



**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ Τ.Ε.Ι. ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ &
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ
Κατεύθυνση: Φυτικής Παραγωγής**



**Η ευεργετική επίδραση της μελατονίνης και της
ρεσβερατρόλης σε μοσχεύματα ρίγανης που έχουν υποστεί
περιβαλλοντική καταπόνηση**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ

Θάνου Ιωάννη και Κτενίδου Ειρήνης

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Γιαννακούλα Αναστασία

Καθηγήτρια Εφαρμογών

Θεσσαλονίκη, Οκτώβριος 2017

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις θερμές ευχαριστίες μας στην υπεύθυνη καθηγήτρια της πτυχιακής μας εργασίας καθηγήτρια Εφαρμογών κ. Γιαννακούλα Αναστασία για την συνεχή καθοδήγηση, στήριξη, συνεργασία και ενθάρρυνση καθ'ολη τη διάρκεια του πειραματικού, αλλά και του συγγραφικού μέρους .

Επίσης θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε και τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς επιτροπής τον καθηγητή κ.Ηλία Ηλία και τον επίκουρο καθηγητή κ. Στέφανο Στεφάνου για τον χρόνο που αφιέρωσαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία.

Τέλος θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε το καθηγητή εφαρμογών κ. Τάσιο Βασίλειο για τις συμβουλές και τη βοήθεια του καθ'ολη την διάρκεια του πειράματος και την έκτακτη καθηγήτρια κ. Λιανοπούλου Βαΐα για την βοήθεια της στην εξαγωγή αποτελεσμάτων του πειράματος.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της ευεργετικής ή όχι επίδρασης των βιομορίων (μελατονίνη και ρεσβερατρόλη) σε μοσχεύματα ρίγανης τα όποια έχουν υποστεί συνθήκες περιβαλλοντικής καταπόνησης (υψηλής αλατότητας, υψηλών θερμοκρασιών, έλλειψης νερού). Ειδικότερα η παρούσα εργασία έλαβε χώρα για να διαπιστωθεί το κατά πόσον αυξάνει την αντοχή των μοσχευμάτων της ρίγανης, η επίδραση των παραπάνω βιομορίων υπό συνθήκες διαφορετικών συγκεντρώσεων αλατότητας σε συνδυασμό πάντα με υψηλές θερμοκρασίες και έλλειψη νερού. Για να διαπιστώσουμε την αντοχή των φυτών μελετήθηκαν οι παράμετροι (ύψος, συγκέντρωση χλωροφυλλών, συγκέντρωση προλίνης, ποσότητα εξαγόμενου αιθέριου ελαίου, φθορισμός χλωροφύλλης).

Τα μοσχεύματα ρίγανης φυτεύτηκαν σε γλάστρες στο πειραματικό θερμοκήπιο του ΑΤΕΙΘ στις 7 Μαρτίου του 2017 και μεταφυτεύτηκαν σε μεγαλύτερες γλάστρες, για την καλύτερη ανάπτυξη των φυτών, άλλες δύο φορές κατά την διάρκεια του πειράματος στις 30-4-2017 και στις 10-6-2017 . Οι πειραματικές επεμβάσεις ξεκίνησαν στις 9-5-2017 , 62 ημέρες και διήρκησαν για άλλους 2 μήνες (60 ημέρες).

Η συνολική διάρκεια του πειράματος μαζί με τις πειραματικές διαδικασίες, την συλλογή φυτικού υλικού και την εξαγωγή αποτελεσμάτων ήταν έξι περίπου μήνες.

Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν εξήντα τεμάχια τα οποία χωρίστηκαν σε τέσσερις κατηγορίες (15 τεμάχια ανά κατηγορία) ανάλογα με την συγκέντρωση NaCl την οποία χορηγήθηκε (1η κατηγορία: μάρτυρας C_{NaCl}:0μM, 2η κατηγορία: C_{NaCl}: 150μM, 3η κατηγορία: C_{NaCl}: 300μM, 4η κατηγορία: C_{NaCl}: 450μM) και η κάθε μία από αυτές της κατηγορίες χωρίστηκε σε τρεις υποκατηγορίες, 5 φυτών, ανάλογα με το εάν και με ποιο βιομόριο είχε ψεκάσει (3,5 μM μελατονίνη, 3,5 μM ρεσβερατρόλη, αφέκαστο)

Μετά το πέρας των πειραματικών επεμβάσεων έγινε προσδιορισμός του ύψους καθώς και κάποιων φυσιολογικών δεικτών όπως η συγκέντρωση της προλίνης, η συγκέντρωση της εξαγόμενης ποσότητας των αιθέριων ελαίων, η συγκέντρωση της χλωροφύλλης και ο φθορισμός αυτής σε όλες της μεταχειρίσεις με ή χωρίς βιομόρια.

Στα αποτελέσματα βρέθηκε ότι πραγματικά η αυξανόμενη αλατότητα επηρεάζει αρνητικά τα φυτά ρίγανης καθώς αυξάνει τα επίπεδα στρες (αύξηση προλίνης) μειώνει την ποσότητα εξαγόμενου αιθέριου ελαίου καθώς και την συγκέντρωση της

χλωροφύλλης. Οι μεταχειρίσεις στις οποίες είχαν εφαρμοστεί βιομόρια έδειξαν κάποια σχετική ανοχή και απάλυνση των συμπτωμάτων της αλατότητας ως μια συγκεκριμένη συγκέντρωση αυτής (<450μM) όπου θεωρείται το όριο της ευεργετικής επίδρασης των χορηγούμενων βιομορίων (μελατονίνη και ρεσβερατρόλη).

Περιεχόμενα

Μέρος Α΄ Εισαγωγή	
1. Εισαγωγή-Σκοπός	2
Μέρος Β΄ Βιβλιογραφική ανασκόπηση	
1. Ρίγανη	4
1.1 Συστηματική κατάταξη	4
1.2 Αιθέρια έλαια	5
1.2.1 Χημική σύσταση	5
1.2.2 Ανάλυση αιθέριων ελαίων	5
1.2.3 Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης	6
1.2.4 Βιολογική δράση ριγανέλαιου	7
1.3 Πλεονεκτήματα της καλλιέργειας	8
1.4 Μορφολογικά χαρακτηριστικά	9
1.5 Προσαρμοστικότητα	11
1.6 Καλλιεργητική τεχνική	11
1.7 Χρήσεις του φυτού	12
1.8 Προοπτικές και μελλοντικές τάσεις	13
2. Επιδράσεις βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων στα φυτά	14
2.1 Εισαγωγή	14
2.2 Στάδια αντίδρασης των φυτών στις καταπονήσεις	15
2.3 Αλατότητα	16
2.3.1 Παράγοντες εμφάνισης αλατούχων εδαφών	16
2.3.2 Η επίδραση των αλάτων	17
2.3.3 Αντίδραση των φυτών στην αλατότητα	18
2.3.4 Επίδραση της αλατότητας στην ανάπτυξη των φυτών	18
2.3.5 Ανθεκτικότητα των φυτών στην αλατότητα	21
2.4 Ξηρασία	22
2.4.1 Φυσιολογικές μεταβολές που προκαλούνται λόγω υδατικής καταπόνησης	23
2.4.2 Οι επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης στα φυτά	24
2.4.3 Οι επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης στα φυτά σε συνδυασμό με υψηλή συγκέντρωση αλάτων	26
2.5 Επίδραση ακραίων θερμοκρασιών στα φυτά	27
2.5.1 Επίδραση υψηλών θερμοκρασιών	27

3. Δευτερογενείς μεταβολίτες	29
3.1 Φαινολικές ενώσεις	29
3.1.1 Ρόλος των φαινολών στα φυτά	30
3.2 Τερπένια	30
3.3 Αζωτούχες ενώσεις	31
3.4 Μελατονίνη	32
3.4.1 Βιοσύνθεση της μελατονίνης	32
3.4.2 Η μελατονίνη στα φυτά	33
3.4.3 Μελατονίνη και λειτουργίες στα φυτά	34
3.4.4 Μελατονίνη και αντοχή στην αλατότητα	36
3.5 Ρεσβερατρόλη	36
3.5.1 Βιοσύνθεση ρεσβερατρόλης	37
3.5.2 Ρόλος της ρεσβερατρόλης στα φυτά	38
3.5.3 Ωφέλιμες δράσεις της ρεσβερατρόλης στον άνθρωπο	40
Μέρος Γ΄ Πειραματικό	
1. Υλικά και μέθοδοι	41
1.1 Προετοιμασία φυτικού υλικού και μεταχειρίσεις	41
1.2 Διαδικασίες παρασκευής ψεκαστικών διαλυμάτων πειράματος	44
1.3 Προσδιορισμός της παραγόμενης ποσότητας αιθέριου ελαίου	47
1.4 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης προλίνης	49
1.5 Προσδιορισμός χλωροφύλλης	51
1.6 Προσδιορισμός του φθορισμού της χλωροφύλλης	53
2. Αποτελέσματα	55
2.1 Ύψος	55
2.2 Απόδοση σε αιθέριο έλαιο	60
2.3 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης της προλίνης	63
2.4 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης χλωροφύλλης	66
2.5 Προσδιορισμός του φθορισμού χλωροφύλλης	69
3. Συμπεράσματα-Συζήτηση	78
Βιβλιογραφία	82

Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1: Σύσταση και περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο κύριων ειδών ρίγανης	6
Πίνακας 2: Παραλλακτικότητα στα συστατικά του ριγανέλαιου σε 5 πληθυσμούς ρίγανης	7
Πίνακας 3: Ταξινόμηση καλλιεργειών με βάση την αντοχή στην αλατότητα	22
Πίνακας 4: Πειραματικό σχέδιο	45
Πίνακας 5: Ημερολόγιο Πειράματος	46
Πίνακας 6: Πίνακας ύψους ανά μεταχείριση	56
Πίνακας 7: Αποτελέσματα ύψους ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης	58
Πίνακας 8: Αποτελέσματα ύψους ανά μεταχείριση μελατονίνης	58
Πίνακας 9: Αποτελέσματα ύψους στις μεταχειρίσεις χωρίς βιομόρια	59
Πίνακας 10: Εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου ανά μεταχείριση	60
Πίνακας 11: Εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης	61
Πίνακας 12: Εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης	62
Πίνακας 13: Εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου σε μεταχειρίσεις χωρίς βιομορία	62
Πίνακας 14: Συγκέντρωση προλίνης ανά μεταχείριση	63
Πίνακας 15: Συγκέντρωση προλίνης στα φυτά-μάρτυρες	64
Πίνακας 16: Συγκέντρωση της προλίνης σε μεταχειρίσεις μελατονίνης	65
Πίνακας 17: Συγκέντρωση της προλίνης σε μεταχειρίσεις ρεσβερατρόλης	65
Πίνακας 18: Προσδιορισμός συγκέντρωσης χλωροφυλλών a και b και ολικής χλωροφύλλης ανά μεταχείριση	66
Πίνακας 19: Συγκέντρωση χλωροφυλλών στους μάρτυρες	67
Πίνακας 20: Συγκέντρωση χλωροφυλλών στις μεταχειρίσεις μελατονίνης	68
Πίνακας 21: Συγκέντρωση χλωροφυλλών στις μεταχειρίσεις ρεσβερατρόλης	68
Πίνακας 22: Αποτελέσματα –δείκτες φθορισμού ανά μεταχείριση	69
Πίνακας 23: Αρχική τιμή φθορισμού ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης	72
Πίνακας 24: Μέγιστη τιμή φθορισμού ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης	72
Πίνακας 25: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον μέγιστο φθορισμό στις μεταχειρίσεις ρεσβερατρόλης	73
Πίνακας 26: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον αρχικό φθορισμό στις	

μεταχειρίσεις ρεσβερατρόλης	73
Πίνακας 27: Αρχική τιμή φθορισμού ανά μεταχείριση μελατονίνης	74
Πίνακας 28: Μέγιστη τιμή φθορισμού ανά μεταχείριση μελατονίνης	74
Πίνακας 29: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον μέγιστο φθορισμό στις μεταχειρίσεις μελατονίνης	75
Πίνακας 30: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον αρχικό φθορισμό στις μεταχειρίσεις μελατονίνης	75
Πίνακας 31: Αρχική τιμή φθορισμού στους μάρτυρες	76
Πίνακας 32: Μέγιστη τιμή φθορισμού στους μάρτυρες	76
Πίνακας 33: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον μέγιστο φθορισμό στους μάρτυρες	77
Πίνακας 34: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον αρχικό φθορισμό στους μάρτυρες	77

Ευρετήριο εικόνων

Εικόνα 1: Μορφολογία φυτού ρίγανης	10
Εικόνα 2 : Χημικός τύπος της μελατονίνης	32
Εικόνα 3 : Μονοπάτι βιοσύνθεσης της μελατονίνης σε φυτικούς και ζωϊκούς οργανισμούς	33
Εικόνα 4 : Χημική δομή και συνηθέστερες πηγές της ρεσβερατρόλης	37
Εικόνα 5: Η πορεία της βιοσύνθεσης της ρεσβερατρόλης	38
Εικόνα 6: Φυτά ρίγανης μετά την 2 ^η μεταφύτευση	41
Εικόνα 7: Φυτά ρίγανης μετά την 3 ^η μεταφύτευση	43
Εικόνα 8: Διαλύματα NaCl διαφορετικών συγκεντρώσεων	44
Εικόνα 9: Εξαγωγή αιθέριου ελαίου από τα φυτά ρίγανης	47
Εικόνα 10: Λειοτρίβηση φύλλων ρίγανης με καθαρή ακετόνη	51
Εικόνα 11: Διαχωρισμός στερεής-υγρής φάσης αμέσως μετά την φυγοκέντρηση	52

ΜΕΡΟΣ Α΄ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ–ΣΚΟΠΟΣ

Η καλλιέργεια των αρωματικών φυτών έχει πολύ καλές προοπτικές τόσο στην Ελλάδα όσο και σε παγκόσμιο επίπεδο. Για τον λόγο αυτό, καταγράφεται αυξημένο ενδιαφέρον τόσο για την καλλιέργεια όσο και για την μεταποίηση των αρωματικών φυτών στην χώρα μας. Οι έξι πιο δημοφιλείς καλλιέργειες των αρωματικών φυτών στην Ελλάδα είναι η ρίγανη, η λεβάντα, το τσάι του βουνού, το θυμάρι, το δενδρολίβανο και η μέντα.

Η ρίγανη βρίσκεται στην κορυφή της πυραμίδας των αρωματικών φυτών, όχι μόνο εξαιτίας της μεγάλης ζήτησης στην Ελλάδα και στο εξωτερικό, αλλά και επειδή είναι μία από τις πλέον επικερδείς καλλιέργειες με μικρό κόστος παραγωγής και ελάχιστες καλλιεργητικές φροντίδες. Δεν είναι τυχαίο, άλλωστε, ότι τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια σημαντική αύξηση της καλλιέργειάς της. Αποτελεί γνωστό φυτικό είδος από την αρχαιότητα για τις αρωματικές και φαρμακευτικές του ιδιότητες. Αποτελεί αρωματικό ποώδες, πολυετές, ιθαγενές και θαμνώδες φυτό της Μεσογείου και της Κεντρικής Ασίας, με ευρεία εξάπλωση στις χώρες γύρω από αυτήν (Ελλάδα, Κύπρος, Τουρκία, Ισραήλ, Ιταλία, Αλβανία, Μαρόκο, Αλγερία, Ιορδανία κ.α). Ενώ το 75% των ειδών απαντώνται σε περιοχές της Ανατολικής Μεσογείου, λίγα σχετικά είδη ανευρίσκονται στη Δ. Μεσόγειο. (Σ. Κατσιώτης, Π. Χατζοπούλου 2010). Στην Ελλάδα και στη Κύπρο απαντώνται 14 είδη-υποείδη ρίγανης καθώς και υβρίδια, εκ' των οποίων δύο μόνο έχουν επικρατήσει σαν η Ηρακλειώτικη ορίγανος η οποία είναι η *Origanum vulgare subsp. hirtum* και ο δίκταμος της Κρήτης. Αποδίδει ικανοποιητικά από το τρίτο έτος και έπειτα, φτάνοντας έως 300 κιλά στο στρέμμα όταν η καλλιέργεια είναι αρδευόμενη. Η απόδοση της σε ριγανέλαιο είναι δυνατόν να φτάσει μέχρι και 7%, με τον μέσο όρο να κυμαίνεται από 3 έως 4%. Στην Ελλάδα η καλλιέργειά της εντοπίζεται κυρίως στη Μακεδονία, τη Θράκη και τη Θεσσαλία. Σε επίπεδο Ευρωπαϊκής Ένωσης, η Ελλάδα και η Γερμανία είναι εκείνες με τις περισσότερες καλλιεργήσιμες εκτάσεις ρίγανης, με τις κυριότερες χώρες προορισμού των ελληνικών εξαγωγών να είναι οι ΗΠΑ και η Γερμανία.

Το ενδιαφέρον για την αντοχή στα άλατα των φυτών, λόγω οικονομικής σημασίας, αυξάνεται καθώς στη σύγχρονη γεωργία προκύπτουν νέα προβλήματα που σχετίζονται

με την αλατότητα. Η υψηλή συγκέντρωση αλάτων αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς περιοριστικούς παράγοντες για την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών με κύριο αποτέλεσμα την μείωση των αποδόσεων και φυσικά του αγροτικού εισοδήματος. Τα προβλήματα αυτά, ειδικά για την χώρα μας, πρόκειται να γίνουν σοβαρότερα στο μέλλον λόγω της μειούμενης ανανέωσης των υπόγειων υδάτων, των μειωμένων βροχοπτώσεων και της διείδυσης υφάλμυρου νερού στους υδροφορείς ορίζοντες, πράγμα το οποίο οδηγεί στην υποβάθμιση της ποιότητας του νερού άρδευσης. Επιπλέον σημαντικός παράγοντας είναι η τάση του κλίματος να μεταβάλλεται σε θερμότερο και ξηρότερο κατά τις τελευταίες δεκαετίες. Ακόμη, δημιουργεί μεγάλο πρόβλημα η τάση της σύγχρονης γεωργίας για χρησιμοποίηση όλου του διαθέσιμου νερού και η άρδευση όσο το δυνατόν μεγαλύτερης έκτασης προκειμένου να ικανοποιηθούν οι συνεχώς αυξανόμενες απαιτήσεις σε τρόφιμα και πρώτες ύλες. Για την κάλυψη των αναγκών της αγοράς η αύξηση της παραγωγής μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσα από περισσότερη αποδοτική γεωργία (επέκταση αρδευόμενων εκτάσεων και εισαγωγή στην καλλιέργεια νέων πιο παραγωγικών ποικιλιών φυτών, οι οποίες συνήθως είναι πιο απαιτητικές σε νερό). Συνεπώς, αναμένεται να αυξηθεί μελλοντικά το ενδιαφέρον της γεωπονικής έρευνας στο θέμα της αλατότητας και ο προσανατολισμός στην τεχνολογική βελτίωση του προβλήματος. Το πρόβλημα της αλατότητας είναι έντονο και σε πολλές περιοχές της Ελλάδας. Το μεγαλύτερο πρόβλημα το αντιμετωπίζει η Θεσσαλία που είναι η μεγαλύτερη καλλιεργούμενη περιοχή στην Ελλάδα (Κόντης, 2009).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να μελετήσουμε την επίδραση του NaCl στη ρίγανη και συγκεκριμένα στο υποείδος *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* σε συνδυασμό με την εξωγενή προσθήκη βιομορίων μελατονίνης και ρεσβερατρόλης. Ειδικότερα στα φυτά της ρίγανης μετρήθηκε το ύψος, η ποσοστιαία απόδοση σε αιθέρια έλαια, οι χλωροφύλλες, ο φθορισμός της χλωροφύλλης και η προλίνη.

ΜΕΡΟΣ Β΄ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

1. ΡΙΓΑΝΗ

Η ρίγανη είναι ένα φυτό γνωστό από την αρχαιότητα για τις αρωματικές και φαρμακευτικές του ιδιότητες. Η πρώτη καταγεγραμμένη χρήση παρουσιάστηκε το 3.000 π.Χ. στους Ασσύριους, οι οποίοι περιέγραψαν πολλές ιατρικές εφαρμογές της. Χρησιμοποιούνταν από τον Ιπποκράτη τον 5^ο αιώνα π.Χ για παθήσεις όπως γαστραλγία, παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος κ.ά. Κατά τη διάρκεια του Μεσαίωνα αναπτύχθηκαν πολλές χρήσεις τόσο για τη ρίγανη, όσο και για το αιθέριο έλαιό της. Στους επόμενους αιώνες προωθήθηκε στην Ευρώπη σαν γιατρικό για πολλές πνευμονικές παθήσεις, ενώ στις ΗΠΑ, άρχισε να γίνεται γνωστή μόλις στις αρχές του 20ου αιώνα.

Πρόκειται για ένα φυτό τονωτικό, ευστόμαχο, διεγερτικό, διουρητικό, καθαρτικό, εμμηναγωγό και ανθελμινθικό και έχει αντιμικροβιακές, μυκητοκτόνες και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Η ρίγανη παρουσιάζει 12 φορές περισσότερο αντιοξειδωτική δράση από το πορτοκάλι, 30 από την πατάτα και 42 από το μήλο.

1.1 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Η ρίγανη είναι δικοτυλήδονο φυτό το οποίο ανήκει στην οικογένεια Lamiales ή Labiales και στο γένος *Origanum*. Το γένος *Origanum* περιλαμβάνει 42 είδη, 49 taxa (υποείδη) και φυσικά υβρίδια, τα οποία κατατάσσονται σε 10 κατηγορίες (Sections), βάσει των μορφολογικών χαρακτηριστικών τους (Ietswaart). Τα είδη με την μεγαλύτερη εξάπλωση και που συναντώνται στον ελλαδικό χώρο είναι τα εξής:

O. vulgare ssp *vulgare*

O. vulgare ssp *hirtum*

O. vulgare ssp *viridulum*

Το *Origanum* ssp *hirtum* είναι το πλέον διαδεδομένο υποείδος στην Ελλάδα, έχει τις μεγαλύτερες αποδόσεις και στην παρούσα εργασία γίνεται η αξιολόγησή του σε

συνθήκες περιβαλλοντικής καταπόνησης. Για τον λόγο αυτό, μόνο αυτό το υποείδος θα αναπτυχθεί περεταίρω στα ακόλουθα κεφάλαια.

1.2 ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

Τα αιθέρια έλαια αποτελούν μίγματα πολλών οργανικών ουσιών, των οποίων η ποσοτική και ποιοτική σύσταση εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως τον γενότυπο του φυτού, το στάδιο ανάπτυξης, τις καλλιεργητικές φροντίδες (λίπανση, άρδευση) και τις συνθήκες του περιβάλλοντος.

Τα αιθέρια έλαια συναντώνται στα φύλλα, στους βλαστούς και στα αναπαραγωγικά όργανα (ανθοφόρους οφθαλμούς, άνθη, καρπούς και σπόρους) και αποθηκεύονται κυρίως στην επιδερμίδα και στο μεσόφυλλο.

1.2.1 Χημική σύσταση

Τα συστατικά των αιθέριων ελαίων χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: οξυγονούχα (αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, φαινόλες, οξέα και εστέρες) και μη οξυγονούχα (υδρογονάνθρακες).

1.2.2 Ανάλυση αιθέριων ελαίων

Η ποιότητα των αιθέριων ελαίων εξαρτάται από διάφορες φυσικές σταθερές, όπως το ειδικό βάρος, η διαλυτότητα, το σημείο ζέσεως κ.ά., αλλά και από την χημική σύστασή τους. Ο προσδιορισμός της χημικής σύστασης είναι πολύ σημαντικός, καθώς από τη παρουσία και την ποσότητά των συστατικών εξαρτάται η ποιότητα των αιθέριων ελαίων. Σήμερα, για τον προσδιορισμό των συστατικών και της συγκέντρωσής τους σε αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται κυρίως η αέριος ή υγρή χρωματογραφία με φασματογράφο μάζας.

1.2.3 Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης

Οι αυτοφυείς ποικιλίες ρίγανης στην Ελλάδα, δίνουν διαφορετική ποιότητα δρόγης, που εξαρτάται από τον γενότυπο του φυτού (είδος - υποείδος) και τις περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες αναπτύσσονται. Τα κύρια συστατικά που παραλλάσσουν στα αιθέρια έλαια της ρίγανης *Origanum* ssp *hirtum*, σε αυτοφυή κατάσταση είναι η καρβακρόλη και η θυμόλη και συνήθως υπερτερεί το ένα από τα δύο, και οι πρόδρομες ουσίες γ-τερπινένιο και p-κυμένιο.

Είδος ρίγανης	Περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο (ml/100 g δρόγης)	Κύρια συστατικά αιθέριου ελαίου
<i>Origanum vulgare</i> ssp <i>hirtum</i>	1.8-8.2	καρβακρόλη, θυμόλη, γ-τερπινένιο, p-κυμένιο
<i>Origanum vulgare</i> ssp <i>viridulum</i>	0.3-0.8	καρβακρόλη, θυμόλη
<i>Origanum vulgare</i> ssp <i>vulgare</i>	0.1-0.3	σαβινένιο, cis-οκιμένιο, γερμακρένιο-D, καρνοφυλλένιο
<i>Origanum calcaratum</i>	0.4	καρβακρόλη, θυμόλη, γ-τερπινένιο
<i>Origanum microphyllum</i>	0.4-1.7	cis-σαβινένιο, 1-τερπινεν-4-όλη
<i>Origanum onites</i>	0.4-0.7	καρβακρόλη

Πίνακας 2: Σύσταση και περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο κύριων ειδών ρίγανης

Το *Origanum vulgare* ssp *hirtum* δίνει αιθέριο έλαιο πολύ πλούσιο σε συστατικά, έχοντας προσδιοριστεί 103 (Mancini et al., 2014). Επίσης, υπάρχει μεγάλη παραλλακτικότητα στην περιεκτικότητα των συστατικών του αιθέριου ελαίου, με αποτέλεσμα να αυξάνει ακόμα περισσότερο η ποικιλότητα του προϊόντος, όπως διαπιστώθηκε και από μελέτη που έγινε στο Αγρόκτημα του ΑΤΕΙΘ, που περιελάμβανε 31 δείγματα 5 πληθυσμών ρίγανης, οι οποίοι προέρχονταν από Κορινθία, Καλαμάτα, Χαλκιδική, Ήπειρο και Μυτιλήνη.

Αιθέριο έλαιο και συστατικά	Ελάχιστη και μέγιστη τιμή	Μέσος όρος και τυπική απόκλιση
Αιθέριο έλαιο	2,85-16,6 ml	8,85±3,30 ml
καρβακρόλη	2,41-90,3 %	53,6±35,2 %
θυμόλη	0,22-64,8 %	18,2±24,7 %
α-πινένιο	0,17-2,47 %	0,83±0,48 %
β-πινένιο	0,03-0,48 %	0,14±0,09 %
ρ-κυμένιο	2,68-31,6 %	12,7±6,61 %
καμφένιο	0,04-0,86 %	0,231±0,18 %
μυρσένιο	0,18-1,56 %	0,747±0,393 %
α-τερπινένιο	0,31-3,74 %	1,559±0,882 %
γ-τερπινένιο	0,12-14,5 %	2,98±3,28 %
λιναλοόλη	0,05-0,88 %	0,302±0,195 %
δ-καδινένιο	0,19-7,28 %	1,06±1,23 %

Πίνακας 2: Παραλλακτικότητα στα συστατικά του ριγανέλαιου σε 5 πληθυσμούς ρίγανης

Η συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου στο φυτό εμφανίζει μεγάλη παραλλακτικότητα και εξαρτάται από το υψόμετρο, την ύπαρξη νερού το καλοκαίρι, την κλιματική θερμική απόδοση και την συγκέντρωση της θερμικής απόδοσης το καλοκαίρι (Vokou et al., 1993). Φυτά που αναπτύσσονται σε χαμηλότερα υψόμετρα, όπου επικρατούν ξηροθερμικές συνθήκες, έχουν μεγαλύτερες αποδόσεις (Vokou et al., 1993).

1.2.4 Βιολογική δράση ριγανέλαιου

Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης μετά από έρευνες, αποδείχτηκε ότι έχει ευρεία βιολογική δράση εναντίον διαφόρων παθογόνων που προσβάλλουν τα φυτά, τα ζώα και τον άνθρωπο. Εμφανίζει αξιόλογη δραστηριότητα ενάντια σε αρνητικά κατά Gram βακτήρια π.χ. *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* κ.ά. και σε θετικά κατά Gram βακτήρια π.χ. *Micrococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus licheniormis*, *Bacillus thuringiensis* κ.ά. (Marino et al. 2001). In vitro, η καρβακρόλη και η θυμόλη παρουσίασαν την μεγαλύτερη αντιβακτηριακή δράση, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά, όπως το γ-τερπινένιο και το

p-κυμένιο δεν είναι γνωστό ακόμη το πώς δρουν σε συνέργεια.

Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης παρουσιάζει επιπλέον αντιμηκυτιακή δράση, π.χ. η καρβακρόλη χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση των *Aspergillus flavus* και *Aspergillus parasiticus* κατά την μετασυλλεκτική ζωή του αραβόσιτου (Mateo et al., 2017), αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη (Leyva-Lopez et al., 2017) και αντικαρκινική δράση (Marrelli et al., 2016). Αυτές οι ιδιότητες καθιστούν το αιθέριο έλαιο της ρίγανης σημαντικό στην βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών και φαρμάκων (Leyva-Lopez et al., 2017).

1.3 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Η ρίγανη πρέπει να γίνει καλλιεργούμενο φυτό επειδή:

- Η χρησιμοποίησή της στον χώρο του φαρμάκου συνδέεται άμεσα με τον χημικό τύπο της δρόγης, ο οποίος σε αυτοφυή κατάσταση του φυτού παρουσιάζει μεγάλη παραλλακτικότητα.
- Η ποιότητα και η ποσότητα δρόγης, όπως διαμορφώνεται στο ελληνικό οικοσύστημα, την καθιστά ανταγωνιστική έναντι εκείνης άλλων χωρών.
- Υπάρχει μεγάλη ζήτηση του προϊόντος στο εξωτερικό, που δεν καλύπτεται από την ποσότητα που συλλέγεται.
- Οι αυτοφυείς πληθυσμοί συνεχώς μειώνονται, λόγω της εκτεταμένης χρήσης ζιζανιοκτόνων και της επέκτασης της οικιστικής δραστηριότητας στους φυσικούς βιοτόπους.
- Αξιοποιεί χωράφια με μικρή γονιμότητα και μπορεί να εξασφαλίσει στον γεωργό μεγαλύτερο εισόδημα.
- Αξιοποιεί περιοχές με έλλειψη δυνατότητας άρδευσης.
- Η καλλιέργεια μπορεί να μηχανοποιηθεί πλήρως.

Σήμερα στον ελλαδικό χώρο καλλιεργούνται πάνω από 10000 στρ. με ρίγανη και το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής αξιοποιείται για παραγωγή αιθέριου ελαίου.

1.4 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η ρίγανη είναι φυτό πολυετές, ποώδες και έχει ύψος μέχρι 60 cm.

Ριζικό σύστημα: Η ρίζα είναι αρχικά πασσαλώδης, όμως χάνει γρήγορα αυτόν τον χαρακτήρα και δημιουργεί μια μορφή πεπλατυσμένου, ξυλοποιημένου ριζώματος, κοντά στην επιφάνεια του εδάφους, απ' όπου εκπτύσσονται κάθε χρόνο οι νέοι βλαστοί. Παρουσιάζει επιφανειακή ανάπτυξη. Σε φυτά ενός έτους η οριζόντια έκταση του ριζικού συστήματος φτάνει τα $0,26 \pm 0,04$ m και η κατακόρυφη $0,29 \pm 0,03$ m.

Βλαστός: Οι βλαστοί είναι ετήσιοι. Δημιουργούνται από το τέλος της φυσιολογικής ωρίμανσης των βλαστών της προηγούμενης βλαστικής περιόδου (Ιούνιος-Ιούλιος) μέχρι το τέλος του χειμώνα. Αρχικά είναι ποώδεις και με πράσινο χρώμα, όταν ωριμάζουν όμως, γίνονται ξυλώδεις και παίρνουν καφετί χρώμα. Αν επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες το φυτό παραμένει με την μορφή τούφας στην επιφάνεια του εδάφους, με έρποντες βλαστούς, οι οποίοι, στα σημεία επαφής τους με το έδαφος δημιουργούν στόλωνες. Έτσι το φυτό προφυλάσσεται από τις χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα. Με την άνοδο της θερμοκρασίας (Μάρτιος) οι βλαστοί ανορθώνονται και η τελική εμφάνιση μπορεί να είναι όρθια ή πλαγιοέρπουσα.

Οι βλαστοί είναι τετραγωνικής διατομής και φέρουν αρκετές μη αδενικές τρίχες, οι οποίες γίνονται ακόμη περισσότερες, αν το φυτό αναπτύσσεται υπό αντίξοες συνθήκες, όπως παθογενές έδαφος, ξηρασία κ.ά.

Επίσης, φέρει και λίγες αδενικές τρίχες, όχι ικανές να δώσουν αξιόλογη ποσότητα αιθέριου ελαίου ($0,01$ ml/100 g ξ.β.), περιέχει, όμως, αρκετά ανόργανα στοιχεία, ανάλογα με εδαφικές και τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής.

Φύλλα: Τα φύλλα είναι ελλειψοειδή έως σχεδόν στρογγυλά, με σφηνοειδή, αποστρογγυλεμένη ή καρδιόσχημη βάση, διαστάσεων $6-25 \times 4-6$ mm. Η μέση επιφάνεια των φύλλων είναι $1,87$ cm². Όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά επηρεάζονται από τις εδαφοκλιματικές συνθήκες, κυρίως την χημική σύσταση και την υγρασία εδάφους και την θερμοκρασία ατμόσφαιρας.

Ταξιανθία: Η ταξιανθία είναι σύνθετος στάχυς με μήκος σταχυδίων $3-8$ mm. Τα βράκτεια είναι ελλειψοειδή, ωοειδή, άμισχα και αλληλοεπικαλύπτονται κεραμιδοειδώς. Οι διαστάσεις τους είναι $2-4,5 \times 1-3$ mm. Ο κάλυκας έχει μήκος $2-3$ mm, είναι

σωληνοειδής με 5 σχεδόν ισομήκεις, τριγωνικούς οδόντες, άμισχος και διάστιχτος από αδενικά λέπια. Τα σπέρματα είναι καφετιά, ελλειψοειδή, με λεία επιφάνεια και λιγότερο από 1 mm μήκος.



Εικόνα 12: Μορφολογία φυτού ρίγανης

1.5 ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Όλα τα αυτοφυή είδη ρίγανης του ελλαδικού χώρου αναπτύσσονται σε ποικίλες κλιματικές συνθήκες και εδαφικές συνθήκες, τόσο στην ηπειρωτική όσο και στην νησιώτικη Ελλάδα, σε πλούσια αλλά και άγονα εδάφη.

Πρόκειται για ένα φυτό ανθεκτικό στην ξηρασία με όρια ανάπτυξης 4-33°C και άριστη θερμοκρασία 18-22 °C, ενώ το ριζικό της σύστημα σε φυτά ηλικίας μεγαλύτερης του ενός έτους αντέχει σε θερμοκρασίες αέρα από -25 έως +42°C. Άριστη τιμή εδαφικού pH είναι 6,8 παρουσιάζει ικανοποιητική ανάπτυξη και σε πολύ υψηλότερες τιμές π.χ. σε ασβεστολιθικά εδάφη με την προϋπόθεση ότι στραγγίζουν καλά.

Καλλιεργείται κυρίως ξηρικά, δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία και έχει μικρές απαιτήσεις σε άζωτο, φωσφόρο και κάλιο. Είναι φυτό ιδιαίτερα φωτόφιλο, επομένως για ικανοποιητικές αποδόσεις πρέπει να καλλιεργείται σε ηλιόλουστες περιοχές με δροσερό καλοκαίρι, σε αγρούς απαλλαγμένους από πολυετή ζιζάνια.

1.6 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ

Η ρίγανη είναι ένα φυτό που μπορεί να πολλαπλασιαστεί τόσο εγγενώς (με σπόρο) όσο και αγενώς (με μοσχεύματα , παραφυάδες, διαίρεση). Η εγκατάσταση της καλλιέργειας της ρίγανης απαιτεί αρχικά τη δημιουργία σπορειών και αργότερα την μεταφύτευση των σποροφύτων της ρίγανης. Τα σπορεία για φθινοπωρινή καλλιέργεια της ρίγανης ετοιμάζονται κατά τους καλοκαιρινούς μήνες (Ιούλιο, Αύγουστο) και σε ορισμένες περιπτώσεις ακόμη και την άνοιξη . Εάν θέλουμε να εγκαταστήσουμε την καλλιέργεια την άνοιξη η φύτευση των σπόρων της ρίγανης γίνεται είτε σε ανοικτά σπορεία το φθινόπωρο (Σεπτέμβριο-Οκτώβριος), τα οποία καλύπτονται με πλαστικό κατά τους χειμερινούς μήνες, ώστε να μην καταστραφούν από τις ακραίες θερμοκρασίες, είτε κατά τα τέλη Ιανουαρίου –τέλη Φεβρουαρίου σε θερμοκηπιακές εγκαταστάσεις.

Ο σπόρος της ρίγανης φυτρώνει δύσκολα και για αυτόν τον λόγο απαιτούνται δύο έως πέντε γραμμάρια σπόρου ανά τετραγωνικό (700 με 800 φυτά) ή 10-17 γραμμάρια ανά στρέμμα ανάλογα με την φυτρωτική του ικανότητα. Επιπλέον, η ρίγανη δεν έχει ομοιόμορφο φύτρωμα με τον χρόνο από την σπορά έως την φύτευση κυμαίνεται στις 2-

3 εβδομάδες ενώ η μεταφύτευση των σποροφύτων ιδανικά γίνεται 1,5 με 2 μήνες μετά από αυτή.

Όσον αφορά τον αγενή πολλαπλασιασμό του φυτού μπορεί να γίνει εξαιρετικά εύκολα με μοσχεύματα, ιδιαίτερα τους ανοιξιάτικους μήνες οπού είναι βλαστημένο, ακόμη και χωρίς την χρήση ορμόνης ριζοβολίας. Τα μοσχεύματα τα οποία είναι της τάξεως των 8-10 εκατοστών λαμβάνονται από παλαιότερη καλλιέργεια και τοποθετούνται σε μίγμα άμμου –τύρφης (1:1) ώστε να ριζοβολήσουν.

Όλα τα είδη ρίγανης μπορούν και αναπτύσσουν πλούσιο ριζικό σύστημα και μεγάλο αριθμό βλαστών για αυτόν τον λόγο είναι πολύ απλό να πολλαπλασιαστούν με την μέθοδο της διαίρεσης αλλά και με παραφυάδες . Από ένα διετές φυτό ρίγανης υπάρχει η δυνατότητα λήψης έως και εξήντα νέων φυτών κατά τους φθινοπωρινούς και εαρινούς μήνες, τα οποία μπορούν να φυτευτούν στον αγρό αμέσως μετά τον διαχωρισμό τους από το μητρικό φυτό.

Όπως έχουμε προαναφέρει η ρίγανη είναι ένα ανθεκτικό στην ξηρασία φυτό, με μικρές απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία το οποίο καλλιεργείται ξηρικά, με άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης 18-22°C. Τα φυτά της ρίγανης ευδοκιμούν σε ηλιόλουστες ημιορεινές περιοχές με καλοκαίρια χωρίς ακραίες υψηλές θερμοκρασίες.

1.7 ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ

Στην σύγχρονη εποχή, η ξηρή δρόγη και το αιθέριο έλαιο της ρίγανης χρησιμοποιείται στην βιομηχανία τροφίμων ως αρωματικό, ενισχυτικό της γεύσης και ως φυσικό συντηρητικό, στην αρωματοποιία και στην βιομηχανία φαρμάκων ως συστατικό και ως βελτιωτικό γεύσης και οσμής και σε πολλά φαρμακευτικά σκευάσματα φυτικής προέλευσης για τον άνθρωπο. Επιπλέον, έχει αντικαταστήσει διάφορα συστατικά φαρμάκων, όπως τα αντιβιοτικά στα σιτηρέσια πουλερικών και χοίρων.

1.8 ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΤΑΣΕΙΣ

Όλα τα είδη ρίγανης (*Origanum* spp) χαρακτηρίζονται από μεγάλη φυσιολογική και χημική ετερογένεια, ακόμη και σε φυτά του ίδιου υποείδους που φύονται στον ίδιο οικότυπο.

Λόγω του αυξημένου ενδιαφέροντος των καταναλωτών για την ρίγανη και τα προϊόντα της, κρίνεται σκόπιμη η διατήρηση σταθερής ποιότητας σύμφωνα με τις απαιτήσεις της αγοράς η οποία εξαρτάται από την περιεκτικότητα και την σύσταση του αιθέριου ελαίου, καθώς και από μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως το χρώμα των αποξηραμένων φύλλων. Η διατήρηση αυτή επιτυγχάνεται μέσω της καλλιέργειας της ρίγανης από κατάλληλες επιλογές αυτοφυών ειδών, με επιθυμητά χαρακτηριστικά για βελτίωση.

Η συστηματική γενετική βελτίωση της ρίγανης στοχεύει σε υψηλή και σταθερή απόδοση και στην διατήρηση της ποιότητας της βιομάζας (αύξηση της παραγόμενης ξηρής ουσίας, αύξηση της περιεκτικότητας σε έλαιο, βελτίωση της σύστασης του αιθέριου ελαίου (χαρακτηριστικά που προσδίδουν αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση) και βελτίωση άλλων χαρακτηριστικών π.χ. αντοχή σε έλλειψη νερού, περιβαλλοντική καταπόνηση και ασθένειες).

2. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΒΙΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΒΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΑ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι επιδράσεις που δέχονται τα φυτά από το περιβάλλον διακρίνονται σε βιοτικές και αβιοτικές ή φυσικοχημικές .

Οι βιοτικές επιδράσεις περιλαμβάνουν τις καταπονήσεις που προκαλούνται από άλλους οργανισμούς όπως:

- α) διάφοροι εχθροί (έντομα, ακάρεα, ζώα, πτηνά κ.α.)
- β) ασθένειες (μύκητες, βακτήρια, ιοί κ.α.)
- γ) ανταγωνισμός από παράσιτα και ζιζάνια

Στον αντίποδα οι αβιοτικές επιδράσεις αφορούν στην αλληλεπίδραση του φυτού με το φυσικό ή χημικό περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται. Οι κυριότερες αβιοτικές καταπονήσεις αποτελούν τις :

- α) Καταπονήσεις λόγω έλλειψης νερού (ξηρασία) που προκαλούνται από ποικίλα αίτια με άμεσο ή έμμεσο χαρακτήρα
- β) καταπονήσεις από περίσσεια νερού
- γ) καταπονήσεις από ακραίες θερμοκρασίες υψηλές ή χαμηλές , οι οποίες ξεπερνούν τα όρια αντοχής του φυτού
- δ) καταπονήσεις από αέριους ρύπους ή βιοκτόνα
- ε) καταπονήσεις από μηχανικούς παράγοντες π.χ. χαλάζι , άνεμοι
- στ) καταπονήσεις από υπερβολική συγκέντρωση θρεπτικών στοιχείων , βαρέων μετάλλων και ιχνοστοιχείων στο περιβάλλον ανάπτυξης του φυτού
- ζ)) καταπονήσεις από έκθεση σε συνθήκες έντονης ακτινοβολίας (υπέρυθρη κ.α.) όπως για παράδειγμα τα ηλιοκαύματα που προκαλούνται στους καρπούς από την άμεση έκθεση στο ηλιακό φώς
- η)) καταπονήσεις από υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων

Στην παρούσα εργασία ασχοληθήκαμε μόνο με κάποιους από τους αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης ειδικότερα της αλατότητας, των ακραίων (υψηλών) θερμοκρασιών και της έλλειψης νερού, για αυτό τον λόγο είναι οι μόνοι που θα αναλυθούν περαιτέρω .

2.2 Στάδια αντίδρασης των φυτών στις καταπονήσεις

Τα φυτά που από την στιγμή που αντιμετωπίζουν κάποια καταπόνηση εισέρχονται σε κάποια συγκεκριμένα στάδια αντίδρασης. Τα στάδια αυτά είναι τα εξής:

1. Στάδιο συναγερμού, όπου το φυτό δέχεται το αρχικό ερέθισμα και ξεκινούν να συμβαίνουν αλλαγές στη φυσιολογία του φυτού. Η πορεία των αλλαγών αυτών εξαρτάται από το αν θα συνεχίσουν να υφίστανται οι συνθήκες καταπόνησης οπότε οδηγούμαστε σε οξεία ή χρόνια βλάβη του φυτού ή στην περίπτωση της παρατεταμένης έκθεσης του φυτού στις συγκεκριμένες συνθήκες στη χρόνια βλάβη και θάνατό του, ή αν το περιβάλλον θα επανέλθει στις φυσιολογικές συνθήκες οπότε και το φυτό θα μπορέσει να ανακάμψει.
2. Στάδιο αντοχής, όπου το φυτό χρησιμοποιώντας διάφορους μηχανισμούς μπορεί να εγκλιματιστεί, να προσαρμοστεί ή να επιδιορθώσει τις όποιες βλάβες προκαλούνται από τις συνθήκες καταπόνησης.
3. Στάδιο εξάντλησης, στο στάδιο αυτό τα φυτά δεν μπορούν να ανταπεξέλθουν στις συνθήκες καταπόνησης και οδηγούνται σε βλάβες ακόμη και στην νέκρωση.
4. Στάδιο αναγέννησης, κατά το οποίο υπάρχει πιθανότητα για το φυτό να επιστρέψει στα φυσιολογικά επίπεδα εάν οι βλάβες που αντιμετωπίζει είωαι αναστρέψιμες

Με την πάροδο του χρόνου τα διάφορα φυτικά είδη έχουν αναπτύξει μηχανισμούς, είτε μέσω της φυσικής επιλογής είτε μέσω της γενετικής βελτίωσης με τους οποίους ανέχονται τις διάφορες καταπονήσεις και τους επιτρέπεται να επιβιώσουν. Σήμερα έχουν αναπτυχθεί υβρίδια και ποικιλίες μέσα στα διαφορετικά φυτικά είδη που θεωρούνται ανεκτικές, ανθεκτικές στις διαφορετικές καταπονήσεις. Επιπλέον τα φυτά προκειμένου να αντιδράσουν στις διάφορες καταπονήσεις αναπτύσσουν μηχανισμούς αποφυγής και ανοχής ή αντοχής, οπότε αντίστοιχα μιλάμε για ανθεκτικότητα και ανεκτικότητα στην καταπόνηση. Με τους μηχανισμούς αποφυγής το φυτό αποφεύγει να έρθει σε επαφή με τον παράγοντα καταπόνησης μεταβάλλοντας τις φυσιολογικές λειτουργίες του (π.χ. λήθαργος σπόρων) ή μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά του (π.χ. ανάπτυξη μεγαλύτερου ριζικού συστήματος, κάλυψη των φύλλων με τριχίδια, κηρώδεις ουσίες κ.α.). Αντίστοιχα, με τους μηχανισμούς ανοχής το φυτό μπορεί να ανταπεξέλθει στις συνθήκες καταπόνησης ερχόμενο σε ισορροπία με το περιβάλλον (π.χ. δυνατότητα συσσώρευσης αλάτων στους φυτικούς ιστούς προκειμένου το φυτό να

ανταπεξέλθει σε συνθήκες υψηλής αλατότητας ή μείωση του υδατικού δυναμικού του κυττάρου προκειμένου το φυτό να μπορέσει να ανταπεξέλθει σε συνθήκες έλλειψης νερού).

2.3 ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ

Αλατούχα εδάφη χαρακτηρίζονται εκείνα στα οποία η συγκέντρωση των υδατοδιαλυτών αλάτων στην ριζόσφαιρα των φυτών είναι τόσο μεγάλη, ώστε να οδηγεί στην μείωση της απόδοσής τους. Η συγκέντρωση αυτή εκτιμάται με μέτρηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο εκχύλισμα κορεσμού του εδάφους. Για να χαρακτηριστεί ένα έδαφος ως αλατούχο, έχει καθιερωθεί ως συμβατική τιμή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο εκχύλισμα κορεσμού (ECe), τα 4mS/cm με τάση να μειωθεί στα 2mS/cm.

Νατριωμένο έδαφος (sodic soil) ονομάζεται ένα μη αλατούχο έδαφος που έχει όμως υψηλό λόγο προσροφημένου νατρίου (Sodium Absorption Ratio, SAR \geq 13) ή υψηλό ποσοστό ανταλλάξιμου νατρίου (Exchangeable Sodium Percentage, ESP > 15). Ο λόγος προσροφημένου νατρίου και το ποσοστό ανταλλάξιμου νατρίου ορίζονται από τις ακόλουθες σχέσεις:

Λόγος προσροφημένου νατρίου (SAR) = $\text{Na}^+ / (\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+})^{1/2}$, όπου οι συγκεντρώσεις των κατιόντων είναι εκφρασμένες σε mmol*L⁻¹ εδαφικού διαλύματος.

Ποσοστό ανταλλάξιμου νατρίου (ESP) = (ανταλλάξιμο Na⁺/ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων)*100.

2.3.1 Παράγοντες εμφάνισης αλατούχων εδαφών

Η εμφάνιση και η εξάπλωση των αλατούχων εδαφών σχετίζεται με συγκεκριμένες συνθήκες οι οποίες είναι:

1. Αλάτωση λόγω γεωγραφικής ή τοπογραφικής θέσεως: Εδάφη ξηρών περιοχών, τα δέλτα των ποταμών και παραθαλάσσιες περιοχές που κατακλύζονται εποχιακά από θάλασσα, εδάφη που βρίσκονται στα χαμηλότερα σημεία των λεκανών απορροής και περιοχές με εδάφη μικρής υδατοπερατότητας.

2. Αλάτωση λόγω κακής ποιότητας νερού άρδευσης: Αυτή η κατάσταση οφείλεται στην εντατικοποίηση της γεωργίας με στόχο την μεγιστοποίηση της παραγωγής. Πιο συγκεκριμένα, η χρήση υψηλών δόσεων χημικών λιπασμάτων και νερού, αρχικά οδηγεί στη υλοποίηση των στόχων της εντατικής γεωργίας ωστόσο, ειδικά στην περίπτωση των παραθαλάσσιων θερμοκηπιακών καλλιεργειών, αρχίζουν να συσσωρεύονται προβλήματα στα εδάφη εξαιτίας της κακής ποιότητας νερού, ένα από τα οποία είναι και η δημιουργία αλατότητας.

Η νατρίωση ενός εδάφους προκαλείται από τα προϊόντα της χημικής αποσάθρωσης του μητρικού υλικού ή από την χρήση αρδευτικού νερού υψηλής συγκέντρωσης Na. Επίσης σχηματίζονται από τα αλατούχα-νατριωμένα εδάφη με την βελτίωση της στράγγισης τους και την απομάκρυνση των διαλυτών αλάτων με έκπλυση.

2.3.2 Η επίδραση των αλάτων

Τα άλατα επιδρούν στα φυτά θετικά και αρνητικά. Οι θετικές επιπτώσεις τους συνίστανται στο ότι σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να επηρεάζουν την ανάπτυξη των φυτών και να ενισχύουν ενίοτε τις αποδόσεις των καλλιεργειών, καθώς επίσης να βελτιώνουν και την ποιότητα των προϊόντων (Pasternak, 1987). Παραδείγματος χάρη, στο βαμβάκι, ελαφρά αυξημένη αγωγιμότητα αυξάνει τις αποδόσεις (Pasternak et al., 1979), ενώ στην περίπτωση της τομάτας αυξάνει τη συγκέντρωση των ολικών διαλυτών ουσιών και βελτιώνει την ποιότητα των καρπών (Rush and Epstein, 1981). Ωστόσο, η παρουσία υψηλού επιπέδου αλατότητας στο έδαφος έχει συνήθως δυσμενείς επιπτώσεις στην φυτική ανάπτυξη, τόσο από πλευράς ποσοτικής, όσο και ποιοτικής.

Οι αρνητικοί τρόποι δράσης της αλατότητας είναι οι εξής (Brady, 1990):

- Απευθείας καυστική επίδραση του υψηλού pH στις ρίζες των φυτών,
- Τοξική δράση των διττανθρακικών και λοιπών ανιόντων, π.χ. Βορίου ή κατιόντων Na^+ στις φυσιολογικές λειτουργίες του φυτού,
- Δυσμενής επίδραση ορισμένων ενεργών ιόντων καθώς και χαμηλή διαθεσιμότητα των θρεπτικών λόγω του υψηλού pH,
- Έλλειψη οξυγόνου, από υποβάθμιση της δομής λόγω διασποράς των συσσωματωμάτων και της μείωσης της περατότητας.

Επιπλέον, τα αλκαλιωμένα (νατριωμένα) ή τα αλατουχο-αλκαλιωμένα εδάφη, εμφανίζουν και τον κίνδυνο της επίδρασης των υψηλών συγκεντρώσεων του Na σε βάρος των φυτών. Η υψηλή συγκέντρωση του Na⁺ μπορεί να δράσει τοξικά στα φυτά, όπως επίσης και η συσσώρευση στο έδαφος ορισμένων μετάλλων όπως το Mo, το οποίο είναι ευδιάλυτο στα αλκαλικά εδάφη, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την πορεία ανάπτυξης των φυτών (Abrol et al., 1988).

2.3.3 Αντίδραση των φυτών στην αλατότητα

Τα φυτά, για να αναπτυχθούν κάτω από αλατούχες συνθήκες του εδάφους, υποχρεώνονται να αναπτύξουν κάποιους αμυντικούς ή και επιθετικούς μηχανισμούς, οι οποίοι αφορούν: α) την πρόσληψη των ιόντων και β) την σύνθεση διαφόρων οργανικών ουσιών.

Τα καλλιεργούμενα φυτά δεν παρουσιάζουν όλα την ίδια αντίδραση στην αλατότητα του εδάφους. Ορισμένα φυτικά είδη ανταποκρίνονται καλύτερα σε συνθήκες υψηλής αλατότητας επειδή έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν την ωσμωτική τους πίεση, με στόχο να μπορούν να προσλαμβάνουν μεγαλύτερες ποσότητες νερού από ένα αλατούχο έδαφος.

Κλασικό παράδειγμα αποτελούν τα αλόφυτα, τα οποία αντέχουν σε υψηλά επίπεδα αλατότητας του εδάφους και μπορούν να συσσωρεύουν άλατα σε υψηλές συγκεντρώσεις. Τα φυτά αυτά είναι προσαρμοσμένα να προσλαμβάνουν άλατα και να τα απομονώνουν στα κενοτόπια των κυττάρων τους, ενώ οι οργανικές συμβατές διαλυτές ενώσεις παίζουν τον ρόλο της ωσμωτικής προσαρμογής στο κυτόπλασμα (Jones and Gorgamig, 1983). Ωστόσο, στα μη αλόφυτα τα άλατα μπορεί να είναι εξαιρετικά επικίνδυνα, διότι συσσωρευμένα στα κύτταρα σε υψηλές συγκεντρώσεις καταστρέφουν τα ένζυμα και τα οργανίδια τους οδηγώντας στην νέκρωση (Greenway and Munns 1980; Wyn Jones, 1981; Munns et al., 1983).

2.3.4 Επίδραση της αλατότητας στην ανάπτυξη των φυτών.

Τα άλατα επιδρούν με ποικίλους τρόπους στην ανάπτυξη των φυτών. Αρχικά, προκαλούν ωσμωτικά φαινόμενα και ειδικές ιοντικές επιδράσεις, οι οποίες με την σειρά

τους προκαλούν διάφορες θετικές και αρνητικές διεργασίες στην ανάπτυξη των φυτών. Η αλατότητα είναι συνδυασμός ωσμωτικής, ιοντικής και δευτερογενώς οξειδωτικής καταπόνησης (Lee et al., 2013).

Η ωσμωτική καταπόνηση λόγω αλατότητας μειώνει την απορρόφηση νερού από τις ρίζες. Η έλλειψη νερού γρήγορα μεταφέρεται από τις ρίζες σε άλλα μέρη του φυτού προκαλώντας μείωση σπαργής και κυτταρικής επιμήκυνσης (Munns and Tester, 2008; Taiz and Zeiger, 2010) με αποτέλεσμα τον περιορισμό της αύξησης και ανάπτυξης των φυτών λόγω διαταραχών σε σημαντικές κυτταρικές λειτουργίες όπως αγωγιμότητα των στοματίων, φωτοσύνθεση και μεταβολισμό του άνθρακα (Smith and Stitt, 2007; Yoo et al., 2009; Salekdeh et al., 2009; Tardieu et al., 2011). Η ωσμωτική καταπόνηση προκαλεί άμεσο (Yeo et al., 1985) ή έμμεσο κλείσιμο στοματίων (Yoo et al., 2009; Kim et al., 2010), το οποίο οδηγεί σε περαιτέρω μείωση διαπνοής.

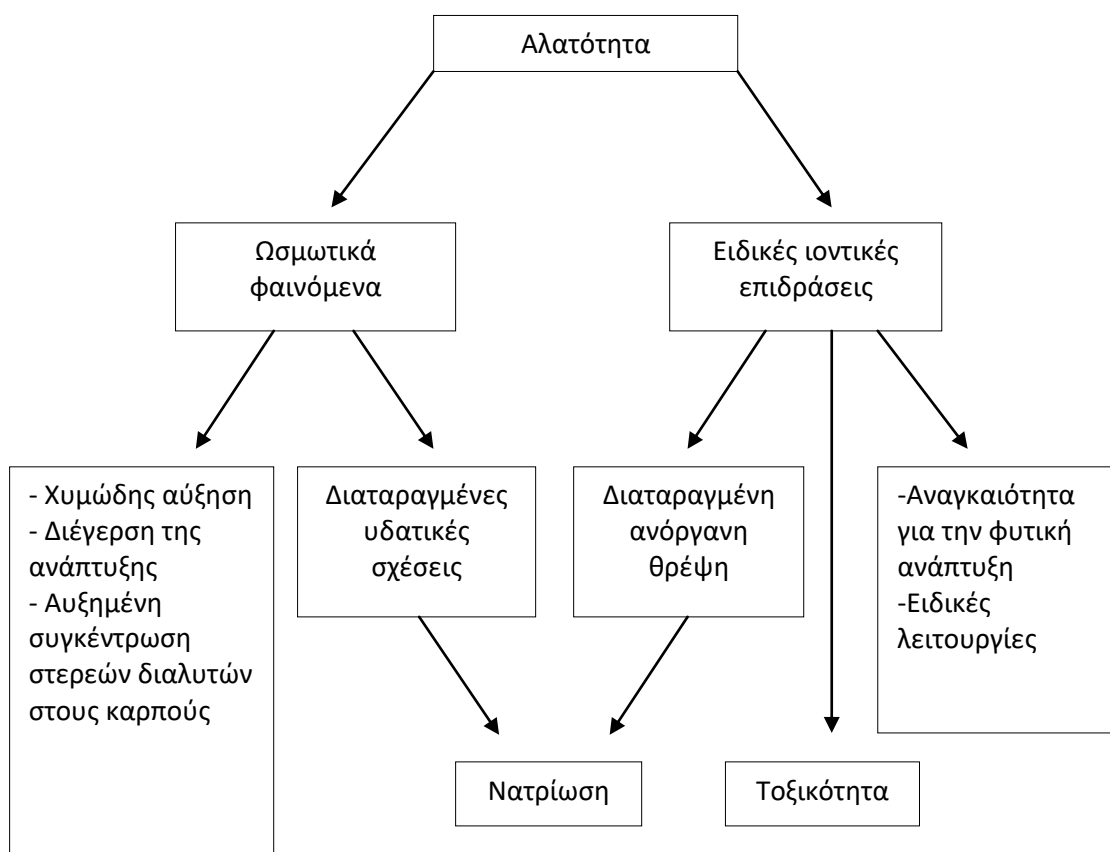
Η ιοντική καταπόνηση επέρχεται στο φυτό σε μεγαλύτερη διάρκεια χρόνου (ημέρες ή εβδομάδες) σε σχέση με την ωσμωτική. Ο λόγος της εμφάνισής της είναι η συσσώρευση κυρίως ιόντων Na^+ και Cl^- ή άλλων ιόντων σε τοξικές συγκεντρώσεις στους ιστούς και στο κυτόπλασμα, οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο (Munns and Tester, 2008). Επιπρόσθετα, η υψηλή συσσώρευση των συγκεκριμένων αλάτων μπορεί να επηρεάσει την απορρόφηση άλλων θρεπτικών στοιχείων και επομένως την θρεπτική ισορροπία του φυτού (Flowers and Flowers, 2005; Apse and Blumwald, 2007; Colla et al., 2012). Οι τροφοπενίες, η τοξικότητα ή οι θρεπτικές ανισορροπίες που προκαλούνται από την αλατότητα οφείλονται στον ανταγωνισμό του Na^+ και Cl^- με στοιχεία όπως K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} και NO_3^- (Romero-Aranda et al., 1998; Hu and Schmidhalter, 2005). Ένα από τα στοιχεία που κυρίως επηρεάζονται είναι το K^+ (Aleman et al., 2009), το οποίο επηρεάζει βιοχημικές και φυσιολογικές λειτουργίες όπως άνοιγμα των στοματίων, φωτοσύνθεση, αναπνοή και πρωτεϊνική σύνθεση (Ferreira-Silva et al., 2010).

Η οξειδωτική καταπόνηση είναι αποτέλεσμα αυξημένης παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) και μειωμένης αντιοξειδωτικής ικανότητας των κυττάρων (Mittler, 2002; Amor et al., 2005). Η αλατότητα μειώνει την ανταλλαγή αερίων, με αποτέλεσμα την μείωση απορρόφησης CO_2 από τα φύλλα (Asada, 1999; Foyer and Noctor, 2003; Miller et al., 2010), που οδηγεί στην αλυσιδωτή μεταφορά μεγάλου αριθμού ηλεκτρονίων κατά την φωτοσύνθεση, με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή ROS και

την εμφάνιση οξειδωτικής καταπόνησης στους φυτικούς ιστούς (Asada, 1999; Mateo et al., 2004). Η παραγωγή των ROS αυξάνεται μέχρι να επέλθει βλάβη σε διάφορες φυσιολογικές διαδικασίες του φυτού, όπως υπεροξείδωση των λιπιδίων στις κυτταρικές μεμβράνες, βλάβη στο DNA, αποδιοργάνωση των πρωτεϊνών, οξείδωση υδατανθράκων, καταστροφή χρωστικών, εξασθένηση της δράσης μερικών ενζύμων και τον κυτταρικό θάνατο (Scandalios, 1993; Noctor et al., 1998; Blokhina et al., 2003).

Συνοπτικά, οι συνέπειες των αλάτων στην ανάπτυξη του φυτού είναι οι εξής (Poljakoff-Maybee and Gale, 1975):

- Αύξηση της υδραυλικής αγωγιμότητας των ριζών και φύλλων
- Μεταβολή του επιπέδου των ορμονών του φυτού
- Δυσμενής επίδραση στους φωτοσυνθετικούς μηχανισμούς
- Ανταγωνισμός μεταξύ ιόντων και προβλήματα θρέψης



Σχήμα 1: Επίδραση της αλατότητας και της νατρίωσης στην ανάπτυξη των φυτών

2.3.5 Ανθεκτικότητα των φυτών στην αλατότητα

Η ανθεκτικότητα των καλλιεργειών στην αλατότητα ορίζεται ως η ικανότητα των φυτών να αντέχουν στις επιδράσεις της περίσσειας των αλάτων του μέσου ανάπτυξης, χωρίς να υπόκεινται σε δυσμενείς επιπτώσεις (Maas, 1996).

Τα καλλιεργούμενα φυτά δεν παρουσιάζουν όλα την ίδια αντίδραση στην αλατότητα του εδάφους. Όπως αναφέρθηκε, ορισμένα φυτικά είδη ανταποκρίνονται καλύτερα σε συνθήκες υψηλής αλατότητας, επειδή έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν την ωσμωτική τους πίεση, έτσι ώστε να μπορούν να προσλαμβάνουν μεγαλύτερες ποσότητες νερό από ένα αλατούχο έδαφος. Επιπλέον, η ευαισθησία των φυτών στα άλατα συχνά μεταβάλλεται κατά την περίοδο ανάπτυξής τους κάτω από αλατούχες συνθήκες και συνήθως εμφανίζεται κατά τις εξής φάσεις ανάπτυξης: α) φύτευμα, β) βλάστηση και γ) αναπαραγωγή. Ειδικότερα, η φάση της βλάστησης για πολλά φυτά είναι ίσως η πιο ευαίσθητη. Επίσης, στην φάση του φυτρώματος η κατάσταση είναι πιο πολύπλοκη, καθώς υπάρχουν φυτά ανθεκτικά στην αλατότητα, τα οποία όμως είναι ευαίσθητα κατά το φύτευμα, όπως το βαμβάκι και τα τεύτλα (Shannon and Francois, 1977; Kent and Lauchli, 1985; Ayres and Hayward, 1948) και το αντίθετο, ευαίσθητα φυτά στην αλατότητα με ανθεκτικότητα στην φάση του φυτρώματος, όπως το καλαμπόκι και η τομάτα (Maas et al., 1983; Kurth et al., 1986).

Η ανθεκτικότητα των φυτών επηρεάζεται όχι μόνο από το επίπεδο των αλάτων, αλλά και από το είδος των αλάτων, τις συνθήκες ανάπτυξης του φυτού και την ηλικία και την ποικιλία του φυτού.

Η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας των φυτών στα άλατα γίνεται με βάση την ανάπτυξη και την απόδοσή τους. Οι αποδόσεις αρχίζουν να μειώνονται όταν η αλατότητα που εκφράζεται ως αγωγιμότητα αρχίζει να υπερβαίνει την οριακή τιμή (threshold value) (Maas and Hoffman, 1977)

Οι καλλιέργειες έχουν διάφορη ανθεκτικότητα στα άλατα και γενικά κατατάσσονται στις εξής κατηγορίες:

Ευαίσθητες: <1,3 dS/m

Μετρίως ευαίσθητες: 1,3-3,0 dS/m

Μετρίως ανθεκτικές: 3,0-6,0 dS/m

Ανθεκτικές: >10 dS/m

Ακατάλληλες λόγω υπερβολικά υψηλής αλατότητας.

Ανθεκτικότητα	Καλλιεργούμενα είδη
Ανθεκτικά	Κριθάρι, βαμβάκι, ζαχαρότευτλα, σπαράγγι
Μετρίως ανθεκτικά	Σίκαλη, σόγια, σιτάρι, συκιά, ελιά, ροδιά
Μετρίως ευαίσθητα	Μηδική, φακή, ρύζι, καλαμπόκι, μαρούλι, πιπεριά, πατάτα
Ευαίσθητα	Φασόλι, καρότο, κρεμμύδι, εσπεριδοειδή, πυρηνόκαρπα

Πίνακας 3: Ταξινόμηση καλλιεργειών με βάση την αντοχή στην αλατότητα.

2.4 ΞΗΡΑΣΙΑ

Έλλειψη νερού ή ξηρασία, χαρακτηρίζεται η χρονική περίοδος εκείνη όπου τα φυτά δεν δέχονται την απαιτούμενη ποσότητα βροχής ή αρδευτικού νερού. Από φυσιολογικής άποψης συνδέουμε την ξηρασία με διάφορους παράγοντες όπως για παράδειγμα:

- α) τη χαμηλή περιεκτικότητα του εδάφους σε νερό, περιορισμένη διαθεσιμότητα νερού στις ρίζες των φυτών,
- β) την αυξημένη εξάτμιση του νερού, εξαιτίας της χαμηλής ατμοσφαιρικής υγρασίας, των υψηλών θερμοκρασιών, της υψηλής έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας και της μεγάλης ταχύτητας ανέμων,
- γ) την υψηλή θερμοκρασία, η οποία έχει ως αυξημένη αναπνοή των φυτών και βλάβες στα μεταβολικά μονοπάτια και τις κυτταρικές δομές,
- δ) την υψηλή ηλιακή ακτινοβολία, η οποία προκαλεί φωτοαναστολή, και στην συνέχεια φωτοοξείδωση και τελικά βλάβη της φυλλικής επιφάνειας του φυτού και καταστροφή των φύλλων,
- ε) την αυξημένη συγκέντρωση αλάτων στα φυτά και κυρίως στο ριζικό τους σύστημα που οδηγεί σε ωσμωτική και οξειδωτική καταπόνηση.

Οι ανάγκες του φυτού σε εδαφική υγρασία διαφέρουν ανάλογα με το φυτικό είδος και το στάδιο ανάπτυξης όπου βρίσκεται η καλλιέργεια. Η διαθεσιμότητα της εδαφικής υγρασίας αντίστοιχα εξαρτάται από την ποσότητα του νερού στο χώμα και από τον τύπο του εδάφους.

Υδατική καταπόνηση για ένα φυτό χαρακτηρίζεται η κατάσταση στην οποία για κάποιο συνήθως σύντομο χρονικό διάστημα, ο ρυθμός εξατμισοδιαπνοής ξεπερνά τον ρυθμό απορρόφησης του νερού. Η υδατική ισορροπία και η υδατική οικονομία είναι το αποτέλεσμα των εσωτερικών υδατικών σχέσεων του φυτού, όπου το περιεχόμενο του νερού εξαρτάται από τον ρυθμό με τον οποίο αυτό απορροφάται και αποβάλλεται αυτό από τους φυτικούς ιστούς. Οι διακυμάνσεις της υδατικής ισορροπίας σε ημερήσια βάση είναι ένα πολύ σημαντικό φαινόμενο, όπου παρατηρείται μείωση του περιεχόμενου στους φυτικούς ιστούς νερό κατά την διάρκεια των μεσημβρινών ωρών, ιδιαίτερα τις ζεστές και με έντονη ηλιοφάνεια ημέρες.

2.4.1 Φυσιολογικές μεταβολές που προκαλούνται λόγω υδατικής καταπόνησης

Οι μεταβολές της υδατικής κατάστασης του φυτού συνδέονται με μεταβολικές και φυσιολογικές επιδράσεις των οποίων τα αποτελέσματα γίνονται ορατά μέσω των συμπτωμάτων του φυτού.

Ειδικότερα, οι συνηθέστερες αλλαγές που συμβαίνουν σε ένα φυτό που υφίσταται υδατική καταπόνηση είναι μείωση του υδατικού δυναμικού ή της δραστηριότητας του κυτταρικού υγρού που εκφράζεται ως μείωση της ενέργειας που παράγεται ανά μονάδα όγκου. Επίσης, παρατηρείται μείωση της κυτταρικής σπαργής και αύξηση της συγκέντρωσης των μικρο- και μακρο-μορίων ως αποτέλεσμα της μείωσης του κυτταρικού όγκου. Μεταβολές παρατηρούνται και στις χωρικές συσχετίσεις του πλασμαλήμματος με τον τονοπλάστη και τις μεμβράνες των οργανιδίων, με αποτέλεσμα πάλι της μείωσης του όγκου του κυττάρου. Τέλος έχουμε αλλαγές στην διαμόρφωση και την δομή των μακρομορίων λόγω της απομάκρυνσης του νερού. Επομένως, η υδατική καταπόνηση σχετίζεται με αρκετές φυσιολογικές αλλαγές λόγω της συσχέτισης του νερού με αρκετές μεταβολικές διεργασίες.

Η υδατική καταπόνηση έχει άμεσο αντίκτυπο και στη λειτουργία της φωτοσύνθεσης. Σε συνθήκες έλλειψης τα νερού τα φυτά κλείνουν τα στομάτιά τους για να περιορίσουν τις

υδατικές απώλειες, με αποτέλεσμα τον περιορισμό του ρυθμού πρόσληψης διοξειδίου του άνθρακα που αποτελεί σημαντικό συστατικό της φωτοσυνθετικής λειτουργίας. Στην περίπτωση που αυτό συμβαίνει παράλληλα με συνθήκες έντονης ηλιοφάνειας, το φυτό παράγει χημική ενέργεια μέσω των χλωροπλαστών την οποία δεν μπορεί να χρησιμοποιήσει σε βιοσυνθετικές λειτουργίες λόγω της έλλειψης του CO₂. Η ενέργεια αυτή σταδιακά συσσωρεύεται προκαλώντας σημαντικά προβλήματα στα φωτοσυστήματα των φυτών και περιορίζοντας τη φωτοσυνθετική τους ικανότητα. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως φωτοαναστολή. Ανάλογα με το βαθμό εγκλιματισμού ενός φυτού (φωτόφιλο ή σκιοφιλο) τα συμπτώματα αυτά έχουν διαφορετική ένταση, με τα φωτόφιλα φυτά όπως η ρίγανη να παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα.

Μια βαθμιαία αύξηση της έντασης της καταπόνησης συνεπάγεται και βαθμιαίες αλλαγές στα φυτά. Κατά συνέπεια αρχικά παρατηρούμε καθυστέρηση της ανάπτυξης των βλαστών και του φυλλώματος ως αποτέλεσμα της μειωμένης σπαργής, που με τη σειρά της οδηγεί σε μείωση της σύνθεσης κυτταρικών τοιχωμάτων και πρωτεϊνών στους γρήγορα αναπτυσσόμενους ιστούς. Όσο παρατείνεται το χρονικό διάστημα της καταπόνησης οδηγούμαστε σε μειωμένη κυτταρική διαίρεση και χαμηλά επίπεδα κάποιων ενζύμων όπως η νιτρική ρεδουκτάση. Στη συνέχεια παρατηρείται κλείσιμο των στομάτων του φυτού και μείωση του ρυθμού διαπνοής και της αφομοίωσης του CO₂. Παράλληλα, στους φυτικούς ιστούς συσσωρεύεται αμπισικό οξύ (ABA). Στο επόμενο στάδιο, παρατηρείται σημαντική μετακίνηση της φωτοσυνθετάσης και της κυτοκίνινης των φύλλων. Οι μετακινήσεις αυτές μπορεί να προκαλέσουν αύξηση κάποιων υδρολυτικών ενζύμων και μείωση της μεταφοράς των ιόντων. Σε περιπτώσεις πολύ έντονου στρες το φυτό αρχίζει να συσσωρεύει προλίνη, ενώ παράλληλα μειώνεται περαιτέρω η αφομοίωση του διοξειδίου του άνθρακα.

2.4.2 Οι επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης στα φυτά

Η αποτελεσματικότητα της χρήσης του νερού (WUE) διαφέρει αρκετά μεταξύ των καλλιεργούμενων φυτών. Οι πιο συνηθισμένες διεργασίες που επηρεάζονται από την έλλειψη του νερού, αφορούν στην ομαλή ανάπτυξη του φυτού και μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μεταβολικές διεργασίες και σε στάδια ανάπτυξης.

Οι κυριότερες επιπτώσεις της έλλειψης νερού στα φυτά είναι η μειωμένη παραγωγή και ποιότητα, καθώς και η πρόκληση ανωμαλιών στην αύξησή τους. Πέρα όμως από την έλλειψη του νερού, σημαντική επίδραση μπορεί να έχει και η έντονη διακύμανση στη διαθέσιμη για το φυτό εδαφική υγρασία.

Η υδατική καταπόνηση επίσης είναι υπεύθυνη για την μείωση του ρυθμού αύξησης και σε ορισμένες περιπτώσεις, για την ανάπτυξη ασθενειών στα φυτά. Η υδατική καταπόνηση καθιστά τα φυτά πιο ευαίσθητα στις ασθένειες και λιγότερο ανθεκτικά στις προσβολές των εντόμων. Αν η έλλειψη νερού παρατηρείται νωρίς, κατά την ανάπτυξη της καλλιέργειας, μπορεί να καθυστερήσει η ωρίμανση και να μειωθούν οι αποδόσεις. Αν η έλλειψη υγρασίας εμφανίζεται αργότερα, κατά την περίοδο ανάπτυξης, συχνά η ποιότητα μειώνεται, ακόμα κι αν οι συνολικές αποδόσεις δεν επηρεάζονται. Η υδατική καταπόνηση έχει σοβαρότερες επιπτώσεις στην απόδοση του καρπού κατά τη διάρκεια της περιόδου καρποφορίας απ' ό,τι κατά τη διάρκεια της περιόδου βλάστησης. Έτσι, μερικές καλλιέργειες εμφανίζονται περισσότερο ευαίσθητες στην έλλειψη εδαφικής υγρασίας κατά την περίοδο της καρποφορίας, όπως π.χ. η τομάτα.

Σε μελέτη που έγινε στην ρίγανη ο ανεπαρκής εφοδιασμός σε νερό μετά την έναρξη της ανθοφορίας προκάλεσε την αύξηση της περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο, σε αντίθεση με την συνεχή έλλειψη νερού που δεν την επηρέασε. Σε όλες τις περιπτώσεις η έλλειψη νερού μειώνει την παραγωγή της ξηρής ουσίας αλλά ταυτόχρονα αυξάνει την περιεκτικότητα του αιθέριου ελαίου συνεισφέροντας και την ποιότητα. Έτσι επιθυμούμε την διαμόρφωση του αρδευτικού σχεδιασμού με τέτοιο τρόπο ώστε να μην έχουμε σημαντική μείωση της παραγωγής αλλά ταυτόχρονα να διατηρούμε υψηλή την ποιότητα του παραγόμενου αιθέριου σε υψηλά επίπεδα. Αυτό επιτυγχάνεται κατά το στάδιο της πλήρους άνθησης παρά στην ανθοφορία (Putievsky, 1998).

Επιπλέον η έλλειψη νερού οδηγεί σε έλλειψη φωσφόρου λόγω μειωμένης διαθεσιμότητας στο έδαφος αλλά και επειδή η απορροφητική δύναμη των ριζών μειώνεται όσο παρατείνεται η καταπόνηση. Τα αποτελέσματα της έλλειψης φωσφόρου είναι άμεσα καθώς οδηγούν σε μειωμένες αποδόσεις, ενώ επηρεάζονται έμμεσα οι υδατικές σχέσεις του φυτού καθώς μειώνεται η στοματική αγωγιμότητα.

2.4.3 Οι επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης στα φυτά σε συνδυασμό με υψηλή συγκέντρωση αλάτων.

Η προσπάθεια του φυτού να αντιδράσει στις υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων απαιτεί περισσότερη ενέργεια από την αντίστοιχη περίπτωση της έλλειψης νερού, κάτι που ίσως υποδεικνύει ότι η αυξημένη αλατότητα δρα στο φυτό με μηχανισμούς πιο σύνθετους από την απλή μείωση του ωσμωτικού δυναμικού. Παράλληλα ισχύει ότι οι ρίζες του φυτού έχουν πιο αποτελεσματικούς μηχανισμούς ρύθμισης του ωσμωτικού τους δυναμικού σε σχέση με τους βλαστούς, με αποτέλεσμα η έλλειψη νερού όχι μόνο να μην μειώνει αλλά να συντελεί στην αύξηση του ρυθμού ανάπτυξής τους. Σε μελέτη της επίδρασης των συνθηκών έλλειψης νερού και υψηλής συγκέντρωσης αλάτων στην βλάστηση και την ανάπτυξη του καρπού βρέθηκε ότι η επίδραση της αλατότητας δρα στην βλάστηση και ανάπτυξη των φυτών, δείχνοντας με αυτό τον τρόπο ότι το φυτό μπορεί ευκολότερα να ανταπεξέλθει σε συνθήκες ξηρασίας.

Στο σέλινο η αυξημένη αλατότητα οδηγεί σε μειωμένη πρόσληψη νερού και σε καταπόνηση του φυτού, εξαιτίας της μείωσης του ωσμωτικού δυναμικού του εξωτερικού θρεπτικού διαλύματος και της υδραυλικής αγωγιμότητας του φυτού. Η έλλειψη αυτή του νερού είναι υπεύθυνη για το κλείσιμο των στοματίων και την μείωση της φωτοσύνθεσης στα φύλλα κατά την διάρκεια της εφαρμογής υψηλής συγκέντρωσης αλάτων στο φυτό. Με την απομάκρυνση του παράγοντα της αλατότητας τα φυτά ανέκτησαν την σπαργή τους, κυρίως λόγω της συσσώρευσης ιόντων Na^+ και Cl^- στα φύλλα. Με τον εν λόγω μηχανισμό το φυτό κατορθώνει να ανταπεξέλθει στην έλλειψη του νερού και στην αυξημένη αλατότητα καταναλώνοντας αρκετά λιγότερη ενέργεια σε σχέση με την σύνθεση οργανικών ουσιών ή την απορρόφηση θρεπτικών ουσιών, διατηρώντας παράλληλα ένα ικανοποιητικό επίπεδο θρέψης.

Στην παρούσα πτυχιακή εξετάζουμε την επίδραση σε διάφορες φυσιολογικές παραμέτρους καθώς και στη συγκέντρωση των αιθέριων ελαίων της ρίγανης και κατά πόσον αυτές επηρεάζονται από συγκεκριμένους βιοδιεγέρτες.

2.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΚΡΑΙΩΝ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΑ

Τα φυτά μπορούν και αναπτύσσονται σε ένα συγκεκριμένο εύρος θερμοκρασιών που ποικίλει για τα διάφορα είδη ή ακόμη για τις ποικιλίες του ίδιου είδους. Εκτός του εύρους ιδανικών θερμοκρασιών υπάρχουν ακόμη δύο έννοιες που συνδέονται με τον τρόπο που αντιδρούν τα φυτά στις θερμοκρασίες περιβάλλοντος. Αυτές είναι :

- Τα θερμοκρασιακά όρια βιολογικής δραστηριότητας, όπου πέραν κάποιων θερμοκρασιών αναστέλλεται η βιολογική δραστηριότητα και ως εκ τούτου η αύξηση και η ανάπτυξη των φυτών και
- Τα θανατηφόρα θερμοκρασιακά όρια, τα οποία εάν και όταν ξεπεραστούν επέρχεται ο θάνατος των φυτών.

Η θερμοκρασία του υπέργειου τμήματος ενός φυτού εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως για παράδειγμα : α) η ώρα της ημέρας, β) ο μήνας του χρόνου, γ) το ύψος του φυτού, δ) το σχήμα και οι διαστάσεις των φύλλων κτλ.

Επιπλέον , η θερμοκρασία του ριζικού συστήματος εξαρτάται από κάποιους επιπλέον παράγοντες όπως : α) το βάθος του ριζικού συστήματος β) οι ιδιότητες του εδάφους όπως είναι η περιεχόμενη υγρασία, το χρώμα, το πορώδες και η επιφανειακή κάλυψη.

Όσον αφορά την επίδραση της θερμοκρασίας, υπεισέρχονται διάφοροι παράγοντες όπως η επίδραση της μέσης ημερήσιας θερμοκρασίας εκτός των ακραίων θερμοκρασιών (μέγιστη- ελάχιστη θερμοκρασία), καθώς και ο αριθμός θερμικών μονάδων που δέχεται το φυτό με βάση μια ελάχιστη θερμοκρασία βάσης που είναι διαφορετική για κάθε είδος. Επιπλέον, οι διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες ενός φυτού έχουν διαφορετικές άριστες τιμές και διαφορετικά όρια εντός των οποίων μπορούν να πραγματοποιηθούν χωρίς σημαντική επίδραση, ενώ πολλές φορές υπεισέρχονται και άλλοι παράγοντες.

Για παράδειγμα η έναρξη της κονδυλοποίησης στην πατάτα εξαρτάται από την αλληλεπίδραση της θερμοκρασίας, της φωτοπεριόδου, της έντασης της ηλιακή ακτινοβολίας και τη θρεπτική κατάσταση του φυτού.

2.5.1 Επίδραση υψηλών θερμοκρασιών

Τα φυτά μπορούν να απομακρύνουν τη θερμότητα από τους ιστούς μέσω της ακτινοβολίας μεγάλου μήκους κύματος, μέσω της μεταφοράς θερμότητας και μέσω

της διαπνοής που αποτελεί και τον πιο αποτελεσματικό μηχανισμό. Η επίδραση ακραίων υψηλών θερμοκρασιών είναι αρκετά συνηθισμένη στην καλλιέργεια των λαχανικών υπό κάλυψη, όπου τους καλοκαιρινούς μήνες και κατά τη διάρκεια των μεσημβρινών ωρών η θερμοκρασία στο εσωτερικό ενός θερμοκηπίου μπορεί να ξεπεράσει τους 50°C με αποτέλεσμα να διακόπτεται η ψύξη του φυτού μέσω της διαπνοής καθώς κλείνουν τα στομάτια των φύλλων για να περιορίσουν τις απώλειες νερού. Ωστόσο, σοβαρά προβλήματα μπορεί να δημιουργηθούν και στις υπαίθριες καλλιέργειες όπου κατά τους καλοκαιρινούς μήνες αυξάνεται η πιθανότητα για επικράτηση καυσώνων ή θερμών και ξηρών ανέμων.

Η καταπόνηση από τις υψηλές θερμοκρασίες σχετίζεται με την αύξηση της ρευστότητας των κυτταρικών μεμβρανών, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η διαπερατότητά τους, ενώ παράλληλα γίνεται μετουσίωση των πρωτεϊνών με επίπτωση στη δομή και δράση τους. Επίσης, οι υψηλές θερμοκρασίες επηρεάζουν τη φωτοσύνθεση, κυρίως μέσω του φωτοσυστήματος II, το οποίο είναι εξαιρετικά ευαίσθητο στις υψηλές θερμοκρασίες, ενώ δημιουργούνται προβλήματα στη ροή των ηλεκτρονίων και τη φωσφορυλίωση. Ως αποτέλεσμα, η προσλαμβανόμενη ηλιακή ενέργεια δεν μπορεί να αξιοποιηθεί μέσω της μετατροπής της σε φωτοχημική ενέργεια και παρατηρείται ο φθορισμός της χλωροφύλλης. Από τις υψηλές θερμοκρασίες επηρεάζεται και η αναπνοή, με μικρότερη ωστόσο ευαισθησία σε σχέση με τη φωτοσύνθεση. Η συνδυαστική αυτή επίδραση έχει άμεση επίπτωση στο ισοζύγιο CO₂, καθώς με την σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας αρχικά περιορίζεται ο ρυθμός αφομοίωσης του CO₂ μέσω της φωτοσύνθεσης, ενώ παράλληλα εκλύεται CO₂ μέσω της αναπνοής.

3. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ

Οι φυτικοί οργανισμοί παράγουν έναν μεγάλο αριθμό βιομορίων (παραπάνω από 100.000 χημικές δομές), η σύνθεση των οποίων δεν φαίνεται να σχετίζεται ευθέως με τις ανάγκες της αύξησης και της ανάπτυξης. Τα βιομόρια αυτά ονομάζονται δευτερογενείς μεταβολίτες ή προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού. Η σύνθεση των δευτερογενών μεταβολιτών δεν ακολουθεί τους γνωστούς πρωτογενείς μεταβολικούς δρόμους σε αντίθεση με τους πρωτογενείς (αμινοξέα, λιπίδια, νουκλεοτίδια, υδατάνθρακες, οργανικά οξέα κ.ά.), οι οποίοι σχετίζονται με τις ζωτικές, όμοιες για όλα τα φυτά, λειτουργίες (αναπνοή, φωτοσύνθεση, αφομοίωση ανόργανων θρεπτικών στοιχείων κ.ά.). Συνεπώς τα δευτερογενή αυτά προϊόντα δεν αποτελούν βασικά μοριακά δομικά συστατικά του φυτικού κυττάρου, αλλά σχηματίζονται μόνο σε συγκεκριμένους ιστούς ή όργανα και σε κατάλληλα στάδια της ανάπτυξης.

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες βιοσυντίθενται κατά τις μεταβολικές διαδικασίες των υδατανθράκων, των λιπών και των αμινοξέων, χρησιμοποιώντας κάποια από τα ενδιάμεσα προϊόντα ως βασικές ουσίες για τη δημιουργία των προϊόντων αυτών. Με βάση τη βιοσυνθετική οδό μέσω της οποίας παράγονται και τα χαρακτηριστικά του μορίου, οι δευτερογενείς μεταβολίτες κατατάσσονται σε:

- Φαινολικές ενώσεις
- Τερπένια
- Αζωτούχες ενώσεις

3.1 Φαινολικές ενώσεις

Σχεδόν όλα τα ανώτερα φυτά και πολλοί μικροοργανισμοί περιέχουν διάφορα είδη και διαφορετικές ποσότητες φαινολικών συστατικών. Αν εξαιρέσουμε μεμονωμένες περιπτώσεις, η λειτουργία των περισσοτέρων φαινολών είναι ασαφής. Σήμερα για τις περισσότερες γνωρίζουμε ότι είναι παραπροϊόντα του μεταβολισμού με ενεργή δραστηριότητα, όπως φυτικές ορμόνες, οξειδοαναγωγικοί συμπαράγοντες (π.χ. το συνένζυμο Q), χρωστικές των φλαβονοειδών κ.τ.λ. Όλα τα φαινολικά συστατικά έχουν ένα αρωματικό δακτύλιο, ο οποίος φέρει τουλάχιστον μια υδροξυλική ομάδα

συνδεδεμένη με άνθρακα του πυρήνα ή δραστικά παράγωγα, όπως καρβοξυλικές ή μεθοξυλικές ομάδες (-O-CH₃), καθώς επίσης και άλλες δομές μη αρωματικού δακτυλίου. Οι πιο γνωστές φαινόλες είναι η φαινόλη, η κατεχόλη, η υδροκινόνη και η φλωρογλυκινόλη. (Καράταγλης, 1994).

3.1.1 Ρόλος των φαινολών στα φυτά

Οι φαινόλες εκδηλώνουν διάφορους ρόλους στα φυτά. Ειδικότερα, μερικές από αυτές έχουν αμυντικό ρόλο κατά των φυτοφάγων ζώων και των παθογόνων οργανισμών. Άλλες λειτουργούν για μηχανική υποστήριξη, άλλες για την προσέλκυση επικονιαστών και τη διασπορά των σπερμάτων, ενώ άλλες για τη μείωση της αύξησης των γειτονικών ανταγωνιστικών φυτών (Καράταγλης, 1994). Επίσης κατά την διάρκεια της βιοσύνθεσης φαινολικών ουσιών, εάν έχουμε παράλληλη προσβολή από παθογόνο, μετά από διάφορες διαδικασίες, συντίθενται οι τοξικές για τα παθογόνα ουσίες φυτοαλεξίνες (Lattanzio et al., 2006)

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η χημική ουσία ρεσβερατρόλη που εξετάζεται στην παρούσα πτυχιακή ανήκει στις μη φλαβονοειδείς πολυφαινόλες και παρουσιάζει όπως θα αναφερθεί παρακάτω αντιοξειδωτική δράση τόσο σε φυτά όσο και σε ζωικούς οργανισμούς.

3.2 Τερπένια

Τα τερπένια ή τερπενοειδή αποτελούν την πιο πολυάριθμη ομάδα των δευτερογενών μεταβολιτών. Τα διάφορα συστατικά της ομάδας αυτής είναι αδιάλυτα στο νερό, ενώ έχουν με κοινή βιοσυνθετική προέλευση. Όλα τα τερπένια προέρχονται από τη συνένωση περισσότερων της μιας μονάδας ανθρακικών ενώσεων με πέντε άτομα άνθρακα (C₅) που έχουν το διακλαδισμένο ανθρακικό σκελετό του ισοπρενίου ή ισοπεντανίου C₅. Η ταξινόμησή τους γίνεται ανάλογα με τον αριθμό των μονάδων που περιέχουν στο μόριό τους. Έτσι τερπένια με 10 άτομα άνθρακα στο μόριό τους ονομάζονται μονοτερπένια, ενώσεις με 3 δομικές μονάδες αποτελούν τα σεσκιτερπένια, ενώ ενώσεις με 20 άτομα άνθρακα αποτελούν τα διτερπένια κ.τ.λ. (Καράταγλης, 1994).

3.3 Αζωτούχες ενώσεις

Περιλαμβάνει ενώσεις που προέρχονται κυρίως από αμινοξέα. Πρόκειται για μια ετερογενή ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών, η οποία αποτελείται από τα αλκαλοειδή, τις μπεταλαΐνες, διάφορα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα, αμίνες όπως η ισταμίνη, κυανογενή γλυκοσίδια, θειογλυκοζίτες και αμυντικές πρωτεΐνες

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η χημική ουσία μελατονίνη που εξετάζεται στην παρούσα πτυχιακή ανήκει σε αυτήν την κατηγορία και παρουσιάζει όπως θα αναφερθεί παρακάτω αντιοξειδωτική δράση τόσο σε φυτά όσο και σε ζωικούς οργανισμούς.

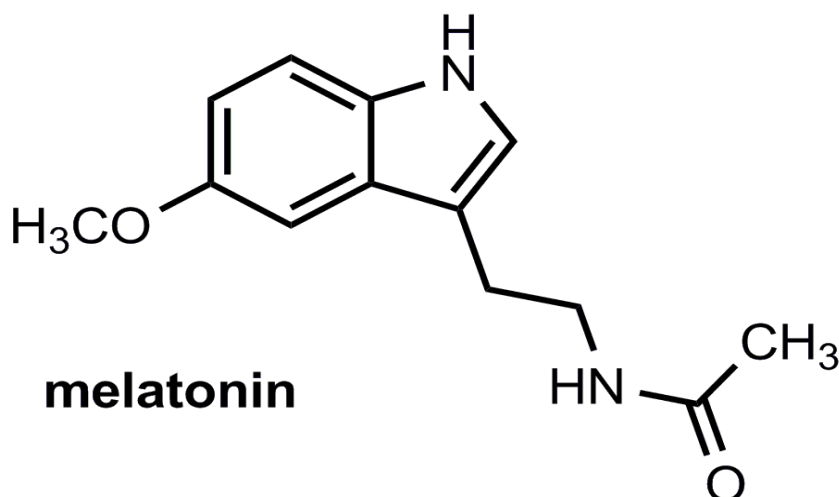
Συνοψίζοντας οι κυριότερες λειτουργίες που έχουν οι δευτερογενείς μεταβολίτες στα φυτά είναι:

- Η αντιοξειδωτική τους δράση όπως για παράδειγμα η απάλυνση των συμπτωμάτων που προέρχονται από την επίδραση αβιοτικών παραγόντων πχ. βαρέα μέταλλα, αλατότητα κ.τ.λ.
- Η ορμονική τους δράση όπως για παράδειγμα η ενεργοποίηση φυτορμονών ενεργοποίησης της αύξησης-ανάπτυξης του φυτού όπως αναφέρεται σε παραπάνω βιβλιογραφικές αναφορές στην παρούσα εργασία
- Παρέμβαση στο DNA όπως για παράδειγμα, οι φλαβόνες και φλαβονόλες εκκρίνονται από τις ρίζες των ψυχανθών στη ριζόσφαιρα και ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων στα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια των ριζικών τους φυματίων (Καράταγλης 1994). Επιπλέον η επίδραση βιοδιεγέρτων στα φυτικά κύτταρα προκαλεί παρεμπόδιση της έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική λειτουργία, ενώ επάγεται η έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την άμυνα
- Δράση ως σήματα επικοινωνίας με γειτονικά φυτά του ίδιου ή διαφορετικού είδους προειδοποιώντας τα φυτά «δέκτες» για κάποια επικείμενο κίνδυνο. Με αυτόν τον τρόπο, τα φυτά «δέκτες» ενεργοποιούν τους αμυντικούς μηχανισμούς τους εγκαίρως ώστε να αντιμετωπίσουν τους εχθρούς τους αποτελεσματικά.
- Αντιβακτηριακή δράση και πρόληψη ασθενειών όπως για παράδειγμα το σκόρδο προστατεύει από τα παράσιτα, είναι τοξικό στα έντομα και τους μικροοργανισμούς, προστατεύει από τα έλκη που δημιουργεί το βακτήριο *Helicobacter pylori* (Best Ben, 2002).

3.4 Μελατονίνη

Η μελατονίνη (*N*-ακετυλο-5-μεθοξυτροπταμίνη) είναι ένα βιομόριο χαμηλού μοριακού βάρους (232,28) με ινδολική δομή που είναι παρούσα σε ζωντανούς οργανισμούς από βακτήρια μέχρι θηλαστικά, παρουσιάζοντας ποικίλες βιολογικές δράσεις (Hardeland et al., 2011). Ανακαλύφθηκε το 1958 στον αδένα υπόφυσης του εγκεφάλου και χαρακτηρίστηκε ως *N*-ακετυλο- 5-μεθοξυτροπταμίνη από τον Lerner (1958). Το όνομά μελατονίνη οφείλεται στην ικανότητά αυτής να κάνει πιο φωτεινό το δέρμα σε κάποια ψάρια, ερπετά και αμφίβια (Lerner, 1958).

Η χημική δομή της μελατονίνης, ως ινδολική ένωση, σχετίζεται με άλλες σημαντικές ουσίες όπως τρυπτοφάνη και την σεροτονίνη. Η μελατονίνη ρυθμιστής της διάθεσης, του ύπνου (κίρκαδικός κύκλος) καθώς και της φυσιολογίας του αμφιβληστροειδούς χιτώνα.



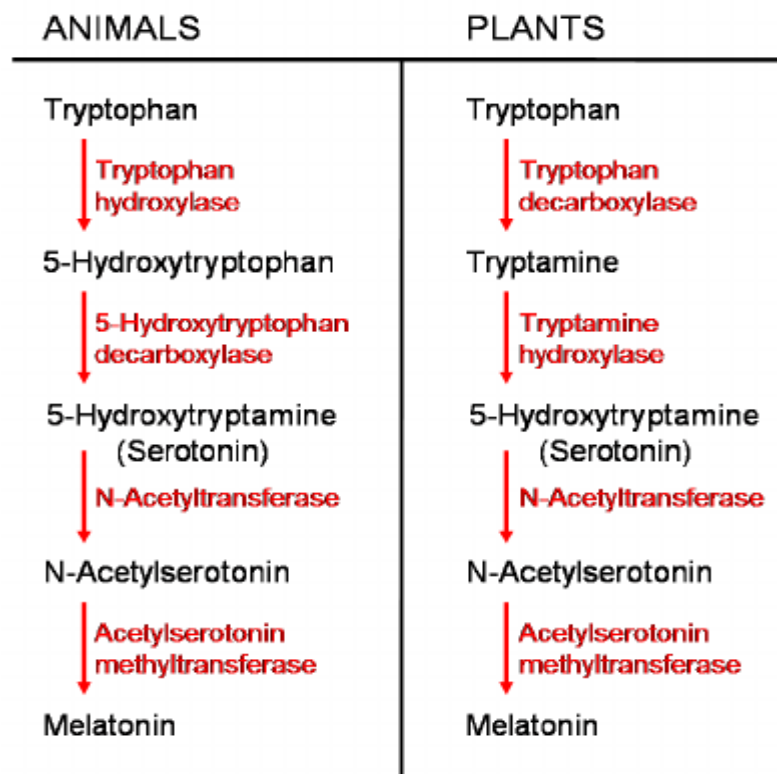
Εικόνα 13 : Χημικός τύπος της μελατονίνης

3.4.1 Βιοσύνθεση της μελατονίνης

Η μελατονίνη συντίθεται από την σεροτονίνη (5-υδροξυτροπταμίνη) μέσω ακετυλίωσης που καταλύεται από την *N*-ακετυλοτρανσφεράση της αριλαλκυλαμίνης που επίσης ονομάζεται *N*-ακετυλοτρανσφεράση της σεροτονίνης (NAT; EC 2.3.1.87), ένζυμο που ελέγχει την βιοσύνθεση της μελατονίνης.

Το τελικό στάδιο καταλύεται από την *o*-μεθυλοτρανσφεράση του υδροξυινδολίου (HIOMT; EC2.1.1.4). Η σεροτονίνη προέρχεται από την 5-υδροξυτροπτοφάνη σε μια αντίδραση που καταλύεται από την δικαρβοξυλάση του αμινοξικού οξέος (EC; 4.1.1.28). Το συγκεκριμένο ένζυμο μπορεί επίσης να δράσει στην τρυπτοφάνη και να δώσει τρυπταμίνη.

Η τρυπταμίνη μπορεί να μετασχηματιστεί σε σεροτονίνη με την δράση της 5-υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης (EC; 1.14.16.4), η οποία επίσης μπορεί να δράσει στην τρυπτοφάνη σχηματίζοντας 5-υδροξυτρυπτοφάνη. Η τρυπταμίνη είναι επίσης συστατικό της NAT, σχηματίζοντας N-ακετυλοτρυπταμίνη η οποία μπορεί να υδροξυλιωθεί για τον σχηματισμό N-ακετυλοσεροτονίνης (Murch and Saxeva, 2002).



Εικόνα 14 : Μονοπάτι βιοσύνθεσης της μελατονίνης σε φυτικούς και ζωϊκούς οργανισμούς

3.4.2 Η μελατονίνη στα φυτά

Ο αριθμός των ερευνών σχετικά με τις φυσιολογικές λειτουργίες της μελατονίνης στα φυτά είναι συνεχώς αυξανόμενος αφού η γνώση σχετικά με την επίδρασή της στα φυτά είναι ακόμη ανεπαρκής.

Ο ρόλος της μελατονίνης στη φυσιολογία των φυτών περιλαμβάνει τη ρύθμιση των κύκλων που σχετίζονται με την εναλλαγή φωτός-σκότους, την άμυνα ενάντια σε αφιλόξενα περιβάλλοντα και την αντιοξειδωτική της δράση. Η τελευταία υπήρξε πιθανότατα η αρχική λειτουργία της μελατονίνης στους γήινους οργανισμούς και οι άλλες προστέθηκαν κατά τη μεταγενέστερη εξέλιξή τους. Η ουσία ρυθμίζει επίσης

(εξισορροπητικά με άλλες) την ανάπτυξη των φυτών, αφού έχει αποδειχθεί ότι επιβραδύνει τον σχηματισμό των ριζών, ενώ προάγει την ανάπτυξη πάνω από το έδαφος. Η μελατονίνη έχει ανιχνευθεί σε φυτικές τροφές όπως είναι τα κεράσια (περ. 0,17 ως 13,46 δισεκατομμυριοστά του γραμμαρίου ανά γραμμάριο), τις μπανάνες, τα σταφύλια (Iriti M, Faoro F., 2009) , τα μήλα ,τα καρότα, τα χόρτα αλλά και στο κρασί (Lamont KT., Somers S., Lacerda L. et al., May 2011), την μύρα και σε διάφορα ροφήματα από βότανα (Chen et al., 2003), (Mecoloni et al., 2008) (Iriti, Maldonado et al., 2009). Οι συγκεντρώσεις μελατονίνης διαφέρουν ανάμεσα στα διαφορετικά φυτικά είδη αλλά και στις διαφορετικές ποικιλίες και εξαρτώνται από το στάδιο αύξησης, την τοποθεσία, το όργανο που εντοπίζονται καθώς και από την χρονική στιγμή και την εποχή συγκομιδής (Tan et al., 2012). Με τη χώνευση φυτικών τροφών πλούσιων σε μελατονίνη στον άνθρωπο (π.χ. μπανάνα, ανανά, πορτοκάλι) τα επίπεδα μελατονίνης στο αίμα τους αυξάνονται σημαντικά (Sae-Teaw M. et al., 2012).

3.4.3 Μελατονίνη και λειτουργίες στα φυτά

Ρόλος της μελατονίνης στους κύκλους φωτός.

Η αρχική υπόθεση για τον ρόλο της μελατονίνης στα φυτά συσχετίστηκε με πιθανή εμπλοκή της ως ρυθμιστική ουσία σε θέματα φωτοπεριοδισμού, όπως η άνθηση (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2006). Μελετήθηκε η αλλαγή των επιπέδων μελατονίνης σε κύκλο φωτός/σκότους 12 ωρών, με υψηλότερα επίπεδα να έχουν καταγραφεί κατά την διάρκεια του σκότους (Kolar et al., 1997) υποδεικνύοντας παρόμοια λειτουργία με αυτή του κερκαδικού κύκλου στα ζώα. Επίσης, υψηλές συγκεντρώσεις εξωγενούς μελατονίνης είχαν ανασταλτική επίδραση στην άνθηση (Kolar et al., 2003).

Ρόλος της μελατονίνης στην αύξηση των φυτών.

Ο ρόλος της μελατονίνης ως προωθητής της αύξησης και ανάπτυξης των φυτών επιβεβαιώθηκε σε πειράματα που έγιναν σε ιστούς λούπινου και σε κάποια μονοκότυλα είδη (Hernandez-Ruiz et al., 2004, 2005) πράγμα που ήταν αναμενόμενο καθώς η χημική δομή αλλά και η διαδικασία βιοσύνθεσης της μελατονίνης πιθανόν να σχετίζεται με την ορμόνη αυξίνη. Ο κύριος ρόλος της αυξίνης είναι η λειτουργία της ως ορμόνη προώθησης της αύξησης. Επιπλέον η μελατονίνη ευνοεί την αύξηση

(Hernandez-Ruiz and Arnao, 2008; Kang et al., 2010) καθώς και την αναγέννηση του ριζικού συστήματος (Sarropoulou et al., 2012).

Ωστόσο, η επίδραση της εξωγενώς εφαρμοζόμενης μελατονίνης μπορεί να έχει μια σημαντική βελτίωση μέχρι να είναι αναποτελεσματική ή ακόμα και τοξική. Η συγκέντρωση είναι η αιτία της διαφοράς. Η μελατονίνη μπορεί να διαδραματίσει σημαντικά διαφορετικούς ρόλους στη ρύθμιση της ανάπτυξης και ανάπτυξης των φυτών κάτω από χαμηλές και υψηλές συγκεντρώσεις στο ίδιο είδος. Στην περίπτωση του *Brassica juncea* (κράμβη), ένα χαμηλό επίπεδο μελατονίνης (0,1mM) διέγειρε την ανάπτυξη των ριζών, ενώ ένα υψηλό επίπεδο (100mM) ανέστειλε την ανάπτυξη (Chen et al., 2009). Επιπρόσθετα, η μελατονίνη προωθεί την ριζοβολία σε χαμηλή συγκέντρωση, αλλά αναστέλλει την ανάπτυξη σε υψηλές συγκεντρώσεις στην καλλιέργεια ιστών κερασιών (Sarropoulou et al., 2012)

Ρόλος της μελατονίνης ως αντιοξειδωτικής ένωσης σε φυτά που έχουν υποστεί καταπόνηση.

Σε σύγκριση με τις κλασσικές αντιοξειδωτικές ουσίες όπως βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), η μελατονίνη παρουσιάζει πιο ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα. Η υψηλή αντιοξειδωτική δράση της οφείλεται στην ικανότητα της να αλληλεπιδρά με πλήθος ενεργών μορφών οξυγόνου και ενεργών μορφών αζώτου. Κατά συνέπεια η μελατονίνη είναι ένα ευρέως φάσματος αντιοξειδωτικό. Τα τελευταία χρόνια γίνονται συνεχείς έρευνες στις οποίες αποδεικνύεται ότι η μελατονίνη αποτρέπει τις αρνητικές επιδράσεις από βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Παραδείγματος χάρη βρέθηκε ότι η επίδραση μελατονίνης μαζί με ή και χωρίς ρεσβερατρόλη σε φυτά που είχαν υποστεί καταπόνηση λόγω έκθεσης σε υψηλές συγκεντρώσεις βορίου απέτρεψε την μείωση του ξηρού βάρους των φύλλων και των καρπών της πιπεριάς (Sarafi et al., 2017).

Η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση της μελατονίνης μπορεί επίσης να οφείλεται στην υποκυτταρική κατανομή της και στην ικανότητα να αναγεννά άλλες αντιοξειδωτικές ουσίες όπως για παράδειγμα η γλουταθειόνη και το ασκορβικό οξύ οι οποίες έχουν περιορισμένη κατανομή στα κύτταρα πράγμα που υποβοηθάτε από την μελατονίνη όπου δρα ως « γέφυρα» και συνδέει τις λειτουργίες αυτών των αντιοξειδωτικών ουσιών (Tan et al., 2013).

3.4.4 Μελατονίνη και αντοχή στην αλατότητα

Σε πρόσφατες δημοσιεύσεις έχει αναφερθεί ότι η μελατονίνη επηρεάζει την αντοχή στην αλατότητα (Arnao and Hernandez-Riu, 2009; Tal, 2006) στον καπνό. Επιπλέον η προσθήκη διαλύματος ασκορβικού οξέος και μελατονίνης βρέθηκε ότι μείωσε την εκροή των ηλεκτρολυτών, την λιπιδική υπεροξειδωση των μεμβρανών καθώς και τα τοξικά συμπτώματα και την μείωση των χρωστικών στα φύλλα, ζημιές που προήλθαν από την καταπόνηση με NaCl σε φυτά νεραντζιάς (Κωστοπούλου, 2008).

Επίσης, φύλλα των σποροφύτων νεραντζιάς που υποβλήθηκαν στον συνδυασμό ασκορβικού οξέος και μελατονίνης υπό αλατούχες συνθήκες παρουσίασαν χαμηλότερη συσσώρευση Cl⁻ καθώς και σε αυτά ρυθμίστηκε διαφορετικά η συγκέντρωση υδατανθράκων, προλίνης, φαινολών, ολικού ασκορβικού οξέος, γλουταθειόνης (Κωστοπούλου, 2008).

Η μελατονίνη δεν είναι τοξική για ένα μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων καθώς και ούτε μετά την διαδικασία εκκαθάρισης τοξικών προϊόντων.

3.5 ΡΕΣΒΕΡΑΤΡΟΛΗ

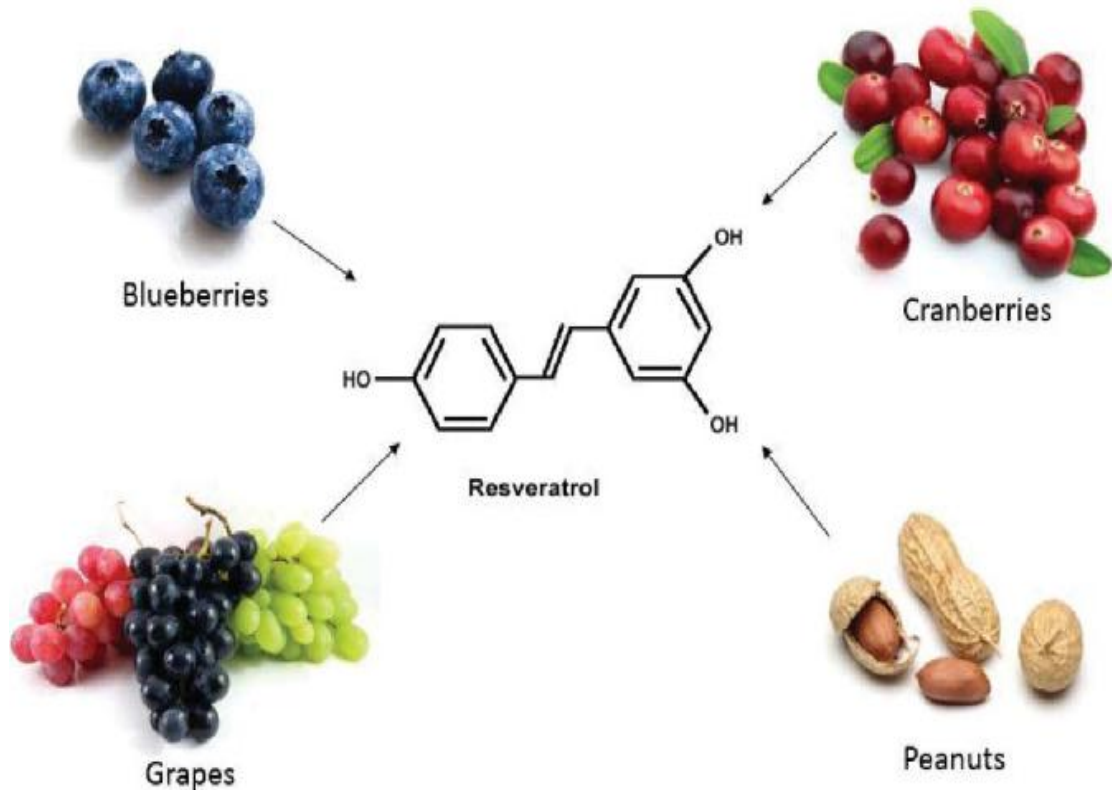
Η ένωση ρεσβερατρόλη (resveratrol, RVT) με σχετική μοριακή μάζα 228,25 είναι μια φυσική ουσία της κατηγορίας των φυτοαλεξινών (phytoalexins), με τη βασική δομή των στιλβενίων [στιλβένιο: 1,2-διφαινυλο-αιθυλένιο] οι οποίες ανήκουν στην ευρύτερη οικογένεια των φαινολικών ουσιών.

Η ρεσβερατρόλη απομονώθηκε αρχικά το 1940 από το *Veratrum grandiflorum* και στην συνέχεια το 1963 από τα ριζώματα του *Polygonum cuspidatum*. Πρόκειται για μια ουσία που οξειδώνεται εύκολα και είναι δύσκολο να παραμείνει καθαρή επί μακρό χρονικό διάστημα και για το λόγο αυτό οι κρύσταλλοί της αποκτούν ένα υποκίτρινο ή ακόμα πιο σκούρο χρώμα.

Η ρεσβερατρόλη βρίσκεται κυρίως σε υψηλές συγκεντρώσεις στη φλούδα (skin) των σταφυλιών και ιδιαίτερα των κόκκινων σταφυλιών, στα φύλλα ευκαλύπτου και ελάτου, στους ξηρούς καρπούς, στα μούρα (Soleas G.J., Diamandis E., Petal., 1997) και σε μικρότερες ποσότητες έχει βρεθεί σε 70 ακόμη φυτικά προϊόντα. Η ρεσβερατρόλη, όπως και άλλες φυτο-αντιοξειδωτικές ουσίες, αποτελεί φυσικό συστατικό των φυτών με αντιβιοτική δράση για την προστασία από μύκητες και οξειδωτικές βλάβες.

Η ανίχνευση της ρεσβερατρόλης στα σταφύλια έγινε το 1976 από τους Langake και Pryce όπου ανακαλύφθηκε ότι ή συγκεκριμένη ουσία συντίθεται στα φύλλα ως αντίδραση στην προσβολή από τους μύκητες. Επιπλέον η ρεσβερατρόλη στον καρπό της αμπέλου εντοπίζεται κυρίως στα σπέρματα και στον φλοιό, όχι στην σάρκα.

Η περιεκτικότητα των φρέσκων στη φλούδα των κόκκινων σταφυλιών σε RVT είναι 50-100 $\mu\text{g/g}$ (Κωστοπούλου, 2014), ενώ στο κόκκινο κρασί μπορεί να βρεθεί σε συγκεντρώσεις 1,5-3 mg/L .

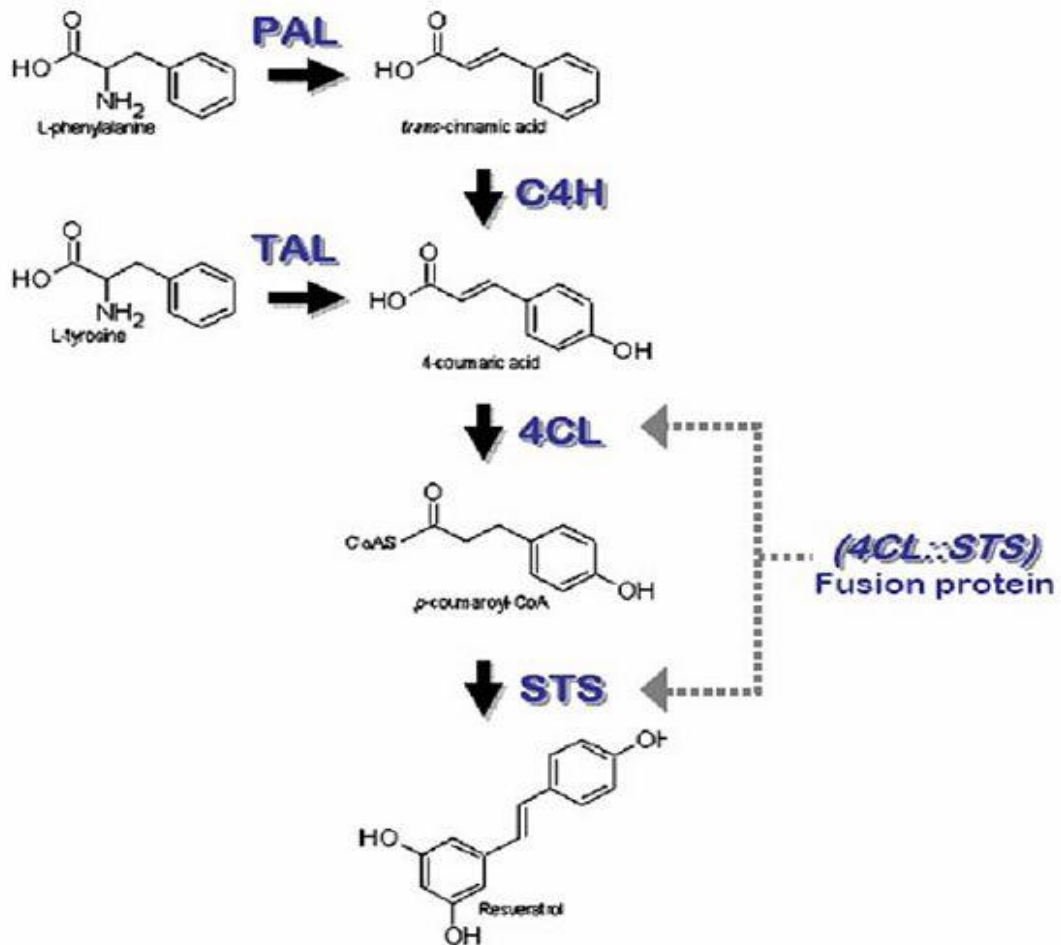


Εικόνα 15 : Χημική δομή και συνηθέστερες πηγές της ρεσβερατρόλης

3.5.1 Βιοσύνθεση ρεσβερατρόλης

Η ρεσβερατρόλη όπως και οι υπόλοιπες στιλβενίνες συντίθενται μέσω του μονοπατιού της φαινυλαλανίνης (Dixon and Steele, 1999). Αρχικά, η φαινυλαλανίνη μετατρέπεται σε κινναμικό οξύ από το οποίο συντίθενται το π-κουμαρικό οξύ και στην συνέχεια το π-κουμαροϊλ-συνένζυμο A και τέλος η τρανς-ρεσβερατρόλη. Στο μονοπάτι της βιοσύνθεσης των στιλβενινών εμπλέκονται τέσσερα ένζυμα κλειδιά: η αμμωνιακή λύαση της φαινυλαλανίνης, η 4 υδροξυλάση του κινναμικού οξέος, η 4-κουμαρική λιγκάση του συνενζύμου A και τέλος η συνθάση της στιλβενίνης.

Τα ανώτερα φυτά μπορούν να συνθέτουν μονολιλικό-συνένζυμο Α και εστέρες του συνενζύμου Α από παράγωγα του κινναμικού οξέος αλλά μόνο λίγα φυτικά είδη μπορούν να συνθέσουν στυλβενίνες. Η συνθάση της στυλβενίνης, το ένζυμο που καταλύει το τελικό στάδιο της βιοσύνθεσης των στυλβενινών, εμπλέκεται μόνο σε λίγα είδη φυτών και κατά συνέπεια τους δίνει την ικανότητα να παράγουν στυλβενίνες (Chong et al., 2009).



Εικόνα 16: Η πορεία της βιοσύνθεσης της ρεσβερατρόλης

3.5.2 Ρόλος της Ρεσβερατρόλης στα φυτά

Ρόλος της ρεσβερατρόλης ως αντιοξειδωτική ένωση σε φυτά που έχουν υποστεί καταπόνηση

Η ρεσβερατρόλη μπορεί να δράσει ως ισχυρή αντιοξειδωτική ουσία καθώς προστατεύει το φυτό από οξυγονούχες ελεύθερες ρίζες, οξειδωτικές ενώσεις (π.χ. H_2O_2), που μέσω

του μεταβολισμού προκαλούν οξειδωτικές βλάβες σε κρίσιμα βιομόρια, όπως συμβαίνει με όλους τους αερόβιους οργανισμούς που αναπτύσσονται σε περιβάλλον οξυγόνου, δηλαδή σε ατμόσφαιρα με υψηλή οξειδωτική δράση. Η αντιοξειδωτική αυτή της δράση, οφείλεται στην εξουδετέρωση δραστικών ριζών (απόσπαση υδρογόνου) και δημιουργία μη δραστικών ριζών, λόγω δομής, συντονισμού, σχηματισμού κινονών ή συμπλοκοποίησης μετάλλων, με τα δύο υδροξύλια σε ο- ή p-θέση.

Όλοι οι αερόβιοι οργανισμοί είναι εξελικτικά προικισμένοι με ενζυμικές και μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες που διατηρούν την οξειδοαναγωγική ισορροπία (ομοιόσταση) σε σχέση με τον ενδογενή μεταβολισμό και τις εξωγενείς επιδράσεις τοξικών ουσιών. Οι βιταμίνες (ασκορβικό οξύ, βιταμίνη E, κ.λπ.) και μικρού μοριακού βάρους ενώσεις (όπως η RVT, οι πολυφαινόλες), σε πολλά φυτά, συμμετέχουν ενεργά στην αντιοξειδωτική άμυνά τους και στην πρόληψη εξωγενών βλαβών λόγω συνθηκών όπως για παράδειγμα οι χαμηλές θερμοκρασίες, τα έντομα, οι μύκητες, η έκθεση σε τοξικές ουσίες, κ.λπ. (Stivala L. et al., 2001). Με τον τρόπο αυτό προστατεύουν τα βασικά βιομόρια όπως πρωτεΐνες, σάκχαρα, λιπίδια μεμβρανών των κυττάρων και το DNA των κυττάρων από οξειδωτικές βλάβες.

Ρόλος της ρεσβερατρόλης στα φυτά ως φυτοαλεξίνη

Η ρεσβερατρόλη μπορεί να χαρακτηριστεί ως φυτοαλεξίνη (Langcake and Pryce, 1976), δηλαδή ως αντιμικροβιακή ουσία η οποία συντίθεται ως αντίδραση σε κάποια μορφή μόλυνσης (από παθογόνα όπως για παράδειγμα μύκητες ή αβιοτικούς παράγοντες). Πιο συγκεκριμένα στα σταφύλια ο ρόλος της ως φυτοαλεξίνη συνδέεται με τη μείωση της ανάπτυξης του μύκητα *Botrytis cinerea* (Gonzalez-Urena et al., 2003).

Ρεσβερατρόλη και αντοχή στην αλατότητα

Λόγω του θέματος της παρούσας εργασίας θεωρούμε σκόπιμο να αναφερθούν βιβλιογραφικά παραδείγματα στα οποία αποδεικνύεται η συσχέτιση της εφαρμογής ποσότητας ρεσβερατρόλης με την «απάλυνση» των συμπτωμάτων αλατότητας. Ειδικότερα από πειράματα που έγιναν σε σπορόφυτα νεραντζιάς βρέθηκε ότι η μεταχείριση με NaCl είχε ως αποτέλεσμα την συσσώρευση ιόντων Na^+ και ιόντων Cl^-

στους ιστούς στα φυτά μάρτυρες όμως μετά την προσθήκη ρεσβερατρόλης βρέθηκε μικρότερη συγκέντρωση των ιόντων Cl^- στα φύλλα και στους βλαστούς των φυτών καθώς και μικρότερη συγκράτηση τους στις ρίζες των φυτών (Κωστοπούλου 2014). Άλλες έρευνες έδειξαν ότι η εξωγενής προσθήκη ρεσβερατρόλης σε φύλλα που τους είχε γίνει μεταχείριση με άλας κράτησε την συγκέντρωση της ολικής χλωροφύλλης και των καροτενοειδών σε υψηλότερα επίπεδα από ότι τα φυτά τα οποία είχαν υποστεί μόνο αλατότητα (Gill et al., 2013).

3.5.3 Ωφέλιμες δράσεις της ρεσβερατρόλης στον άνθρωπο.

Η ρεσβερατρόλη παρουσιάζει διάφορες βιοχημικές και φυσιολογικές ιδιότητες όπως αντιφλεγμονώδη, αντιμικροβιακή, προ-αποπτωτική, χημειοπροστατευτική καθώς και την ιδιότητα να εμποδίζει την έναρξη δημιουργίας όγκων και την προώθηση της αύξησής τους. Μέσω της αντιοξειδωτικής της δράσης και των παραπάνω ιδιοτήτων της η ρεσβερατρόλη έχει σημαντικές ωφέλιμες επιπτώσεις σε επιστήμες υγείας δρώντας ως καρδιοπροστατευτική, αντικαρκινική, αντιδιαβητική, νευροπροστατευτική και αντιγηραντική ουσία (Di Domenico et al., 2012; Fernández Mar et al., 2012; Turan et al., 2012). Παράλληλα η ρεσβερατρόλη αποτελεί παράγοντα μείωσης των καρδιακών επεισοδίων μέσω της κατανάλωσης κόκκινου κρασιού μέτριας ποσότητας (γαλλικό παράδοξο) (Buemann et al., 2002). Τέλος έχει αποδειχθεί σε πειράματα που έγιναν σε ποντίκια με παχυσαρκία ότι η υψηλή κατανάλωση θερμίδων και το αυξημένο τους βάρος δεν είχαν αρνητικές επιπτώσεις στο μέσο όρο διάρκειας ζωής, αν μαζί με την τροφή λάμβαναν και ποσότητες RVT (Hall S., 2003)

ΜΕΡΟΣ Γ' ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΦΥΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΚΑΙ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ

Στο πειραματικό μέρος της πτυχιακής αυτής εργασίας χρησιμοποιήθηκαν μοσχεύματα ρίγανης *Origanum vulgare ssp. hirtum* τα οποία προήλθαν από ιστοκαλλιέργεια. Αρχικά τα μοσχεύματα μεταφυτεύτηκαν σε μικρές γλάστρες όπου έμειναν για περίπου 2 μήνες μέχρι να αναπτυχθούν σε ικανοποιητικό βαθμό ώστε να αρχίσουν οι μεταχειρίσεις. Στην συνέχεια μετά το πέρας των δύο μηνών, τα φυτά μεταφυτεύτηκαν σε μεγαλύτερες γλάστρες όπου τους παρέχονταν καλύτερες συνθήκες ανάπτυξης.



Εικόνα 17: Φυτά ρίγανης μετά την 2^η μεταφύτευση

Μια εβδομάδα μετά την 2^η μεταφύτευση έγινε ο πρώτος ψεκασμός με NaCl (3-4 ml NaCl/φυτική επιφάνεια) κατά τον οποίο τα φυτά χωρίστηκαν σε 4 πειραματικά τεμάχια ανάλογα με την διαφορετική συγκέντρωση σε NaCl (0 μ M , 150 μ M, 300 μ M και 450 μ M NaCl). Το κάθε ένα από τα πειραματικά τεμάχια αποτελούνταν από 15 φυτά.

Ακολούθησε ο δεύτερος ψεκασμός, όπου αποτελούνταν από βιομόρια (μελατονίνη, ρεσβερατρόλη) και την ανάλογη συγκέντρωση NaCl, και κατά τον οποίο το κάθε ένα από τα τέσσερα πειραματικά τεμάχια χωρίστηκε σε 3 υποτεμάχια με 5 φυτά το καθένα ανάλογα με το εάν και με ποιο βιομόριο ψεκαζόταν. Οι τρεις κατηγορίες ανά υποτεμάχιο ήταν α) ψεκασμένο με ρεσβερατρόλη β) ψεκασμένο με μελατονίνη γ) απέκαστο από βιομόρια. Η επέμβαση που πραγματοποιήθηκε στο κάθε τεμάχιο ήταν πλήρως τυχαιοποιημένη.

Συνοψίζοντας το κάθε πειραματικό τεμάχιο είχε την εξής μεταχείριση:

1. 3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 0 μ M NaCl
2. 3,5 μ M Μελατονίνη + 0 μ M NaCl
3. Μάρτυρας + 0 μ M NaCl
4. 3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 150 μ M NaCl
5. 3,5 μ M Μελατονίνη + 150 μ M NaCl
6. Μάρτυρας + 150 μ M NaCl
7. 3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 300 μ M NaCl
8. 3,5 μ M Μελατονίνη + 300 μ M NaCl
9. Μάρτυρας + 300 μ M NaCl
10. 3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 450 μ M NaCl
11. 3,5 μ M Μελατονίνη + 450 μ M NaCl
12. Μάρτυρας + 450 μ M NaCl

Εν συνεχεία έγινε 3^η μεταφύτευση των φυταρίων σε ακόμη μεγαλύτερες γλάστρες, για την καλύτερη ανάπτυξη τους καθώς και λόγω των συνεχών αυξανόμενων θερμοκρασιών μέσα στο θερμοκήπιο που προκαλούσαν ξήρανση του φυτικού υλικού.



Εικόνα 18: Φυτά ρίγανης μετά την 3^η μεταφύτευση

Μια εβδομάδα μετά την μεταφύτευση έγινε προσθήκη λιπάσματος (1 gr/φυτό) με την μέθοδο του ριζοποτίσματος. Το λίπασμα διαλύθηκε στο νερό και έγινε πότισμα των φυτών με το παραγόμενο διάλυμα.

Τέλος πραγματοποιήθηκαν ακόμη δύο ψεκασμοί μόνο με τα χορηγούμενα ανά τεμάχιο βιομόρια (2-3ml διάλυμα μελατονίνης ή ρεσβερατρόλης / φυτική επιφάνεια) και χωρίς NaCl με διαφορά 20 ημερών μεταξύ τους. Το πείραμα διήρκησε συνολικά 65 ημέρες (από τον πρώτο ψεκασμό έως τον τελευταίο). Θα πρέπει να σημειωθεί στην παρούσα φάση ότι κατά τον τελευταίο ψεκασμό με βιομόρια, στα φυτά που ανήκαν στις κατηγορίες 2, 5, 8, 11 και έπρεπε να ψεκαστούν με συγκέντρωση μελατονίνης, δεν έγινε ψεκασμός γιατί η μελατονίνη προκαλούσε εμφανή διάσπαση χλωροφύλλης και καψίματα σε αυτά.

Η πρώτη συλλογή φύλλων έγινε 20 ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκασμό του πειράματος και η δεύτερη και τελευταία ένα μήνα μετά.

Το χώμα που χρησιμοποιήθηκε στις μεταφυτεύσεις ήταν ένας συνδυασμός τυρφοχώματος με άμμο και κοκκινόχωμα σε αναλογία περίπου 1:2:5

1.2 Διαδικασίες παρασκευής ψεκαστικών διαλυμάτων πειράματος.

Διαδικασία παρασκευής διαλύματος NaCl.

Για την παρασκευή των τριών διαφορετικών διαλυμάτων NaCl (με συγκεντρώσεις 150 μ M, 300 μ M και 450 μ M) χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά κατάλληλη ποσότητα NaCl (8,76 gr, 17,53 gr και 26,29 gr) σε σκόνη όπου διαλύθηκε σε ένα λίτρο νερό με την βοήθεια του αναδευτήρα. Στην συνέχεια τοποθετήσαμε το διάλυμα NaCl σε ψεκαστές και ψεκάσαμε στα ανάλογα φυτά που είχαν οριστεί για κάθε μεταχείριση.



Εικόνα 19: Διαλύματα NaCl διαφορετικών συγκεντρώσεων

Διαδικασία παρασκευής διαλύματος βιομορίων .

Για την παρασκευή των δύο διαφορετικών διαλυμάτων των βιομορίων (μελατονίνη και ρεσβερατερόλη) χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά κατάλληλη ποσότητα της ουσίας (0,8129 gr για την μελατονίνη και 0,7988 gr για την ρεσβερατερόλη) σε σκόνη όπου διαλύθηκε σε ένα λίτρο νερό με την βοήθεια του αναδευτήρα ώστε να έχουμε 3,5 μ mol από το κάθε βιομόριο στο τέλος . Στην συνέχεια τοποθετήσαμε το διάλυμα σε ψεκαστές και ψεκάσαμε στα ανάλογα φυτά που είχαν οριστεί για κάθε μεταχείριση.

Πειραματικό σχέδιο

ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΤΕΜΑΧΙΟΥ	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη	4 ^η επανάληψη	5 ^η επανάληψη
1 ^ο	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 0 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 0 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 0 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 0 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 0 μM NaCl
2 ^ο	3,5 μM Μελατονίνη + 0 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 0 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 0 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 0 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 0 μM NaCl
3 ^ο	Μάρτυρας + 0 μM NaCl	Μάρτυρας + 0 μM NaCl	Μάρτυρας + 0 μM NaCl	Μάρτυρας + 0 μM NaCl	Μάρτυρας + 0 μM NaCl
4 ^ο	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 150 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 150 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 150 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 150 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 150 μM NaCl
5 ^ο	3,5 μM Μελατονίνη + 150 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 150 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 150 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 150 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 150 μM NaCl
6 ^ο	Μάρτυρας + 150 μM NaCl	Μάρτυρας + 150 μM NaCl	Μάρτυρας + 150 μM NaCl	Μάρτυρας + 150 μM NaCl	Μάρτυρας + 150 μM NaCl
7 ^ο	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 300 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 300 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 300 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 300 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 300 μM NaCl
8 ^ο	3,5 μM Μελατονίνη + 300 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 300 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 300 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 300 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 300 μM NaCl
9 ^ο	Μάρτυρας + 300 μM NaCl	Μάρτυρας + 300 μM NaCl	Μάρτυρας + 300 μM NaCl	Μάρτυρας + 300 μM NaCl	Μάρτυρας + 300 μM NaCl
10 ^ο	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 450 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 450 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 450 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 450 μM NaCl	3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 450 μM NaCl
11 ^ο	3,5 μM Μελατονίνη + 450 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 450 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 450 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 450 μM NaCl	3,5 μM Μελατονίνη + 450 μM NaCl
12 ^ο	Μάρτυρας + 450 μM NaCl	Μάρτυρας + 450 μM NaCl	Μάρτυρας + 450 μM NaCl	Μάρτυρας + 450 μM NaCl	Μάρτυρας + 450 μM NaCl

Πίνακας 4: Πειραματικό σχέδιο

Ημερολόγιο πειράματος

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ	ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΟΥ ΕΛΑΒΕ ΧΩΡΑ
7-3-2017	1 ^η Μεταφύτευση μοσχευμάτων σε μικρές γλάστρες μέσα στο θερμοκήπιο .
30-4-2017	2 ^η Μεταφύτευση φυταρίων σε μεγαλύτερες γλάστρες.
9-5-2017	1 ^{ος} ψεκασμός με NaCl και 1 ^η μέτρηση ύψους.
29-5-2017	2 ^{ος} ψεκασμός με NaCl και 1 ^{ος} ψεκασμός με βιοδιεγέρτες (μελατονίνη, ρεσβερατρόλη).
10-6-2017	3 ^η Μεταφύτευση φυταρίων σε μεγαλύτερες γλάστρες.
25-6-2017	2 ^{ος} ψεκασμός με βιοδιεγέρτες (μελατονίνη, ρεσβερατρόλη).
7-7-2017	3 ^{ος} ψεκασμός με βιοδιεγέρτες (μελατονίνη, ρεσβερατρόλη).

Πίνακας 5: Ημερολόγιο Πειράματος

1.3 Προσδιορισμός της παραγόμενης ποσότητας αιθέριου ελαίου

Η παραγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου μετρήθηκε ώστε να προσδιοριστεί εάν υπάρχει τυχόν διαφοροποίηση στην ποσότητα αυτού ανάλογα με την μεταχείριση που έχει υποστεί το κάθε πειραματικό τεμάχιο. Πιο συγκεκριμένα έγινε προσπάθεια προσδιορισμού για το εάν η διαφορετική εφαρμοζόμενη συγκέντρωση αλατότητας (0, 150, 300, 450) με ή χωρίς τα εφαρμοζόμενα κάθε φορά βιομόρια μελατονίνη και ρεσβερατρόλη, είχε επίδραση στην ποσότητα (%) αιθέριου ελαίου που εξάχθηκε κάθε φορά σε σύγκριση με τον μάρτυρα.

Ο προσδιορισμός της ποσότητας των αιθέριων ελαίων έγινε με την μέθοδο της υδροαπόσταξης με την χρήση της ειδικής συσκευής ψύξης Clevenger. Η συσκευή Clevenger αποτελείται από το κύριο μέρος που περιέχει έναν γυάλινο κατακόρυφο σωλήνα και ψυκτήρα ο οποίος είναι συνδεδεμένος με ένα βαθμονομημένο σωλήνα με στρόφιγγα. Ένας σωλήνας επιστροφής της υδατικής φάσης του αποστάγματος συνδέει το κάτω μέρος του βαθμονομημένου σωλήνα με τον κατακόρυφο σωλήνα. Το δείγμα τοποθετείται μέσα σε ποσότητα νερού σε σφαιρική φιάλη η οποία θερμαίνεται με την χρήση θερμομανδύα. Οι υδρατμοί που σχηματίζονται μαζί με τα πτητικά συστατικά φτάνουν στον ψυκτήρα, ο οποίος ψύχεται με κυκλοφορία νερού βρύσης, με αποτέλεσμα να υγροποιούνται. Το νερό ανακυκλώνεται ενώ η φάση του αιθέριου ελαίου είναι η υπερκείμενή του νερού και συγκεντρώνεται σταδιακά στο βαθμονομημένο (σε ml) σωλήνα του κύριου μέρους της συσκευής. Πρακτικά η διαδικασία έχει ολοκληρωθεί όταν η ποσότητα αιθέριου ελαίου δεν αυξάνεται επιπλέον.



Εικόνα 20: Εξαγωγή αιθέριου ελαίου από τα φυτά ρίγανης

Διαδικασία που ακολουθήθηκε

Αρχικά συλλέχθηκαν, ξηράθηκαν και ζυγίστηκαν ποσότητες φυτικού υλικού (φύλλα και άνθη) από τα 12 διαφορετικά πειραματικά τεμάχια. Στην συνέχεια το φυτικό υλικό από κάθε τεμάχιο τοποθετήθηκε εντός της σφαιρικής φιάλης θέρμανσης μαζί με νερό η οποία συνδέθηκε με την ειδική συσκευή ψύξης Clevenger και άρχισε να θερμαίνεται, το αιθέριο έλαιο διαχωρίστηκε από το νερό λόγω της διαφορετικής τους πυκνότητας μέσα στο βαθμονομημένο σωλήνα. Εκεί μετρήθηκε για κάθε ένα από τα 12 διαφορετικά αρχικά δείγματα η ποσότητα εξαγόμενου αιθέριου ελαίου το οποίο στην συνέχεια εξάχθηκε από την συσκευή και κρατήθηκε σε 12 διαφορετικούς ογκομετρικούς κυλίνδρους για πιθανές μελλοντικές μετρήσεις.

1.4 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης προλίνης

Το αμινοξύ προλίνη συναντάται στα ανώτερα φυτά και συσσωρεύεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις ως αντίδραση σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις, όπως ξηρασία, αλατότητα, υψηλές θερμοκρασίες και υψηλή ένταση φωτός (Βλάχου, 2011). Τα φυτά ως αντίδραση στην αλατότητα και στην ξηρασία συσσωρεύουν προλίνη στο κυτόπλασμα τους. Η προλίνη, προστατεύει τις μεμβράνες από οξειδωτική καταπόνηση που προκαλείται από υψηλή συγκέντρωση αλάτων και ενεργοποιεί διαφόρους μηχανισμούς του φυτού ή ακόμη και γονίδια που καθιστούν το φυτό ανθεκτικό στην αλατότητα. (Βλάχου, 2011). Η αύξηση της συγκέντρωσης της προλίνης κατά τη διάρκεια της υψηλής και αυξανόμενης αλατότητας είναι μοναδική σε σχέση με άλλα ελεύθερα αμινοξέα στον ίδιο ιστό (Βλάχου, 2011). Για αυτό τον λόγο κρίνεται σκόπιμος ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της προλίνης στην παρούσα πτυχιακή εργασία.

Εκχύλιση των δειγμάτων

Για την προετοιμασία των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκαν φύλλα. Το κάθε δείγμα κόπηκε ξεχωριστά σε μικρά κομματάκια και έπειτα ζυγίστηκαν (0,3 gr) στο ζυγό και τοποθετήθηκαν χωριστά σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες των 2 ml (3 επαναλήψεις ανά επίδραση NaCl). Στην συνέχεια προστέθηκαν 10 ml 80% (v/v) αιθανόλης σε κάθε γυάλινο σωλήνα που περιείχε δείγμα και όλο μαζί επώαστηκε σε υδατόλουτρο 60°C για 30 λεπτά (Khan et al., 2000). Το εκχύλισμα διηθήθηκε και στο διήθημα προστέθηκε ορισμένος όγκος αιθανόλης 80% (v/v) έτσι ώστε ο συνολικός όγκος του διαλύματος κάθε δείγματος (διήθημα + αιθανόλη) να είναι 20 ml.

Προσδιορισμός της συγκέντρωσης της προλίνης

Η ελεύθερη προλίνη αναλύθηκε χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο όξινη νινυδρίνη σύμφωνα με τους Troll & Lindsley (1995). Το αντιδραστήριο της όξινης νινυδρίνης προετοιμάστηκε διαλύοντας 1 gr σκόνης νινυδρίνης (ninhydrin) σε 500 ml πυκνό H₂SO₄. Αρχικά ελήφθησαν 4 ml από το εκχύλισμα καθενός δείγματος, τα οποία

μεταφέρθηκαν μέσα σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες. Ακολούθησε η προσθήκη 2 ml όξινης νινυδρίνης.

Με γυάλινες μπίλιες στην κορυφή των σωλήνων (για να ελαχιστοποιηθεί η εξάτμιση), οι δοκιμαστικοί σωλήνες επώαστηκαν για μια ώρα στους 95°C σε υδατόλουτρο. Οι μπίλιες απομακρύνθηκαν και οι δοκιμαστικοί σωλήνες κρύωσαν σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστέθηκαν 4 ml τολουίνης (toluene) σε κάθε δείγμα μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα και έγινε πολύ καλή ανάμιξη των περιεχομένων διαλυμάτων χρησιμοποιώντας έναν αναμικτήρα (Wartex). Μετά από λίγα λεπτά δημιουργήθηκαν δυο στρώματα σε κάθε σωλήνα που διέφεραν έντονα ως προς το χρώμα τους. Το στρώμα της τολουίνης ως υπερκείμενο πολύ προσεκτικά απομακρύνθηκε και στη

συνέχεια το υπόλοιπο διάλυμα τοποθετήθηκε σε γυάλινες κυψελίδες φασματοφωτομέτρου. Η απορρόφηση του διαλύματος προσδιορίστηκε με την μέτρηση της οπτικής πυκνότητας του εκχυλίσματος στα 518 nm στο φασματοφωτόμετρο LKB Ultraspec II.

1.5 Προσδιορισμός χλωροφύλλης

Για την μέτρηση της χλωροφύλλης (Winterman και Mots, 1965) ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία . Αρχικά συγκομίστηκε φυτικό υλικό (φύλλα ρίγανης) από όλα τα φυτά-επαναλήψεις το οποίο διαχωρίστηκε στις 12 διαφορετικές πειραματικές μεταχειρίσεις. Στην συνέχεια ζυγίστηκαν από τρεις φορές 0,2 gr φυτικού υλικού ανά κατηγορία, τα οποία λειοτριβήθηκαν μαζί με 3 ml καθαρή ακετόνη και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες.



Εικόνα 21: Λειοτρίβηση φύλλων ρίγανης με καθαρή ακετόνη

Έπειτα τα 36 διαφορετικά δείγματα (3 επαναλήψεις ανά μεταχείριση) τοποθετήθηκαν στο μηχάνημα της φυγόκεντρου όπου έμειναν στις 7500 στροφές για περίπου 14 λεπτά ώστε να γίνει διαχωρισμός της στερεής από την υγρή φάση, η οποία και χρησιμοποιήθηκε στην συνέχεια για τον προσδιορισμό των χλωροφυλλών.



Εικόνα 22: Διαχωρισμός στερεής-υγρής φάσης αμέσως μετά την φυγοκέντρηση

Ειδικότερα για την μέτρηση των χλωροφυλλών λήφθηκε η υγρή έγχρωμη φάση και μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο η απορρόφηση στα 645 και τα 663 nm.

Κατόπιν τα αποτελέσματα για τον προσδιορισμό των χλωροφυλλών εκφράστηκαν ως ισοδύναμα $\mu\text{g } \alpha + \beta$ χλωροφύλλης με χρήση των τύπων Jeffrey and Humphrey (1975)

$$[\text{Χλωροφύλλη-}\alpha]: (11.85x (E_{665}-E_0)-1.54x(E_{649}-E_0)-0.08x (E_{649}-E_0)) \times Ve/(LxVf)$$

$$[\text{Χλωροφύλλη-}\beta]: (-5.43 \times (E_{665}-E_0)+21.03x (E_{649}-E_0)-2.66x (E_{649}-E_0)) \times Ve/(LxVf)$$

$$\text{chl}(a+b) (\mu\text{g/g N.B})=(6,42 \times (E_{665}-E_0)+19,76x (E_{649}-E_0)-2.74x (E_{649}-E_0)) \times Ve/(LxVf)$$

$\mu\text{g/}$ νωπό βάρος

Όπου: L=οπτική διαδρομή κυψελίδας, E_0 = καμπύλη αναφοράς, Ve =Όγκος

εκχυλίσματος σε ml, Vf =Όγκος δείγματος που εκχυλίστηκε

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $\mu\text{g/g NB}$

1.6 Προσδιορισμός του φθορισμού της χλωροφύλλης.

Μέτρηση φθορισμού χλωροφύλλης

Ο φθορισμός της χλωροφύλλης μετρήθηκε με μια ρυθμιζόμενη και χαμηλής έντασης ακτινοβολία από εκπεμπόμενο φως διόδων (διέγερσης μήκος κύματος στα 655 nm, ανίχνευση πάνω από 700 nm) χρησιμοποιώντας ένα φορητό ρυθμιζόμενο φθορισμόμετρο Plant Efficiency Analyzer (PEA 2000, Walz, Effeltrich, Germany) όπως περιγράφηκε από τους Shreiber et al. (1986). Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στην πάνω επιφάνεια των φύλλων, μετά από είκοσι λεπτά παραμονής τους στο σκοτάδι.

Το όργανο αποτελείται από τρεις μονάδες:

α) τους συνδετήρες φύλλου (leaf clips) που χρησιμοποιούνται για την προσαρμογή του αισθητήρα (sensor) και διαθέτουν ειδικό κλείστρο για να κρατούν το φύλλο στο σκοτάδι

β) τη μονάδα ελέγχου (control box) για αποθήκευση και επεξεργασία των μετρήσεων

γ) τη μονάδα του αισθητήρα (sensor unit) που εκπέμπει ερυθρό φωτισμό.

Η κεφαλή μέτρησης του αισθητήρα: ι) φωτίζει τον ιστό και ιι) ανιχνεύει και καταγράφει τα επαγόμενα σήματα του φθορισμού. Αποτελείται από 6 διόδους εκπομπής φωτός υψηλής έντασης (LEDs) που φωτίζουν ομοιόμορφα την επιφάνεια φύλλου (διάμετρος 4 mm) με μέγιστη φωτεινή ένταση 630 Wm.

Ο φθορισμός που εκπέμπεται από τον φωτοσυνθετικό ιστό περνάει μέσα από ένα οπτικό φίλτρο και φθάνει στον ανιχνευτή ο οποίος απορροφά τα μεγάλα μήκη κύματος και ανακλά το μικρότερο μήκους κύματος φωτός που προέρχεται από τα LEDs. Η μονάδα του αισθητήρα συνδέεται με ένα καλώδιο με τη συσκευή ελέγχου που έχει και όλα τα ηλεκτρονικά μέρη του PEA. Ως πρώτη αξιόπιστη μέτρηση θεωρείται η μέτρηση στα 50 μs μετά την έναρξη φωτισμού του δείγματος γι αυτό εκλαμβάνεται ως η αρχική τιμή φθορισμού F_0 . Ο φθορισμός επάγεται από ερυθρό φωτισμό (μέγιστο 735 nm) ρυθμιζόμενης έντασης η οποία αναφέρεται ως ένταση διέγερσης.

Η μέγιστη απόδοση του φθορισμού (F_m) φυτών επιτεύχθηκε με έκθεση του φωτοσυστήματος PSII σε ένα παλμικά κορεσμένο (0,8 s) άσπρο φως. Η διαφορά ανάμεσα στο F_m (μέγιστη τιμή φθορισμού) και το F_0 (αρχική τιμή φθορισμού) έδωσε τον μεταβλητό φθορισμό F_v . Η διαφορά ανάμεσα στο F_m (μέγιστη τιμή φθορισμού) και το F_0 (αρχική τιμή φθορισμού) έδωσε τον μεταβλητό φθορισμό F_v ($F_v = F_m - F_0$). Η μέγιστη φωτοχημική απόδοση του PSII (φωτοσυστήματος II) προσδιορίστηκε ως ο

λόγος του μεταβλητού φθορισμού F_v προς το μέγιστο φθορισμό (F_v/F_m) και αντιπροσωπεύει την φωτοσυνθετική ικανότητα του PSII.

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1 ΥΨΟΣ

Πάνω στο ύψος των φυτών στην παρούσα πτυχιακή εργασία έγιναν 4 μετρήσεις, με 4 επαναλήψεις η κάθε μία ανά πειραματικό τεμάχιο, έως την έναρξη της αφαίρεσης φύλλων και ταξιανθιών . Στην πρώτη μέτρηση ύψους η οποία έγινε μία ημέρα κατά την πρώτη μεταχείριση (ψεκασμό με NaCl) δεν παρατηρήθηκε καμία διαφοροποίηση μεταξύ των μαρτύρων και των φυτών που προοριζόταν να ψεκαστούν με τις διαφορετικές συγκεντρώσεις NaCl (μέσος όρος φυταρίου 17,5cm).

Μετά την πάροδο τριών εβδομάδων έγινε η δεύτερη μέτρηση ύψους όπου παρατηρήθηκε ότι τα φυτά τα οποία είχαν ψεκαστεί με συγκέντρωση NaCl 300 μ M και 450 μ M είχαν σημαντική διαφοροποίηση στο ύψος (περίπου 7,5 και 10,5 cm αντίστοιχα) σε σύγκριση με τους μάρτυρες και τα φυτά με συγκέντρωση NaCl 150 μ M όπου δεν παρουσίαζαν τόσο μεγάλη διαφοροποίηση (περίπου 4cm κοντύτερα). Στο διάστημα αυτό των τριών εβδομάδων έγινε και ο δεύτερος ψεκασμός με NaCl την μελατονίνη ή τη ρεσβερατρόλη ανάλογα το πειραματικό τεμάχιο. Τα αποτελέσματα του οποίου ψεκασμού φάνηκαν στην επόμενη μέτρηση ύψους (3^η), 20 ημέρες μετά.

Στην 3^η μέτρηση ύψους βρέθηκαν τα εξής που πρέπει να σημειωθούν :

- το πειραματικό τεμάχιο 2 (3,5 μ M Μελατονίνη + 0 μ M NaCl) παρουσίαζε πολύ μεγάλη διαφορά σε σύγκριση με τα υπόλοιπα τεμάχια με 0 μ M NaCl, κάποια από φυτάρια είχαν καταστραφεί σχεδόν ολοκληρωτικά, μέσος όρος ύψους 14cm.
- Τα φυτά στα οποία είχε χορηγηθεί ρεσβερατρόλη κυρίως στην συγκέντρωση 150 μ M NaCl είχαν μεγαλύτερο ύψος από τα υπόλοιπα.
- Τα φυτά με την συγκέντρωση 450 μ M NaCl παρουσίαζαν μικρότερες τιμές (χαμηλότερο ύψος) .
- Ο μάρτυρας με την συγκέντρωση 0 μ M NaCl είχε μεγαλύτερο ύψος από την μελατονίνη και την ρεσβερατρόλη στην ίδια συγκέντρωση.

Παρόμοιες παρατηρήσεις είχαμε και στην τέταρτη μέτρηση και τελευταία που έγινε την πρώτη ημέρα αφαίρεσης των φύλλων και μετά τον τελευταίο ψεκασμό.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι μέσοι όροι ύψους ανά πειραματικό τεμάχιο ανά μέτρηση.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΤΕΜΑΧΙΟ	1 ^η μέτρηση	2 ^η μέτρηση	3 ^η μέτρηση	4 ^η μέτρηση
3,5 μM Ρεσβερατρόλη+ 0 μM NaCl	17,5cm	29,6cm	31,7cm	36,8cm
3,5 μM Μελατονίνη + 0 μM NaCl	17,5cm	28,9cm	17,2cm	23,2cm
Μάρτυρας + 0 μM NaCl	17,5cm	29cm	36cm	41cm
3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 150 μM NaCl	17,5cm	25cm	38,7cm	39,8cm
3,5 μM Μελατονίνη + 150 μM NaCl	17,5cm	23,4cm	34,2cm	37,8cm
Μάρτυρας + 150 μM NaCl	17,5cm	26,8cm	33,1cm	35,7cm
3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 300 μM NaCl	17,5cm	22,7 cm	29,9cm	37cm
3,5 μM Μελατονίνη + 300 μM NaCl	17,5cm	23,3cm	28,2cm	36,8cm
Μάρτυρας + 300 μM NaCl	17,5cm	21,1cm	21,4cm	32,1cm
3,5 μM Ρεσβερατρόλη + 450 μM NaCl	17,5cm	15,7cm	21,3cm	29,3cm
3,5 μM Μελατονίνη + 450 μM NaCl	17,5cm	15,2cm	20,7cm	28,8cm
Μάρτυρας + 450 μM NaCl	17,5cm	17,2cm	17,3cm	19cm

Πίνακας 6: Πίνακας ύψους ανά μεταχείριση

Συνεπώς παρατηρούμε ότι :

❖ Για την συγκέντρωση 0 μM NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 43.4 % μικρότερο ύψος από το τελικό ύψος του μάρτυρα 0 μM NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 10.7 % μικρότερο ύψος από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

❖ Για την συγκέντρωση 150 μM NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 5.6 % μεγαλύτερο ύψος από το τελικό ύψος του μάρτυρα 150 μM NaCl και 7.8 % μικρότερο ύψος από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 10.3 % μεγαλύτερο ύψος από τον μάρτυρα 150 μM NaCl και 2.9 % μικρότερο ύψος από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

❖ Για την συγκέντρωση 300 μM NaCl:

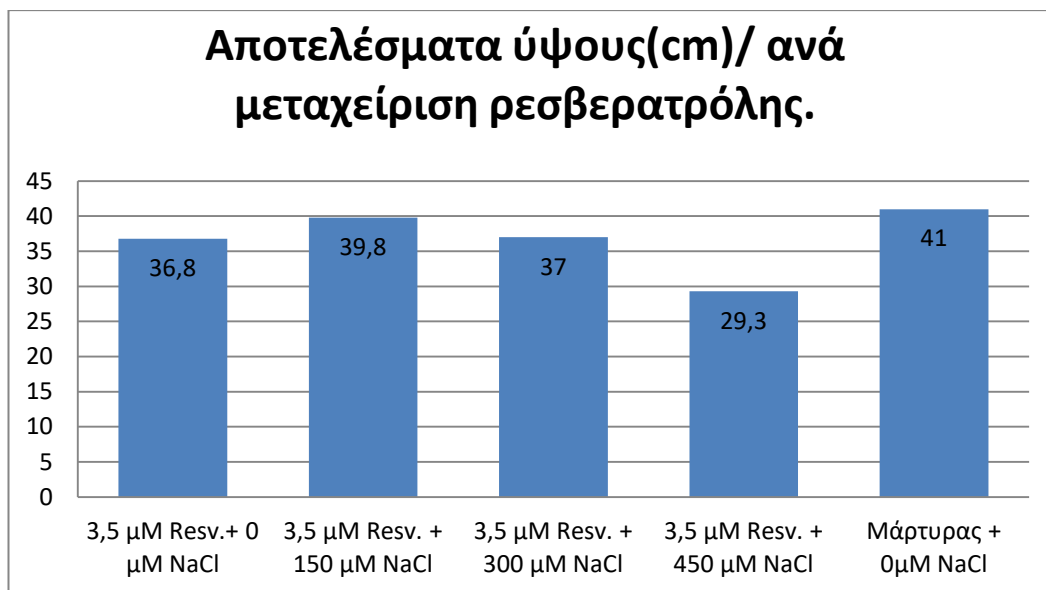
α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 12.8 % μεγαλύτερο ύψος από το τελικό ύψος του μάρτυρα 300 μM NaCl και 10,25 % μικρότερο ύψος από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 13,25 % μεγαλύτερο ύψος από τον μάρτυρα 300 μM NaCl και 9,75 % μικρότερο ύψος από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

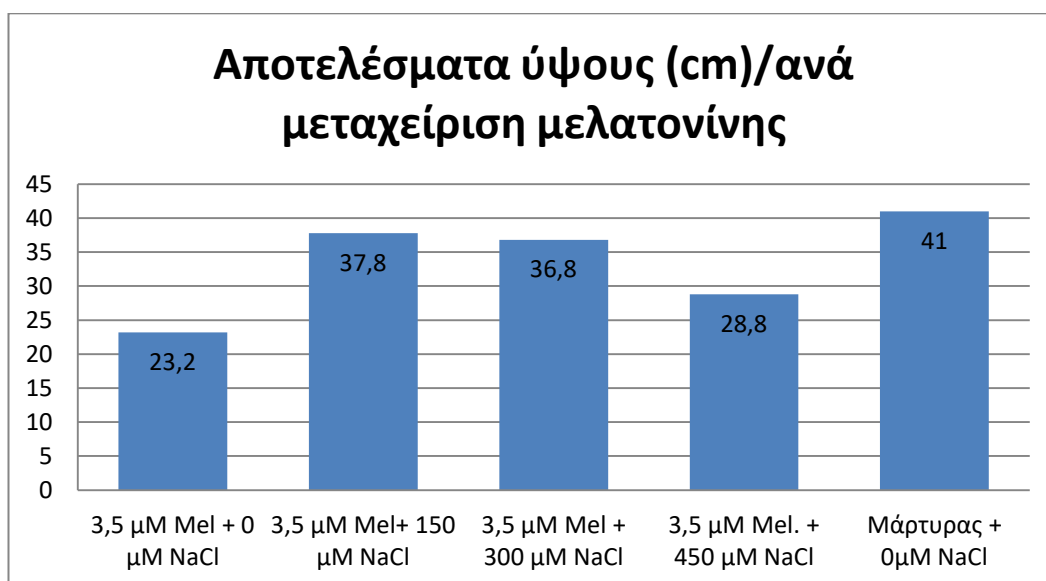
❖ Για την συγκέντρωση 450 μM NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 36,25 % μεγαλύτερο ύψος από το τελικό ύψος του μάρτυρα 450 μM NaCl και 29,75 % μικρότερο ύψος από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

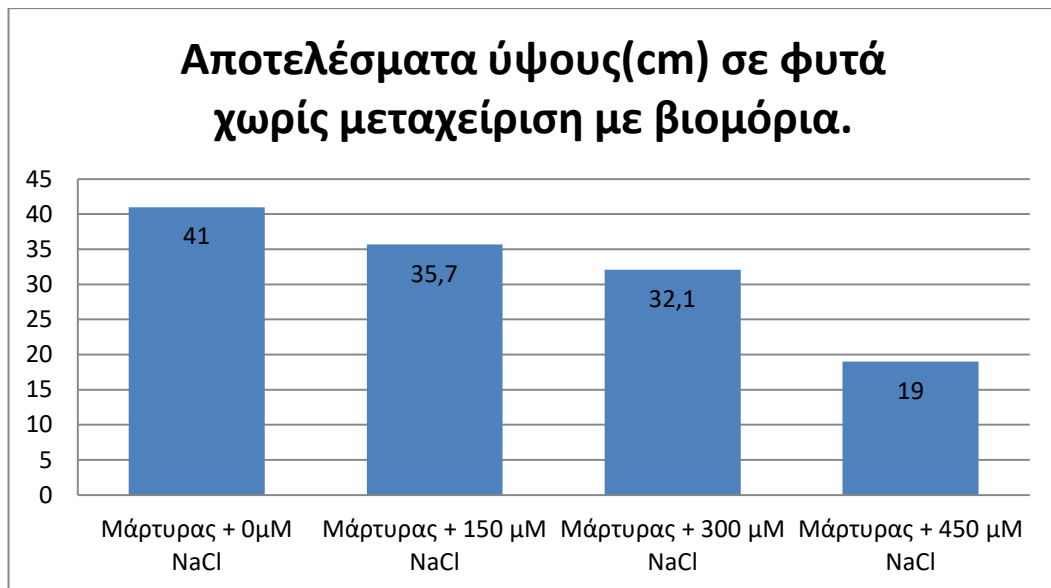
β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 35,1 % μεγαλύτερο ύψος από τον μάρτυρα 450 μM NaCl και 28,5 % μικρότερο ύψος από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.



Πίνακας 7: Αποτελέσματα ύψους ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης



Πίνακας 8: Αποτελέσματα ύψους ανά μεταχείριση μελατονίνης.



Πίνακας 9: Αποτελέσματα ύψους στις μεταχειρίσεις χωρίς βιομόρια.

2.2 Απόδοση σε αιθέριο έλαιο.

Για τον προσδιορισμό της απόδοσης της κάθε μεταχείρισης σε αιθέριο έλαιο συλλέχθηκε κατάλληλη ποσότητα (gr) φύλλων και ανθέων από τα φυτά ρίγανης και στην συνέχεια μετρήθηκε η ποσοστιαία απόδοση σε αιθέριο έλαιο με την μέθοδο της απόσταξης.

Στον παρακάτω πίνακα ακολουθούν οι αποδόσεις των φυτών σε αιθέριο έλαιο, κατηγοριοποιημένες ανάλογα με τις μεταχειρίσεις που έχουν υποστεί.

3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 0 μ M NaCl	5,56 %
3,5 μ M Μελατονίνη + 0 μ M NaCl	3,33 %
Μάρτυρας + 0 μ M NaCl	4,22 %
3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 150 μ M NaCl	5,88 %
3,5 μ M Μελατονίνη + 150 μ M NaCl	3,25 %
Μάρτυρας + 150 μ M NaCl	4,00 %
3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 300 μ M NaCl	4,60 %
3,5 μ M Μελατονίνη + 300 μ M NaCl	3,53 %
Μάρτυρας + 300 μ M NaCl	3,36 %
3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 450 μ M NaCl	2,54 %
3,5 μ M Μελατονίνη + 450 μ M NaCl	3,04 %
Μάρτυρας + 450 μ M NaCl	3,40 %

Πίνακας 10: Εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου ανά μεταχείριση

Από τον πίνακα παρατηρούμε ότι :

❖ Για την συγκέντρωση 0 μ M NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 21,1% μικρότερη απόδοση σε έλαιο από την απόδοση του μάρτυρα 0 μ M NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 24,1% μεγαλύτερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl.

❖ Για την συγκέντρωση 150 μ M NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 18,75% μικρότερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο από την απόδοση του μάρτυρα 150 μ M NaCl και 23% μικρότερη απόδοση από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 32% μεγαλύτερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο από τον μάρτυρα 150 μM NaCl και 28,23% μεγαλύτερη απόδοση από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

❖ Για την συγκέντρωση 300 μM NaCl:

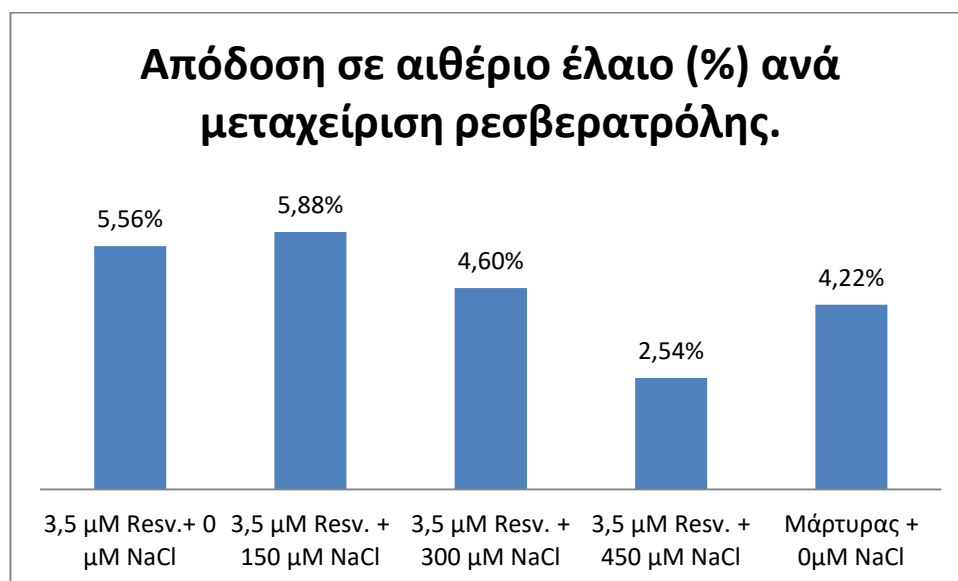
α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 4,8% μεγαλύτερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο από την απόδοση του μάρτυρα 300 μM NaCl και 16,35% μικρότερη απόδοση από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 26,95% μεγαλύτερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο από τον μάρτυρα 300 μM NaCl και 8,26% μεγαλύτερη απόδοση από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

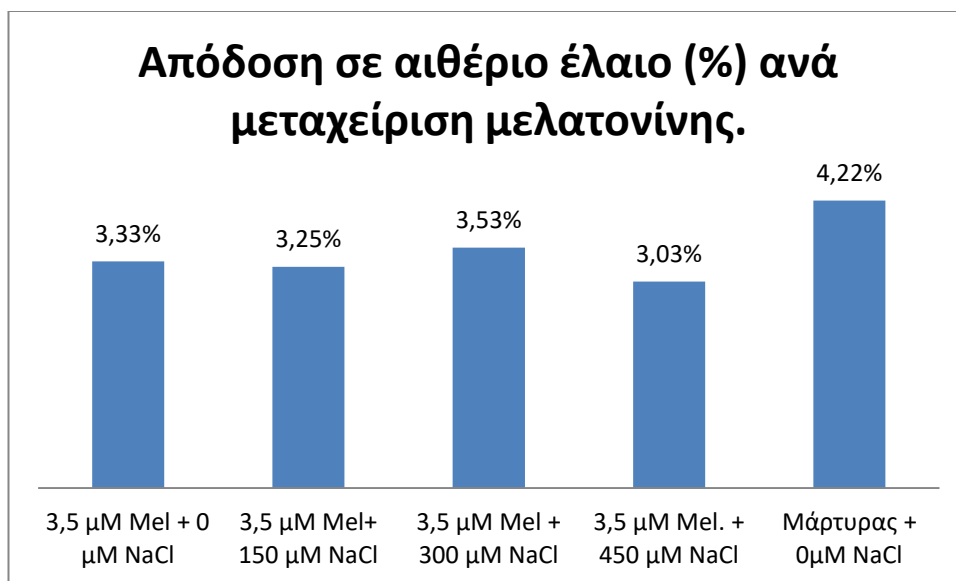
❖ Για την συγκέντρωση 450 μM NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 10,6% μικρότερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο από την απόδοση του μάρτυρα 450 μM NaCl και 27,96% μικρότερη απόδοση από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

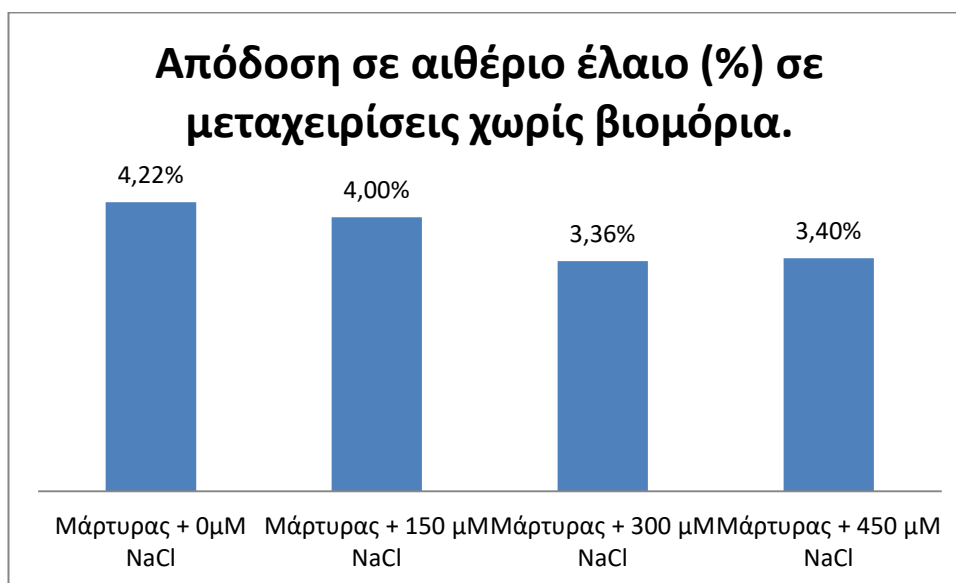
β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο 25,3% μικρότερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο από τον μάρτυρα 450 μM NaCl και 39,8% μικρότερη απόδοση από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.



Πίνακας 11: Εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης.



Πίνακας 12: Εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης.



Πίνακας 13: Εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου σε μεταχειρίσεις χωρίς βιομορία.

2.3 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης της προλίνης.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της προλίνης στην κάθε μία από τις 12 μεταχειρίσεις του πειράματος , έγιναν 3 επαναλήψεις ανά μεταχείριση, αφού πρώτα συλλέχθηκε κατάλληλη ποσότητα (gr) φυτικού υλικού και μετά από κατάλληλη διαδικασία η συγκέντρωση της προλίνης μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο. Οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 0 μ M NaCl	0,352
3,5 μ M Μελατονίνη + 0 μ M NaCl	0,35
Μάρτυρας + 0 μ M NaCl	0,196
3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 150 μ M NaCl	0,205
3,5 μ M Μελατονίνη + 150 μ M NaCl	0,36
Μάρτυρας + 150 μ M NaCl	0,392
3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 300 μ M NaCl	0,298
3,5 μ M Μελατονίνη + 300 μ M NaCl	0,3915
Μάρτυρας + 300 μ M NaCl	0,419
3,5 μ M Ρεσβερατρόλη + 450 μ M NaCl	1,1
3,5 μ M Μελατονίνη + 450 μ M NaCl	0,5173
Μάρτυρας + 450 μ M NaCl	0,71

Πίνακας 14: Συγκέντρωση προλίνης ανά μεταχείριση.

Συνεπώς παρατηρούμε ότι :

❖ Για την συγκέντρωση 0 μ M NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην έχουν κατά μέσο όρο 78,57 % μεγαλύτερη συγκέντρωση προλίνης από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη έχουν κατά μέσο όρο 78,6 % μεγαλύτερη συγκέντρωση προλίνης από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl.

❖ Για την συγκέντρωση 150 μ M NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη έχουν κατά μέσο όρο 8,16 % μικρότερη συγκέντρωση προλίνης από τον μάρτυρα 150 μ M NaCl και 83,67 % μεγαλύτερη από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη έχουν κατά μέσο όρο 47,7 % μικρότερη συγκέντρωση προλίνης από τον μάρτυρα 150 μM NaCl και 4,6 % μεγαλύτερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

❖ Για την συγκέντρωση 300 μM NaCl:

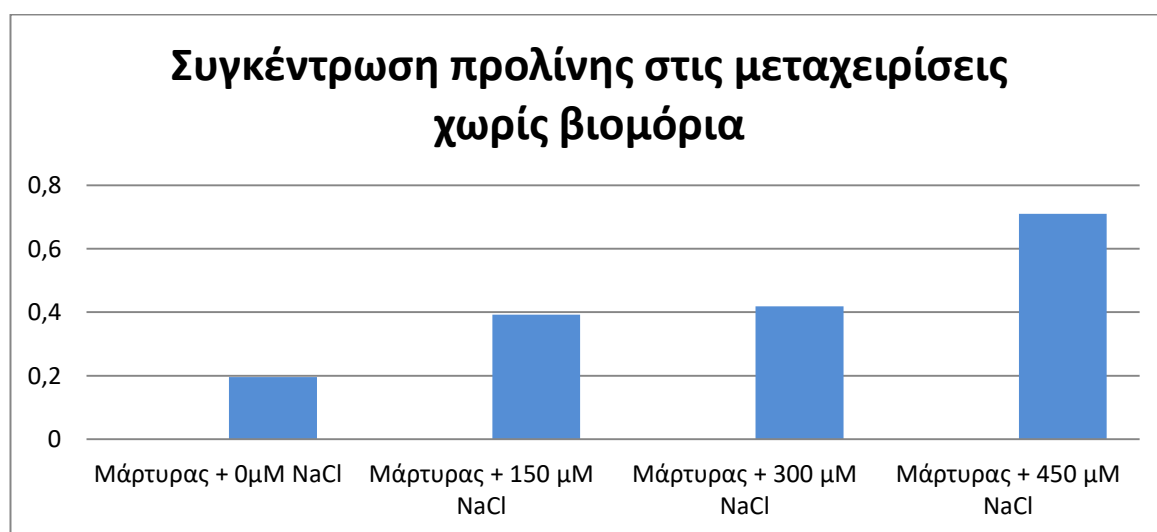
α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην έχουν κατά μέσο όρο 6,56 % μικρότερη συγκέντρωση προλίνης από τον μάρτυρα 300 μM NaCl και 99,74 % μεγαλύτερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη έχουν κατά μέσο όρο 28,87 % μικρότερη συγκέντρωση προλίνης από τον μάρτυρα 300 μM NaCl και 52,04 % μεγαλύτερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

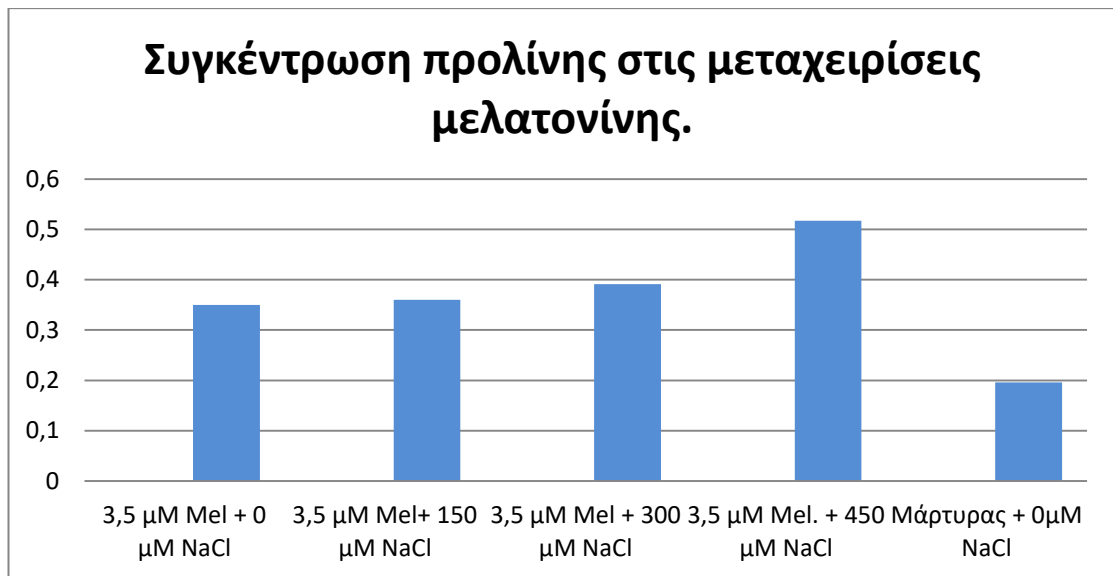
❖ Για την συγκέντρωση 450 μM NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην έχουν κατά μέσο όρο 27,14 % μικρότερη συγκέντρωση προλίνης από τον μάρτυρα 450 μM NaCl και 163,9 % μεγαλύτερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

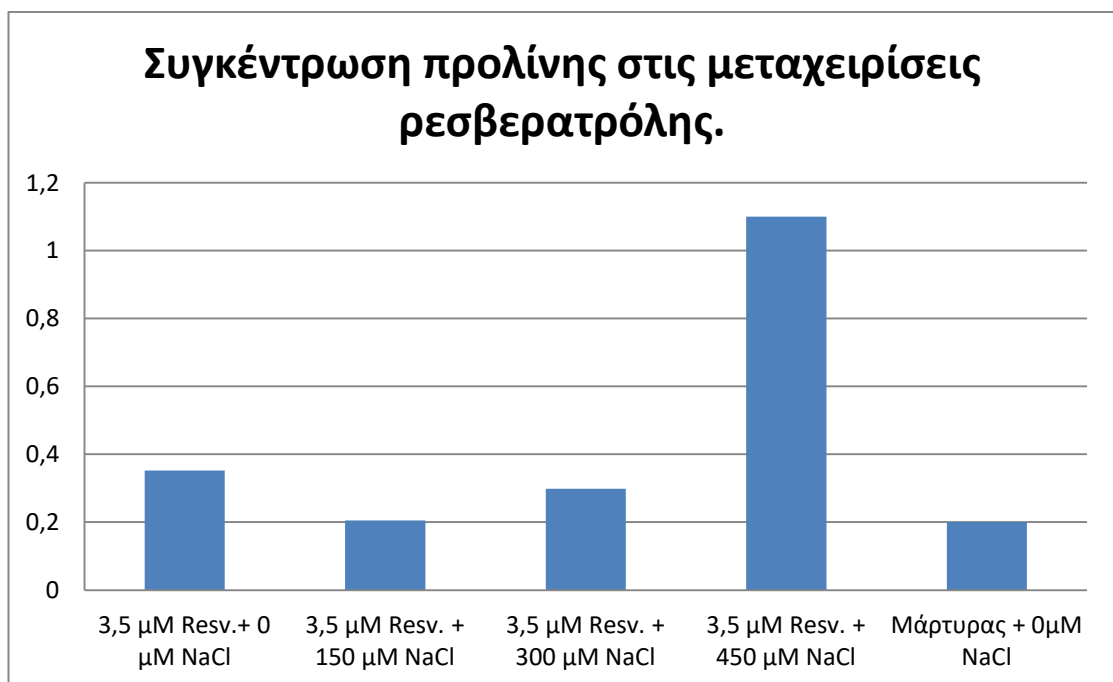
β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη έχουν κατά μέσο όρο 54,9 % μεγαλύτερη συγκέντρωση προλίνης από τον μάρτυρα 450 μM NaCl και 461,22 % μεγαλύτερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.



Πίνακας 15: Συγκέντρωση προλίνης στα φυτά-μάρτυρες.



Πίνακας 16: Συγκέντρωση της προλίνης σε μεταχειρίσεις μελατονίνης.



Πίνακας 17: Συγκέντρωση της προλίνης σε μεταχειρίσεις ρεσβερατρόλης.

2.4 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης χλωροφύλλης

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης έγιναν κατάλληλες πειραματικές διαδικασίες αφού χρησιμοποιήθηκαν 3 δείγματα ανά μεταχείριση. Στην συνέχεια έγινε προσδιορισμός της συγκέντρωσης (σε mg) της ολικής χλωροφύλλης και των χλωροφυλλών a και b ξεχωριστά.

Μεταχείριση	Chla	chl b	Chla+b
3,5 μ M Resv.+ 0 μ M NaCl	7,33	3,9	11,23
3,5 μ M Mel + 0 μ M NaCl	7,23	4,1	11,33
Μάρτυρας + 0 μ M NaCl	7,43	4,16	11,6
3,5 μ M Resv. + 150 μ M NaCl	6,53	3,53	10,066
3,5 μ M Mel+ 150 μ M NaCl	5,86	2,86	10,53
Μάρτυρας + 150 μ M NaCl	6,73	3,53	10,26
3,5 μ M Resv. + 300 μ M NaCl	5,81	2,86	8,73
3,5 μ M Mel + 300 μ M NaCl	4,46	3	7,46
Μάρτυρας + 300 μ M NaCl	4,03	3,23	7,266
3,5 μ M Resv. + 450 μ M NaCl	4,57	2,75	7,32
3,5 μ M Mel. + 450 μ M NaCl	3,62	2,78	6,4
Μάρτυρας + 450 μ M NaCl	3,46	2,8	6,26

Πίνακας 18: Προσδιορισμός συγκέντρωσης χλωροφυλλών a και b και ολικής χλωροφύλλης ανά μεταχείριση.

Συνεπώς παρατηρούμε ότι

❖ Για την συγκέντρωση 0 μ M NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην έχουν κατά μέσο όρο 2,32 % μικρότερη συγκέντρωση χλωροφύλλης από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl. β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη έχουν κατά μέσο όρο 3,19 % μικρότερη συγκέντρωση χλωροφύλλης από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl.

❖ Για την συγκέντρωση 150 μ M NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη έχουν κατά μέσο όρο 2,63 % μεγαλύτερη συγκέντρωση χλωροφύλλης από τον μάρτυρα 150 μ M NaCl και 9,22 % μικρότερη από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη έχουν κατά μέσο όρο 1,89 % μικρότερη συγκέντρωση χλωροφύλλης από τον μάρτυρα 150 μM NaCl και 8,05 % μικρότερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

❖ Για την συγκέντρωση 300 μM NaCl:

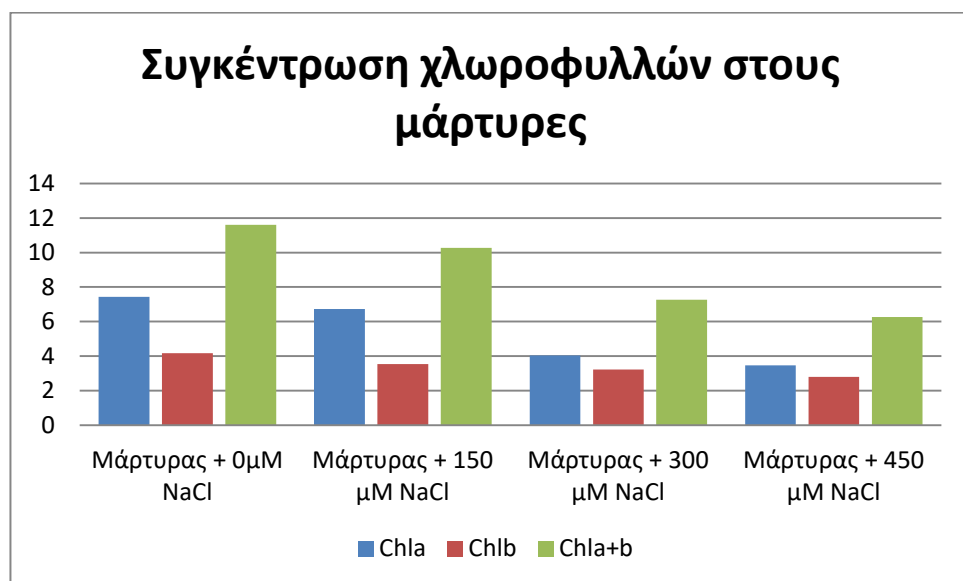
α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην έχουν κατά μέσο όρο 2,25 % μεγαλύτερη συγκέντρωση χλωροφύλλης από τον μάρτυρα 300 μM NaCl και 35,95 % μικρότερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη έχουν κατά μέσο όρο 20,15 % μεγαλύτερη συγκέντρωση χλωροφύλλης από τον μάρτυρα 300 μM NaCl και 24,74 % μικρότερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

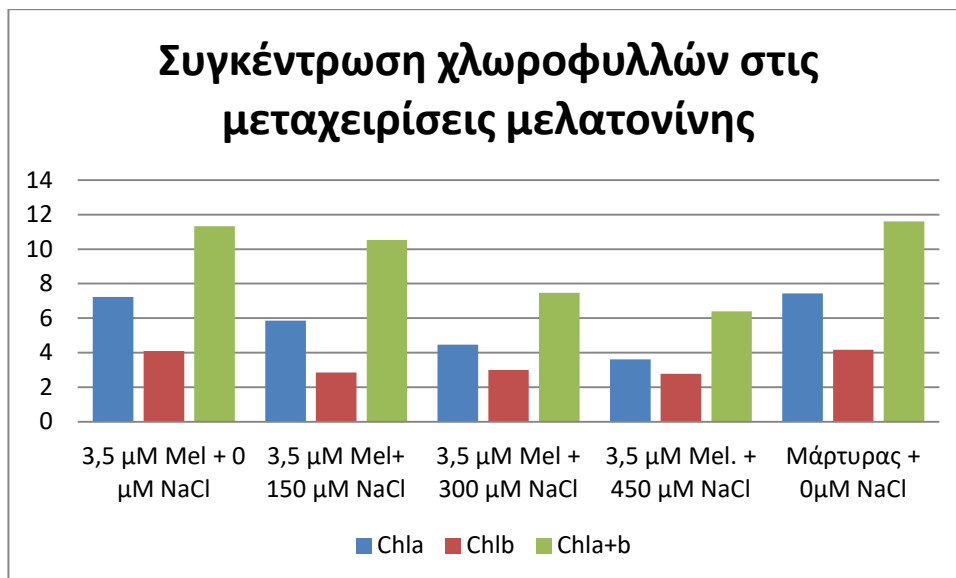
❖ Για την συγκέντρωση 450 μM NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην έχουν κατά μέσο όρο % μικρότερη συγκέντρωση χλωροφύλλης από τον μάρτυρα 450 μM NaCl και % μεγαλύτερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

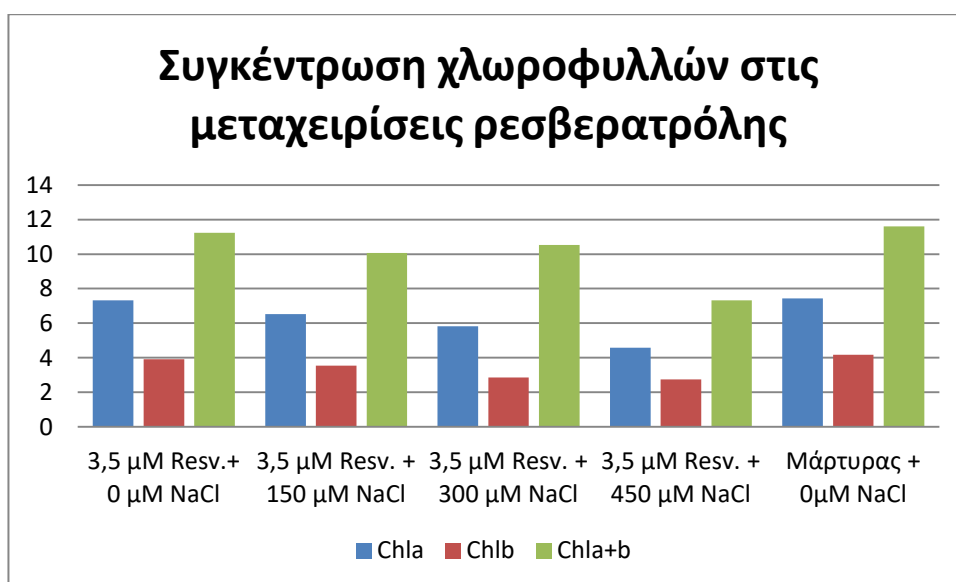
β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη έχουν κατά μέσο όρο % μεγαλύτερη συγκέντρωση χλωροφύλλης από τον μάρτυρα 450 μM NaCl και % μεγαλύτερη από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.



Πίνακας 19: Συγκέντρωση χλωροφυλλών στους μάρτυρες.



Πίνακας 20: Συγκέντρωση χλωροφυλλών στις μεταχειρίσεις μελατονίνης.



Πίνακας 21: Συγκέντρωση χλωροφυλλών στις μεταχειρίσεις ρεσβερατρόλης.

2.5 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ

Για τον προσδιορισμό του φθορισμού της χλωροφύλλης έγιναν μετρήσεις με το φορητό ρυθμιζόμενο φθορισμόμετρο Plant Efficiency Analyzer και στις 12 μεταχειρίσεις επί τρεις επαναλήψεις ανά μεταχείριση. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των F_o , F_m , F_v , F_v/F_m , F_v/F_o , P. Index και area ανά μεταχείριση όπως προσδιορίστηκαν από το μηχάνημα.

Μεταχείριση	F_o	F_m	F_v/F_m	F_v/F_o	P. index	area
3,5 μ M Resv.+ 0 μ M NaCl	411,66	2311	0,8376	4,61	2,2	24900
3,5 μ M Mel+ 0 μ M NaCl	345,333	2126,33	0,835	5,157	3,2	25200
Μάρτυρας + 0 μ M NaCl	350	2288	0,8466	5,537	4,433	33333,33
3,5 μ M Resv. + 150 μ M NaCl	412	2229,66	0,824	4,41	2,7	29566,66
3,5 μ M Mel+ 150 μ M NaCl	397,66	2071,33	0,822	4,208	3,79	20133,33
Μάρτυρας + 150 μ M NaCl	379,33	2159,66	0,814	4,69	2,5	23066,66
3,5 μ M Resv. + 300 μ M NaCl	368,33	2140,33	0,823	4,81	3,46	26400
3,5 μ M Mel + 300 μ M NaCl	404	2270,33	0,7966	4,61	1,33	25933,33
Μάρτυρας + 300 μ M NaCl	432	1569	0,71435	2,631	0,3833	7400
3,5 μ M Resv. + 450 μ M NaCl	385,66	1929,33	0,787	4,002	2,36	18933,33
3,5 μ M Mel. + 450 μ M NaCl	393,33	2091	0,7693	4,31	1,266	16333,33
Μάρτυρας + 450 μ M NaCl	570,66	1885,33	0,701	2,3	0,3	8733,33

Πίνακας 22: Αποτελέσματα –δείκτες φθορισμού ανά μεταχείριση.

Από τον πίνακα παρατηρούμε ότι :

❖ Για την συγκέντρωση 0 μ M NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο: i) δείκτη F_o 1,33 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl. ii) F_m 7,07 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl. iii) F_v/F_m 1,37 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl. iv) F_v/F_o 6,9 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μ M NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο: i) δείκτη **Fo** 17,61 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl. ii) **Fm** 1 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl. iii) **Fv/Fm** 1,06 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl. iv) **Fv/Fo** 16,74 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl.

Για την συγκέντρωση 150 μM NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο: i) δείκτη **Fo** 13,62 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 4,83% μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 150 μM NaCl. ii) **Fm** 9,47 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 4,09 % μικρότερο από τον μάρτυρα 150 μM NaCl. iii) **Fv/Fm** 2,9 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 1 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 150 μM NaCl. iv) **Fv/Fo** 24 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 10,27 % μικρότερο από τον μάρτυρα 150 μM NaCl.

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο: i) δείκτη **Fo** 17,71 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 8,61 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 150 μM NaCl. ii) **Fm** 2,54 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 3,24 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 150 μM NaCl. iii) **Fv/Fm** 2,67 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 1,22 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 150 μM NaCl. iv) **Fv /Fo** 20,35 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 5,97 % μικρότερο από τον μάρτυρα 150 μM NaCl.

❖ Για την συγκέντρωση 300 μM NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο: i) δείκτη **Fo** 15,42 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 6,48 % μικρότερο από τον μάρτυρα 300 μM NaCl. ii) **Fm** 0,77 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 44,7 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 300 μM NaCl. iii) **Fv/Fm** 5,9 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 11,52 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 300 μM NaCl. iv) **Fv /Fo** 16,74 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 75,21 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 300 μM NaCl

β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο: i) δείκτη **Fo** **5,23** % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 14,73 % μικρότερο από τον μάρτυρα 300 μM NaCl. ii) **Fm** **6,45** % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 36,41 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 300 μM NaCl. iii) **Fv/Fm** 2,78 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 15,21 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 300 μM NaCl. iv) **Fv/Fo** 13,12 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 82,82 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 300 μM NaCl.

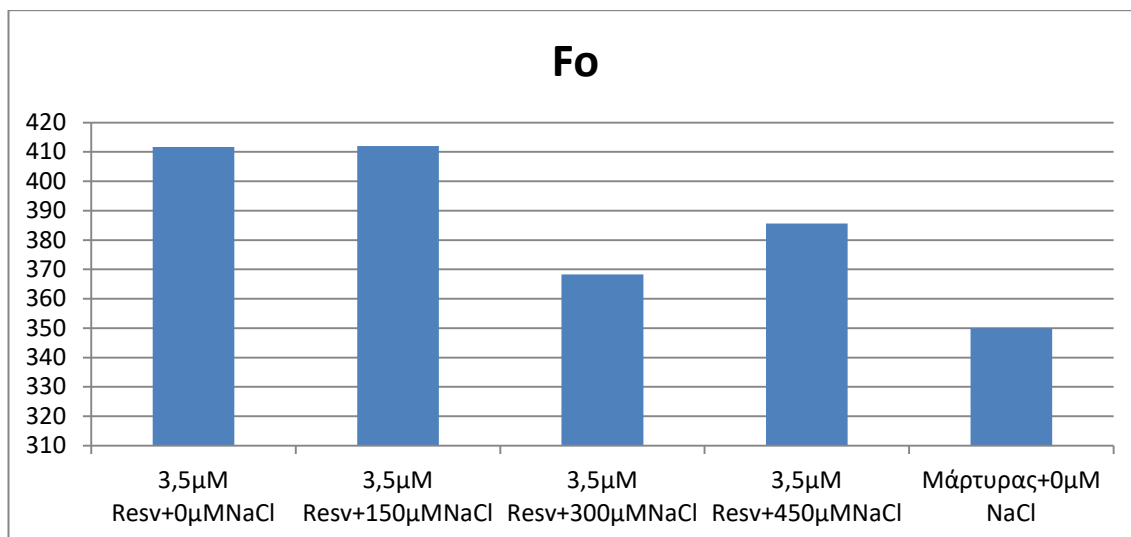
❖ Για την συγκέντρωση 450 μM NaCl:

α) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί μελατονίνη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο: i) δείκτη **Fo** 12,38 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 31,07 % μικρότερο από τον μάρτυρα 450 μM NaCl. ii) **Fm** 8,61 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 10,9 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 450 μM NaCl. iii) **Fv/Fm** 9,13 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 9,74 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 450 μM NaCl. iv) **Fv/Fo** 22,16 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 87,39 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 450 μM NaCl.

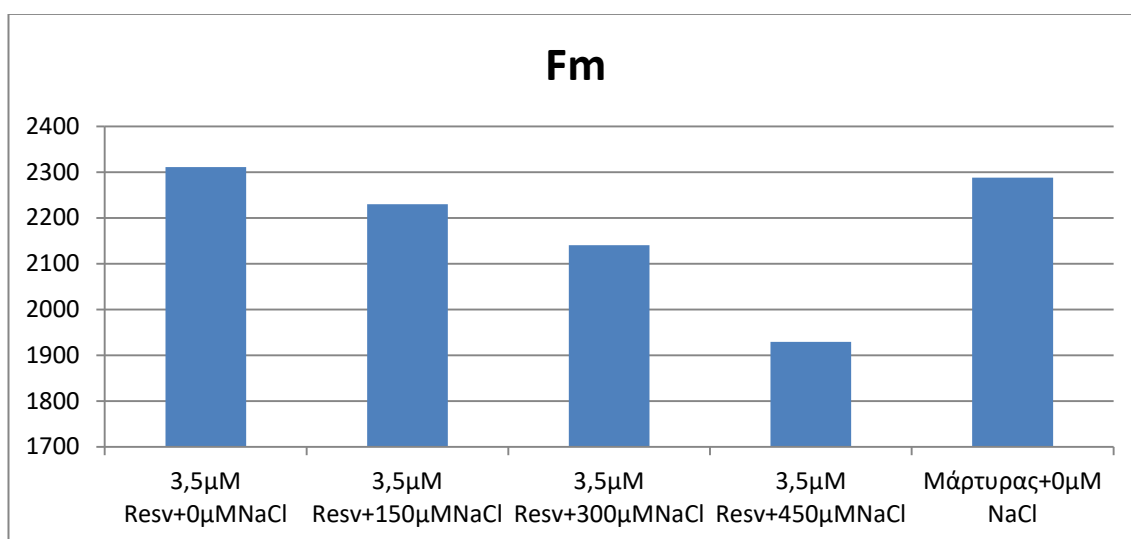
β) Τα φυτά στα οποία έχει χορηγηθεί ρεσβερατρόλη στην τελική μέτρηση έχουν κατά μέσο όρο: i) δείκτη **Fo** 10,18 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 32,41 % μικρότερο από τον μάρτυρα 450 μM NaCl. ii) **Fm** 15,67 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 2,33 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 450 μM NaCl. iii) **Fv/Fm** 7,04 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 12,26 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 450 μM NaCl. iv) **Fv/Fo** 27,72 % μικρότερο από τον μάρτυρα 0 μM NaCl και 74 % μεγαλύτερο από τον μάρτυρα 450 μM NaCl

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα σε διαγράμματα:

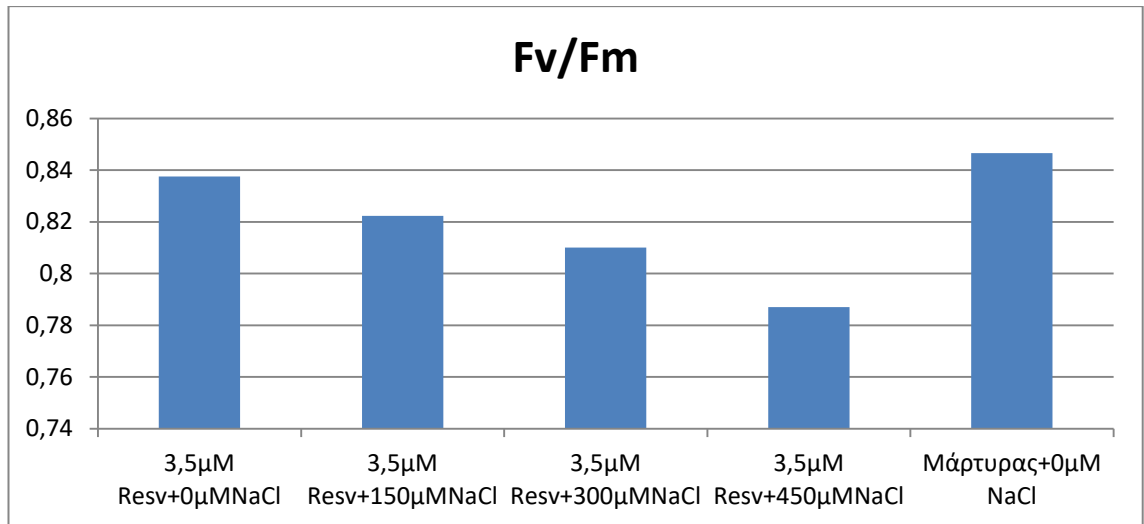
Για την ρεσβερατρόλη έχουμε:



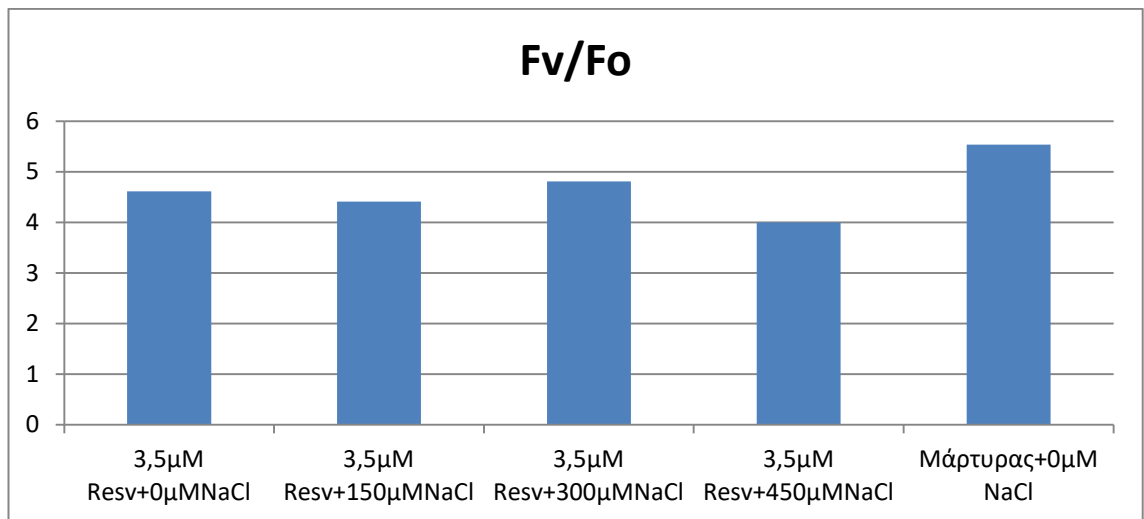
Πίνακας 23: Αρχική τιμή φθορισμού ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης.



Πίνακας 24: Μέγιστη τιμή φθορισμού ανά μεταχείριση ρεσβερατρόλης.

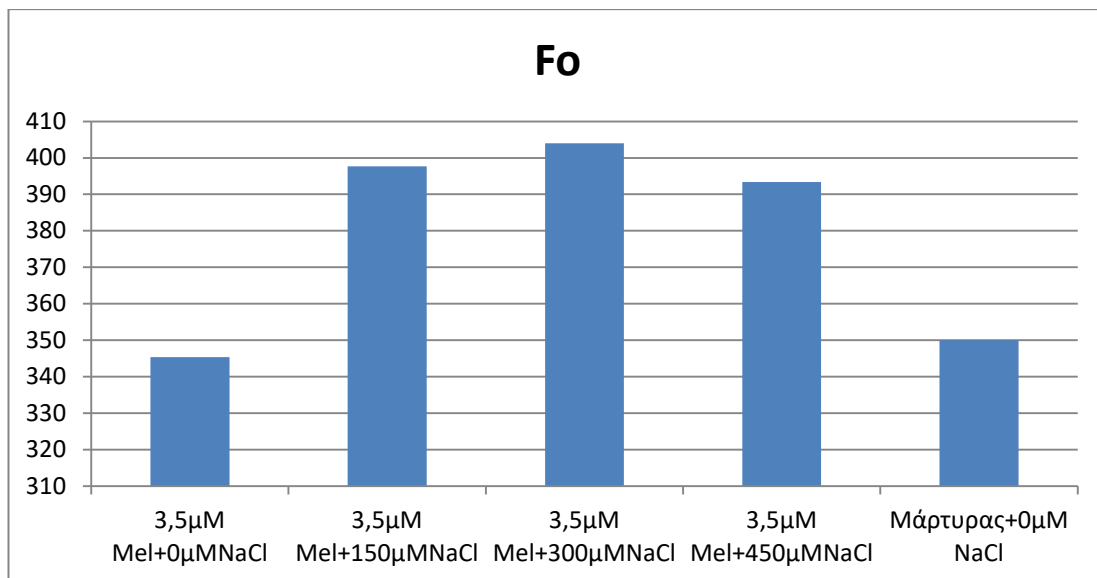


Πίνακας 25: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον μέγιστο φθορισμό στις μεταχειρίσεις ρεσβερατρόλης.

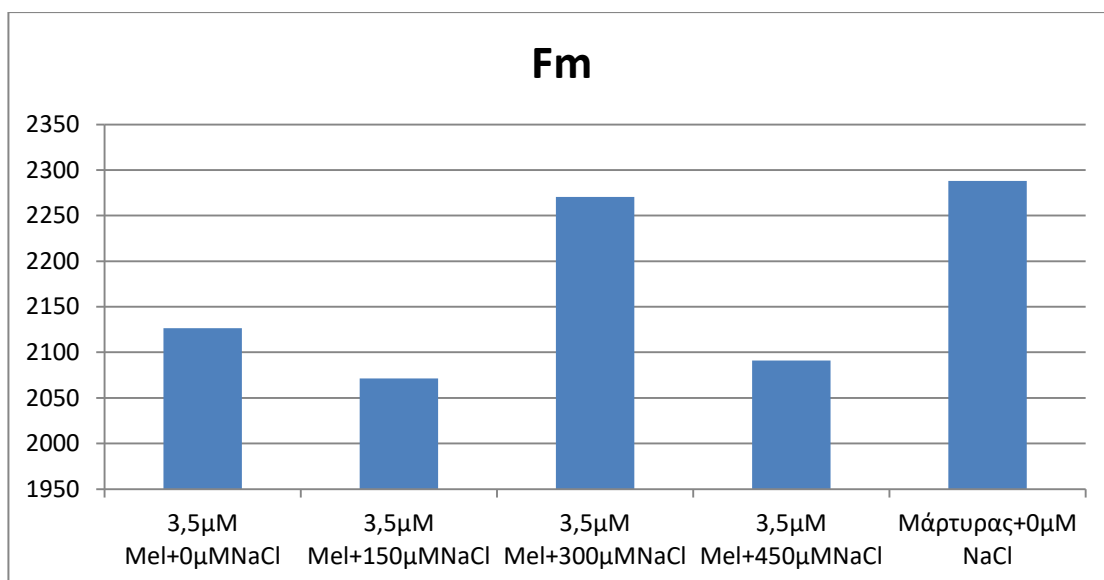


Πίνακας 26: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον αρχικό φθορισμό στις μεταχειρίσεις ρεσβερατρόλης.

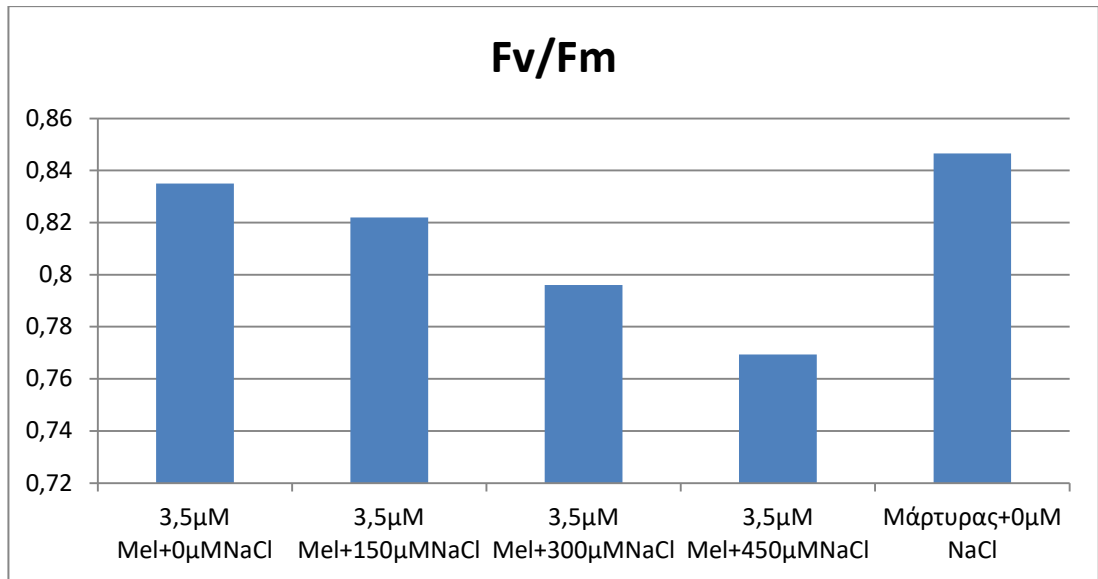
Για την μελατονίνη έχουμε:



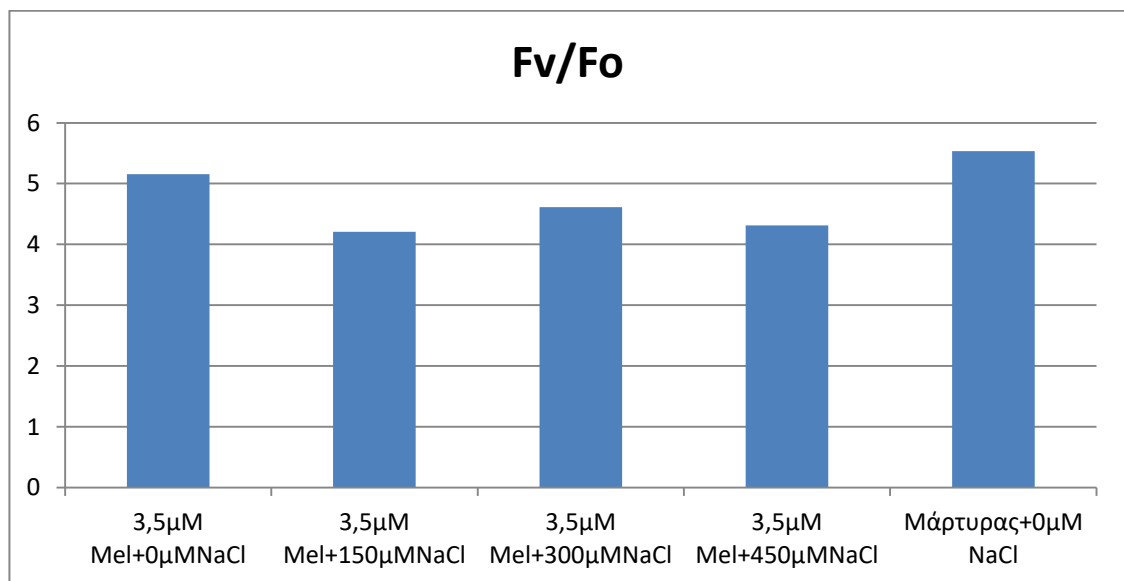
Πίνακας 27: Αρχική τιμή φθορισμού ανά μεταχείριση μελατονίνης.



Πίνακας 28: Μέγιστη τιμή φθορισμού ανά μεταχείριση μελατονίνης.

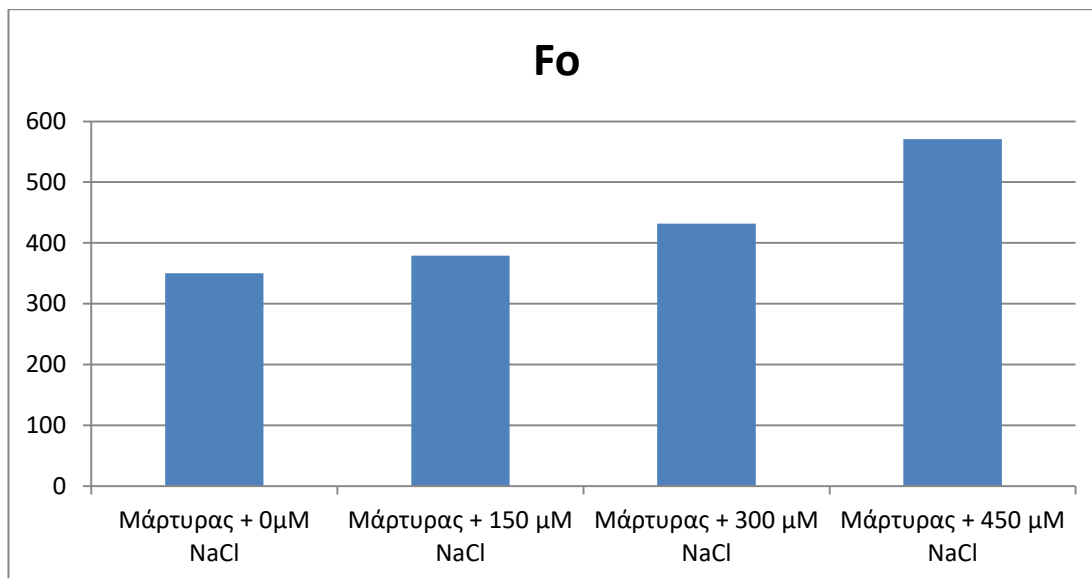


Πίνακας 29: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον μέγιστο φθορισμό στις μεταχειρίσεις μελατονίνης.

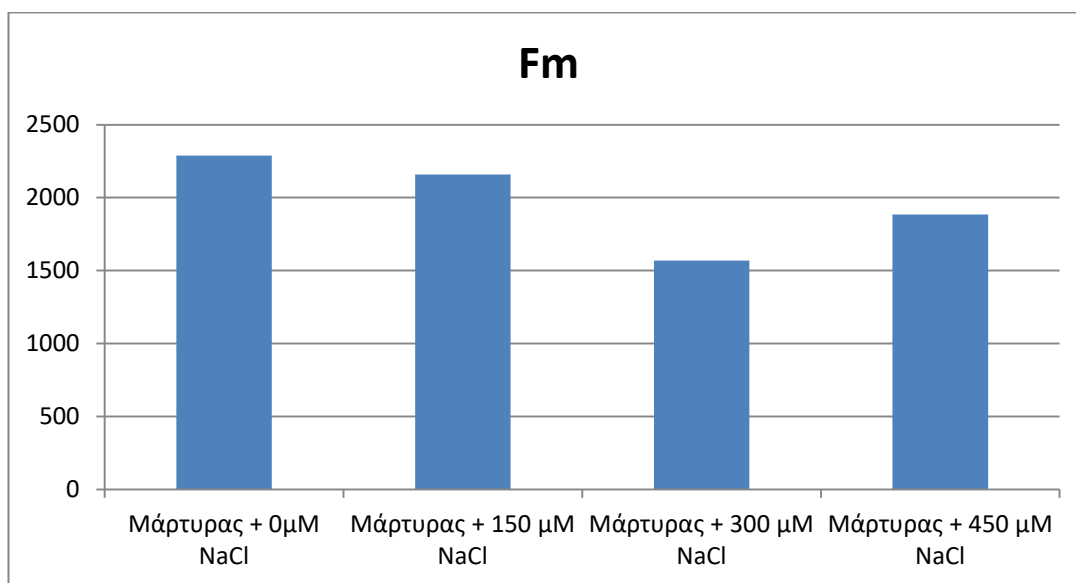


Πίνακας 30: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον αρχικό φθορισμό στις μεταχειρίσεις μελατονίνης.

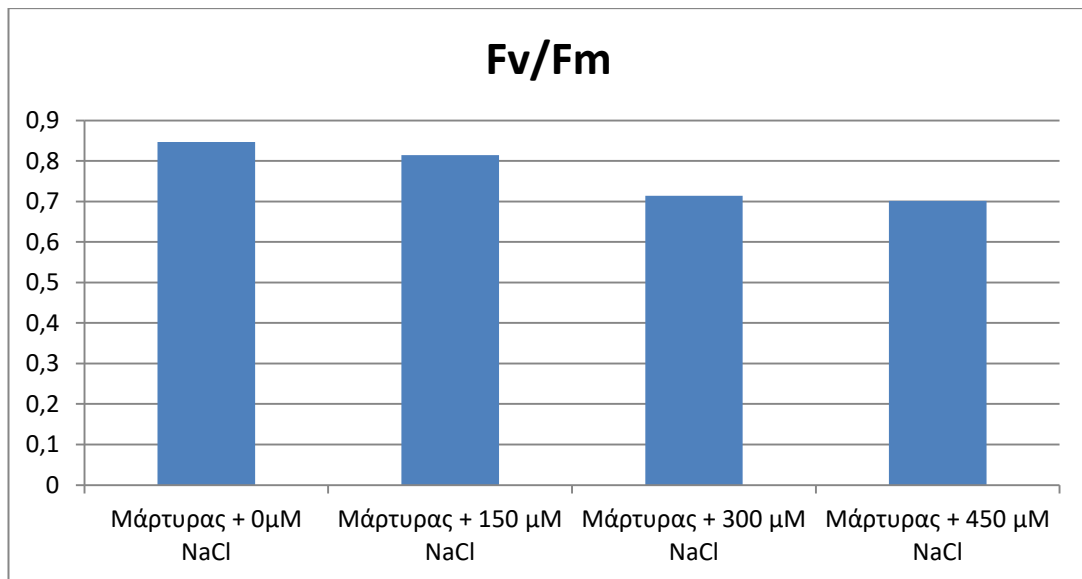
Για τον μάρτυρα έχουμε:



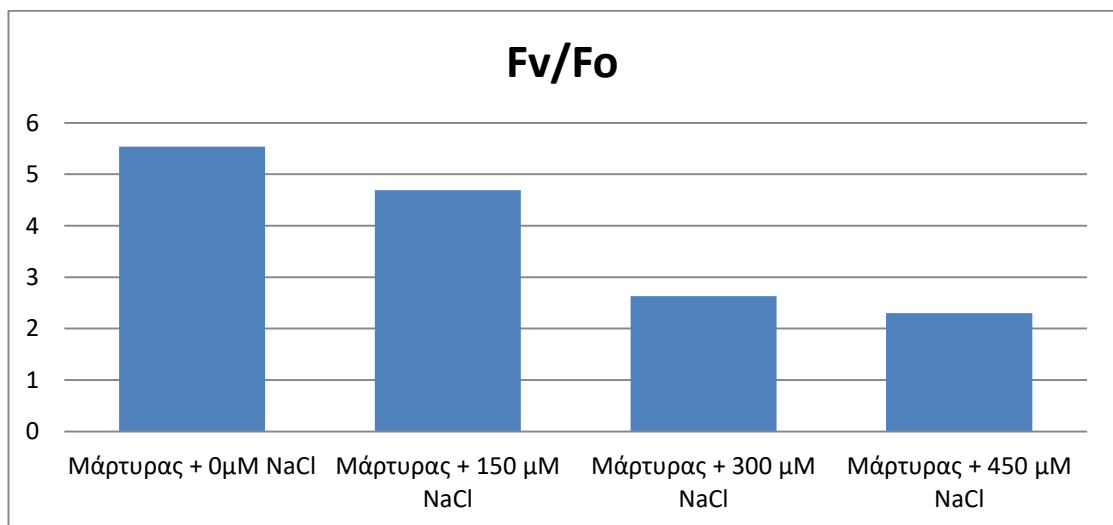
Πίνακας 31: Αρχική τιμή φθορισμού στους μάρτυρες.



Πίνακας 32: Μέγιστη τιμή φθορισμού στους μάρτυρες



Πίνακας 33: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον μέγιστο φθορισμό στους μάρτυρες.



Πίνακας 34: Μεταβλητή τιμή φθορισμού ως προς τον αρχικό φθορισμό στους μάρτυρες.

3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ένα μεγάλο μέρος (τα $\frac{3}{4}$) της επιφάνειας της γης καλύπτονται από θαλασσινό νερό. Με γνώμονα την κυριαρχία αυτή του θαλασσινού νερού, δεν μας προκαλεί έκπληξη το ότι ένα σημαντικό ποσοστό των καλλιεργούμενων εδαφών επηρεάζεται από την συγκέντρωση των αλάτων (Pitman, 2002). Η αλατότητα αποτελεί μία από τις πιο σημαντικές αβιοτικές καταπονήσεις προκαλώντας μείωση της της παγκόσμιας γεωργικής παραγωγής. Οι δυσμενείς επιδράσεις της αυξημένης αλατότητας έχουν αποδειχθεί εδώ και χρόνια με πειράματα πάνω στην επιρροή της στα μορφολογικά χαρακτηριστικά διαφόρων φυτικών ειδών, ανθεκτικών και μη, όπως η ντομάτα και η πιπεριά (Mc Call and Brazaityde, 1997). Σε συνδυασμό με την συνεχώς αυξανόμενη θερμοκρασία του πλανήτη καθώς και την έλλειψη νερού οι επιπτώσεις αυτής δυσχεραίνουν. Αυτή η αρνητική επίδραση αποδείχθηκε και στην παρούσα πτυχιακή εργασία σε ένα φυτό σχετικά ανθεκτικό με βάση την διαθέσιμη βιβλιογραφία στην αλατότητα, την ρίγανη.

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει γίνει προσπάθεια εξομάλυνσης του φαινομένου της αλατότητας και των επιπτώσεων αυτού στα διάφορα φυτά με την προσθήκη κάθε φορά διαφορετικών βιομορίων (π.χ. μελατονίνη, σαλικυλικό οξύ, ρεσβερατρόλη) τα οποία δείχνουν να το «απαλύνουν» επηρεάζοντας βιοχημικές δραστηριότητες και μεταβολικές οδούς του φυτού. Αυτό γίνεται άμεσα αντιληπτό από τους ερευνητές με την μελέτη κάποιων χαρακτηριστικών μετρήσεων, όπως για παράδειγμα η συγκέντρωση των χλωροφυλλών (α+β), ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της προλίνης στον φυτικό ιστό, τον τρόπο με τον οποίο επηρεάζεται ο φθορισμός της χλωροφύλλης του φυτού καθώς και η παραγόμενη ποσότητα (%) κάποιων φυτών σε αιθέριο έλαιο όταν αυτά βρίσκονται υπό συνθήκες καταπόνησης. Παρόμοιες μετρήσεις έγιναν και στην παρούσα πτυχιακή εργασία όπου μελετήθηκαν οι παραπάνω δείκτες.

Η πρώτη παρατήρηση που γίνεται στα φυτά και δείχνει τις αρνητικές επιδράσεις της αυξανόμενης αλατότητας στα φυτά είναι μακροσκοπική και αφορά το ύψος. Ειδικότερα η αύξηση της χορηγούμενης ποσότητας NaCl προκαλεί σταδιακή μείωση του ύψους στα φυτά με έρευνες πάνω σε φυτά ελαιοκράμβης να επαληθεύουν το γεγονός (Valiollah Rameeh, Mahyar Gerami 2016). Τα συμπεράσματα αυτά είναι ανάλογα και με αυτά της παρούσας πτυχιακής όπου τα φυτά στα οποία χορηγήθηκε αλατότητα 150

μM, 300 μM και 450 μM έχουν με κάθε αύξηση της συγκέντρωσης αλατότητας όλο και μικρότερο ύψος συγκρινόμενο με τον μάρτυρα. Επιπλέον βρέθηκε ότι η προσθήκη βιομορίων (3,5 μM ρεσβερατρόλης και μελατονίνης) είχε ευεργετικά αποτελέσματα στα φυτά στα οποία είχε χορηγηθεί NaCl, καθώς είχαμε μικρότερη μείωση του ύψους τους, γεγονός που μας δείχνει απάλυνση του στρες. Η χορήγηση μελατονίνης και ρεσβερατρόλης στις συγκεντρώσεις 150 και 300 μM είχε ευεργετική επίδραση, καθώς παρατηρήθηκε μικρή αύξηση του ύψους σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Ωστόσο στην συγκέντρωση 450 μM τα ευεργετικά αποτελέσματα των βιομορίων είναι ακόμη πιο εμφανή (μεγάλη αύξηση του ύψους σε σχέση με τον μάρτυρα).

Έχει αποδειχθεί από ποικίλα πειράματα ότι η χορήγηση αυξανόμενης συγκέντρωσης αλατότητας αυξάνει τις συγκεντρώσεις προλίνης στο φυτικό ιστό ως αντίδραση προς το προκαλούμενο στρες. Ειδικότερα, μερικοί ερευνητές ήρθαν στο συμπέρασμα ότι συμμετέχει στη σύνθεση των βασικών πρωτεϊνών που είναι απαραίτητες για την αντοχή των φυτών στο στρες (Zengrong Huang et al., 2013), (Βλάχου, 2011) και για αυτό τον λόγο παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσής της, όσο αυτό αυξάνεται.

Παρόμοια συμπεράσματα είχαμε και στο εξεταζόμενο πείραμα όπου η συγκέντρωση της προλίνης αυξανόταν σταδιακά όσο αυξανόταν και η χορηγούμενη αλατότητα. Πιο συγκεκριμένα, στις μεταχειρίσεις που είχε χορηγηθεί συγκέντρωση NaCl 150μM η συγκέντρωση της προλίνης ήταν πολύ μεγαλύτερη σε σύγκριση με τον μάρτυρα και αυξανόταν ακόμη περισσότερο στις μεταχειρίσεις με 300μM NaCl και 450μM παρουσιάζοντας συγκεντρώσεις έως και 2-3 φορές μεγαλύτερες. Επιπλέον, μπορούμε να πούμε ότι η προσθήκη μελατονίνης και ρεσβερατρόλης ήταν ωφέλιμη στις συγκεντρώσεις 150 μM και 300 μM NaCl, αφού προκάλεσε μείωση της συγκέντρωσης της προλίνης, σε σύγκριση με τους αντίστοιχους μάρτυρες. Τα παραπάνω αποτελέσματα έρχονται σε συνάφεια με αυτά των Xiaohua Ma, Jian Zheng, Xule Zhang, Qingdi Hu and Renjuan Qian (2017) όπου βρήκαν ότι η χορήγηση σαλικυλικού οξέος σε φυτά του είδους *Dianthus superbis* τα οποία είχαν υποστεί αλατότητα μείωνε την συγκέντρωση της προλίνης. Όσον αφορά τα φυτά μάρτυρες (με 0 μM NaCl) η χορήγηση μελατονίνης ή ρεσβερατρόλης προκάλεσε αύξηση της Σπρολίνης κατά ένα σημαντικό ποσοστό. Το γεγονός αυτό μπορεί να προκλήθηκε από την υψηλή συγκέντρωση των βιομορίων (3,5 μM) που δρουν ως στρεσογόνος παράγοντας, και αυξάνουν την προλίνη. Είναι γνωστό ότι σε περιπτώσεις στρες ενεργοποιούνται γονίδια παραγωγής της προλίνης και γίνεται υπερσυγκέντρωση αυτής στο κυτόπλασμα (Βλάχος

2011). Για την συγκέντρωση 450 μ M θα μπορούσαμε να πούμε ότι η ρεσβερατρόλη δεν δρα ευργετικά αντίθετα αυξάνει την συγκέντρωση της προλίνης επιβαρύνοντας επιπλέον το ήδη επιβαρυνόμενο φυτό. Το γεγονός αυτό είναι απολύτως φυσιολογικό καθώς μια συγκέντρωση αλατότητας 450 μ M θεωρείται υπερβολικά μεγάλη για να την αντέξει η πλειοψηφία των φυτών.

Έναν ακόμη δείκτη της αρνητικής επιρροής της συνεχώς αυξανόμενης συγκέντρωσης NaCl σε κάποια φυτά αποτελεί η μείωση της παραγόμενης ποσότητας αιθέριου ελαίου καθώς αυξάνεται η αλατότητα, όπως φαίνεται και από τους Mostajeran A., Gholaminejad A., Asghari G. (2014) όπου βρέθηκε ότι ενώ σε μικρές ποσότητες αλατότητας 60 μ M σε φυτά κουρκουμά (*Curcuma longa* L) είχαν θετικά αποτελέσματα, δηλαδή καλύτερη ποιότητα και μεγαλύτερη ποσότητα αιθέριου ελαίου σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 100 μ M NaCl η εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου μειώνεται. Πράγμα που βρέθηκε και στο εξαγόμενο πείραμα αφού παρατηρήθηκε μείωση της ποσοστιαίας απόδοσης σε αιθέριο έλαιο καθώς αυξανόταν η αλατότητα. Ωστόσο βρέθηκε ότι η προσθήκη ρεσβερατρόλης είχε ευεργετικά αποτελέσματα στην αύξηση της εξαγόμενης ποσότητας αιθέριου ελαίου τόσο σε φυτά με μηδενική χορήγηση αλατότητας, όσο και στα φυτά με συγκεντρώσεις αλατότητας 150 μ M και 300 μ M, πράγμα που έρχεται σε συνάφεια με τους Idrees M., Naeem M., Khan M., Aftab T. και Moinneddin. Οι παραπάνω παρατήρησαν ότι η προσθήκη σαλικυλικού οξέος σε φυτά *Cymbopogon flexuosus* (λεμονόχορτο) που είχαν υποστεί αλατότητα δεν περιόριζε τόσο την ποσοστιαία εξαγόμενη ποσότητα αιθέριου ελαίου σε σύγκριση με την μείωση που παρατηρούνταν στα φυτά μάρτυρες που δεν είχε χορηγηθεί το σαλικυλικό οξύ. Εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι στο εξαγόμενο πείραμα οι μεταχειρίσεις με ρεσβερατρόλη παρουσίαζαν μεγαλύτερη εξαγόμενη ποσότητα (πάνω από τον μέσο όρο) αιθέριου ελαίου σε σύγκριση με οποιαδήποτε άλλη μεταχείριση, μέχρι την οριακή συγκέντρωση NaCl όπου η επιρροή της ρεσβερατρόλης φαίνεται να εξασθενεί. Όσον αφορά τα φυτά-μεταχειρίσεις στα οποία είχε χορηγηθεί μελατονίνη παρουσίαζαν σχεδόν σταθερές (χαμηλές) εξαγόμενες ποσότητες αιθέριου ελαίου καθώς η χορηγούμενη αλατότητα αυξανόταν. Για αυτόν τον λόγο θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε ότι η μελατονίνη δεν επηρέαζε ιδιαίτερα στον συγκεκριμένο δείκτη.

Η αρνητική επίδραση της αλατότητας γίνεται εμφανής και σε δείκτες που σχετίζονται με την χλωροφύλλη (συγκέντρωση και φθορισμός χλωροφύλλης) καθώς είναι γνωστό ότι μεγάλες ποσότητες αλατότητας την διασπούν. Σε διαφορετικούς γενότυπους ρυζιού

βρέθηκε ότι χορηγούμενες ποσότητες αλατότητας, πάνω από την ωφέλιμη, προκαλούσαν σημαντική μείωση της ολικής χλωροφύλλης (Ali Y., Aslam Z. et al 2004). Τα αποτελέσματα αυτά συγκλίνουν και με αυτά της ρίγανης αφού η συγκέντρωση της χλωροφύλλης μειώνεται σταδιακά καθώς αυξάνονται τα επίπεδα NaCl. Αυτή η μείωση είναι ελαφρώς μικρότερη όταν ψεκάζουμε με βιομόρια (ρεσβερατρόλη και μελατονίνη) όπου μέχρι και κάποια οριακή συγκέντρωση (<450μM) η συγκέντρωση της ολικής χλωροφύλλης στις μεταχειρίσεις (150, 300) είναι ελαφρώς μεγαλύτερη σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Αξίζει να σημειώσουμε ότι η προσθήκη των βιομορίων είχε αντίθετα αποτελέσματα στη συγκέντρωση 0μM NaCl όπου δείχνουν να επηρεάζουν αρνητικά αυξάνοντας το στρες και μειώνοντας την συγκέντρωση της ολικής χλωροφύλλης, γεγονός που ήταν εμφανές και με το μάτι αφού υπήρχαν καψίματα στα φυτά.

Όσον αφορά τον φθορισμό της χλωροφύλλης τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια με αυτά της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης με τους δείκτες φωτοσυνθετικού ρυθμού να μειώνονται καθώς αυξάνεται η αλατότητα και τα χορηγούμενα βιομόρια να έχουν ευεργετική επίδραση, σε αυτήν την περίπτωση εμφανή σε όλες τις συγκεντώσεις αλατότητας(150, 300 και 450μM).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενογλώσση Βιβλιογραφία

Aleman F., Nieves-Cordones M., Martinez V., Rubio F., 2009, Potassium/sodium steady-state homeostasis in *Thellungiella halophila* and *Arabidopsis thaliana* under long-term salinity conditions, *Plant Science*, 176, 768-774

Amor N. B., Hamed K. B., Debez A., Grignon C., Abdelly C., 2005, Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity, *Plant Science*, 168, 889-899

Apse M. P., Blumwald E., 2007, Na⁺ transport in plants, *FEBS Letters*, 581, 2247-2254

Arnao M. B., Hernandez-Ruiz J., 2006, The physiological Function of melatonin in plants, *Plant Signaling and Behavior*, 2, 381-382

Arnao M. B., Hernandez-Ruiz J., 2007, Melatonin promotes adventitious and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L., *Journal of Pineal Research*, 42, 147-152

Asada K., 1999, The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 601-639

Ayres D. A. and Hayward H.E., 1948, A method for measuring the effects of soil salinity on seed germination with observations on several crop plants, *Soil Science Society of America*, 13, 224-226

Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K. V., 2003, Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review, *Annals of Botany*, 91, 179-194

Brady N.C., 1990, *The nature and properties of soils*, 10th edition, MacMillan Publishing Co. New York

Buemann B., Dyerberg J., Astrup A., 2002, Alcohol drinking and cardiac risk, *Nutrition Research Reviews*, 15, 91-121

- Chen G., Huo Y., Tan D. X., Liang Z., Zhang W., Zhang Y., 2003, Melatonin in Chinese medicinal herbs, *Life Sciences*, 73, 19-26
- Chong J., Poutaraud A., Hugueney P., 2009, Metabolism and roles of stilbenes in plants, *Plant Science*, 177, 143-155
- Colla G., Roupael Y., Rea E., Cardarelli M., 2012, Grafting cucumber plants enhance tolerance to sodium chloride and sulfate salinization, *Scientia Horticulturae*, 135, 177-185
- Dixon R. A., Steele C. L., 1999, Flavonoids and isoflavonoids-a goldmine for metabolic engineering, *Trends in Plant Science*, 4, 394-400
- Ferreira-Silva S. L., Silva E. N., Carvalho F. E. L., de Lima C. S., Alves F. A. L., Silveira J. A. G., 2010, Physiological alterations modulated by rootstock and scion combination in cashew under salinity, *Scientia Horticulturae*, 127, 39-45
- Flowers T. J., Flowers S. A., 2005, Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders?, *Agricultural Water Management*, 78, 15-24
- Foyer C. H., Noctor G., 2003, Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria, *Physiologia Plantarum*, 119, 355-364
- Greenway H. and Munns R., 1980, Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes, *Annual Review of Physiology*, 31, 149-190
- González-Urena A., Orea J. M., Montero C., Jimenez J. B., 2003, Improving postharvest resistance in fruits by external application of trans-resveratrol, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 82-89
- Hall S., 2003, Longevity research. In vino vitalis? Compounds activate life-extending genes, *Science*, 301, 11-12
- Hernandez-Ruiz J., Arnao M. B., 2008, Distribution of melatonin in different zones of lupin and barley plants at different ages in the presence and absence of light, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 10567-10573

- Hernandez-Ruiz J., Cano A., Arnao M. B., 2004, Melatonin: a growth-stimulating compound present in lupin tissues, *Planta*, 220, 140-144
- Hu Y., Schmidhalter U., 2005, Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168, 541-549
- Iriti M., 2009, Melatonin in grape, not just a myth, may be a panacea, *Journal of Pineal Research*, 46, 353
- Iriti M., Rossoni M., Borgo M., Faoro F., 2004, Benzothiadiazole enhances resveratrol and anthocyanin biosynthesis in grapevine, meanwhile improving resistance to *Botrytis cinerea*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4406-4413
- Kang K., Lee K., Park S., Kim Y. S., Back K., 2010, Enhanced production of melatonin by ectopic overexpression of human serotonin N-acetyltransferase plays a role in cold resistance in transgenic rice seedlings, *Journal of Pineal Research*, 49, 176-182
- Kent L.M. and Lauchli A., 1985, Germination and seedling growth of cotton: salinity-calcium interactions, *Plant, Cell and Environment*, 8, 115-159
- Kim T. H., Bohmer M., Hu H., Nishimura N., Schroeder J. I., 2010, Guard cell signal transduction network advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca²⁺ signaling, *Annual Review of Plant Biology*, 61, 561-591
- Kolar J., Johnson C. H., Machackova I., 2003, Exogenously applied melatonin (N-acetyl-5methoxytryptamine) affects flowering of the short-day plant *Chenopodium rubrum*, *Physiologia Plantarum*, 118, 605-612
- Kolar J., Machackova I., Eder J., Prinsen E., Van Dongen W., Van Onckelen H., Illnerova H., 1997, Melatonin occurrence and daily rhythm in *Chenopodium rubrum*, *Phytochemistry*, 44, 1047-1413
- Kurth E., Jensen A., and Epstein E., 1986, Resistance of fully imbibed tomato seeds to very high salinities, *Plant, Cell and Environment*, 9, 667-676
- Lee J. P., Min B. S., An R. B., Na M. K., Lee S. M., Lee H. K., Kim J. G., Bae K. H., Kang S. S., 2003, Stilbenes from the roots of *Pleuropterus ciliinervis* and their antioxidant activities, *Phytochemistry*, 64, 759-763

- Lee M. H., Cho E. J., Wi S. G., Bae H., Kim J. E., Cho J. Y., Lee S., Kim J. H., Chung B. Y., 2013, Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 325-335
- Lerner A. B., Case J. D., Takahashi Y., 1958, Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes, *Journal of the American Chemical Society*, 80, 2587
- Leyva-Lopez N., Gutiérrez-Grijalva E. P., Vazquez-Olivo G., Heredia J. B., 2017, Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties, *Molecules*, 22, No 989
- Maas E. V. and Hoffman G. J., 1977, Crop and salt tolerance- current assessment, *Journal of the Irrigation and Drainage Division*, 103, 115-134
- Maas E. V., 1996, Crop salt tolerance, In: *Agricultural Salinity Assessment and Management*, American Society of Civil Engineers Manuals and Reports on Engineering Practice No 71, 263-304
- Maas E.V., Hoffman G.J., Chabba G.D., Poss J.A. and Shannon M.C., 1983, Salt sensitivity of corn at various growth stages, *Irrigation Science*, 4, 45-57
- Mancini E., Camele I., Elshafie H. S., De Martino L., Pellegrino C., Grulova D., De Feo V., 2014, Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Origanum vulgare* ssp *hirtum* from different areas in the Southern Apennines (Italy), *Chemistry and Biodiversity*, 11, 639-651
- Mateo A., Mühlenbock P., Rustérucci C., Chi-Chen Chang C., Miszalski Z., Karpinska B., Parker J. E., Mullineaux P. M., Karpinski S., 2004, Lesion simulating disease 1 is required for acclimation to conditions that promote excess excitation energy, *Plant Physiology*, 136, 2818-2830
- Mc Call D., Brazaityte A., 1997, Salinity effects on seedling growth and floral initiation in the tomato, *Acta Agriculturae Scandinavica-Section B Soil and Plant Science*, 47, 248-252

- Mercolini L., Addolorata Saracino M., Bugamelli F., Ferranti A., Malaguti M., Hrelia S., Raggi M. A., 2008, HPLC-F analysis of melatonin and resveratrol isomers in wine using an SPE procedure, *Journal of Separation Science*, 31, 1007-1014
- Miller G., Suzuki N., Sultan Ciftci-Yilmaz S., Mittler R., 2010, Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses, *Plant, Cell and Environment*, 33, 453-467
- Mittler R., 2002, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends in Plant Science*, 7, 405- 410
- Mostajeran A., Gholaminejad A., Asghari G., 2014, Salinity alters curcumin, essential oil and chlorophyll of turmeric (*Curcuma longa* L.), *Research Pharm Science*
- Munns R., Tester M., 2008, Mechanisms of salinity tolerance, *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681
- Noctor G., Arisi A. C. M., Jouanin L., Kunert K. J., Rennerberg H., Foyer C. H., 1998, Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants, *Journal of Experimental Botany*, 49, 623-647
- Pasternak D., 1987, Salt tolerance and crop production- a comprehensive approach, *Annual Review of Phytopathology*, 25, 271-291
- Pasternak D., Twersky M. and De Malach Y., 1979, Salt resistance in agricultural crops, *Stress physiology in crop plants*, H. Mussel and R. C. Staples (eds), John Wiley and Sons Inc. New York, 127-142
- Pitmann M. G. and Lauchli A., 2002, Global impact of salinity and agricultural ecosystems, *Klwer Academic Publishers, Dordrecht*, 3 -20
- Poljakoff-Mayber A., Gale J., 1975, *Plants in Saline Environments*, Springer, Berlin, Heidelberg
- Rodriguez C., Mayo J. C., Sainz R. M., Antolin I., Herrera F., Martin V., Reiter R. J., 2004, Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin, *Journal of Pineal Research*, 36, 1-9

- Rodriguez-Gamir J., Ancillo G., Legaz F., Primo-Millo E., Forner-Giner M. A., 2012, Influence of salinity on pip gene expression in citrus roots and its relationship with root hydraulic conductance, transpiration and chloride exclusion from leaves, *Environmental and Experimental Botany*, 78, 163-166
- Romero-Aranda R., Moya J. L., Tadeo F. R., Legaz F., Primo-Millo E., Talon M., 1998, Physiological and anatomical disturbances induced by chloride salts in sensitive and tolerant citrus: beneficial and detrimental effects of cations, *Plant, Cell and Environment*, 21, 1243-1253
- Rush D. W. and Epstein E., 1981, Breeding and selection for salt tolerance by incorporation of wild germplasm into a domesticated tomato, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 106, 669-670
- Salekdeh G. H., Reynolds M., Bennett J., Boyer J., 2009, Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding, *Trends in Plant Science*, 14, 488-496
- Sarikurkcu C., Zengin G., Oskay M., Uysal S., Ceylan R., Aktumsek A., 2015, Composition, antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils, *Industrial Crops and Products*, 70, 178-184
- Sarropoulou V. N., Therios I. N., Dimassi K. N., 2012, Melatonin promotes adventitious root regeneration in in vitro shoot tip explants of the commercial sweet cherry rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus* L.), Gisela 6 (*P. cerasus* x *P. canescens*) and MxM 60 (*P. avium* x *P. mahaleb*), *Journal of Pineal Research*, 52, 38-46
- Scandalios J. G., 1993, Oxygen stress and superoxide dismutases, *Plant Physiology*, 101, 7-12
- Shannon M.C. and Francois L.E., 1977, Influence of seed pretreatments on salt tolerance of cotton during germination, *Agronomy Journal*, 69, 619-622
- Smith A. M., Stitt M., 2007, Coordination of carbon supply and plant growth, *Plant, Cell and Environment*, 30, 1126-1149
- Soleas G. J., Diamandis E. P., Goldberg D. M., 1997, Resveratrol: A molecule whose time has come? And gone?, *Clinical Biochemistry*, 30, 91-113

Soleas G. J., Diamandis E. P., Goldberg D. M., 1997, Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention, *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 11, 287-313

Taiz L., Zeiger E., 2010, *Plant Physiology*, 5th ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA

Tal O., Haim A., Harel O., Gerchman Y., 2011, Melatonin as an antioxidant and its semi-lunar rhythm in green macroalga *Ulva* sp., *Journal of Experimental Botany*, 62, 1903-1910

Tardieu F., Granier C., Muller B., 2011, Water deficit and growth, Co-ordinating processes without an orchestrator?, *Current Opinion in Plant Biology*, 14, 283-289

Valiollah R., Mahyar G., 2016, Soil salinity effects on phenological traits, plant height and seed yield in rapeseed genotypes, *Soil Science Annual*, 66, 17-20

Vokou D., Kokkini S., Bessiere J. M., 1993, Geographic variation of Greek Oregano (*Oreganum vulgare* ssp *hirtum*) essential oils, *Biochemical Systematics and Ecology*, 21, 287-295

Wyn Jones R. G., 1981, Salt tolerance. Physiological processes limiting plant productivity, C. B. Johnson (ed.), Butterworths, London, 271-292

Xiaohua M., Jian Z., Xule Z., Qingdi H., Renjuan Q., 2017, Salicylic Acid Alleviates the Adverse Effects of Salt Stress on *Dianthus superbis* (Caryophyllaceae) by Activating Photosynthesis, Protecting Morphological Structure, and Enhancing the Antioxidant System, *Front Plant Science*

Yeo A. R., Caporn S. J. M., Flowers S. A., 1985, The effect of salinity upon photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.): gas exchange by individual leaves in relation to their salt content, *Journal of Experimental Botany*, 36, 1240-1248

Yoo C. Y., Pence H. E., Hasegawa P. M., Mickelbart M. V., 2009, Regulation of transpiration to improve crop water use, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 28, 410-431

Zengrong H., Long Z., Dandan C., Mingxiang L., Zhaopu L., Hongbo S., Xiaohua L., 2013, Salt Stress Encourages Proline Accumulation by Regulating Proline Biosynthesis and Degradation in Jerusalem Artichoke Plantlets, *PLOS ONE*

Ελληνική Βιβλιογραφία

Βλάχου, 2011, Επίδραση της αλατότητας στα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά της μπάμιας, μεταπτυχιακή εργασία, 64

Καράταγλης Σ., 1999, Φυσιολογία Φυτών, κεφάλαιο 10

Κωστοπούλου Ζ., 2008, Μελέτη της επίδρασης της αλατότητας στην νερατζιά (*Citrus aurantium*, μεταπτυχιακό, 9-22

Κωστοπούλου Ζ., 2014, Η επίδραση των ενώσεων ασκορβικού οξέος, μελατονίνης, πυριτίου, ρεσβερατρόλης και α-τοκοφερόλης στην αλατότητα των επιδράσεων (*Citrus sp.*, διδακτορικό

Πανοπούλου Χ., 2006, Τα φυτά ως πηγές βιοενεργών ουσιών, Βιοτεχνολογική παραγωγή τους σε μικροοργανισμούς, πτυχιακή εργασία, 7-9

Πετρόπουλος Σ., 2013, Επιδράσεις του βιοτικού και του αβιοτικού περιβάλλοντος στην παραγωγή λαχανικών, 9-52