επέμβαση C και μεταξύ τους παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση BHS ίση με $35.89 \pm 0.91\%$ και η ελάχιστη στην επέμβαση C ίση με $24.00 \pm 0.91\%$ (Πίνακας 4-1).

4.4.1.2 Απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου ($kg ha^{-1}$)

Στη 2^η ΚΠ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι η λίπανση ($p \leq 0.001$). Οι επεμβάσεις BHS ($61610.00 \pm 3.541.4 kg ha^{-1}$) και NPK ($62742.00 \pm 3.541.4 kg ha^{-1}$) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (Πίνακας 4-1). Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση FYM ($70,413.00 \pm 3541.4 kg ha^{-1}$). Στην 3^η ΚΠ, η λίπανση ($p \leq 0.001$) και η αλατότητα ($p \leq 0.05$) επηρέασαν στατιστικά σημαντικά την απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου. Η επέμβαση HS ($56766.00 \pm 420.24 kg ha^{-1}$) παρουσίασε 4.00% μικρότερη απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου σε σχέση με την επέμβαση CS ($59035.00 \pm 420.24 kg ha^{-1}$). Η

υψηλότερη απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου καταγράφηκε στην επέμβαση BHS ($75497.00 \pm 3122.2 \text{ kg ha}^{-1}$). Στις επεμβάσεις FYM ($68912.00 \pm 3122.2 \text{ kg ha}^{-1}$) και NPK ($62184.00 \pm 3122.2 \text{ kg ha}^{-1}$) σημειώθηκαν αντίστοιχα 9.56% και 21.41% μικρότερες αποδόσεις σε πρωτεΐνη σπόρου σε σύγκριση με την επέμβαση BHS (Πίνακας 4-1).

4.4.1.3 Τέφρα σπόρου

Στη 2^η ΚΠ, η τέφρα σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p \leq 0.001$). Η επέμβαση HS (4.75 ± 0.01) κατέγραψε σπόρους με 21.48% περισσότερη τέφρα σε σχέση με την επέμβαση CS (3.91 ± 0.01). Στην 3^η ΚΠ, η αλατότητα ($p \leq 0.001$) και η λίπανση ($p \leq 0.001$) επηρέασαν στατιστικά σημαντικά την τέφρα σπόρου. Η επέμβαση HS (4.73 ± 0.005) κατέγραψε σπόρους με 20.66% περισσότερη τέφρα σε σχέση με την επέμβαση CS (3.91 ± 0.005). Οι λιπάνσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με την επέμβαση C, ενώ μεταξύ τους δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Πίνακας 4-1).

4.4.1.4 ΞΟ σπόρου

Στη 2^η ΚΠ, δεν αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός κάποιος από τους δυο παράγοντες. Στην 3^η ΚΠ, η λίπανση ($p \leq 0.001$) επηρέασε στατιστικά σημαντικά τη ΞΟ σπόρου. Οι λιπάνσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με την επέμβαση C, ενώ οι μεταξύ τους διαφορές δεν αξιολογήθηκαν ως στατιστικά σημαντικές. Η ΞΟ σπόρου μεγιστοποιήθηκε στην επέμβαση COMP με τιμή ίση με 91.45 ± 0.08 (Πίνακας 4-1).

4.4.1.5 Λιπαρές ουσίες σπόρου

Στη 2^η ΚΠ, οι παράγοντες της αλατότητας ($p \leq 0.05$) και αυτός της λίπανσης ($p \leq 0.001$) αξιολογήθηκαν ως στατιστικά σημαντικοί για τις λιπαρές ουσίες σπόρου (Πίνακας 4-1). Η επέμβαση HS (3.98 ± 0.17) εμφάνισε σπόρους με 26.88% λιγότερες λιπαρές ουσίες σε σχέση με την επέμβαση CS (5.05 ± 0.17). Οι λιπάνσεις FYM και COMP δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους. Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση BHS. Οι επεμβάσεις FYM (4.65 ± 0.07) και COMP (4.56 ± 0.07) παρουσίασαν αντίστοιχα σπόρους με 2.75% και 4.57% λιγότερες λιπαρές ουσίες σε σύγκριση με την επέμβαση BHS (Πίνακας 4-1). Στην 3^η ΚΠ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Μεταξύ των επεμβάσεων BHS (5.03 ± 0.11) και COMP (4.76 ± 0.11) δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Η μέγιστη τιμή για τις λιπαρές ουσίες στο σπόρο καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (5.03 ± 0.11) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (4.35 ± 0.11). Οι επεμβάσεις FYM (4.90 ± 0.11) και COMP (4.76 ± 0.11) κατέγραψαν αντίστοιχα 2.65% και 5.67% λιγότερες λιπαρές ουσίες στο σπόρο σε σύγκριση με την επέμβαση BHS.

4.4.1.6 Ινώδεις ουσίες σπόρου

Στη 2^η ΚΠ, η αλατότητα ($p \leq 0.05$) και η λίπανση ($p \leq 0.01$) αξιολογήθηκαν ως στατιστικά σημαντικοί παράγοντες. Η επέμβαση HS εμφάνισε σπόρους με ινώδεις ουσίες 11.06 ± 0.27 , ενώ η επέμβαση CS 9.28 ± 0.27 .

Η μέγιστη τιμή για τις ινώδεις ουσίες σπόρου καταγράφηκαν στην επέμβαση της NPK (10.98±0.40) και η ελάχιστη στην επέμβαση της BHS (9.26±0.40). Στην 3^η ΚΠ, οι παράγοντες που αξιολογήθηκαν ως στατιστικά σημαντικοί είναι η αλατότητα ($p < 0.05$) και η λίπανση ($p < 0.001$). Η επέμβαση HS (11.73±0.33) παρουσίασε 28.62% περισσότερες ινώδεις ουσίες στο σπόρο σε σχέση με την επέμβαση CS (9.12±0.33). Οι ινώδεις ουσίες στο σπόρο κατέγραψαν την μέγιστη τιμή τους στην επέμβαση της NPK (11.07±0.28) και την ελάχιστη στην επέμβαση BHS (9.45±0.28). Οι επεμβάσεις COMP (10.8±0.28) και C (10.57±0.28) κατέγραψαν αντίστοιχα 2.50% και 4.73% λιγότερες ινώδεις ουσίες στο σπόρο σε σύγκριση με την επέμβαση NPK, ενώ η επέμβαση FYM (10.23±0.28) παρουσίασε 8.21% λιγότερες ινώδεις από την NPK (Πίνακας 4-1).

Πίνακας 4-1 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην πρωτεΐνη σπόρου (%), απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου (kg ha⁻¹), τέφρα σπόρου, ξηρά ουσία σπόρου (%), λιπαρές ουσίες σπόρου και ινώδεις ουσίες σπόρου

		Πρωτεΐνη σπόρου (%)	Απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου (kg ha ⁻¹)	Τέφρα σπόρου	ΞΟ σπόρου (%)	Λιπαρές ουσίες σπόρου	Ινώδεις ουσίες σπόρου
2^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	35.62 ^a	61610.00 ^{ab}	4.33 ^a	91.49 ^a	4.78 ^a	9.27 ^b
	COMP	31.98 ^c	56086.00 ^b	4.33 ^a	91.42 ^a	4.56 ^{ab}	10.55 ^a
	C	23.07 ^d	26995.00 ^c	4.32 ^a	91.25 ^a	4.15 ^c	10.12 ^{ab}
	FYM	34.89 ^{ab}	70413.00 ^a	4.32 ^a	91.35 ^a	4.65 ^{ab}	9.92 ^{ab}
	NPK	33.33 ^{bc}	62742.00 ^{ab}	4.33 ^a	91.43 ^a	4.45 ^b	10.98 ^a
Αλατότητα	CS	32.27 ^a	63196.00 ^a	3.91 ^a	91.63 ^a	5.05 ^a	9.28 ^b
	HS	31.29 ^a	47942.00 ^a	4.75 ^b	91.14 ^a	3.98 ^b	11.06 ^a
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	ns	3145.28 ^{***}	ns	39.78 ^{**}	43.20 ^{**}
F Λίπανσης	4	123.96 ^{***}	44.85 ^{***}	ns	ns	18.68 ^{***}	5.17 ^{***}
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	35.89 ^a	75497.00 ^a	4.32 ^a	91.37 ^a	5.03 ^a	9.45 ^b
	COMP	31.46 ^b	51657.00 ^c	4.33 ^a	91.45 ^a	4.76 ^{ab}	10.80 ^a
	C	24.00 ^c	31253.00 ^d	4.29 ^b	90.84 ^b	4.35 ^c	10.57 ^a
	FYM	34.58 ^a	68912.00 ^{ab}	4.32 ^a	91.27 ^a	4.90 ^a	10.23 ^{ab}
	NPK	34.37 ^a	62184.00 ^b	4.33 ^a	91.34 ^a	4.53 ^{bc}	11.07 ^a
Αλατότητα	CS	32.95 ^a	59035.00 ^a	3.92 ^a	91.36 ^a	5.17 ^a	9.12 ^b
	HS	31.17 ^a	56766.00 ^b	4.73 ^b	91.15 ^a	4.26 ^a	11.73 ^a
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	29.15 [*]	22891.98 ^{***}	ns	ns	61.28 [*]
F Λίπανσης	4	54.32 ^{***}	61.46 ^{***}	17.33 ^{***}	17.67 ^{***}	12.50 ^{***}	9.65 ^{***}
F Λίπαν x Αλατότ	4	ns	ns	ns	ns	ns	5.91 ^{**}
Υπόλοιπο	16						
Σύνολο	29						

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns: μη σημαντικό ($p > 0,05$).

4.4.2 Φυτικός ιστός

4.4.2.1 Πρωτεΐνη σε φυτικό ιστό

Στη 2^η ΚΠ, η λίπανση επέδρασε στατιστικά σημαντικά στην περιεκτικότητα πρωτεΐνης σε φυτικό ιστό ($p < 0.001$). Οι επεμβάσεις BHS (17.65±0.45%) και FYM (16.67±0.45%) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Οι επεμβάσεις FYM και η NPK παρείχαν αντίστοιχα 16.67±0.45% και 16.11±0.45% πρωτεΐνη σε φυτικό ιστό, ενώ η επέμβαση COMP 15.40±0.45% (Πίνακας 4-2). Στην 3^η ΚΠ, η λίπανση επέδρασε στατιστικά

σημαντικά στην περιεκτικότητα πρωτεΐνης σε φυτικό ιστό ($p \leq 0.001$). Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση της BHS φτάνοντας το $16.5 \pm 0.69\%$ και η ελάχιστη στην επέμβαση C με $11.34 \pm 0.69\%$. Οι επεμβάσεις FYM, NPK και COMP παρείχαν $15.78 \pm 0.69\%$, $14.78 \pm 0.69\%$ και $14.34 \pm 0.69\%$ πρωτεΐνη σε φυτικό ιστό, αντίστοιχα.

4.4.2.2 Απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού

Στη 2^η ΚΠ, η απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Η μεγαλύτερη απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού καταγράφηκε στην επέμβαση της BHS ($19687 \pm 626.04 \text{ kg ha}^{-1}$) και η μικρότερη στην επέμβαση της C ($8816 \pm 626.04 \text{ kg ha}^{-1}$). Η επέμβαση FYM ($18260.00 \pm 626.04 \text{ kg ha}^{-1}$) εμφάνισε 7.81% χαμηλότερη απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ οι επεμβάσεις NPK ($17091.00 \pm 626.04 \text{ kg ha}^{-1}$) και COMP ($14257 \pm 626.04 \text{ kg ha}^{-1}$) εμφάνισαν αντίστοιχα 15.19% και 38.09% μικρότερη απόδοση από την επέμβαση BHS (Πίνακας 4-2). Στην 3^η ΚΠ, η απόδοση σε πρωτεΐνη στον φυτικό ιστό επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Η μεγαλύτερη απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού καταγράφηκε στην επέμβαση της BHS ($18757 \pm 1046 \text{ kg ha}^{-1}$) και η μικρότερη στην επέμβαση C ($8758 \pm 1046 \text{ kg ha}^{-1}$). Η επέμβαση FYM ($17001 \pm 1046 \text{ kg ha}^{-1}$) παρείχε 10.33% χαμηλότερη απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού σε σύγκριση με την BHS, ενώ οι επεμβάσεις NPK ($15136 \pm 1046 \text{ kg ha}^{-1}$) και COMP ($12887 \pm 1046 \text{ kg ha}^{-1}$) παρείχαν αντίστοιχα 23.92% και 45.55% μικρότερη απόδοση σε σχέση με την επέμβαση BHS.

4.4.2.3 Τέφρα φυτικού ιστού

Στη 2^η ΚΠ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της αλατότητας ($p \leq 0.01$). Η επέμβαση HS (8.85 ± 0.03) εμφάνισε 9.83% λιγότερη τέφρα φυτικού ιστού σε σχέση με την CS (9.72 ± 0.03). Στην 3^η ΚΠ, οι παράγοντες της αλατότητας ($p \leq 0.001$) και της λίπανσης ($p \leq 0.001$) αξιολογήθηκαν ως στατιστικά σημαντικοί. Η επέμβαση HS (9.69 ± 0.01) παρουσίασε φυτικό ιστό με 9.49% περισσότερη τέφρα σε σχέση με την επέμβαση CS (8.85 ± 0.01). Οι λιπάνσεις σημείωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με την επέμβαση C, ενώ οι μεταξύ τους διαφορές δεν αξιολογούνται ως στατιστικά σημαντικές (Πίνακας 4-2).

4.4.2.4 ΞΟ φυτικού ιστού

Στη 2^η ΚΠ, κανένας παράγοντας (αλατότητα και λίπανση) δεν αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός. Στην 3^η ΚΠ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Οι λιπάνσεις σημείωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με την επέμβαση C, ενώ οι μεταξύ τους διαφορές δεν αξιολογούνται ως στατιστικά σημαντικές. Η μέγιστη τιμή για την ξηρά ουσία στον φυτικό ιστό καταγράφηκε στην επέμβαση COMP (90.28 ± 0.08) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (89.67 ± 0.08). Οι

επεμβάσεις ΒΗ, ΝΡΚ και FYM παρουσίασαν τιμές ΞΟ φυτικού ιστού ίσες με 90.20±0.08, 90.17±0.08 και 90.09±0.08 αντίστοιχα (Πίνακας 4-2).

4.4.2.5 Λιπαρές ουσίες φυτικού ιστού

Στη 2^η ΚΠ, κανένας από τους παράγοντες της αλατότητας και της λίπανσης δεν αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός. Στην 3^η ΚΠ, οι δύο παράγοντες, της αλατότητας ($p \leq 0.01$) και της λίπανσης ($p \leq 0.001$), αξιολογήθηκαν ως στατιστικά σημαντικοί. Η επέμβαση HS (1.65±0.02) παρήγαγε φυτικό ιστό με 13.33% λιγότερες λιπαρές ουσίες σε σχέση με την επέμβαση CS (1.87±0.02). Η μέγιστη τιμή των λιπαρών ουσιών στο φυτικό ιστό καταγράφηκε στην επέμβαση της ΒΗΣ (1.89±0.03) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (1.66±0.03). Οι επεμβάσεις FYM (1.79±0.03) και COMP (1.77±0.03) παρείχαν αντίστοιχα 5.59% και 6.78% λιγότερες λιπαρές ουσίες στο φυτικό ιστό σε σύγκριση με την επέμβαση ΒΗΣ, ενώ η επέμβαση ΝΡΚ (1.70±0.03) παρείχε 11.18% λιγότερες λιπαρές ουσίες στο φυτικό ιστό (Πίνακας 4-2).

4.4.2.6 ADF φυτικού ιστού (%)

Στη 2^η ΚΠ, οι παράγοντες της αλατότητας ($p \leq 0.05$) και της λίπανσης ($p \leq 0.001$) αξιολογήθηκαν ως στατιστικά σημαντικοί. Η παρέμβαση HS παρείχε 25.20±0.14 % ADF φυτικού ιστού, ενώ η επέμβαση CS παρείχε 26.35±0.14 %.

Στην 3^η ΚΠ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση της ΝΡΚ φτάνοντας το 26.53±0.25% και η ελάχιστη στην C με 22.56±0.25%. Οι ADF στο φυτικό ιστό στις FYM, ΒΗΣ και COMP δεν διέφεραν μεταξύ τους (Πίνακας 4-2).

4.4.2.7 NDF φυτικού ιστού (%)

Στη 2^η ΚΠ, οι παράγοντες της αλατότητας ($p \leq 0.05$) και της λίπανσης ($p \leq 0.001$) αξιολογήθηκαν ως στατιστικά σημαντικοί. Η επέμβαση HS παρουσίασε 29.90±0.14% NDF φυτικού ιστού, ενώ η επέμβαση CS 31.05±0.14%. Οι δείκτες NDF στο φυτικό ιστό στις επεμβάσεις FYM, η ΒΗΣ και COMP δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους. Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση της ΝΡΚ και ήταν ίση με 32.14±0.17%, ενώ η ελάχιστη στην επέμβαση C και ήταν ίση με 29.19±0.17% (Πίνακας 4-2). Στην 3^η ΚΠ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση της ΝΡΚ και ήταν ίση με 31.33±0.25%, ενώ η ελάχιστη στην επέμβαση C και ήταν ίση με 27.36±0.25%. Η FYM έδωσε NDF στο φυτικό ιστό 29.43±0.25%, ενώ η ΒΗΣ και το COMP 28.70±0.25%.

Πίνακας 4-2 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην πρωτεΐνη φυτικού ιστού (%), απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού (kg ha^{-1}), τέφρα φυτικού ιστού, ξηρά ουσία φυτικού ιστού (%), λιπαρές ουσίες φυτικού ιστού (%), ADF φυτικού ιστού (%) και NDF φυτικού ιστού (%)

		Πρωτεΐνη σε φυτικό ιστό (%)	Απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού (kg ha^{-1})	Τέφρα φυτικού ιστού	ΞΟ φυτικού ιστού (%)	Λιπαρές ουσίες φυτικού ιστού (%)	ADF φυτικού ιστού (%)	NDF φυτικού ιστού (%)
2^η ΚΠ								
Λίπανση	BHS	17.65 ^a	19687.00 ^a	9.30 ^a	90.27 ^a	1.87 ^a	25.45 ^b	30.16 ^b
	COMP	15.41 ^b	14257.00 ^c	9.29 ^a	90.21 ^a	1.85 ^a	25.52 ^b	30.22 ^b
	C	11.55 ^c	8816.00 ^d	9.27 ^a	90.03 ^a	4.46 ^a	24.49 ^c	29.19 ^c
	FYM	16.67 ^{ab}	18260.00 ^{ab}	9.28 ^a	90.13 ^a	1.83 ^a	25.97 ^b	30.67 ^b
	NPK	16.12 ^b	17091.00 ^b	9.29 ^a	90.22 ^a	1.74 ^a	27.44 ^a	32.14 ^a
Αλατότητα	CS	15.50 ^a	15639.00 ^a	8.85 ^a	90.42 ^a	3.06 ^a	26.35 ^a	31.05 ^a
	HS	15.46 ^a	15605.00 ^a	9.72 ^b	89.92 ^a	1.64 ^a	25.20 ^b	29.90 ^b
ANOVA	Df	F	F	F	F	F	F	F
F _{Αλατότητας}	1	ns	ns	778.76 ^{**}	ns	ns	66.04 [*]	66.04 [*]
F _{Λίπανσης}	4	53.22 ^{***}	94.19 ^{***}	ns	ns	ns	78.32 ^{***}	78.05 ^{***}
F _{Λίπαν x Αλατότ}	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3^η ΚΠ								
Λίπανση	BHS	16.50 ^a	18757.00 ^a	9.28 ^a	90.21 ^a	1.89 ^a	23.91 ^b	28.70 ^b
	COMP	14.34 ^b	12887.00 ^c	9.29 ^a	90.28 ^a	1.77 ^{bc}	23.90 ^b	28.70 ^b
	C	11.34 ^c	8758.00 ^d	9.23 ^b	89.67 ^b	1.66 ^c	22.56 ^c	27.36 ^c
	FYM	15.78 ^{ab}	17001.00 ^{ab}	9.28 ^a	90.09 ^a	1.79 ^{ab}	24.63 ^b	29.43 ^b
	NPK	14.78 ^{ab}	15136.00 ^{bc}	9.28 ^a	90.17 ^a	1.70 ^{bc}	26.53 ^a	31.33 ^a
Αλατότητα	CS	15.72 ^a	15889.00 ^a	8.85 ^a	90.19 ^a	1.87 ^a	24.83 ^a	29.62 ^a
	HS	13.38 ^a	13126.00 ^a	9.69 ^b	89.98 ^a	1.65 ^b	23.79 ^a	28.59 ^a
ANOVA	Df	F	F	F	F	F	F	F
F _{Αλατότητας}	1	ns	ns	5466.13 ^{***}	ns	106.23 ^{**}	ns	ns
F _{Λίπανσης}	4	16.08 ^{***}	27.58 ^{***}	17.33 ^{***}	17.13 ^{***}	11.14 ^{***}	64.32 ^{***}	64.32 ^{***}
F _{Λίπαν x Αλατότ}	4	ns	ns	ns	ns	6.36 ^{**}	ns	ns
Υπόλοιπο	16							
Σύνολο	29							

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns: μη σημαντικό ($p > 0,05$).

4.4.2.8 Πεπτικότητα ξηρής ύλης φυτικού ιστού (DDM)

Στη 2^η ΚΠ, οι παράγοντες αλατότητα ($p < 0.05$) και λίπανση ($p < 0.001$) επηρέασαν στατιστικά σημαντικά το δείκτη DDM. Η επέμβαση HS (69.26 ± 0.1) έδωσε 1.30% μεγαλύτερο DDM φυτικού ιστού σε σχέση με την επέμβαση CS (68.37 ± 0.1). Οι δείκτες DDM, για τις επεμβάσεις FYM, BHS και COMP δεν διέφεραν μεταξύ τους. Η μέγιστη τιμή του δείκτη DDM καταγράφηκε στην επέμβαση C (69.82 ± 0.13) και η ελάχιστη στην επέμβαση NPK (67.52 ± 0.13). Οι επεμβάσεις BHS (69.06 ± 0.13) και COMP (69.01 ± 0.13) παρουσίασαν αντίστοιχα 1.10% και 1.17% μικρότερη τιμή του δείκτη DDM στο φυτικό ιστό σε σύγκριση με την επέμβαση C (Πίνακας 4-3).

Στην 3^η ΚΠ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p < 0.001$). Η μέγιστη τιμή DDM φυτικού ιστού καταγράφηκε στην C (71.32 ± 0.19) και η ελάχιστη στην NPK (68.22 ± 0.19). Το COMP (70.28 ± 0.19) και η BHS (70.27 ± 0.19) έδωσαν αντίστοιχα 1.48% και 1.49% μικρότερο DDM στο φυτικό ιστό σε σύγκριση με το C, ενώ η FYM (69.70 ± 0.19) 2.32% μικρότερο.

4.4.2.9 Πρόσληψη ξηρής ύλης (DMI)

Στη 2^η ΚΠ, οι παράγοντες αλατότητα ($p < 0.05$) και λίπανση ($p < 0.001$) επηρέασαν στατιστικά σημαντικά το δείκτη DMI. Η HS (4.01 ± 0.01) έδωσε 3.89% μεγαλύτερο DMI στο φυτικό ιστό σε σχέση με την CS (3.86 ± 0.01). Οι λιπάνσεις έδωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με το C, ενώ μεταξύ τους (πλην της NPK) οι διαφορές που σημειώθηκαν δεν αξιολογήθηκαν ως στατιστικά σημαντικές. Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην C (4.11 ± 0.02) και η ελάχιστη στην NPK (3.73 ± 0.02). Η BHS (3.98 ± 0.02) και το COMP (3.97 ± 0.02) έδωσαν αντίστοιχα 3.27% και 3.53% μικρότερο DMI στο φυτικό ιστό σε σύγκριση με το C, ενώ η FYM (3.91 ± 0.02) 5.12% μικρότερο (Πίνακας 4-3).

Στην 3^η ΚΠ, ο παράγοντας που αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντικός είναι αυτός της λίπανσης ($p < 0.001$). Η μέγιστη τιμή DMI καταγράφηκε στην C (4.38 ± 0.03) και η ελάχιστη στην NPK (3.83 ± 0.03). Το COMP (4.18 ± 0.03) και η BHS (4.18 ± 0.03) έδωσαν 4.78% μικρότερο DMI στο φυτικό ιστό σε σύγκριση με το C, ενώ η FYM (4.07 ± 0.03) 7.62% μικρότερο.

4.4.2.10 Σχετική αξία ζωοτροφών (RFV)

Στη 2^η ΚΠ, οι παράγοντες αλατότητα ($p < 0.05$) και λίπανση ($p < 0.001$) επηρέασαν στατιστικά σημαντικά το δείκτη RFV. Η HS (215.80 ± 1.31) έδωσε 5.18% μεγαλύτερο RFV σε σχέση με την CS (205.18 ± 1.31).

Στην 3^η ΚΠ, η λίπανση επηρέασε στατιστικά σημαντικά ($p < 0.001$) το δείκτη σχετική αξία ζωοτροφών. Οι λιπάνσεις έδωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με το C, ενώ μεταξύ τους (πλην της NPK) οι διαφορές που παρατηρήθηκαν δεν αξιολογούνται ως στατιστικά σημαντικές. Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην C (242.77 ± 2.78) και η ελάχιστη στην επέμβαση NPK (202.74 ± 2.78). Οι COMP (228.02 ± 2.78) και BHS (227.87 ± 2.78) έδωσαν αντίστοιχα 6.47% και 6.54% μικρότερο RFV σε σύγκριση με την C (Πίνακας 4-3).

Πίνακας 4-3 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στους δείκτες Πεπτικότητα ξηρής ύλης φυτικού ιστού (DDM), πρόσληψη ξηρής ύλης (DMI) και Σχετική αξία ζωοτροφών (RFV)

		DDM	DMI	RFV
2^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	69.07 ^b	3.98 ^b	213.18 ^b
	COMP	69.02 ^b	3.98 ^b	212.67 ^b
	C	69.82 ^a	4.11 ^a	222.66 ^a
	FYM	68.67 ^b	3.92 ^b	208.41 ^b
	NPK	67.52 ^c	3.73 ^c	195.53 ^c
Αλατότητα	CS	68.37 ^b	3.87 ^b	205.18 ^b
	HS	69.27 ^a	4.02 ^a	215.80 ^a
ANOVA	Df			
F Αλατότητας	1	66.04*	65.88*	65.13*
F Λίπανσης	4	78.32***	70.34***	70.43***
F Λίπαν x Αλατότ	4	Ns	ns	ns
3^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	70.27 ^b	4.18 ^b	227.87 ^b
	COMP	70.28 ^b	4.18 ^b	228.02 ^b
	C	71.32 ^a	4.39 ^a	242.77 ^a
	FYM	69.71 ^b	4.07 ^b	220.46 ^b
	NPK	68.23 ^c	3.83 ^c	202.74 ^c

Αλατότητα	CS	69.56 ^a	4.06 ^a	219.14 ^a
	HS	70.37 ^a	4.21 ^a	229.60 ^a
ANOVA	Df			
F <i>Αλατότητας</i>	1	ns	ns	ns
F <i>Λίπανσης</i>	4	64.32***	54.46***	54.46***
F <i>Λίπαν x Αλατότ</i>	4	Ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16			
Σύνολο	29			
Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns: μη σημαντικό ($p > 0,05$).				

4.5 Συζήτηση

Η τριγωνέλλα μπορεί να αποτελέσει πολύτιμο συστατικό των ζωοτροφών, ιδίως για τα βοοειδή, τα πουλικά και τα αμνοερίφια, όταν χρησιμοποιηθεί σε κατάλληλες ποσότητες και με προσοχή σε ορισμένες παραμέτρους [289]. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη είναι ένας από τους πρωταρχικούς παράγοντες ποιότητας που καθιστούν την τριγωνέλλα κατάλληλη για ζωοτροφή [124, 169, 290]. Οι σπόροι τριγωνέλλας είναι πλούσιοι σε πρωτεΐνη, καθώς περιέχουν περίπου 25-40% περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη [291, 292], καθιστώντας την τριγωνέλλα μια καλή πηγή φυτικής πρωτεΐνης για τα ζώα.

Η λίπανση μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την περιεκτικότητα των σπόρων και των φυτών σε πρωτεΐνη στην καλλιέργεια τριγωνέλλας λόγω της επίδρασής της σε διάφορες φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες εντός του φυτού [124, 169, 293], το οποίο επιβεβαιώνεται από το πείραμά μας τόσο για την περιεκτικότητα στον σπόρο όσο και στην περιεκτικότητα σε φυτικό ιστό. Στην εργασία [294], οι συγγραφείς απέδειξαν ότι τα βιολογικά και ανόργανα λιπάσματα παρέχουν άζωτο σε διαφορετικές μορφές και ο ρυθμός και ο χρόνος εφαρμογής μπορεί να επηρεάσει τη συνολική παροχή αζώτου στο φυτό. Αυτή η αντίθεση μπορεί να οφείλεται στην πρόσληψη και αξιοποίηση θρεπτικών συστατικών από τα φυτά τριγωνέλλας. Επίσης, μπορεί να οφείλεται στα επίπεδα θρεπτικών στοιχείων εδάφους. Τα αρχικά επίπεδα θρεπτικών συστατικών στο έδαφος μπορούν να επηρεάσουν τον αντίκτυπο που έχει η πρόσθετη λίπανση. Όταν το έδαφος περιείχε ήδη επαρκή θρεπτικά συστατικά, το πρόσθετο λίπασμα μπορεί να μην επηρεάσει σημαντικά τη σύνθεση των πρωτεϊνών [295]. Η περιεκτικότητα των σπόρων και των φυτών σε πρωτεΐνη δεν επηρεάστηκε από την υψηλή αλατότητα εδάφους. Αυτό κρίνεται σημαντικό αποτέλεσμα καθώς η τριγωνέλλα μπορεί να χρησιμοποιεί τους πόρους για την σύνθεση πρωτεΐνης και σε εδάφη με υψηλή αλατότητα.

Η απόδοση πρωτεϊνών σε σπόρους είναι ζωτικής σημασίας και για τη διατροφή των ζώων καθώς τα ζώα αυτά χρειάζονται πρωτεΐνες για την ανάπτυξη και τη συντήρηση [296]. Στο πείραμα μας, η απόδοση σε πρωτεΐνη σπόρου στην καλλιέργεια τριγωνέλλας στην 3^η καλλιεργητική περίοδο επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση και από την αλατότητα. Αντίθετα, η απόδοση σε πρωτεΐνη φυτικού ιστού επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά μόνο από τη λίπανση. Η απόδοση σε πρωτεΐνη καταγράφηκε μεγαλύτερη με την βιολογική λίπανση. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι η καταπόνηση με το αλάτι σε συνδυασμό με την ανόργανη λίπανση προκαλεί διαταραχές στην θρέψη των φυτών τριγωνέλλας.

Η τέφρα στο σπόρο και η τέφρα στους φυτικούς ιστούς τριγωνέλλας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα. Η περιεκτικότητα σε τέφρα ήταν υψηλότερη σε συνθήκες έντονης αλατότητας στην καλλιέργεια τριγωνέλλας. Η περιεκτικότητα σε τέφρα αυξήθηκε με την ένταση της αλατότητας τόσο στα φύλλα όσο και στους σπόρους τριγωνέλλας. Η πρόσληψη θρεπτικών συστατικών περιορίστηκε λόγω αλατότητας και οδήγησε σε αυξημένη συσσώρευση ανόργανων συστατικών στο φυτό, με αποτέλεσμα την υψηλότερη περιεκτικότητα σε τέφρα. Η υψηλή αλατότητα του εδάφους μπορεί να δημιουργήσει μια οσμωτική ανισορροπία, καθιστώντας δύσκολη την απορρόφηση βασικών θρεπτικών συστατικών από το έδαφος στα φυτά τριγωνέλλας. Αυτά τα θρεπτικά συστατικά περιλαμβάνουν μέταλλα όπως ασβέστιο, μαγνήσιο, κάλιο και άλλα που συμβάλλουν στην περιεκτικότητα σε τέφρα [297].

Η ξηρά ουσία είναι σημαντικός παράγοντας στην παραγωγή και ανάλυση ζωοτροφών επειδή επηρεάζει άμεσα τη θρεπτική ποιότητα και την πυκνότητα των ζωοτροφών καθώς οι σπόροι με υψηλότερη περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία περιέχουν γενικά περισσότερα θρεπτικά συστατικά (π.χ. πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λίπη) ανά μονάδα βάρους [298]. Στο πείραμά μας, η ξηρά ουσία σπόρου και φυτικού ιστού σε καλλιέργεια τριγωνέλλας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση την τελευταία πειραματική περίοδο, ενώ οι βιολογικές και ανόργανες λιπάνσεις δεν διέφεραν μεταξύ τους. Συνάγεται ότι η προσθήκη λιπάσματος αύξησε σημαντικά την ξηρά ουσία σε σπόρο και φυτικό ιστό, το οποίο επιβεβαιώνεται και στην εργασία [281]. Η λίπανση μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την περιεκτικότητα των σπόρων σε λιπαρές ουσίες στο σπόρο τριγωνέλλας λόγω της επίδρασής της σε διάφορες φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες εντός του φυτού [293]. Αυτό το αποτέλεσμα συμφωνεί με το πειραματικά μας αποτελέσματα καθώς οι λιπαρές ουσίες στην καλλιέργεια τριγωνέλλας αυξήθηκαν με την προσθήκη λιπασμάτων.

Οι δείκτες ADF και NDF φυτικού ιστού είναι ένα ακόμα κριτήριο που χρησιμοποιείται στην ανάλυση ποιότητας των ζωοτροφών καθώς αποτελούν ένδειξη της δυνητικής πεπτικότητας και της θρεπτικής τους αξίας. Στο πείραμά μας, στη 2^η καλλιεργητική περίοδο οι δείκτες ADF και NDF φυτικού ιστού επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα και τη λίπανση ενώ στην 3^η καλλιεργητική περίοδο επηρεάστηκαν μόνο από τη λίπανση σε σχέση με το μάρτυρα. Οι βιολογικές λιπάνσεις οδήγησαν σε μικρότερη περιεκτικότητα σε ADF και NDF φυτικού ιστού. Τα υψηλά επίπεδα αζώτου μπορεί να μειώσουν την πεπτικότητα των ινών, οδηγώντας σε αύξηση των δεικτών ADF και NDF. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το υπερβολικό άζωτο μπορεί να προωθήσει τη συσσώρευση δομικών συστατικών όπως η κυτταρίνη και η λιγνίνη στα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών [299].

Ο δείκτης DDM χρησιμοποιείται στη διατροφή των ζώων [300]. Στο πείραμά μας, στη 2^η καλλιεργητική περίοδο ο δείκτης DDM επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα και τη λίπανση ενώ στην 3^η καλλιεργητική περίοδο επηρεάστηκε μόνο από τη λίπανση σε σχέση με το μάρτυρα. Σημειώθηκε μεγαλύτερο τμήμα ξηράς ύλης που είναι εύπεπτο από το ζώο σε χορτονομή τριγωνέλλας κάτω από βιολογικές λιπάνσεις σε σχέση με την ανόργανη λίπανση. Το τμήμα της χορτονομής τριγωνέλλας που το ζώο μπορεί πραγματικά να απορροφήσει και να χρησιμοποιήσει για ενέργεια και άλλες φυσιολογικές διεργασίες ήταν μεγαλύτερο κάτω

από βιολογικές λιπάνσεις συγκριτικά με την ανόργανη λίπανση. Η αύξηση της πεπτικότητας της χορτονομής θα μπορούσε να εξηγηθεί με τη μείωση της περιεκτικότητας των δεικτών ADF και NDF. Αυτό το αποτέλεσμα είναι σύμφωνο με τους Sadafzadeh *et al.* [301].

Μια ακόμη βασική παράμετρος στο σχεδιασμό ισορροπημένων σιτηρέσιων για τα ζώα είναι ο δείκτης DMI. Στο πείραμά μας, στη 2^η καλλιεργητική περίοδο ο δείκτης DMI επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα και τη λίπανση, ενώ στην 3^η καλλιεργητική περίοδο επηρεάστηκε μόνο από τη λίπανση. Συγκεκριμένα η πρόσληψη ξηρής ύλης από ζώα που καταναλώνουν τριγωνέλλα ως τροφή είναι υψηλότερη όταν η καλλιέργεια τριγωνέλλας έχει δεχτεί βιολογικές λιπάνσεις σε σύγκριση με την ανόργανη. Αυτό είναι σημαντικό στον τομέα της διατροφής των μηρυκαστικών, όπου η κατανόηση του δείκτη DMI που καταναλώνεται είναι ζωτικής σημασίας για την εξισορρόπηση της διατροφής του ζώου και τη βελτιστοποίηση της παραγωγής [301].

Ο δείκτης RFV είναι ένα μέτρο που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ποιότητας των χορτονομών. Στο πείραμά μας, στη 2^η καλλιεργητική περίοδο ο δείκτης RFV επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα και τη λίπανση ενώ στην 3^η καλλιεργητική περίοδο επηρεάστηκε μόνο από τη λίπανση. Ο δείκτης RFV ήταν υψηλότερη με τις βιολογικές λιπάνσεις, το οποίο σημαίνει ότι η χορτονομή τριγωνέλλας έχει υψηλότερη ποιότητα με τη βιολογική λίπανση.

4.6 Συμπεράσματα

Η τριγωνέλλα μπορεί να αποδώσει υψηλή ποιότητα και ποσότητα ζωτροφής για βόσκηση προσφέροντας υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Η καλλιέργεια τριγωνέλλας μπορεί να καλλιεργηθεί και σε εδάφη με υψηλή αλατότητα γεγονός που ανοίγει δρόμους για να αξιοποιηθούν εκτάσεις οι οποίες δεν είναι χαρακτηρισμένες ως βοσκότοποι μέχρι σήμερα. Η επίδραση της βιολογικής λίπανσης έδωσε σημαντικά υψηλότερη ποιότητα ζωτροφής. Η λίπανση έχει σημαντική επίδραση στην πρωτεϊνοσύνθεση, με το άζωτο να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο, ενώ δεν καταγράφεται ουσιαστική διαφορά μεταξύ ανόργανης και βιολογικής λίπανσης. Η υψηλή αλατότητα δεν επηρεάζει την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη αλλά επηρεάζει την απόδοση σε πρωτεΐνης σπόρων. Παράλληλα, η περιεκτικότητα σε τέφρα αυξάνεται με την αλατότητα λόγω της συσσώρευσης ορυκτών. Η λίπανση συντελεί στην αύξηση της ξηρής ουσίας στους σπόρους και τους φυτικούς ιστούς, ενώ η βιολογική λίπανση συμβάλλει στη μείωση της περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες.

4° Πείραμα

Επίδραση λίπανσης και αλατότητας στις χημικές ιδιότητες εδάφους και στην πρόσληψη ιχνοστοιχείων από σπόρο και φυτικό ιστό τριγωνέλλας



5 Επίδραση λίπανσης και αλατότητας στις χημικές ιδιότητες εδάφους και στην πρόσληψη ιχνοστοιχείων από σπόρο και φυτικό ιστό τριγωνέλλας

Μηδενική υπόθεση (Null hypotheses)

Η πρόσληψη ιχνοστοιχείων στο φυτικό ιστό και σπόρο τριγωνέλλας δεν θα διαφέρει σημαντικά μεταξύ των λιπάνσεων και της επέμβασης της αλατότητας.

5.1 Εισαγωγή

5.1.1 Εδαφικές ιδιότητες

Η ποιότητα του εδάφους είναι υψίστης σημασίας στη βιολογική γεωργία λόγω της άμεσης επίδρασής της στην υγεία και την παραγωγικότητα των καλλιεργειών. Η βιολογική γεωργία βασίζεται σε φυσικές διαδικασίες, δίνοντας έμφαση στη γονιμότητα του εδάφους μέσω της χρήσης βιολογικών λιπασμάτων, αμειψισπορών και καλλιεργειών κάλυψης. Τα υγιή εδάφη σε βιολογικά συστήματα προάγουν τον κύκλο των θρεπτικών ουσιών, την κατακράτηση νερού και την ανάπτυξη μιας ποικιλόμορφης και εύρωστης μικροβιακής κοινότητας. Αυτοί οι παράγοντες συμβάλλουν στη βελτίωση της θρέψης των φυτών, στην ανθεκτικότητα σε παράσιτα και ασθένειες και στη συνολική απόδοση των καλλιεργειών χωρίς συνθετικές εισροές [302, 303].

Τα βιολογικά λιπάσματα μπορούν να προσφέρουν τόσο μακροθρεπτικά όσο και μικροθρεπτικά συστατικά στο έδαφος. Τα βιολογικά λιπάσματα, πέρα από την παροχή θρεπτικών συστατικών, συμβάλλουν στη βελτίωση της δομής, της υφής, καθώς και της ικανότητας του εδάφους να συγκρατεί νερό και θρεπτικά συστατικά [250, 304]. Οι μηχανισμοί που συμβάλλουν στην επίδραση των βιολογικών λιπασμάτων στο έδαφος και στις αποδόσεις των καλλιεργειών περιλαμβάνουν τον βελτιωμένο συγχρονισμό των θρεπτικών στοιχείων, τη γενική ενίσχυση της γονιμότητας του εδάφους και τα οφέλη από την προετοιμασία του εδάφους. Ο ρυθμός, ο χρόνος και η μέθοδος εφαρμογής των βιολογικών λιπασμάτων πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για να μειωθούν οι απώλειες αζώτου και φωσφόρου κατά την εφαρμογή [245, 250, 252, 304]. Τα βιολογικά λιπάσματα πρέπει να εφαρμόζονται σε μεγάλες ποσότητες ώστε να καλυφθούν οι ανάγκες των καλλιεργειών σε θρεπτικά στοιχεία. Επομένως είναι πιο συνετό να χρησιμοποιούνται τοπικά διαθέσιμοι πόροι. Σε μελέτες, διαπιστώθηκε ότι η χρήση κοπριάς είχε την ικανότητα να συγκρατεί τα θρεπτικά συστατικά για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα [305].

Η ανεπαρκής γονιμότητα του εδάφους αποτελεί σημαντικό βιοφυσικό παράγοντα που επηρεάζει τη φυτική παραγωγή παγκοσμίως [306]. Αποτελεί μείζονα απειλή για την επισιτιστική ασφάλεια, λαμβάνοντας υπόψη τον συνεχώς αυξανόμενο πληθυσμό που προβλέπεται να φθάσει περίπου τα 9.5 δισεκατομμύρια μέχρι το 2050 [307]. Στο παρελθόν, οι δασικές και περιθωριακές εκτάσεις μετατρέπονταν σε γεωργικές για να καλύψουν τις ανάγκες σε τρόφιμα του αυξανόμενου πληθυσμού [308]. Αυτή η πρακτική αποδοκιμάζεται από πολλούς φορείς καθώς προκάλεσε την εξαφάνιση και την απειλή πολλών φυτικών και ζωικών ειδών [309]. Σήμερα, η

εκμετάλλευση αποθεμάτων γης και περιθωριακών εκτάσεων για γεωργικούς σκοπούς δεν θεωρείται καλή πρακτική. Επομένως, είναι επιτακτική ανάγκη να βελτιωθεί η γονιμότητα και η υγεία του διαθέσιμου εδάφους, με στόχο να αυξηθεί η παραγωγή τροφίμων και να διασφαλιστεί η παγκόσμια επισιτιστική ασφάλεια υπό τις τρέχουσες και προβλεπόμενες κλιματικές αλλαγές.

Η χρήση ανόργανων λιπασμάτων στο παρελθόν θεωρήθηκε η καταλληλότερη λύση για τα προβλήματα γονιμότητας του εδάφους λόγω της ταχείας απελευθέρωσης θρεπτικών στοιχείων. Ωστόσο, τα ανόργανα λιπάσματα δεν βελτιώνουν τις φυσικές ιδιότητες του εδάφους, με αποτέλεσμα η βελτίωση της γονιμότητας μόνο με αυτά να μην είναι βιώσιμη [310]. Η υπερβολική εξάρτηση από τα ανόργανα λιπάσματα μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη διάβρωση του εδάφους, μόλυνση των υδάτων, αυξημένες εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου και μειωμένη βιοποικιλότητα [311]. Επιπλέον, τα ανόργανα λιπάσματα είναι ακριβά και πολλοί αγρότες μπορεί να μην έχουν την οικονομική δυνατότητα να τα αποκτήσουν [312]. Ως αποτέλεσμα, δίνεται έμφαση στη χρήση βιολογικών πόρων [313]. Η εφαρμογή βιολογικών λιπασμάτων αποτελεί μια βιώσιμη μέθοδο παραγωγής τροφίμων, καθώς έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά στη διατήρηση της ποιότητας του εδάφους, στη βελτίωση των αποδόσεων και στη διατήρηση της παραγωγικότητας [313-315].

Εκτός από την ισορροπημένη παροχή θρεπτικών συστατικών, τα βιολογικά λιπάσματα προσθέτουν οργανική ύλη στο έδαφος, η οποία βελτιώνει την ικανότητα συγκράτησης θρεπτικών στοιχείων του εδάφους και τη ρυθμιστική ικανότητά του [54, 316]. Η οργανική ύλη ενισχύει τη μικροβιακή δραστηριότητα, αυξάνοντας τα ποσοστά αναοργανοποίησης των θρεπτικών στοιχείων και προάγοντας τη δραστηριότητα αερόβιων και αναερόβιων βακτηρίων, καθώς και μυκορριζών [317].

Τέλος, οι παράγοντες αλάτωσης και αλκαλίωσης του εδάφους επηρεάζουν την παραγωγικότητα των καλλιεργειών μέσω της οσμωτικής αναστολής και της διαταραχής της θρεπτικής ισορροπίας [318, 319].

5.1.2 Θρεπτικά μακροστοιχεία

Ο ρόλος του καλίου (K) επηρεάζει πολλές φυτικές διεργασίες, όπως η σύνθεση υδατανθράκων, πρωτεϊνών και κυτταρίνης, ο έλεγχος των βασικών θρεπτικών συστατικών, η εξουδετέρωση οργανικών οξέων και η ενεργοποίηση ενζύμων. Το κάλιο είναι απαραίτητο για την καλή ωρίμανση των φυτών.

Στην τριγωνέλλα, το κάλιο είναι σε υψηλότερη συγκέντρωση από οποιοδήποτε άλλο στοιχείο εκτός του αζώτου, με υγιή επίπεδα στο 1.72% [320]. Σε πολλές καλλιεργείες, συγκεντρώσεις καλίου περίπου 2% ή περισσότερο είναι απαραίτητες για τη μέγιστη απόδοση. Οπότε, η προσθήκη λιπάσματος καλίου είναι συχνά απαραίτητη σε εδάφη φτωχά σε φώσφορο [121].

Η αναλογία ανόργανων θρεπτικών συστατικών στον φυτικό ιστό αναπτύχθηκε από τον Macy και αναφέρθηκε από τους Rhykerd και Overdahl [320]. Παράγοντες όπως η θερμοκρασία και το στάδιο ανάπτυξης επηρεάζουν τη συγκέντρωση του καλίου στα φυτά. Οι ψυχρές θερμοκρασίες απαιτούν υψηλότερο επίπεδο ανταλλάξιμου καλίου στο έδαφος για επαρκή πρόσληψη από τα φυτά [321]. Το στάδιο ανάπτυξης μπορεί να επηρεάσει τη συγκέντρωση του καλίου περισσότερο από τη διαθεσιμότητά του στο έδαφος.

Η αποτελεσματικότητα της πρόσληψης καλίου σχετίζεται με τη συνολική επιφάνεια των ριζών [322]. Παράγοντες όπως το έδαφος, το κλίμα και το επίπεδο απόδοσης επηρεάζουν τον χρόνο και την ποσότητα εφαρμογής του λιπάσματος καλίου. Η ποσότητα καλίου που αφαιρείται από την καλλιέργεια και που παρέχεται από το έδαφος καθορίζει την αναγκαία προσθήκη λιπάσματος. Η ξηρή ουσία, η απόδοση και η παραγωγή ακατέργαστης πρωτεΐνης αυξάνονται με την εφαρμογή λιπάσματος καλίου [324]. Η χρήση του καλίου αυξάνει την απόδοση και τις θρεπτικές ιδιότητες της τριγωνέλλας, βελτιώνοντας την περιεκτικότητα σε έλαια και την πεπτικότητα της μηδικής [320].

Ο σίδηρος (Fe) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αναπνοή των φυτών και είναι συνήθως ενεργός στη σιδηρούχα μορφή του. Η ανεπάρκεια σιδήρου συχνά οφείλεται στη χαμηλή διαλυτότητά του παρά λόγω της απουσίας του από το έδαφος. Συνηθισμένες αιτίες ανεπάρκειας σιδήρου περιλαμβάνουν την υπερλίπανση και την περίσσεια μαγνησίου [320]. Επιπλέον, οι χαμηλές θερμοκρασίες του εδάφους μειώνουν την ικανότητα των φυτών να απορροφούν το σίδηρο. Η επάρκεια σιδήρου στα φυτά μηδικής κυμαίνεται από 30 έως 250 ppm [320]. Η ανάλυση φυτικών ιστών αποτελεί αξιόπιστη ένδειξη των αναγκών των φυτών σε σίδηρο, και η διαφυλλική εφαρμογή του μπορεί να διορθώσει άμεσα την τροφопενία [323].

Το μαγνήσιο (Mg) είναι απαραίτητο για τη φωτοσύνθεση, το μεταβολισμό υδατανθράκων και τη σύνθεση ελαίων. Σε περίπτωση έλλειψης, μεταφέρεται εύκολα από τους παλαιότερους στους νεότερους ιστούς. Η έλλειψη μαγνησίου μπορεί να μειώσει την περιεκτικότητα των σπόρων σε έλαια. Η υψηλότερη περιεκτικότητα σε μαγνήσιο στην τριγωνέλλα συμβάλλει σε υψηλότερη περιεκτικότητα σπόρων σε έλαια [121].

5.1.3 Σκοπός μελέτης

Ο ρόλος της γεωργίας είναι κεντρικός στη διατήρηση των φυσικών πόρων όπως είναι το έδαφος. Το έδαφος υπόκειται σε μία σειρά διαδικασιών υποβάθμισης. Ορισμένες από αυτές σχετίζονται άμεσα με τη γεωργία όπως είναι η διάβρωση λόγω του νερού, το όργωμα, η μείωση του οργανικού άνθρακα και της βιοποικιλότητας του εδάφους, η αλάτωση και η νατρίωση, καθώς και η μεγάλη συγκέντρωση νιτρικών και φωσφορικών αλάτων.

Τα υποβαθμισμένα εδάφη μειώνουν όχι μόνο τη διαθεσιμότητα του νερού στις καλλιέργειες, αλλά και τη διαθεσιμότητα των μικροθρεπτικών σε αυτές. Η παρούσα μελέτη έχει ως στόχο να αναδείξει πως τα βιολογικά συστήματα λίπανσης επηρεάζουν τις χημικές ιδιότητες του εδάφους και τη διαθεσιμότητα αυτών μετά στα φυτά. Επίσης, η μελέτη στοχεύει στη σύγκριση της πρόσληψης μακροστοιχείων και ιχνοστοιχείων μεταξύ συμβατικών και βιολογικών συστημάτων καλλιέργειας τριγωνέλλας, καθώς και στην αξιολόγηση της επίδρασης της αλατότητας του εδάφους σε αυτήν την πρόσληψη.

Επιπρόσθετα, η μελέτη προσπαθεί να καλύψει την ανάγκη κατανόησης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των συνθηκών του εδάφους, των μεθόδων λίπανσης και των επιπέδων αλατότητας, και των επιπτώσεών τους στην ανάπτυξη και στη θρεπτική σύνθεση των φυτών τριγωνέλλας. Ερευνάτε ο εντοπισμός βέλτιστων στρατηγικών λίπανσης που ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών, ενώ εξετάζονται οι πιθανές επιπτώσεις της αλατότητας του εδάφους στην πρόσληψη ιχνοστοιχείων. Τα ευρήματα της έρευνας θα μπορούσαν να έχουν πρακτικές

εφαρμογές στη διαχείριση της γεωργίας, παρέχοντας πληροφορίες για βιώσιμες και αποτελεσματικές πρακτικές καλλιέργειας τριγωνέλλας, ιδιαίτερα σε περιοχές με δύσκολες εδαφικές συνθήκες.

5.2 Υλικά και μέθοδοι

5.2.1 Σχεδιασμός πειράματος

Ο σχεδιασμός του πειράματος παρουσιάζεται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 2.2.2.

5.2.2 Παρατηρήσεις και μετρήσεις

5.2.2.1 Εδαφικές αναλύσεις

Οι μετρήσεις του εδάφους πραγματοποιήθηκαν στο τέλος κάθε καλλιεργητικής περιόδου και τα δείγματα προέρχονται από τα πρώτα 30 εκατοστά του εδάφους.

5.2.2.1.1 Φωσφορικά

Η ανάλυση των φωσφορικών του εδάφους (ppm g^{-1}) πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Olsen [325].

5.2.2.1.2 Ηλεκτρική αγωγιμότητα (E.C.)

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα του εδάφους (dS cm^{-1}) προσδιορίστηκε σε υδατικό εκχύλισμα εδάφους σύμφωνα με το πρότυπο ISO 11265:1994 [326].

5.2.2.1.3 Ολικό Ανθρακικό Ασβέστιο (Ολικό CaCO_3)

Το ολικό CaCO_3 (%) του εδάφους προσδιορίστηκε σύμφωνα με το πρότυπο ISO 10693:1995 [327].

5.2.2.1.4 Ενεργό Ανθρακικό Ασβέστιο (Ενεργό CaCO_3)

Το ενεργό CaCO_3 (%) του εδάφους προσδιορίστηκε με το ασβεστόμετρο Bernard.

5.2.2.1.5 Αναλογία ανταλλάξιμου νατρίου (Exchangeable sodium ratio - ESR)

Για να υπολογίσουμε την αναλογία ανταλλάξιμου νατρίου χρειάζεται να υπολογίσουμε το βαθμό αλκαλίωσης (ESP) (Εξίσωση 5-1) . Ο βαθμός αλακλίωσης εδάφους ορίζεται ως η εκατοστιαία αναλογία του ανταλλάξιμου Na^+ του εδάφους προς την ολική σε κατιόντα εναλλακτική ικανότητα (CEC), αυτού.

$$ESP = \frac{\text{exchangeable Na}^+}{CEC} * 100 \quad 5-1$$

Στη συνέχεια σύμφωνα με τον τύπο του Richards [328], υπολογίζεται η αναλογία ανταλλάξιμου νατρίου ESR (Εξίσωση 5-2).

$$ESR = \frac{ESP}{100 - ESP} \quad 5-2$$

5.2.2.2 Αναλύσεις μακροστοιχείων- ιχνοστοιχείων

5.2.2.2.1 Άζωτο (N)

Η ανάλυση ολικού αζώτου (%) πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl. Το άζωτο μετρήθηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο (Βλέπε Κεφάλαιο 4.3.1.).

5.2.2.2.2 Ασβέστιο (Ca)

Ο προσδιορισμός Ca (%) πραγματοποιήθηκε με φασματομετρία ατομικής απορρόφησης. Το ασβέστιο μετρήθηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο.

5.2.2.2.3 Κάλιο (K)

Ο προσδιορισμός καλίου πραγματοποιήθηκε με τη χρήση φλογοφωτόμετρου. Το κάλιο μετρήθηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο.

5.2.2.2.4 Σίδηρος (Fe)

Ο προσδιορισμός του σιδήρου (ppm) πραγματοποιήθηκε με φασματομετρία ατομικής απορρόφησης. Ο σίδηρος μετρήθηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο.

5.2.2.2.5 Φώσφορος (P)

Ο προσδιορισμός του φωσφόρου (%) πραγματοποιήθηκε με τη χρήση φασματοφωτόμετρου. Ο φώσφορος μετρήθηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο.

5.2.2.2.6 Μαγνήσιο (Mg, %)

Ο προσδιορισμός του μαγνησίου (%), πραγματοποιήθηκε με φασματομετρία ατομικής απορρόφησης. Το μαγνήσιο μετρήθηκε σε φυτικό ιστό (90 ΗΑΣ) και σε σπόρο.

5.2.3 Στατιστική ανάλυση

Βλέπε Κεφάλαιο 2.2.6.

5.3 Αποτελέσματα

5.3.1 Εδαφικές αναλύσεις

Τα αποτελέσματα της ANOVA για την επίδραση της λίπανσης και των επίπεδων αλατότητας στα χαρακτηριστικά του εδάφους παρουσιάζονται στον Πίνακα 5-1.

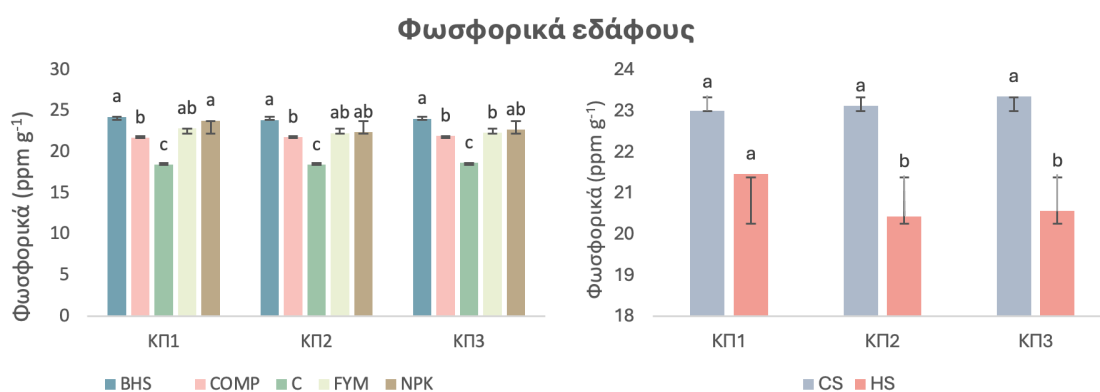
Πίνακας 5-1 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στα χαρακτηριστικά του εδάφους (φωσφορικά, ΙΑΚ, E.C., ολικό CaCO₃, ενεργό CaCO₃, ESR).

	Df	Φωσφορικά (ppm g ⁻¹)	E.C. (dS cm ⁻¹)	Ολικό CaCO ₃ (%)	Ενεργό CaCO ₃ (%)	ESR
1^η ΚΠ						
F Αλατότητας	1	ns	24.14*	ns	ns	123.38**
F Λίπανσης	4	32.32***	5.55**	11.38***	44.25***	11.74***
F Λίπαν x Αλατ	4	ns	ns	ns	ns	ns
2^η ΚΠ						
F Αλατότητας	1	31.54*	248.88**	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	28.32***	44.17***	68.94***	145.50***	ns
F Αλατότητας	4	6**	12.29***	ns	ns	ns
3^η ΚΠ						
F Αλατότητας	1	89.64*	258.61**	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	36.28***	44.17***	68.94***	145.50***	ns
F Αλατότητας	4	6.48**	12.29***	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16					
Σύνολο	29					

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, ns: μη σημαντικό (p > 0,05).

5.3.1.1 Φωσφορικά εδάφους

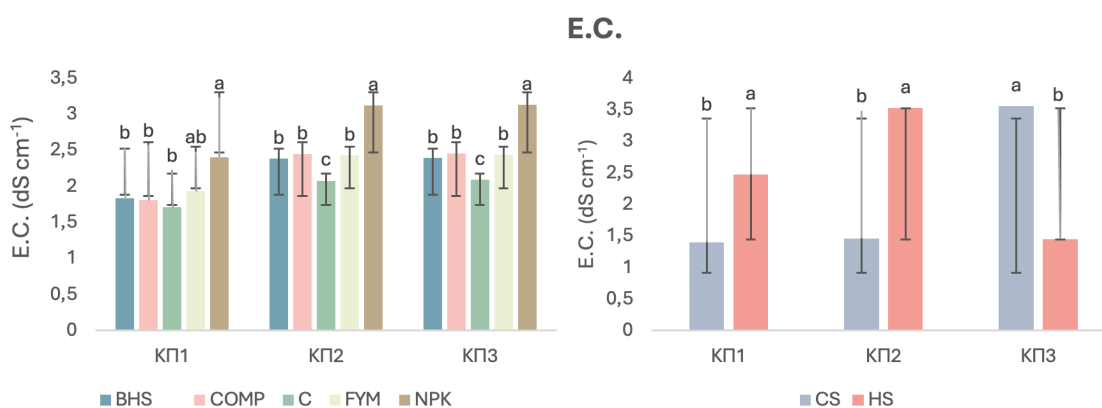
Στην 1^η ΚΠ, τα φωσφορικά του εδάφους επηρεάστηκαν σημαντικά από τη λίπανση ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 5-1). Οι επεμβάσεις BHS και NPK δεν σημείωσαν μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά. Η μέγιστη τιμή για τα φωσφορικά καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (24.28 ± 0.57 ppm g⁻¹) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (18.46 ± 0.57 ppm g⁻¹). Στη 2^η ΚΠ, τα φωσφορικά επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και από τη λίπανση ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 5-1). Στην επέμβαση HS, τα φωσφορικά ήταν 13.17% λιγότερα σε σχέση με την επέμβαση CS. Οι επεμβάσεις FYM (22.39 ± 0.53 ppm g⁻¹) και NPK (22.30 ± 0.53 ppm g⁻¹) μείωσαν τα φωσφορικά κατά 6.70% και 7.13% αντίστοιχα σε σύγκριση με την επέμβαση BHS. Στην 3^η ΚΠ, τα φωσφορικά επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και από τη λίπανση ($p \leq 0.001$). Στην επέμβαση CS, τα φωσφορικά ήταν 13.57% λιγότερα σε σχέση με την επέμβαση HS (Διάγραμμα 5-1).



Διάγραμμα 5-1 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στα φωσφορικά εδάφους. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.1.2 E.C.

Στις 3 ΚΠ, η E.C. επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα και τη λίπανση (Πίνακας 5-1). Στην 1^η ΚΠ, στην επέμβαση HS, η τιμή E.C. ήταν 77.70% μεγαλύτερη σε σχέση με την επέμβαση CS. Οι επεμβάσεις NPK και FYM σημείωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με την επέμβαση C, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Η μέγιστη τιμή E.C. καταγράφηκε στην επέμβαση NPK ($2.41 \pm 0.16 \text{ dS cm}^{-1}$) και η ελάχιστη στην επέμβαση C ($1.71 \pm 0.16 \text{ dS cm}^{-1}$). Στη 2^η ΚΠ, στην επέμβαση CS, η τιμή E.C. ήταν $3.52 \pm 0.13 \text{ dS cm}^{-1}$ ενώ στην επέμβαση HS ήταν $1.45 \pm 0.13 \text{ dS cm}^{-1}$. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή E.C. καταγράφηκε στην επέμβαση NPK ($3.13 \pm 0.08 \text{ dS cm}^{-1}$) και η ελάχιστη στην επέμβαση C ($2.08 \pm 0.08 \text{ dS cm}^{-1}$). Στις επεμβάσεις COMP και FYM, η τιμή E.C. ήταν αντίστοιχα 27.76% και 28.81% μικρότερη σε σύγκριση με την επέμβαση NPK, ενώ η τιμή E.C. στην επέμβαση BHS ήταν 30.96% μικρότερη από την επέμβαση NPK (Διάγραμμα 5-2).



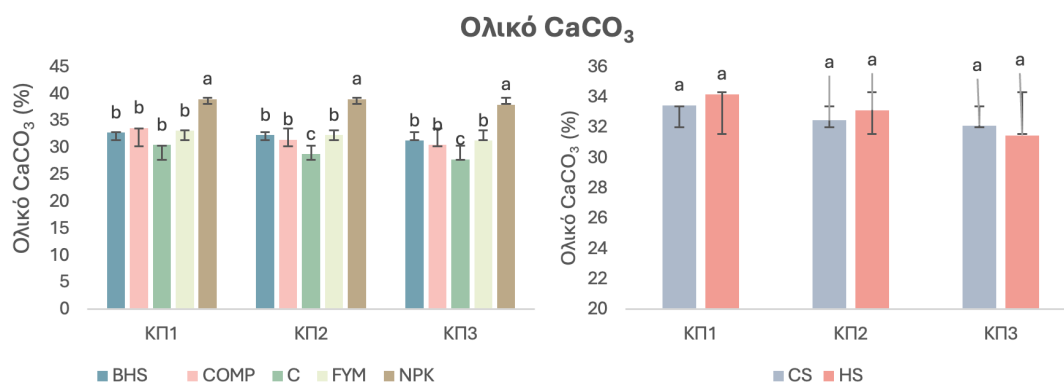
Διάγραμμα 5-2 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην E.C.. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.1.3 Ολικό CaCO₃

Το ολικό CaCO₃ επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα λίπανση στις 3 ΚΠ ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-1).

Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή ολικού CaCO₃ καταγράφηκε στην επέμβαση NPK και η ελάχιστη στην επέμβαση C (Διάγραμμα 5-3). Στις επεμβάσεις COMP και FYM το ολικό CaCO₃ ήταν αντίστοιχα 15.83% και 17.58% λιγότερο σε σύγκριση με την επέμβαση NPK, ενώ με την BHS (32.83 ± 1.31) το ολικό CaCO₃ ήταν 18.79% λιγότερο από την επέμβαση NPK. Στη 2^η ΚΠ, στις επεμβάσεις BHS (32.33 ± 0.63) και FYM (32.33 ± 0.63) βρέθηκε 20.63% λιγότερο ολικό CaCO₃ σε σύγκριση με την επέμβαση NPK. Αντίστοιχα, η επέμβαση COMP (31.50 ± 0.63) παρουσίασε 23.81% λιγότερο ολικό CaCO₃ σε σύγκριση με την επέμβαση NPK. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή για το ολικό CaCO₃ καταγράφηκε στην επέμβαση NPK και η ελάχιστη στην επέμβαση C (Διάγραμμα 5-3). Στις επεμβάσεις FYM (31.33 ± 0.63) και BHS (31.33 ± 0.63) το ολικό CaCO₃ βρέθηκε λιγότερο κατά 21.29% σε σύγκριση με την

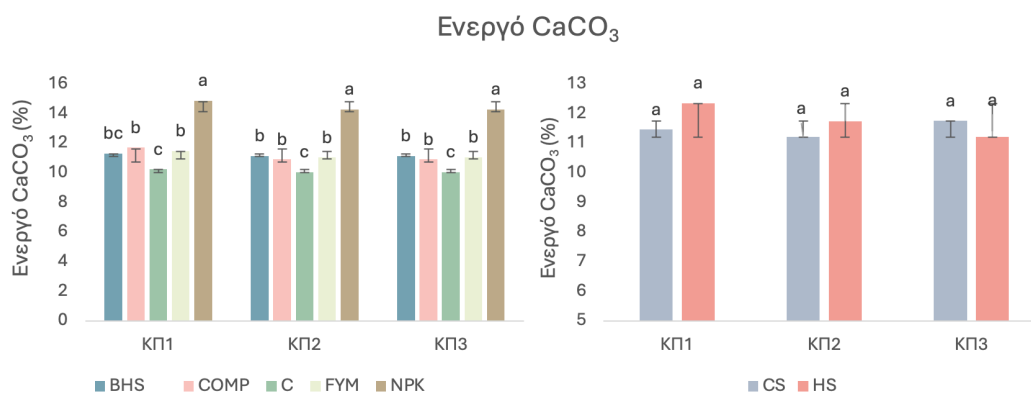
επέμβαση NPK. Αντίστοιχα, η επέμβαση COMP (30.5 ± 0.63) εμφάνισε 24.59% λιγότερο ολικό CaCO_3 σε σύγκριση με την επέμβαση NPK.



Διάγραμμα 5-3 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Ολικό CaCO_3 . Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.1.4 Ενεργό CaCO_3

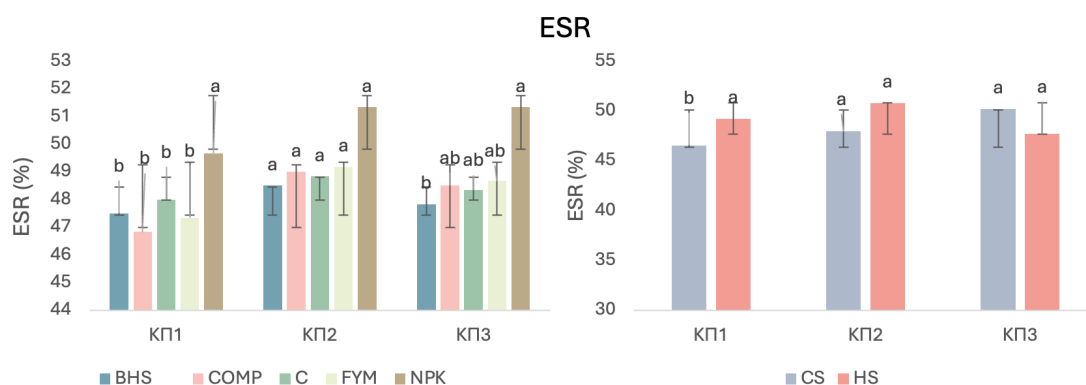
Το ενεργό CaCO_3 επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση στις 3 ΚΠ ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-1). Στην 1^η ΚΠ, οι επεμβάσεις COMP και FYM δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Η μέγιστη τιμή ενεργού CaCO_3 καταγράφηκε στην NPK, ενώ η ελάχιστη στην επέμβαση C (Διάγραμμα 5-4). Οι επεμβάσεις COMP και FYM παρουσίασαν 27.14% και 29.69% λιγότερο ενεργό CaCO_3 σε σύγκριση με την επέμβαση NPK. Στη 2^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή ενεργού CaCO_3 καταγράφηκε στην NPK (14.27 ± 0.19), ενώ η ελάχιστη στην C (10.03 ± 0.19). Στις επεμβάσεις BHS (11.12 ± 0.19) και FYM (11.02 ± 0.19), καταγράφηκε 28.33% και 29.49% λιγότερο ενεργό CaCO_3 σε σύγκριση με την επέμβαση NPK. Στην επέμβαση COMP (11.88 ± 0.19) καταγράφηκε 20.12% λιγότερο ενεργό CaCO_3 σε σύγκριση με την επέμβαση NPK. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη τιμή ενεργού CaCO_3 καταγράφηκε στην NPK, ενώ η ελάχιστη στην C (Διάγραμμα 5-4). Στις επεμβάσεις BHS (11.13 ± 0.19) και FYM (11.03 ± 0.19), το ενεργό CaCO_3 ήταν 28.21% και 29.37% λιγότερο σε σύγκριση με την επέμβαση NPK, αντίστοιχα.



Διάγραμμα 5-4 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο Ενεργό CaCO_3 . Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.1.5 Αναλογία ανταλλάξιμου νατρίου (ESR)

Στην 1^η ΚΠ, ο δείκτης ESR επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p < 0.01$) και από τη λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-1). Στην επέμβαση HS, η τιμή του δείκτη ESR ήταν 0.96 ± 0.008 , ενώ στην επέμβαση CS ήταν 0.87 ± 0.008 . Η μέγιστη τιμή δείκτη ESR καταγράφηκε στην επέμβαση NPK (0.98 ± 0.01) και η ελάχιστη στην επέμβαση COMP (0.88 ± 0.01). Στην επέμβαση C, η τιμή του δείκτη ESR ήταν ίση με 0.92 ± 0.01 , ενώ στις επεμβάσεις BHS και FYM ήταν 0.90 ± 0.01 και 0.89 ± 0.01 αντίστοιχα (Διάγραμμα 5-5). Στη 2^η και 3^η ΚΠ, ο δείκτης ESR δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά ούτε από τη λίπανση, ούτε από την αλατότητα.



Διάγραμμα 5-5 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο δείκτη ESR. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.2 Αναλύσεις μικροστοιχείων και ιχνοστοιχείων σπόρου

Τα αποτελέσματα της ANOVA για την επίδραση της λίπανσης και των επιπέδων αλατότητας στα μακροστοιχεία και μικροστοιχεία σπόρου παρουσιάζονται στον Πίνακα 5-2.

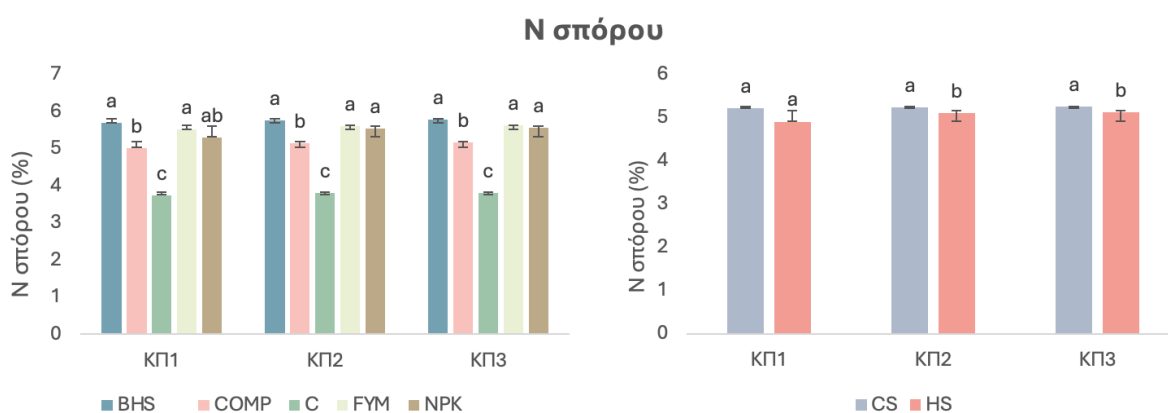
Πίνακας 5-2 Ανάλυση two-way ANOVA για τους N, Ca, K, Fe, P και Mg σπόρου για τις 3 ΚΠ σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$.

	Df	N σπόρου (%)	Ca σπόρου (g 100g ⁻¹)	K σπόρου (%)	Fe σπόρου (ppm)	P σπόρου (%)	Mg σπόρου (%)
1^η ΚΠ							
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	181.92**	ns	ns
F Λίπανσης	4	54.31***	28.32***	50.05***	210.44***	81.12***	39.63***
F Αλατότητας	4	ns	ns	5.88**	4.37*	8.17***	ns
2^η ΚΠ							
F Αλατότητας	1	25.7*	ns	87.23*	ns	25.01*	ns
F Λίπανσης	4	203.04***	12.28***	45.22***	81.69***	82.66***	49.27***
F Αλατότητας	4	ns	ns	6.83**	ns	9.56***	ns
3^η ΚΠ							
F Αλατότητας	1	25.70*	ns	87.23*	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	203.04***	19.40***	45.22***	123.91***	62.99***	38.03***
F Αλατότητας	4	ns	ns	6.83**	ns	8.63***	ns
Υπόλοιπο	16						
Σύνολο	29						

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Επίπεδα σημαντικότητας: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns: μη σημαντικό ($p > 0,05$).

5.3.2.1 Περιεκτικότητα N σπόρου

Στην 1^η ΚΠ, η περιεκτικότητα N σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-2). Οι επεμβάσεις BHS και FYM δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες λιπάνσεις. Στη 2^η ΚΠ, η περιεκτικότητα N σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά τόσο από την αλατότητα ($p < 0.05$) όσο και από τη λίπανση ($p < 0.001$). Στην επέμβαση CS, η N σπόρου ήταν ίση με $5.09 \pm 0.02\%$, ενώ στην επέμβαση BHS ήταν $5.23 \pm 0.02\%$. Στην 3^η ΚΠ, η περιεκτικότητα επηρεάστηκε επίσης από την αλατότητα ($p < 0.05$) και τη λίπανση ($p < 0.001$). Στην επέμβαση CS, η περιεκτικότητα σε άζωτο των σπόρων ήταν $5.11 \pm 0.02\%$, ενώ στην επέμβαση BHS ήταν $5.25 \pm 0.02\%$. Η μέγιστη περιεκτικότητα καταγράφηκε στην επέμβαση BHS ($5.78 \pm 0.07\%$) και η ελάχιστη στην επέμβαση C ($3.81 \pm 0.07\%$). Στις επεμβάσεις FYM και NPK, η περιεκτικότητα ήταν $5.62 \pm 0.07\%$ και $5.55 \pm 0.07\%$, αντίστοιχα, ενώ στην επέμβαση COMP ήταν $5.15 \pm 0.07\%$ (Διάγραμμα 5-6).

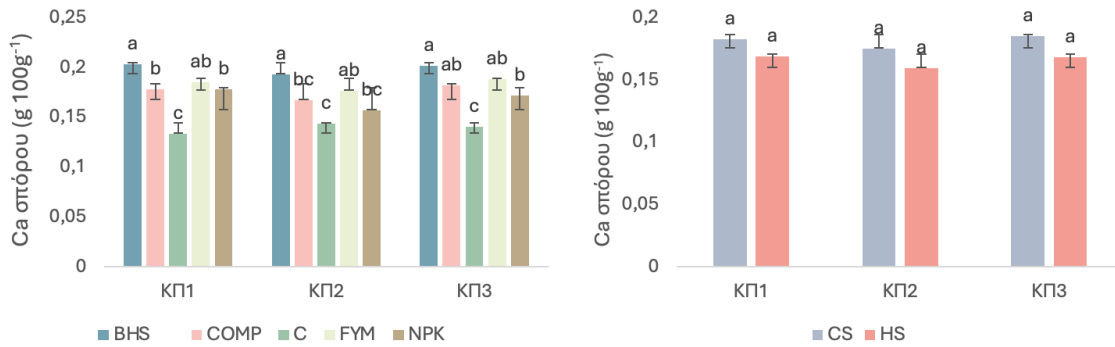


Διάγραμμα 5-6 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις N σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.2.2 Περιεκτικότητα Ca σπόρου

Η περιεκτικότητα Ca σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση στις 3 ΚΠ ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-2). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη περιεκτικότητα Ca σπόρου καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (0.20 ± 0.006) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (0.13 ± 0.006). Στην επέμβαση FYM (0.18 ± 0.006), η περιεκτικότητα ήταν 11.11% μικρότερη από την επέμβαση BHS, ενώ στις επεμβάσεις COMP και NPK (0.17 ± 0.006) ήταν 17.65% μικρότερη. Στη 2^η ΚΠ, η περιεκτικότητα Ca σπόρου στην επέμβαση FYM (0.17 ± 0.007) ήταν 17.65% μικρότερη από την επέμβαση BHS. Στις επεμβάσεις COMP και NPK (0.16 ± 0.007) η περιεκτικότητα Ca σπόρου ήταν 18.75% μικρότερη σε σχέση με την επέμβαση BHS. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη περιεκτικότητα καταγράφηκε στην BHS ($0.20 \pm 0.007 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$) και η ελάχιστη στην C ($0.14 \pm 0.007 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$). Στις επεμβάσεις FYM και COMP, η περιεκτικότητα ήταν $0.18 \pm 0.007 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ (Διάγραμμα 5-7).

Ca σπόρου

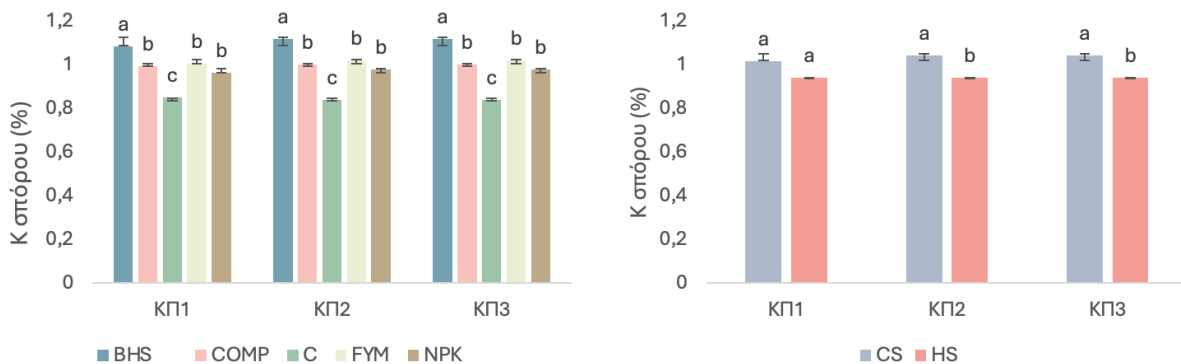


Διάγραμμα 5-7 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Ca σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.2.3 Περιεκτικότητα Κ σπόρου

Στην 1^η ΚΠ, η περιεκτικότητα Κ σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-2). Η μέγιστη περιεκτικότητα καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (1.08 ± 0.01) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (0.84 ± 0.01). Στις επεμβάσεις FYM (1.00 ± 0.01) και COMP (0.99 ± 0.01), η περιεκτικότητα ήταν αντίστοιχα 8.00% και 9.09% μικρότερη από την επέμβαση BHS, ενώ στην NPK (0.96 ± 0.01) ήταν 12.50% μικρότερη από την επέμβαση BHS. Στη 2^η ΚΠ και 3^η ΚΠ, η περιεκτικότητα Κ σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά τόσο από την αλατότητα ($p < 0.05$) όσο και από τη λίπανση ($p < 0.001$). Στην 3^η ΚΠ, στην επέμβαση HS (0.94 ± 0.01), η περιεκτικότητα Κ σπόρου ήταν 10.64% μικρότερη σε σχέση με την επέμβαση CS (1.04 ± 0.01) (Διάγραμμα 5-8).

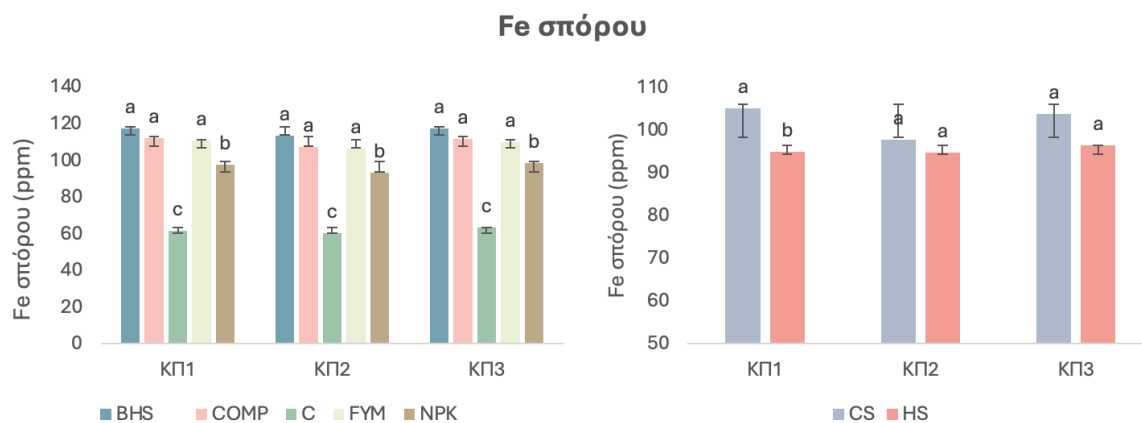
Κ σπόρου



Διάγραμμα 5-8 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Κ σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.2.4 Περιεκτικότητα Fe σπόρου

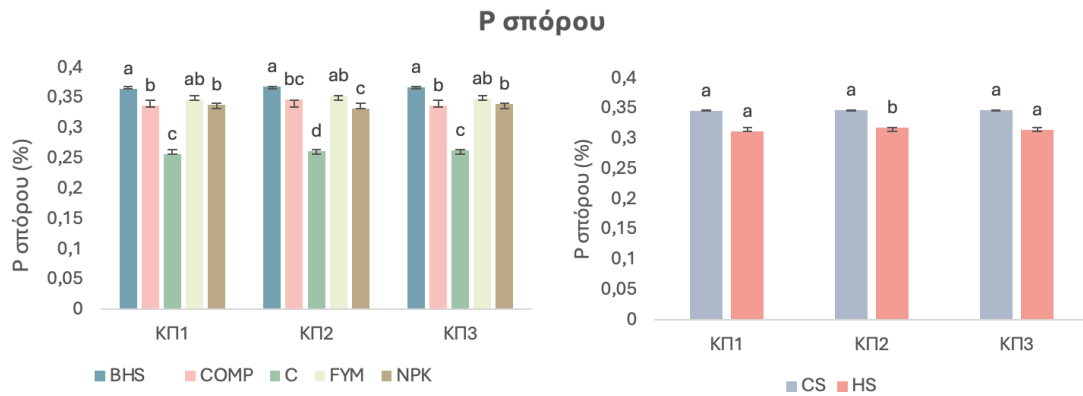
Στην 1^η ΚΠ, η περιεκτικότητα Fe σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά τόσο από την αλατότητα ($p < 0.01$) όσο και από τη λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-2). Στην επέμβαση CS (94.93 ± 0.75 ppm), η περιεκτικότητα Fe σπόρου ήταν 10.68% μικρότερη σε σχέση με την επέμβαση BHS (105.07 ± 0.75 ppm). Η μέγιστη περιεκτικότητα Fe σπόρου καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (117.33 ± 2.20 ppm) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (61.67 ± 2.20 ppm). Στις επεμβάσεις COMP (112.17 ± 2.20 ppm) και FYM (111 ± 2.20 ppm), η περιεκτικότητα ήταν 4.60% και 5.70% μικρότερη από την επέμβαση BHS, αντίστοιχα. Στη 2^η ΚΠ, η περιεκτικότητα Fe σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-2). Στην 3^η ΚΠ, η περιεκτικότητα Fe σπόρου επηρεάστηκε επίσης από τη λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-2). Στις επεμβάσεις COMP (111.67 ± 2.75 ppm) και FYM (109.83 ± 2.75 ppm), οι περιεκτικότητες ήταν αντίστοιχα 5.07% και 6.83% μικρότερες από την επέμβαση BHS, ενώ στην επέμβαση NPK (98.67 ± 2.75 ppm) ήταν 18.91% μικρότερη από την επέμβαση BHS (Διάγραμμα 5-9).



Διάγραμμα 5-9 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Fe σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.2.5 Περιεκτικότητα P σπόρου

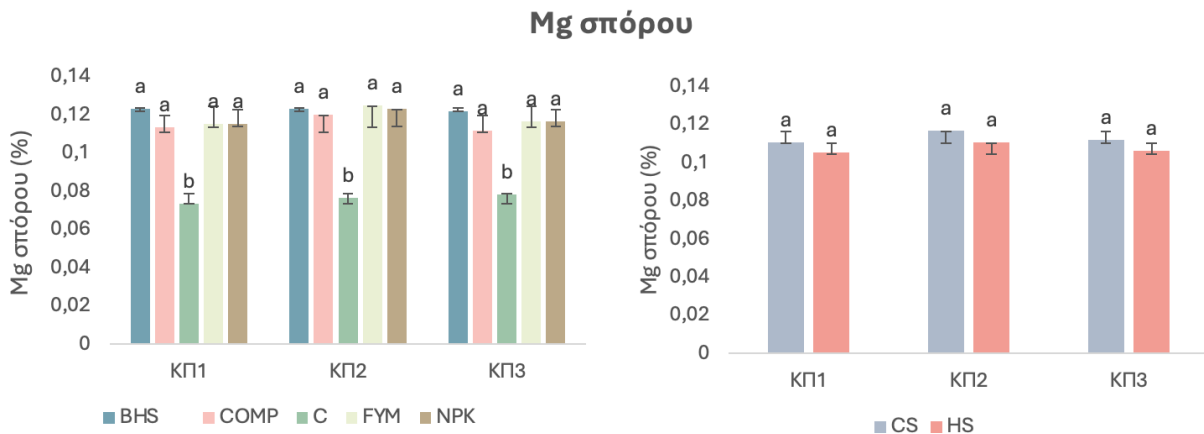
Στην 1^η ΚΠ, η περιεκτικότητα P σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-2). Στη 2^η ΚΠ, η περιεκτικότητα P σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά τόσο από την αλατότητα ($p < 0.05$) όσο και από τη λίπανση ($p < 0.001$). Στην επέμβαση HS, η περιεκτικότητα ήταν $0.32 \pm 0.005\%$, ενώ στην επέμβαση CS ήταν $0.34 \pm 0.005\%$ (Διάγραμμα 5-10). Στην 3^η ΚΠ, η περιεκτικότητα P σπόρου επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-2). Η μέγιστη περιεκτικότητα καταγράφηκε στην επέμβαση BHS ($0.37 \pm 0.007\%$) και η ελάχιστη στην επέμβαση C ($0.26 \pm 0.007\%$). Στις επεμβάσεις FYM και NPK, η περιεκτικότητα P σπόρου δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά.



Διάγραμμα 5-10 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις P σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.2.6 Περιεκτικότητα Mg σπόρου

Η περιεκτικότητα του σπόρου σε μαγνήσιο επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση στις 3 ΚΠ ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-2). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη περιεκτικότητα καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (0.12 ± 0.004) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (0.07 ± 0.004) (Διάγραμμα 5-11). Οι επεμβάσεις FYM και NPK δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά από την επέμβαση BHS. Η επέμβαση COMP (0.113 ± 0.004) ήταν 9.09% μικρότερη από την επέμβαση BHS. Στη 2^η ΚΠ, η μέγιστη περιεκτικότητα καταγράφηκε στην επέμβαση FYM (0.12 ± 0.004) και όλες οι λιπάνσεις διέφεραν στατιστικά μόνο από την επέμβαση C (0.07 ± 0.004). Αντίστοιχα, στην 3^η ΚΠ, οι λιπάνσεις διέφεραν στατιστικά σημαντικά μόνο από την επέμβαση C.



Διάγραμμα 5-11 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Mg σπόρου. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.3 Αναλύσεις μικροστοιχείων και ιχνοστοιχείων φυτού

Τα αποτελέσματα της ANOVA για την επίδραση της λίπανσης και των επιπέδων αλατότητας στα μακροστοιχεία και μικροστοιχεία φυτικού ιστού τριγωνέλλας παρουσιάζονται στον Πίνακα 5-3.

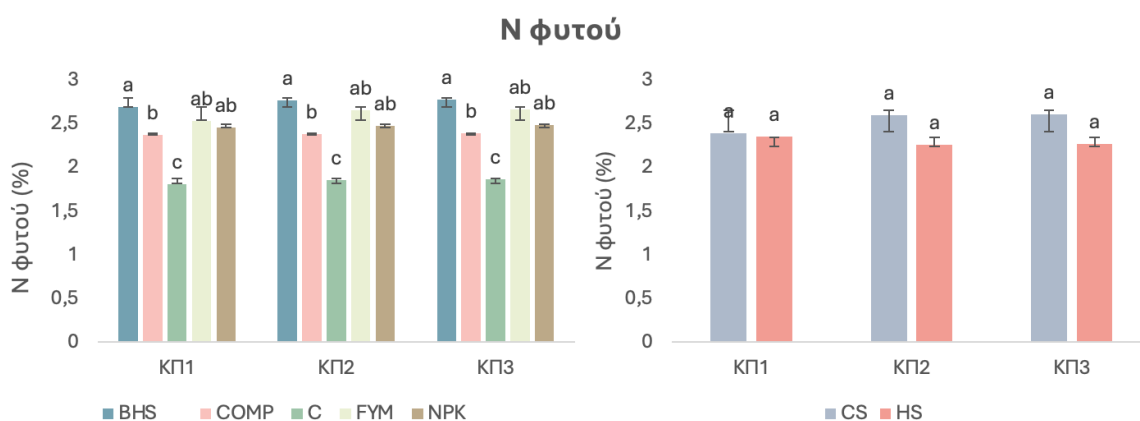
Πίνακας 5-3 Ανάλυση two-way ANOVA για τους N, Ca, K, Fe, P και Mg φυτού για τις 3 ΚΠ σε επίπεδο σημαντικότητας α=5%.

	Df	N φυτού (%)	Ca φυτού (g 100g ⁻¹)	K φυτού (%)	Fe φυτού (ppm)	P φυτού (%)	Mg φυτού (%)
1^η ΚΠ							
F Αλατότητας	1	ns	ns	37.80*	181.92**	ns	ns
F Λίπανσης	4	29.31***	28.32***	29.18***	210.44***	81.12***	39.63***
F Αλατότητας	4	ns	ns	8.75***	4.37*	8.17***	ns
2^η ΚΠ							
F Αλατότητα	1	ns	ns	87.23*	ns	25.01*	ns
F Αλατότητας	4	26.5***	12.28***	45.22***	81.69***	82.66***	49.27***
F Λίπανσης	4	ns	ns	6.83**	ns	9.56***	ns
3^η ΚΠ							
F Αλατότητας	1	ns	ns	28.58*	ns	23.71*	ns
F Λίπανσης	4	26.50***	17.37***	66.84***	115.75***	152.70***	58.48***
F Αλατότητας	4	ns	ns	8.79***	ns	27.72***	ns
Υπόλοιπο	16						
Σύνολο	29						

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, ns: μη σημαντικό (p > 0,05).

5.3.3.1 Περιεκτικότητα N φυτού

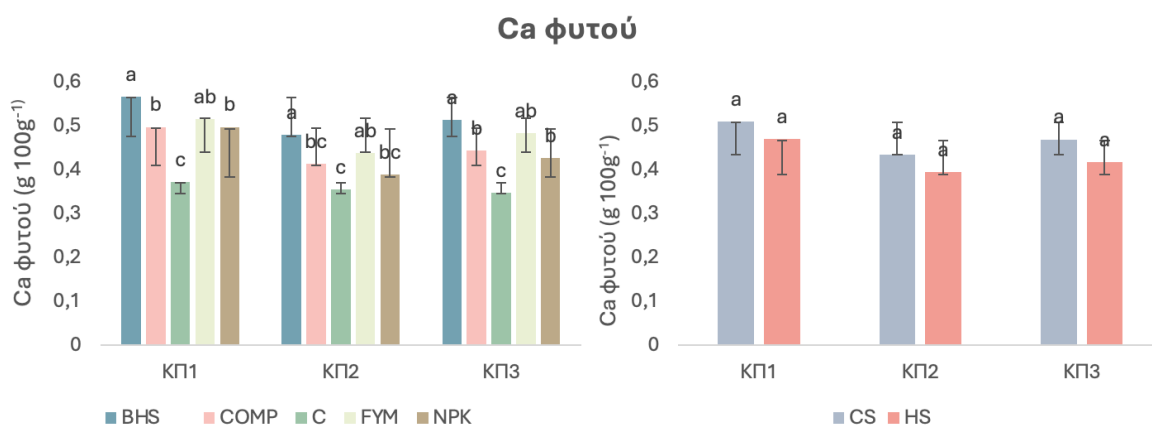
Η περιεκτικότητα του φυτικού ιστού σε άζωτο επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση στις 3 ΚΠ (p<=0.001) (Πίνακας 5-3). Στην 1^η ΚΠ, οι επεμβάσεις FYM και NPK δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Η μέγιστη περιεκτικότητα N φυτού καταγράφηκε στην επέμβαση BHS και η ελάχιστη στην επέμβαση C. Στη 2^η ΚΠ, οι επεμβάσεις FYM και NPK επίσης δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες λιπάνσεις. Η μέγιστη περιεκτικότητα N φυτού καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (2.77±0.09%) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (1.85±0.09%). Οι περιεκτικότητες N φυτού στις επεμβάσεις FYM και NPK ήταν 2.66±0.09% και 2.48±0.09%, αντίστοιχα, ενώ στην επέμβαση COMP ήταν 2.38±0.09%. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη περιεκτικότητα N φυτού καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (2.78±0.09%) και η ελάχιστη στην C (1.86±0.09%) (Διάγραμμα 5-12).



Διάγραμμα 5-12 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις N φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.3.2 Περιεκτικότητα Ca φυτού

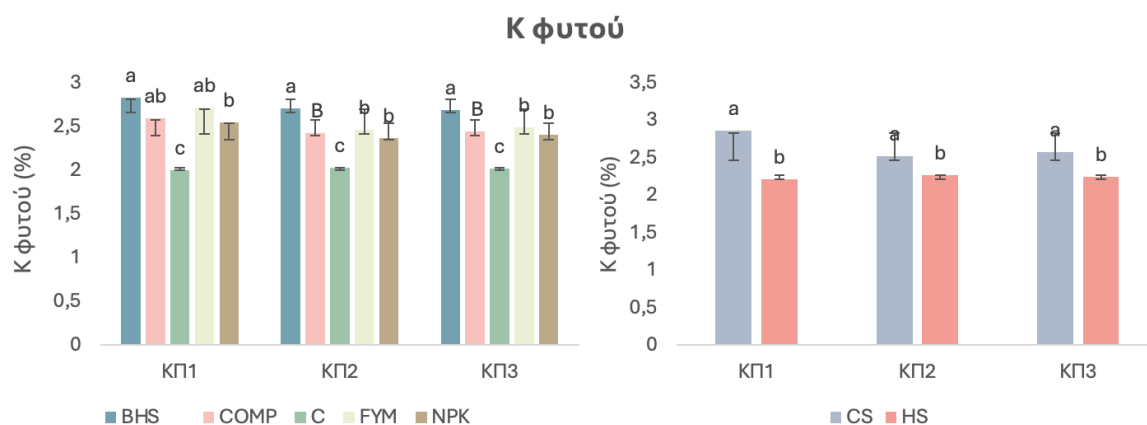
Η περιεκτικότητα του φυτικού ιστού σε ασβέστιο επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση στις 3 ΚΠ ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-3). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη περιεκτικότητα Ca φυτού καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (0.57 ± 0.01) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (0.37 ± 0.01) (Διάγραμμα 5-13). Στην επέμβαση FYM (0.51 ± 0.01), η περιεκτικότητα ήταν 11.76% μικρότερη από την επέμβαση BHS, ενώ στις επεμβάσεις NPK και COMP (0.49 ± 0.01) ήταν 16.33% μικρότερη από την επέμβαση BHS. Στη 2^η ΚΠ, οι περιεκτικότητες στις επεμβάσεις FYM (0.43 ± 0.01) και COMP (0.41 ± 0.01) ήταν 11.63% και 17.07% μικρότερες από την επέμβαση BHS, ενώ στην επέμβαση NPK (0.38 ± 0.01) ήταν 26.32% μικρότερη από την BHS. Στην 3^η ΚΠ, οι επεμβάσεις COMP και NPK δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, ενώ η επέμβαση FYM (0.48 ± 0.02) δεν διέφερε στατιστικά από την επέμβαση BHS.



Διάγραμμα 5-13 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Ca φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.3.3 Περιεκτικότητα K φυτού

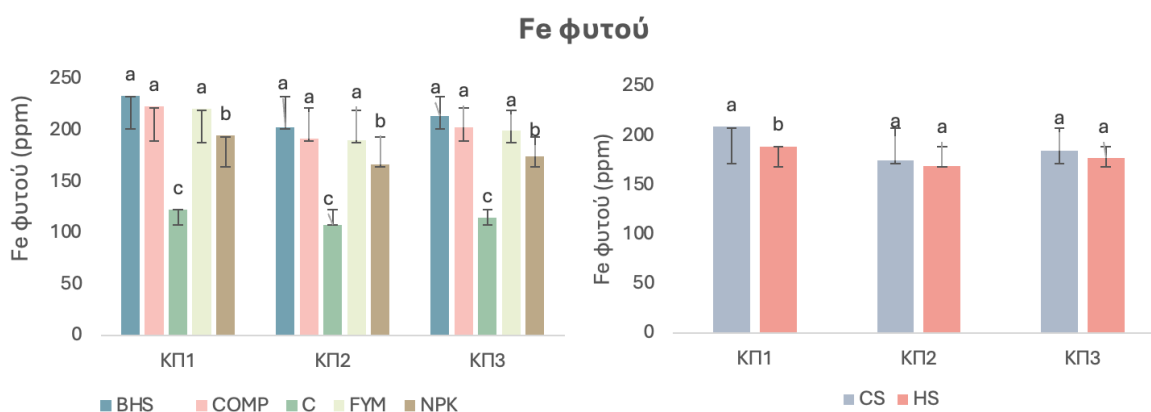
Η περιεκτικότητα K φυτού επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά τόσο από την αλατότητα ($p < 0.05$) όσο και από τη λίπανση ($p < 0.001$) στις 3 ΚΠ (Πίνακας 5-3). Στην 1^η ΚΠ, στην επέμβαση HS η περιεκτικότητα K φυτού ήταν 28.83% μικρότερη σε σχέση με την επέμβαση CS (Διάγραμμα 5-14). Στις επεμβάσεις FYM ($2.71 \pm 0.08\%$) και COMP ($2.59 \pm 0.08\%$), η περιεκτικότητα K φυτού ήταν 4.43% και 9.27% μικρότερη σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ στην επέμβαση NPK ($2.55 \pm 0.08\%$) ήταν 10.98% μικρότερη από την επέμβαση BHS. Στη 2^η ΚΠ, στην επέμβαση FYM ($2.47 \pm 0.05\%$) η περιεκτικότητα K φυτού ήταν 9.72% μικρότερη σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ στις επεμβάσεις COMP ($2.43 \pm 0.05\%$) και NPK ($2.37 \pm 0.05\%$) ήταν αντίστοιχα 11.52% και 14.35% μικρότερη από την επέμβαση BHS. Στην 3^η ΚΠ, στην επέμβαση HS ($2.25 \pm 0.06\%$), η περιεκτικότητα K φυτού βρέθηκε μειωμένη κατά 14.22% σε σχέση με την επέμβαση CS.



Διάγραμμα 5-14 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Κ φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.3.4 Περιεκτικότητα Fe φυτού

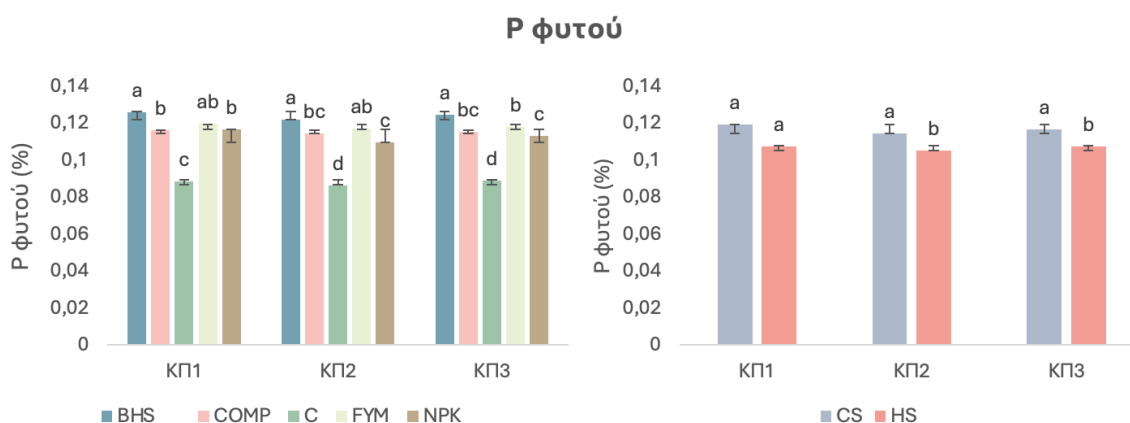
Στην 1^η ΚΠ, η περιεκτικότητα των φυτών σε σίδηρο επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p < 0.01$) και τη λίπανση ($p < 0.001$) (Πίνακας 5-3). Στην επέμβαση HS περιεκτικότητα Fe φυτού ήταν μειωμένο κατά 10.68% σε σύγκριση με την επέμβαση CS. Στη 2^η ΚΠ, η λίπανση ($p < 0.001$) επηρέασε σημαντικά την περιεκτικότητα Fe φυτού. Η επέμβαση BHS (202.33 ± 5.94 ppm) παρουσίασε τη μέγιστη περιεκτικότητα, ενώ η επέμβαση C (107.69 ± 5.94 ppm) την ελάχιστη (Διάγραμμα 5-15). Οι περιεκτικότητες στις επεμβάσεις COMP και FYM ήταν 5.74% και 6.56% μικρότερες από την επέμβαση BHS, αντίστοιχα, ενώ στην επέμβαση NPK (166.13 ± 5.94 ppm) η περιεκτικότητα Fe φυτού ήταν 21.79% μικρότερη από την επέμβαση BHS. Στην 3^η ΚΠ, η λίπανση ($p < 0.001$) επηρέασε σημαντικά την περιεκτικότητα Fe φυτού (Πίνακας 5-3). Στις επεμβάσεις COMP (202.24 ± 5.21 ppm) και FYM (199.56 ± 5.21 ppm), οι περιεκτικότητες ήταν 5.71% και 7.13% μικρότερες από την επέμβαση BHS, ενώ στην NPK (174.32 ± 5.21 ppm) ήταν 22.64% μικρότερη από την επέμβαση BHS.



Διάγραμμα 5-15 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Fe φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.3.5 Περιεκτικότητα P φυτού

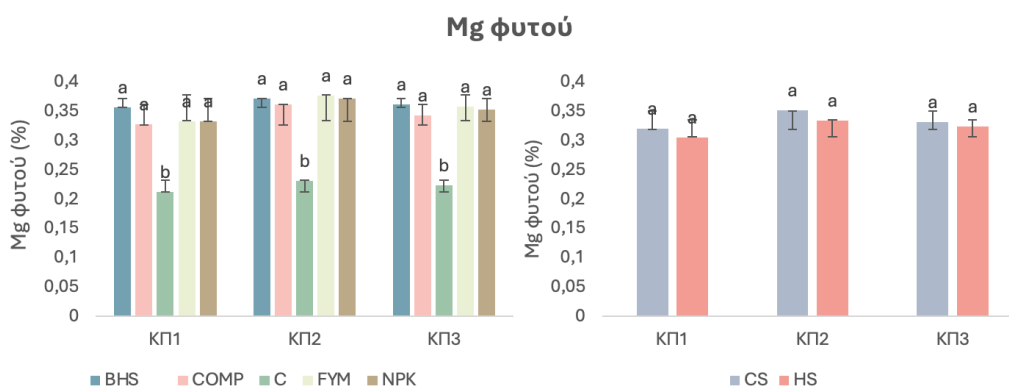
Στην 1^η ΚΠ, η περιεκτικότητα των φυτών σε φώσφορο επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 5-3). Η μέγιστη περιεκτικότητα καταγράφηκε στην επέμβαση BHS ($0.13 \pm 0.0025\%$), ενώ η ελάχιστη στην επέμβαση C ($0.08 \pm 0.002\%$). Στις επεμβάσεις FYM, NPK και COMP, η περιεκτικότητα ήταν $0.12 \pm 0.002\%$ (Διάγραμμα 5-16). Στη 2^η ΚΠ και 3^η ΚΠ, η περιεκτικότητα των φυτών σε φώσφορο επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και τη λίπανση ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 5-3). Στην 3^η ΚΠ, στην επέμβαση CS, η περιεκτικότητα ήταν $0.12 \pm 0.001\%$, ενώ στην επέμβαση HS ήταν $0.10 \pm 0.001\%$ (Διάγραμμα 5-16).



Διάγραμμα 5-16 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις P φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.3.3.6 Περιεκτικότητα Mg φυτού

Η περιεκτικότητα Mg φυτού επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση στις 3 ΚΠ ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 5-3). Στην 1^η ΚΠ, η μέγιστη περιεκτικότητα σε Mg φυτού καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (0.35 ± 0.01) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (0.21 ± 0.01) (Διάγραμμα 5-17). Στις επεμβάσεις FYM και NPK (0.33 ± 0.01), η περιεκτικότητα ήταν 6.06% μικρότερη από την επέμβαση BHS. Στην επέμβαση COMP (0.32 ± 0.01) η περιεκτικότητα σε Mg φυτού ήταν 9.38% μικρότερη από την επέμβαση BHS. Στη 2^η ΚΠ, οι λιπάνσεις διέφεραν στατιστικά σημαντικά μόνο από την επέμβαση C. Στην 3^η ΚΠ, η μέγιστη περιεκτικότητα σε Mg φυτού καταγράφηκε στην BHS (0.36 ± 0.01) και η ελάχιστη στην C (0.223 ± 0.01) (Διάγραμμα 5-17). Οι λιπάνσεις διέφεραν στατιστικά σημαντικά μόνο από την επέμβαση C (Διάγραμμα 5-17).



Διάγραμμα 5-17 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στις συγκεντρώσεις Mg φυτού. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) κάθε στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey.

5.4 Συζήτηση

Η έννοια της ποιότητας των εδαφών έχει συχνά συνδεθεί με την ποσότητα και την ποιότητα της παραγόμενης φυτομάζας [329], καθώς και με τις επιπτώσεις που έχει στα υπάρχοντα ενδιαιτήματα και τη βιοκοινότητα που υποστηρίζει [330]. Η ποιότητα του εδάφους όμως δεν περιορίζεται στα παραπάνω, αλλά είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τις λειτουργίες που επιτελεί το εδαφικό οικοσύστημα μέσα στο πλαίσιο της παραγωγικότητας, της ποιότητας του περιβάλλοντος και της υγείας των ζωντανών οργανισμών [331].

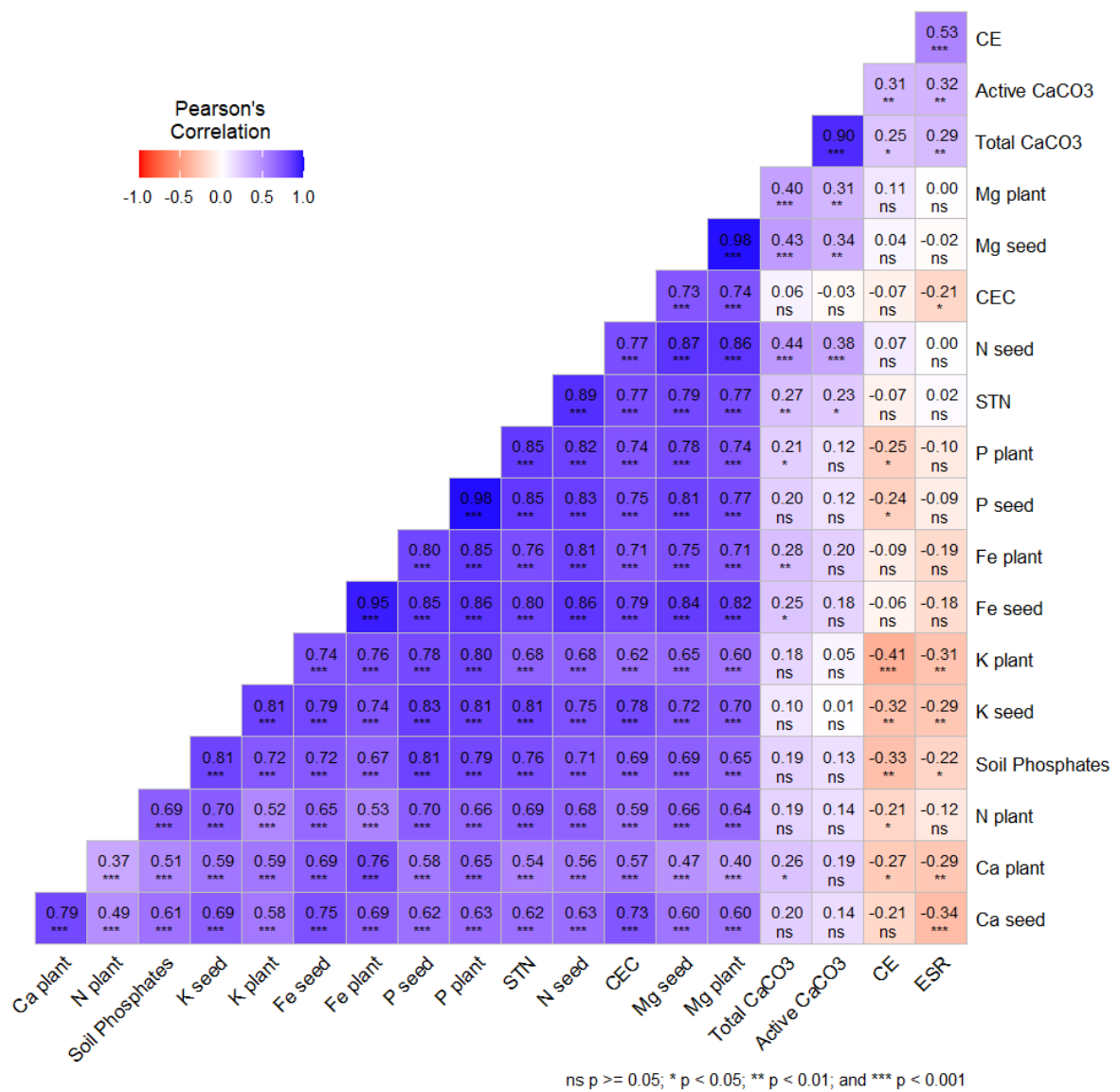
Το ολικό άζωτο του εδάφους επηρεάστηκε από τη λίπανση σε καλλιέργεια τριγωνέλλας. Οι βιολογικές λιπάνσεις οδήγησαν σε υψηλότερη συγκέντρωση αζώτου στο έδαφος σε σύγκριση με την επέμβαση NPK, κάτι το οποίο είναι σύμφωνο με τη βιβλιογραφία [332]. Αυτό θεωρείται σημαντικό, διότι αντικρούει το επιχείρημα κατά της βιολογικής γεωργίας, το οποίο υποστηρίζει ότι χωρίς συνθετικά λιπάσματα οι καλλιέργειες δεν μπορούν να καλύψουν τις ανάγκες τους σε άζωτο [333]. Ερευνητές υποστηρίζουν ότι η διαθεσιμότητα των πόρων αζώτου θα επηρέαζε τις καλλιεργήσιμες εκτάσεις και την παραγωγή τροφίμων σε έναν πλήρως βιολογικό κόσμο [334].

Στη παρούσα έρευνα, η βιολογική λίπανση κατάφερε να αυξήσει το εδαφικό άζωτο αντί να μειώσει τα αποθέματά του. Το εδαφικό άζωτο παρουσιάζει θετικές συσχετίσεις με τις συγκεντρώσεις των ανόργανων στοιχείων σε φυτό και σπόρο τριγωνέλλας (Διάγραμμα 5-18). Οι θετικές συσχετίσεις υποδηλώνουν ότι, καθώς αυξάνονται τα επίπεδα αζώτου στο έδαφος, τα φυτά τριγωνέλλας έχουν μεγαλύτερη ικανότητα να απορροφούν και να συσσωρεύουν βασικά μέταλλα από το έδαφος. Το άζωτο είναι ζωτικής σημασίας θρεπτικό συστατικό για την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών και η διαθεσιμότητά του μπορεί να επηρεάσει τη συνολική πρόσληψη θρεπτικών συστατικών από τα φυτά [335].

Επίσης, σύμφωνα με την μελέτη αυτή, το εδαφικό άζωτο επηρεάστηκε από την αλληλεπίδραση λίπανσης και αλατότητας σε καλλιέργεια τριγωνέλλας. Η εφαρμογή βιολογικών λιπασμάτων ή οργανικών επεμβάσεων μετρίασαν την αλατότητα του εδάφους, αύξησαν την περιεκτικότητα σε οργανική ουσία, το διαθέσιμο νερό, την υδραυλική αγωγιμότητα και τα διαθέσιμα μακροθρεπτικά συστατικά [336]. Αυτό είναι σύμφωνο με το δικό

μας αποτελέσματα που σημειώνεται ότι η εδαφική αλατότητα ήταν χαμηλότερη στα τεμάχια με τις βιολογικές λιπάνσεις.

Τα φωσφορικά του εδάφους επηρεαστήκαν σημαντικά από τη λίπανση τη πρώτη πειραματική χρονιά ενώ την δεύτερη και την τρίτη φαίνεται να επηρεάστηκαν από την υψηλή αλατότητα. Οι βιολογικές λιπάνσεις οδήγησαν σε υψηλότερη συγκέντρωση φωσφορικών στο έδαφος σε σύγκριση με την επέμβαση NPK. Αυτό το αποτέλεσμα έρχεται σε αντίθεση με την έρευνα [337], όπου υποστηρίζεται ότι ένας από βασικούς λόγους που η Αμερική έχει αρνητικό ισοζύγιο φωσφόρου είναι η εκτεταμένη χρήση βιολογικών εισροών παρά τις υψηλές εισροές χημικών λιπασμάτων. Η Ευρώπη παρουσιάζει αρνητικό ισοζύγιο φωσφόρου μάλλον λόγω διάβρωσης αλλά και πολύ χαμηλών εισροών χημικών λιπασμάτων [337]. Σε αυτήν τη μελέτη, η υψηλή αλατότητα οδήγησε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις φωσφορικών στο έδαφος σε σύγκριση με την συνήθης συγκέντρωση αλάτων στο έδαφος.



Διάγραμμα 5-18 Πίνακας συσχέτισης Pearson με τιμές r και p μεταξύ των χαρακτηριστικών του εδάφους και των ιχνοστοιχείων και μακροστοιχείων φυτικού ιστού και σπόρου

Η μέτρηση CEC είναι μια κρίσιμη εδαφική ιδιότητα που μετράει την ικανότητα του εδάφους να συγκρατεί και να ανταλλάσσει θετικά φορτισμένα ιόντα (κατιόντα), όπως Ca, Mg, K και Na [338]. Οι πρακτικές βιολογικής γεωργίας μπορούν να επηρεάσουν την CEC μέσω διαφόρων μηχανισμών και η κατανόηση αυτών των σχέσεων είναι σημαντική για τη βιώσιμη διαχείριση του εδάφους. Στη καλλιέργεια τριγωνέλλας, η εφαρμογή βιολογικών λιπάνσεων αύξησε σημαντικά την CEC. Οι πρακτικές βιολογικής γεωργίας τείνουν να προωθούν μια ποικιλόμορφη και ενεργή μικροβιακή κοινότητα στο έδαφος. Οι μικροοργανισμοί παράγουν οργανικά οξέα κατά τη διάρκεια των μεταβολικών τους διεργασιών, τα οποία μπορούν να συμβάλουν στη διάσπαση της οργανικής ύλης και στην απελευθέρωση κατιόντων. Αυτή η μικροβιακή δραστηριότητα ενισχύει την ικανότητα του εδάφους να συγκρατεί κατιόντα [339].

Η CEC του εδάφους παρουσιάζει θετικές συσχετίσεις με τις συγκεντρώσεις των ανόργανων στοιχείων σε φυτό και σπόρο τριγωνέλλας (Διάγραμμα 5-18). Υψηλές τιμές CEC συνδέονται συχνά με τη βελτίωση της διαθεσιμότητας θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος όπως συνέβη στην έρευνα μας με τις βιολογικές λιπάνσεις. Οι θετικές συσχετίσεις υποδηλώνουν ότι τα φυτά τριγωνέλλας επωφελούνται από την αυξημένη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, οδηγώντας σε αυξημένες συγκεντρώσεις ανόργανων συστατικών τόσο στους φυτικούς ιστούς (φύλλα) όσο και στους συγκομιζόμενους σπόρους.

Επιπρόσθετα, αποτελέσματα ερευνών δείχνουν ότι η ανάπτυξη των ριζών της μηδικής βελτιώνει τη συσσώρευση οργανικής ουσίας στο έδαφος και την ανοργανοποίηση των θρεπτικών στοιχείων [340]. Η συσσώρευση και η ανοργανοποίηση των θρεπτικών συστατικών του εδάφους εγγυάται επίσης την ανάπτυξη των ριζών και των μικροοργανισμών. Ως εκ τούτου, συνάγεται το συμπέρασμα ότι η εισαγωγή μηδικής θα προωθήσει την ακινητοποίηση και την ανοργανοποίηση των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους και μπορεί να επιτρέψει τη βιώσιμη χρήση της γης. Το εν λόγω αποτέλεσμα δύναται να αξιοποιηθεί και στην καλλιέργεια τριγωνέλλας.

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα του εδάφους είναι ένας δείκτης της περιεκτικότητας του εδάφους σε άλατα και αποτελεί σημαντικό δείκτη της υγείας του εδάφους. Τα εδάφη όπου έγινε η έρευνά μας χαρακτηρίζονται ως νατριούχα αφού έχουν χαμηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα ($EC < 4 \text{ dS m}^{-1}$) βάση της κατάταξης του Richards [328]. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα του εδάφους επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση και την υψηλή αλατότητα στην καλλιέργεια τριγωνέλλας. Σημαντικό είναι το αποτέλεσμα ότι με τις οργανικές λιπάνσεις σημειώνονται σημαντικά μικρότερα επίπεδα ηλεκτρικής αγωγιμότητας. Τα βιολογικά λιπάσματα έχουν συνήθως χαμηλότερη περιεκτικότητα σε αλάτι σε σύγκριση με πολλά ανόργανα λιπάσματα [341]. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα του εδάφους παρουσίασε μία αρνητική συσχέτιση με την συγκέντρωση ιχνοστοιχείων σε φυτά και σπόρους τριγωνέλλας (Διάγραμμα 5-18).

Οι γεωλογικές, κλιματικές και περιβαλλοντικές συνθήκες, καθώς και οι ανθρωπογενείς δραστηριότητες επηρεάζουν το CaCO_3 στα εδάφη [342]. Μία από τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες είναι η γεωργία. Η έρευνά μας αποδεικνύει ότι το ολικό CaCO_3 και το ενεργό CaCO_3 επηρεάστηκαν σημαντικά από τη λίπανση, με την επέμβαση NPK να δίνει τις υψηλότερες τιμές. Αυτό επιβεβαιώνεται και σε άλλες καλλιέργειες [54, 343].

Οι οργανικές επεμβάσεις θα μπορούσαν να βελτιώσουν τις ιδιότητες του εδάφους επιταχύνοντας την έκπλυση νατρίου και άλλων αλάτων και μειώνοντας το ποσοστό ανταλλάξιμου νατρίου [336]. Αυτό το αποτέλεσμα συμφωνεί με τη δικιά μας έρευνα. Ο δείκτης ESR φαίνεται να επηρεάστηκε από την αλατότητα και τη λίπανση μόνο στην 1^η καλλιεργητική χρονιά. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ο δείκτης ESR είναι μόνο ένας από τους διάφορους δείκτες που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της νατρίωσης του εδάφους και των πιθανών επιπτώσεων της στη δομή του εδάφους. Στην έρευνά μας, ο δείκτης ESR είναι μικρότερος της μονάδας (<1), υποδεικνύοντας χαμηλό κίνδυνο νατρίου, άρα το έδαφος δεν είναι πιθανό να υποβαθμιστεί. Στη 2^η και την 3^η καλλιεργητική περίοδο ενώ δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των λιπάνσεων και της αλατότητας, με την επέμβαση NPK σημειώνονται τιμές ESR μεγαλύτερες της μονάδας και μικρότερες του δύο ($1 < \text{ESR} < 2$), οι οποίες υποδηλώνουν μέτριο κίνδυνο διασποράς του εδάφους υπό ορισμένες συνθήκες.

Στην συνέχεια αυτής της έρευνας μελετήθηκαν τα ανόργανα στοιχεία που περιέχονται στους φυτικούς ιστούς και σπόρους τριγωνέλλας. Η βιβλιογραφία αναφέρει ότι για την καλλιέργεια τριγωνέλλας, η γενετική των φυτών επηρεάζει στον καθορισμό του πόσο αποτελεσματικά ένα φυτό απορροφά και χρησιμοποιεί τα ανόργανα στοιχεία από το έδαφος. Οι διαφορετικές ποικιλίες τριγωνέλλας μπορεί να έχουν διαφορετικές απαιτήσεις σε ανόργανα άλατα και ικανότητες απορρόφησης [344]. Στη μελέτη μας αποδεικνύεται ότι η λίπανση και η αλατότητα εδάφους επηρέασε την περιεκτικότητα ανόργανων στοιχείων σε φυτικούς ιστούς και σπόρους τριγωνέλλας.

Η περιεκτικότητα αζώτου σε φυτικό ιστό τριγωνέλλας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση. Αυτό το αποτέλεσμα είναι σύμφωνο με τη βιβλιογραφία [345]. Επιπρόσθετα, η περιεκτικότητα αζώτου σε σπόρο τριγωνέλλας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση και από την εδαφική αλατότητα. Οι επεμβάσεις BHS και FYM οδήγησαν σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα αζώτου στο σπόρο σε σύγκριση με την επέμβαση NPK. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι τα βιολογικά λιπάσματα απελευθερώνουν θρεπτικά συστατικά αργά καθώς αποσυντίθενται, παρέχοντας σταδιακή και συνεχή παροχή ανόργανων συστατικών στα φυτά και αυτό μπορεί να οδηγήσει σε πιο ισορροπημένη πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων με την πάροδο του χρόνου [346], σε αντίθεση με την επέμβαση NPK η οποία παρέχει θρεπτικά συστατικά σε πιο διαλυτή και εύκολα διαθέσιμη μορφή και αυτό πιθανή έκπλυση.

Δεδομένου ότι τα ιχνοστοιχεία λειτουργούν ως καταλύτες στις βιοχημικές αντιδράσεις των ζωντανών κυττάρων και είναι απαραίτητα για τη διατροφή τόσο των ζώων όσο και του ανθρώπου, είναι σημαντικά και για την καλλιέργεια τριγωνέλλας [347]. Το ασβέστιο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην απόκριση των φυτών σε συνθήκες στρες, συμπεριλαμβανομένων των περιβαλλοντικών καταπονήσεων όπως η ξηρασία και η αλατότητα. Λειτουργεί ως σηματοδοτικό μόριο, βοηθώντας το φυτό να προσαρμοστεί και να ανταποκριθεί στους παράγοντες στρες [348]. Η περιεκτικότητα ασβεστίου σε φυτό και σπόρο τριγωνέλλας επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση. Η επέμβαση BHS παρουσίασε μεγαλύτερη συγκέντρωση σιδήρου σε φυτά τριγωνέλλας σε σύγκριση με τις άλλες βιολογικές λιπάνσεις διότι περιέχει χουμικές ουσίες, οι οποίες

έχουν συσχετιστεί με τη βελτίωση της διαθεσιμότητας των θρεπτικών συστατικών. Τα χουμικά οξέα σε αυτές τις ουσίες μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα με ανόργανα άλατα, καθιστώντας τα πιο διαλυτά και προσβάσιμα στις ρίζες των φυτών [259].

Το κάλιο συμμετέχει στην οσμωτική ρύθμιση, συμβάλλοντας στη διατήρηση της ισορροπίας του νερού και των διαλυμένων ουσιών μέσα στα φυτικά κύτταρα. Αυτό είναι απαραίτητο για την πίεση σπαργής των κυττάρων, η οποία παρέχει δομική υποστήριξη και συμβάλλει στην πρόληψη της μάρανσης [349]. Στην έρευνά μας, η περιεκτικότητα καλίου σε φυτό και σπόρο τριγωνέλλας επηρεάστηκε από τη λίπανση, κάτι το οποίο έρχεται σε αντίθεση με αποτελέσματα άλλων μελετών, οι οποίες έδειξαν ότι η περιεκτικότητα σε μακροστοιχεία δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση, παρόλο που αυξήθηκε με την αύξηση του εφαρμοζόμενου λιπάσματος [194]. Η περιεκτικότητα καλίου σε φυτό και σπόρο τριγωνέλλας επηρεάστηκαν την αλατότητα. Στην έρευνά μας διαπιστώθηκε ότι τα φυτά τριγωνέλλας που καταπονήθηκαν από αλατότητα μπορούσαν να συσσωρεύσουν λιγότερο κάλιο σε σύγκριση με τα μη καταπονημένα φυτά. Αντίθετα, σύμφωνα με τους Miccky *et al.* [350], τα φυτά τριγωνέλλας εμφάνισαν σημαντική αύξηση στην ποσότητα ορισμένων ανόργανων οσμωλυτών (π.χ. χλωριούχο, νάτριο, K, Ca και Mg) στην προσπάθεια οσμωτικής ρύθμισης.

Ο σίδηρος είναι απαραίτητο μικροθρεπτικό συστατικό για τα φυτά, συμπεριλαμβανομένης της τριγωνέλλας, και διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο σε διάφορες φυσιολογικές διεργασίες. Ο σίδηρος είναι σημαντικός κατά τον σχηματισμό των σπόρων, συμβάλλοντας στη συνολική ανάπτυξή τους. Η τριγωνέλλα είναι ένα φυτό που έχει αναπτύξει πολλαπλούς μηχανισμούς προσαρμογής στην τροφопενία σιδήρου [351]. Η περιεκτικότητα σιδήρου σε φυτό και σπόρο τριγωνέλλας επηρεάστηκαν από τη λίπανση και την αλατότητα την 1^η πειραματική χρονιά ενώ τις επόμενες δύο επηρεάστηκαν μόνο από τη λίπανση. Οι τρεις βιολογικές μέθοδοι λίπανσης που χρησιμοποιήθηκαν στην καλλιέργεια τριγωνέλλας παρουσίασαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σιδήρου σε σχέση με την επέμβαση NPK. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην σύνθεση των βιολογικών λιπασμάτων. Τα βιολογικά λιπάσματα συχνά περιέχουν μικροθρεπτικά συστατικά (όπως σίδηρο, μαγγάνιο, ψευδάργυρο και χαλκό) που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των φυτών. Η εφαρμογή βιολογικών λιπασμάτων μπορεί να συμβάλει στον εμπλουτισμό αυτών των μικροθρεπτικών συστατικών στο έδαφος, οδηγώντας σε αυξημένη περιεκτικότητα των φυτών σε ανόργανα στοιχεία [352].

Η περιεκτικότητα φωσφόρου σε φυτό και σπόρο τριγωνέλλας επηρεάστηκε από τη λίπανση με υψηλότερες συγκεντρώσεις να σημειώνονται με τις βιολογικές λιπάνσεις. Αυτό επιβεβαιώνεται και σε άλλες καλλιέργειες [54]. Η διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων όπως είναι ο φώσφορος μπορεί να αυξήθηκε λόγω της διατήρησης των βέλτιστων επιπέδων pH. Ορισμένα βιολογικά λιπάσματα, μπορούν να λειτουργήσουν ως ρυθμιστές pH. Το κατάλληλο pH είναι ζωτικής σημασίας για την απορρόφηση ορισμένων ανόργανων συστατικών και τα βιολογικά λιπάσματα μπορούν να συμβάλουν σε ένα πιο ευνοϊκό pH του εδάφους [353].

Η περιεκτικότητα μαγνησίου σε φυτό και σπόρο τριγωνέλλας επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση με υψηλότερες συγκεντρώσεις να σημειώνονται με τις βιολογικές λιπάνσεις. Τα βιολογικά λιπάσματα, όπως το βιοκυκλικό χουμόχωμα, συμβάλλουν σημαντικά στη βελτίωση της δομής του εδάφους. Τα καλά δομημένα

εδάφη επιτρέπουν την καλύτερη ανάπτυξη των ριζών και την απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων. Το βελτιωμένο ριζικό σύστημα μπορεί να έχει πρόσβαση σε ένα ευρύ φάσμα ανόργανων συστατικών που υπάρχουν στο έδαφος γι' αυτό και τα τεμάχια που δέχτηκαν βιολογικές λιπάνσεις έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση μαγνησίου [354].

5.5 Συμπεράσματα

Τα ευρήματα από την παρούσα έρευνα στη καλλιέργεια τριγωνέλλας αποκαλύπτουν τις σημαντικές επιπτώσεις των πρακτικών λίπανσης στη δυναμική του εδαφικού αζώτου και των φωσφορικών, με αξιοσημείωτες συνέπειες στη θρέψη των καλλιεργειών και τη διαχείριση της εδαφικής αλατότητας. Η βιολογική λίπανση αποδείχθηκε ιδιαίτερα αποτελεσματική, με αποτέλεσμα υψηλότερες συγκεντρώσεις αζώτου στο έδαφος σε σύγκριση με την ανόργανη λίπανση, σε αντίθεση με τα επιχειρήματα κατά της ικανότητας της βιολογικής γεωργίας να καλύπτει τις απαιτήσεις σε άζωτο χωρίς συνθετικά λιπάσματα. Οι θετικές συσχετίσεις μεταξύ του εδαφικού αζώτου και των συγκεντρώσεων ανόργανων συστατικών στα φυτά και τους σπόρους τριγωνέλλας υπογραμμίζουν τον ζωτικό ρόλο του αζώτου στη διευκόλυνση της πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων στο φυτικό ιστό και στον οικονομικό παράγοντα της καλλιέργειας που είναι ο σπόρος. Η αλληλεπίδραση της λίπανσης και της αλατότητας ανέδειξε περαιτέρω τα οφέλη των βιολογικών λιπάνσεων, οι οποίες μετρίασαν την αλατότητα του εδάφους και βελτίωσαν τις ιδιότητές του. Η θετική συσχέτιση μεταξύ των φωσφορικών αλάτων του εδάφους και του λόγου ανταλλάξιμου νατρίου υποδεικνύει πρόσθετες πολυπλοκότητες στη δυναμική του εδάφους.

Η έρευνα υπογραμμίζει τη σημασία της ΙΑΚ στο έδαφος, με τις πρακτικές βιολογικής καλλιέργειας να ενισχύουν σημαντικά την ΙΑΚ και μέσω της προώθησης μιας ποικιλόμορφης μικροβιακής κοινότητας. Οι θετικές συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν μεταξύ της ΙΑΚ του εδάφους και των συγκεντρώσεων ανόργανων συστατικών στα φυτά και τους σπόρους τριγωνέλλας υπογραμμίζουν τον κρίσιμο ρόλο της διαθεσιμότητας θρεπτικών συστατικών στην υποστήριξη της ανάπτυξης των φυτών. Επιπλέον, η έρευνα δείχνει ότι οι ανθρωπογενείς δραστηριότητες, ιδίως η λίπανση, επηρεάζουν σημαντικά το ολικό CaCO_3 και τα επίπεδα ενεργού CaCO_3 στα εδάφη, υπογραμμίζοντας την ανάγκη για ενημερωμένες γεωργικές πρακτικές. Επιπλέον, η έρευνά μας υπογραμμίζει τη δυνατότητα των βιολογικών λιπάνσεων να βελτιώνουν τις ιδιότητες του εδάφους διευκολύνοντας την έκπλυση του νατρίου. Η περιεκτικότητα σε άζωτο τόσο στους φυτικούς ιστούς όσο και στους σπόρους επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση, όπου οι βιολογικές εναλλακτικές λύσεις οδηγούν σε υψηλότερη περιεκτικότητα αζώτου στους σπόρους, πιθανότατα λόγω της σταδιακής απελευθέρωσής τους σε θρεπτικά συστατικά. Επιπλέον, η περιεκτικότητα ασβεστίου στα φυτά και στους σπόρους τριγωνέλλας επηρεάστηκε από τη λίπανση, με την επέμβαση BHS να επιδεικνύει υψηλότερη συγκέντρωση στα φυτά. Τα αποτελέσματα αυτά ευθυγραμμίζονται με τη σημασία των ιχνοστοιχείων και του ασβεστίου στην απόκριση των φυτών στο στρες, καταδεικνύοντας τα πιθανά οφέλη της οργανικής λίπανσης στην ενίσχυση της διαθεσιμότητας θρεπτικών στοιχείων.

Η συγκέντρωση καλίου σε φυτό και σπόρο τριγωνέλλας επέδειξε ευαισθησία τόσο στη λίπανση όσο και στην αλατότητα, με μειωμένη συσσώρευση στα φυτά που καταπονήθηκαν από την υψηλή αλατότητα. Ο σίδηρος που είναι ένα απαραίτητο μικροθρεπτικό συστατικό, παρουσίασε διακυμάνσεις στην περιεκτικότητα που επηρεάζονται τόσο από τη λίπανση όσο και από την αλατότητα, με τις μεθόδους βιολογικής λίπανσης να αποδίδουν σταθερά υψηλότερες συγκέντρωση σιδήρου.

Η περιεκτικότητα φωσφόρου στα φυτά και τους σπόρους τριγωνέλλας ανταποκρίθηκε θετικά στη βιολογική λίπανση, υποδηλώνοντας βελτιωμένη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών λόγω των ευνοϊκών επιπέδων pH που διατηρούνται από ορισμένα βιολογικά λιπάσματα. Η περιεκτικότητα μαγνησίου, που επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση, ήταν σημαντικά υψηλότερη με τα βιολογικά λιπάσματα, τονίζοντας το ρόλο τους στην ενίσχυση της δομής του εδάφους και της ανάπτυξης των ριζών. Τα ευρήματα αυτά παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με τη δυναμική των θρεπτικών στοιχείων στην καλλιέργεια της τριγωνέλλας, αναδεικνύοντας τα πιθανά οφέλη της βιολογικής λίπανσης για την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και τη συνολική υγεία των καλλιεργειών και του εδάφους. Ειδικότερα σήμερα που η έκταση των υποβαθμισμένων αλατούχων εδαφών παγκοσμίως έχει αυξηθεί ραγδαία λόγω της κλιματικής αλλαγής και των περιορισμένων βροχοπτώσεων, γεγονός που αποτελεί μεγάλη πρόκληση για την παγκόσμια επισιτιστική ασφάλεια. Η εφαρμογή βιολογικών λιπασμάτων δηλαδή λιπάσματα με μειωμένη έως μηδενική έκλυση αζώτου στο έδαφος όπως είναι η BHS που είναι απαλλαγμένη από ζωικές εισροές, αποκαθιστούν τα αλατούχα εδάφη, μετριάζουν το στρες αλατότητας και νατρίου στις καλλιέργειες.

5° Πείραμα

Επίδραση λίπανσης και αλατότητας στις φυσικές ιδιότητες εδάφους και στο ριζικό σύστημα



6 Επίδραση λίπανσης και αλατότητας στις φυσικές ιδιότητες εδάφους και στο ριζικό σύστημα

Μηδενική υπόθεση

ΗΟ: Η ανάπτυξη του ριζικού συστήματος δεν θα διαφέρει σημαντικά μεταξύ των λιπάνσεων και της επέμβασης αλατότητας.

6.1 Εισαγωγή

6.1.1 Μηχανισμοί βελτίωσης εδάφους με προσθήκη βιολογικής λίπανσης

Η προσθήκη βιολογικών λιπάνσεων κρίνεται και καταγράφεται πολύ σημαντική για την βελτίωση των χαρακτηριστικών του εδάφους. Η δομή του εδάφους, η υφή, η πυκνότητα και η περιεκτικότητα σε οργανική ύλη ελέγχουν την ικανότητα συγκράτησης νερού του εδάφους. Επομένως, κάθε πρακτική που βελτιώνει αυτές τις ιδιότητες του εδάφους, με τη σειρά της, βελτιώνει την ικανότητα συγκράτησης νερού στο έδαφος [355]. Η προσθήκη οργανικής ύλης μέσω της εφαρμογής βιολογικών και οργανικών λιπασμάτων βελτιώνει τη συσσωμάτωση του εδάφους και αυξάνει την επιφάνειά του, παρέχοντας περισσότερο χώρο για τα εδαφικά σωματίδια που περιβάλλονται από νερό. Ως αποτέλεσμα, το έδαφος μπορεί να συγκρατήσει περισσότερο νερό ενάντια στην έλξη της βαρύτητας που αποστραγγίζει το νερό από το έδαφος.

Ενώ η οργανική ουσία του εδάφους δεσμεύει τα σωματίδια του εδάφους, διεγείρει επίσης τη δραστηριότητα της μικροπανίδας του εδάφους, η κίνηση της οποίας δημιουργεί μικρο- και μακροπόρους στο έδαφος, δημιουργώντας επιπλέον χώρο για τη διήθηση του νερού [356]. Οπότε, η ικανότητα συγκράτησης νερού του εδάφους μπορεί να βελτιωθεί με την προσθήκη οργανικών λιπασμάτων. Στον απόηχο της κλιματικής αλλαγής, όπου μπορεί να επακολουθήσουν απροσδόκητες ξηρασίες, η βελτίωση της ικανότητας συγκράτησης νερού του εδάφους με την εφαρμογή οργανικών λιπασμάτων είναι ο δρόμος που πρέπει να ακολουθηθεί.

Οι εδαφοδεσμευτικές ιδιότητες της οργανικής ύλης και η βελτίωση της συσσωμάτωσης του εδάφους συμβάλλουν στη βελτίωση της δομής του εδάφους [357]. Η προσθήκη οργανικής ύλης βελτιώνει επίσης την υφή του εδάφους και τον αερισμό. Πολλές ερευνητικές εργασίες έχουν παρατηρήσει πρόσθετα οφέλη στις καλλιέργειες με την εφαρμογή οργανικών λιπασμάτων σε σύγκριση με την εφαρμογή ισοδύναμων θρεπτικών στοιχείων μέσω ανόργανων λιπασμάτων [358, 359]. Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί για να εξηγήσουν αυτά τα πρόσθετα οφέλη στις καλλιέργειες από την εφαρμογή οργανικών λιπασμάτων. Ορισμένοι από αυτούς είναι ο βελτιωμένος συγχρονισμός των θρεπτικών στοιχείων, το φαινόμενο της προετοιμασίας και η γενική βελτίωση της γονιμότητας. Σχετικά με τον μηχανισμό του βελτιωμένου συγχρονισμού των θρεπτικών στοιχείων [359], τα βιολογικά λιπάσματα όταν εφαρμόζονται παρέχουν στη μικροχλωρίδα ενέργεια από τον άνθρακα που περιέχουν, για να προωθήσουν τις διαδικασίες αποσύνθεσης. Αυτό οδηγεί σε διαχρονική ακινητοποίηση του εδαφικού αζώτου [358, 360] για τη σύνθεση των κυτταρικών τους δομών. Το ακινητοποιημένο άζωτο γίνεται διαθέσιμο σε ένα μεταγενέστερο στάδιο της ανάπτυξης των φυτών, όταν τα μικρόβια έχουν διασπάσει το

οργανικό υλικό, απελευθερώνοντας τα θρεπτικά συστατικά, ή/και όταν ορισμένα μικρόβια αποσυντίθενται και απελευθερώνουν τα θρεπτικά συστατικά τους στο φυτό, τη στιγμή που αυτά είναι πιο αναγκαία.

Το φαινόμενο της προετοιμασίας είναι ένας άλλος μηχανισμός [361], κατά τον οποίο τα οργανικά λιπάσματα επηρεάζουν πρόσθετες αποδόσεις καλλιεργειών. Το φαινόμενο αυτό αναφέρεται σε ισχυρές βραχυπρόθεσμες αλλαγές στον κύκλο εργασιών των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους που προκαλούνται από την προσθήκη εύκολα αποικοδομήσιμων οργανικών υλικών. Στο πλαίσιο αυτού του μηχανισμού, το άθροισμα των θρεπτικών συστατικών που είναι διαθέσιμα στο έδαφος μετά τη συγκομιδή και των θρεπτικών συστατικών στις καλλιέργειες από τον αγρό είναι υψηλότερο από το άθροισμα των αρχικών θρεπτικών συστατικών του εδάφους και των θρεπτικών συστατικών στα οργανικά υλικά. Οπότε, το πρόσθετο μη υπολογίσιμο θρεπτικό συστατικό είναι το αποτέλεσμα της πρόκλησης από τα οργανικά λιπάσματα ενός ταχύτερου ρυθμού ανοργανοποίησης και της διάλυσης των προηγούμενων μη διαθέσιμων/στερεοποιημένων θρεπτικών συστατικών στο διάλυμα. Αυτό καθίσταται αποτελεσματικό από τη βελτίωση του μικροβιακού πληθυσμού, της ποικιλομορφίας και της δραστηριότητας που επηρεάζεται από την προσθήκη οργανικού υλικού.

Ο γενικός μηχανισμός βελτίωσης της γονιμότητας [359] βασίζεται στη θεωρία ότι η οργανική ύλη, εκτός από την προσθήκη θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος, βελτιώνει και άλλες φυσικές ιδιότητες του εδάφους που συμβάλλουν στη διαίωσιση του αποτελέσματος της προσθήκης θρεπτικών στοιχείων σε πραγματικό χρόνο. Ορισμένα από αυτά τα οφέλη περιλαμβάνουν τη βελτίωση της δομής του εδάφους, της ικανότητας συγκράτησης νερού και θρεπτικών συστατικών, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Προσθέτει επίσης μικροθρεπτικά συστατικά, τα οποία συνήθως δεν αποτελούν το επίκεντρο της εφαρμογής ανόργανων λιπασμάτων.

Αυτοί οι μηχανισμοί αποτελούν αντικείμενο σύγχρονων μελετών, οι οποίες εξηγούν πώς τα βιολογικά λιπάσματα είναι ευεργετικά για το έδαφος και, κατά συνέπεια, για τις καλλιέργειες.

6.1.2 Ριζικό σύστημα

Το ριζικό σύστημα έχει ως κύριες λειτουργίες την απόκτηση απαραίτητων μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών και νερού από το έδαφος, καθώς και την παροχή στήριξης. Οι ρίζες είναι ζωτικής σημασίας για την απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους.

Τα εκκρίματα των ριζών διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη μετατροπή και την αποτελεσματική χρήση των θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά. Οι ρίζες των φυτών έχουν την ικανότητα να τροποποιούν τις χημικές, φυσικές και βιολογικές ιδιότητες της ριζόσφαιρας μέσω της απελευθέρωσης ανιόντων οργανικών οξέων, μορίων σηματοδότησης και άλλων ενώσεων [362]. Επιπλέον, τα φυτά μπορούν επίσης να ρυθμίζουν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ριζών τους για να προσαρμόζονται στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες του εδάφους. Όλες αυτές οι διεργασίες επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της χρήσης θρεπτικών συστατικών από τα φυτά.

Υπάρχουν πολλαπλοί τρόποι για να ενισχυθεί η αποδοτικότητα της χρήσης των θρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων των χαρακτηριστικών του ριζικού συστήματος (π.χ. γενετική, αρχιτεκτονική των ριζών). Έρευνες έχουν δείξει πως μεγιστοποίηση της ριζικής ζώνης μπορεί να παρέχει μια μοναδική ευκαιρία να αύξηση της παραγωγικότητας των καλλιεργειών και της αποδοτικότητας της χρήσης θρεπτικών ουσιών και την ελαχιστοποίηση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων [363, 364].

Η αλατότητα είναι μια κρίσιμη περιβαλλοντική πίεση που εμποδίζει την καλλιέργεια καλλιεργειών σε πολλές περιοχές του κόσμου. Οι υπερβολικές συγκεντρώσεις Na^+ στο έδαφος προκαλούν μη αναστρέψιμες θρεπτικές ανισορροπίες, καταστέλλουν την ανάπτυξη και μπορούν να οδηγήσουν ακόμη και σε νέκρωση των φυτών, με την έκταση της ζημίας να εξαρτάται από τη συγκέντρωση του αλατιού και την ειδική ανοχή των φυτών [365].

Οι ρίζες καθορίζουν την ικανότητα των καλλιεργειών να εξερευνούν και να εκμεταλλεύονται τους εδαφικούς πόρους (νερό και θρεπτικά συστατικά). Ως εκ τούτου, αποτελούν αναπαραγωγικούς στόχους ενδιαφέροντος για την ενίσχυση της σταθερότητας της απόδοσης, της αποδοτικότητας χρήσης των πόρων και της ανθεκτικότητας έναντι περιβαλλοντικών καταπονήσεων [366-368]. Η βελτίωση των ριζών μπορεί να αποτελέσει μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική, ιδίως στο πλαίσιο του βιώσιμου συστήματος καλλιέργειας εντατικοποίησης [369], της γεωργίας χαμηλών εισροών (συμπεριλαμβανομένης της βιολογικής γεωργίας), και στην ανθεκτικότητα στην κλιματική αλλαγή.

Ένα μεγάλο μέρος της βιβλιογραφίας επιβεβαιώνει τον ουσιαστικό ρόλο που διαδραματίζουν τα άφθονα και ποικίλα βακτήρια της ριζόσφαιρας στην ανάπτυξη των φυτών και την προσαρμογή τους σε ακραίες συνθήκες [370, 371]. Αυτό ανοίγει ευκαιρίες για τη βελτίωση της ανθεκτικότητας στο στρες και της παραγωγικότητας των καλλιεργειών με την ανάπτυξη κατάλληλων βιολογικών λιπασμάτων και την εφαρμογή τους στο έδαφος, αν και κατά τη διαμόρφωσή τους πρέπει να δίνεται προσοχή και στη θετική αλληλεπίδραση μεταξύ των ριζοβακτηρίων και των μυκορριζικών μυκήτων.

Τα βιολογικά λιπάσματα έχουν αναγνωριστεί ότι προσφέρουν ένα βιώσιμο εργαλείο για τη γεωργία, κυρίως για την ενίσχυση της ικανότητας των φυτών να αντιμετωπίζουν δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες [372].

6.1.3 Σκοπός μελέτης

Η φυσική γονιμότητα του εδάφους μπορεί να έχει τόσο μεγάλη επίδραση στην ανάπτυξη των φυτών όσο και η χημική γονιμότητα. Επίσης η φυσική γονιμότητα του εδάφους και η δομή του εδάφους επηρεάζει την ικανότητά του να αντιστέκεται σε διαδικασίες όπως υποβάθμισης όπως η συμπίεση και η διάβρωση στο πλαίσιο της διαχείρισης της γης. Η μελέτη αποσκοπεί στη διερεύνηση των επιδράσεων της λίπανσης και της αλατότητας στις φυσικές ιδιότητες του εδάφους και στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος σε καλλιέργεια τριγωνέλλας. Συγκεκριμένα, επιδιώκει να κατανοήσει πώς τα διάφορα λιπάσματα επηρεάζουν το πορώδες και την οργανική ύλη του εδάφους. Θα εξεταστούν επίσης οι επιπτώσεις της αλατότητας στα χαρακτηριστικά του

εδάφους, όπως οι μεταβολές στις ιδιότητες του εδάφους. Επιπλέον, η έρευνα θα διερευνήσει τις συνδυασμένες επιδράσεις της λίπανσης και της αλατότητας στην ποιότητα και τη δομή του εδάφους, αξιολογώντας πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των παραγόντων. Η μελέτη θα αξιολογήσει τον τρόπο με τον οποίο ο τύπος του λιπάσματος που εφαρμόζεται επηρεάζουν την ανάπτυξη και τη μορφολογία των ριζικών συστημάτων των φυτών τριγωνέλλας, καθώς και τον τρόπο με τον οποίο η αλατότητα του εδάφους επηρεάζει την κατανομή και την πυκνότητα των ριζών. Τελικά, θα διερευνηθούν οι σχέσεις μεταξύ των φυσικών ιδιοτήτων του εδάφους και της ανάπτυξης των ριζών.

6.2 Υλικά και Μέθοδοι

6.2.1 Σχεδιασμός πειράματος

Βλέπε κεφάλαιο 2.2.2.

6.2.2 Παρατηρήσεις και μετρήσεις

6.2.2.1 Εδαφικές αναλύσεις

6.2.2.1.1 Πορώδες (%)

Το πορώδες του εδάφους υπολογίστηκε από την Εξίσωση 6-1.

$$\text{πορώδες (\%)} = \left(1 - \frac{\Phi.Π.}{E.B.}\right) * 100 \quad 6-1$$

Όπου το E.B. είναι το ειδικό βάρος, το οποίο είναι το βάρος 1 cm³ στερεών τεμαχιδίων εδάφους και έχει τιμή κατά μέσο όρο 2.65 gr cm⁻³, το Φ.Π. είναι η φαινομενική πυκνότητα.

Ο προσδιορισμός της φαινομενικής πυκνότητας έγινε με τη χρήση μεταλλικού κυλίνδρου-δειγματολήπτη (διάμετρος ίση με 10 cm και ύψος ίσο με 2.5 cm). Εισάγεται με μεγάλη προσοχή στο έδαφος, ώστε να μην μεταβάλλεται ο όγκος του εδάφους. Στη συνέχεια, κόπηκε με προσοχή το έδαφος που περισσεύει, ώστε το δείγμα εδάφους που περιέχεται στο δακτύλιο να αντιστοιχεί ακριβώς στον όγκο του. Τοποθετήθηκαν τα καπάκια και μεταφέρθηκαν τα δείγματα στο πυριαντήριο στους 105 °C για 24 ώρες. Η Φ.Π. υπολογίζεται από την Εξίσωση 6-2.

$$\Phi.Π. = \frac{\text{βάρος ξηρού εδάφους}}{\text{όγκος κυλίνδρου δειγματοληψίας}} \quad 6-2$$

Η παραπάνω μέθοδος για τον υπολογισμό του πορώδες του εδάφους χρησιμοποιείται κυρίως σε γεωργικά εδάφη.

6.2.2.1.2 Ριζικό σύστημα

Αρχικά προσδιορίστηκε το σημείο εξαγωγής του ριζικού συστήματος. Οι δειγματοληψίες είναι καταστρεπτικές γι' αυτό και έγιναν σε ακριβώς δίπλα η μία με την άλλη. Τα σημεία δειγματοληψίας ήταν πάνω στη γραμμή σποράς.

Η εξαγωγή δείγματος έγινε με τον ειδικό δειγματολήπτη (**Εικόνα 6-1**) όπου στη συνέχεια γίνεται η κοπή συγκεκριμένου όγκου εδάφους από το συγκεκριμένο βάθος.



Εικόνα 6-1 Εδαφολήπτης

Στην συνέχεια, τα εδαφικά δείγματα μεταφέρθηκαν σε πλαστικές σακούλες όπου προστέθηκε διάλυμα 0.5% πολυμεταφωσφορικού νατρίου για να επιτευχθεί η διαχωρισμός ριζών και εδάφους. Κατόπιν, το δείγμα οδηγείται στο Root-washer όπου γίνεται ο διαχωρισμός εδάφους-ριζών. Το οποίο αποτελείτε από κλειστό σύστημα νερού και οι αποκολλημένες ρίζες συλλέγονται σε ψιλό κόσκινο (**Εικόνα 6-2**).



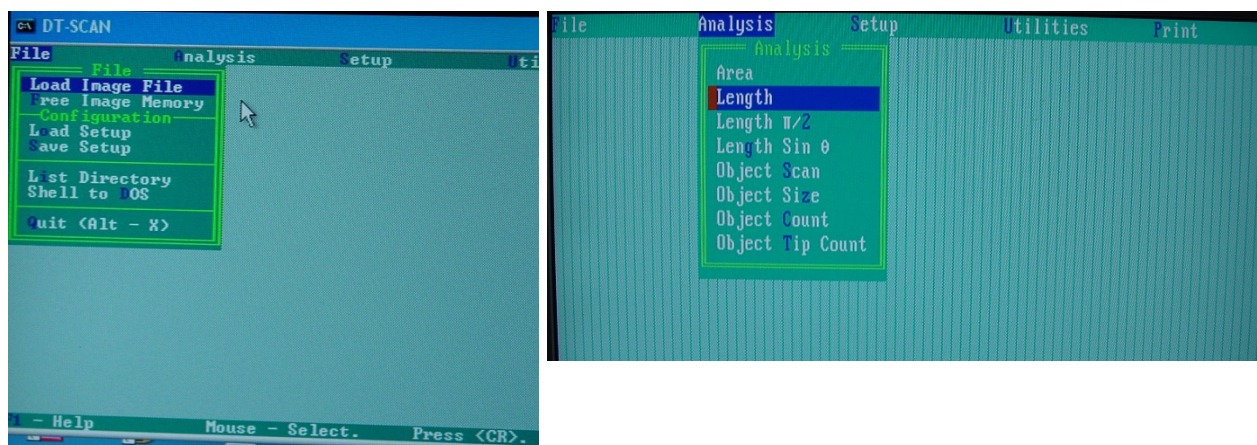
Εικόνα 6-2 Root- washer και τελικός διαχωρισμός- συλλογή ριζών

Μετά την παραλαβή των ριζών στο τελευταίο κόσκινο του Root –washer γίνεται ένας τελευταίος διαχωρισμός από τυχόν άλλα φυτικά υλικά, και κατόπιν το δείγμα ζυγίζεται.

Έπειτα ακολούθησε χρώση των ριζών από σινική μελάνη ή άλλη χρωστική ώστε ολόκληρο το δείγμα να αποκτήσει σκούρο ενιαίο χρώμα.

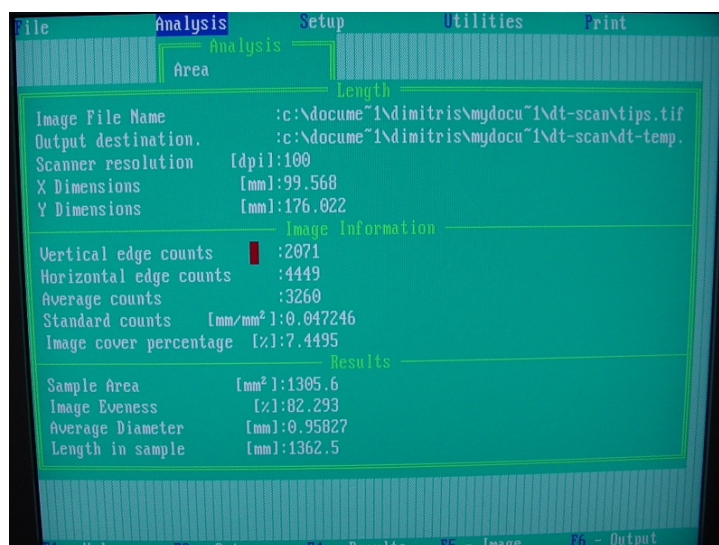
Κατά το επόμενο βήμα το δείγμα απλώνετε στην επιφάνεια του σαρωτή (Scanner) και ακολουθεί σάρωση της επιφανείας κατά την μέγιστη δυνατή ανάλυση εικόνας σε μαύρο-άσπρο (Black and White). Η σάρωση μπορεί να γίνει με οποιοδήποτε πρόγραμμα σάρωσης και οποιοδήποτε σαρωτή με την προϋπόθεση το επίπεδο ανάλυσης της εικόνας να είναι υψηλότερο από 200 dpi (συνιστώμενη ανάλυση είναι τα 600 dpi).

Το αρχείο αποθηκεύεται ως μορφή αρχείου *.tif για να είναι δυνατή η ανάγνωσή του από το πρόγραμμα υπολογισμού DT-Scan (Εικόνα 6-3, Εικόνα 6-4).



Εικόνα

6-3 Το πρόγραμμα DT- Scan



Εικόνα 6-4 Αποτελέσματα από το πρόγραμμα DT- Scan

6.2.2.1.3 Επιφάνεια ρίζας

Η επιφάνεια ρίζας είναι ένας σημαντικός δείκτης στη φυσιολογία των φυτών και στη μελέτη της σχέσης τους με το έδαφος. Μετρήθηκε η επιφάνεια της ρίζας σε mm² ρίζας ανά 100 cm³ εδάφους.

6.2.2.1.4 Μέση διάμετρος ρίζας

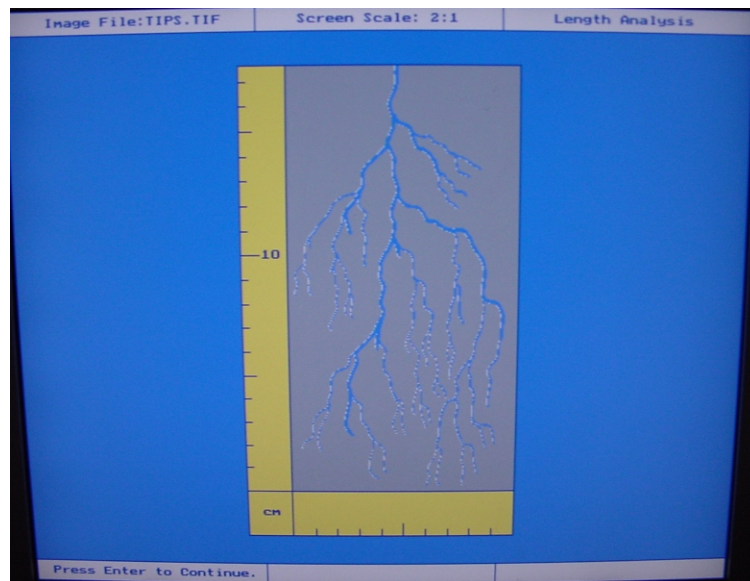
Η μέση διάμετρος της ρίζας μετρήθηκε ανά μονάδα επιφάνειας εδάφους (mm cm⁻³). Αυτός ο δείκτης βοηθά στην κατανόηση της κατανομής και της πυκνότητας του ριζικού συστήματος στο έδαφος.

6.2.2.1.5 Όγκος ρίζας

Αυτή η μέτρηση είναι σημαντική για την εκτίμηση του χώρου που καταλαμβάνει το ριζικό σύστημα στο έδαφος και της χωρητικότητάς του για την αποθήκευση νερού και θρεπτικών ουσιών. Μετρήθηκε ο μέσος όγκος της ρίζας ανά μονάδα επιφάνειας εδάφους (ml cm^{-3}).

6.2.2.1.6 Μήκος ρίζας

Το μήκος ρίζας ορίζεται ως το ολικό μήκος ρίζας ανά μονάδα επιφάνειας εδάφους (mm cm^{-3}) (Εικόνα 6-5).



Εικόνα 6-5 Ανάλυση μήκους εικόνας

6.2.2.1.7 Αριθμός φυματίων

Αφού οι ρίζες μετρήθηκαν μετρήθηκε και καταγράφηκε ο ακριβής αριθμός των φυματίων ανά δείγμα.

6.2.3 Στατιστική ανάλυση

Βλέπε Κεφάλαιο 2.2.6

6.3 Αποτελέσματα

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης. Επιπρόσθετα, περιγράφονται οι πίνακες οι οποίοι παρουσιάζουν την ανάλυση της παραλλακτικότητας και τις ομογενείς ομάδες για τις οποίες η υπόθεση της ισότητας των μέσων τιμών εντός αυτών δεν απορρίπτεται από τις αντίστοιχες p-τιμές.

Πίνακας 6-1 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο πορώδες του εδάφους, οργανικής ουσίας εδάφους (SOM).

		Πορώδες εδάφους (%)	SOM (%)
2^η ΚΠ			
Λίπανση	BHS	45.87 ^a	3.77 ^a
	COMP	45.04 ^a	3.40 ^a
	C	42.07 ^b	2.73 ^b
	FYM	45.87 ^a	3.50 ^a
	NPK	41.09 ^b	2.43 ^b
Αλατότητα	CS	44.95 ^a	3.19 ^a
	HS	43.027 ^b	3.14 ^a
ANOVA	Df		
F Αλατότητας	1	42.91*	ns
F Λίπανσης	4	76.72***	26.81***
F Αλατότητας	4	ns	ns
3^η ΚΠ			
Λίπανση	BHS	52.90 ^a	4.35 ^a
	COMP	51.96 ^a	3.93 ^a
	C	48.52 ^b	3.15 ^b
	FYM	52.92 ^a	4.04 ^a
	NPK	47.38 ^b	2.81 ^b
Αλατότητα	CS	51.85 ^a	3.68 ^a
	HS	49.63 ^b	3.62 ^a
ANOVA	Df		
F Αλατότητας	1	39.22*	ns
F Λίπανσης	4	65.18***	26.06***
F Αλατότητας	4	ns	ns
Υπόλοιπο	16		
Σύνολο	29		

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

6.3.1 Πορώδες εδάφους (%)

Στη 2^η ΚΠ, το πορώδες του εδάφους επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και τη λίπανση ($p \leq 0.001$). Στην επέμβαση HS, το πορώδες ήταν $43.02 \pm 0.29\%$, ενώ με στην CS ήταν $44.95 \pm 0.29\%$. Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στις επεμβάσεις BHS και FYM ($45.87 \pm 0.36\%$) και η ελάχιστη στην επέμβαση NPK ($41.08 \pm 0.36\%$). Στην 3^η ΚΠ, το πορώδες του εδάφους επηρεάστηκε επίσης στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και τη λίπανση ($p \leq 0.001$). Στην επέμβαση HS, το πορώδες ήταν $49.62 \pm 0.35\%$, ενώ στην CS ήταν $51.84 \pm 0.35\%$. Η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην FYM ($52.92 \pm 0.45\%$) και η ελάχιστη στην επέμβαση COMP ($47.38 \pm 0.45\%$).

6.3.2 Επιφάνεια ρίζας

Η επιφάνεια της ρίζας επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση ($p \leq 0.001$) κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης (90, 110 και 130 ΗΑΣ) στις 2 ΚΠ. Στη 2^η ΚΠ, στις 90 ΗΑΣ, η μέγιστη επιφάνεια ρίζας καταγράφηκε στην επέμβαση BHS και η ελάχιστη στην επέμβαση C. Οι επεμβάσεις FYM και η NPK είχαν 3.33% και 12.59% μικρότερη επιφάνεια ρίζας σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ η επέμβαση COMP είχε 27.42% μικρότερη επιφάνεια από την επέμβαση BHS. Στις 110 ΗΑΣ, η FYM (4232.70 ± 218.74) είχε 2.55% μικρότερη επιφάνεια ρίζας σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ οι επεμβάσεις NPK (3892.6 ± 218.74) και COMP (3435.00 ± 218.74) είχαν

11.51% και 26.36% μικρότερη επιφάνεια αντίστοιχα. Στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη επιφάνεια ρίζας καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (4247.7±218.6) και η ελάχιστη στην επέμβαση C. Οι επεμβάσεις FYM και NPK είχαν 1.83% και 11% μικρότερη επιφάνεια ρίζας αντίστοιχα σε σύγκριση με την επέμβαση BHS. Στην 3^η ΚΠ, στις 90 ΗΑΣ, οι επεμβάσεις FYM και NPK (4290.1±254.52) είχαν 3.31% και 12.19% μικρότερη επιφάνεια ρίζας σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ η επέμβαση COMP είχε 28.07% μικρότερη επιφάνεια από την επέμβαση BHS. Στις 110 ΗΑΣ, οι επεμβάσεις FYM (4596±243.39) και NPK (4198.6±243.39) είχαν 2.59% και 12.30% μικρότερη επιφάνεια ρίζας σε σύγκριση με την BHS. Στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη επιφάνεια ρίζας καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (4612.4±232.5) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (2332.7±232.5). Οι επεμβάσεις FYM και NPK είχαν 1.62% και 10.41% μικρότερη επιφάνεια ρίζας σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ η επέμβαση COMP είχε 19.17% μικρότερη επιφάνεια από την επέμβαση BHS.

6.3.3 Μέση διάμετρος ρίζας

Η μέση διάμετρος ρίζας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p < 0.01$) καθ' όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης (90, 110 και 130 ΗΑΣ) στις 2 ΚΠ. Στη 2^η ΚΠ, στις 90 ΗΑΣ, η μέγιστη μέση διάμετρος ρίζας καταγράφηκε στην BHS (3.14±0.28 mm100cm⁻³) και η ελάχιστη στην C (1.66±0.28). Οι επεμβάσεις COMP (2.62±0.28) και NPK (2.54±0.28) είχαν 19.85% και 23.62% μικρότερη διάμετρο σε σύγκριση με την επέμβαση BHS. Στις 110 ΗΑΣ, οι επεμβάσεις BHS (3.08±0.28) και COMP δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές με την επέμβαση FYM. Στην 3^η ΚΠ, στις 90 ΗΑΣ, η μέγιστη διάμετρος καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (3.64±0.33) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (1.93±0.33). Στις 130 ΗΑΣ, η μέγιστη διάμετρος καταγράφηκε επίσης στην επέμβαση BHS (3.49±0.31) και η ελάχιστη στην επέμβαση C (1.86±0.31). Οι επεμβάσεις COMP (2.92±0.31) και NPK είχαν 19.52% και 23.32% μικρότερη διάμετρο σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ η επέμβαση FYM είχε 30.22% μικρότερη διάμετρο από την επέμβαση BHS.

Πίνακας 6-2 Two-way ANOVA analysis της επίδρασης λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην επιφάνεια και μέση διάμετρο ρίζας για 90, 110 και 130 ΗΑΣ.

		Επιφάνεια ρίζας 90 ΗΑΣ (mm ² 100cm ⁻³)	Επιφάνεια ρίζας 110 ΗΑΣ	Επιφάνεια ρίζας 130 ΗΑΣ	Μέση διάμετρος ρίζας 90 ΗΑΣ (mm 100cm ⁻³)	Μέση διάμετρος ρίζας 110 ΗΑΣ	Μέση διάμετρος ρίζας 130 ΗΑΣ
2^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	4437.80 ^a	4340.50 ^a	4247.70 ^a	3.14 ^a	3.08 ^a	3.04 ^a
	COMP	3482.70 ^b	3435.00 ^b	3361.30 ^b	2.62 ^a	2.57 ^a	2.54 ^a
	C	2208.40 ^c	2175.50 ^c	2144.90 ^c	1.66 ^b	1.64 ^b	1.61 ^b
	FYM	4294.80 ^a	4232.70 ^a	4171.30 ^a	2.41 ^{ab}	2.37 ^{ab}	2.34 ^{ab}
	NPK	3941.70 ^{ab}	3892.60 ^{ab}	3826.70 ^{ab}	2.54 ^a	2.49 ^{ab}	2.46 ^a
Αλατότητα	CS	3736.00 ^a	3686.30 ^a	3625.30 ^a	2.52 ^a	2.47 ^a	2.45 ^a
	HS	3610.20 ^a	3544.20 ^a	3475.40 ^a	2.43 ^a	2.38 ^a	2.35 ^a
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	35.19***	32.29***	30.96***	6.86**	6.85**	6.96**
F Αλατότητας	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3^η ΚΠ							

Λίπανση	BHS	4813.10 ^a	4715.20 ^a	4612.40 ^a	3.64 ^a	3.55 ^a	3.49 ^a
	COMP	3758.10 ^b	3678.10 ^b	3727.70 ^b	3.04 ^a	2.97 ^a	2.92 ^a
	C	2393.60 ^c	2365.30 ^c	2332.70 ^c	1.93 ^b	1.88 ^b	1.86 ^b
	FYM	4659.00 ^a	4596.00 ^a	4538.70 ^a	2.80 ^{ab}	2.73 ^{ab}	2.68 ^{ab}
	NPK	4290.10 ^{ab}	4198.60 ^{ab}	4177.60 ^{ab}	2.95 ^a	2.87 ^{ab}	2.83 ^a
Αλατότητα	CS	4057.80 ^a	3982.40 ^a	3959.70 ^a	2.93 ^a	2.85 ^a	2.82 ^a
	HS	3907.80 ^a	3838.80 ^a	3795.90 ^a	2.82 ^a	2.76 ^a	2.69 ^a
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F Λίπανσης	4	29.46***	30.74***	32.15***	6.80**	6.69**	7.07**
F Αλατότητας	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Υπόλοιπο	16						
Σύνολο	29						

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, ns: μη σημαντικό (p > 0.05).

6.3.4 Όγκος ρίζας

Ο όγκος ρίζας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά και από τη λίπανση ($p \leq 0.001$) και την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και για τις 2 ΚΠ (Πίνακας 6-3). Ο όγκος της ρίζας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και τη λίπανση ($p \leq 0.001$). Στη 2^η ΚΠ, στις 90 ΗΑΣ, η επέμβαση HS είχε 7.51% μικρότερο όγκο ρίζας σε σχέση με την CS. Στις 110 ΗΑΣ, οι επεμβάσεις BHS και FYM δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, ενώ οι υπόλοιπες διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές. Η επέμβαση FYM είχε 0.23% μικρότερο όγκο ρίζας σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ οι επεμβάσεις COMP και NPK είχαν 14.10% και 27.12% μικρότερο όγκο ρίζας από την επέμβαση BHS. Στις 130 ΗΑΣ, η επέμβαση HS (13.96 ± 0.21) είχε 7.59% μικρότερο όγκο ρίζας σε σχέση με την CS (15.02 ± 0.21). Στην 3^η ΚΠ, στις 90 ΗΑΣ, η επέμβαση HS (16.66 ± 0.23) μείωσε τον όγκο της ρίζας κατά 7.44% σε σχέση με την CS (17.90 ± 0.23). Οι επεμβάσεις BHS και FYM δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά. Στις 110 ΗΑΣ, η μέγιστη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση BHS (20.43 ± 0.40) και η ελάχιστη στην C (9.89 ± 0.40). Η επέμβαση FYM (20.39 ± 0.40) είχε 0.20% μικρότερο όγκο ρίζας σε σύγκριση με την επέμβαση BHS, ενώ οι επεμβάσεις COMP (17.90 ± 0.40) και NPK (16.04 ± 0.40) είχαν 14.13% και 27.37% μικρότερο όγκο αντίστοιχα από την BHS. Στις 130 ΗΑΣ, η επέμβαση HS (16.09 ± 0.26) είχε 2.90% μικρότερο όγκο ρίζας σε σχέση με την CS (17.32 ± 0.26). Η επέμβαση FYM (20.10 ± 0.35) είχε 0.20% μικρότερο όγκο ρίζας σε σύγκριση με την επέμβαση BHS (Πίνακας 6-3).

Πίνακας 6-3 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στον όγκο ρίζας στις 90, 110, 130 ΗΑΣ.

		Όγκος ρίζας 90 ΗΑΣ	Όγκος ρίζας 110 ΗΑΣ	Όγκος ρίζας 130 ΗΑΣ
2^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	18.00 ^a	17.72 ^a	17.47 ^a
	COMP	15.78 ^b	15.53 ^b	15.32 ^b
	C	8.74 ^d	8.59 ^d	8.47 ^d
	FYM	17.97 ^a	17.68 ^a	17.44 ^a
	NPK	14.18 ^c	13.94 ^c	13.77 ^c
Αλατότητα	CS	15.47 ^a	15.22 ^a	15.02 ^a
	HS	14.39 ^b	14.16 ^b	13.97 ^b
ANOVA	Df			
F Αλατότητας	1	28.85*	28.32*	24.86*
F Λίπανσης	4	263.23***	279.98***	300.43***

F Αλατότητας	4	8.23***	8.90***	9.37***
3^η ΚΠ				
Λίπανση	BHS	20.82 ^a	20.43 ^a	20.14 ^a
	COMP	18.26 ^b	17.90 ^b	17.65 ^b
	C	10.12 ^d	9.89 ^d	9.76 ^d
	FYM	20.78 ^a	20.39 ^a	20.11 ^a
	NPK	16.43 ^c	16.04 ^c	15.87 ^c
Αλατότητα	CS	17.90 ^a	17.54 ^a	17.32 ^a
	HS	16.66 ^b	16.32 ^b	16.09 ^b
ANOVA	Df			
F Αλατότητας	1	28.96*	31.91*	20.96*
F Λίπανσης	4	211.28***	226.32***	291.38***
F Αλατότητας	4	6.51**	7.36**	9.03***
Υπόλοιπο	16			
Σύνολο	29			
Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns: μη σημαντικό ($p > 0.05$).				

6.3.5 Μήκος ρίζας

Στη 2^η ΚΠ, στις 90 ΗΑΣ, το μήκος της ρίζας επηρεάστηκε σημαντικά από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και τη λίπανση ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 6-4). Η επέμβαση HS (1884.00 ± 20) είχε 28.66% μικρότερο μήκος ρίζας σε σχέση με την CS (2423.9 ± 20). Η επέμβαση FYM είχε το μέγιστο μήκος (2465.50 ± 43.46) και η επέμβαση C το ελάχιστο (1818.60 ± 43.46). Στις 110 και 130 ΗΑΣ, η αλατότητα και η λίπανση επηρέασαν σημαντικά το μήκος της ρίζας ($p \leq 0.001$). Η επέμβαση HS (1855.50 ± 15.85) είχε 38.78% μικρότερο μήκος σε σχέση με την CS (2575 ± 15.85). Οι επεμβάσεις BHS (2188 ± 12.06) και NPK (2140.1 ± 12.06) είχαν 31.67% και 34.62% μικρότερο μήκος σε σχέση με την επέμβαση FYM, ενώ η επέμβαση COMP (2100.9 ± 12.06) είχε 37.08% μικρότερο μήκος.

Στην 3^η ΚΠ, το μήκος της ρίζας στις 90 ΗΑΣ επηρεάστηκε σημαντικά από την αλατότητα ($p \leq 0.01$) και τη λίπανση ($p \leq 0.001$). Η επέμβαση HS (2165.10 ± 35.35) είχε 38.90% μικρότερο μήκος σε σχέση με την επέμβαση CS (3007.40 ± 35.35). Οι επεμβάσεις BHS (2554.4 ± 26.88) και NPK (2498.3 ± 26.88) είχαν 31.77% και 34.73% μικρότερο μήκος σε σχέση με την επέμβαση FYM. Στις 130 ΗΑΣ, η αλατότητα και η λίπανση επηρέασαν επίσης σημαντικά το μήκος της ρίζας ($p \leq 0.01$ και $p \leq 0.001$). Η επέμβαση HS (2140.1 ± 39.00) είχε 38.23% μικρότερο μήκος σε σχέση με την επέμβαση CS (2970.7 ± 39.00). Οι επεμβάσεις BHS (2524 ± 29.66) και NPK (2468.7 ± 29.66) είχαν 31.71% και 34.66% μικρότερο μήκος σε σχέση με την επέμβαση FYM, ενώ η επέμβαση COMP (2423.4 ± 29.66) είχε 37.18% μικρότερο μήκος (Πίνακας 6-4).

6.2.1 Αριθμός φυματίων

Στη 2^η ΚΠ, ο αριθμός των φυματίων επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά και από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και από τη λίπανση ($p \leq 0.001$) (Πίνακας 6-4). Η επέμβαση HS (63.46 ± 1.34) παρουσίασε φυτά με 13.73% λιγότερα φυμάτια στις ρίζες τους σε σχέση με την CS (72.17 ± 1.34). Οι επεμβάσεις BHS και COMP δεν είχαν καμία διαφορά μεταξύ τους. Στις 110 ΗΑΣ, ο αριθμός φυματίων επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τον παράγοντα της λίπανσης ($p \leq 0.001$). Ο μέγιστος αριθμός φυματίων στις ρίζες καταγράφηκε στην επέμβαση FYM (69.91 ± 0.82) και ο ελάχιστος στην επέμβαση C (59.58 ± 0.82). Στις 130 ΗΑΣ, επηρεάστηκε στατιστικά

σημαντικά και από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και από τη λίπανση ($p \leq 0.001$). Η επέμβαση HS (59.78 ± 2.65) είχε 20.02% λιγότερα φυμάτια στις ρίζες των φυτών σε σχέση με την CS (71.75 ± 2.65). Η μέγιστη τιμή για τον αριθμό φυματίων στις ρίζες καταγράφηκε στην επέμβαση FYM (68.93 ± 0.77).

Στην 3^η ΚΠ, ο αριθμός των φυματίων στις 90 ΗΑΣ επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά και από την αλατότητα ($p \leq 0.05$) και από τη λίπανση ($p \leq 0.001$). Στις 110 ΗΑΣ, ο αριθμός φυματίων επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη λίπανση ($p \leq 0.001$). Οι COMP (79.57 ± 0.96) και BHS (79.38 ± 0.96) είχαν αντίστοιχα φυτά με 1,41% και 1,65% λιγότερα φυμάτια στις ρίζες τους σε σύγκριση με την επέμβαση FYM, ενώ η επέμβαση NPK (76.40 ± 0.96) με 5.60% λιγότερα από την FYM. Στις 130 ΗΑΣ, ο παράγοντας που επηρέασε στατιστικά σημαντικά τον αριθμό των φυματίων στις 130 ΗΑΣ, ήταν η λίπανση ($p \leq 0.001$). Οι επεμβάσεις COMP (78.38 ± 0.83) και BHS (78.19 ± 0.83) είχαν αντίστοιχα 1.17% και 1.42% λιγότερα φυμάτια στις ρίζες των φυτών σε σύγκριση με την FYM, ενώ η επέμβαση NPK (75.30 ± 0.83) 5.31% λιγότερα από την FYM.

Πίνακας 6-4 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στο μήκος της ρίζας και στον αριθμό φυματίων στις 90, 110 και 130 ΗΑΣ.

		Μήκος ρίζας 90 ΗΑΣ	Μήκος ρίζας 110 ΗΑΣ	Μήκος ρίζας 130 ΗΑΣ	Αριθμός φυματίων 90 ΗΑΣ	Αριθμός φυματίων 110 ΗΑΣ	Αριθμός φυματίων 130 ΗΑΣ
2^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	2186.00 ^b	2216.90 ^b	2188.00 ^b	70.04 ^{ab}	68.78 ^a	67.81 ^a
	COMP	2163.10 ^b	2128.50 ^d	2100.90 ^d	70.04 ^{ab}	68.94 ^a	67.97 ^a
	C	1818.60 ^c	1788.70 ^e	1765.90 ^e	60.08 ^c	59.58 ^c	58.81 ^c
	FYM	2465.50 ^a	2920.00 ^a	2881.20 ^a	71.21 ^a	69.92 ^a	68.93 ^a
	NPK	2136.70 ^b	2168.30 ^c	2140.10 ^c	67.72 ^b	66.20 ^b	65.31 ^b
Αλατότητα	CS	2423.90 ^a	2609.40 ^a	2575.00 ^a	72.17 ^a	71.75 ^a	71.75 ^a
	HS	1884.00 ^b	1879.60 ^b	1855.50 ^b	63.47 ^b	61.62 ^a	59.78 ^b
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	728.70**	2072.35***	2058.94***	41.67*	ns	20.27*
F Λίπανσης	4	55.83***	2300.33***	2285.45***	44.61***	52.33***	56.91***
F Αλατότητας	4	29.22***	1844.37***	1832.43***	3.09*	4.15*	4.07*
3^η ΚΠ							
Λίπανση	BHS	2604.70 ^b	2554.40 ^b	2524.00 ^b	80.88 ^{ab}	79.38 ^a	78.19 ^a
	COMP	2501.30 ^c	2452.40 ^c	2423.40 ^c	80.88 ^{ab}	79.57 ^a	78.38 ^a
	C	2104.00 ^d	2060.30 ^d	2036.60 ^d	69.35 ^c	68.77 ^c	67.86 ^c
	FYM	2926.80 ^a	3365.90 ^a	3324.30 ^a	82.22 ^a	80.69 ^a	79.48 ^a
	NPK	2547.80 ^c	2498.30 ^{bc}	2468.70 ^{bc}	78.17 ^b	76.41 ^b	75.30 ^b
Αλατότητα	CS	2863.60 ^a	3007.40 ^a	2970.70 ^a	83.28 ^a	82.82 ^a	82.82 ^a
	HS	2210.30 ^b	2165.10 ^b	2140.10 ^b	73.32 ^b	71.11 ^a	68.86 ^a
ANOVA	Df						
F Αλατότητας	1	923.36**	567.61**	453.52**	59.84*	ns	ns
F Λίπανσης	4	645.70***	630.05***	503.41***	41.59***	50.43***	64.24***
F Αλατότητας	4	454.67***	505.16***	403.63***	ns	3.98*	4.47*
Υπόλοιπο	16						
Σύνολο	29						

Οι δείκτες F-test είναι από την ANOVA. Διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) εντός μιας στήλης υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey. Επίπεδα σημαντικότητας: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns: μη σημαντικό ($p > 0.05$).

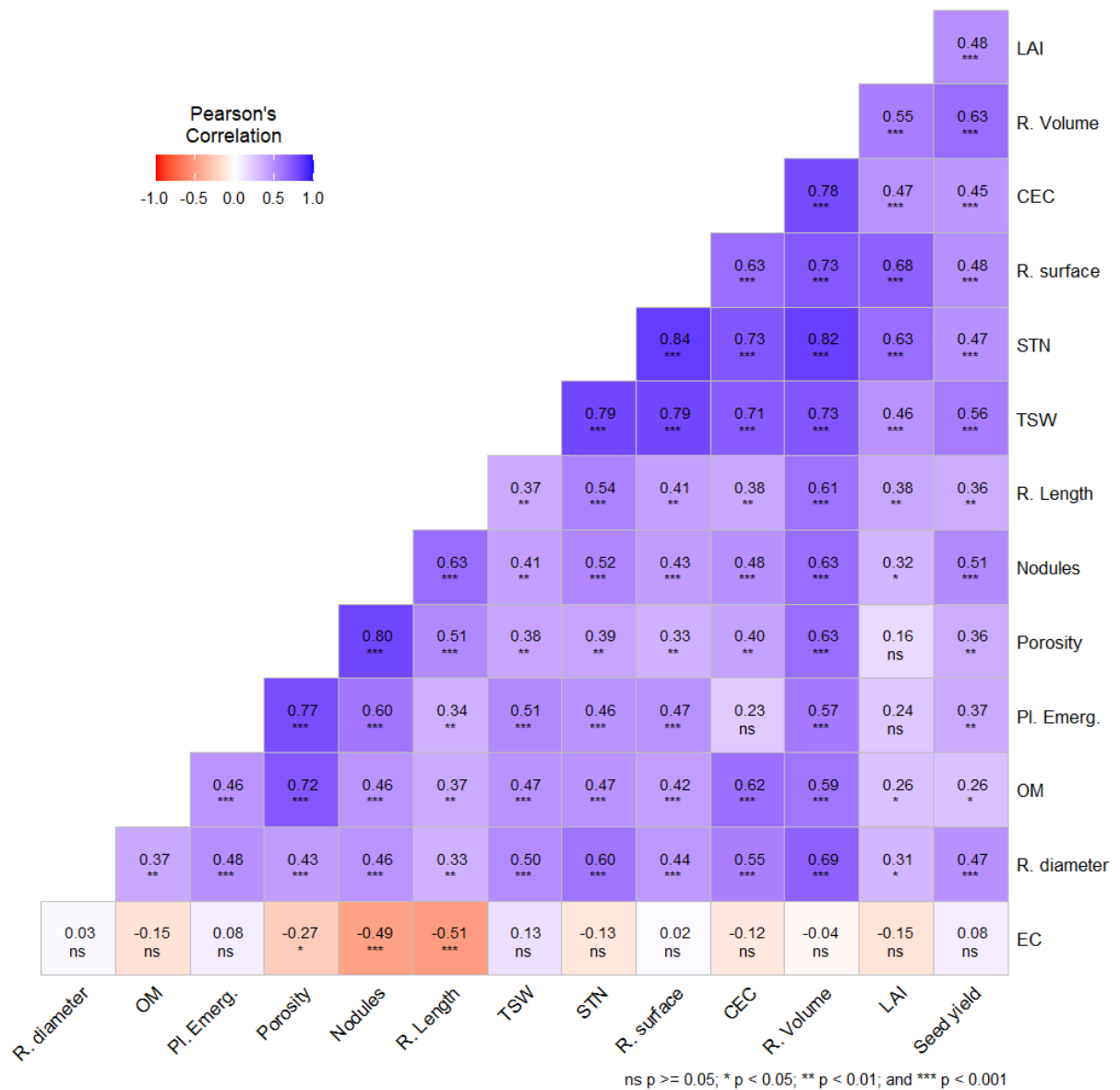
6.4 Συζήτηση

Η εφαρμογή της επέμβασης BHS έχει αναδείξει ένα ευρύ φάσμα πλεονεκτημάτων για την ανάπτυξη των ριζών τριγωνέλλας και τη βελτίωση του εδάφους. Οι ίδιες ευεργετικές ιδιότητες της λίπανσης BHS σημειώθηκαν σε καλλιέργεια γλυκοπατατάς [373] και βιομηχανικής τομάτας [304, 374].

Το πορώδες του εδάφους επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα και από τη λίπανση. Η υψηλή εδαφική αλατότητα οδήγησε σε μειωμένο πορώδες μέσω του σχηματισμού συσσωματωμάτων, μειώνοντας το συνολικό χώρο των πόρων και περιορίζοντας την κίνηση του νερού [375, 376]. Επίσης, η βιολογική λίπανση μπορεί να συμβάλει στην αύξηση της περιεκτικότητας του εδάφους σε οργανική ουσία [377]. Αυτό το αποτέλεσμα συμφωνεί με τα αποτελέσματά αυτής της έρευνας. Η οργανική ύλη διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της δομής και του πορώδους του εδάφους προωθώντας τη σταθερότητα των συσσωματωμάτων [378]. Αυτό συμπεραίνεται και από το δικό μας πείραμα καθώς σημειώθηκε σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ εδαφικής οργανικής ύλης και πορώδους ($r= 0.72$, $p \leq 0.001$) (Διάγραμμα 6-1). Αντίθετα, η υπερβολική χρήση ανόργανων λιπασμάτων μπορεί να συμβάλει στη συμπίεση του εδάφους, η οποία μπορεί να μειώσει το πορώδες του εδάφους. Επιπλέον, οι βιολογικές λιπάνσεις BHS, FYM, και COMP δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους.

Ωστόσο, η επίδραση αυτή συνδέεται συχνά με ακατάλληλες πρακτικές διαχείρισης [377]. Οι αλλαγές στο πορώδες του εδάφους μπορεί να επηρεάσουν την ανάπτυξη των ριζών των φυτών και την πρόσληψη νερού [376, 379]. Η κατανόηση των συνδυασμένων επιδράσεων είναι ζωτικής σημασίας για την πρόβλεψη των αντιδράσεων των φυτών στις εδαφικές συνθήκες [244, 362].

Στο πείραμά μας αποδείχτηκε ότι η λίπανση και όχι η αλατότητα επηρέασε την ανάδυση των φυτών. Η ανθεκτικότητα στην αλατότητα επιβεβαιώνεται από τους Saberali & Moradi [159]. Επίσης, η επαρκής υγρασία είναι απαραίτητη για να απορροφήσουν οι σπόροι νερό και να ξεκινήσει η διαδικασία βλάστησης [160]. Επιπλέον, η ανάδυση των φυτών παρουσίασε θετική συσχέτιση με το πορώδες του εδάφους ($r= 0.77$, $p \leq 0, 001$) και την οργανική ουσία εδάφους ($r= 0.46$, $p \leq 0, 001$) (Διάγραμμα 6-1).



Διάγραμμα 6-1 Πίνακας συσχέτισης Pearson με τιμές r και p μεταξύ των χαρακτηριστικών του εδάφους και της ρίζας

Η επιφάνεια των ριζών επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης σε καλλιέργεια τριγωνέλλας με μεγαλύτερη επιφάνεια ριζών να σημειώνεται με τις βιολογικές λιπάνσεις. Αυτό το συμπέρασμα επιβεβαιώνεται επιπλέον σε καλλιέργεια μηδικής [380], το οποίο εξηγείται με το γεγονός ότι τα βιολογικά λιπάσματα μπορούν να βελτιώσουν τη δομή του εδάφους και την περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά, δημιουργώντας ένα πιο ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη των ριζών [381, 382].

Επίσης, η βιολογική λίπανση συμβάλλει στην ανάπτυξη ευεργετικών μικροβιακών κοινοτήτων στο έδαφος, οι οποίες μπορούν να βελτιώσουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών στα φυτά και να επηρεάσουν θετικά την επιφάνεια των ριζών [383, 384]. Αυτό επιβεβαιώνεται και στο πείραμά μας αφού η επιφάνεια των ριζών παρουσίασε υψηλή θετική συσχέτιση με το εδαφικό άζωτο ($r = 0.84$, $p < 0.001$). Αντιθέτως, τα ανόργανα λιπάσματα, όταν εφαρμόζονται με σύνεση, παρέχουν συγκεκριμένα θρεπτικά συστατικά, απαραίτητα για την ανάπτυξη των ριζών και τη συνολική ανάπτυξη των φυτών [385]. Η επιφάνεια των ριζών τριγωνέλλας

παρουσίασε μέτρια προς χαμηλή θετική συσχέτιση με το πορώδες και την οργανική ουσία του εδάφους ($r=0.33$ και $r=0.42$ αντίστοιχα σε $p \leq 0.001$) (Διάγραμμα 6-1).

Οι περιβαλλοντικοί στρεσογόνοι παράγοντες, όπως οι ελλείψεις θρεπτικών στοιχείων ή η αλατότητα, μπορούν να επηρεάσουν τη μορφολογία των ριζών [386]. Η μέτρηση της μέσης διαμέτρου της ρίζας επιτρέπει στους ερευνητές να εκτιμήσουν τον τρόπο με τον οποίο τα φυτά ανταποκρίνονται σε παράγοντες πίεσης και να προσαρμόσουν ανάλογα τις καλλιεργητικές πρακτικές τους [387, 388]. Στο πείραμά μας, η μέση διάμετρος ρίζας τριγωνέλλας ήταν μεγαλύτερη με τις βιολογικές λιπάνσεις σε σύγκριση με την ανόργανη και συγκεκριμένα με την επέμβαση BHS. Σημαντικό κρίνεται το γεγονός ότι η μέση διάμετρος ρίζας της τριγωνέλλας δεν επηρεάστηκε από την υψηλή αλατότητα. Συνεπώς, η καλλιέργεια τριγωνέλλας μπορεί να αναπτύξει ένα υγιές ριζικό σύστημα σε εδάφη με υψηλή αλατότητα. Η διάμετρος ριζών τριγωνέλλας παρουσίασε μέτρια θετική συσχέτιση με το εδαφικό άζωτο και την οργανική ουσία του εδάφους ($r=0.60$ και $r=0.37$ αντίστοιχα σε $p \leq 0.001$).

Ο όγκος ρίζας αποτελεί βασικό δείκτη της χωρικής έκτασης του ριζικού συστήματος ενός φυτού, επηρεάζοντας την ικανότητά του να έχει πρόσβαση σε θρεπτικά συστατικά και νερό στο έδαφος [389]. Στο πείραμά μας, ο όγκος ρίζας σε καλλιέργεια τριγωνέλλας επηρεάστηκε σημαντικά από τη λίπανση και την αλατότητα. Η υψηλή αλατότητα οδήγησε σε μείωση του όγκου ρίζας, το οποίο είναι σύμφωνο με εργασίες που έδειξαν ότι η υψηλή αλατότητα του εδάφους μπορεί να οδηγήσει σε μείωση του όγκου των ριζών των φυτών λόγω οσμωτικού στρες, και παρεμποδισμένης πρόσληψης νερού, επηρεάζοντας την ανάπτυξη των ριζών [319, 390]. Οι αλλαγές που προκαλούνται από την αλατότητα στη μορφολογία της ρίζας συμβάλλουν στην συνολική μείωση του όγκου της ρίζας [88, 391]. Στο πείραμά μας, ο όγκος ρίζας στην καλλιέργεια τριγωνέλλας ήταν μεγαλύτερος με τις βιολογικές λιπάνσεις σε σχέση με την ανόργανη λίπανση. Αυτό πιθανώς συμβαίνει επειδή η βιολογική λίπανση ενισχύει τον όγκο των ριζών, διαμορφώνοντας τη χωρική κατανομή της ριζόσφαιρας και προάγοντας την ανακύκλωση των θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος, παρέχοντας ένα πλούσιο υπόστρωμα για τη μικροβιακή ανάπτυξη και δραστηριότητα [262, 392]. Επίσης, ο όγκος της ρίζας παρουσίασε θετική συσχέτιση με το ΒΧΣ ($r=0.73$ $p \leq 0.001$) (Διάγραμμα 6-1).

Το μήκος της ρίζας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα και από τη λίπανση στη καλλιέργεια τριγωνέλλας. Η υψηλή αλατότητα του εδάφους επηρέασε αρνητικά το μήκος των ριζών των φυτών τριγωνέλλας. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Benmoussa *et al.* σε καλλιέργεια φασόλι [393]. Αυτό παρατηρείται καθώς η υψηλή αλατότητα προκαλεί οσμωτικό στρες και ιοντική τοξικότητα, περιορίζοντας την πρόσληψη νερού και προκαλώντας κυτταρική βλάβη, οδηγώντας τελικά σε μειωμένη επιμήκυνση των ριζών [319, 390]. Αντίθετα, οι βιολογικές λιπάνσεις βοήθησαν σημαντικά την ανάπτυξη του μήκους των ριζών τριγωνέλλας, καθώς μπορούν να βελτιώσουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων, την αποτελεσματικότητα της πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων και τη συνολική υγεία των φυτών, συμβάλλοντας παράλληλα στην αύξηση του μήκους των ριζών [135, 394]. Επιπρόσθετα, ενώ το μήκος της ρίζας επηρεάστηκε από την αλατότητα, παρουσιάζει επίσης σχετική συσχέτιση με το LAI ($r=0.38$, $p \leq 0.01$). Σε συνδυασμό με τη

διαπίστωση ορισμένων ερευνητών ότι ο περιορισμός της ικανότητας των ριζών να προσλαμβάνουν νερό σε συνθήκες υψηλής αλατότητας συσχετίζεται με την ανοχή των φυτών στην αλατότητα [395, 396], υποδηλώνεται ότι η τριγωνέλλα είναι ανθεκτική στην αλατότητα μέχρι ενός σημείου. Επιπλέον, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η τριγωνέλλα σε συνθήκες αλατότητας έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση μακροστοιχείων και μικροστοιχείων στη ρίζα σε σύγκριση με τους βλαστούς [124, 169].

Ο αριθμός των φυματίων επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα σε καλλιέργεια τριγωνέλλας. Η υψηλή αλατότητα του εδάφους οδήγησε σε μείωση του αριθμού των φυματίων τριγωνέλλας (20% μείωση), καθώς το στρες αλατότητας αναστέλλει τη συμβιωτική αλληλεπίδραση μεταξύ του ψυχανθών και των αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων. Αυτό το συμπέρασμα είναι σύμφωνο με τη βιβλιογραφία [397]. Στο πείραμά μας, ο αριθμός των φυματίων επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά και από τη λίπανση. Οι πρακτικές λίπανσης μπορούν να επηρεάσουν την αζωτοδέσμευση, με τα ανισόρροπα επίπεδα θρεπτικών στοιχείων, ιδιαίτερα το υπερβολικό άζωτο, να αναστέλλουν ενδεχομένως τον σχηματισμό όζων σε καλλιέργειες ψυχανθών, συμπεριλαμβανομένου της τριγωνέλλας [398]. Ο αριθμός των φυματίων ριζών τριγωνέλλας παρουσίασε υψηλή θετική συσχέτιση με το εδαφικό άζωτο και το ΒΣΧ ($r = 0.52$ $r = 0.41$ $p < 0.01$). Αυτό το συμπέρασμα είναι σύμφωνο με τους Otieno *et al.* [399].

Επίσης, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η παραμονή και αποσύνθεση των ριζών ψυχανθών έχει μικρή θετική επίδραση στην αύξηση εδαφικού αζώτου. Συνεπώς, η παραμονή ριζών τριγωνέλλας στο έδαφος, μετά την συγκομιδή του σπόρου, μπορεί να έχει θετική επίδραση στην αύξηση του εδαφικού αζώτου [221, 222].

6.5 Συμπεράσματα

Η εφαρμογή της βιολογικής λίπανσης BHS έχει αποδειχθεί ότι προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα στην ανάπτυξη των ριζών της τριγωνέλλας και στη βελτίωση της ποιότητας του εδάφους. Το πορώδες του εδάφους επηρεάστηκε σημαντικά από την αλατότητα και τη λίπανση. Η υψηλή εδαφική αλατότητα μείωσε το πορώδες μέσω του σχηματισμού συσσωματωμάτων που περιορίζουν την κίνηση του νερού. Η βιολογική λίπανση αύξησε την περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ουσία, βελτιώνοντας τη δομή και τη σταθερότητα των συσσωματωμάτων.

Η επιφάνεια των ριζών επηρεάστηκε σημαντικά από το είδος της λίπανσης, με τις βιολογικές λιπάνσεις να προσφέρουν μεγαλύτερη επιφάνεια ριζών λόγω της βελτίωσης της δομής του εδάφους και της ενίσχυσης των μικροβιακών κοινοτήτων. Η μέση διάμετρος των ριζών ήταν μεγαλύτερη με τις βιολογικές λιπάνσεις σε σύγκριση με τις ανόργανες και δεν επηρεάστηκε από την υψηλή αλατότητα, υποδεικνύοντας την ανθεκτικότητα της τριγωνέλλας σε τέτοιες συνθήκες. Η διάμετρος ριζών παρουσίασε μέτρια θετική συσχέτιση με το εδαφικό άζωτο και την οργανική ουσία του εδάφους.

Ο όγκος της ρίζας τριγωνέλλας επηρεάστηκε επίσης σημαντικά από τη λίπανση και την αλατότητα. Η υψηλή αλατότητα μείωσε τον όγκο της ρίζας, ενώ οι βιολογικές λιπάνσεις αύξησαν τον όγκο της ρίζας, ενισχύοντας την ανάπτυξη των ριζών μέσω της βελτίωσης της δομής του εδάφους και της μικροβιακής δραστηριότητας.

Το μήκος της ρίζας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την αλατότητα και τη λίπανση. Η υψηλή αλατότητα του εδάφους επηρέασε αρνητικά το μήκος των ριζών, προκαλώντας οσμωτικό στρες και ιοντική τοξικότητα που περιορίζουν την πρόσληψη νερού και προκαλούν κυτταρική βλάβη. Αντίθετα, οι βιολογικές λιπάνσεις βοήθησαν στην ανάπτυξη του μήκους των ριζών, βελτιώνοντας τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων και την υγεία των φυτών.

Ο αριθμός των φυματίων τριγωνέλλας επηρεάστηκε σημαντικά από την αλατότητα και τη λίπανση. Η υψηλή αλατότητα του εδάφους μείωσε τον αριθμό των φυματίων, ενώ οι πρακτικές λίπανσης επηρέασαν την αζωτοδέσμευση. Ο αριθμός των φυματίων παρουσίασε υψηλή θετική συσχέτιση με το εδαφικό άζωτο. Τέλος, η παραμονή των ριζών τριγωνέλλας στο έδαφος μετά τη συγκομιδή μπορεί να αυξήσει το εδαφικό άζωτο, συμβάλλοντας στη βελτίωση της ποιότητας του εδάφους.

6° Πείραμα

Μεταβολομική ανάλυση εκχυλισμάτων του είδους *Trigonella foenum-graecum* με χρήση NMR



7 Μεταβολομική ανάλυση εκχυλισμάτων του είδους *Trigonella foenum-graecum* με χρήση NMR

7.1 Εισαγωγή

Η τριγωνέλλα είναι γνωστή από τα αρχαία χρόνια για τις θρεπτικές και θεραπευτικές του ιδιότητες. Τα φυτικά είδη αυτού του γένους είναι πλούσια σε συστατικά που ανήκουν στην κατηγορία των δευτερογενών μεταβολιτών. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες είναι χημικές ενώσεις με μικρό μοριακό βάρος, που δεν εμπλέκονται άμεσα στην ανάπτυξη ή την αναπαραγωγή του φυτού, αλλά συμβάλλουν στη ρύθμιση του μεταβολισμού, την αύξηση της ανθεκτικότητας, την απόδοση του αρώματος και του χρωματισμού των φυτικών τμημάτων και την προστασία έναντι παθογόνων οργανισμών [400, 401].

Τα φύλλα των φυτών του γένους *Trigonella* περιέχουν σημαντικά βιοενεργά συστατικά όπως σαπωνίνες, κυρίως γλυκοσίδες της διοσγενίνης, καθώς και άλλες θρεπτικές ουσίες. Τα φύλλα αποτελούνται από πρωτεΐνες, λίπη, μέταλλα, φυτικές ίνες και υδατάνθρακες. Επιπλέον, περιέχουν ανόργανα άλατα και βιταμίνες, όπως ασβέστιο, σίδηρο, φώσφορο, καροτίνη, θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, νιασίνη και βιταμίνη C. Οι σπόροι της τριγωνέλλας είναι εξίσου πλούσιοι σε θρεπτικά συστατικά, καθώς αποτελούνται κυρίως από διαιτητικές ίνες και πρωτεΐνες, και περιλαμβάνουν βλεννώδεις ίνες, γαλακτομαννάνες, αλκαλοειδή, φλαβονοειδή, ελεύθερα αμινοξέα, σαπωνίνες, γλυκοζίτες, βιταμίνες και μέταλλα, τα οποία μπορούν να παραληφθούν μέσω της διαδικασίας της εκχύλισης. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι σπόροι περιέχουν διοσγενίνη σε ποσοστό 0.1% έως 0.9%, γεγονός που τους προσδίδει ιδιαίτερη φαρμακευτική αξία [402].

Οι ευεργετικές ιδιότητες της τριγωνέλλας δεν περιορίζονται μόνο στη θρεπτική της αξία. Τα εκχυλίσματα και τα συστατικά της έχουν μελετηθεί εκτενώς για τις φαρμακολογικές τους ιδιότητες, οι οποίες περιλαμβάνουν αντιδιαβητική, αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, υποχοληστερολαιμική και αντιφλεγμονώδη δράση [403, 404]. Αυτές οι ιδιότητες καθιστούν την τριγωνέλλα ένα πολύτιμο συστατικό τόσο της παραδοσιακής όσο και της σύγχρονης ιατρικής. Συγκεκριμένα, η τριγωνέλλα έχει χρησιμοποιηθεί ευρύτατα στην παραδοσιακή ιατρική της Ινδίας και της Κίνας για τη θεραπεία ποικίλων παθήσεων. Τα τελευταία χρόνια, η επιστημονική κοινότητα έχει επιδείξει αυξανόμενο ενδιαφέρον για την έρευνα των βιοδραστικών συστατικών της τριγωνέλλας και τις πιθανές εφαρμογές τους στη φαρμακολογία. Οι μελέτες δείχνουν ότι τα φυτοχημικά της τριγωνέλλας μπορούν να έχουν σημαντικό ρόλο στη βελτίωση της υγείας και στην πρόληψη και θεραπεία διαφόρων ασθενειών, υπογραμμίζοντας την αναγκαιότητα περαιτέρω έρευνας και αξιοποίησης αυτών των φυσικών προϊόντων [405].

7.2 Σκοπός μελέτης

Ο σκοπός στις παρούσες μελέτες είναι η διερεύνηση στις επίδρασης των διαφόρων καλλιεργητικών επεμβάσεων στη χημική σύσταση των εκχυλισμάτων των σπόρων και των υπέργειων τμημάτων του φυτού

τριγωνέλλας. Η μελέτη επιδιώκει να αξιολογήσει κατά πόσο οι επεμβάσεις λίπανσης επηρεάζουν το φυτοχημικό προφίλ των φυτικών εκχυλισμάτων. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν σύγχρονες αναλυτικές τεχνικές, στις η φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) και η Χρωματογραφία Λεπτής Στιβάδας Υψηλής Απόδοσης (HPTLC), σε συνδυασμό με πολυμεταβλητές στατιστικές αναλύσεις. Επιπλέον, εξετάζεται η σταθερότητα των δειγμάτων και η επίδραση των συνθηκών αποθήκευσης, με στόχο να προσδιοριστούν οι παράγοντες που συμβάλλουν στη διαμόρφωση του χημικού προφίλ των εκχυλισμάτων.

7.3 Υλικά και μέθοδοι

7.3.1 Πειραματικό σχέδιο και φυτικό υλικό

Το πειραματικό σχέδιο παρουσιάζεται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 2.2.2., ωστόσο για την συγκεκριμένη έρευνα αξιολογήθηκε μόνο ο παράγοντας λίπανση για την 1^η ΚΠ.

7.3.2 Προετοιμασία δειγμάτων

7.3.2.1 Κωδικοποίηση δειγμάτων

Τα δείγματα φυτικού ιστού τριγωνέλλας κωδικοποιήθηκαν ως TFGA (Trigonella foenum-graecum Aerial) με αρίθμηση TFGA01 έως TFGA15 για τα δείγματα που συλλέχθηκαν στις 190 ΗΑΣ TFGA16 έως TFGA30 για τα δείγματα που συλλέχθηκαν στις 217 ΗΑΣ (Πίνακας 7-1). Τα δείγματα σπόρου κωδικοποιήθηκαν TFGS01 έως TFGS28. Οι δύο επαναλήψεις είχαν ως στόχο να προσφέρουν πιο αξιόπιστα αποτελέσματα, διπλασιάζοντας στις παρατηρήσεις για κάθε επέμβαση.

Πίνακας 7-1 Κωδικοποίηση και αρίθμηση δειγμάτων υπέργειου φυτικού υλικού και σπόρου

Επεμβάσεις	Φυτικός ιστός 190 ΗΑΣ	Φυτικός ιστός 217 ΗΑΣ	Σπόρος, 217 ΗΑΣ
COMP	TFGA 01, 08, 12	TFGA 16, 27	TFGS 01, 08, 12, 16, 23, 27
FYM	TFGA 02, 10, 15	TFGA 17, 25, 30	TFGS 02, 10, 15, 17, 25, 30
NPK	TFGA 03, 07, 11	TFGA 18, 22, 26	TFGS 03, 07, 11, 18, 22, 26
BHS	TFGA 05, 09, 14	TFGA 20, 24, 29	TFGS 05, 09, 14, 20, 24, 29
C	TFGA 04, 06, 13	TFGA 19, 21	TFGS 04, 06, 13, 19, 21, 28

7.3.2.2 Ζύγιση και Κονιοποίηση δειγμάτων

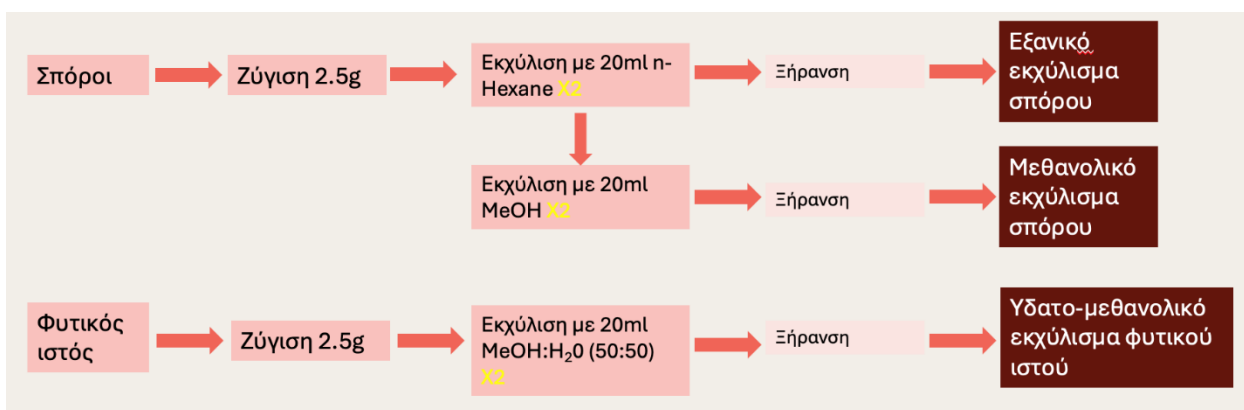
Τα δείγματα ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας μετά την κωδικοποίηση των δειγμάτων. Έπειτα, τα δείγματα κονιοποιήθηκαν για αύξηση στις εκχυλιζόμενης δρόγης και διευκόλυνση στις εκχύλισης. Οι σπόροι κονιοποιήθηκαν σε γουδί, ενώ το υπέργειο τμήμα του φυτού με ηλεκτρικό τεμαχιστή. Η ζύγιση και η κονιοποίηση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν υπό στις στις συνθήκες.

7.3.3 Τεχνικές εκχύλισης: Εκχύλιση υποβοηθούμενη με Υπέρηχους (UAE)

Χρησιμοποιήθηκε η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους (UAE) η οποία είναι μια σύγχρονη και φιλική στις το περιβάλλον τεχνική. Κατά τη διάρκεια στις διαδικασίας, οι υπέρηχοι σε συχνότητες 20-100 kHz

δημιουργούν μηχανικά κύματα που διαδίδονται στο στερεό υλικό στις εκχύλιση, διευκολύνοντας τη διείσδυση του διαλύτη στα κυτταρικά υλικά και βελτιώνοντας τη μεταφορά μάζας των συστατικών [406]. Η μέθοδος βασίζεται στο φαινόμενο στις σπηλαίωσης, όπου μικροσκοπικές φυσαλίδες σχηματίζονται και καταρρέουν μέσα στο διάλυμα λόγω των εφαρμοζόμενων συχνοτήτων. Αυτή η κατάρρευση κοντά στα κυτταρικά τοιχώματα προκαλεί τη διάρρηξή στις, διευκολύνοντας τη διείσδυση του διαλύτη και αυξάνοντας τον ρυθμό μεταφοράς μάζας, με αποτέλεσμα τη βελτίωση της απόδοσης της εκχύλισης. Η αναλογία στερεού υλικού στις υγρό, η θερμοκρασία, η φύση του διαλύτη, η ισχύς των υπερήχων και ο χρόνος εκχύλισης είναι κάποιο βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση με υπερήχους [407].

Στις μεταβολομικές μελέτες, η διαδικασία εκχύλισης είναι κρίσιμη για την ανάκτηση όσο το δυνατόν περισσότερων δευτερογενών μεταβολιτών από το φυτικό υλικό. Στην παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές εκχυλίσεις από σπόρο και φυτικό ιστό (φύλλα και βλαστός) τριγωνέλλας (Εικόνα 7-1). Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε το λουτρό υπερήχων Elmasonic S 100 (H) στις Elma, σε συχνότητα 37 kHz.



Εικόνα 7-1 Πορεία επεξεργασίας όλων των δειγμάτων



Εικόνα 7-2 Πορεία εκχυλίσεων (Ζύγιση- Κοινοποίηση- Προσθήκη διαλύτη- Λουτρό υπερήχων- Φυγοκέντρηση- Διήθηση- Συμπύκνωση)

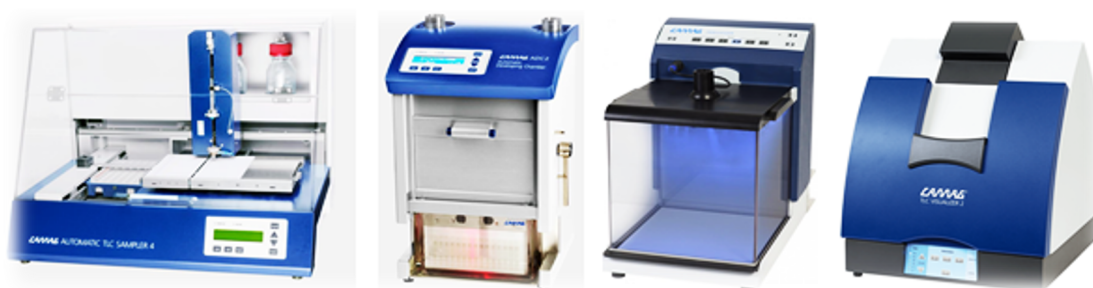
7.3.4 Χρωματογραφικές τεχνικές: Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας υψηλής απόδοσης (HPTLC)

Η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας υψηλής απόδοσης (HPTLC) είναι μια σύγχρονη τεχνική βασισμένη στην παραδοσιακή χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC), με βελτιώσεις που περιλαμβάνουν την αυτοματοποίηση των διαδικασιών για καλύτερη ανάλυση και ακριβέστερες ποσοτικές μετρήσεις. Το βελτιστοποιημένο χρωματογραφικό αποτύπωμα που προκύπτει μπορεί να συμβάλει στην καταγραφή των χημικών συστατικών των φαρμάκων φυτικής προέλευσης και στη δημιουργία βάσης δεδομένων για περαιτέρω φυτοχημικές μελέτες.

Η τεχνική HPTLC χρησιμοποιείται για την ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση πολύπλοκων δειγμάτων, τόσο σε ελέγχους ποιότητας φαρμακευτικών σκευασμάτων όσο και στην ανάλυση φυτικών εκχυλισμάτων. Στον τομέα στις Χημείας Φυσικών Προϊόντων, η τεχνική HPTLC αποτελεί ιδανικό εργαλείο για τον καθορισμό του χημικού προφίλ (fingerprint) πρώτων υλών φυτικής προέλευσης, επιτρέποντας την ανίχνευση νοθειών σε φυσικά προϊόντα. Επιπλέον, η τεχνική HPTLC χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση οργανικών ενώσεων όσον αφορά στις αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές στις ιδιότητες (HPTLC-bioautography) [408]. Ακόμη, η τεχνική HPTLC χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση των αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών ιδιοτήτων οργανικών ενώσεων.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ο παρακάτω άυλος και υλικός εξοπλισμός:

1. CAMAG Automatic TLC sampler 4 (ATS4) για την ομοιόμορφη εφαρμογή δειγμάτων επί πλακών (Εικόνα 7-1).
2. CAMAG Automatic Developing Chamber (ADC 2) για την ανάπτυξη χρωματογραφημάτων.
3. CAMAG Derivatizer και TLC Plate Heater για τον ομοιόμορφο ψεκασμό και την εμφάνιση των χρωματογραφημάτων.
4. CAMAG TLC Visualizer 2 για τη λήψη χρωματογραφήματος σε εικόνα.
5. Λογισμικό CAMAG VisionCATS για την επεξεργασία των χρωματογραφημάτων.



Εικόνα 7-3 Εξοπλισμός HPTLC CAMAG

7.3.5 Φασματοσκοπικές τεχνικές: Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) είναι μια πανίσχυρη τεχνική για τον προσδιορισμό στις δομές οργανικών ενώσεων, καθώς αποκαλύπτει τον αριθμό και τη διάταξη των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων, στις συνδέσεις στις, τη διαμόρφωση των μορίων και τη στεreoχημεία στις. Η τεχνική NMR δεν καταστρέφει το δείγμα, παρέχει ποσοτικά αποτελέσματα και δεν απαιτεί τον διαχωρισμό των συστατικών του δείγματος. Επιπλέον, επιτρέπει την ταυτοποίηση των ουσιών, προσφέρει επαναλήψιμα αποτελέσματα και απαιτεί ελάχιστη προετοιμασία των δειγμάτων [409].

Επιπλέον, η τεχνική NMR είναι θεμελιώδης για τη δημιουργία μεταβολομικών προφίλ, καθώς είναι γνωστή για την επαναληψιμότητά στις και την ταχεία προετοιμασία δειγμάτων [410]. Η τεχνική NMR παρέχει μια ολοκληρωμένη εικόνα των μεταβολιτών του φυτικού οργανισμού, περιλαμβάνοντας ουσίες που είναι δύσκολο να ανιχνευθούν με στις τεχνικές, στις η GC-MS και η LC-MS [411]. Ωστόσο, η ευαισθησία στις είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με τη φασματομετρία μάζας.

Η τεχνική NMR μετράει την απορρόφηση ραδιοσυχνοτήτων (RF) από ορισμένους πυρήνες (^1H , ^{13}C , ^{15}N) σε ισχυρό μαγνητικό πεδίο. Το σήμα RF που εκπέμπεται από στις πυρήνες κατά τη διάρκεια στις πειράματος NMR, γνωστό ως σήμα FID (free induction decay), περιέχει πληροφορίες για το δείγμα. Οι συχνότητες του σήματος αξιολογούνται με μετασχηματισμό Fourier. Οι συχνότητες των κορυφών εξαρτώνται από το χημικό περιβάλλον των πυρήνων, ενώ η ένταση μιας κορυφής είναι ανάλογη με τον αριθμό των πυρήνων σε αυτή τη συχνότητα [412]. Οι χημικές μετατοπίσεις παρέχουν πληροφορίες για τη δομή του μορίου [409].

Σε αυτήν την μελέτη χρησιμοποιήθηκε ο φασματογράφος Bruker Advance III 600 MHz με αυτόματο δειγματολήπτη 60 θέσεων (B-ACS 60) και τα φασματικά δεδομένα αναλύθηκαν με τα λογισμικά MestreNova, Amix και TopSpin (Bruker).

7.3.6 Διαλύτες

Στην παρούσα μελέτη για στις εκχυλίσεις χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες n-Hexane (HPLC grade) και MeOH (HPLC grade), από την εταιρεία Sigma-Aldrich. Για την ανάλυση HPTLC, οι διαλύτες, προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Carlo Erba. Τέλος, για τη φασματοσκοπία NMR, χρησιμοποιήθηκε ο δευτεριωμένος διαλύτης Methanol-d₄ (MeOD, 99.80%) με 0.03% TMS από την εταιρεία Euriso-Top.

7.4 Αποτελέσματα

7.4.1 Εκχυλίσεις σπόρων και υπέργειων φυτικών τμημάτων

Στον Πίνακα 7-2 παρουσιάζονται οι αποδόσεις των εκχυλίσεων.

Πίνακας 7-2 Απόδοση επί τις εκατό σε ξηρό βάρος των εκχυλισμάτων

Αριθμός δείγματος	Εξανικό εκχύλισμα σπόρου (%)	Μεθανολικό εκχύλισμα σπόρου (%)	Υδατο-μεθανολικό εκχύλισμα υπέργειων τμημάτων (%)
01	3.23	10.64	24.75
02	3.41	11.19	13.71
03	4.23	10.61	15.02
04	3.23	11.48	23.47
05	3.43	9.12	28.65
06	3.26	10.88	15.30
07	2.10	10.53	10.69
08	3.28	7.12	15.62
09	3.80	10.03	19.44
10	3.28	11.90	30.06
11	2.21	8.51	30.11
12	2.94	9.07	3.28
13	2.36	8.52	21.80
14	2.67	7.68	12.14
15	2.98	8.98	9.09
16	2.83	10.53	26.52
17	3.29	12.24	14.75
18	3.07	8.14	21.32
19	2.91	8.60	22.78
20	3.02	10.46	14.65
21	3.57	11.79	8.32
22	3.06	11.35	29.96
23	3.18	10.93	-
24	3.55	8.81	21.42
25	2.40	8.81	27.96
26	3.17	9.62	20.09
27	2.88	9.00	18.32
28	3.26	10.46	-
29	2.76	7.34	24.47
30	2.32	7.97	25.01

Η μεγαλύτερη απόδοση εξανικού εκχυλίσματος σπόρου παρουσιάζει το δείγμα TFGS03, στις επέμβασης NPK. Ακολούθως, η μεγαλύτερη απόδοση μεθανολικού εκχυλίσματος σπόρου σημειώθηκε στο δείγμα TFGS17, στις επέμβασης COMP. Στα φυτικά τμήματα, παρατηρείται μικρή διακύμανση στις αποδόσεις των εκχυλισμάτων, με τα δείγματα TFGA10 και TFGA11 να εμφανίζουν την υψηλότερη απόδοση, έχοντας δεχτεί επέμβαση COMP και NPK αντίστοιχα.

7.4.2 Έλεγχος φυτοχημικού προφίλ με HPTLC

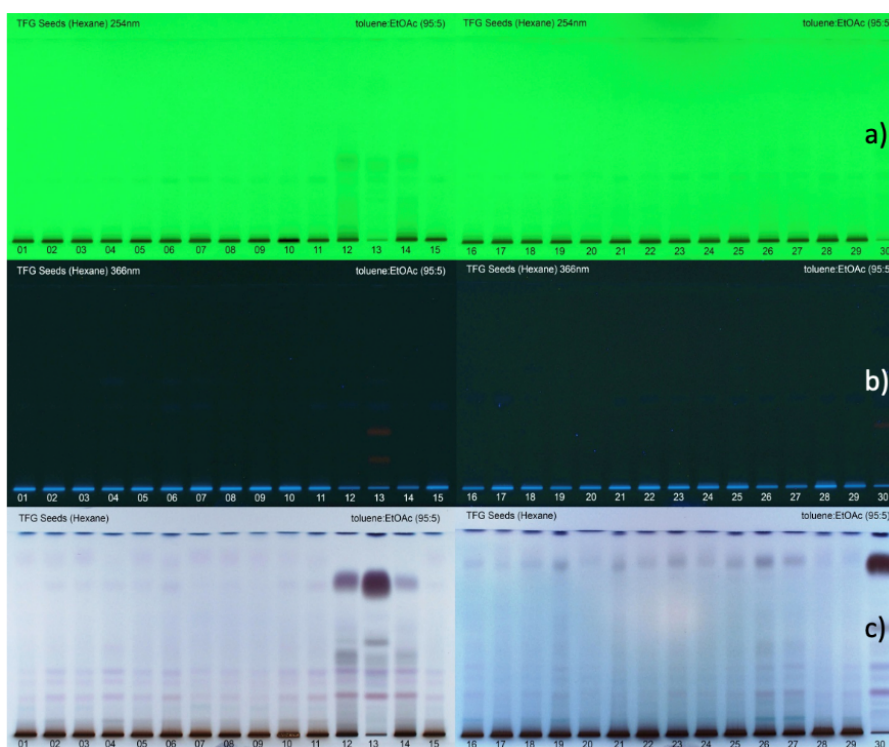
7.4.2.1 Φυτοχημικό προφίλ εξανικών εκχυλισμάτων σπόρου

Αρχικά, ζυγίστηκαν 5 mg εξανικού εκχυλίσματος σε φιαλίδια HPLC και παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκέντρωσης 5 mg mL⁻¹ με προσθήκη οξικού αιθυλεστέρα (EtOAc dist). Μετέπειτα, από κάθε διάλυμα τοποθετήθηκαν 40 μL σε πλάκα TLC κανονικής φάσης διαστάσεων 10 x 20 cm, χρησιμοποιώντας τον αυτόματο δειγματολήπτη CAMAG Automatic TLC sampler 4. Οι πλάκες τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ανάπτυξης CAMAG

Automatic Developing Chamber, κορεσμένο με το επιλεγμένο σύστημα διαλυτών (τολουόλιο σε αναλογία 95:5). Με τη χρήση του CAMAG TLC Visualizer 2 παρατηρήθηκαν χρωματογραφήματα στα 254 nm και 366 nm. Η εμφάνιση των κηλίδων στο ορατό φάσμα έγινε με ψεκασμόθειικής βανιλίνης και θέρμανση (Εικόνα 7-4). Με σκοπό ομοιόμορφο αποτέλεσμα πραγματοποιήθηκε αυτόματος ψεκασμός με τον CAMAG Derivatizer.

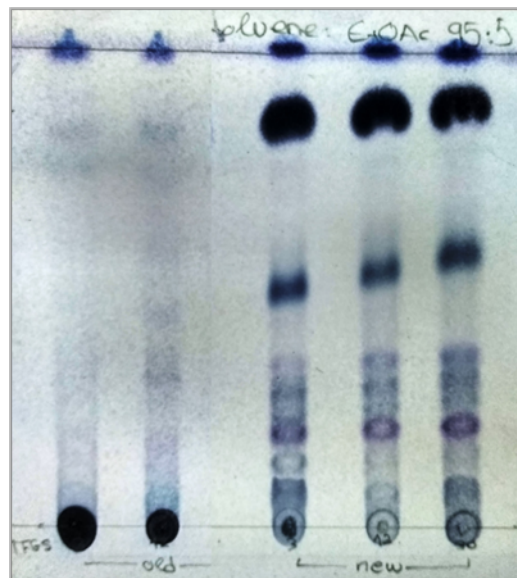
Οι χρωματογραφικές πλάκες στα 254 nm και στα 366 nm (Εικόνα 7-4) δείχνουν ότι δεν υπάρχει σημαντική απορρόφηση των ουσιών, με εξαίρεση τα δείγματα 12, 13 και 14 που εμφανίζουν κάποιες ζώνες απορρόφησης. Με την εφαρμογή του αντιδραστηρίουθειικής βανιλίνης (Εικόνα 7-4), εμφανίζονται μπλε-μωβ κηλίδες, οι οποίες υποδεικνύουν την παρουσίατερπενικών παραγώγων και λιπαρών στα εκχυλίσματα, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία.

Δεν παρατηρείται σημαντική διαφοροποίηση του χημικού προφίλ μεταξύ των επεμβάσεωνλίπανσης, εκτός των δειγμάτων 12, 13, 14 και 30, που δείχνουν διαφορετικά χαρακτηριστικά. Στα υπόλοιπα δείγματα, οι ουσίες παραμένουν συγκεντρωμένες στο σημείο εφαρμογής (spot), πιθανώς λόγω υδρόλυσης εστεροποιημένων οξέων, τα οποία δεν αναπτύσσονται σωστά με το παρόν σύστημα χρωματογραφίας. Αυτή η μετατροπή ενδέχεται να οφείλεται στη διάρκεια και στις συνθήκες αποθήκευσης των δειγμάτων.



Εικόνα 7-4 Χρωματογραφήματα HPTLC των εξανικών εκχυλισμάτων σπόρου τριγωνέλλας σε TLC κανονικής φάσης. Παρατήρηση α) στα 254 nm, β) στα 366 nm, γ) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίουθειικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: toluene:EtOAc σε αναλογία 95:5.

Για να επιβεβαιωθεί αυτή η υπόθεση, πραγματοποιήθηκε εκ νέου εκχύλιση κάποιων δειγμάτων και σύγκριση με τα παλαιότερα. Στην Εικόνα 7-5 διακρίνεται η διαφορά μεταξύ των παλιών εκχυλισμάτων των δειγμάτων 03 και 12 (αριστερά) και των νέων εκχυλισμάτων των δειγμάτων 03, 12 και 30 (δεξιά). Στα νέα εκχυλίσματα, οι εστέρες δεν έχουν υδρολυθεί σε οξέα, όπως έχει συμβεί στα παλαιότερα δείγματα.



Εικόνα 7-5 TLC παλιών (αριστερά) και νέων (δεξιά) εξανικών εκχυλισμάτων σπόρου TFG σε TLC κανονικής φάσης, toluene:EtOAc (95:5) και παρατήρηση στο ορατό με τη χρήση αντιδραστήριου θειικής βανιλίνης.

7.4.2.2 Φυτοχημικό προφίλ μεθανολικών εκχυλισμάτων σπόρου

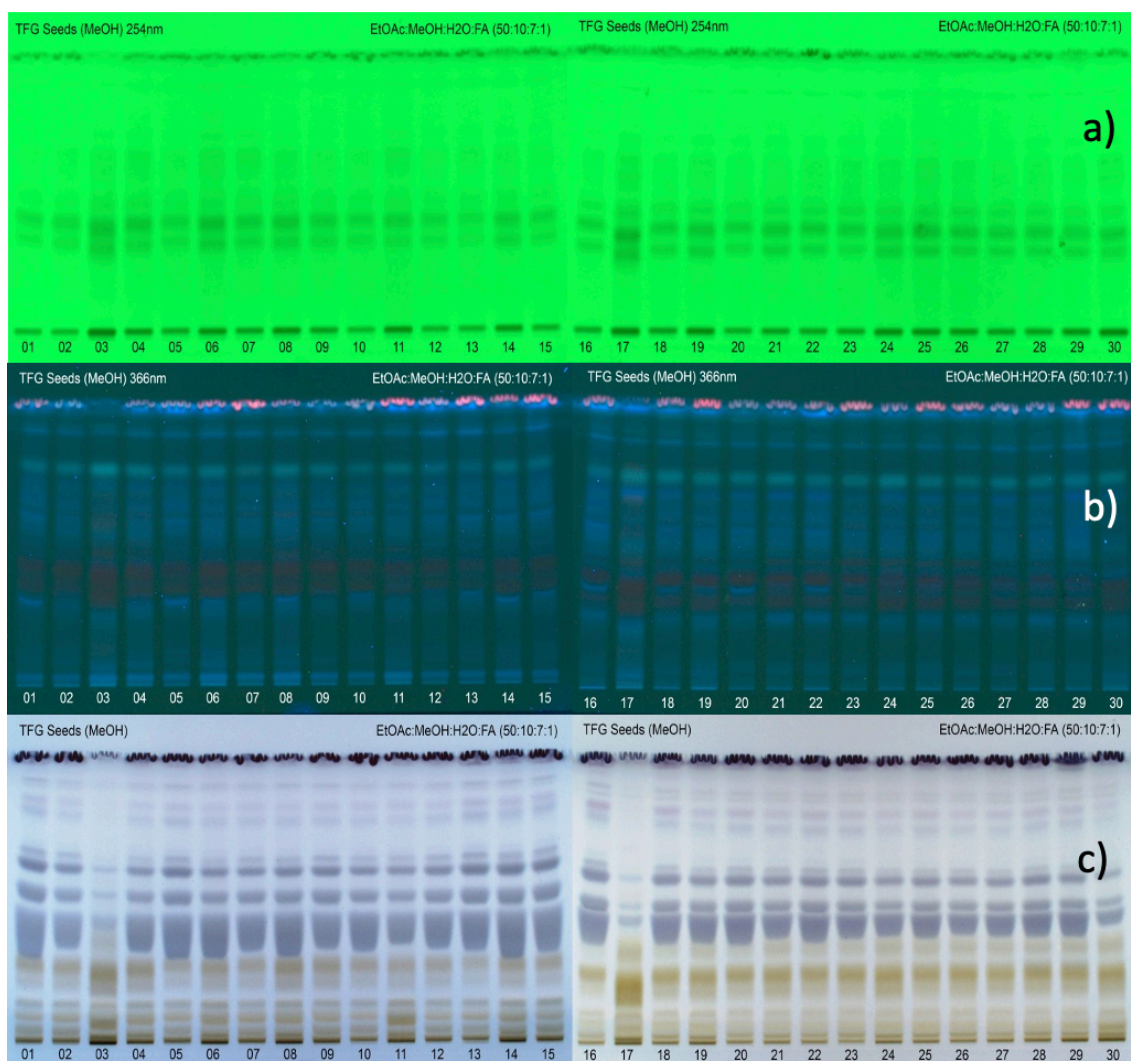
Αρχικά, ζυγίστηκαν 5 mg σε φιαλίδια HPLC από όλα τα μεθανολικά και υδατομεθανολικά εκχυλίσματα, σπόρων και φυτικών ιστών, και παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκέντρωσης 5 mg/mL με προσθήκη μεθανόλης (MeOH HPLC grade). Μετέπειτα, τοποθετήθηκαν 40 μ L από κάθε διάλυμα σε πλάκα TLC κανονικής φάσης και 40 μ L σε πλάκα TLC αντίστροφης φάσης. Οι πλάκες διαστάσεων 10 x 20 cm εφαρμόστηκαν με τον αυτόματο δειγματολήπτη CAMAG Automatic TLC sampler 4 και αναπτύχθηκαν στον θάλαμο CAMAG Automatic Developing Chamber.

Οι πλάκες TLC κανονικής φάσης αναπτύχθηκαν στο σύστημα EtOAc:MeOH:H₂O (50:10:7:1), ενώ οι πλάκες TLC αντίστροφης φάσης στο σύστημα H₂O (72:28). Με τη χρήση του CAMAG TLC Visualizer 2 παρατηρήθηκαν χρωματογραφήματα στα 254 nm και 366 nm. Η εμφάνιση των κηλίδων στο ορατό φάσμα έγινε με ψεκασμό θειικής βανιλίνης και θέρμανση (Εικόνα 7-6). Για ομοιόμορφο αποτέλεσμα έγινε αυτόματος ψεκασμός με τη χρήση του CAMAG Derivatizer.

Όπως διακρίνεται στην Εικόνα 7-6 στις χρωματογραφικές πλάκες είναι εμφανές ότι τα μεθανολικά εκχυλίσματα των σπόρων περιέχουν μια ποικιλία χημικών ενώσεων. Στα 254 nm και 366 nm παρατηρούνται κάποιες ζώνες απορρόφησης, αλλά η παρατήρηση στο ορατό φάσμα αποκαλύπτει τις διαφορετικές κατηγορίες μεταβολιτών. Οι καφέ ζώνες στη βάση του χρωματογραφήματος αντιστοιχούν σε σάκχαρα, όπως οι σαπωνίνες, οι οποίες είναι άφθονες στους σπόρους της τριγωνέλλας σύμφωνα με την βιβλιογραφία. Οι πορτοκαλί-κίτρινες ζώνες υποδεικνύουν την παρουσία φλαβονοειδών και φαινολικών παραγώγων. Οι μωβ-μπλε ζώνες δείχνουν την παρουσία τερπενικών παραγώγων στα εκχυλίσματα.

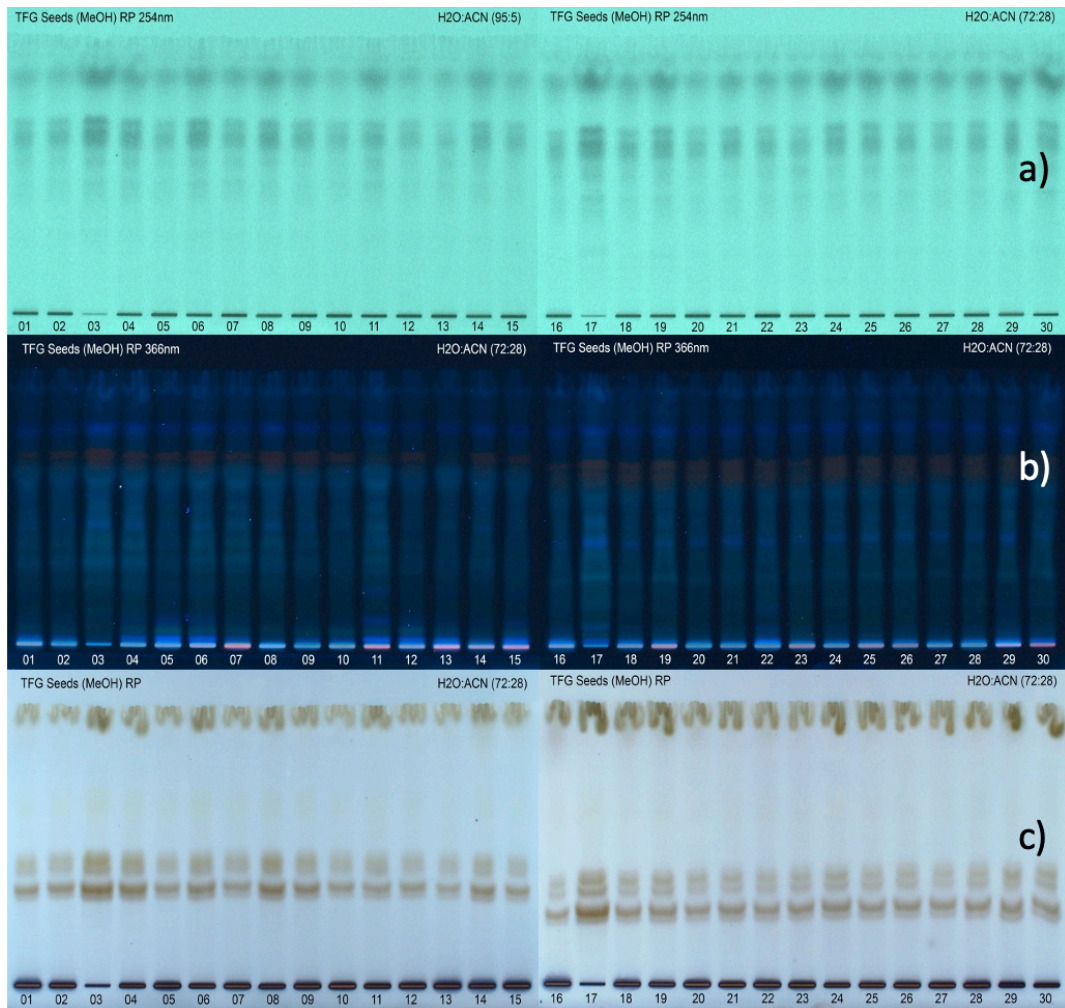
Στην κορυφή του χρωματογραφήματος συσσωρεύονται τα λιγότερο πολικά συστατικά, ενώ στη βάση βρίσκονται τα πιο πολικά συστατικά, τα οποία θα εξεταστούν παρακάτω με TLC αντίστροφης φάσης. Γενικά,

δεν παρατηρείται σημαντική διαφοροποίηση του χημικού προφίλ των δειγμάτων από τις επεμβάσεις λίπανσης, με εξαίρεση τα δείγματα 03 και 17 που παρουσιάζουν κυρίως ποσοτικές και όχι ποιοτικές διαφορές.



Εικόνα 7-6 Χρωματογραφήματα HPTLC των μεθανολικών εκχυλισμάτων σπόρου του φυτού τριγωνέλλας σε TLC κανονικής φάσης. Παρατήρηση α) στα 254 nm, b) στα 366 nm, c) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θειικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: EtOAc:MeOH:H2O:FA με αναλογία 50:10:7:1

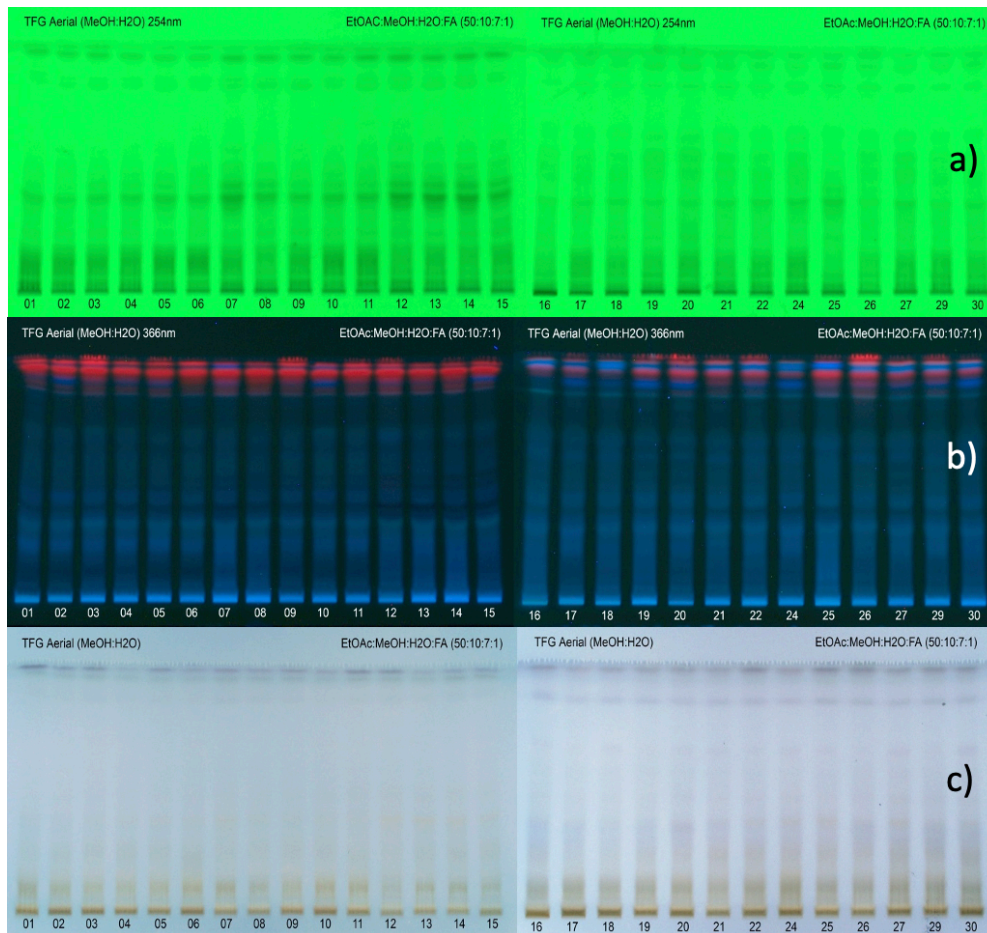
Στις TLC αντίστροφης φάσης αναλύονται τα πιο πολικά συστατικά των εκχυλισμάτων, όπως οι σαπωνίνες, οι οποίες εμφανίζονται ως καφέ ζώνες με τιμή του παράγοντα ανάσχεσης ίσο με 0.4. Όπως και στα προηγούμενα χρωματογραφήματα, δεν παρατηρείται διαφοροποίηση του χημικού προφίλ των δειγμάτων από τις διαφορετικές επεμβάσεις λίπανσης (Εικόνα 7-7).



Εικόνα 7-7 Χρωματογραφήματα HPTLC των μεθανολικών εκχυλισμάτων σπόρου του φυτού *Trigonella foenum-graecum* σε TLC αντίστροφης φάσης. Παρατήρηση α) στα 254 nm, b) στα 366 nm, c) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θειικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: H₂O:ACN με αναλογία 72:28

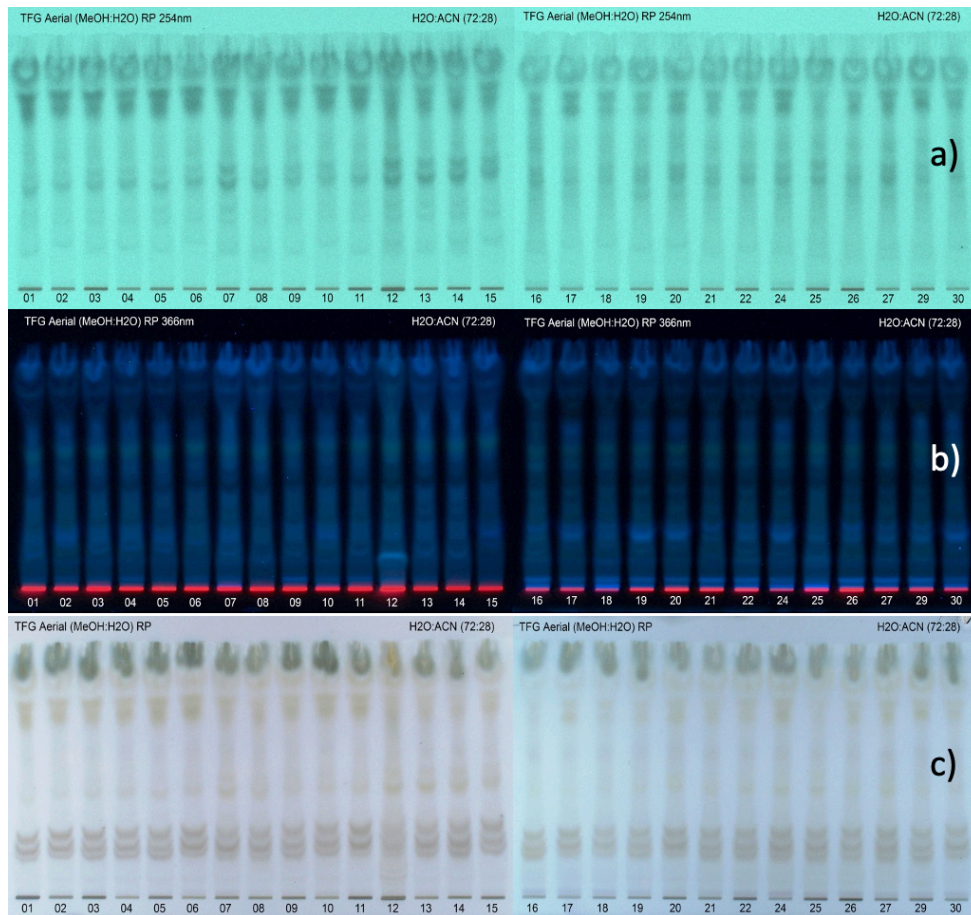
7.4.2.3 Φυτοχημικό προφίλ υδατο-μεθανολικών εκχυλισμάτων φυτικών ιστών

Τα εκχυλίματα του φυτικού μέρους περιέχουν λιγότερα συστατικά σε σύγκριση με εκείνα των σπόρων. Υπάρχει έντονη διαφορά μεταξύ των δειγμάτων που λήφθηκαν από τις 2 δειγματοληψίες (1^η δειγματοληψία: 01-15 και 2^η δειγματοληψία: 16-30). Στα χρωματογραφήματα φαίνεται ότι κατά την ανάπτυξη το φυτό έχει μεταβολίτες που μειώνονται ή εξαφανίζονται κατά την ωρίμανση, ενώ εμφανίζονται άλλοι μεταβολίτες που δεν υπήρχαν πριν. Αυτές οι αλλαγές οφείλονται στις φυσιολογικές διεργασίες του φυτού που μεταβάλλουν την περιεκτικότητα κάθε μεταβολίτη ανάλογα με τις ανάγκες του στο εκάστοτε στάδιο ανάπτυξης. Στις 190 ΗΑΣ (δείγματα 01-15), παρατηρείται η παρουσία χλωροφυλλών ως ερυθρές κηλίδες στα 366 nm, χαρακτηριστικές για τα πράσινα μέρη των φυτών που δεν παρατηρούνται στο φυτό κατά την συγκομιδή (δείγματα 16-30) (Εικόνα 7-8).



Εικόνα 7-8 Χρωματογραφήματα HPTLC των εκχυλισμάτων φυτικών ιστών τριγωνέλλας σε TLC κανονικής φάσης. Παρατήρηση α) στα 254 nm, β) στα 366 nm, γ) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θειικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: EtOAc:MeOH:H₂O:FA με αναλογία 50:10:7:1

Στην Εικόνα 7-9 παρατίθενται οι πλάκες TLC αντίστροφης φάσης των υδατο-μεθανολικών εκχυλισμάτων των φυτικών ιστών, στα 254 nm, 366 nm και στο ορατό μετά τον ψεκασμό με το διάλυμα θειικής βανιλίνης.



Εικόνα 7-9 Χρωματογραφήματα HPTLC των υδατο-μεθανολικών εκχυλισμάτων των φυτικών τμημάτων τριγωνέλλας σε TLC αντίστροφης φάσης. Παρατήρηση a) στα 254 nm, b) στα 366 nm, c) στο ορατό με τη χρήση αντιδραστηρίου θειικής βανιλίνης. Σύστημα ανάπτυξης: H₂O:ACN με αναλογία 72:28.

7.4.3 Φασματοσκοπία πηρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

7.4.3.1 Προετοιμασία δειγμάτων

Για τη φασματοσκοπία NMR, τα δείγματα πρέπει να προετοιμάζονται με ομοιόμορφη μεθοδολογία, ίδια χρονική στιγμή, ίδια συγκέντρωση και να είναι πλήρως διαλυμένα χωρίς ιζήματα ή αιωρούμενα σωματίδια. Για την παρασκευή των διαλυμάτων, ζυγίστηκαν 15 mg ξηρού δείγματος σε erpendorf των 2 mL. Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν ένα μίγμα δευτεριωμένης μεθανόλης (MeOD) με τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS) ως εσωτερικό πρότυπο. Προστέθηκαν 1500 μ L από το διάλυμα αυτό σε κάθε erpendorf ώστε να επιτευχθεί συγκέντρωση 10 mg mL⁻¹. Το μίγμα ανακινήθηκε με συσκευή vortex και παρέμεινε στο λουτρό υπερήχων για 10 λεπτά ώστε να επιτευχθεί πλήρης διάλυση. Έπειτα, φυγοκεντρήθηκε για 15 λεπτά στις 4.000 στροφές για να απομονωθεί πιθανό ίζημα από το υπερκείμενο διαυγές διάλυμα. Στη συνέχεια, 600 μ L από το διάλυμα κάθε δείγματος μεταφέρθηκαν σε σωληνάκια ανάλυσης NMR και πραγματοποιήθηκε η λήψη φάσματος ¹H NMR.

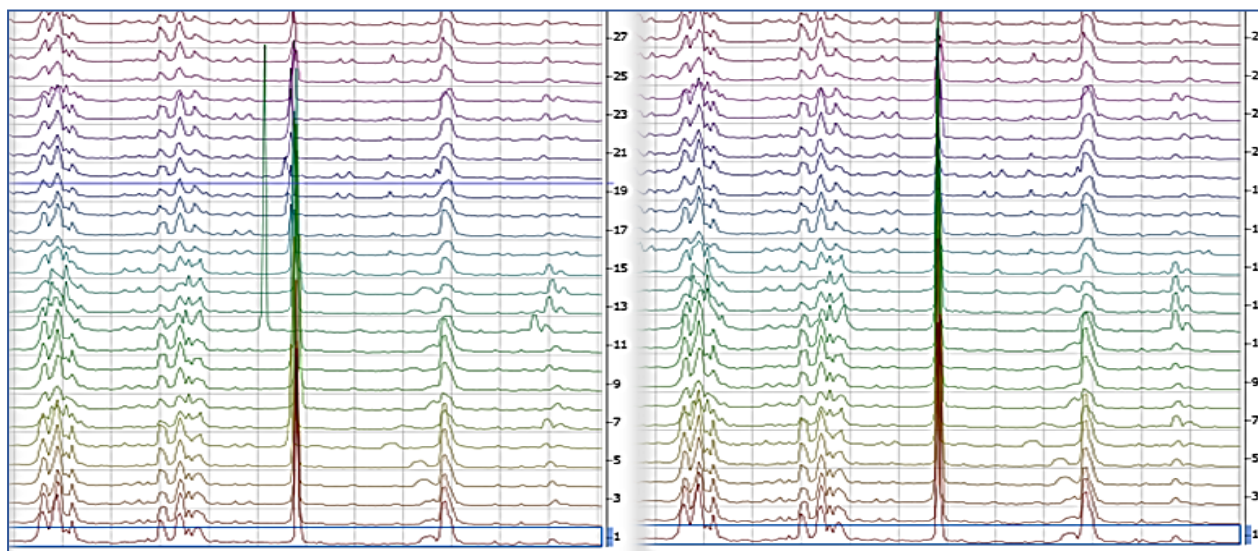
Τα πειράματα NMR πραγματοποιήθηκαν με το όργανο Bruker Avance III 600 MHz σε αυτόματο δειγματολήπτη 60 θέσεων (B-ACS 60). Για όλες τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ανιχνευτής αντίστροφης ανίχνευσης (5 mm) με z-gradients, στους 27 °C. Όλα τα δείγματα αφέθηκαν για 5 λεπτά μετά την εισαγωγή τους στον μαγνήτη ώστε να ισορροπήσουν στην προρρυθμισμένη θερμοκρασία των 27 °C. Τα πειράματα μιας

διάστασης συλλέχθηκαν με την παλμική αλληλουχία noesy, ενώ πραγματοποιήθηκε καταστολή της κορυφής του νερού (water suppression). Η λήψη των φασμάτων έγινε με 64 σαρώσεις, δίνοντας 98K σημεία δεδομένων για φασματικό εύρος 12335,5 Hz (20 ppm), με χρόνο αποδιέγερσης 4 δευτερολέπτων, χρόνο απόκτησης 3.98 δευτερολέπτων και χρόνο μίξης 0.01 δευτερολέπτων.

7.4.3.2 Προεπεξεργασία φασματικών δεδομένων NMR για Μεταβολομική Ανάλυση

Η προεπεξεργασία των δεδομένων των φασματοσκοπικών αναλύσεων είναι ένα βασικό στάδιο της μεταβολομικής ανάλυσης με τη φασματοσκοπία NMR. Αυτή η διαδικασία στοχεύει στη μείωση της περιπλοκότητας των δεδομένων για να διευκολυνθεί η ανάλυση και η ερμηνεία τους [413]. Αρχικά, τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με το λογισμικό MestreNova, όπου πραγματοποιήθηκε η βαθμονόμηση όλων των φασμάτων με τη χρήση της κορυφής της δευτεριωμένης μεθανόλης στα 3.31 ppm. Η διόρθωση γραμμής βάσης (baseline correction) έγινε με τον αλγόριθμο Whittaker Smoother του λογισμικού και ήταν αναγκαία μόνο για τα φασματικά δεδομένα των εκχυλισμάτων των σπόρων. Έπειτα, οι φασματοσκοπικές περιοχές που δεν περιείχαν χρήσιμη πληροφορία, συγκεκριμένα η κορυφή του νερού H₂O (4.72 - 4.83 ppm) και η κορυφή της δευτεριωμένης μεθανόλης MeOD (3.295 - 3.32 ppm) αφαιρέθηκαν.

Η επόμενη επέμβαση ήταν η ευθυγράμμιση των κορυφών (peak alignment) των φασμάτων των διαφορετικών δειγμάτων, ώστε οι κοινές κορυφές να τοποθετούνται στα ίδια ppm (Εικόνα 7-10). Στη συνέχεια, τα φάσματα χωρίστηκαν σε μικρά τμήματα σταθερού πλάτους (bins/buckets). Για την επιλογή του καταλληλότερου εύρους αυτών των τμημάτων έγιναν διάφορες δοκιμές (πχ. 0.01, 0.001, 0.002, 0.003, και 0.005 ppm), και επιλέχθηκε το 0.003 ppm. Το bucketing έγινε σε όλη την έκταση του φάσματος (0.30 - 10 ppm), χωρίζοντάς το σε τμήματα ίσου πλάτους με τη μέθοδο SUM (sum all the points of the bucket). Σε έκαστο τμήμα υπολογίστηκε το εμβαδόν των περιεχόμενων κορυφών με ολοκλήρωση. Οπότε, η φασματική πληροφορία μετατράπηκε σε αριθμητικά δεδομένα, τα οποία συνέθεσαν έναν πίνακα δεδομένων για την στατιστική ανάλυση. Η πρώτη στήλη του πίνακα περιείχε τις παρατηρήσεις (observations), δηλαδή τα δείγματα, και η πρώτη σειρά περιείχε τις μεταβλητές (variables), δηλαδή τα τμήματα των χημικών μετατοπίσεων στα οποία είχε χωριστεί το φάσμα κατά τη διαδικασία του bucketing/binning.

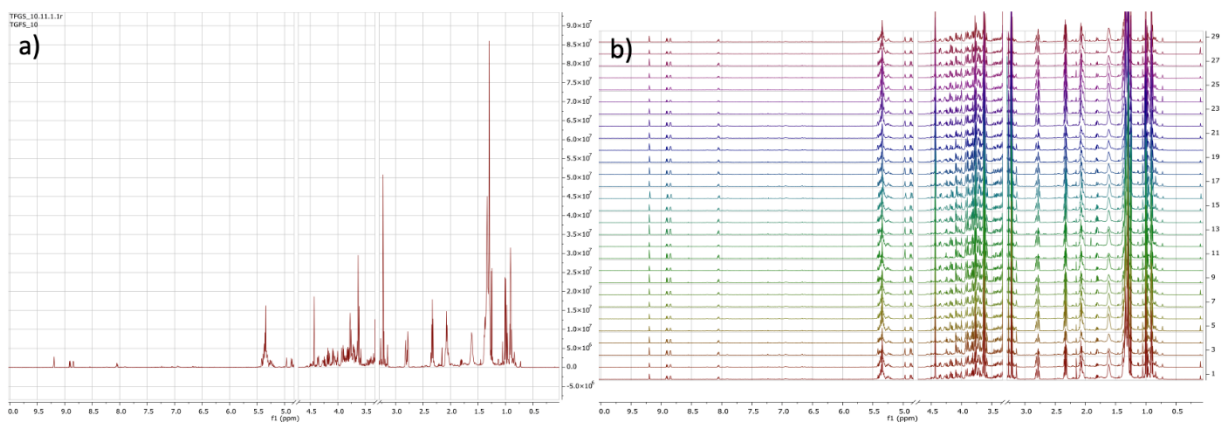


Εικόνα 7-10 Επέμβαση ευθυγράμμισης κορυφών στα φασματικά δεδομένα των υπέργειων φυτικών τμημάτων. Αριστερά πριν την εφαρμογή της ευθυγράμμισης. Δεξιά μετά την εφαρμογή της ευθυγράμμισης.

Τελικό βήμα για τη μείωση του συστηματικού σφάλματος, το οποίο επηρεάζει την ακρίβεια και την πιστότητα των αποτελεσμάτων και δυσχεραίνει την ερμηνεία των δεδομένων, περιλάμβανε την εφαρμογή δεδομένων κανονικοποίησης των δεδομένων. Η κανονικοποίηση πραγματοποιήθηκε με βάση τη συνολική έκταση κάθε φάσματος από τα εκχυλίσματα των φυτικών ιστών χρησιμοποιώντας το λογισμικό MestReNova. Τα δεδομένα των εκχυλισμάτων των σπόρων επεξεργάστηκαν με το λογισμικό Metaboanalyst. Με αυτόν τον τρόπο, τα δεδομένα αναγόμενα σε συγκρίσιμα μεγέθη.

7.4.3.3 Αποτελέσματα φασματοσκοπίας NMR εκχυλισμάτων σπόρου

Στην Εικόνα 7-11 παρουσιάζεται ενδεικτικά ένα φάσμα από τα εκχυλίσματα σπόρου και παρατίθεται το σύνολο των φασμάτων των σπόρων, τοποθετημένα διαδοχικά. Έχουν αφαιρεθεί οι κορυφές της δευτεριωμένης μεθανόλης και νερού από όλα τα φάσματα. Τα φάσματα αποκαλύπτουν ότι τα εκχυλίσματα των σπόρων είναι εξαιρετικά πλούσια, περιέχοντας μεταβολίτες από διάφορες χημικές κατηγορίες. Αυτό επιβεβαιώθηκε και από τον φυτοχημικό έλεγχο με τη μέθοδο HPTLC. Ωστόσο τα φάσματα δεν δείχνουν εμφανείς διαφοροποιήσεις μεταξύ των επεμβάσεων λίπανσης, οι οποίες θα διερευνηθούν περαιτέρω στη μεταβολομική τους ανάλυση.



Εικόνα 7-11 (a) Φάσμα NMR του δείγματος σπόρου TFGS10, (b) Φάσμα NMR του συνόλου των δειγμάτων σπόρων, τοποθετημένα διαδοχικά το ένα κάτω από το άλλο

7.4.3.4 Πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση (NMR) των δειγμάτων των σπόρων

Αφού προεπεξεργαστούν τα φασματικά δεδομένα σπόρων και δημιουργηθεί ο πίνακας, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση με το λογισμικό SIMCA και έγινε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) και Ανάλυση Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA). Έπειτα εφαρμόστηκε κανονικοποίηση και κλιμάκωση των δεδομένων στο λογισμικό SIMCA για να περιοριστεί το συστηματικό σφάλμα και κάθε μεταβλητή να συμβάλλει ισότιμα στο μοντέλο. Αφού δοκιμάστηκαν ποικίλες μέθοδοι κλιμάκωσης, όπως η Unit Variance (UV) και η Pareto, εν τέλει επιλέχθηκε η Pareto γιατί θεωρήθηκε πιο κατάλληλη για τα δεδομένα από φασματοσκοπία NMR.

Στην κλιμάκωση Pareto, κάθε στήλη (με τις μεταβλητές) πολλαπλασιάζεται με το $1/\sqrt{sd}$ όπου sd είναι η τυπική απόκλιση της μεταβλητής. Στην κλιμάκωση τονίζονται οι στατιστικά σημαντικοί μεταβολίτες γιατί γίνεται βάσει των μεγαλύτερων ολοκληρώσεων.

Στα διαγράμματα scores plot σκιαγραφούνται τα αποτελέσματα ότι δεν υπάρχει σαφής διαχωρισμός μεταξύ των επεμβάσεων λίπανσης (Εικόνα 7-12). Τα δείγματα, ανεξαρτήτως επέμβασης λίπανσης είναι τοποθετημένα τυχαία μεταξύ των κύριων συνιστωσών. Αυτό υποδηλώνει ότι τα δείγματα σπόρων έχουν αρκετά όμοιο χημικό προφίλ, το οποίο δεν επιτρέπει στο λογισμικό να τα διαχωρίσει ή να τα ομαδοποιήσει

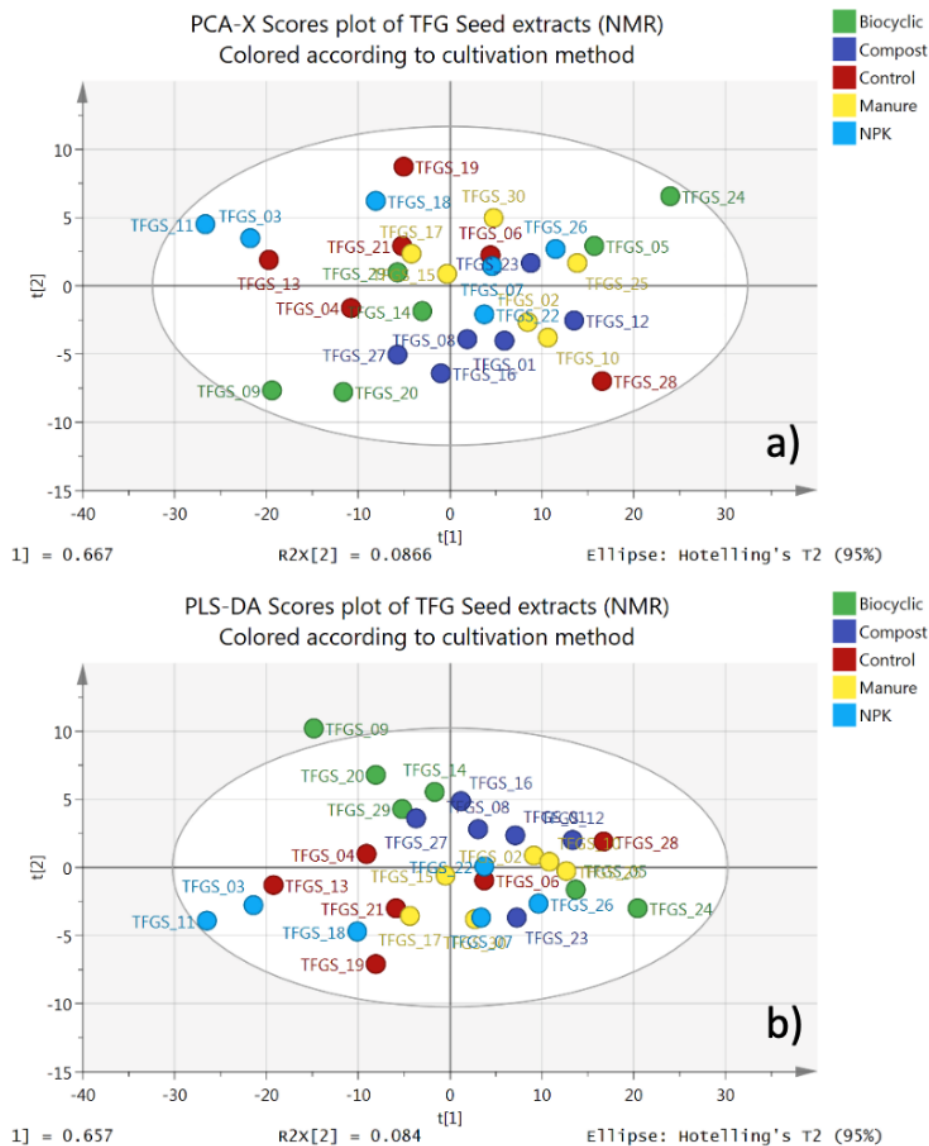
Επιπρόσθετα, τα φάσματα επεξεργάστηκαν και με το λογισμικό Amix (Bruker) ώστε να εξεταστεί το ενδεχόμενο ο κακός διαχωρισμός να οφείλεται στο λογισμικό. Οπότε πραγματοποιήθηκαν τα ίδια βήματα με το MestreNova: (i) εύρος φάσματος επεξεργασίας 0.30 - 10 ppm, (ii) μέγεθος και bucketing 0.003 SUM, και (iii) αφαίρεση των φασματικών περιοχών (MeOD, H₂O και lipids). Μετά την κανονικοποίηση των δεδομένων βάσει αθροίσματος (normalisation by sum) με το λογισμικό Metaboanalyst, αλλά και με την κανονικοποίηση με βάση συγκεκριμένη κορυφή (π.χ. τριγωνελλίνη), το αποτέλεσμα δεν ήταν πιο ευκρινή. Συμπερασματικά, η χρήση του λογισμικού Amix δεν επέφερε καλύτερο διαχωρισμό μεταξύ των ομάδων, ωστόσο παρατηρήθηκε βελτίωση στη συνολική εικόνα του μοντέλου. Για τον λόγο αυτό, κρίθηκε ως η καταλληλότερη επιλογή.

Τα καλύτερα μοντέλα του λογισμικού SIMCA είναι αποτέλεσμα επεξεργασίας με το λογισμικό Amix, κανονικοποίησης με το λογισμικό Metaboanalyst βάσει αθροίσματος και κλιμάκωσης με Pareto. Το μοντέλο

PCA κατασκευάστηκε με 5 κύριες συνιστώσες και για την αξιολόγηση της εγκυρότητάς του χρησιμοποιήθηκαν οι συντελεστές R^2 και Q^2 . Οι τιμές σε αυτήν την περίπτωση είναι R^2X (cum) ίση με 0.886 και Q^2 (cum) ίση με 0.786.

Παρόλα αυτά, παρατηρείται ότι τα δείγματα της επέμβασης COMP έχει το μικρότερο ενδοομαδικό εύρος διακύμανσης, δηλαδή οι μεταβλητές των δειγμάτων αυτής της ομάδας παρουσιάζουν λιγότερη μεταβλητότητα σε σύγκριση με τις άλλες ομάδες (Εικόνα 7-12). Αυτό υποδηλώνει μια μικρού βαθμού ομαδοποίηση που οφείλεται στην ομοιότητα των συγκεκριμένων δειγμάτων. Δηλαδή, η ποιότητα των σπόρων της επέμβασης COMP είναι πιο σταθερή. Από την άλλη, η επέμβαση BHS παρουσίασε τις μεγαλύτερες αποκλίσεις ανάμεσα στα δείγματα της ομάδας, γεγονός που ίσως να συνδέεται με μια όχι τόσο σταθερή παραγωγή.

Για να επιβεβαιωθούν τα παραπάνω ευρήματα, απαιτείται η ανάλυση μεγαλύτερου αριθμού δειγμάτων, τόσο από την ίδια όσο και από άλλες καλλιεργητικές περιόδους, για να διασφαλιστεί η εγκυρότητα του στατιστικού μοντέλου. Τέλος, λόγω έλλειψης επαρκούς διαχωρισμού και ομαδοποίησης των επεμβάσεων λίπανσης, δεν πραγματοποιήθηκε περαιτέρω μελέτη των μεταβλητών που συμβάλλουν στη δημιουργία του μοντέλου.



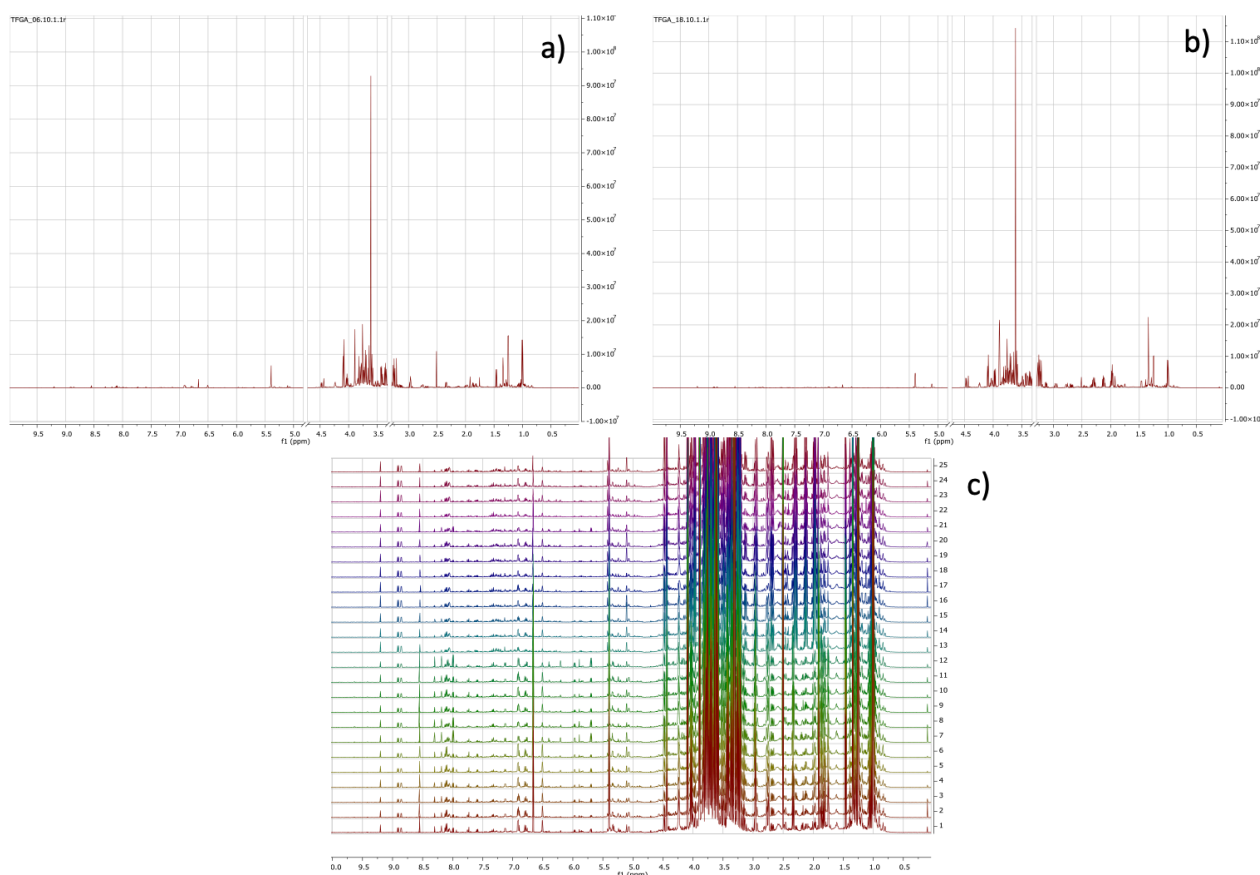
Εικόνα 7-12 Διάγραμμα συντεταγμένων α) PCA, β) PLS-DA των φασματικών δεδομένων NMR των σπόρων με κλιμάκωση Pareto και χρωματισμό με βάση την καλλιεργητική μέθοδο

7.4.3.5 Αποτελέσματα φασματοσκοπίας NMR εκχυλισμάτων φυτικών ιστών

Στην Εικόνα 7-13 παρουσιάζονται δύο φάσματα από τα εκχυλίσματα του φυτικού ιστού από τις δειγματοληψίες 190 ΗΑΣ και 217 ΗΑΣ, και το σύνολο των φασμάτων των φυτικών ιστών τοποθετημένα το ένα κάτω από το άλλο. Όμοια, με τα δείγματα σπόρου, αφαιρέθηκαν οι κορυφές δευτεριωμένης μεθανόλης και νερού από όλα τα φάσματα.

Τα φάσματα των φυτικών ιστών παρουσιάζουν εμφανείς διαφορές μεταξύ των 2 δειγματοληψιών λόγω στάδιο ανάπτυξης της καλλιέργειας. Στην Εικόνα 7-13, παρατηρούνται αλλαγές σε κορυφές που εμφανίζονται στα μισά φάσματα, ενώ στα υπόλοιπα είτε έχουν μειωθεί σημαντικά είτε απουσιάζουν εντελώς. Αυτές οι αλλαγές στις κορυφές υποδεικνύουν τη μετατροπή των μεταβολιτών, οι οποίοι με την πάροδο του χρόνου

μπορεί να μειώνονται ή να δημιουργούνται νέοι μεταβολίτες που δεν υπήρχαν στο πρώιμο στάδιο ανάπτυξης, πάντα σύμφωνα με τις ανάγκες του φυτού.



Εικόνα 7-13 α) Φάσμα ^1H NMR φυτικού υλικού TFGA06, 190 ΗΑΣ β) Φάσμα NMR του δείγματος υπέργειου φυτικού υλικού TFGA18, 217 ΗΑΣ γ) Φάσματα NMR του συνόλου των δειγμάτων των φυτικών ιστών τοποθετημένα το ένα κάτω από το άλλο

7.4.4 Πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση (NMR) των φυτικών ιστών

Με στόχο να ελαχιστοποιηθεί το συστηματικό σφάλμα έγινε προεπεξεργασία των φασματικών δεδομένων NMR και κανονικοποίηση με βάση τη συνολική έκταση (Total Area) κάθε φάσματος με το λογισμικό MestreNova. Έπειτα, μελετήθηκαν τα φάσματα φυτικού ιστού τριγωνέλλας 190 ΗΑΣ και 217 ΗΑΣ και ακολούθησε PCA και PLS-DA. Επιπλέον, εφαρμόστηκε κλιμάκωση των δεδομένων (scaling) στο λογισμικό SIMCA, διασφαλίζοντας ότι κάθε μεταβλητή έχει ίση συνεισφορά στο μοντέλο. Όπως και με τα φασματικά δεδομένα των σπόρων, επιλέχθηκε η κλιμάκωση Pareto, καθώς θεωρήθηκε η καταλληλότερη για τα συγκεκριμένα δεδομένα.

Η Εικόνα 7-14 (α) απεικονίζει το διάγραμμα Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών (PCA-X Scores plot) των εκχυλισμάτων φυτικών ιστών τριγωνέλλας. Τα δείγματα είναι χρωματισμένα ανάλογα με τον χρόνο δειγματοληψίας (190 ΗΑΣ και 217 ΗΑΣ). Από την Εικόνα 7-14 παρατηρείται ότι τα δείγματα που λήφθηκαν σε διαφορετικούς χρόνους δειγματοληψίας έχουν διαφορετικές κατανομές στις κύριες συνιστώσες, το οποίο υποδηλώνει διαφορές στα χημικά προφίλ τους. Το μοντέλο PCA κατασκευάστηκε με 4 κύριες συνιστώσες και

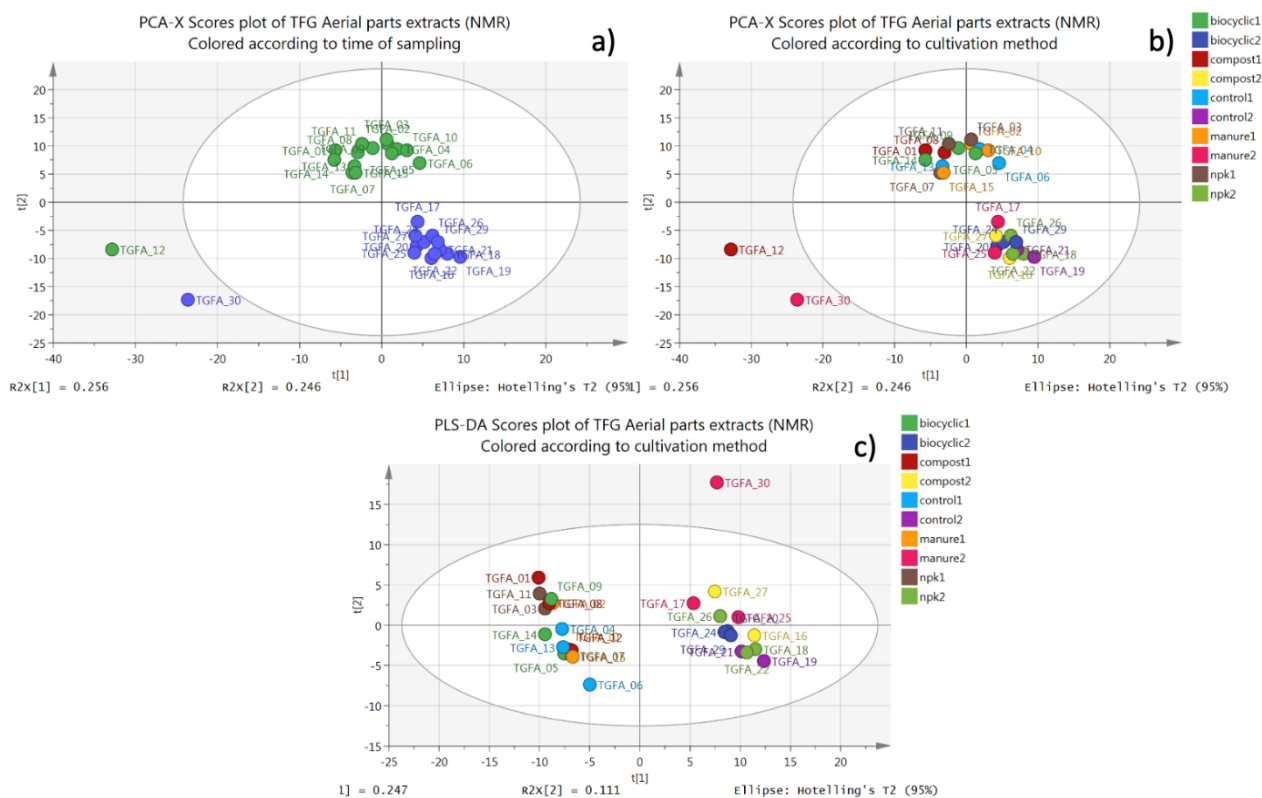
για την αξιολόγηση της εγκυρότητας του χρησιμοποιήθηκαν οι συντελεστές R^2 και Q^2 , όπου $R^2X(\text{cum})$ ίση με 0.718 και $Q^2(\text{cum})$ ίση με 0.434.

Είναι αναμενόμενο οι φυσιολογικές λειτουργίες του φυτού να μην είναι ίδιες στα δύο αυτά στάδια κατά τα οποία πραγματοποιήθηκαν οι δειγματοληψίες, με αποτέλεσμα οι μεταβολίτες που παράγονται να διαφέρουν τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά.

Στην Εικόνα 7-14 (b), ο χρωματισμός γίνεται με βάση την επέμβαση λίπανσης σε συνδυασμό με τον χρόνο δειγματοληψίας. Και σε αυτήν την απεικόνιση δεν διακρίνεται ιδιαίτερος διαχωρισμός μεταξύ των δειγμάτων που δέχτηκαν διαφορετικές λιπάνσεις για κάθε ημερομηνία δειγματοληψίας. Στο μοντέλο παρατηρούνται δύο δείγματα που είναι απομακρυσμένα από τα υπόλοιπα της ομάδας τους (outliers). Αναλύοντας τα φάσματα, διαπιστώθηκε ότι το φάσμα του δείγματος TFGA12 παρουσιάζει σημαντικές διαφορές σε σχέση με τα υπόλοιπα δηλαδή περιέχει κορυφές που δεν υπάρχουν σε κανένα άλλο δείγμα, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται σε επιμόλυνση κατά τη συγκομιδή ή την αποθήκευση. Σχετικά με το δείγμα TFGA30, το φάσμα του δεν δείχνει κάποια ακραία διαφοροποίηση από τα υπόλοιπα δείγματα, γεγονός που υποδηλώνει πιθανές διαφορές στη συγκέντρωση των περιεχόμενων μεταβολιτών.

Στην Εικόνα 7-14 (c), παρουσιάζεται το μοντέλο PLS-DA που περιέχει όλα τα δείγματα φυτικού ιστού. Παρόμοια με το μοντέλο PCA, αυτό το μοντέλο αξιολογήθηκε βάσει του ποσοστού της εξήγησης της πληροφορίας και της αποτελεσματικότητας της πρόβλεψης, προκειμένου να επιλεγούν οι καταλληλότερες παράμετροι για το μοντέλο. Τελικά, με την κλιμάκωση Pareto, η περιγραφική ικανότητα του μοντέλου είναι $R^2X(\text{cum})$ ίση με 0.656, $R^2Y(\text{cum})$ ίση με 0.991 και η προβλεπτική του ικανότητα είναι $Q^2(\text{cum})$ ίση με 0.927.

Με την εφαρμογή της μεθόδου PLS-DA, η οποία τείνει να ομαδοποιεί τα δείγματα που ανήκουν στις ίδιες ομάδες, παρατηρήθηκε ότι το δείγμα TFGA12, που ήταν outlier στο μοντέλο PCA, πλέον είχε ενταχθεί στην ομάδα του (Εικόνα 7-14c). Αντίθετα, το outlier δείγμα TFGA30, παραμένει εξαιρετικά απομακρυσμένο. Τα υπόλοιπα δείγματα συνεχίζουν να μην παρουσιάζουν ξεκάθαρες ομάδες με βάση την επέμβαση λίπανσης που έχουν δεχθεί. Συνεπώς, από τα δεδομένα αυτά προκύπτει ότι η καλλιεργητική επέμβαση δεν μεταβάλλει τη χημική σύσταση των εκχυλισμάτων των φυτών τριγωνέλλας και στις 2 δειγματοληψίες.



Εικόνα 7-14 α) Διάγραμμα συντεταγμένων PCA των φασματικών δεδομένων NMR των υπέργειων φυτικών τμημάτων με κλιμάκωση Pareto και χρωματισμό με βάση την ημερομηνία δειγματοληψίας β) Διάγραμμα συντεταγμένων PCA των φασματικών δεδομένων NMR των φυτικών ιστών με κλιμάκωση Pareto και χρωματισμό ανά επέμβαση σε συνδυασμό με την ημερομηνία δειγματοληψίας γ) Διάγραμμα συντεταγμένων PLS-DA των φασματικών δεδομένων NMR των υπέργειων φυτικών ιστών με κλιμάκωση Pareto και χρωματισμό ανά επέμβαση και σε συνδυασμό με την ημερομηνία δειγματοληψίας

7.5 Συμπεράσματα

Οι αποδόσεις των εκχυλισμάτων παρουσίασαν διαφοροποιήσεις ανάλογα με το μέρος του φυτού παρά με την επέμβαση λίπανσης. Το δείγμα TFGS03 από την επέμβαση NPK είχε την υψηλότερη απόδοση εξανικού εκχυλίσματος σπόρου, ενώ το δείγμα TFGS17 από την επέμβαση COMP παρουσίασε την υψηλότερη απόδοση μεθανολικού εκχυλίσματος σπόρου. Στα φυτικά τμήματα, τα δείγματα TFGA10 και TFGA11 παρουσίασαν την υψηλότερη απόδοση, στις επεμβάσεις COMP και NPK αντίστοιχα.

Σχετικά με το φυτοχημικό προφίλ με ανάλυση HPTLC, στα εξανικά εκχυλίσματα σπόρου, οι χρωματογραφικές αναλύσεις έδειξαν παρουσία τερπενικών παραγώγων και λιπαρών. Η διαφοροποίηση μεταξύ των επεμβάσεων λίπανσης ήταν μικρή, εκτός από τα δείγματα TFGS 12, 13, 14 και 30 που εμφάνισαν διαφορετικά χαρακτηριστικά. Στα μεθανολικά εκχυλίσματα σπόρου, τα χρωματογράφημα αποκάλυψαν ποικιλία χημικών ενώσεων όπως σαπωνίνες, φλαβονοειδή και τερπενικά παράγωγα. Δεν υπήρξε σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των επεμβάσεων λίπανσης, εκτός από ποσοτικές διαφορές στα δείγματα 03 και 17. Στα υδατο-μεθανολικά εκχυλίσματα φυτικών ιστών, παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγματοληψιών σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης. Οι αλλαγές στους μεταβολίτες φαίνεται να οφείλονται στις φυσιολογικές διεργασίες του φυτού.

Η ανάλυση των φασμάτων NMR αποκάλυψαν πλούσια χημικά προφίλ για τα εκχυλίσματα σπόρων και φυτικών ιστών. Ωστόσο, δεν υπήρξαν εμφανείς διαφοροποιήσεις μεταξύ των επεμβάσεων λίπανσης. Στην πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση των δεδομένων NMR, τόσο το PCA όσο και το PLS-DA δεν έδειξαν σαφή διαχωρισμό μεταξύ των διαφορετικών καλλιεργητικών επεμβάσεων. Αυτό υποδηλώνει ότι οι μεταβολίτες των σπόρων και των φυτικών ιστών δεν παρουσιάζουν σημαντικές ποιοτικές ή ποσοτικές διαφορές που να σχετίζονται με τις λιπάνσεις.

Η εφαρμογή της κλιμάκωσης Pareto βελτίωσε την εικόνα του μοντέλου, αλλά δεν κατάφερε να επιτύχει καλύτερο διαχωρισμό των ομάδων. Εντούτοις, τα δείγματα από την επέμβαση COMP παρουσίασαν μικρότερη διακύμανση, υποδηλώνοντας μεγαλύτερη σταθερότητα στην ποιότητα των σπόρων. Για την επιβεβαίωση των ευρημάτων απαιτείται η ανάλυση μεγαλύτερου αριθμού δειγμάτων από διάφορες καλλιεργητικές περιόδους. Η έλλειψη επαρκούς διαχωρισμού και ομαδοποίησης των δειγμάτων καθιστά αναγκαία την περαιτέρω μελέτη των χαρακτηριστικών που συμβάλλουν στη δημιουργία των μοντέλων.

Συνολικά, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι καλλιεργητικές επεμβάσεις όπως η λίπανση δεν φαίνεται να έχουν σημαντική επίδραση στη χημική σύσταση των εκχυλισμάτων των φυτών τριγωνέλλας, υποδηλώνοντας ότι άλλοι παράγοντες μπορεί να παίζουν μεγαλύτερο ρόλο στην διαμόρφωση του φυτοχημικού προφίλ.

7^ο Πείραμα

Επίδραση Λίπανσης (Βιολογικής και Ανόργανης) και Αλατότητας στο Μεταβολισμό Φυτών Τριγωνέλλας



8 Επίδραση Λίπανσης (Βιολογικής και Ανόργανης) και Αλατότητας στο Μεταβολισμό Φυτών Τριγωνέλλας

8.1 Εισαγωγή

Ο φυτικός μεταβολισμός είναι κρίσιμος για την επιβίωση, την ανάπτυξη και την προσαρμογή των φυτών στο περιβάλλον τους. Οι βασικές μεταβολικές οδοί, όπως η γλυκόλυση και ο κύκλος του Krebs, παρέχουν την απαραίτητη ενέργεια και τα δομικά στοιχεία για τις κυτταρικές λειτουργίες. Αυτές οι οδοί επιτρέπουν τη μετατροπή των υδατανθράκων σε ενέργεια και την παραγωγή ενδιάμεσων μεταβολιτών που είναι ζωτικής σημασίας για την κυτταρική ανάπτυξη και τη βιοσύνθεση άλλων σημαντικών μορίων [414].

Η φωτοσύνθεση επιτρέπει τη μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε χημική ενέργεια, η οποία χρησιμοποιείται για την παραγωγή γλυκόζης από διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Αυτός ο μηχανισμός παρέχει ενέργεια και δημιουργεί το θεμέλιο για την πρωτογενή παραγωγή σε οικοσυστήματα, υποστηρίζοντας τη ζωή πολλών άλλων οργανισμών [415].

Ο μεταβολισμός των αμινοξέων είναι επίσης ζωτικής σημασίας, καθώς τα αμινοξέα αποτελούν τα δομικά στοιχεία των πρωτεϊνών [416]. Οι φυτικοί μεταβολικοί δρόμοι παράγουν αμινοξέα, τα οποία είναι απαραίτητα για τη σύνθεση πρωτεϊνών και άλλων σημαντικών μορίων όπως τα νουκλεοτίδια. Επιπλέον, η βιοσύνθεση αρωματικών αμινοξέων συνδέεται στενά με την παραγωγή φαινολικών ενώσεων, οι οποίες διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην άμυνα των φυτών [417].

Οι δευτερογενείς μεταβολικές οδοί των φυτών παράγουν μια ποικιλία εξειδικευμένων μεταβολιτών, όπως αλκαλοειδή, τερπενοειδή και флаβονοειδή, που συμμετέχουν στην άμυνα κατά των παθογόνων καθώς και στην επικοινωνία με άλλους οργανισμούς. Αυτοί οι μεταβολίτες μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη φυσιολογία των φυτών και την ικανότητά τους να προσαρμόζονται σε αβιοτικούς παράγοντες [418, 419].

Ο φυτικός μεταβολισμός είναι ουσιαστικός για τη διατήρηση της ζωής στα φυτά, επιτρέποντας την ενεργειακή ισορροπία, την ανάπτυξη και την προσαρμογή σε μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι συνεχείς μελέτες στον τομέα αυτό προσφέρουν νέες γνώσεις και τεχνολογίες για τη βελτίωση της αγροτικής παραγωγής και την ανάπτυξη νέων βιοτεχνολογικών εφαρμογών.

8.2 Σκοπός μελέτης

Ο φυτικός μεταβολισμός είναι ουσιαστικός για τη διατήρηση της ζωής στα φυτά, επιτρέποντας την ενεργειακή ισορροπία, την ανάπτυξη και την προσαρμογή σε μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Ωστόσο, στη βιβλιογραφία υπάρχουν περιορισμένες μελέτες που διερευνούν τον τρόπο με τον οποίο το είδος της λίπανσης, βιολογικής ή ανόργανης, επηρεάζει τον μεταβολισμό των φυτών. Αντιθέτως, η επίδραση του στρες από αλατότητα στον φυτικό μεταβολισμό έχει μελετηθεί περισσότερο.

Η παρούσα έρευνα στοχεύει να εμπλουτίσει την επιστημονική βιβλιογραφία, εξετάζοντας την επίδραση διαφορετικών τύπων λίπανσης (βιολογικής και ανόργανης) και αλατότητας στον μεταβολισμό των φυτών τριγωνέλλας. Η ανάγκη αυτής της έρευνας είναι σημαντική, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερη κατανόηση και διαχείριση των γεωργικών πρακτικών, βελτιώνοντας την παραγωγικότητα και την ανθεκτικότητα των καλλιεργειών σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες.

Η καινοτομία της παρούσας έρευνας έγκειται στη λεπτομερή μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ τύπου λίπανσης και αλατότητας, κάτι που δεν έχει εξεταστεί επαρκώς μέχρι σήμερα. Τα αποτελέσματα της έρευνας αναμένεται να προσφέρουν νέες γνώσεις για την ενίσχυση του φυτικού μεταβολισμού μέσω βελτιστοποίησης των γεωργικών πρακτικών, συμβάλλοντας στην αειφόρο ανάπτυξη της γεωργίας.

8.3 Υλικά και μέθοδοι

8.3.1 Σχεδιασμός πειράματος

Το σχέδιο του πειράματος παρουσιάζεται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 2.2.2.

8.3.2 Ανάλυση μεταβολομικής χρωματογραφίας αερίων-ηλεκτρονικής πρόσκρουσης-φασματομετρίας μάζας (GC/EI/MS) τριγωνέλλας

8.3.2.1 Χημικές ουσίες και αντιδραστήρια

Η εκχύλιση των φυτικών μεταβολιτών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση οργανικών διαλυτών όπως οξικός αιθυλεστέρας (EtAc) και μεθανόλη (MeOH) (GC/MS grade, καθαρότητας 99,9%, Carlo Erba Reagents, val de Reuil, Γαλλία). Για την προετοιμασία των εκχυλισμάτων για τις αναλύσεις GC/EI/MS χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια μεθοξυλαμίνη (καθαρότητας 98%, w/w) και πυριδίνη (καθαρότητας 99,8%, v/v, Sigma-Aldrich Ltd., Steinheim, Γερμανία), και N-τριμεθυλσυλ-Ν-μεθυλ τριφθοροακεταμίδιο (MSTFA, Macherey and Nagel, Düren, Γερμανία). Η ριβιτόλη χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο διάλυμα, το οποίο χρησιμοποιείται σε αναλύσεις για πρωτογενών μεταβολιτών των φυτών της εταιρείας Sigma-Aldrich Ltd.

8.3.2.2 Δειγματοληψία και προετοιμασία φύλλων για μεταβολομική ανάλυση

Φρέσκα φύλλα τριγωνέλλας συλλέχθηκαν από όλες τις πειραματικές επεμβάσεις στις 110 ΗΑΣ. Συλλέχθηκαν δέκα (10) υγιή, πλήρως διογκωμένα φύλλα από πέντε φυτά και συνενώθηκαν προκειμένου να δημιουργηθεί ένα συγκεντρωμένο δείγμα. Συνολικά αναλυθήκαν τέσσερα συγκεντρωμένα δείγματα ανά επέμβαση. Τα κομμένα φύλλα συλλέχθηκαν και τοποθετήθηκαν σε σωλήνες φυγοκέντρησης (falcon) των 50 mL, οι οποίοι βυθίστηκαν αμέσως σε υγρό N₂ για να σταματήσουν όλες οι φυσιολογικές λειτουργίες του φυτού. Τα δείγματα κονιοποιήθηκαν σε λεπτή σκόνη σε γουδί, χρησιμοποιώντας γουδοχέρι κάτω από υγρό N₂, και στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους -80 °C. Ένα μέρος των κονιοποιημένων ιστών φύλλων (25 mg) τοποθετήθηκε σε σωλήνες Eppendorf (2 mL) και 1 mL μεθανόλης/οξικού αιθυλεστέρα (50:50, v/v) προστέθηκε για εκχύλιση. Το εκχύλισμα εμβολιάστηκε με ριβιτόλη (20μL, 0,2 mg ανά mL μεθανόλης), το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως

εσωτερικό πρότυπο. Τα εναιωρήματα που προέκυψαν υποβλήθηκαν σε υπέρηχους για 20 λεπτά σε λουτρό υπέρηχων (Branson 1210 Ultrasonic Cleaner, Marshall Scientific, Hampton, NH, USA), ακολουθούμενη από ανάδευση σε τροχιακό αναδευτήρα στις 200 rpm για 2 ώρες (Daihan Labtech Co., Ltd. Namyangju-si, Κορέα) στους 24 °C. Για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων, φιλτραρίστηκαν τα δείγματα χρησιμοποιώντας φίλτρα PTFE (πολυτετραφθοροαιθυλένιο) (25 mm Ø 0,2μm) (Macherey-Nagel GmbH και Co.KG, Düren, Γερμανία). Στη συνέχεια, τα εκχυλίσματα αυτά εξατμίστηκαν σε συμπυκνωτή κενού (Labconco, Kansas City, MO, ΗΠΑ) για να φτάσουν στο στάδιο της παραγωγοποίησης. Η παραγωγοποίηση πραγματοποιήθηκε σε μια διαδικασία δυο σταδίων χρησιμοποιώντας ένα διάλυμα υδροχλωρικής μεθοξυλαμίνης σε πυριδίνη (20 mg mL⁻¹) και MSTFA [420, 421]. Τα παραγωγοποιημένα εκχυλίσματα τελικά μεταφέρθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια (180μL) προς ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο-φασματομέτρο μάζας (GC-MS Agilent 19091S-433, Agilent Technologies Inc.).

8.3.2.3 Αναλύσεις αερίου χρωματογραφίας – κρούσης ηλεκτρονίων – φασματομετρίας μάζας (GC/EI/MS) και βιοπληροφορική ανάλυση

Η ανάλυση του πρωτογενούς και του δευτερογενούς μεταβολισμού πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το χρωματογράφο Agilent GC/EI/MS (Agilent 6890N, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA), ο οποίος είναι εξοπλισμένος με ανιχνευτή αδρανούς μάζας 5973 (MSD) και έναν αυτόματο δειγματολήπτη 7683. Οι ρυθμίσεις έχουν περιγραφεί σε προηγούμενες μελέτες [420, 421], χρησιμοποιήθηκαν με μικρές τροποποιήσεις. Ο ιονισμός ηλεκτρονίων ήταν θετικός (70 eV) και τα φάσματα μάζας αποκτήθηκαν στην περιοχή μάζας 50-800 Da, με ρυθμό σάρωσης 4 s⁻¹ και αρχική καθυστέρηση διαλύτη 10 λεπτών. Τα παραγωγοποιημένα δείγματα (1μL) εγχύθηκαν σε τριχοειδή στήλη HP-5MS (30 m, id 0,25 mm, και πάχος φιλμ 0,25μm—Agilent Technologies Inc.) με αναλογία διαχωρισμού 5:1. Η θερμοκρασία ρυθμίστηκε στους 230 °C και το ήλιο ήταν το φέρον αέριο (1 mL/min). Η θερμοκρασία του κλιβάνου ξεκίνησε στους 70 °C, παρέμεινε σταθερή για 5 λεπτά, και στη συνέχεια αυξήθηκε κατά 5 °C/min μέχρι να φτάσει στους 295 °C. Όλα τα πειραματικά γεγονότα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό MSD Chemstation (Agilent).

Για την ανάλυση των χρωματογραφημάτων ολικών ιόντων, χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό AMDIS έκδοση 2.66 (NIST - National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, ΗΠΑ) και η βάση δεδομένων μαζικής φασματομετρίας του Εθνικού Ινστιτούτου Προτύπων και Τεχνολογίας, NIST '08 (NIST, Gaithersburg, MD, ΗΠΑ). Η προεπεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού MS-Dial έκδοση 3.70.

8.3.3 Στατιστική ανάλυση

Βλέπε Κεφάλαιο 2.2.6.

8.4 Αποτελέσματα και συζήτηση

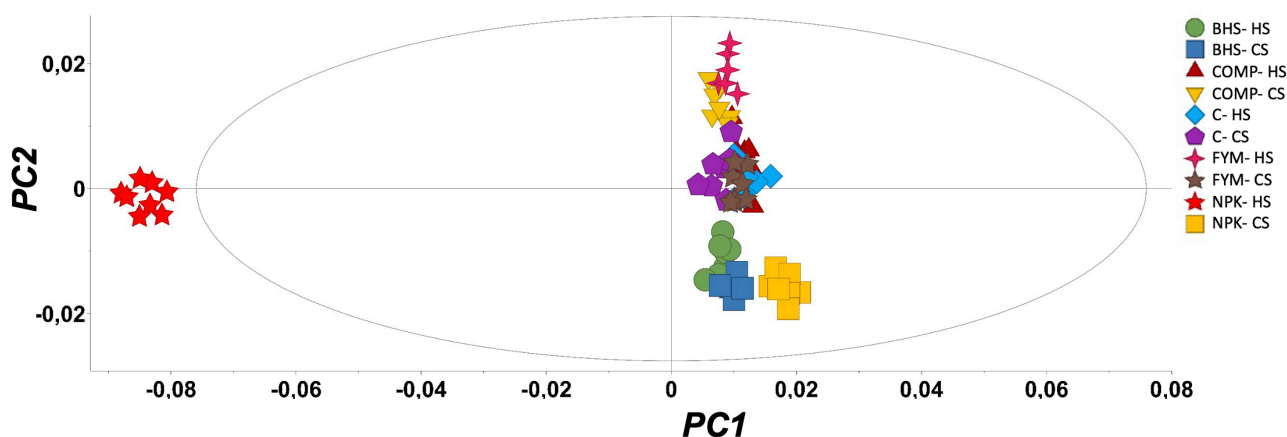
8.4.1 Γενική επισκόπηση μεταβολομικής ανάλυση GC/EI/MS

Η μεταβολομική ανάλυση GC/EI/MS που εφαρμόστηκε στόχευε στην καταγραφή πιθανών αλλαγών στο μεταβολισμό των φυτών τριγωνέλλας υπό τις διαφορετικές επεμβάσεις. Οι συνθήκες της ανάλυσης, το βιοαναλυτικό πρωτόκολλο εφαρμογής, οι ρυθμίσεις και οι παράμετροι της ενόργανης ανάλυσης με GC/EI/MS, σε συνδυασμό με τη βιοπληροφορική επεξεργασία των δεδομένων, συνέβαλαν στην επιτυχή κωδικοποίηση (*deconvolution*) των μεταβολιτών που απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν από το ενδο-μεταβόλωμα των φύλλων τριγωνέλλας προς ανάλυση. Το αποτέλεσμα ήταν η λήψη μεταβολομικών προφίλ με υψηλής ποιότητας χρωματογραφήματα.

Η μεταβολομική ανάλυση GC/EI/MS εφαρμόστηκε για να διερευνήσουμε τις πιθανές μεταβολικές αλλαγές στα φυτά τριγωνέλλας μετά από τις επεμβάσεις λίπανσης και αλατότητας. Η συγκεκριμένη μέθοδος επιτρέπει την κάλυψη ενός σημαντικού μέρους του μεταβόλωματος και χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογηθεί η επίδραση των επεμβάσεων στον μεταβολισμό των φυτών. Η GC/EI/MS αποτελεί μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μεταβολομική ανάλυση που μπορεί να καταγράψει προφίλ εκατοντάδων μεταβολιτών, οι οποίοι ταξινομούνται σε διάφορες χημικές κατηγορίες, όπως αμινοξέα, λιπαρά οξέα, καρβοξυλικά οξέα, υδατάνθρακες και σαπωνίνες. Η ύπαρξη βάσεων δεδομένων που περιέχουν φάσματα μάζας MS και MS/MS πολλών μεταβολιτών διευκολύνει την ταυτοποίηση τους, προσφέροντας επιπλέον δυναμική στην τεχνική.

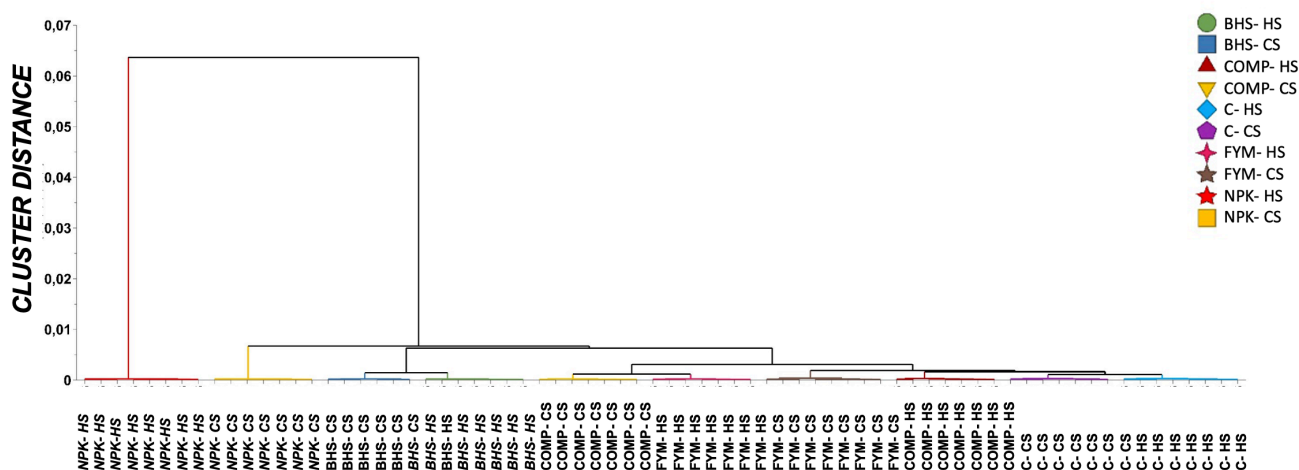
Η βιοπληροφορική ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι οι επεμβάσεις είχαν σημαντική επίδραση σε βασικούς μεταβολίτες των φυτών τριγωνέλλας, και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά στις επόμενες ενότητες. Από τα χρωματογραφήματα που επεξεργάστηκαν με μεθόδους βιοπληροφορικής μέσω του λογισμικού MS-Dial σε συνδυασμό με πολυπαραγοντική ανάλυση (PCA), προέκυψε μια στενή ομαδοποίηση σε όλες τις επαναλήψεις των επεμβάσεων (*replications*) στα διαφορετικά δείγματα των φύλλων τριγωνέλλας και δίχως ακραίες τιμές (*outliers*). Επιπλέον μέσω της OPLS-DA επετεύχθη η ανακάλυψη των τάσεων μεταξύ των επεμβάσεων αλλά και των μεταβολιτών-βιοσημαντών. Συγκεκριμένα καταγράφονται τα στατιστικά δεδομένα σε ομάδες και παρουσιάζονται οι τιμές των συντελεστών συσχέτισης $R^2X=73.8\%$, $R^2Y=91.9\%$ και της προγνωστικής ικανότητας του μοντέλου $Q^2cum=89.4\%$, οι οποίες επιβεβαιώνουν την επαναληψιμότητα στα καταγεγραμμένα μεταβολικά προφίλ των δειγμάτων. Η αξιοπιστία αυτών των τιμών εξαρτάται από την ομοιόμορφη και επιτυχή πειραματική μεταχείριση και επεξεργασία των δειγμάτων τριγωνέλλας που προορίζονται για μεταβολομική ανάλυση GC/EI/MS.

Σύμφωνα με το αντίστοιχο OPLS-DA scoreplot (Διάγραμμα 8-1), οι επεμβάσεις είχαν φανερή επίδραση στα μεταβολικά προφίλ των φυτών τριγωνέλλας, με την επέμβαση NPK- HS να ξεχωρίζει σημαντικά. Όλες οι υπόλοιπες επεμβάσεις σημειώνεται ότι δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Επιπλέον πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι στα OPLS-DA scoreplots, οι αποστάσεις μεταξύ των σημείων είναι ανάλογες με τις διαφορές των καταγεγραμμένων μεταβολικών προφίλ.



Διάγραμμα 8-1 OPLS-DA score plot για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/EI/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity). Η έλλειψη αντιπροσωπεύει το Hotelling's T2 σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%. PC: Κύριες Συνιστώσες, Principal Component.

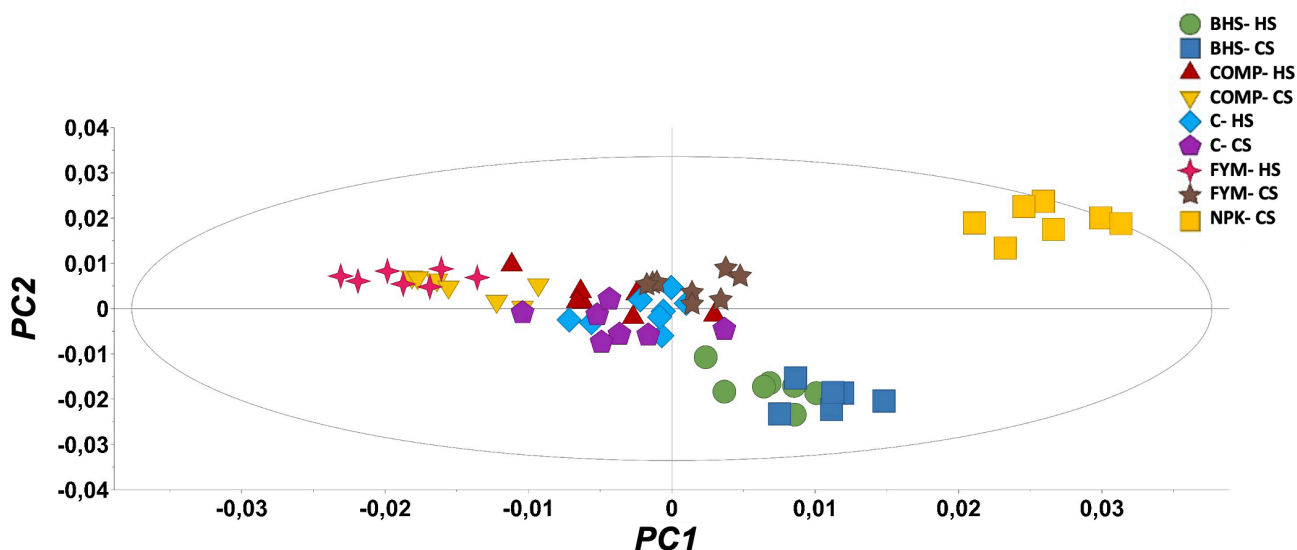
Εκτός από την OPLS-DA, εφαρμόστηκε και η ιεραρχική ανάλυση κατά συστάδες (HCA), με τα αποτελέσματα να συμφωνούν με αυτά της OPLS-DA. Το δενδροδιάγραμμα κατά συστάδες (HCA dendrogram) δείχνει καλό διαχωρισμό μεταξύ των επαναλήψεων, ανάλογα με τις επεμβάσεις (Διάγραμμα 8-2).



Διάγραμμα 8-2 Το δενδροδιάγραμμα ιεραρχικής ανάλυσης κατά συστάδες (Hierarchical Cluster Analysis, HCA dendrogram) για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/EI/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity).

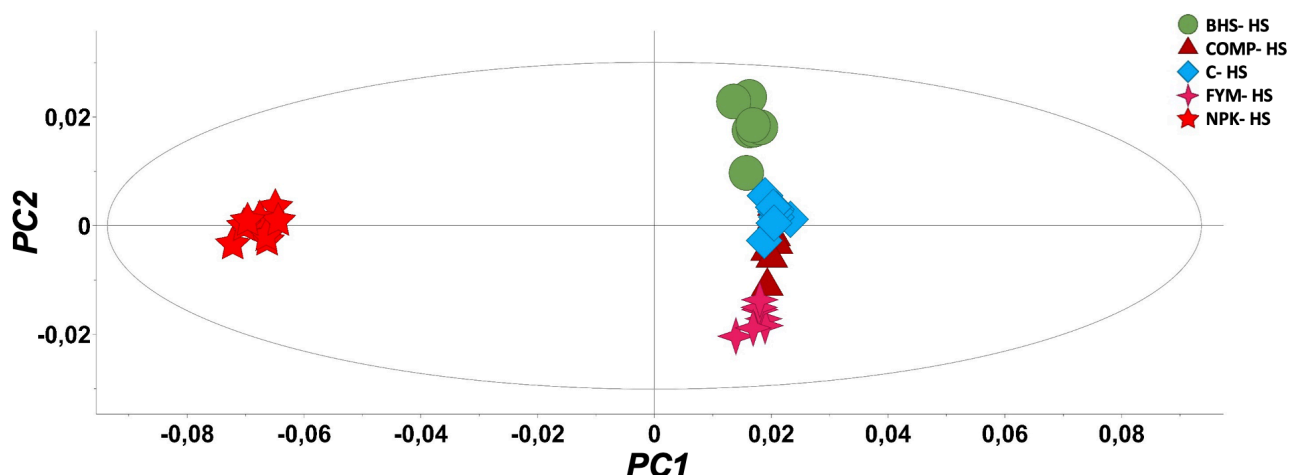
Επομένως, τα παραπάνω δεδομένα αποδεικνύουν σαφώς την επίδραση των βιοδραστικών παραγόντων στον μεταβολισμό των φυτών, αναδεικνύοντας την ευρεία δυναμική της μεταβολομικής ανάλυσης και τη δυνατότητα εφαρμογής της.

Στο Διάγραμμα 8-3 αφαιρέθηκε η τιμή NPK- HS, ωστόσο, η επέμβαση NPK εξακολουθεί να ξεχωρίζει σαφώς από τις άλλες επεμβάσεις. Το διάγραμμα αυτό δείχνει ότι η επέμβαση NPK, ακόμη και με την αφαίρεση της τιμής NPK-HS, συνεχίζει να διακρίνεται, υποδηλώνοντας ότι έχει διαφορετική επίδραση στο μεταβολικό προφίλ των φυτών τριγωνέλλας σε σύγκριση με τις άλλες επεμβάσεις λίπανσης.



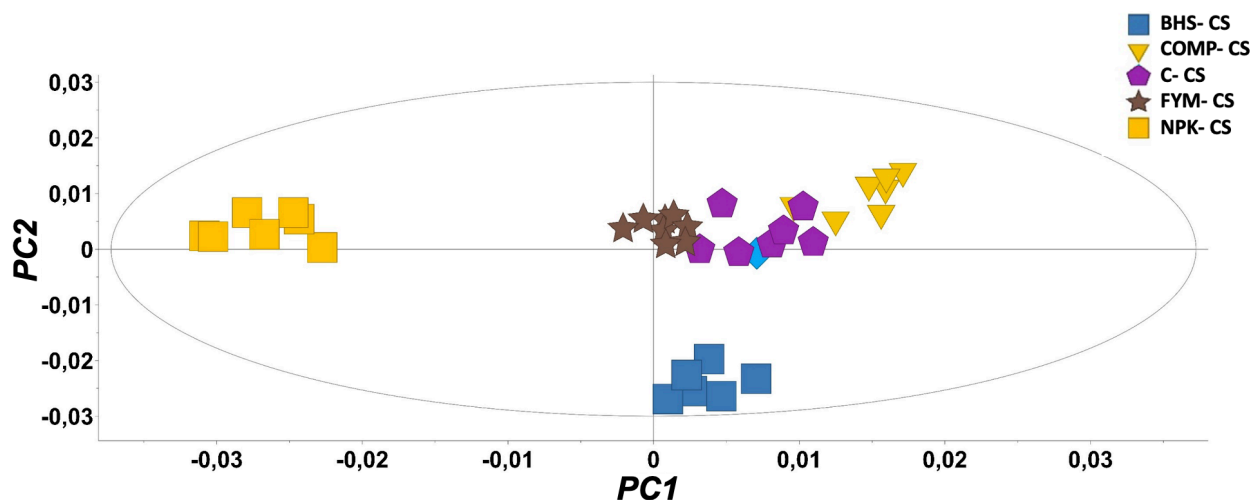
Διάγραμμα 8-3 OPLS-DA score plot για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/EI/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity). Η έλλειψη αντιπροσωπεύει το Hotelling's T2 σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%. PC: Κύριες Συνιστώσες, Principal Component.

Το Διάγραμμα 8-4 υποδηλώνει ότι υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας, υπάρχει μια σαφής διαφοροποίηση στο μεταβολικό προφίλ των φυτών τριγωνέλλας μεταξύ βιολογικών και ανόργανων λιπασμάτων, με τα βιολογικά λιπάσματα να παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά, ενώ η επέμβαση NPK να διαφέρει σημαντικά.



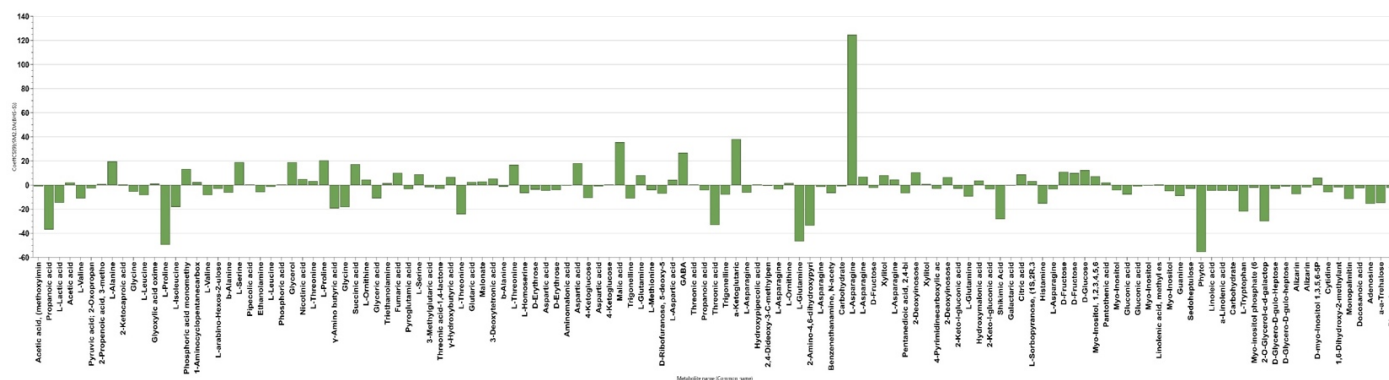
Διάγραμμα 8-4 OPLS-DA score plot για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/EI/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και την επέμβαση HS: high salinity. Η έλλειψη αντιπροσωπεύει το Hotelling's T2 σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%. PC: Κύριες Συνιστώσες, Principal Component.

Το Διάγραμμα 8-5 δείχνει ότι υπό συμβατικές συνθήκες αλατότητας, οι επεμβάσεις λίπανσης παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις στα μεταβολικά προφίλ των φυτών τριγωνέλλας, με τις επεμβάσεις NPK και BHS να ξεχωρίζουν σαφώς από τις άλλες.



Διάγραμμα 8-5 OPLS-DA score plot για το διαχωρισμό των μεταβολικών προφίλ φυτών τριγωνέλλας μέσω GC/El/MS για τις επεμβάσεις λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και την επέμβαση CS: conventional salinity. Η έλλειψη αντιπροσωπεύει το Hotelling's T2 σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%. PC: Κύριες Συνιστώσες, Principal Component.

Το VIP plot είναι χρήσιμο για την κατανόηση των μεταβολιτών που έχουν τη μεγαλύτερη επίδραση στην ανάλυση και μπορεί να κατευθύνει περαιτέρω έρευνες προς αυτούς τους σημαντικούς μεταβολίτες. Οι μεταβολίτες με υψηλές τιμές VIP είναι οι πιο σημαντικοί για το μοντέλο και συμβάλλουν περισσότερο στη διαφοροποίηση των δειγμάτων (Διάγραμμα 8-6). Ορισμένοι μεταβολίτες δείχνουν πολύ υψηλές τιμές VIP, υποδεικνύοντας ότι είναι κρίσιμοι για την ανάλυση. Βάσει του διαγράμματος αυτού, επιλέχθηκαν οι μεταβολίτες που παρουσιάζουν υψηλές τιμές VIP και εξετάζονται αναλυτικά παρακάτω για να κατανοηθεί η επίδραση του είδους της λίπανσης και των επιπέδων αλατότητας σε αυτούς.



Διάγραμμα 8-6 Vip plot των μεταβολιτών των φυτών τριγωνέλλας.

8.4.2 Επίδραση παραγόντων στην περιεκτικότητα των φύλλων τριγωνέλλας σε επιλεγμένους μεταβολίτες

Ένα από τα βασικά σημεία του κεφαλαίου είναι η αξιολόγηση των επεμβάσεων λίπανσης και αλατότητας στην περιεκτικότητα των μεταβολιτών της τριγωνέλλας, όπως ταυτοποιήθηκαν από την μεταβολομική ανάλυση GC/EI/MS.

Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στις μεταβολές των επιπέδων των μεταβολιτών που είναι σημαντικοί για το φυτό, καθώς λειτουργούν ως σηματοδοτικά μόρια, συμμετέχοντας στην άμυνα των φυτών και σε διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες. Η μελέτη εστιάστηκε κυρίως στις ομάδες μεταβολιτών όπως τα αμινοξέα, τα λιπαρά οξέα, τα καρβοξυλικά οξέα και οι υδατάνθρακες.

Μεταξύ όλων αυτών των μεταβολιτών που συνάδουν σε αυτά τα συμπεράσματα περιλαμβάνονται οι α-α-Trehalose (τρεχαλόζη), Myo-Inositol (μυο-ινοσιτόλη), b-Alanine, Glycine, L-Alanine, L-Asparagine, L-Aspartic acid, L-Glutamic acid, L-Glutamine, L-Homoserine, L-Isoleucine, L-Leucine, L-Methionine, L-Proline, L-Serine, L-Threonine, L-Tryptophan, L-Valine, Adenosine, a-Linolenic acid, Ascorbic acid, Histamine, Niacin, Pantothenic acid, Traumatic acid, (E)-, Trigonelline, Uridine, Citric acid, (φουμαρικό οξύ) Fumaric acid, Malic acid, και Shikimic Acid.

8.4.2.1 Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στο μεταβολισμό των φυτών, χρησιμεύοντας ως πρωτογενείς πηγές ενέργειας και δομικά συστατικά. Παράγονται κατά τη φωτοσύνθεση και είναι απαραίτητα για την κυτταρική αναπνοή και την ανάπτυξη [422]. Οι υδατάνθρακες λειτουργούν επίσης ως μόρια σηματοδότησης και εμπλέκονται στη σύνθεση άλλων βασικών βιομορίων [423]. Στα φυτά, ο δισακχαρίτης τρεχαλόζη έχει ποικίλες λειτουργίες και διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο σε διάφορα στάδια ανάπτυξης, όπως για παράδειγμα στον σχηματισμό του εμβρύου και στην ανθοφορία. Ο δισακχαρίτης τρεχαλόζη φαίνεται επίσης να εμπλέκεται στη ρύθμιση του μεταβολισμού του άνθρακα και της φωτοσύνθεσης. Πρόσφατα ανακαλύφθηκε ότι αυτό το σάκχαρο έχει σημαντικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις φυτών και μικροοργανισμών [424]. Ο δισακχαρίτης τρεχαλόζη δρα ως χημικός συνοδός και μεταβολίτης για την πρόληψη της ακετυλίωσης και της γλυκοζυλίωσης της πρωτεΐνης υπό το στρες ξήρανσης. Η υψηλή γλυκόζη στα βακτηριακά κύτταρα οδηγεί σε ακετυλιωμένα συσσωματώματα, υαλοποίηση και προηγμένη γλυκοζυλίωση τελικά προϊόντα για σχηματισμό σταυροειδών δεσμών των πρωτεϊνών [425].

Στην καλλιέργεια τριγωνέλλας, τα επίπεδα του δισακχαρίτη τρεχαλόζη επηρεάστηκαν σημαντικά από το είδος της λίπανσης και τα επίπεδα αλατότητας (Διάγραμμα 8-7), και τα υψηλότερα επίπεδα του δισακχαρίτη τρεχαλόζη καταγράφονται στην επέμβαση NPK-HS (Διάγραμμα 8-7). Τα επίπεδα τρεχαλόζης ήταν υψηλότερα στις επεμβάσεις με υψηλή αλατότητα σε σύγκριση με την συμβατική αλατότητα που συναντάμε στο έδαφος.

Όμοια αποτελέσματα κατέγραψαν και οι Fougere *et al.* όπου μεταξύ των λιγότερο άφθονων υδατανθράκων, οι συγκεντρώσεις μαλτόζης και τρεχαλόζης αυξήθηκαν σημαντικά από τη μεταχείριση με αλάτι, ιδίως στις ρίζες

μηδικής [426]. Ωστόσο, στα βακτηριοειδή της μηδικής η συγκέντρωση της τρεχαλόζης ήταν πολύ χαμηλή για να συμβάλει αποτελεσματικά στην οσμωρύθμιση [426]. Αντίθετα, η τρεχαλόζη στα φύλλα τριγωνέλλας φαίνεται να είναι σε υψηλή συγκέντρωση. Ωστόσο ο συνδυασμός ανόργανης λίπανσης και υψηλής αλατότητας οδήγησαν στην υψηλότερη συγκέντρωση τρεχαλόζης στην καλλιέργεια τριγωνέλλας. Η υψηλή συσσώρευση τρεχαλόζης στα βακτηριοειδή κατά τη διάρκεια της όζωσης προστατεύει τα κύτταρα και τις πρωτεΐνες από το οσμωτικό σοκ, την αποξήρανση και τη θερμότητα υπό το στρες ξηρασίας [427]. Επίσης, άλλοι μηχανισμοί οσμωτικής προσαρμογής, όταν τα φυμάτια εκτίθενται σε αλατούχο στρες, είναι μέσω της παραγωγής, της μεταφοράς και του διαχωρισμού συμβατών διαλυτών ουσιών ή τη σύνθεση και διακυτταρική συσσώρευση άλλων οργανικών ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους (οσμολύτες) [428]. Οι οσμολύτες οδηγούν σε οσμωτική προσαρμογή [94], συμπεριλαμβανομένης της υψηλότερης ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης υδατανθράκων [429]. Αυτός ο μηχανισμός επέδρασε και στην καλλιέργεια τριγωνέλλας και η καλλιέργεια αποδείχτηκε ανθεκτική στην καταπόνηση αλατότητας.

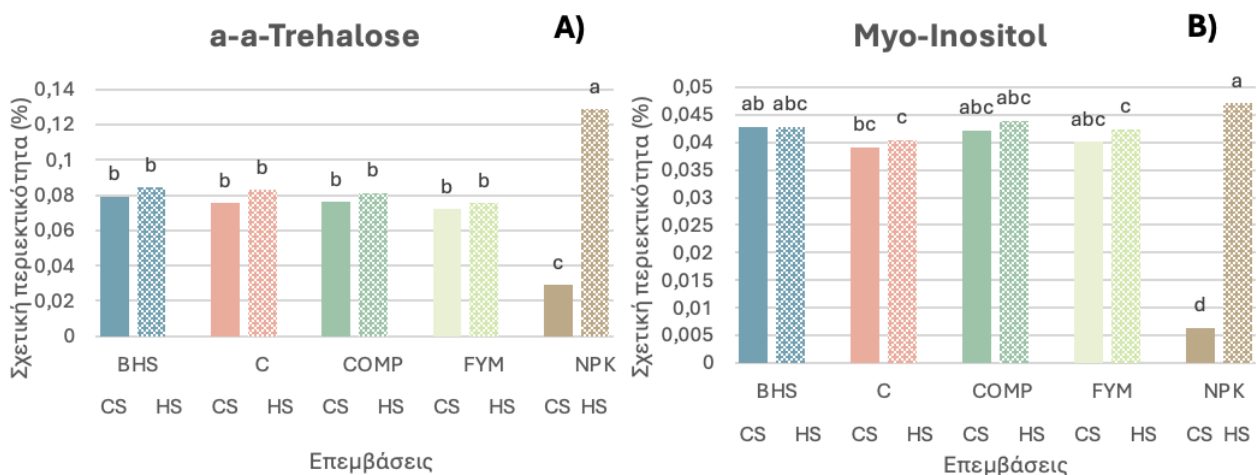
Στους ανθρώπους, η τρεχαλόζη έχει δείξει πολλά υποσχόμενα οφέλη για την υγεία, καθώς δρα ως ισχυρό αντιοξειδωτικό, προστατεύοντας τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες και τις βλάβες. Αυτό το σάκχαρο εμπλέκεται επίσης στην αυτοφαγία, μια διαδικασία που βοηθά στην απομάκρυνση των κατεστραμμένων κυττάρων και στη διατήρηση της κυτταρικής υγείας. Η ικανότητα της τρεχαλόζης να προκαλεί αυτοφαγία έχει πιθανές θεραπευτικές επιπτώσεις στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως το Huntington και το Parkinson, καθώς βοηθάει στην απομάκρυνση των επιβλαβών πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων που σχετίζονται με αυτές τις καταστάσεις [430].

Η τρεχαλόζη χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων για τις σταθεροποιητικές της ιδιότητες, συμβάλλοντας στη διατήρηση της υφής και της φρεσκάδας των προϊόντων διατροφής [431]. Έχει επίσης εφαρμογές στα φαρμακευτικά προϊόντα, όπου μπορεί να σταθεροποιήσει εμβόλια και άλλα βιολογικά προϊόντα χωρίς την ανάγκη αποθήκευσης σε ψύξη, δυνητικά μειώνοντας το κόστος και βελτιώνοντας την προσβασιμότητα [432].

Η μυο-ινοσιτόλη εμπλέκεται στην αποθήκευση φωσφορικών αλάτων στους σπόρους με τη μορφή εξαφωσφορικής ινοσιτόλης, η οποία είναι απαραίτητη για τη βλάστηση των σπόρων και την πρώιμη ανάπτυξη των φυταρίων [86]. Επιπλέον, είναι πρόδρομος για τη σύνθεση πολυσακχαριτών του κυτταρικού τοιχώματος, συμβάλλοντας στο σχηματισμό και τη δομική ακεραιότητα του φυτικού κυτταρικού τοιχώματος [433]. Η ινοσιτόλη έχει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά και αποθήκευση φυτικών ορμονών, που ρυθμίζουν διάφορες πτυχές της ανάπτυξης των φυτών [434]. Η μυο-ινοσιτόλη παράγει μια ποικιλία παραγώγων, όπως η φωσφατιδυλινοσιτόλη, η πινιτόλη, γαλακτινόλη, bornesitol, και πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος που παρουσιάζουν διαφοροποιημένες λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένων των δομικών λιπιδίων των μεμβρανών, της κυτταρικής σηματοδότησης και της ανοχής των κυττάρων στο στρες [435]. Η μυο-ινοσιτόλη και τα παράγωγά της βοηθούν τα φυτά να αντιμετωπίσουν αβιοτικές πιέσεις, όπως η αλατότητα και η ξηρασία,

διατηρώντας την οσμωτική ισορροπία και προστατεύοντας τις κυτταρικές δομές από οξειδωτική βλάβη με τη σάρωση των ενεργών ειδών οξυγόνου [434, 436].

Τα επίπεδα μυο-ινοσιτόλης επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης και την αλατότητα στα φύλλα τριγωνέλλας (Διάγραμμα 8-7). Στην καλλιέργεια τριγωνέλλας, τα επίπεδα μυο-ινοσιτόλης ήταν υψηλότερα στην επέμβαση υψηλής αλατότητας. Η μικρότερη και η μεγαλύτερη σχετική περιεκτικότητα μυο-ινοσιτόλης καταγράφηκε με την επέμβαση NPK. Ο συνδυασμός NPK-HS παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές σχετικής περιεκτικότητας μυο-ινοσιτόλης στην καλλιέργεια τριγωνέλλας. Στις βιολογικές λιπάνσεις παρατηρείται ότι τα επίπεδα συγκέντρωσης μυο-ινοσιτόλης δεν είχαν μεγάλες διακυμάνσεις μεταξύ των δύο επιπέδων αλατότητας. Στην επέμβαση NPK διακρίνονται σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο διαφορετικών επιπέδων αλατότητας, γεγονός που δηλώνει ότι το φυτό στρεσαρίστηκε περισσότερο στον συνδυασμό υψηλής αλατότητας και ανόργανης λίπανσης. Τα αποτελέσματά μας είναι σύμφωνα σε σπορόφυτα ακτινιδίου, φυτάρια ελιάς και μηδική τα οποία εκτέθηκαν σε αλάτι, κρύο, ή ξηρασία και η συσσώρευση μυο-ινοσιτόλη αυξήθηκε σημαντικά, η οποία θα μπορούσε να είναι μια σημαντική προσαρμοστική απόκριση στο αβιοτικό στρες [437-439]. Όταν εκτίθενται σε στρες από αλατότητα, τα φυτά παράγουν μεγάλες ποσότητες σακχάρων και σακχαροαλκοολών για τη σταθεροποίηση της κυτταρικής μεμβράνης και την προστασία της δομής των πρωτεϊνών από αποδιάταξη και συσσωμάτωση. Μειώνουν επίσης τη ζημιά από το στρες βοηθώντας στη διαδικασία ανάπτυξης, την αδρανοποίηση των ROS, τη διατήρηση της κυτταρικής σπαργής και την απομόνωση των ιόντων νατρίου [440]. Μεταξύ των σακχάρων, η γαλακτόζη, η σακχαρόζη και η τρεχαλόζη αυξήθηκαν κάθε φορά που μετρήθηκαν μετά την επαγωγή του στρες από αλατότητα. Όπως σημείωσε ο Li *et al.* [441], η γαλακτόζη αυξήθηκε κατά 1.95 φορές στις ρίζες στρεσαρισμένης G. Soja, ενώ η σακχαρόζη αυξήθηκε κατά 1.21 φορές στους Kempa *et al.* [442].



Διάγραμμα 8-7 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα a-a-Trehalose (A) και Myo-Inositol (B) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$.

8.4.2.2 Κύκλος Krebs

Ο κύκλος του Krebs είναι ζωτικής σημασίας για τα φυτά επειδή παράγει το ATP, το νόμισμα της πρωτογενούς ενέργειας, και παρέχει τα ενδιάμεσα για βιοσυνθετικά μονοπάτια που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη και το μεταβολισμό των φυτών [443]. Ο κύκλος φαίνεται να επηρεάζεται από περιβαλλοντικές πιέσεις όπως είναι οι υψηλές θερμοκρασίες και η υψηλή αλατότητα. Οι Torre-González *et al.* κατέγραψαν ότι η επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στα ένζυμα του κύκλου TCA εξαρτάται από την ποικιλία και ότι η αυξημένη δραστηριότητα των ενζύμων του κύκλου TCA συμβάλλει στην αντοχή από καταπόνηση αλατότητας [444]. Επιπρόσθετα, τα οργανικά οξέα που συμμετέχουν στον κύκλο επηρεάζονται από τα χαρακτηριστικά των διαφόρων ποικιλιών, τα φυσικά περιβάλλοντα παραγωγής και τη διαχείριση της καλλιέργειας [445].

Το κιτρικό οξύ έχει κεντρικό ρόλο στο μεταβολισμό των φυτών μέσω της εμπλοκής του στον ομώνυμο κύκλο, και είναι ζωτικής σημασίας για την παραγωγή ενέργειας, καθώς μετατρέπει το ακετυλο-CoA σε ATP, το οποίο παρέχει ενέργεια για διάφορες κυτταρικές διεργασίες [446]. Επιπλέον, το κιτρικό οξύ δρα ως ενδιάμεσο στη σύνθεση αρκετών βασικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των αμινοξέων και των δευτερογενών μεταβολιτών [447]. Επίσης, βοηθάει στη ρύθμιση του pH, στο κυτταρόπλασμα και το κενοτόπιο, βοηθώντας σε διάφορες βιοχημικές διεργασίες και βελτιώνοντας την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών [448]. Επιπλέον, λειτουργεί ως βασικό ενδιάμεσο που βοηθά στη συνέχιση του κύκλου, διευκολύνοντας την παραγωγή οργανικών μορίων υψηλής ενέργειας (NADH και FADH₂) και CO₂ [449].

Οι αβιοτικές καταπονήσεις προκαλούν πολύπλοκες αποκρίσεις στα φυτά που περιλαμβάνουν ποικίλα γεγονότα σηματοδότησης, φυσιολογικές προσαρμογές και ενεργοποίηση μηχανισμών άμυνας, τα οποία μαζί έχουν ως αποτέλεσμα αλλαγές στη βιοσύνθεση, τη μεταφορά και την αποθήκευση πολλών πρωτογενών και δευτερογενών μεταβολιτών. Ποικίλα πειράματα έχουν δείξει ότι οι αβιοτικές καταπονήσεις όπως η έκθεση σε υψηλή αλατότητα, υψηλές θερμοκρασίες ή/και βαρέα μέταλλα επηρεάζουν τα ενδογενή επίπεδα κιτρικού οξέος στα φυτά. Σε ορισμένα είδη φυτών, όπως ο *Helianthus annuus* (ηλίανθος), το *Solanum lycopersicum* (ντομάτα), η *Acacia ampliceps* και το *Trigonella foenum-graecum*, η συγκέντρωση κιτρικού οξέος αυξήθηκε μετά από 7 ημέρες έως 4 εβδομάδες έκθεσης σε αλατότητα [350, 450-452]. Αυτό επιβεβαιώνεται και στο πείραμά μας όπου τα επίπεδα κιτρικού οξέος στα φυτά τριγωνέλλας αυξήθηκαν σημαντικά από την καταπόνηση αλατότητας. Στην επέμβαση BHS (CS και HS) η σχετική περιεκτικότητα σε κιτρικό οξύ είναι ίδια, περίπου στο 0.0015%, και είναι σημαντικά υψηλότερη από άλλες επεμβάσεις εκτός της επέμβασης NPK-HS. Ο συνδυασμός NPK-HS παρουσίασε τη μεγαλύτερη σχετική περιεκτικότητα σε κιτρικό οξύ, ενώ ο συνδυασμός των επεμβάσεων NPK-CS κατλεγραψε τη χαμηλότερη στα φύλλα τριγωνέλλας. Στην επέμβαση NPK παρατηρείται σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο διαφορετικών επιπέδων αλατότητας, γεγονός που υποδηλώνει ότι το φυτό υπέστη μεγαλύτερο στρες στον συνδυασμό υψηλής αλατότητας και ανόργανης λίπανσης στην καλλιέργεια τριγωνέλλας.

Οι Wang *et al.* σημείωσαν ότι οι οργανικές λιπάνσεις θα μπορούσαν να προωθήσουν τη μετατροπή του κιτρικού οξέος σε μηλικό οξύ στον κύκλο TCA [453]. Το κιτρικό οξύ έχει προστατευτικό ρόλο δεσμεύοντας την

περίσσεια ιόντων και μετριάζοντας τις τοξικές επιδράσεις της αλατότητας. Επιπλέον, η εξωγενής εφαρμογή του κιτρικού οξέος έχει αποδειχθεί ότι βοηθάει στη σταθεροποίηση των πρωτεϊνών και των μεμβρανών υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας [447]. Στο πείραμά μας, σε συνθήκες συμβατικής αλατότητας σημειώνεται η μεγαλύτερη σχετική περιεκτικότητα κιτρικού οξέος στις βιολογικές λιπάνσεις σε σύγκριση με την ανόργανη λίπανση. Η συγκέντρωση κιτρικού οξέος σημειώθηκε μεγαλύτερη στην ανόργανη λίπανση σε συνθήκες υψηλής αλατότητας. Αυτό το αποτέλεσμα είναι όμοια με τους Kilic *et al.* σε καλλιέργεια φράουλας [454].

Ένα ακόμη οργανικό οξύ που καταγράφηκε στα φύλλα τριγωνέλλας είναι το φουμαρικό οξύ. Ο κύκλος TCA, συμπεριλαμβανομένου του ρόλου του φουμαρικού οξέος, είναι κρίσιμος στις αποκρίσεις στρες των φυτών. Υπό συνθήκες στρες όπως ξηρασία ή αλατότητα, η ρύθμιση των επιπέδων του φουμαρικού οξέος μπορεί να βοηθήσει στη διατήρηση της κυτταρικής ενεργειακής ισορροπίας και της μεταβολικής ροής, βοηθώντας στην επιβίωση και την προσαρμογή των φυτών. Το φουμαρικό οξύ διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στο μεταβολισμό των φυτών καθώς συμβάλλει στη διατήρηση του κυτταρικού pH, αντιπροσωπεύοντας μια παροδική μορφή αποθήκευσης του δεσμευμένου άνθρακα και ενδεχομένως μεσολαβώντας στο άνοιγμα των στομάτων [455, 456]. Επίσης, το φουμαρικό οξύ παρέχει σκελετούς άνθρακα απαραίτητους για τη σύνθεση άλλων οργανικών μορίων. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό σε συνθήκες στρες, όταν η ζήτηση για μεταβολικά ενδιάμεσα αυξάνεται για να υποστηρίξει τις αντιδράσεις στο στρες και τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης [455]. Οι παραπάνω μηχανισμοί ενεργοποιήθηκαν και στην καλλιέργεια τριγωνέλλας υπό οσμωτική καταπόνηση και για αυτό αυξήθηκε η σχετική περιεκτικότητα στις επεμβάσεις υψηλής αλατότητας.

Το Διάγραμμα 8-8 παρουσιάζει ότι η σχετική περιεκτικότητα σε φουμαρικό οξύ (%) επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά υπό διαφορετικές επεμβάσεις λίπανσης και επίπεδα αλατότητας. Η υψηλότερη περιεκτικότητα παρατηρείται στην επέμβαση COMP-HS υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας, ενώ η χαμηλότερη παρατηρείται στην επέμβαση NPK-CS. Στην επέμβαση BHS, η σχετική περιεκτικότητα σε φουμαρικό οξύ είναι περίπου στο 0.010% και 0.011% σε CS και HS αντίστοιχα και δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Το μηλικό οξύ είναι ένα σημαντικό ενδιάμεσο στον κύκλο του τρικαρβοξυλικού οξέος. Κατά τη διάρκεια του κύκλου, το μηλικό μετατρέπεται σε οξαλοξικό από το ένζυμο μηλική αφυδρογονάση, παράγοντας NADH. Το NADH χρησιμοποιείται στη συνέχεια στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων για τη δημιουργία ATP, του πρωτογενούς φορέα ενέργειας στα κύτταρα [443].

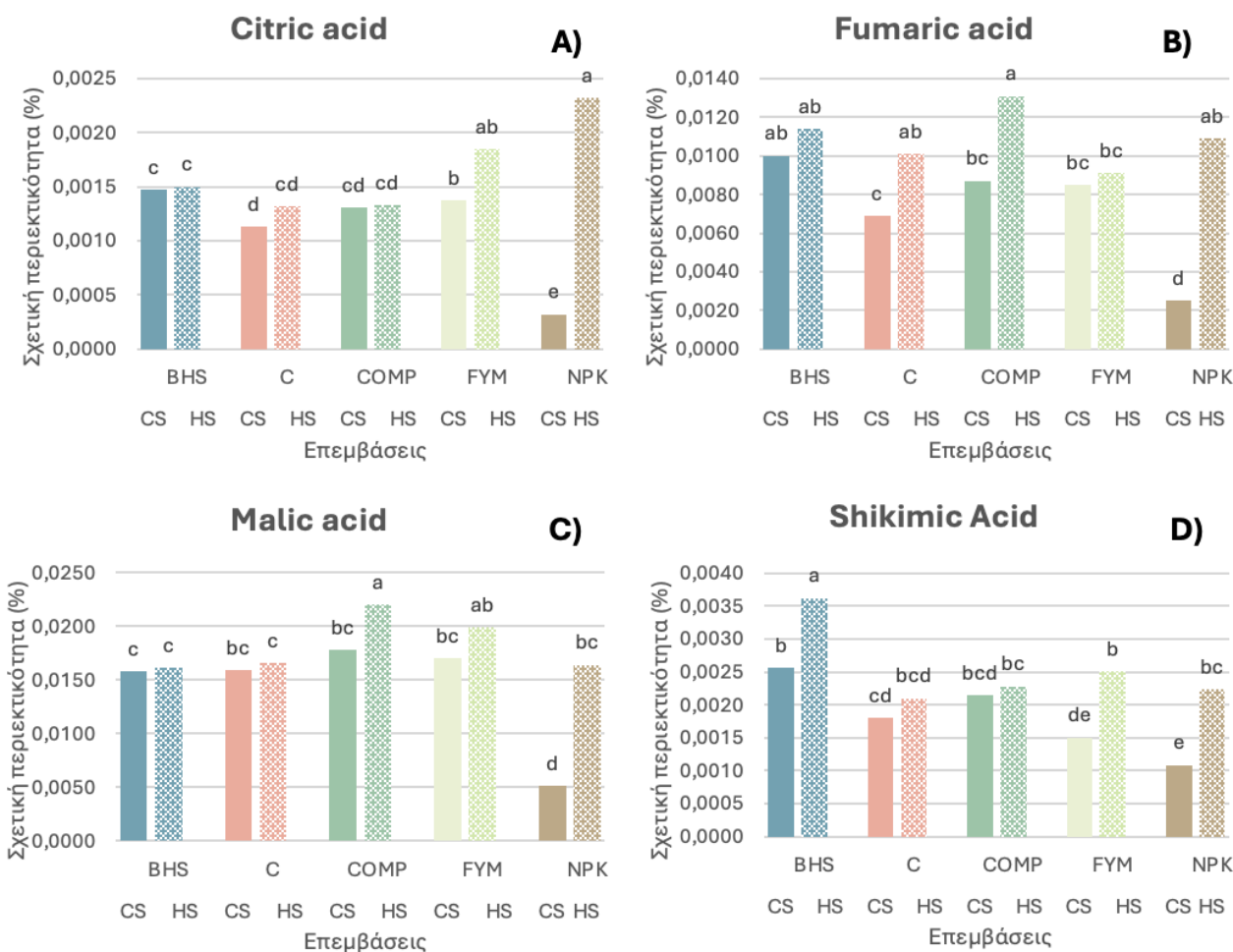
Στην καλλιέργεια τριγωνέλλας, η σχετική περιεκτικότητα επηρεάστηκε σημαντικά από το είδος της λίπανσης και τα επίπεδα αλατότητας. Το Διάγραμμα 8-8 παρουσιάζει ότι στις επεμβάσεις BHS (CS και HS) η σχετική περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ είναι σταθερή περίπου ίση με 0.015%, και δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο επιπέδων αλατότητας. Στην επέμβαση C, σημειώθηκε μια ελαφρώς χαμηλότερη περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ για την κατάσταση CS και για την κατάσταση HS περίπου 0.016%, όμως δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά. Στην επέμβαση COMP παρατηρείται η υψηλότερη περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ στην κατάσταση HS, περίπου ίση στο 0.020%. Στην επέμβαση NPK, η επέμβαση CS παρουσιάζει τη χαμηλότερη περιεκτικότητα.

Σε όλες τις επεμβάσεις, η συγκέντρωση μηλικού οξέος ήταν υψηλότερη σε συνθήκες υψηλής αλατότητας στα φύλλα τριγωνέλλας. Αυτό επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι το μηλικό οξύ δρα ως οσμολύτης, συμβάλλοντας στη διατήρηση της οσμωτικής ισορροπίας στα φυτικά κύτταρα. Αυτός ο ρόλος είναι που βοηθά τα κύτταρα να συγκρατούν το νερό και να διατηρούν την πίεση του στρεβλώματος, προστατεύοντας έτσι τις κυτταρικές δομές από το οσμωτικό στρες. Ένας ακόμα σημαντικός ρόλος του μηλικού οξέος που προάγει την ισορροπία οξειδοαναγωγής μεταξύ των οργανιδίων είναι ότι συμμετέχει στη μετακίνηση των αναγωγικών ισοδυνάμων, συμβάλλοντας στη διατήρηση των αναλογιών NADH/NAD⁺ και NADPH/NADP⁺, οι οποίες είναι κρίσιμες για διάφορες βιοσυνθετικές οδούς και οδούς απόκρισης στο στρες. Αντίθετα, σε καλλιέργεια τομάτας Cherry η περιεκτικότητα σε κιτρικό οξύ και μηλικό οξύ παρέμεινε ίση ή μειώθηκε ελαφρώς [457]. Αυτό δείχνει ότι η συνολική ποσότητα του κιτρικού και του μηλικού οξέος δεν ήταν υπεύθυνη για την αύξηση της οξύτητας και υποδεικνύει ότι η περιεκτικότητα των αντίρροπων κατιόντων (μεταλλικά ιόντα, αμίνες κ.λπ.) μπορεί να μειωθεί [457].

Η οδός σικιμικού οξέος οδηγεί στην παραγωγή τριών βασικών αρωματικών αμινοξέων: τρυπτοφάνης, φαινυλαλανίνης και τυροσίνης. Αυτά τα αμινοξέα είναι ζωτικής σημασίας για τη σύνθεση πρωτεϊνών και χρησιμεύουν ως πρόδρομοι για πολλούς δευτερογενείς μεταβολίτες, συμπεριλαμβανομένων των αλκαλοειδών, των φλαβονοειδών και της λιγνίνης. Αυτές οι ενώσεις παίζουν κρίσιμους ρόλους στη δομή των φυτών και τους αμυντικούς μηχανισμούς [458, 459]. Επιπλέον, δευτερογενείς μεταβολίτες που προέρχονται από το μονοπάτι σικιμικού μπορούν να λειτουργήσουν ως μόρια σηματοδότησης και να παίξουν ρόλο στη ρύθμιση της ανάπτυξης των φυτών και στις αντιδράσεις στο στρες [459]. Η οδός σικιμικού είναι αναπόσπαστο μέρος της απόκρισης του φυτού σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Οι ενώσεις που προέρχονται από το σικιμικό οξύ βοηθούν τα φυτά να προσαρμοστούν στις περιβαλλοντικές πιέσεις ενισχύοντας τους αμυντικούς μηχανισμούς τους. Για παράδειγμα, οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να ενισχύσουν τα κυτταρικά τοιχώματα, με αποτέλεσμα να τα καθιστούν πιο ανθεκτικά στην εισβολή παθογόνων και στη σωματική βλάβη. Υπό το στρες της αλατότητας, η τριγωνέλλα παρουσίασε αύξηση της περιεκτικότητας σε σικιμικό οξύ. Η έρευνα δείχνει ότι η έκθεση στην αλατότητα έχει ως αποτέλεσμα σημαντικές διακυμάνσεις στα επίπεδα σικιμικού οξέος, με υψηλότερες συγκεντρώσεις να παρατηρούνται ως απόκριση στην επεξεργασία με αλάτι. Συγκεκριμένα, σε συνθήκες με 75 και 150 mM NaCl, η περιεκτικότητα σε σικιμικό οξύ στα φυτά τριγωνέλλας αυξήθηκε από 0.487 mg g⁻¹ ξηρού βάρους (DW) στα φυτά ελέγχου σε μεταξύ 0.553 και 0.589 mg g⁻¹ DW. Αυτή η αύξηση του σικιμικού οξέος υπό το στρες αλατότητας είναι μέρος της ευρύτερης μεταβολικής προσαρμογής του φυτού για την αντιμετώπιση δυσμενών περιβαλλοντικών συνθηκών, βελτιώνοντας τους αμυντικούς μηχανισμούς και τη συνολική ανθεκτικότητα στο στρες [460]. Αυτό επιβεβαιώνεται και στο πείραμά μας. Στην καλλιέργεια τριγωνέλλας, η υψηλότερη περιεκτικότητα παρατηρείται στην επέμβαση BHS-HS, ενώ η χαμηλότερη παρατηρείται στην επέμβαση NPK-HS (Διάγραμμα 8-8).

Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν την παρουσία διαφορετικών αμυντικών μηχανισμών που είναι υπεύθυνοι για τις αντιδράσεις των φυτών στις πιέσεις αλατότητας. Η αυξημένη συγκέντρωση οργανικών οξέων και η

αυξημένη μεταβολική ενέργεια ενδέχεται να είναι δυνητικά σημαντικοί παράγοντες που μπορούν να συμβάλουν στη διατήρηση της ενδοκυτταρικής ισορροπίας ιόντων στα φυτά τριγωνέλλας και να εξουδετερώσουν τις αρνητικές επιπτώσεις της οσμωτικής καταπόνησης σε καλλιέργεια τριγωνέλλας.



Διάγραμμα 8-8 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα Citric Acid (A) και Fumaric Acid (B) Malic Acid (C) και Shikimic Acid (D) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$.

8.4.2.3 Καρβολικά οξέα, λιπαρά οξέα και επιλεγμένοι μεταβολίτες

Η αδενοσίνη, βασικό συστατικό της ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη), είναι η βασική πηγή πρωτογενούς ενέργειας στα κύτταρα. Το ATP είναι απαραίτητο για διάφορες κυτταρικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της φωτοσύνθεσης, της αναπνοής και της μεταφοράς θρεπτικών ουσιών. Κατά τη διάρκεια της κυτταρικής αναπνοής, το ATP παράγεται και στη συνέχεια χρησιμοποιείται από τα φυτικά κύτταρα για να τροφοδοτήσει βιοχημικές αντιδράσεις, διασφαλίζοντας ότι το φυτό έχει την ενέργεια που απαιτείται για ανάπτυξή του [461]. Επιπλέον, η αδενοσίνη και τα παράγωγά της, όπως η κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP), παρουσιάζουν βασικούς ρόλους στις ενδοκυτταρικές οδούς σηματοδότησης. Αυτά τα μόρια λειτουργούν ως δευτερεύοντες αγγελιοφόροι που μεταδίδουν σήματα από εξωτερικά ερεθίσματα στο εσωτερικό του

κυττάρου, ρυθμίζοντας με αυτόν τον τρόπο τις φυσιολογικές αποκρίσεις και τις προσαρμογές στις περιβαλλοντικές αλλαγές [461]. Η σύνθεση της τριφωσφορικής αδενοσίνης, η οποία παρέχει την ενέργεια που απαιτείται για τη δέσμευση του CO₂ σε σάκχαρα, βασίζεται στη φωτοσύνθεση. Οι αβιοτικές καταπονήσεις διαταράσσουν τις θυλακοειδείς μεμβράνες, επηρεάζουν την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, μεταβάλλουν την ενζυμική δραστηριότητα και τη σύνθεση πρωτεϊνών και επηρεάζουν τα πρότυπα του κύκλου Calvin, τα οποία επηρεάζουν τις διαδικασίες της φωτοσύνθεσης [462].

Διαφορετικές αντιδράσεις εμφανίζονται στα φυτά σε συνθήκες στρες σε διάφορα επίπεδα για την άμβλυση των αρνητικών επιπτώσεων, όπως η μειωμένη αφομοίωση του CO₂ μέσω του κλεισίματος των στομάτων, η καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης και η διαταραχή της ενζυμικής δραστηριότητας και της δέσμευσης του CO₂ [463]. Αυτό επιβεβαιώνεται και στο πείραμά μας όπου η σχετική περιεκτικότητα αδενοσίνης στα φύλλα τριγωνέλλας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος της λίπανσης και τα επίπεδα αλατότητας. Η περιεκτικότητα με την επέμβαση BHS-CS ήταν περίπου ίση με 0.0031%, ενώ με την επέμβαση BHS-HS η περιεκτικότητα μειώνεται σημαντικά, περίπου ίση με 0.026% (Διάγραμμα 8-9). Η επέμβαση C παρουσίασε παρόμοια τάση, με περιεκτικότητα περίπου ίση με 0.0030% για την κατάσταση CS και ίση με 0.026% για την κατάσταση HS. Η επέμβαση FYM για τις δύο καταστάσεις αλατότητας δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Η σχετική περιεκτικότητα αδενοσίνης στα φύλλα της τριγωνέλλας μειώθηκε υπό καταπόνηση αλατότητας λόγω της διαταραχής που προκαλεί η συσσώρευση νατρίου (Na⁺) και χλωρίου (Cl⁻) στον χλωροπλάστη. Αυτά τα ιόντα αναστέλλουν τη φωτοσύνθεση, ιδιαίτερα τη φωτοφωσφορυλίωση και το μεταβολισμό του άνθρακα, που είναι κρίσιμα για τη σύνθεση της τριφωσφορικής αδενοσίνης. Οι αβιοτικές καταπονήσεις, όπως η αλατότητα, διαταράσσουν τις θυλακοειδείς μεμβράνες, επηρεάζουν την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, και μεταβάλλουν την ενζυμική δραστηριότητα και τη σύνθεση πρωτεϊνών. Αυτές οι αλλαγές επηρεάζουν αρνητικά τον κύκλο Calvin, ο οποίος είναι κρίσιμος για τις διαδικασίες της φωτοσύνθεσης [462]. Οι δυσλειτουργίες αυτές οδηγούν σε διαταραχή της σύνθεσης του ATP, μειώνοντας τη διαθέσιμη ενέργεια για τις βιοχημικές διεργασίες του φυτού [464]. Εξαιτίας αυτής της μείωσης, η συνολική παραγωγή αδενοσίνης επίσης μειώνεται. Επιπλέον, η έλλειψη σιδήρου, που προκύπτει από την αποικοδόμηση ιόντων και την αναστολή της σύνθεσης, επιδεινώνει αυτή την κατάσταση, καθώς ο σίδηρος είναι απαραίτητος για πολλές μεταβολικές διεργασίες που σχετίζονται με την παραγωγή και τη χρήση του ATP. Αυτοί οι παράγοντες συμβάλλουν στη μείωση της σχετικής περιεκτικότητας αδενοσίνης στα φύλλα της τριγωνέλλας υπό συνθήκες αλατότητας.

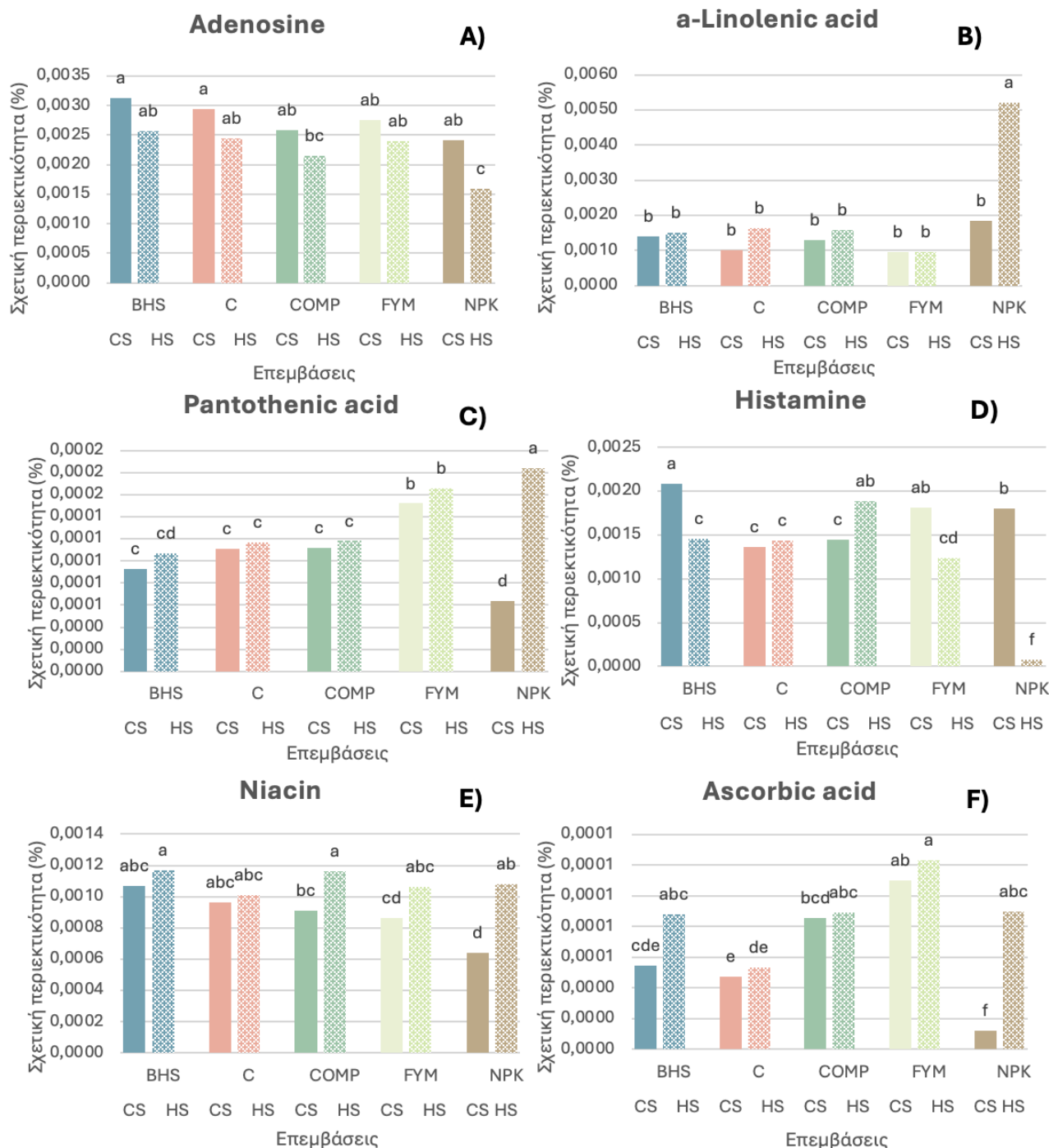
Το α-λινολενικό οξύ είναι πρόδρομος για τη βιοσύνθεση του ιασμονικού οξέος (JA), μιας φυτικής ορμόνης που εμπλέκεται σε διάφορες αντιδράσεις στο στρες και αναπτυξιακές διαδικασίες. Το JA διαδραματίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση της άμυνας των φυτών έναντι των βιοτικών καταπονήσεων, όπως οι επιθέσεις παθογόνων και η διατροφή των φυτοφάγων, καθώς και ως απάντηση σε αβιοτικές πιέσεις όπως η ξηρασία, η αλατότητα και οι χαμηλές θερμοκρασίες [465, 466]. Επιπρόσθετα, το α-λινολενικό οξύ είναι ένα κύριο συστατικό των λιπιδίων της μεμβράνης των χλωροπλαστών, ιδιαίτερα των γαλακτολιπιδίων. Βοηθάει στη διατήρηση της

ρευστότητας και της ακεραιότητας των κυτταρικών μεμβρανών, η οποία είναι απαραίτητη για τη σωστή φωτοσυνθετική λειτουργία και τη συνολική υγεία των κυττάρων [466]. Μία ακόμα σημαντική πτυχή του α-λινολενικού οξέος είναι ότι εμπλέκεται στη διαμόρφωση των οδών σηματοδότησης ενεργών ειδών οξυγόνου. Υπό συνθήκες στρες, το α-λινολενικό οξύ βοηθά στη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων που εμπλέκονται στις αποκρίσεις του οξειδωτικού στρες, προστατεύοντας έτσι τα φυτικά κύτταρα από την οξειδωτική βλάβη [465]. Μέσω της μετατροπής του σε γιασμονικό οξύ και άλλες οξυλιπίνες, το α-λινολενικό οξύ επηρεάζει την έκφραση πολλών γονιδίων που εμπλέκονται στην ανάπτυξη των φυτών. Αυτό περιλαμβάνει τη ρύθμιση των μεταγραφικών παραγόντων που μεσολαβούν στις αποκρίσεις τόσο σε βιοτικές όσο και σε αβιοτικές καταπονήσεις [453, 467]. Στην καλλιέργεια τριγωνέλλας, οι περισσότερες επεμβάσεις λίπανσης και αλατότητας παρουσιάζουν χαμηλές και σταθερές περιεκτικότητες χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους στη σχετική περιεκτικότητα α-λινολενικό οξέος. Η σημαντική εξαίρεση είναι στην επέμβαση NPK-HS, όπου η περιεκτικότητα σε α-λινολενικό οξύ παρουσίασε σημαντική αύξηση σε σύγκριση με τις άλλες επεμβάσεις (Διάγραμμα 8-9). Σε καλλιέργεια μηδικής, το α-λινολενικό οξύ έπαιξε σημαντικό ρόλο στο να βοηθήσει τη μηδική να αντιμετωπίσει το στρες λόγω αλατότητας [468]. Ο συνδυασμός ανόργανων λιπάνσεων και υψηλής αλατότητας φαίνεται ότι προάγει τη σύνθεση λινολενικού οξέος στο φυτό τριγωνέλλας για να αντιμετωπίσει την υψηλή αλατότητα. Αντίθετα, όταν χρησιμοποιήθηκαν βιολογικά λιπάσματα, η σύνθεση αυτή δεν είναι απαραίτητη ή τόσο έντονη.

Το ασκορβικό οξύ επηρεάζει διάφορες φυσιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής διαίρεσης, της επέκτασης του κυτταρικού τοιχώματος και της σύνθεσης διαφόρων φυτικών ορμονών. Συμμετέχει στη ρύθμιση της ανάπτυξης, της βλάστησης των σπόρων και στην ανάπτυξη των φύλλων, των ανθών και των καρπών [469, 470]. Επίσης, το ασκορβικό οξύ διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης προστατεύοντας τον φωτοσυνθετικό μηχανισμό από οξειδωτική βλάβη, βοηθάει στη διατήρηση της ακεραιότητας των χλωροπλαστών και υποστηρίζει τη βέλτιστη λειτουργία του φωτοσυστήματος II [471]. Ακόμη, η εξωγενής εφαρμογή ασκορβικού οξέος μπορεί να ενισχύσει την ανοχή των φυτών σε διάφορες αβιοτικές καταπονήσεις. Βελτιώνει την αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών, ενισχύει το ρυθμό της φωτοσύνθεσης και ενισχύει την ανάπτυξη κάτω από στρεσογόνες συνθήκες όπως η υψηλή αλατότητα και η ξηρασία [469, 472]. Στο Διάγραμμα 8-9 που παρουσιάζεται, παρατηρούμε ότι η περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ είναι υψηλότερη υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας για τις λιπάνσεις BHS, FYM, και NPK. Αυτή η αύξηση μπορεί να αποδοθεί στον ρόλο του ασκορβικού οξέος στην προστασία των φυτών από το οξειδωτικό στρες που προκαλεί η αλατότητα, βελτιώνοντας τη φωτοσύνθεση και διατηρώντας την κυτταρική ακεραιότητα και λειτουργία. Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρείται στη λίπανση FYM, υποδεικνύοντας ότι αυτή η οργανική λίπανση ενισχύει περισσότερο την παραγωγή ασκορβικού οξέος, βοηθώντας τα φυτά να ανταπεξέλθουν καλύτερα στις στρεσογόνες συνθήκες. Αντίθετα, η λίπανση C παρουσίασε μείωση της περιεκτικότητας σε ασκορβικό οξύ υπό HS, δείχνοντας ότι μπορεί να μην παρέχει τα ίδια οφέλη για την ανθεκτικότητα των φυτών σε συνθήκες αλατότητας (Διάγραμμα 8-9).

Επιπρόσθετα, καταγράψαμε στα εκχυλίσματα φύλλων τριγωνέλλας μερικές βιταμίνες της ομάδας Β, όπως η νιασίνη και το παντοθενικό οξύ. Η παρουσία τους σε σπόρο τριγωνέλλας επιβεβαιώνεται και από τους Vigh *et al.* [473]. Η νιασίνη είναι πρόδρομος των συνενζύμων NAD (νικοτιναμίδη αδενινο δινουκλεοσιδίο) και NADP (νικοτιναμίδη αδενινο δινουκλεοσιδική φωσφορική). Αυτά τα συνένζυμα είναι απαραίτητα για τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις στην κυτταρική αναπνοή και τη φωτοσύνθεση. Το συνένζυμα NAD και NADP εμπλέκονται σε διάφορες μεταβολικές οδούς, συμπεριλαμβανομένου του κύκλου Krebs και του κύκλου Calvin, που είναι κρίσιμοι για την παραγωγή ενέργειας και τη δέσμευση άνθρακα [474]. Η νιασίνη και τα παράγωγά της διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην απόκριση του φυτού σε περιβαλλοντικές πιέσεις όπως η αλατότητα και οι επιθέσεις παθογόνων. Το ζεύγος οξειδοαναγωγής NAD/NADP είναι κρίσιμο για την ενεργοποίηση μονοπατιών απόκρισης στρες που ενισχύουν την ανοχή των φυτών σε αυτές τις συνθήκες [474]. Στη καλλιέργεια τριγωνέλλας παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα νιασίνης αυξήθηκαν υπό το στρες αλατότητας (Διάγραμμα 8-9). Αυτή η αύξηση πιθανώς υποστηρίζει την ενισχυμένη δραστηριότητα των NAD και NADP, βοηθώντας το φυτό να αντιμετωπίσει τις δυσμενείς επιπτώσεις της αλατότητας. Ενισχύοντας τα μονοπάτια που εμπλέκονται στην παραγωγή ενέργειας, την επιδιόρθωση του DNA και την αντιοξειδωτική άμυνα, τα αυξημένα επίπεδα νιασίνης βοηθούν τα φυτά της τριγωνέλλας να αντέχουν καλύτερα και να προσαρμοστούν σε αλατούχα περιβάλλοντα.

Το παντοθενικό οξύ, γνωστό και ως βιταμίνη Β5, είναι ένα απαραίτητο θρεπτικό συστατικό στο μεταβολισμό των φυτών. Το παντοθενικό οξύ είναι πρόδρομος στη βιοσύνθεση του CoA, ένα ζωτικό συνένζυμο σε πολυάριθμες βιοχημικές αντιδράσεις [475]. Το CoA και τα παράγωγά του, όπως το ακετυλο-CoA, το μηλονουλο-CoA και η ακυλο-φορέας πρωτεΐνη (ACP), είναι καθοριστικής σημασίας για τη βιοσύνθεση και την αποικοδόμηση των λιπαρών οξέων. Αυτές οι διεργασίες είναι απαραίτητες για το σχηματισμό λιπιδίων της μεμβράνης και την παραγωγή ενέργειας μέσω οξείδωσης λιπαρών οξέων [476]. Το CoA εμπλέκεται στη σύνθεση πολλών ζωτικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των αμινοξέων, των στερολών και των δευτερογενών μεταβολιτών. Αυτές οι ενώσεις είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη του φυτού και των αμυντικών του μηχανισμών [475, 476]. Υπό υψηλή αλατότητα, η τριγωνέλλα αύξησε τα επίπεδα παντοθενικού οξέος για να υποστηρίξει τις μεταβολικές ανάγκες του φυτού και να ενισχύσει την αντίστασή του στο στρες (Διάγραμμα 8-9). Η αλατότητα μπορεί να προκαλέσει αυξημένο οξειδωτικό στρες και η παραγωγή συνενζύμου Α μπορεί να βοηθήσει το φυτό να διαχειριστεί καλύτερα αυτό το στρες μέσω της ενίσχυσης των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Επίσης, στην καλλιέργεια τριγωνέλλας σημειώθηκαν αυξημένα επίπεδα παντοθενικού οξέος υπό υψηλή αλατότητα και σε συνδυασμό με την NPK ίσως λόγω υψηλότερης ανάγκης του φυτού για να υποστηρίξει τις ανάγκες του φυτού σε οσμωτικού συνθήκες στρες.



Διάγραμμα 8-9 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα Adenosine (A), a-Linolenic acid (B), Pantothenic acid (C), Histamine (D), Niacin (E) και Ascorbic acid (F) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$.

Η τριγωνέλλα παρουσίασε αυξημένα επίπεδα τραυματικού οξέος υπό υψηλή αλατότητα επειδή το τραυματικό οξύ παράγεται ως απόκριση σε στρες, όπως η αλατότητα, και ενισχύει την ικανότητα του φυτού να αντιμετωπίζει αβιοτικά στρες. Η επέμβαση HS αύξησε τη σχετική περιεκτικότητα του τραυματικού οξέος σε όλες τις επεμβάσεις λιπάνσεων, με την πιο έντονη αύξηση να παρατηρείται στην NPK. Στην επέμβαση BHS, σχετική περιεκτικότητα του τραυματικού οξέος είναι παρόμοια τόσο στην επέμβαση CS όσο και στην HS, με

λίγο υψηλότερα επίπεδα στην υψηλή αλατότητα (Διάγραμμα 8-10). Στην επέμβαση C, παρουσιάζεται μείωση στη σχετική περιεκτικότητα του τραυματικού οξέος στην υψηλή αλατότητα σε σχέση με τις κανονικές συνθήκες. Το τραυματικό οξύ παράγεται από τα φυτά ως απόκριση σε τραυματισμό. Διεγείρει τη διαίρεση και την επιμήκυνση των κυττάρων στο σημείο της βλάβης, προάγοντας το σχηματισμό ιστού τύλου, ο οποίος βοηθά στην επούλωση και την προστασία του φυτού [477]. Επιπρόσθετα, το τραυματικό οξύ διεγείρει τη βιοσύνθεση πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και φωτοσυνθετικών χρωστικών. Ενισχύοντας αυτές τις βιοχημικές διεργασίες, το τραυματικό οξύ υποστηρίζει τη συνολική ανάπτυξη και ανάπτυξη των φυτών. Αυτό είναι ζωτικής σημασίας για την ανάκτηση και τη συνεχή ανάπτυξη του φυτού μετά από φυσική βλάβη. Σημαντική είναι η ιδιότητα του τραυματικού οξέος να ενισχύει την ικανότητα του φυτού να αντιμετωπίζει αβιοτικά στρες, όπως η αλατότητα. Έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων, η οποία ωφελεί στην άμβλυνση του οξειδωτικού στρες που προκαλείται από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Αυτός ο προστατευτικός ρόλος είναι απαραίτητος για τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας και λειτουργίας υπό αντίξοες συνθήκες [478, 479].

Παρατηρήθηκε ότι η ουριδίνη είναι πιο υψηλή υπό κανονικές συνθήκες στις επεμβάσεις BHS και NPK. Συγκεκριμένα, η επέμβαση BHS παρουσίασε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα στην καλλιέργεια τριγωνέλλας. Υπό HS, η περιεκτικότητα ουριδίνης είναι γενικά χαμηλότερη, εκτός από τις περιπτώσεις των επεμβάσεων C και COMP, όπου παρατηρούνται μικρές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων. Η επέμβαση NPK εμφάνισε τη μεγαλύτερη μείωση στην περιεκτικότητα ουριδίνης υπό HS (Διάγραμμα 8-10). Επιπλέον, παρατηρήθηκε μείωση της ουριδίνης στην υψηλή αλατότητα στα φύλλα τριγωνέλλας. Η υψηλή αλατότητα προκαλεί στρες στα φυτά, το οποίο μπορεί να επηρεάσει τη σύνθεση των νουκλεοτιδίων, συμπεριλαμβανομένης της ουριδίνης. Η μείωση της διαθεσιμότητας ουριδίνης μπορεί να επηρεάσει τη σύνθεση του RNA και του DNA, καθώς και τη μεταγραφή και την επιδιόρθωση του DNA [480, 481]. Η ουριδίνη και τα παράγωγά της εμπλέκονται σε σημαντικές μεταβολικές οδούς, όπως η σύνθεση της σακχαρόζης μέσω της UDP-γλυκόζης. Σε συνθήκες υψηλής αλατότητας, το φυτό μπορεί να ανακατανέμει την ενέργεια και τους πόρους του για να αντιμετωπίσει το στρες, μειώνοντας την παραγωγή ουριδίνης και την μεταβολική της δραστηριότητα, προκειμένου να διασφαλίσει την επιβίωσή του. Η UDP-γλυκόζη, που αποτελεί πρόδρομο για τη σύνθεση της σακχαρόζης, μπορεί να μειωθεί υπό στρες, επηρεάζοντας την αποθήκευση και τη διανομή της ενέργειας μέσα στο φυτό. Η υψηλή αλατότητα μπορεί να αναστείλει την παραγωγή της, επηρεάζοντας αρνητικά την μεταβολική οδό που περιλαμβάνει την ουριδίνη [481].

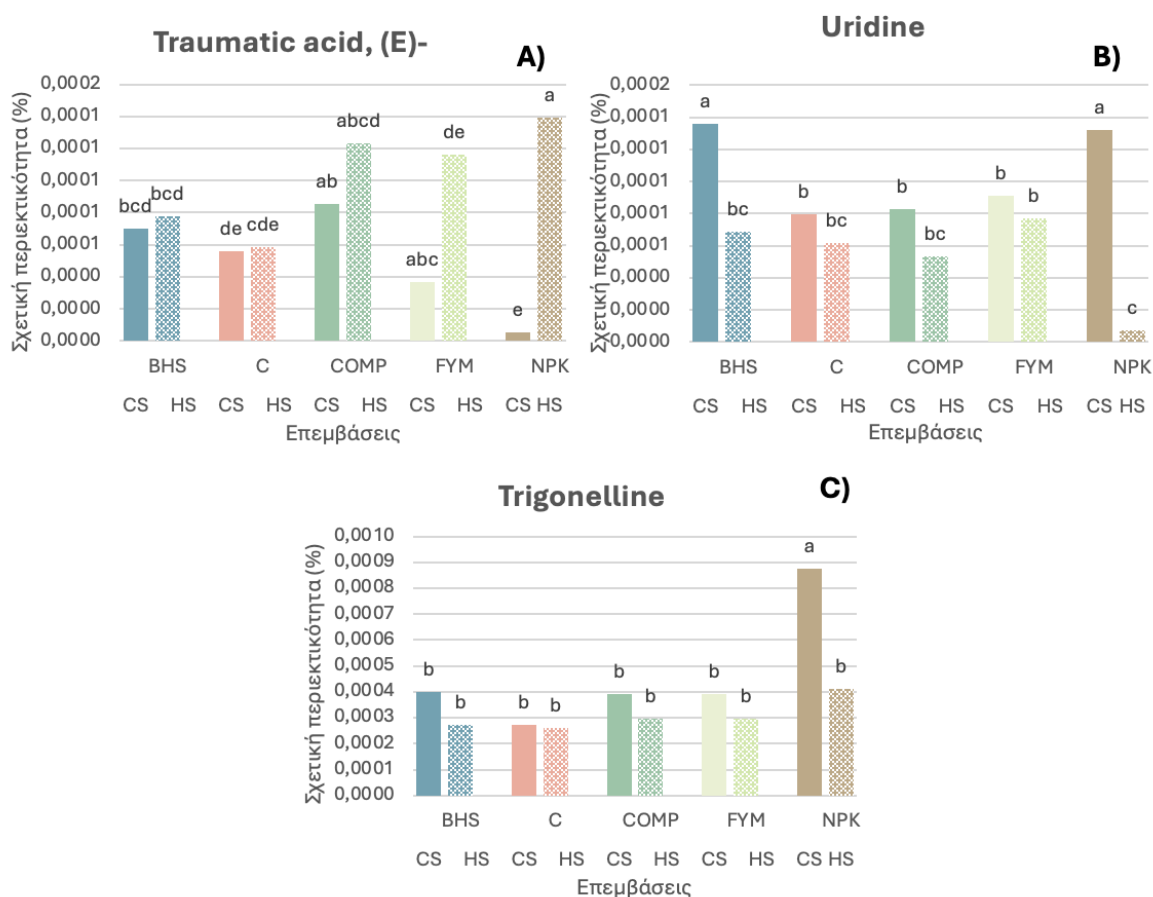
Τα αλκαλοειδή είναι μια κατηγορία οργανικών ενώσεων που περιέχουν άζωτο, ταξινομούνται βάσει του βασικού τους σκελετού και των υποκαταστατών τους και εμφανίζουν μια ευρεία ποικιλία φαρμακολογικών ιδιοτήτων. Στην τριγωνέλλα υπάρχουν αλκαλοειδή τύπου πυριδίνης, με τα σημαντικότερα από αυτά να είναι η τριγωνελλίνη (0.2 έως 0.36%), η χολίνη (0.5%), η καρπαΐνη και η γεντιανίνη [482]. Αυτές οι ενώσεις δεν σχετίζονται μόνο με την ανάπτυξη και την άμυνα των φυτών, αλλά αποτελούν και αποθήκη αζώτου.

Το σημαντικότερο αλκαλοειδές του είδους *T. foenum-graecum* είναι η τριγωνελλίνη, ένα αλκαλοειδές

πυριδίνης, παράγωγο του νικοτινικού οξέος. Η τριγωνελλίνη ως πολικό υδρόφιλο αλκαλοειδές εξάγεται από πολλά φυτικά είδη, όπως για παράδειγμα *Trigonella foenum-graecum*, *Allium separea*, *Coffea sp*, *Pisum sativum*, *Glycine max* και *Lycopersicon esculentum*. Έχουν αναφερθεί πολυάριθμες βιολογικές δραστηριότητες τριγωνελλίνης όπως προστασία της καρδιάς και του ήπατος, και θεραπεία της υπεργλυκαιμίας, της υπερχοληστερολαιμίας, των νευρικών και ορμονικών διαταραχών και των καρκίνων [483].

Η τριγωνελλίνη έχει διάφορες φυσιολογικές δραστηριότητες στα φυτά, όπως για παράδειγμα, κινήσεις των φύλλων [484], συσσώρευση κατά τη διάρκεια του στρες [485], και λειτουργεί ως οσμωλύτης και προσαρμογή σε συνθήκες στρες [486]. Η τριγωνελλίνη ως δευτερεύων μεταβολίτης συσσωρεύεται σε απάντηση σε βιοτικές και αβιοτικές συνθήκες στρες στα φυτά [487]. Η τριγωνελλίνη ρυθμίζει τη διαδικασία του κυτταρικού κύκλου στα κύτταρα των φυτών και των ζώων και προκαλεί τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2 (προμυτωτική φάση) [488]. Οι βλαστώντες σπόροι έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε τριγωνελλίνη· μετά τη βλάστηση και η TRG μεταφέρεται στις ρίζες και τα βλαστάρια [489]. Κατά την ανάπτυξη των φυταρίων, η πυκνότητα της TRG μειώνεται στους μεριστωματικούς ιστούς των ριζών, με αποτέλεσμα περισσότερα κύτταρα των ριζών να σταματούν στη φάση G2, ενώ η έλλειψη της TRG προκαλεί τη διακοπή των κυττάρων στη φάση G1. Η διακοπή των κυττάρων στη φάση G2 εξαρτάται από την ηλικία των οργανισμών. Η TRG επίσης εμποδίζει τη σύνδεση των αναπαραγωγικών περιοχών κατά τη φάση S (φάση σύνθεσης) [490], και η παρεμβολή της TRG στη διαδικασία αντιγραφής του DNA οδηγεί σε μακρύ κυτταρικό κύκλο και έχει αρνητικές επιπτώσεις στην επιμήκυνση των ριζών [490]. Οι τεταρτοταγείς αμμωνιακές ενώσεις όπως η TRG, η βηταΐνη και η χολίνη ενισχύουν την ανθεκτικότητα των φυτών στις μυκητιακές λοιμώξεις [491]. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η υπομεθυλίωση μπορεί να προκληθεί από τη θεραπεία με νικοτιναμίδη [491] λόγω της λειτουργίας της TRG [492]. Η νικοτιναμίδη είναι μέρος της αλυσίδας μεταγωγής σήματος στην απάντηση στο οξειδωτικό στρες [492]. Για παράδειγμα, η υπεριώδης (UV) ακτινοβολία αυξάνει την περιεκτικότητα σε νικοτιναμίδη, τριγωνελλίνη και ολικό οξειδωμένο γλουταθειόνη στα φύλλα μπιζελιών [493].

Στην καλλιέργειά μας, η σχετική περιεκτικότητα τριγωνελλίνης μειώθηκε με την παρουσία υψηλής αλατότητας. Για τις επεμβάσεις BHS, C, COMP, FYM η σχετική περιεκτικότητα της τριγωνελλίνης παραμένει σχετικά σταθερή μεταξύ των HS και CS, με μικρές διαφορές. Στην επέμβαση NPK παρατηρείται σημαντική μείωση της τριγωνελλίνης υπό υψηλή αλατότητα σε σχέση με τις κανονικές συνθήκες (Διάγραμμα 8-10). Πιθανώς, η τριγωνελλίνη λειτουργεί ως οσμωλύτης, βοηθώντας το φυτό να προσαρμοστεί στις συνθήκες στρες, όπως η υψηλή αλατότητα, διατηρώντας την οσμωτική ισορροπία στα κύτταρα [486].



Διάγραμμα 8-10 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα Traumatic Acid (A) και Uridine (B) και Trigonelline (C) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$.

8.4.2.4 Αμινοξέα

Η αλατότητα του εδάφους αποτελεί προβληματική συνθήκη για τα φυτά, η οποία εκτιμάται ότι επηρεάζει το 23% της τρέχουσας καλλιεργήσιμης γης. Επιπλέον, η ιοντική ισορροπία των φυτικών κυττάρων διαταράσσεται από τα ιόντα αλάτων, με αποτέλεσμα την ιοντική ανισορροπία που επηρεάζει τον μεταβολισμό των φυτών [494]. Η διαφορά στη συγκέντρωση διαλυτών μεταξύ του εδάφους και των φυτικών κυττάρων μειώνεται, οδηγώντας σε χαμηλότερη πρόσληψη νερού από το έδαφος [495].

Η αλατότητα του εδάφους επηρεάζει πολλές φυτικές διεργασίες, μειώνοντας την κυτταρική σπαργή, την ανάπτυξη και τη φωτοσύνθεση, και επηρεάζει τη σύνθεση πρωτεϊνών, το μεταβολισμό των λιπιδίων και της ενέργειας. Στην πραγματικότητα, το βάρος των στρεσαρισμένων φυτικών ιστών και η επιφάνεια των φύλλων είναι μικρότερα, με δραστική μείωση τους σε υψηλά επίπεδα αλατότητας. Αν και η ανάπτυξη μειώνεται κυρίως λόγω της αναστολής της επέκτασης των φύλλων, ένας άλλος βασικός παράγοντας είναι το κλείσιμο των στομάτων, που περιορίζει την απώλεια νερού και την πρόσληψη CO₂ από τον αέρα. Η φωτοσύνθεση επηρεάζεται επίσης έντονα από τις συνθήκες υψηλής αλατότητας και, αν και υπάρχουν λίγες περιπτώσεις όπου δεν μειώνεται ή ακόμη και αυξάνεται, πολλές μελέτες βρήκαν μια συνεπή επίδραση της συγκέντρωσης

NaCl στη φωτοσύνθεση. Αυτό οφειλόταν πιθανώς σε διάφορους παράγοντες όπως η αφυδάτωση των κυτταρικών μεμβρανών μειώνοντας οπότε τη διαπερατότητα σε CO₂, τα υπερβολικά ιόντα αλάτων, τη διαταραχή της ενζυμικής δραστηριότητας και μείωση της δραστηριότητας αποθήκευσης [96]. Το στρες υπό αλατότητα προκαλεί αύξηση πολλών μεταβολιτών, συμπεριλαμβανομένων των αμινοξέων σερίνη, κιτροουλίνη, β-αλανίνη, κυστεΐνη, ορνιθίνη, γλυκίνη, γ-αμινοβουτυρικό οξύ, προλίνη, μαννόζη, ομοσερίνη, και των σακχάρων σακχαρόζη, κυτταροβιόζη, τρεχαλόζη, γαλακτόζη [310].

Τα αμινοξέα είναι θεμελιώδη για τον μεταβολισμό των φυτών, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη και στις αντιδράσεις στο στρες μέσω διαφόρων βιοχημικών οδών και μεταβολικών λειτουργιών. Τόσο το είδος της λίπανσης όσο και τα επίπεδα αλατότητας που εφαρμόστηκαν στην καλλιέργεια τριγωνέλλας είχαν σημαντική επίδραση στη βιοσύνθεση των αμινοξέων. Παρόμοια με το στρες από ξηρασία, αυτές οι ενώσεις χρησιμοποιούνται από τα φυτικά κύτταρα ως οσμωπροστατευτικά για να αντιμετωπίσουν τη μεταβολή του οσμωτικού δυναμικού και να εξασφαλίσουν συνεπή πρόσληψη νερού [310].

Η L-προλίνη είναι σημαντική στο στρες από αλατότητα, και πολλές μελέτες ανέφεραν την αύξησή της σε καλλιέργεια *A. thaliana* και *O. Sativa* σε τέτοιες συνθήκες [442, 496]. Ωστόσο, έχουν καταγραφεί και τάσεις μείωσης [446]. Η L-προλίνη εμφάνισε σταθερή αύξηση ως αντίδραση στο οσμωτικό στρες συμβάλλοντας στις περισσότερες περιπτώσεις στη βελτίωση της ανθεκτικότητας των φυτών σε αυτήν την πίεση. Έχει προταθεί ότι η L-προλίνη ενισχύει την απορρόφηση νερού από το έδαφος και συμβάλλει στη σταθεροποίηση και προστασία της κυτταρικής μεμβράνης, των ενζύμων και των πρωτεϊνών [440]. Στο πείραμά μας, επιβεβαιώνεται αυτό καθώς η L-προλίνη αυξήθηκε στην επέμβαση HS (Διάγραμμα 8-11).

Η γλυκίνη είναι ένα δομικό στοιχείο για τις πρωτεΐνες και εμπλέκεται στη σύνθεση άλλων βιομορίων όπως η χλωροφύλλη, η γλουταθειόνη και η αίμη. Παίζει επίσης ρόλο στη φωτοαναπνοή, ιδιαίτερα στα φυτά C3 [497, 498]. Στην καλλιέργεια τριγωνέλλας η περιεκτικότητα γλυκίνης είναι χαμηλή στην επέμβαση BHS και για τις δύο συνθήκες (HS και CS) (Διάγραμμα 8-11). Στις επεμβάσεις C και COMP, η περιεκτικότητα αυξάνεται στη συνθήκη HS, ενώ στην επέμβαση FYM η περιεκτικότητα είναι υψηλότερη στη συνθήκη HS και χαμηλότερη στη CS. Στην επέμβαση NPK, η γλυκίνη είναι χαμηλότερη στη συνθήκη CS και υψηλότερη στη HS. Συνολικά, σε όλες τις επεμβάσεις παρατηρείται αύξηση της γλυκίνης σε συνθήκες υψηλής αλατότητας, γεγονός που υποδηλώνει ότι η γλυκίνη μπορεί να παίζει ρόλο στην αντοχή των φυτών στο αλατούχο στρες, ενισχύοντας τη συνολική βιοχημική τους ευρωστία μέσω της σύνθεσης κρίσιμων ενώσεων.

Η περιεκτικότητα β-αλανίνης είναι υψηλότερη στις επεμβάσεις BHS, ειδικά στη συνθήκη HS (Διάγραμμα 8-11). Στην καλλιέργεια τριγωνέλλας σημειώθηκε αύξηση της β-αλανίνης σε συνθήκες υψηλής αλατότητας. Στις λιπάνσεις COMP NPK, FYM δεν σημειώνονται στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα β-αλανίνης σε συνθήκες υψηλής αλατότητας. Η β-αλανίνη εμπλέκεται στη σύνθεση του παντοθενικού οξέος (βιταμίνη B5) και του συνενζύμου A (CoA), τα οποία είναι κρίσιμα για το μεταβολισμό των λιπαρών οξέων, την παραγωγή ενέργειας και τον κύκλο TCA. Βοηθάει επίσης στις αντιδράσεις στο στρες συσσωρεύοντας στα φυτά κάτω από ακραίες θερμοκρασίες, υποξία, ξηρασία και σοκ βαρέων μετάλλων [499]. Αυτές οι πληροφορίες υποδεικνύουν

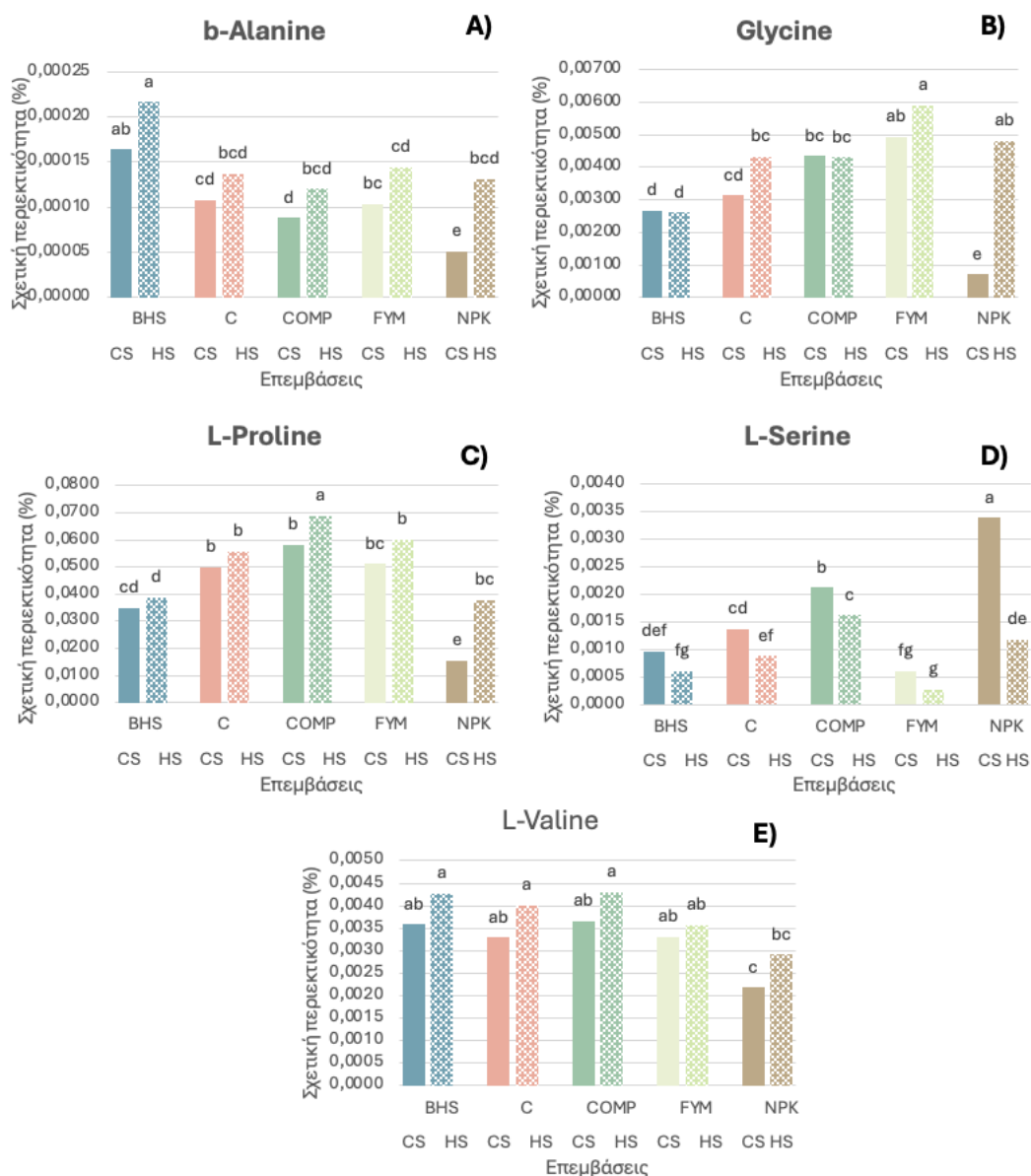
ότι η αυξημένη περιεκτικότητα β-αλανίνης σε συνθήκες υψηλής αλατότητας μπορεί να ενισχύει την αντοχή των φυτών στο στρες, συμβάλλοντας στη συνολική βιοχημική τους ευρωστία μέσω της σύνθεσης κρίσιμων ενώσεων όπως το παντοθενικό οξύ και το συνένζυμο Α. Οι μεγάλες αυξήσεις στη β-αλανίνη καταγράφηκαν από τους Shen *et al.*, με αναφορά αύξησης κατά 1.83 φορές [500], και από τους Sheldon *et al.*, οι οποίοι ανέφεραν αύξηση κατά 2.67 φορές.

Στο πείραμα μας, η περιεκτικότητα L-σερίνης είναι χαμηλή στην επέμβαση BHS και για τις δύο συνθήκες, με τη συνθήκη CS να παρουσιάζει λίγο υψηλότερη τιμή. Στην επέμβαση COMP, η συνθήκη CS εμφανίζει την υψηλότερη περιεκτικότητα L-σερίνης και διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τις άλλες επεμβάσεις (Διάγραμμα 8-11). Στην επέμβαση FYM, η περιεκτικότητα είναι χαμηλή και στις δύο συνθήκες, με τη συνθήκη FYM-CS να παρουσιάζει λίγο υψηλότερη τιμή. Ο συνδυασμός NPK-CS παρουσιάζει την υψηλότερη περιεκτικότητα L-σερίνης από όλες τις επεμβάσεις, ενώ η συνθήκη HS εμφανίζει τη χαμηλότερη τιμή. Οι διαφορές στις περιεκτικότητες L-σερίνης υποδεικνύουν την επίδραση της αλατότητας και των διαφορετικών λιπάνσεων στη συσσώρευση L-σερίνης, η οποία είναι γνωστή για τον ρόλο της στη βιοσύνθεση πρωτεϊνών και άλλων βιομορίων. Η σχετική περιεκτικότητα L-σερίνης στα φύλλα τριγωνέλλας μειώθηκε σε συνθήκες υψηλής αλατότητας. Η μείωση της σχετικής περιεκτικότητας L-σερίνης στα φύλλα τριγωνέλλας σε συνθήκες υψηλής αλατότητας έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα των Shi *et al.* και Soda *et al.* [446, 496], πιθανώς λόγω γενετικών διαφορών, περιβαλλοντικών συνθηκών, σταδίου ανάπτυξης των φυτών, ή αλληλεπιδράσεων με άλλα θρεπτικά στοιχεία.

Η σχετική περιεκτικότητα L-προλίνης στα φύλλα τριγωνέλλας αυξήθηκε σε συνθήκες υψηλής αλατότητας (Διάγραμμα 8-11). Η περιεκτικότητα L-προλίνης είναι χαμηλή στην επέμβαση BHS και στις δύο συνθήκες, με τη συνθήκη HS να παρουσιάζει λίγο υψηλότερη τιμή. Στην επέμβαση C, η περιεκτικότητα είναι παρόμοια και στις δύο συνθήκες. Ο συνδυασμός COMP-HS παρουσιάζει την υψηλότερη περιεκτικότητα L-προλίνης και διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τις άλλες επεμβάσεις. Στην επέμβαση FYM, η συνθήκη HS παρουσιάζει υψηλότερη περιεκτικότητα από τη συνθήκη CS, ενώ στην επέμβαση NPK η περιεκτικότητα L-προλίνης στη συνθήκη HS είναι επίσης υψηλότερη σε σχέση με τη συνθήκη CS, αν και με χαμηλότερες τιμές συνολικά. Οι διαφορές στις περιεκτικότητες L-προλίνης μεταξύ των επεμβάσεων και των συνθηκών υποδεικνύουν την επίδραση της αλατότητας και των διαφορετικών λιπάνσεων στη συσσώρευση L-προλίνης, η οποία είναι γνωστή για τον ρόλο της στην προσαρμογή των φυτών στο αλατούχο στρες. Η L-προλίνη δρα ως ομοπροστατευτικό και σταθεροποιητή πρωτεϊνών και μεμβρανών υπό συνθήκες στρες και συσσωρεύεται ως απόκριση στην ξηρασία, στην αλατότητα και στο κρύο στρες, προστατεύοντας τα φυτικά κύτταρα από βλάβες [501].

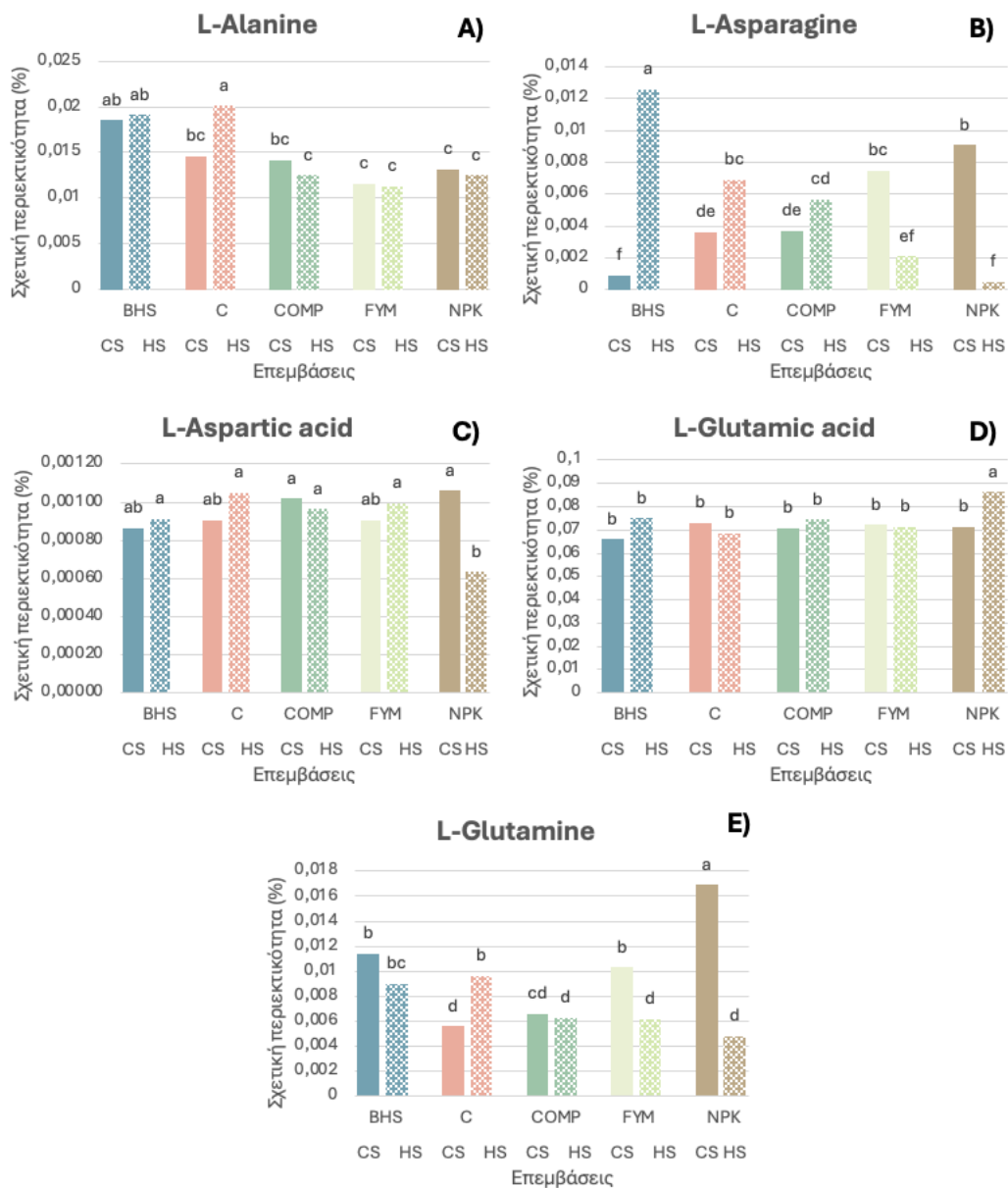
Η L-βαλίνη εμπλέκεται στη σύνθεση πρωτεϊνών και είναι ζωτικής σημασίας για τη σύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών. Επιπλέον, ενισχύει στη ρύθμιση των αντιδράσεων στο στρες και στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης [502]. Η L-βαλίνη έδειξε αυξητική τάση στις μελέτες που ανέλυσαν το μεταβολόμα των βλαστών υπό στρες αλατότητας. Σε καλλιέργεια τριγωνέλλας, στις επεμβάσεις BHS, C και COMP, η περιεκτικότητα L-βαλίνης είναι υψηλότερη στη συνθήκη HS σε σχέση με τη συνθήκη CS. Στην επέμβαση FYM, η περιεκτικότητα

L-βαλίνης είναι παρόμοια και στις δύο συνθήκες και δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. Στην επέμβαση NPK, η συνθήκη HS παρουσιάζει υψηλότερη περιεκτικότητα L-βαλίνης σε σχέση με τη συνθήκη CS (Διάγραμμα 8-11). Συνολικά, η περιεκτικότητα L-βαλίνης παρουσιάζει τάση αύξησης στη συνθήκη HS σε αρκετές επεμβάσεις, υποδεικνύοντας ότι η L-βαλίνη μπορεί να συνεισφέρει στην αντίδραση των φυτών στην αλατότητα και στη συνολική αντοχή τους σε στρεσογόνες συνθήκες. Αυτό το αποτέλεσμα είναι αντίθετο με τους Kumari & Parida [503]. Αυτή η διαφορά μπορεί να εξηγηθεί από διάφορους παράγοντες. Ένας παράγοντας είναι ότι οι γενετικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών φυτών που χρησιμοποιήθηκαν στις διαφορετικές μελέτες μπορούν να επηρεάσουν την απόκριση στην αλατότητα. Επίσης, οι περιβαλλοντικές συνθήκες κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, όπως η σύνθεση του εδάφους και οι κλιματικές συνθήκες, μπορούν να επηρεάσουν τη μεταβολική αντίδραση των φυτών. Επιπλέον, οι μέθοδοι και η διάρκεια της έκθεσης στην αλατότητα μπορεί να διαφέρουν μεταξύ των μελετών, οδηγώντας σε διαφορετικά αποτελέσματα.

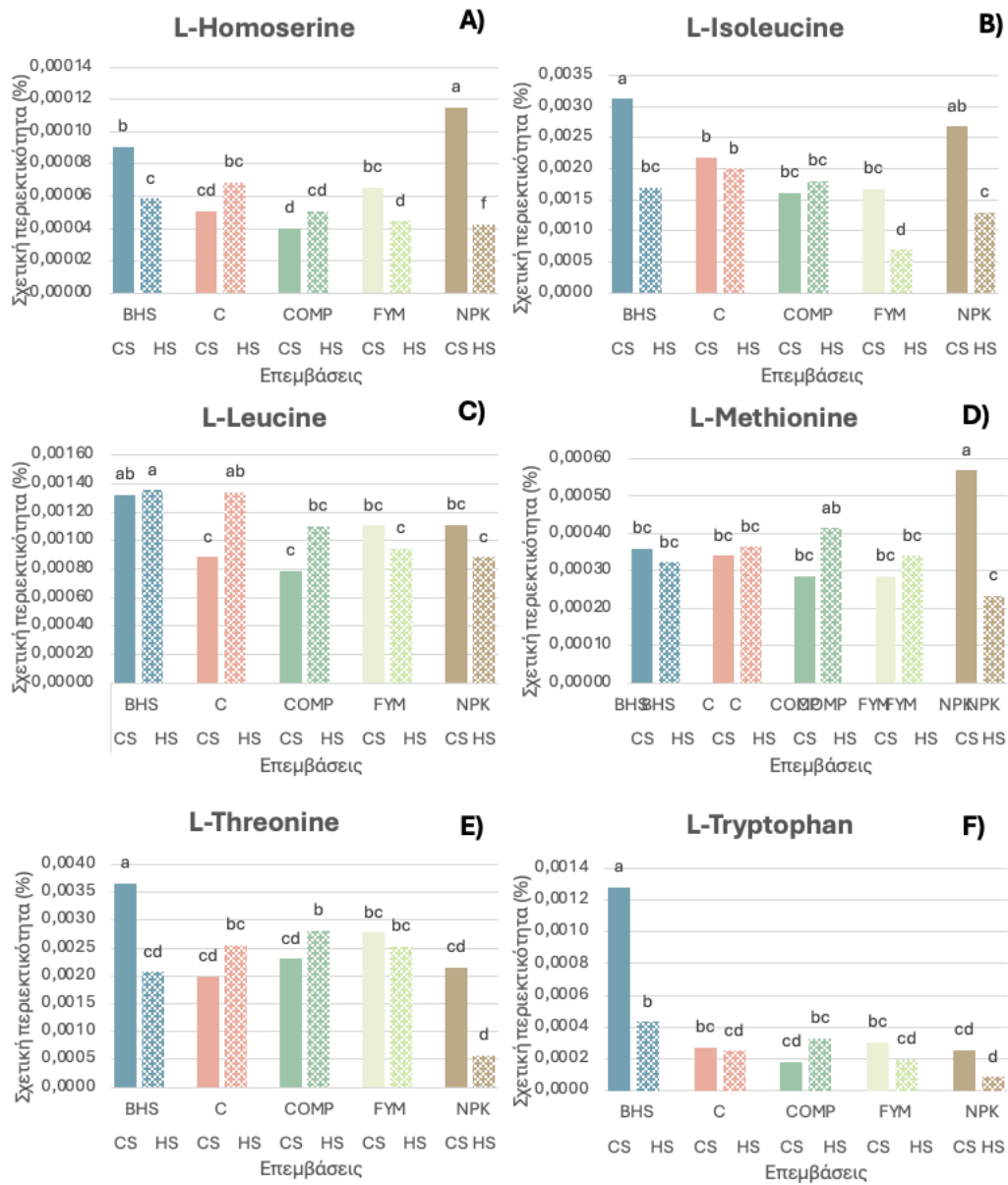


Διάγραμμα 8-11 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα b-alanine (A), Glycine (B), L-Proline (C), L-Serine (D), και L-Valine (E) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$.

Για τα υπόλοιπα αμινοξέα b-Alanine, Glycine, L-Alanine, L-Asparagine, L-Aspartic acid, L-Glutamic acid, L-Glutamine, L-Homoserine, L-Isoleucine, L-Leucine, L-Methionine, L-Tryptophan, L-Valine, τα οποία βρέθηκαν σε υψηλή σχετική περιεκτικότητα στα φύλλα τριγωνέλλας, δεν μπορούμε να καταλήξουμε σε οριστικά συμπεράσματα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκε κάποιο σαφές πρότυπο στην αντίδρασή τους. Η επίδραση των διαφόρων τύπων λιπάνσεων και των επιπέδων αλατότητας εμφανίστηκε ασταθής και κυμαινόμενη, καθιστώντας δύσκολη την εξαγωγή συνεκτικών συμπερασμάτων σχετικά με την απόκριση των αμινοξέων σε αυτούς τους παράγοντες (Διάγραμμα 8-12, Διάγραμμα 8-13).



Διάγραμμα 8-12 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα L-alanine (A), L-Asparagine (B), L-Aspartic acid (C), L-Glutamic acid (D), και L-Glutamine (E) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$.



Διάγραμμα 8-13 Επίδραση λίπανσης (BHS: Biocyclic Humus Soil, COMP: compost, C: control, FYM: farm yard manure, NPK: 11-15-15) και επίπεδα αλατότητας (CS: conventional salinity, HS: high salinity) στην σχετική περιεκτικότητα L-Homoserine (A), L-Isoleucine (B), L-Leucine (C), L-Methionine (D), L-Threonine (E) και L-Tryptophan (F) σε φύλλα τριγωνέλλας. Τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c και d) υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ Tukey σε $\alpha=5\%$.

8.5 Συμπεράσματα

Η παρούσα μελέτη εξέτασε την επίδραση της αλατότητας και της λίπανσης στους δευτερογενείς μεταβολίτες και τα ένζυμα στο φυτό τριγωνέλλας. Οι διαφορές στις συνθήκες αλατότητας και στις μεθόδους λίπανσης έδειξαν σημαντικές αλλαγές στους μεταβολίτες και στις βιοχημικές διεργασίες του φυτού, αποκαλύπτοντας διάφορους μηχανισμούς προσαρμογής και ανθεκτικότητας.

Η μεταβολομική ανάλυση GC/EI/MS που εφαρμόστηκε στην τριγωνέλλα είχε ως στόχο την καταγραφή πιθανών αλλαγών στο μεταβολισμό των φυτών υπό διάφορες επεμβάσεις λίπανσης και αλατότητας. Η ανάλυση έδειξε ότι οι επεμβάσεις είχαν σημαντική επίδραση στους βασικούς μεταβολίτες της τριγωνέλλας, κάτι που φάνηκε και στα OPLS-DA score plots. Συγκεκριμένα, η επέμβαση NPK-HS ξεχώρισε σημαντικά, υποδεικνύοντας διαφορετική επίδραση στο μεταβολικό προφίλ σε σύγκριση με τις άλλες επεμβάσεις. Επιπλέον, η ιεραρχική ανάλυση κατά συστάδες (HCA) επιβεβαίωσε τα ευρήματα της OPLS-DA, δείχνοντας καλό διαχωρισμό μεταξύ των επεμβάσεων.

Στον μεταβολισμό των υδατανθράκων, τα επίπεδα του δισακχαρίτη τρεχαζόλη παρουσίασαν σημαντικές διακυμάνσεις ανάλογα με το είδος της λίπανσης και τα επίπεδα αλατότητας. Συγκεκριμένα, οι επεμβάσεις NPK-HS οδήγησαν σε αυξημένα επίπεδα τρεχαζόλης. Η αύξηση αυτή υποδηλώνει ότι ο τρεχαζόλης διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην ανθεκτικότητα του φυτού σε συνθήκες στρες, δρώντας ως χημικός συνοδός και προστατεύοντας τα κύτταρα από το οσμωτικό σοκ, την ξηρασία και άλλες αντίξοες συνθήκες. Ο κύκλος Krebs, ο οποίος είναι ζωτικής σημασίας για την παραγωγή ενέργειας και την παροχή ενδιάμεσων προϊόντων για βιοσυνθετικά μονοπάτια, επίσης επηρεάστηκε σημαντικά. Η αλατότητα αύξησε τα επίπεδα κιτρικού, μηλικού και φουμαρικού οξέος στα φύλλα τριγωνέλλας. Ιδιαίτερα, η υψηλή αλατότητα σε συνδυασμό με την επέμβαση NPK προκάλεσε τις μεγαλύτερες αυξήσεις σε αυτά τα οργανικά οξέα, ενώ οι βιολογικές λιπάνσεις παρουσίασαν μικρότερες διακυμάνσεις. Αυτό το αποτέλεσμα υποδεικνύει ότι ο κύκλος Krebs και τα οργανικά οξέα έχουν προστατευτικό ρόλο σε συνθήκες αλατότητας, βοηθώντας το φυτό να διατηρήσει την ενέργεια και να μετριάσει τις τοξικές επιδράσεις των υψηλών επιπέδων αλατότητας. Επιπλέον, ο μεταβολισμός των αμινοξέων έδειξε σημαντικές αλλαγές υπό την επίδραση της αλατότητας και της λίπανσης. Τα επίπεδα αμινοξέων όπως η L-προλίνη, η γλυκίνη και η β-αλανίνη αυξήθηκαν σε συνθήκες υψηλής αλατότητας. Η L-προλίνη, γνωστή για τον ρόλο της ως οσμωπροστατευτικό, συμβάλλει στη σταθεροποίηση και προστασία της κυτταρικής μεμβράνης, των ενζύμων και των πρωτεϊνών υπό συνθήκες στρες. Η γλυκίνη, εμπλεκόμενη στη σύνθεση πρωτεϊνών και άλλων βιομορίων όπως η χλωροφύλλη και η γλουταθειόνη, αυξήθηκε επίσης, υποδεικνύοντας τον ρόλο της στην ενίσχυση της ανθεκτικότητας του φυτού στο αλατούχο στρες. Η β-αλανίνη, εμπλεκόμενη στη σύνθεση του παντοθενικού οξέος και του συνενζύμου A, παρουσίασε αυξημένη συγκέντρωση σε συνθήκες υψηλής αλατότητας, υποστηρίζοντας τον ρόλο της στην προσαρμογή των φυτών στο στρες. Το φυτό τριγωνέλλας δεν υφίσταται τόσο μεγάλη καταπόνηση με τις βιολογικές λιπάνσεις, όπως φάνηκε από τις μικρότερες διακυμάνσεις στους μεταβολίτες και τα ένζυμα σε σύγκριση με τις ανόργανες λιπάνσεις υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας.

Συνολικά, τα αποτελέσματα της έρευνας υποδεικνύουν την παρουσία διαφόρων αμυντικών μηχανισμών που ενεργοποιούνται στα φυτά τριγωνέλλας ως απόκριση στην αλατότητα. Η αυξημένη συγκέντρωση οργανικών οξέων και η ενισχυμένη μεταβολική δραστηριότητα ενδέχεται να συμβάλλουν στη διατήρηση της ενδοκυτταρικής ισορροπίας ιόντων και στην εξουδετέρωση των αρνητικών επιπτώσεων της οσμωτικής καταπόνησης. Αυτοί οι μηχανισμοί προσαρμογής καθιστούν το φυτό πιο ανθεκτικό στις αντίξοες συνθήκες, βελτιώνοντας την επιβίωση και την ανάπτυξή του σε περιβάλλοντα με υψηλή αλατότητα.

9 Γενικά συμπεράσματα και πρωτοτυπία διατριβής

Γενικά Συμπεράσματα

Στις 3 καλλιεργητικές περιόδους, οι επεμβάσεις βιολογικής και ανόργανης λίπανσης καθώς και τα επίπεδα αλατότητας επηρέασαν στατιστικά σημαντικά την ανάπτυξη και τις αποδόσεις τριγωνέλλας. Ένα από τα βασικά ευρήματα της έρευνας είναι η αποτελεσματικότητα της βιολογικής λίπανσης στη βελτίωση της ποιότητας του εδάφους, με έμφαση στο βιοκυκλικό χουμόχωμα (BHS). Η εφαρμογή αυτού του τύπου λίπανσης οδήγησε σε αυξημένη συγκέντρωση οργανικής ουσίας και βελτιωμένη σταθερότητα των συσσωματωμάτων του εδάφους, συμβάλλοντας θετικά στην ανάπτυξη των φυτών και στην απόδοση της καλλιέργειας. Αυτά τα αποτελέσματα αναδεικνύουν τη σημασία της βιολογικής λίπανσης, ειδικά σε περιβάλλοντα με υψηλή αλατότητα.

Επιπλέον, η σύγκριση μεταξύ βιολογικής και ανόργανης λίπανσης ανέδειξε τα πλεονεκτήματα της βιολογικής προσέγγισης. Η βιολογική λίπανση προσφέρει σημαντικά οφέλη, όπως υψηλότερες συγκεντρώσεις αζώτου στο έδαφος και καλύτερη αξιοποίηση των θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά. Οι θετικές συσχετίσεις μεταξύ του εδαφικού αζώτου και της θρέψης των φυτών υπογραμμίζουν τη σημασία της ορθής διαχείρισης του αζώτου για την επίτευξη υψηλών αποδόσεων και ποιοτικής παραγωγής.

Παράλληλα, η έρευνα έδειξε ότι τα φυτά της τριγωνέλλας αναπτύσσουν ισχυρούς προσαρμοστικούς μηχανισμούς ως απάντηση στην αλατότητα. Αυτοί οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν την αύξηση της συγκέντρωσης οργανικών οξέων και την ενίσχυση της μεταβολικής δραστηριότητας, γεγονός που επιτρέπει στα φυτά να διατηρούν την ενδοκυτταρική ισορροπία ιόντων και να αντιμετωπίζουν τις αρνητικές επιπτώσεις της οσμωτικής καταπόνησης. Αυτό ενισχύει την ανθεκτικότητα των φυτών και την ικανότητά τους να επιβιώνουν σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες.

Αξιοσημείωτη είναι επίσης η αναγνώριση της τριγωνέλλας ως μια πολύτιμη καλλιέργεια για ζωοτροφή, ιδιαίτερα σε περιοχές με υψηλή αλατότητα. Η έρευνα αξιολόγησε την ποιότητα της τριγωνέλλας σε θρεπτικά στοιχεία, όπως η πρωτεΐνη, και υπογράμμισε την αξία της ως εναλλακτική λύση για ζωοτροφή σε περιβάλλοντα με περιορισμούς λόγω αλατότητας του εδάφους.

Επιπλέον, η ανάλυση των δευτερογενών μεταβολιτών της τριγωνέλλας, που είναι σημαντικοί για την ανθρώπινη κατανάλωση, έδειξε ότι δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τις διαφορετικές πρακτικές λίπανσης. Ωστόσο, αυτό το αποτέλεσμα πιθανόν οφείλεται στις συνθήκες αποθήκευσης, οι οποίες μπορεί να έχουν επηρεάσει την σταθερότητα και την ποιότητα των μεταβολιτών.

Τα αποτελέσματα αυτής της διατριβής προσφέρουν νέες προοπτικές για τη βιώσιμη γεωργία, υπογραμμίζοντας τη σημασία της ενσωμάτωσης βιολογικών πρακτικών λίπανσης και της καλλιέργειας φυτών ανθεκτικών σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες. Τα αποτελέσματα μπορούν να φανούν χρήσιμα για την ανάπτυξη στρατηγικών που προωθούν την αειφορία και τη βιωσιμότητα των γεωργικών συστημάτων, ειδικά σε περιοχές που αντιμετωπίζουν προβλήματα αλατότητας. Η τριγωνέλλα αποτελεί ένα χαρακτηριστικό

παράδειγμα φυτού που μπορεί να αξιοποιηθεί σε τέτοια περιβάλλοντα, συμβάλλοντας ουσιαστικά στη διατήρηση και ενίσχυση της γεωργικής παραγωγής.

Πρωτοτυπία διατριβής

Η παρούσα διατριβή χαρακτηρίζεται από αρκετές καινοτόμες προσεγγίσεις που την καθιστούν σημαντική συμβολή στον τομέα της γεωπονικής επιστήμης. Ένα από τα βασικά στοιχεία της πρωτοτυπίας της διατριβής είναι η *in situ* αξιολόγηση του βιοκυκλικού χουμοχώματος σε πειράματα αγρού. Το βιοκυκλικό πρότυπο, το οποίο επικεντρώνεται στη χρήση αποκλειστικά φυτικών υλικών και στην αποφυγή ζωικών παραγόντων, προωθεί την αειφορία και την οικολογική σταθερότητα των καλλιεργειών. Η εισαγωγή αυτού του προτύπου σε πραγματικές αγροτικές συνθήκες παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για τη βιωσιμότητα των καλλιεργειών σε διάφορα περιβάλλοντα.

Ένας ακόμη σημαντικός καινοτόμος άξονας της διατριβής είναι η διερεύνηση των δευτερογενών μεταβολιτών της τριγωνέλλας. Η εξέταση αυτών των μεταβολιτών είναι κρίσιμη για την κατανόηση των αμυντικών μηχανισμών που αναπτύσσει το φυτό, ειδικά σε περιβάλλοντα με υψηλή αλατότητα. Η συγκεκριμένη ανάλυση ενισχύει τη γνώση μας σχετικά με τη βιοχημεία της τριγωνέλλας και την ικανότητά της να προσαρμόζεται σε δύσκολες περιβαλλοντικές συνθήκες.

Στο πλαίσιο της διατριβής, αναδεικνύεται επίσης η σημασία της *retroinnovation* στη γεωργία. Η σύγχρονη γεωργία αντιμετωπίζει προκλήσεις, μία εκ των οποίων είναι η αυξανόμενη αλατότητα των εδαφών, γεγονός που καθιστά αναγκαία την επανεξέταση παραδοσιακών καλλιεργειών με βάση τις νέες επιστημονικές γνώσεις. Η τριγωνέλλα, ως μια τέτοια παραδοσιακή καλλιέργεια, επανεξετάζεται για τη δυνατότητά της να προσφέρει υψηλής ποιότητας ζωοτροφές και να προσαρμόζεται σε εδάφη με αυξημένη αλατότητα.

Επιπλέον, η διατριβή πρωτοπορεί στη μελέτη της τριγωνέλλας ως ζωοτροφή, αξιολογώντας την ποιότητα και την απόδοση της καλλιέργειας υπό διαφορετικές συνθήκες λίπανσης και αλατότητας. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στην επίδραση της αλατότητας στην περιεκτικότητα της τριγωνέλλας σε πρωτεΐνη και άλλες θρεπτικές ουσίες, με στόχο τη βελτίωση της ποιότητας των ζωοτροφών και τη συμβολή στη βιωσιμότητα της κτηνοτροφίας.

Ένα από τα πιο κρίσιμα στοιχεία της πρωτοτυπίας της διατριβής είναι η σύγκριση των τύπων λίπανσεων μέσω της χρήσης δεικτών αζώτου. Αυτή η σύγκριση αποκαλύπτει το κατάλληλο σύστημα καλλιέργειας που προσφέρει την καλύτερη αξιοποίηση του εφαρμοζόμενου αζώτου, μια πληροφορία που είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών και περιβαλλοντικά φιλικών συστημάτων λίπανσης.

Συνολικά, η διατριβή προσφέρει νέες προοπτικές στη βιώσιμη γεωργία και στη δυνατότητα καλλιέργειας της τριγωνέλλας σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, συνδυάζοντας παραδοσιακές μεθόδους με σύγχρονη επιστημονική γνώση.

10 Βιβλιογραφία

1. Acharya, S., J. Thomas, and S. Basu, *Fenugreek: an "old world" crop for the "new world"*. Biodiversity, 2006. **7**(3-4): p. 27-30.
2. Acharya, S., S. Basu, and J. Thomas, *Medicinal properties of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.): a review of the evidence based information*. 2007.
3. Dangi, R., S. Tamhankar, R.K. Choudhary, and S. Rao, *Molecular phylogenetics and systematics of Trigonella L.(Fabaceae) based on nuclear ribosomal ITS and chloroplast trn L intron sequences*. Genetic resources and crop evolution, 2016. **63**: p. 79-96.
4. Zandi, P., A. Shirani-Rad, and L. Bazrkar-Khatibani, *Agronomic study of fenugreek grown under different in-row spacing and nitrogen levels in a paddy field of Iran*. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 2011. **10**: p. 544-550.
5. Solorio-Sánchez, F., et al., *Opportunities to grow annual forage legume fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) under mexican sylvopastoral system*. American Journal of Social Issues and Humanities, 2014: p. 86-95.
6. Basu, A., et al., *Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.), a potential new crop for Latin America*. American Journal of Social Issues and Humanities, 2014. **4**(3): p. 148-162.
7. Basu, S. and G. Agoramoorthy, *Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L): Production challenges and opportunities for Asia, Africa and Latin America*. American Journal of Social Issues and Humanities, 2014: p. 1-2.
8. Basu, S., P. Zandi, and W. Cetzal-Ix, *Opportunities for fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) as a chemurgic crop in the emergent global nutraceutical and functional food industries*. International Journal on Agricultural Sciences, 2017. **8**(1): p. 9-13.
9. Zandi, P., A. Shirani-Rad, J. Daneshian, and L. Bazrkar-Khatibani, *Agronomic and morphologic analysis of Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) under nitrogen fertilizer and plant density via factor analysis*. African Journal of Agricultural Research, 2011. **6**(5): p. 1134-1140.
10. Basu, S., et al., *Effects of genotype and environment on seed and forage yield in fenugreek ('Trigonella foenum-graecum L.') grown in western Canada*. Australian Journal of Crop Science, 2009. **3**(6): p. 305-314.
11. Basu, S., S. Acharya, and J. Thomas, *Production of high quality fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. 2009, VDM Verlag, Germany.
12. Basu, S.K., S.N. Acharya, and J.E. Thomas, *Application of phosphate fertilizer and harvest management for improving fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) seed and forage yield in a dark brown soil zone of Canada*. crops, 2008. **4**: p. 6.
13. Basu, S.K., S.N. Acharya, and J.E. Thomas, *Genetic improvement of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) through EMS induced mutation breeding for higher seed yield under western Canada prairie conditions*. Euphytica, 2008. **160**: p. 249-258.
14. Basu, S., S. Acharya, and J. Thomas. *Colchicine treatment produces genetic improvement in fenugreek seed size and yield*. Graduates studies Association (GSA). in *Proceedings Multidisciplinary Graduate Research Conference*. 2007.
15. Acharya, S., K. Acharya, S. Paul, and S. Basu, *Antioxidant and antileukemic properties of selected fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) genotypes grown in western Canada*. Canadian Journal of Plant Science, 2011. **91**(1): p. 99-105.
16. Basu, S.K., S.N. Acharya, and J.E. Thomas, *A report on powdery mildew infestations caused by Erysiphe polygoni DC in North American grown fenugreek*. 2006.
17. Zandi, P., et al., *Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) seed: a review of physiological and biochemical properties and their genetic improvement*. Acta Physiologiae Plantarum, 2015. **37**: p. 1-14.
18. Acharya, K., N. Chakraborty, S. Chatterjee, and S.K. Basu, *Fungal diseases of fenugreek*. American journal of social issues and humanities, ISSN, 2014: p. 2276-6928.

19. Basu, S., S. Acharya, and J. Thomas. *R2: FOLIAR SPRAY TO IMPROVE FENUGREEK SEED YIELD AND REDUCE MATURITY DURATION*. in *Multidisciplinary Graduate Research Conference University of Lethbridge April 2007*. 2007.
20. Acharya, S., J. Thomas, and S. Basu, *Fenugreek, an alternative crop for semiarid regions of North America*. *Crop science*, 2008. **48**(3): p. 841-853.
21. Hardman, R. and F. Fazli, *Studies in the steroidal sapogenin yield from Trigonella foenumgraecum seed*. *Planta medica*, 1972. **21**(03): p. 322-328.
22. Acharya, S., S. Basu, S.D. Banik, and R. Prasad, *Genotype X environment interactions and its impact on use of medicinal plants*. *The Open Nutraceuticals Journal*, 2010. **3**(1).
23. Fedacko, J., et al., *Fenugreek seeds decrease blood cholesterol and blood glucose as adjunct to diet therapy in patients with hypercholesterolemia*. *World Heart Journal*, 2016. **8**(3): p. 239.
24. Roberts, K.T., *The potential of fenugreek (Trigonella foenum-graecum) as a functional food and nutraceutical and its effects on glycemia and lipidemia*. *Journal of medicinal food*, 2011. **14**(12): p. 1485-1489.
25. Mehra, P., R. Yadav, and R. Kamal, *Influence of nicotinic acid on production of trigonelline from Trigonella polycerata tissue culture*. 1996.
26. Abdou, R.M. and M. Fathey, *Evaluation of early postpartum fenugreek supplementation on expressed breast milk volume and prolactin levels variation*. *Egyptian Pediatric Association Gazette*, 2018. **66**(3): p. 57-60.
27. Upadhyay, B., A.K. Dhaker, and A. Kumar, *Ethnomedicinal and ethnopharmaco-statistical studies of Eastern Rajasthan, India*. *Journal of ethnopharmacology*, 2010. **129**(1): p. 64-86.
28. Younesy, S., et al., *Effects of fenugreek seed on the severity and systemic symptoms of dysmenorrhea*. *Journal of reproduction & infertility*, 2014. **15**(1): p. 41.
29. Sadeghi, Z. and A. Mahmood, *Ethno-gynecological knowledge of medicinal plants used by Baluch tribes, southeast of Baluchistan, Iran*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2014. **24**: p. 706-715.
30. Masoumi, S.Z., et al., *Effects of fenugreek seeds on the severity and duration of pain in primary dysmenorrhea in the students at Hamadan University of Medical sciences, Iran (2016)*. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility*, 2018. **21**(4): p. 25-33.
31. Khanna, A., et al., *Efficacy of a novel extract of fenugreek seeds in alleviating vasomotor symptoms and depression in perimenopausal women: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study*. *Journal of Food Biochemistry*, 2020. **44**(12): p. e13507.
32. Singh, P., A. Raj, and B. Yadav, *Impacts of agriculture-based contaminants on groundwater quality, in Sustainability of Water Resources*. 2022, Springer. p. 249-261.
33. Ouzir, M., K. El Bairi, and S. Amzazi, *Toxicological properties of fenugreek (Trigonella foenum graecum)*. *Food and Chemical Toxicology*, 2016. **96**: p. 145-154.
34. Reganold, J.P. and J.M. Wachter, *Organic agriculture in the twenty-first century*. *Nature plants*, 2016. **2**(2): p. 1-8.
35. Rös, E., et al., *Risks and opportunities of increasing yields in organic farming. A review*. *Agronomy for sustainable development*, 2018. **38**: p. 1-21.
36. Connor, D.J. and M.I. Mínguez, *Evolution not revolution of farming systems will best feed and green the world*. *Global Food Security*, 2012. **1**(2): p. 106-113.
37. Kirchmann, H., et al., *Can organic crop production feed the world? Organic crop production—Ambitions and limitations*, 2008: p. 39-72.
38. Bommarco, R., D. Kleijn, and S.G. Potts, *Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security*. *Trends in ecology & evolution*, 2013. **28**(4): p. 230-238.
39. Ponisio, L.C., et al., *Diversification practices reduce organic to conventional yield gap*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2015. **282**(1799): p. 20141396.
40. Bilalis, D.J. and A.J. Karamanos, *Organic maize growth and mycorrhizal root colonization response to tillage and organic fertilization*. *Journal of Sustainable Agriculture*, 2010. **34**(8): p. 836-849.
41. Manna, M.C., et al., *Organic farming: A prospect for food, environment and livelihood security in Indian agriculture*. *Advances in Agronomy*, 2021. **170**: p. 101-153.
42. Luttikholt, L.W.M., *Principles of organic agriculture as formulated by the International Federation of Organic Agriculture Movements*. *NJAS: Wageningen Journal of Life Sciences*, 2007. **54**(4): p. 347-360.

43. IFOAM, *Principles of organic agriculture*, International Federation of Organic Agriculture Movements, Bonn. <http://www.ifoam.org/>, 2005
44. Emmerson, M., et al., *How agricultural intensification affects biodiversity and ecosystem services*, in *Advances in ecological research*. 2016, Elsevier. p. 43-97.
45. Tuck, S.L., et al., *Land-use intensity and the effects of organic farming on biodiversity: a hierarchical meta-analysis*. *Journal of applied ecology*, 2014. **51**(3): p. 746-755.
46. Reay, D.S., et al., *Global agriculture and nitrous oxide emissions*. *Nature climate change*, 2012. **2**(6): p. 410-416.
47. Spångberg, J., *Recycling plant nutrients from waste and by-products*. 2014.
48. SBA, S., SS, SFA *Hållbarhet i svenskt jordbruk 2012 ("Sustainability in Swedish agriculture 2012")*. . Swedish Board of Agriculture, the Swedish Environmental Protection Agency, Statistics Sweden and the Federation of Swedish Farmers. ISBN 9789161815708 2012.
49. Doltra, J., M. Lægdsmand, and J.E. Olesen, *Cereal yield and quality as affected by nitrogen availability in organic and conventional arable crop rotations: a combined modeling and experimental approach*. *European Journal of Agronomy*, 2011. **34**(2): p. 83-95.
50. Delin, S. and M. Stenberg, *Effect of nitrogen fertilization on nitrate leaching in relation to grain yield response on loamy sand in Sweden*. *European Journal of Agronomy*, 2014. **52**: p. 291-296.
51. Webb, J., et al., *An assessment of the variation of manure nitrogen efficiency throughout Europe and an appraisal of means to increase manure-N efficiency*. *Advances in agronomy*, 2013. **119**: p. 371-442.
52. Smith, P., et al., *Global change pressures on soils from land use and management*. *Global change biology*, 2016. **22**(3): p. 1008-1028.
53. Kakabouki, I.P., et al., *Influence of fertilization and soil tillage on nitrogen uptake and utilization efficiency of quinoa crop (Chenopodium quinoa Willd.)*. *Journal of soil science and plant nutrition*, 2018. **18**(1): p. 220-235.
54. Tabaxi, I., et al., *Effect of organic fertilization on soil characteristics, yield and quality of Virginia Tobacco in Mediterranean area*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2020. **32**(8): p. 610-616.
55. Gattinger, A., et al., *Enhanced top soil carbon stocks under organic farming*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012. **109**(44): p. 18226-18231.
56. Bindraban, P.S., et al., *Revisiting fertilisers and fertilisation strategies for improved nutrient uptake by plants*. *Biology and Fertility of Soils*, 2015. **51**(8): p. 897-911.
57. Wiesler, F., *Nutrition and quality*, in *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. 2012, Elsevier. p. 271-282.
58. Marles, R.J., *Mineral nutrient composition of vegetables, fruits and grains: The context of reports of apparent historical declines*. *Journal of food composition and analysis*, 2017. **56**: p. 93-103.
59. Mie, A., et al., *Human health implications of organic food and organic agriculture: a comprehensive review*. *Environmental Health*, 2017. **16**: p. 1-22.
60. Treutter, D., *Managing phenol contents in crop plants by phytochemical farming and breeding—visions and constraints*. *International journal of molecular sciences*, 2010. **11**(3): p. 807-857.
61. Del Rio, D., et al., *Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases*. *Antioxidants & redox signaling*, 2013. **18**(14): p. 1818-1892.
62. Nemes, N., *Comparative analysis of organic and non-organic farming systems: A critical assessment of farm profitability*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2009. **33**.
63. Crowder, D.W. and J.P. Reganold, *Financial competitiveness of organic agriculture on a global scale*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015. **112**(24): p. 7611-7616.
64. Nemecek, T., N. Jungbluth, L.M. i Canals, and R. Schenck, *Environmental impacts of food consumption and nutrition: where are we and what is next?* *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 2016. **21**: p. 607-620.
65. Tukker, A. and B. Jansen, *Environmental impacts of products: A detailed review of studies*. *Journal of Industrial Ecology*, 2006. **10**(3): p. 159-182.
66. Willett, W., et al., *Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems*. *The lancet*, 2019. **393**(10170): p. 447-492.
67. Hallström, E., A. Carlsson-Kanyama, and P. Börjesson, *Environmental impact of dietary change: a systematic review*. *Journal of cleaner production*, 2015. **91**: p. 1-11.

68. Eker, S., G. Reese, and M. Obersteiner, *Modelling the drivers of a widespread shift to sustainable diets*. Nature Sustainability, 2019. **2**(8): p. 725-735.
69. Masson-Delmotte, V., et al., *Climate change and land*. IPCC Report, 2019.
70. Derbyshire, E.J., *Flexitarian diets and health: a review of the evidence-based literature*. Frontiers in nutrition, 2017. **3**: p. 231850.
71. Craig, W.J., *Vegetarian Nutrition and Wellness*. 2018.
72. Chai, B.C., et al., *Which diet has the least environmental impact on our planet? A systematic review of vegan, vegetarian and omnivorous diets*. Sustainability, 2019. **11**(15): p. 4110.
73. Baroni, L., L. Cenci, M. Tettamanti, and M. Berati, *Evaluating the environmental impact of various dietary patterns combined with different food production systems*. European journal of clinical nutrition, 2007. **61**(2): p. 279-286.
74. Jürkenbeck, K., L. Schleicher, and S.G. Meyerding, *Marketing potential for biocyclic-vegan products? A qualitative, explorative study with experts and consumers*. German Journal of Agricultural Economics, 2019. **68**(4): p. 289-298.
75. Fita, A., et al., *Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: a new paradigm for increasing food production*. Frontiers in Plant Science, 2015. **6**: p. 978.
76. Zhang, X., et al., *Salt stress increases content and size of glutenin macropolymers in wheat grain*. Food Chemistry, 2016. **197**: p. 516-521.
77. Qian, D., et al., *OsFes1C, a potential nucleotide exchange factor for OsBiP1, is involved in the ER and salt stress responses*. Plant Physiology, 2021. **187**(1): p. 396-408.
78. Ashraf, M. and P.J. Harris, *Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants*. Plant science, 2004. **166**(1): p. 3-16.
79. Hussain, K., A. Majeed, K. Nawaz, and M.F. Nisar, *Effect of different levels of salinity on growth and ion contents of black seeds (Nigella sativa L.)*. Current Research Journal of Biological Sciences, 2009. **1**(3): p. 135-138.
80. Colla, G., Y. Roupshael, C. Leonardi, and Z. Bie, *Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions*. Scientia Horticulturae, 2010. **127**(2): p. 147-155.
81. De Pascale, S., et al., *Increasing water use efficiency in vegetable crop production: from plant to irrigation systems efficiency*. HortTechnology, 2011. **21**(3): p. 301-308.
82. Munns, R. and M. Gilliham, *Salinity tolerance of crops—what is the cost?* New phytologist, 2015. **208**(3): p. 668-673.
83. Acosta-Motos, J.R., et al., *The long-term resistance mechanisms, critical irrigation threshold and relief capacity shown by Eugenia myrtifolia plants in response to saline reclaimed water*. Plant Physiology and Biochemistry, 2017. **111**: p. 244-256.
84. Acosta-Motos, J.R., et al., *Changes in growth, physiological parameters and the hormonal status of Myrtus communis L. plants irrigated with water with different chemical compositions*. Journal of Plant Physiology, 2016. **191**: p. 12-21.
85. Cirillo, C., et al., *Effects of high salinity and the exogenous application of an osmolyte on growth, photosynthesis, and mineral composition in two ornamental shrubs*. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2016. **91**(1): p. 14-22.
86. Yang, Q., et al., *The role of Arabidopsis inositol polyphosphate kinase AtIPK2B in glucose suppression of seed germination and seedling development*. Plant and Cell Physiology, 2018. **59**(2): p. 343-354.
87. Yang, Y. and Y. Guo, *Unraveling salt stress signaling in plants*. Journal of integrative plant biology, 2018. **60**(9): p. 796-804.
88. Munns, R. and M. Tester, *Mechanisms of salinity tolerance*. Annu. Rev. Plant Biol., 2008. **59**(1): p. 651-681.
89. Tang, X., et al., *Global plant-responding mechanisms to salt stress: physiological and molecular levels and implications in biotechnology*. Critical reviews in biotechnology, 2015. **35**(4): p. 425-437.
90. Munns, R., *Genes and salt tolerance: bringing them together*. New phytologist, 2005. **167**(3): p. 645-663.
91. Koyro, H.-W., *Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte Plantago coronopus (L.)*. Environmental and Experimental Botany, 2006. **56**(2): p. 136-146.

92. Stepien, P. and G.N. Johnson, *Contrasting responses of photosynthesis to salt stress in the glycophyte Arabidopsis and the halophyte Thellungiella: role of the plastid terminal oxidase as an alternative electron sink*. Plant physiology, 2009. **149**(2): p. 1154-1165.
93. Poorter, H., Larcher, W. *Physiological plant ecology*. 4th edn. 2004, Oxford University Press.
94. Munns, R. and A. Termaat, *Whole-plant responses to salinity*. Functional Plant Biology, 1986. **13**(1): p. 143-160.
95. Hernández, J.A. and M.S. Almansa, *Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves*. Physiologia Plantarum, 2002. **115**(2): p. 251-257.
96. Parida, A.K. and A.B. Das, *Salt tolerance and salinity effects on plants: a review*. Ecotoxicology and environmental safety, 2005. **60**(3): p. 324-349.
97. Flowers, T.J. and T.D. Colmer, *Plant salt tolerance: adaptations in halophytes*. Annals of botany, 2015. **115**(3): p. 327-331.
98. Marschner, H., *Mineral nutrition of higher plants 2nd edn*. Institute of Plant Nutrition University of Hohenheim: Germany, 1995.
99. Hernández, J.A., et al., *The effect of calcium on the antioxidant enzymes from salt-treated loquat and anger plants*. Functional Plant Biology, 2003. **30**(11): p. 1127-1137.
100. Hernandez, J.A., et al., *Salt-induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria*. Physiologia Plantarum, 1993. **89**(1): p. 103-110.
101. Mittova, V., M. Guy, M. Tal, and M. Volokita, *Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species Lycopersicon pennellii*. Journal of experimental botany, 2004. **55**(399): p. 1105-1113.
102. Brown, J.J. and E.P. Glenn, *Reuse of highly saline aquaculture effluent to irrigate a potential forage halophyte, Suaeda esteroa*. Aquacultural Engineering, 1999. **20**(2): p. 91-111.
103. Song, J., et al., *Ecophysiological responses of the euhalophyte Suaeda salsa to the interactive effects of salinity and nitrate availability*. Aquatic botany, 2009. **91**(4): p. 311-317.
104. Colmer, T.D., F. Teresa WM, A. Läuchli, and R.M. Higashi, *Interactive effects of salinity, nitrogen and sulphur on the organic solutes in Spartina alterniflora leaf blades*. Journal of Experimental Botany, 1996. **47**(3): p. 369-375.
105. Song, J., X. Ding, G. Feng, and F. Zhang, *Nutritional and osmotic roles of nitrate in a euhalophyte and a xerophyte in saline conditions*. New Phytologist, 2006. **171**(2): p. 357-366.
106. Ma, Y., et al., *Adaptation of euhalophyte Suaeda salsa to nitrogen starvation under salinity*. Plant Physiology and Biochemistry, 2020. **146**: p. 287-293.
107. Talelis, D., *Cultivation of legumes*. Agricultural College of Athens, Athens (in Greek), 1967: p. 101-105.
108. Duke, J., *Handbook of legumes of world economic importance*. 2012: Springer Science & Business Media.
109. Del Gaudio, S., *Biologia Fiorale Della Trigonella Phoenicum-Graecum L*. Plant Biosystem, 1952. **59**(1): p. 88-105.
110. Rouk, H.F. and H. Mengesha, *Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.): Its relationships, geography and economic importance*. 1963: Imperial Ethiopian College of Agriculture and Mechanical Arts.
111. Rosengarten, F., *The Book of Spices*, Livingston. 1969, Wynn wood, Penns. USA.
112. Heeger, E.F., *Handbuch des Arznei-und Gewürzpflanzenbaues: Drogengewinnung*. (No Title), 1956.
113. Petropoulos, G.A., *Cultivation*, in *Fenugreek*. 2002, CRC Press. p. 26-72.
114. Korla, B. and A.S. Amit Saini, *Effect of dates of sowing and cutting on seed yield of fenugreek*. 2003.
115. Baswana, K. and M. Pandita, *Effect of time of sowing and row-spacing on seed yield of fenugreek*. 1989.
116. Slinkard, A., et al., *Fenugreek in Saskatchewan*. Saskatchewan Agriculture and Food, 2006.
117. Moyer, J., S. Acharya, Z. Mir, and R. Doram, *Weed management in irrigated fenugreek grown for forage in rotation with other annual crops*. Canadian Journal of Plant Science, 2003. **83**(1): p. 181-188.
118. Mir, Z., et al., *Comparison of alfalfa and fenugreek (Trigonella foenum-graecum) silages supplemented with barley grain on performance of growing steers*. Canadian journal of animal science, 1998. **78**(3): p. 343-349.
119. Khiriya, K., B. Singh, and K. Taneja, *Effect of farm yard manure and phosphorus levels on yield, quality and nutrient uptake by fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. 2003.

120. Detoroja, H., N. Sukhadia, and D. Malavia, *Yield and nutrient uptake by fenugreek (Trigonella foenum-graecum)*. Indian J. Agron, 1995. **40**(1): p. 160-161.
121. Petropoulos, G., *Agronomic, genetic and chemical studies of Trigonella foenum-graecum L.* PhD. Diss. Bath University, England, 1973.
122. Mølgaard, P. and R. Hardman, *Boron requirement and deficiency symptoms of fenugreek (Trigonella foenum-graecum) as shown in a water culture experiment with inoculation of Rhizobium*. The Journal of Agricultural Science, 1980. **94**(2): p. 455-460.
123. Choudhary, B., et al., *Effect of integrated nutrient management on fenugreek (Trigonella foenum-graecum) and its residual effect on fodder pearl millet (Pennisetum glaucum)*. Indian Journal of Agronomy, 2011. **56**(3): p. 189-195.
124. Tunçtürk, R., A.E. Celen, and M. Tunçtürk, *The effects of nitrogen and sulphur fertilizers on the yield and quality of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. Turkish Journal of Field Crops, 2011. **16**(1): p. 69-75.
125. Jagdale, Y. and P. Dalve, *Effect of nitrogen and phosphorus levels on growth, flowering and pod formation of fenugreek*. 2010.
126. Arani, A., S. Modarres-Sanavy, M. Boojar, and A. Bidgoli, *Effect of application of zeolite and nitrogen fertilization on growth, seed yield and water productivity of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) under drought stress conditions*. 2017.
127. Dashora, L., S. Mundra, J. Choudhary, and P. Choudhary, *Effect of inorganic and organic sources of fertilization on productivity of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) under agro-climatic conditions of Southern Rajasthan*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2019. **8**(4): p. 1886-1888.
128. Dadrasan, M., et al., *Deficit irrigation and biological fertilizer influence on yield and trigonelline production of fenugreek*. Industrial Crops and Products, 2015. **77**: p. 156-162.
129. Mitoo, M., M.H.K. Sujan, and F. Islam, *Effect of phosphorous and sulphur fertilization on vegetative growth of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. Int. J. Develop. Sustain, 2017. **6**(12): p. 2208-2226.
130. Bitarafan, Z., et al., *The effect of charcoal on medicinal compounds of seeds of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) exposed to drought stress*. Industrial Crops and Products, 2019. **131**: p. 323-329.
131. Rondon, M., J. Ramirez, and J. Lehmann. *Charcoal additions reduce net emissions of greenhouse gases to the atmosphere*. in *Proceedings of the 3rd USDA Symposium on Greenhouse Gases and Carbon Sequestration in Agriculture and Forestry*. 2005. USDA Baltimore.
132. Spokas, K., W. Koskinen, J. Baker, and D. Reicosky, *Impacts of woodchip biochar additions on greenhouse gas production and sorption/degradation of two herbicides in a Minnesota soil*. Chemosphere, 2009. **77**(4): p. 574-581.
133. Rondon, M.A., J. Lehmann, J. Ramirez, and M. Hurtado, *Biological nitrogen fixation by common beans (Phaseolus vulgaris L.) increases with bio-char additions*. Biology and fertility of soils, 2007. **43**: p. 699-708.
134. Warnock, D.D., J. Lehmann, T.W. Kuyper, and M.C. Rillig, *Mycorrhizal responses to biochar in soil—concepts and mechanisms*. Plant and soil, 2007. **300**: p. 9-20.
135. Chaichi, M.R., et al., *Effect of bio fertilizers on the growth, productivity and nutrient absorption of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. International Journal of Agriculture Innovations and Research, 2015. **3**(5): p. 2319-1473.
136. Jha, U.C., A. Bohra, R. Jha, and S.K. Parida, *Salinity stress response and 'omics' approaches for improving salinity stress tolerance in major grain legumes*. Plant cell reports, 2019. **38**: p. 255-277.
137. Tian, X., et al., *Will reaching the maximum achievable yield potential meet future global food demand?* Journal of Cleaner Production, 2021. **294**: p. 126285.
138. Yadav, R.K., et al., *Genome editing and improvement of abiotic stress tolerance in crop plants*. Life, 2023. **13**(7): p. 1456.
139. Hasanuzzaman, M., et al., *Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants*. International journal of molecular sciences, 2013. **14**(5): p. 9643-9684.
140. Zaghdoudi, M., et al., *Inhibition of photosystems I and II activities in salt stress-exposed Fenugreek (Trigonella foenum-graecum)*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2011. **105**(1): p. 14-20.
141. Shabala, S. and L. Shabala, *Ion transport and osmotic adjustment in plants and bacteria*. 2011.

142. Gopal Amuthaselvi, G.A. and D.C. Ambrose, *Fenugreek*, in *Leafy medicinal herbs: botany, chemistry, postharvest technology and uses*. 2016, CABI Wallingford UK. p. 133-138.
143. Tramontano, W.A. and D. Jouve, *Trigonelline accumulation in salt-stressed legumes and the role of other osmoregulators as cell cycle control agents*. *Phytochemistry*, 1997. **44**(6): p. 1037-1040.
144. Banakar, M.H., H. Amiri, M.R.S. Ardakani, and G.H. Ranjbar, *Susceptibility and tolerance of fenugreek (Trigonella foenum-graceum L.) to salt stress: Physiological and biochemical inspections*. *Environmental and Experimental Botany*, 2022. **194**: p. 104748.
145. Agarwal, R.R. and R. Gupta, *Saline-alkali soils in India*. 1968.
146. Chowdhury, M., et al., *Productivity of fenugreek varieties (Trigonella foenum-graecum L.) in the coastal saline areas of Noakhali*. 2014.
147. Ratnakar, A. and A. Rai, *Effect of sodium chloride salinity on seed germination and early seedling growth of Trigonella foenum-graecum L. Var. Peb*. *Octa Journal of Environmental Research*, 2013. **1**(4).
148. Tavangar, A., L. Karami, M. Hedayat, and A. Gholamreza, *Effect of salinity and drought stress on morphological and biochemical properties of two Iranian fenugreek (Trigonella foenum-graecum) populations*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2021. **49**(2): p. 12038-12038.
149. Abdel Latef, A.A.H., M. Abu Alhmad, and S. Ahmad, *Foliar application of fresh moringa leaf extract overcomes salt stress in fenugreek (Trigonella foenum-graecum) plants*. *Egyptian Journal of Botany*, 2017. **57**(1): p. 157-179.
150. Garg, V., *Response of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) to sodicity*. 2012.
151. FAO, F., *Food and agriculture organization of the United Nations*. Rome, URL: <http://faostat.fao.org>, 2018: p. 403-403.
152. Williams, R., *The physiology of plant growth with special reference to the concept of net assimilation rate*. *Annals of Botany*, 1946. **10**(37): p. 41-72.
153. Radford, P., *Growth analysis formulae-their use and abuse 1*. *Crop science*, 1967. **7**(3): p. 171-175.
154. Power, J., W. Willis, D. Grunes, and G. Reichman, *Effect of soil temperature, phosphorus, and plant age on growth analysis of barley 1*. *Agronomy Journal*, 1967. **59**(3): p. 231-234.
155. Nichiporovich, A., L. Stroganova, and M. Vlasova, *Fotosinteticheskiye deyatelnosti v posevakh [Photosynthetic activity of plants in crops]*. Moscow: AN SSSR.[in Russian], 1961.
156. Yavas, I. and A. Unay, *EVALUATION OF PHYSIOLOGICAL GROWTH PARAMETERS OF MAIZE IN MAIZELEGUME INTERCROPPING SYSTEM*. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 2016. **26**(6).
157. Bani-Aameur, F. and J. Sipple-Michmerhuizen, *Germination and seedling survival of Argan (Argania spinosa) under experimental saline conditions*. *Journal of Arid Environments*, 2001. **49**(3): p. 533-540.
158. Yilmaz, D.D. and A. Aksoy, *Physiological effects of different environmental conditions on the seed germination of Rumex scutatus L.(Polygonaceae)*. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2007. **23**(1-2): p. 24-29.
159. Saberali, S.F. and M. Moradi, *Effect of salinity on germination and seedling growth of Trigonella foenum-graecum, Dracocephalum moldavica, Satureja hortensis and Anethum graveolens*. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 2019. **18**(3): p. 316-323.
160. Mehrafarin, A., et al., *Effects of environmental factors and methanol on germination and emergence of Persian Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. *African Journal of Agricultural Research*, 2011. **6**(19): p. 4631-4641.
161. Randhawa, G., B. Gill, S. Saini, and J. Singh, *Agronomic technology for production of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) seeds*. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 1997. **4**(3): p. 43-49.
162. Raiyani, V., R. Kathiriya, V. Thummer, and V. Rupareliya, *Effect of FYM and biofertilizers on growth, yield attributes and yield of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. *IJCS*, 2018. **6**(4): p. 746-748.
163. Mehta, R., M. Anwer, O. Aishwath, and R. Meena, *Growth, yield and quality of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) as influenced by nitrogen, phosphorus and bio-fertilizers*. *Indian Journal of Horticulture*, 2012. **69**(01): p. 94-97.
164. Bairva, M., S. Meena, and R. Mehta, *Effect of bio-fertilizers and plant growth regulators on growth and yield of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. *International Journal of Seed Spices*, 2012. **2**(1): p. 28-33.
165. Mehta, R., B. Patel, S. Meena, and R. Meena, *Influence of nitrogen, phosphorus and bio-fertilizers on growth characters and yield of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. 2010.

166. Bhutia, K.C., S.O. Bhutia, R. Chatterjee, and N. Chattopadhyay, *Growth, phenology and yield of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) as influenced by date of sowing*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2017. **6**(10): p. 1810-1817.
167. Chadalavada, K., B.R. Kumari, and T.S. Kumar, *Sorghum mitigates climate variability and change on crop yield and quality*. Planta, 2021. **253**(5): p. 113.
168. Lal, G., et al., *Performance of fenugreek (Trigonella foenum graecum L.) as influenced by sulphur and zinc*. International Journal of Seed Spices, 2015. **5**(1): p. 29-33.
169. Tuncturk, R., *Salinity exposure modifies nutrient concentrations in fenugreek (Trigonella foenum graecum L.)*. African Journal of Agricultural Research, 2011. **6**(16): p. 3685-3690.
170. Kapoor, N. and V. Pande, *Effect of salt stress on growth parameters, moisture content, relative water content and photosynthetic pigments of fenugreek variety RMT-1*. Journal of Plant Sciences, 2015. **10**(6): p. 210-221.
171. Yildiz, M., et al., *Plant responses to salt stress*. 2020: IntechOpen.
172. Sahu, P.K., et al., *Study the effect of integrated nutrient management on vegetative growth of fenugreek (Trigonella foenum-graecum) L.* Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2020. **9**(3): p. 1389-1394.
173. Sahu, P.K., et al., *Studies on the effects of integrated nutrient management on fenugreek (Trigonella foenum-graecum) L.* International Journal of Chemical Studies, 2020. **8**(2): p. 1082-1089.
174. Bhunia, S., R. Chauhan, B. Yadav, and A. Bhati, *Effect of phosphorus, irrigation and Rhizobium on productivity, water use and nutrient uptake in fenugreek (Trigonella foenum-graecum)*. Indian Journal of Agronomy, 2006. **51**(3): p. 239-241.
175. Rizvi, R., I. Mahmood, and S. Tiyagi, *Potential role of organic matters and phosphate solubilizing bacteria (PSB) on the growth and productivity of fenugreek*. 2013.
176. Harish, M., et al., *Effect of promising rice (Oryza sativa L.) varieties and nutrient management practices on growth, development and crop productivity in eastern Himalayas*. Annals of Agricultural Research, 2017. **38**(4).
177. Yasari, E. and A. Patwardhan, *Physiological analysis of the growth and development of canola (Brassica napus L.) under different chemical fertilizers application*. Asian Journal of Plant Sciences, 2006.
178. Alam, M. and S. Haider, *Growth attributes of barley (Hordeum vulgare L.) cultivars in relation to different doses of nitrogen fertilizer*. Journal of Life and Earth Sciences, 2006. **1**(2): p. 77-82.
179. Namvar, A., R.S. Sharifi, and T. Khandan, *Growth analysis and yield of chickpea (Cicer arietinum L.) in relation to organic and inorganic nitrogen fertilization*. Ekologija, 2011. **57**(3): p. 97-108.
180. Tairo, E.V. and P.A. Ndakidemi, *Possible benefits of rhizobial inoculation and phosphorus supplementation on nutrition, growth and economic sustainability in grain legumes*. American Journal of Research Communication, 2013. **1**(12): p. 532-556.
181. Hegde, D., *Growth analysis of onion (Allium cepa L.) in relation to irrigation and nitrogen fertilization*. Journal of agronomy and crop science, 1986. **157**(4): p. 227-234.
182. Azarpour, E., M. Moraditochae, and H.R. Bozorgi, *Effect of nitrogen fertilizer management on growth analysis of rice cultivars*. 2014.
183. Hasni, I., et al., *Physiological characteristics of salt tolerance in fenugreek (Trigonella foenum graecum L.)*. 2009.
184. Baghbani-Arani, A., S.A.M. Modarres-Sanavy, M. Mashhadi-Akbar-Boojar, and A. Mokhtassi-Bidgoli, *Towards improving the agronomic performance, chlorophyll fluorescence parameters and pigments in fenugreek using zeolite and vermicompost under deficit water stress*. Industrial Crops and Products, 2017. **109**: p. 346-357.
185. Khiriya, K., R. Sheoran, and B. Singh, *Growth analysis of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) under various levels of farmyard manure and phosphoms*. Journal of Spices and Aromatic Crops, 2001. **10**(2): p. 105-110.
186. Shakthi Prasad, N., K. Meena, I. Naruka, and S. Surendra, *Study of growth, phenology and seed yield in fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) varieties*. IJCS, 2020. **8**(4): p. 2924-2927.
187. Nair, R., S. Pandey, and J. Jyothsna, *Growth and yield of fenugreek (Trigonella foenum graecum L.) in response to different levels of phosphorus and biofertilizer (Rhizobium and PSB) under Kymore Plateau*

- and Satpura hill agro-climatic zone of Madhya Pradesh. *The Pharma Innovation Journal*, 2021. **10**(1): p. 419-422.
188. Husain, N., R. Nair, B. Verma, and B. Yadav. *Growth, Yield and Economics of Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) as Influenced by Inorganic Fertilizers and Bio-inoculant (Rhizobium, PSB and KSB)*. in *Biological Forum—An International Journal*. 2022.
 189. Biswas, S. and D. Anusuya, *Effect of bioinoculants and organic manure (phosphocompost) on growth, yield and nutrient uptake of Trigonella foenum-graecum L.(Fenugreek)*. *Int. J. Sci. Res*, 2014. **3**: p. 38-41.
 190. Patel, B., S. Patel, S. Patel, and A. Amin, *Integrated nutrient management in fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 2010. **19**(1): p. 2.
 191. Godara, A., U. Gupta, R. Singh, and R. Mehta, *Effect of different combinations of organic and inorganic nutrient sources on productivity and profitability of fenugreek (Trigonella-foenium-graecum)*. *International J. Seed Spices*, 2012. **2**(2): p. 34-37.
 192. Seghatoleslami, M. and K. Ahmadi Bonakdar, *The effect of sowing date and plant density on yield and yield components of fenugreek (Trigonella foenum gracum L.)*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 2010. **26**(2): p. 265-274.
 193. Hedley, C. and M. Ambrose. *The effect of plant interaction on crop harvest index*. in *Efficiency in Plant Breeding: Proceedings of the 10th Congress of the European Association for Research on Plant Breeding, EUCARPIA, Wageningen, the Netherlands, 19-24 June 1983*. 1984. Bernan Press (PA).
 194. Zuk-Gołaszewska, K., J. Wierzbowska, and T. Bienkowski, *Effect of potassium fertilization, Rhizobium inoculation and water deficit on the yield and quality of fenugreek seeds*. *Journal of Elementology*, 2015. **20**(2).
 195. Seepaul, R., et al., *Physiological analysis of growth and development of winter carinata (Brassica carinata A. Braun)*. *GCB Bioenergy*, 2021. **13**(7): p. 1112-1133.
 196. Omara, P., L. Aula, F. Oyebiyi, and W.R. Raun, *World cereal nitrogen use efficiency trends: review and current knowledge*. *Agrosystems, Geosciences & Environment*, 2019. **2**(1): p. 1-8.
 197. Kurtz, L., L. Boone, T. Peck, and R. Hoefl, *Crop rotations for efficient nitrogen use*. *Nitrogen in crop production*, 1984: p. 295-306.
 198. Dahan, O., et al., *Nitrate leaching from intensive organic farms to groundwater*. *Hydrology and Earth System Sciences*, 2014. **18**(1): p. 333-341.
 199. Kolodziejczyk, B., *Frontiers 2018/19: Emerging Issues of Environmental Concern*. 2019.
 200. Erisman, J.W., et al., *Reactive nitrogen in the environment and its effect on climate change*. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2011. **3**(5): p. 281-290.
 201. Galloway, J.N., et al., *Nitrogen footprints: past, present and future*. *Environmental Research Letters*, 2014. **9**(11): p. 115003.
 202. Erisman, J.W., et al., *An integrated approach to a nitrogen use efficiency (NUE) indicator for the food production–consumption chain*. *Sustainability*, 2018. **10**(4): p. 925.
 203. Martinez-Feria, R.A., et al., *Linking crop-and soil-based approaches to evaluate system nitrogen-use efficiency and tradeoffs*. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018. **256**: p. 131-143.
 204. Folina, A., et al., *Evaluation of various nitrogen indices in N-fertilizers with inhibitors in field crops: A review*. *Agronomy*, 2021. **11**(3): p. 418.
 205. Moll, R., E. Kamprath, and W. Jackson, *Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization 1*. *Agronomy journal*, 1982. **74**(3): p. 562-564.
 206. Raun, W.R. and G.V. Johnson, *Improving nitrogen use efficiency for cereal production*. *Agronomy journal*, 1999. **91**(3): p. 357-363.
 207. Cassman, K.G., A. Dobermann, and D.T. Walters, *Agroecosystems, nitrogen-use efficiency, and nitrogen management*. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 2002. **31**(2): p. 132-140.
 208. Cormier, F., et al., *Breeding for increased nitrogen-use efficiency: a review for wheat (T. aestivum L.)*. *Plant Breeding*, 2016. **135**(3): p. 255-278.
 209. Shoji, S., J. Delgado, A. Mosier, and Y. Miura, *Use of controlled release fertilizers and nitrification inhibitors to increase nitrogen use efficiency and to conserve air andwater quality*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2001. **32**(7-8): p. 1051-1070.
 210. ISO11261, *Soil Quality: Determination of Total Nitrogen: Modified Kjeldahl Method*. 1995.

211. ISO11260, *Soil Quality: Determination of Cation Exchange Capacity and Base Saturation Method Using Barium Chloride Solution; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland.* 1994.
212. Walkley, A. and I.A. Black, *An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method.* Soil science, 1934. **37**(1): p. 29-38.
213. Dobermann, A., *Nutrient use efficiency—measurement and management.* 2007.
214. IPNI, *Nutrient Performance Indicators: The Importance of Farm Scale Assessments, Linked to Soil Fertility, Productivity, Environmental Impact and the Adoption of Grower Best Management Practices.* 2014.
215. Novoa, R. and R. Loomis, *Nitrogen and plant production.* Plant and soil, 1981. **58**: p. 177-204.
216. Berendse, F. and R. Aerts, *Nitrogen-use-efficiency: a biologically meaningful definition?* 1987, JSTOR. p. 293-296.
217. Lambers, H. and R.S. Oliveira, *Growth and Allocation*, in *Plant Physiological Ecology.* 2019, Springer International Publishing: Cham. p. 385-449.
218. Lambers, H., R.S. Oliveira, H. Lambers, and R.S. Oliveira, *Mineral nutrition.* Plant physiological ecology, 2019: p. 301-384.
219. Lambers, H., R.S. Oliveira, H. Lambers, and R.S. Oliveira, *Plant water relations.* Plant physiological ecology, 2019: p. 187-263.
220. Anders, A. and J. Eisenbach, *Biocyclic-vegan agriculture.* Growing Green International, 2017. **39**: p. 32-34.
221. Singh, M., *Effect of Rhizobium, FYM and chemical fertilizers on legume crops and nutrient status of soil—A review.* Agricultural Reviews, 2005. **26**(4): p. 309-312.
222. Jani, A.D., J.M. Grossman, T.J. Smyth, and S. Hu, *Influence of soil inorganic nitrogen and root diameter size on legume cover crop root decomposition and nitrogen release.* Plant and Soil, 2015. **393**: p. 57-68.
223. Brar, B.S., J. Singh, G. Singh, and G. Kaur, *Effects of long term application of inorganic and organic fertilizers on soil organic carbon and physical properties in maize—wheat rotation.* Agronomy, 2015. **5**(2): p. 220-238.
224. Schulz, H. and B. Glaser, *Effects of biochar compared to organic and inorganic fertilizers on soil quality and plant growth in a greenhouse experiment.* Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2012. **175**(3): p. 410-422.
225. Menšík, L., L. Hlisnikovský, L. Pospíšilová, and E. Kunzová, *The effect of application of organic manures and mineral fertilizers on the state of soil organic matter and nutrients in the long-term field experiment.* Journal of soils and sediments, 2018. **18**: p. 2813-2822.
226. Galantini, J. and R. Rosell, *Long-term fertilization effects on soil organic matter quality and dynamics under different production systems in semiarid Pampean soils.* Soil and Tillage Research, 2006. **87**(1): p. 72-79.
227. Plaza, C., et al., *Response of different soil organic matter pools to biochar and organic fertilizers.* Agriculture, Ecosystems & Environment, 2016. **225**: p. 150-159.
228. Šimanský, V., et al., *How relationships between soil organic matter parameters and soil structure characteristics are affected by the long-term fertilization of a sandy soil.* Geoderma, 2019. **342**: p. 75-84.
229. Balík, J., et al., *The influence of organic and mineral fertilizers on the quality of soil organic matter and glomalin content.* Agronomy, 2022. **12**(6): p. 1375.
230. Chen, Y. and T. Aviad, *Effects of humic substances on plant growth.* Humic substances in soil and crop sciences: Selected readings, 1990: p. 161-186.
231. Oleńska, E., et al., *Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review.* Science of the Total Environment, 2020. **743**: p. 140682.
232. Elnahal, A.S., et al., *The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: A review.* European Journal of Plant Pathology, 2022. **162**(4): p. 759-792.
233. Shahzad, A.N., M.K. Qureshi, A. Wakeel, and T. Misselbrook, *Crop production in Pakistan and low nitrogen use efficiencies.* Nature Sustainability, 2019. **2**(12): p. 1106-1114.
234. Kareem, A.A. and C. Ramasamy, *Expanding frontiers of agriculture: contemporary issues.* 2000: Kalyani Publishers.

235. Salinas-Roco, S., et al., *N₂ Fixation, N Transfer, and Land Equivalent Ratio (LER) in Grain Legume–Wheat Intercropping: Impact of N Supply and Plant Density*. *Plants*, 2024. **13**(7): p. 991.
236. Pang, X. and J. Letey, *Organic farming challenge of timing nitrogen availability to crop nitrogen requirements*. *Soil Science Society of America Journal*, 2000. **64**(1): p. 247-253.
237. Gaskell, M. and R. Smith, *Nitrogen sources for organic vegetable crops*. *HortTechnology*, 2007. **17**(4): p. 431-441.
238. Liu, X., et al., *Enhanced nitrogen deposition over China*. *Nature*, 2013. **494**(7438): p. 459-462.
239. Palmero, F., et al., *A quantitative review into the contributions of biological nitrogen fixation to agricultural systems by grain legumes*. *European Journal of Agronomy*, 2022. **136**: p. 126514.
240. Maaz, T.M., et al., *Meta-analysis of yield and nitrous oxide outcomes for nitrogen management in agriculture*. *Global Change Biology*, 2021. **27**(11): p. 2343-2360.
241. Fageria, N.K. and V.C. Baligar, *Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants*. *Advances in agronomy*, 2005. **88**: p. 97-185.
242. Ma, B. and A. Herath, *Timing and rates of nitrogen fertiliser application on seed yield, quality and nitrogen-use efficiency of canola*. *Crop and pasture Science*, 2016. **67**(2): p. 167-180.
243. Zheng, Y., et al., *Effects of mixed controlled release nitrogen fertilizer with rice straw biochar on rice yield and nitrogen balance in northeast China*. *Scientific Reports*, 2020. **10**(1): p. 9452.
244. Efthimiadou, A., D. Bilalis, A. Karkanis, and B. Froud-Williams, *Combined organic/inorganic fertilization enhance soil quality and increased yield, photosynthesis and sustainability of sweet maize crop*. *Australian Journal of Crop Science*, 2010. **4**(9): p. 722-729.
245. Kakabouki, I., et al., *The effect of nitrogen fertilization on root characteristics of Camelina sativa L. in greenhouse pots*. 2020.
246. Talaat, N.B., A.E. Ghoniem, M.T. Abdelhamid, and B.T. Shawky, *Effective microorganisms improve growth performance, alter nutrients acquisition and induce compatible solutes accumulation in common bean (Phaseolus vulgaris L.) plants subjected to salinity stress*. *Plant growth regulation*, 2015. **75**: p. 281-295.
247. Fatemi, R., et al., *How biofertilizers and intercropping pattern affect yield and nitrogen efficiency indices of maize? Arabians Journal of Geosciences*, 2023. **16**(6): p. 378.
248. Singh, R., S. Singh, N. Kumar, and A. Singh, *Maximization of nutrient use efficiency and yield through application of biofertilizers in field pea (Pisum sativum L.)*. *Legume Research*, 2023. **46**(11): p. 1475-1482.
249. Ooro, P., R. Birech, J. Malinga, and E. Thurair, *Effect of legumes on nitrogen use efficiency of wheat in a short term crop rotation in njoro sub-county*. *Journal of Experimental Agriculture International*, 2021. **43**(3): p. 1-15.
250. Kakabouki, I., et al., *Reintroducing flax (Linum usitatissimum L.) to the mediterranean basin: the importance of nitrogen fertilization*. *Plants*, 2021. **10**(9): p. 1758.
251. Lemaire, G. and I. Ciampitti, *Crop mass and N status as prerequisite covariables for unraveling nitrogen use efficiency across genotype-by-environment-by-management scenarios: a review*. *Plants*, 2020. **9**(10): p. 1309.
252. Kakabouki, I., A. Folina, Z. Charikleia, and S. Karydogianni, *Fertilization expression via nitrogen indices in soybean crop under two system tillage*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2020. **48**(2): p. 799-813.
253. Escuer-Gatius, J., et al., *Critical points for closing the carbon and nitrogen budgets in a winter rapeseed field*. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2022. **122**(3): p. 289-311.
254. Srivastava, A. and E. Ngullie, *Integrated nutrient management: Theory and practice*. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*, 2009. **3**(1): p. 1-30.
255. Sivojiene, D., et al., *The influence of organic fertilizers on the abundance of soil microorganism communities, agrochemical indicators, and yield in East Lithuanian light soils*. *Plants*, 2021. **10**(12): p. 2648.
256. Tarfeen, N., S. Hassan, A. Manzoor, and Z. Sultan, *Integrated nutrient management strategies for improving crop yield, in Sustainable Plant Nutrition*. 2023, Elsevier. p. 283-297.
257. Akter, Z., N.Z. Lupwayi, and P. Balasubramanian, *Nitrogen use efficiency of irrigated dry bean (Phaseolus vulgaris L.) genotypes in southern Alberta*. *Canadian Journal of Plant Science*, 2017. **97**(4): p. 610-619.

258. Pérez-Fernández, M., Á. Míguez-Montero, and A. Valentine, *Phosphorus and nitrogen modulate plant performance in shrubby legumes from the Iberian Peninsula*. *Plants*, 2019. **8**(9): p. 334.
259. Pettit, R.E., *Organic matter, humus, humate, humic acid, fulvic acid and humin*. The Wonderful World of Humus and Carbon, 2006.
260. Bastida, F., et al., *Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate*. *Applied Soil Ecology*, 2008. **40**(2): p. 318-329.
261. Pinchuk, V., et al., *AGROECOLOGICAL SOIL STATUS IN AGROECOSYSTEMS WITH MONOCULTURE*. 2021.
262. Biswas, T. and S.C. Kole, *Soil organic matter and microbial role in plant productivity and soil fertility*. *Advances in Soil Microbiology: Recent Trends and Future Prospects: Volume 2: Soil-Microbe-Plant Interaction*, 2017: p. 219-238.
263. Yang, X., et al., *Combining organic fertilizer with controlled-release urea to reduce nitrogen leaching and promote wheat yields*. *Frontiers in Plant Science*, 2021. **12**: p. 802137.
264. El-Shayeb, N. and S. Mabrouk, *Utilisation of some edible and medicinal plants to inhibit aflatoxin formation*. 1984.
265. Bhat, B.G., K. Sambaiah, and N. Chandrasekhara, *The effect of feeding fenugreek and ginger on bile composition in the albino rat*. 1985.
266. Gupta, R.C., A. Srivastava, and R. Lall, *Nutraceuticals in veterinary medicine*. Vol. 120. 2019: Springer.
267. Żuk-Gołaszewska, K. and J. Wierzbowska, *Fenugreek: productivity, nutritional value and uses*. *Journal of Elementology*, 2017. **22**(3).
268. Jat, H. and A. Taparia, *Utilization of methi straw by cattle*. 1990.
269. Attia-Ismail, S.A., *Effect of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.) as feed additive on 1 sheep performance in the north western coast of Egypt 2*. *Analytical methods*, 2000. **32**: p. 33.
270. Elbushra, M.E., *Effect of dietary Fenugreek seeds (*Trigonella foenum*) as natural feed addition on broiler chicks performance*. *Journal of Science and Technology*, 2012. **13**(2): p. 27-33.
271. Alloui, N., S.B. Aksa, M. Alloui, and F. Ibrir, *Utilization of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) as growth promoter for broiler chickens*. *Journal of World's Poultry Research*, 2012. **2**(2): p. 25-27.
272. Lim, S.J., et al., *Antibiotic resistance in bacteria isolated from freshwater aquacultures and prediction of the persistence and toxicity of antimicrobials in the aquatic environment*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2013. **48**(6): p. 495-504.
273. Roohi, Z., M.R. Imanpoor, V. Jafari, and V. Taghizadeh, *The use of fenugreek seed meal in fish diets: growth performance, haematological and biochemical parameters, survival and stress resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.)*. *Aquaculture Research*, 2017. **48**(3): p. 1209-1215.
274. Montgomery, J., *The potential of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) as a forage for dairy herds in central Alberta*. 2009.
275. Alemu, A. and L. Doepel, *Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as an alternative forage for dairy cows*. *Animal*, 2011. **5**(9): p. 1370-1381.
276. Kamalak, A., et al., *Determination of potential nutritive value of *Trigonella kotschi* fenzi hay harvested at three different maturity stages*. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2011. **17**(4).
277. Mir, P., Z. Mir, and L. Townley-Smith, *Comparison of the nutrient content and in situ degradability of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) and alfalfa hays*. *Canadian Journal of Animal Science*, 1993. **73**(4): p. 993-996.
278. Mir, Z., et al., *Nutrient composition, in vitro gas production and digestibility of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) and alfalfa forages*. *Canadian Journal of Animal Science*, 1997. **77**(1): p. 119-124.
279. Obour, A., E. Obeng, and J. Holman, *Influence of different seeding dates on fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) forage yield and nutritive value*. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 2015. **1**(2): p. 12.
280. Zgher, M.S. and A.H. Mahde, *Effect of seed radial, number of irrigation periods and nitrogen levels on growth and forage yield of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.)*. *Al-Qadisiyah Journal of Pure Science*, 2015. **20**(1): p. 89-100.
281. Muhammed, S.R., *Response of Two Fenugreek *Trigonella foenum-graecum* Varieties to Different Cutting Dates and Nitrogen Fertilizer for Growth and Forage Yield Traits under Rainfed Condition*. *Tikrit Journal for Sciences Agricultural*, 2017. **17**: p. 134-142.

282. Mohammad, A.A., M.P. Rezvani, J. Fallahi, and R.Z. Boroumand, *Effect of chemical and organic fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) forage*. 2011.
283. Ghanbari, S., M.M. Telavat, and A. Siadat, *Effect of manure application on forage yield and quality of barley (Hordeum vulgare L.) and fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) in intercropping*. 2015.
284. Abbasdokht, H., et al., *Effects of types of nitrogenous fertilizer (biological, chemical, integrative) and cropping mixes on some forage-medicine characteristics in additive intercropping of sorghum (Sorghum bicolor [L.] Moench) with fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.)*. Archives of Agronomy and Soil Science, 2016. **62**(12): p. 1741-1752.
285. Odhong, C., et al., *Challenges of conversion to organic dairy production and prospects of future development in integrated smallholder farms in Kenya*. Livestock Research for Rural Development, 2014. **26**(7): p. 14-21.
286. McBride, W.D. and C. Greene, *The profitability of organic soybean production*. Renewable agriculture and food systems, 2009. **24**(4): p. 276-284.
287. Bremner, J., *Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method*. The Journal of Agricultural Science, 1960. **55**(1): p. 11-33.
288. Van Soest, P.v., J.B. Robertson, and B.A. Lewis, *Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition*. Journal of dairy science, 1991. **74**(10): p. 3583-3597.
289. Olaiya, C.O. and K.O. Soetan, *A review of the health benefits of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.): Nutritional, Biochemical and pharmaceutical perspectives*. Am. J. Soc. Issues Humanit, 2014. **4**: p. 3-12.
290. El Nasri, N.A. and A. El Tinay, *Functional properties of fenugreek (Trigonella foenum graecum) protein concentrate*. Food chemistry, 2007. **103**(2): p. 582-589.
291. Rao, P.U. and R. Sharma, *An evaluation of protein quality of fenugreek seeds (Trigonella foenumgraecum) and their supplementary effects*. Food Chemistry, 1987. **24**(1): p. 1-9.
292. Kumari, N., P. Kumar, and S.A. Wani, *Effect of extraction parameters on the isolation of fenugreek seed protein and characterization of fenugreek protein concentrate*. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods, 2022. **14**(SP2): p. 1-12.
293. Wierzbowska, J. and K. Zuk-Golaszewska, *The impact of nitrogen fertilization and Rhizobium inoculation on the yield and quality of Trigonella foenum-graecum L.* Journal of Elementology, 2014. **19**(4).
294. Meena, S., R. Mehta, M. Bairwa, and R. Meena, *productivity and profitability of fenugreek (Trigonella foenum-graecum l.) As influenced by bio-fertilizers and plant growth regulators*. Legume Research-An International Journal, 2014. **37**(6): p. 646-650.
295. Wang, Z.H., S.X. Li, and S. Malhi, *Effects of fertilization and other agronomic measures on nutritional quality of crops*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008. **88**(1): p. 7-23.
296. Day, L., J.A. Cakebread, and S.M. Loveday, *Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties*. Trends in Food Science & Technology, 2022. **119**: p. 428-442.
297. Okon, O.G., *Effect of salinity on physiological processes in plants*. Microorganisms in saline environments: strategies and functions, 2019: p. 237-262.
298. Bilalis, D., et al., *Chia (Salvia hispanica) fodder yield and quality as affected by sowing rates and organic fertilization*. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2016. **47**(15): p. 1764-1770.
299. Hakl, J., et al., *Impact of long-term manure and mineral fertilization on yield and nutritive value of lucerne (Medicago sativa) in relation to changes in canopy structure*. European Journal of Agronomy, 2021. **123**: p. 126219.
300. Javanmard, A., et al., *Intercropping of maize with legumes: A cleaner strategy for improving the quantity and quality of forage*. Cleaner Engineering and Technology, 2020. **1**: p. 100003.
301. Sadafzadeh, E., A. Javanmard, M. Amani Machiani, and A. Sofo, *Application of bio-fertilizers improves forage quantity and quality of sorghum (Sorghum bicolor L.) intercropped with soybean (Glycine max L.)*. Plants, 2023. **12**(16): p. 2985.
302. Mäder, P., et al., *Soil fertility and biodiversity in organic farming*. Science, 2002. **296**(5573): p. 1694-1697.

303. Pimentel, D. and M. Burgess, *An environmental, energetic and economic comparison of organic and conventional farming systems*. Integrated Pest Management: Pesticide Problems, Vol. 3, 2014: p. 141-166.
304. Kakabouki, I., et al., *Evaluation of processing tomato pomace after composting on soil properties, yield, and quality of processing tomato in Greece*. Agronomy, 2021. **11**(1): p. 88.
305. Brempong, M.B. and A. Addo-Danso, *Improving soil fertility with organic fertilizers*. New Generation of Organic Fertilizers, 2022. **1**.
306. Liliane, T.N. and M.S. Charles, *Factors affecting yield of crops*. Agronomy-climate change & food security, 2020: p. 9.
307. Bruinsma, J., *The resource outlook to 2050: by how much do land, water and crop yields need to increase by 2050? Expert meeting on how to feed the world in 2050*. <http://www.fao.org/wsfs/forum2050/wsfs-background-documents/wsfs-expert-papers/en/>, 2009.
308. Kuang, W., et al., *Cropland redistribution to marginal lands undermines environmental sustainability*. National science review, 2022. **9**(1): p. nwab091.
309. Ahmadzai, H., S. Tutundjian, and I. Elouafi, *Policies for sustainable agriculture and livelihood in marginal lands: a review*. Sustainability, 2021. **13**(16): p. 8692.
310. Anzano, A., G. Bonanomi, S. Mazzoleni, and V. Lanzotti, *Plant metabolomics in biotic and abiotic stress: a critical overview*. Phytochemistry Reviews, 2022. **21**(2): p. 503-524.
311. Tilman, D., et al., *Agricultural sustainability and intensive production practices*. Nature, 2002. **418**(6898): p. 671-677.
312. Tetteh, F., R. Issaka, S. Ennin, and M. Buri, *Soil fertility initiative, Fertilizer update and recommendation trials*. Soil Research Institute of Ghana, 2008. **33**.
313. Suge, J., M. Omunyin, and E. Omami, *Effect of organic and inorganic sources of fertilizer on growth, yield and fruit quality of eggplant (Solanum Melongena L)*. Archives of Applied Science Research, 2011. **3**(6): p. 470-479.
314. Negassa, W., et al. *DETERMINATION OF OPTIMUM FARMYARD MANURE AND NP FERTILIZERS FOR MAIZE ON FARMERS' FIELDS*. in *Integrated Approaches to Higher Maize Productivity in the New Millennium: Proceedings of the Seventh Eastern and Southern Africa Regional Maize Conference, Nairobi, Kenya, 5-11 February 2002*. 2004. CIMMYT.
315. Vanlauwe, B., et al., *Direct interactions between N fertilizer and organic matter: evidence from trials with 15N-labelled fertilizer*, in *Integrated plant nutrient management in Sub-Saharan Africa: from concept to practice*. 2001, CABI Publishing Wallingford UK. p. 173-184.
316. Havlin, J.L., S.L. Tisdale, W.L. Nelson, and J.D. Beaton, *Soil fertility and fertilizers*. 2016: Pearson Education India.
317. Mamaril, C.P., M.B. Castillo, and L.S. Sebastian, *Facts and myths about organic fertilizers*. 2009.
318. Verbruggen, N. and C. Hermans, *Physiological and molecular responses to magnesium nutritional imbalance in plants*. Plant and soil, 2013. **368**: p. 87-99.
319. Munns, R., *Comparative physiology of salt and water stress*. Plant, cell & environment, 2002. **25**(2): p. 239-250.
320. Rhykerd, C. and C. Overdahl, *Nutrition and fertilizer use*. Alfalfa science and technology, 1972. **15**: p. 437-468.
321. Smith, D., *Influence of Temperature on the Yield and Chemical Composition of 'Vernal' Alfalfa at First Flower 1*. Agronomy Journal, 1969. **61**(3): p. 470-472.
322. Oliver, S. and S. Barber, *An evaluation of the mechanisms governing the supply of Ca, Mg, K, and Na to soybean roots (Glycine max)*. Soil Science Society of America Journal, 1966. **30**(1): p. 82-86.
323. Talwalkar, R. and S. Patel, *Nutritive value of some leaf-proteins. 1. Amino-acid composition of Trigonella foenum-graecum and Hibiscus cannabinus*. 1962.
324. Salgues, R., *Fenugreek, Triponella foenumgraecum L*. 1939.
325. Olsen, S. and E. Sommers, *Phosphorus soluble in sodium bicarbonate*. Methods of soil analysis, part, 1982. **2**: p. 404-430.
326. ISO11265, *Soil Quality—Determination of the Specific Electrical Conductivity; Geneva, Switzerland*. 1994.
327. ISO10693, *Soil quality—Determination of carbonate content. Volumetric method, Geneva*. 1995.

328. Richards, L.A., *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. 1954: US Government Printing Office.
329. Hornick, S.B., *Factors affecting the nutritional quality of crops*. American Journal of Alternative Agriculture, 1992. **7**(1-2): p. 63-68.
330. Warkentin, B.P., *The changing concept of soil quality*. Journal of soil and water conservation, 1995. **50**(3): p. 226-228.
331. Larson, W.E. and F. Pierce, *Conservation and enhancement of soil quality*. 1991.
332. Lim, S.L., T.Y. Wu, P.N. Lim, and K.P.Y. Shak, *The use of vermicompost in organic farming: overview, effects on soil and economics*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015. **95**(6): p. 1143-1156.
333. Barbieri, P., et al., *Global option space for organic agriculture is delimited by nitrogen availability*. Nature Food, 2021. **2**(5): p. 363-372.
334. Nowak, B., T. Nesme, C. David, and S. Pellerin, *Disentangling the drivers of fertilising material inflows in organic farming*. Nutrient cycling in agroecosystems, 2013. **96**: p. 79-91.
335. Leghari, S.J., et al., *Role of nitrogen for plant growth and development: A review*. Advances in Environmental Biology, 2016. **10**(9): p. 209-219.
336. Ding, Z., et al., *The integrated effect of salinity, organic amendments, phosphorus fertilizers, and deficit irrigation on soil properties, phosphorus fractionation and wheat productivity*. Scientific reports, 2020. **10**(1): p. 2736.
337. Alewell, C., et al., *Global phosphorus shortage will be aggravated by soil erosion*. Nature communications, 2020. **11**(1): p. 4546.
338. Kumaragamage, D., J. Warren, and G. Spiers, *Soil chemistry*. Digging into Canadian Soils, 2021.
339. Kaviya, N., et al., *Role of microorganisms in soil genesis and functions*. Mycorrhizosphere and pedogenesis, 2019: p. 25-52.
340. Song, X., C. Fang, Z.-Q. Yuan, and F.-M. Li, *Long-term growth of alfalfa increased soil organic matter accumulation and nutrient mineralization in a semi-arid environment*. Frontiers in Environmental Science, 2021. **9**: p. 649346.
341. Lakhdar, A., et al., *Effectiveness of compost use in salt-affected soil*. Journal of hazardous materials, 2009. **171**(1-3): p. 29-37.
342. Mezani, S., et al., *Analysis of Calcareous Soils for Two Various Facies within the Nature Reserve of El-Mergueb (M'sila, Algeria)*. Ekológia (Bratislava), 2021. **40**(4): p. 337-347.
343. Dzida, K., *Biological value and essential oil content in sweet basil (Ocimum basilicum L.) depending on calcium fertilization and cultivar*. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 2010. **9**(4): p. 153-161.
344. Gharneh, H.A.A. and S. Davodalhosseini, *Evaluation of mineral content in some native Iranian fenugreek (Trigonella foenum-graceum L.) genotypes*. Journal of Earth, Environment and Health Sciences, 2015. **1**(1): p. 38.
345. Ahmed, M., O. Ibrahim, and A.B. Elham, *Effect of bio and mineral phosphorus fertilizer on the growth, productivity and nutritional value of fenugreek (Trigonella foenum graecum L.) in Newly Cultivated Land*. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 2010. **6**(3): p. 339-48.
346. Osman, K.T. and K.T. Osman, *Plant nutrients and soil fertility management*. Soils: Principles, properties and management, 2013: p. 129-159.
347. Sherif, M., R. Awadallah, and A. Mohamed, *Determination of trace elements of egyptian crops by neutron activation analysis*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 1979. **53**(1): p. 145-153.
348. Li, Y., Y. Liu, L. Jin, and R. Peng, *Crosstalk between Ca²⁺ and other regulators assists plants in responding to abiotic stress*. Plants, 2022. **11**(10): p. 1351.
349. Wang, M., Q. Zheng, Q. Shen, and S. Guo, *The critical role of potassium in plant stress response*. International journal of molecular sciences, 2013. **14**(4): p. 7370-7390.
350. Mickky, B.M., M.A. Abbas, and N.M. Sameh, *Morpho-physiological status of fenugreek seedlings under NaCl stress*. Journal of King Saud University-Science, 2019. **31**(4): p. 1276-1282.
351. Mnafigui, W., et al., *Trigonella foenum-graecum morphophysiological and phytochemical processes controlling iron uptake and translocation*. Crop and Pasture Science, 2022.
352. Das, S.K., *Role of micronutrient in rice cultivation and management strategy in organic agriculture—A reappraisal*. Agricultural Sciences, 2014. **2014**.

353. Fernández, F.G. and R.G. Hoefl, *Managing soil pH and crop nutrients*. Illinois agronomy handbook, 2009. **24**: p. 91-112.
354. Bengough, A., *Root growth and function in relation to soil structure, composition, and strength*, in *Root ecology*. 2003, Springer. p. 151-171.
355. Jashothan, P., *Effect of organic fertilizers on the water holding capacity of soil in different terrains of Jaffna peninsula in Sri Lanka*. 2021.
356. Bot, A. and J. Benites, *The importance of soil organic matter: Key to drought-resistant soil and sustained food production*. 2005: Food & Agriculture Org.
357. Funderburg, E., *What does organic matter do in soil?* Noble Research Institute. 2001.
358. Palm, C.A., et al., *Organic inputs for soil fertility management in tropical agroecosystems: application of an organic resource database*. Agriculture, ecosystems & environment, 2001. **83**(1-2): p. 27-42.
359. Vanlauwe, B., J. Wendt, and J. Diels, *Combined application of organic matter and fertilizer*. Sustaining soil fertility in West Africa, 2001. **58**: p. 247-279.
360. Myers, M.G. and J. McGarity, *The urease activity in profiles of five great soil groups from northern New South Wales*. Plant and soil, 1968. **28**: p. 25-37.
361. Kuzyakov, Y., J. Friedel, and K. Stahr, *Review of mechanisms and quantification of priming effects*. Soil Biology and Biochemistry, 2000. **32**(11-12): p. 1485-1498.
362. Marschner, H., *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. 2011: Academic press.
363. Zhang, F., et al., *Rhizosphere processes and management for improving nutrient use efficiency and crop productivity: implications for China*. Advances in agronomy, 2010. **107**: p. 1-32.
364. Shen, J., et al., *Maximizing root/rhizosphere efficiency to improve crop productivity and nutrient use efficiency in intensive agriculture of China*. Journal of experimental botany, 2013. **64**(5): p. 1181-1192.
365. Shrivastava, P. and R. Kumar, *Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation*. Saudi journal of biological sciences, 2015. **22**(2): p. 123-131.
366. Hammer, G.L., et al., *Can changes in canopy and/or root system architecture explain historical maize yield trends in the US corn belt?* Crop Science, 2009. **49**(1): p. 299-312.
367. Siddique, K., Y. Chen, and Z. Rengel, *Efficient root system for abiotic stress tolerance in crops*. Procedia Environmental Sciences, 2015. **29**: p. 295.
368. Duncan, E.G., et al., *Yield and nitrogen use efficiency of wheat increased with root length and biomass due to nitrogen, phosphorus, and potassium interactions*. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2018. **181**(3): p. 364-373.
369. Collette, L., et al., *Сохранить и приумножить. Руководство для политиков по устойчивой интенсификации растениеводства в мелких хозяйствах (RU); Save and Grow. A policymaker's guide to sustainable intensification of smallholder crop production (ENG)*. 2011, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
370. De Faria, M.R., et al., *The rhizosphere microbiome: functions, dynamics, and role in plant protection*. Tropical Plant Pathology, 2021. **46**: p. 13-25.
371. Mukhtar, S., S. Mehnaz, and K.A. Malik, *Microbial diversity in the rhizosphere of plants growing under extreme environments and its impact on crop improvement*. Environmental Sustainability, 2019. **2**(3): p. 329-338.
372. Sahoo, R.K., D. Bhardwaj, and N. Tuteja, *Biofertilizers: a sustainable eco-friendly agricultural approach to crop improvement*, in *Plant acclimation to environmental stress*. 2012, Springer. p. 403-432.
373. Eisenbach, L.D., et al., *Effect of biocyclic humus soil on yield and quality parameters of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.)*. 2018.
374. Eisenbach, L.D., et al., *Effect of biocyclic humus soil on yield and quality parameters of processing tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)*. 2019.
375. Pessarakli, M., *Handbook of plant and crop stress*. 2019: CRC press.
376. Głab, T., *Effect of soil compaction and N fertilization on soil pore characteristics and physical quality of sandy loam soil under red clover/grass sward*. Soil and Tillage Research, 2014. **144**: p. 8-19.
377. Weil, R. and N. Brady, *The nature and properties of soils*, ed. Columbus, Ohio: Pearson, 2016. **910**.

378. Evanylo, G., et al., *Soil and water environmental effects of fertilizer-, manure-, and compost-based fertility practices in an organic vegetable cropping system*. Agriculture, ecosystems & environment, 2008. **127**(1-2): p. 50-58.
379. Singh, J., N. Singh, and S. Kumar, *X-ray computed tomography-measured soil pore parameters as influenced by crop rotations and cover crops*. Soil Science Society of America Journal, 2020. **84**(4): p. 1267-1279.
380. Vasileva, V. and O. Kostov, *Effect of mineral and organic fertilization on alfalfa forage and soil fertility*. Emirates Journal of Food and Agriculture, 2015. **27**(9): p. 678-686.
381. Han, E., et al., *Root growth dynamics inside and outside of soil biopores as affected by crop sequence determined with the profile wall method*. Biology and Fertility of Soils, 2015. **51**: p. 847-856.
382. Olmo, M., R. Villar, P. Salazar, and J.A. Alburquerque, *Changes in soil nutrient availability explain biochar's impact on wheat root development*. Plant and Soil, 2016. **399**: p. 333-343.
383. Eghball, B. and J.F. Power, *Composted and noncomposted manure application to conventional and no-tillage systems: Corn yield and nitrogen uptake*. Agronomy journal, 1999. **91**(5): p. 819-825.
384. Zhang, F., X. Xu, Y. Huo, and Y. Xiao, *Trichoderma-inoculation and mowing synergistically altered soil available nutrients, rhizosphere chemical compounds and soil microbial community, potentially driving alfalfa growth*. Frontiers in microbiology, 2019. **9**: p. 3241.
385. Sinha, D. and P.K. Tandon, *An overview of nitrogen, phosphorus and potassium: Key players of nutrition process in plants*. Sustainable solutions for elemental deficiency and excess in crop plants, 2020: p. 85-117.
386. Vadez, V., et al., *Exploiting the functionality of root systems for dry, saline, and nutrient deficient environments in a changing climate*. Journal of SAT Agricultural Research, 2007. **4**(1): p. 1-61.
387. Fageria, N.K. and A. Moreira, *The role of mineral nutrition on root growth of crop plants*. Advances in agronomy, 2011. **110**: p. 251-331.
388. Parkash, V., et al., *Effect of deficit irrigation on root growth, soil water depletion, and water use efficiency of cucumber*. HortScience, 2021. **56**(10): p. 1278-1286.
389. Lynch, J.P., *Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems*. Annals of botany, 2013. **112**(2): p. 347-357.
390. Flowers, T.J. and T.D. Colmer, *Salinity tolerance in halophytes*. New phytologist, 2008: p. 945-963.
391. Zhu, J.-K., *Salt and drought stress signal transduction in plants*. Annual review of plant biology, 2002. **53**(1): p. 247-273.
392. Windisch, S., et al., *Impact of long-term organic and mineral fertilization on rhizosphere metabolites, root-microbial interactions and plant health of lettuce*. Frontiers in Microbiology, 2021. **11**: p. 597745.
393. Benmoussa, S., et al., *Growth performance and nitrogen fixing efficiency of Faba bean (Vicia faba L.) genotypes in Symbiosis with rhizobia under combined salinity and hypoxia stresses*. Agronomy, 2022. **12**(3): p. 606.
394. Saadatian, M., et al., *Effects of organic fertilizers on growth and biochemical characteristics of Fenugreek*. Acta agriculturae Slovenica, 2017. **109**(2): p. 197-203.
395. Rewald, B., C. Leuschner, Z. Wiesman, and J.E. Ephrath, *Influence of salinity on root hydraulic properties of three olive varieties*. Plant Biosystems, 2011. **145**(1): p. 12-22.
396. Ramana, G., S.P. Padhy, and K. Chaitanya, *Differential responses of four soybean (Glycinemax. L) cultivars to salinity stress*. Legume Research-An International Journal, 2012. **35**(3): p. 185-193.
397. Raje, R., D. Singhanian, and D. Singh, *Inheritance of powdery mildew resistance in fenugreek (Trigonella toenum-graecum L.)*. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, 2002. **62**(02): p. 175-176.
398. Abd-Alla, M.H., S.M. Al-Amri, and A.-W.E. El-Enany, *Enhancing Rhizobium-Legume Symbiosis and Reducing Nitrogen Fertilizer Use Are Potential Options for Mitigating Climate Change*. Agriculture, 2023. **13**(11): p. 2092.
399. Otieno, D.O., et al., *Responses of CO₂ exchange and primary production of the ecosystem components to environmental changes in a mountain peatland*. Ecosystems, 2009. **12**: p. 590-603.
400. Snehlata, H.S. and D.R. Payal, *Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.): an overview*. 2012.
401. Wani, S.A. and P. Kumar, *Fenugreek: A review on its nutraceutical properties and utilization in various food products*. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2018. **17**(2): p. 97-106.

402. Rehman, T., A. Owais Ghauri, and C. Tayyeba Rehman, *Nutritional and health benefits of fenugreek: a short review*. *Int J Home Sci*, 2018. **2**(2): p. 28-30.
403. Jesus, M., A.P. Martins, E. Gallardo, and S. Silvestre, *Diosgenin: recent highlights on pharmacology and analytical methodology*. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2016. **2016**(1): p. 4156293.
404. Ortuno, A., R. Oncina, J. Botia, and J. Del Rio, *Distribution and changes of diosgenin during development of *Trigonella foenum-graecum* plants. Modulation by benzylaminopurine*. *Food Chemistry*, 1998. **63**(1): p. 51-54.
405. Goyal, S., N. Gupta, and S. Chatterjee, *Investigating therapeutic potential of *Trigonella foenum-graecum* L. as our defense mechanism against several human diseases*. *Journal of toxicology*, 2016. **2016**(1): p. 1250387.
406. Wang, L. and C.L. Weller, *Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants*. *Trends in Food Science & Technology*, 2006. **17**(6): p. 300-312.
407. Kuo, C.-H., et al., *Optimized ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Polygonum cuspidatum**. *Molecules*, 2013. **19**(1): p. 67-77.
408. Attimarad, M., K.M. Ahmed, B.E. Aldhubaib, and S. Harsha, *High-performance thin layer chromatography: A powerful analytical technique in pharmaceutical drug discovery*. *Pharmaceutical methods*, 2011. **2**(2): p. 71-75.
409. Wishart, D.S., *Quantitative metabolomics using NMR*. *TrAC trends in analytical chemistry*, 2008. **27**(3): p. 228-237.
410. Dunn, W.B. and D.I. Ellis, *Metabolomics: current analytical platforms and methodologies*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2005. **24**(4): p. 285-294.
411. Kim, H.K., Y.H. Choi, and R. Verpoorte, *NMR-based plant metabolomics: where do we stand, where do we go?* *Trends in biotechnology*, 2011. **29**(6): p. 267-275.
412. Johnson Jr, C.S., *Diffusion ordered nuclear magnetic resonance spectroscopy: principles and applications*. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*, 1999. **34**(3-4): p. 203-256.
413. Castillo, S., P. Gopalacharyulu, L. Yetukuri, and M. Orešič, *Algorithms and tools for the preprocessing of LC-MS metabolomics data*. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2011. **108**(1): p. 23-32.
414. Maeda, H.A. and A.R. Fernie, *Evolutionary history of plant metabolism*. *Annual Review of Plant Biology*, 2021. **72**(1): p. 185-216.
415. Xiong, J. and C.E. Bauer, *Complex evolution of photosynthesis*. *Annual review of plant biology*, 2002. **53**(1): p. 503-521.
416. Lea, P. and B. Mifflin, *Amino acid metabolism*. *Ann. Rev. Plant Physiol*, 1977. **28**: p. 299-329.
417. Kulbat, K., *The role of phenolic compounds in plant resistance*. *Biotechnology and Food Science*, 2016. **80**(2): p. 97-108.
418. Divekar, P.A., et al., *Plant secondary metabolites as defense tools against herbivores for sustainable crop protection*. *International journal of molecular sciences*, 2022. **23**(5): p. 2690.
419. Anulika, N.P., et al., *The chemistry of natural product: Plant secondary metabolites*. *Int. J. Technol. Enhanc. Emerg. Eng. Res*, 2016. **4**(8): p. 1-9.
420. Kostopoulou, S., G. Ntatsi, G. Arapis, and K.A. Aliferis, *Assessment of the effects of metribuzin, glyphosate, and their mixtures on the metabolism of the model plant *Lemna minor* L. applying metabolomics*. *Chemosphere*, 2020. **239**: p. 124582.
421. Karamanou, D.A. and K.A. Aliferis, *Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) GC/EI/MS metabolomics dataset*. *Data in brief*, 2020. **29**: p. 105208.
422. Aguirre, M., E. Kiegle, G. Leo, and I. Ezquer, *Carbohydrate reserves and seed development: An overview*. *Plant reproduction*, 2018. **31**: p. 263-290.
423. Stick, R.V. and S. Williams, *Carbohydrates: the essential molecules of life*. 2010: Elsevier.
424. Iturriaga, G., R. Suárez, and B. Nova-Franco, *Trehalose metabolism: from osmoprotection to signaling*. *International journal of molecular sciences*, 2009. **10**(9): p. 3793-3810.
425. Laskowska, E. and D. Kuczyńska-Wiśnik, *New insight into the mechanisms protecting bacteria during desiccation*. *Current genetics*, 2020. **66**(2): p. 313-318.
426. Fougere, F., D. Le Rudulier, and J.G. Streeter, *Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.)*. *Plant physiology*, 1991. **96**(4): p. 1228-1236.

427. Sharma, M.P., et al., *Deciphering the role of trehalose in tripartite symbiosis among rhizobia, arbuscular mycorrhizal fungi, and legumes for enhancing abiotic stress tolerance in crop plants*. *Frontiers in microbiology*, 2020. **11**: p. 509919.
428. Botsford, J.L. and T.A. Lewis, *Osmoregulation in Rhizobium meliloti: production of glutamic acid in response to osmotic stress*. *Applied and environmental microbiology*, 1990. **56**(2): p. 488-494.
429. Wu, W., et al., *Comparative metabolic profiling reveals secondary metabolites correlated with soybean salt tolerance*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2008. **56**(23): p. 11132-11138.
430. Kuczyńska-Wiśnik, D., K. Stojowska-Swędryńska, and E. Laskowska, *Intracellular Protective Functions and Therapeutical Potential of Trehalose*. *Molecules*, 2024. **29**(9): p. 2088.
431. Chen, A., H. Tapia, J.M. Goddard, and P.A. Gibney, *Trehalose and its applications in the food industry*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2022. **21**(6): p. 5004-5037.
432. Thorat, B.N., A. Sett, and A. Mujumdar, *Drying of vaccines and biomolecules*. *Drying Technology*, 2022. **40**(3): p. 461-483.
433. Caffall, K.H. and D. Mohnen, *The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides*. *Carbohydrate research*, 2009. **344**(14): p. 1879-1900.
434. Loewus, F.A. and P.P. Murthy, *myo-Inositol metabolism in plants*. *Plant science*, 2000. **150**(1): p. 1-19.
435. Li, Z., J. Fu, D. Shi, and Y. Peng, *Myo-inositol enhances drought tolerance in creeping bentgrass through alteration of osmotic adjustment, photosynthesis, and antioxidant defense*. *Crop Science*, 2020. **60**(4): p. 2149-2158.
436. Al-Mushhin, A.A., et al., *Exogenous myo-inositol alleviates salt stress by enhancing antioxidants and membrane stability via the upregulation of stress responsive genes in Chenopodium quinoa L*. *Plants*, 2021. **10**(11): p. 2416.
437. Klages, K., H. Donnison, H. Boldingh, and E. MacRae, *myo-Inositol is the major sugar in Actinidia arguta during early fruit development*. *Functional Plant Biology*, 1998. **25**(1): p. 61-68.
438. Mechri, B., M. Tekaya, H. Cheheb, and M. Hammami, *Determination of mannitol sorbitol and myo-inositol in olive tree roots and rhizospheric soil by gas chromatography and effect of severe drought conditions on their profiles*. *Journal of Chromatographic Science*, 2015. **53**(10): p. 1631-1638.
439. Sambe, M.A.N., X. He, Q. Tu, and Z. Guo, *A cold-induced myo-inositol transporter-like gene confers tolerance to multiple abiotic stresses in transgenic tobacco plants*. *Physiologia plantarum*, 2015. **153**(3): p. 355-364.
440. Arif, Y., et al., *Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020. **156**: p. 64-77.
441. Li, M., et al., *Comparison of salt tolerance in Soja based on metabolomics of seedling roots*. *Frontiers in Plant Science*, 2017. **8**: p. 1101.
442. Kempa, S., et al., *A central role of abscisic acid in stress-regulated carbohydrate metabolism*. *PloS one*, 2008. **3**(12): p. e3935.
443. Krebs, H., *The tricarboxylic acid cycle*, in *Chemical pathways of metabolism*. 1954, Elsevier. p. 109-171.
444. de la Torre-González, A., et al., *Comparative study of the toxic effect of salinity in different genotypes of tomato plants: Carboxylates metabolism*. *Scientia Horticulturae*, 2017. **217**: p. 173-178.
445. Lu, X.-P., et al., *Identification of organic acid-related genes and their expression profiles in two pear (Pyrus pyrifolia) cultivars with difference in predominant acid type at fruit ripening stage*. *Scientia horticulturae*, 2011. **129**(4): p. 680-687.
446. Shi, L. and B.P. Tu, *Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences*. *Current opinion in cell biology*, 2015. **33**: p. 125-131.
447. Tahjib-Ul-Arif, M., et al., *Citric acid-mediated abiotic stress tolerance in plants*. *International journal of molecular sciences*, 2021. **22**(13): p. 7235.
448. Wang, L., D. Cui, X. Zhao, and M. He, *The important role of the citric acid cycle in plants*. *Genomics and Applied Biology*, 2017. **8**.
449. Sokic-Lazic, D. and S.D. Minteer, *Citric acid cycle biomimic on a carbon electrode*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2008. **24**(4): p. 939-944.
450. Shi, D. and Y. Sheng, *Effect of various salt-alkaline mixed stress conditions on sunflower seedlings and analysis of their stress factors*. *Environmental and experimental Botany*, 2005. **54**(1): p. 8-21.

451. Abbas, G., et al., *Effect of salinity on rhizosphere acidification and antioxidant activity of two acacia species*. Canadian Journal of Forest Research, 2015. **45**(1): p. 124-129.
452. Kang, S.-M., et al., *Indole-3-acetic-acid and ACC deaminase producing Leclercia adecarboxylata MO1 improves Solanum lycopersicum L. growth and salinity stress tolerance by endogenous secondary metabolites regulation*. BMC microbiology, 2019. **19**: p. 1-14.
453. Wang, Z., et al., *WGCNA analysis revealing molecular mechanism that bio-organic fertilizer improves pear fruit quality by increasing sucrose accumulation and reducing citric acid metabolism*. Frontiers in Plant Science, 2022. **13**: p. 1039671.
454. Kilic, N., et al., *The effect of organic, inorganic fertilizers and their combinations on fruit quality parameters in strawberry*. Horticulturae, 2021. **7**(10): p. 354.
455. Chia, D.W., T.J. Yoder, W.-D. Reiter, and S.I. Gibson, *Fumaric acid: an overlooked form of fixed carbon in Arabidopsis and other plant species*. Planta, 2000. **211**: p. 743-751.
456. Araújo, W.L., A. Nunes-Nesi, and A.R. Fernie, *Fumarate: multiple functions of a simple metabolite*. Phytochemistry, 2011. **72**(9): p. 838-843.
457. Agius, C., S. von Tucher, and W. Rozhon, *The effect of salinity on fruit quality and yield of cherry tomatoes*. Horticulturae, 2022. **8**(1): p. 59.
458. Talapatra, S.K., B. Talapatra, S.K. Talapatra, and B. Talapatra, *Shikimic acid pathway*. Chemistry of Plant Natural Products: Stereochemistry, Conformation, Synthesis, Biology, and Medicine, 2015: p. 625-678.
459. Wu, S., et al., *Metabolic engineering of shikimic acid biosynthesis pathway for the production of shikimic acid and its branched products in microorganisms: advances and prospects*. Molecules, 2022. **27**(15): p. 4779.
460. Abdelhameed, R.E., A.A.H. Abdel Latef, and R.S. Shehata, *Physiological responses of salinized fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) plants to foliar application of salicylic acid*. Plants, 2021. **10**(4): p. 657.
461. Witte, C.-P. and M. Herde, *Nucleotide metabolism in plants*. Plant physiology, 2020. **182**(1): p. 63-78.
462. Batista-Santos, P., et al., *Is salt stress tolerance in Casuarina glauca Sieb. ex Spreng. associated with its nitrogen-fixing root-nodule symbiosis? An analysis at the photosynthetic level*. Plant Physiology and Biochemistry, 2015. **96**: p. 97-109.
463. Wahid, A., S. Gelani, M. Ashraf, and M.R. Foolad, *Heat tolerance in plants: an overview*. Environmental and experimental botany, 2007. **61**(3): p. 199-223.
464. Othman, Y., G. Al-Karaki, A. Al-Tawaha, and A. Al-Horani, *Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions*. World J. Agric. Sci, 2006. **2**(1): p. 11-15.
465. Mata-Pérez, C., et al., *Transcriptomic profiling of linolenic acid-responsive genes in ROS signaling from RNA-seq data in Arabidopsis*. Frontiers in Plant Science, 2015. **6**: p. 122.
466. Liu, W., et al., *Transcriptomic and physiological analysis reveal that α -linolenic acid biosynthesis responds to early chilling tolerance in pumpkin rootstock varieties*. Frontiers in Plant Science, 2021. **12**: p. 669565.
467. Ma, C., et al., *Alternative Splicing Analysis Revealed the Role of Alpha-Linolenic Acid and Carotenoids in Fruit Development of Osmanthus fragrans*. International Journal of Molecular Sciences, 2023. **24**(10): p. 8666.
468. Wang, X., J. Yin, J. Wang, and J. Li, *Integrative analysis of transcriptome and metabolome revealed the mechanisms by which flavonoids and phytohormones regulated the adaptation of alfalfa roots to NaCl stress*. Frontiers in Plant Science, 2023. **14**: p. 1117868.
469. Akram, N.A., F. Shafiq, and M. Ashraf, *Ascorbic acid-a potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance*. Frontiers in plant science, 2017. **8**: p. 613.
470. Zheng, X., et al., *Metabolism and regulation of ascorbic acid in fruits*. Plants, 2022. **11**(12): p. 1602.
471. Kaur, R. and H. Nayyar, *Ascorbic acid: a potent defender against environmental stresses*, in *Oxidative damage to plants*. 2014, Elsevier. p. 235-287.
472. Hussain, I., et al., *Does exogenous application of ascorbic acid modulate growth, photosynthetic pigments and oxidative defense in okra (Abelmoschus esculentus (L.) Moench) under lead stress?* Acta Physiologiae Plantarum, 2017. **39**: p. 1-13.
473. Vigh, S., et al., *Analysis of phytoconstituent profile of fenugreek-Trigonella foenum-graecum L.-seed extracts*. 2017.

474. Miret, J.A. and S. Munné-Bosch, *Plant amino acid-derived vitamins: biosynthesis and function*. Amino Acids, 2014. **46**: p. 809-824.
475. Palacios, O.A., Y. Bashan, and L.E. de-Bashan, *Proven and potential involvement of vitamins in interactions of plants with plant growth-promoting bacteria—an overview*. Biology and fertility of soils, 2014. **50**(3): p. 415-432.
476. Miller, J.W. and R.B. Rucker, *Pantothenic acid*. Present knowledge in nutrition, 2012: p. 375-390.
477. Jabłońska-Trypuć, A., W. Pankiewicz, and R. Czerpak, *Traumatic acid reduces oxidative stress and enhances collagen biosynthesis in cultured human skin fibroblasts*. Lipids, 2016. **51**: p. 1021-1035.
478. Pietryczuk, A., I. Biziewska, M. Imierska, and R. Czerpak, *Influence of traumatic acid on growth and metabolism of *Chlorella vulgaris* under conditions of salt stress*. Plant Growth Regulation, 2014. **73**: p. 103-110.
479. Pietryczuk, A. and R. Czerpak, *The effect of traumatic acid on the growth, metabolite content and antioxidant activity in *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm.(Lemnaceae)*. Oceanological and hydrobiological studies, 2012. **41**: p. 24-34.
480. Jung, B., et al., *Uridine-ribohydrolase is a key regulator in the uridine degradation pathway of *Arabidopsis**. The Plant Cell, 2009. **21**(3): p. 876-891.
481. Mason, P.J., et al., *Organ-specific expression of genes associated with the UDP-glucose metabolism in sugarcane (*Saccharum spp. hybrids*)*. BMC genomics, 2023. **24**(1): p. 18.
482. Laila, O. and I. Murtaza, *Fenugreek: A treasure of bioactive compounds with promising antidiabetic potential*. International Journal of Food and Nutritional Sciences, 2015. **4**(1): p. 149-157.
483. Mohamadi, N., F. Sharififar, M. Pournamdari, and M. Ansari, *A review on biosynthesis, analytical techniques, and pharmacological activities of trigonelline as a plant alkaloid*. Journal of dietary supplements, 2018. **15**(2): p. 207-222.
484. Ueda, M. and S. Yamamura, *Chemistry and biology of plant leaf movements*. Angewandte Chemie International Edition, 2000. **39**(8): p. 1400-1414.
485. Cho, Y., D.A. Lightfoot, and A.J. Wood, *Trigonelline concentrations in salt stressed leaves of cultivated *Glycine max**. Phytochemistry, 1999. **52**(7): p. 1235-1238.
486. Rajasekaran, L.R., D. Aspinall, G. Jones, and L. Paleg, *Stress metabolism. IX. Effect of salt stress on trigonelline accumulation in tomato*. Canadian Journal of Plant Science, 2001. **81**(3): p. 487-498.
487. Schoeppner, A. and H. Kindl, *Stilbene synthase (pinosylvine synthase) and its induction by ultraviolet light*. FEBS letters, 1979. **108**(2): p. 349-352.
488. Tramontano, W.A., L.S. Evans, and P.A. McGinley, *Effects of cytokinins on promotion of cell arrest in G2 by trigonelline and trigonelline concentrations in cultured roots of *Pisum sativum* and *Glycine max**. Environmental and experimental botany, 1985. **25**(1): p. 83-88.
489. Minorsky, P.V., *The hot and the classic: Trigonelline: A diverse regulator in plants*. Plant physiology, 2002. **128**(1): p. 7.
490. Mazzuca, S., M.B. Bitonti, A. Innocenti, and D. Francis, *Inactivation of DNA replication origins by the cell cycle regulator, trigonelline, in root meristems of *Lactuca sativa**. Planta, 2000. **211**: p. 127-132.
491. Okkels, F. *The role of DNA-methylation in somatic embryogenesis. Poster abstract. in 2nd Nordic Symposium on Cell and Tissue Culture, Helsingør. Denmark. 1988*.
492. Berglund, T., *Nicotinamide, a missing link in the early stress response in eukaryotic cells: a hypothesis with special reference to oxidative stress in plants*. FEBS letters, 1994. **351**(2): p. 145-149.
493. Kalbin, G., et al., *Ultraviolet-B-radiation-induced changes in nicotinamide and glutathione metabolism and gene expression in plants*. European Journal of Biochemistry, 1997. **249**(2): p. 465-472.
494. Skliros, D., et al., *Global metabolomics analysis reveals distinctive tolerance mechanisms in different plant organs of lentil (*Lens culinaris*) upon salinity stress*. Plant and soil, 2018. **429**: p. 451-468.
495. Jorge, T.F., et al., *Mass spectrometry-based plant metabolomics: Metabolite responses to abiotic stress*. Mass spectrometry reviews, 2016. **35**(5): p. 620-649.
496. Soda, N., et al., *Rice intermediate filament, OsIF, stabilizes photosynthetic machinery and yield under salinity and heat stress*. Scientific Reports, 2018. **8**(1): p. 4072.
497. Dorion, S., J.C. Ouellet, and J. Rivoal, *Glutathione metabolism in plants under stress: beyond reactive oxygen species detoxification*. Metabolites, 2021. **11**(9): p. 641.

498. Liao, H.-S., Y.-H. Chung, and M.-H. Hsieh, *Glutamate: A multifunctional amino acid in plants*. Plant Science, 2022. **318**: p. 111238.
499. Parthasarathy, A., M.A. Savka, and A.O. Hudson, *The synthesis and role of β -alanine in plants*. Frontiers in plant science, 2019. **10**: p. 921.
500. Shen, Q., et al., *Ionic, metabolomic and proteomic analyses reveal molecular mechanisms of root adaption to salt stress in Tibetan wild barley*. Plant physiology and biochemistry, 2018. **123**: p. 319-330.
501. Meena, M., et al., *Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions*. Heliyon, 2019. **5**(12).
502. Zhang, H., Y. Li, C. Wang, and X. Wang, *Understanding the high L-valine production in Corynebacterium glutamicum VWB-1 using transcriptomics and proteomics*. Scientific Reports, 2018. **8**(1): p. 3632.
503. Kumari, A. and A.K. Parida, *Metabolomics and network analysis reveal the potential metabolites and biological pathways involved in salinity tolerance of the halophyte *Salvadora persica**. Environmental and Experimental Botany, 2018. **148**: p. 85-99.

Παράρτημα Τιμών

Table with 16 columns: Replication Year, Salinity, Fertilization, Omido Διότιση (mg/g), Φωσφορικά (ppm), IAK, Ήλεκτρολυτικό δυναμικό (mmhos/cm), OMIKO Aφίδιο, Eργαστήριο Αφίδιο, Βελάκια (ESP) (%), Nseed (%), Cseed (%/100g), Kseed (%), Fseed (ppm), Pseed (%), Mg seed (%), Ca plant (%/100g), K plant (%), Fe plant (ppm), P plant (%), Migrant (%). Rows include treatments like BHS, NPK, MMR, Compost, and Control across various replication years and salinity levels.