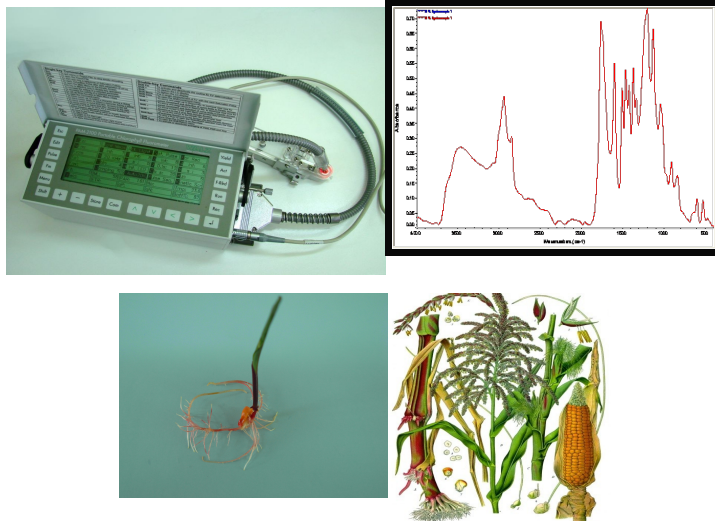




Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας
Τομέας Βιολογίας Φυτών
Εργαστήριο Φυσιολογίας & Μορφολογίας Φυτών
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Βιοτεχνολογία & Εφαρμογές στη Γεωπονία»
Κατεύθυνση: Μοριακή Οικολογία & Ανίχνευση Γενετικά Τροποποιημένων
Οργανισμών



«Μελέτη της διαδικασίας λιγνινοποίησης στους διάφορους ιστούς νεαρών φυτών αραβοσίτου κατά την ανάπτυξή τους σε στάσιμο νερό»

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Κ ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ

Επιβλέπων:

Μπουράνης Δημήτριος

Καθηγητής

Εργαστήριο Μορφολογίας και Φυσιολογίας Φυτών

Μεταπτυχιακή εργασία

Αθήνα 2010

**Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας
Τομέας Βιολογίας Φυτών
Εργαστήριο Φυσιολογίας & Μορφολογίας Φυτών
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Βιοτεχνολογία & Εφαρμογές στη Γεωπονία»
Κατεύθυνση: Μοριακή Οικολογία & Ανίχνευση Γενετικά Τροποποιημένων
Οργανισμών**

**«Μελέτη της διαδικασίας λιγνινοποίησης στους διάφορους
ιστούς νεαρών φυτών αραβοσίτου κατά την ανάπτυξή τους σε
στάσιμο νερό»**

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Κ ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ

**Επιβλέπων:
Μπουράνης Δημήτριος
Καθηγητής
Εργαστήριο Μορφολογίας και Φυσιολογίας Φυτών**

**Μεταπτυχιακή εργασία
Αθήνα 2010**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην συγκεκριμένη μεταπτυχιακή εργασία μελετήθηκε η ανάπτυξη νεαρών φυτών αραβόσιτου κάτω από συνθήκες πλήρους έλλειψης θρεπτικών και υποξίας. Προσδιορίστηκαν διάφορα στοιχεία της βιομάζας όπως η νωπή, η ξηρή μάζα, η περιεκτικότητα των φυτομερών σε φαινολικά παράγωγα και η φωτοχημική ικανότητα των φύλλων.

Κατά την ανάλυση των μετρήσεων βρέθηκε ότι ο σπόρος έχει την ικανότητα να υποστηρίξει την ανάπτυξη του φυτού για τις πρώτες 13 ημέρες. Από το χρονικό σημείο αυτό και έπειτα η νωπή και η ξηρή του μάζα παραμένει σταθερή. Τα φαινολικά παράγωγα του σπόρου παρουσιάζουν προοδευτική μείωση μέσα στις πρώτες δύο εβδομάδες. Η πρωτογενής ρίζα σταματά να αυξάνει την ξηρή μάζα από την αρχή της 2^{ης} εβδομάδας ενώ τα φαινολικά της παράγωγα αυξάνονται προς το τέλος της 2^{ης} εβδομάδας και ακολουθούν πτωτική πορεία την 3^η εβδομάδα. Στις δευτερογενείς ρίζες τα φαινολικά παράγωγα εμφάνισαν τύπο εναλλαγής αύξηση-μείωση-αύξηση από το χρονικό σημείο που εκπύχθηκαν με συνέπεια να εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα φαινολικών την 4^η εβδομάδα. Οι βλαστογενείς ρίζες εμφανίζουν αύξηση της ξηρής τους μάζας σε δύο φάσεις, η δεύτερη συμπίπτει χρονικά με την εμφάνιση της δεύτερης σειράς βλαστογενών αρχές της 3^{ης} εβδομάδας. Η περιεκτικότητά τους σε φαινολικά παράγωγα ακολουθεί την εναλλαγή αύξηση-σταθεροποίηση-αύξηση και μοιάζει με εκείνη της πρωτογενούς ρίζας κατά τις πρώτες δύο εβδομάδες σε ποσοτικό επίπεδο και ρυθμό. Ο βλαστός αυξάνει την ξηρή μάζα του έντονα την 1^η εβδομάδα και μετά την διατηρεί σταθερή, φαίνεται ότι το φυτό πριμοδοτεί το όργανο αυτό σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα. Στο εμβρυακό φύλλο η ξηρή μάζα εμφανίζει μέγιστες τιμές έως τα μισά της δεύτερης εβδομάδας από εκεί και ύστερα εμφάνισε δύο χαρακτηριστικές φάσεις μείωσης της ξηρής μάζας του. Η περιεκτικότητα των φαινολικών παραγώγων του εμβρυακού φύλλου διπλασιάζεται την 4^η εβδομάδα από την εκπύξη του. Η φωτοχημική ικανότητα του μηδενίζεται την 13^η ημέρα, από εκεί και ύστερα το φύλλο παύει να είναι λειτουργικό. Το Πρώτο φύλλο παρόλο που εμφανίζεται μαζί με το εμβρυακό διατηρεί την φωτοχημική του ικανότητα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, παύει να είναι λειτουργικό την 24^η ημέρα. Η περιεκτικότητά σε φαινολικά είναι αυξημένη την 1^η εβδομάδα ενώ την 2^η εμφάνισε αρνητικό ρυθμό μεταβολής. Ωστόσο από την 3^η εβδομάδα και ύστερα διατήρησε την περιεκτικότητά των

φαινολικών του σταθερή. Στο δεύτερο φύλλο η φωτοχημική ικανότητα παρέμεινε σταθερή για 11 ημέρες και μετά μειώθηκε προοδευτικά κατά την διάρκεια της 4^η εβδομάδας. Η περιεκτικότητα σε φαινολικά παράγωγα ακολούθησε την εναλλαγή αύξηση-σταθεροποίηση-αύξηση. Στο τρίτο φύλλο η ξηρή μάζα του κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα. Η περιεκτικότητα σε φαινολικά χαρακτηρίστηκε από μια παρατεταμένη στάσιμη κατάσταση την οποία την διαδέχθηκε φάση αύξησης. Η στάσιμη κατάσταση χαρακτηρίζεται από σταθερή φωτοχημική ικανότητα ενώ η φάση αύξησης των φαινολικών από μείωση της φωτοχημικής ικανότητας.

Summary

In the particular postgraduate work was studied the growth of young plants of maize under conditions of stagnant water and complete lack of nutrients. Various parameters of biomass like the fresh mass, the dry mass, the content of different parts of plant in phenolic derivatives and the light chemical ability of leaves.

It was found from the analysis of measurements that the seed has the ability to support the growth of plant for the first 13 days. From this point and then, his fresh and dry mass remains constant. The phenolic derivatives of seed, shows progressive reduction within the first two weeks. The primary root stops to increase the dry mass from the start of 2nd week while the phenolic derivatives are increased in the end of 2nd week and they are reduced at the 3rd week. In the secondary roots the phenolic derivatives showed type of growth: increase-reduction-increase from the time of their showed and they present higher levels of phenolic derivatives at the 4th week. The nodal roots shows increase in dry mass in two phases and the second phase starts at the same time point with the appearance of the second nodal roots at beginning of the 3rd week. Their content in phenolic derivatives follows the growth type: increase-stabilisation-increase and resembles with that of the primary root at the first two weeks in quantitative level and rhythm. The Dry mass of stem is increased during the first week and afterwards remains steady. It appears that the plant subsidises this organ among the others. The dry mass of the embrionic leaf shows highest prices till the half of second week and later shows two characteristic phases of reduction of its dry mass. The phenolic derivatives of embrionic leaf are doubled at the 4th week from their showed. Its light chemical ability is dropped to zero at the 13nth day. After that point, the leaf became not functional. The first leaf even it is showed at the same time with the embrionic leaf keeps its light chemical ability for more time and ceases its function the 24nth day. The phenolic content of the first leaf is increased the 1rst week while at the second week it showed negative rhythm of change. Nevertheless from the 3rd week and later the phenolic contents remained steady. In the second leaf the light chemical ability remained constant for 11 days and afterwards was decreased progressively at the duration of the 4rth week. The phenolic derivatives content followed the type growth: increase-stabilisation-increase. In the third leaf its dry mass stays in low levels. The phenolic derivatives content was characterized from an extended stagnant situation which followed by

an increased phase. The stagnant situation is characterized by steady light chemical ability while the phase of phenolic increase from reduction of the light chemical ability.

Ευχαριστίες

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, κάτω από την άμεση επίβλεψη του Καθηγητή κ. Δ. Μπουράνη, στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας.

Η εργασία αυτή θα ήταν εξαιρετικά δύσκολο να ολοκληρωθεί αν δεν με είχαν βοηθήσει ορισμένοι άνθρωποι τους οποίους θα ήθελα προσωπικά να ευχαριστήσω. Έτσι, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον Καθηγητή κ. Δ. Μπουράνη τόσο για την επιλογή του θέματος, όσο και για την πολύτιμη καθοδήγηση του καθώς και για την μεγάλη υπομονή που μου έδειξε.

Επίσης θέλω να ευχαριστήσω την Λέκτορα κα Σ. Χωριανοπούλου για την καθοδήγηση και την αμέριστη βοήθειά της .

Θερμά ευχαριστώ τον λέκτορα της οργανικής χημείας κύριο Χ. Παππά για την πολύτιμη βοήθειά του σχετικά με την συλλογή και την επεξεργασία των δεδομένων που αφορούσαν τα φαινορικά παράγωγα. Όπως και τον λέκτορα του εργαστηρίου μορφολογίας και φυσιολογίας φυτών κύριο Γ. Λιακόπουλο για την βοήθεια που μου προσέφερε σχετικά με το θέμα της φωτοχημικής ικανότητας των νεαρών φυταρίων.

Από καρδιάς ευχαριστώ τους συνάδελφους του εργαστηρίου Δημήτριο Κωσταρά και Αναστάσιο Πιτσιλαδή που με στήριξαν κατά την διάρκεια των πειραμάτων και μου προσέφεραν μεγάλη βοήθεια.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου και στα φιλικά μου πρόσωπα για την αμέριστη ηθική συμπαράσταση τους στην προσπάθειά μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	01
Summary	03
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Βοτανική ταξινόμηση και καταγωγή	10
1.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά αραβοσίτου	11
1.2.1 Ριζικό σύστημα	11
1.2.2 Σχηματισμός μετεμβρυακών ριζών	15
1.3 καρπός	16
1.4 βλαστός	17
1.5 φύλλα	17
1.6 φαινολικά και λιγνινοποίηση	18
1.6.1 Βιολογική σημασία της λιγνίνης	18
1.6.2 Χημική σύσταση λιγνίνης	19
1.7 Υπέρυθρη Φασματοσκοπία με μετασχηματισμό FOURIER (FT-IR).	22
1.7.1 Βασικές αρχές	22
1.7.2 Οργανολογία φασματοφωτομέτρου FT-IR	23
1.7.3 Λειτουργία φασματοφωτομέτρου FT-IR	25
1.7.4 Μετασχηματισμός Fourier	26
1.7.5 Χαρακτηριστικοί παράμετροι της φασματοσκοπίας FT-IR	27
1.7.6 Φασματοσκοπία FT-IR με την τεχνική της διάχυτης ανάκλασης (Diffuse Reflectance Fourier Transformed Infrared Spectroscopy – DRIFTS)	29
1.7.7 Επεξεργασία των φασμάτων FT-IR	32
1.8 Σκοπός της εργασίας	37
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	38
2.1 Φυτικό υλικό και ανάπτυξη φυταρίων	38

2.2 Εγκατάσταση νεαρών φυταρίων	38
2.3 Δειγματοληψία	39
2.4 Προσδιορισμός νωπής και ξηρής μάζας των φυτομερών του αραβόσιτου	39
2.5 Προσδιορισμός φωτοχημικής ικανότητας	40
2.6 Ποσοτικός προσδιορισμός φαινολικών παραγώγων στο καλαμπόκι με χρήση της τεχνικής DRIFTS	41
2.6.1 Υλικά	41
2.6.2 Μεθοδολογία	42
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	58
3.1 Μεταβολές της ξηρής μάζας	58
3.1.1 Σπόρος	58
3.1.2 Πρωτογενή ρίζα	59
3.1.3 Δευτερογενείς ρίζες	59
3.1.4 Βλαστογενείς ρίζες	60
3.1.5 Υπέργειο τμήμα	61
3.1.6 Βλαστός	62
3.1.7 Εμβρυακό φύλλο	63
3.1.8 Πρώτο φύλλο	63
3.1.9 Δεύτερο φύλλο	64
3.1.10 Τρίτο φύλλο	65
3.1.11 Ριζικό σύστημα	67
3.2 Μεταβολές της υγρασίας	69
3.2.1 Σπόρος	69
3.2.2 Πρωτογενή ρίζα	69
3.2.3 Δευτερογενείς ρίζες	70
3.2.4 Βλαστογενείς ρίζες	71
3.2.5 Ριζικό σύστημα	72
3.2.6 Βλαστός	72
3.2.7 Εμβρυακό φύλλο	73
3.2.8 Πρώτο φύλλο	74

3.2.9 Δεύτερο φύλλο	74
3.2.10 Τρίτο φύλλο	75
3.2.11 Υπέργειο τμήμα	76
3.3 Μεταβολές των φαινολικών παραγώγων	78
3.3.1 Σπόρος	78
3.3.2 Πρωτογενή ρίζα	79
3.3.3 Δευτερογενείς ρίζες	80
3.3.4 Βλαστογενείς ρίζες	81
3.3.5 Βλαστός	82
3.3.6 Εμβρυακό φύλλο	83
3.3.7 Πρώτο φύλλο	84
3.3.8 Δεύτερο φύλλο	85
3.3.9 Τρίτο φύλλο	86
3.4 Μεταβολές της φωτοχημικής ικανότητας	89
3.4.1 Εμβρυακό φύλλο	89
3.4.2 Πρώτο φύλλο	91
3.4.3 Δεύτερο φύλλο	94
3.4.4 Τρίτο φύλλο	96
4. Συζήτηση	99
4.1 Σπόρος	99
4.2 Ριζικό σύστημα	99
4.3 Υπέργειο τμήμα	102
5. Συμπεράσματα	111
5.1 Σπόρος	111
5.2 Πρωτογενής ρίζα	111
5.3 Δευτερογενείς ρίζες	111
5.4 Βλαστογενείς ρίζες	112
5.5 Ριζικό σύστημα	112
5.6 Υπέργειο τμήμα	112
5.7 Βλαστός	113
5.8 Εμβρυακό φύλλο	113
5.9 Πρώτο φύλλο	114

5.10 Δεύτερο φύλλο	114
5.11 Τρίτο φύλλο	114
Βιβλιογραφία	116

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Βοτανική ταξινόμηση και καταγωγή

Ο αραβόσιτος (*Zea mays* L.) ανήκει στην φυλή Maydeae ή Tripsaceae της οικογένειας των Poaceae και είναι το μοναδικό είδος του γένους *Zea*. Η φυλή Maydeae περιλαμβάνει 8 γένη, 5 ανατολικής και 3 αμερικανικής προελεύσεως. Τα υπόλοιπα δύο αμερικανικά γένη είναι α) το *Euchlaena* και β) το *Tripsacum*. Ωστόσο, γενετικά μεγαλύτερη συγγένεια με το *Zea* παρουσιάζει το *Euchlaena*. Τα δύο αυτά γένη έχουν 10 χρωμοσώματα, ενώ το *Tripsacum* 18 ή 36. Ο καλλιεργούμενος αραβόσιτος θεωρείται ότι έχει προέλθει ως προϊόν διασταυρώσεων μεταξύ του αρχικού προγόνου και των δύο άλλων γενών, η αυξημένη ετεροζυγωτία που παρατηρείται στις καλλιεργούμενες ποικιλίες συμβάλλει στην ενίσχυση αυτής της άποψης. Το υπόγειο τμήμα του φυτού αποτελείται από το ριζικό σύστημα, το χαρακτηρίζεται θυσανώδες με λίγες σχετικά διακλαδώσεις. Το υπέργειο τμήμα του αποτελείται από τον βλαστό, ο οποίος έχει κυλινδρική διατομή και φέρει από 8-21 μεσογονάτια τα οποία κοντά στην βάση του βλαστού είναι βραχύτερα από εκείνα της κορυφής. Το ύψος του βλαστού κυμαίνεται κατά μέσο όρο στα 2,5 μέτρα, αλλά μπορεί να φτάσει και τα 4 - 4,5 m από συγκεκριμένους γονοτύπους. Οι οφθαλμοί είναι τοποθετημένοι κατ' εναλλαγή πάνω στον βλαστό, οι κατώτεροι οφθαλμοί και ιδίως εκείνοι που βρίσκονται κάτω από το έδαφος μπορεί να δημιουργήσουν αδελφωμα, ενώ εκείνοι που βρίσκονται στο ανώτερο τμήμα είναι ανθοφόροι και μπορούν να παράγουν ένα ή περισσότερους σπάδικες. Η ικανότητα για αδελφωμα διαφέρει μεταξύ των ποικιλιών ή υβριδίων καλαμποκιού. Υπάρχουν ποικιλίες που δεν σχηματίζουν καθόλου ή λίγα αδελφια, ενώ υπάρχουν άλλες οι οποίες σχηματίζουν πολυάριθμα κάτω από οποιοσδήποτε συνθήκες. Στις μέρες μας οι καλλιεργούμενες ποικιλίες σχηματίζουν λίγα ή καθόλου αδελφια, γεγονός που οφείλεται κατά κύριο λόγο στις γενεαλογικές επιλογές που έγιναν.

Τα φύλλα στο καλαμπόκι αναπτύσσονται ένα σε κάθε κόμβο. Ο αριθμός τους είναι συνάρτηση τόσο του γονοτύπου, όσο και των θερμοκρασιών που επικράτησαν κατά την περίοδο του σχηματισμού των καταβολών (Duncan and Hesketh 1968). Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι ο αριθμός των φύλλων είναι ανάλογος προς την διάρκεια του βιολογικού κύκλου του φυτού. Έτσι, οι πρώιμες ποικιλίες έχουν 9-10 φύλλα, οι μέσης πρωιμότητας 17-21 φύλλα και οι όψιμες περισσότερα από 40 φύλλα.

1.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά αραβοσίτου

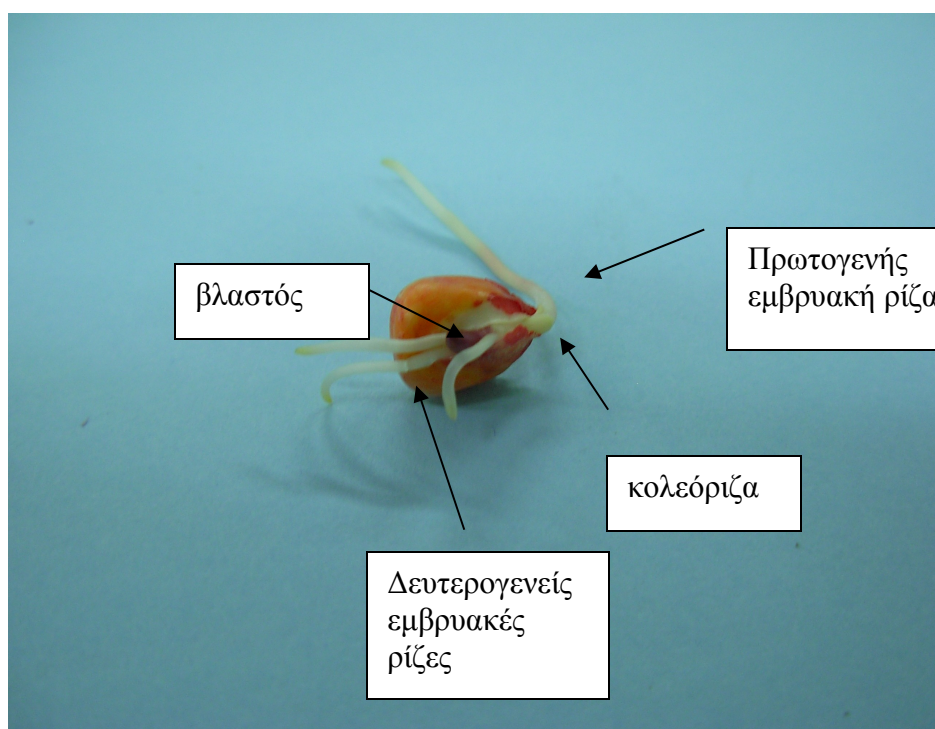
1.2.1 Ριζικό σύστημα

Το ριζικό σύστημα στον αραβόσιτο μπορεί να διαιρεθεί α) στο εμβρυονικό ριζικό σύστημα (Abbe and Stein 1954), το οποίο περιλαμβάνει την πρωτογενή ρίζα και ποικίλο αριθμό δευτερογενών ριζών και β) στο μετεμβρυακό ριζικό σύστημα, το οποίο αποτελείται από βλαστογενείς ρίζες. Αυτές που σχηματίζονται από αλληπάλληλους κόμβους κάτω από την επιφάνεια του εδάφους ονομάζονται υπόγειες βλαστογενείς ρίζες (crown roots), ενώ αυτές που σχηματίζονται πάνω από την επιφάνεια του εδάφους ονομάζονται εναέριες βλαστογενείς ρίζες (brace roots) (Hochholdinger et al. 2004).

Ενώ στα περισσότερα αγγειόσπερμα η πρωτογενής ρίζα σχηματίζεται εξωγενώς, δηλαδή από το εξωτερικό στρώμα των κυττάρων του εμβρύου, η πρωτογενής ρίζα στον αραβόσιτο σχηματίζεται ενδογενώς (Yamashita 1991, Yamashita and Ueno 1992), δηλαδή από το στρώμα κυττάρων που βρίσκονται βαθιά μέσα στο έμβryo και γίνεται ορατή σαν διακριτή περιοχή 10-15 ημέρες μετά την γονιμοποίηση. Πρωτογενή ρίζα που να σχηματίζεται ενδογενώς δεν έχει βρεθεί σε άλλη οικογένεια εκτός από την Poaceae (Tillich 1977).

Το σημείο το οποίο ζημιώνεται για να καταστεί δυνατή η εμφάνιση της πρωτογενούς ρίζας καλείται κολεόριζα (Tillich 1977). Οι δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες οι οποίες εμφανίζονται από το ασπίδιο, το οποίο είναι τμήμα

του εμβρύου που περιβάλλει τον εμβρυακό άξονα σχηματίζονται και αυτές ενδογενετικά και γίνονται ορατές μέσα στο έμβρυο μεταξύ 22ης και 40ης ημέρας μετά την επικονίαση (Sass 1977, Erdelska and Vidovencova 1993, Feldman 1994). Ο αριθμός των δευτερογενών ριζών ποικίλει από φυτό σε φυτό και κυμαίνεται μεταξύ 0-13, ο δε αριθμός τους επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από το γενετικό υπόβαθρο του φυτού (Kiesselbach 1947, Sass 1977, Feldman 1994). Τόσο η πρωτογενής όσο και οι δευτερογενείς ρίζες παραμένουν λειτουργικές καθόλη την διάρκεια του βιολογικού κύκλου του φυτού (Kiesselbach 1949, Kausch 1967, Kozinka 1977, Mc Cully and Canny 1985). Ωστόσο μερικοί ερευνητές παρατήρησαν ότι η πρωτογενής και δευτερογενείς ρίζες μπορεί να θανατώνονται μετά το σχηματισμό των βλαστογενών ριζών (Lawson and Hanway 1977, Feldman 1994). Κατά τις δύο πρώτες εβδομάδες ανάπτυξης του νεαρού φυταρίου, η πρωτογενής και οι δευτερογενείς ρίζες αποτελούν την κύρια μάζα του ριζικού συστήματος.

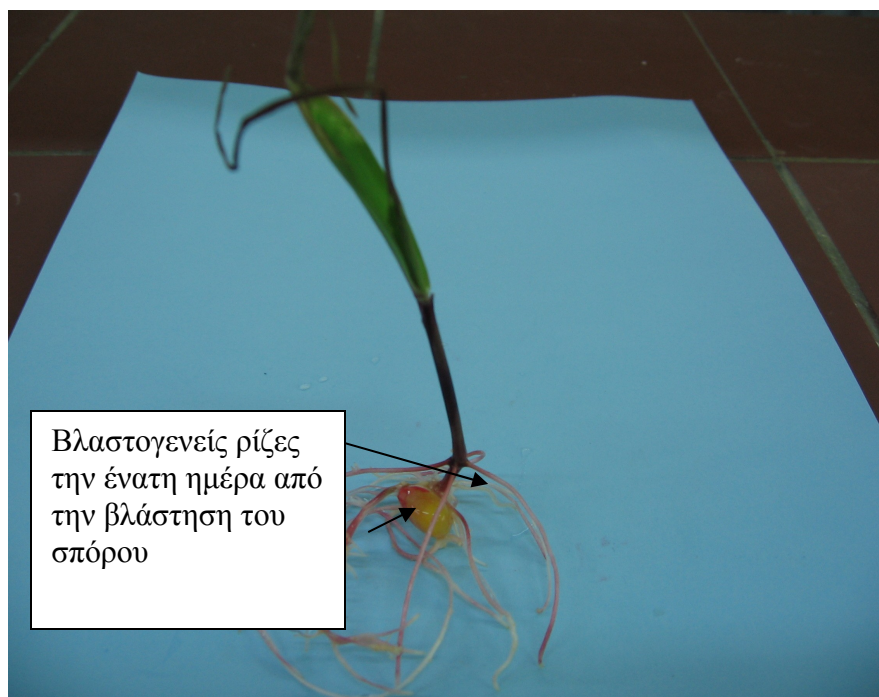


Εικόνα 1: Φυτό 3 ημερών.

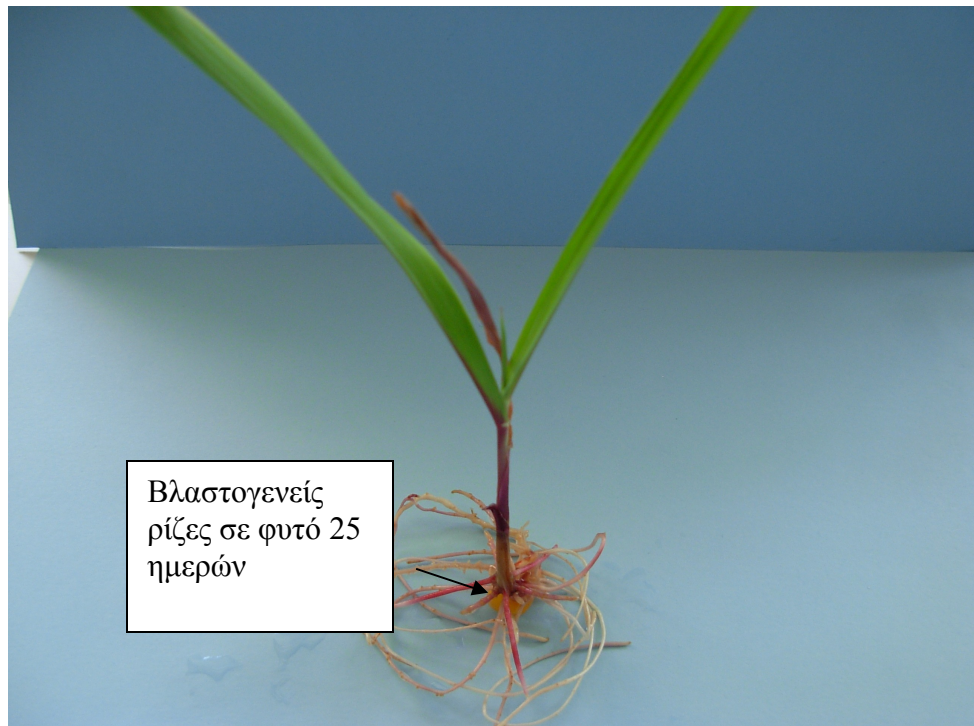


Εικόνα 2: Φυτό 9 ημερών, υπό τις συνθήκες του πειραματικού της εργασίας.

Αργότερα, με την ανάπτυξη των μετεμβρυακών ριζών, οι βλαστογενείς ρίζες κυριαρχούν και αποτελούν το κύριο μέρος του ριζικού συστήματος.



Εικόνα 3: Φυτό την 9η ημέρα από την βλάστηση του σπόρου, υπό τις συνθήκες του πειραματικού της εργασίας.



Εικόνα 4: Φυτό την 25η ημέρα από την βλάστηση του σπόρου, υπό τις συνθήκες του πειραματικού της εργασίας.

1.2.2 Σχηματισμός μετεμβρυακών ριζών

Κατά την αρχική αναπτυξή τους οι μετεμβρυακές ρίζες χαρακτηρίζονται από δύο τύπους: α) τις πλάγιες ρίζες, οι οποίες εκφύονται από την πρωτογενή ρίζα, καθώς και από τις δευτερογενείς ρίζες, 6-7 ημέρες μετά τον σχηματισμό της πρωτογενούς, και β) από τις βλαστογενείς ρίζες οι οποίες εκφύονται από τον κόμβο του κολεόπτιλου 10 -14 ημέρες μετά την βλάστηση του σπόρου. Στο μετεμβρυακό ριζικό σύστημα ανήκουν και οι βλαστογενείς ρίζες. Το φυτό του αραβόσιτου κατά την διάρκεια του βιολογικού κύκλου του αναπτύσσει 70 περίπου βλαστογενείς ρίζες, οι οποίες οργανώνονται κατά μέσο όρο σε 6 δακτύλιους. Από αυτούς 3-4 δακτύλιοι βρίσκονται κάτω από την επιφάνεια του εδάφους και οι υπόλοιποι πάνω από αυτήν (Hope et al 1986). Η διάμετρος και ο αριθμός των βλαστογενών ριζών ανά δακτύλιο αυξάνει όσο ψηλότερα βρίσκεται ο κόμβος του δακτυλίου. Τα πρώτα τέσσερα μεσογονάτια έχουν πολύ μικρό μήκος (Hope et al 1986). Οι αντίστοιχοι κόμβοι βρίσκονται τοποθετημένοι κοντά ο ένας με τον άλλο σχηματίζοντας έτσι πυκνές ρίζες. Οι βλαστογενείς ρίζες που εκφύονται από χαμηλότερους κόμβους αναπτύσσονται αρχικά οριζόντια πριν ακολουθήσουν την κατεύθυνση της βαρύτητας, ενώ αυτές που εκφύονται από κόμβους που βρίσκονται πιο ψηλά αναπτύσσονται απευθείας προς τα κάτω (Feldman 1994). Ο σχηματισμός των βλαστογενών ριζών αποτελεί το κύριο μέρος του ριζικού συστήματος σε ένα ενήλικο φυτό, αυξάνοντας την στηρικτική ικανότητά του. Επίσης είναι υπεύθυνες για την κύρια πρόσληψη νερού και θρεπτικών συστατικών μέσω των πλάγιων ριζών που διαθέτουν (Mc Cully and Canny 1988). Οι ρίζες που σχηματίζονται πάνω από την επιφάνεια του εδάφους (εναέριες) προέρχονται ενδογενετικά, από αυτές δεν εισχωρούν όλες στο έδαφος αλλά όσες εισχωρήσουν θα σχηματίσουν πλάγιες ρίζες, με σκοπό να βοηθήσουν την τροφοδοσία του φυτού με νερό και θρεπτικά συστατικά και να ενισχύσουν την στηρικτική ικανότητα του (Feldman 1994). Εκτός από τις ρίζες που προέρχονται από προκαθορισμένο ενδογενή αναπτυξιακό προγραμματισμό, το φυτό μπορεί να σχηματίσει ρίζες οι οποίες θα αναπτυχθούν μετά από ασυνήθιστες καταστάσεις όπως τραυματισμός, ορμονικό ερέθισμα, ή οποιοδήποτε άλλο χαρακτηριστικό εξωγενούς διέγερσης σε μη χαρακτηριστικά μέρη όπως το μεσοκοτύλιο. Στο καλαμπόκι οι ρίζες αυτές αναφέρονται ως τυχαίες (Hochholdinger et al 2004).

1.3 Καρπός

Ο καρπός του αραβόσιτου είναι καρύοψη. Αποτελείται από τέσσερα τμήματα τον ποδίσκο, το περίβλημα, το ενδοσπέρμιο και το έμβρυο. Ο ποδίσκος είναι η περιοχή πρόσφυσης του καρπού με τον άξονα του σπάδικα. Προέρχεται από τους ιστούς του μητρικού φυτού και ειδικότερα από τους ιστούς που βρίσκονται κοντά στη χάλαζα της σπερματικής βλάστης. Το περίβλημα ή περικάρπιο έχει προστατευτικό ρόλο απέναντι σε μύκητες, βακτήρια κτλ.. Προέρχεται από την ωοθήκη του μητρικού φυτού και αποτελείται κυρίως από κυτταρίνη και ημικυτταρίνη. Αποτελεί το 5-7% του βάρους του καρπού. Εσωτερικά του περικαρπίου υπάρχουν τα υπολείμματα των χιτώνων και του νούκελλου της σπερματικής βλάστης, τα οποία σχηματίζουν μια λεπτή μεμβράνη χωρίς καμία λειτουργική σημασία.

Το ενδοσπέρμιο παίζει το ρόλο της αποθήκης των θρεπτικών ουσιών που είναι απαραίτητες για την συντήρηση και ανάπτυξη των νεαρών φυταρίων. Μακροσκοπικά το ενδοσπέρμιο διακρίνεται σε ένα τμήμα αδιαφανές με αλευρώδη υφή και σε ένα τμήμα διαφανές με υαλώδη υφή. Η διαφορά στην υφή των δύο αυτών περιοχών του ενδοσπερμίου οφείλεται στον διαφορετικό βαθμό συμπίεσης των κυττάρων του ιστού, που έχει σαν αποτέλεσμα μια αλλαγή στη δομή των αμυλοκόκκων (Sass 1955). Εκτός από την διαφορά αυτή το υαλώδες ενδοσπέρμιο περιέχει 2% περισσότερη πρωτεΐνη από το αλευρώδες. Η εξωτερική στρώση των κυττάρων του ενδοσπερμίου είναι διαφοροποιημένη σε σχέση με το εσωτερικό και καλείται αλευρώνη. Η αλευρώνη είναι πλούσια σε πρωτεϊνόκοκκους και αποτελεί το 10-12% του βάρους του καρπού. Γενικά το ενδοσπέρμιο αποτελεί το 80% του βάρους του καρπού και αποτελείται από 85% άμυλο και 9.5% από πρωτεΐνες.

Το έμβρυο αποτελεί μια μικρογραφία του φυτού. Αποτελείται από τον εμβρυακό άξονα και το ασπίδιο. Ο εμβρυακός άξονας έχει δύο πόλους τοποθετημένους αντιδιαμετρικά, τον πόλο του βλαστού (πτερίδιο) και τον πόλο της ρίζας. Το πτερίδιο αποτελείται από το κολεόπτιλο, το οποίο περιβάλλει τις καταβολές πέντε εμβρυακών φύλλων. Στο ριζίδιο υπάρχουν οι καταβολές της

πρωτογενούς εμβρυακής ρίζας και τριών εμβρυακών δευτερογενών ριζών. Μεταξύ του πτεριδίου και του ριζιδίου παρεμβάλλεται το μεσοκοτύλιο, ένας ιστός που χαρακτηρίζει το έμβρυο των αγρωστωδών. Το ασπίδιο περιβάλλει πλευρικά τον εμβρυακό άξονα και θεωρείται ότι αποτελεί τη μοναδική κοτύλη του καρπού.

1.4 Βλαστός

Ο βλαστός του αραβοσίτου είναι κάλαμος συμπαγής, κυλινδρικής διατομής με πλάγια επιμήκη αύλακα και φέρει συνήθως 8-21 μεσογονάτια, από τα οποία τα μεσογονάτια της βάσης είναι βραχύτερα από εκείνα της κορυφής. Το υπέργειο τμήμα του αραβοσίτου αποτελείται από επαναλαμβανόμενα δομικά τμήματα τα οποία ονομάζονται φυτομερές. Το κάθε φυτομερές αποτελείται από το φύλλο, τον κόμβο έκφυσης με την καταβολή του οφθαλμού και το μεσογονάτιο διάστημα (Sharman, 1942; Galinat, 1959).

1.5 Φύλλα

Τα φύλλα αναπτύσσονται ανά ένα σε κάθε κόμβο. Ο αριθμός τους ανά φυτό, ποικίλλει από 8-48 (συνήθως 8-21) στους διάφορους βιότυπους του αραβοσίτου και είναι συνάρτηση κυρίως του γονότυπου του και δευτερευόντως της θερμοκρασίας του μεριστώματος κατά την περίοδο του σχηματισμού των καταβολών. Το φύλλο του αραβοσίτου αποτελείται από έναν ισχυρό κολεό που περιβάλλει το μεσογονάτιο μέχρι τον αμέσως επόμενο κόμβο, ένα λογχοειδές έλασμα που είναι παραλληλόνευρο και τη γλωσσίδα (Duncan and Hesketh, 1968). Τα φύλλα του καλαμποκιού ανήκουν στην κατηγορία των αμφιστοματικών φύλλων, αφού έχουν στομάτια και στις δύο επιφάνειες του φύλλου. Η πολικότητα των στοματίων της επάνω και κάτω επιφάνειας ελέγχεται γενετικά και καθορίζεται από την ανάπτυξη του φύλλου (Juarez *et al.*, 2004).

1.6 Φαινολικά και λιγνινοποίηση

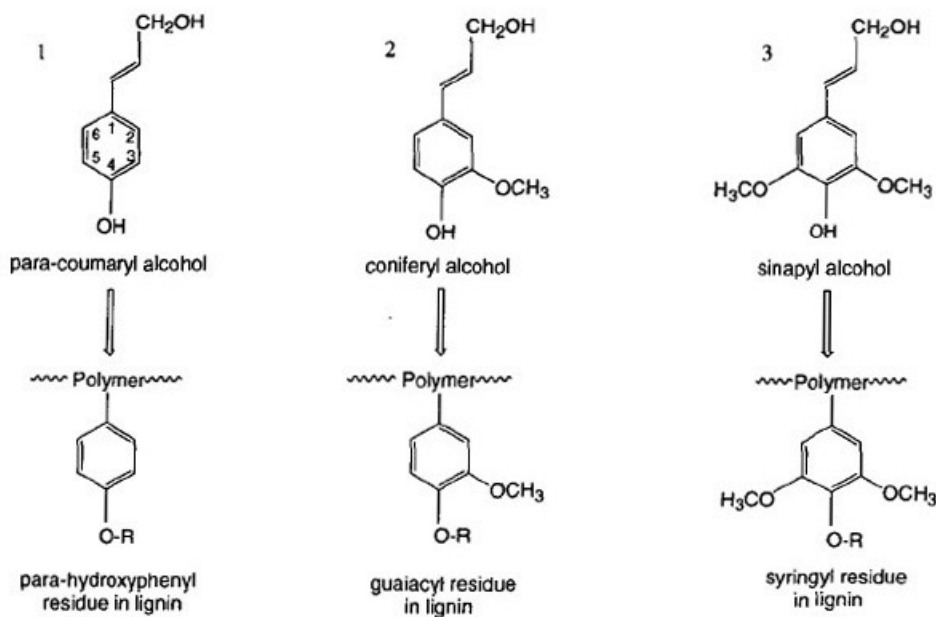
Η λιγνίνη αποτελεί το δεύτερο σε αφθονία φυτικό πολυμερές μετά την κυτταρίνη και το τρίτο φυσικό πολυμερές, μετά την κυτταρίνη και τη χυτίνη. Αντιπροσωπεύει το 30% περίπου των 1.4×10^{12} κιλών άνθρακα που προσλαμβάνονται από τα φυτά κάθε χρόνο και αποτελεί το 15-36% του ξηρού βάρους του ξύλου στα δέντρα (Humphreys and Chapple 2002). Η οικονομική σημασία των λιγνινών είναι πολύ μεγάλη. Επηρεάζουν την πεπτικότητα των ζωοτροφών, αφού τις καθιστούν δύσπεπτες και δυσχεραίνουν τη πολτοποίηση του ξύλου σε χαρτί, με αποτέλεσμα να χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση της λιγνίνης χημικές διεργασίες οι οποίες αυξάνουν το κόστος και τη ρύπανση του περιβάλλοντος (Humphreys and Chapple 2002, Boudet et al. 2003).

1.6.1 Βιολογική σημασία της λιγνίνης

Έχει δειχθεί ο φυσιολογικός ρόλος της λιγνίνης τόσο για τη μηχανική στήριξη του φυτού μέσω της ενδυνάμωσης των ιστών (Zhong et al. 1998) όσο και στην αύξηση της ανθεκτικότητας των ιστών έναντι βιοτικών παραγόντων καταπόνησης (Moershbacher et al. 1990). Η λιγνίνη καθιστά τα κυτταρικά τοιχώματα υδρόφοβα και αδιαπέραστα από το νερό και αποκλείει τις περιοχές τραυματισμού ή προσβολής από παθογόνα. Γενικά αποτελεί βασικό δομικό συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος συγκεκριμένων φυτικών κυττάρων όπως οι τραχεΐδες και οι σκληρείδες (Douglas 1996). Λιγνίνη εναποτίθεται μόνο σε εξειδικευμένα κύτταρα και ιστούς, των οποίων η ανάπτυξη έχει σταματήσει και εμπλέκονται σε μηχανική υποστήριξη (π.χ. σκληρέγχυμα), μεταφορά χυμού (π.χ. ξύλο), προστασία και άμυνα (π.χ. περίδερμα) (Boudet 1998). Έχει βρεθεί μάλιστα (Piquemal et al. 1998) ότι η έλλειψη της λιγνίνης από το αγγειακό σύστημα των φυτών προκαλεί κατάρρευση των αγγείων. Γενικά η λιγνινοποίηση είναι μια από τις αντιδράσεις των φυτών σε αντίξοες συνθήκες όπως ο τραυματισμός ή η μηχανική καταπόνηση (Douglas 1996, Boudet 1998).

1.6.2 Χημική σύσταση λιγνίνης

Η λιγνίνη αποτελεί ένα πολύπλοκο, υδρόφοβο, τρισδιάστατο δίκτυο από δομικές μονάδες φαινυλοπροπανοειδών που προέρχονται από τον οξειδωτικό πολυμερισμό ενός ή περισσότερων από τα τρία είδη μονολιγνολών (υδροξυκινναμυλικών αλκοολών), που είναι η κουμαρυλική (4-υδροξυ-κινναμική), η κωνιφερυλική (3-μέθοξυ-4-υδροξυ-κινναμική) και η σιναπυλική (3,5-μέθοξυ-4-υδροξυ-κινναμική) (Εικόνα 8).



Εικόνα 8: Η δομή των τριών μονολιγνολών και τα πολυμερή που προκύπτουν από αυτές. Ο αυξανόμενος βαθμός μεθοξυλίωσης του αρωματικού δακτυλίου από την p-κουμαρυλική αλκοόλη (1) στην κωνιφερυλική αλκοόλη (2) και στη σιναπυλική αλκοόλη (3) αντιστοιχεί σε μείωση των θέσεων αντίδρασης του αρωματικού δακτυλίου (Whetten and Sederoff 1995).

Τα τρία συμβατικά μονομερή της λιγνίνης διαφέρουν ως προς το βαθμό μεθοξυλίωσης του αρωματικού δακτυλίου τους. Διαφοροποιήσεις στη σχετική αναλογία τους παρατηρείται ακόμα και στο ίδιο φυτό ανάλογα με τον ιστό, τη θέση του κυττάρου και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν (βιολογικές ή μηχανικές καταπονήσεις). Οι διαφοροποιήσεις αυτές φαίνεται ότι ελέγχονται

από τη σχετική δραστικότητα και τη συγγένεια του υποστρώματος των επιμέρους μεθυλιωτικών ενζύμων στη βιοσυνθετική πορεία της λιγνίνης (Boudet 2000). Όταν οι μονολιγνόλες p-κουμαρυλική, κωνιφερυλική και σιναπυλική ενσωματώνονται στο πολυμερές της λιγνίνης ονομάζονται p-υδροξυφαινυλικές (H), γουαϊακυλικές (G) και συριγγυλικές (S) μονάδες αντίστοιχα (Raes et al. 2003). Εκτός από τις τρεις μονολιγνόλες σε διαφορετικές αναλογίες, η λιγνίνη περιέχει σημαντικές προσμίξεις άλλων ουσιών όπως οι υδροξυκινναμυλικές αλδεΐδες (στην ύπαρξη των οποίων βασίζεται η χρώση με όξινη φλωρογλουσινόλη, Sederoff et al. 1999), τα υδροξυκινναμυλικά οξέα (p-υδροξυβενζοϊκό και p-κουμαρικό οξύ) και οι υδροξυκινναμικοί εστέρες (Raes et al. 2003). Συγκεκριμένα στο καλαμπόκι, τα κυτταρικά τοιχώματα περιέχουν έως και 4% φερουλικού και 3% p-κουμαρικού οξέος (Grabber and Lu 2007).

Η βιοσύνθεση των φαινυλοπροπανοειδών απαιτεί τη ροή άνθρακα στην κατεύθυνση της βιοσύνθεσης της φαινυλαλανίνης, μέσω των μονοπατιών του σικιμικού και των αρωματικών αμινοξέων. Το μονοπάτι οδηγεί μέσω του χωρισμικού, στη βιοσύνθεση των αμινοξέων φαινυλαλανίνη, τυροσίνη και τρυπτοφάνη (Douglas 1996). Τα φυτά έχουν την ικανότητα να κατευθύνουν τη ροή άνθρακα όπου χρειάζεται, από τον πρωτογενή μεταβολισμό μέσω της φαινυλαλανίνης στο μονοπάτι των φαινυλοπροπανοειδών, με στόχο τη βιοσύνθεση προϊόντων με συγκεκριμένη λειτουργία, σε εξειδικευμένα κύτταρα ή ως αντίδραση σε συγκεκριμένο ερέθισμα. Για να το επιτύχουν αυτό, η δραστηριότητα του μονοπατιού του σικιμικού και των αρωματικών αμινοξέων πρέπει να συντονίζεται με τη δραστηριότητα του μονοπατιού των φαινυλοπροπανοειδών (Douglas 1996). Σύμφωνα με μια υπόθεση, υπάρχουν πολυενζυμικά σύμπλοκα που μπορούν να «κατευθύνουν» τους μεταβολίτες σε G- και S- εξειδικευμένα μονοπάτια από πολύ πρώιμα στάδια της βιοσύνθεσης των μονολιγνολών (Whetten et al. 1998).

Οι πρόδρομες ενώσεις προέρχονται από την φαινυλαλανίνη με απαμίνωση (Sederoff et al. 1999). Εκτός των πρόδρομων ενώσεων της λιγνίνης από την φαινυλαλανίνη προέρχονται και άλλες υπο-ομάδες φαινολικών ενώσεων, όπως τα φλαβονοειδή, οι κουμαρίνες, τα στιλβένια καθώς και παράγωγα του

βενζοϊκού οξέος. Πολυάριθμες ενδιάμεσες ενώσεις και τελικά προϊόντα του μονοπατιού αυτού διαδραματίζουν σημαντικούς αμυντικούς ρόλους, όπως η αντιμετώπιση παθογόνων (φυτοαλεξίνες), ο αντιοξειδωτικός μεταβολισμός, η προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία (φλαβονοειδή), ο χρωματισμός των ανθέων (ανθοκυάνες) κ.α. Τα αρχικά στάδια βιοσύνθεσης των ενώσεων αυτών είναι κοινά με των λιγνινών, ωστόσο το υψηλότερο ποσοστό του άνθρακα κατευθύνεται προς τη βιοσύνθεση της λιγνίνης (Humphreys and Chapple 2002). Για παράδειγμα, η ακολουθία με την οποία συμβαίνουν οι αντιδράσεις υδροξυλίωσης, μεθυλίωσης, προσάρτησης του CoA και αναγωγής μπορεί να διαφοροποιείται (Whetten and Sederoff 1995).

Έχει βρεθεί ότι η μείωση των αποθεμάτων της φαινυλαλανίνης κατά 40-50% μειώνει τα επίπεδα λιγνίνης κατά 30-50%. Συνεπώς η ροή άνθρακα προς βιοσύνθεση λιγνίνης και άλλων προϊόντων φαινυλοπροπανοειδών εξαρτάται από τα αποθέματα φαινυλαλανίνης, η οποία παράγεται από το μονοπάτι βιοσύνθεσης των αρωματικών αμινοξέων (Douglas 1996). Τα επίπεδα της λιγνίνης στους φυτικούς ιστούς διατηρούνται σταθερά, ακόμα και όταν περιορίζεται ή διαταράσσεται η λειτουργία ενός ενζύμου που εμπλέκεται στη βιοσύνθεση πρόδρομων ενώσεων της λιγνίνης. Σε αυτές τις περιπτώσεις εμφανίζονται δομικές μονάδες που δεν παρατηρούνται ενσωματωμένες στη λιγνίνη κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, γεγονός που αποδεικνύει την εξαιρετική πλαστικότητα στη βιοσύνθεση της λιγνίνης με την ύπαρξη εναλλακτικών μηχανισμών με μη-χαρακτηρισμένα ένζυμα ή νέες ενζυμικές δραστηριότητες που επιτρέπουν στα φυτά να συνθέτουν λιγνίνες από τέτοιες δομικές μονάδες. Οι πρόδρομες ενώσεις διαφέρουν μεταξύ διαφορετικών φυτικών ειδών, διαφορετικών τύπων κυττάρων, ακόμα και μεταξύ διαφορετικών περιοχών του ίδιου κυτταρικού τοιχώματος (Whetten et al. 1998).

1.7 ΥΠΕΡΥΘΡΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΜΕ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ FOURIER (FT-IR).

1.7.1 Βασικές αρχές

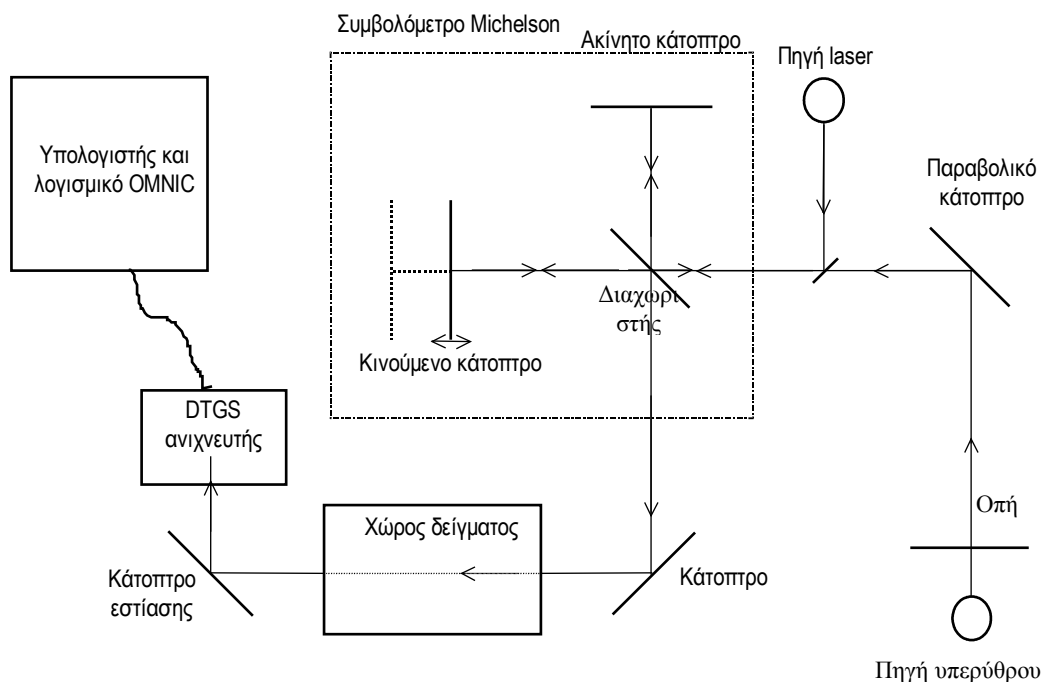
Η υπέρυθρη φασματοσκοπία (Infra Red spectroscopy, IR) είναι μια από τις πλέον σημαντικές φασματοσκοπικές τεχνικές με πολλές εφαρμογές. Τα φάσματα λαμβάνονται σχετικά εύκολα και στη συνέχεια συγκρίνονται, είτε ολόκληρα είτε ορισμένες ταινίες απορρόφησης τους με άλλα γνωστά. Με τον τρόπο αυτό καθίσταται δυνατή η διερεύνηση της μοριακής σύνταξης και σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές η ταυτοποίηση αγνώστων οργανικών ουσιών, αλλά και η πιστοποίηση της καθαρότητάς τους. Για το λόγο αυτό η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται πολύ συχνά στην οργανική και φαρμακευτική χημεία, στη φαρμακογνωσία και στην ανάλυση φυσικών προϊόντων, φαρμάκων, τροφίμων, πετρελαιοειδών, πολυμερών κ.α.

Η υπέρυθρη (IR) περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος βρίσκεται μεταξύ του ορατού τμήματος και της περιοχής των μικροκυμάτων (0,75-1000 μm) και χωρίζεται σε τρεις βασικές περιοχές: Άπω υπέρυθρη (**Far IR**, FIR) (50-1000 μm) , μέσο υπέρυθρη (**Mid IR**, MIR) (2,5-50 μm) και εγγύς υπέρυθρη (**Near IR**, NIR) (0,75-2,5 μm)¹²⁹. Συνήθως όμως στο IR αντί του μήκους κύματος ή της συχνότητας χρησιμοποιείται η έννοια του κυματαριθμού ($\bar{\nu}$) ο οποίος ορίζεται σαν το πηλίκο της συχνότητας της ακτινοβολίας προς την ταχύτητα του φωτός ($\bar{\nu} = \nu/c = 1/\lambda$) (Παππάς 2000). Έτσι, με βάση τα παραπάνω, η συνήθης περιοχή του MIR, καλύπτει την περιοχή 4000-400 cm^{-1} . Η πλέον αξιοποιήσιμη περιοχή είναι αυτή από 4000 έως 600 cm^{-1} .

Σε ένα τυπικό φάσμα υπέρυθρης φασματοσκοπίας διακρίνουμε δύο κυρίως περιοχές. Τη περιοχή των χαρακτηριστικών ομάδων (O-H, NH₂, C≡N, C=O κλπ) και αυτή των δακτυλικών αποτυπωμάτων. Η μεν πρώτη εκτείνεται στη περιοχή 4000-1400 cm^{-1} και οι κύριες ζώνες απορρόφησης οφείλονται στη δόνηση των ομάδων, η δε δεύτερη στην περιοχή 1400-600 cm^{-1} στην οποία οι απορροφήσεις σχετίζονται με τις δονήσεις ολοκλήρου του μορίου, όπου κάθε άτομο ασκεί επίδραση στα υπόλοιπα και αποτελεί το «δακτυλικό αποτύπωμα» κάθε ένωσης (Παππάς 2000).

1.7.2 Οργανολογία φασματοφωτομέτρου FT-IR

Ένα τυπικό φασματοφωτόμετρο IR μετασχηματισμού Fourier (FT-IR) αποτελείται από τα εξής κύρια τμήματα: την πηγή υπέρυθρης ακτινοβολίας, την πηγή λέιζερ, το συμβολόμετρο Michelson και τον ανιχνευτή. Στο σχήμα Δ.1 φαίνεται το σχηματικό διάγραμμα του φασματοφωτομέτρου FT-IR της εταιρείας Nicolet (750 Magna series).



Σχήμα 1.7.2 Σχηματικό διάγραμμα φασματοφωτομέτρου FT-IR της εταιρείας Nicolet (750 Magna series).

Πηγή ακτινοβολίας

Η λυχνία νικελίου – χρωμίου (Nicrome) είναι η πλέον γνωστή πηγή ακτινοβολίας για συστήματα μικρού κόστους. Είναι μικρής ισχύος και αερόψυκτη. Η θερμοκρασία που αναπτύσσει είναι 1200 – 1250 °C και εκπέμπει συνεχή ακτινοβολία στην περιοχή του μέσο - υπέρυθρου. Το μειονεκτήματα της πηγής αυτής είναι ότι έχει μικρή σταθερότητα και σχετικά μικρή περίοδο ζωής.

Πηγή λέιζερ

Η παραγωγή της ακτίνας λέιζερ γίνεται με τη διέγερση ατόμων ηλίου και νέου (HeNe).

Συμβολόμετρο Michelson

Τα φασματοφωτόμετρα FT-IR είναι χωρίς επιλογή μήκους κύματος αλλά η λειτουργία τους στηρίζεται στο φαινόμενο της συμβολής με τη βοήθεια ενός συμβολομέτρου Michelson. Ονομάστηκε έτσι προς τιμή του ανθρώπου που το κατασκεύασε (1891) και ασχολήθηκε με τη διαίρεση μιας φωτεινής δέσμης σε δύο.

Το συμβολόμετρο αποτελείται από μία ημιδιαφανή πλάκα (το διαχωριστή δέσμης) κατασκευασμένη από βρωμιούχο κάλιο, που δεν απορροφά στο υπέρυθρο, και δύο κάτοπτρα. Το ένα είναι σταθερό και το άλλο κινείται με σταθερή ταχύτητα.

Ανιχνευτής

Ο σκοπός του ανιχνευτή είναι να «αισθανθεί» την υπέρυθρη ακτινοβολία, που έχει διέλθει μέσα από το δείγμα. Ένας από τους πιο συνηθισμένους τύπους ανιχνευτή, τον οποίο διαθέτει και το φασματοφωτόμετρο FT-IR της Nicolet (750 Magna series), είναι ο θερμικός, κατασκευασμένος από δευτεριωμένη θειική τριγλυκίνη (**D**euterated **T**ri**G**lycine **S**ulfate, DTGS). Η λειτουργία του ανιχνευτή αυτού στηρίζεται στην αύξηση της θερμοκρασίας του, όταν δέχεται υπέρυθρη ακτινοβολία. Η αύξηση αυτή της θερμοκρασίας δημιουργεί μια διαφορά δυναμικού. Οποιαδήποτε διακύμανση της ενέργειας της υπέρυθρης ακτινοβολίας, λόγω απορρόφησης από το δείγμα, εκφράζεται από τον ανιχνευτή σαν μεταβολή τάσης και σαν τέτοια την στέλνει στη συνέχεια στον ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Ανιχνευτές αυτού του είδους έχουν τα πλεονεκτήματα ότι ανταποκρίνονται σε μεγάλη περιοχή του υπέρυθρου, παράγουν μικρό «θόρυβο» και δεν χρειάζονται ψύξη. Τα μειονεκτήματά τους είναι η σχετικά μικρή ευαισθησία τους και ο σχετικά μεγάλος χρόνος απόκρισής τους.

1.7.3 Λειτουργία φασματοφωτομέτρου FT-IR

Η πηγή εκπέμπει υπέρυθη ακτινοβολία η οποία μέσω ενός παραβολικού κατόπτρου προσπίπτει στο διαχωριστή δέσμης. Εκεί διαχωρίζεται σε δύο δέσμες εκ των οποίων η μία τον διαπερνά και προσπίπτει στο κινούμενο κάτοπτρο και η άλλη κατευθύνεται στο ακίνητο. Οι δύο δέσμες επιστρέφουν στο διαχωριστή δέσμης όπου λαμβάνει χώρα το φαινόμενο της συμβολής και προκύπτει μια συνελιγμένη δέσμη.

Το διπλάσιο της διαφοράς των αποστάσεων των δύο κατόπτρων, άρα των διαδρομών των δύο δεσμών, ονομάζεται καθυστέρηση και συμβολίζεται με το ελληνικό γράμμα δ . Όταν $\delta = k\lambda$ (όπου $k=0,1,2,\dots$ και λ το μήκος κύματος της ακτινοβολίας) τότε το σήμα παίρνει τη μέγιστη τιμή ενώ όταν $\delta = (2k+1)\lambda/2$ τότε το σήμα μηδενίζεται. Σε κάθε άλλη περίπτωση το σήμα λαμβάνει ενδιάμεση τιμή.

Η πηγή εκπέμπει μια σειρά από συχνότητες μονοχρωματικής ακτινοβολίας (ν_1, ν_2, \dots), οι οποίες ακολουθώντας την παραπάνω διαδικασία δημιουργούν ένα περίπλοκο σήμα, τη συνολική συνελιγμένη δέσμη, που στην πραγματικότητα αποτελείται από ένα μίγμα ακτινοβολιών.

Η συνολική συνελιγμένη δέσμη ακτινοβολίας μέσω κατόπτρου εισέρχεται στο χώρο του δείγματος. Από το δείγμα απορροφώνται ολικά ή μερικά ορισμένες συχνότητες και ακολούθως η δέσμη εξέρχεται, εστιάζεται σε ειδικό κάτοπτρο και κατευθύνεται προς τον ανιχνευτή. Στον ανιχνευτή προκαλείται μεταβολή στη θερμοκρασία του, με αποτέλεσμα τη μεταβολή της διαφοράς δυναμικού. Η μεταβολή της τάσης μετατρέπεται από αναλογικό σε ψηφιακό σήμα για να γίνει αντιληπτό από τον υπολογιστή και με τη βοήθεια του κατάλληλου λογισμικού (OMNIC ver. 3.1) λαμβάνεται το συμβολόγραμμα. Το συμβολόγραμμα υπόκειται σε μετασχηματισμό Fourier και τελικά εμφανίζεται σαν τυπικό FT-IR φάσμα.

Τα φασματοφωτόμετρα FT-IR μπορούν, χάρις στο συμβολόμετρο, να εξετάζουν ταυτόχρονα πολλά σημεία του φάσματος. Η διαδικασία αυτή γίνεται σε 10-20 δευτερόλεπτα και επαναλαμβάνεται συνήθως 20-100 φορές. Το τελικό φάσμα προκύπτει από το μέσο όρο των επαναλήψεων “σαρώσεων” που έχουν εκτελεστεί. Με αυτόν τον τρόπο όταν αυξάνεται ο αριθμός των επαναλήψεων ο

«θόρυβος» μειώνεται και οι εντάσεις των απορροφήσεων βελτιώνονται σημαντικά. Η εξασφάλιση ότι το συμβολόγραμμα εξετάζει κάθε φορά τα ίδια σημεία του φάσματος γίνεται με τη βοήθεια μονοχρωματικής ακτινοβολίας λέιζερ. Η εξέταση πολλών ταυτόχρονα σημείων προσδίδει σε αυτού του τύπου τα φασματοφωτόμετρα πολύ μεγάλη ταχύτητα. Σε αντίθεση στα συμβατικά φασματοφωτόμετρα IR, κάθε σημείο εξετάζεται διαδοχικά και μια φορά.

Η καταγραφή φασμάτων με το μετασχηματισμό Fourier παρουσιάζει, εκτός της υψηλής ταχύτητας καταγραφής, τα πλεονεκτήματα της υψηλής διαχωριστικής ικανότητας και του χαμηλού «θορύβου». Επιπλέον μπορούν να αφαιρεθούν ή να προστεθούν δύο φάσματα, να μεγεθυνθεί τμήμα του φάσματος, να διορθωθεί η βασική γραμμή κλπ. Αρνητικοί παράγοντες στην ποιότητα των FT-IR φασμάτων είναι: α) η υγρασία του δείγματος και β) η υγρασία του χώρου τοποθέτησης του δείγματος. Η υγρασία του δείγματος πρέπει να είναι όσο το δυνατόν χαμηλή. Αυτό σε μεγάλο βαθμό μπορεί να λυθεί με την τεχνική της λυοφιλίωσης των δειγμάτων. Η υγρασία του χώρου του δείγματος μειώνεται με την τοποθέτηση μέσα σ' αυτόν αφυδραντικών (π.χ. silica gel) ή τη διαβίβαση ξηρού αέρα ή αζώτου.

Επειδή στο χώρο των οργάνων υπάρχει ατμοσφαιρικός αέρας, το φάσμα που καταγράφεται «λαμβάνει υπόψη» του και εκείνα τα αέρια συστατικά που απορροφούν στο υπέρυθρο (κυρίως υδρατμοί και διοξείδιο του άνθρακα). Για το λόγο αυτό πριν από τη λήψη του φάσματος του δείγματος καταγράφεται φάσμα αναφοράς. Το φάσμα αναφοράς λαμβάνεται με τον υποδοχέα του δείγματος χωρίς δείγμα, αλλά περιέχοντας κατά περίπτωση βρωμιούχο κάλιο ή το διαλύτη διάλυσης του δείγματος ή μόνον τον ατμοσφαιρικό αέρα. Το φάσμα αναφοράς στη συνέχεια αφαιρείται αυτόματα, με τη βοήθεια του λογισμικού, από το συνολικό φάσμα.

1.7.4 Μετασχηματισμός Fourier

Το σήμα που στέλνει η πηγή υπέρυθρου είναι συνάρτηση συχνοτήτων και συνεπώς κυματαριθμών. Όταν το σήμα εισέλθει στο συμβολόμετρο υπόκειται σε συμβολή με τη διαδικασία που περιγράφεται παραπάνω. Ο τύπος όμως της συμβολής ουσιαστικά εξαρτάται από την καθυστέρηση του κινουμένου κατόπτρου και επομένως το συμβολόγραμμα, είναι συνάρτηση της

καθυστέρησης και ως τέτοια φθάνει στον ηλεκτρονικό υπολογιστή. Ο μετασχηματισμός Fourier είναι ένα μαθηματικό «εργαλείο» με τη βοήθεια του οποίου το συμβολόγραμμα μετασχηματίζεται ξανά σε συνάρτηση κυματαριθμών με βάση τον τύπο

$$B(\bar{\nu}) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\delta) e^{-i2\pi \bar{\nu} \delta} d\delta$$

όπου $B(\bar{\nu})$ η συνάρτηση των κυματαριθμών, όπως αυτοί εκπέμπονται από την πηγή, και $I(\delta)$ η συνάρτηση καθυστέρησης. Ο παραπάνω τύπος αποτελεί το γρήγορο μετασχηματισμό Fourier (**F**ast **F**ourier **T**ransform, **FFT**) όπως αυτός διαμορφώθηκε από τους Cooley και Tukey και με τη βοήθεια του οποίου ο αριθμός των σημείων που εξετάζονται και υπόκεινται στο μετασχηματισμό είναι μειωμένος και επομένως η όλη διαδικασία γίνεται ταχύτερη.

Ουσιαστικά με το μετασχηματισμό Fourier προκύπτουν όλες οι συχνότητες της περιοχής του υπέρυθρου φάσματος που μελετάται. Δηλαδή τα κενά των συχνοτήτων που απορροφήθηκαν από το δείγμα (μερικά ή ολικά) μετασχηματίζονται μαζί με τις συχνότητες που δεν απορροφήθηκαν, σε τυπικό IR φάσμα.

1.7.5 Χαρακτηριστικοί παράμετροι της φασματοσκοπίας FT-IR

Διαχωριστική ικανότητα

Ως διαχωριστική ικανότητα ορίζεται η ικανότητα του οργάνου να ξεχωρίζει κορυφές απορρόφησης που αντιστοιχούν σε πολύ κοντινούς κυματαριθμούς. Η χρήσιμη διαχωριστική ικανότητα ξεκινά από 10 cm^{-1} και φθάνει σε ορισμένα όργανα τα $0,06 \text{ cm}^{-1}$. Συνήθως χρησιμοποιείται αυτή των 4 cm^{-1} και η οποία επιλέγεται πριν από την καταγραφή του φάσματος.

Λόγος σήματος προς θόρυβο (Signal-to-Noise Ratio, RSN).

Η ποιότητα ενός φάσματος καθώς και η αξιολόγησή του εξαρτάται από τον "θόρυβο" που παρουσιάζει. Ως «θόρυβος» εννοούνται όλα εκείνα τα σήματα τα οποία καταγράφονται και δεν ανταποκρίνονται σε πραγματικές απορροφήσεις

του δείγματος αλλά σε άλλους λόγους. Για να αξιολογηθούν τα σήματα χρησιμοποιείται ο όρος «λόγος σήματος προς θόρυβο».

Η αξιολόγηση του RSN επιτυγχάνεται με τον υπολογισμό της τετραγωνικής ρίζας του μέσου όρου του αθροίσματος των τετραγώνων (**Root Mean Square, RMS**) των RSN όλων των σημείων μίας περιοχής για την οποία υπάρχει απόλυτη βεβαιότητα ότι δεν υπάρχει κορυφή που να αποδίδεται στο δείγμα. Μια τέτοια περιοχή είναι αυτή μεταξύ 2050 και 1950 cm^{-1} . Το RMS υπολογίζεται με τη χρήση αλγορίθμων. Ένας από τους αλγόριθμους που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι και αυτός των Savitsky-Golay.

Η αξιολόγηση όμως δεν είναι εύκολη υπόθεση και γίνεται πάντα σε συνδυασμό με την απόδοση της κορυφής αυτής σε κάποια δόνηση. Ο RSN είναι αντιστρόφως ανάλογος της τετραγωνικής ρίζας του αριθμού των επαναλήψεων. Επομένως αυξανόμενου του αριθμού των επαναλήψεων ο θόρυβος μειώνεται.

Οι κυριότερες αιτίες που δημιουργούν θόρυβο οφείλονται α) στην κατάσταση του δείγματος, το οποίο όταν είναι σε στερεά κατάσταση ή δεν έχει διαλυθεί πλήρως στο διαλύτη διαχέει μέρος της προσπίπτουσας σε αυτό ακτινοβολίας, β) στην πηγή, γ) στο συμβολόμετρο, δ) στον ανιχνευτή, ε) στην ψηφιοποίηση του αναλογικού σήματος (αποδισμός), στ) στην υψηλή διαχωριστική ικανότητα που έχει ζητηθεί και ζ) σε διάφορους θορύβους ηλεκτρονικής ή τυχαίας φύσης.

Ο RMS βοηθά στην αξιολόγηση μιας κορυφής, μικρής έντασης, αν είναι πραγματική κορυφή, δηλαδή κορυφή που οφείλεται στο δείγμα, ή πρόκειται για θόρυβο. Υπολογίζεται από το λογισμικό που συνοδεύει όλα τα φασματοφωτόμετρα με μετασχηματισμό Fourier.

Υψηλή διαχωριστική ικανότητα οδηγεί σε αύξηση του θορύβου ενώ όταν αυξάνεται ο αριθμός των επαναλήψεων ο θόρυβος μειώνεται. Όμως ο αυξημένος αριθμός επαναλήψεων οδηγεί σε αύξηση του χρόνου καταγραφής του φάσματος. Αυτό σημαίνει ότι το δείγμα παραμένει εκτιθέμενο στην υπέρυθη ακτινοβολία για περισσότερο χρόνο με κίνδυνο, ανάλογα με τη σύστασή του, να υποστεί αλλοιώσεις.

Αποδισμός

Το κινούμενο κάτοπτρο του συμβολομέτρου, έχει μια μέγιστη καθυστέρηση (Δ) και όχι άπειρη. Έτσι η καθυστέρηση δ κυμαίνεται μεταξύ $-\Delta$

και +Δ και επομένως το συμβολόγραμμα, το οποίο είναι μια ατέλειωτη σειρά, πρέπει να περιοριστεί σε όσες πληροφορίες βρίσκονται μεταξύ -Δ και Δ. Αυτό επιτυγχάνεται θεωρώντας κάθε πληροφορία που υπάρχει στα όρια αυτά πολλαπλασιασμένη επί 1 και κάθε άλλη επί 0. Με τη μαθηματική αυτή τεχνική, γνωστή σαν “boxcar truncation”, γίνεται η ψηφιοποίηση του αναλογικού σήματος η οποία όμως οδηγεί στο σχηματισμό λοβών γύρω από τις κορυφές ενός φάσματος. Η μείωση του φαινομένου αυτού λέγεται αποδισμός, από την ελληνική λέξη α-ποδός (=χωρίς πόδια) επειδή οι λοβοί ονομάζονται και «πόδια». Ο αλγόριθμος που χρησιμοποιείται είναι ενσωματωμένος, κατά κανόνα, στο λογισμικό που συνοδεύει το φασματοφωτόμετρο FT-IR.

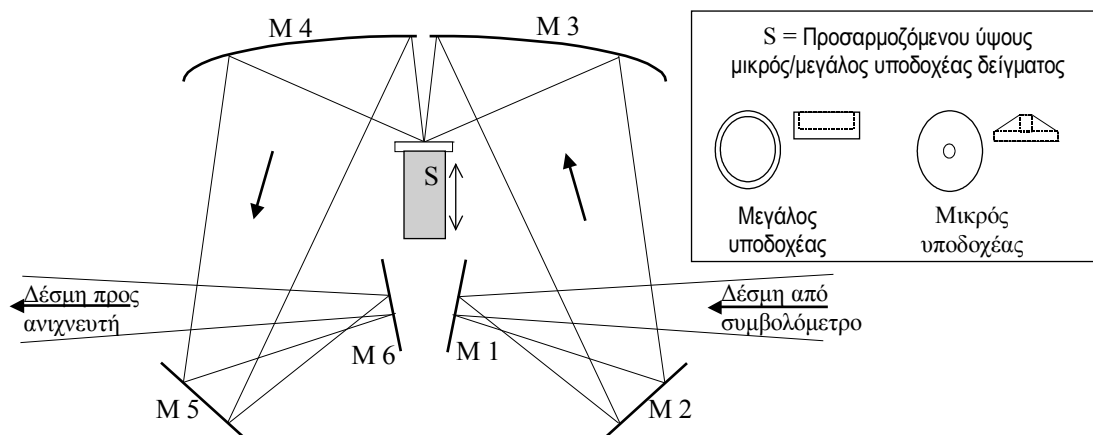
Για τη διαδικασία του αποδισμού, το φασματοφωτόμετρο της Nicolet (750 magna series) χρησιμοποιεί τον αλγόριθμο Happ-Genzel η εξίσωση του οποίου είναι

$$A(\delta) = 0,54 + 0,46 \cos \pi \frac{\delta}{\Delta}$$

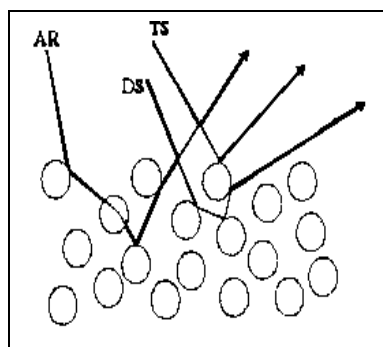
όπου δ η καθυστέρηση και Δ η μέγιστη καθυστέρηση.

1.7.6 Φασματοσκοπία FT-IR με την τεχνική της διάχυτης ανάκλασης (Diffuse Reflectance Fourier Transformed Infrared Spectroscopy – DRIFTS)

Η φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης είναι μία από τις τεχνικές λήψης FT-IR φασμάτων από δείγματα σε στερεά κατάσταση, συνήθως σε μορφή σκόνης χωρίς την προσθήκη άλλου υλικού (π.χ. βρωμιούχο κάλιο). Για τη λήψη των φασμάτων χρησιμοποιείται ειδικό εξάρτημα για την υποδοχή του δείγματος (Σχήμα 1.7.6.1). Το εξάρτημα αυτό διαθέτει 6 κάτοπτρα. Τα κάτοπτρα M₁, M₂ και M₃ εστιάζουν τη δέσμη της ακτινοβολίας που έρχεται από το συμβολόμετρο επάνω στο δείγμα, ενώ τα M₄, M₅ και M₆ εστιάζουν την ανακλώμενη ακτινοβολία από το δείγμα προς τον ανιχνευτή. Ο χώρος όπου τοποθετείται το δείγμα (υποδοχέας) μπορεί να είναι δύο μεγεθών. Ο μεγαλύτερος έχει διάμετρο 13 mm και ύψος 2 mm ενώ ο μικρός 3 και 2 mm αντίστοιχα.



Σχήμα 1.7.6.1. Εξάρτημα φασματοσκοπίας διάχυτης ανάκλασης.



Σχήμα 1.7.6.2. Τα τρία είδη ανάκλασης υπέρυθρης ακτινοβολίας σε στερεό δείγμα με μορφή σκόνης (AR: απορροφητικά ανακλώμενη, DS: διαχυτικά ανακλώμενη, TS: αληθινά ανακλώμενη).

Όταν η υπέρυθρη ακτινοβολία προσπέσει στην επιφάνεια του υλικού ένα τμήμα της ανακλάται (ή διαχέεται), ένα τμήμα διαθλάται και ένα τμήμα περιθλάται. Ουσιαστικά η ανάκλαση είναι το φαινόμενο στο οποίο στηρίζεται η τεχνική DRIFTS. Όμως η υπέρυθρη ακτινοβολία υπόκειται σε τριών ειδών ανακλάσεις. Την απορροφητική, τη διαχυτική και την αληθινή ανάκλαση (Σχήμα 1.7.6.2). Από τα τρία αυτά είδη ανάκλασης μόνον η απορροφητική περιέχει πληροφορίες για το δείγμα. Το μέρος της ακτινοβολίας που θα απορροφηθεί

και στη συνέχεια θα ανακλαστεί, δηλαδή η απορροφητική ανάκλαση, εξαρτάται από:

- α) το μέγεθος των σωματιδίων του δείγματος,
- β) τη μετωπική επιφάνεια και την πυκνότητα πακεταρίσματος του δείγματος στον υποδοχέα
- γ) το δείκτη διάθλασης του δείγματος καθώς και από
- δ) τη γωνία πρόσπτωσης της ακτινοβολίας επάνω στο δείγμα.

Επιπλέον είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη συλλογή και τη διοχέτευση της ακτινοβολίας αυτής στον ανιχνευτή.

Το μέγεθος των σωματιδίων του δείγματος είναι καθοριστικός παράγοντας για την ποιότητα του φάσματος που θα ληφθεί. Όταν το μέγεθος των σωματιδίων είναι μεγάλο επικρατεί το φαινόμενο σκέδασης της ακτινοβολίας με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά ο θόρυβος και να μειώνεται το ποσό της ακτινοβολίας που διεισδύει μέσα στο δείγμα και ως εκ τούτου να μειώνεται και η ένταση των απορροφήσεων. Όσο μειώνεται το μέγεθος των σωματιδίων που απαρτίζουν τη σκόνη, αυξάνει η ένταση των κορυφών και μειώνεται αισθητά ο θόρυβος. Ιδανικό είναι το μέγεθος το οποίο είναι μικρότερο του μήκους κύματος της ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται. Όμως αυτό εξαρτάται από τη φύση του δείγματος και δεν μπορεί αρκετές φορές να επιτευχθεί.

Η ομαλότητα της μετωπικής επιφάνειας του δείγματος, στον υποδοχέα, μειώνει αισθητά το θόρυβο. Η ομαλότητα εξαρτάται από τη φύση του δείγματος, το μέγεθος των σωματιδίων και τον τρόπο τοποθέτησης του δείγματος. Τα στιλπνά υλικά δημιουργούν προβλήματα διότι σημαντικό μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας ανακλάται.

Η πυκνότητα του πακεταρίσματος του δείγματος ουσιαστικά εξαρτάται από την πίεση που ασκείται σε αυτό κατά την τοποθέτησή του στον υποδοχέα. Ουσιαστικές μεταβολές υπάρχουν όταν ασκούνται υπερβολικά μεγάλες πιέσεις, γιατί τότε αλλάζει ο δείκτης διάθλασης του δείγματος.

Ο υποδοχέας του δείγματος ρυθμίζεται κατά μήκος και κατά ύψος. Με τον τρόπο αυτό μεταβάλλεται η γωνία πρόσπτωσης και βελτιστοποιείται η εστίαση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας στο δείγμα. Αυτό επιβεβαιώνεται από τη μεγιστοποίηση του σήματος IR στην οθόνη του υπολογιστή.

Η μέθοδος DRIFTS χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο τα τελευταία χρόνια γιατί είναι απλή, πάρα πολύ γρήγορη και δεν απαιτεί ουσιαστικά

προηγούμενη κατεργασία του δείγματος. Η λήψη των φασμάτων γίνεται είτε με το δείγμα ως έχει (Παππάς 2000) είτε με ανάμιξη σε αναλογία συνήθως 1:100 με βρωμιούχο κάλιο ή χλωριούχο κάλιο (Παππάς 2000). Όταν εξετάζονται μίγματα, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην ομογενοποίηση τους.

1.7.7 Επεξεργασία των φασμάτων FT-IR

Οι συνήθεις επεξεργασίες που γίνονται στα FT-IR φάσματα είναι η εξομάλυνση του σήματος, η διόρθωση της βασικής γραμμής και η αποσυνέλιξη. Οι επεξεργασίες αυτές αποσκοπούν στη βελτίωση της εικόνας του φάσματος και βοηθούν στους ποιοτικούς και ποσοτικούς προσδιορισμούς.

Αυτόματη εξομάλυνση

Με την εξομάλυνση δεν απομακρύνεται ο θόρυβος αλλά μειώνεται αισθητά χωρίς να παραποιείται η εικόνα του φάσματος, με βάση μία μαθηματική επεξεργασία με αποτέλεσμα να βελτιώνεται ο λόγος RSN. Για την βελτίωση του RSN χρησιμοποιείται η διαδικασία του RMS, όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, εφαρμόζοντας τον αλγόριθμο των Savitsky-Golay. Ο αλγόριθμος αυτός χρησιμοποιεί ένα πολυωνυμικό μοντέλο, τις πληροφορίες για το RSN επιλεγμένων σημείων και με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων προσαρμόζει την καμπύλη του φάσματος. Η λειτουργία “αυτόματη εξομάλυνση” του λογισμικού Omnic 3.1 των φασματομέτρων της εταιρείας Nicolet, χρησιμοποιεί τον παραπάνω αλγόριθμο με πολυωνυμικό μοντέλο δευτέρου βαθμού και πέντε επιλεγμένα σημεία.

Διόρθωση βασικής γραμμής

Η βασική γραμμή των φασμάτων FT-IR συνήθως αποτελείται και από σημεία των οποίων η ένταση δεν είναι μηδέν, γι' αυτό συνήθως γίνεται διόρθωσή της. Η διόρθωση της βασικής γραμμής δεν γίνεται μόνον για λόγους εμφάνισης των φασμάτων, αλλά είναι αναγκαία όταν πρόκειται να συγκριθούν δύο φάσματα ή να χρησιμοποιηθούν για ποσοτική ανάλυση.

Η διόρθωση της βασικής γραμμής γίνεται είτε με αυτόματη διαδικασία από το λογισμικό είτε με καθοδηγούμενη. Στη δεύτερη περίπτωση οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι η γραμμική, της κυβικής σφήνας και η πολυωνυμική.

Στην γραμμική τεχνική επιλέγονται τα σημεία τα οποία θεωρούνται ότι έχουν απορρόφηση μηδέν και όλο το φάσμα προσαρμόζεται κατάλληλα, ενώ στην τεχνική της κυβικής σφήνας, διαδοχικές ομάδες τεσσάρων σημείων υπόκεινται σε προσαρμογή τρίτοβάθμιου πολυωνύμου. Τέλος με την πολυωνυμική τεχνική, γίνεται προσαρμογή της γραμμής βάσης σε πολυώνυμο ο βαθμός του οποίου αυξάνει (με μέγιστο βαθμό 6) ανάλογα με τα σημεία που επιλέγονται.

Αποσυνέλιξη

Όταν καταγράφονται φάσματα μιγμάτων ή φυσικών προϊόντων τις περισσότερες φορές υπάρχει αλληλοεπικάλυψη κορυφών με αποτέλεσμα να εμφανίζονται σαν μία κορυφή. Για να αντιμετωπισθεί το πρόβλημα αυτό οι κορυφές αποσυνελίσσονται χρησιμοποιώντας μαθηματικές τεχνικές.

Κατά γενική παραδοχή το σχήμα των κορυφών στην υπέρυθρη φασματοσκοπία, όταν αυτές εμφανίζονται σαν συνάρτηση απορρόφησης – κυματαριθμού, αποδίδεται καλλίτερα από τη συνάρτηση Lorentzian, της οποίας ο τύπος είναι

$$A(\bar{\nu}) = A_{peak}^t \frac{\gamma^2}{\gamma^2 + (\bar{\nu} - \bar{\nu}_0)^2}$$

όπου A_{peak}^t η μέγιστη απορρόφηση που παρατηρείται στον κυματαριθμό $\bar{\nu}_0$ και γ το μισό πλάτος στο μισό ύψος της κορυφής. Η συνάρτηση αυτή δίνει κορυφές στενές στο πάνω μέρος τους, ενώ κοντά στη βάση τους εκτείνονται έχοντας μεγάλο μήκος.

Με βάση την παραδοχή αυτή η αλληλοεπικάλυψη των κορυφών δεν οφείλεται μόνον στη διαχωριστική ικανότητα του φασματόμετρου αλλά στη συνάρτηση Lorentzian. Επομένως μόνον με κάποια μαθηματική μέθοδο μπορούν οι αλληλοεπικαλυπτόμενες κορυφές να αποκαλυφθούν.

Ανεξάρτητα από την τεχνική που χρησιμοποιείται κάθε φορά υπάρχει ένα βασικό ερώτημα. Πόσες είναι οι αλληλοεπικαλυπτόμενες κορυφές που βρίσκονται να είναι συνελιγμένες σε μία; Το ερώτημα δεν είναι εύκολο να απαντηθεί κάθε φορά. Μία καλή τεχνική είναι αυτή της δευτέρας παραγώγου.

Υπολογίζοντας τη δεύτερη παράγωγο της συνάρτησης της καμπύλης απορρόφησης, με τη βοήθεια λογισμικού, προκύπτει καμπύλη τα ελάχιστα της οποίας είναι πιθανόν να αντιστοιχούν στα μέγιστα των αλληλοεπικαλυπτόμενων κορυφών. Τα ελάχιστα αυτά, με βάση τον κυματαριθμό στον οποίο εμφανίζονται, γίνεται προσπάθεια να αποδοθούν σε κάποια δόνηση. Όσα ελάχιστα αποδίδονται είναι πιθανόν να οφείλονται σε διαφορετικές κορυφές.

Στη συνέχεια γίνεται αποσυνέλιξη της αρχικής κορυφής στις πιθανές κορυφές που την αποτελούν. Η διαδικασία αυτή επιτυγχάνεται με δύο τρόπους. Ο ένας είναι αυτός της αποσυνέλιξης κατά Fourier και ο δεύτερος της εξομοίωσης της καμπύλης.

Αποσυνέλιξη κατά Fourier

Ο αριθμός και το σχήμα των αποσυνελιγμένων κορυφών καθορίζεται από τη συνάρτηση Lorentzian με τη χρήση δύο παραμέτρων. Το πλάτος στο μέσο ύψος κάθε κορυφής που θα προκύψει από την αποσυνέλιξη και το βαθμό αποσυνέλιξης ο οποίος επηρεάζει το RMS στο αποσυνελιγμένο φάσμα. Η τελευταία παράμετρος καθορίζει τον αριθμό των κορυφών που θα προκύψουν από την αποσυνέλιξη της αρχικής κορυφής. Το RMS με την αποσυνέλιξη χειροτερεύει δεν πρέπει όμως ο λόγος της τιμής του RMS μετά την αποσυνέλιξη προς την τιμή του πριν την αποσυνέλιξη να είναι μεγαλύτερος από 1000:1. Η αποδοχή ή μη της αποσυνέλιξης γίνεται με συνεκτίμηση αφ' ενός μεν από του πλήθους των κορυφών που θα προκύψουν από την αποσυνέλιξη, αν δηλαδή το πλήθος τους συμφωνεί με το πλήθος που έχει βρεθεί με τη μέθοδο της δευτέρας παραγωγού, και αφ' ετέρου από τον RMS που θα προκύψει μετά την αποσυνέλιξη.

Η διαδικασία της αποσυνέλιξης κατά Fourier επιτυγχάνεται από το λογισμικό (όπως το OMNIC ver. 3.1) που συνοδεύει τα περισσότερα φασματόμετρα FT-IR.

Μέθοδος της εξομοίωσης καμπύλης

Η επεξεργασία αυτή είναι ιδιαίτερα σύνθετη και για να γίνει απαιτείται η χρήση αλγορίθμων αναπαραγωγής μοντέλων προσαρμογής ιδεατών κορυφών

σε πολύπλοκα συστήματα αλληλοεπικαλυπτόμενων κορυφών, όπως στα φάσματα. Η αλματώδης πρόοδος της επιστήμης των ηλεκτρονικών υπολογιστών έδωσε τη δυνατότητα ανάπτυξης ειδικών λογισμικών που την αποσυνέλιξη η οποία επιτυγχάνεται με τις εξής διαδικασίες:

1. Προσαρμογή καμπυλών όχι μόνον σύμφωνα με τη συνάρτηση Lorentzian αλλά χρησιμοποιώντας και άλλες συναρτήσεις (π.χ. Gaussian, mixed Gaussian- Lorentzian, Log-Normal, Pearson VII, Voigt και εκθετικά τροποποιημένες καμπύλες Gauss).
2. Αυτόματο σύστημα εντοπισμού επιλογής και εκτίμησης της θέσης και του μεγέθους των κορυφών.
3. Δυνατότητα εκτίμησης των αρχικών παραμέτρων των κορυφών από έναν ταχύτατο ευέλικτο και διαδραστικό επιλογέα κορυφών.
4. Υψηλή ποιότητα και απόδοση της τελικής παρουσίας.
5. Δυνατότητα επισκόπησης των στατιστικών αποτελεσμάτων και γραφικών αναπαραστάσεων.

Η εύρεση των διαφόρων συναρτήσεων ενός συστήματος πολλαπλών κορυφών πραγματοποιείται με βάση τον υπολογισμό των παραμέτρων αυτών των συναρτήσεων αλλά και τον καλύτερο συνδυασμό αυτών που αποδίδουν ορθότερα και με υψηλή πιστότητα και ακρίβεια το υπό ανάλυση φάσμα. Οι τιμές των παραμέτρων των συναρτήσεων αυτών έχουν ιδιαίτερη σημασία στον καθορισμό της φυσικής σημασίας των κορυφών του φάσματος. Η αδυναμία, λόγω έλλειψης μιας μεθόδου που θα μας παρείχε τη δυνατότητα υπολογισμού και εύρεσης μιας εξίσωσης που να αποδίδει πιστά την κάθε κορυφή ενός φάσματος, μας αναγκάζει να καταφεύγουμε στη χρήση μη γραμμικών μεθόδων προσαρμογής καμπυλών. Η προσέγγιση της τελικής τιμής γίνεται με βάση τη δοκιμή και απόρριψη διαφόρων συνδυασμών τιμών μέχρις ότου επιλεγεί η καλύτερη δυνατή λύση.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό πακέτο «Peaksolve» το οποίο κάνει χρήση του αλγορίθμου των Levenberg – Marquardt και η βασική λειτουργία του είναι η παρακάτω.

Πάνω στην υπό αποσυνέλιξη κορυφή τοποθετούνται οι κορυφές που έχουν βρεθεί με τη βοήθεια της δευτέρας παραγώγου και στους κυματαριθμούς που υποδεικνύονται από αυτή. Μαζί με την παράμετρο αυτή τοποθετούνται επιπλέον δύο παράμετροι: το ύψος και το πλάτος στο μέσο ύψος.

Η αποδοχή ή μη της αποσυνέλιξης και της προσαρμογής της καμπύλης του φάσματος γίνεται από το ίδιο το πρόγραμμα με βάση τη δοκιμή του χ^2 και του συντελεστή συσχέτισης της προσαρμοσμένης καμπύλης σε σχέση με την αυθεντική-μητρική καμπύλη. Ο προσαρμοσμένος τύπος του χ^2 που χρησιμοποιείται από το πρόγραμμα είναι ο

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=0}^n \left(\frac{A_i - C_i}{RMS} \right)^2}{n - f}$$

όπου A_i η πραγματική τιμή της απορρόφησης ενός σημείου i που υπολογίζεται από την αρχική καμπύλη (κορυφή του φάσματος), C_i η τιμή της απορρόφησης του σημείου i που υπολογίζεται από την προσαρμοσμένη καμπύλη, RMS είναι η μέση τετραγωνική ρίζα του θορύβου του υπό ανάλυση φάσματος, n είναι ο αριθμός των δεδομένων σημείων της προσαρμοσμένης καμπύλης και f ο συνολικός αριθμός των μεταβλητών δηλαδή $n-f$ είναι οι βαθμοί ελευθερίας.

Η τιμή του RMS υπολογίζεται είτε από το ίδιο το πρόγραμμα (Peaksolve) είτε, όπως εφαρμόστηκε στην εργασία αυτή, από το αρχικό λογισμικό πρόγραμμα καταγραφής του φάσματος (OMNIC ver. 3.1) στην περιοχή 2000 -1950 cm^{-1} στην οποία δεν υπάρχουν απορροφήσεις.

Η αποδοχή της αποσυνέλιξης γίνεται αυτόματα από το λογισμικό πρόγραμμα εφόσον η τιμή του χ^2 είναι μικρότερη από τη μέγιστη δυνατή που δίνεται από τους στατιστικούς πίνακες με στάθμη εμπιστοσύνης 95 %.

Σκόπιμο είναι η αποσυνέλιξη και η προσαρμογή της καμπύλης να γίνεται με χρήση διαφόρων συναρτήσεων (Lorentzian, Gaussian κλπ) και σαν αποδεκτή λύση να λαμβάνεται αυτή που δίνει το μικρότερο χ^2 και τον υψηλότερο συντελεστή συσχέτισης.

1.8 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Τοποθετήσαμε νεαρά φυτά αραβοσίτου σε ποτήρια με νερό και παρακολουθήσαμε την ανάπτυξή τους για ένα μήνα. Τα φυτά ακολουθούν το αναπτυξιακό πρόγραμμά τους (Κωσταράς 2009) και όταν εξαντληθούν τα αποθέματα του σπέρματος, ανακυκλώνουν υλικά για να συντηρηθούν (Πιτσιλαδής 2009). Στην παρούσα εργασία εστιάσαμε το ενδιαφέρον μας στα φαινοτικά που αποτελούν πρόδρομες ενώσεις λιγνινοποίησης και μελετήσαμε την κινητική τους με την λήψη και μελέτη φασμάτων FT-IR. Αυτά συνδυάστηκαν με τα δεδομένα της κινητικής των μεταβολών της ξηρής μάζας και της υγρασίας για κάθε όργανο, ενώ η λειτουργικότητα των φύλλων εκτιμήθηκε με μέτρηση της φωτοδυναμικής ικανότητας του κάθε φύλλου.

2. Πειραματικό Μέρος

2.1 Φυτικό υλικό και ανάπτυξη φυταρίων

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε προήλθε από σπόρους καλαμποκιού (*Zea Mays* L) του υβρίδιου Cisko το οποίο προμηθευτήκαμε από την εταιρεία Syngenta. Το συγκεκριμένο υβρίδιο είναι μικρού βιολογικού κύκλου και χαρακτηρίζεται αρκετά παραγωγικό με μεγάλη προσαρμοστικότητα.

Για την βλάστηση των σπόρων ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία, αρχικά οι σπόροι τοποθετούνταν σε μία καθαρή πλαστική λεκάνη και ξεπλένονταν με απιονισμένο νερό. Μετά τοποθετούνταν σε πλαστικό δίσκο αφού προηγουμένως είχαμε στρώσει στην επιφάνεια του 2-3 φύλλα διηθητικού χαρτιού, καλύπταμε τους σπόρους με ακόμα 2-3 φύλλα διηθητικού χαρτιού και καταβρέχαμε με απιονισμένο νερό έως κορεσμού του διηθητικού χαρτιού. Στο τέλος καλύπταμε το πάνω μέρος του δίσκου με φύλλο από μαύρο πολυμερές, ώστε να εξασφαλιστεί σκοτάδι και να παραμένει η υγρασία σε υψηλά επίπεδα. Η θερμοκρασία κυμαίνονταν στους 27-28 °C και η σχετική υγρασία στο 70-80%.



Εικόνα 9 : Σπόροι που μόλις έχουν βλαστήσει

2.2 Εγκατάσταση νεαρών φυταρίων

Ύστερα από την πάροδο 1-2 ημερών οι σπόροι βλάσταναν και τοποθετούντο σε πλαστικά διαφανή κυπελλάκια με την βοήθεια λαβίδας. Ακολούθως, τα πλαστικά κυπελλάκια έμπαιναν σε πλαστικές παλλέτες των 18 θέσεων. Τα πλαστικά ποτηράκια για υπόστρωμα ανάπτυξης περιείχαν μόνο απιονισμένο

νερό σε ποσότητα τέτοια που ίσα ίσα να καλύπτει το νεαρό εμβρυϊκό ριζικό σύστημα. Παρέμεναν για 2 ημέρες σε συνθήκες σκότους και μετά τα οι πλαστικές παλέτες μεταφέρονταν στο θάλαμο ανάπτυξης. Οι συνθήκες εκεί ήταν φωτοπερίοδος 10h φως και 14h σκοτάδι, η ένταση του φωτισμού ήταν $186 \mu\text{E m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ στο ύψος σχεδόν των φύλλων των νεαρών φυταρίων, η θερμοκρασία στο θάλαμο ήταν $28 \text{ }^\circ\text{C}$ και η σχετική υγρασία 36%. Γινόταν καθημερινώς έλεγχος της στάθμης του απιονισμένου νερού για το κάθε φυτό και συμπληρώνονταν στο αρχικό επίπεδο.

2.3 Δειγματοληψία

Πραγματοποιήθηκαν τυχαίες δειγματοληψίες φυτών από την ημέρα μηδέν έως και την τριακοστή ημέρα ανάπτυξης των νεαρών φυταρίων. Σε κάθε επανάληψη, για τον προσδιορισμό της νωπής μάζας χρησιμοποιήθηκαν τριάδα φυτών ανά ημέρα μέτρησης, ενώ για τον προσδιορισμό της ξηρής μάζας δύο φυτά ανά ημέρα μέτρησης. Για τον προσδιορισμό λιγνίνης τρία φυτά ανά ημέρα προσδιορισμού, ενώ για το προσδιορισμό της φωτοχημικής ικανότητας χρησιμοποιήθηκαν συνολικά έξι φυτά, μία τριάδα από την έκτη ημέρα έως την εικοστή και μια τριάδα από την εικοστή πρώτη έως την εικοστή ένατη.

2.4 Προσδιορισμός νωπής και ξηρής μάζας των φυτομερών του αραβόσιτου

Για τον προσδιορισμό της νωπής μάζας κάθε φυτό τεμαχίστηκε στα παρακάτω τμήματα: πρωτογενής ρίζα, δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες, βλαστογενείς ρίζες, βλαστός (περιελάμβανε κολεό και μεσοκοτύλιο), εμβρυακό φύλλο, πρώτο, δεύτερο, τρίτο, τέταρτο κανονικό φύλλο. Επίσης καταγράφηκε ο αριθμός των δευτερογενών εμβρυακών και βλαστογενών ριζών για κάθε δείγμα. Για τον προσδιορισμό της ξηρής μάζας τα δείγματα αφού ζυγίστηκαν μεταφέρθηκαν σε φούρνο που ρυθμίστηκε στους $80 \text{ }^\circ\text{C}$, όπου παρέμειναν για 2 ημέρες μετά ζυγίστηκαν προκειμένου να καταγραφεί το ξηρό τους βάρος. Τα αποτελέσματα νωπής και ξηρής μάζας μεταφέρθηκαν στο λογισμικό Microsoft Office Excel και με την επεξεργασία του προέκυψε η κατανομή της υγρασίας στο κάθε φυτομερές.

2.5 Προσδιορισμός φωτοχημικής ικανότητας

Για τον προσδιορισμό της φωτοχημικής ικανότητας χρησιμοποιήθηκαν τρία φυτά σε κάθε επανάληψη και οι μετρήσεις ξεκίνησαν από την έκτη ημέρα από την βλάστηση των αντίστοιχων σπόρων, διότι η ημέρα αυτή συμπίπτει με το ξεδίπλωμα του εμβρυακού φύλλου. Προσδιορίστηκε η φωτοχημική ικανότητα στο εμβρυακό, το πρώτο, το δεύτερο και το τρίτο πραγματικό φύλλο. Η διαδικασία μέτρησης κάθε φύλλου ξεκινούσε μόλις αυτό ξεδιπλώνονταν καλά. Καταγράφονταν τα αποτελέσματα που αφορούσαν τον δείκτη Yield ο οποίος προσδιορίζει την δυναμικότητα του φωτοσυστήματος II κάτω από συνθήκες φωτός. Η μέτρηση του παραπάνω δείκτη έγινε πάνω στο θάλαμο ανάπτυξης των φυτών την προγραμματισμένη χρονική περίοδο των 10 h που τα φυτά δέχονταν λευκό φωτισμό από τους λαμπτήρες πυρακτώσεως (μέση ένταση 187 $\mu\text{mole quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Η καταγραφή της τιμής Yield για κάθε φύλλο επαναλαμβάνονταν ανα 1-2 min έως ότου σταθεροποιούνταν σε μία τιμή που δεν παρουσίαζε στατιστικά σημαντική διαφορά. Επίσης καταγράφησαν τα αποτελέσματα από τον δείκτη f_v/f_m ο οποίος προσδιορίζει την δυναμικότητα του φωτοσυστήματος II σε συνθήκες σκότους. Η μέτρηση έγινε αφού πρώτα τα φυτά απομακρύνθηκαν από το θάλαμο ανάπτυξης και παρέμειναν σε συνθήκες σκότους για 20-25 min. Ως σημείο μέτρησης για κάθε φύλλο και κάθε δείκτη (Yield, f_v/f_m) ήταν το σημείο που αντιστοιχούσε στο μέσο του μήκους του φύλλου, της άνω επιφάνειας του. Για την καταγραφή των μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε φορητό φθορισμόμετρο χλωροφύλλης PAM-2100 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany). Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν με το λογισμικό Microsoft Office Excel από το οποίο προέκυψαν και τα αντίστοιχα διαγράμματα.



Εικόνα 10: Φορητό φθορισμόμετρο χλωροφύλλης PAM-2100 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany).

2.6 Ποσοτικός προσδιορισμός φαινολικών παραγώγων στο καλαμπόκι με χρήση της της τεχνικής DRIFTS

2.6.1 Υλικά

Για τον προσδιορισμό φαινολικών παραγώγων στα φυτικά τμήματα νεαρών φυτών καλαμποκιού χρησιμοποιήθηκε σπόρος από το υβρίδιο Cisko της εταιρείας Syngenta. Ακολουθήθηκε αρχικά η ίδια ακριβώς διαδικασία όπως και στον προσδιορισμό της νωπής και ξηρής μάζας, (πλύσιμο με απιονισμένο νερό των σπόρων, μεταφορά σε πλαστικό δίσκο για την βλάστηση αυτών, μεταφορά των νεαρών φυταρίων σε πλαστικά διαφανή κυπελάκια και τοποθέτηση αυτών σε πλαστικές παλέτες των 18 θέσεων και τέλος εισαγωγή των παλετών στο

θάλαμο ανάπτυξης που προαναφέραμε). Για κάθε μέρα μέτρησης χρησιμοποιήθηκαν 3 φυτά. Κάθε φυτό τεμαχίζονταν στα παρακάτω τμήματα: πρωτογενής ρίζα, δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες, βλαστογενείς ρίζες, βλαστός (περιλάμβανε κολεό και μεσοκοτύλιο), εμβρυακό φύλλο, πρώτο, δεύτερο, τρίτο, τέταρτο κανονικό φύλλο. Αμέσως καταγράφονταν η νωπή μάζα κάθε φυτικού τμήματος, αυτό τυλίγονταν με εμπορικό τούλι, ύστερα τοποθετούνταν σε πλαστικό αεροστεγές κουτί και το κουτί αυτό έμπαινε στον καταψύκτη στους -20°C . Τα δείγματα παρέμεναν στον καταψύκτη για πάνω από τρεις ημέρες. Ύστερα τα δείγματα μεταφέρονταν στο λυοφιλιωτή όπου υφίσταντο την αντίστοιχη επέμβαση για 24h σκοπός της επέμβασης αυτής ήταν να απομακρυνθεί καθολικά η υγρασία από τους φυτικούς ιστούς. Μετά τα δείγματα έμπαιναν σε πλαστικό ξηραντήρα ο οποίος είχε στο εσωτερικό του ένα ποτηράκι ζέσεως, το οποίο περιείχε άνυδρο θειικό χαλκό, ώστε να εξασφαλίζεται ξηρό περιβάλλον στο εσωτερικό του ξηραντήρα για να μην εισέλθει υγρασία από τον περιβάλλοντα χώρο στα λυοφιλιωποιηθέντα δείγματα. Ύστερα γίνονταν η λειοτρίβηση κάθε ενός ξεχωριστά φυτικού τμήματος με την χρήση κατάλληλου πορσελάνινου γουδιού. Το φυτικό τμήμα μετατρέπονταν σε μορφή σκόνης από την οποία λαμβάνονταν ένα μικρό δείγμα που τοποθετούνταν σε κατάλληλο καψίδιο και αυτό με την σειρά του εισάγονταν για μέτρηση στο Φασματοφωτόμετρο FT-IR (Nicolet 6700) της εταιρείας Thermo Electron Corporation. Το υλικό που περίσσευε αποθηκεύονταν σε eppendorfs.

2.6.2 Μεθοδολογία

Παρασκευάστηκαν δέκα πρότυπα δείγματα περιεκτικότητας από 0,000 έως και 10,000 % σε λιγνίνη. Τα πρότυπα δείγματα παρασκευάστηκαν με ανάμιξη κατάλληλης ποσότητας εμπορικής λιγνίνης και στερεό βρωμιούχο κάλιο. Χρησιμοποιήθηκε λιγνίνη της εταιρείας Aldrich.

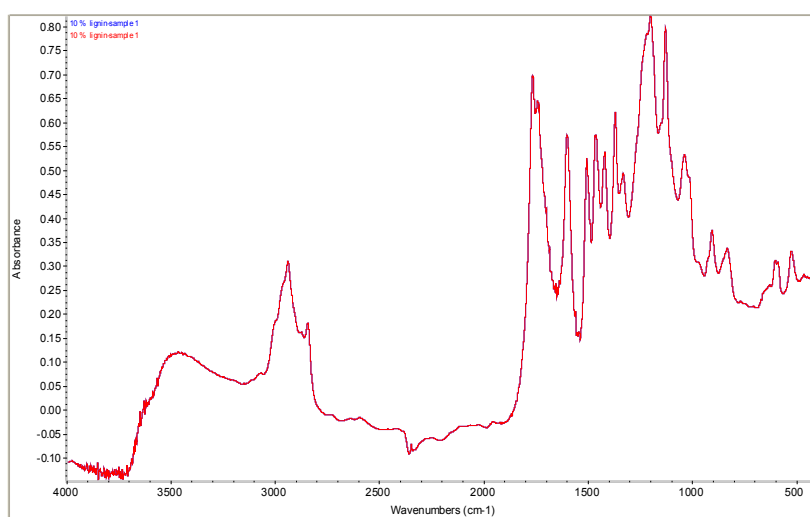
Λήφθηκαν τα φάσματα FT-IR όλων των προτύπων και αγνώστων δειγμάτων. Όλα τα φάσματα ελήφθησαν με την τεχνική της διάχυτης ανάκλασης. Σαν αναφορά χρησιμοποιήθηκε το βρωμιούχο κάλιο. Για τη λήψη των φασμάτων έγιναν 100 “σαρώσεις” του δείγματος. Η διαχωριστική ικανότητα ήταν 4 cm^{-1} , η ταχύτητα του κινούμενου κατόπτρου του συμβολόμετρου $0,3165\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ και ο αποδισμός έγινε με χρήση του αλγόριθμου Happ-Genzel.

Επεξεργασία των φασμάτων FT-IR

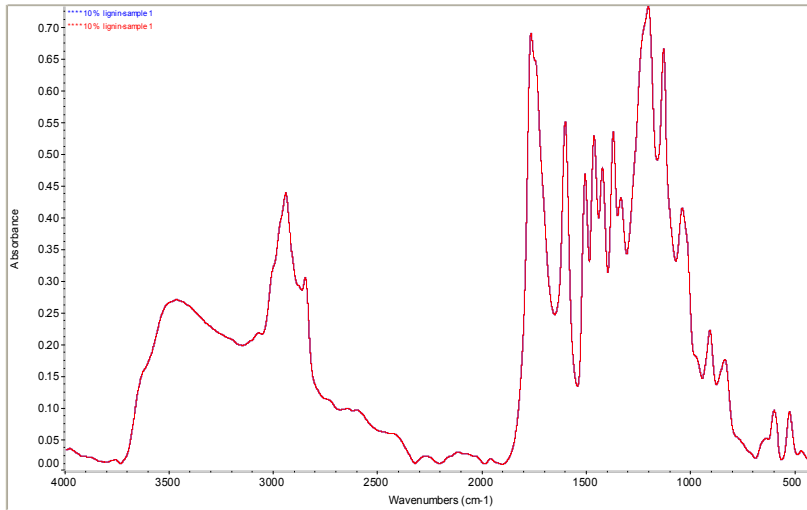
Τα φάσματα FT-IR εξομαλύνθηκαν και στη συνέχεια έγινε διόρθωση της βασικής γραμμής των FT-IR φασμάτων. Οι επεξεργασίες αυτές έγιναν με τη βοήθεια των λειτουργιών “αυτόματη εξομάλυνση” και “αυτόματη διόρθωση βασικής γραμμής” του λογισμικού.

Πρότυπα δείγματα

Υπολογίστηκε το εμβαδόν της περιοχής που περικλείεται από τους κυματαριθμούς 1540 και 1490 cm^{-1} , τη καμπύλη απορρόφησης και τη γραμμή βάσης για όλα τα φάσματα. Για λόγους συντομίας η περιοχή αυτή θα ονομάζεται περιοχή των 1508 cm^{-1} . Ο υπολογισμός του εμβαδού της περιοχής αυτής έγινε χρησιμοποιώντας την αντίστοιχη λειτουργία που περιέχεται στο λογισμικό ως εξής: Με τη βοήθεια ειδικού “εργαλείου”, που περιλαμβάνεται στο λογισμικό, σχεδιάστηκε η εφαπτομένη στη φασματική γραμμή στα σημεία 1540 και 1490 cm^{-1} . Αυτόματα τότε υπολογιζόταν το εμβαδόν της περιοχής μεταξύ της εφαπτομένης και της φασματικής γραμμής.



Σχήμα 1 FT-IR φάσμα προτύπου με περιεκτικότητα λιγνίνης 10% χωρίς εξομάλυνση.



Σχήμα 2 FT-IR φάσμα προτύπου με περιεκτικότητα λιγνίνης 10% με εξομάλυνση.

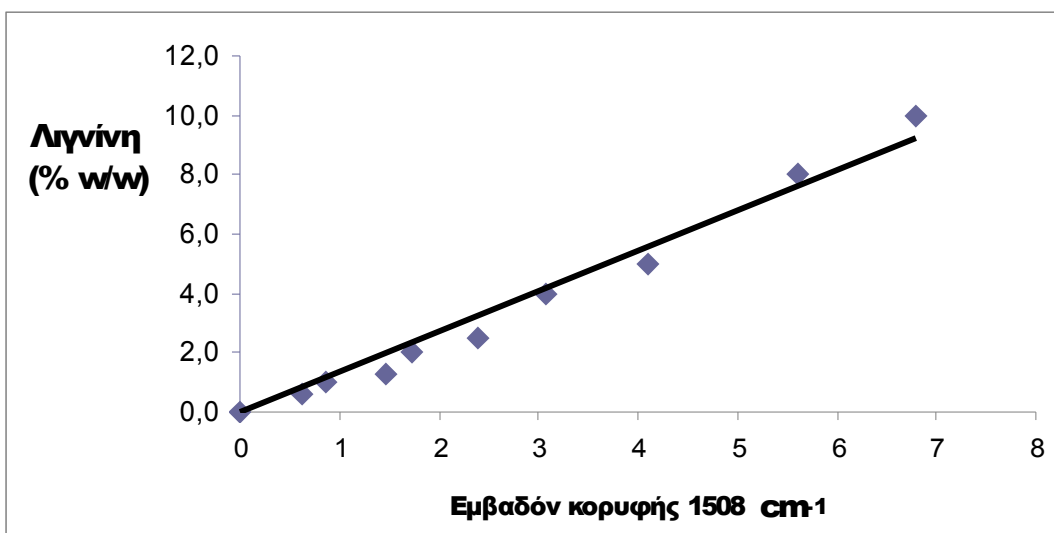
Πίνακας 1: Μέσος όρος εμβαδού της φασματικής περιοχής 1505 cm^{-1} των προτύπων συναρτήσει της περιεκτικότητας της λιγνίνης.

%	Εμβαδό κορυφής 1508 cm^{-1}			M.O εμβαδών κορυφής 1508 cm^{-1}	% Λιγνίν η	STDE V
0,000	0	0	0	0	0,000	0
0,625	0,642	0,621	0,635	0,63	0,625	0,01
1,000	0,801	0,852	0,957	0,87	1,000	0,08
1,250	1,491	1,502	1,387	1,46	1,250	0,06
2,000	1,740	1,684	1,756	1,73	2,000	0,04
2,500	2,356	2,400	2,412	2,39	2,500	0,03
4,000	2,987	3,122	3,115	3,07	4,000	0,08
5,000	4,113	4,111	4,065	4,10	5,000	0,03
8,000	5,612	5,622	5,589	5,61	8,000	0,02
10,000	6,762	6,843	6,759	6,79	10,000	0,05

Συσχετίστηκε το εμβαδό της φασματικής περιοχής 1508 cm^{-1} με την περιεκτικότητα των προτύπων σε λιγνίνη και βρέθηκε ότι υπάρχει γραμμική σχέση. Έτσι και κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς.

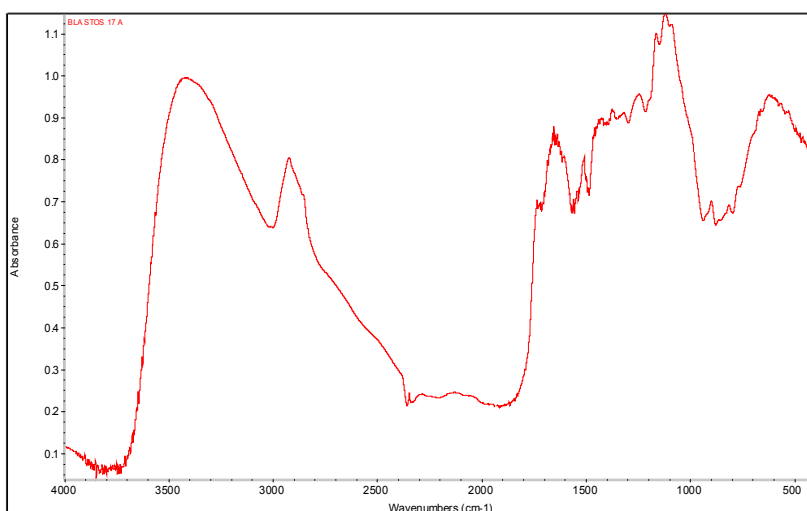
Η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς είναι :

$$\% \text{ Λιγνίνη} = (-0,5 \pm 0,2) + (1,49 \pm 0,06) * \text{Εμβαδόν } 1508, r=0,993$$



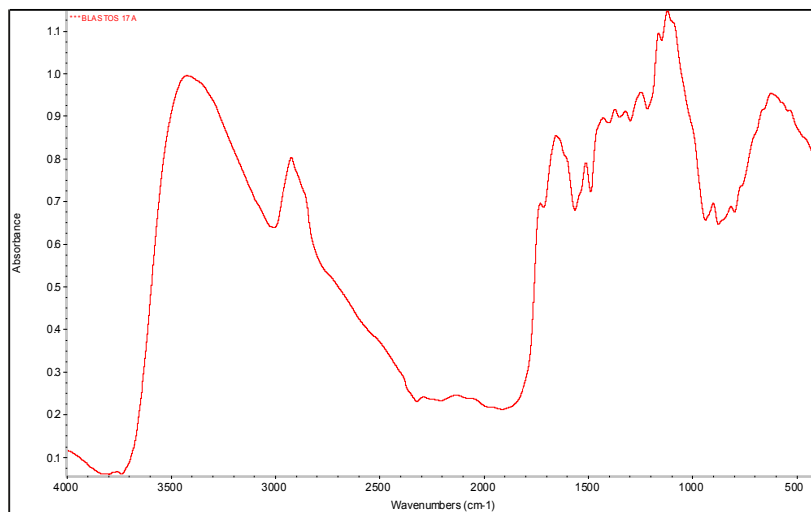
Σχήμα 3: Σχηματική απεικόνιση της καμπύλης αναφοράς

Άγνωστα δείγματα



Σχήμα 4: FT-IR φάσμα βλαστού 17 ημερών χωρίς εξομάλυνση και διόρθωση της βασικής γραμμής.

Στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε το φάσμα βλαστού την 17 ημέρα από την βλάστηση του σπόρου, όπως ακριβώς εμφανίζεται στην οθόνη του υπολογιστή που ήταν συνδεδεμένος με το φασματοφωτόμετρο FT-IR. Παρατηρούμε ότι αρκετές κορυφές είναι δυσδιάκριτες, για το λόγο αυτό χρησιμοποιούμε την επιλογή του προγράμματος “autosmooth” ώστε να εξομαλυνθεί το φάσμα. Μετά από αυτήν την ενέργεια θα προκύψει μια εικόνα φάσματος όπως η παρακάτω εικόνα.

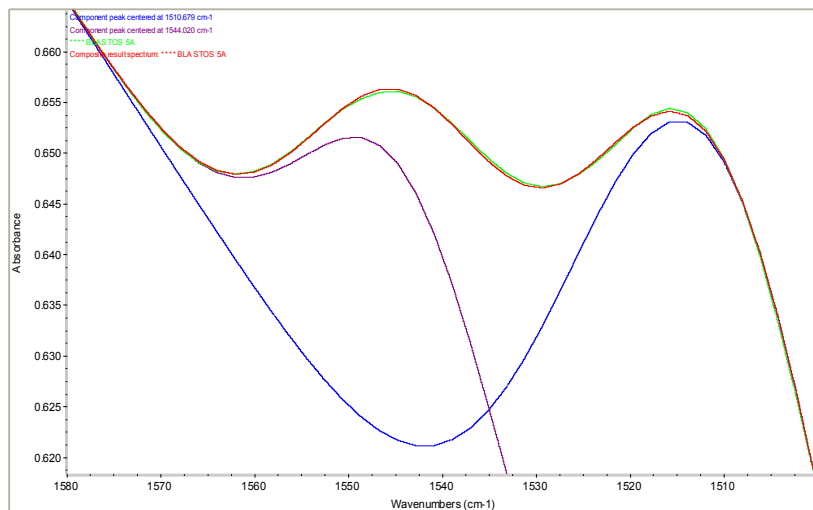


Σχήμα 5: FT-IR φάσμα βλαστού 17 ημερών με εξομάλυνση και με διόρθωση της βασικής γραμμής

Από την παραπάνω εικόνα παρατηρούμε την περιοχή $1500 - 1520 \text{ cm}^{-1}$ η οποία μας ενδιαφέρει διότι εκεί εμπεριέχετε η κορυφή 1506 cm^{-1} στην οποία αποδίδεται η παραμόρφωση των αρωματικών δακτυλίων της λιγνίνης (Evans and Pappas 2000) η οποία είναι σαφώς πιο ευδιάκριτη από πριν. Στην περιοχή αυτή απορροφούν και άλλα συστατικά. Επομένως υπάρχουν αλληλεπικαλυπτόμενες κορυφές. Για το λόγο αυτό είναι αναγκαία η αποσυνέλιξη δηλαδή η ανάλυση της φασματικής αυτής περιοχής σε επιμέρους κορυφές. Για να αναδειχθούν οι αλληλεπικαλυπτόμενες κορυφές χρησιμοποιήθηκε η δεύτερη παράγωγος της καμπύλης απορρόφησης, η οποία έδωσε διάφορα τυπικά ελάχιστα λαμβανομένων υπόψη των κύριων συστατικών του φυτού. Εκτιμήθηκε ότι εδώ από αυτά τα τοπικά ελάχιστα αντιστοιχούν σε πραγματικές κορυφές. Τα τοπικά ελάχιστα αυτά ήταν τα $1500 - 1520 \text{ cm}^{-1}$ λιγνίνη και $1540 - 1580 \text{ cm}^{-1}$ πρωτεΐνες. Με χρήση των κυματαριθμών των δύο αυτών κορυφών και με χρήση του λογισμικού των οργάνων έγινε αποσυνέλιξη της φασματικής αυτής περιοχής.

Για να αποκαλυφθούν οι κορυφές αυτές έγινε αποσυνέλιξη της περιοχής $1550 - 1490 \text{ cm}^{-1}$ με χρήση του λογισμικού του φασματοφωτομέτρου. Για την επεξεργασία εισήχθησαν δύο κορυφές που παρατηρήθηκαν με τη χρήση της δευτέρας παραγώγου. Το παρακάτω διάγραμμα προκύπτει αφού έχει γίνει

αποσυνέλιξη της περιοχής $1550 - 1490 \text{ cm}^{-1}$ με χρήση του λογισμικού του φασματοφωτομέτρου και αφού εισήχθεισαν δύο κορυφές που παρατηρήθηκαν με τη χρήση της δευτέρας παραγώγου.



Σχήμα 6: Αποσυνελεγμένη φασματική περιοχή ($1550 - 1490 \text{ cm}^{-1}$) βλαστού 5 ημερών.

Με κόκκινο χρώμα παρουσιάζεται η καμπύλη που προκύπτει με εξομάλυνση από τους κυματάρια 1510 cm^{-1} και 1544 cm^{-1} και αντιπροσωπεύει την ανασυνδιασμένη καμπύλη του δείγματος (βλαστού 5 ημερών). Με πράσινο χρώμα είναι η καμπύλη του δείγματος (βλαστού 5 ημερών), με μπλέ χρώμα είναι η καμπύλη που αντιπροσωπεύει την κορυφή 1510 cm^{-1} εκεί που παρουσιάστηκε κορυφή φαινολικών παραγώγων. Παρατηρούμε ότι υπάρχει μεγάλη ταύτιση της συνελεγμένης καμπύλης του δείγματος (καμπύλη με κόκκινο χρώμα) με την καμπύλη του δείγματος (καμπύλη με πράσινο χρώμα) καθώς και με την καμπύλη του κυματάρια 1510 cm^{-1} (καμπύλη με μπλέ χρώμα), στοιχείο που μας δείχνει ότι η μέτρηση είναι ακριβής.

Πρέπει να σημειωθεί ότι οι κυματάρια των εισαχθεισών κορυφών είναι ενδεικτικές και μεταβάλλονται από το λογισμικό. Επιλέχθηκε ο αλγόριθμος του Gaussian και ως γραμμή βάσης η γραμμική για την εξομοίωση της καμπύλης απορρόφησης. Το πρόγραμμα έκανε την αποσυνέλιξη της καμπύλης και έδωσε τις τιμές των εμβαδών τα οποία περικλειόταν μεταξύ της καμπύλης απορρόφησης και της γραμμής βάσης κάθε συνιστώσας κορυφής καθώς και

τον κυματαριθμό της μέγιστης απορρόφησης. Καταγράφηκαν τα εμβαδά της κορυφής η οποία μεταβάλλονταν από τα 1500 – 1514 cm^{-1} . Με χρήση των εμβαδών της περιοχής στα 1504 της πρότυπης καμπύλης προσδιορίστηκε % περιεκτικότητα των αγνώστων δειγμάτων σε λιγνίνη.

Στους πίνακες 2,3,4,5,6,7,8,9,10 αναφέρονται αναλυτικά τα αποτελέσματα της εκατοστιαίας αναλογίας λιγνίνης για κάθε φυτομερές .

ΗΜΕΡΕΣ	ΕΜΒΑΔΟ ΣΠΟΡΟΥ	% ΛΙΓΝΙΝΗΣ ΣΠΟΡΟΥ	Μ.Ο ΛΙΓΝΙΝΗΣ	STD
	5,288	7,880		
1	5,637	8,399	8,4	0,547
	6,023	8,974		
	4,342	6,470		
2	4,651	6,930	6,5	0,386
	4,135	6,161		
	4,647	6,924		
3	4,036	6,014	6,5	0,457
	4,392	6,544		
	4,532	6,753		
5	4,127	6,149	6,3	0,410
	4,006	5,969		
	4,089	6,093		
7	3,324	4,953	5,5	0,570
	3,678	5,480		
	3,457	5,151		
9	3,675	5,476	5,1	0,349
	3,206	4,777		
	3,082	4,592		
11	3,453	5,145	4,9	0,277
	3,291	4,904		
	3,213	4,787		
13	3,562	5,307	4,9	0,393
	3,044	4,536		
	2,981	4,442		
15	3,002	4,473	4,5	0,174
	3,193	4,758		
	3,123	4,653		
17	3,542	5,278	5,1	0,429
	3,675	5,476		
	3,762	5,605		
19	3,904	5,817	5,5	0,356
	3,437	5,121		
	4,102	6,112		
21	3,775	5,625	6,1	0,493
	4,437	6,611		
	4,231	6,304		
23	4,011	5,976	6,0	0,237
	3,922	5,844		
	4,331	6,453		
25	4,089	6,093	6,1	0,331
	3,886	5,790		

Πίνακας 2: εκατοστιαία αναλογία λιγνίνης σπόρου

ΗΜΕΡΕΣ	ΕΜΒΑΔΟ ΠΡΩΤ.ΡΙΖΑΣ	% ΛΙΓΝΙΝΗΣ ΠΡΩΤ.ΡΙΖΑΣ	Μ.Ο ΠΡΩΤ.ΡΙΖΑΣ	STD
2	0,113	0,168		0,0374
	0,065	0,097	0,14	
	0,102	0,152		
3	0,073	0,109		0,0380
	0,124	0,185	0,15	
	0,097	0,145		
5	0,459	0,684		0,0837
	0,524	0,781	0,7	
	0,412	0,614		
7	0,532	0,793		0,0618
	0,541	0,806	0,8	
	0,465	0,693		
9	0,847	1,262		0,0394
	0,805	1,199	1,2	
	0,798	1,189		
11	1,237	1,843		0,411
	1,456	2,169	2,2	
	1,786	2,661		
13	1,534	2,286		0,257
	1,329	1,980	2,3	
	1,673	2,493		
15	2,981	4,442		0,174
	3,002	4,473	4,6	
	3,193	4,758		
17	1,453	2,165		0,440
	1,689	2,517	2,1	
	1,101	1,640		
19	1,975	2,943		0,117
	2,036	3,034	3,1	
	2,132	3,177		
21	2,023	3,014		0,132
	2,132	3,177	3,0	
	1,956	2,914		
23	2,992	4,458		0,335
	2,674	3,984	4,2	
25	3,014	4,491		0,145
	2,876	4,285	4,4	

Πίνακας 3: εκατοστιαία αναλογία λιγνίνης πρωτογενούς ρίζας

ΗΜΕΡΕΣ	ΕΜΒΑΔΟ ΔΕΥΤ.ΡΙΖΑΣ	% ΛΙΓΝΙΝΗΣ ΔΕΥΤ.ΡΙΖΑΣ	M.O ΔΕΥΤ.ΡΙΖΑΣ	STD
2	0,109	0,162		0,0229
	0,084	0,125	0,15	
	0,112	0,167		
3	0,122	0,182		0,0318
	0,124	0,185	0,2	
	0,086	0,128		
5	0,142	0,212		0,0448
	0,083	0,124	0,2	
	0,102	0,152		
7	0,134	0,200		0,0171
	0,111	0,165	0,2	
	0,123	0,183		
9	0,952	1,418		0,130
	0,871	1,298	1,3	
	0,777	1,158		
11	1,876	2,795		0,170
	2,002	2,983	3,0	
	2,104	3,135		
13	2,658	3,960		0,318
	2,231	3,324	3,6	
	2,453	3,655		
15	1,452	2,163		0,286
	1,117	1,664	1,8	
	1,122	1,672		
17	1,223	1,822		0,167
	0,998	1,487	1,7	
	1,122	1,672		
19	2,457	3,661		0,239
	2,776	4,136	3,9	
	2,654	3,954		
21	1,876	2,795		0,167
	1,753	2,612	2,6	
	1,652	2,461		
23	2,771	4,129		0,146
	2,854	4,252	4,1	
	2,658	3,960		
25	3,112	4,637		0,335
	3,432	5,114	4,7	
	2,998	4,467		

Πίνακας 4: εκατοστιαία αναλογία λιγνίνης δευτερογενών ριζών

ΗΜΕΡΕΣ	ΕΜΒΑΔΟ ΒΛΑΣΤ.ΡΙΖΑΣ	% ΛΙΓΝΙΝΗΣ ΒΛΑΣΤ.ΡΙΖΑΣ	M.O ΒΛΑΣΤ.ΡΙΖΑΣ	STD
7	0,098	0,146		0,0144
	0,104	0,155	0,1	
	0,085	0,127		
9	0,810	1,207		0,120
	0,797	1,188	1,3	
	0,943	1,405		
11	2,092	3,117		0,153
	1,998	2,977	3,1	
	2,204	3,284		
13	1,267	1,888		0,370
	1,683	2,508	2,1	
	1,239	1,846		
15	1,356	2,020		0,179
	1,203	1,792	1,8	
	1,119	1,667		
17	0,831	1,238		0,277
	0,459	0,684	1,0	
	0,657	0,979		
19	2,457	3,661		0,463
	2,776	4,136	4,0	
	2,654	3,954		
21	1,874	2,792		0,280
	1,905	2,838	2,7	
	1,564	2,330		
23	2,454	3,656		0,424
	2,989	4,454	4,0	
	2,553	3,804		
25	2,443	3,640		0,340
	2,214	3,299	3,6	
	2,671	3,980		

Πίνακας 5: εκατοστιαία αναλογία λιγνίνης βλαστογενών ριζών

ΗΜΕΡΕΣ	ΕΜΒΑΔΟ ΒΛΑΣΤΟΥ	% ΛΙΓΝΙΝΗΣ ΒΛΑΣΤΟΥ	Μ.Ο ΒΛΑΣΤΟΥ	STD
2	0,338	0,504		0,0959
	0,306	0,456	0,5	
	0,430	0,641		
3	0,420	0,626		0,0425
	0,458	0,682	0,7	
	0,476	0,709		
5	0,872	1,299		0,108
	0,984	1,466	1,4	
	1,008	1,502		
7	2,345	3,494		0,483
	2,679	3,992	4,0	
	2,994	4,461		
9	2,895	4,314		0,154
	2,997	4,466	4,5	
	3,102	4,622		
11	3,003	4,474		0,0945
	2,888	4,303	4,4	
	2,992	4,458		
13	3,899	5,810		0,238
	4,102	6,112	5,9	
	3,786	5,641		
15	4,105	6,116		0,341
	4,562	6,797	6,4	
	4,303	6,411		
17	4,897	7,297		0,254
	5,111	7,615	7,6	
	5,234	7,799		
19	4,456	6,639		0,486
	5,056	7,533	7,2	
	4,980	7,420		
21	5,237	7,803		0,551
	5,453	8,125	8,3	
	5,958	8,877		
23	5,987	8,921		0,170
	6,114	9,110	8,9	
	5,886	8,770		
25	6,541	9,746		0,263
	6,236	9,292	9,4	
	6,233	9,287		

Πίνακας 6: εκατοστιαία αναλογία λιγνίνης βλαστού

ΗΜΕΡΕΣ	ΕΜΒΑΔΟ ΕΜΒΡΥΑΚΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	% ΛΙΓΝΙΝΗ ΕΜΒΡΥΑΚΟΥ ΦΥΛΛΟΥ Σ	Μ.Ο ΕΜΒΡΥΑΚΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	STD
5	0,543	0,809		0,165
	0,764	1,138	1,0	
	0,674	1,004		
7	0,778	1,159		0,120
	0,731	1,089	1,2	
	0,889	1,325		
9	0,802	1,195		0,0226
	0,821	1,223	1,2	
	0,832	1,240		
11	1,454	2,166		0,184
	1,612	2,402	2,4	
	1,698	2,530		
13	1,872	2,789		0,113
	1,973	2,940	2,9	
	2,021	3,011		
15	2,345	3,494		0,360
	2,587	3,855	3,5	
	2,103	3,133		
17	2,980	4,440		0,117
	3,116	4,643	4,6	
	3,118	4,646		
19	3,993	5,950		0,318
	4,078	6,076	5,8	
	3,673	5,473		
21	4,223	6,292		0,320
	4,564	6,800	6,4	
	4,167	6,209		
23	4,879	7,270		0,262
	5,231	7,794	7,5	
	5,034	7,501		
25	5,231	7,794		0,262
	4,987	7,431	7,5	
	4,889	7,285		

Πίνακας 7: εκατοστιαία αναλογία λιγνίνης εμβρυακού φύλλου

ΗΜΕΡΕΣ	ΕΜΒΑΔΟ ΠΡΩΤΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	% ΛΙΓΝΙΝΗ ΠΡΩΤΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	Μ.Ο ΠΡΩΤΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	STD
5	0,575	0,857	0,8	0,0355
	0,537	0,800		
	0,531	0,791		
7	0,539	0,803	1,0	0,182
	0,652	0,971		
	0,784	1,168		
9	0,892	1,329	1,2	0,130
	0,769	1,146		
	0,723	1,077		
11	1,243	1,852	1,9	0,154
	1,288	1,919		
	1,441	2,147		
13	1,762	2,625	2,4	0,219
	1,471	2,192		
	1,653	2,463		
15	2,211	3,294	3,4	0,383
	2,543	3,789		
	2,037	3,035		
17	3,111	4,635	4,4	0,248
	2,786	4,151		
	2,884	4,297		
19	3,664	5,459	5,7	0,256
	3,792	5,650		
	4,005	5,967		
21	4,275	6,370	6,1	0,228
	3,994	5,951		
	4,027	6,000		
23	5,009	7,463	7,1	0,340
	4,674	6,964		
	4,572	6,812		
25	4,998	7,447	7,3	0,293
	5,032	7,498		
	4,675	6,966		

Πίνακας 8: εκατοστιαία αναλογία λιγνίνης πρώτου φύλλου

ΗΜΕΡΕΣ	ΕΜΒΑΔΟ ΔΕΥΤΕΡΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	% ΛΙΓΝΙΝΗ ΔΕΥΤΕΡΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	Μ.Ο ΦΥΛΛΟΥ ΔΕΥΤΕΡΟΥ	STD
7	0,641	0,955		0,0203
	0,616	0,918	0,9	
	0,638	0,951		
9	0,765	1,140		0,056
	0,797	1,188	1,1	
	0,722	1,076		
11	1,098	1,636		0,254
	0,879	1,310	1,4	
	0,761	1,134		
13	1,354	2,017		0,233
	1,112	1,657	1,9	
	1,405	2,093		
15	2,113	3,148		0,265
	1,989	2,964	2,9	
	1,762	2,625		
17	2,462	3,668		0,340
	2,774	4,133	3,8	
	2,328	3,469		
19	3,665	5,461		0,242
	3,771	5,619	5,4	
	3,452	5,143		
21	4,235	6,310		0,274
	3,986	5,939	6,0	
	3,875	5,774		
23	4,662	6,946		0,298
	4,348	6,479	6,6	
	4,289	6,391		
25	4,731	7,049		0,162
	4,775	7,115	7,0	
	4,568	6,806		

Πίνακας 9: εκατοστιαία αναλογία λιγνίνης δεύτερου φύλλου

ΗΜΕΡΕΣ	ΕΜΒΑΔΟ ΤΡΙΤΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	% ΛΙΓΝΙΝΗ ΤΡΙΤΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	Μ.Ο ΤΡΙΤΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	STD
9	0,682	1,016		0,0435
	0,685	1,021	1,0	
	0,734	1,094		
11	0,764	1,138		0,122
	0,902	1,344	1,2	
	0,755	1,125		
13	0,988	1,472		0,208
	1,023	1,524	1,4	
	0,765	1,140		
15	1,334	1,988		0,343
	1,452	2,163	1,9	
	1,007	1,500		
17	2,103	3,133		0,168
	2,005	2,987	3,0	
	1,877	2,797		
19	2,894	4,312		0,250
	2,653	3,953	4,0	
	2,571	3,831		
21	3,213	4,787		0,316
	3,452	5,143	4,8	
	3,029	4,513		
23	4,171	6,215		0,0943
	4,223	6,292	6,2	
	4,097	6,105		
25	4,078	6,076		0,323
	4,127	6,149	6,3	
	4,476	6,669		

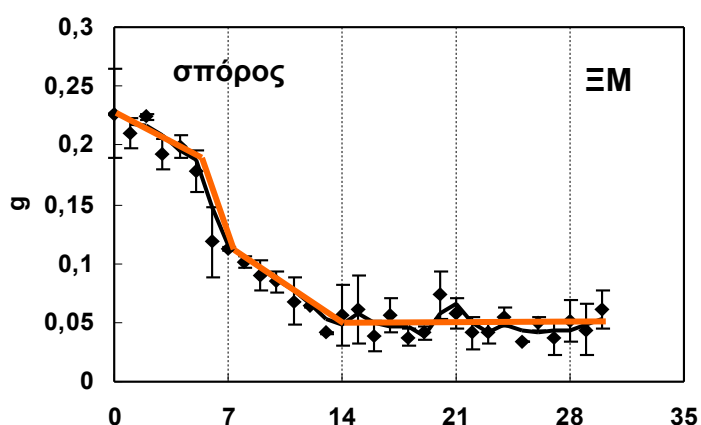
Πίνακας 10: εκατοστιαία αναλογία λιγνίνης τρίτου φύλλου

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΞΗΡΗΣ ΜΑΖΑΣ

3.1 Μεταβολές της ξηρής μάζας

Σ'αυτή την ενότητα αναλύονται οι μεταβολές της ξηρής μάζας του κάθε οργάνου. Οι μεταβολές αυτές προσεγγίζονται με ευθύγραμμα τμήματα που χαρακτηρίζουν φάσεις μεταβολών. Τα ευθύγραμμα τμήματα είναι 3 τύπων; γραμμική αύξηση, γραμμική μείωση και σταθεροποίηση. Για την αύξηση ή μείωση υπολογίστηκε ο μέσος ρυθμός μεταβολής, ενώ η φάση σταθεροποίησης χαρακτηρίζεται από το επίπεδο της ξηρής μάζας.

3.1.1 Σπόρος



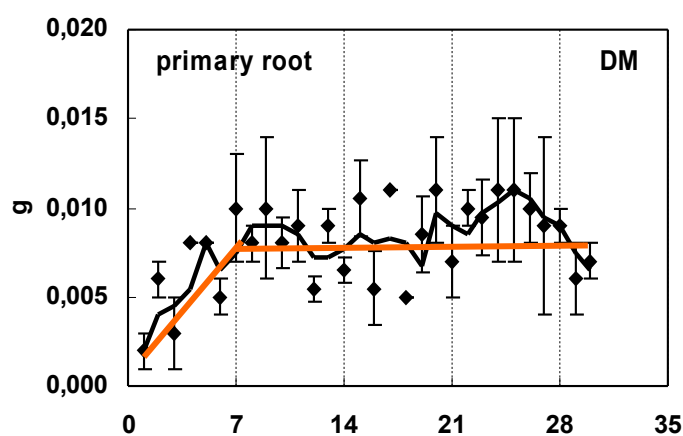
Διάγραμμα 3.1.1 Η κατανομή της ξηρής μάζας στο σπόρο.

Στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε μία έντονη πτώση της ξηρής μάζας των σπόρων που ξεκινά από την ημέρα ένα έως και την ημέρα δεκατρία. Από την ημέρα εκείνη και ύστερα η μάζα των σπόρων παραμένει σε σταθερά επίπεδα τιμών στην περιοχή των 0,050 g. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα αποθέματα του σπόρου μπορούν να υποστηρίξουν την ανάπτυξη του φυτού για τις πρώτες δεκατέσσερις ημέρες. Από το σημείο εκείνο και ύστερα το

φυτό ανακατανέμει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά από τα παλαιότερα φυτομερή στα νεότερα. Αναλυτικότερα, το σπέρμα εμφάνισε αρχική ξηρή μάζα περίπου 225 mg και τελική 50 mg. Τις πρώτες 5 ημέρες παρατηρήθηκε απώλεια ξηρής μάζας με ρυθμό 8 mg/ ημέρα, τις επόμενες 2 ημέρες με ρυθμό 37,5 mg/ημέρα, ενώ κατά την διάρκεια της 2^{ης} εβδομάδας με μέσο ρυθμό 8,6 mg/ημέρα.

3.1.2 Πρωτογενής ρίζα

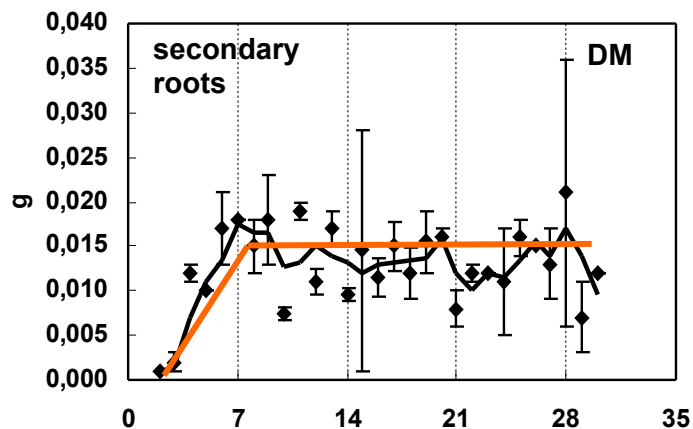
Αναλύοντας παραπέρα την κινητική της συσσώρευσης της ξηρής μάζας μέσα στο ριζικό σύστημα βλέπουμε ότι η πρωτογενής ρίζα συσσώρευσε ξηρή μάζα την 1^η εβδομάδα με μέσο ρυθμό 1,3 mg/ημέρα και σταθεροποίησε το επίπεδο στα 8 mg.



Διάγραμμα 3.1.2 Η κατανομή της ξηρής μάζας στην πρωτογενή ρίζα.

3.1.3 Δευτερογενείς ρίζες

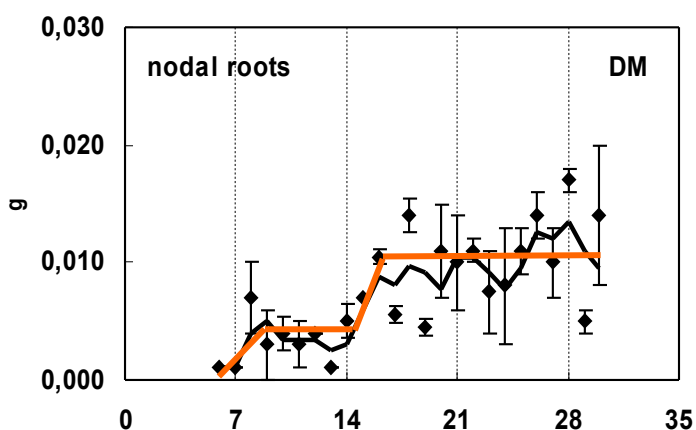
Ανάλογη ήταν και η κινητική της συσσώρευσης ξηρής μάζας στις δευτερογενείς που συσσώρευσαν ξηρή μάζα με μέσο ρυθμό 2,8 mg/ημέρα και σταθεροποίησαν το επίπεδο στα 14 mg.



Διάγραμμα 3.1.3 Η κατανομή της ξηρής μάζας στις δευτερογενείς ρίζες.

3.1.4 Βλαστογενείς ρίζες

Οι βλαστογενείς ρίζες συσσωρεύσαν ξηρή μάζα για 2 ημέρες με μέσο ρυθμό 1,5 mg/ημέρα, την σταθεροποίησαν στα 3 mg για 5 ημέρες και ακολούθησε νέα αύξηση ξηρής μάζας απο την 14^η ημέρα για 2 ημέρες με μέσο ρυθμό 3,5 mg/ημέρα. Τελικά η ξηρή μάζα των βλαστογενών σταθεροποιήθηκε στα 10 mg.

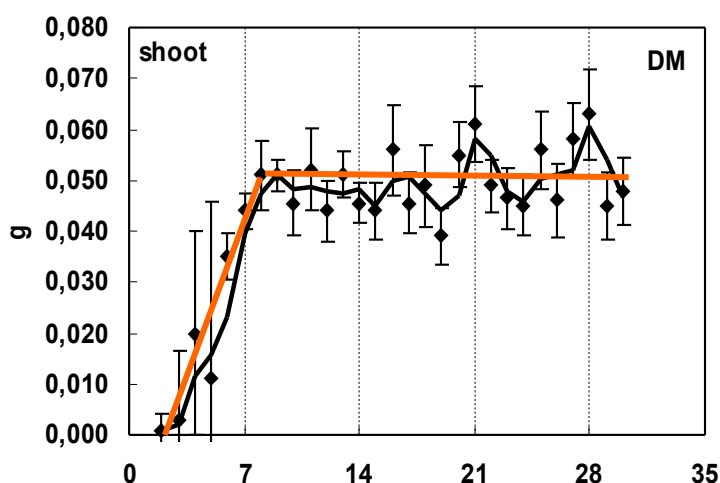


Διάγραμμα 3.1.4 Η κατανομή της ξηρής μάζας στις βλαστογενείς ρίζες.

Από τα παραπάνω διαγράμματα προκύπτει ότι η μόν πρωτογενής ρίζα αυξάνει το βάρος της από την πρώτη ημέρα έως και την έβδομη και μετά παραμένει σταθερή έως και την τριακοστή ημέρα, οι δε δευτερογενείς ρίζες αυξάνουν το βάρος της ξηρής μάζας τους από την δεύτερη ημέρα έως και την ενδέκατη ημέρα και μετά το διατηρούν σταθερό έως και την τριακοστή ημέρα. Οι βλαστογενείς ρίζες αυξάνουν το βάρος της ξηρής μάζας τους από την έκτη ημέρα, οπότε και εμφανίζονται, έως και την δέκατη όγδοη όπου παρατηρείται η μέγιστη τιμή τους. Από το χρονικό αυτό όριο και ύστερα παρατηρείται μια σταθεροποιημένη κατάσταση του βάρους της ξηρής μάζας τους.

3.1.5 Υπέργειο τμήμα

Το υπέργειο συσσωρεύσε ξηρή μάζα με μέσο ρυθμό 8,3 mg/ημέρα μέχρι την 8^η ημέρα και στη συνέχεια εμφάνισε σταθεροποίηση περί τα 50 mg ξηρής μάζας.



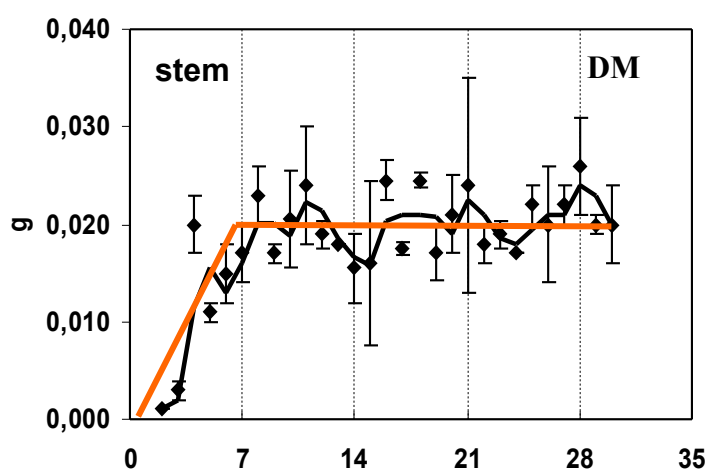
Διάγραμμα 3.1.5 Η κατανομή της ξηρής μάζας στο υπέργειο τμήμα.

Από το διάγραμμα 1.5.1 προκύπτει ότι η ξηρή μάζα του υπέργειου τμήματος αυξάνει γραμμικά από την δεύτερη ημέρα, που εμφανίζεται αρχικά ο βλαστός

και μετά τα υπόλοιπα φυτομερή του βλαστού, έως και την όγδοη ημέρα. Από το σημείο εκείνο και έως την τριακοστή ημέρα παρατηρείται σταθεροποίηση της ξηρής μάζας του υπέργειου τμήματος.

3.1.6 Βλαστός

Ο βλαστός συσσωρεύει ξηρή μάζα μέχρι την 8^η ημέρα με μέσο ρυθμό 3,3 mg/ημέρα και σταθεροποίησε την ξηρή μάζα περί τα 20 mg.



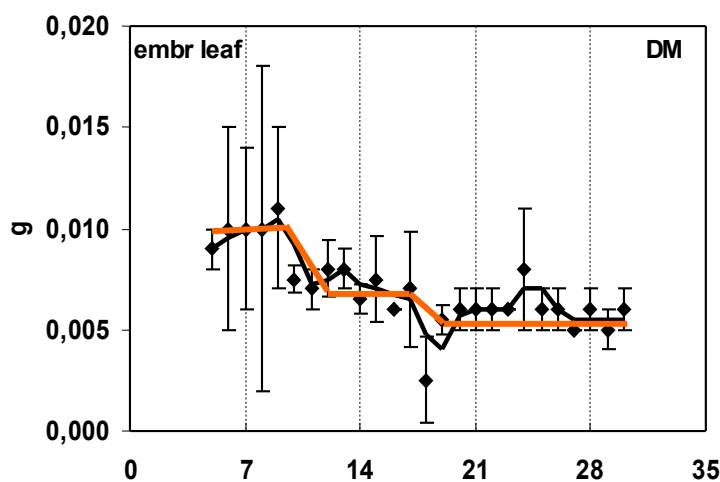
Διάγραμμα 3.1.6 Η κατανομή της ξηρής μάζας στο βλαστό.

Αναφερόμενοι στο βλαστό (διάγραμμα 1.6.1) έχουμε να παρατηρήσουμε ότι από την έκτη ημέρα που εμφανίζει υψηλή τιμή ξηρής μάζας κρατά αυτή την τιμή με αξιοσημείωτη σταθερότητα. Φαίνεται ότι το φυτό δίνει στο βλαστό προτεραιότητα από όλα τα υπόλοιπα τμηματά του.

3.1.7 Εμβρυακό φύλλο

Στο εμβρυακό φύλλο παρατηρούμε ανώτερες τιμές από την στιγμή που ξεδιπλώνεται την πέμπτη με έκτη ημέρα, η τιμή της ξηρής μάζας του αρχίζει να φθίνει από την ένατη ημέρα και παραμένει σταθερή από τη δωδέκατη με δέκατη τρίτη ημέρα από την βλάστηση του σπόρου, ουσιαστικά το εμβρυακό είναι ξερό, μη λειτουργικό από τις ημέρες αυτές και μετά. Αναλυτικότερα:

Την 5^η ημέρα το εμβρυακό φύλλο είχε 10 mg ξηρή μάζα η οποία διατηρήθηκε για 4 ημέρες, στη συνέχεια την μείωσε με μέσο ρυθμό 1,5 mg/ημέρα επί 2 ημέρες. Ακολούθησε νέα σταθεροποίηση της ξηρής μάζας για 6 ημέρες και νέα μείωση της ξηρής μάζας με ρυθμό 0,5 mg/ημέρα για 2 ημέρες. Από την 19^η ημέρα και μετά η ξηρή μάζα εμφανίστηκε σταθεροποιημένη περί τα 6 mg.

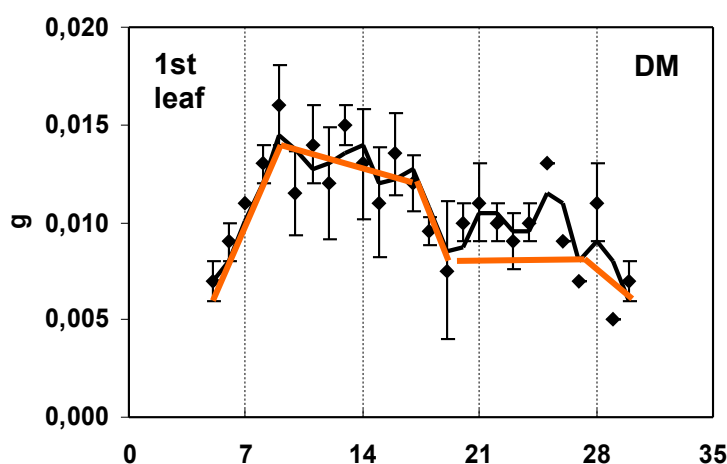


Διάγραμμα 3.1.7 Η κατανομή της ξηρής μάζας στο εμβρυακό φύλλο.

3.1.8 Πρώτο φύλλο

Στο πρώτο πραγματικό φύλλο η ξηρή μάζα του αυξάνεται σταδιακά από την έκτη ημέρα που εμφανίζεται και σημειώνει μέγιστη τιμή την δέκατη τρίτη ημέρα, παραμένει σταθερό έως και την δέκατη έκτη ημέρα από το χρονικό όριο

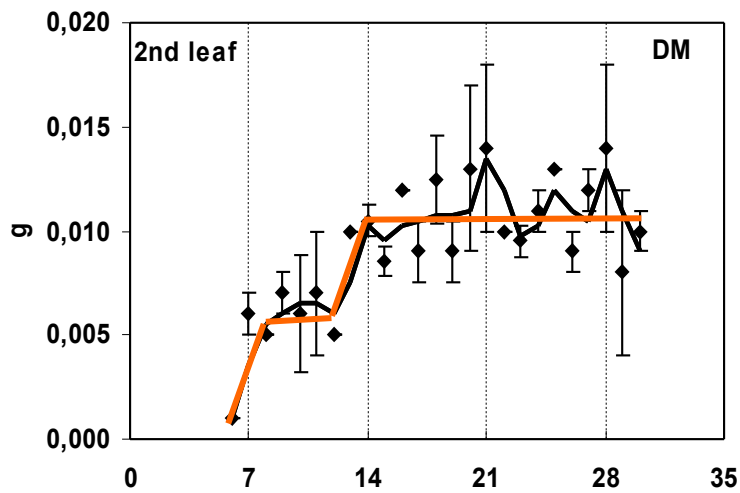
αυτό και μετά ακολουθεί έντονα φθίνουσα πορεία έως και την εικοστή έκτη ημέρα όπου και σταθεροποιείται (έχει πλέον ξεραθεί). Η μεταβολή της ξηρής μάζας ξεκινάει με αύξηση για 4 ημέρες με μέσο ρυθμό 1,9 mg/ημέρα, ακολούθησε 1^η μείωση με ρυθμό 0,3 mg/ημέρα για 8 ημέρες και 2^η μείωση με ρυθμό 1,8 mg/ημέρα για 2 ημέρες. Η ξηρή μάζα σταθεροποιήθηκε περί τα 9 mg για τις επόμενες 7 ημέρες και ακολούθησε 3^η μείωση με ρυθμό 0,7 mg/ημέρα για 3 ημέρες οπότε η ξηρή μάζα στο τέλος ήταν 7 mg.



Διάγραμμα 3.1.8 Η κατανομή της ξηρής μάζας στο πρώτο φύλλο.

1.9 Δεύτερο φύλλο

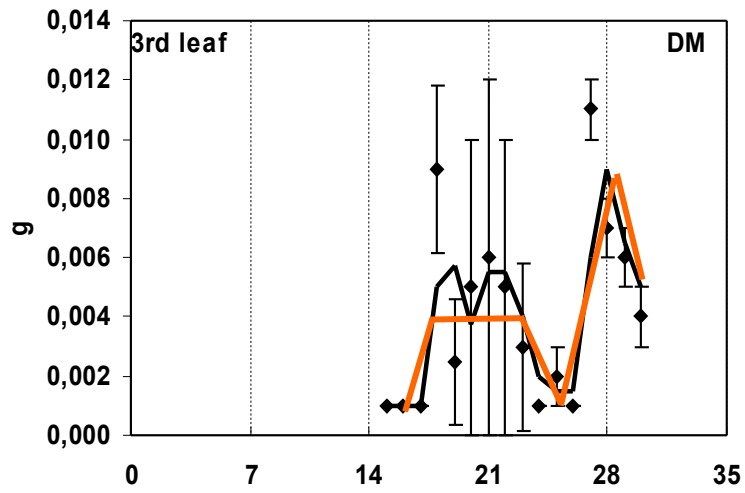
Η ξηρή μάζα στο δεύτερο πραγματικό φύλλο ακολουθεί σταθερή πορεία με μικρές τιμές από την στιγμή που εμφανίζεται (έκτη ημέρα) έως και την δέκατη τέταρτη ημέρα. Από την επόμενη και ύστερα ακολουθεί μια γραμμική αύξηση ,με μέγιστη τιμή την δέκατη έκτη ημέρα. Συνεχίζει να κρατά σταθερό το βάρος της ξηρής μάζας του έως την εικοστή εικοστή τέταρτη ημέρα όπου ξεκινά και η μη αναστρέψιμη φθίνουσα πορεία του.



Διάγραμμα 3.1.9 Η κατανομή της ξηρής μάζας στο δεύτερο φύλλο.

3.1.10 Τρίτο φύλλο

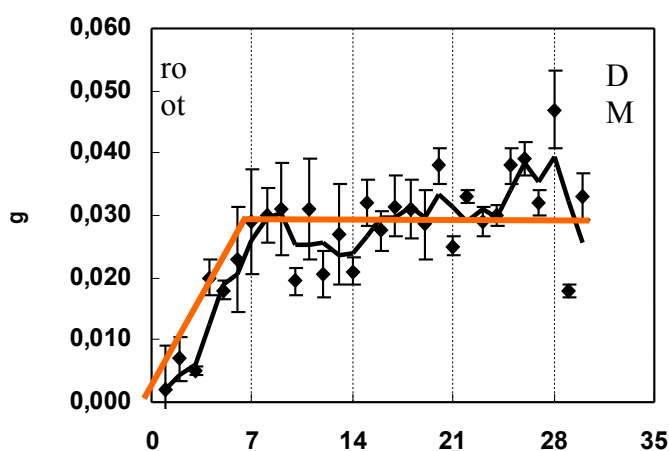
Το τρίτο φύλλο παρουσιάζει μία αξιοσημείωτη αύξηση της ξηρής μάζας του από την εικοστή τρίτη έως την εικοστή τέταρτη ημέρα. Διατηρεί τις τιμές της ξηρής μάζας του σχεδόν σταθερές έως την εικοστή έβδομη ημέρα από όπου ξεκινά η φθίνουσα πορεία του.



Διάγραμμα 3.1.10 Η κατανομή της ξηρής μάζας στο τρίτο φύλλο.

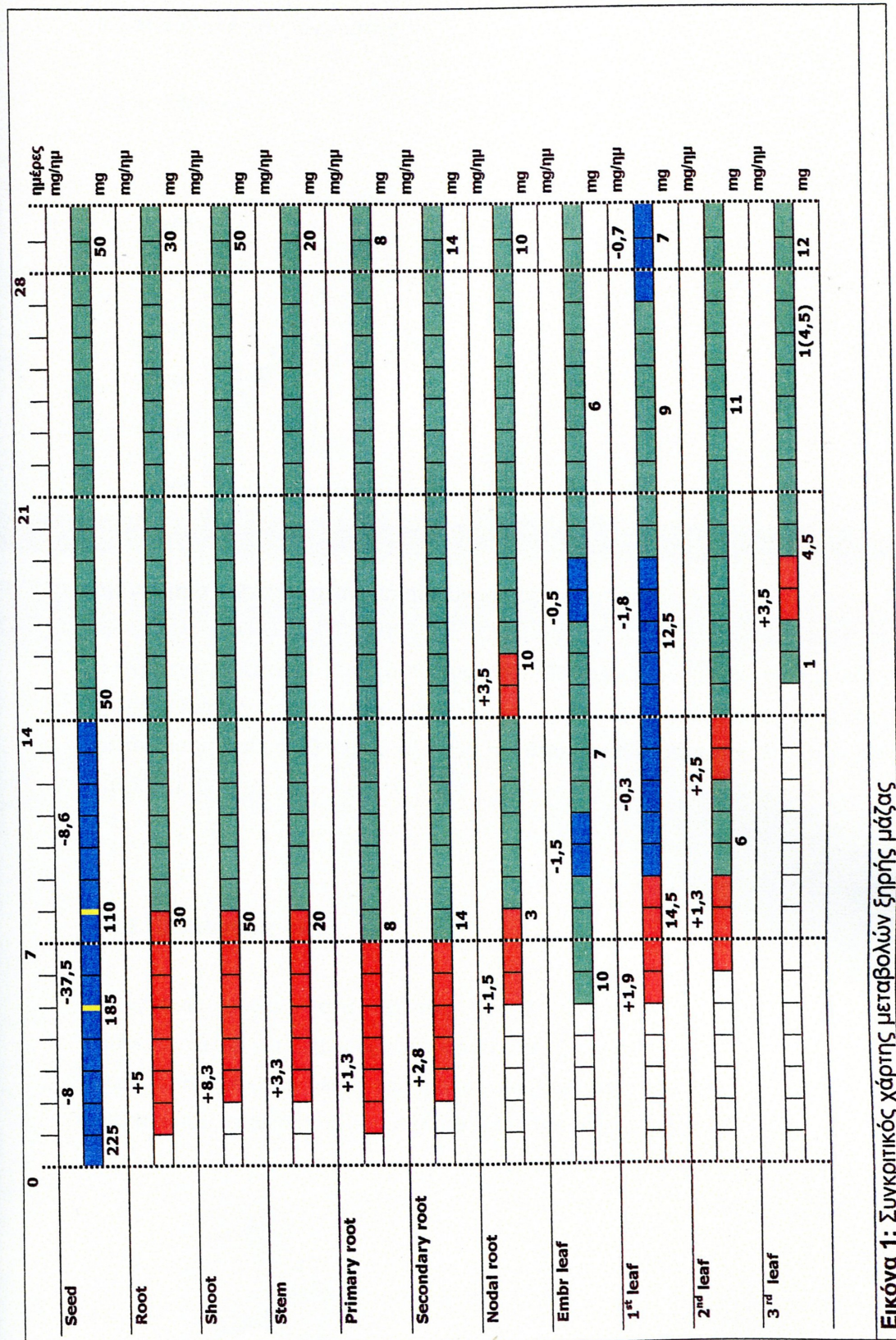
3.1.11 Ριζικό σύστημα

Από το διάγραμμα 3.1.11 προκύπτει ότι η ξηρή μάζα του ριζικού συστήματος αυξάνει γραμμικά από την πρώτη ημέρα που εμφανίζεται η πρωτογενής ρίζα έως και την ένατη ημέρα από το χρονικό σημείο εκείνο και ύστερα, έως την τριακοστή ημέρα παρατηρείται σταθεροποίηση της ξηρής μάζας του.



Διάγραμμα 3.1.11 Η κατανομή της ξηρής μάζας στο ριζικό σύστημα

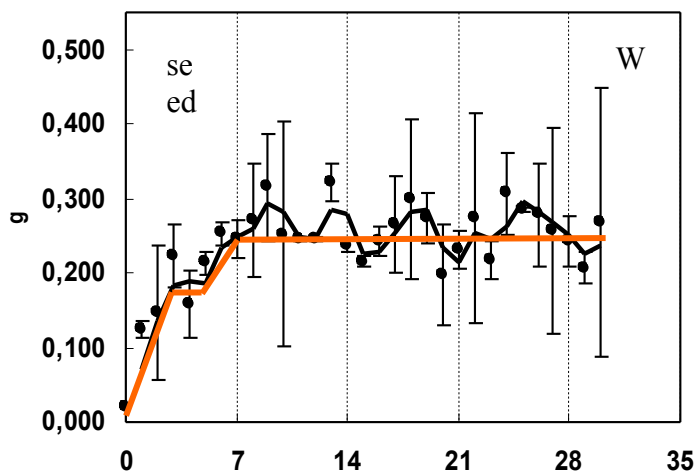
Το ριζικό σύστημα συσώρευσε ξηρή μάζα μέχρι την 8^η ημέρα με μέσο ρυθμό 5 mg/ημέρα. Στη συνέχεια δεν εμφανίστηκε παραπέρα αύξηση, αλλά σταθεροποιήθηκε περί τα 30 mg.



Εικόνα 1: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας

3.2 Μεταβολές της υγρασίας

3.2.1 Σπόρος

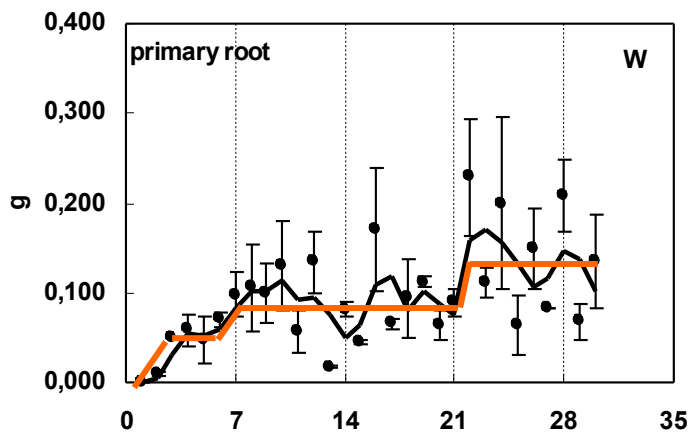


Διάγραμμα 3.2.1 Η κατανομή της υγρασίας στο σπόρο

Η υγρασία αυξάνεται από τα 10 mg στα 190 mg με ρυθμό 60 mg/ημ για 3 ημέρες. Σταθεροποιείται στα 190 mg για 2 ημέρες. Τις επόμενες 2 ημέρες αυξάνεται με ρυθμό 30 mg/ημ στα 250 mg όπου σταθεροποιείται μέχρι την 30^η ημέρα.

3.2.2 Πρωτογενής ρίζα

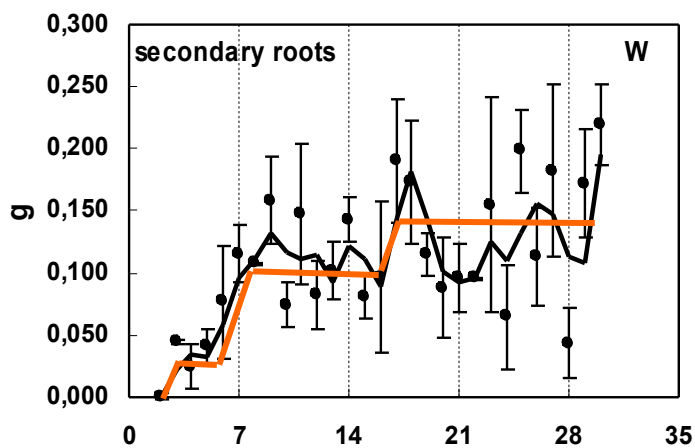
Η υγρασία αυξάνει στα 60 mg για 3 ημέρες με ρυθμό 20 mg/ημ. Σταθεροποιείται για 2 ημέρες και αυξάνει στα 10 mg μέσα στην επόμενη ημέρα. Εκεί σταθεροποιείται για 2 εβδομάδες. Αυξάνει στα 150 mg μέσα στην 21^η ημέρα, όπου σταθεροποιείται μέχρι το τέλος του πειράματος.



Διάγραμμα 3.2.2 Η κατανομή της υγρασίας στην πρωτογενή ρίζα

3.2.3 Δευτερογενείς ρίζες

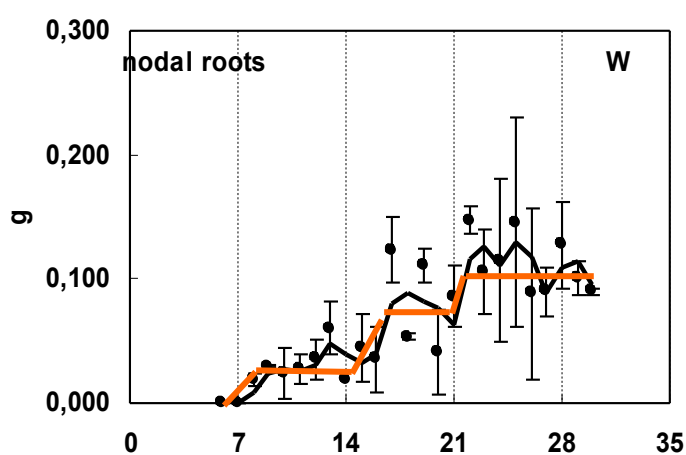
Η υγρασία των δευτερογενών ριζών σταθεροποιείται περί τα 40 mg την 2^η και 3^η ημέρα και μετά ανέρχεται στα 110 mg τις επόμενες 2 ημέρες με ρυθμό 35 mg/ημ. Εκεί σταθεροποιείται για 9 ημέρες. Την 16^η ημέρα ανέρχεται στα 140 mg όπου παρέμεινε μέχρι την 30^η ημέρα.



Διάγραμμα 3.2.3 Η κατανομή της υγρασίας στις δευτερογενείς ρίζες.

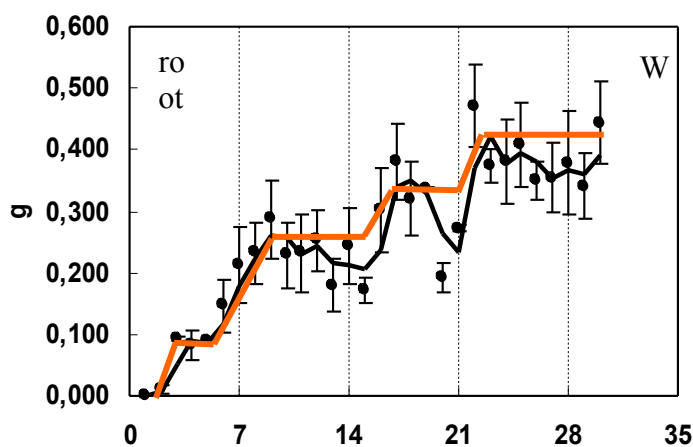
3.2.4 Βλαστογενείς ρίζες

Οι βλαστογενείς εκπύσσονται από την 7^η ημέρα και μετά. Η υγρασία των βλαστογενών ανέρχεται στα 40 mg μέσα σε 2 ημέρες και διατηρείται σε αυτά τα μέσα επίπεδα 1 εβδομάδα. Την 16^η ημέρα ανέρχεται στα 80 mg όπου διατηρείται για 4 ημέρες. Την 21^η ημέρα ανέρχεται στα 110 mg όπου διατηρείται μέχρι την 30^η ημέρα.



Διάγραμμα 3.2.4. Η κατανομή της υγρασίας στις βλαστογενείς ρίζες

3.2.5 Ριζικό σύστημα

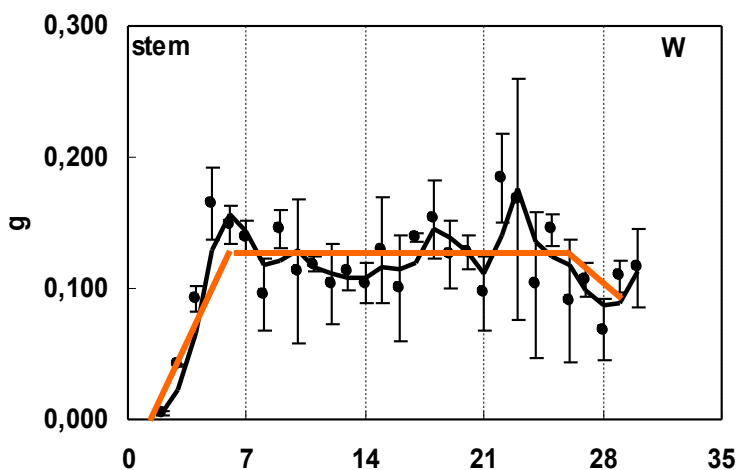


Διάγραμμα 3.2.5. Η κατανομή της υγρασίας στο ριζικό σύστημα

Συνολικά εξετάζοντας το ριζικό σύστημα, τις πρώτες 2 ημέρες ανέρχεται στα 90 mg όπου σταθεροποιείται για 2 ημέρες. Στις επόμενες 4 ημέρες αυξάνεται με ρυθμό 40 mg/ημ, φθάνει τα 250 mg και σταθεροποιείται για 6 ημέρες. Στο επόμενο διήμερο ανέρχεται στα 310 mg με ρυθμό 30 mg/ημ, όπου παραμένει για 4 ημέρες. Την 21^η ημέρα ανέρχεται στα 400 mg όπου και σταθεροποιείται μέχρι και την 30^η ημέρα.

3.2.6 Βλαστός

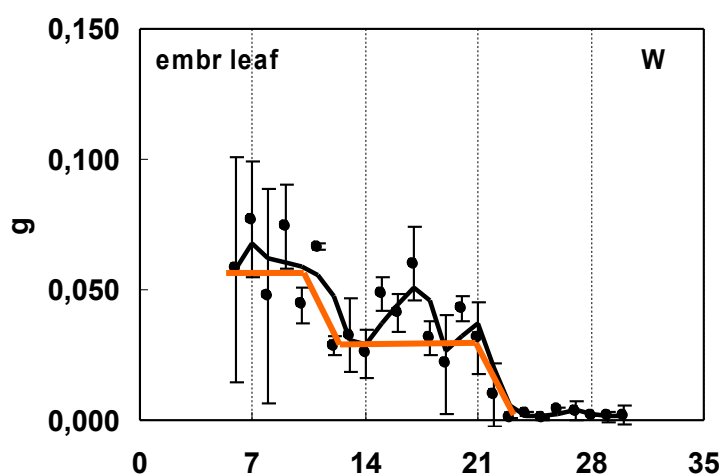
Τις πρώτες 4 ημέρες η υγρασία ανέρχεται με ρυθμό 30 mg/ημ στα επίπεδα των 120 mg όπου διατηρείται μέχρι την 26^η ημέρα. Μετά μειώνεται στα 90 mg με ρυθμό 7,5 mg/ημ για τις επόμενες 4 ημέρες.



Διάγραμμα 3.2.6. Η κατανομή της υγρασίας στο βλαστό

3.2.7 Εμβρυακό φύλλο

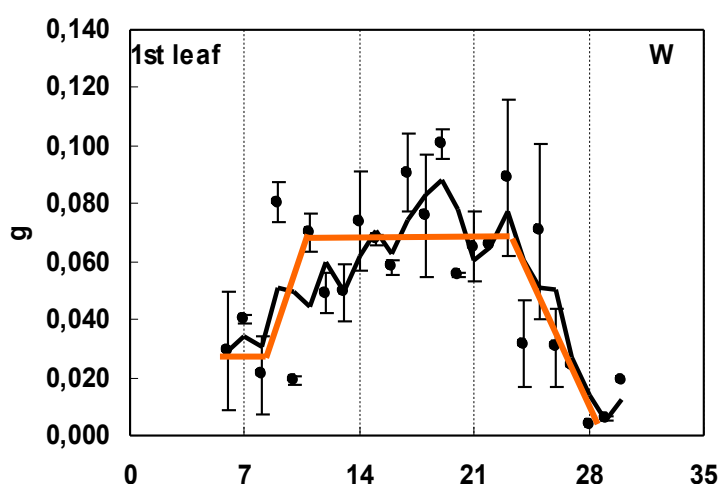
Το εμβρυακό φύλλο εμφανίστηκε την 6^η ημέρα και διατήρησε την υγρασία του στα 60 mg για 5 ημέρες. Τις επόμενες 2 ημέρες μειώνεται με ρυθμό 12,5 mg/ημ, οπότε κατέρχεται και σταθεροποιείται στα 35 mg για 8 ημέρες. Την 21^η και 22^η ημέρα η υγρασία του εμβρυακού φύλλου μειώνεται με ρυθμό 15 mg/ημ και τελικά σταθεροποιείται στα 5 mg για τις επόμενες 7 ημέρες.



Διάγραμμα 3.2.7 Η κατανομή της υγρασίας στο εμβρυακό φύλλο

3.2.8 Πρώτο φύλλο

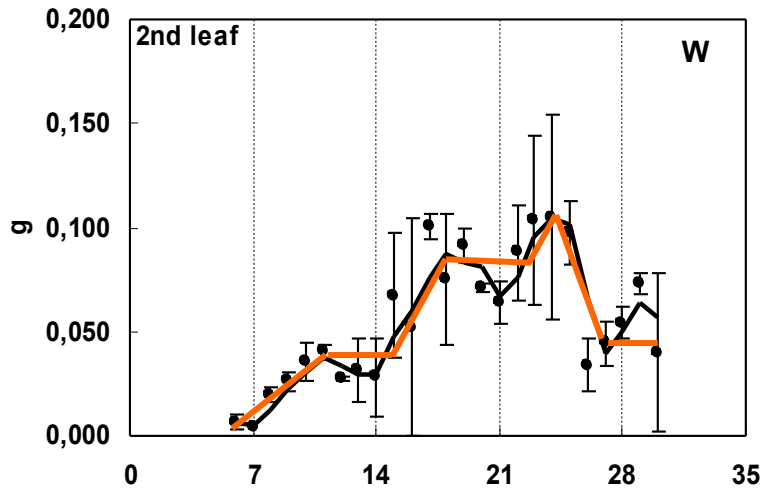
Το πρώτο φύλλο εμφανίζεται μαζί με το εμβρυακό με 35 mg υγρασίας. Την 8^η ημέρα και για 3 ημέρες αυξάνει την υγρασία του με ρυθμό 11,7 mg/ημ. Φτάνει στα 70 mg όπου την σταθεροποιεί για 12 ημέρες. Από την 23^η ημέρα και μετά μειώνεται προοδευτικά στα 10 mg με ρυθμό 8,6 mg/ημ για 7 ημέρες.



Διάγραμμα 3.2.8 Η κατανομή της υγρασίας στο πρώτο φύλλο

3.2.9 Δεύτερο φύλλο

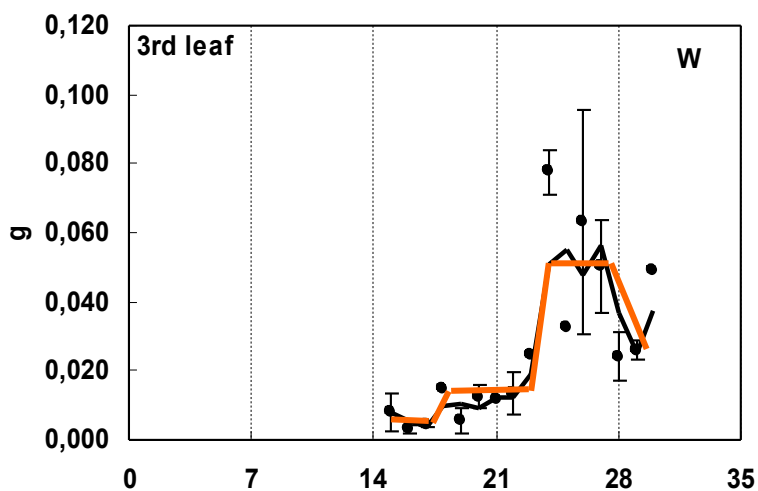
Καθώς εκπτύσσεται αυξάνει την υγρασία του με ρυθμό 7,5 mg/ημ για 4 ημέρες. Σταθεροποιείται στα 35 mg για 4 ημέρες. Τις επόμενες 4 ημέρες αυξάνεται εκ νέου η υγρασία με ρυθμό 11,3 mg/ημ και σταθεροποιείται στα 80 mg όπου παραμένει για 4 ημέρες. Ακολουθεί νέα αύξηση μέσα στην 22^η ημέρα στα 100 mg. Την 25^η ημέρα και για 2 ημέρες μειώνεται με γρήγορο ρυθμό στα 50 mg όπου παραμένει τις τελευταίες 3 ημέρες.



Διάγραμμα 3.2.9 Η κατανομή της υγρασίας στο δεύτερο φύλλο

3.2.10 Τρίτο φύλλο

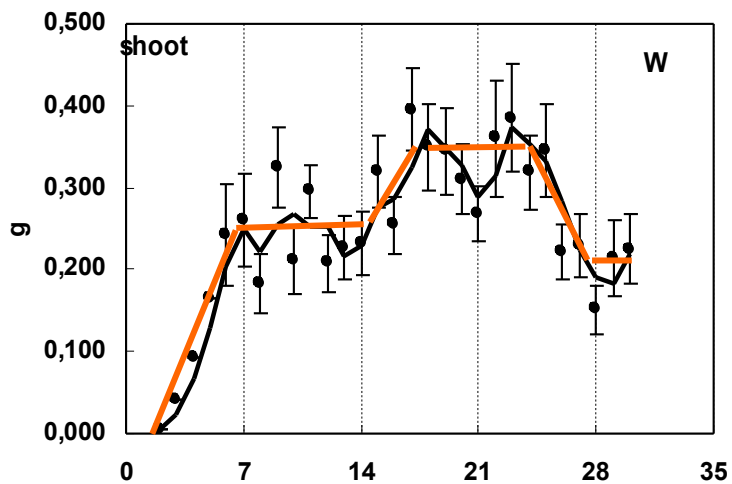
Η υγρασία του 3^{ου} φύλλου ξεκινάει από 7 mg, ανεβαίνει στα 12 mg την 17^η ημέρα όπου διατηρείται για 4 ημέρες. Σημειώνεται νέα αύξηση της υγρασίας για 2 ημέρες με ρυθμό 19 mg/ημ, φθάνει στα 50 mg και σταθεροποιείται για 4 ημέρες. Την 28^η ημέρα μειώνεται προοδευτικά η υγρασία στα 30 mg.



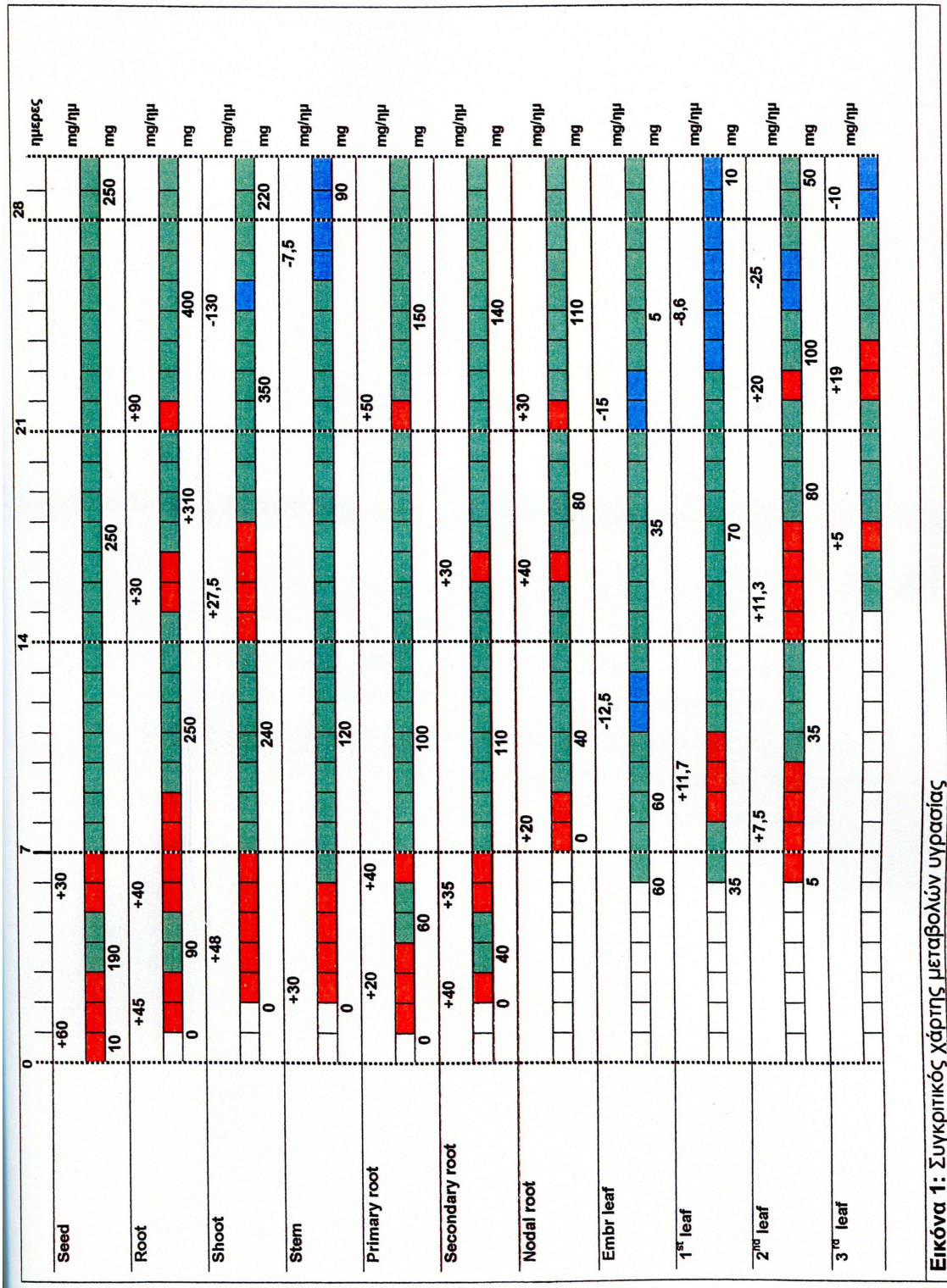
Διάγραμμα 3.2.10 Η κατανομή της υγρασίας στο τρίτο φύλλο

3.2.11 Υπέργειο τμήμα

Η υγρασία του υπέργειου μέρους ανέρχεται με ρυθμό 30 mg/ημ τις πρώτες 4 ημέρες και φθάνει στα 120 mg. Σε αυτό το μέσο επίπεδο παραμένει για 3 εβδομάδες. Στη συνέχεια παρατηρείται μείωση του επιπέδου της υγρασίας μέσα σε 4 ημέρες στα 90 mg.



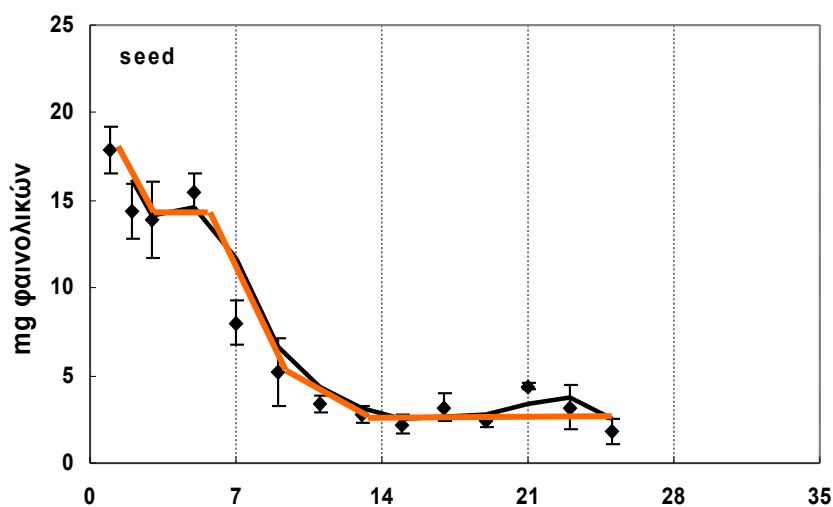
Διάγραμμα 3.2.11 Η κατανομή της υγρασίας στο υπέργειο τμήμα



Εικόνα 1: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών υγρασίας

3.3 Μεταβολές των φαινολικών παραγώγων

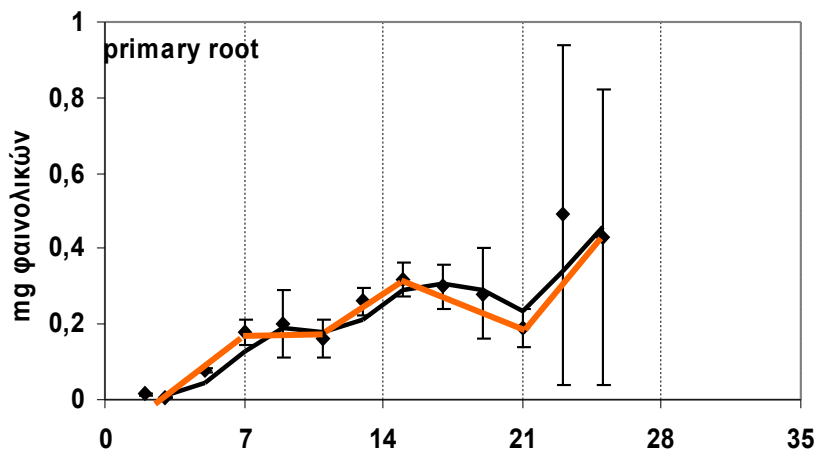
3.3.1 Σπόρος



Διάγραμμα 3.3.1: Κινητική των φαινολικών στο σπόρο.

Η αρχική περιεκτικότητα του σπόρου σε φαινολικά ήταν 18 mg. Για 2 ημέρες μειώθηκαν με ρυθμό 2 mg/ημ και σταθεροποιήθηκαν στα 14 mg για τις επόμενες 2 ημέρες. Ακολούθησε 2^η φάση μείωσης για 4 ημέρες με ρυθμό 4,5 mg/ημ και 3^η φάση μείωσης για άλλες 4 ημέρες με ρυθμό 0,6 mg/ημ. Από την 13^η ημέρα από την βλάστηση του σπόρου και μετά η ποσότητα τους παρέμεινε σταθερή στα 2,5mg. Όλα τα προηγούμενα μεγέθη αντιπροσωπεύουν μέσες ποσότητες και μέσους ρυθμούς μεταβολής.

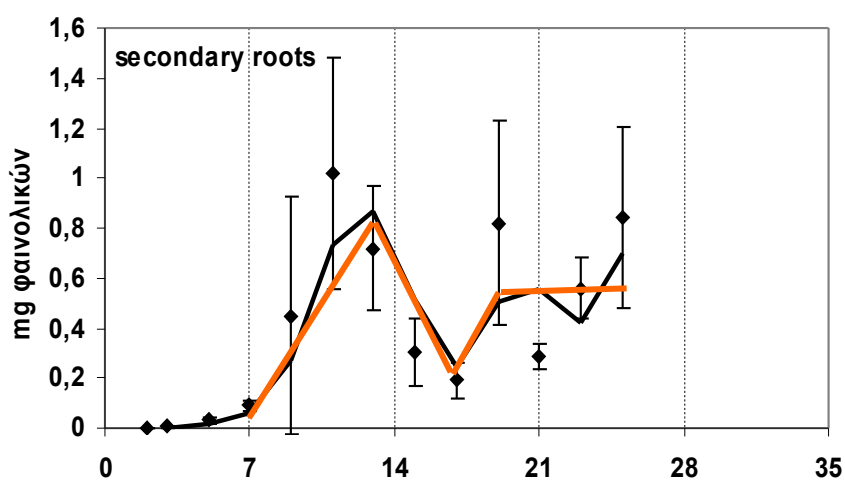
3.3.2 Πρωτογενής ρίζα



Διάγραμμα 3.3.2: Κινητική των φαινολικών στην πρωτογενή ρίζα.

Μετρήσιμη πρωτογενή έχουμε από την 3^η ημέρα οπότε ξεκινάει η 1^η φάση αύξησης για 4 ημέρες με ρυθμό 0,05 mg/ημ και σταθεροποιείται στα 0,2 mg για 4 ημέρες. Την 11^η ημέρα ξεκίνησε 2^η φάση αύξησης για 4 ημέρες με ρυθμό 0,025, την οποία διαδέχθηκε φάση μείωσης για 6 ημέρες με ρυθμό 0,017 mg/ημ και 3^η φάση αύξησης την 21^η ημέρα για 4 ημέρες με ρυθμό 0,05 mg/ημ. Με αυτές τις μεταβολές την 25^η ημέρα η πρωτογενής είχε 0,4 mg φαινολικών.

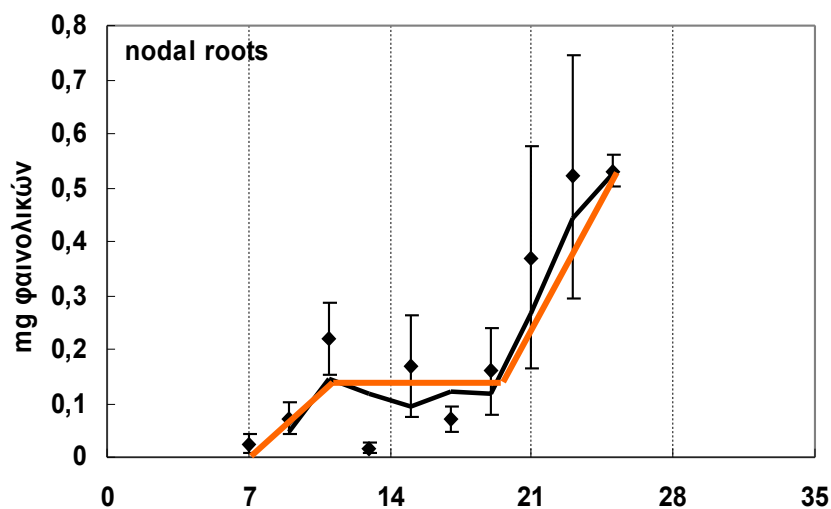
3.3.3 Δευτερογενείς ρίζες



Διάγραμμα 3.3.3: Κινητική των φαινολικών στις δευτερογενείς ρίζες.

Μετρήσιμες δευτερογενείς έχουμε από την 6^η ημέρα οπότε ξεκινάει η 1^η φάση αύξησης για 7 ημέρες με ρυθμό 0,114 mg/ημ. Η ποσότητα των φαινολικών έφθασε στο 0,8 mg και ακολούθησε φάση μείωσης για 4 ημέρες οπότε η στάθμη των συγκεκριμένων φαινολικών έπεσε στα 0,2 mg. Ακολούθησε σύντομη φάση για 2 ημέρες με ρυθμό 0,15 mg/ημ οπότε τα φαινολικά σταθεροποιήθηκαν στα 0,5 mg από την 19^η ημέρα και μετά.

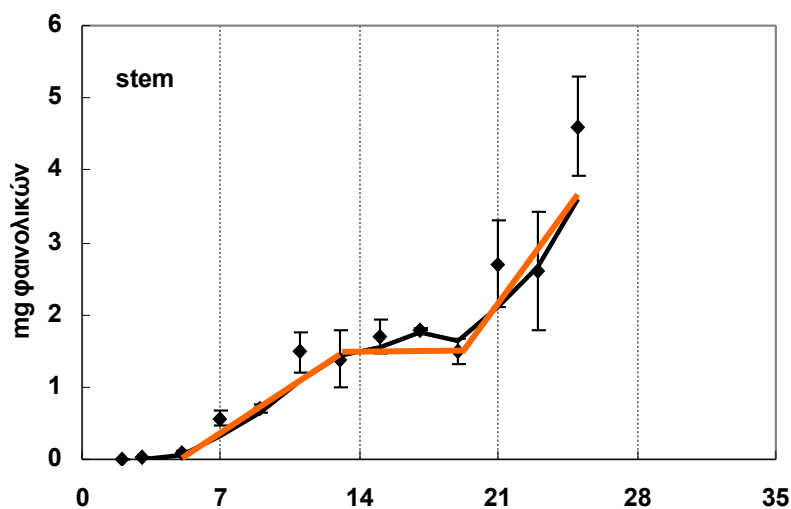
3.3.4 Βλαστογενείς ρίζες



Διάγραμμα 3.3.4.: Κινητική των φαινολικών στις βλαστογενείς ρίζες.

Μετρήσιμες βλαστογενείς έχουμε από την 7^η ημέρα όπου τα φαινολικά αρχίζουν να αυξάνονται με ρυθμό 0,038 mg/ημ για 4 ημέρες. Σταθεροποιήθηκαν στα 0,15 mg για 8 ημέρες και την 19 ημέρα παρατηρήθηκε 2^η φάση αύξησης που διήρκησε 6 ημέρες και είχε ρυθμό 0,058 mg/ημ. Τα επίπεδα φαινολικών σταθεροποιήθηκαν στα 0,5 mg την 25^η ημέρα.

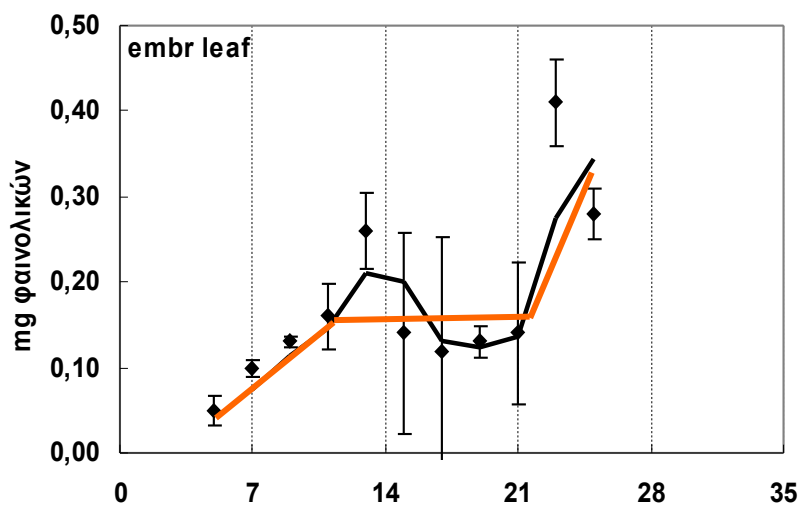
3.3.5 Βλαστός



Διάγραμμα 3.3.5: Κινητική των φαινολικών στο βλαστό.

Από την 5^η ημέρα που έχουμε μετρήσιμο βλαστό και καθόλου φαινολικά ξεκινάει η 1^η φάση αύξησης για 6 ημέρες με ρυθμό συσσώρευσης υλικών 0,25 mg/ ημ. Την 11^η ημέρα και για 8 ημέρες σταθεροποιείται το επίπεδο του βλαστού στα 1,5 mg. Την 19^η ημέρα ξεκινάει 2^η φάση αύξησης με ρυθμό 0,29 mg/ημ για τις επόμενες 6 ημέρες και το όργανο έφθασε στα 3,5 mg την 25^η ημέρα.

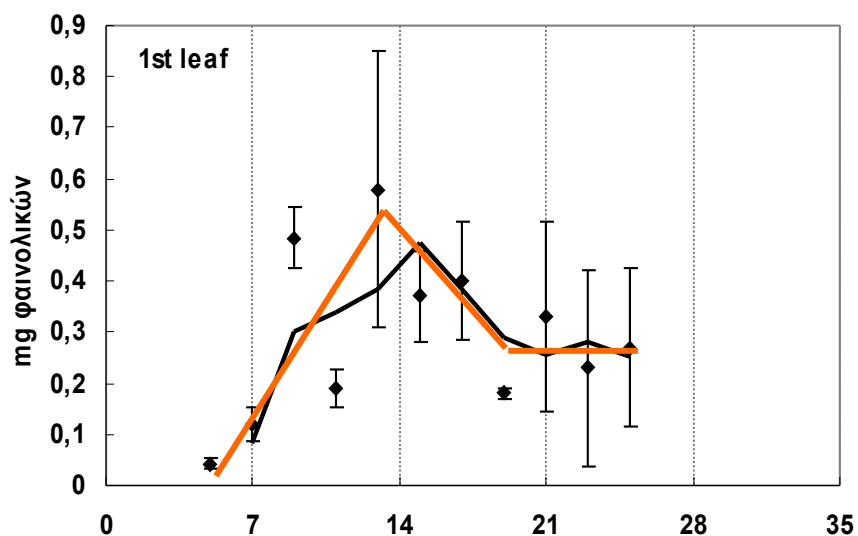
3.3.6 Εμβρυακό φύλλο



διάγραμμα 3.3.6 Κινητική των φαινολικών στο εμβρυακό φύλλο.

Μετρήσιμο εμβρυακό φύλλο έχουμε την 5^η ημέρα με αρχική ποσότητα φαινολικών 0,05 mg τα οποία αυξήθηκαν για 6 ημέρες με ρυθμό 0,017 mg/ημέρα. Ακολούθησε φάση στασιμότητας για 10 ημέρες στο επίπεδο των 0,15 mg και την 21^η ημέρα 2^η φάση αύξησης για 4 ημέρες με ρυθμό 0,043 mg/ημέρα. Την 25^η ημέρα τα φαινολικά έφτασαν στα 0,32 mg.

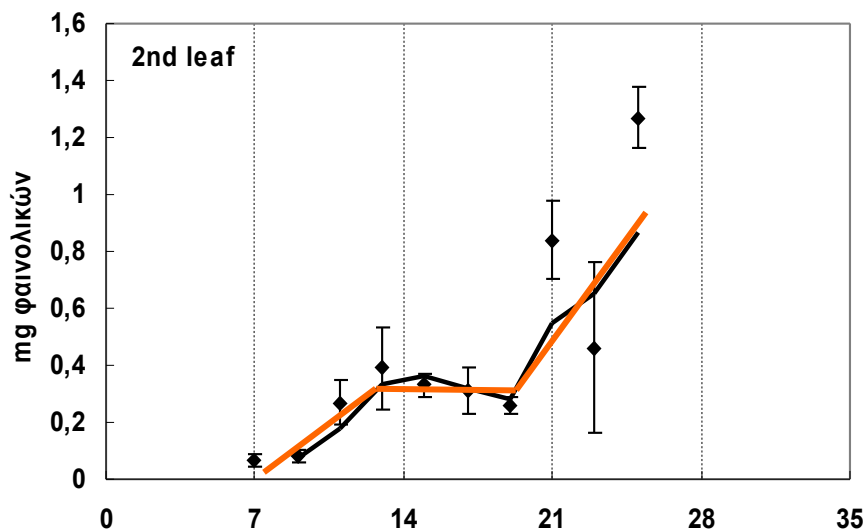
3.3.7 Πρώτο φύλλο



διάγραμμα 3.3.7 Κινητική των φαινολικών στο πρώτο φύλλο.

Μετρήσιμα φαινολικά έχουμε από την 5^η ημέρα με επίπεδο 0,05 mg. Ακολούθησε φάση αύξησης για 8 ημέρες με ρυθμό 0,063 mg/ημέρα. Την 13^η ημέρα παρατηρήθηκε φάση μείωσης των συγκεκριμένων φαινολικών για 6 ημέρες με ρυθμό 0,045 mg/ημέρα οπότε την 19^η ημέρα το επίπεδο σταθεροποιήθηκε στα 0,28 mg για τις επόμενες 6 ημέρες.

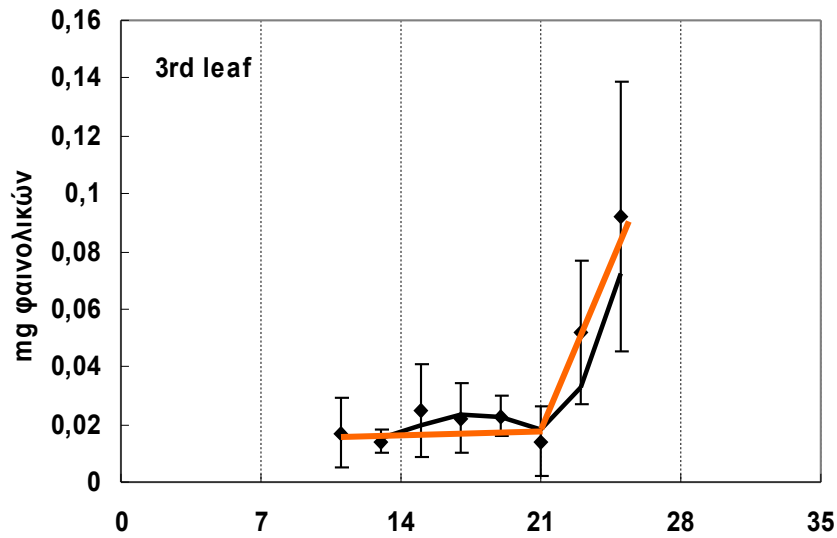
3.3.8 Δεύτερο φύλλο



διάγραμμα 3.3.8 Κινητική των φαινολικών στο δεύτερο φύλλο

Μετρήσιμα φαινολικά έχουμε από την 7^η ημέρα με επίπεδο 0,05 mg. Ακολούθησε φάση αύξησης για 4 ημέρες με ρυθμό 0,063 mg/ημέρα. Την 11^η ημέρα και για 8 ημέρες παρατηρήθηκε στασιμότητα στα 0,3 mg και ακολούθησε 2^η φάση αύξησης από την 19^η ημέρα για 6 ημέρες με ρυθμό 0,117 mg/ημέρα. Τα φαινολικά σταθεροποιήθηκαν στο 1 mg.

3.3.9 Τρίτο φύλλο



διάγραμμα 3.3.9 Κινητική των φαινολικών στο τρίτο φύλλο

Τρίτο φύλλο μετρήσιμο έχουμε από την 11^η ημέρα με επίπεδο φαινολικών 0,02 mg. Φάση αύξησης παρατηρήθηκε από την 21^η ημέρα με ρυθμό 0,018 mg /ημέρα οπότε τα φαινολικά έφτασαν στα 0,09 mg

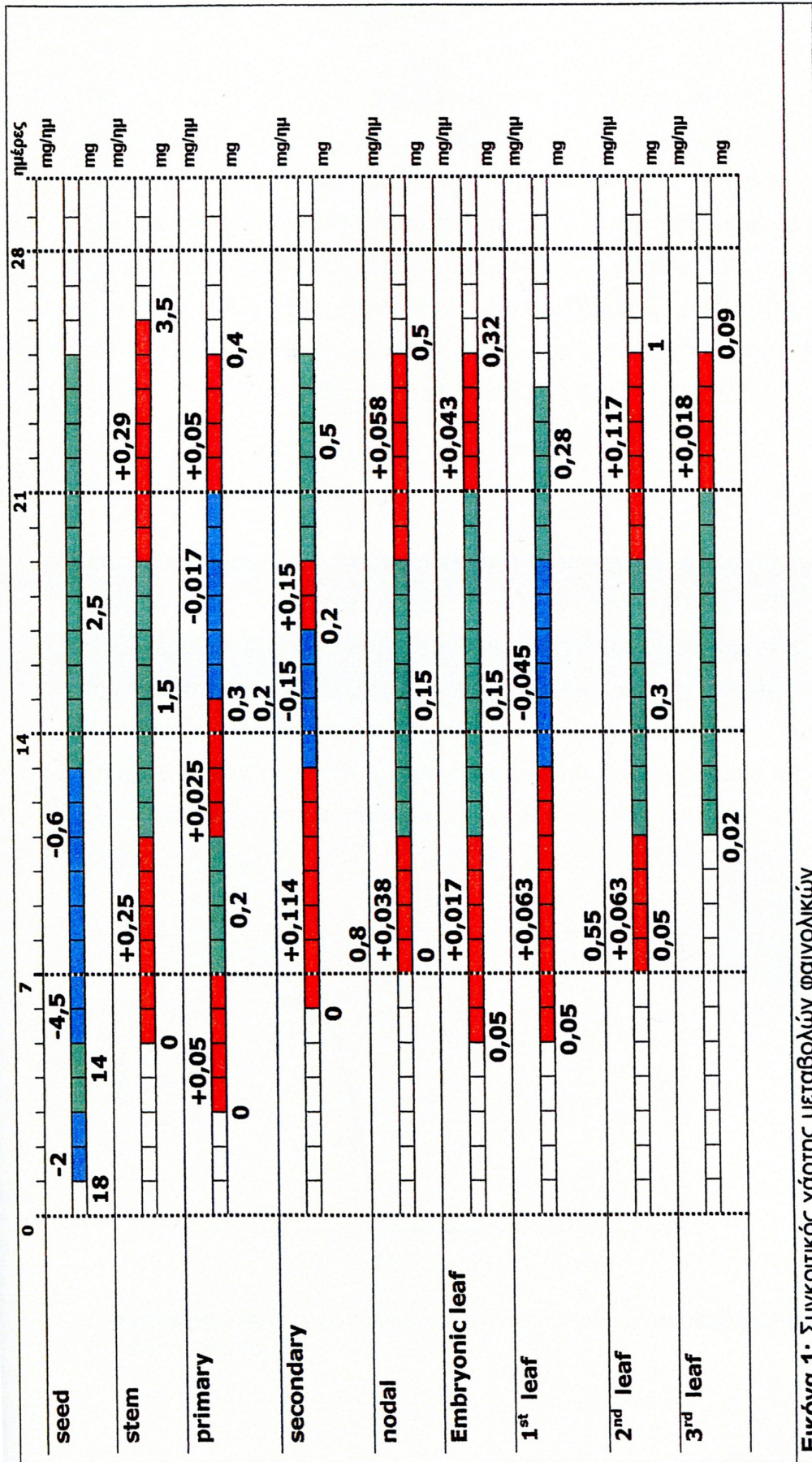
Η παρακολούθηση της λιγνινοποίησης γίνεται με παρακολούθηση των ποσοτικών μεταβολών συγκεκριμένου κυματαριθμού. Κατά συνέπεια η περιγραφή δεν μπορεί να μας δώσει πληροφορίες αν έχουμε κινητοποίηση ή αποδόμηση του συγκεκριμένου υλικού. Ο σπόρος έχει πολύ υψηλά επίπεδα της ομάδας που παρακολουθούμε, παρόλα αυτά όμως δεν μπορούμε να μιλήσουμε για λιγνινοποίηση του σπόρου.

Όλα τα όργανα ξεκινούν με φάση αύξησης του επιπέδου της συγκεκριμένης ομάδας των φαινολικών με διάρκεια από 4 έως 8 ημέρες. Εξαίρεση απετέλεσε το έλασμα του 3^{ου} φύλλου, που εμφανίζει παρατεταμένη στασιμότητα. Την φάση αύξησης διαδέχεται φάση στασιμότητας με διάρκεια από 4 έως 10 ημέρες στα περισσότερα όργανα. Εξαίρεση απετέλεσαν οι δευτερογενείς ρίζες και το έλασμα του 1^{ου} φύλλου στα οποία παρατηρήθηκε φάση μείωσης (εντονότερη ήταν στο 1^ο φύλλο).

Η φάση μείωσης φαίνεται ότι δεν αποδίδεται σε αποδόμηση το υλικού, αλλά μάλλον σε μεταβολή της φύσης του υλικού. Τα όργανα με φάση στασιμότητας εμφανίζουν και 2^η φάση αύξησης.

Ειδικά για τις εμβρυακές ρίζες, πρωτογενή και δευτερογενείς, εμφανίζεται η διαδοχή φάσεων 1^{ης} αύξησης, μετά μείωσης και ξανά 2^{ης} φάσης αύξησης. Φάση αύξησης μετά από φάση μείωσης δεν παρατηρήθηκαν σε άλλο όργανο.

Ο σπόρος εμφάνισε μείωση των σχετικών υλικών από τα 18 mg στα 2,5 mg. Η διαδικασία της μείωσης διήρκησε συνολικά 13 ημέρες και διακρίθηκε σε 3 επιμέρους φάσεις η κάθε μια. Μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} φάσης μείωσης υπήρξε μια στασιμότητα 2 ημερών, ενώ η 2^η φάση μείωσης ήταν η πιο έντονη.



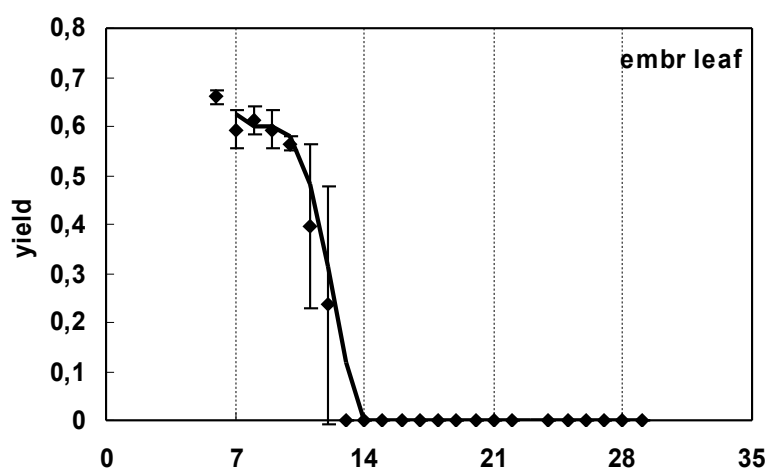
Εικόνα 1: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών φαινολικών

4. Μεταβολές της φωτοχημικής ικανότητας

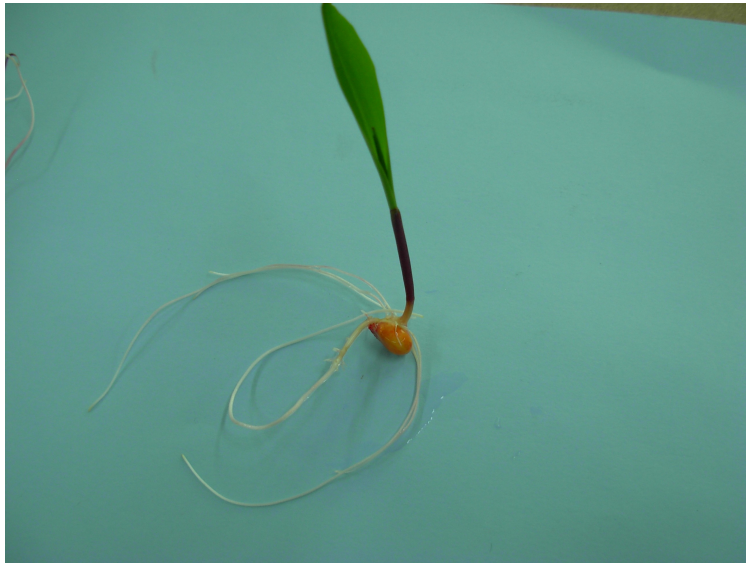
Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα δεδομένα που αφορούν την φωτοχημική ικανότητα του φυτού δηλαδή την φωτοχημική απόδοση του φωτοσυστήματος II. Τα δεδομένα αναφέρονται τόσο σε δείγματα που ήταν εγκλιματισμένα σε συνθήκες σκότους για τα οποία καταγράφηκε η θεμελιώδης φωτοχημική ικανότητα του φωτοσυστήματος II, όσο και σε δείγματα που αναπτύσσονταν κάτω από ένταση φωτισμού (μέση ένταση 187 $\mu\text{mole quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Η φωτοχημική ικανότητα του φυτού μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως δείκτης όταν το φυτό βρίσκεται κάτω από τροφοπενιακό στρες.

3.4.1 Εμβρυακό φύλλο

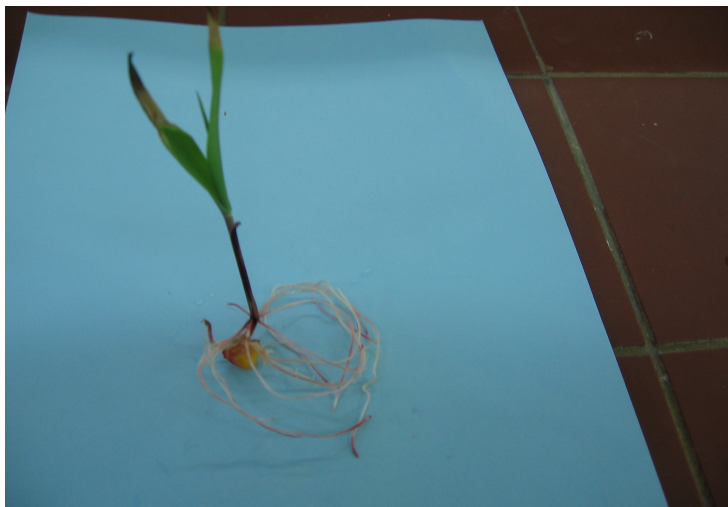
Στο **διάγραμμα 3.4.1** παρουσιάζεται η φωτοχημική ικανότητα του εμβρυακού φύλλου από την έκτη ημέρα (ημέρα που έχει ξεδιπλωθεί πλήρως). Παρατηρούμε ότι την έκτη ημέρα εμφανίζεται η μέγιστη τιμή της φωτοχημικής του ικανότητας, από εκείνη την ημέρα και έως και την δέκατη η φωτοχημική ικανότητα του παρουσιάζει ελαφρά μείωση αλλά παραμένει σε υψηλά επίπεδα. Όμως από την ενδέκατη ημέρα παρατηρείται έντονη μείωση της φωτοχημικής του ικανότητας η οποία μηδενίζεται την δέκατη τρίτη ημέρα.



Διάγραμμα 3.4.1: Η φωτοχημική ικανότητα του εμβρυακού φύλλου σε συνθήκες φωτισμού.

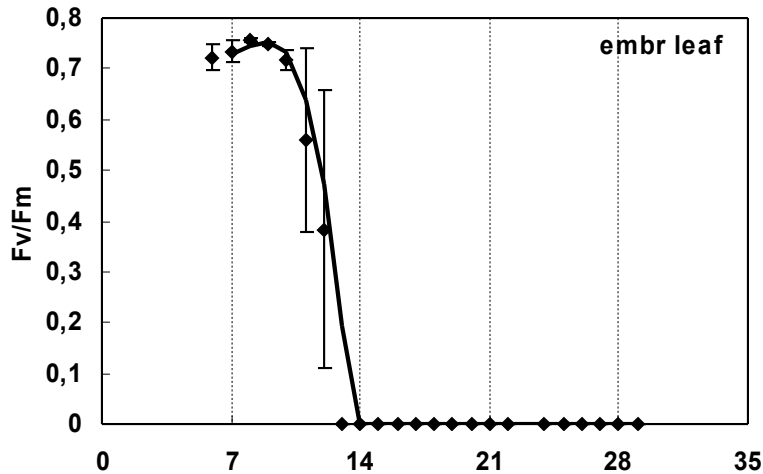


Εικόνα 3.4.1: Εμβρυακού φύλλου την 7η ημέρα από την βλάστηση του.



Εικόνα 3.4.1.2 : εμβρυακού φύλλου την 13η ημέρα από την βλάστηση.

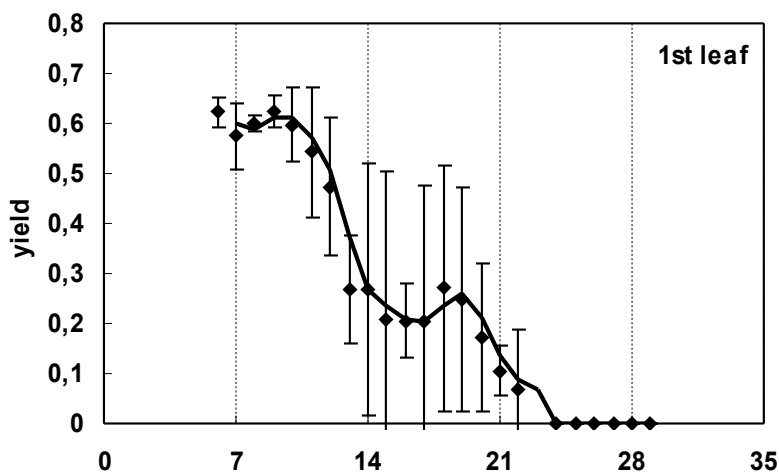
Αναφορικά με την θεμελιώδη φωτοχημική ικανότητα των φυτών που προσδιορίζεται από τον δείκτη fv/fm σε συνθήκες σκότους καταγράφηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα για το εμβρυακό φύλλο καθώς και για το πρώτο, δεύτερο, και τρίτο πραγματικό φύλλο.



Διάγραμμα 3.4.1.3: Η θεμελιώδης φωτοχημική ικανότητα του εμβρυακού φύλλου.

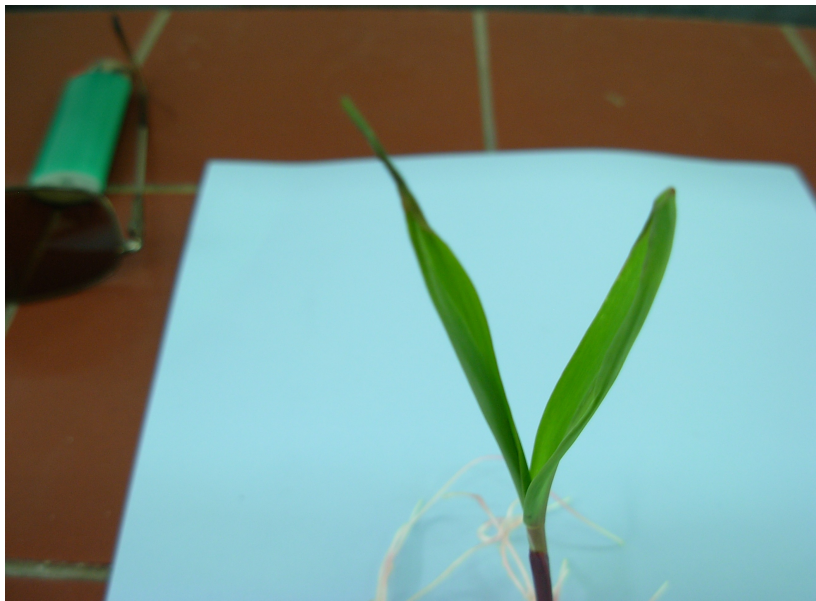
Το εμβρυακό φύλλο παρουσιάζει μέγιστες τιμές από την ημέρα που ξεδιπλώνεται ημέρα 6 έως και την ημέρα 10, από την ημέρα αυτή και ύστερα ακολουθεί έντονη πτώση της θεμελιώδους φωτοχημικής ικανότητας του έως και την ημέρα 13 που μηδενίζεται, το εμβρυακό είναι πλέον μη λειτουργικό όπως φαίνεται και στο **διάγραμμα 3.4.1.3** .

3.4.2 Πρώτο φύλλο



Διάγραμμα 3.4.2: Η φωτοχημική ικανότητα του 1^{ου} φύλλου σε συνθήκες φωτισμού.

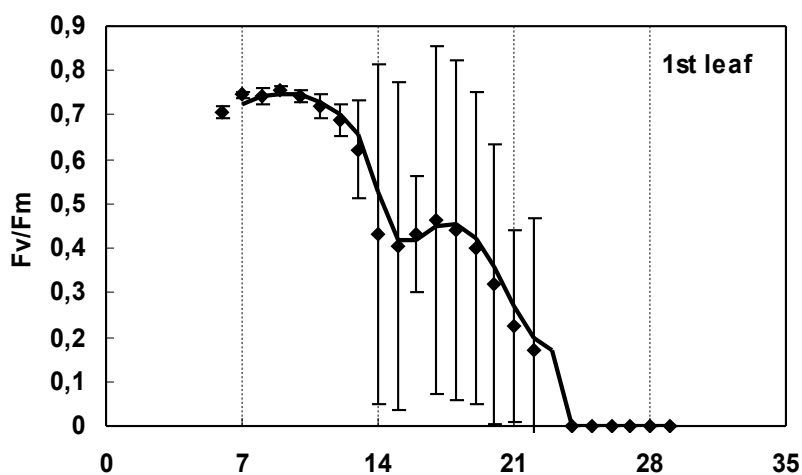
Στο πρώτο πραγματικό φύλλο η φωτοχημική ικανότητα παρουσιάζει μέγιστη τιμή την έκτη ημέρα, έως και την ενδέκατη παρουσιάζει υψηλές τιμές που βρίσκονται αρκετά κοντά στην μέγιστη τιμή της έκτης ημέρας, από την δωδέκατη ημέρα και ύστερα παρατηρείται πτώση της φωτοχημικής του δυνατότητας αλλά η ένταση της μείωσης είναι μικρότερη από εκείνης του εμβρυακού φύλλου όπως φαίνεται στο **διάγραμμα 3.4.2**. Από την εικοστή δεύτερη ημέρα και μετά είναι πλέον μη λειτουργικό έχει πλέον ξεραθεί.



Εικόνα 3.4.2.1: Εμβρυακού και πρώτου πραγματικού φύλλου την ένατη ημέρα από την βλάστηση του σπόρου.



Εικόνα 3.4.2.2: Ολόκληρου φυτού την 21^η ημέρα από την βλάστηση του σπόρου. Το εμβρυακό φύλλο είναι εντελώς ξερό, στο 1^ο πραγματικό έχει εμφανιστεί έντονη ξήρανση και αποχρωματισμός του ελάσματος από την κορυφή προς την βάση, στο 2^ο πραγματικό φύλλο λαμβάνουν χώρα τα ίδια φαινόμενα, αλλά με σαφώς μικρότερη ένταση.

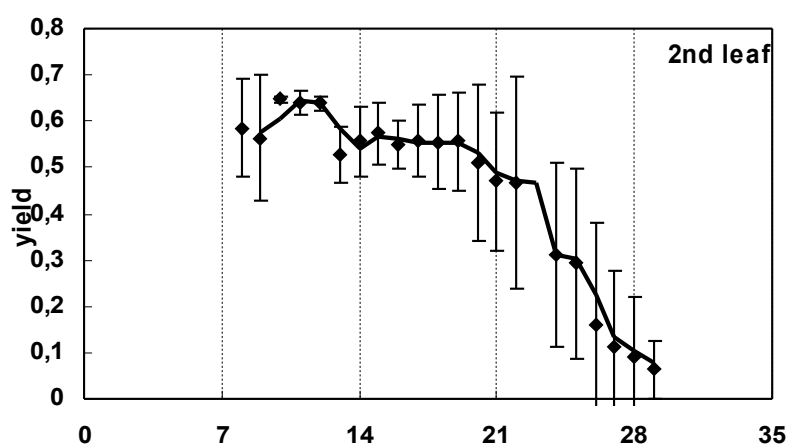


Διάγραμμα 3.4.2.3: Η θεμελιώδης φωτοχημική ικανότητα του πρώτου πραγματικού φύλλου.

Στο πρώτο πραγματικό φύλλο οι μέγιστες τιμές εμφανίζονται από την ημέρα 7 έως και την ημέρα 11 από εκεί και ύστερα παρατηρείται σταδιακή πτώση της φωτοχημικής ικανότητας του έως και την ημέρα 15, από την ημέρα αυτή και

έως και την ημέρα 19 διατηρεί την φωτοχημική ικανότητα του σταθερή. Από την εικοστή ημέρα και έως την εικοστή δεύτερη παρατηρείται έντονη απώλεια της φωτοχημικής ικανότητας του, και την εικοστή τέταρτη αυτή έχει πλέον απωλεσθεί οριστικά και το φύλλο είναι μη λειτουργικό **διάγραμμα 3.4.2.3**.

3.4.3 Δεύτερο φύλλο

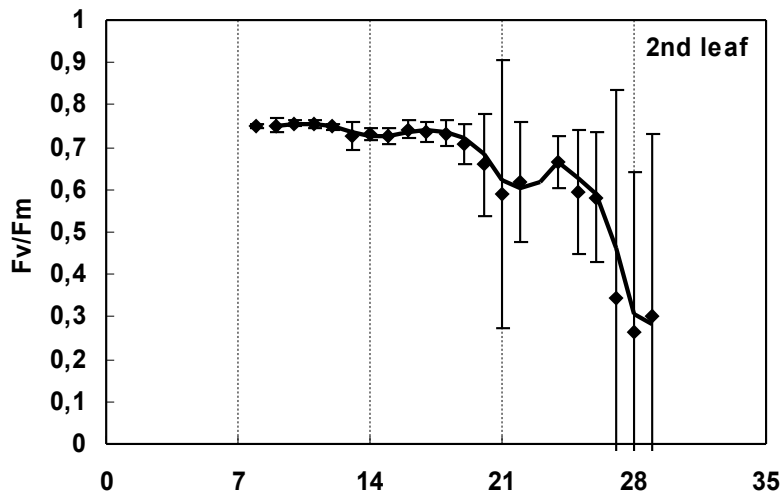


Διάγραμμα 3.4.3: Η φωτοχημική ικανότητα του 2^{ου} φύλλου σε συνθήκες φωτισμού.

Το δεύτερο φύλλο παρουσιάζει την μέγιστη φωτοχημική ικανότητα του από την δέκατη ημέρα. Από την δέκατη τρίτη έως και την εικοστή πρώτη ημέρα παρόλο που παρατηρείται ελαφρά μείωση της φωτοχημικής του ικανότητας σε σχέση με την μέγιστη τιμή αυτή διατηρείται σταθερή για όλο το προαναφερθέν διάστημα. Από την εικοστή δεύτερη ημέρα και μετά η πτώση της φωτοχημικής ικανότητας του είναι ιδιαίτερα έντονη και φτάνει σε πολύ χαμηλές τιμές την εικοστή ένατη ημέρα όπου σχεδόν το δεύτερο φύλλο παύει να είναι λειτουργικό όπως φαίνεται και στο **διάγραμμα 3.4.3**.



Εικόνα 3.4.3.1: Ολόκληρου φυτού την 25^η ημέρα από την βλάστηση του σπόρου. Διακρίνεται καθαρά το εμβρυακό εντελώς ξεραμένο, το πρώτο πραγματικό φύλλο έχει αποκτήσει έντονο κίτρινο χρώμα ενώ στο δεύτερο πραγματικό φύλλο ο αποχρωματισμός του είναι λιγότερο εμφανής.

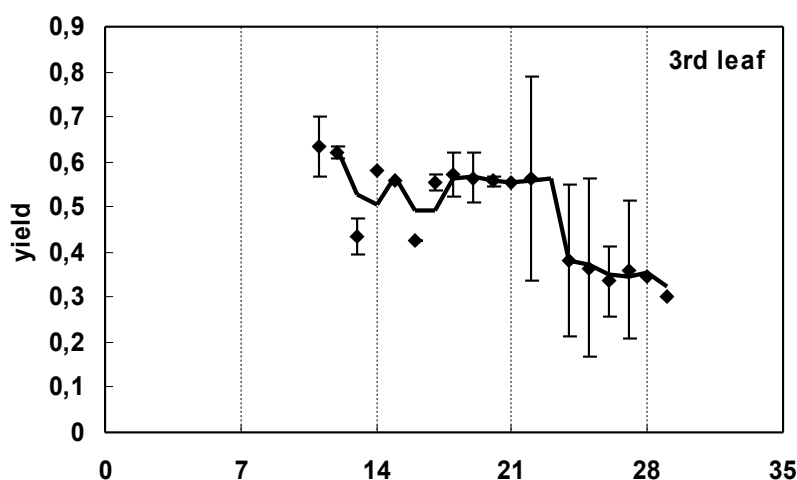


διάγραμμα 3.4.3.2: Η θεμελιώδη φωτοχημική ικανότητα του δεύτερου πραγματικού φύλλου

Στο δεύτερο πραγματικό φύλλο οι μέγιστες τιμές εμφανίζονται από την ημέρα 9 έως και την ημέρα 19, από την ημέρα 20 έως και την ημέρα 25 παρατηρείται μικρή πτώση της φωτοχημικής ικανότητας του, αλλά από την ημέρα 26 και

ύστερα η ένταση της μείωσης της φωτοχημικής ικανότητας του γίνεται περισσότερο έντονη (**διάγραμμα 3.4.3.2**).

3.4.4 Τρίτο φύλλο

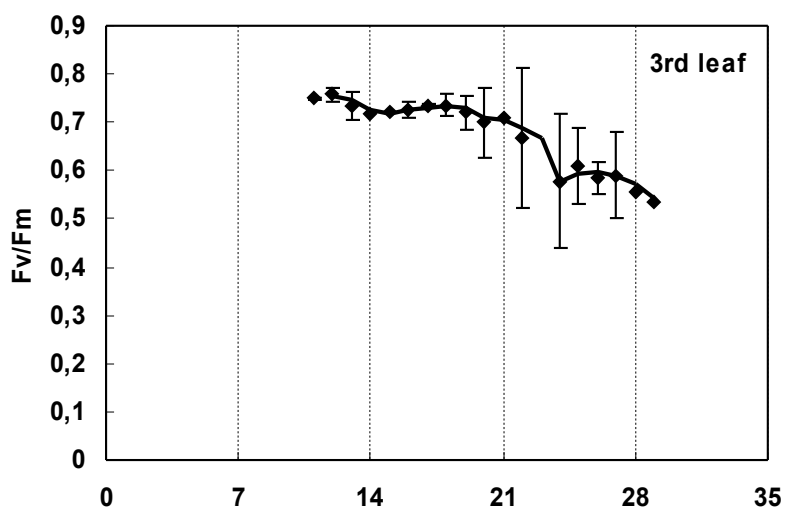


Διάγραμμα 3.4.4: Η φωτοχημική ικανότητα του 3^{ου} φύλλου σε συνθήκες φωτισμού

Στο 3^ο φύλλο η μέγιστη τιμή εμφανίζεται την 11^η ημέρα, από την δωδέκατη έως και την εικοστή δεύτερη παρατηρείται μικρή μείωση της φωτοχημικής του ικανότητας σε σχέση με την μέγιστη τιμή αλλά οι ενδιάμεσες τιμές χαρακτηρίζονται από αξιοσημείωτη σταθερότητα, μετά την εικοστή τρίτη ημέρα η φωτοχημική ικανότητα του τρίτου φύλλου παρουσιάζει έντονη πτώση, από την ημέρα εκείνη και μετά ο βαθμός μείωσης της φωτοχημικής ικανότητας είναι μικρότερος και σχεδόν σταθερός έως και την εικοστή ένατη ημέρα όπως παρουσιάζεται στο **διάγραμμα 3.4.4**

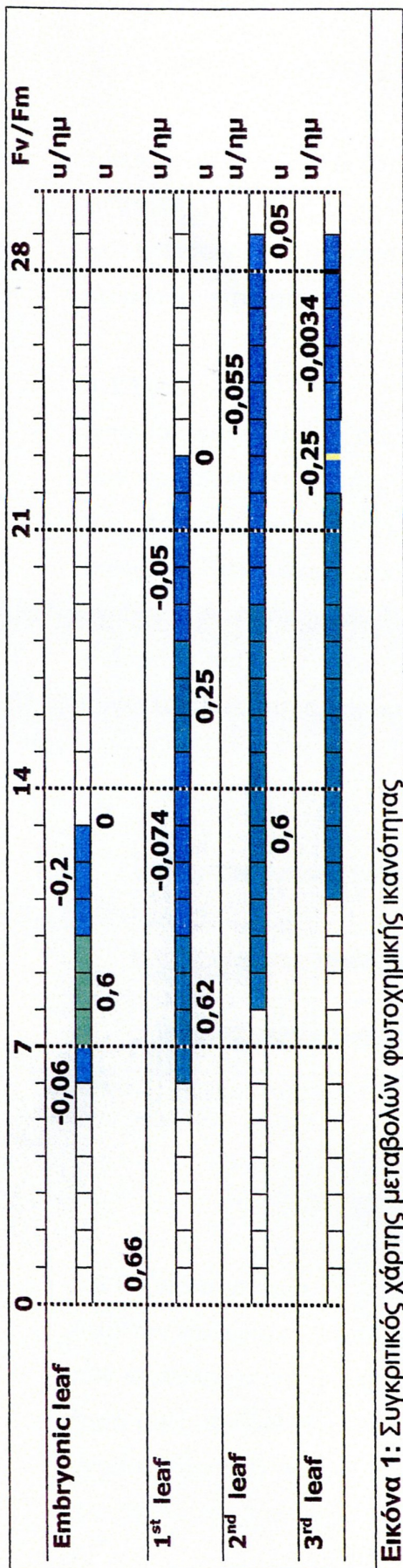


Εικόνα 3.4.4.1: Τρίτου πραγματικού φύλλου την εικοστή έβδομη ημέρα από την βλάστηση του σπόρου.



διάγραμμα 3.4.4.2: Η θεμελιώδης φωτοχημική ικανότητα του τρίτου πραγματικού φύλλου.

Οι μέγιστες τιμές της θεμελιώδους φωτοχημικής ικανότητας του τρίτου φύλλου παρουσιάζονται από την ημέρα 11 έως και την ημέρα 19, από την ημέρα 20 έως και την ημέρα 22 παρατηρείται πολύ μικρή πτώση της φωτοχημικής του ικανότητας, αλλά από την ημέρα 21 έως και την ημέρα 29 η ένταση της μείωσης γίνεται εμφανώς μεγαλύτερη (**διάγραμμα 3.4.4.2**).



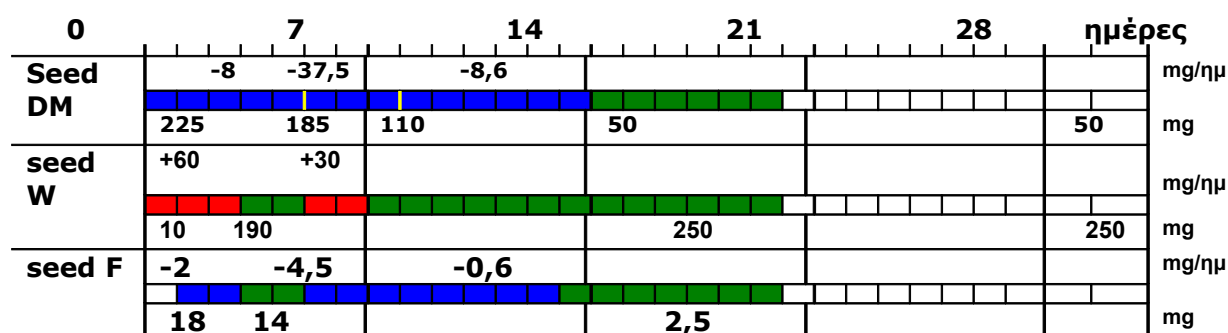
Εικόνα 1: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών φωτοχημικής ικανότητας

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Είναι ξεκάθαρο ότι μέχρι την 7^η ημέρα το φυτό ακολουθεί απρόσκοπτα το αναπτυξιακό πρόγραμμα του, ενώ από την 2^η εβδομάδα και μετά βρίσκεται σε φάση έντονης καταπόνησης. Στη συνέχεια συνθέσαμε τα αποτελέσματα των επιμέρους παραμέτρων ανά όργανο.

4.1 Σπόρος

Από τον συγκριτικό χάρτη των μεταβολών της ξηρής μάζας, της υγρασίας και των φαιολικών του σπέρματος (Εικόνα 1) προκύπτουν τα εξής: Η ξηρή μάζα του σπόρου μειώνεται προοδευτικά μέσα στις πρώτες 2 εβδομάδες, τα φαιολικά μειώνονται προοδευτικά μέσα στις πρώτες 2 εβδομάδες, ενώ η υγρασία του σπόρου αυξάνει προοδευτικά μέσα στην 1^η εβδομάδα. Από την 3^η εβδομάδα και μετά η κατάσταση του σπόρου είναι στάσιμη, όσον αφορά στις συγκεκριμένες παραμέτρους.

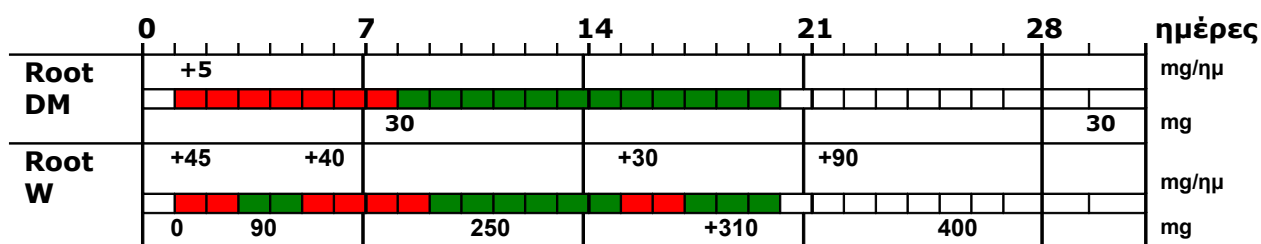


Εικόνα 1: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM), υγρασίας (W) και φαιολικών (F)

4.2 Ριζικό σύστημα

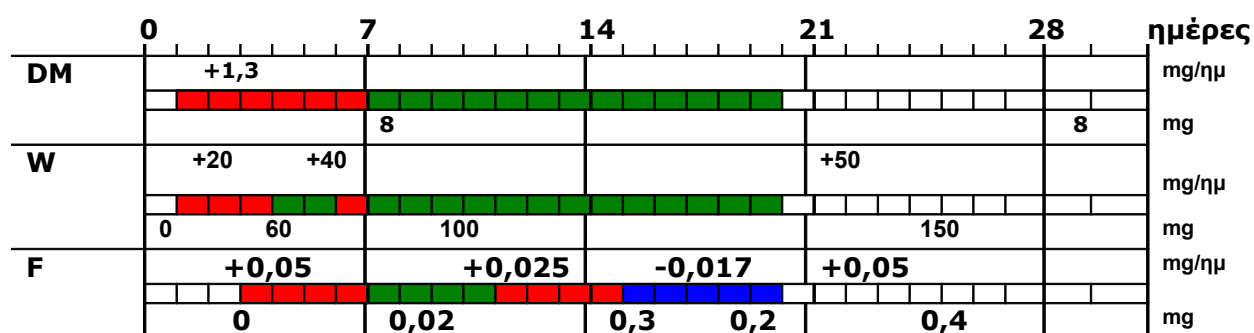
Από τον συγκριτικό χάρτη των μεταβολών της ξηρής μάζας, της υγρασίας και των φαιολικών του ριζικού συστήματος συνολικά (Εικόνα 2), προκύπτει ότι η ξηρή μάζα αυξάνεται μέσα στην 1^η εβδομάδα και μετά σταθεροποιείται ενώ η υγρασία αυξάνει κατά διαστήματα. Αυτή η αύξηση της υγρασίας δείχνει να

σχετίζεται με τον χρόνο έκπτυξης νέων ριζών. Αναλυτικά για τους διαφόρους τύπους ρίζας η κατάσταση των μεταβολών διαμορφώθηκε ως εξής:



Εικόνα 2: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM) και υγρασίας (W)

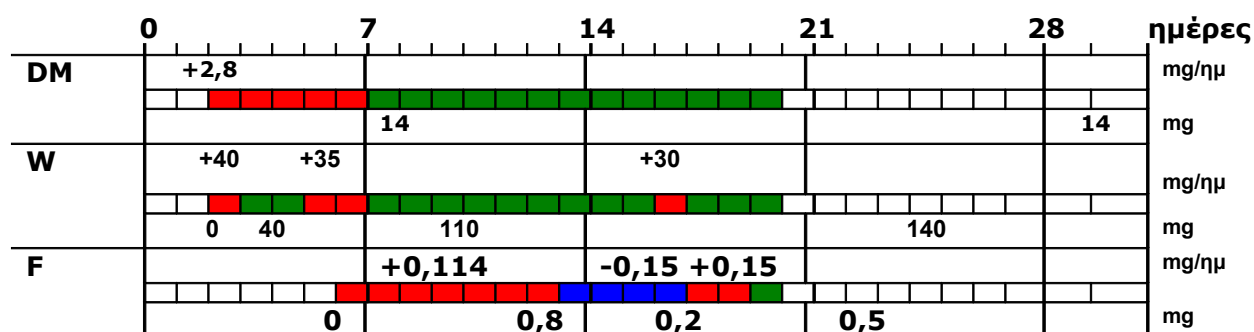
Την πρώτη εβδομάδα η πρωτογενής ρίζα (Εικόνα 3) αναπτύσσεται κανονικά, με τα φαινοτικά να αυξάνονται επίσης. Από την αρχή της 2^{ης} εβδομάδας και μετά έχουμε στασιμότητα στην συσσώρευση ξηρής μάζας, ενώ την 6^η και την 21^η ημέρα έχουμε σύντομες φάσεις ενυδάτωσης. Τα φαινοτικά αυξάνονται προς το τέλος της 2^{ης} εβδομάδας και μειώνονται την 3^η εβδομάδα. Φάση μείωσης μπορεί να σημαίνει ότι τροποποιείται η ομάδα που αντιστοιχεί στον κυματαριθμό που παρακολουθούμε, φυσιολογικό φαινόμενο που θεωρούμε ότι είναι πιθανότερο να συμβεί έναντι της εναλλακτικής δυνατότητας να απομακρύνεται αυτή η ομάδα. Την 3^η εβδομάδα εμφανίζεται πάλι αύξηση των φαινολικών.



Εικόνα 3: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM), υγρασίας (W) και φαινολικών (F) πρωτογενούς ρίζας

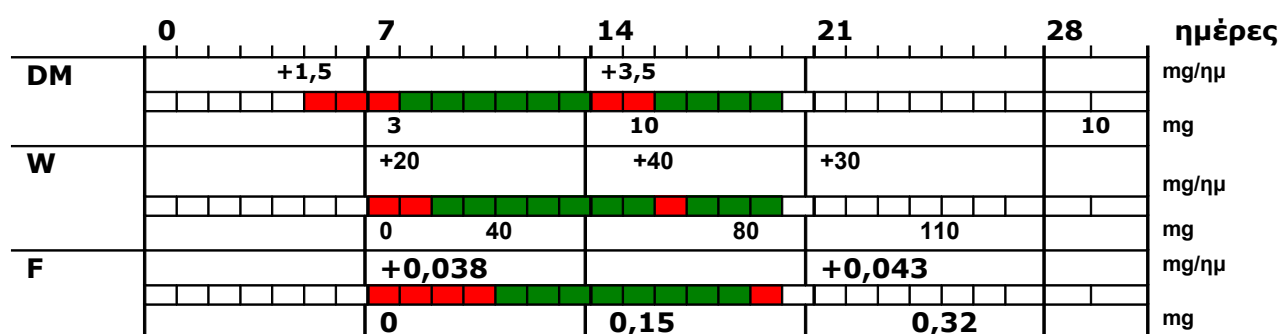
Οι δευτερογενείς ρίζες (Εικόνα 4) ακολούθησαν το ίδιο πρόγραμμα μεταβολής της ξηρής μάζας και της υγρασίας, με τη διαφορά ότι η ενυδάτωση γίνεται σε άλλες μέρες, ενώ η ποσότητα νερού που κατακρατείται είναι στα ίδια επίπεδα

με αυτά της πρωτογενούς. Τα φαινορικά σε αυτό το όργανο εμφανίζουν τον τύπο εναλλαγής αύξηση-μείωση-αύξηση ήδη από την εμφάνιση του οργάνου, με αποτέλεσμα να βρίσκουμε υψηλότερα επίπεδα φαινολικών την 4^η εβδομάδα.



Εικόνα 4: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM), υγρασίας (W) και φαινολικών (F) δευτερογενών ριζών.

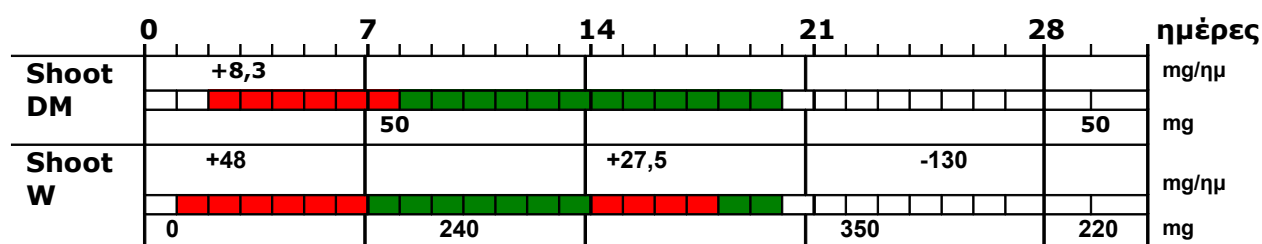
Οι βλαστογενείς ρίζες (Εικόνα 5) εμφάνισαν δύο φάσεις αύξησης της ξηρής μάζας τους, με την 2^η φάση να συμπίπτει χρονικά με την εμφάνιση της δεύτερης σειράς βλαστογενών αρχές της 3^{ης} εβδομάδας. Και αυτός ο τύπος ριζας εμφάνισε δύο φορές ημέρα ενυδάτωσης μετά από φάση στασιμότητας. Όσον αφορά στα φαινορικά, η εναλλαγή αύξησης-στασιμότητας-αύξησης μοιάζει αυτή της πρωτογενούς τις πρώτες δύο εβδομάδες και στα επίπεδα και στους ρυθμούς.



Εικόνα 5: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM), υγρασίας (W) και φαινολικών (F) βλαστογενών ριζών.

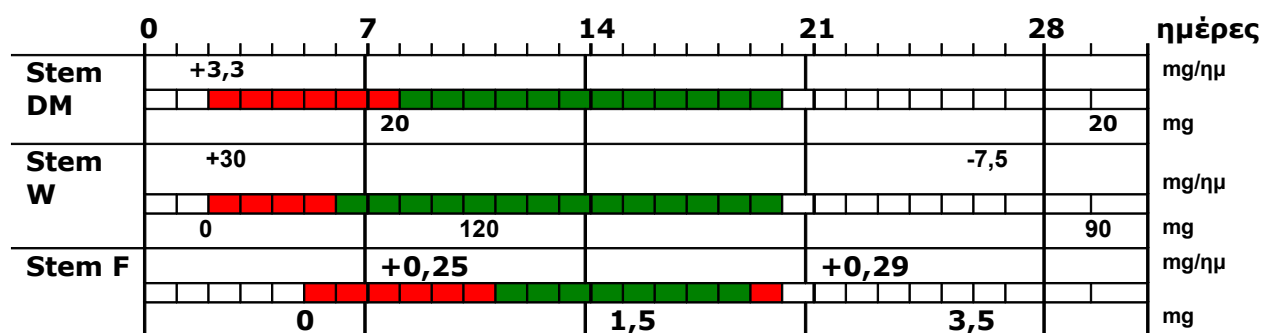
4.3 Υπέργειο σύστημα

Το υπέργειο σύστημα αναλύθηκε σε βλαστό με τους κολεούς των φύλλων και στα ελάσματα εμβρυακού και τριών φύλλων. Συνολικά (Εικόνα 6), βλέπουμε ότι η ξηρή μάζα αυξήθηκε προοδευτικά μέσα στην 1^η εβδομάδα και μετά σταθεροποιήθηκε, ενώ όσον αφορά στην ενυδάτωση του υπέργειο βλέπουμε ότι υπάρχει και δεύτερη φάση ενυδάτωσης στο πρώτο μισό της 3^{ης} εβδομάδας. Επίσης εμφανίζεται μία φάση αφυδάτωσης στα μισά της 4^{ης} εβδομάδας. Αναλύοντας την συνολική εικόνα προκύπτουν τα εξής:



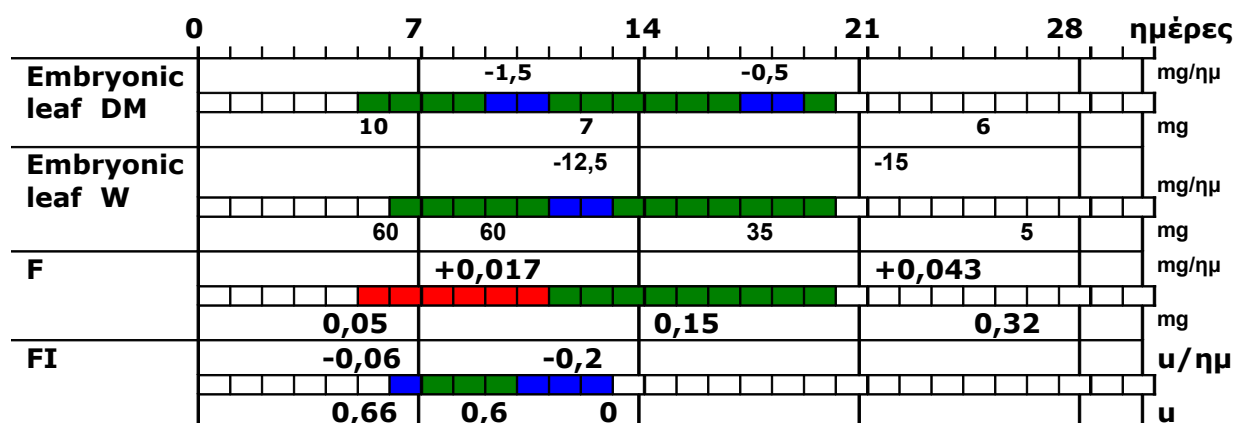
Εικόνα 6: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM) και υγρασίας (W)

Ο βλαστός (Εικόνα 7) συσσωρεύει ξηρή μάζα την 1^η εβδομάδα και μετά παραμένει στάσιμος. Το ίδιο ισχύει και για την ενυδάτωση του, ενώ παρατηρείται και φάση αφυδάτωσης προς το τέλος της 4^{ης} εβδομάδας. Τα φαινοτικά του βλαστού αυξάνουν από τα μισά της 1^{ης} εβδομάδας μέχρι τα μισά της 2^{ης} και από το τέλος της 3^{ης} μέχρι τα μισά της 4^{ης} εβδομάδας.



Εικόνα 7: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM), υγρασίας (W) και φαινολικών (F)

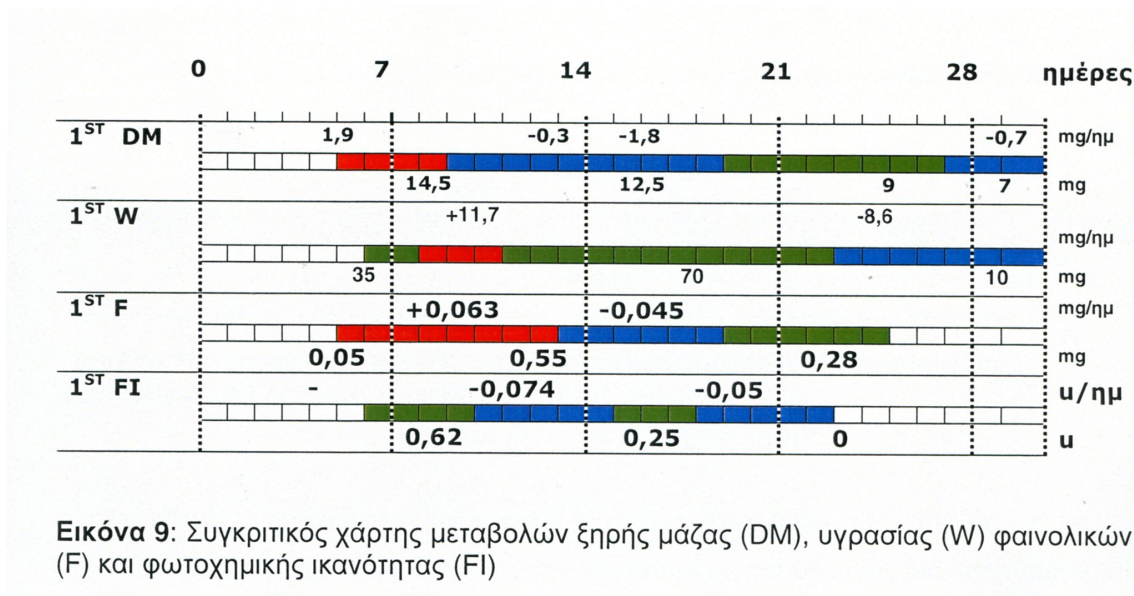
Το εμβρυακό φύλλο (Εικόνα 8) εμφάνισε μία φάση απώλειας ξηρής μάζας στα μισά της 2^{ης} εβδομάδας και δεύτερη φάση στα μισά της 3^{ης} εβδομάδας. Την κάθε μία από αυτές τις δύο φάσεις διαδέχθηκε φάση αφυδάτωσης. Η κάθε φάση τόσο της απώλειας ξηρής μάζας όσο και της αφυδάτωσης διήρκεσε 2 ημέρες. Το υπόλοιπο χρονικό διάστημα δεν χαρακτηρίστηκε από μεταβολές. Τις πρώτες 6 ημέρες από την εμφάνιση του φύλλου παρατηρήθηκε αύξηση της ποσότητας των φαινολικών, ενώ από τα μισά της 2^{ης} εβδομάδας μέχρι και το τέλος της 3^{ης} εβδομάδας διαπιστώθηκε στάσιμη κατάσταση. Η 4^η εβδομάδα χαρακτηρίστηκε από νέα αύξηση των φαινολικών που οδήγησε στον διπλασιασμό της ποσότητας. Μέτρηση της φωτοδυναμικής ικανότητας έδειξε ότι το φύλλο παύει να είναι λειτουργικό μετά την 13^η ημέρα.



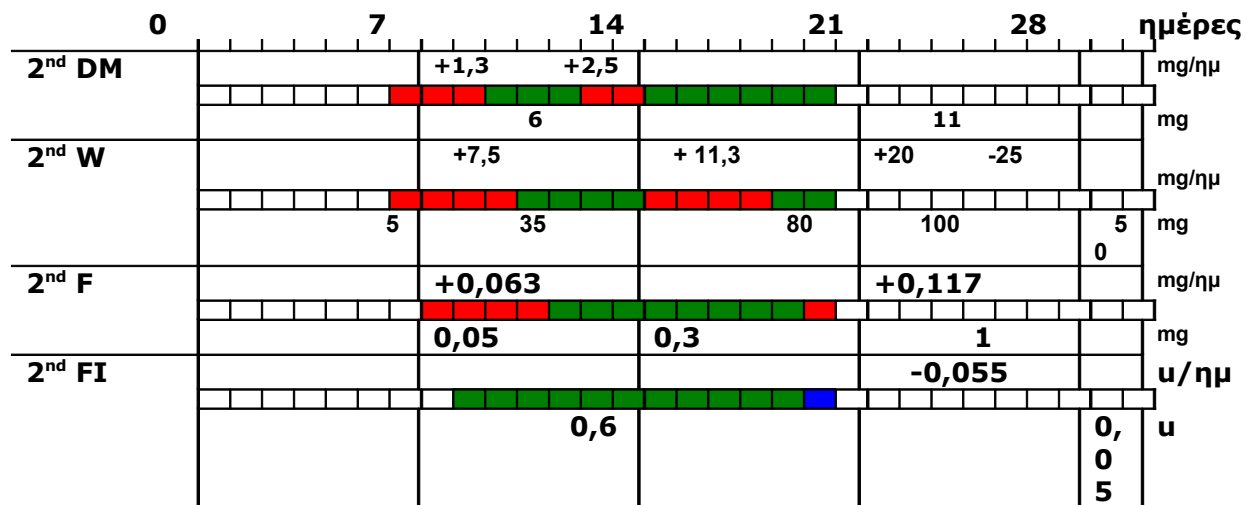
Εικόνα 8: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM), υγρασίας (W) φαινολικών (F) και φωτοχημικής ικανότητας (FI)

Το 1^ο φύλλο (Εικόνα 9) εμφανίζεται μαζί με το εμβρυακό. Οι πρώτες ημέρες χαρακτηρίζονται από αύξηση της ξηρής μάζας και σταθερή φωτοδυναμική ικανότητα. Μετά έχουμε μείωση της ξηρής μάζας (το οποίο προφανώς δείχνει άδειασμα του ελάσματος από υλικά, τα οποία διακινούνται προς βλαστό και ριζικό) που διαρκεί περίπου 10 ημέρες και μετά στάσιμη ξηρή μάζα. Τις ημέρες λίγο πριν και λίγο μετά την αλλαγή από αύξηση σε μείωση της ξηρής μάζας παρατηρείται ενυδάτωση του ελάσματος που ακολουθείται από σταθεροποίηση για περίπου 2 εβδομάδες. Μετά παρατηρείται προοδευτική αφυδάτωση του ελάσματος. Η πρώτη εβδομάδα ζωής του οργάνου χαρακτηρίζεται από αύξηση των φαινολικών και ακολουθεί περίοδος μείωσης για 6 ημέρες. Μετά το έλασμα

εμφάνισε σταθερή ποσότητα της συγκεκριμένης ομάδας φαινολικών. Το 1^ο φύλλο εμφάνισε φωτοδυναμική ικανότητα περίπου 3 εβδομάδες.

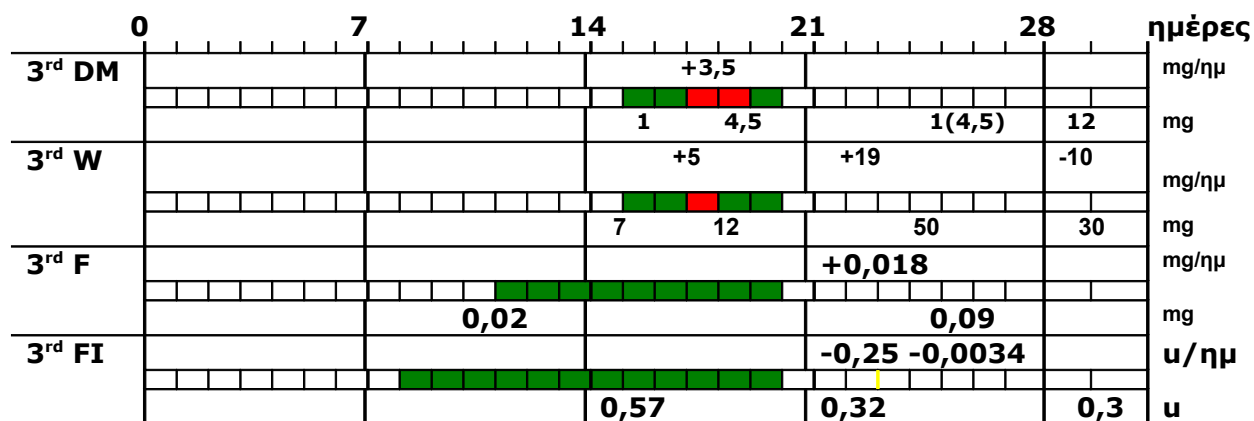


Το 2^ο φύλλο (Εικόνα 10) εμφάνισε διαφορετική εικόνα από αυτή που περιγράψαμε για το 1^ο φύλλο. Η ξηρή μάζα αυξάνεται σε 2 φάσεις με παράλληλη ή επακόλουθη ενυδάτωση. Ενδιάμεσα εμφανίζεται στασιμότητα. Το φύλλο αυτό εμφάνισε φάση αφυδάτωσης 2 ημερών προς το τέλος της 3^{ης} εβδομάδας. Η φωτοδυναμική ικανότητά του διατηρήθηκε σταθερή για 11 ημέρες και μετά μειώθηκε προοδευτικά κατά τη διάρκεια της 4^{ης} εβδομάδας. Τα φαινολικά αυξήθηκαν τις πρώτες 4 ημέρες, παρέμειναν στάσιμα για 8 ημέρες και αυξήθηκαν εκ νέου τις επόμενες 6 ημέρες.



Εικόνα 10: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM), υγρασίας (W) φαινολικών (F) και φωτοχημικής ικανότητας (FI)

Το 3^ο φύλλο (Εικόνα 11) είναι πολύ καχεκτικό και η ξηρή μάζα του δείχνει να είναι σταθερή περί τα 4,5 mg, με την παρατήρηση ότι υπάρχει μία ταλάντωση μέσα στην 4^η εβδομάδα γύρω από αυτή την ποσότητα. Παρατηρήθηκαν 2 σύντομες φάσεις ενυδάτωσης και αφυδάτωσης μέσα στην 5^η εβδομάδα. Σε αυτό το φύλλο δεν παρατηρήθηκε αύξηση της ομάδας φαινολικών που παρακολουθούσαμε. Αντίθετα εμφανίστηκε μία παρατεταμένη στάσιμη κατάσταση, την οποία διαδέχθηκε φάση αύξησης. Η στάσιμη κατάσταση χαρακτηρίζεται από σταθερή φωτοδυναμική ικανότητα, ενώ η φάση αύξησης των φαινολικών συνοδεύεται από μείωση της φωτοδυναμικής ικανότητας.



Εικόνα 11: Συγκριτικός χάρτης μεταβολών ξηρής μάζας (DM), υγρασίας (W) φαινολικών (F) και φωτοχημικής ικανότητας (FI)

Αυτή η εργασία αποτελεί το τρίτο μέρος μίας ομάδας εργασιών, οι οποίες μελέτησαν την ανάπτυξη του νεαρού φυτού αραβοσίτου υπό αυτές τις συνθήκες. Έτσι, στη συνέχεια θα συνδέσουμε τα διάφορα γεγονότα. Στο 1^ο μέρος (Πιτσιλαδής 2009) προσδιορίστηκε και μελετήθηκε η πορεία του αζώτου στα όργανα του αραβόσιτου σε αυτό το χρονικό διάστημα. Επίσης ελήφθησαν στοιχεία για τη νωπή μάζα των οργάνων και πραγματοποιήθηκε ανάλυση χλώρωσης μέσω της μέτρησης χλωροφυλλών και καροτενοειδών στα φύλλα. Στο 2^ο μέρος (Κωσταράς 2010) προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των εκχυλίσμων σακχάρων για όλα τα όργανα στο ριζικό σύστημα και στο υπέργειο τμήμα. Επίσης αναλύθηκε ιδιαίτερα το ριζικό σύστημα και μετρήθηκαν τα μήκη των οργάνων του, όπως και των τμημάτων που σχετίζονται με την ύπαρξη των πλάγιων ριζών καθώς επίσης έγινε εντοπισμός του σουπεροξειδικού ανιόντος. Τέλος εντοπίστηκε αερέγχυμα του οποίου ποσοτικοποιήθηκε η κατανομή στο φλοιώδες παρέγχυμα, τόσο σε δύο τύπους ριζών όσο και στο μεσοκοτύλιο.

Διαπιστώθηκε μία εκθετική πορεία αδειάσματος του σπέρματος όσον αφορά το αποθεματικό άζωτο. Το σπέρμα μέχρι την 20^η μέρα του πειράματος είχε χάσει το μεγαλύτερο μέρος των αποθεμάτων του σε νωπή μάζα και σε άζωτο και του απομένει ένα μικρό μέρος, το οποίο διοχετεύεται αργά στο φυτό. Την 30^η μέρα παραμένει το 15% που δεν είναι κινητοποιήσιμο (Πιτσιλαδής 2009). Διαπιστώθηκε (Κωσταράς 2010) ότι ο σπόρος του νεαρού φυτού μέχρι την 13η

ημέρα έχει χάσει την περισσότερη νωπή και ξηρή του μάζα, ενώ την 9η ημέρα σημειώνει τη μέγιστη τιμή σε περιεχόμενο νερό.

Οι εμβρυακές ρίζες στο σύνολό τους, αν και δεν αυξάνουν σε αριθμό, σε νωπή μάζα και σε N, διατηρούν το μεγαλύτερο μέρος των αποθεμάτων τους. Η πρωτογενής εμβρυακή ρίζα χάνει περίπου το 25% του αζώτου από την 8^η μέχρι την 30^η και οι δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες το 18%, από τη 15^η μέχρι την 30^η. Φαίνεται δηλαδή ότι παραμένουν λειτουργικές σε κάποιο βαθμό μέχρι το τέλος παρά τη μεγάλη καταπόνηση που δέχονται. Από τη 10^η μέρα περίπου σταματάνε να εκπτύσσονται νέες δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες, αλλά το μέσο βάρος τους αυξάνεται μέχρι το τέλος. Το άζωτο που χάνεται τροφοδοτεί την ανάπτυξη άλλων οργάνων ή διοχετεύεται στη ριζόσφαιρα με τη μορφή φυτοσιδηροφόρων. Οι βλαστογενείς ρίζες έχουν δεσπόζουσα θέση στο ριζικό σύστημα και συνολικά στο φυτό επειδή τροφοδοτούνται διαρκώς με N και άλλα υλικά καθώς αυξάνεται και η νωπή μάζα τους. Επίσης έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση αζώτου από τις εμβρυακές ρίζες καθ' όλη τη διάρκεια των 30 ημερών. Μέχρι το τέλος εκπτύσσονται νέες βλαστογενείς ρίζες και αυξάνει το μέσο βάρος τους. Περίπου τη 18^η μέρα παρατηρείται κάμψη στη συσσώρευση του αζώτου. Συνολικά το ριζικό σύστημα αυξάνεται διαρκώς μέχρι το τέλος με σημαντική κάμψη στο ρυθμό από τη 16^η μέρα. Η αύξηση της νωπής μάζας φαίνεται ότι κάμπτεται τη 15^η μέρα περίπου αλλά συνεχίζεται μέχρι το τέλος. Υπάρχει δηλαδή μια σχέση μεταξύ νωπής μάζας και αζώτου συνολικά στο ριζικό σύστημα. Το ριζικό μέρος έχει προτεραιότητα και αναπτύσσεται ακόμα και σε πολύ δύσκολες συνθήκες, για να βρει και να απορροφήσει θρεπτικά (Πιτσιλαδής 2009). Το ριζικό σύστημα γενικά εμφανίζει συνεχή αύξηση στην νωπή του μάζα και τις 30 ημέρες. Η ξηρή του μάζα αυξάνει μέχρι την 9η ημέρα και μετά σταθεροποιείται. Η υγρασία του ριζικού αυξάνει συνεχώς, έχοντας μια κάμψη την 9η ημέρα και φθάνοντας την μέγιστη τιμή σε περιεχόμενο νερό την 22η. Τα επίπεδα των εκχυλίσιμων σακχάρων του ριζικού συστήματος αυξάνουν μέχρι την 12η ημέρα περνώντας δύο φάσεις αύξησης, μια γρήγορη μέχρι την 6η και μια αργή μέχρι την 12η, και στην συνέχεια μειώνονται μέχρι την 26η ημέρα. Το μήκος του αυξάνει μέχρι την 14η ημέρα και μετά σταθεροποιείται. Το σουπεροξειδικό ανιόν εντοπίστηκε και στους τρεις τύπους ριζών στο τμήμα A και μόνο στις εκπτυγμένες και εκπτυσσόμενες πλάγιες ρίζες. Στις εμβρυακές

ρίζες μέχρι την 25η ημέρα είχε σταματήσει οποιαδήποτε χρώση, ενώ στις βλαστογενείς υπήρχε μέχρι και την 29η. Ανάλογα εντοπίστηκε αερέγχυμα τόσο στην πρωτογενή και στις βλαστογενείς ρίζες όσο και στο μεσοκοτύλιο. Ο εντοπισμός υπήρξε στα τμήματα ELR και LR που έφεραν εκπτυσσόμενες και εκπτυγμένες πλάγιες ρίζες αντίστοιχα. Το αερέγχυμα έφθασε το 50% περίπου της επιφάνειας του φλοιώδους παρεγχύματος στο τμήμα LR της πρωτογενούς ρίζας και στο 23% στις βλαστογενείς ρίζες, ενώ στο ELR έφθασε το 39% περίπου και το 16% αντίστοιχα. Στο μεσοκοτύλιο έφθασε στο 50% της επιφάνειας του φλοιώδους παρεγχύματος (Κωσταράς 2010).

Ο βλαστός έχει επίσης προνομιακή μεταχείριση από το φυτό καθώς φέρει τις καταβολές των φύλλων, τους κόμβους, το κορυφαίο μερίστωμα και συνδέει το υπέργειο μέρος με το ριζικό. Η νωπή μάζα του αυξάνεται μέχρι την 8^η μέρα. Μετά ο ρυθμός αύξησης επιβραδύνεται μέχρι περίπου την 20^η μέρα, ενώ στη συνέχεια μειώνεται η νωπή του μάζα. Έτσι διακρίνονται τα δύο κρίσιμα στάδια στην ανάπτυξη του φυτού. Το άζωτο μειώνεται κατά 20% μέχρι το τέλος. Η συγκέντρωση του αζώτου διατηρείται σταθερή στο βλαστό μέχρι το τέλος. Έτσι είναι προφανές ότι παραμένει λειτουργικός μέχρι και την 30^η μέρα (Πιτσιλαδής 2009).

Από τα φύλλα, το εμβρυακό, 1^ο και 2^ο εμφάνισαν τρεις φάσεις κατά την ανάπτυξή τους. Στην πρώτη φάση συσσωρεύουν άζωτο και νωπή μάζα, στη δεύτερη φάση υπάρχει μικρή ή μεγάλη σταθεροποίηση και στην τρίτη φάση υπάρχει μείωση, σταδιακή γήρανση και τελικά νέκρωση των ιστών. Αυτό το μοτίβο υπάρχει σε όλα αυτά τα φύλλα, με διαφορές στους ρυθμούς αύξησης και μείωσης, στο χρόνο σταθεροποίησης και στο μέγιστο αζώτου και νωπής μάζας που συσσωρεύουν. Το εμβρυακό φύλλο σταματάει να συσσωρεύει άζωτο τη 10^η μέρα και στη συνέχεια μειώνεται αργά μέχρι να νεκρωθεί την 20^η μέρα περίπου. Επίσης μέχρι τη 17^η μέρα διαθέτει χλωροφύλλες και καροτενοειδή που αποδομούνται γρήγορα μέχρι την 20^η μέρα που νεκρώνεται το φύλλο. Η έντονη φάση της γήρανσης για το εμβρυακό φύλλο διαρκεί από τη 16^η μέχρι την 20^η μέρα. Το 1^ο κανονικό φύλλο αυξάνει σε μάζα και σε άζωτο και μετά την

σταθεροποίηση του εμβρυακού φύλλου και αποκτά περισσότερο άζωτο από αυτό, περίπου τη 10^η μέρα. Επίσης αδειάζει από άζωτο με τον ίδιο ρυθμό που αδειάζει και το εμβρυακό φύλλο. Νεκρώνεται σταδιακά από τη 17^η μέρα μέχρι την 26^η μέρα. Το 2^ο κανονικό φύλλο αυξάνει με μικρότερο ρυθμό από ότι το 1^ο κανονικό. Μέγιστο αζώτου παρατηρείται τη 18^η μέρα και συγκριτικά με τα άλλα φύλλα αποκτά τη μεγαλύτερη ποσότητα αζώτου. Εκτός από άζωτο αποκτά και μεγαλύτερη ποσότητα σε χλωροφύλλες και σε νωπή μάζα σχεδόν ταυτόχρονα. Άρα κατά τη διάρκεια των 30 ημερών είναι το πιο λειτουργικό φύλλο. Επίσης αδειάζει με πιο γρήγορο ρυθμό από ότι τα προηγούμενα φύλλα. Μέχρι την 30^η μέρα έχει χάσει ένα μεγάλο μέρος της φωτοσυνθετικής του επιφάνειας και συνεπώς και της λειτουργικότητάς του. Το 3^ο κανονικό φύλλο αρχίζει ουσιαστική αύξηση τη 14^η μέρα και συνεχίζει να αυξάνει σχεδόν μέχρι το τέλος. Ο ρυθμός αύξησής του είναι μικρότερος από τον αντίστοιχο ρυθμό των άλλων φύλλων. Συγκρίνοντας την πορεία της νωπής μάζας, του αζώτου και των χλωροφυλλών, παρατηρείται μία σημαντική κάμψη την 20^η μέρα περίπου, στην ανάπτυξη του 3^{ου} φύλλου, χωρίς ωστόσο να διακόπτεται μέχρι το τέλος. Την 30^η ημέρα μεγάλο μέρος του φύλλου είναι ακόμα λειτουργικό αλλά έχει αρχίσει η διαδικασία της γήρανσης. Το 4^ο κανονικό φύλλο εμφανίζεται περίπου την 24^η μέρα με μικρή αύξηση μέχρι το τέλος. Αν και στη φάση αυτή το υπέργειο χάνει συνολικά νωπή μάζα, άζωτο και χρωστικές, ξεκινάει η ανάπτυξη του 4^{ου} φύλλου, κάτι που δείχνει ότι ο αραβόσιτος εξακολουθεί να εκτελεί το αναπτυξιακό του πρόγραμμα. Συγκριτικά συμπεραίνεται ότι τα φύλλα που εκπτύσσονται στην αρχή της βλάστησης συσσωρεύουν πιο γρήγορα άζωτο και αδειάζουν πιο αργά. Αντίθετα όσο πιο αργά εκπτύσσεται ένα φύλλο, αυξάνει σε άζωτο με μικρό ρυθμό και χάνει άζωτο με γρήγορο ρυθμό (Πιτσιλαδής 2009).

Δεν υπήρχε πάντα συσχέτιση του αζώτου με τη νωπή μάζα του φυτού. Η νωπή μάζα του εμβρυακού φύλλου διατηρείται μέχρι τη 16^η μέρα, ενώ το άζωτο ξεκινάει να μειώνεται σταθερά από τη 10^η μέρα. Το ίδιο παρατηρείται και συνολικά στο φυτό. Ενώ δηλαδή υπάρχει μια σταθεροποίηση στη νωπή μάζα από τη 10^η μέρα μέχρι το τέλος, η ποσότητα του αζώτου πέφτει μετά την 20^η μέρα. Σε άλλες περιπτώσεις, όπως συνολικά στο ριζικό σύστημα, παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ νωπής μάζας και αζώτου. Η ποσότητα των χλωροφυλλών δε συσχετίζεται πάντα με την ποσότητα του αζώτου στο συγκεκριμένο σύστημα,

αφού στις χλωροφύλλες παρατηρούμε αρχική μείωση, κάτι που δεν παρατηρείται στο άζωτο (Πιτσιλαδής 2009).

Το υπέργειο συμπεριφέρεται διαφορετικά σε σχέση με το ριζικό όσον αφορά την νωπή μάζα. Μέχρι την 25η ημέρα κρατά την μάζα του σταθερή και κατόπιν την μειώνει απότομα. Αντίθετα έχει την περίσσεια της ξηρής μάζας ενώ καταναλώνει νερό αντίστοιχα με τη νωπή μάζα. Τα επίπεδα των εκχυλίσιμων σακχάρων αυξάνουν στο υπέργειο μέχρι την 12η ημέρα και μετά μειώνονται. Συνολικά το φυτό αυξάνει το νωπό του βάρος μέχρι την 18η ημέρα και μετά σταθεροποιεί την ανάπτυξη του. Μειώνει την κατανομή της ξηρής του μάζας από την 5η ημέρα μέχρι την 13η και αυξάνει την κατανομή της περιεκτικότητας σε νερό μέχρι την 9η και μετά σταθεροποιεί την κατανομή. Στην ίδια κατάσταση παρατηρούνται τα επίπεδα των εκχυλίσιμων σακχάρων. Το φυτό αυξάνει μέχρι την 12η ημέρα την συσσώρευση των σακχάρων και στην συνέχεια από την 22η ημέρα και μετά η κατανομή είναι σταθερή.

Στα περισσότερα όργανα οι κρίσιμες μέρες είναι η 6η που συνήθως σταματά η απότομη αύξηση στην κατανομή κάποιου οργάνου, η 12η που σταματά τελείως η αύξηση και προφανώς εξαντλείται η τροφοδοσία από τον σπόρο και οι μέρες 20 με 22 που πλέον το φυτό δείχνει έντονα σημάδια φυσιολογικής γήρανσης. Παρόλα αυτά, το σίγουρο είναι ότι το φυτό παρότι καταπονείται, ακολουθεί το αναπτυξιακό πρόγραμμα του με αργοπορία, προφανώς διότι δίνει προτεραιότητα στις διαδικασίες ανακύκλωσης των υλικών για υποστήριξη των αναπτυσσομένων οργάνων (Κωσταράς 2010).

Στα προηγούμενα, με αυτή την εργασία προσθέτουμε την συμπεριφορά δύο ακόμη φυσιολογικών παραμέτρων: της φωτοδυναμικής ικανότητας των φύλλων και της εμφάνισης της φαινολικής ομάδας που χαρακτηρίζεται από τον κυματαριθμό 1508 cm^{-1} . Η λιγνινοποίηση των νεαρών ιστών των αρτιβλάστων είναι ένα ενδιαφέρον θέμα, δεδομένου ότι η λιγνινοποίηση συνειρμικά συνδέεται με ξυλοποιημένο ιστό. Ο Πρωτονοτάριος (2008) προσέγγισε την διαδικασία με τεχνικές *in situ*, ενώ στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η τεχνική FT-IR. Από τους χάρτες αποτελεσμάτων βλέπουμε ότι οι μεταβολές της συγκεκριμένης ομάδας σχετίζονται με τις άλλες αναπτυξιακές παραμέτρους και συνδέονται με

τα αναπτυξιακά γεγονότα. Προτείνουμε λοιπόν ότι η κινητική εμφάνιση και εξαφάνιση της συγκεκριμένης ομάδας (που περιγράψαμε στο πρώτο μέρος αυτής της συζήτησης), επηρεάζεται από τις αλλαγές που συμβαίνουν στο κυτταρικό τοίχωμα των διαφόρων ιστών και συνεισφέρει στην προστασία του καταπονημένου ιστού.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5.1 Σπόρος

- 1) Τα αποθέματα του σπόρου μπορούν να υποστηρίξουν την ανάπτυξη του φυτού για τις πρώτες δεκατέσσερις ημέρες. Από το σημείο εκείνο και ύστερα το φυτό ανακατανέμει τα απαραίτητα θρεπτικά υλικά από τα παλαιότερα φυτομερή στα νεότερα.
- 2) Τα φαινολικά παράγωγα του σπόρου βαίνουν μειούμενα έως την δέκατη τέταρτη ημέρα όπου από την ημέρα εκείνη και μετά η τιμή τους εμφανίζεται σταθερή, ο ρυθμός μεταβολής τους είναι σχεδόν ίδιος με το ρυθμό μεταβολής της ξηρής μάζας του.
- 3) Η περιεχόμενη υγρασία του σπόρου σταθεροποιείται από την έβδομη ημέρα.

5.2 Πρωτογενής ρίζα

- 4) Η ξηρή μάζα της πρωτογενούς ρίζας ακολουθεί γραμμική αύξηση έως την έβδομη ημέρα ενώ η τιμή της σταθεροποιείται έως και την τριακοστή ημέρα.
- 5) Τα φαινολικά παράγωγα της πρωτογενούς ρίζας ακολουθούν διαδοχικές φάσεις αύξησης και σταθεροποίησης της τιμής τους, εξαίρεση αποτελεί η τρίτη εβδομάδα όπου η τιμή τους παρουσιάζει μικρό αλλά αρνητικό ρυθμό μεταβολής.

6) Η περιεχόμενη υγρασία αυξάνεται σταδιακά την πρώτη εβδομάδα και παραμένει σταθερή έως την τριακοστή ημέρα με εξαίρεση την εικοστή δεύτερη ημέρα που παρουσιάζει ελαφρά αύξηση.

5.3 Δευτερογενείς ρίζες

7) Η ξηρή μάζα στις δευτερογενείς ρίζες αυξάνεται γραμμικά έως και την όγδοη ημέρα ενώ η τιμή της σταθεροποιείται από την ένατη έως και την τριακοστή ημέρα.

8) Τα φαινολικά παράγωγα παρουσιάζουν έντονη διακύμανση (μία φάση έντονης αύξησης έως την ημέρα 13 και μια φάση αντίστοιχου ρυθμού μείωσης έως την ημέρα 17) έως και την δέκατη έβδομη ημέρα. Η σταθεροποίηση της τιμής τους γίνεται από την δέκατη ένατη ημέρα.

9) Η περιεχόμενη υγρασία στις δευτερογενείς ρίζες ακολουθεί τρεις διαδοχικές φάσεις αύξησης και σταθεροποίησης των τιμών της.

5.4 Βλαστογενείς ρίζες

10) Η ξηρή μάζα στις βλαστογενείς ρίζες ακολουθεί δύο διαδοχικές φάσεις αύξησης και σταθεροποίησης των τιμών της στα 10 mg.

11) Η πορεία μεταβολής των φαινολικών παραγώγων ακολουθεί δύο διαδοχικές φάσεις αύξησης και σταθεροποίησης η εναλλαγή αυτή μοιάζει με εκείνη της πρωτογενούς ρίζας τις πρώτες δύο εβδομάδες και στα επίπεδα και στους ρυθμούς.

12) Η περιεχόμενη υγρασία στις δευτερογενείς ρίζες ακολουθεί τρεις διαδοχικές φάσεις αύξησης και σταθεροποίησης των τιμών της. Η διαγραμματική καμπύλη της μοιάζει με αυτή των δευτερογενών ριζών όσο αφορά τον ρυθμό μεταβολής αλλά και στα χρονικά σημεία.

5.5 Ριζικό σύστημα

13) Στο σύνολο του το ριζικό σύστημα αυξάνει γραμμικά την ξηρή μάζα του κατά την πρώτη εβδομάδα ανάπτυξης του νεαρού φυταρίου και μετά διατηρεί την ξηρή μάζα του σταθερή έως και την τριακοστή ημέρα.

14) Η αύξηση της υγρασίας παρουσιάζει τέσσερις διαδοχικές φάσεις αύξησης σταθεροποίησης η οποία δείχνει να σχετίζεται με το χρόνο έκπτυξης νέων ριζών.

5.6 Υπέργειο τμήμα

15) Το υπέργειο τμήμα αυξάνει την ξηρή μάζα του έως την όγδοη ημέρα με ρυθμό 8,3 mg/ημέρα και την διατηρεί σε σταθερά επίπεδα έως και την τριακοστή ημέρα.

16) Η υγρασία στο υπέργειο τμήμα ακολουθεί δύο φάσεις αύξησης και σταθεροποίησης έως την εικοστή τέταρτη ημέρα από την επόμενη ημέρα παρατηρείται πτώση του βαθμού ενυδάτωσης και σταθεροποίηση στα 0,200g

5.7 Βλαστός

17) Η ξηρή μάζα του βλαστού αυξάνει γραμμικά έως την όγδοη ημέρα και διατηρείται σταθερή έως και την τριακοστή ημέρα.

18) Η υγρασία του βλαστού ακολουθεί το ίδιο πορεία με εκείνη της ξηρής μάζας με την μόνη διαφορά να παρουσιάζει ελαφρά πτώση από την εικοστή έβδομη ημέρα.

19) Τα φαινορικά παράγωγα του βλαστού παρουσιάζουν αυξητική τάση τις δύο πρώτες εβδομάδες και την τελευταία ενώ παρουσιάζουν σταθεροποιημένες τιμές την τρίτη εβδομάδα ανάπτυξης του νεαρού φυταρίου

20) Οι καμπύλες πορείας των φαινολικών του βλαστού όσο και των βλαστογενών ριζών παρουσιάζουν μεγάλη ταύτιση τόσο στον ρυθμό όσο και στα χρονικά όρια.

5.8 Εμβρυακό φύλλο

21) Η ξηρή μάζα του εμβρυακού φύλλου παίρνει την μέγιστη τιμή της την πέμπτη με έκτη ημέρα και αρχίζει να φθίνει από την ένατη ημέρα , από την δωδέκατη ημέρα και μετά ουσιαστικά η τιμή της ξηρής μάζας είναι σταθερή αλλά το φύλλο είναι μη λειτουργικό πλέον.

22) Η υγρασία του εμβρυακού φύλλου ακολουθεί δύο φάσεις σταθερότητας μείωσης όπου η τιμή της υγρασίας από την εικοστή τρίτη ημέρα και μετά είναι σχεδόν μηδενική.

23) Η διαγραμματική πορεία των φαινολικών παραγώγων του εμβρυακού φύλλου συμπίπτει με εκείνη του βλαστού τόσο σε σχέση με το παράγοντα χρόνο όσο και με τον παράγοντα ρυθμό, αλλά διαφέρουν στην ποσότητα των φαινολικών παραγόντων που περιέχουν. Αυτό όμως δεν ισχύει με τις βλαστογενείς ρίζες, φαίνεται τόσο το εμβρυακό όσο και οι βλαστογενείς ρίζες να έχουν την ίδια ποσότητα φαινολικών παραγώγων.

24) Η φωτοχημική ικανότητα του εμβρυακού φύλλου παραμένει σε υψηλά επίπεδα έως την δέκατη ημέρα ενώ από την επόμενη παρουσιάζει μείωση και μηδενίζεται την δέκατη τρίτη ημέρα.

5.9 Πρώτο φύλλο

25) Η ξηρή μάζα του πρώτου φύλλου παρουσιάζει μέγιστη τιμή την ένατη ημέρα και από το χρονικό σημείο αυτό και μετά παρουσιάζει σταδιακή μείωση που φτάνει στο 50% την δέκατη ένατη ημέρα.

26) Η υγρασία του πρώτου φύλλου αυξάνει έως την δέκατη ημέρα και έως την εικοστή τρίτη ημέρα παραμένει σταθερή από την επόμενη ημέρα παρατηρείται έντονη μείωση της περιεχόμενης υγρασίας.

27) Η διαγραμματική απεικόνιση των φαινολικών παραγώγων του πρώτου φύλλου από την έβδομη ημέρα και έως την δέκατη έβδομη είναι αρκετά όμοια με εκείνη των δευτερογενών ριζών διαφοροποιείται μόνο στο ρυθμό πτώσης που παρουσιάζεται την δεύτερη εβδομάδα.

28) Η φωτοχημική ικανότητα του πρώτου φύλλου παρουσιάζει μικρότερο ρυθμό μείωσης συγκριτικά με το εμβρυακό.

5.10 Δεύτερο φύλλο

29) Η πορεία αύξησης της ξηρής μάζας του δεύτερου φύλλου ακολουθεί δύο φάσεις αύξησης- σταθεροποίησης όπου η τελική τιμή της ξηρής μάζας είναι τα 0,010g

30) Η πορεία ενυδάτωσης ουσιαστικά ακολουθεί δύο φάσεις αύξησης-σταθεροποίησης και εμφανίζει μέγιστη τιμή την εικοστή τέταρτη ημέρα από την επόμενη ημέρα ξεκινά έντονη φθίνουσα πορεία.

31) Η διαγραμματική πορεία των φαινολικών παραγώγων του δεύτερου φύλλου είναι είναι όμοια με εκείνη του βλαστού, όσο αφορά την παράμετρο του ρυθμού και του χρόνου διαφοροποίηση υπάρχει με το εμβρυακό και τις βλαστογενείς ρίζες σχετικά με την παράμετρο του χρόνου.

32) Η φωτοχημική ικανότητα του δεύτερου φύλλου διατηρείται σταθερή έχοντας υψηλές τιμές για μεγαλύτερο για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε σχέση με το εμβρυακό και το πρώτο φύλλο.

5.11 Τρίτο φύλλο

33) Αξιοσημείωτη αύξηση της ξηρής μάζας του τρίτου φύλλου παρατηρείται από την εικοστή τρίτη έως την εικοστή τέταρτη ημέρα. Φθίνουσα πορεία ξεκινά την εικοστή έβδομη ημέρα.

34) Οι μέγιστες τιμές ενυδάτωσης εμφανίζονται από την εικοστή τρίτη έως την εικοστή τέταρτη ημέρα.

35) Τα φαινολικά παράγωγα διατηρούνται σταθερά από την ενδέκατη ημέρα έως την εικοστή πρώτη από την επόμενη παρατηρείται αύξηση των φαινολικών παραγώγων.

36) Η φωτοχημική ικανότητα του τρίτου φύλλου παρουσιάζει μείωση την εικοστή τρίτη ημέρα .

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abbe EC Stein OL. 1954. The origin of the shoot apex in maize: embryogeny. American Journal of Botany 41: 285-293.

B. C. SHARMAN

Developmental Anatomy of the Shoot of Zea mays L Ann Bot 1942 6: 245-282

Bell JK, McCully ME. 1970. A histological study of lateral root initiation and development in Zea mays. Protoplasma 70: 179-205.

Boudet A-M. (1998) A new view of lignification. Trends in Plant Science 3(2): 67-71

Boudet A-M. (2000) Lignins and lignification: Selected issues. Plant Physiology and Biochemistry 38(1/2): 81-96.

Boudet A-M., Kajita S., Grima-Pettenati J. and Goffner D. (2003) Lignins and lignocellulosics : a better control of synthesis for new and improved uses. Trends in Plant Science 8(12): 576-581.

Douglas C (1996) Phenylpropanoid metabolism and lignin biosynthesis. Trends in Plant Science 1(6): 171-178

Duncan W. G. Hesketh J.D (1968). Net photosynthetic rates and leaf numbers of 22 races of maize grown at eight temperatures. Crop Sci 8, 670-74.

Erdelska O, Vidovencova Z. 1993. Development of adventitious seminal root primordia during embryogenesis. Biologia, Bratislava 48: 85-88.

Esau K. 1965. Plant anatomy 2nd edn. New York: John Wiley and Sons

Feldman L. 1994. The maize root In: Freeling M, Walbot V, eds.

Frank Hochholdinger, Katrin Woll, Michaela Sauer and Diana Dembinsky Annals of Botany 93: 359- 368, 2004

Galinat, W. C. (1959). *The phytomer in relation to floral homologies in the American Maydeae*. Harvard University Botanical Museum Leaflets 19,1 -32.

Grabber J. and Lu F. (2007) Formation of syringyl-rich lignins in maize as influenced by feruloylated xylans and p-coumaroylated monolignols. Planta 226: 741-751

Hall DO, Rao KK (1999) Photosynthesis. Cambridge: Cambridge University Press.

Hatch MD , CR Slack , TA Bul 1969 Light changes in the content of some enzymes of the C₄ dicarboxylic acid pathway photosynthesis and its effect on other characteristics Photochemistry 8, 697-706

Hattersley PW, L Watson 1976 C₄ grasses: an anatomical criterion for distinguishing between NADP –malic enzyme species and PCK or NAD- malic enzyme species. Aust J Bot 24: 297-308.

Hoppe DC. McCully ME, Wenzel, CL. 1986. The nodal roots of Zea: their development in relation to structural features of the stem. Canadian Journal of Botany 64: 2524-2537.

Hose E, Clarkson DT, Steudle E, Schreiber L, Hartung W. 2001. The exodermis: a variable apoplastic barrier. Journal of Experimental Botany 52: 2245-2264

Humphreys J and Chapple C. (2002) Rewriting the lignin roadmap. Current Opinion in Plant Biology 5(3): 224-229.

Ishikawa H, Evans ML. 1995. Specialized zones of development in roots Plant Physiology 109: 725-727

Jiang K, Meng YL, Feldman LJ. 2003. Quiescent center formation in maize roots is associated with an auxin-regulated oxidizing environment. Development 130: 1429-1438.

Juarez M.T Twigg RW Timmermans MCP (2004) Specification of adaxial cell fate during maize leaf development. Development **131**: 4533–4544.

Kazuko Aoyagi and James A. Bassham Appearance and Accumulation of C₄ Carbon Pathway Enzymes in Developing Maize Leaves and Differentiating Maize A188 Callus Plant Physiol. (1986) 80, 322-333

Kausch .W. 1967. Lebensdauer der PrimaErwurzel von Monokotyledonen. Naturwissenschaften 54: 475.

Kiesselbach T.A (1950) Progressive development and seasonal variations of the corn crop. Nebraska Agriculture Experiment Station Research Bulletin 166: 22-45

Kozinka .V. 1977. Primary seminal root, a permanent part of the root system of Zea mays L. Biologia, Bratislava 32: 779-786

Lawson W.E, Hanway JJ. 1977. Corn production. In: Sprague GF, ed. Corn and corn improvement Madison: American Society of Agronomy Publishers, 625-669.

- Lynch J. 1995. Root architecture and plant productivity. *Plant Physiology* 109: 7-13 maize handbook. New York: Springer, 29-37
- McCully ME, Canny MJ. 1985. Localization of translocated ¹⁴C in roots and root exudates of field-grown maize. *Physiologia Plantarum* 65: 380-392.
- McCully ME, Canny MJ. 1988. Pathways and processes of water and nutrient movements in roots. *Plant Soil* 111: 159-170.
- Moershbacher B., Noll U., Gorrichon L. and Reisener H. (1990) Specific inhibition of lignification breaks hypersensitive resistance of wheat to stem rust. *Plant Physiology* 93: 465–470.
- Piquemal J., Lapiere C., Myton K., O'Connell A., Schuch W., Grima-Pettenati J. and Boudet A-M. (1998) Down regulation of cinnamoyl CoA reductase induces significant changes of lignin profiles in transgenic tobacco plants. *Plant J.* 13: 71–83 .
- Raes J. Rohde A. Christensen J. Van de Peer Y. and Boerjan W. (2003) Genome-wide characterization of the lignification toolbox in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 133(3): 1051–1071.
- Sass J.E. (1955). Vegetative morphology In: *Corn and Corn Improvement* (G.F. Sprague, ed.) pp 63-87 Academic Press, N.York.
- Sass JE. 1977. Morphology. In: Sprague GF, ed. *Corn and corn improvement*. Madison: American Society of Agronomy Publishers, 89-110.
- Sederoff R., MacKay J., Ralph J. and Hatfield R. (1999) Unexpected variation in lignin. *Current Opinion in Plant Biology* 2(2): 145-152
- Shaw, R.H (1955). Climatic Requirement In: *Corn and Corn Improvement* (G.F. Sprague, ed.) pp 315-841 Academic Press, N.York.
- Taiz L, Zeiger E (2006) *Plant physiology*. Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers
- Tillich HJ. 1977. Vergleichend morphologische Untersuchungen zur Identität der Gramineen-Primärwurzel. *Flora* 166: 415-421.
- Tillich HJ. 1992. Bauprinzipien und Evolutionslinien bei monokotylen Keimpflanzen. *Botanisches Jahrbuch der Systematik* 114: 91-132.
- Varney GT, Canny MJ. 1993. Rates of water uptake into the mature root system of maize plants. *New Phytologist* 123: 775-786.

Varney GT, McCully ME. 1991. The branch roots of Zea. II. Developmental loss of the apical meristem in field-grown roots. *New Phytologist* 118: 535-546.

Wang XL, Canny MJ, McCully ME. 1991. The water status of the roots of soil-grown maize in relation to the maturity of their xylem. *Physiologia Plantarum* 82: 157-162.

Wang XL, McCully ME, Canny MJ. 1994. The branch roots of Zea. IV. The maturation and openness of xylem conduits in first-order branches of soil-grown roots. *New Phytologist* 126: 21-29

Wang XL, McCully ME, Canny MJ. 1995. Branch Roots of Zea. V. Structural features that may influence water and nutrient transport. *Botanica Acta* 108: 209-219.

Whetten R and Sederoff R (1995) Lignin Biosynthesis. *The Plant Cell* 7: 1001-1013

Whetten R., MacKay J. and Sederoff R. (1998) Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 585-609.

Yamashita T, Ueno C. 1992. Embryo- und Wurzelentwicklung bei *Coix lacryma-jobi* L. (Gramineae). *Flora* 187: 79-101.

Yamashita T. 1991. Ist die Primärwurzel bei Samenpflanzen exogen oder endogen? Beiträge zur Biologie der Pflanzen 66: 371-391

Zhong R, Morrison W., Negrel J. and Ye Z-H. (1998) Dual methylation pathways in lignin biosynthesis. *The Plant Cell* 10: 2033-2046.

Αϊβαλάκης Γ, Καραμπουρνιώτης Γ, Φασσέας, Κ (2003) Γενική Βοτανική. Αθήνα: Γεωπονικό Παναπιστήμιο Αθηνών.

Κωσταράς Δ. (2009) Μελέτη της ανάπτυξης νεαρών φυτών αραβοσίτου σε στάσιμο νερό. Γεωπονικό Παναπιστήμιο Αθηνών, Μεταπτυχιακή διατριβή Αθήνα 2009.

Παππάς Χ. (2000) Φασματοσκοπική μελέτη συστατικών του φυτού κενάφ (*Hibiscus Cannabium* L.) Διδακτορική διατριβή Γεωπονικό Παναπιστήμιο Αθηνών 2000.

Πιτσιλαδής Α. (2009) Δυναμική της κατανομής του απουεματικού αζώτου του σπέρματος στα επιμέρους όργανα του αρτίβλαστου του αραβόσιτου στα αρχικά στάδια της βλάστησης. : Γεωπονικό Παναπιστήμιο Αθηνών, πτυχιακή διατριβή Αθήνα 2009.

Πρωτονοτάριος Β (2008) Συγκριτική μελέτη της επίδρασης της τροφοπενίας αζώτου, φωσφόρου, ή θείου στον μηχανισμό της λιγνινοποίησης των βλαστογενών ριζών του καλαμποκιού. : Γεωπονικό Παναπιστήμιο Αθηνών, Διδακτορική διατριβή Αθήνα (2008).