

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ι. ΣΑΝΙΔΑΣ

ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ
ΣΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ
ΣΤΗΝ ΑΜΠΕΛΟ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2010

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ι. ΣΑΝΙΔΑΣ

**ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ
ΣΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ
ΣΤΗΝ ΑΜΠΕΛΟ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Μανόλης Σταυρακάκης, Καθηγητής, Επιβλέπων

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μανόλης Σταυρακάκης, Καθηγητής

Χαράλαμπος Συμινής, Επίκουρος Καθηγητής

Μιχαήλ Κωμαΐτης, Καθηγητής

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διευθυντή του Εργαστηρίου Αμπελουργίας του Γ.Π.Α., Καθηγητή κύριο Μανόλη Σταυρακάκη, για την ανάθεση του θέματος και τις χρήσιμες συμβουλές του, τον Επίκουρο καθηγητή κύριο Χαράλαμπο Συμινή για την καθοδήγηση σε όλη την πορεία του πειράματος, και τον Καθηγητή κύριο Μιχαήλ Κωμαΐτη για το χρόνο που αφιέρωσε για την αξιολόγηση της εργασίας. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους συναδέλφους Σεραφείμ Θεοχάρη, Αφροδίτη Γεωργιάδη, Αλεξάνδρα Παπαδάκη, Παναγιώτη Τίκο και Σωτήριο Ζερβόπουλο που υπήρξαν συνοδοιπόροι σε όλη τη αυτή την προσπάθεια. Επιπλέον, τους προπτυχιακούς φοιτητές Φρόσω Παπαηλία και Δημήτρη Αυγουστάτο για τη βοήθεια σε μέρος των μετρήσεων. Τέλος, τον θείο μου Χριστόφορο Παπακαμμένο για τη βοήθεια που μου παρείχε στην επιμέλεια του κειμένου, και την οικογένειά μου για την όλη στήριξη στην προσπάθειά μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Summary	6
Περίληψη	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1. Γενικά.....	8
1.2. Φάσματα απορρόφησης και φάσματα δράσης.....	10
1.3. Φωτοσυνθετικές χρωστικές	11
1.3.1 Χλωροφύλλη α και χλωροφύλλη β.....	11
1.3.2 Καροτενοειδή.....	13
1.4. Το φωτοσύστημα I.....	14
1.5. Το φωτοσύστημα II.....	15
1.6. Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.....	16
1.6.1. Φωτοσυνθετικές χρωστικές στη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων.....	16
1.6.2. Μέτρηση της συγκέντρωσης των χρωστικών με το χλωροφυλλόμετρο SPAD	17
1.6.3. Σκοπός της εργασίας.....	18
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	19
2.1. Φωτοσυνθετικές χρωστικές στη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων.....	19
2.2. Μέτρηση της συγκέντρωσης των χρωστικών με το χλωροφυλλόμετρο SPAD	20
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	21
3.1. Σουλτανίνα.....	21
3.2. Cabernet sauvignon.....	24
3.3. Chardonnay	27
3.4. Σαββατιανό	30
3.5. Η χλωροφύλλη α.....	33
3.6. Η χλωροφύλλη β.....	34
3.7. Η ολική χλωροφύλλη.....	35
3.8. Τα Καροτενοειδή	36

3.9. Ο λόγος Χλωροφύλλη α/Χλωροφύλλη β.....	37
3.10. Ο λόγος Ολική χλωροφύλλη/Καροτενοειδή.....	38
3.11. Μέτρηση της συγκέντρωσης των χρωστικών με το χλωροφυλλόμετρο SPAD	39
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	44
4.1. Φωτοσυνθετικές χρωστικές στη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων.....	44
4.2. Μέτρηση της συγκέντρωσης των χρωστικών με το χλωροφυλλόμετρο SPAD	48
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	50
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	52

Summary

In this study, the accumulation of photosynthetic pigments (chlorophylls a & b, carotenoids) was determined during the development of leaves in grapevine cultivars (*V. vinifera* L.) Sultanina, Cabernet sauvignon, Chardonnay, Savvatiano. Main shoots, without topping, with at least one inflorescence and 14 to 17 leaves, were collected at full bloom. The concentrations of pigments were expressed both per leaf weight and leaf surface. The ratios chlorophyll a/chlorophyll b and total chlorophyll/carotenoids were also calculated. The concentrations of pigments per leaf weight were comparable to the concentrations of pigments per leaf surface. A differentiation was presented at the first three leaves from the top of the shoot, which contained more chlorophyll a and b per leaf weight than the leaves of the rest of the shoot. This was most evident in cultivar Sultanina.

Leaves of cultivar Chardonnay had lower concentrations of pigments respectively to other cultivars. As far as it concerns the leaves of the base of the shoots, the highest concentrations were measured for cultivar Cab.sauvignon, and the least for cultivars Chardonnay and Savvatiano. In the middle part of the shoot (between the 4th and 10th node from the top of the shoot), all cultivars had similar concentrations of pigments. Cultivar Sultanina had the highest concentrations of chlorophylls in the three upper leaves. Cultivar Savvatiano had the greatest concentration of carotenoids in the three upper leaves of the shoot, whereas cultivar Cab.sauvignon and Sultanina had no difference as far as it concerns the concentrations of carotenoids in these leaves. Cultivars Cab.sauvignon and Savvatiano had similar concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll in this part of the shoot. Generally, a tendency of a gradual increase of concentrations to a maximum level, and then a decrease was observed. This maximum concentration was measured at leaves 10 to 14 (from the top of the shoot). The age of these leaves was from 35 to 50 days.

Cultivars Savvatiano, Sultanina and Cab.sauvignon exhibited increased chlorophyll a/chlorophyll b ratio in the upper 5 leaves, followed by steady or decreased values, whereas cultivar Chardonnay presented a lower but continuous decrease from the top to the base of the shoot.

The total chlorophyll/carotenoids ratio, for cultivars Sultanina and Cab.sauvignon, had high values at the three upper leaves, and then rapid decrease and stabilization of values. The same ratio, for cultivars Chardonnay and Savvatiano, presented an increase until the 7th to 10th leaf, and then decrease. In conclusion, chlorophyll a exhibited maximum concentrations at full developed leaves (35 to 50 days), whereas chlorophyll b had high concentrations not only at fully developed leaves, but also at young leaves (until 15 days). Although carotenoids exhibited the same progress as chlorophylls, the range of their values was narrower.

Furthermore, for cultivars Sultanina, Cab.sauvignon, Savvatiano and Sauvignon blanc, SPAD values were correlated with the measured concentrations of photosynthetic pigments of leaves. The slopes of linear regression for each pigment and for every cultivar were calculated, as well as for every pigment independently of cultivar. Additionally, for all cases, the square of correlation coefficient (r^2) was calculated. The value of r^2 was 0,85 for chlorophyll a, 0,61 for chlorophyll b, 0,81 for total chlorophyll and 0,7 for carotenoids.

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η συσσώρευση των φωτοσυνθετικών χρωστικών (χλωροφύλλες α και β, καροτενοειδή) στη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων στις ποικιλίες αμπέλου (*V. vinifera* L.) Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Chardonnay, Σαββατιανό. Η δειγματοληψία έγινε στη φάση της άνθησης. Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων των χρωστικών έγινε τόσο ανά μονάδα νωπού βάρους όσο και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Επίσης, υπολογίστηκαν οι λόγοι χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β και ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή. Οι συγκεντρώσεις των χρωστικών ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου ήταν ανάλογες με αυτές ανά μονάδα επιφάνειας. Διαφοροποίηση παρουσιάστηκε μόνο στα τρία πρώτα φύλλα της κορυφής των βλαστών σε όλες τις ποικιλίες, τα οποία περιείχαν περισσότερη χλωροφύλλη α και β ανά μονάδα νωπού βάρους σε σχέση με τα άλλα φύλλα. Αυτό ήταν πιο έντονο στην ποικιλία Σουλτανίνα.

Η ποικιλία Chardonnay είχε τις μικρότερες συγκεντρώσεις χρωστικών σε όλα τα φύλλα των βλαστών. Στα φύλλα της βάσης των βλαστών, οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις χρωστικών μετρήθηκαν στην ποικιλία Cabernet sauvignon. Στα φύλλα του μεσαίου τμήματος του βλαστού (4^{ος} ως 10^{ος} κόμβος από την κορυφή του βλαστού), όλες οι ποικιλίες είχαν τις ίδιες συγκεντρώσεις χρωστικών. Στα τρία πρώτα φύλλα της κορυφής των βλαστών, η μεγαλύτερη συγκέντρωση χλωροφυλλών μετρήθηκε στην ποικιλία Σουλτανίνα. Η ποικιλία Σαββατιανό είχε τη μεγαλύτερη συγκέντρωση καροτενοειδών στα τρία πρώτα φύλλα της κορυφής, ενώ στις ποικιλίες Cabernet sauvignon και Σουλτανίνα η συγκέντρωση των καροτενοειδών δεν διέφερε στα φύλλα αυτά. Γενικά, παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης των συγκεντρώσεων ως μία μέγιστη τιμή και μετά μείωση. Η μέγιστη συγκέντρωση χρωστικών παρατηρήθηκε στα φύλλα 10 ως 14 (από την κορυφή του βλαστού). Τα φύλλα αυτά είχαν ηλικία 35 ως 50 ημερών.

Ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β, στις ποικιλίες Σαββατιανό, Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon σημείωσε αύξηση από την κορυφή του βλαστού ως το 5^ο φύλλο και μετά σταθεροποίηση ή μείωση, ενώ στην ποικιλία Chardonnay εμφάνισε μικρή αλλά συνεχή μείωση από την κορυφή ως τη βάση του βλαστού. Ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή, στις ποικιλίες Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon είχε υψηλές τιμές στα τρία πρώτα φύλλα της κορυφής, και μετά απότομη μείωση και σταθεροποίηση των τιμών. Στις ποικιλίες Chardonnay και Σαββατιανό ο λόγος παρουσίασε αύξηση μέχρι το 7^ο ως 10^ο φύλλο, και μετά μείωση. Γενικά, η χλωροφύλλη α εμφάνισε μέγιστα συγκεντρώσεων στα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα (35 ως 50 ημερών), ενώ η χλωροφύλλη β εμφανίστηκε αυξημένη τόσο στα νέα (ως 15 ημερών) όσο και στα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα. Τα καροτενοειδή, αν και ακολούθησαν παρόμοια πορεία με τις χλωροφύλλες, κυμάνθηκαν σε μικρότερο εύρος τιμών συγκεντρώσεων.

Επίσης, έγινε συσχέτιση των τιμών SPAD με τις μετρηθείσες συγκεντρώσεις των φωτοσυνθετικών χρωστικών των φύλλων στις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Σαββατιανό, Sauvignon blanc. Υπολογίστηκαν οι κλίσεις των ευθειών γραμμικής παλινδρόμησης για κάθε χρωστική ανά ποικιλία, αλλά και ανεξαρτήτως ποικιλίας, καθώς και οι συντελεστές προσδιορισμού (r^2). Οι τιμές του r^2 ήταν 0,85 για τη χλωροφύλλη α, 0,61 για τη χλωροφύλλη β, 0,81 για την ολική χλωροφύλλη και 0,7 για τα καροτενοειδή.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Γενικά για τη φωτοσύνθεση

Ως φωτοσύνθεση ορίζεται η μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε χημική ενέργεια των μορίων των οργανισμών. Η φωτοσύνθεση παρέχει τη δυνατότητα, στους οργανισμούς που την επιτελούν (βακτήρια, φύκη, φυτά), να χρησιμοποιούν το CO₂ και το H₂O, και να βιοσυνθέτουν, με τη βοήθεια της ηλιακής ενέργειας, υδατάνθρακες, εκλύοντας ταυτόχρονα O₂ προς την ατμόσφαιρα. Η φωτοσύνθεση στα φυτά χωρίζεται σε δύο φάσεις: α) Στις φωτεινές αντιδράσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν την απορρόφηση του φωτός, τη μεταφορά της ενέργειας στα κέντρα αντίδρασης και τις αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων και πρωτονίων οι οποίες οδηγούν στην παραγωγή NADPH και ATP β) Στις σκοτεινές αντιδράσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν την αναγωγή του CO₂ και τη σύνθεση υδατανθράκων, χρησιμοποιώντας το NADPH και το ATP που παράγονται κατά τις φωτεινές αντιδράσεις (Γαλάτης κ.ά., 2003).

Ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός των φυτών εντοπίζεται στους χλωροπλάστες των κυττάρων. Ο χλωροπλάστης περιβάλλεται από τον πλαστιδιακό φάκελο. Στο εσωτερικό του χλωροπλάστη υπάρχει το στρώμα, στο οποίο υπάρχουν συστήματα ελασματοειδών μεμβρανών, τα θυλακοειδή. Εκεί, η ενέργεια του φωτός χρησιμοποιείται για την οξείδωση του νερού και τον σχηματισμό των πλούσιων σε ενέργεια ενώσεων ATP και NADPH. Σε μερικές περιοχές του στρώματος, οι θυλακοειδείς μεμβράνες διατάσσονται σε πυκνές διατάξεις, τα grana. Οι περιοχές όπου τα grana εφάπτονται μεταξύ τους λέγονται περιοχές επαφής, ενώ οι υπόλοιπες περιοχές λέγονται ελεύθερες. Στα θυλακοειδή λαμβάνουν χώρα οι φωτεινές αντιδράσεις, ενώ στο στρώμα διαδραματίζονται οι σκοτεινές αντιδράσεις. Στις μεμβράνες των θυλακοειδών υπάρχουν οι φωτοσυνθετικές χρωστικές (χλωροφύλλες α και β, καροτενοειδή) (Ελευθερίου, 2007).

Ως φωτοσυνθετική μονάδα ορίζεται μια ομάδα χρωστικών και πρωτεϊνών, οργανωμένων σε σύμπλοκα, που συμμετέχουν στη μετατροπή της ενέργειας των φωτονίων σε χημική ενέργεια. Σήμερα, είναι γνωστό ότι η φωτοσυνθετική μονάδα αποτελείται από τρία σύμπλοκα: το φωτοσύστημα I, το φωτοσύστημα II και το σύμπλοκο κυτοχρωμάτων. Συνέχεια της φωτοσυνθετικής μονάδας είναι η συνθετάση του ATP. Κάθε φωτοσύστημα αποτελείται από δύο διακριτά λειτουργικά ενζυμικά σύμπλοκα: το σύμπλοκο συλλογής φωτός και τον πυρήνα, ο οποίος περιέχει το κέντρο αντίδρασης (Γαλάτης κ.ά., 2003).

Υπάρχουν διαφορετικές απόψεις σχετικά με το μέγεθος της φωτοσυνθετικής μονάδας. Οι Mauzerall & Greenbaum (1989), σε εκτενή αναφορά τους, παραθέτουν στοιχεία της βιβλιογραφίας με τα οποία δείχνουν πως το μέγεθος της φωτοσυνθετικής μονάδας μπορεί να είναι διαφορετικό, ανάλογα με το είδος του φυτού, την ηλικία του φύλλου, τις συνθήκες ανάπτυξης, αλλά και τον τρόπο μέτρησης. Το σίγουρο πάντως είναι ότι το μέγεθος μιας φωτοσυνθετικής μονάδας δε μπορεί να είναι απεριόριστο, καθώς πέρα από ένα όριο αριθμού χλωροφυλλών όχι μόνο μειώνεται η

αποτελεσματικότητα μεταφοράς των απορροφούμενων φωτονίων, αλλά επίσης η φωτοσυνθετική μονάδα γίνεται δομικά ασταθής. Η μεγαλύτερη φωτοσυνθετική μονάδα που έχει βρεθεί πειραματικά είναι στο φύκος *Chlorella* (Ley, 1986) και αποτελείται από περίπου 400 μόρια χλωροφυλλών. Οι περισσότεροι πάντως συγκλίνουν στην άποψη ότι κάθε φωτοσυνθετική μονάδα αποτελείται περίπου από 100 ως 300 μόρια χλωροφυλλών.

Πίνακας 1. Ποσοστιαία κατανομή των χλωροφυλλών στα φωτοσυστήματα I και II και τις υπομονάδες τους (Peter & Thornber, 1991).

	Χλωροφύλλη α (Ποσοστό επί της ολικής χλωροφύλλης)	Χλωροφύλλη β (Ποσοστό επί της ολικής χλωροφύλλης)	Χλωροφύλλη α (Ποσοστό επί της συνολικής χλωροφύλλης α)	Χλωροφύλλη β (Ποσοστό επί της συνολικής χλωροφύλλης β)	α/β	Ολική χλωροφύλλη
Φωτοσύστημα I	32,6	5,4	44	21	6	38
Πυρήνας φωτοσυστήματος I	20	X	27	X	μόνο α	20
Αντέννα φωτοσυλλογής φωτοσυστήματος I	12,6	5,4	17	21	2,4	18
Φωτοσύστημα II	41,4	21	55	79	2	62
Πυρήνας φωτοσυστήματος II	11	X	15	X	μόνο α	11
Αντέννα φωτοσυλλογής φωτοσυστήματος II	29	21	40	79	1,3	51
Φωτοσύστημα I + Φωτοσύστημα II	74	26	100	100	2,8	100

Για την ολοκλήρωση των φωτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης, τα δύο φωτοσυστήματα λειτουργούν και συνεργάζονται μεταξύ τους. Ο φωτοσυλλεκτικός μηχανισμός απαρτίζεται από πολυάριθμα σύμπλοκα πρωτεϊνών-βοηθητικών φωτοσυνθετικών χρωστικών. Ο πυρήνας του φωτοσυστήματος αποτελείται από το κέντρο αντίδρασης και από μερικά στενά συνδεδεμένα με αυτό σύμπλοκα χρωστικών-πρωτεϊνών. Υπάρχουν δηλαδή σε αυτό αρκετά μόρια χρωστικών, πάντα όμως λιγότερα από αυτά των αντέννων. Τα κέντρα αντίδρασης των φωτοσυστημάτων I και II ονομάζονται P₇₀₀ και P₆₈₀ αντίστοιχα, από τα μέγιστα απορρόφησης που παρουσιάζουν (Gregory, 1989).

Στον πίνακα 1 δίνεται μια ενδεικτική εικόνα της κατανομής των χλωροφυλλών στα φωτοσυστήματα και τα μέρη αυτών (αντέννες φωτοσυλλογής και πυρήνες) (Peter & Thornber, 1991). Ως προς τα καροτενοειδή, το 30% αυτών είναι καροτένια (α και β) και στην συντριπτική τους πλειοψηφία βρίσκονται στον πυρήνα των φωτοσυστημάτων. Το 70% περίπου είναι ξανθοφύλλες, και κατά κύριο λόγο εδράζονται στις αντέννες φωτοσυλλογής (Lichtenthaler et al., 1982).

Οι βοηθητικές φωτοσυνθετικές χρωστικές απορροφούν φωτόνια, διεγείρονται και μεταφέρουν τη διέγερση προς το κέντρο αντίδρασης. Η μετάδοση της διέγερσης γίνεται μεταξύ γειτονικών μορίων χρωστικών, και οδεύει από τις χρωστικές που απορροφούν σε μικρότερα μήκη κύματος, προς εκείνες τις οποίες απορροφούν σε μεγαλύτερα μήκη κύματος (καροτενοειδή → χλωροφύλλη β → χλωροφύλλη α → κέντρο αντίδρασης) (Junge, 1977; Kumar & Singh, 1979).

Όταν ένα φωτόνιο απορροφάται από το φωτοσυλλεκτικό μηχανισμό του φωτοσυστήματος II, ένα μόριο χλωροφύλλης α του ενεργού κέντρου διεγείρεται και προκαλείται διαχωρισμός φορτίου με αποτέλεσμα ένα ηλεκτρόνιο να μεταφέρεται σε ένα διπλανό μόριο. Το ηλεκτρόνιο αυτό αναπληρώνεται μέσω της φωτόλυσης του νερού, επομένως το νερό αποτελεί τον πρωταρχικό δότη ηλεκτρονίων στην όλη διαδικασία. Τα ηλεκτρόνια από το φωτοσύστημα II μεταφέρονται μέσω οξειδώσεων και αναγωγών των ενδιάμεσων φορέων προς το ενεργό κέντρο του φωτοσυστήματος I. Ο σημαντικότερος ενδιάμεσος φορέας είναι το σύμπλοκο των κυτοχρωμάτων. Στο φωτοσύστημα I η διαδικασία επαναλαμβάνεται, η απορρόφηση ενός φωτονίου από τις χρωστικές της αντέννας του φωτοσυστήματος I προκαλεί διέγερση και διαχωρισμό φορτίου στο ενεργό κέντρο (P_{700}). Ένα ηλεκτρόνιο αποσπάται από το μόριο του P_{700} , το οποίο μέσω μιας αλυσίδας ενδιάμεσων φορέων ανάγει τον τελικό αποδέκτη, δηλαδή το NADP. Παράλληλα, η ροή των ηλεκτρονίων διαμέσου των ενδιάμεσων φορέων προκαλεί διαφορά στη συγκέντρωση των πρωτονίων (pH) μεταξύ της εσωτερικής κοιλότητας των θυλακοειδών και του στρώματος, η οποία μπορεί να αξιοποιηθεί για την σύνθεση ATP. Το ATP και το NADPH που παράγονται, απελευθερώνονται στην περιοχή του στρώματος ώστε να χρησιμοποιηθούν για τη σύνθεση υδατανθράκων κατά τις σκοτεινές αντιδράσεις (Αϊβαλάκις κ.ά., 2005).

1.2. Φάσματα απορρόφησης και φάσματα δράσης

Σε βιολογικές διαδικασίες στις οποίες εμπλέκονται φωτοχημικές αντιδράσεις, είναι σημαντικό να γνωρίζουμε το φάσμα απορρόφησης της χρωστικής που απορροφά φωτόνια και το φάσμα δράσης της συγκεκριμένης διαδικασίας. Το φάσμα απορρόφησης είναι η γραφική παράσταση που προκύπτει όταν στον άξονα των χ θέσουμε τις τιμές των μηκών κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και στον άξονα των ψ τις τιμές της απορρόφησης ενός διαλύματος μιας συγκεκριμένης χρωστικής (εικ.1). Το φάσμα απορρόφησης κάθε υλικού αποτελεί μια

ποσοτική περιγραφή της ικανότητάς του να απορροφά σε μια περιοχή μηκών κύματος του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, συνεπώς σχετίζεται πολύ στενά με τη μοριακή δομή του υλικού. Λόγω της στενής συσχέτισής τους με τη μοριακή δομή, τα φάσματα απορρόφησης είναι χαρακτηριστικά για κάθε υλικό και γι' αυτό το λόγο στην πράξη χρησιμοποιούνται ως ταυτότητες αναγνώρισης ουσιών ή ομάδων ουσιών (Αϊβαλάκις κ.ά., 2005).

1.3. Φωτοσυνθετικές χρωστικές

1.3.1. Χλωροφύλλη α και χλωροφύλλη β

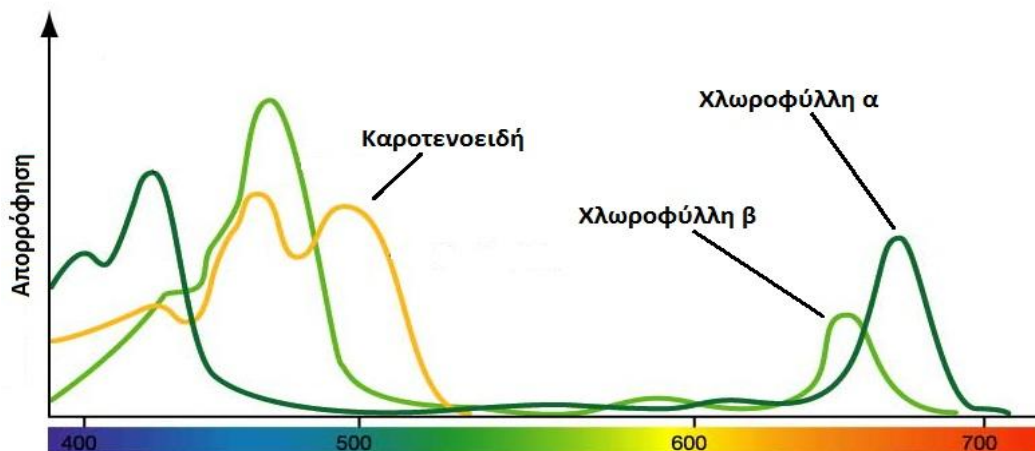
Το μόριο των χλωροφυλλών είναι παράγωγο της πρωτοπορφυρίνης. Η πορφυρίνη αποτελείται από έναν τετραπυρρολικό δακτύλιο, όπου τα άτομα αζώτου των πυρρολικών δακτυλίων των χλωροφυλλών συνδέονται με ένα άτομο Mg (εικ.2). Διαθέτουν έναν επιπλέον πενταγωνικό δακτύλιο (κυκλοπεντανόνη), συνδεδεμένο με έναν από τους τέσσερις πυρρολικούς δακτυλίους. Επίσης, ένα μόριο προπιονικού οξέος είναι εστεροποιημένο με ένα μόριο φυτόλης. Το πορφυρινικό μέρος είναι υδρόφιλο, και αλληλεπιδρά με τις πρωτεΐνες. Η φυτόλη είναι υδρόφοβη αλκοόλη με 20 άτομα άνθρακα και καθιστά το μόριο της χλωροφύλλης αδιάλυτο στο νερό, ενώ με τη βύθισή της μέσα στη λιπιδιακή διπλοστοιβάδα των θυλακοειδών, βοηθά στη σταθεροποίηση του μορίου εντός αυτών.

Αν και οι δύο χλωροφύλλες απορροφούν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή του κυανού (425-490nm) και στην περιοχή του ερυθρού (650-700nm), τα φάσματα απορρόφησης τους είναι αρκετά διαφορετικά: Η χλωροφύλλη α δεν δεσμεύει ακτινοβολία μήκους κύματος 460nm, ενώ η χλωροφύλλη β απορροφά το μέγιστο δυνατό αριθμό φωτονίων αυτού του μήκους κύματος (εικ.1). Η συμπεριφορά αυτή αποδίδεται στο ότι η μεθυλομάδα ενός πυρρολικού δακτυλίου της χλωροφύλλης α αντικαθίσταται από μια αλδεϋδομάδα στη χλωροφύλλη β. Τα φωτοσυνθετικά τμήματα των φυτών είναι πράσινα γιατί οι χλωροφύλλες δεν απορροφούν ακτινοβολία στην περιοχή του πρασίνου (500-600nm).

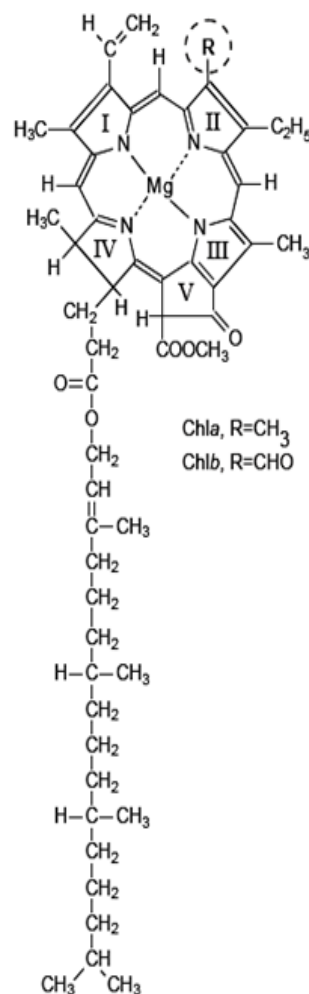
Οι δύο χλωροφύλλες είναι συστατικά των φωτοσυνθετικών μεμβρανών και υπάρχουν σε αυτές σε αναλογία α:β περίπου 3:1 (Seybold & Egle, 1970; Licthenthaler et al., 1981). Ωστόσο, οι συνθήκες ανάπτυξης του φυτού μπορεί να μεταβάλλουν το λόγο α/β. Φυτά που αναπτύσσονται σε υψηλές εντάσεις φωτός εμφανίζουν λόγο α/β από 3,2 ως 4, ενώ φυτά που σκιάζονται έχουν τιμές από 2,5 ως 2,9 (Licthenthaler, 1977; Willstatter & Stoll, 1913; Seybold & Egle, 1970; Licthenthaler et al., 1981).

Για τη βιοσύνθεση των χλωροφυλλών, αρχικά, το γλουταμικό οξύ μετατρέπεται σε αμινολεβουλινικό οξύ. Ακολουθεί ένωση δύο μορίων αμινολεβουλινικού οξέος και σχηματισμός μίας πυρρόλης. Η ένωση τεσσάρων πυρρολών έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία της πρώτης τετραπυρρόλης (πρωτοπορφυρίνη IX). Στη συνέχεια, εισέρχεται Mg^{2+} στην τετραπυρρόλη και

σχηματίζεται το πρωτοχλωροφυλλίδιο. Παρουσία φωτός, το πρωτοχλωροφυλλίδιο μετατρέπεται σε χλωροφυλλίδιο. Ακολούθως, η προσθήκη της φυτόλης στον πυρρολικό δακτύλιο οδηγεί στον σχηματισμό της χλωροφύλλης α. Με μετατροπή ενός μεθυλίου του δακτυλίου σε αλδεΐδη, προκύπτει η χλωροφύλλη β (Γαλάτης κ.ά., 2003).



Εικόνα 1. Φάσματα απορρόφησης των φωτοσυνθετικών χρωστικών χλωροφύλλης α, χλωροφύλλης β και καροτενοειδών.



Εικόνα 2. Τα μόρια της χλωροφύλλης α και της χλωροφύλλης β.

1.3.2. Καροτενοειδή

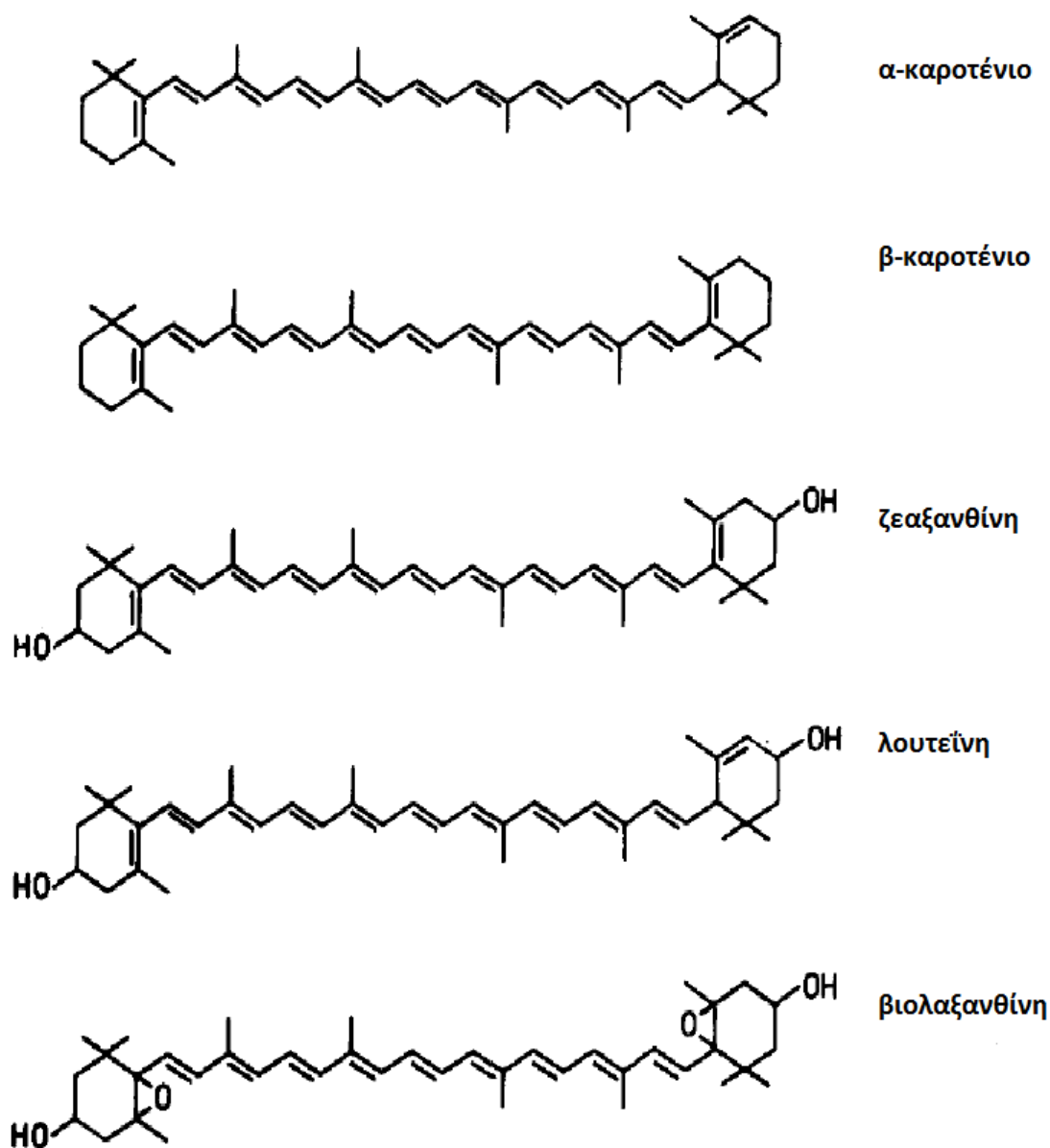
Τα καροτενοειδή είναι υδρόφοβες, λιποδιαλυτές, βοηθητικές φωτοσυνθετικές χρωστικές, που απαντώνται σε όλους τους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς. Αφθονούν στους χλωροπλάστες, όπου, λόγω του λιπόφιλου χαρακτήρα τους, βυθίζονται στις μεμβράνες των θυλακοειδών. Τα καροτενοειδή είναι επίσης οι κύριες χρωστικές των χρωμοπλαστών. Απορροφούν ακτινοβολία στην περιοχή του κυανού (400-500nm) και δεν απορροφούν καθόλου στο ερυθρό, γι' αυτό άλλωστε εμφανίζουν χρώματα όπως κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, το καθένα ανάλογα με τη μοριακή του δομή (εικ.1). Το χρώμα τους στα φύλλα επικαλύπτεται από τις πολύ πιο άφθονες χλωροφύλλες, όμως εμφανίζονται το φθινόπωρο, όταν αποδιοργανώνονται οι χλωροφύλλες. Είναι υδρογονάνθρακες μοριακού τύπου $C_{40}H_{56}$ (τετρατερπένια). Διακρίνονται σε καροτένια (α και β καροτένιο, λυκοπένιο), τα οποία είναι καθαρά τερπενοειδή, και τις ξανθοφύλλες (λουτεΐνη, βιολαξανθίνη, ζεαξανθίνη, ανθεραξανθίνη, νεοξανθίνη), οι οποίες είναι υδροξυλιωμένες-εποξειδωμένες μορφές τερπενοειδών (εικ.3) (Γαλάτης κ.ά., 2003).

Η βιοσύνθεσή τους ξεκινά από το ακέτυλο συνένζυμο Α. Το πρώτο κύριο τερπενοειδές στη βιοσύνθεσή τους είναι το 15-cis-φυτοένιο, το οποίο, έπειτα από σειρά οξειδώσεων, σχηματίζει το λυκοπένιο. Από εδώ και πέρα, η βιοσυνθετική οδός διακλαδίζεται. Το μονοκυκλικό γ -καροτένιο αποτελεί ενδιάμεσο του β -καροτενίου, αλλά και των ξανθοφυλλών ζεαξανθίνη, ανθεραξανθίνη, βιολαξανθίνη και νεοξανθίνη. Το μονοκυκλικό δ -καροτένιο αποτελεί ενδιάμεσο του α -καροτενίου και των αντίστοιχων ξανθοφυλλών, της λουτεΐνης και του εποξειδίου της λουτεΐνης. Στα καροτενοειδή οφείλεται το βαθύ κίτρινο χρώμα (Neuburger & Scott, 1953) του πλαστιδιακού φακέλου του χλωροπλάστη, ο οποίος δεν περιέχει χλωροφύλλες (Mackender & Leech, 1970; Douce et al., 1973; Poincelot, 1973). Οι Jeffrey et al. (1974) εξέφρασαν την άποψη ότι ο ρόλος των καροτενοειδών του πλαστιδιακού φακέλου είναι η προστασία των χλωροφυλλών των θυλακοειδών από τις υψηλές εντάσεις φωτός, ενώ ο Krinsky (1971) πρόσθεσε πως ίσως βοηθούν και στην σταθεροποίηση των πρωτεϊνών επί του φακέλου. Ο Sieffermans-Harms (1978) και οι Costes et al. (1979) υπέθεσαν ότι ίσως ο πλαστιδιακός φάκελος να αποτελεί και τη θέση σύνθεσης των καροτενοειδών.

Τα καροτενοειδή ουσιαστικά στους χλωροπλάστες έχουν διπλό βιολογικό ρόλο:

α) Απορροφούν σε μήκη κύματος που διαφεύγουν από τις χλωροφύλλες και μεταβιβάζουν την ενέργεια στα κέντρα αντίδρασης, διευρύνοντας έτσι το φάσμα του ηλιακού φωτός που αξιοποιείται στην φωτοσύνθεση β) Προστατεύουν τις χλωροφύλλες από φωτοοξειδωτική βλάβη σε συνθήκες υψηλής έντασης φωτός. Πιο συγκεκριμένα, στο φωτοσύστημα II, τα μόρια β -καροτενίου τα οποία υπάρχουν στο κέντρο αντίδρασης αποσβένουν την τριπλή κατάσταση της χλωροφύλλης στο P_{680} η οποία οδηγεί στη δημιουργία ενεργών ριζών οξυγόνου, που είναι καταστροφικές για τους χλωροπλάστες. Ανάλογη λειτουργία επιτελείται και στις αντέννες φωτοσυλλογής, όπου λαμβάνει

χώρα ο κύκλος των ξανθοφυλλών. Σε περίσσεια φωτός, η βιολαξανθίνη του φωτοσυλλεκτικού μηχανισμού μετατρέπεται σε ζεαξανθίνη, η οποία δεν περιέχει αρκετή ενέργεια για να δημιουργήσει ρίζες ενεργού οξυγόνου, ενώ το επιπλέον φως αποβάλλεται ως θερμότητα. Οι Steel & Keller (2000) αναφέρουν πως στα φύλλα της αμπέλου, και συγκεκριμένα της ποικιλίας Riesling, οι ξανθοφύλλες και τα καροτένια βρίσκονται σε μια αναλογία 4:1. Πιο ειδικά, το ποσοστό επί των ολικών καροτενοειδών είναι για τη λουτεΐνη 38%, τη νεοξανθίνη 13%, το άθροισμα ανθεραξανθίνη, ζεαξανθίνη και βιολαξανθίνη 28% και για το β-καροτένιο 21%.



Εικόνα 3. Τα μόρια των κυριοτέρων καροτενίων και ξανθοφυλλών.

1.4. Το φωτοσύστημα I

Το φωτοσύστημα I περιέχει περίπου το 38% της ολικής χλωροφύλλης. Ο πυρήνας του φωτοσυστήματος I περιέχει β-καροτένιο, χλωροφύλλη α και ίσως μικρές ποσότητες α-καροτενίου (Pessarakli, 1997). Ο φωτοσυλλεκτικός μηχανισμός περιέχει περίπου 80-120 μόρια χλωροφυλλών.

Το φωτοσύστημα I έχει μια αναλογία χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β περίπου ίση με 6 ενώ το φωτοσύστημα II περίπου 2 (Pessaraki, 1997). Στις αντένες φωτοσυλλογής, τόσο του φωτοσυστήματος I όσο και του φωτοσυστήματος II, σχεδόν απουσιάζουν τα καροτένια, ενώ εδράζονται ως επί το πλείστον μόρια ξανθοφυλλών, όπως λουτεΐνη, νεοξανθίνη, βιολαξανθίνη.

Το φωτοσύστημα I και η συνθετάση του ATP εντοπίζονται σχεδόν αποκλειστικά στα θυλακοειδή του στρώματος και τις ελεύθερες περιοχές των grana. Αντίθετα, το φωτοσύστημα II αφθονεί στις περιοχές επαφής των grana και σπανίζει στις ελεύθερες περιοχές. Το σύμπλοκο κυτοχρωμάτων απαντάται σε όλες τις περιοχές. Ο διαχωρισμός αυτός έχει φυσιολογική σημασία. Η επαφή του φωτοσυστήματος I με το στρώμα διευκολύνει την αναγωγή του NADP σε NADPH. Παρομοίως, στην ίδια περιοχή, η συνθετάση του ATP έχει πρόσβαση στο ADP του στρώματος, το οποίο φωσφορυλιώνει σε ATP.

Συνεπώς, οι χλωροπλάστες οι οποίοι φέρουν θυλακοειδή χωρίς ή με λίγα grana έχουν αυξημένη παραγωγή NADPH και ATP, χωρίς απελευθέρωση οξυγόνου. Στα θυλακοειδή των grana, όπου κυριαρχεί το φωτοσύστημα II, απελευθερώνεται οξυγόνο από την οξειδωση του νερού, ενώ παράλληλα ενισχύεται το ηλεκτροχημικό δυναμικό για την παραγωγή στη συνέχεια ATP. Η σχέση μη αθροισμένα θυλακοειδή προς grana μπορεί να μεταβάλλεται και να επηρεάζει τη σχέση φωτοσύστημα I/φωτοσύστημα II, επομένως και την αναλογία των παραγόμενων NADPH και ATP, ανάλογα με τις ανάγκες του κυττάρου (Ελευθερίου, 2007).

1.5. Το φωτοσύστημα II

Το φωτοσύστημα II περιέχει περίπου το 60% της ολικής χλωροφύλλης του φύλλου (Ghirardi et al., 1986; Hall & Rao, 1999). Όπως και στο φωτοσύστημα I, το κέντρο αντίδρασης του φωτοσυστήματος II περιέχει μόνο β-καροτένιο, ενώ επίσης περιέχει φαιοφυτίνη και χλωροφύλλη α. Από τα περίπου 250 μόρια χλωροφυλλών που αντιστοιχούν σε κάθε P₆₈₀ του φωτοσυστήματος II, το 50% ως 80% βρίσκεται στην αντένα φωτοσυλλογής (Γαλάτης κ.ά, 2003; Ghirardi et al., 1986; Hall & Rao, 1999). Η αντένα του φωτοσυστήματος II είναι η κύρια αντένα των χλωροπλαστών και περιέχει σχεδόν όλη τη χλωροφύλλη β (Gregory, 1989; Genge et al., 1974; Alberte & Thornber, 1974; Brown et al., 1975; Boardman et al., 1978).

Συνήθως, το σύμπλοκο του φωτοσυστήματος II υπερέχει αριθμητικά του φωτοσυστήματος I, με λόγο 60:40, η αναλογία όμως αυτή μπορεί να αλλάξει κάτω από διαφορετικές συνθήκες φωτός (Peter & Thornber, 1991; Vainstein et al., 1989). Σε σκιαζόμενα φύλλα, υπάρχει μεγαλύτερη αναλογία φωτοσύστημα II/φωτοσύστημα I, η οποία συνήθως αντικατοπτρίζεται στην παρουσία περισσότερων grana, και στη μεγαλύτερη αναλογία περιοχές επαφής/ελεύθερες περιοχές των θυλακοειδών. Αυτή η αυξημένη περιεκτικότητα σε σύμπλοκα του φωτοσυστήματος II σχετίζεται με τον εμπλουτισμό του φωτός, που φτάνει στο σκιαζόμενο περιβάλλον, σε μήκη κύματος που αντιστοιχούν στο βαθύ ερυθρό. Το βαθύ ερυθρό θα διεγείρει περισσότερο το φωτοσύστημα I, το

οποίο θα αποβάλλει με μεγαλύτερη ταχύτητα τα διεγερμένα ηλεκτρόνια. Για την ομαλή όμως λειτουργία της μη κυκλικής ροής ηλεκτρονίων, θα πρέπει τα δύο φωτοσυστήματα να διεγείρονται εξίσου. Δημιουργείται, επομένως, η ανάγκη μιας αυξημένης απορρόφησης στο σύμπλοκο του φωτοσυστήματος II στα σκιαζόμενα περιβάλλοντα, η οποία εξασφαλίζεται συνήθως με την αύξηση του μεγέθους των αντένων φωτοσυλλογής (Ridge, 2005; Björkman & Holmgren, 1963; Lichtenthaler et al., 1982; Leong & Anderson, 1983).

1.6. Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας

1.6.1. Φωτοσυνθετικές χρωστικές στη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων

Οι συγκεντρώσεις των φωτοσυνθετικών χρωστικών στα φύλλα διαμορφώνονται από μια συνεχή διαδικασία σύνθεσης και αποδόμησης αυτών. Στα πρώτα στάδια ανάπτυξης του φύλλου, κυριαρχούν οι διεργασίες σύνθεσης, ενώ αργότερα υπερτερούν οι αντιδράσεις αποσύνθεσης. Γενικά, οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή αυξάνουν στη διάρκεια της αύξησης του φύλλου ως μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης, και μετά μειώνονται. Η έκταση και η ταχύτητα των αλλαγών εξαρτάται από τη μονάδα μέτρησης, το είδος του φυτού, την ποικιλία, και άλλους παράγοντες. Τα πρώτα φύλλα που σχηματίζονται, αναπτύσσουν μικρότερες τελικές διαστάσεις και επιτυγχάνουν μικρότερες μέγιστες τιμές συγκεντρώσεων χρωστικών, σε σχέση με αυτά που εκπτύσσονται αργότερα. Επίσης, τα τελευταία, χρονικά, φύλλα ενός φυτού, δεν προλαβαίνουν να αποκτήσουν μεγάλες διαστάσεις και να συσσωρεύσουν πολλές φωτοσυνθετικές χρωστικές (Pessaraki, 1997).

Η μέγιστη τιμή συγκέντρωσης χλωροφύλλης, εκφρασμένη στη μονάδα νωπού βάρους, ξηρού βάρους, και στη μονάδα επιφάνειας, μπορεί να επιτευχθεί είτε πριν το φύλλο αποκτήσει τη μέγιστη επιφάνεια (Bozarth et al., 1982; Somersalo & Aro, 1987), είτε στο πλήρως ανεπτυγμένο φύλλο (Kamachi et al., 1991; Sobrado, 1992), είτε αργότερα (Ram et al., 1994). Η αύξηση της συγκέντρωσης χλωροφύλλης (ανά μονάδα επιφάνειας) μπορεί να είναι πιο αργή (Xu et al., 1993) ή πιο γρήγορη (Ram et al., 1994) απ'ότι η μείωσή της κατά τη γήρανση του φύλλου. Επίσης, έχουν παρατηρηθεί και δύο μέγιστα συγκέντρωσης της χλωροφύλλης (ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου) κατά τη διάρκεια της ζωής του φύλλου.

Στην άμπελο, έχει παρατηρηθεί ότι η μέγιστη συγκέντρωση ολικής χλωροφύλλης, χλωροφύλλης α, χλωροφύλλης β, και ο μέγιστος λόγος α/β σημειώθηκε σε φύλλα του μεσαίου τμήματος του βλαστού, τα οποία είχαν ηλικία περίπου 50 ημερών (Bertamini & Nedunchezian, 2002). Αντίθετα, σε είδη του γένους *Nicotiana*, η μέγιστη συγκέντρωση χλωροφύλλης ανά μονάδα επιφάνειας απαντά στα κορυφαία φύλλα κατά το μεγαλύτερο μέρος της ζωής του φυτού (Kluge et al., 1991). Στην άμπελο (Hunter & Visser, 1989; Kriedemann et al., 1970) αλλά και σε άλλα φυτά (Kura-Hotta, 1987; Somersalo & Aro, 1987), έχει παρατηρηθεί ότι ο σχηματισμός χλωροφύλλης α προηγείται εκείνου της χλωροφύλλης β, με αποτέλεσμα ο αρχικός λόγος α/β να είναι υψηλός.

Αργότερα, όμως, ο λόγος αυτός μειώνεται, καθώς η χλωροφύλλη α αποδομείται νωρίτερα και πιο γρήγορα σε σχέση με τη χλωροφύλλη β. Κατ'εξάιρεση, σε είδη του γένους *Hibiscus*, έχει παρατηρηθεί ότι η μείωση στην ολική χλωροφύλλη ανά μονάδα επιφάνειας συνοδεύεται από αύξηση στο λόγο α/β.

Πειράματα σε πρέμνα έδειξαν ότι η μέγιστη τιμή του λόγου χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β επιτυγχάνεται νωρίτερα από τη μέγιστη τιμή συγκέντρωσης ολικής χλωροφύλλης ανά μονάδα επιφάνειας (Candolfi-Vasconelos & Koblet, 1991). Σε άλλα ωστόσο φυτά, τα δύο αυτά μέγιστα συμπίπτουν (Araus & Labrana, 1991; Thombre & Karadge, 1991). Η μείωση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης στα ενήλικα φύλλα πιθανώς να σχετίζεται με αυξημένη δράση της χλωροφυλλάσης (Reddy & Vora, 1986). Η παρουσία μέγιστης συγκέντρωσης χλωροφύλλης στα φύλλα 40-50 ημερών, τα οποία βρίσκονται στο μέσο περίπου του βλαστού της αμπέλου, επιβεβαιώνεται και από τους Marini & Marini (1983), Hunter & Visser (1989) και Petrie et al. (2000). Ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή έχει αναφερθεί να κυμαίνεται από τιμές >5 στα νέα (10-30 ημερών) και πλήρως ανεπτυγμένα (40-60 ημερών) φύλλα, ως και <4 σε φύλλα μεγαλύτερης ηλικίας (90-100 ημερών) (Bertamini & Nedunchezian, 2002). Το ολικό περιεχόμενο σε καροτενοειδή μειώνεται κατά τη γήρανση του φύλλου, αν και τα καροτενοειδή είναι πιο σταθερά σε σχέση με τις χλωροφύλλες (Matile, 1992). Η τάση αυτή έχει αποτυπωθεί και στην άμπελο, όπου ο ρυθμός αποικοδόμησης των καροτενοειδών μεταξύ των περιόδων ωριμότητας και γήρανσης των φύλλων ήταν 29%, ενώ των χλωροφυλλών 54% (Bertamini & Nedunchezian, 2002).

1.6.2. Μέτρηση της συγκέντρωσης των χρωστικών με το χλωροφυλλόμετρο SPAD

Το συνολικό ποσό ηλιακής ακτινοβολίας που απορροφάται από ένα φύλλο είναι το αθροιστικό αποτέλεσμα της απορρόφησης των επιμέρους χρωστικών (Monteith, 1972; Foyer et al., 1982). Επιπλέον, οι χλωροφύλλες (α και β) δίνουν μια γενική εικόνα της θρεπτικής κατάστασης του φυτού, εφόσον μεγάλο ποσοστό του αζώτου και του μαγνησίου είναι ενσωματωμένο σε αυτές, ενώ ο σίδηρος είναι απαραίτητος για τη βιοσύνθεσή τους (Filella et al., 1995). Επίσης, η συνολική συγκέντρωση των χλωροφυλλών αντανακλά ως ένα βαθμό την καταπόνηση στην οποία μπορεί να υπόκειται το φυτό, καθώς και την ηλικία του φύλλου και του φυτού γενικότερα (Hendry et al., 1987; Merzlyak & Gitelson, 1995; Peñuelas & Filella, 1998; Merzlyak et al., 1999). Όπως σε όλα τα φυτά, έτσι και στην άμπελο, η περιεχόμενη χλωροφύλλη μπορεί να θεωρηθεί ως δείκτης του φωτοσυνθετικού δυναμικού του φύλλου και του φυτού (Poni et al., 1994).

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φωτοσυνθετικών χρωστικών γίνεται με εκχύλιση αυτών σε οργανικό διαλύτη (αιθανόλη, ακετόνη, μεθανόλη κ.ά.), και μέτρηση της απορρόφησης του εκχυλίσματος στα κατάλληλα μήκη κύματος (Lichtenthaler, 1987). Ωστόσο, θα ήταν πολύ χρήσιμη μια πιο εύκολη μέτρηση των συγκεντρώσεων των φωτοσυνθετικών χρωστικών, χωρίς την καταστροφή του φύλλου. Η μέθοδος αυτή συνίσταται στη χρήση της συσκευής SPAD

(χλωροφυλλόμετρο). Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει προσπάθειες σε ορισμένα φυτά, όπως ο ευκάλυπτος (Datt, 1999) και το καλαμπόκι (Gitelson et al., 2005).

1.6.3. Σκοπός της εργασίας

Στην εργασία αυτή μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις των φωτοσυνθετικών χρωστικών χλωροφύλλης α, χλωροφύλλης β και καροτενοειδών στη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων στις ποικιλίες *Vitis vinifera* L. Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Σαββατιανό και Chardonnay. Επίσης, προσδιορίστηκαν οι λόγοι χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β και ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή.

Επιπλέον, στις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Σαββατιανό, Sauvignon blanc έγινε μέτρηση των συγκεντρώσεων των φωτοσυνθετικών χρωστικών και συσχέτιση αυτών με τιμές που μετρήθηκαν με τη συσκευή Minolta SPAD.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Εκχύλιση και προσδιορισμός των φωτοσυνθετικών χρωστικών των φύλλων

Χρησιμοποιήθηκαν οι ποικιλίες *Vitis vinifera* L. Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Chardonnay και Σαββατιανό. Την περίοδο της άνθησης ελήφθησαν από κάθε ποικιλία τέσσερις βλαστοί, μη κορυφολογημένοι, φέροντες τουλάχιστον μια ταξιανθία, με 14 ως 17 φύλλα ο καθένας. Από κάθε φύλλο του βλαστού ελήφθησαν τέσσερις δίσκοι, επιφάνειας 0,785 cm². Στα μικρότερα φύλλα, οι δίσκοι είχαν μικρότερη επιφάνεια (0,283 cm²). Οι δίσκοι ζυγίσθηκαν, τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια και αποθηκεύθηκαν στους -35°C. Η όλη διαδικασία έγινε πολύ γρήγορα, ώστε να μην υπάρχει απώλεια της σπαργής των φύλλων και φωτοοξειδωση των φωτοσυνθετικών χρωστικών τους.

Η εκχύλιση των φωτοσυνθετικών χρωστικών έγινε με 96% αιθανόλη, στην οποία προστέθηκαν μικρές ποσότητες ανθρακικού ασβεστίου, ώστε να μειωθούν οι φωτοοξειδώσεις των φωτοσυνθετικών χρωστικών κατά τη μεταχείριση των δειγμάτων. Οι δίσκοι, αμέσως μετά την έξοδο από το ψυγείο, τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια που περιείχαν 5 ml 96% αιθανόλη και CaCO₃. Οι δίσκοι των φύλλων της ποικιλίας Chardonnay εμβαπτίσθηκαν σε 7,5 ml 96% αιθανόλη, λόγω της δυσκολίας εκχύλισης που παρουσιάστηκε. Όλη η διαδικασία της εκχύλισης έγινε στο σκοτάδι, με διαρκή ανάδευση για 24 ώρες.

Η μέτρηση της απορρόφησης των χρωστικών έγινε στα μήκη κύματος 470nm, 649nm και 665nm, σε φασματοφωτόμετρο Hitachi. Τα μήκη κύματος 665nm και 649nm αντιστοιχούν στις απορροφήσεις της χλωροφύλλης α και της χλωροφύλλης β αντίστοιχα, σε αιθανόλη. Η απορρόφηση του εκχυλίσματος στα 470nm οφείλεται στα καροτενοειδή, δηλαδή στο σύνολο των καροτενίων και των ξανθοφυλλών. Στην τιμή της απορρόφησης αυτής συνεισφέρουν σε μικρό ποσοστό οι χλωροφύλλες α και β. Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων των χρωστικών έγινε βάσει των εξισώσεων που έχει προτείνει ο Lichtenthaler (1987). Η συγκέντρωση των ολικών καροτενοειδών υπολογίστηκε αφαιρώντας τις σχετικές συγκεντρώσεις των χλωροφυλλών α και β, και διαιρώντας την όλη εξίσωση με τον συντελεστή απορρόφησης των ολικών καροτενοειδών στα 470nm.

$$\text{Χλωροφύλλη } \alpha \text{ (C}_\alpha\text{)} = 13,36 * [665\text{nm}] - 5,19 * [649\text{nm}]$$

$$\text{Χλωροφύλλη } \beta \text{ (C}_\beta\text{)} = 27,43 * [649\text{nm}] - 8,12 * [665\text{nm}]$$

$$\text{Ολική χλωροφύλλη} = 5,24 * [665\text{nm}] + 22,4 * [649\text{nm}]$$

$$\text{Καροτενοειδή} = \frac{1000 * [470\text{nm}] - 2,13 * C_\alpha - 97,64 * C_\beta}{209}$$

2.2. Μέτρηση της συγκέντρωσης των χρωστικών με το χλωροφυλλόμετρο SPAD

Το χλωροφυλλόμετρο SPAD είναι μια συσκευή, φτιαγμένη, σύμφωνα με τον κατασκευαστή της, ώστε να δίνει τιμές που χαρακτηρίζουν την περιεκτικότητα του φύλλου σε ολική χλωροφύλλη, χωρίς όμως να διευκρινίζεται το ακριβές μήκος κύματος στο οποίο απορροφά, ούτε επίσης και η μονάδα μέτρησης.

Πάρθηκαν τιμές SPAD, επαρκούς εύρους (10 ως 60), από φύλλα τεσσάρων ποικιλιών, και συγκρίθηκαν με τις τιμές των ποσοτήτων των χρωστικών που έδωσαν αυτά τα φύλλα έπειτα από εκχύλιση και μέτρηση σε φασματοφωτόμετρο. Οι ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η Σουλτανίνα, το Cabernet sauvignon, το Σαββατιανό και το Sauvignon blanc. Από την εκχύλιση και την φασματοφωτομέτρηση στα μήκη κύματος 665nm, 649nm και 470nm, υπολογίστηκαν, ακολουθώντας τις εξισώσεις του Lichtenthaler (1987), οι συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης α, χλωροφύλλης β, ολικής χλωροφύλλης και ολικών καροτενοειδών.

Με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος GraphPadPrism4 υπολογίστηκαν οι κλίσεις των ευθειών γραμμικής παλινδρόμησης για κάθε χρωστική και για κάθε ποικιλία, αλλά και για κάθε χρωστική ανεξαρτήτως ποικιλίας. Επίσης, για κάθε περίπτωση υπολογίστηκε ο συντελεστής προσδιορισμού (r^2), ο οποίος είναι το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης (r).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Σουλτανίνα

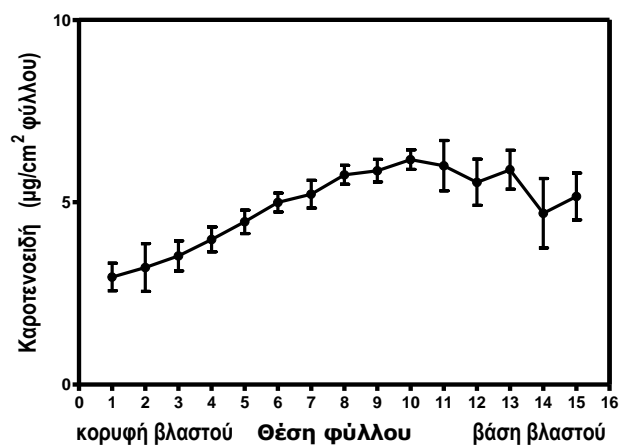
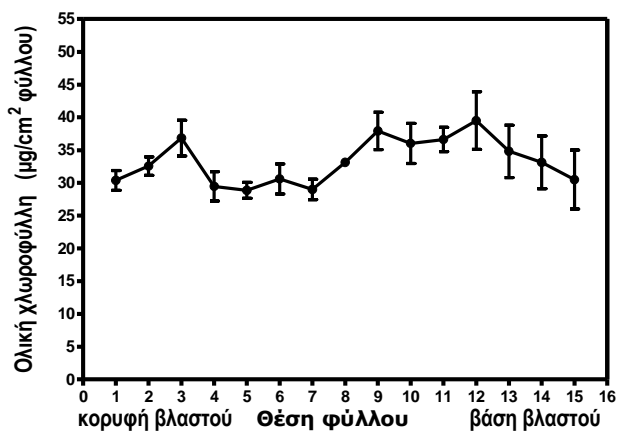
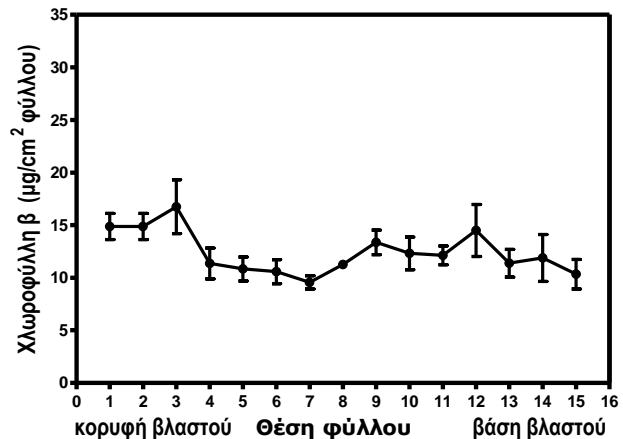
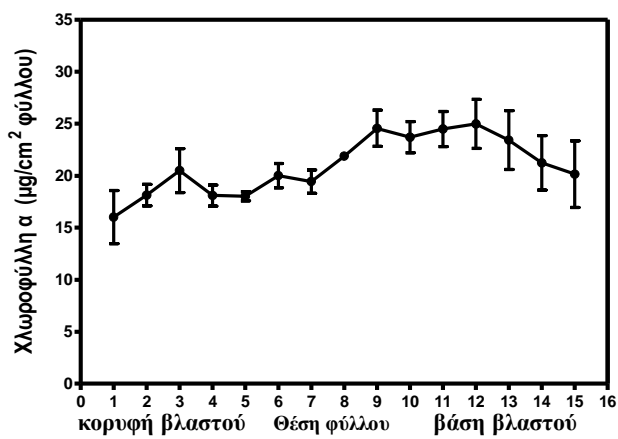
Η πορεία συσσώρευσης των χλωροφυλλών α και β στα φύλλα της ποικιλίας Σουλτανίνα, εκφρασμένη σε μg χρωστικής ανά mg νωπού βάρους φύλλου, είναι περίπου η ίδια. Η συγκέντρωση των χλωροφυλλών αυξάνεται από το 1^ο ως το 3^ο φύλλο (ξεκινώντας την αρίθμηση από την κορυφή του βλαστού). Από εκεί και πέρα, οι συγκεντρώσεις των χλωροφυλλών, αν και εμφανώς μειωμένες σε σχέση με πριν, είναι λίγο ως πολύ σταθερές. Ωστόσο, κι εδώ αποτυπώνεται μια τάση μείωσης, που διατηρείται ως το 9^ο φύλλο, ενώ μια δεύτερη, μικρότερη αύξηση των συγκεντρώσεων σημειώνεται στους επόμενους 3 με 4 κόμβους. Στα 3 βασικά φύλλα, οι τιμές και των δύο χλωροφυλλών μειώνονται και πάλι (εικ.4). Οι παρόμοιες τάσεις των χλωροφυλλών α και β αποτυπώνονται και στο γράφημα της ολικής χλωροφύλλης. Η πορεία συσσώρευσης των καροτενοειδών είναι πιο σαφής. Εδώ παρατηρείται ομαλή αύξησή τους ως το 9^ο με 10^ο φύλλο, όπου σημειώνεται και η μέγιστη συγκέντρωσή τους (εικ.4). Στη συνέχεια, ως τη βάση του βλαστού, παρατηρείται μείωση των τιμών, ωστόσο, τα καροτενοειδή του 1^{ου} φύλλου της βάσης είναι περισσότερα από αυτά του πρώτου φύλλου στην κορυφή του βλαστού.

Όταν ο υπολογισμός γίνεται σε μg χρωστικής ανά cm^2 φύλλου, τα γραφήματα που δείχνουν τις μεταβολές της συγκέντρωσης των φωτοσυνθετικών χρωστικών είναι διαφορετικά. Η χλωροφύλλη α αυξάνεται σταδιακά, φτάνοντας μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στο 9^ο με 12^ο φύλλο από την κορυφή του βλαστού, ενώ έπειτα μειώνεται, τα μέγιστα δηλαδή συγκέντρωσης αντιστρέφονται σε σχέση με πριν. Η χλωροφύλλη β ξεκινά σημειώνοντας τις μέγιστες τιμές συγκέντρωσής της στα 3 πρώτα φύλλα. Η μετάβαση από το 3^ο στο 4^ο φύλλο χαρακτηρίζεται από μία απότομη μείωση της χλωροφύλλης β (εικ.4). Ο ρυθμός μείωσης εξομαλύνεται στα 3 επόμενα φύλλα, ενώ η επακόλουθη αύξηση οδηγεί σε μία μικρότερη μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στο 12^ο φύλλο. Στα φύλλα της βάσης του βλαστού, η χλωροφύλλη β μειώνεται εκ νέου. Μελετώντας το γράφημα του αθροίσματος των δύο χλωροφυλλών, γίνονται διακριτές σε αυτό δύο παρόμοιες περιοχές. Στην πρώτη, παρατηρείται αρχικά αύξηση των τιμών, πετυχαίνοντας μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στο 3^ο φύλλο, ενώ ακολουθεί μείωση και σταθεροποίηση των τιμών ως το 7^ο φύλλο. Παρομοίως, στη δεύτερη περιοχή, σημειώνεται γρήγορη αύξηση της ολικής χλωροφύλλης μέχρι μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης, ίδιου μεγέθους με την προηγούμενη, η οποία συνοδεύεται από κάθοδο των τιμών καθώς οδηγούμαστε προς τη βάση του βλαστού. Τα καροτενοειδή, εκφρασμένα σε μg ανά cm^2 φύλλου, εμφανίζουν την ίδια πορεία συσσώρευσης, όπως και όταν εκφράζονται σε μg ανά mg νωπού βάρους φύλλου. Αυξάνονται σταδιακά μέχρι το 10^ο με 11^ο φύλλο και μετά μειώνονται (εικ.4).

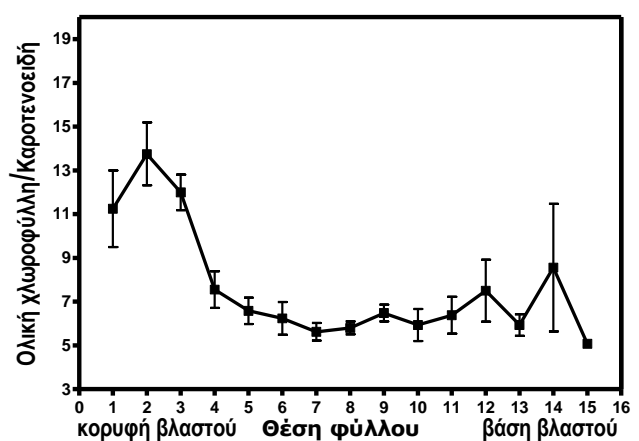
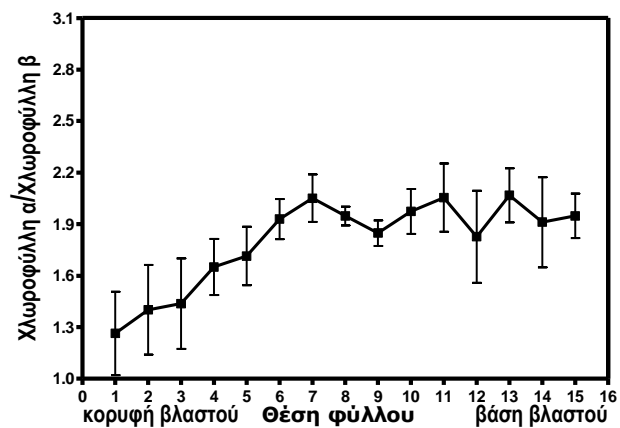
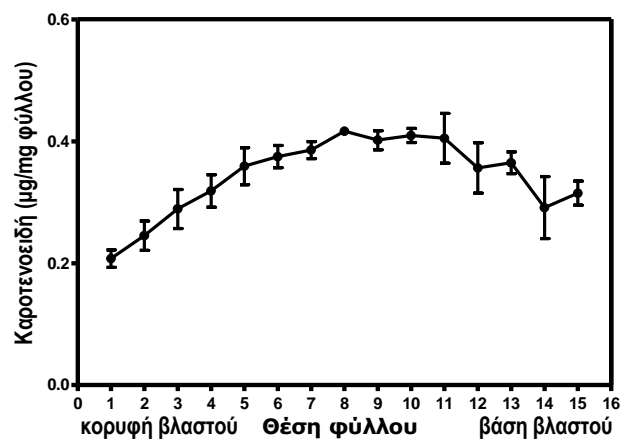
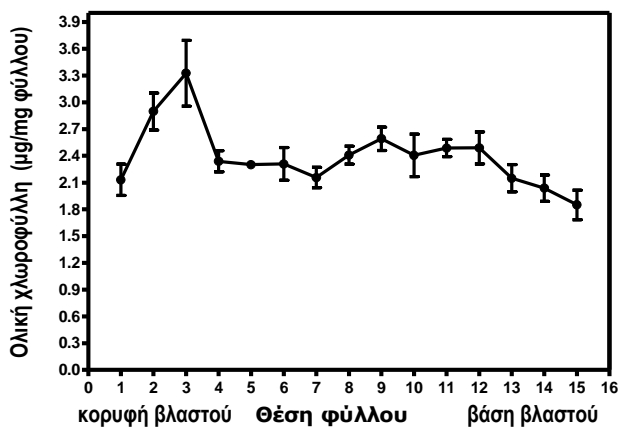
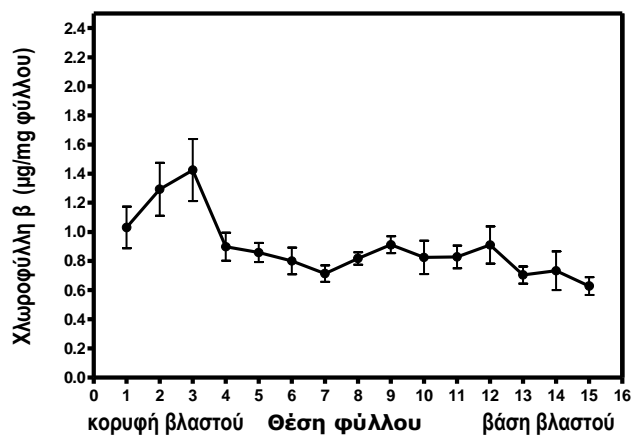
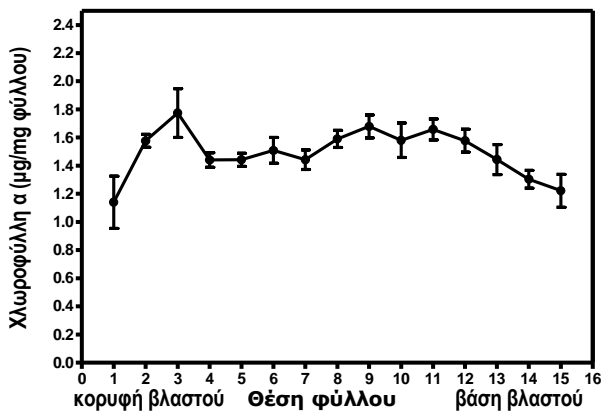
Οι συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης α είναι πάντα μεγαλύτερες αυτών της χλωροφύλλης β. Ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β αυξάνει ταχέως μέχρι το 6^ο φύλλο, ενώ από εκεί και πέρα

σταθεροποιείται. Ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή ξεκινά με υψηλές τιμές για τα 3 πρώτα φύλλα. Συνεχίζει με απότομη πτώση και ακολούθως με σταθεροποίηση ως και τον 11^ο κόμβο (εικ.4). Στα τελευταία φύλλα, ο λόγος αυξάνεται, σημειώνοντας μία δεύτερη, μικρότερη όμως, μέγιστη τιμή.

Στην ποικιλία Σουλτανίνα, οι κόμβοι οι οποίοι έφεραν ταξιανθία ήταν ο 11^{ος} και ο 12^{ος}. Οι θέσεις αυτές εμφανίζουν μέγιστα συγκεντρώσεων σε χλωροφύλλη α, χλωροφύλλη β, ολική χλωροφύλλη, καροτενοειδή, τα οποία είναι όμως μεγαλύτερα όταν ο υπολογισμός γίνεται ανά μονάδα επιφάνειας. Ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β παίρνει επίσης τη μέγιστη τιμή του στους ίδιους κόμβους. Ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή, στα συγκεκριμένα φύλλα, και μεν εμφανίζει μια μικρή αύξηση, υπολείπεται όμως κατά πολύ της μέγιστης τιμής του.



(συνέχεια)



Εικόνα 4. Συγκέντρωση της χλωροφύλλης α, χλωροφύλλης β, ολικής χλωροφύλλης και των καροτενοειδών, στα φύλλα των βλαστών της ποικιλίας Σουλτανίνα. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα νωπού βάρους και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Επίσης, δίνεται ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β και ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή.

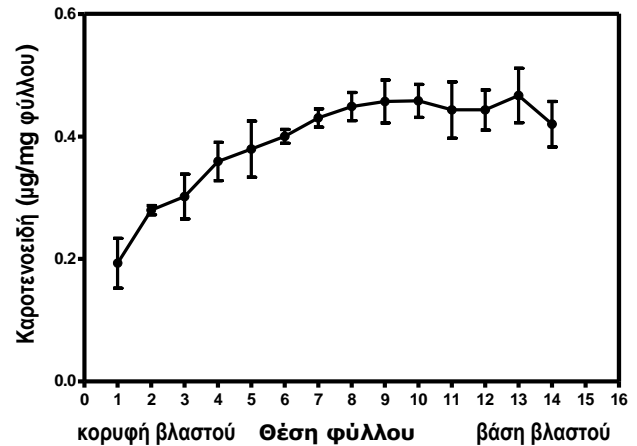
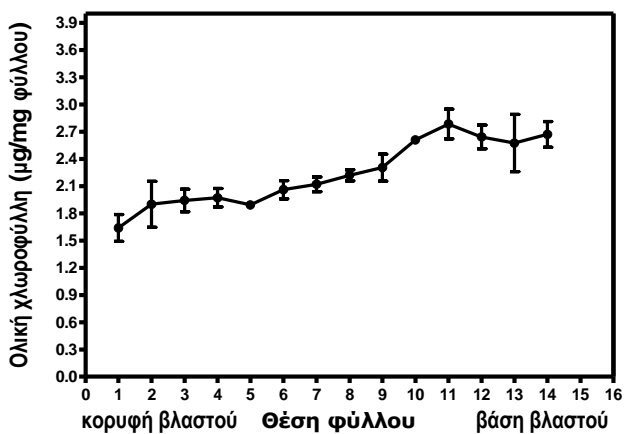
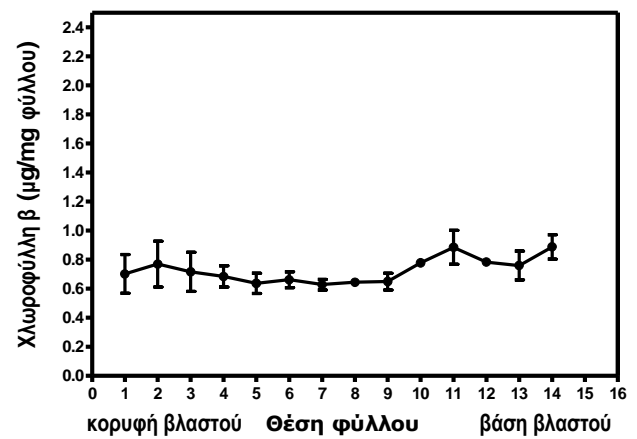
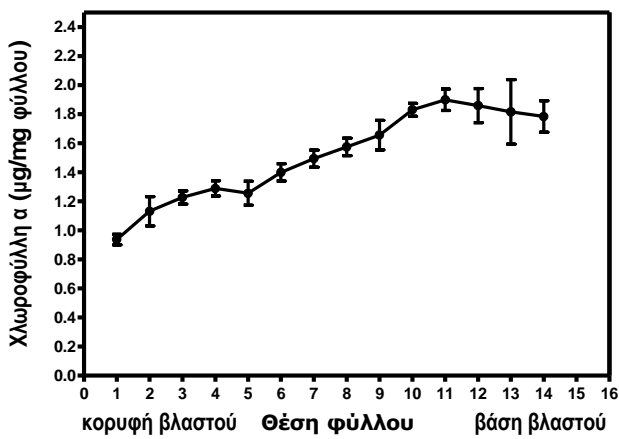
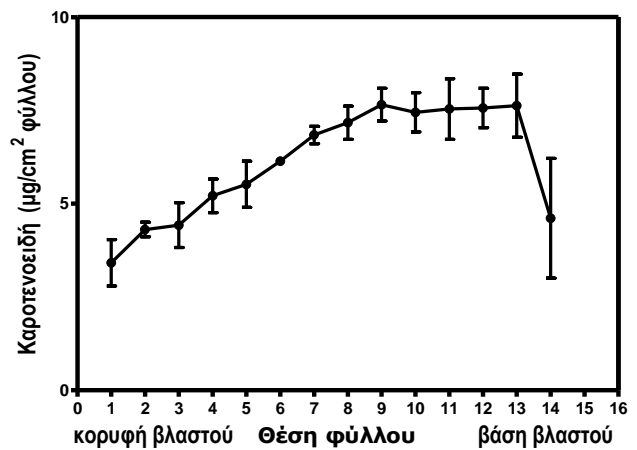
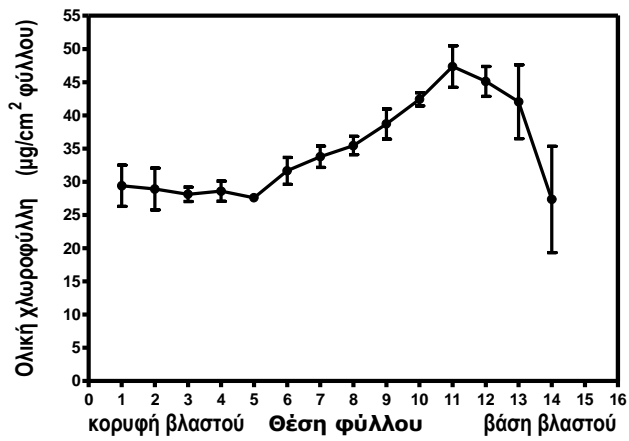
3.2. Cabernet sauvignon

Η χλωροφύλλη α, υπολογισμένη σε μg ανά mg νωπού βάρους φύλλου, αυξάνει συνεχώς καθώς οδηγούμαστε από την κορυφή προς τη βάση του βλαστού, φτάνοντας μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης περίπου στο 11^ο φύλλο (εικ.5). Από εκεί και πέρα, η συγκέντρωσή της μειώνεται, σε μικρό όμως βαθμό. Η χλωροφύλλη β, αν και αρχικά αυξάνεται, φτάνοντας μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης της τάξης των 0,75 $\mu\text{g}/\text{mg}$ στο 2^ο φύλλο, στη συνέχεια μειώνεται και σταθεροποιείται μέχρι το 10^ο κόμβο. Ακολουθεί εκ νέου αύξηση, η οποία οδηγεί σε μια μεγαλύτερη μέγιστη τιμή συγκέντρωσης, πριν ξαναμειωθεί η συγκέντρωσή της στα τελευταία φύλλα. Η δεύτερη αυτή μέγιστη τιμή συγκέντρωσης παρατηρείται στο ίδιο φύλλο που σημειώθηκε και η μέγιστη συγκέντρωση της χλωροφύλλης α. Το γράφημα της ολικής χλωροφύλλης είναι μια σιγμοειδής καμπύλη, με μια μικρή μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στα 2 με 3 πρώτα φύλλα, και μια δεύτερη, αρκετά μεγαλύτερη, στο 11^ο φύλλο. Στα φύλλα της βάσης, η συνολική χλωροφύλλη μειώνεται ελαφρά. Η πορεία συσσώρευσης των καροτενοειδών είναι παρόμοια με αυτή της χλωροφύλλης α, μόνο που εδώ η μέγιστη τιμή συγκέντρωσης σημειώνεται 1 με 2 φύλλα πιο ψηλά στο βλαστό (εικ.5).

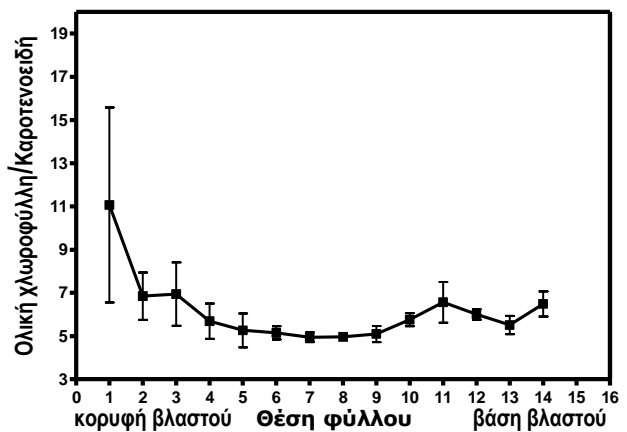
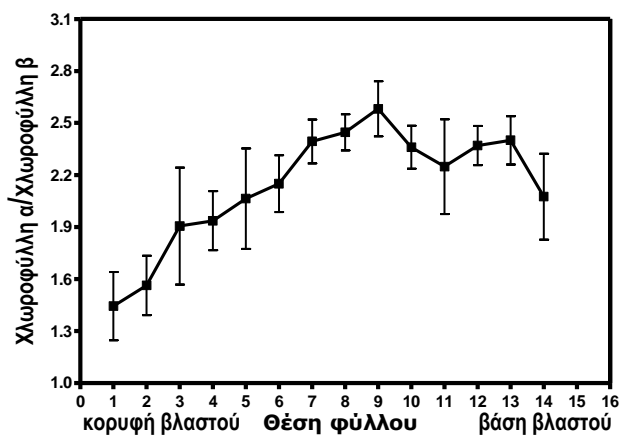
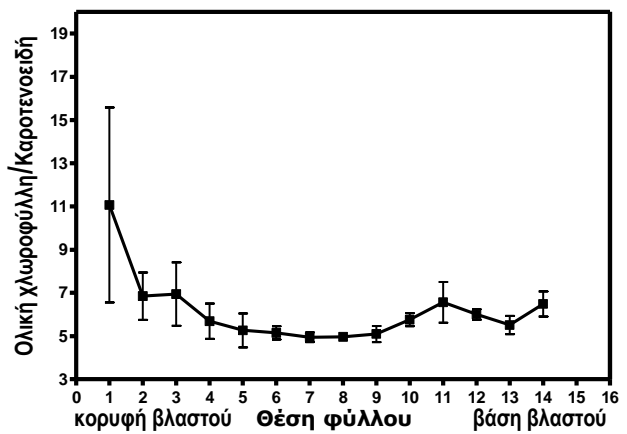
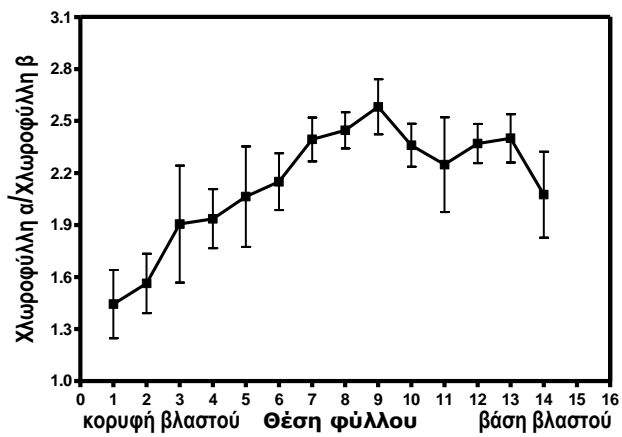
Όταν ο υπολογισμός γίνεται με βάση τα μg χρωστικής ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου, τα γραφήματα που προκύπτουν είναι παρόμοια. Όσον αφορά τη χλωροφύλλη α, πάλι σημειώνεται μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στο 11^ο φύλλο, όμως η αύξησή της πριν και η μείωσή της μετά από αυτή είναι πιο έντονες. Το διάγραμμα για την χλωροφύλλη β είναι παραπλήσιο με αυτό που προκύπτει όταν ο υπολογισμός γίνεται ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου. Η ολική χλωροφύλλη, αν και στα πρώτα 4 φύλλα παραμένει σταθερή, έπειτα αυξάνει γρήγορα, πετυχαίνοντας μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στο 11^ο φύλλο, και μετά μειώνεται απότομα (εικ.5). Τα καροτενοειδή, ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου, εμφανίζουν ίδια πορεία συσσώρευσης όπως και ανά μονάδα νωπού βάρους, μόνο που εδώ η μείωσή τους στα βασικά φύλλα είναι πιο έντονη.

Ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β εμφανίζει άνοδο μέχρι το 8^ο φύλλο, όπου και φτάνει τη μέγιστη τιμή του (2,5). Ο μέγιστος δηλαδή λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β πετυχαίνεται πιο ψηλά στο βλαστό σε σχέση με τη μέγιστη χλωροφύλλη α, τη μέγιστη χλωροφύλλη β, μέγιστη ολική χλωροφύλλη (11^ο φύλλο), όπως κι αν αυτές υπολογίζονται. Συνεχίζοντας προς τη βάση του βλαστού, ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β μειώνεται, σε καμία όμως περίπτωση δεν λαμβάνει τιμές χαμηλότερες από αυτές που αντιστοιχούν στα κορυφαία φύλλα του βλαστού. Ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή, αν και ξεκινά από υψηλή τιμή, στη συνέχεια μειώνεται και διατηρεί σταθερές τις τιμές του μέχρι και τον 10^ο περίπου κόμβο (εικ.5). Στα 3 με 4 τελευταία φύλλα εμφανίζει μια ελαφρά άνοδο. Στην ποικιλία Cabernet sauvignon, τα φύλλα 10 ως 13 έφεραν απέναντί τους ταξιανθία. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, οι συγκεντρώσεις των χρωστικών

εμφανίζονται αυξημένες σε αυτές τις θέσεις. Ωστόσο, οι λόγοι χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β και ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές.



(συνέχεια)

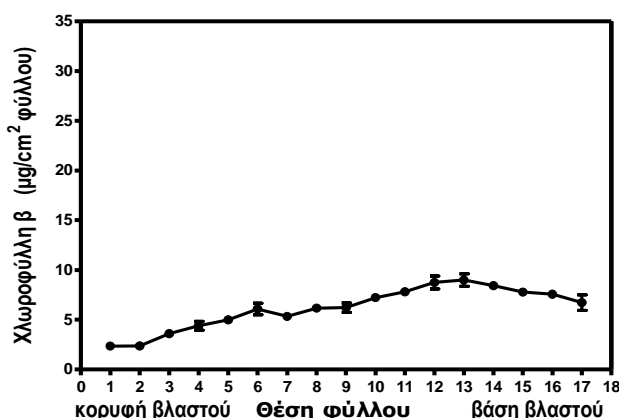
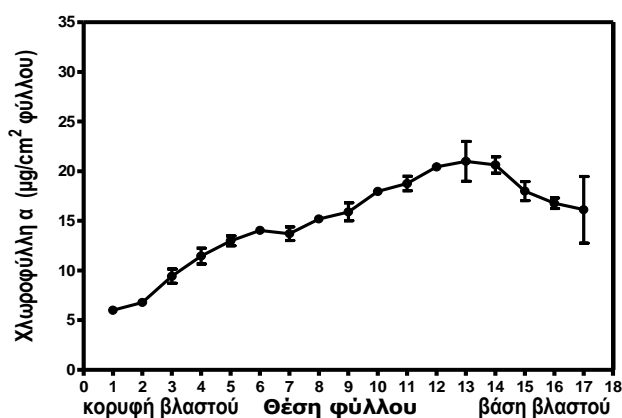


Εικόνα 5. Συγκέντρωση της χλωροφύλλης α, χλωροφύλλης β, ολικής χλωροφύλλης και των καροτενοειδών, στα φύλλα των βλαστών της ποικιλίας Cabernet sauvignon. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα νεπού βάρους και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Επίσης, δίνεται ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β και ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή.

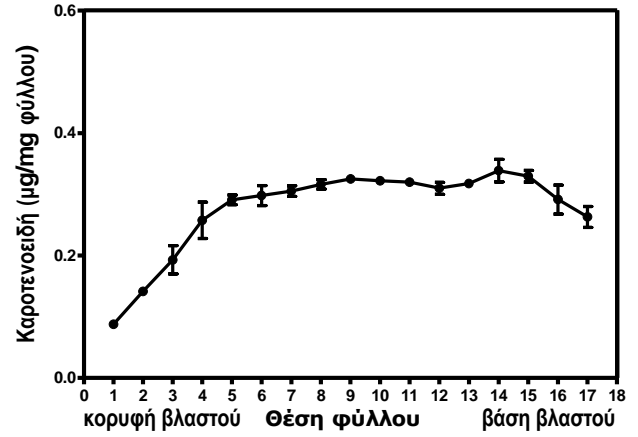
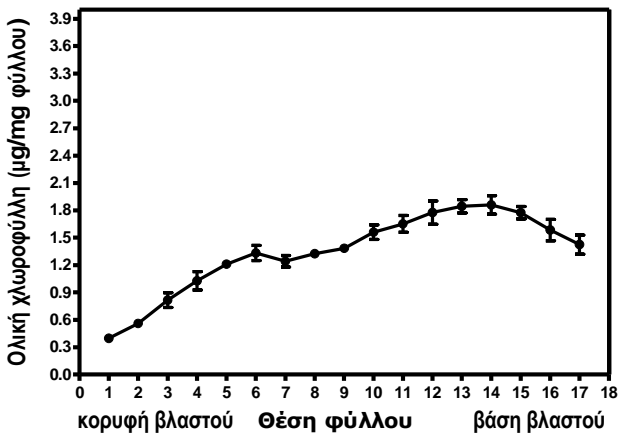
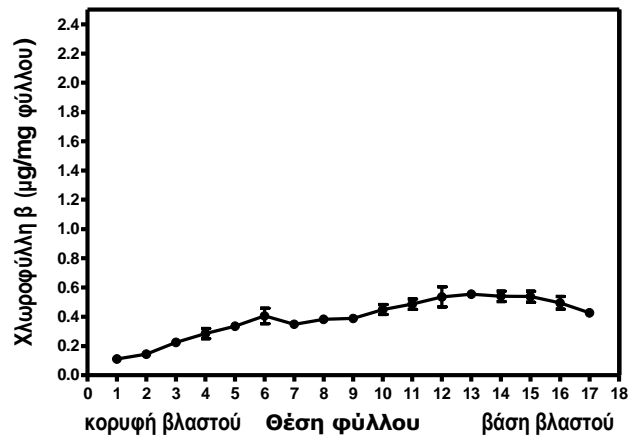
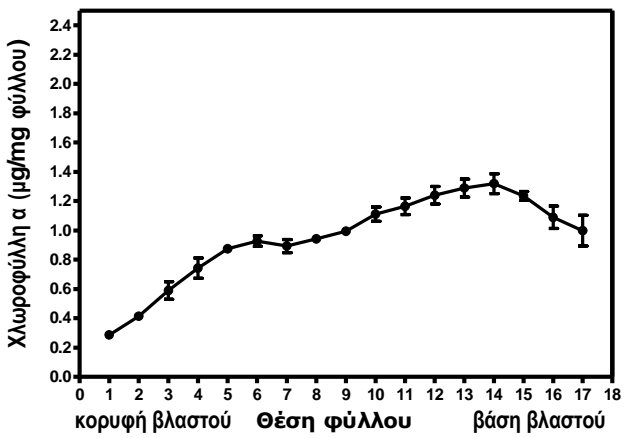
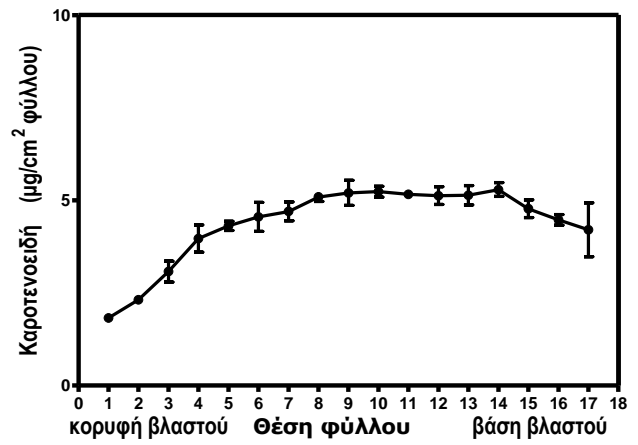
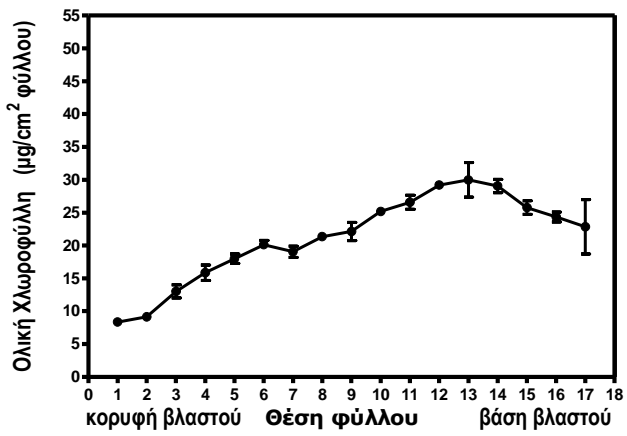
3.3. Chardonnay

Στην ποικιλία Chardonnay, τα γραφήματα που δείχνουν τις μεταβολές της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης α, της χλωροφύλλης β και της ολικής χλωροφύλλης, είτε αυτές έχουν υπολογιστεί ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου, είτε ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου, είναι παρόμοια (εικ.6). Πρόκειται για σιγμοειδείς καμπύλες που εμφανίζουν μια μικρή μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στα φύλλα 5 με 6, και μια μεγαλύτερη στο 13^ο με 14^ο φύλλο. Στα 3 βασικά φύλλα, οι συγκεντρώσεις και των δύο χλωροφυλλών μειώνονται. Τα καροτενοειδή, τόσο ανά μονάδα νωπού βάρους όσο και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου, αυξάνονται μέχρι το 4^ο περίπου φύλλο, ενώ από το 5^ο ως το 14^ο φύλλο παρουσιάζουν ένα πλατώ. Από εκεί αρχίζει μείωση της συγκέντρωσής τους, η οποία συνεχίζεται μέχρι και το τελευταίο φύλλο, στη βάση του βλαστού.

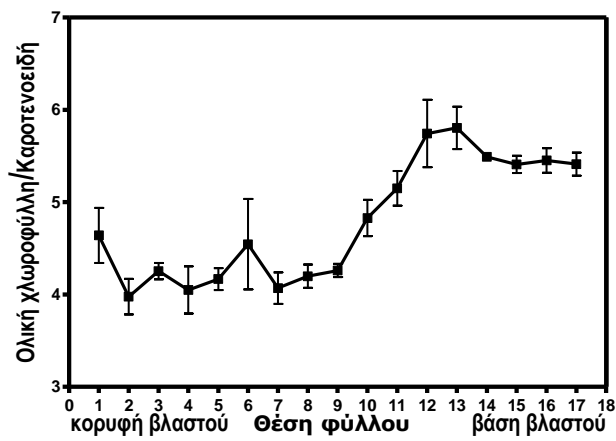
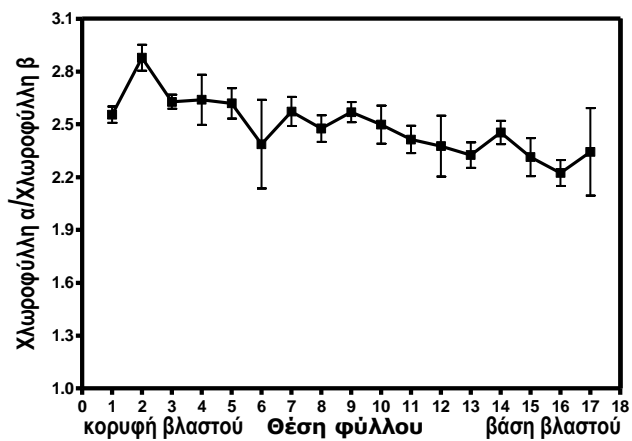
Ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β ξεκινά από τιμή περίπου 2,5 και φτάνει ως και 2,9, στο 2^ο φύλλο. Στη συνέχεια, όχι μόνο μειώνεται στα επίπεδα της αρχικής τιμής, αλλά βαίνει μειούμενος σε όλη τη διαδοχή των φύλλων, μέχρι τη βάση του βλαστού (εικ.6). Ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή παραμένει σχετικά σταθερός στα πρώτα 10 φύλλα, ενώ έπειτα παρουσιάζει σημαντική άνοδο, έως ότου πάρει τη μέγιστη τιμή του, στο 12^ο με 13^ο φύλλο. Στα 3 με 4 φύλλα της βάσης, η τιμή του αρχικά μειώνεται και μετέπειτα σταθεροποιείται. Στην ποικιλία Chardonnay, τα φύλλα τα οποία έφεραν απέναντί τους ταξιανθία ήταν αυτά των κόμβων 10 ως 13, ξεκινώντας πάντα τη αριθμηση από την κορυφή του βλαστού.



(συνέχεια)



(συνέχεια)



Εικόνα 6. Συγκέντρωση της χλωροφύλλης α, χλωροφύλλης β, ολικής χλωροφύλλης και των καροτενοειδών, στα φύλλα των βλαστών της ποικιλίας Chardonnay. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα νωπού βάρους και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Επίσης, δίνεται ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β και ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή.

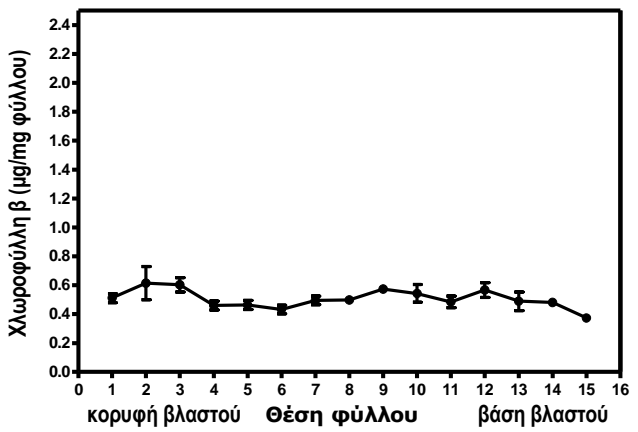
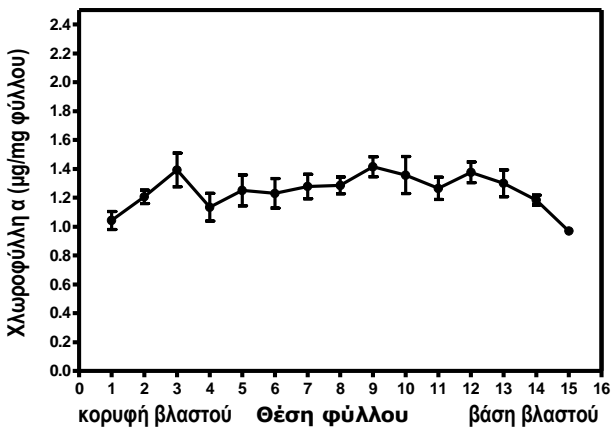
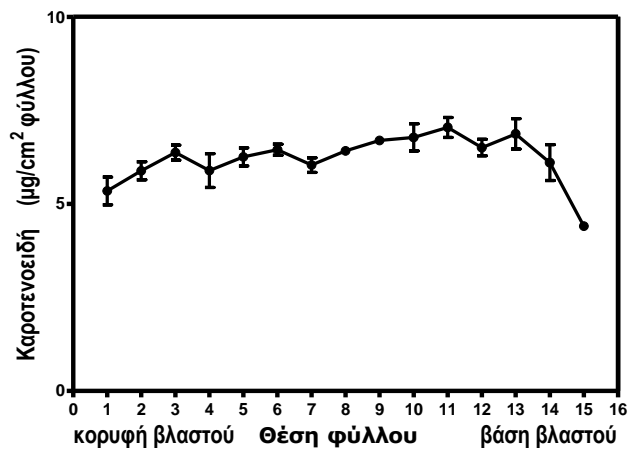
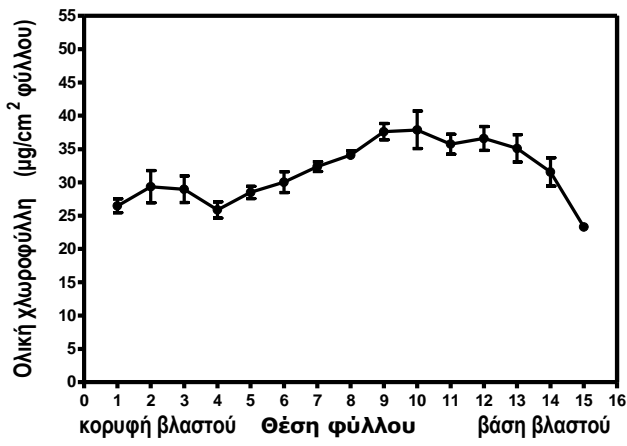
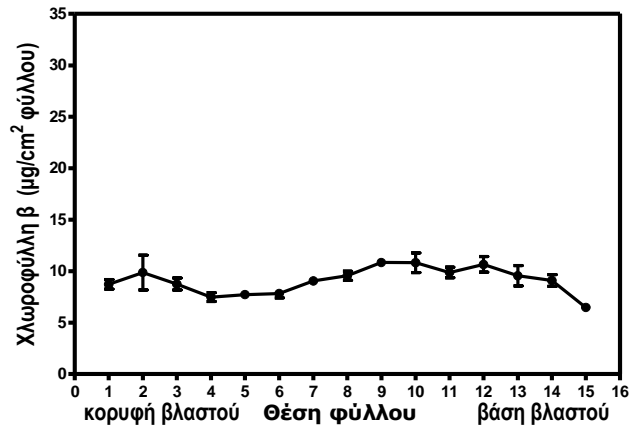
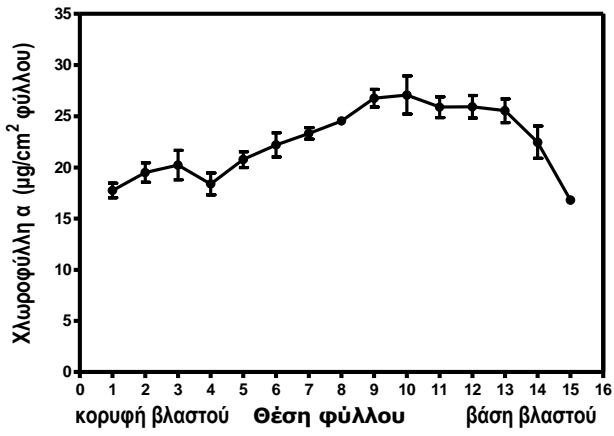
3.4. Σαββατιανό

Αναλύοντας τα αποτελέσματα ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου, παρατηρούμε, τόσο για τη χλωροφύλλη α, όσο και για τη χλωροφύλλη β, δύο περιοχές όπου σημειώνονται μέγιστες τιμές συγκεντρώσεων, ίδιας τάξης μεγέθους, οι οποίες ακολουθούνται από αντίστοιχη μείωση (εικ.7). Οι περιοχές αυτές αντιστοιχούν στα φύλλα 2 με 3 και 9 με 12. Αξίζει να σημειωθεί πως το εύρος των τιμών είναι μικρό, και αυτό αποτυπώνεται και στο γράφημα της ολικής χλωροφύλλης, το οποίο είναι πανομοιότυπο με αυτά των δύο επιμέρους χλωροφυλλών. Τα καροτενοειδή αρχικά αυξάνουν, φτάνοντας μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στο 3^ο φύλλο, ακολουθεί μία πτώση της τιμής της συγκέντρωσής τους στο 4^ο φύλλο, ενώ από εκεί κι έπειτα σταθεροποιούνται ως και λίγο πριν τη βάση του βλαστού (εικ.7). Στα 1 με 2 φύλλα της βάσης, η συγκέντρωση των καροτενοειδών μειώνεται ελαφρά.

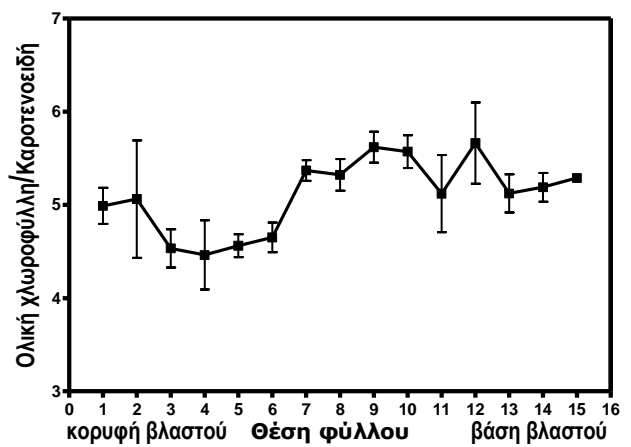
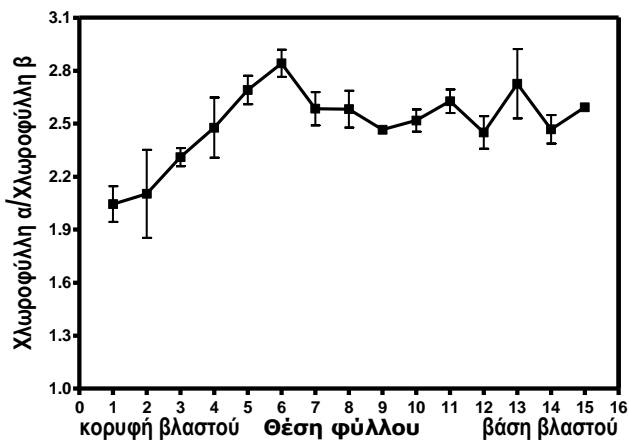
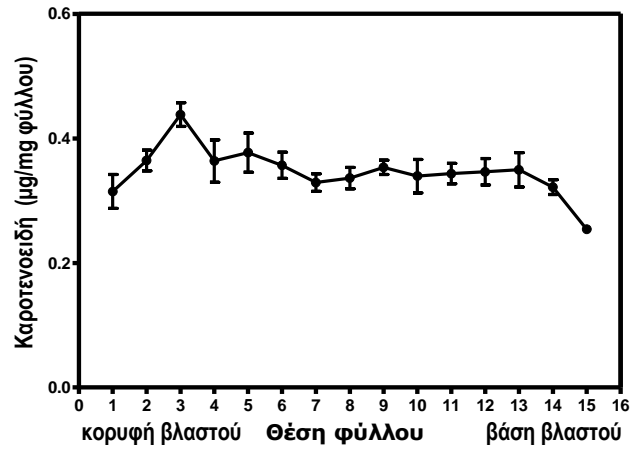
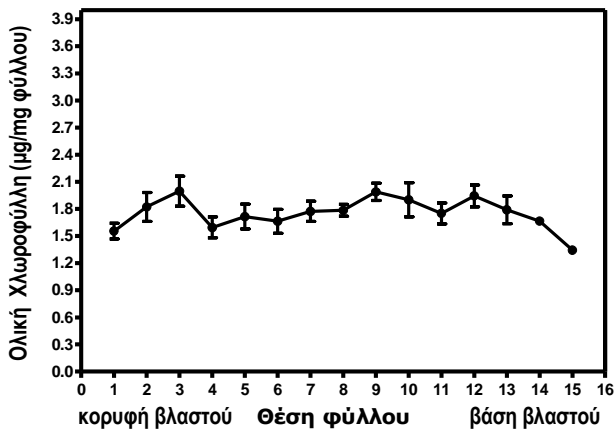
Όταν ο υπολογισμός γίνεται ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου, προκύπτουν γραφήματα που έχουν μορφή σιγμοειδούς καμπύλης, τόσο για τη χλωροφύλλη α και τη χλωροφύλλη β, όσο και για την ολική χλωροφύλλη. Η χλωροφύλλη β κυμαίνεται σε μικρότερο εύρος τιμών και διατηρείται σχετικά σταθερή σε σχέση με την χλωροφύλλη α. Τα καροτενοειδή εμφανίζουν πορεία συσσώρευσης ανάλογη με αυτή της χλωροφύλλης β (εικ.7). Διακρίνεται βέβαια μία ελαφρά τάση αύξησης και μια ανεπαίσθητη μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στα φύλλα 9 με 12. Παρατηρούμε δηλαδή ότι όταν ο υπολογισμός γίνεται με βάση τα mg φύλλου, η μέγιστη τιμή συγκέντρωσης παρατηρείται πιο ψηλά στο βλαστό (3^ο φύλλο) απ'ότι όταν εκφράσουμε τα καροτενοειδή ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Τέλος, η συγκέντρωσή τους μειώνεται διαδοχικά από το 13^ο φύλλο και κάτω.

Ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β αυξάνεται μέχρι το 5^ο φύλλο, όπου παίρνει και τη μέγιστη τιμή του (εικ.7). Στο επόμενο φύλλο εμφανίζεται μειωμένος κατά 0,4 μονάδες, και από εκεί κι έπειτα υφίσταται μια ελαφρά, σταδιακή μείωση μέχρι τη βάση του βλαστού. Οι τιμές του λόγου ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή αν και ξεκινούν από τις 5 περίπου μονάδες για τα 2 πρώτα φύλλα, μειώνονται και σταθεροποιούνται στο επίπεδο των 4,5 μονάδων για τα επόμενα 3 με 4 φύλλα. Ακολουθεί μία αύξηση κατά περίπου μία μονάδα στα φύλλα 8 ως 12, όπου και ο λόγος παίρνει τη μέγιστη τιμή του. Στα 3 τελευταία φύλλα, ο λόγος παρουσιάζει αρχικά μείωση, η οποία στη συνέχεια εξομαλύνεται.

Στην ποικιλία Σαββατιανό, τα φύλλα τα οποία έφεραν απέναντί τους ταξιανθία ήταν αυτά των κόμβων 10 ως 13. Στις θέσεις αυτές, οι συγκεντρώσεις των χρωστικών εμφανίζονται αυξημένες, με τα αντίστοιχα μέγιστα συγκέντρωσης να είναι πιο εμφανή όταν ο υπολογισμός γίνεται ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου.



(συνέχεια)

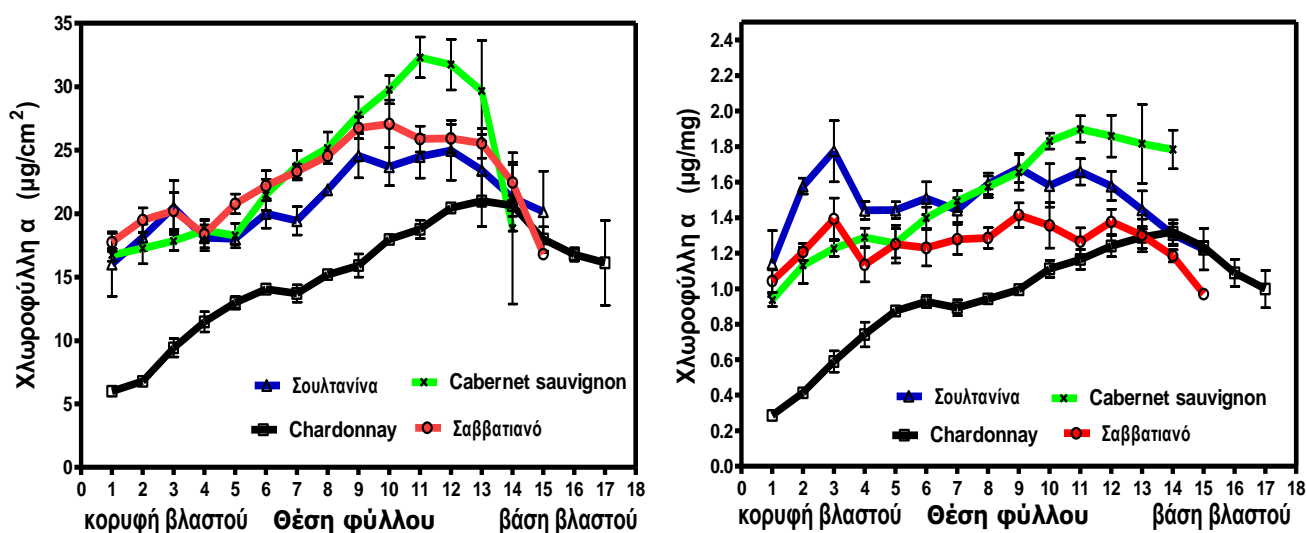


Εικόνα 7. Συγκέντρωση της χλωροφύλλης α, χλωροφύλλης β, ολικής χλωροφύλλης και των καροτενοειδών, στα φύλλα των βλαστών της ποικιλίας Σαββατιανό. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα νεπού βάρους και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Επίσης, δίνεται ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β και ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή.

3.5. Η χλωροφύλλη α

Όσον αφορά τη χλωροφύλλη α, και στις τέσσερις ποικιλίες αποτυπώνεται η ίδια τάση. Δηλαδή, μια σταδιακή αύξηση ως ένα σημείο, και μετά μείωση (εικ.8). Αυτό ισχύει τόσο όταν αναφερόμαστε σε μg χλωροφύλλης α ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου, όσο και όταν η αναφορά γίνεται σε μg χλωροφύλλης α ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Οι θέσεις όπου σημειώνονται οι μέγιστες συγκεντρώσεις είναι κυρίως αυτές των φύλλων 9 ως 12, εκτός από την ποικιλία Chardonnay, που συγκεντρώνει χαμηλότερα τη μέγιστη χλωροφύλλη α, στα φύλλα 13 με 14, τα οποία όμως, αναλογικά με το μέγεθος των βλαστών, βρίσκονται στην ίδια σχετική θέση με τα προηγούμενα. Ωστόσο, οι ποικιλίες Σουλτανίνα και Σαββατιανό σημειώνουν μια ακόμη σημαντική μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στο 3^ο φύλλο. Την περισσότερη χλωροφύλλη α, είτε ανά μονάδα νωπού βάρους είτε ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου, στο κατώτερο μισό του βλαστού, συγκεντρώνει η ποικιλία Cabernet sauvignon. Στο ανώτερο μισό, η ποικιλία Cabernet sauvignon συγκεντρώνει την ίδια χλωροφύλλη α με το Σαββατιανό και λιγότερη από την ποικιλία Σουλτανίνα (εικ.8). Τη λιγότερη χλωροφύλλη α, σε κάθε περίπτωση, συσσωρεύουν τα ανώτερα φύλλα της ποικιλίας Chardonnay.

Αξιοσημείωτο είναι ότι αν και ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου η ποικιλία Σαββατιανό γενικά υπολείπεται σε χλωροφύλλη α της ποικιλίας Σουλτανίνα, όταν ο υπολογισμός γίνεται ανά μονάδα επιφάνειας, έχει την ίδια ή και υπερέχει. Η μέγιστη τιμή χλωροφύλλης α ανά μονάδα νωπού βάρους είναι 1,8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ φύλλου, και σημειώνεται από το 3^ο φύλλο της ποικιλίας Σουλτανίνα και από τα φύλλα 11 με 12 της ποικιλίας Cabernet sauvignon, τα οποία σημειώνουν και τη μέγιστη τιμή και σε όρους επιφάνειας (εικ.8).

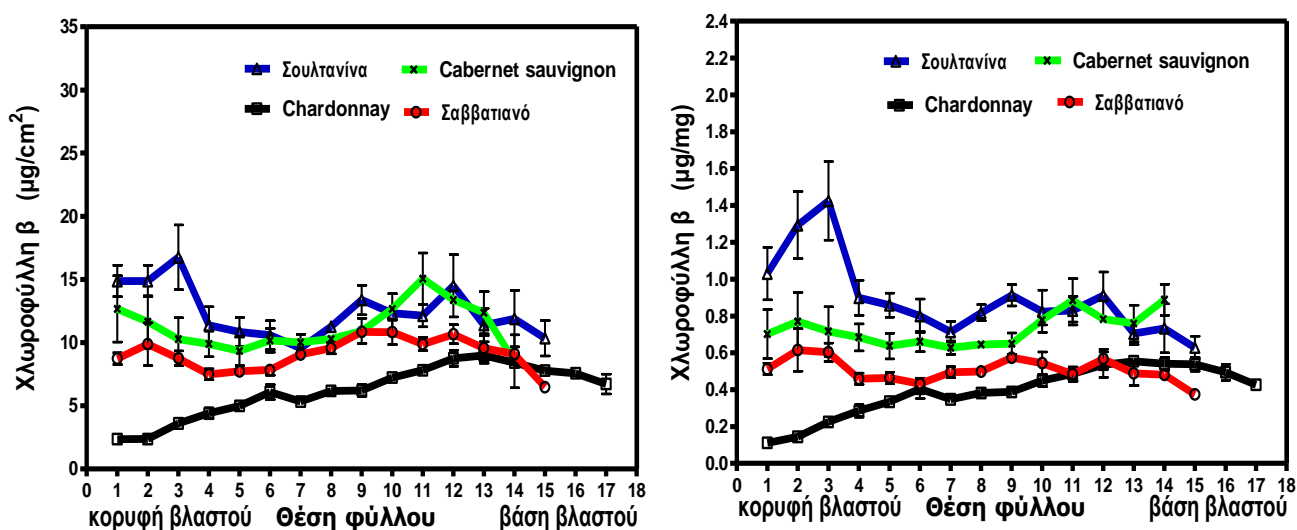


Εικόνα 8. Συγκριτική απεικόνιση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης α στις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Chardonnay, Σαββατιανό. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα νωπού βάρους και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου.

3.6. Η χλωροφύλλη β

Οι ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon και Σαββατιανό παρουσιάζουν παρόμοια πορεία συσσώρευσης της χλωροφύλλης β, τόσο ανά μονάδα επιφάνειας, όσο και ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου (εικ.9). Παρουσιάζουν υψηλές, αυξανόμενες τιμές ως και το 3^ο φύλλο, όπου σημειώνουν το πρώτο μέγιστο συγκέντρωσής τους, ενώ έπειτα από μεσολάβηση 4 με 5 φύλλων με μειωμένες τιμές, ανακάμπτουν σημειώνοντας και μια δεύτερη μέγιστη τιμή συγκέντρωσης, στα φύλλα των κόμβων 9 έως 12, ξεκινώντας πάντα την αρίθμηση από την κορυφή του βλαστού. Τα δύο μέγιστα συγκέντρωσης είναι σχεδόν της ίδιας τάξης μεγέθους για καθεμιά από τις τρεις ποικιλίες, με εξαίρεση την περίπτωση της ποικιλίας Σουλτανίνα, όπου η δεύτερη μέγιστη τιμή συγκέντρωσης ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου είναι μικρότερη από την πρώτη (εικ.9).

Σε αντίθεση με τις άλλες τρεις ποικιλίες, όπου τα πρώτα φύλλα έχουν υψηλές τιμές χλωροφύλλης β, στην ποικιλία Chardonnay, τόσο ανά μονάδα νωπού βάρους όσο και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου, η χλωροφύλλη β αργεί να πάρει τη μέγιστη τιμή της (13^ο με 14^ο φύλλο), η οποία μάλιστα δε διαφέρει πολύ από αυτές των υπολοίπων φύλλων. Η ποικιλία Σουλτανίνα, με εξαίρεση την περιοχή από το 9^ο φύλλο ως τη βάση, όπου η ποικιλία Cabernet sauvignon προηγείται, περιέχει την περισσότερη χλωροφύλλη β από τις τέσσερις ποικιλίες. Δεύτερη έρχεται η ποικιλία Cabernet sauvignon και τρίτη η ποικιλία Σαββατιανό, ενώ την εμφανώς λιγότερη χλωροφύλλη β περιέχουν τα φύλλα της ποικιλίας Chardonnay (εικ.9). Τη μέγιστη συγκέντρωση χλωροφύλλης β πετυχαίνει το 3^ο φύλλο της ποικιλίας Σουλτανίνα, ενώ την ελάχιστη το 1^ο φύλλο της ποικιλίας Chardonnay.

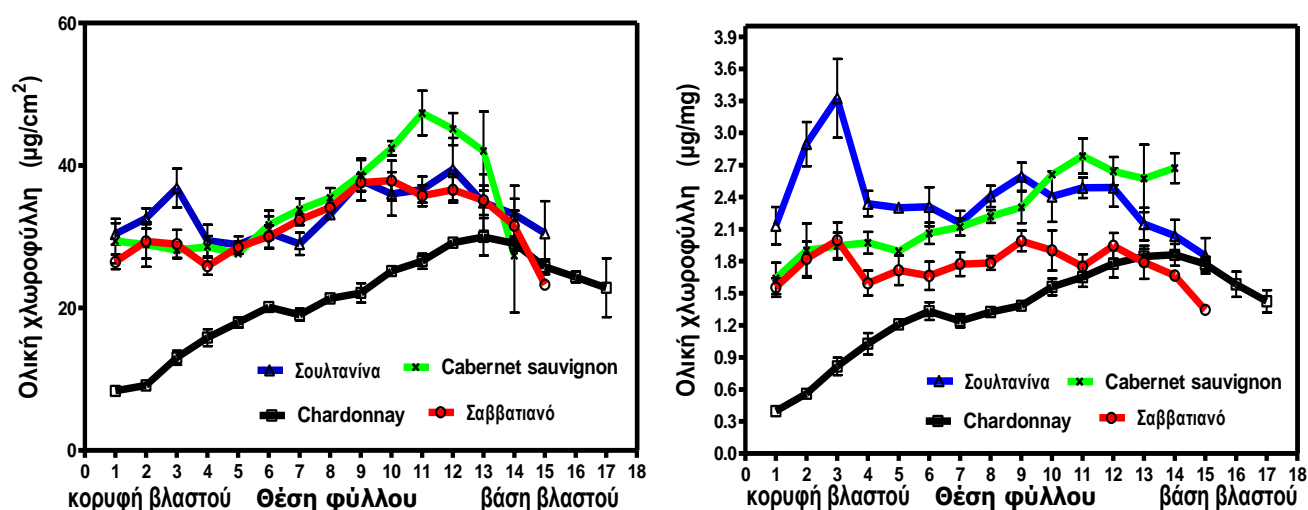


Εικόνα 9. Συγκριτική απεικόνιση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης β στις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Chardonnay, Σαββατιανό. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα νωπού βάρους και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου.

3.7. Η ολική χλωροφύλλη

Η ολική χλωροφύλλη, τόσο ανά μονάδα επιφάνειας, όσο και ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου, εμφανίζει παρόμοια πορεία συσσώρευσης και για τις τέσσερις ποικιλίες (εικ.10). Υπάρχει δηλαδή και εδώ η τάση για αρχική αύξηση ως ένα σημείο, και μετά μείωση. Οι ποικιλίες Cabernet sauvignon και Chardonnay παρουσιάζουν μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στα φύλλα 9 ως 12 και 13 ως 14 αντίστοιχα, οι οποίες αναλογικά είναι ίδιες περιοχές του βλαστού. Η ποικιλία Σουλτανίνα, ανά μονάδα νωπού βάρους, εμφανίζει την κυρίως μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στο 3^ο φύλλο, ενώ ανά μονάδα επιφάνειας, έχει και δεύτερη σημαντική μέγιστη τιμή συγκέντρωσης, ίδιας τάξης μεγέθους με την πρώτη. Η δεύτερη αυτή μέγιστη τιμή συγκέντρωσης είναι όμως πολύ μικρότερη από την πρώτη στον ανά μονάδα νωπού βάρους υπολογισμό.

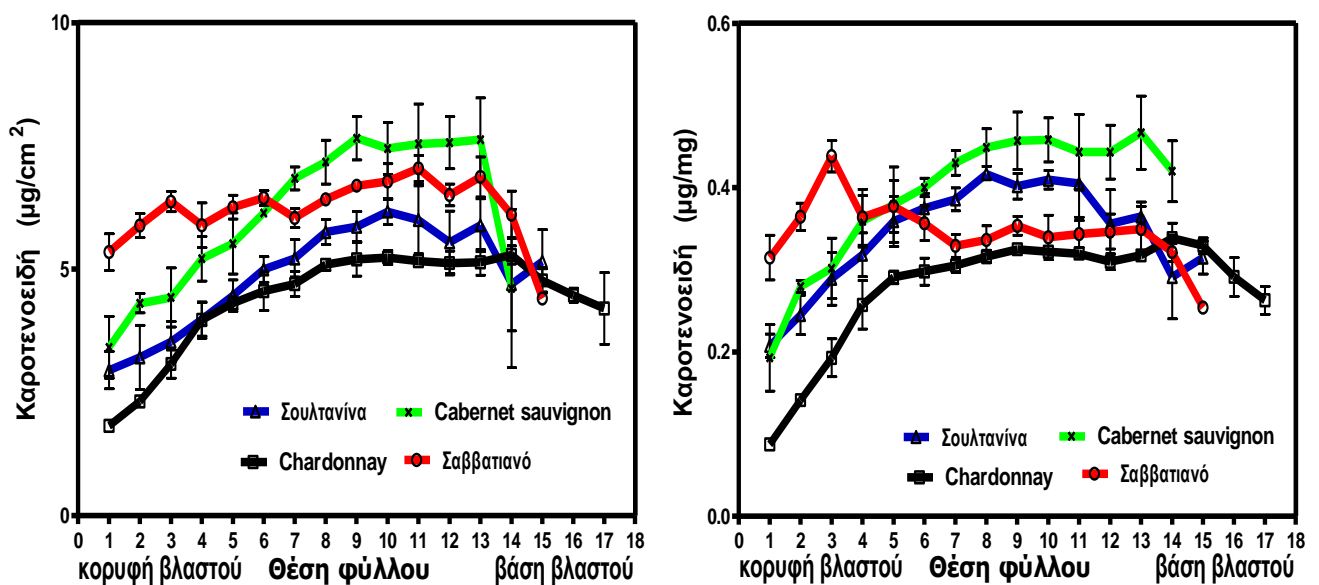
Η ποικιλία Σαββατιανό παρουσιάζει και αυτή δύο μέγιστα συγκέντρωσης στις ίδιες περιοχές, τα οποία ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου έχουν σχεδόν τις ίδιες τιμές, αλλά ανά μονάδα επιφάνειας το δεύτερο μέγιστο συγκέντρωσης, στα φύλλα 9 με 12, υπερέρχει αρκετά του πρώτου. Μέχρι το 3^ο φύλλο, η ποικιλία Σουλτανίνα περιέχει την περισσότερη ολική χλωροφύλλη, ενώ από εκεί και κάτω την περισσότερη χλωροφύλλη περιέχει η ποικιλία Cabernet sauvignon. Τρίτη έρχεται η ποικιλία Σαββατιανό, ενώ οριακά τέταρτη η ποικιλία Chardonnay (εικ.10). Τη μέγιστη ολική χλωροφύλλη ανά μονάδα νωπού βάρους έχει το 3^ο φύλλο της ποικιλίας Σουλτανίνα, ενώ τη μέγιστη χλωροφύλλη ανά μονάδα επιφάνειας έχει το 11^ο φύλλο της ποικιλίας Cabernet sauvignon. Τις ελάχιστες τιμές και στις δύο περιπτώσεις έχουν τα ανώτερα φύλλα της ποικιλίας Chardonnay. Ωστόσο, η ποικιλία Chardonnay είναι η μόνη ποικιλία που η ολική χλωροφύλλη των κατώτερων φύλλων, αν και μειωμένη, δεν είναι λιγότερη από αυτή των ανώτερων φύλλων του βλαστού του.



Εικόνα 10. Συγκριτική απεικόνιση της συγκέντρωσης της ολικής χλωροφύλλης στις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Chardonnay, Σαββατιανό. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα νωπού βάρους και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου.

3.8. Τα Καροτενοειδή

Η γενική τάση για αύξηση ως ένα σημείο και μετέπειτα μείωση, παρατηρείται και στην πορεία συσσώρευσης των καροτενοειδών, τόσο ανά μονάδα νωπού βάρους όσο και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου (εικ.11). Στις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon και Chardonnay παρατηρείται ομαλή αύξηση ως ένα πλατώ, το οποίο διατηρείται για λιγότερα (ποικιλίες Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon) ή περισσότερα (ποικιλία Chardonnay) φύλλα. Στην ποικιλία Σαββατιανό, στον ανά μονάδα επιφάνειας υπολογισμό, παρατηρείται ένα ανεπαίσθητο μέγιστο συγκέντρωσης στην ίδια περιοχή (φύλλα 9 με 11) με τις άλλες τρεις ποικιλίες, ενώ στον ανά μονάδα νωπού βάρους υπολογισμό το μέγιστο συγκέντρωσης εμφανίζεται στο 3^ο φύλλο. Έπειτα, ακολουθεί αρχικά μείωση και κατόπιν σταθεροποίηση των τιμών (εικ.11).

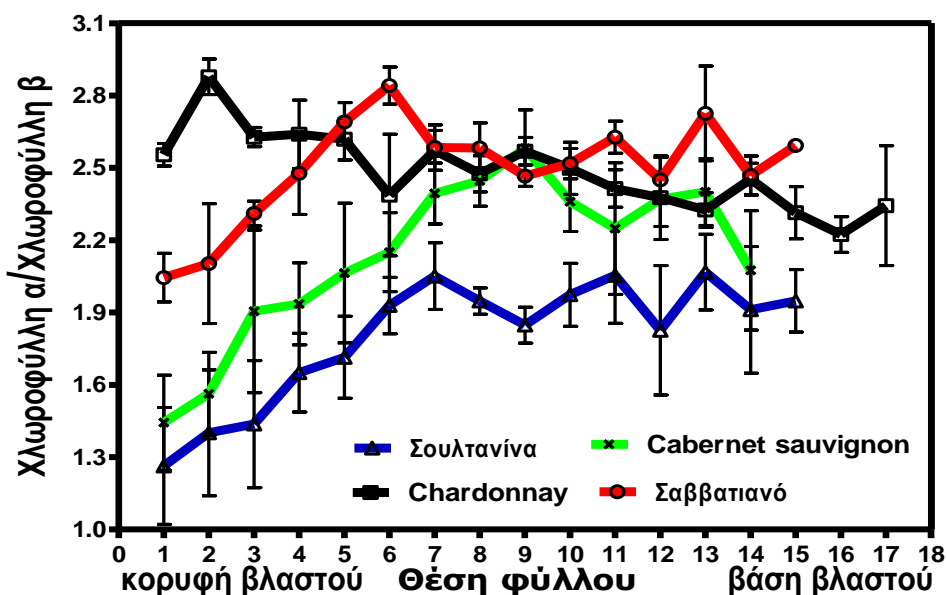


Εικόνα 11. Συγκριτική απεικόνιση της συγκέντρωσης των καροτενοειδών στις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Chardonnay, Σαββατιανό. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα νωπού βάρους και ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου.

3.9. Ο λόγος Χλωροφύλλη α/Χλωροφύλλη β

Στις ποικιλίες Σαββατιανό και Cabernet sauvignon, ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β αρχικά αυξάνει γρήγορα και μετά μειώνεται (εικ.12). Ωστόσο, η μέγιστη τιμή του λόγου σημειώνεται πιο χαμηλά (9^ο φύλλο) στην ποικιλία Cabernet sauvignon απ'ότι στην ποικιλία Σαββατιανό (6^ο φύλλο). Ανάλογη πορεία ακολουθεί και στην ποικιλία Σουλτανίνα, μόνο που εδώ, η μέγιστη τιμή συγκέντρωσης, η οποία σημειώνεται στο 7^ο φύλλο, δεν ακολουθείται από μείωση αλλά σταθεροποίηση των τιμών, μέχρι την βάση του βλαστού. Η ποικιλία Chardonnay διαφοροποιείται, σημειώνοντας το μέγιστο λόγο χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β στο 2^ο φύλλο, ενώ με τη μείωση που ακολουθεί, οι αντίστοιχες τιμές των φύλλων που ακολουθούν είναι μικρότερες από τις τιμές των πρώτων φύλλων. Κάτι τέτοιο δε συμβαίνει στις άλλες τρεις ποικιλίες.

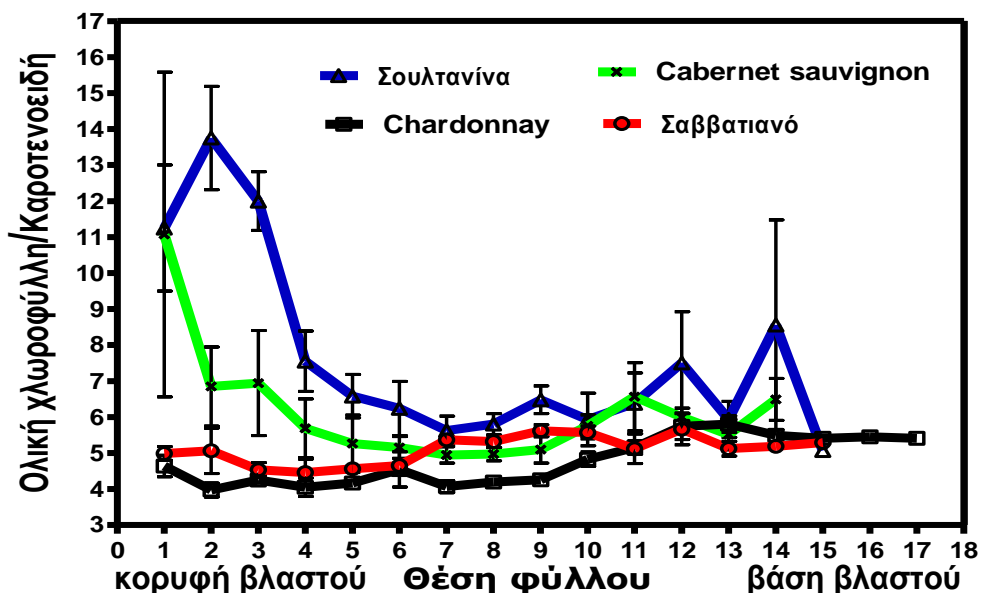
Την περισσότερη χλωροφύλλη α (αναλογικά με τη χλωροφύλλη β) στα 3 με 4 πρώτα φύλλα, έχει η ποικιλία Chardonnay, και τη λιγότερη η ποικιλία Σουλτανίνα (εικ.12). Από εκεί και κάτω, τους μεγαλύτερους λόγους εμφανίζουν οι ποικιλίες Cabernet sauvignon και Σαββατιανό. Η ποικιλία Chardonnay, αν και σε αυτή την περιοχή ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β μειώνεται, εμφανίζει μεγαλύτερες τιμές από την ποικιλία Σουλτανίνα. Τις χαμηλότερες αναλογίες χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β έχουν τα πρώτα φύλλα των ποικιλιών Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon, ενώ τον υψηλότερο (2,9) έχει το 2^ο φύλλο της ποικιλίας Cabernet sauvignon και το 6^ο φύλλο της ποικιλίας Σαββατιανό (εικ.12).



Εικόνα 12. Συγκριτική απεικόνιση της πορείας των τιμών του λόγου χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β των τεσσάρων ποικιλιών.

3.10. Ο λόγος Ολική χλωροφύλλη/Καροτενοειδή

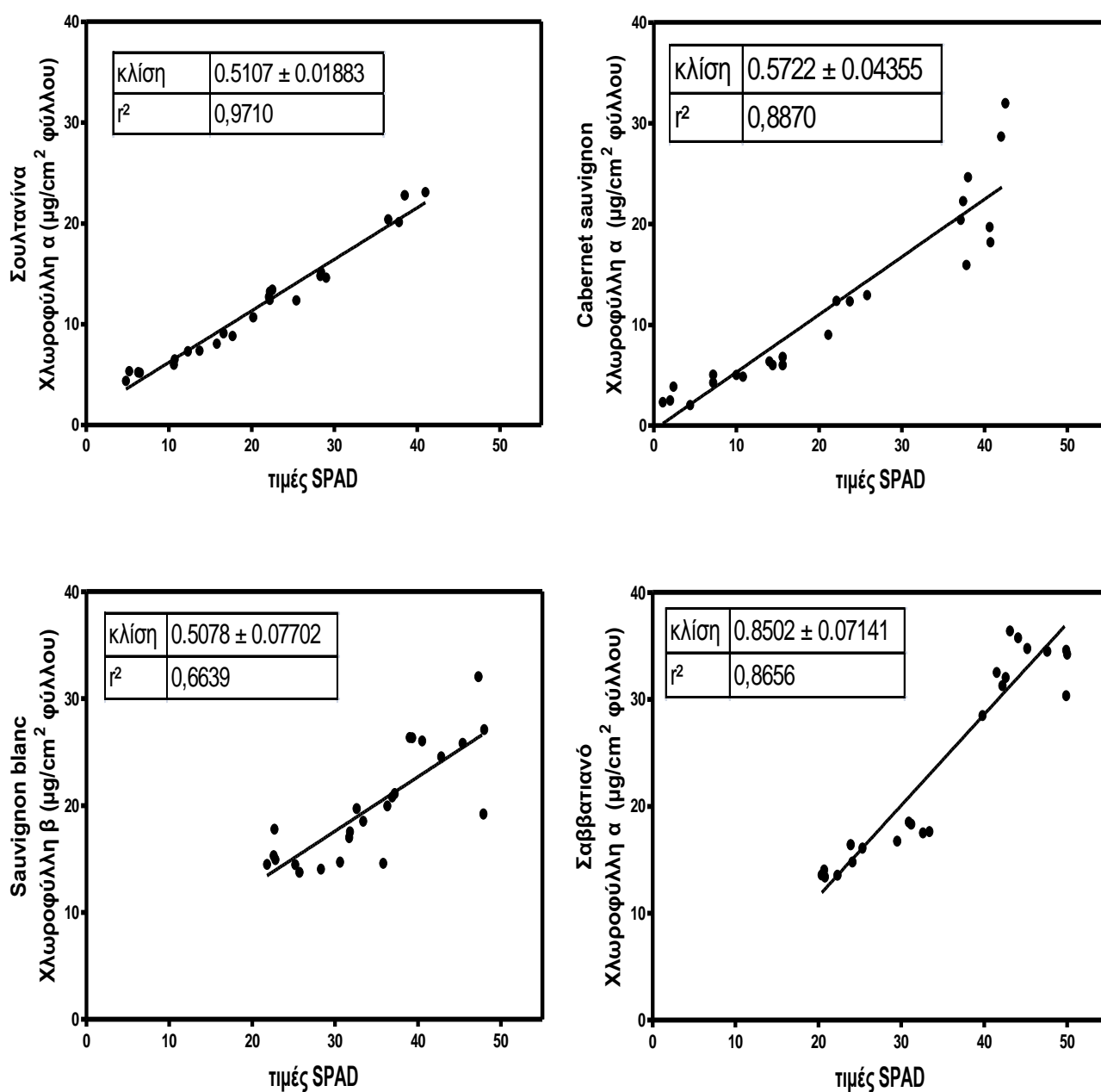
Τόσο ποσοτικά, όσο και ως πορεία μεταβολής του λόγου ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή, διαμορφώνονται δύο ζεύγη ποικιλιών: Οι ποικιλίες Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon εμφανίζουν λόγους που παίρνουν τιμές από 6 ως 11, ενώ οι ποικιλίες Chardonnay και Σαββατιανό μεταξύ 4 και 5 (εικ.13). Οι ποικιλίες Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon παρουσιάζουν υψηλές τιμές του λόγου στα πρώτα φύλλα οι οποίες είναι και οι μέγιστες τιμές που λαμβάνουν. Στις δύο αυτές ποικιλίες, μετά τις αρχικά αυξημένες τιμές, ακολουθεί απότομη μείωση και σταθεροποίηση των τιμών μέχρι το 10^ο με 11^ο φύλλο. Έπειτα, ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή αυξάνεται ελαφρά και για τις δύο. Στις ποικιλίες Chardonnay και Σαββατιανό, ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή κυμαίνεται σε μικρότερο εύρος τιμών. Εδώ, οι μέγιστες τιμές του λόγου παρατηρούνται στα φύλλα 12 με 13 για την ποικιλία Chardonnay και 9 με 11 για την ποικιλία Σαββατιανό. Στα φύλλα της βάσης, οι αντίστοιχοι λόγοι αρχικά μειώνονται και έπειτα σταθεροποιούνται.



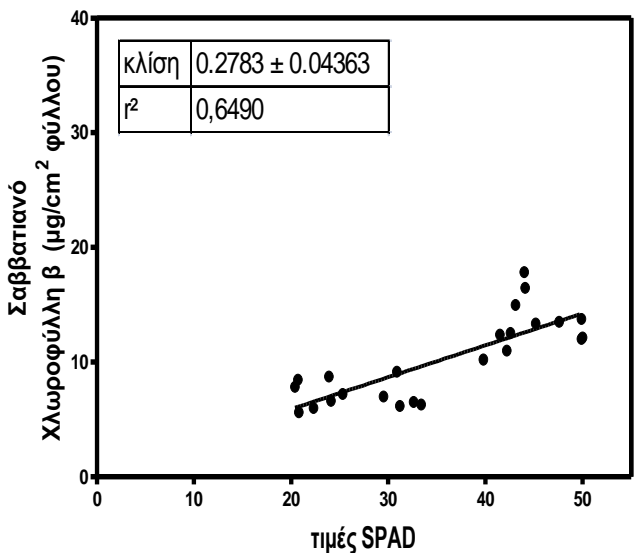
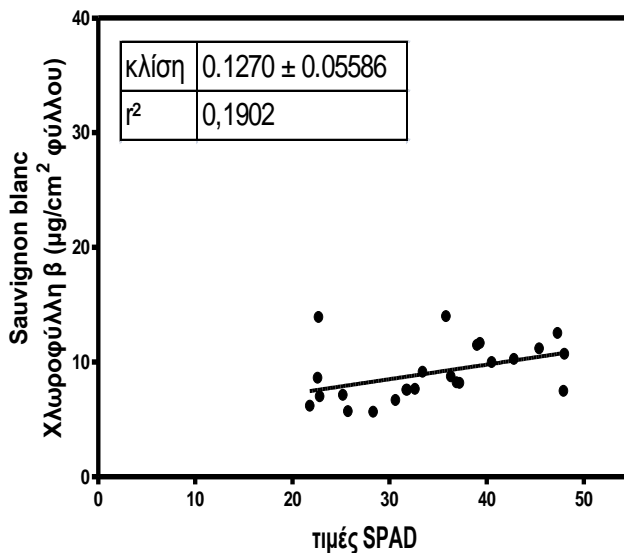
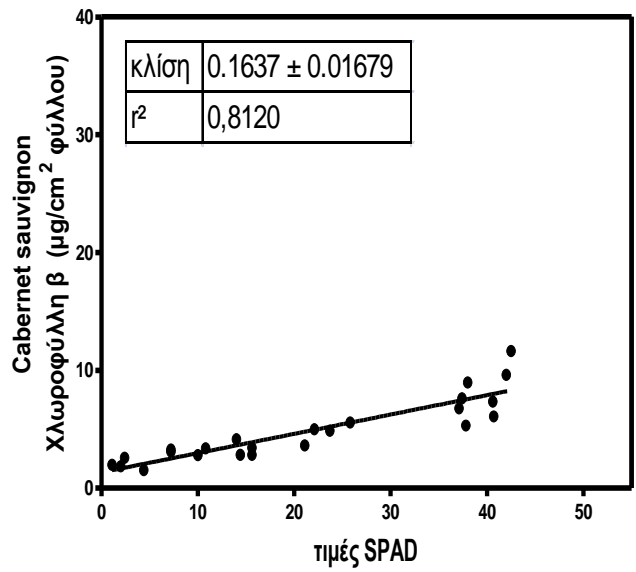
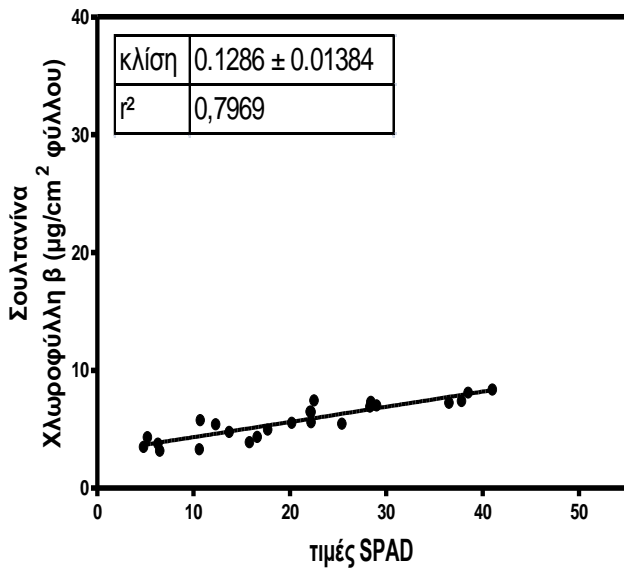
Εικόνα 13. Συγκριτική απεικόνιση της πορείας των τιμών του λόγου ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή των τεσσάρων ποικιλιών.

3.11. Μέτρηση της συγκέντρωσης των χρωστικών με το χλωροφυλλόμετρο SPAD

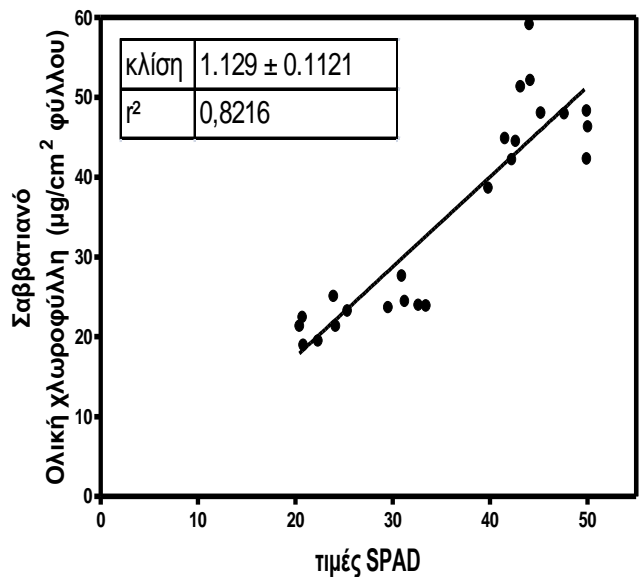
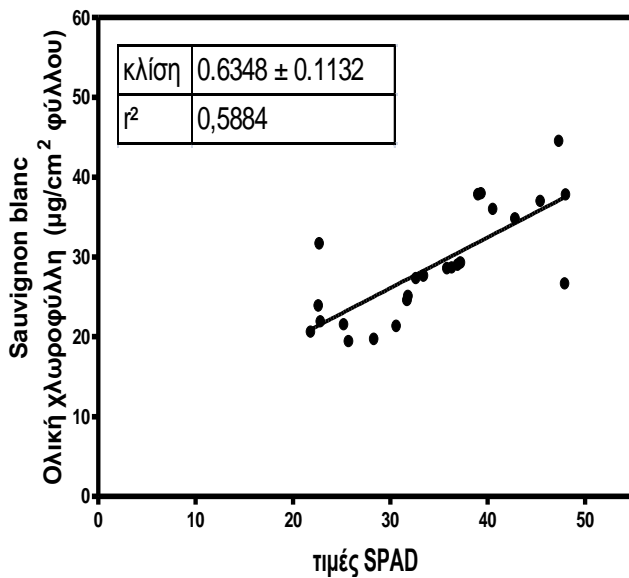
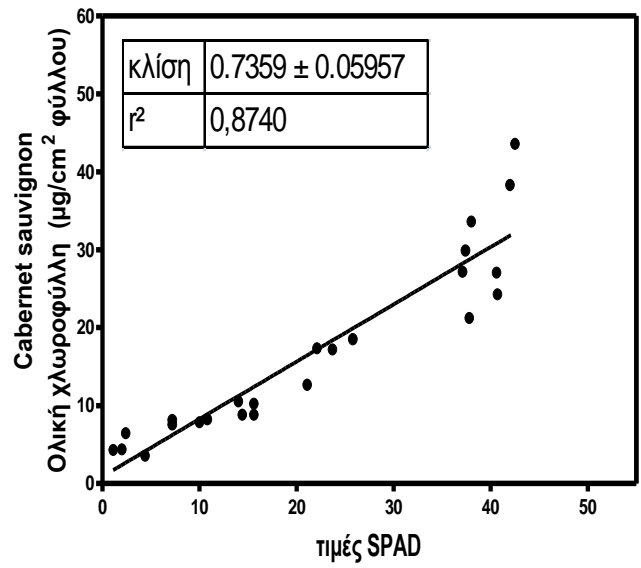
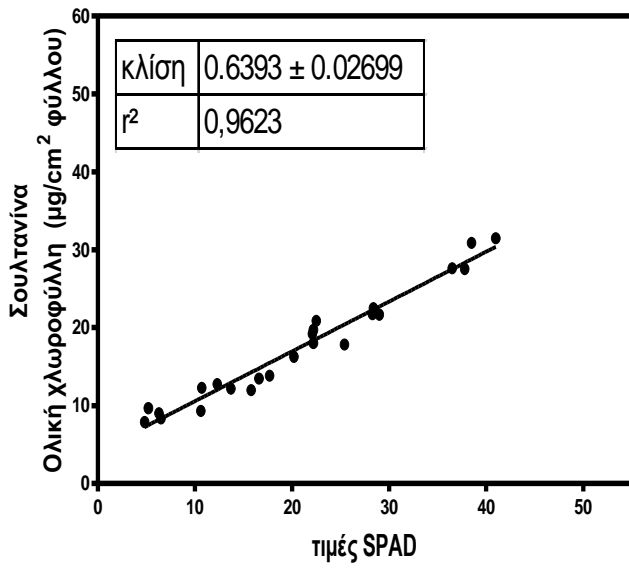
Παρακάτω δίνονται οι ευθείες γραμμικής παλινδρόμησης, με τις αντίστοιχες κλίσεις και τους συντελεστές προσδιορισμού (r^2) για κάθε χρωστική καθεμιάς ποικιλίας, συνολικά δηλαδή 16 ευθείες (εικ.14-17). Από συμψηφισμό των τιμών που αντιστοιχούσαν σε κάθε ποικιλία προέκυψε και μία ευθεία για κάθε χρωστική (εικ.18).



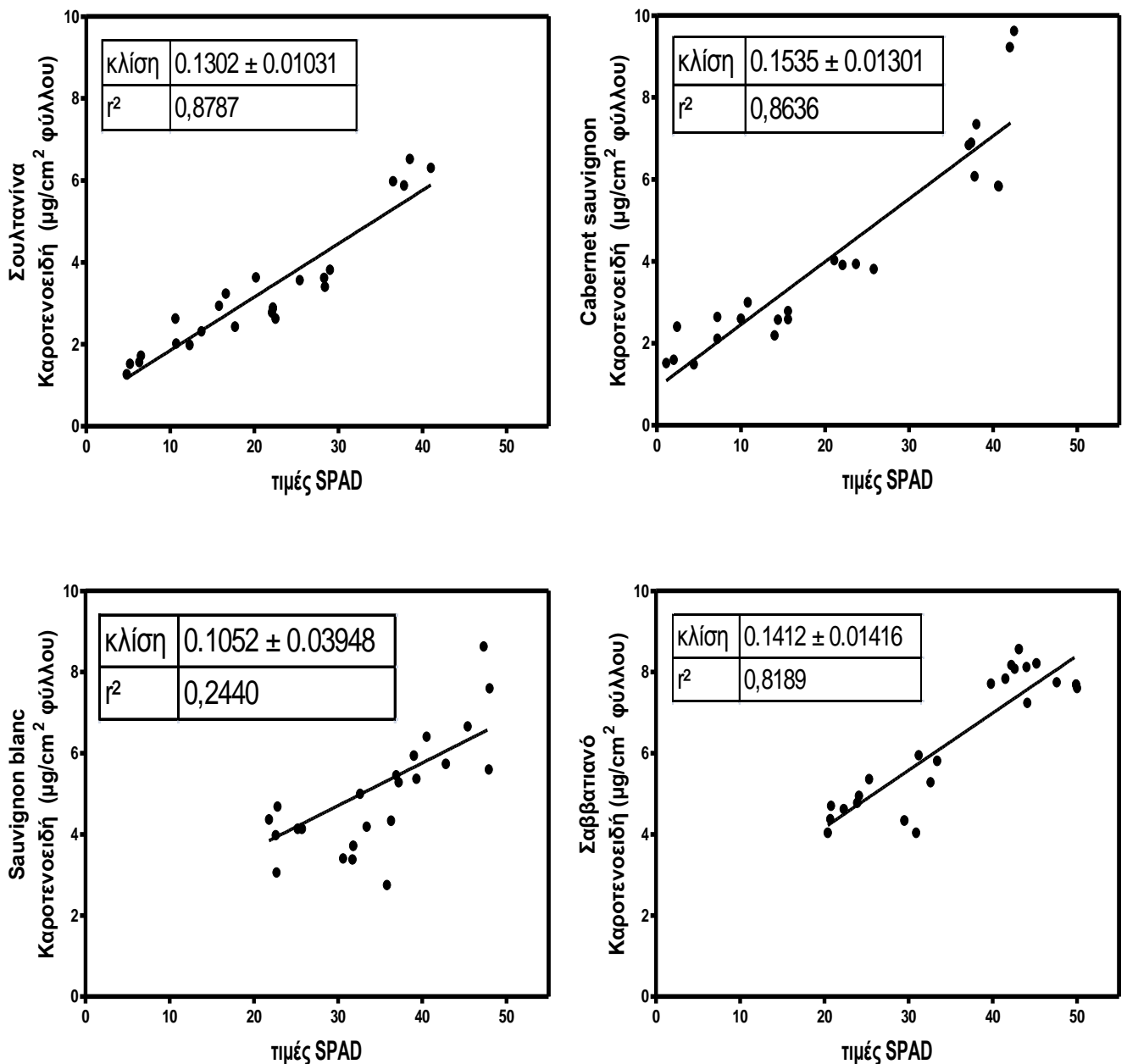
Εικόνα 14. Σχέση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης α και της τιμής SPAD για τις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Sauvignon blanc, Σαββατιανό. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Επίσης, δίνεται η αριθμητική τιμή της κλίσης της ευθείας και ο συντελεστής προσδιορισμού (r^2).



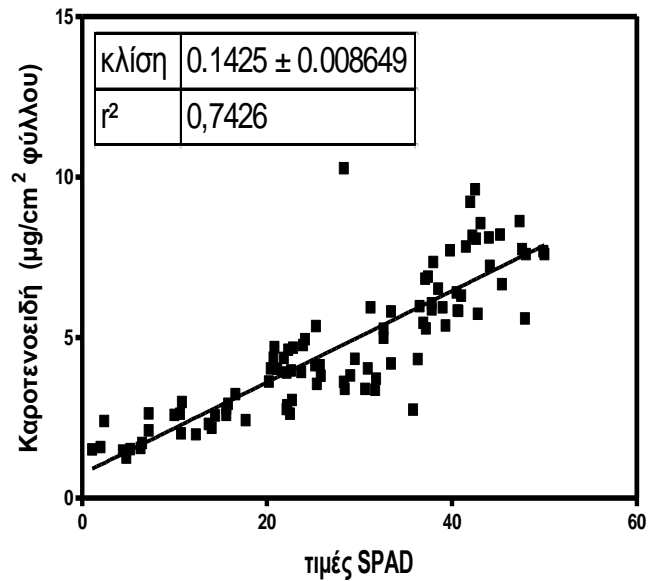
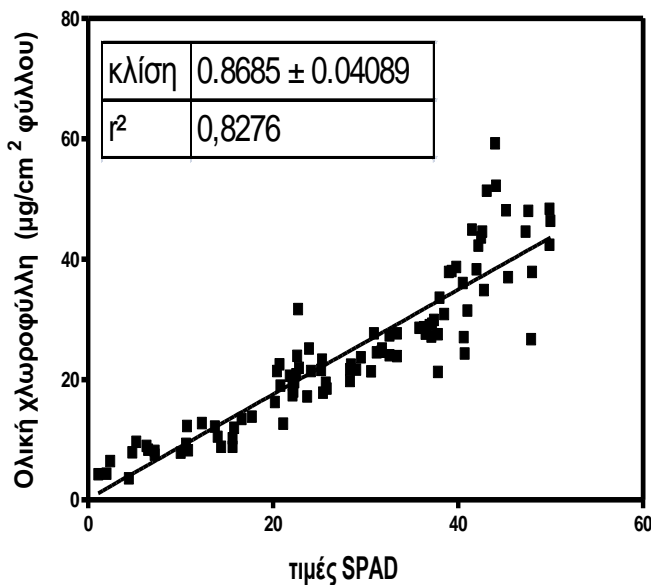
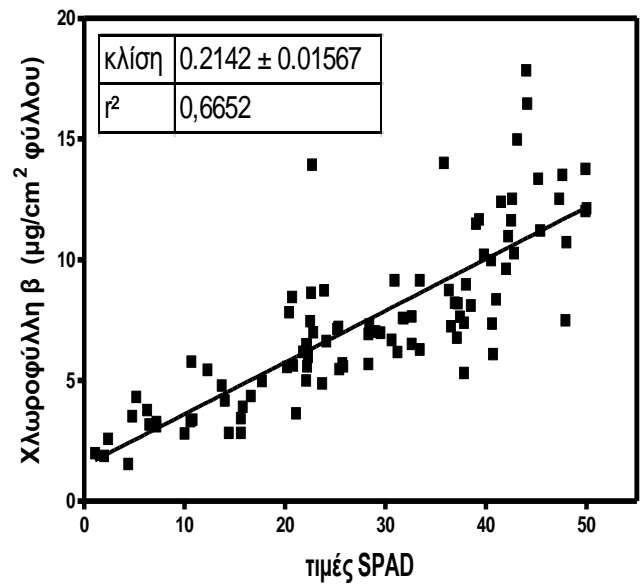
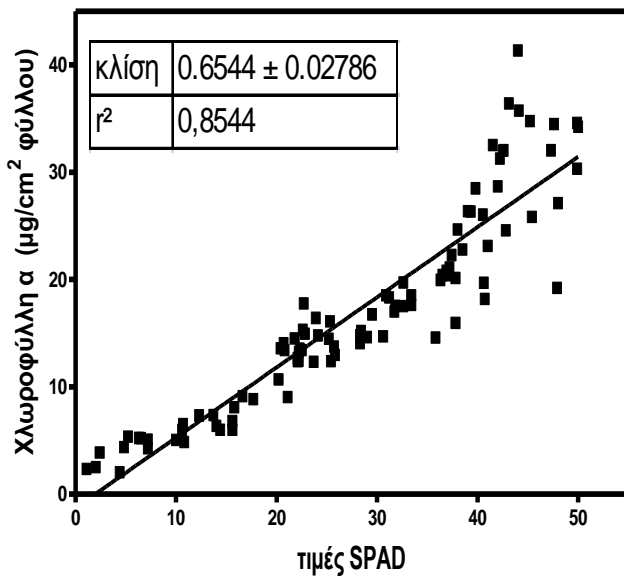
Εικόνα 15. Σχέση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης β και της τιμής SPAD για τις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Sauvignon blanc, Σαββατιανό. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Επίσης, δίνεται η αριθμητική τιμή της κλίσης της ευθείας και ο συντελεστής προσδιορισμού (r^2).



Εικόνα 16. Σχέση της συγκέντρωσης της ολικής χλωροφύλλης και της τιμής SPAD για τις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Sauvignon blanc, Σαββατιανό. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Επίσης, δίνεται η αριθμητική τιμή της κλίσης της ευθείας και ο συντελεστής προσδιορισμού (r^2).



Εικόνα 17. Σχέση της συγκέντρωσης των καροτενοειδών και της τιμής SPAD για τις ποικιλίες Σουλτανίνα, Cabernet sauvignon, Sauvignon blanc, Σαββατιανό. Η συγκέντρωση δίνεται ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Επίσης, δίνεται η αριθμητική τιμή της κλίσης της ευθείας και ο συντελεστής προσδιορισμού (r^2).



Εικόνα 18. Δίνονται οι τελικές ευθείες γραμμικής παλινδρόμησης για τις συγκεντρώσεις (τιμές SPAD και από εκχύλιση), μία για κάθε είδος χρωστικής, καθώς επίσης και οι αριθμητικές τιμές των κλίσεων των ευθειών και οι συντελεστές προσδιορισμού (r^2).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Φωτοσυνθετικές χρωστικές στη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων

Η φωτοσυνθετική λειτουργία του φύλλου είναι το αθροιστικό αποτέλεσμα της δράσης όλων των φωτοσυνθετικών χρωστικών που περιέχει. Βάσει αυτού, είναι πιο χρήσιμο, στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, σημείο αναφοράς να είναι η ποσότητα (μg) των χρωστικών ανά μονάδα επιφάνειας (cm^2) του φύλλου. Έτσι, γίνεται μια πιο αντιπροσωπευτική προσέγγιση του συνολικού φωτοσυνθετικού δυναμικού των φύλλων και του όλου φυτού γενικότερα. Άλλωστε, και η πλειονότητα των μελετών που ήδη υπάρχουν, αναφέρεται επίσης σε μονάδες επιφάνειας. Και οι τέσσερις ποικιλίες που μελετήθηκαν παρουσίασαν παρόμοια πορεία συσσώρευσης των χρωστικών τους. Οι φωτοσυνθετικές, δηλαδή, χρωστικές, εμφάνισαν μια σταδιακή αύξηση στις συγκεντρώσεις τους, ως ένα σημείο, και μετά μείωση.

Ωστόσο, παρά αυτή τη γενική εικόνα, υπήρχαν διαφοροποιήσεις, που είχαν να κάνουν με την ποικιλία, το είδος της χρωστικής, το πλήθος των φύλλων του βλαστού με μέγιστες ή ελάχιστες συγκεντρώσεις και τη σχετική τους θέση με τους κόμβους που έφεραν ταξιανθία, το ρυθμό αύξησης ή μείωσης των συγκεντρώσεων, ενώ διαφορές υπήρξαν φυσικά και στις ποσότητες των συσσωρευμένων χρωστικών. Πρέπει να αναφερθεί πως η δειγματοληψία έγινε περί το τρίτο δεκάημερο του Μαΐου, που σημαίνει ότι, τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο, τα φύλλα είχαν ηλικία από 4 ως 8 ημέρες το νεότερο, έως 58 ως 65 ημερών το γηραιότερο, δηλαδή το πρώτο φύλλο από τη βάση του βλαστού. Όσον αφορά την ένταση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας, σαν δείκτης του αναπτυξιακού σταδίου του φύλλου, είναι γνωστό ότι το φύλλο της αμπέλου φτάνει το μέγιστο ρυθμό φωτοσύνθεσης περίπου 30 ως 40 ημέρες μετά την έκπτυξή του, και μετά ο ρυθμός μειώνεται (Kriedemann et al., 1970; Intrieri et al., 1992).

Όσον αφορά τις ποσότητες των χρωστικών που μετρήθηκαν, δεν διέφεραν πολύ από αυτές που έχουν αναφερθεί από άλλους ερευνητές για την άμπελο. Για την ολική χλωροφύλλη, οι τιμές κυμάνθηκαν είτε σε μικρό εύρος (31 ως 37 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για την ποικιλία Σουλτανίνα και 25 ως 36 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για την ποικιλία Σαββατιανό) είτε σε μεγαλύτερο (28 ως 46 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για την ποικιλία Cabernet sauvignon και 8 ως 26 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για την ποικιλία Chardonnay). Στη διεθνή βιβλιογραφία, αναφέρονται τιμές ολικής χλωροφύλλης περίπου 23,4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για τα φύλλα της ποικιλίας Chardonnay (Flexas et al., 2001), 14 ως 30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για την ποικιλία Σουλτανίνα (Liakopoulos et al., 2006) και 18 ως 38 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για την ποικιλία Pinot noir (Bertamini & Nedunchenzian, 2003). Επίσης, οι Medrano et al. (2002) αναφέρουν τιμές ολικής χλωροφύλλης του επιπέδου των 36 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ περίπου για τα φύλλα των ποικιλιών Tempranillo και Manto Negro, και οι Liakopoulos et al. (2006) 15 ως 38 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για τις ποικιλίες Αθήρι και Σιρίκι.

Ως προς τα ολικά καροτενοειδή, οι ποσότητες που μετρήθηκαν ήταν παρόμοιες με αυτές ορισμένων ερευνητών αλλά και μικρότερες άλλων. Οι τέσσερις ποικιλίες περιείχαν περίπου από 3 ως 7,5 μg καροτενοειδών ανά cm^2 . Οι Bertamini & Nedunchenzian (2003) αναφέρουν τιμές από 4,2 ως 7,3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για την ποικιλία Pinot noir, ενώ οι Medrano et al. (2002) περίπου 12,6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ για τα φύλλα των ποικιλιών Tempranillo και Manto Negro. Σχετικά με τις τιμές του λόγου χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β, η ποικιλία Σουλτανίνα εμφάνισε τιμές (1,25 ως 2) παραπλήσιες με αυτές των Liakopoulos et al. (2006) (1,8 ως 2,2). Γενικά, ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β κυμάνθηκε και για τις τέσσερις ποικιλίες από 1,2 ως 2,8 περίπου. Για τις ποικιλίες Αθήρι και Σιρίκι αναφέρονται επίσης τιμές από 1,6 ως 2,3 (Liakopoulos et al., 2006), ενώ υπάρχει αναφορά και για λίγο μεγαλύτερες τιμές, δηλαδή από 2,4 ως 4,6 (Pinot noir) (Bertamini & Nedunchenzian, 2003).

Σχετικά με την αναλογία χλωροφύλλη/καροτενοειδή, οι ποικιλίες Chardonnay και Σαββατιανό εμφάνισαν τιμές (4 ως 6) περίπου ίδιες με αυτές των Bertamini & Nedunchenzian (2003) (3,8 ως 5,7). Οι ποικιλίες Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon, ωστόσο, κινήθηκαν σε υψηλότερα επίπεδα, παίρνοντας τιμές από 5 ως 11. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται όμως και τιμές αρκετά χαμηλότερες. Οι Steel & Keller (2000) κατέγραψαν στις μετρήσεις τους τιμές γύρω στο 2 για τα φύλλα της ποικιλίας Riesling και οι Medrano et al. (2002) τιμές από 2,8 ως 3,2 για τα φύλλα των ποικιλιών Tempranillo και Manto Negro.

Η χλωροφύλλη α κυμάνθηκε σε μεγαλύτερο εύρος τιμών συγκεντρώσεων σε σχέση με τη χλωροφύλλη β. Επίσης, όσον αφορά πάντα τη χλωροφύλλη α, και οι τέσσερις μελετηθείσες ποικιλίες ξεκίνησαν από σχετικά χαμηλές τιμές, σημείωσαν ένα μέγιστο συγκέντρωσης περίπου στα φύλλα που είχαν ηλικία 35 ως 50 ημερών, και μετά μειώθηκαν. Το ίδιο περίπου ισχύει και για τη χλωροφύλλη β, όπου επίσης τα φύλλα που είχαν ηλικία 35 ως 50 ημερών εμφάνισαν αυξημένες συγκεντρώσεις, μικρότερες ωστόσο από τις αντίστοιχες της χλωροφύλλης α. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα, στην άμπελο, επιβεβαιώνονται και από άλλους ερευνητές (Marini & Marini, 1983; Hunter & Visser, 1989; Petrie et al., 2000; Bertamini & Nedunchezian, 2002+2003).

Η χλωροφύλλη β, όπως αναφέρθηκε, εμφάνισε μεγαλύτερη σταθερότητα σε σχέση με τη χλωροφύλλη α. Παρατηρήθηκαν επίσης, με εξαίρεση την ποικιλία Chardonnay, υψηλές συγκεντρώσεις χλωροφύλλης β στα 2 με 3 νεότερα φύλλα. Αυτό αποτυπώνεται και από τις αρχικά χαμηλές τιμές του λόγου χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β στα πρώτα φύλλα, ο οποίος όμως σταδιακά αυξάνεται, λόγω αύξησης της χλωροφύλλης α, παίρνει μέγιστη τιμή στα ώριμα φύλλα (35 ως 50 ημερών), και αργότερα είτε σταθεροποιείται (ποικιλία Σουλτανίνα) είτε μειώνεται (ποικιλίες Cabernet sauvignon και Σαββατιανό). Το χαμηλό περιεχόμενο χλωροφύλλης α σε νέα και ενήλικα φύλλα επιβεβαιώνουν και οι Fetdke (1973) και Diepenbrock & Geisler (1978). Οι Hunter & Visser (1989) και Kriedemann et al. (1970), επίσης, υποστηρίζουν πως η μείωση στο λόγο χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β στα φύλλα που βρίσκονται σε διαδικασία γήρανσης είναι κυρίως λόγω της

μείωσης της χλωροφύλλης α με την αύξηση της ηλικίας του φύλλου. Οι Kura-Hotta et al. (1987) και οι Watillon et al. (1993) παρατήρησαν επίσης πως η χλωροφύλλη α αποδομείται νωρίτερα και πιο γρήγορα σε σχέση με τη χλωροφύλλη β . Η μείωση της χλωροφύλλης στα ενήλικα φύλλα πιθανώς να σχετίζεται με αυξημένη δράση της χλωροφυλλάσης (Reddy & Vora, 1986).

Όσον αφορά τα νέα φύλλα, οι Pettigrew & Vaughn (1998) και Hopkins & Hüner (2004) υποστηρίζουν πως στην αρχή της ανάπτυξης των χλωροπλαστών δεν υπάρχουν πολλές ελεύθερες περιοχές, γι' αυτό και τότε η αναλογία χλωροφύλλη β /χλωροφύλλη α , και συνεπώς και η αναλογία φωτοσύστημα II/φωτοσύστημα I είναι μεγαλύτερη απ' ό,τι αργότερα. Λόγω του ότι σχεδόν όλη η χλωροφύλλη β απαντά στα σύμπλοκα πρωτεϊνών της αντέννας φωτοσυλλογής του φωτοσυστήματος II (Genge et al., 1974; Alberte & Thornber, 1974; Brown et al., 1975; Boardman et al., 1978), μπορούμε να εκτιμήσουμε το λόγο φωτοσύστημα I/φωτοσύστημα II μέσα από το λόγο χλωροφύλλη α /χλωροφύλλη β (Björkman, 1981; Gregory, 1989; Hall & Rao, 1999). Είναι επίσης γνωστό ότι το φωτοσύστημα II, συνεπώς και όλη σχεδόν η χλωροφύλλη β του φύλλου, εδράζονται σε περιοχές επαφής των θυλακοειδών (Hudak, 1997). Όσο αναπτύσσεται ο χλωροπλάστης, τόσο αυξάνουν οι ελεύθερες περιοχές, και συνεπώς και η χλωροφύλλη α . Ωστόσο, οι Hunter & Visser (1989) και Kriedemann et al. (1970) αναφέρουν ότι ο σχηματισμός χλωροφύλλης α προηγείται εκείνου της χλωροφύλλης β , με αποτέλεσμα ο αρχικός λόγος α/β να είναι υψηλός.

Όσον αφορά τη μείωση του λόγου χλωροφύλλη α /χλωροφύλλη β στα ενήλικα φύλλα, εκτός από τη μείωση της χλωροφύλλης α (Hunter & Visser, 1989), και συνεπώς και της ολικής χλωροφύλλης, πρέπει να λάβουμε υπ' όψη ότι τα κατώτερα φύλλα του βλαστού υφίστανται επίσης σκίαση ως ένα βαθμό, από τα ανώτερα φύλλα. Οι Björkman & Holmgren (1963) και ο Lichtenthaler (1981) επιβεβαιώνουν πως φύλλα τα οποία αναπτύσσονται υπό χαμηλή ακτινοβολία εμφανίζουν αύξηση της σχετικής συγκέντρωσης των αντέννων φωτοσυλλογής, και περισσότερο της αντέννας του φωτοσυστήματος II (Lichtenthaler et al., 1982; Leong & Anderson, 1983). Πράγματι, στα σκιαζόμενα φύλλα, υπάρχει μεγαλύτερη αναλογία φωτοσύστημα II/φωτοσύστημα I, η οποία συνήθως αντικατοπτρίζεται στην παρουσία περισσότερων grana, και στη μεγαλύτερη αναλογία περιοχών επαφής/ελεύθερες περιοχές των θυλακοειδών. Αυτή η αυξημένη περιεκτικότητα σε φωτοσύστημα II σχετίζεται με τον εμπλουτισμό του φωτός, που φτάνει στο σκιερό περιβάλλον, σε μήκη κύματος που αντιστοιχούν στο βαθύ ερυθρό. Το βαθύ ερυθρό θα διεγείρει περισσότερο το φωτοσύστημα I, το οποίο θα αποβάλλει με μεγαλύτερη ταχύτητα τα διεγερμένα ηλεκτρόνια. Για την ομαλή όμως λειτουργία της μη κυκλικής ροής ηλεκτρονίων, θα πρέπει τα δύο φωτοσυστήματα να διεγείρονται εξίσου. Δημιουργείται, επομένως, η ανάγκη μιας αυξημένης απορρόφησης του φωτοσυστήματος II στα σκιερά περιβάλλοντα, η οποία εξασφαλίζεται συνήθως με την αύξηση του μεγέθους των φωτοσυλλεκτικών μηχανισμών (Ridge, 2005). Επιχειρώντας να κάνουμε μια γενική εκτίμηση για την ενεργότητα των φωτοσυστημάτων, μέσα από το λόγο χλωροφύλλη α /χλωροφύλλη

β, θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα νέα φύλλα, καθώς και αυτά που βρίσκονται σε διαδικασία γήρανσης, εμφανίζουν μεγαλύτερη δραστηριότητα του φωτοσυστήματος II σε σχέση αυτά του μεσαίου τμήματος του βλαστού.

Όσον αφορά την ποικιλία Chardonnay, ναι μεν οι πορείες των χλωροφυλλών α και β είναι αναμενόμενες, ωστόσο η αναλογία τους (χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β) δε συμβαδίζει απολύτως με την υπάρχουσα βιβλιογραφία για την άμπελο. Ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β ξεκινά από υψηλές τιμές στα νέα φύλλα, και από εκεί κι έπειτα μειώνεται συνεχώς. Η παρατηρούμενη τάση μείωσης στα φύλλα 13 ως 16, ίσως να οφείλεται στο ότι στην ποικιλία Chardonnay, ως πιο πρώιμο, τα συγκεκριμένα φύλλα είναι πιο γηρασμένα από τα αντίστοιχα των άλλων ποικιλιών, οπότε είναι πιο φανερή η αποσύνθεση της χλωροφύλλης.

Η πορεία συσσώρευσης της ολικής χλωροφύλλης, για την ποικιλία Σουλτανίνα, έρχεται εν μέρει σε αντίθεση με την αντίστοιχη που κατέγραψαν οι Liakopoulos et al. (2006) για την ίδια ποικιλία. Οι παραπάνω ερευνητές παρατήρησαν πιο έντονη συσσώρευση χλωροφύλλης στα νέα φύλλα, με ένα μέγιστο συγκέντρωσης στα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα (8^ο ως 10^ο κόμβο από την κορυφή). Στην παρούσα εργασία σημειώθηκε και ένα δεύτερο μέγιστο συγκέντρωσης, στα πρώτα φύλλα. Οι Liakopoulos et al. (2006), επίσης, δεν παρατήρησαν μείωση της χλωροφύλλης στους κατώτερους κόμβους. Αυτό όμως ίσως να οφείλεται στο ότι οι συγκεκριμένοι ερευνητές ασχολήθηκαν με τους πρώτους δέκα κόμβους από την κορυφή, αφήνοντας ίσως μερικά φύλλα στη βάση των βλαστών. Επιπλέον, οι τιμές της ολικής χλωροφύλλης κυμάνθηκαν σε ελαφρά χαμηλότερο επίπεδο: 14 ως 30 μg/cm² αντί 31 ως 37 μg/cm² στην παρούσα εργασία. Επομένως, όσον αφορά την ολική χλωροφύλλη, η ποικιλία Σουλτανίνα διαφοροποιείται από τις υπόλοιπες ποικιλίες και από την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία, παρουσιάζοντας και ένα δεύτερο μέγιστο συγκέντρωσης, στο 3^ο φύλλο, ίδιας τάξης μεγέθους με το μέγιστο συγκέντρωσης που παρατηρείται στα ώριμα φύλλα.

Επιπρόσθετα, για το λόγο χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β, αν και κινήθηκε σε παραπλήσιες τιμές, οι Liakopoulos et al. (2006) κατέγραψαν συνεχή μείωση στους πρώτους δέκα κόμβους, σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη, όπου παρατηρήθηκε αρχικά αύξηση και μετά σταθεροποίηση των τιμών. Για τις ποικιλίες Cabernet sauvignon, Chardonnay και Σαββατιανό, ο μέγιστος λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β επιτυγχάνεται νωρίτερα από τη μέγιστη συγκέντρωση ολικής χλωροφύλλης, πράγμα το οποίο έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες εργασίες πάνω στην άμπελο (Candolfi-Vasconelos & Koblet, 1991). Για την ποικιλία Σουλτανίνα, ωστόσο, η συμπεριφορά αυτή δεν επαληθεύθηκε.

Τα καρτενοειδή εμφάνισαν και αυτά μια σταδιακή αύξηση, άλλοτε μικρότερη (ποικιλίες Chardonnay και Σαββατιανό) και άλλοτε μεγαλύτερη (ποικιλίες Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon), ως μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα, και μετά

μειώθηκαν. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με αυτά των Bertamini & Nedunchenzian (2003). Ωστόσο, η αναλογία τους με την ολική χλωροφύλλη, δηλαδή ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή, παρουσιάζει κάποιες ιδιομορφίες. Οι ποικιλίες Chardonnay και Σαββατιανό παρουσίασαν πορεία τιμών ανάλογη με αυτή που παρατήρησαν και οι παραπάνω ερευνητές. Σταδιακή δηλαδή αύξηση, με μέγιστη τιμή στα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα, και μετά μείωση. Η μείωση του λόγου ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή στα μεγάλης ηλικίας φύλλα εξηγείται από την αναλογικά μικρότερης έκτασης αποσύνθεση των καροτενοειδών σε σχέση με τις χλωροφύλλες. Πράγματι, τα καροτενοειδή θεωρούνται πιο σταθερά σε σχέση με τις χλωροφύλλες (Matile, 1992), και αυτό έχει παρατηρηθεί και στα φύλλα της αμπέλου (Bertamini & Nedunchenzian, 2003) όπου ο ρυθμός αποικοδόμησης των καροτενοειδών μεταξύ ωριμότητας και γήρανσης ήταν 29%, ενώ ο αντίστοιχος των χλωροφυλλών ήταν 54%.

Ωστόσο, στις ποικιλίες Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon, ο λόγος ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή εξελίσσεται διαφορετικά. Ξεκινά με αρκετά μεγάλες, και μάλιστα μέγιστες, τιμές στα νέα φύλλα. Οι τιμές αυτές κυμαίνονται γύρω στο 11, ενώ στις μέχρι τώρα αναφορές για τα φύλλα της αμπέλου ο λόγος αυτός κυμαίνεται από 3 ως 6. Οι υψηλές αυτές τιμές ακολουθούνται από απότομη μείωση στο 5 ως 6, και διατηρούνται στο επίπεδο αυτό για τα επόμενα 6 με 7 φύλλα. Στα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα (35 ως 50 ημερών), σημειώνεται μια μικρή ανάκαμψη των τιμών.

4.2. Μέτρηση της συγκέντρωσης των χρωστικών με το χλωροφυλλόμετρο SPAD

Το χλωροφυλλόμετρο SPAD δείχνει την απορρόφηση του συνόλου των χλωροφυλλών του φύλλου που καλύπτει κατά τη λήψη της μέτρησης. Ουσιαστικά, δηλαδή, η αναφορά γίνεται σε μονάδες επιφάνειας, και γι' αυτό και οι τιμές των χρωστικών που προέκυψαν από την εκχύλιση εκφράστηκαν ως μg ανά cm^2 φύλλου. Επιπλέον, οι αναφορές στη χλωροφύλλη α , τη χλωροφύλλη β , και τα καροτενοειδή μόνο έμμεσες μπορούν να είναι, λόγω της συσχέτισής τους με την ολική χλωροφύλλη.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα, και κυρίως τις κλίσεις των ευθειών που προέκυψαν, θα έπρεπε, θεωρητικά, η συσκευή να μην διαφοροποιεί την κάθε ποικιλία ως προς τη μέτρηση μιας συγκεκριμένης χρωστικής. Θα έπρεπε, δηλαδή, εφόσον η συσκευή μετρά όλες τις χλωροφύλλες που περιέχονται σε μια επιφάνεια, μια τιμή SPAD, π.χ. 40, να σημαίνει αυτόματα και μια συγκεκριμένη ποσότητα χλωροφύλλης που προέκυψε από εκχύλιση, είτε αυτή η τιμή SPAD αφορά την ποικιλία Cabernet sauvignon, Σαββατιανό, ή άλλη ποικιλία. Βάσει της λογικής λοιπόν, θα πρέπει, ανεξαρτήτως ποικιλίας, να υπάρχει μια εξίσωση, διαφορετική για κάθε χρωστική, που να προβλέπει την πραγματική (εκχυλίσιμη) ποσότητα της χρωστικής μιας φυλλικής επιφάνειας, μέσα από την τιμή που δίνει για αυτή την επιφάνεια το Minolta SPAD. Αν θεωρήσουμε ότι οι ευθείες

περιγράφονται από τη σχέση $\psi = \alpha + \beta \cdot \chi$, θα έπρεπε για κάθε χρωστική ξεχωριστά, όμως για όλες τις ποικιλίες, να υπάρχει κοινό α και β .

Αυτά τα α και β , ουσιαστικά δηλαδή η απόσταση από τον άξονα των χ και η κλίση της ευθείας παλινδρόμησης αντίστοιχα, ήταν παραπλήσια (ανά χρωστική) για τις τέσσερις ποικιλίες στην παρούσα εργασία, δεν ήταν όμως ακριβώς τα ίδια. Κι αυτό πιθανώς γιατί ιδιαίτερα ανατομικά χαρακτηριστικά του φύλλου κάθε ποικιλίας, όπως τα τριχίδια, η πομφολύγωση κ.ά., αλλά και ατέλειες του οργάνου, συμβάλλουν στην αλλοίωση των μετρήσεων και κατ'επέκταση των αποτελεσμάτων. Οι Steele et al. (2008) αναφέρουν πως το Minolta SPAD έχει μικρότερη ακρίβεια όταν η συγκέντρωση της χλωροφύλλης είναι μεγαλύτερη από 30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ φύλλου.

Με συγκριτική παρατήρηση των ευθειών, γίνεται φανερό μια ομοιότητα ανά χρωστική, ωστόσο, οι ευθείες δεν ταυτίζονται. Από συμψηφισμό των τιμών που αντιστοιχούσαν σε κάθε ποικιλία προέκυψε μία ευθεία για κάθε χρωστική. Επιπλέον, για κάθε περίπτωση υπολογίστηκε ο συντελεστής προσδιορισμού (r^2), ο οποίος είναι το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης (r). Είναι γνωστό ότι το r παίρνει τιμές από -1 ως 1, συνεπώς το r^2 παίρνει τιμές από 0 ως 1. Όσο πιο υψηλές τιμές λαμβάνει το r^2 , δηλαδή τιμές πιο κοντά στη μονάδα, τόσο πιο καλά συσχετισμένα είναι τα δύο μεγέθη, που στην συγκεκριμένη περίπτωση είναι από τη μια οι τιμές SPAD και από την άλλη οι συγκεντρώσεις ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) από τις εκχυλίσσεις. Γενικά, οι τιμές του r^2 θεωρούνται ικανοποιητικές, καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις ήταν άνω του 0,85. Εξάιρεση αποτελούν οι συσχετίσεις που αντιστοιχούν στις χρωστικές του Σαββατιανού, που κυμάνθηκαν από 0,2 ως 0,7. Συνολικά, οι τιμές του r^2 ήταν 0,85 για τη χλωροφύλλη α , 0,61 για τη χλωροφύλλη β , 0,81 για την ολική χλωροφύλλη και 0,7 για τα καροτενοειδή.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

A. Φωτοσυνθετικές χρωστικές στη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων στην άμπελο

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι:

I) Οι συγκεντρώσεις των χρωστικών ανά μονάδα νωπού βάρους φύλλου ήταν ανάλογες με αυτές ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Τα φύλλα, δηλαδή, που είχαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις χρωστικών ανά μονάδα νωπού βάρους, είχαν αντίστοιχα και μεγαλύτερες συγκεντρώσεις χρωστικών ανά μονάδα επιφάνειας. Ωστόσο, τα νέα φύλλα (τρία φύλλα της κορυφής των βλαστών) περιείχαν ανά μονάδα νωπού βάρους περισσότερες χλωροφύλλες α και β σε σχέση με τα υπόλοιπα φύλλα. Αυτό ήταν πιο έντονο στην ποικιλία Σουλτανίνα.

II) Όσον αφορά τις τιμές των συγκεντρώσεων των χρωστικών:

1) Σε όλο το μήκος του βλαστού, η ποικιλία Chardonnay συσσωρεύσε στα φύλλα του τις λιγότερες χρωστικές, σε σχέση με τις άλλες τρεις ποικιλίες.

2) Στο κατώτερο τμήμα του βλαστού, δηλαδή στα 4 με 5 φύλλα της βάσης, η ποικιλία Cabernet sauvignon σημείωσε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις χρωστικών, ενώ οι ποικιλίες Chardonnay και Σαββατιανό είχαν μικρότερες και παραπλήσιες συγκεντρώσεις μεταξύ τους.

3) Στο μεσαίο τμήμα του βλαστού, δηλαδή μεταξύ του 4^{ου} και 10^{ου} κόμβου από την κορυφή του βλαστού, όλες οι ποικιλίες σημείωσαν παρόμοιες συγκεντρώσεις ανά χρωστική.

4) Στα τρία πρώτα φύλλα της κορυφής των βλαστών, η ποικιλία Σουλτανίνα περιείχε τις περισσότερες χλωροφύλλες. Οι ποικιλίες Cabernet sauvignon και Σαββατιανό σημείωσαν παραπλήσιες συγκεντρώσεις χλωροφυλλών α και β και ολικής χλωροφύλλης σε αυτή τη περιοχή του βλαστού. Η ποικιλία Σαββατιανό περιείχε τα περισσότερα καροτενοειδή στα τρία πρώτα φύλλα της κορυφής των βλαστών, ενώ οι ποικιλίες Cabernet sauvignon και Σουλτανίνα δεν διέφεραν στα φύλλα αυτά ως προς τη συγκέντρωση των καροτενοειδών.

III) Όσον αφορά την πορεία συσώρευσης των χρωστικών:

1) Γενικά, παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης των συγκεντρώσεων των χρωστικών ως μια μέγιστη τιμή συγκέντρωσης, και μετά μείωση. Η μέγιστη αυτή τιμή συγκέντρωσης χρωστικών παρατηρήθηκε στα φύλλα 10 ως 14, ξεκινώντας την αρίθμηση από τη κορυφή του βλαστού. Τα φύλλα αυτά είχαν ηλικία 35 ως 50 ημερών, ήταν δηλαδή πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα.

2) Υπήρχαν ωστόσο και κάποιες διαφοροποιήσεις. Η ποικιλία Σουλτανίνα σημείωσε και δεύτερη μέγιστη τιμή συγκέντρωσης χλωροφυλλών α και β στα τρία πρώτα φύλλα της κορυφής των βλαστών. Το ίδιο βρέθηκε και για τα καροτενοειδή του Σαββατιανού.

IV) Όσον αφορά το λόγο χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β οι ποικιλίες Σαββατιανό, Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon σημείωσαν αύξηση από την κορυφή του βλαστού ως το 5^ο φύλλο και μετά σταθεροποίηση ή μείωση. Ο λόγος χλωροφύλλη α/χλωροφύλλη β έλαβε τις

ελάχιστες τιμές του στα νέα και τα ενήλικα φύλλα, πράγμα που σημαίνει ότι τα φύλλα αυτά εμφανίζουν μεγαλύτερη αναλογία σε σύμπλοκα του φωτοσυστήματος II σε σχέση με τα φύλλα ενδιάμεσης ηλικίας. Ωστόσο, στην ποικιλία Chardonnay εμφάνισε μικρή αλλά συνεχή μείωση από τη κορυφή ως τη βάση του βλαστού.

V) Ως προς το λόγο ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή, οι ποικιλίες Σουλτανίνα και Cabernet sauvignon σημείωσαν αρκετά υψηλές τιμές στα τρία πρώτα φύλλα της κορυφής των βλαστών, απότομη μείωση και σταθεροποίηση των τιμών από το 6^ο φύλλο (από την κορυφή) ως τη βάση του βλαστού. Οι ποικιλίες Chardonnay και Σαββατιανό εμφάνισαν σταδιακή αύξηση του λόγου ολική χλωροφύλλη/καροτενοειδή, μέγιστη τιμή στο 7^ο με 10^ο φύλλο από την κορυφή, και μετά μείωση.

VI) Γενικά, η χλωροφύλλη α εμφάνισε μέγιστες τιμές συγκεντρώσεων στα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα, ενώ η χλωροφύλλη β εμφανίστηκε αυξημένη τόσο στα νέα όσο και στα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα.

VII) Τα καροτενοειδή, αν και ακολούθησαν παρόμοια πορεία με τις χλωροφύλλες, κυμάνθηκαν σε μικρότερο εύρος τιμών συγκεντρώσεων.

B. Μέτρηση της συγκέντρωσης των φωτοσυνθετικών χρωστικών με το χλωροφυλλόμετρο SPAD

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι:

Οι ευθείες γραμμικής παλινδρόμησης που περιγράφουν τη σχέση μεταξύ τιμών SPAD και των συγκεντρώσεων των χρωστικών (μετά από εκχύλιση), είναι αρκετά αξιόπιστες, εφόσον οι τιμές του r^2 (τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης) στις περισσότερες περιπτώσεις ήταν άνω του 0,85. Εξαιρέση αποτελούν οι συσχετίσεις που αντιστοιχούν στις φωτοσυνθετικές χρωστικές του Σαββατιανού, που κυμάνθηκαν από 0,2 ως 0,7. Συνολικά, οι τιμές του r^2 ήταν 0,85 για τη χλωροφύλλη α, 0,61 για τη χλωροφύλλη β, 0,81 για την ολική χλωροφύλλη και 0,7 για τα καροτενοειδή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Αϊβαλάκις Γ, Καραμπουρνιώτης Γ, Φασσέας Κ (2005) Γενική Βοτανική, Εκδόσεις ΕΜΒΡΥΟ
2. Alberte RS, Thornber JP (1974) *Plant Physiol Suppl* 53:47
3. Araus JL, Labrana X (1991) *Photosynthetica* 25:33
4. Bertamini M, Nedunchezian N (2002) *J Plant Physiol* 159:799–803
5. Bertamini M, Nedunchezian N (2003) *Vitis* 42 (1), 13–17
6. Björkman O (1981a) In: *Encyclopedia of plant physiology vol 12a: Physiological plant ecology* I, pp 57–107, Springer, Berlin Heidelberg, New York
7. Björkman O, Holmgren P (1963) *Physiol Plant* 16:889-914
8. Boardman NK, Anderson JM, Goodchild DJ (1978) In: *Current topics in bioenergetics*, vol 8, pp 35–109, New York, Academic Press
9. Bozarth CS, Kennedy RA, Schekel KA (1982) *J Amer Soc Hort Sci*, 107:707
10. Brown JS, Alberte RS, Thornber JP (1975) In: (M. Avron ed) *Proc 3rd Int Congr Photosynthesis*, Elsevier, Amsterdam, vol 3, pp 1951-1962
11. Γαλάτης Β, Γανωτάκης Δ, Γκανή-Σπυροπούλου Κ, Καραμπουρνιώτης Α, Κοτζάμπασης Κ, Κωνσταντινίδου Ε-Ι, Μανέτας Ι, Ρουμπελάκη-Αγγελάκη ΑΚ (2003) *Φυσιολογία Φυτών, Από το μόριο στο περιβάλλον*, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο
12. Candolfi-Vasconelos MC, Koblet W (1991) *Vitis* 30:129
13. Costes C, Burghoffer C, Joyard J, Block M, Douce R (1979) *Febs Lett* 103, 17-21
14. Datt B (1999) *Int J Remote Sens* 20:2741-2759
15. Ελευθερίου ΕΠ (2007) *Βοτανική βιολογία φυτικού κυττάρου και ιστολογία φυτών*. University Studio Press
16. Diepenbrock W, Geisler G (1978) *Untersuchungen zur Bedeutung der Fruchtwand der Rapsschote als Organ der Assimilatbildung und als al*
17. Douce R, Holtz RB, Benson AA (1973) *J Biol Chem* 248, 7215–7222
18. Fedtke C (1973) *Pestic Sci* 4, 653-664
19. Filella I, Serrano I, Serra J, Penuelas J (1995) *Crop Sci* 35:1400-1405
20. Flexas J, Hendrickson L, Wah Soon Chow (2001) *Aust J Plant Physiol*, 28, 755–764
21. Foyer CR, Leegood, Walker D (1982) *Nature* 298:326
22. Genge S, Pilger D, Hiller RG (1974) *Biochim Biophys Acta* 347: 22-30
23. Ghirardi ML, McCauley SW, Melis A (1986) *Biochim Biophys Acta*, 851:331
24. Gitelson AA, Viña A, Rundquist DC, Ciganda V, Arkebauer TJ (2005) *Geophys Res Lett* 32:L08403
25. Gregory RPF (1989) *Biochemistry of Photosynthesis*. 3rd edition, Wiley Publications

26. Hall D, Rao KK (1999) Photosynthesis. 6th edition, Cambridge University Press
27. Hendry GAF, Houghton JD, Brown SB (1987) *New Phytol* 107:255-302
28. Hopkins WG, Hüner NPA (2004) In: Hopkins WG, Hüner NP, eds. Introduction to plant physiology, New York, NY, USA, John Wiley, 75–76
29. Hudak (1997) In: Handbook of Photosynthesis, by Mohammad Pessarakli, Dekker Publications, 1st edition
30. Hunter JJ, Visser JH (1989) *S Afr J Enol Vitic* 10: 67–73
31. Intrieri C, Poni S, Silvestroni O, Filippetti I (1992) *Adv Hort Sci*, 6 : 23-27
32. Jeffrey SW, Douce R, Benson AA (1974) *Proc Natl Acad Sci, USA* 71, 807–810
33. Junge W (1977) In: Trebst A, Avron M (eds), *Encycl Plant Physiol, New Series*, vol 5, Berlin/Heidelberg, New York, 59–93
34. Kamachi K, Yamaya T, Mae T, Ojima K (1991) *Plant Physiol* 96:411
35. Kluge S, Frommhold I (1991) *Biochem Physiol Pflanzen* 187:323
36. Kriedemann PE, Kliewer WM, Harris JM (1970) *Vitis* 9:97-104
37. Krinsky NI (1971a) *Function In Carotenoids* (O Isler ed.) pp 669-716
38. Kumar HD, Singh HN (1979) *Plant metabolism* (the McMillan Press L.T.D.) pp 85-112
39. Kura-Hotta M, Satoh K, Katoh S (1987) *Plant Cell Physiol* 28:1321
40. Leong TY, Anderson JM (1983) *Biochim Biophys Acta* 766, 533–541
41. Ley AC (1986) In: *Photosynthesis Research*, vol 10, pp 189-196, Martinus, Nijhoff, Dodrecht
42. Liakopoulos G, Nikolopoulos D, Klouvatou A, Vekkos KA, Manetas Y, Karabourniotis G (2006) *Annals of Botany* 98: 257–265
43. Lichtenthaler HK (1977) *Tevini & Lichtenthaler eds*, pp 231, Springer-Verlag, Berlin and New York
44. Lichtenthaler HK (1987) *Methods Enzymol* 148:350-382
45. Lichtenthaler HK, Buschmann C, Doll M, Fietz HJ, Bach T, Kozel U, Ramsdorf U (1981) *Photosynth Res* 2, 115
46. Lichtenthaler HK, Kuhn G, Prenzel U, Meier D (1982) *Physiol Plant* 56:183
47. Mackender RO, Leech RM (1970) *Nature* 228, 1347-134
48. Marini RP, Marini MC (1983) *J Am Soc Hortic Sci* 108:600-605
49. Matile P (1992) In: Baker NR, Thomas H, eds *Crop Photosynthesis: Spatial and Temporal Determinants*, Amsterdam, Elsevier, 413-440
50. Mauzerall D, Greenbaum LN (1989) *Biochimica et Biophysica Acta*, 974:119-140
51. Medrano H, Bota J, Abatia A, Sampol B, Escalona J, Flexas J (2002) *Funct Plant Biol*, 29, 1197-1207
52. Merzlyak MN, Gitelson AA (1995) *J Plant Physiol* 145:315-320

53. Merzlyak MN, Gitelson AA, Chivkunova OB, Rakitin VY (1999) *Physiol Plant* 106:135-141
54. Monteith JL (1972) *J Appl Eco* 19:744-766
55. Neuburger A, Scott JJ (1953) *Nature* 172(4389):1093–1094
56. Peñuelas J, Filella I (1998) *Trends Plant Sci* 3:151-156
57. Pessaraki M (1997) *Handbook of Photosynthesis*, Dekker Publications, 1st edition
58. Peter GF, Thornber JP (1991) In: *Methods in Plant Biochemistry*, vol 5, Academic Press, London, pp 195
59. Petrie PE, Trought MCT, Howell GS (2000) *Vitis* 39:31–36
60. Pettigrew WT, Vaughn KC (1998) *Protoplasma* 202:23–37
61. Poincelot RP (1973) *Arch Biochem Biophys* 159: 134-142
62. Poni S, Intrieri C, Silvestroni O (1994) *Amer J Enol Viticult* 45:278–284
63. Ram S, Sharma A, Sengupta UK (1994) *Photosynthetica* 30:53
64. Reddy MP, Vora AB (1986) *Photosynthetica* 20:50–55
65. Ridge Irene (2005) *Φυσιολογία Φυτών*, Εκδόσεις ΙΩΝ
66. Seybold A, Egle K (1970) *Planta* 26, 491
67. Sieffermann-Harms D, Joyard J, Douce R (1978) *Plant Physiol* 61, 530-533
68. Sobrado MA (1992) *Photosynthetica* 26:445
69. Somersalo S, Aro EM (1987) *Photosynthetica* 21:29
70. Steel CC, Keller M (2000) 14th International Symposium on Plant Lipids held at Cardiff University
71. Steele M, Gitelson A, Rundquist D (2008) *Am J Enol Vitic* 59:3
72. Thombre RR, Karadge BA (1991) *Photosynthetica* 25:517
73. Vainstein A, Peterson C, Thornber JP (1989) *J Biol Chem* 264:4058
74. Watillon B, Kettmann R, Boxus P, Burny A (1993) *Plant Mol Biol* 23:501
75. Willstatter R, Stoll A (1913) *Untersuchungen uber Chlorophyll*, Springer-Verlag, Berlin
76. Xu S, Miao Y, Hu B, Liu X, Zhu C (1993) *Acta Biophys Sin* 9:458