ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ & ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ & ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΣΕ ΑΝΘΕΚΤΙΚΕΣ & ΜΗ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΣΙΤΟΥ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΜΠΡΕΣΤΑ

ΑΘΗΝΑ 2009

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ

Επίδραση της υδατικής καταπόνησης σε μορφολογικές και φυσιολογικές παραμέτρους των φύλλων σε ανθεκτικές και μη ποικιλίες σίτου.

Μεταπτυχιακή ερευνητική εργασία

Παναγιώτα Μπρέστα

Η εκπόνηση της παρούσας εργασίας χρηματοδοτήθηκε από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών.

ΑΘΗΝΑ 2009

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Καθ. Γεώργιος Καραμπουρνιώτης (Επιβλέπων)

Καθ. Ανδρέας Καραμάνος (Μέλος)

Επικ. Καθ. Γαρυφαλλιά Οικονόμου- Αντώνακα (Μέλος)

Στην Χριστίνα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

«*Φύσις κρύπτεσθαι φιλεί*»
(*στη φύση αρέσει να κρύβεται*)
Ηράκλειτος

Ένα μικροσκοπικό κομμάτι της «κρυμμένης» φύσης προσπάθησα να αποκαλύψω και εγώ μέσω αυτής της ερευνητικής εργασίας. Παράλληλα με αυτή την «αποκάλυψη», ανακαλύπτει κανείς και το μεγαλείο της φύσης, του οποίου ένα ελάχιστο μέρος αποτελεί η ανθρώπινη ικανότητα διαπίστωσής του. Αισθάνομαι λοιπόν πολύ τυχερή που έχω την δυνατότητα να ανακαλύπτω και να διαπιστώνω το μεγαλείο αυτό κάθε μέρα μέσω της ενασχόλησης μου με το αντικείμενο της Φυσιολογίας Φυτών.

Έχοντας ασκήσει την πρακτική μου στο Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών, είχα ανακαλύψει ήδη την ιδιαίτερη ομορφιά την οποία κρύβει το αντικείμενο της Φυσιολογίας Φυτών και η οποία αποτέλεσε το πρωταρχικό κίνητρο για την περαιτέρω ενασχόλησή μου με την έρευνα.

Η ολοκλήρωση της παρούσας ερευνητικής εργασίας δεν θα ήταν εφικτή χωρίς τη συμβολή και συμπαράσταση των καθηγητών μου και συναδέλφων μου. Ως εκ τούτου θεωρώ υποχρέωσή μου να αναφέρω τους ανθρώπους οι οποίοι συνέβαλαν τα μέγιστα προκειμένου να ολοκληρωθεί η παρούσα εργασία. Ειδικότερα,

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου κ.Γεώργιο Καραμπουρνιώτη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, για την επίβλεψη και διόρθωση της παρούσας μελέτης. Επίσης θέλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου για την γενναιοδωρία, με την οποία μεταλαμπάδευσε τις πολύτιμες γνώσεις του και κυρίως την αγάπη του για την έρευνα.

Τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου οφείλω να δώσω στον Διδάκτορα κ.Δημοσθένη Νικολόπουλο. Η συμμετοχή του σε όλα τα στάδια της εκπόνησης της μελέτης ήταν αναντικατάστατη. Μέσω της καθοδήγησής του, των εύστοχων παρεμβάσεων και παρατηρήσεών του με έκανε να κατανοήσω πως η απλότητα και η σαφήνεια είναι αρετές.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Ανδρέα Καραμάνο, ο οποίος ως μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, διάβασε και αξιολόγησε με πραγματικό ενδιαφέρον το κείμενο.

Την Επίκουρο Καθηγήτρια κα. Οικονόμου- Αντώνακα Γαρυφαλλιά ευχαριστώ για την καθοδήγηση και τη σημαντική συμβολή της στην παρούσα εργασία.

Ευχαριστώ τον Λέκτορα κ. Γεώργιο Λιακόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια και για τις συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια της παρούσας εργασίας.
Τις συναδέλφους και φίλες μου Υποψήφια Διδάκτορα κα. Sally Sumbelle και Μεταπτυχιακή Φοιτήτρια κα. Χριστίνα Κοργιοπούλου ευχαριστώ για την βοήθεια τους σε όλα τα στάδια της εκπόνησης της μελέτης. Η ξεχωριστή και ήρεμη προσωπικότητα της Sally σε συνδυασμό με την « υψηλών ταχυτήτων» μοναδική προσωπικότητα της Χριστίνας μετέτρεψαν την καθ' όλα αποτελεσματική συνεργασία μας σε μία απρόσμενα ευχάριστη εμπειρία.
Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Υποψήφιο Διδάκτορα κ.Πέτρο Βαχαμίδη για τη βοήθειά του στην ανάπτυξη των πειραματοφύτων στο θερμοκήπιο και στην στατιστική ανάλυση, καθώς και για την παραχώρηση μέρους των πειραματικών δεδομένων της Διδακτορικής Διατριβής του. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διευθυντή του Εργαστηρίου Γεωργίας Καθηγητή κ.Ανδρέα Καραμάνο και την Επίκουρο Καθηγήτρια κα. Οικονόμου- Αντώνακα Γαρυφαλλιά για την παραχώρηση του χώρου του θερμοκηπίου.
Ευχαριστώ επίσης την προπτυχιακή φοιτήτρια κα. Αριάδνη Οικονόμου για την προθυμία και πολύτιμη βοήθειά της.
Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω την φίλη μου και Υποψήφια Διδάκτορα κα. Γεωργία Τσουλάκου για την συμπαράσταση και κατανόησή της, το χρονικό διάστημα εκπόνησης της μελέτης. Καταφέρνει πάντα με τον δικό της μοναδικό τρόπο να μετατρέπει την εργαστηριακή καθημερινότητα σε μία απρόσμενη εμπειρία.
Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου. Τη μητέρα μου, η οποία με προτρέπει πάντοτε να ακολουθώ τα όνειρά μου και τα αδέρφια μου Μάγδα, Νίκο και Μαρίνα για την ενθάρρυνση και συμπαράστασή τους .

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Συντμήσεις

$A_{max,a}$, Μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά επιφάνεια

$A_{max,m}$, Μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μάζα

$Chl_{(a+b)\ a}$, Συνολική συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά επιφάνεια

$Chl_{(a+b)\ m}$, Συνολική συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά μάζα

D_{V} , Πυκνότητα των νευρώσεων ανά φυλλική επιφάνεια

DW , Ξηρό βάρος του φύλλου

g_s, Στοματική αγωγιμότητα

H, Huber value (TCA/DW)

k_{hp}, Συνολική υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων του φύλλου

LD, Πυκνότητα του φύλλου

LMA, Φυλλική επιφάνεια ανά μάζα

LT, Πάχος του φύλλου

MBSD, Διάμετρος του δεσμικού κολεού της κεντρικής νεύρωσης του φύλλου

Mk_{hp}, Υδραυλική αγωγιμότητα της κεντρικής νεύρωσης του φύλλου

MVCA, Επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης του φύλλου

MVD, Διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης του φύλλου

M.Vulner., Vulnerability index, Δείκτης κινδύνου διακοπής της στήλης νερού στα αγγεία της κεντρικής νεύρωσης του φύλλου

N_m, Συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά μάζα

N_a, Συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά επιφάνεια

Ph_a, Συνολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών ανά επιφάνεια

Ph_m, Συνολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών ανά μάζα

SBSD, Διάμετρος του δεσμικού κολεού των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων του φύλλου

STOM.D, Πυκνότητα των στοματίων του φύλλου

SVCA, Επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων του φύλλου

SVD, Διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων του φύλλου

SVk_{hp}, Υδραυλική αγωγιμότητα των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων του φύλλου

S.Vulner., Vulnerability index, Δείκτης κινδύνου διακοπής της στήλης νερού στα αγγεία Των δευτερευουσών νευρώσεων του φύλλου

T., Διαπνοή

TCA Συνολική επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού του φύλλου

TLS Συνολική επιφάνεια του φύλλου

WPI, Δείκτης υδατικού δυναμικού

WUE(A/T), WUE(A/g_s), Αποτελεσματικότητα χρήσης νερού

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

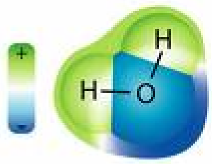
Α. Πρόσληψη και μεταφορά νερού

Α.1. Γενικά

Το πιο άφθονο συστατικό σε ένα ζωντανό φυτικό κύτταρο είναι το νερό. Η περιεκτικότητα σε νερό των μη ξυλοποιημένων ιστών και οργάνων των περισσότερων καλλιεργούμενων φυτών κυμαίνεται μεταξύ 90-95%. (Αιβαλάκις, κ.α., 2003). Οι υψηλές αυτές ποσότητες νερού στους φυτικούς ιστούς, αντίθετα προς αυτές των υπόλοιπων συστατικών, ανανεώνονται συνεχώς αφού το νερό προσλαμβάνεται από το έδαφος και μέσω της ρίζας και του βλαστού μεταφέρεται προς τα υπέργεια όργανα για να εξατμισθεί στη συνέχεια από τα φύλλα. Συγχρόνως μέσω της μετακίνησης αυτής μεταφέρονται ανόργανες και οργανικές ουσίες από τα σημεία προσφοράς προς τα σημεία ζήτησης.

Κατά τη διάρκεια της ζωής του ένα ετήσιο φυτό απελευθερώνει στην ατμόσφαιρα κυρίως μέσω των στοματίων των φύλλων (διαπνοή) ποσότητα νερού που μπορεί να ισοδυναμεί με αρκετές χιλιάδες φορές το βάρος του (Γαλάτης κ.α., 2003). Η «αλόγιστη» αυτή σπατάλη νερού δεν είναι προϊόν ενός εξελικτικού λάθους, αλλά η αναπόφευκτη συνεπεία της λειτουργίας της φωτοσύνθεσης στο ατμοσφαιρικό περιβάλλον της χέρσου. Τα φυτά αντιμετωπίζουν συνεχώς το δίλλημα: ανοικτά στομάτια (απρόσκοπτη φωτοσύνθεση, αλλά έντονες απώλειες νερού και επομένως κίνδυνος αφυδάτωσης) ή κλειστά στομάτια (διαφύλαξη αποθεμάτων νερού, αλλά αδυναμία αφομοίωσης CO_2 και επομένως καταστολή της ανάπτυξης); Φαίνεται ότι τελικώς τα φύλλα διαθέτουν μηχανισμούς μέσω των οποίων επιτυγχάνεται σε κάθε χρονική στιγμή ο συγκερασμός μεταξύ των δύο αυτών αντίρροπων τάσεων. Το δίλλημα των φυτών ισχύει συνεχώς και για τον άνθρωπο- καλλιεργητή. Η καλλιέργεια φυτικών ειδών εκτός του φυσιολογικού τους περιβάλλοντος αντιμετωπίζεται με την άρδευση. Δεν είναι επομένως τυχαίο το γεγονός ότι η άρδευση αποτελεί την πλέον πολυδάπανη από πλευράς χρήσης νερού δραστηριότητα του σύγχρονου ανθρώπου.

Α.2. Ιδιότητες του νερού



Το νερό αποτελεί αναπόσπαστο και αναντικατάστατο συστατικό των οργανισμών λόγω των ιδιόμορφων φυσικοχημικών ιδιοτήτων του μορίου του οι οποίες συνοψίζονται ως εξής:

Α.2.1. Το νερό είναι εξαιρετικός διαλύτης

Εξαιτίας των δεσμών υδρογόνου το νερό αποτελεί εξαιρετικό διαλύτη πολικών ενώσεων μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται τα άλατα, τα μόρια των οποίων διίστανται σε ιόντα όταν διαλύονται στο νερό. Αποτελεί επίσης και έναν εξίσου αποτελεσματικό διαλύτη και πολλών μη ιοντικών ενώσεων, π.χ. σακχάρων και απλών αλκοολών, των οποίων τα μόρια διαθέτουν πολικές ομάδες όπως την υδροξυλική (-ΟΗ). Η ιδιότητα αυτή του νερού οφείλεται στη συμπεριφορά του μορίου ως διπόλου λόγω του μερικού διαχωρισμού του φορτίου και του σχήματος του μορίου (οι ενδομοριακοί ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ του Ο και του Η σχηματίζουν μεταξύ τους γωνία 105^o). Τα φορτισμένα ιόντα ή ομάδες των οργανικών ενώσεων περιβάλλονται από τα δίπολα του νερού τα οποία εμποδίζουν την ανάπτυξη ηλεκτροστατικών δυνάμεων με αποτέλεσμα αυτά να παραμένουν σε διαλυμένη μορφή και να κινούνται πλέον ελεύθερα και συνεπώς να ευνοείται η διεξαγωγή των αντιδράσεων. Αντιθέτως, μη πολικές ενώσεις, όπως τα λιπίδια, δεν διαλύονται στο νερό και μπορούν να συμβάλλουν στη διαμερισματοποίηση του κυττάρου σχηματίζοντας μεμβράνες. Μη πολικά τμήματα μορίων τα οποία απωθούνται από το νερό χαρακτηρίζονται ως υδρόφοβα και συνήθως σε υδάτινο περιβάλλον συγκροτούν συσσωματώματα με τη μορφή σταγονιδίων. Τέτοιου είδους υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις αποτελούν τον κρίσιμο παράγοντα για τη διατήρηση της δομής και σταθερότητας των μεμβρανών, πολλών πρωτεϊνικών μορίων, νουκλεϊκών οξέων και άλλων υποκυτταρικών δομών.

Α.2.2. Το νερό διαθέτει υψηλή ειδική θερμότητα

Η ιδιότητα αυτή του νερού είναι καθοριστικής σημασίας διότι αποτρέπονται οι ταχείες αυξομειώσεις της θερμοκρασίας των οργανισμών. Εκτός αυτού το νερό συμπεριφέρεται ως θερμομονωτικό υλικό και μέσο ρύθμισης της θερμοκρασίας των οργανισμών με τη μεταφορά θερμότητας.

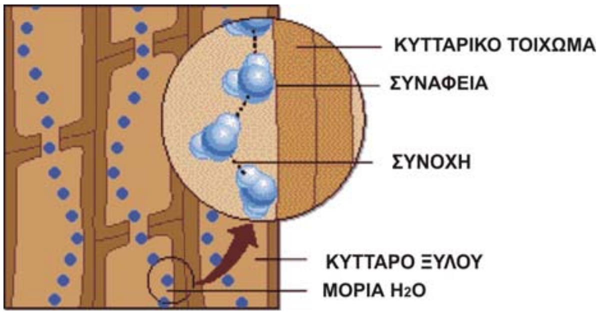
Α.2.3. Το νερό διαθέτει υψηλή λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης.

Στην υψηλή λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης οφείλεται η ψύξη των υπερθερμαινόμενων επιφανειών, κυρίως των φύλλων, μέσω της διαπνοής.

Α.2.4. Το νερό παρουσιάζει υψηλά σημεία πήξης και βρασμού.

Στις ιδιότητες αυτές οφείλεται η εμφάνιση ζωής σε υγρό περιβάλλον, αφού το νερό παραμένει υγρό σε ένα εύρος ήπιων θερμοκρασιών.

Α.2.5. Το νερό παρουσιάζει υψηλή συνοχή και συνάφεια



Οι ιδιότητες αυτές του νερού είναι υπεύθυνες για την εμφάνιση του τριχοειδούς φαινομένου, δηλαδή την αυθόρμητη ανύψωση του νερού σε σωλήνες μικρής διαμέτρου. Η μεταφορά νερού μέσω του ηθμού και των ξυλωδών αγγείων μπορεί να ερμηνευτεί σ’ ένα βαθμό και λόγω τριχοειδών φαινομένων.

Α.2.6. Το νερό χαρακτηρίζεται ως ασυμπίεστο και παρουσιάζει υψηλή αντοχή στην τάση

Η υψηλή αντοχή στην τάση αποτρέπει τη θραύση της στήλης του νερού στα αγγεία, μέσα στα οποία βρίσκεται υπό τάση. Στη συμπεριφορά του επίσης ως ασυμπίεστου υγρού οφείλεται η μορφή των φυτικών κυττάρων, λόγω της άσκησης πίεσης σπαργής. Η απώλεια νερού έχει ως αποτέλεσμα το μαρασμό των οργάνων και την απώλεια της αρχικής μορφής τους.

Α.2.7. Το νερό είναι διαφανές

Η ορατή ακτινοβολία (400-700 nm) αποτελεί την κινητήρια δύναμη για τη φωτοσύνθεση. Το νερό είναι διαφανές, δεν απορροφά δηλαδή στην ορατή περιοχή του φάσματος. Κατά συνέπεια οι υψηλές συγκεντρώσεις του νερού δεν αποτελούν εμπόδιο για τη διέλευση της ακτινοβολίας αυτής στο εσωτερικό των φύλλων ή τη διείσδυσή της σε μεγάλα βάθη υδάτινων μαζών.

A.2.8. Το νερό λαμβάνει μέρος σε πολυάριθμες βιοχημικές αντιδράσεις

Το νερό αποτελεί και ένα σημαντικό ενδιάμεσο μεταβολίτη πολλών αντιδράσεων των φυτικών κυττάρων. Αποτελεί δότη ηλεκτρονίων κατά τις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης, τον τελικό δέκτη ηλεκτρονίων της αναπνευστικής αλυσίδας ροής ηλεκτρονίων, ενώ συμμετέχει σε αντιδράσεις υδρόλυσης, συμπύκνωσης κ.α.

A.3. Μηχανισμοί μετακίνησης του νερού

A.3.1. Διάχυση: Η κίνηση των μορίων κατά μήκος μιας διαβάθμισης συγκεντρώσεων

Το φαινόμενο της απλής διάχυσης δεν αφορά μόνο το νερό ή μόνο τα υγρά αλλά οποιαδήποτε μόρια σε οποιοδήποτε μέσο. Ο χρόνος που απαιτείται για τη μετακίνηση ενός μορίου κατά μήκος μιας διαβάθμισης συγκεντρώσεων είναι ανάλογος του τετραγώνου της αποστάσεως και εξαρτάται σημαντικά από το μέσο εντός του οποίου γίνεται η διάχυση. Η μετακίνηση των μορίων στους φυτικούς ιστούς μέσω διάχυσης αποτελεί ζωτικής σημασίας μηχανισμό σε δύο κυρίως περιπτώσεις: Σε μικρές αποστάσεις, στα πλαίσια των ορίων ενός κυττάρου ως διάχυση σε υγρή φάση, και ανεξαρτήτως απόστασης ως διάχυση σε αέρια φάση.

A.3.2. Μαζική ροή: Ο μηχανισμός μαζικής μετακίνησης νερού σε μεγάλες αποστάσεις εντός του φυτού.

Ένας άλλος τρόπος μετακίνησης του νερού είναι μέσω της μαζικής ροής που οφείλεται σε διαβάθμιση της πίεσης (Dixon, 1914; Γαβαλάς, 1993; Tyree, 1997, Steudle, 2001).Η μαζική ροή των υγρών στους οργανισμούς πραγματοποιείται μέσω «σωληνώσεων», όπως π.χ. η ροή του ανιόντος χυμού στα αγγεία του ξύλου. Στη περίπτωση ενός μονήρους σωλήνα, η ταχύτητα μετακίνησης της μάζας (J_v) είναι ανάλογη της τέταρτης δύναμης της ακτίνας του σωλήνα και αντιστρόφως ανάλογη των εσωτερικών τριβών του υγρού, δηλαδή του ιξώδους (n). Τα μεγέθη αυτά συνδέονται μέσω της εξίσωσης του Poiseuille :

$$J_v = (\Pi r^4/8n)*(\Delta P/\Delta x)$$

J_v: ταχύτητα ροής της μάζας σε $m^3\ s^{-1}$

ΔP: διαφορά πίεσης μεταξύ δύο σημείων

Δx: απόσταση μεταξύ των δύο σημείων

Όπως φαίνεται από τον τύπο η εξάρτηση από την ακτίνα του αγγείου είναι πολύ ισχυρή, αφού διπλασιασμός της ακτίνας δεκαεξαπλασιάζει την ταχύτητα ροής. Η μαζική ροή, με κινητήρια δύναμη την πίεση, αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό μετακίνησης του νερού σε μεγάλες αποστάσεις μέσω των αγγείων του ξύλου.

Α.3.3. Όσμωση: Η ειδική περίπτωση διάχυσης που προϋποθέτει την ύπαρξη μίας ημιπερατής μεμβράνης

Η όσμωση αποτελεί μία ειδική περίπτωση διάχυσης των μορίων του διαλύτη (δηλ.του νερού). Η δομή και τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των βιολογικών μεμβρανών επιτρέπουν τη δίοδο του νερού, καθώς και χαμηλού Μ.Β. και μη φορτισμένων μορίων, ενώ περιορίζουν την κίνηση μεγαλομορίων ή φορτισμένων μορίων (εκλεκτική διαπερατότητα). Η μετακίνηση των μορίων νερού πραγματοποιείται σχετικά ανεμπόδιστα. Το νερό κινείται από περιοχές χαμηλής συγκέντρωσης διαλυμένων ουσιών (υψηλής συγκέντρωσης του νερού) προς περιοχές υψηλής συγκέντρωσης διαλυμένων ουσιών (χαμηλής συγκέντρωσης του νερού). Το μέτρο για τη δυνατότητα μετακίνησης του νερού μέσω μιας ημιπερατής μεμβράνης δίδεται από την παράμετρο που ονομάζεται οσμωτικό δυναμικό διαλύματος, $Ψ_s$. Η έννοια του οσμωτικού δυναμικού περιγράφει και προβλέπει τη μετακίνηση των μορίων του διαλύτη μεταξύ ελεύθερων διαλυμάτων δηλ. διαλυμάτων στα οποία δεν εξασκείται πίεση. Προκειμένου να ερμηνευθεί η συμπεριφορά του νερού στις περιπτώσεις που υπεισέρχεται και η παράμετρος της πίεσης καθιερώθηκε η έννοια δυναμικό του νερού, $Ψ_w$.

Α.4. Το δυναμικό του νερού (ή υδατικό δυναμικό)

Το δυναμικό του νερού (water potential) αποτελεί ένα σχετικό μέγεθος το οποίο εκφράζει τη διαφορά του δυναμικού του νερού σε δεδομένη κατάσταση σε σχέση με αυτή του απεσταγμένου νερού υπό κανονική ατμοσφαιρική πίεση. Ως τιμή του δυναμικού του απεσταγμένου νερού ορίζεται αυθαιρέτως το μηδέν. Κατά συνέπεια το δυναμικό του νερού μιας δεδομένης κατάστασης παίρνει τιμές από 0 (του καθαρού νερού) και αρνητικές (σε διαλύματα) και εκφράζεται σε μονάδες πίεσης MPa (Mega Pascal). Αν για οποιοδήποτε λόγο υπάρχουν μάζες νερού με διαφορετικό δυναμικό σε δύο περιοχές (ή σημεία) του φυτικού σώματος θα πραγματοποιηθεί αυθόρμητη μεταφορά νερού από την περιοχή με υψηλό δυναμικό προς αυτήν με χαμηλό δυναμικό.

Α.5. Χρήση του δυναμικού του νερού στην εκτίμηση της υδατικής κατάστασης των φυτικών ιστών .

Το δυναμικό του νερού του εδάφους, της ατμόσφαιρας ή ενός φυτικού ιστού μπορεί να εκτιμηθεί σε κάθε περίπτωση με μια σειρά μεθόδων. Η εκτίμηση αυτή είναι θεμελιώδους σημασίας επειδή η γνώση της διαφοράς του δυναμικού του νερού μεταξύ δύο περιοχών υποδεικνύει και την κατεύθυνση μετακίνησης του νερού.

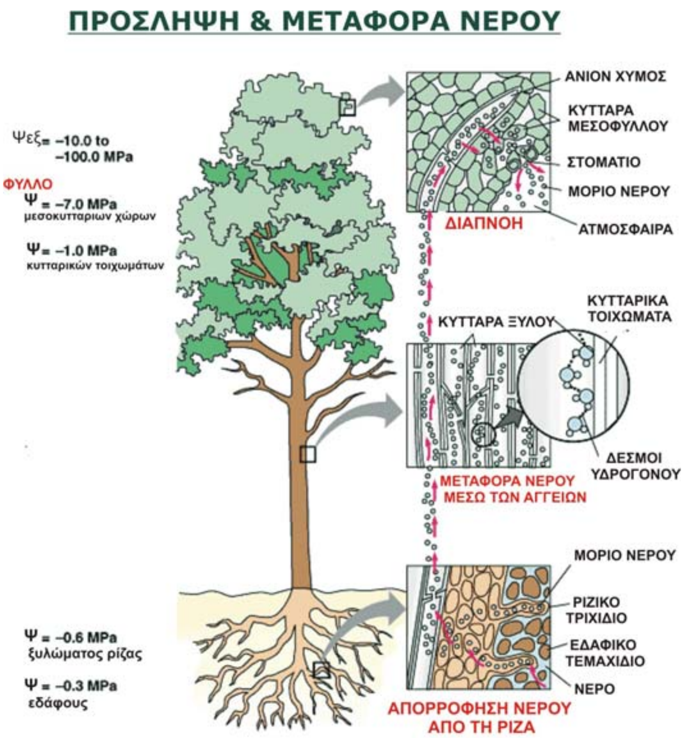
Η τιμή του δυναμικού του νερού αποτελεί επίσης ένα μέτρο της ενδεχόμενης υδατικής καταπόνησης ενός φυτού. Για κάθε φυτό υπάρχει ένα Ψ_w κάτω από το οποίο σταματούν οι λειτουργίες του και η κρίσιμη τιμή του Ψ_w εξαρτάται από το είδος και την ικανότητα προσαρμογής ή εγκλιματισμού σε ξηρά περιβάλλοντα. Ήπια έλλειψη νερού οδηγεί σε παρεμπόδιση της αύξησης. Σοβαρή έλλειψη νερού οδηγεί σε κλείσιμο των στοματίων και εμμέσως σε μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας και αναστολή της κυτταρικής διαίρεσης, της σύνθεσης πρωτεϊνών και άλλων δομικών και λειτουργικών βιομορίων. Κατά συνέπεια, η μέτρηση του δυναμικού του νερού ενός φυτού μπορεί να προσδιορίσει το μέγεθος της υδατικής καταπόνησης.

Α.6. Η πορεία του νερού μέσα στο φυτό.

Η κίνηση του νερού στο φυτό είναι συνεχής αλλά όχι ομοιόμορφη. Το νερό κινείται ως υγρό μέσα στο έδαφος, απορροφάται από τη ρίζα, μεταφέρεται στα φύλλα μέσω των αγγείων του ξύλου, τροφοδοτεί τα κύτταρα του φύλλου και απελευθερώνεται ως αέριο προς την ατμόσφαιρα μέσω των στοματίων (Hopkins, 1995; Zeiger, 1998; Γαλάτης κ.α., 2003). Οι μηχανισμοί σε κάθε περίπτωση είναι διαφορετικοί (Αιβαλάκις, κ.α., 2003).

Α.6.1. Το νερό στο έδαφος.

Το νερό στο έδαφος απαντάται είτε σε ελεύθερη μορφή μεταξύ των εδαφικών πόρων είτε σε χαλαρά δεσμευμένη μορφή, λόγω τριχοειδών δυνάμεων στα τριχοειδή του εδάφους, είτε σε πλήρως δεσμευμένη μορφή στα εδαφικά ορυκτά και την οργανική ουσία του εδάφους. Η κίνηση του εδαφικού νερού από περιοχή σε περιοχή εξαρτάται από τις διαφορές πίεσης κατά συνέπεια πραγματοποιείται κυρίως μέσω της μαζικής ροής. Εξαίρεση αποτελούν τα αλατούχα εδάφη, στα οποία η διάχυση αποτελεί σημαντικό παράγοντα μετακίνησης λόγω της αυξημένης οσμωτικής πίεσης του εδαφικού διαλύματος.



Α.6.2. Πρόσληψη του νερού από τη ρίζα

Η απορρόφηση του νερού από τη ρίζα είναι δυνατή, εφόσον το δυναμικό νερού των ριζών είναι χαμηλότερο από το δυναμικό νερού του εδαφικού διαλύματος (Μανέτας, 2005). Οι μηχανισμοί με τους οποίους απορροφά η ρίζα το νερό δεν είναι πλήρως γνωστοί. Η δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων ευνοεί την προσρόφηση του νερού σε αυτά και συνεπώς τα κυτταρικά τοιχώματα αποτελούν την κύρια οδό μετακίνησης νερού. Λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα της κυτοπλασματικής μεμβράνης η είσοδος του νερού γίνεται μέσω μεμβρανικών πρωτεϊνικών φορέων, τις υδροπορίνες. Μετά την είσοδό του στα επιδερμικά κύτταρα ή στα ριζικά τριχίδια, το νερό κινείται ως την ενδοδερμίδα μέσω δύο εναλλακτικών οδών: α. συμπλασμικά μέσω του κυτοπλάσματος των κυττάρων και β. αποπλασμικά μέσω των κυτταρικών τοιχωμάτων και μεσοκυττάριων χώρων. Η αποφελλωμένη ενδοδερμίδα αποτελεί φράγμα στην αποπλασμική κίνηση του νερού, το οποίο εξαναγκάζεται πλέον να κινηθεί συμπλασμικά μέσω των περικλινών περιοχών των κυττάρων της ενδοδερμίδας. Η κίνηση αυτή θεωρείται ότι οφείλεται στη διαφορά δυναμικού του νερού των κυττάρων κατά την ακτίνα της ρίζας μέχρι τα αγγεία του ξύλου. Από τα αγγεία του ξύλου της ρίζας το νερό κινείται προς το υπέργειο μέρος μέσω του διαπνευστικού ρεύματος.

Υπό ορισμένες προϋποθέσεις, κυριότερη από τις οποίες είναι η έλλειψη διαπνοής, η ρίζα ενδέχεται να εκδηλώσει το φαινόμενο της ριζικής πίεσης. Η εκλεκτική πρόσληψη από το εδαφικό διάλυμα των απαραίτητων ιόντων και η τελική άφιξή τους στα αγγεία της ρίζας αυξάνει τοπικά τη συγκέντρωσή τους, άρα αυξάνει την οσμωτική πίεση του νερού των αγγείων και κατά συνέπεια μειώνει το υδατικό δυναμικό. Επομένως εισέρχεται το νερό στα αγγεία από τα παρακείμενα κύτταρα, αυξάνοντας την υδροστατική πίεση στη βάση των αγγείων. Η υψηλή υδροστατική πίεση στη βάση των αγγείων, αν συνοδεύεται από χαμηλότερη πίεση σε υψηλότερο σημείο του αγωγού συστήματος, μπορεί να προκαλέσει μαζική ροή νερού προς τα πάνω. Το φαινόμενο της ριζικής πίεσης μπορεί μόνον εν μέρει να ερμηνεύσει την προς τα πάνω κίνηση του νερού στον βλαστό, δεδομένου ότι εμφανίζεται μόνο απουσία διαπνοής.

Α.6.3. Η κίνηση του νερού στα αγγεία

Η ανοδική κίνηση του νερού στα αγγεία του ξύλου δεν μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά στη ριζική πίεση ή σε τριχοειδή φαινόμενα. Η μεταφορά νερού σε μεγάλες αποστάσεις μέσα στο φυτικό σώμα απαιτεί την ύπαρξη ενός πολυπλοκότερου μηχανισμού. Η άνοδος του νερού στο βλαστό σε ύψος άνω των 100m π.χ. στα γιγαντιαία κωνοφόρα, δεν έχει πλήρως εξηγηθεί (Αιβαλάκις, κ.α., 2003). Τα πειραματικά δεδομένα ωστόσο συγκλίνουν προς τη μερική τουλάχιστον επιβεβαίωση της θεωρίας συνοχής–τάσης που διατυπώθηκε τον 19^{ο} αιώνα. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η συνεχής απώλεια υδρατμών από τα φύλλα μέσω της διαπνοής προκαλεί πτώση του δυναμικού των κυττάρων του μεσόφυλλου το οποίο αναπληρώνεται μέσω των αγγείων του ξύλου. Κατά συνέπεια, υπάρχει διαφορά πίεσης μεταξύ της βάσης και της κορυφής των αγγείων, η οποία προκαλεί μαζική ροή νερού (και διαλυμένων ουσιών) από κάτω προς τα πάνω. Επομένως, το νερό αντλείται αναρροφητικά προς τα φύλλα και η αιτία της αρνητικής πίεσης στην κορυφή των αγγείων είναι η διαπνοή. Η λειτουργία ενός τέτοιου μηχανισμού ενέχει τον κίνδυνο διακοπής της συνεχούς στήλης νερού μέσα στα αγγεία του ξύλου (Tyree and Sperry, 1989; Sperry et al., 1993), η διατήρηση της οποίας είναι απαραίτητη προϋπόθεση. Η συνέχεια της στήλης εξασφαλίζεται διότι:

- Το νερό παρουσιάζει ψηλή συνάφεια με τα κυτταρικά τοιχώματα των αγγείων συνεπώς η απόσπαση νερού από την επιφάνεια τους δεν είναι ευχερής

- Το νερό παρουσιάζει υψηλή συνοχή μεταξύ των μορίων του επομένως η θραύση της στήλης δεν είναι εύκολη
- Τα ισχυρά λιγνιτοποιημένα κυτταρικά τοιχώματα των αγγείων του ξύλου δεν κινδυνεύουν από κατάρρευση λόγω τάσεως

Η δημιουργία εμβολών δηλ. φυσαλίδων αέρα στα αγγεία και θραύση της στήλης έχει παρατηρηθεί στη ρίζα (Alder et al.1996, Linton and Nobel, 1999; Sperry and Hacke, 2002; Sperry et al., 2002; Domec et al., 2006), στον βλαστό (Sperry and Tyree, 1988; Cochard, 1992; Hangrave et al, 1994; Hacke and Sauter, 1995; Jarbeau et al., 1995) και στα φύλλα (Salleo at al., 2001; Stiller et al., 2003; Nardini et al., 2003). Η δημιουργία εμβολών μπορεί να παρατηρηθεί υπό ορισμένες συνθήκες καταπόνησης όπως η σοβαρή έλλειψη νερού στο έδαφος, τραυματισμοί του αγγειακού συστήματος, θερμοκρασίες παγετού και προσβολές από παθογόνα.

Η αντιμετώπιση των ανεπιθύμητων εμβολών πραγματοποιείται από μία σειρά μηχανισμούς όπως η παράκαμψη του προβληματικού αγγειακού μέλους μέσω των βοθρίων και μετακίνηση του νερού από τα εναπομείναντα λειτουργικά αγγεία με μειωμένους όμως ρυθμούς. Επιπλέον, η παρουσία στενών αγγείων, παρ' ότι αυξάνει τις αντιστάσεις στη ροή, συνεισφέρει στην αποφυγή δημιουργίας φυσαλίδων, αφού ενισχύει τις δυνάμεις συνάφειας (Carlquist, 1977; Αιβαλάκις, κ.α., 2003. Έτσι, φυτά που έχουν προσαρμοστεί σε ξηρά περιβάλλοντα διαθέτουν στενότερα αγγεία από εκείνα που ευδοκιμούν σε υγρά περιβάλλοντα. Ακόμη υπάρχει η δυνατότητα διαλυτοποίησης των φυσαλίδων κατά τη διάρκεια της νύχτας λόγω του κλεισίματος των στοματίων αλλά και της ενδεχόμενης ανάπτυξης ριζικής πίεσης.

Α.6.4. Διαπνοή και Στομάτια

Εφόσον η επιδερμίδα των φύλλων καλύπτεται από το κηρώδες στρώμα της εφυμενίδας το οποίο χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα μικρή διαπερατότητα στους υδρατμούς και στο CO_2, η απαραίτητη ανταλλαγή αερίων μεταξύ του εσωτερικού του φύλλου και της εξωτερικής ατμόσφαιρας πραγματοποιείται μέσω των εξειδικευμένων πόρων της φυλλικής επιφάνειας, τα στομάτια. Η φυσιολογική σημασία των στοματίων είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς με το ενεργό άνοιγμα και κλείσιμο τους ελέγχεται η ανταλλαγή των αερίων CO_2 και O_2 μεταξύ του φυτού και του εναέριου περιβάλλοντος(Δροσόπουλος, 1998). Το άνοιγμα των στοματίων για την απρόσκοπτη είσοδο του CO_2 συνεπάγεται ταυτόχρονη απώλεια νερού με τη μορφή υδρατμών (διαπνοή) άρα και κίνδυνο αφυδάτωσης.

Η διαπνοή δεν πρέπει να αντιμετωπίζεται αποκλειστικά ως μια αναπόφευκτη διαδικασία απωλειών νερού, διότι μέσω αυτής εκτελούνται δύο ζωτικής σημασίας λειτουργίες:

- Η ψύξη των φύλλων λόγω της εξάτμισης του νερού, αφού μέρος της ενέργειας ακτινοβολίας που προσπίπτει στο φύλλο καταναλώνεται για τη μετατροπή του νερού από υγρό σε αέριο.
- Η διατήρηση του διαπνευστικού ρεύματος μέσω του οποίου είναι δυνατή η συνεχής ροή νερού δια μέσου των αγγείων του ξύλου, ευθύνεται και για την τροφοδοσία των υπέργειων οργάνων με τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία τα οποία συμπαρασύρονται από το διακινούμενο νερό.

Συνεπώς η λειτουργία των στοματίων συνεισφέρει στον έλεγχο της θερμοκρασίας του ελάσματος του φύλλου, στην διατήρηση του διαπνευστικού ρεύματος και στη ρύθμιση της υδατικής κατάστασης του φυτού (Farquhar and Sharkey, 1982 Hopkins, 1995; Zeiger, 1998; Γαλάτης κ.α., 2003).

Η συνεχής απώλεια νερού από τα στομάτια οφείλεται κυρίως στη διαφορά στη Σχετική Υγρασία που επικρατεί συνήθως μεταξύ του εσωτερικού του φύλλου και της ατμόσφαιρας. Το νερό που εμποτίζει τα τοιχώματα των κυττάρων του μεσόφυλλου εξατμίζεται προς την εσωτερική ατμόσφαιρα του φύλλου, δηλαδή στους κενούς μεσοκυττάριους χώρους και στον υποστοματικό θάλαμο. Η εσωτερική ατμόσφαιρα του φύλλου θεωρείται πρακτικώς κορεσμένη σε υδρατμούς υπό όλες τις συνθήκες (Γαλάτης κ.α. 2003, Αϊβαλάκις κ.α. 2003) ενώ η σχετική υγρασία της ελεύθερης ατμόσφαιρας συνήθως βρίσκεται αρκετά χαμηλότερα του 80% με αποτέλεσμα η διαφορά αυτή να αντιπροσωπεύει μια πολύ υψηλή διαφορά υδατικού δυναμικού, η οποία προκαλεί την έξοδο των υδρατμών από τα στομάτια. Η ταχύτητα ροής των υδρατμών μέσω της διαπνοής (J_{wv}) δεν εξαρτάται μόνο από την διαφορά υδατικού δυναμικού αλλά και από τις αντιστάσεις που παρεμβάλλονται στην έξοδο του νερού από τα φύλλα. Δεδομένου ότι η τιμή της διαφοράς υδατικού δυναμικού δεν επιδέχεται ρυθμίσεις, η αύξηση στην τιμή των αντιστάσεων αποτελεί τη μοναδική δυνατότητα περιορισμού των διαπνευστικών απωλειών. Οι μεσολαβούσες αντιστάσεις κατά σειρά συναντήσεως είναι οι εξής:

- Η αντίσταση του μεσόφυλλου R_m η οποία εκφράζει τη «δυσκολία» διάχυσης των υδρατμών στο εσωτερικό του φύλλου. Φύλλα εσωτερικώς συμπαγή με περιορισμένους μεσοκυττάριους χώρους, παρουσιάζουν υψηλότερη αντίσταση. Συνεπώς η αντίσταση αυτή εξαρτάται από ανατομικά χαρακτηριστικά και θεωρείται παθητική αφού βραχυχρόνια δεν μπορεί να μεταβληθεί.

- Η αντίσταση των στοματίων, R_s, η οποία αποτελεί τη μοναδική παράμετρο που επιδέχεται ενεργό ρύθμιση, μέσω των αυξομειώσεων του εύρους των στοματικών πόρων.
- Η αντίσταση του οριακού στρώματος, R_b η οποία εκφράζει την αντίσταση που προβάλλεται λόγω της ύπαρξης στρώματος υδρατμών κλιμακούμενης συγκέντρωσης πάνω από την επιφάνεια ενός φύλλου, το οριακό στρώμα. Το πάχος του στρώματος είναι αντιστρόφως ανάλογο της ταχύτητας του ανέμου και αυξάνεται από την παρουσία τριχών ή άλλων ανάγλυφων σχηματισμών καθώς και από την συστροφή των φύλλων. Οι τροποποιήσεις αυτές έχουν ως αποτέλεσμα οι εξερχόμενοι υδρατμοί από τα στόματα ή την εφυμενίδα να διαχέονται στο σχετικά αδιατάρακτο οριακό στρώμα, αυξάνοντας τη σχετική υγρασία του.
- Η αντίσταση της εφυμενίδας, R_c, η οποία είναι πολύ μεγάλη και αναπτύσσεται παράλληλα προς τις υπόλοιπες αντιστάσεις. Για τον λόγο αυτό, η σχετική της επίδραση στις απώλειες νερού από το φύλλο γίνεται σημαντική μόνον όταν τα στομάτια είναι εντελώς κλειστά.

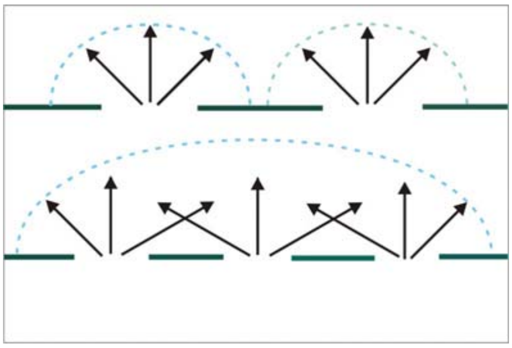
Οι αντιστάσεις R_b και R_s συνδέονται μεταξύ τους εν σειρά και επομένως η συνολική αντίσταση είναι το άθροισμα των δύο επιμέρους αντιστάσεων (Αϊβαλάκις κ.α. 2003). Σε συνθήκες ακόμη και χαμηλής ταχύτητας ανέμου η αντίσταση των στοματίων είναι κατά πολύ μεγαλύτερη της αντίστασης του οριακού στρώματος.

Α.6.5. Παράγοντες που επιδρούν στην ταχύτητα διαπνοής

Α.6.5.1.Επίδραση των ανατομικών χαρακτηριστικών των φύλλων.

Όπως προαναφέρθηκε, η αντίσταση του μεσόφυλλου R_m παρουσιάζεται υψηλότερη σε περισσότερο συμπαγή φύλλα. Ως αποτέλεσμα, ο χαρακτήρας «συμπαγές φύλλο» συσχετίζεται με την επάρκεια νερού στο περιβάλλον. Συνεπώς σε περιβάλλοντα στα οποία η διαθεσιμότητα νερού καθίσταται περιοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη των φυτών, συνήθως επικρατούν είδη με «συμπαγή» φύλλα. Φυτά με χαλαρή εσωτερική αρχιτεκτονική των φύλλων που διαβιώνουν στο ίδιο περιβάλλον οφείλουν να διαθέτουν βαθύ ριζικό σύστημα, ώστε να εξασφαλίζεται η συνεχής παροχή νερού ή να συντελείται η ανάπτυξή τους μόνο κατά την υγρή εποχή του έτους.

Κρίσιμα ανατομικά χαρακτηριστικά αποτελούν ο αριθμός, οι διαστάσεις (μήκος και πλάτος), η κατανομή και η θέση των στοματίων στην επιδερμίδα (Μανέτας, 2005). Ο αριθμός των στοματίων ποικίλει και λογικά αναμένονται αυξημένες απώλειες νερού αυξανομένης της πυκνότητας των στοματίων. Ωστόσο η πυκνότητα των στοματίων δεν συσχετίζεται πάντα με την ταχύτητα διαπνοής διότι εκτός από τον αριθμό των στοματίων σημαντικό ρόλο παίζουν και οι διαστάσεις του στοματικού πόρου.



Επίσης η κατανομή των στοματίων στην επιφάνεια του φύλλου έχει σημαντική επίδραση στην ταχύτητα διαπνοής. Αυτό οφείλεται στο σχηματισμό ενός ημισφαιρικού κελύφους διάχυσης με υψηλή σχετική υγρασία πάνω από κάθε στομάτιο. Από την επιφάνεια αυτού του κελύφους διαφεύγουν οι υδρατμοί προς την ελεύθερη ατμόσφαιρα. Στην ομοιόμορφη κατανομή όπου οι αποστάσεις μεταξύ των στομάτων είναι παρόμοιες, το οριακό στρώμα παρουσιάζει μειωμένο πάχος στις μεσοστοματικές περιοχές. Στην περίπτωση ωστόσο ύπαρξης ομάδων στοματίων (κατανομή κατά σμήνη), τα κελύφη διάχυσης αλληλοεπικαλύπτονται με αποτελέσμα την αύξηση του πάχους του οριακού στρώματος άρα και της αντίστασης αυτού και κατά συνέπεια τη μείωση της ταχύτητας διαπνοής.

Α.6.5.2. Επίδραση των μεταβολών του φυσικού περιβάλλοντος στην ταχύτητα διαπνοής

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επιδρούν στην ταχύτητα διαπνοής είναι οι εξής:

- Ατμοσφαιρική σχετική υγρασία: Δεδομένου ότι η εσωτερική ατμόσφαιρα του φύλλου θεωρείται κορεσμένη, η διαφορά υδατικού δυναμικού μεταξύ των δύο σημείων εξαρτάται από την σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας.
- Θερμοκρασία (φύλλου-αέρα): Η θερμοκρασία επηρεάζει τη μερική πίεση των υδρατμών τόσο στο εσωτερικό του φύλλου όσο (κυρίως) και στην ελεύθερη ατμόσφαιρα. Επομένως αυξομειώσεις της θερμοκρασίας μπορεί να μεταβάλλουν τη διαφορά μερικών πιέσεων η οποία είναι ανάλογη προς την ταχύτητα διάχυσης των υδρατμών.
- Ταχύτητα ανέμου: Οι μεταβολές στην ταχύτητα του ανέμου επηρεάζουν το πάχος του οριακού στρώματος συνεπώς και την αντίσταση R_b.

Α.6.6. Παράγοντες που επιδρούν στις στοματικές κινήσεις

Α.6.6.1. ΦΩΣ ΚΑΙ ΔΙΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ: ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕ ΤΗ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗ

Διοξείδιο του άνθρακα

Η επικράτηση χαμηλών συγκεντρώσεων CO_2 στο εσωτερικό ενός φύλλου προκαλεί άνοιγμα των στοματίων, ενώ υψηλές συγκεντρώσεις CO_2 προκαλούν το κλείσιμο (Hopkins, 1995; Zeiger, 1998; Γαλάτης κ.α., 2003, Αϊβαλάκις κ.α. 2003). Με τη ρύθμιση αυτή επιτυγχάνεται ο συντονισμός της φωτοσυνθετικής λειτουργίας με το μηχανισμό των κινήσεων των καταφρακτικών κυττάρων. Σε συνθήκες ικανοποιητικών επιπέδων φωτισμού, η συνεχής αφομοίωση CO_2 από τα κύτταρα του μεσόφυλλου έχει ως αποτέλεσμα την ταχεία πτώση της συγκέντρωσης του CO_2 στους μεσοκυττάριους χώρους. Η επικράτηση χαμηλών συγκεντρώσεων CO_2 προκαλεί περαιτέρω άνοιγμα των στοματίων, ταχύτερη διάχυσή του από την ατμόσφαιρα προς το εσωτερικό του φύλλου και επομένως αύξηση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας. Σε συνθήκες ανεπαρκών επιπέδων φωτισμού ή στη διάρκεια της νύχτας η φωτοσύνθεση υπολειτουργεί ή παρεμποδίζεται πλήρως, οπότε η συγκέντρωση CO_2 στο εσωτερικό του φύλλου αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς λόγω της αναπνευστικής δραστηριότητας. Αφού δεν υπάρχει ανάγκη πλέον εισόδου του CO_2 της ατμόσφαιρας, τα στομάτια κλείνουν προκειμένου να μην υπάρξουν άσκοπες απώλειες νερού. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η αντίληψη του ερεθίσματος «χαμηλή συγκέντρωση CO_2» από τα καταφρακτικά κύτταρα πραγματοποιείται μέσω των επιπέδων της ζεαξανθίνης τα οποία καθορίζονται από την ένταση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας. Η ρύθμιση του εύρους του στοματικού πόρου φαίνεται ότι επιτελείται μέσω μηχανισμών ανάλογων εκείνων τους οποίους ενεργοποιεί η ζεαξανθίνη ως φωτοδέκτης (βλ. παρακάτω).

Φως

Σε συνθήκες επάρκειας φωτισμού και ικανοποιητικές τιμές ατμοσφαιρικής υγρασίας, το εύρος του στοματικού πόρου εξαρτάται από την ένταση φωτεινής ακτινοβολίας που προσπίπτει στο φύλλο. Απουσία φωτισμού τα στομάτια παραμένουν κλειστά. Σύμφωνα με τα παραπάνω, στα περισσότερα φυτικά είδη τα στομάτια ανοίγουν την ημέρα και κλείνουν τη νύκτα. Βεβαίως υπάρχουν και οι εξαιρέσεις. Στα φυτά CAM συμβαίνει το αντίθετο.

Η αντίληψη του φωτεινού ερεθίσματος φαίνεται ότι υλοποιείται μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών.

α. Η φωτεινή ακτινοβολία επάγει το άνοιγμα των στοματίων μέσω της απορρόφησης φωτονίων από τις χλωροφύλλες των χλωροπλαστών των καταφρακτικών κυττάρων. Περισσότερο δραστικές φασματικές περιοχές είναι η μπλε και η κόκκινη, στις οποίες απορροφά αποδοτικότερα το μόριο της χλωροφύλλης. Στην περίπτωση αυτή η επίδραση είναι έμμεση: Η απορρόφηση φωτονίων από τη χλωροφύλλη και η επακόλουθη φωτοσυνθετική δραστηριότητα προμηθεύει ενέργεια (ATP) και τα οσμωτικά ενεργά οργανικά μόρια (μηλικό ή/και σακχαρόζη), απαραίτητα για το άνοιγμα των στοματίων. Ο μηχανισμός αυτός φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο σε σχετικά υψηλές εντάσεις φωτεινής ακτινοβολίας και ότι ευθύνεται για το πλήρες άνοιγμα του στοματικού πόρου.

β. Τα φωτεινά ερεθίσματα γίνονται αντιληπτά μέσω ενός κατάλληλου μηχανισμού στον οποίο το ρόλο φωτοδέκτη παίζει το καροτενοειδές ζεξανθίνη. Ο μηχανισμός αυτός είναι ευαίσθητος στο μπλε φως και προκαλεί το άνοιγμα των στοματίων μέσω της ενεργοποίησης αντλιών πρωτονίων και της επαγωγής της υδρόλυσης του αμύλου και της συνακόλουθης παραγωγής μηλικού. Ο μηχανισμός της ζεαξανθίνης παρουσιάζεται εξαιρετικά ευαίσθητος σε χαμηλές εντάσεις φωτισμού, προκαλεί ταχείες αντιδράσεις και φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην αντίληψη των αλλαγών του φωτεινού περιβάλλοντος και στον εγκλιματισμό σε αυτές, όπως π.χ. κατά την ανατολή του ηλίου ή την περιοδική σκίαση κατά τη διάρκεια της ημέρας ενός φυτού το οποίο βρίσκεται στον υπόροφο ενός δάσους.

Α.6.6.2. Αμπσισικό οξύ και υδατικές σχέσεις

Το άνοιγμα και το κλείσιμο των στοματίων μπορεί να ρυθμιστεί μέσω αυξομειώσεων της πίεσης σπαργής των καταφρακτικών κυττάρων (Γαβαλάς, 1993; Αϊβαλάκις κ.α. 2003). Η πίεση σπαργής ρυθμίζεται έμμεσα μέσω μεταβολών στη συγκέντρωση των οσμωτικά ενεργών ουσιών των καταφρακτικών κυττάρων. Το άνοιγμα των στοματίων οφείλεται σε ταχεία και έντονη αύξηση της συγκέντρωσης οσμωτικά ενεργών ουσιών στα καταφρακτικά κύτταρα η οποία προκαλεί πτώση του υδατικού δυναμικού με αποτέλεσμα την είσοδο νερού από τα παρακαταφρακτικά κύτταρα και την επαναφορά των καταφρακτικών σε κατάσταση σπαργής.

Σε συνθήκες έλλειψης νερού στο έδαφος επιβάλλεται το όσο το δυνατό ταχύτερο κλείσιμο των στοματίων ώστε να περιοριστούν στο ελάχιστο οι απώλειες νερού το οποίο δε μπορεί να αναπληρωθεί μέσω του διαπνευστικού ρεύματος με τροφοδοσία από τη ρίζα. Πράγματι, ο μηχανισμός των στοματικών κινήσεων παρουσιάζεται ευαίσθητος στην έλλειψη νερού στο έδαφος και το εύρος του πόρου μειώνεται κατάλληλα. Η αντίληψη διαμόρφωσης συνθηκών ανεπάρκειας νερού στο έδαφος γίνεται μέσω ενός ορμονικού σήματος, του αμπσισικού οξέος (ΑΒΑ). Η ορμόνη αυτή συντίθεται στις ρίζες και σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης η συγκέντρωσή της αυξάνεται. Το ΑΒΑ μεταφέρεται μέσω των αγγείων του ξύλου στα φύλλα και τον κύριο στόχο αποτελούν τα στομάτια. Σε ορισμένα φυτά σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης παρατηρείται επαγωγή της σύνθεσης του ΑΒΑ στα φύλλα και αύξηση της συγκέντρωσής του. Το ΑΒΑ προσδένεται σε ειδικούς υποδοχείς στις κυτοπλασματικές μεμβράνες των καταφρακτικών κυττάρων και προκαλεί ταχεία έξοδο ιόντων K^+ και των συνοδών ανιόντων προς τα παρακαταφρακτικά κύτταρα. Η απώλεια ιόντων K^+ προκαλεί πτώση της πίεσης σπαργής των καταφρακτικών κυττάρων και μείωση του εύρους του στοματικού πόρου. Σε συνθήκες αγρού σε πολλά φυτικά είδη μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και πολλά καλλιεργούμενα, μέτρια υδατική καταπόνηση επιφέρει το μεσημβρινό κλείσιμο των στοματίων, ενώ σε συνθήκες έντονης έλλειψης νερού τα στομάτια ανοίγουν μόνο τις πρωινές ώρες της ημέρας.

Β. Υδατική Καταπόνηση

Β.1. Γενικά

Η διαθεσιμότητα του νερού στο περιβάλλον επηρεάζει την ανάπτυξη και την επιβίωση των φυτικών οργανισμών. Οι δυσμενείς επιδράσεις της υδατικής καταπόνησης εξετάζονται συνήθως υπό το πρίσμα της έλλειψης, και όχι της περίσσειας νερού. Η υδατική καταπόνηση εμφανίζεται είτε με τη μορφή της αφυδάτωσης (ως σύμπτωμα της ξηρασίας), είτε της οσμωτικής καταπόνησης (ως σύμπτωμα της αλατότητας). Το κοινό χαρακτηριστικό και των δύο περιπτώσεων είναι η διαμόρφωση χαμηλού δυναμικού του νερού (και επομένως ελλείμματος νερού) στους φυτικούς ιστούς (Καραμπουρνιώτης, 2003).

Η ξηρασία ως κλιματικός παράγων είναι το αποτέλεσμα της περιορισμένης διαθεσιμότητας νερού (από την ατμόσφαιρα ή και από το έδαφος) και της απώλειας του (μέσω της εξατμισοδιαπνοής). Ανάλογες κλιματικές συνθήκες επικρατούν στο ένα τρίτο περίπου της χέρσου του πλανήτη, ενώ εποχικό ή τοπικό περιορισμό στη διαθεσιμότητα νερού υφίσταται ένα ακόμη σημαντικό ποσοστό της ξηράς. Η ξηρασία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες καταπόνησης και περιορισμού της παγκόσμιας γεωργικής παραγωγής .

Λόγω της κλιματικής αλλαγής, περιορισμένη διαθεσιμότητα νερού παρατηρείται πλέον και σε περιοχές όπου στο πρόσφατο παρελθόν δεν είχαν καταγραφεί προβλήματα. Σήμερα, η συνεχώς αυξανόμενη ανησυχία για τις επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής οδηγεί την έρευνα σε νέες κατευθύνσεις οι οποίες έχουν ως στόχο την βελτιστοποίηση των καλλιεργητικών και αρδευτικών μεθόδων και την επιλογή γονοτύπων με λιγότερες απαιτήσεις σε νερό. Οι επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης στην παραγωγικότητα ή και επιβίωση των φυτών είναι πολυσύνθετες και διαφέρουν ανάλογα με την ένταση και τη διάρκεια της καταπόνησης (Chaves and Oliveira 2004, Lizana et al., 2006; Fan et al., 2009) ενώ παράλληλα εξαρτώνται από τα κρίσιμα χαρακτηριστικά του φυτικού οργανισμού, όπως: α. από την ικανότητα άντλησης νερού από το έδαφος, β. από την αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE). Η αποδοτικότητα χρήσης νερού εκφράζεται από το πηλίκο της φωτοσυνθετικής ταχύτητας προς το ρυθμό της διαπνοής. Στην πράξη υπολογίζονται τα kg νερού που απαιτούνται για την παραγωγή 1 kg ξηρής βιομάζας. Ο λόγος αυτός που είναι το αντίστροφο της WUE, ονομάζεται διαπνευστικό πηλίκο. Όσο λιγότερη ποσότητα νερού απαιτείται, τόσο υψηλότερη είναι η αποδοτικότητα χρήσης νερού, γ. από την ικανότητα εγκλιματισμού (Καραμπουρνιώτης, 2003).

B.2. Στρατηγικές αντιμετώπισης της υδατικής καταπόνησης.

Τα φυτά έχουν αναπτύξει τρεις κυρίως στρατηγικές για την αντιμετώπιση της έλλειψης νερού την διαφυγή, ανθεκτικότητα και αποφυγή (Levitt, 1972; Turner, 1986; Chaves et al., 2003; Καραμπουρνιώτης, 2003).

Διαφυγή. Αφορά την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου εντός της ευνοϊκής περιόδου με επάρκεια νερού.

Ανθεκτικότητα. Αφορά τη διατήρηση στοιχειώδους μεταβολικής δραστηριότητας ακόμη και σε πολύ χαμηλά επίπεδα υδατικού δυναμικού του κυτοπλάσματος. Ανθεκτικότητα έναντι της υδατικής καταπόνησης προσδίδουν ορισμένα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά όπως:

Η οσμωρύθμιση η οποία αφορά τη ρύθμιση του οσμωτικού δυναμικού των ιστών σε χαμηλότερα επίπεδα μέσω συσσώρευσης οσμωτικά ενεργών μεταβολιτών. Η οσμωτική εξισορρόπηση έχει ως αποτέλεσμα τη διευκόλυνση της πρόσληψης νερού μέσω της δημιουργίας χαμηλότερου δυναμικού στους ιστούς. Οι οσμωτικά ενεργοί μεταβολίτες οι οποίοι συσσωρεύονται περιλαμβάνουν ανόργανα ιόντα και οργανικές ενώσεις. Οι οργανικές αυτές ενώσεις αναφέρονται ως συμβατοί ωσμολύτες διότι πέραν της οσμωρύθμιστικής τους δράσης, προστατεύουν ευαίσθητα μόρια (κυρίως πρωτεΐνες) από την αφυδάτωση και περαιτέρω αποδιάταξη και καταστροφή των μορίων τους.

Ακραία περίπτωση ανθεκτικότητας έναντι έντονης και παρατεταμένης αφυδάτωσης εμφανίζουν κυρίως οι ποικιλοϋδρικοί οργανισμοί των οποίων τα κύτταρα επιβιώνουν για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα παρ' όλο το χαμηλό σχετικό τους περιεχόμενο σε νερό. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν μονοκύτταροι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, λειχήνες, καθώς και ορισμένα ανώτερα φυτά (π.χ. είδη Ramonda και Haberlea οικ. Gesneriaceae), τα λεγόμενα φυτά αναβίωσης (είδη των οικ. Myrothamnaceae, Scrophulariaceae, Laminaceae, Cyperaceae, Poaceae, Liliaceae και Velloziaceae)(Καραμπουρνιώτης, 2003).

Αποφυγή: Αφορά την διατήρηση του υδατικού δυναμικού των κυττάρων σε σχετικά υψηλά επίπεδα με αποτέλεσμα τα κύτταρα των ιστών τους να μην έχουν την εμπειρία της αφυδάτωσης. Οι κύριες παραλλαγές της στρατηγικής αυτής είναι δύο:

Αποφυγή με οικονομία νερού. Τα φυτά αυτά διαθέτουν την ικανότητα περιορισμού των διαπνευστικών απωλειών με ταυτόχρονη διατήρηση της ικανότητας αφομοίωσης CO_2 από την ατμόσφαιρα (παρουσιάζουν υψηλή αποδοτικότητα χρήσης νερού WUE). Η εξοικονόμηση νερού και η διαφύλαξη των λιγοστών αποθεμάτων κατά τη διάρκεια της δυσμενούς περιόδου επιτυγχάνεται μέσω της διατήρησης υψηλού υδατικού δυναμικού στα κύτταρα των ιστών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα φυτά CAM. Η επιτυχία της στρατηγικής αυτής βασίζεται σε ορισμένα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά:

- Κλείσιμο των στοματίων στη διάρκεια της περιόδου η οποία ευνοεί τις σημαντικές απώλειες νερού
- Μορφολογικοί χαρακτήρες οι οποίοι παρεμβάλλουν ισχυρή αντίσταση στις διαπνευστικές ή άλλες απώλειες νερού όπως η ισχυρή και παχιά εφυμενίδα, η κάλυψη των επιφανειών από στρώματα τριχών, η τοποθέτηση στοματίων σε κρύπτες ή η κάλυψη τους από στρώματα κηρών κ.α.
- Η αποθήκευση νερού σε κατάλληλους ιστούς (εξαιρετικά διαδεδομένη στα παχύφυτα)
- Περιορισμός στο ελάχιστο των επιφανειών οργάνων τα οποία έρχονται σε επαφή με την ατμόσφαιρα (π.χ. με εξισορρόπηση φυλλικής επιφάνειας, βλ. παρακάτω)
- Ύπαρξη βλαστών οι οποίοι συνεισφέρουν σημαντικά στη φωτοσυνθετική δραστηριότητα του οργανισμού.
- Περιορισμένος αριθμός στοματίων ανά μονάδα επιφάνειας.
- Ιδιόμορφη μεταβολική δραστηριότητα, άνοιγμα στοματίων στη διάρκεια της νύχτας (CAM φυτά).

Αποφυγή με κατανάλωση νερού. Τα φυτά αυτής της κατηγορίας δίδουν προτεραιότητα στην εξεύρεση και αποτελεσματική άντληση του νερού του περιβάλλοντος και φέρουν ορισμένα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά όπως:

- Δυνατότητα επίτευξης χαμηλού υδατικού δυναμικού στη ρίζα (αποτελεσματικότερη άντληση νερού από το έδαφος)
- Αύξηση λόγου υπόγειο/υπέργειο τμήμα. Δίδεται προτεραιότητα στην ανάπτυξη εκτεταμένου ριζικού συστήματος ώστε αυτό να προσεγγίζει τον υδροφόρο ορίζοντα

- Αύξηση της αγωγιμότητας στη μεταφορά νερού μέσω αύξησης των αγωγών ιστών μεταφοράς νερού (πολυάριθμα αγγεία ξύλου, έντονη παρουσία και διακλάδωση νευρώσεων) και μείωσης της απόστασης μεταφοράς νερού.
- Δυνατότητα απορρόφησης νερού από υπέργεια όργανα (π.χ. φύλλα, βλαστούς, εναέριες ρίζες επιφύτων).

Β.3. Η υδατική καταπόνηση επιφέρει τροποποιήσεις σε μορφολογικό, φυσιολογικό και μοριακό επίπεδο.

Η έλλειψη νερού προξενεί ένα ευρύ φάσμα αντιδράσεων που μπορεί να αφορούν αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση και επακόλουθες μεταβολές στα βιοχημικά μονοπάτια, στην αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών (Γαλάτης κ.α. 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Τα συμπτώματα γίνονται εμφανή σε σύντομο χρονικό διάστημα και στις περισσότερες περιπτώσεις είναι κοινά σε όλα τα φυτά.

Β.3.1. Μορφολογικές τροποποιήσεις

Β.3.1.1. Περιορισμός επιφάνειας αναπτυσσόμενων φύλλων

Η παρεμπόδιση της διάτασης των κυττάρων λόγω ανεπαρκούς πίεσης σπαργής αποτελεί το πρώτο ορατό σύμπτωμα της αφυδάτωσης. Επειδή η έκπτυξη των φύλλων εξαρτάται και από την διάταση των κυττάρων, παρατηρείται περιορισμός της φυλλικής επιφάνειας ως βραχυπρόθεσμο αποτέλεσμα της υδατικής καταπόνησης. Παράλληλα με τον περιορισμό της φυλλικής επιφάνειας ελαττώνονται οι διαπνευστικές απώλειες.

Β.3.1.2. Μεταβολή του λόγου υπέργειου/υπόγειου τμήματος του φυτού

Η δυνατότητα οσμωρύθμισης των κυττάρων των ριζών, μέσω της οποίας επιτυγχάνεται η πτώση του δυναμικού του νερού (σε χαμηλότερα επίπεδα του δυναμικού του εδαφικού νερού) στα κύτταρά, έχει ως αποτέλεσμα οι ρίζες να διατηρούν την ικανότητα άντλησης νερού από το έδαφος (Καραμπουρνιώτης, 2003). Επίσης τα κύτταρα των ριζών έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε χαμηλότερα υδατικά δυναμικά έναντι των κυττάρων των φύλλων. Συνεπώς, υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης ο ρυθμός ανάπτυξης της ρίζας είναι ταχύτερος εκείνου του βλαστού με αποτέλεσμα ο λόγος βλαστού ρίζας να μεταβάλλεται προς όφελος του υπόγειου τμήματος, το οποίο είναι υπεύθυνο για την άντληση του νερού και επομένως για την επιβίωσή του φυτού. Ο λόγος αυτός ρυθμίζεται , εκτός των συνθηκών θρέψης και του αναπτυξιακού σταδίου, τόσο από τη δυνατότητα τροφοδοσίας του βλαστού με νερό από τη ρίζα, όσο και από τη δυνατότητα τροφοδοσίας της ρίζας με φωτοσυνθετικά προϊόντα από το βλαστό.

Ο περιορισμός της διάτασης των φύλλων συνεπάγεται μείωση των αναγκών των φύλλων σε φωτοσυνθετικό προϊόν και μετακίνηση υψηλότερου ποσοστού φωτοσυνθετικών προϊόντων προς τη ρίζα με αποτέλεσμα την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος προς βαθύτερα εδαφικά στρώματα.

Β.3.1.3. Περιορισμός της διαπνέουσας επιφάνειας μέσω αποβολής των γηραιότερων φύλλων

Σε πολλές περιπτώσεις, η έλλειψη νερού επιφέρει γήρανση και αποκοπή των γηραιότερων φύλλων με αποτέλεσμα την παραμονή μόνο των κορυφαίων νεότερων φύλλων στο βλαστό. Στο μηχανισμό αυτόν, που αναφέρεται ως εξισορρόπηση φυλλικής επιφάνειας, εμπλέκεται το αιθυλένιο και έχει ως στόχο το δραστικό περιορισμό της διαπνέουσας επιφάνειας και κατά συνέπεια την εξοικονόμηση νερού.

Β.3.1.4. Τροποποίηση του ενεργειακού ισοζυγίου του ελάσματος για την αποφυγή υπερθέρμανσής του μέσω κατάλληλων κινήσεων

Υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, το κλείσιμο των στοματίων συμβάλλει μεν στον περιορισμό των διαπνευστικών απωλειών αλλά παράλληλα μειώνει την απαγωγή της θερμότητας με αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας του φύλλου. Ορισμένα φυτά αμβλύνουν τις αναπόφευκτες επιπτώσεις της θερμοκρασιακής αύξησης μέσω κατάλληλων κινήσεων του ελάσματος ώστε να παρεμποδίζεται η άμεση έκθεσή του στις ηλιακές ακτίνες. Τον ίδιο ρόλο παίζει και η συστροφή του ελάσματος (μέσω κατάλληλων κυττάρων συστροφής) (Cao and Song 1998) των αγροστωδών, αλλά και ορισμένων δικότυλων όπως το δενδρολίβανο.

Β.3.1.5. Αύξηση των αντιστάσεων στη ροή του νερού

Η μάρανση της ρίζας προκαλεί την απομάκρυνσή της από τα εδαφικά σωματίδια τα οποία συγκρατούν ακόμη νερό και στις περισσότερες περιπτώσεις αποκόπτονται και τα ριζικά τριχίδια. Σε συνθήκες έλλειψης νερού η προστασία του οργάνου από την πλήρη αφυδάτωση επιτυγχάνεται μέσω κάλυψης της υποδερμίδας με φελλίνη (σουβερίνη) η οποία όμως έχει ως επακόλουθο πρόσθετη αντίσταση στη μεταφορά μορίων νερού.

Επίσης, η υδατική καταπόνηση μπορεί να προκαλέσει τη δημιουργία εμβολών δηλ. θραύση της στήλης του νερού στα αγγεία και διακοπή της συνέχειάς της (Carlquist, 1977; Sperry and Ikeda, 1997; Αιβαλάκις, κ.α., 2003; Gortan et al. 2009). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των αντιστάσεων στη ροή του νερού μέσα στο αγγειακό σύστημα μεταφοράς.

Β.3.2. Φυσιολογικές τροποποιήσεις

Β.3.2.1. Τροποποίηση της δομής και λειτουργίας των μεμβρανών και των ενζύμων

Η υδατική καταπόνηση επιφέρει φυσιολογικές βλάβες ως επακόλουθο της αφυδάτωσης του κυτοπλάσματος (συρρίκνωση του πρωτοπλάστη, συμπύκνωση της υδατικής φάσης και παθητική αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυμένων ουσιών-πλασμόλυση) (Γαβαλάς, 1993, Καράταγλης, 1999; Αιβαλάκις, κ.α., 2003). Η ομαλή διάταξη της διπλής λιπιδικής στοιβάδας των μεμβρανών διαταράσσεται με αποτέλεσμα την απώλεια της δραστηριότητας μεβρανικών αντλιών αλλά και τη δημιουργία ανεπιθύμητων πόρων. Η απώλεια της εκλεκτικής διαπερατότητας των μεμβρανών επιφέρει ανεξέλεγκτη διακίνηση ουσιών και σε κυτταρικό επίπεδο επέρχεται πλέον απώλεια της διαμερισματοποίησης και συνολική μεταβολική δυσλειτουργία.

<u>Β.3.2.2. Κλείσιμο των στοματίων</u>

Λόγω της έλλειψης νερού προκαλείται κλείσιμο των στοματίων με στόχο της μείωση των διαπνευστικών απωλειών. Οπως ήδη αναφέρθηκε, οι αλλαγές στην πίεση σπαργής ρυθμίζουν το εύρος του στοματικού πόρου των καταφρακτικών κυττάρων. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να είναι:

<u>Παθητικές.</u> Το παθητικό κλείσιμο ευνοείται σε ατμοσφαιρικό περιβάλλον με χαμηλή σχετική υγρασία όταν ο ρυθμός των απωλειών νερού των καταφρακτικών κυττάρων είναι υψηλότερος εκείνου με τον οποίον αναπληρώνεται μέσω των γειτονικών επιδερμικών ή παρακαταφρακτικών κυττάρων.

<u>Ενεργητικές.</u> Οφείλονται στη μεταβολική δραστηριότητα των καταφρακτικών. Η απώλεια σπαργής των καταφρακτικών κυττάρων λόγω εξόδου ορισμένων ιόντων προκαλεί το κλείσιμο των στοματίων. Ο μηχανισμός ενεργοποιείται από το αμπσισικό οξύ, το οποίο μπορεί να προέρχεται από δύο διαφορετικές πηγές:

- Από τα φύλλα. Η σταδιακή αφυδάτωση του κυτοπλάσματος επιφέρει α. απελευθέρωση ποσοστού του συνολικού ΑΒΑ των χλωροπλαστών στους αποπλασματικούς χώρους το οποίο μεταφέρεται μέσω του διαπνευστικού ρεύματος στα καταφρακτικά κύτταρα και β. αύξηση του ρυθμού σύνθεσης νέων μορίων ΑΒΑ.
- Από τις ρίζες. Η συγκέντρωση της ορμόνης στις ρίζες αυξάνεται δραματικά όταν υπάρχει έλλειψη νερού στο εδαφικό περιβάλλον. Οι ρίζες παράγουν και εξάγουν ΑΒΑ προς τα αγγεία του ξύλου (Blackman and Davies 1985, Blum and Johnson 1993, Croker et al. 1998) το οποίο μεταφέρεται στα φύλλα και επαρκεί για να προκαλέσει κλείσιμο των στοματίων. Το διασυστηματικό αυτό σήμα κινδύνου (non-hydraulic root sourced signal (nHRs)) προειδοποιεί για τα επερχόμενα προβλήματα στην τροφοδοσία με νερό του υπέργειου τμήματος (Davies et al 1994, Xiong et al. 2006).

Β.3.2.3. Διατάραξη της φωτοσυνθετικής λειτουργίας

Η φωτοσυνθετική λειτουργία διαταράσσεται σε δύο κυρίως επίπεδα:

Το αναπόφευκτο κλείσιμο των στοματίων παρεμποδίζει τον απρόσκοπτο εφοδιασμό των φωτοσυνθετικών κυττάρων με CO_2 της ατμόσφαιρας. Εν τούτοις με τον τρόπο αυτό αυξάνεται η WUE.

Η δομική και λειτουργική ακεραιότητα της φωτοσυνθετικής συσκευής επηρεάζεται άμεσα από την επικράτηση χαμηλού υδατικού δυναμικού στον πρωτοπλάστη με αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία της φωτοφωσφορυλίωσης και της φωτοσυνθετικής ροής των ηλεκτρονίων. Παρατηρείται επίσης αύξηση της συγκέντρωσης των ιόντων Mg^{2+} στους χλωροπλάστες, η οποία παρεμποδίζει τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα.

Β.3.2.4. Επαγωγή του μεταβολισμού τύπου Crassulaceae

Ορισμένα είδη αναφέρονται ως προαιρετικά CAM (π.χ. *Mesembryanthemum crystallinum*). Τα φυτά αυτά σε συνθήκες επάρκειας νερού συμπεριφέρονται ως C_3. Ωστόσο σε περίπτωση υδατικής καταπόνησης (αφυδάτωση/οσμωτική καταπόνηση) ο μεταβολισμός τους μεταβάλλεται σε τύπου CAM, μεταβολή η οποία προϋποθέτει κατάλληλες διευθετήσεις σε επίπεδο έκφρασης γονιδίων, μετακίνηση μηλικού οξέως από και προς τα χυμοτόπια, αναστροφή της περιοδικότητας των στοματικών κινήσεων, συσσώρευση συμβατών οσμωλυτών κ.α.

Β.3.2.5. Επαγωγή έκφρασης γονιδίων

Για την αντιμετώπιση των επιπτώσεων της υδατικής καταπόνησης είναι απαραίτητη η *de novo* σύνθεση νέων πρωτεϊνικών μορίων απαραίτητων για τη σύνθεση ορισμένων μεταβολιτών. Στις μεταβολικές τροποποιήσεις περιλαμβάνεται και η ενεργοποίηση υπαρχόντων ενζύμων π.χ. φωσφορυλίωση της υδροαπορίνης τύπου α-TIP (Tonoplast Intrinsic Protein).

Γ. Η φωτοσύνθεση

Γ.1. Η σημασία της φωτοσύνθεσης

Τα φυτά ως αυτότροφοι οργανισμοί έχουν τη δυνατότητα σύνθεσης οργανικών ενώσεων από πρόδρομα ανόργανα συστατικά (Αιβαλάκις, κ.α., 2003). Η απαιτούμενη για αυτή την διαδικασία εισροή ενέργειας παρέχεται από την ηλιακή ακτινοβολία με τη μορφή φωτονίων, τα οποία απορροφώνται από την χλωροφύλλη (Hall and Rao, 1999). Η ενέργεια αποθηκεύεται με τη μορφή σταθερών χημικών ενώσεων (ATP, NADPH) ενώ παράλληλα διασπάται το μόριο του νερού και εκλύεται μοριακό οξυγόνο ως παραπροϊόν. Η αποθηκευμένη ενέργεια χρησιμοποιείται στη συνέχεια σε όλες τις μεταβολικές διαδικασίες σύνθεσης, ενώ το μεγαλύτερο μέρος της χρησιμοποιείται για τη δέσμευση του διοξειδίου του άνθρακα της ατμόσφαιρας και το μετασχηματισμό του σε υδατάνθρακες. Η αξιοποιούμενη ακτινοβολία στην παραπάνω διαδικασία ονομάζεται φωτοσυνθετικά ενεργός ακτινοβολία (Photosynthetically Active Radiation, PAR) και περιλαμβάνει μήκη κύματος μεταξύ 400 και 700 nm στην περιοχή του ορατού (Taiz and Zeiger, 1998).

Η βασική αντίδραση (Ι) είναι ισχυρά ενδεργονική καθώς απαιτεί μεγάλη δαπάνη ενέργειας (2840 kJ) για κάθε mole εξόζης που παράγεται και εμπεριέχει πολυάριθμες αντιδράσεις που συνεργάζονται ώστε να παραχθούν τα τελικά φωτοσυνθετικά προϊόντα.

$$\mathbf{6\ CO_2 + 12\ H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 + 6\ H_2O\ (I)}$$

Η φωτοσύνθεση αποτελεί μια διαδικασία ζωτικής σημασίας σε πλανητικό επίπεδο διότι από τα οργανικά μόρια που προκύπτουν παρέχεται χημική ενέργεια και σκελετοί άνθρακα σε όλα τα στάδια της τροφικής αλυσίδας (Δροσόπουλος, 1998). Τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης χρησιμοποιούνται είτε ως δομικές μονάδες σε διάφορες αναβολικές αντιδράσεις, είτε παρέχουν μέρος της περιεχόμενης ενέργειάς τους για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του κυττάρου κατά την αναπνευστική λειτουργία, στην οποία ελευθερώνονται ως προϊόντα τα αρχικά υποστρώματα της φωτοσύνθεσης (CO_2 και H_2O)(Hall and Rao, 1999). Επιπροσθέτως, με τη φωτοσύνθεση εμπλουτίζεται η ατμόσφαιρα με το απαραίτητο μοριακό οξυγόνο για την αναπνοή όλων των αερόβιων οργανισμών ενώ τα αρχέγονα προϊόντα της με τη μορφή κοιτασμάτων υδρογονανθράκων αποτελούν τα σημαντικότερα ενεργειακά αποθέματα της γης (Hall and Rao, 1999).

Γ.2. Η φυσιολογία της φωτοσύνθεσης

Η φωτοσυνθετική λειτουργία πραγματοποιείται σε εξειδικευμένα υποκυτταρικά οργανίδια, τους χλωροπλάστες. Η φωτοσύνθεση ολοκληρώνεται σε δύο φάσεις. Η πρώτη που χαρακτηρίζεται ως φωτεινή φάση περιλαμβάνει αντιδράσεις στις οποίες είναι απαραίτητη η παρουσία φωτός (φωτοαντιδράσεις). Σε αυτές η ενέργεια ακτινοβολίας μετατρέπεται σε χημική υπό τη μορφή σταθερών χημικών ενώσεων με υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο, του NADPH και του ATP. Σε αυτή τη φάση φωτολύονται μόρια νερού και παρέχουν πρωτόνια, ηλεκτρόνια και μοριακό οξυγόνο (Αιβαλάκις, κ.α., 2003).

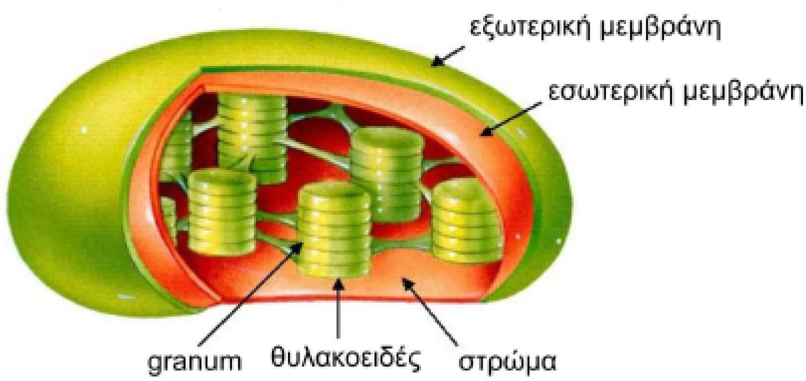
Η δεύτερη φάση χαρακτηρίζεται ως σκοτεινή, καθώς δεν εξαρτάται άμεσα από την ύπαρξη φωτισμού (Taiz and Zeiger, 1998). Στη σκοτεινή φάση λαμβάνουν χώρα καθαρά βιοχημικές αντιδράσεις (σκοτεινές αντιδράσεις), στις οποίες η απαιτούμενη ενέργεια για τη σύνθεση τριοζών από άτομα άνθρακα, οξυγόνου και υδρογόνου προσφέρεται από το ATP. Παράλληλα καταναλώνεται NADPH προσφέροντας πρωτόνια και ηλεκτρόνια για την αναγωγή του CO_2 στο επίπεδο του υδατάνθρακα.

Όλες οι παραπάνω διαδικασίες λαμβάνουν χώρα στα φύλλα τα οποία διαθέτουν συγκεκριμένα μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά ώστε να επιτυγχάνονται μέγιστες αποδόσεις σε επίπεδο οργάνου (Αιβαλάκις, κ.α., 2003).

Γ.3. Η οργάνωση των χλωροπλαστών

Οι χλωροπλάστες συνιστούν τα οργανίδια στα οποία καθίσταται δυνατή η διεξαγωγή της φωτοσυνθετικής διαδικασίας. Τα οργανίδια αυτά περιβάλλονται από διπλή εξωτερική μεμβράνη, τον φάκελο, ο οποίος περικλείει στο εσωτερικό του ένα άμορφο ζελατινώδες υλικό, το στρώμα. Ο φάκελος αποτελείται από δύο διλιπιδιακές μεμβράνες από γαλακτολιπίδια οι οποίες περιέχουν καροτενοειδή, αλλά όχι χλωροφύλλη (Δροσόπουλος, 1998; Lawlor, 2001). Τόσο οι φωτεινές όσο και οι σκοτεινές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα σε συγκεκριμένα τμήματα των χλωροπλαστών. Στο στρώμα εντοπίζονται τα υδατοδιαλυτά ένζυμα τα οποία καταλύουν τις αντιδράσεις της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του διοξειδίου του άνθρακα δηλαδή τις σκοτεινές αντιδράσεις. Εντός του στρώματος αναπτύσσεται ένα δίκτυο μεμβρανών, τα θυλακοειδή , τα οποία σε ορισμένες περιοχές στοιβάζονται σε επάλληλες σειρές σχηματίζοντας τα grana. Στα θυλακοειδή πραγματοποιούνται οι φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης καθώς σε αυτά εντοπίζονται όλα τα μόρια της χλωροφύλλης και των άλλων φωτοσυνθετικών χρωστικών. Η κοιλότητα η οποία σχηματίζεται στο εσωτερικό κάθε θυλακοειδούς ονομάζεται lumen.

Όλοι οι χλωροπλάστες περιέχουν λιπόφιλα μόρια χρωστικών, βυθισμένα στη διπλοστοιβάδα των λιπιδίων των θυλακοειδών και σχηματίζοντας σύμπλοκα με πρωτεΐνες. Τα σύμπλοκα χρωστικών-πρωτεϊνών οργανώνονται σε δύο φωτοσυστήματα (PS I και PS II), στα οποία πραγματοποιούνται οι αντιδράσεις της φωτεινής φάσης. Τέλος στις μεμβράνες των θυλακοειδών εντοπίζεται το σύμπλοκο του κυτοχρώματος b6f που αποτελεί το σημαντικότερο ενδιάμεσο φορέα για τη μεταφορά των ηλεκτρονίων από το PS II στο ενεργό κέντρο του PS I.



Εικόνα 1.Τρισδιάστατη απεικόνιση χλωροπλάστη. Διακρίνεται το σύστημα διπλών μεμβρανών και των μεμβρανικών διατάξεων των θυλακοειδών του στρώματος και των grana.

Γ.4. Οι φωτεινές αντιδράσεις

Στις φωτοχημικές αντιδράσεις, οι μεταπτώσεις των ηλεκτρονίων προκαλούνται μόνον από φωτόνια με κατάλληλο μήκος κύματος τα οποία απορροφώνται από κατάλληλα μόρια χρωστικών. Στην περίπτωση αυτή τα ηλεκτρόνια μετακινούνται σε στάθμη υψηλότερου ενεργειακού περιεχομένου, ενώ το μόριο της χρωστικής βρίσκεται πλέον σε διεγερμένη κατάσταση. Η διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο ενεργειακών σταθμών αντικατοπτρίζει την ενέργεια του συγκεκριμένου quantum που απορροφήθηκε. Τα διεγερμένα μόρια έχουν την τάση να επανέλθουν στην αρχική σταθερή τους κατάσταση αποδίδοντας την ενέργεια που απορροφήθηκε (αποδιέγερση μορίων). Η απόδοση αυτής της ενέργειας διέγερσης του μορίου της χλωροφύλλης μπορεί να πραγματοποιηθεί με τους εξής τρόπους:

α. Με τη μορφή θερμότητας λόγω δόνησης και περιστροφής του μορίου

β. Με τη μορφή ακτινοβολίας (φθορισμός)

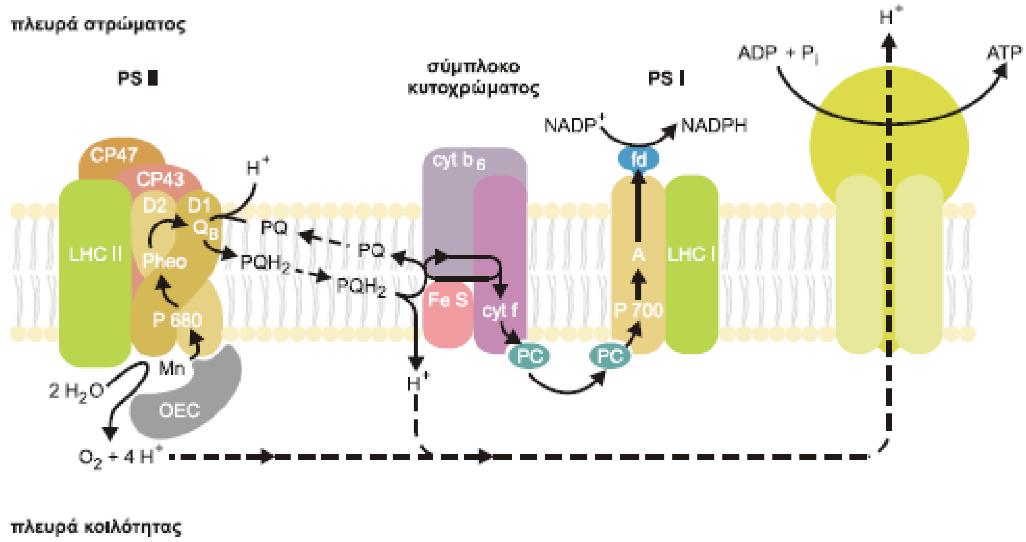
γ. Με μεταφορά της διέγερσης σε γειτονικά μόρια

Η τελευταία περίπτωση ευθύνεται για την παραγωγή φωτοχημικού έργου στη φωτοσύνθεση.

Κάθε φωτοσύστημα διαθέτει ένα φωτοχημικό κέντρο αντίδρασης, το διαμεμβρανικό πρωτεϊνικό σύμπλοκο όπου εδράζεται ένα μόριο Chla και στο οποίο συμβαίνει ο διαχωρισμός φορτίου. Τα κέντρα αντίδρασης των PS I και PS II χαρακτηρίζονται ως P700 και P680 αντίστοιχα, από τα μέγιστα απορρόφησης που εμφανίζουν. Κάθε κέντρο αντίδρασης διαθέτει ένα μηχανισμό ή αντένα φωτοσυλλογής όπου εδράζονται πολυάριθμα σύμπλοκα – φωτοσυνθετικών χρωστικών (LHC). Οι βοηθητικές φωτοσυνθετικές χρωστικές δεν συμμετέχουν άμεσα στο διαχωρισμό φορτίου αλλά απορροφούν φωτόνια, διεγείρονται και μεταφέρουν τη διέγερση προς το κέντρο αντίδρασης (Lawlor, 2001). Μετά τη απορρόφηση ενός φωτονίου από το φωτοσυλλεκτικό μηχανισμό του PS II, το μόριο Chl_a του ενεργού κέντρου διεγείρεται και προκαλείται διαχωρισμός φορτίου οπότε ένα ηλεκτρόνιο θα μεταφερθεί σε ένα διπλανό μόριο. Αυτό το ηλεκτρόνιο αναπληρώνεται μέσω της φωτόλυσης του νερού.

Τα ηλεκτρόνια τα οποία αποσπώνται από τη Chl μεταφέρονται στο $NADP^+$ το οποίο ανάγεται προς NADPH. Η μεταφορά των ηλεκτρονίων πραγματοποιείται μέσω διαδοχικών οξειδώσεων και αναγωγών ενδιάμεσων φορέων της λεγόμενης φωτοσυνθετικής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (Αιβαλάκις, κ.α., 2003). Τα δύο φωτοσυστήματα PS I και PS II συνεργάζονται ώστε να ολοκληρωθούν οι φωτοαντιδράσεις (Lawlor, 2001).

Τα ηλεκτρόνια από το PS II μεταφέρονται μέσω αλλεπάλληλων οξειδώσεων και αναγωγών των ενδιάμεσων φορέων προς το ενεργό κέντρο του PS I. Ο σημαντικότερος ενδιάμεσος φορέας είναι το σύμπλοκο των κυτοχρωμάτων (cyt b6f). Στο PS I η απορρόφηση ενός φωτονίου από τις βοηθητικές χρωστικές του φωτοσυλλεκτικού μηχανισμού του προκαλεί διέγερση και διαχωρισμό φορτίου στο ενεργό κέντρο. Ένα ηλεκτρόνιο αποσπάται από το μόριο του P700 το οποίο μέσω μιας αλυσίδας ενδιάμεσων φορέων ανάγει τον τελικό αποδέκτη το NADP. Στην περίπτωση όμως του PS I το ηλεκτρόνιο που αποσπάστηκε, προσλαμβάνεται μέσω των ενδιάμεσων φορέων από το PS II. Συνεπώς η όλη διαδικασία περιλαμβάνει εν σειρά σύνδεση των δύο φωτοσυστημάτων και ροή ηλεκτρονίων από το νερό προς το $NADP^+$ (Αιβαλάκις, κ.α., 2003).



Εικόνα 2. Σχηματική διάταξη των πολυενζυμικών συμπλόκων των φωτοσυστημάτων και των ενδιάμεσων φορέων οι οποίοι συμμετέχουν στη φωτοσυνθετική ροή ηλεκτρονίων και την αναγωγή του NADP και τη φωσφορυλίωση του ADP, κατά μήκος των μεμβρανών των θυλακοειδών.

Στα ενεργά κέντρα των δύο φωτοσυστημάτων, η μεταφορά ηλεκτρονίου καθίσταται δυνατή μέσω της εισροής επιπλέον ενέργειας στο σύστημα με τη μορφή φωτεινής ακτινοβολίας. Με αυτό τον τρόπο γίνεται δυνατή η αναγωγή του NADPH και η σύνθεση του ATP. Η απορρόφηση φωτονίων από τα φωτοχημικά κέντρα αντίδρασης και η επακόλουθη αναγωγή του $NADP^+$ προς NADPH έχει δύο σημαντικές επιπτώσεις:

Μόρια νερού διασπώνται, με συνέπεια την απελευθέρωση πρωτονίων εντός της κοιλότητας του θυλακοειδούς και μοριακού οξυγόνου, το οποίο διαφεύγει ως παραπροϊόν.

Προκαλείται διαβάθμιση pH μεταξύ της κοιλότητας του θυλακοειδούς και του στρώματος. Αυτή η διαφορά του pH αντιπροσωπεύει ελεύθερη ενέργεια που μπορεί να αξιοποιηθεί για τη σύνθεση του ATP (Δροσόπουλος, 1998). Η σύνθεση του ATP πραγματοποιείται λόγω μιας αντίστροφης – αυθόρμητης εκροής πρωτονίων από την κοιλότητα του θυλακοειδούς προς το στρώμα η οποία τείνει να εξισορροπήσει τη διαφορά του pH. Αυτή η ροή πρωτονίων παρέχει την ενέργεια που απαιτείται για την φωσφορυλίωση του ADP προς ATP (Εικόνα 2) . Το παραγόμενο ATP είναι διαθέσιμο για την σύνθεση των υδατανθράκων κατά τις σκοτεινές αντιδράσεις. Η χημειωσμωτική υπόθεση του Mitchell το 1961 εξηγεί τη σύνθεση του ATP που συνοδεύει τη μεταφορά των ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια και τους χλωροπλάστες. Σύμφωνα με αυτή:

α. Οι ανέπαφες μεμβράνες θυλακοειδών είναι αδιαπέραστες στην παθητική ροή των πρωτονίων

β. Οι οξειδοαναγωγικοί παράγοντες που συμμετέχουν στη μεταφορά ηλεκτρονίων και πρωτονίων είναι κατάλληλα τοποθετημένοι στη μεμβράνη.

γ. Κατά τη διάρκεια της φωτοσυνθετικής μεταφοράς των ηλεκτρονίων, μεταφέρονται H^+ από το στρώμα στο lumen και ως εκ τούτου δημιουργείται μια διαβάθμιση πρωτονίων μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης του θυλακοειδούς.

Γ.5. Οι σκοτεινές αντιδράσεις

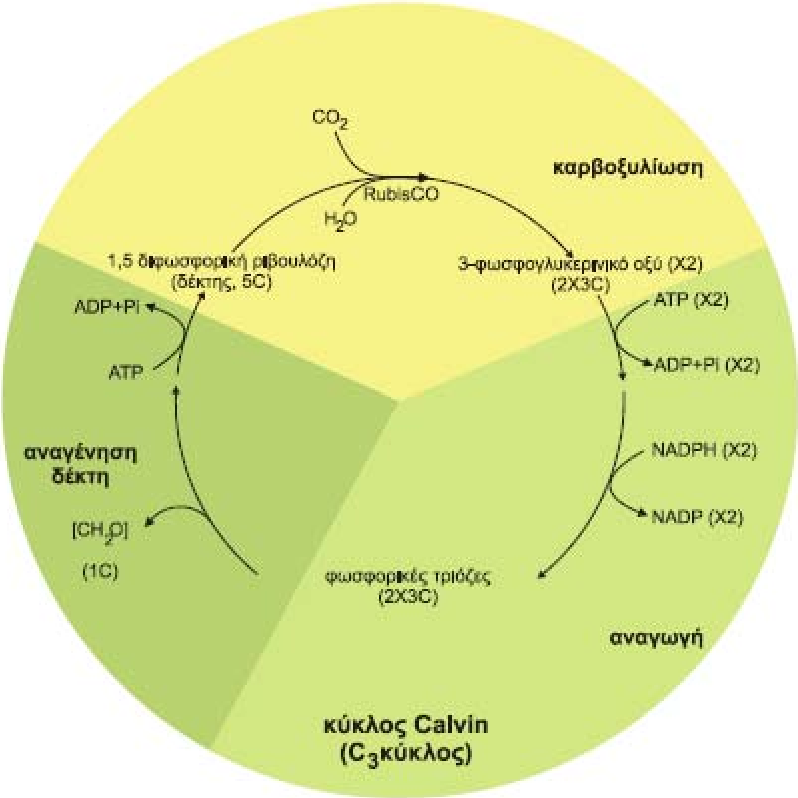
Τα προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων ATP και NADPH, είναι πλούσια σε ενέργεια και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πλήθος βιοχημικών αντιδράσεων σύνθεσης και μεταφοράς που απαιτούν δαπάνη ενέργειας. Μέρος αυτής της ενέργειας καταναλώνεται για τη δέσμευση του CO_2 και αναγωγή του στο επίπεδο των υδατανθράκων. Μέχρι σήμερα γνωρίζουμε τρεις κύριες βιοχημικές παραλλαγές του φωτοσυνθετικού μεταβολισμού του άνθρακα:

α. Η C_3 φωτοσύνθεση, με πρώτο προϊόν το 3-φωσφογλυκερινικό οξύ(3-PGA)

β. Η C_4 φωτοσύνθεση με πρώτο προϊόν το οξαλοξικό οξύ, και

γ. Ο μεταβολισμός οξέων τύπου Crassulaceae (CAM)

Στη C_3 φωτοσύνθεση το CO_2 δεσμεύεται και στη συνέχεια ανάγεται έως το επίπεδο του υδατάνθρακα μέσω μιας κυκλικής διαδικασίας, η οποία ονομάζεται αναγωγικός κύκλος των φωσφοπεντοζών (RPPC) ή κύκλος του Calvin. Το CO_2 μετατρέπεται σε φωσφορυλιωμένα σάκχαρα ενώ ο δέκτης του CO_2 (1,5–διφωσφορική ριβουλόζη) αναγεννάται. Ο κύκλος αυτός λειτουργεί σε όλους τους φωτοσυνθετικούς ευκαρυωτικούς οργανισμούς καθώς και σε ορισμένους προκαρυωτικούς. Η όλη πορεία περιλαμβάνει επί μέρους αντιδράσεις οι οποίες καταλύονται από υδατοδιαλυτά ένζυμα που εντοπίζονται στο στρώμα των χλωροπλαστών (Δροσόπουλος, 1998). Ο κύκλος Calvin δεν περιλαμβάνει φωτοχημικές αντιδράσεις, ωστόσο η λειτουργία του εξαρτάται άμεσα από τον εφοδιασμό σε ATP και NADPH καθώς και σε CO_2. Ο κύκλος περιλαμβάνει τρία επί μέρους στάδια: καρβοξυλίωση, αναγωγή και αναγέννηση του δέκτη (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Ο κύκλος του Calvin ολοκληρώνεται από τρία στάδια με τελική κατάληξη την αφομοίωση και αναγωγή ενός μορίου CO_2 και την αναγέννηση του αρχικού υποστρώματος.

Στο αρχικό στάδιο του κύκλου, το CO_2 ενσωματώνεται με τη μορφή μιας καρβοξυλομάδας στο μόριο–δέκτη, την 1,5–διφωσφορική ριβουλόζη και παράγονται, ως πρώτο προϊόν, δύο μόρια 3–φωσφογλυκερινικού οξέος. Την αντίδραση καταλύει το ένζυμο καρβοξυλάση–οξυγενάση της 1,5–διφωσφορικής ριβουλόζης (RubisCO). Στο δεύτερο στάδιο το 3PGA ανάγεται προς φωσφορικές τριόζες (3–φωσφορική γλυκεριναλδεύδη ή φωσφορική διϋδρόξυακετόνη) με κατανάλωση ATP και NADPH. Με την ολοκλήρωση του σταδίου αυτού το CO_2 έχει πλέον αναχθεί στο επίπεδο του υδατάνθρακα με κέρδος μια υδατανθρακική μονάδα, ενώ για κάθε έξι περιστροφές του κύκλου το καθαρό προϊόν είναι ένα μόριο εξόζης. Στο τρίτο στάδιο επιτελούνται μια σειρά από αντιδράσεις, οι οποίες είναι απαραίτητες για την αναγέννηση του μορίου–δέκτη. Στο στάδιο αυτό καταναλώνεται ενέργεια με τη μορφή ATP. Με τη συμπλήρωση και του τρίτου σταδίου ο κύκλος Calvin έχει ολοκληρωθεί και η 1,5–διφωσφορική ριβουλόζη είναι διαθέσιμη εκ νέου ως υπόστρωμα της RubisCO.

Γ.6. Ο μηχανισμός της ανταλλαγής των αερίων. Είσοδος CO_2 και διαπνοή

Η επιδερμίδα των υπέργειων οργάνων των φυτών και κυρίως των φύλλων, διαθέτει μικροσκοπικούς πόρους οι οποίοι περικλείονται από εξειδικευμένα κύτταρα, τα επονομαζόμενα καταφρακτικά κύτταρα. Ο πόρος και τα καταφρακτικά κύτταρα τα οποία το περιβάλλουν συνιστούν το στομάτιο. Η φυσιολογική σημασία των στοματίων είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς με το ενεργό άνοιγμα και κλείσιμο τους ελέγχεται η ανταλλαγή των αερίων CO_2 και O_2 μεταξύ του φυτού και του εναέριου περιβάλλοντος (Δροσόπουλος, 1998). Μέσω της διαδικασίας αυτής παρέχονται τα αναγκαία υποστρώματα για τις λειτουργίες της φωτοσύνθεσης και της αναπνοής.

Οπως αναφέρθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο, κατά το άνοιγμα των στοματίων λαμβάνει χώρα έξοδος υδρατμών από το εσωτερικό των φύλλων προς την ατμόσφαιρα. Η ελεγχόμενη αυτή απώλεια προκαλεί αναπλήρωση του νερού των φύλλων μέσω απορρόφησης νερού από το ριζικό σύστημα και μεταφορά του στα υπέργεια όργανα.

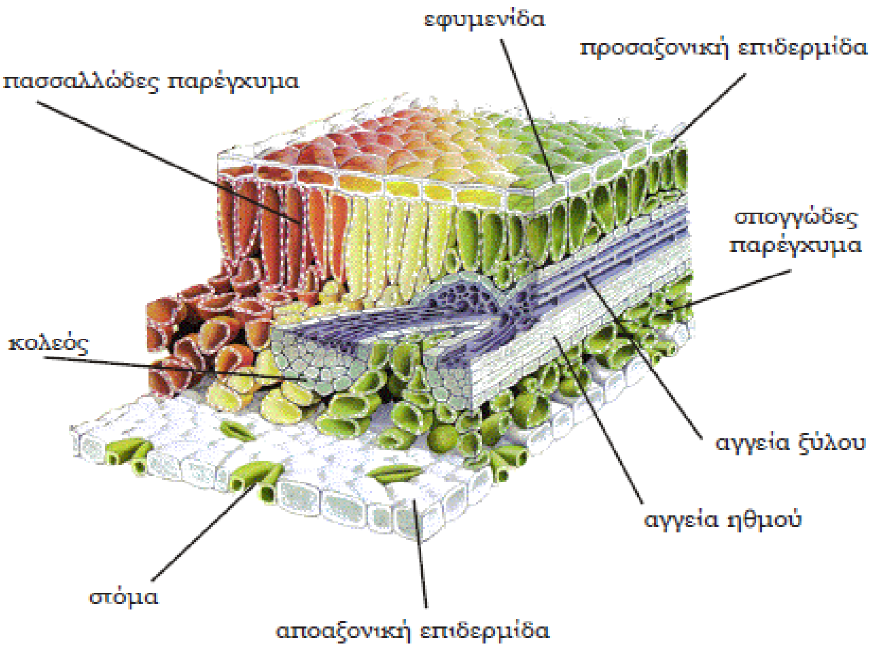
Η αγωγιμότητα των στοματίων (gs) και η αντίσταση των στοματίων στη διάχυση των υδρατμών (Rs) αποτελούν χρήσιμες παραμέτρους μέσω των οποίων μπορεί να περιγραφεί η φυσιολογική κατάσταση των στομάτων. Οι μεταβολές στην αγωγιμότητα των στομάτων είναι σημαντικές, αφού καθορίζουν τις απώλειες του νερού αλλά και την παροχή του CO_2 που είναι διαθέσιμο για τη φωτοσύνθεση (Taiz and Zeiger, 1998).

Γ.7. Τα ανατομικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων

Τα φύλλα είναι τα εξειδικευμένα όργανα στα οποία λαμβάνει χώρα η διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Φέρουν ελασματοειδή κατασκευή και έχουν τέτοια διάταξη ώστε να αξιοποιούνται πιο αποτελεσματικά οι πρώτες ύλες της φωτοσύνθεσης δηλαδή η ακτινοβολία και το διοξείδιο του άνθρακα της ατμόσφαιρας. Σε επίπεδο κόμης η βέλτιστη αξιοποίηση επιτυγχάνεται με την ανάπτυξη μιας τεράστιας επιφάνειας φωτοσυλλογής η οποία εκτίθεται στην ηλιακή ακτινοβολία . Σε επίπεδο φύλλου η κατάλληλη αρχιτεκτονική διάταξη των ιστών έχει ως στόχο την αποτελεσματικότερη απορρόφηση ακτινοβολίας και την ευχερέστερη διάχυση του

CO_2 προς τα φωτοσυνθετικά κύτταρα, στόχος που επιτυγχάνεται μέσω της κατασκευής ενός λεπτού ελάσματος (Αιβαλάκις, κ.α., 2003).

Η ανατομική παρατήρηση ενός τυπικού φύλλου μας δείχνει ότι το όργανο αυτό συγκροτείται από εξειδικευμένους ιστούς με αυστηρά καταμερισμένους ρόλους. Η εξωτερική επιφάνεια του φύλλου καλύπτεται από την εφυμενίδα και την επιδερμίδα. Η περιοχή μεταξύ της προσαξονικής και της αποαξονικής επιδερμίδας αποτελεί την περιοχή του μεσοφύλλου και περιλαμβάνει τα φωτοσυνθετικά κύτταρα (τα οποία περιέχουν χλωροπλάστες) και τις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες (Taiz and Zeiger, 1998) (εικόνα 4).



Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση της τρισδιάστατης δομής ενός τυπικού φύλλου δικότυλου C_3 φυτού. Διακρίνονται οι κυριότεροι ιστοί. (Andersson and Barber, 1996).

Τα κύτταρα του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος διαθέτουν πολυάριθμους χλωροπλάστες και άφθονους μεσοκυττάριους χώρους, ώστε να διευκολύνεται η ανταλλαγή αερίων (Taiz and Zeiger, 1998).

Στα τυπικά φύλλα των δικότυλων το μεσόφυλλο απαρτίζεται από δύο τύπους φωτοσυνθετικού παρεγχύματος, το δρυφρακτειδές ή πασσαλώδες, και το σπογγώδες παρέγχυμα (Taiz and Zeiger, 1998).

Τα πασσαλώδη κύτταρα παρουσιάζουν τη μορφή δοκών ή πασσάλων κάθετα προσανατολισμένων στην επιφάνεια του φύλλου. Διατάσσονται σε μία ή περισσότερες επάλληλες στοιβάδες προς την πλευρά της προσαξονικής επιφάνειας.

Το σπογγώδες παρέγχυμα αποτελείται από ακανόνιστα κύτταρα, με άφθονους μεσοκυττάριους χώρους (Αιβαλάκις, κ.α., 2003).

Η επιμήκης κατασκευή των κυττάρων του πασσαλώδους παρεγχύματος, σε συνδυασμό με την τοποθέτηση των χλωροπλαστών στα αντικληνή τοιχώματα, διευκολύνει τη διείσδυση της ακτινοβολίας στο εσωτερικό του μεσοφύλλου. Από την άλλη πλευρά το σχήμα των κυττάρων του σπογγώδους παρεγχύματος ευνοεί την απορρόφηση της φωτεινής ακτινοβολίας, ενώ η αποαξονική επιδερμίδα συμπεριφέρεται ως εσωτερικός ανακλαστήρας που επιστρέφει τα φωτόνια προς το εσωτερικό του μεσοφύλλου. Η τελευταία, επιτρέπει επίσης την αύξηση του πάχους του φύλλου, κυρίως με την αύξηση των στοιβάδων του πασσαλώδους παρεγχύματος, χωρίς να δημιουργούνται σημαντικά προβλήματα φωτισμού στις κατώτερες στοιβάδες των κυττάρων του μεσοφύλλου (Αιβαλάκις, κ.α., 2003).

Οι ηθμαγγειώδεις αγωγοί δεσμίδες διασχίζουν το μεσόφυλλο και γίνονται αντιληπτές με τη μορφή των νευρώσεων. Στο έλασμα καταφθάνουν οι τελικές απολήξεις του συστήματος μεταφοράς που ξεκινά από τη ρίζα και διασχίζει όλο το βλαστό και το μίσχο. Η μεταφορά νερού και θρεπτικών συστατικών επιτελείται μέσω των αγγείων του ξύλου τα οποία εντοπίζονται στην πλευρά της δεσμίδας που βρίσκεται προς την προσαξονική επιφάνεια του φύλλου, ενώ η εξαγωγή των φωτοσυνθετικών προϊόντων γίνεται μέσω των στοιχείων του ηθμού τα οποία εντοπίζονται στη πλευρά της δεσμίδας που βρίσκεται προς την αποαξονική επιφάνεια (Αιβαλάκις, κ.α., 2003).

Οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες συνήθως προστατεύονται από σκληρεγχυματικές ίνες και περιβάλλονται από παρεγχυματικά κύτταρα του λεγόμενου δεσμικού κολεού. Οι σκληρεγχυματικές ίνες προσφέρουν μηχανική στήριξη και προστασία έναντι προσβολών παθογόνων και εντόμων. Η μηχανική θωράκιση φαίνεται ότι είναι επιβεβλημένη αν ληφθεί υπόψη ότι οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες είναι εξαιρετικά πλούσιες σε θρεπτικά συστατικά και σάκχαρα, επομένως αποτελούν στόχο για τους βιοτικούς εχθρούς. Τα κύτταρα του δεσμικού κολεού βοηθούν κυρίως στη τροφοδότηση του ηθμού με σάκχαρα (Αιβαλάκις, κ.α., 2003).

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Α. Φυτικό υλικό

Για τη διεξαγωγή των μετρήσεων επιλέχθηκαν τρεις βιότυποι σκληρού σίτου: η ποικιλία Simeto, ο πληθυσμός Ντόπια Ηρακλείου και ο πληθυσμός Κοντοπούλι 17, με διακριτά μορφολογικά και αναπτυξιακά χαρακτηριστικά, οι οποίοι διαφέρουν ως προς την ευαισθησία τους στην υδατική καταπόνηση σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες (Karamanos et. al, 2008). Το πείραμα διεξήχθη στο πειραματικό θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Γεωργίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Εφαρμόσθηκαν τέσσερεις μεταχειρίσεις άρδευσης (A, B, C και D, από την υγρότερη προς την ξηρότερη) με τη μέθοδο της κλιμακούμενης απόστασης από την πηγή του νερού (σταλάκτες συστήματος στάγδην άρδευσης).

Β. Μετρήσεις Πεδίου - Δειγματοληψίες

Για τις ανάγκες των πειραματικών μετρήσεων διακρίθηκαν τέσσερεις πειραματικές κατηγορίες ανά βιότυπο με βάση τις τέσσερεις μεταχειρίσεις άρδευσης. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν για όλες τις κατηγορίες δειγμάτων στο κατά σειρά αμέσως επόμενο φύλλο από το φύλλο «σημαία», μεταξύ 8.00-12.00 π.μ., ανά τακτά χρονικά διαστήματα στο διάστημα 3–29 Απριλίου 2009, με γνώμονα το αναπτυξιακό στάδιο σύμφωνα με την κλίμακα Zadoks (45-50). Αμέσως μετά την ολοκλήρωση των μετρήσεων πεδίου, ακολούθησε δειγματοληψία των φύλλων (5 δείγματα/μεταχείριση) για την διεξαγωγή των εργαστηριακών μετρήσεων.

Γ. Μορφολογικές και Ανατομικές Παράμετροι

Γ.1. Μέτρηση Πάχους Φύλλου (LT)

Εγκάρσιες νωπές τομές φύλλου οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε απόσταση 3cm από τη βάση του ελάσματος, παρατηρήθηκαν στο Οπτικό Μικροσκόπιο (Zeiss Axiolab (Carl Zeiss, Jena, Germany)) και μετρήθηκε το πάχος των τομών με τη βοήθεια βαθμονομημένου προσοφθάλμιου φακού. Το πάχος του φύλλου εκφράστηκε σε μm.

Γ.2. Μέτρηση συνολικής επιφάνειας και ξηρού βάρους φύλλου – Υπολογισμός μάζας ανά φυλλική επιφάνεια (LMA)

Για τη μέτρηση της επιφάνειας των φύλλων ανά κατηγορία δείγματος, καταγράφηκαν φωτογραφίες νωπών φύλλων σε κάμερα SSCD 38P/45 (SONY Corporation, Japan) και αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή. Με τη βοήθεια του προγράμματος επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus, μετρήθηκε η επιφάνεια κάθε φύλλου και εκφράστηκε σε cm^2. Στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο φούρνο για ξήρανση στους 60 ^{o} C για 48 h και ζυγίστηκαν. Η μάζα ανά φυλλική επιφάνεια (LMA) υπολογίστηκε ως ο λόγος του ξηρού βάρους των φύλλων προς την αντίστοιχη φυλλική τους επιφάνεια (μονάδα ξηρού βάρους/ μονάδα επιφάνειας) ο οποίος εκφράστηκε σε g m^{-2}.

Γ.3. Υπολογισμός Πυκνότητας φύλλου (LD)

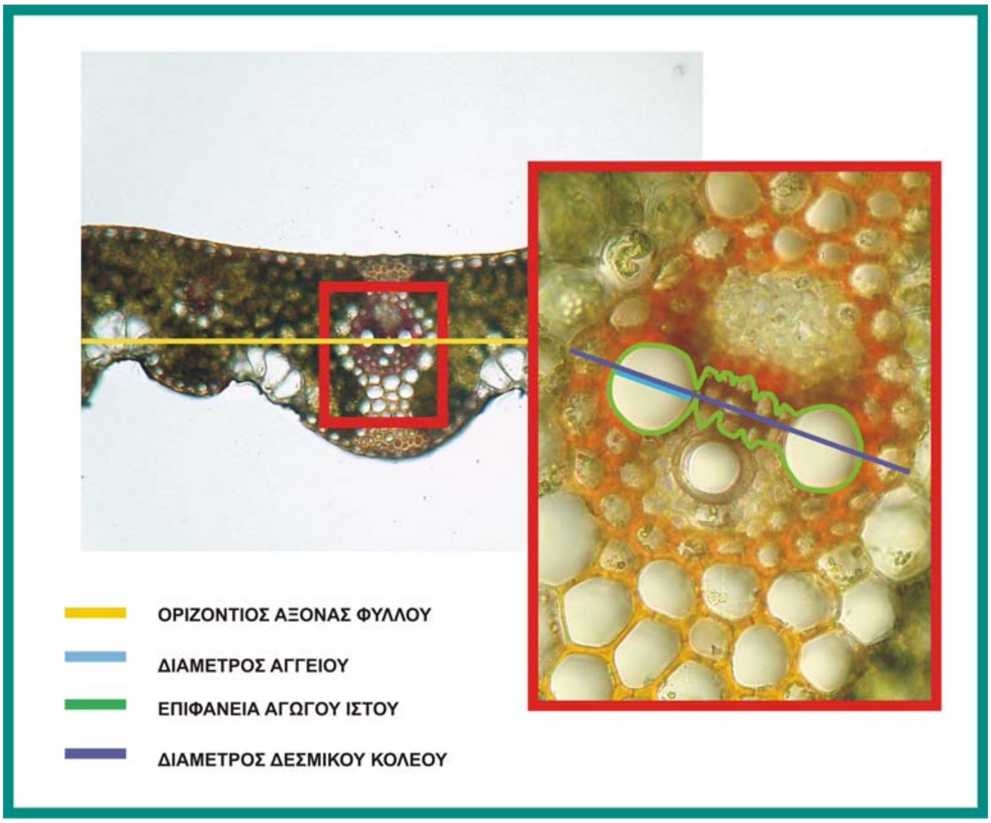
Η πυκνότητα φύλλου υπολογίστηκε διαιρώντας τη μάζα ανά φυλλική επιφάνεια με το πάχος.

Γ.4. Μέτρηση Πυκνότητας Στοματίων (Stom.D.)

Για τη μέτρηση της πυκνότητας των στοματίων παρατηρήθηκε η αποαξονική επιφάνεια νωπών δειγμάτων φύλλων στο Μικροσκόπιο Επιφθορισμού με προσπίπτον υπεριώδες φως (μέγιστη ενέργεια στα 365nm) χωρίς υγρό παρατήρησης. Ως επαγωγέας φθορισμού χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 1% διφαινολικό βορικό οξύ 2-αμινόαιθυλεστέρα (NOE). Υπό τις συνθήκες αυτές το στρώμα των επιεφυμενιδικών κηρών των καταφρακτικών κυττάρων φθορίζει έντονα μπλε φως ενώ αυτό των επιδερμικών κυττάρων εκπέμπει συγκριτικά ασθενέστερο φθορισμό με αποτέλεσμα να καθίσταται ευχερής η μέτρηση του αριθμού των στοματίων και να είναι διακριτός ο στοματικός πόρος (Karabourniotis et al. 2007). Καταγράφηκαν φωτογραφίες σε κάμερα SSCD 38P/45 (SONY Corporation, Japan) και αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή. Με τη βοήθεια του προγράμματος επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus, μετρήθηκε ο αριθμός των στοματίων. Η πυκνότητα των στοματίων εκφράστηκε σε στομάτια mm^{-2}.

Γ.5. Μέτρηση διαμέτρου δεσμικού κολεού – Μέτρηση διαμέτρου και επιφάνειας αγγείων αγωγού ιστού

Εγκάρσιες νωπές τομές φύλλου οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε απόσταση 3 cm από τη βάση του ελάσματος και για τις οποίες προηγήθηκε χρώση με Phloroglucinol (20% HCl), παρατηρήθηκαν στο Οπτικό Μικροσκόπιο (Zeiss Axiolab (Carl Zeiss, Jena, Germany)) και καταγράφηκαν φωτογραφίες των κεντρικών και δευτερευουσών (μεσαίου μεγέθους) ηθμαγγειωδών δεσμίδων σε κάμερα SSCD 38P/45 (SONY Corporation, Japan), οι οποίες αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή (Εικόνα 1). Με τη βοήθεια του προγράμματος επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus, μετρήθηκε η διάμετρος του δεσμικού κολεού και των αγγείων του αγωγού ιστού. Η διάμετρος εκφράστηκε σε μm και η επιφάνεια σε mm^2.



Εικόνα 1. Μικροφωτογραφία εγκάρσιας τομής φύλλου. Σε μεγέθυνση παρουσιάζεται η δευτερεύουσα νεύρωση (μεσαίου μεγέθους) μετά από χρώση με Phloroglucinol (20% HCl). Απεικονίζεται σχηματικά ο τρόπος μετρήσεων των χαρακτηριστικών του αγωγού ιστού.

Γ.6. Υπολογισμός πυκνότητας νευρώσεων ανά φύλλο (DV)

Εγκάρσιες νωπές τομές φύλλου οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε απόσταση 3 cm από τη βάση του ελάσματος και για τις οποίες προηγήθηκε χρώση με Phloroglucinol (20% HCl), παρατηρήθηκαν στο Οπτικό Μικροσκόπιο (Zeiss Axiolab (Carl Zeiss, Jena, Germany)) και καταμετρήθηκε ο αριθμός των ηθμαγγειωδών δεσμίδων ανά φύλλο. Η πυκνότητα των νευρώσεων υπολογίστηκε ως ο λόγος του αριθμού νευρώσεων ανά φυλλική επιφάνεια (σε $cm^{2)}$.

Γ.7. Υπολογισμός δείκτη κινδύνου διακοπής της στήλης νερού στα αγγεία (vulnerability index)

Ο κίνδυνος διακοπής της στήλης νερού στα αγγεία (vulnerability) υπολογίστηκε ως ο λόγος του μέσου όρου της διαμέτρου (σε mm) των αγγείων της κεντρικής νεύρωσης (M.VULN) καθώς και των δευτερευουσών (μεσαίου μεγέθους) (SV.VULN) νευρώσεων προς την πυκνότητα των νευρώσεων του φύλλου.

Γ.8. Υπολογισμός Huber value

Το Huber value υπολογίστηκε ως ο λόγος της συνολικής επιφάνειας των αγγείων του αγωγού ιστού προς το αντίστοιχο ξηρό βάρος του φύλλου και εκφράστηκε σε $mm^2\ g^{-1}$.

Γ.9. Υπολογισμός υδραυλικής αγωγιμότητας των αγγείων του φύλλου (k_{hp})

Η υδραυλική αγωγιμότητα k_{hp} υπολογίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση Hagen-Poiseuille (Gibson et al., 1984; Woodhouse and Nobel, 1982, Singh et al., 2000):

$$\mathbf{k_{hp}=(\ \pi/128n\ )\ \Sigma d_v^4}$$

d : η διάμετρος σε μm του νιοστού αγγείου

n : το ιξώδες του νερού σε MPa s (~10 Pa s στους 20^o C; Milburn, 1979)

Οι επιμέρους υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις εξής εξισώσεις:

- Η υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων της κεντρικής νεύρωσης του φύλλου

$$\mathbf{Mk_{hp} = (\pi/128n)\ \Sigma d_v^4}$$

d : η διάμετρος σε μm του κάθε αγγείου της κεντρικής νεύρωσης

- Η υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων των δευτερευουσών (μεσαίου μεγέθους) νευρώσεων

$$\mathbf{SVk_{hp} = \Sigma\ [(\pi/128n)\ \Sigma d_v^4]}$$

d : η διάμετρος σε μm του κάθε αγγείου της δευτερεύουσας νεύρωσης

- Η συνολική υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων του φύλλου

$$\mathbf{k_{hp} = Mk_{hp} + SVk_{hp}}$$

Η k_{hp} εκφράστηκε σε kg m MPa^{-1} $s^{-1}10^{-7}$. Παρόλο που ο υπολογισμός της k_{hp} σύμφωνα με την εξίσωση Hagen-Poiseuille υπερεκτιμά την πραγματική υδραυλική αγωγιμότητα, οι τιμές οι οποίες προκύπτουν λειτουργούν ως συγκρίσιμες μετρήσεις, αποδεκτές για όλα τα είδη (Steppe and Lemeur 2007).

Δ. Φωτοσυνθετικές παράμετροι

Δ.1. Υπολογισμός Συγκέντρωσης Χλωροφυλλών

Εκχύλιση DMSO

Από φύλλα ίδιας ηλικίας λαμβάνονταν δίσκοι διαμέτρου 0,85cm. Στη συνέχεια οι δίσκοι αφού τεμαχίστηκαν σε τεμάχια μεγέθους περίπου 1 mm2 τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες και προστέθηκαν 0,1gr $CaCO_3$ και 6ml DMSO και επωάστηκαν σε υδατόλουτρο στους 65°C για 40 min. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10min στα 2972 g. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και μετρήθηκε η απορρόφηση του στα 665 nm, 649 nm και 720nm σε φασματοφωτόμετρο Shimadzou UV 160. Για τον κάθε βιότυπο ανά μεταχείριση πραγματοποιήθηκαν 5 επαναλήψεις. Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων έγινε σύμφωνα με τις εξισώσεις (Lichtenthaler et al.):

Chl_a= 12,47 A665 – 3,62 A649

Chl_b= 25,06 A649 – 6,5 A665

Chl_{a+b}= Chl_a + Chl_b

Οι τελικές τιμές των συγκεντρώσεων των χλωροφυλλών εκφράστηκαν σε mgr Chl cm^{-2} επιφάνειας φύλλου.

Δ.2. Μέτρηση φωτοσυνθετικής ικανότητας & συναφών παραμέτρων

Οι μετρήσεις της φωτοσυνθετικής ικανότητας διεξήχθησαν στο διάστημα στο διάστημα 3–29 Απριλίου 2009 Μαΐου κατά τις πρωινές ώρες 8–12 πμ ηλιόλουστων ημερών. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το φορητό όργανο μέτρησης φωτοσύνθεσης LCpro+ (ADC Bioscientific Ltd, England). Ο φωτισμός του φύλλου στο θάλαμο του οργάνου πραγματοποιείται από πηγή LED . Οι μετρήσεις διεξήχθησαν υπό τις εξής συνθήκες: φωτισμό έντασης 1500 μmol φωτονίων m^{-2} s^{-1} και θερμοκρασία αέρα 23º C .

Το όργανο LCpro+ διαθέτει αυτόματο σύστημα μέτρησης και καταγραφής και άλλων παραμέτρων όπως η ταχύτητα διαπνοής (T) και η στοματική αγωγιμότητα (g_s).

Ε. Βιοχημικές παράμετροι

Ε.1. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικού αζώτου ανά επιφάνεια και ανά μάζα

Για τη μέτρηση του περιεχομένου αζώτου των φύλλων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Kjeldahl (Horneck and Miller, 1998). Η μέθοδος τροποποιήθηκε ώστε να καταστεί δυνατή η μέτρηση δειγμάτων μικρής μάζας.

Προετοιμασία δειγμάτων

Τα δείγματα αφυδατώθηκαν σε κλίβανο στους 60ºC για 48 ώρες, και στην συνέχεια λειοτριβήθηκαν και ομογενοποιήθηκαν. Διατηρήθηκαν σε ξηραντήρα μέχρι τηνστιγμή που χρησιμοποιήθηκαν.

Καύση δειγμάτων

Η ξηρά ουσία κάθε δείγματος ζυγίστηκε, τοποθετήθηκε σε φιάλη microkjeldahl και προστέθηκε 1 ml πυκνού H2SO4 και επαρκής ποσότητα καταλύτη (παρασκευαζόμενο με λειοτρίβηση και ομογενοποίηση 1gr $CuSO_4$, 8 gr K_2SO_4 και 1gr SeO_2). Με την χρήση Vortex εξασφαλίστηκε η ομογενοποίηση και ολική διαβροχή του δείγματος. Στην συνέχεια η φιάλη τοποθετήθηκε σε θερμαντικό στοιχείο Tecator Block Digestor 2006 (Diversified Equipment Company, Lorton, VA, USA) στους 410ºC για περίπου 20–30 min μέχρι το περιεχόμενο να γίνει τελείως διαυγές και με χρώμα πράσινο του μήλου. Κατά την διάρκεια της καύσης πραγματοποιείται οξείδωση της οργανικής ουσίας με αποτέλεσμα το άζωτο (εκτός αυτού που βρίσκεται υπό μορφή νιτρικών ιόντων) να μετατρέπεται ποσοτικά σε αμμωνία και αυτή σε θειικό αμμώνιο. Κρίνεται σκόπιμη κατά τη διάρκεια της καύσης η ανάδευση των φιαλών microkjeldahl ανά 10 λεπτά περίπου.

Στάδιο απόσταξης

Το προϊόν της καύσης μεταφέρθηκε σε κυλινδρική φιάλη Kjeldahl. Για την ποσοτική μεταφορά του προϊόντος έγιναν πλύσεις κάθε φιάλης microkjeldahl με 10 ml απεσταγμένου νερού. Ακολούθως προστέθηκαν 10 ml NaOH 40% w/v. Στη συνέχεια η φιάλη Kjeldahl τοποθετήθηκε στην κατάλληλη θέση σε αποστακτήρα Tecator Kjeltec System 1002 Distilling Unit (Diversified Equipment Company). Στην θέση συλλογής του αποστάγματος της συσκευής τοποθετήθηκε γυάλινη κωνική φιάλη των 100 ml που περιείχε 20 ml H_3BO_3 2% w/w και 3 σταγόνες δείκτη Conway (παρασκευαζόμενου με ανάμιξη 12 ml δ/τος Α (ως 25 ml αιθυλικής αλκοόλης 95% και 40 mg ερυθρού του μεθυλίου και μηχανική ανάδευση με ελαφρά θέρμανση κατά την οποία τα αντιδραστήρια πρέπει να διαλυθούν πλήρως), 24 ml δ/τος Β (ως 25 ml απεσταγμένου νερού και 10 mg πράσινου της βρωμοκρεσόλης και ανάδευση) και 12 ml αλκοόλης 95%. Τελικός όγκος δείκτη 48 ml). Ακολούθησε απόσταξη κατά την οποία το θειικό αμμώνιο σε αλκαλικό περιβάλλον διασπάται και παράγεται αμμωνία η οποία διαβιβάζεται στην κωνική μετο διάλυμα βορικού οξέος. Η απόσταξη συνεχίστηκε έως συνολικού όγκου 40 ml του διαλύματος απόσταξης.

Τιτλοδότηση δειγμάτων

Μετά το πέρας της απόσταξης πραγματοποιήθηκε τιτλοδότηση του διαλύματος απόσταξης με HCl N/28. Το σημείο εξουδετέρωσης ορίσθηκε μέσω αλλαγής του χρώματος του δείκτη Conway από ανοιχτό πράσινο σε ροζ σε τιμή pH 5,5.

Υπολογισμός περιεχόμενου αζώτου

Για την αναγωγή των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε σειρά πρότυπων διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης αζώτου (10–100 mg l^{-1}, 6 σημεία, r^2 0,9972). Σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη αναφοράς, 1 ml HCl N/28 αντιστοιχούσε σε 0,52 mg αζώτου.

Ε.2. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικών φαινολικών

Για τη μέτρηση των περιεχομένων φαινολικών των φύλλων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu (Waterman & Mole (1994).

Εκχύλιση

Ζυγίστηκαν 50 mg κονιορτοποιημένου ξηρού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 6ml υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50 %, σφραγίστηκαν και επωάστηκαν σε υδατόλουτρο στους 40^{o}C για 1 h (με ανάδευση κάθε 10 min). Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 min στα 4000g. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και τοποθετήθηκε σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες.

Αντίδραση

Σε μεγαλύτερου μεγέθους δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 3.950μl απιονισμένου νερού, 50μl του υπερκείμενου, 250μl αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu. Ακολούθησε επώαση για χρονικό διάστημα 1-8 min σε θερμοκρασία δωματίου και προστέθηκαν 750μl διαλύματος ανθρακικού ασβεστίου (Na_2CO_3). Στο τυφλό διάλυμα σε αντικατάσταση των 50 μl του υπερκείμενου προστεθήκαν 50 μl υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50 % και ακολούθησε η ίδια διαδικασία.

Η ομογενοποίηση των δειγμάτων έγινε με αναδευτήρα Vortex. Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 2 h. Η απορρόφηση για κάθε δείγμα μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 160) στα 760nm. Κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς για διαφορετικές συγκεντρώσεις ταννικού οξέος. Η συγκέντρωση συνολικών φαινολικών εκφράστηκε σε mg ισοδύναμου ταννικού οξέος ανά g ξηρής ουσίας.

Ε.3. Υπολογισμός συγκέντρωσης ταννινών

Για τη μέτρηση των περιεχομένων ταννινών των φύλλων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος προανθοκυανιδίνης, η οποία προτάθηκε από τους Waterman & Mole (1994).

Εκχύλιση

Ζυγίστηκαν 50mg κονιορτοποιημένου ξηρού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 6ml υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50 %, σφραγίστηκαν και επωάστηκαν σε υδατόλουτρο στους 40^oC για 1 h (με ανάδευση κάθε 10 min). Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 min στα 4000xg. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και τοποθετήθηκε σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες.

Προετοιμασία αντιδραστηρίου βουτανόλης

Σε ογκομετρικό σωλήνα 1lt προστέθηκαν 50ml συμπυκνωμένου υδροχλωρικού οξέος (HCl) και 0,7 g $FeSO_4.6\text{-}7H_2O$ και συμπληρώθηκε ο όγκος 1lt με βουτανόλη.

Αντίδραση

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 7 ml του αντιδραστηρίου βουτανόλης και 500 μl του υπερκείμενου. Στο τυφλό διάλυμα σε αντικατάσταση των 500μl του υπερκείμενου προστεθήκαν 500 μl υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50 %.

Η ομογενοποίηση των δειγμάτων έγινε με αναδευτήρα Vortex. Στη συνέχεια σφραγίστηκαν και επωάστηκαν σε υδατόλουτρο στους 95^oC για 40 min - 1 h. Μετά την επώαση τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν και ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης. Η απορρόφηση για κάθε δείγμα μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 160) στα 550nm.

Στ. Μετρήσεις δυναμικού του νερού Ψ_w του φύλλου και υπολογισμός του δείκτη WPI.

Οι μετρήσεις του δυναμικού του νερού του φύλλου πραγματοποιήθηκαν ανά τακτά χρονικά διαστήματα στις 12.00 π.μ. με τη μέθοδο Schollander (1964). Σύμφωνα με τα δεδομένα των μετρήσεων τα οποία παραχωρήθηκαν από το Εργαστήριο Γεωργίας του Γ.Π.Α. , πραγματοποίηθηκε ο υπολογισμός του WPI σύμφωνα με τη μέθοδο που προτάθηκε από τους Karamanos and Papatheoxari (1999). Ο WPI αντιπροσωπεύει την συνολική υδατική καταπόνηση καθόλη τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.

Ζ. Στατιστική Ανάλυση

Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων των μεταχειρίσεων εντοπίστηκαν με ανάλυση διασποράς (ANOVA) και πολλαπλές συγκρίσεις μέσω του κριτηρίου Tukey-Kramer (Jmp 7.0, SAS Institute Inc, Cary, NC) όπου ίσχυαν οι προϋποθέσεις της κανονικότητας και της ομοιότητας των διασπορών των μέσων.

Η ανάλυση παλινδρόμησης πραγματοποιήθηκε για όλα τα πιθανά ζεύγη, μεταξύ του συνόλου των 35 παραμέτρων οι οποίες μελετήθηκαν σε επίπεδο βιοτύπου αλλά και συνολικά. Από το πλήθος των 2380 αρχικών αναλύσεων (Microsoft Excel), οι (~)630 παρουσίαζαν $r^2 > 0,7$ (Πίνακας 1 παράρτημα). Από αυτές ακολούθησε εκ νέου επιλογή με κριτήριο το πλήθος των συσχετίσεων κάθε παραμέτρου τόσο σε επίπεδο βιότυπου αλλά και συνολικά. Το επιμέρους αυτό σύνολο, αναλύθηκε περαιτέρω (STATGRAPHICS Plus, Version 4, Copyright 1994-1999) και για την παρουσίαση των τελικών αποτελεσμάτων επιλέχθηκαν μόνον οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις σε επίπεδο σημαντικότητας 95% ($P \leq 0.05$).

ΣΚΟΠΟΣ

Ως γνωστόν, η ξηρασία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες καταπόνησης και περιορισμού της παγκόσμιας γεωργικής παραγωγής . Σήμερα, η συνεχώς αυξανόμενη ανησυχία για τις επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής οδηγεί την έρευνα σε νέες κατευθύνσεις οι οποίες έχουν ως στόχο την βελτιστοποίηση των καλλιεργητικών μεθόδων και την επιλογή γονοτύπων με λιγότερες απαιτήσεις σε νερό. Η έρευνα με αντικείμενο τους μηχανισμούς αντιμετώπισης της υδατικής καταπόνησης κρίνεται όλο και πιο σημαντική καθώς τα σενάρια της κλιματικής αλλαγής προβλέπουν αύξηση της ξηρασίας σε πολλές περιοχές της υφηλίου.

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της υδατικής καταπόνησης σε μορφολογικές, ανατομικές, φυσιολογικές και βιοχημικές παραμέτρους ανθεκτικών και μη ποικιλιών σίτου. Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκαν τρεις βιότυποι σκληρού σίτου, με γνώμονα το διαφορετικό βαθμό ευαισθησίας τους στην υδατική καταπόνηση, ο οποίος έχει αναφερθεί από άλλους ερευνητές, και μελετήθηκαν συγκριτικά κρίσιμες ανατομικές, φυσιολογικές και βιοχημικές παράμετροι, οι οποίες σχετίζονται με την αντοχή στην ξηρασία. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στον προσδιορισμό των ανατομικών παραμέτρων που σχετίζονται με το αγγειακό σύστημα και των φυσιολογικών παραμέτρων που σχετίζονται με τη διαπνοή και τη φωτοσύνθεση ώστε να διερευνηθεί εάν ο βαθμός εγκλιματισμού του αγγειακού συστήματος σχετίζεται με άλλες κρίσιμες λειτουργίες του φυτού.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ως γνωστόν, η υδατική καταπόνηση προκαλεί ένα ευρύ φάσμα αντιδράσεων στο φυτικό οργανισμό. Για τον λόγο αυτό κρίθηκε σκόπιμη η μελέτη της επίδρασης αυτής σε μορφολογικό, ανατομικό, φυσιολογικό και βιοχημικό επίπεδο.

Α. Μορφολογικές παράμετροι

Οι μορφολογικές παράμετροι οι οποίες υπολογίστηκαν είναι:

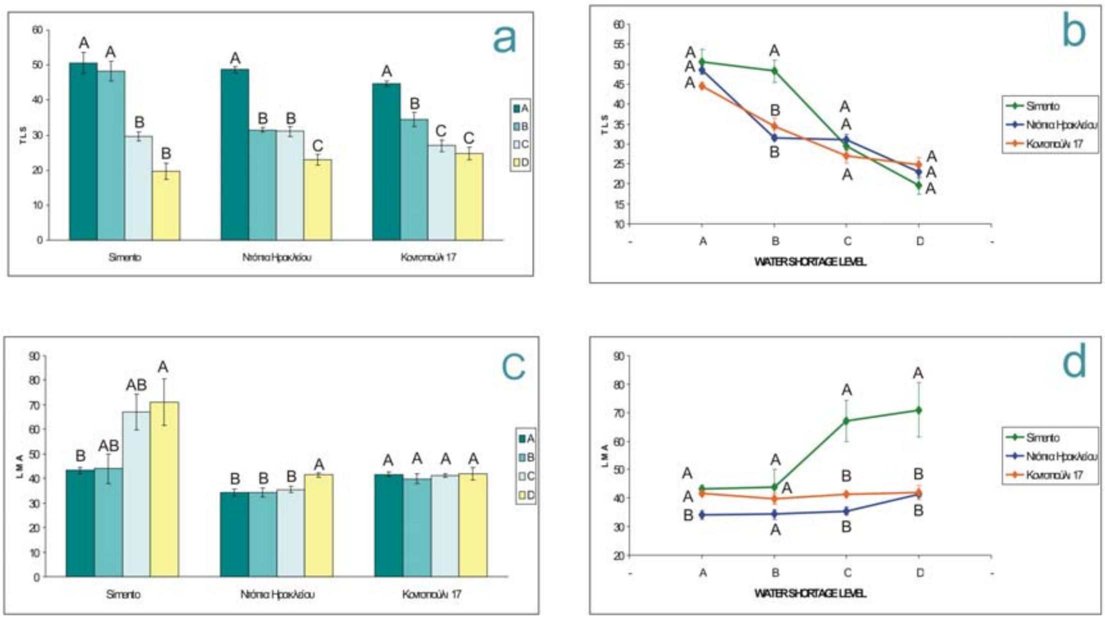
- η συνολική επιφάνεια του φύλλου (TLS),
- η μάζα ανά φυλλική επιφάνεια (LMA),
- το ξηρό βάρος του φύλλου (DW),
- το πάχος του φύλλου και (LT)
- η πυκνότητα του φύλλου (LD).

Α.1. Συνολική επιφάνεια του φύλλου (TLS),

Στην εικόνα 1(a ,b) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της TLS για τους τρεις βιότυπους: Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (water shortage level: A, B,C, D). Αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης παρατηρείται μείωση των τιμών της παραμέτρου TLS και στους τρεις βιότυπους, ωστόσο η μείωση είναι εντονότερη στην ποικιλία Simeto σε σύγκριση με τους πληθυσμούς Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17.

Α.2. Μάζα ανά φυλλική επιφάνεια (LMA)

Οι μέσοι όροι της LMA σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης για τους τρεις παραπάνω βιότυπους παρουσιάζονται στην εικόνα 1(c ,d). Παρατηρείται σημαντική αύξηση της LMA αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης στην ποικιλία Simento και μικρή αύξηση στον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου, ενώ δεν παρατηρείται μεταβολή στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17.



Εικόνα 1. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στις μορφολογικές παραμέτρους TLS και LMA στους 3 βιότυπους Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17 ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P \leq 0.05$). Οι διαφορές των μέσων όρων εντοπίστηκαν μέσω συγκρίσεων α. μεταξύ των μέσων όρων σε κάθε επίπεδο καταπόνησης ανά βιότυπο (Εικόνες 1a και 1b) και β. μεταξύ των μέσων όρων κάθε βιότυπου ανά επίπεδο καταπόνησης (Εικόνες 1c και 1d).

Β. Ανατομικές παράμετροι

Όπως προαναφέρθηκε, στόχο της ερευνητικής εργασίας αυτής αποτελεί η διερεύνηση της ικανότητας εγκλιματισμού του αγγειακού συστήματος των φύλλων ως μέρος του μηχανισμού αντοχής στην ξηρασία. Σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες, η πιθανότητα δημιουργίας εμβολών καθορίζεται από ανατομικές και βιοχημικές παραμέτρους του αγγειακού συστήματος (Hacke et al., 2001a; Jacobsen et al., 2007a,b,c;).Για το λόγο αυτό μελετήθηκαν κυρίως τα ανατομικά χαρακτηριστικά του ξύλου όπως:

- η διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης (MVD) και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SVD) του φύλλου
- η διάμετρος του δεσμικού κολεού της κεντρικής νεύρωσης (MBSD) και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SBSD) του φύλλου
- η επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης (MVCA) και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων του (SVCA) φύλλου
- η συνολική επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού (TCA= MVCA+ SVCA) του φύλλου

- η πυκνότητα των νευρώσεων ανά φυλλική επιφάνεια (DV)
- ο κίνδυνος διακοπής της στήλης νερού στα αγγεία (M.VULN, SV.VULN)
- το Huber value (H=TCA/DW)
- η υδραυλική αγωγιμότητα της κεντρικής νεύρωσης (Mk_{hp}) και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SVk_{hp})του φύλλου και
- η συνολική υδραυλική αγωγιμότητα (K_{hp}= Mk_{hp}+ SVk_{hp}) του φύλλου.

Επίσης, μετρήθηκε η πυκνότητα των στοματίων του φύλλου (STOM.D.).

B.1. Διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης (MVD) του φύλλου

Στην εικόνα 2(a, b) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της MVD για τους τρεις βιότυπους: Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (water shortage level: A, B, C, D). Παρατηρείται σχετική μείωση της MVD στην ποικιλία Simeto και στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17 (εικόνα 2.a), ενώ δεν παρατηρείται μεταβολή στον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου όσο αυξάνεται το επίπεδο καταπόνησης. Επίσης, στην εικόνα 2.b παρατηρείται ότι στον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου η MVD παραμένει μεγαλύτερη σε σύγκριση με τους άλλους δύο βιότυπους.

B.2. Διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SVD) του φύλλου

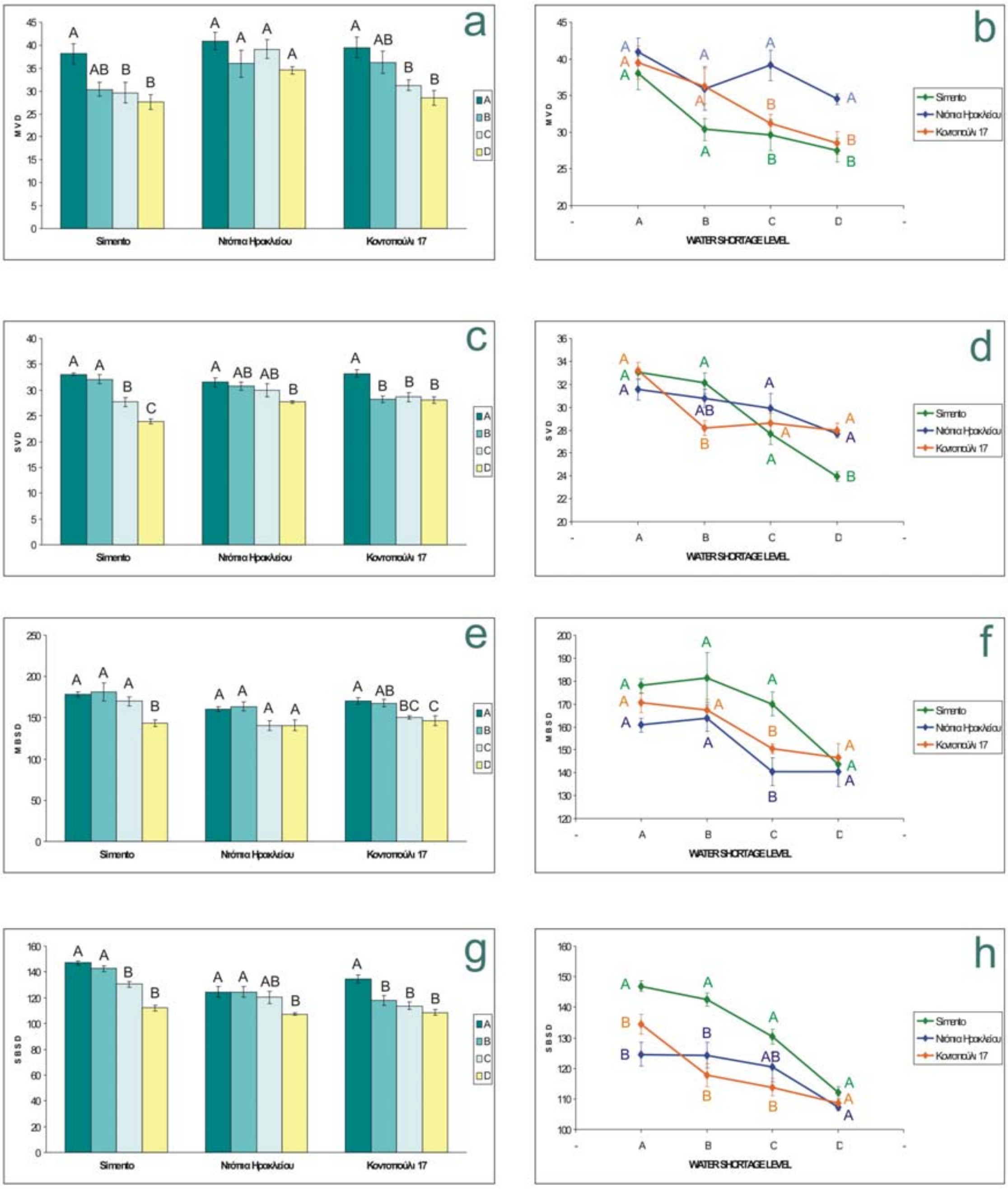
Στην εικόνα 2(c, d) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της SVD για τους παραπάνω βιότυπους σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης. Παρατηρείται μείωση της SVD όσο αυξάνεται το επίπεδο καταπόνησης και στους τρεις βιότυπους. Η SVD μειώνεται εντονότερα στην ποικιλία Simento σε σύγκριση με τους δύο πληθυσμούς.

B.3. Διάμετρος του δεσμικού κολεού της κεντρικής νεύρωσης (MBSD) του φύλλου

Στην εικόνα 2(e, f) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της MBSD για τους τρεις βιότυπους σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης. Παρατηρείται μείωση της MBSD όσο αυξάνεται το επίπεδο καταπόνησης στο σύνολο των δειγμάτων. Στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17 παρατηρείται εντονότερη μείωση σε σύγκριση με τους άλλους δύο βιότυπους.

B.4. Διάμετρος του δεσμικού κολεού των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SBSD) του φύλλου

Οι μέσοι όροι της SBSD παρουσιάζονται στην εικόνα 2(g, h) Και στην περίπτωση αυτή παρατηρείται μείωση της SBSD όσο αυξάνεται το επίπεδο καταπόνησης και στους τρεις βιότυπους. Όπως φαίνεται στην εικόνα 2, h η ποικιλία Simeto διαθέτει μεγαλύτερης διαμέτρου δεσμικό κολεό σε σύγκριση με τους δύο πληθυσμούς.



Εικόνα 2. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στις ανατομικές παραμέτρους MVD, SVD, MBSD, και SBSD στους 3 βιότυπους Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17 ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P \leq 0.05$). Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

B.5. Επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης (MVCA) του φύλλου

Κατόπιν μετρήσεως της MVCA των τριών βιοτύπων σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα καταπόνησης παρατηρήθηκε μείωση της MVCA του φύλλου και στους τρεις βιότυπους όσο αυξάνεται το επίπεδο καταπόνησης.

B.6. Επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SVCA) του φύλλου

Επίσης πραγματοποιήθηκε μέτρηση της SVCA των τριών βιοτύπων σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα καταπόνησης. Μετά τη μέτρηση διαπιστώθηκε μείωση της SVCA του φύλλου όσο αυξάνεται το επίπεδο καταπόνησης στο σύνολο των δειγμάτων.

B.7. Συνολική επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού (TCA) του φύλλου

Όπως προαναφέρθηκε η TCA προκύπτει από το άθροισμα των δύο προηγούμενων παραμέτρων και μπορεί να θεωρηθεί ότι αντιπροσωπεύει και τις δύο προηγούμενες. Στην εικόνα 3(a, b) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της TCA για τους τρεις βιότυπους: Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση της TCA στην ποικιλία Simeto, ενώ δεν παρατηρείται μεταβολή στους άλλους δύο πληθυσμούς, παρόλο που εμφανίζουν την ίδια τάση. Επίσης στην εικόνα 3.b παρατηρείται ότι στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17 η TCA παραμένει σημαντικά μεγαλύτερη σε σύγκριση με τους άλλους δύο βιότυπους.

B.8. Πυκνότητα νευρώσεων ανά φύλλο (DV)

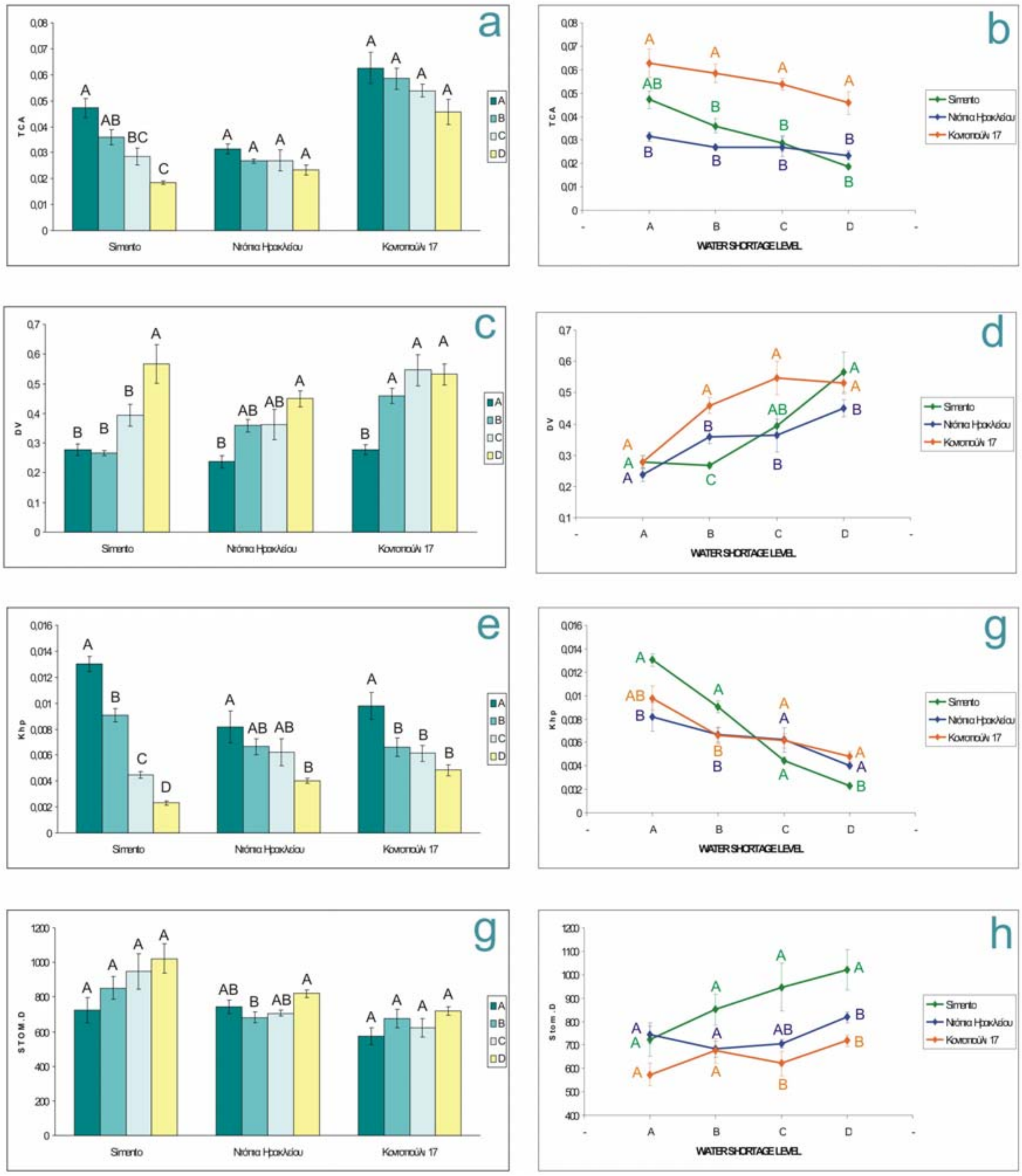
Στην εικόνα 3 (c, d) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της DV των τριών βιοτύπων αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης. Διαπιστώνεται ότι σε όλους τους βιότυπους αυξάνεται η παράμετρος DV. Αξίζει να σημειωθεί ότι στους πληθυσμούς Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17 παρατηρείται αύξηση του μέσου όρου της DV ήδη από το επίπεδο B.

B.9. Συνολική υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων του φύλλου (k_{hp})

Η παράμετρος k_{hp} αποτελεί το άθροισμα της υδραυλικής αγωγιμότητας της κεντρικής νεύρωσης (Mk_{hp}) και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SVk_{hp}) του φύλλου ($K_{hp}= Mk_{hp}+ SVk_{hp}$; βλ. Κεφ. Υλικά και Μέθοδοι).Στην εικόνα 3(e, f) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της k_{hp} για τους τρεις βιότυπους: Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (water shortage level: A, B, C, D). Παρατηρείται μείωση της k_{hp} και στους τρεις βιότυπους όσο αυξάνεται το επίπεδο καταπόνησης. Στην ποικιλία Simeto παρατηρείται εντονότερη μείωση σε σύγκριση με τους δύο πληθυσμούς.

B.10. Πυκνότητα των στοματίων (STOM.D.)

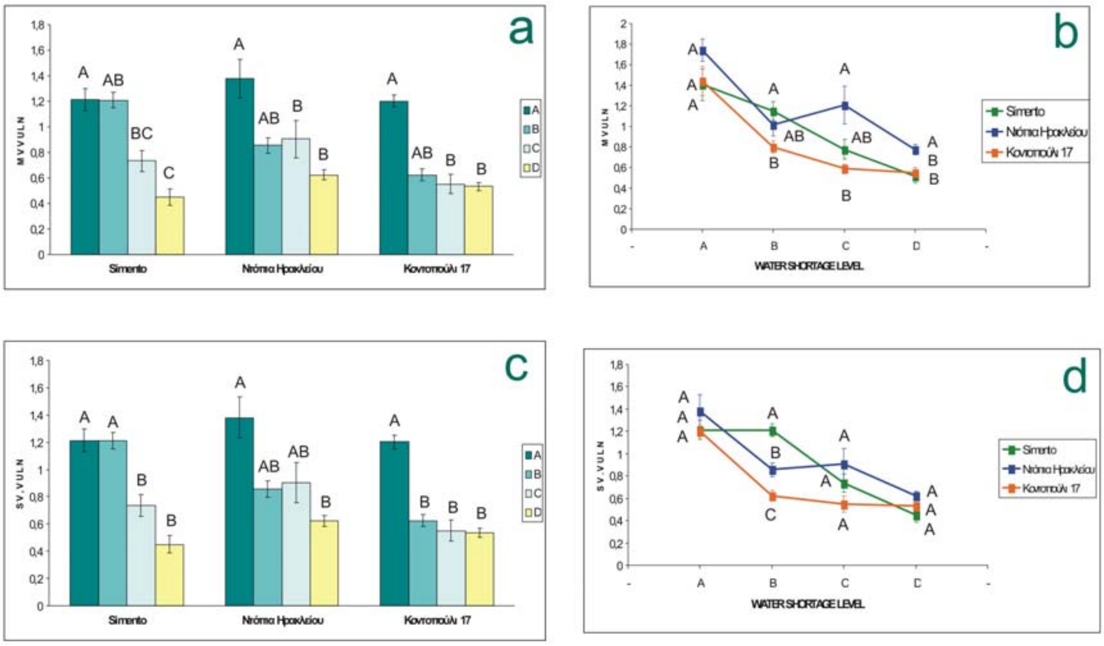
Στην εικόνα 3(g, h) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της STOM.D. για τους τρεις βιότυπους: Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (water shortage level: A, B, C, D). Παρατηρείται τάση αύξησης της STOM.D. και στους τρεις βιότυπους αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης, ωστόσο η αύξηση είναι στατιστικά σημαντική μόνο στην περίπτωση του πληθυσμού Ντόπια Ηρακλείου.



Εικόνα 3. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στις ανατομικές παραμέτρους TCA, DV, k_{hp} και STOM.D στους 3 βιότυπους Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17 ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (P ≤ 0.05). Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

B.11. Δείκτης κινδύνου διακοπής της στήλης νερού στα αγγεία (Vulnerability index)

Οι μέσοι όροι του Vulnerability index (M.VULN και SV.VULN) παρουσιάζονται στην εικόνα 4(a, b, c, d) για τους παραπάνω βιότυπους, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης. Αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης παρατηρείται μείωση του Vulnerability index της κεντρικής νεύρωσης (M.VULN.)(εικόνα 4 a, b) και των δευτερευουσών νευρώσεων (SV.VULN) (εικόνα 4 c, d) του φύλλου και στους τρεις βιότυπους.



Εικόνα 4. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στον Vulnerability index στους 3 βιότυπους Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17 ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P \leq 0.05$). Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

Γ. Φυσιολογικές παράμετροι

Οι φυσιολογικές παράμετροι οι οποίες υπολογίστηκαν είναι:

- η μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά επιφάνεια ($A_{max,a}$)
- η μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μάζα ($A_{max,m}= A_{max,a}\ LMA^{-1}$)
- η διαπνοή (T)
- η στοματική αγωγιμότητα (g_s)
- η αποτελεσματικότητα χρήσης νερού (WUE(A/T), WUE(A/g_s))
- ο δείκτης υδατικού δυναμικού (WPI).

Γ.1. Μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μάζα ($A_{max,m}$) και ανά επιφάνεια ($A_{max,a}$)

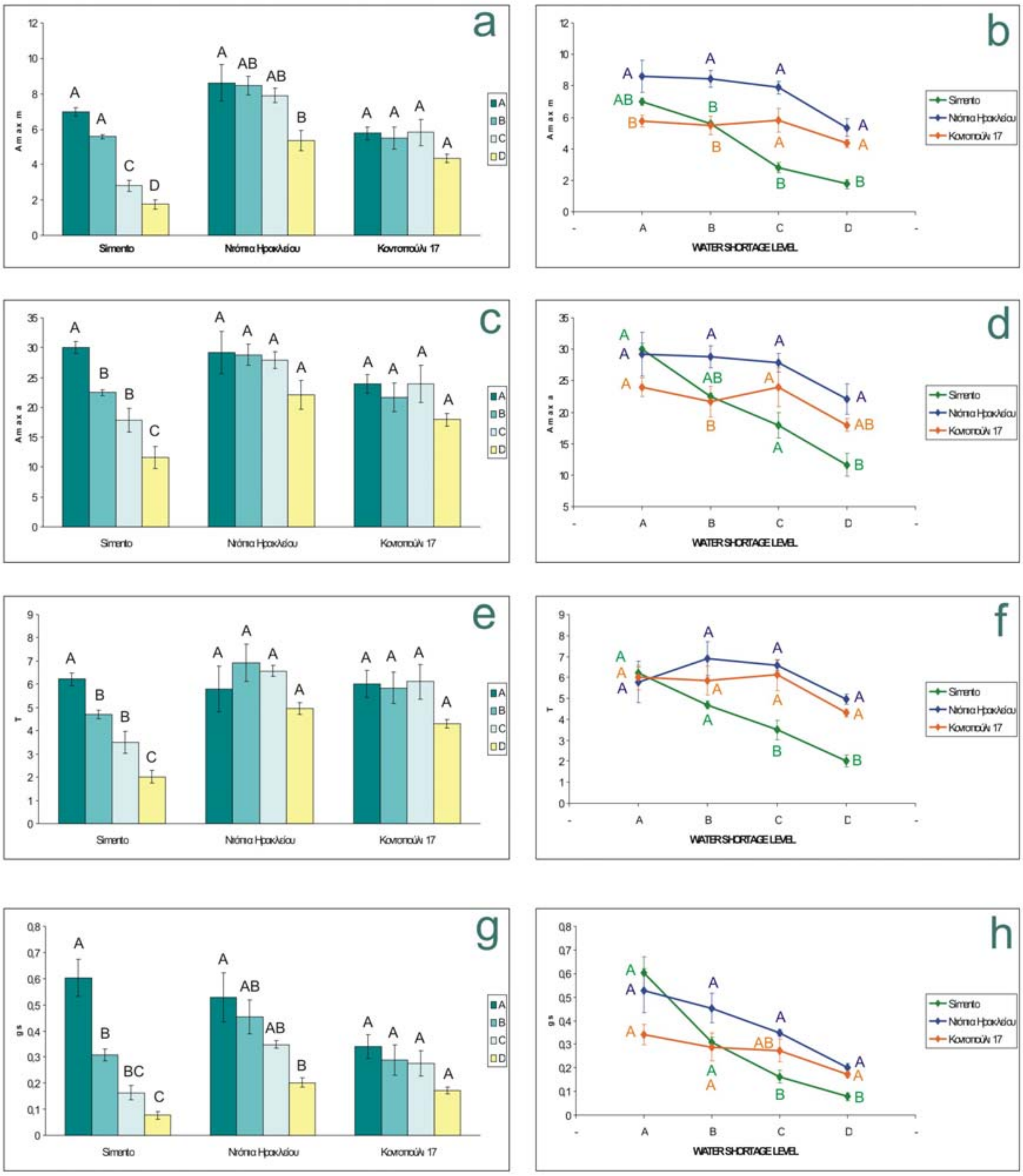
Στην εικόνα 5(a, b, c, d) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της $A_{max,a}$ και $A_{max,m}$ για τους τρεις βιότυπους: Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (water shortage level: A, B, C, D). Παρατηρείται μείωση της $A_{max,m}$ και $A_{max,a}$ στην ποικιλία Simeto, ενώ στους πληθυσμούς παρατηρείται τάση μείωσης αυξανομένου του επιπέδου υδατικής καταπόνησης. Η μείωση της είναι $A_{max,m}$ είναι στατιστικά σημαντική στον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου.

Γ.2. Διαπνοή (T)

Οι μέσοι όροι της T για τους τρεις βιότυπους παρουσιάζονται στην εικόνα 5(e, f) . Παρατηρείται μείωση της T στην ποικιλία Simento, ενώ στους πληθυσμούς παρατηρείται τάση μείωσης αυξανομένου του επιπέδου υδατικής καταπόνησης. Η μείωση δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Γ.3. Στοματική αγωγιμότητα (g_s)

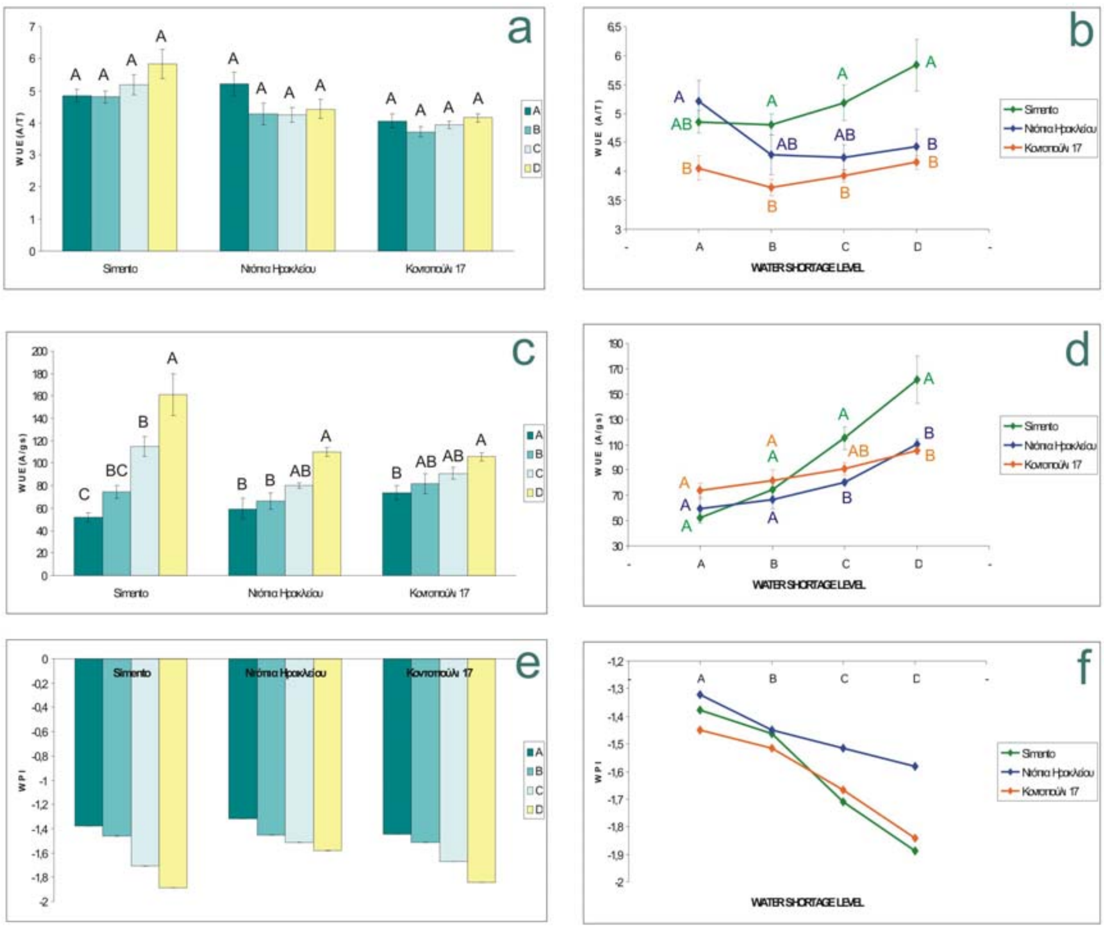
Η μείωση των τιμών της παραμέτρου g_s παρουσιάζεται στην εικόνα 5(g, h). Η παράμετρος g_s παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μείωση μόνο στην ποικιλία Simeto, ενώ στους πληθυσμούς παρατηρείται τάση μείωσης αυξανομένου του επιπέδου υδατικής καταπόνησης, η οποία είναι στατιστικά σημαντική στη Ντόπια Ηρακλείου.



Εικόνα 5. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στις φυσιολογικές παραμέτρους $A_{max\ a}$, $A_{max\ m}$, T, και g_s στους 3 βιότυπους Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17 ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P \leq 0.05$). Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

Γ.4. Αποτελεσματικότητα χρήσης νερού (WUE(A/T), WUE(A/g_s))

Στην εικόνα 6(a, b, c, d) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των WUE(A/T) και WUE(A/g_s)για τους τρεις βιότυπους: Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (water shortage level: A, B, C, D). Παρατηρείται στατιστικά σημαντική αύξηση μόνο της WUE(A/g_s) στους τρεις βιότυπους όσο αυξάνεται το επίπεδο καταπόνησης. Ειδικότερα, στην ποικιλία Simeto παρατηρείται εντονότερη αύξηση με αποτέλεσμα στο επίπεδο D η WUE(A/g_s) αυτής να είναι σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με τους δύο πληθυσμούς, οι οποίοι φαίνεται να ακολουθούν την ίδια συμπεριφορά.



Εικόνα 6. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στις φυσιολογικές παραμέτρους WUE(A/T), WUE(A/g_s) και WPI στους 3 βιότυπους Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17 ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P \leq 0.05$). Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

Γ.5. Δείκτης υδατικού δυναμικού (WPI)

Η μεταβολή του WPI για τους τρεις βιότυπους παρουσιάζεται στην εικόνα 6 (e, f). Η μείωση των τιμών του WPI, η οποία παρατηρείται και στους τρεις βιότυπους, ήταν αναμενόμενη και επιβεβαιώνει τον αρχικό διαχωρισμό σε τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης. Εντονότερη μείωση του WPI παρατηρείται στην ποικιλία Simeto και στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17.

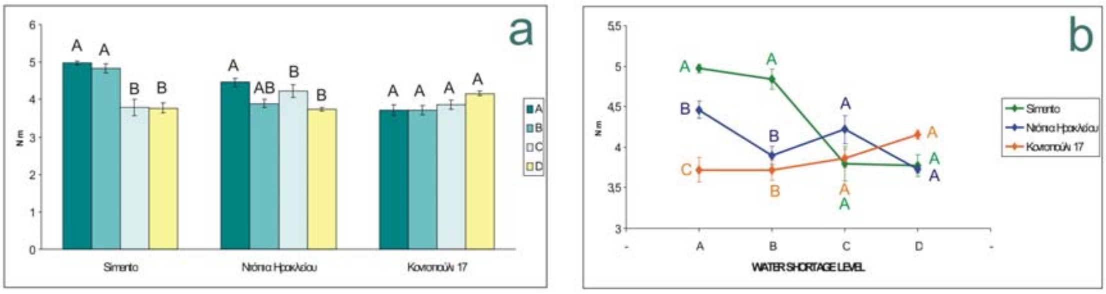
Δ. Βιοχημικές παράμετροι

Οι βιοχημικές παράμετροι οι οποίες υπολογίστηκαν είναι:

- Το συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά μάζα (N_m)
- Το συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά επιφάνεια (N_a)
- Το συνολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών ανά επιφάνεια και ανά μάζα (Ph_a, Ph_m)
- Η συνολική συγκέντρωση ταννινών
- Η συνολική συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά επιφάνεια ($Chl_{(a+b)\ a}$)
- Η συνολική συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά μάζα ($Chl_{(a+b)\ m}$).

Δ.1. Συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά μάζα (N_m)

Στην εικόνα 7 (a, b) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι του N_m για τους τρεις βιότυπους, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης. Παρατηρείται μείωση του N_m στην ποικιλία Simeto και στον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης, ενώ αντίθετα στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17 παρατηρούνται αυξητικές τάσεις.



Εικόνα 7 . Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην N_m στους 3 βιότυπους Simeto, Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17 ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P \leq 0.05$). Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

Δ.2. Συνολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών ανά επιφάνεια και ανά μάζα (Ph_a, Ph_m)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μετρήσεων του συνολικού περιεχομένου των φαινολικών συστατικών, η μεταβολή των Pha και Phm δεν ακολουθούσε σταθερό πρότυπο αυξανομένου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης σε κανέναν από τους τρεις βιότυπους. Τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται διότι δεν τηρούσαν τα κριτήρια επιλογής των τελικών αποτελεσμάτων (βλ. Υλικά και Μέθοδοι, § ΣΤ).

Δ.3. Συγκέντρωση ταννινών

Δεν ανιχνεύθηκαν ταννίνες σε κανέναν από τους τρεις βιότυπους.

Δ.4. Συνολικό περιεχόμενο χλωροφυλλών ανά επιφάνεια ($Chl_{(a+b)\ a}$) και ανά μάζα ($Chl_{(a+b)\ m}$).

Τα αποτελέσματα της μέτρησης του περιεχομένου των χλωροφυλλών ανά επιφάνεια ($Chl_{(a+b)\ a}$) και ανά μάζα ($Chl_{(a+b)\ m}$) δείχνουν ότι οι τιμές αυτών των παραμέτρων παρουσιάζουν μείωση αυξανομένου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης στην ποικιλία Simeto και τάση μείωσης στον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου, ενώ στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17 παρατηρείται αύξηση. Τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται διότι δεν τηρούσαν τα κριτήρια επιλογής των τελικών αποτελεσμάτων (βλ. Υλικά και Μέθοδοι, § ΣΤ).

Ε. Ανάλυση παλινδρόμησης

Οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις ανά ζεύγος παραμέτρων παρουσιάζονται στους Πίνακες 1 έως 4. Στον Πίνακα 1 εμφανίζονται οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των παραμέτρων για την ποικιλία Simeto, στον Πίνακα 2 για τον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου, στον Πίνακα 3 για τον πληθυσμό Κοντοπούλι 17 και συνολικά στον Πίνακα 4 .

Σύμφωνα με τους παρακάτω πίνακες, το διαφορετικό πλήθος και η διασπορά των συσχετίσεων για κάθε βιότυπο καταδεικνύει τις διαφορές μεταξύ των βιοτύπων ως προς την ευαισθησία τους στην υδατική καταπόνηση. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 1 το πλήθος των συσχετίσεων στην ποικιλία Simeto είναι μεγαλύτερο σε σύγκριση με τους δύο πληθυσμούς. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει τον υψηλότερο βαθμό καταπόνησης της ποικιλίας Simeto έναντι των πληθυσμών.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ύπαρξη σημαντικών συσχετίσεων οι οποίες προέκυψαν από την συνολική ανάλυση των παραμέτρων ανεξαρτήτως βιότυπου. Οι συσχετίσεις αυτές παρουσιάζονται στον Πίνακα 4 και υποδηλώνουν ότι ακολουθείται ένα κοινό πρότυπο αντιδράσεων εγκλιματισμού ανεξαρτήτως βιότυπου.

SIMETO

	LMA	STOM.D	Amax a	Amax m	T	g_s	WUE(A/T)	WUE(A/gs)	WPI	Nm	TCA	DV	Khp	MVULN	SV.VULN.
TLS (cm^2)	-0,985(*)			0,980(*)				-0,982(*)	0,996(**)	0,965(*)			0,958(*)	0,99(*)	0,998(**)
LMA (gm^{-2})				-0,973(*)					-0,970(*)	-0,993(**)				-0,954(*)	-0,98(*)
Amax a (μmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)		-0,995(**)			0,999(**)	0,976(*)		-0,977(*)	0,965(*)		0,999(***)		0,986(*)	0,994(**)	
Amax m (nmol CO_2 $g^{-1}s^{-1}$)		-0,982(*)			0,978(*)	0,953(*)		-0,974(*)	0,987(*)	0,974(*)	0,973(*)		0,994(**)	0,988(*)	0,964(*)
T (mmol H_2O $m^{-2}s^{-1}$)		-0,993(**)				0,967(*)		-0,987(*)	0,977(*)		0,999(***)		0,987(*)	0,993(**)	
g_s (mol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)		-0,988(*)									0,972(*)		0,979(*)	0,956(*)	
WUE(A/T) (μmol CO_2 $mmol^{-1}$												0,998(**)			-0,960(*)
WUE(A/g_s) (μmol CO_2 $mmol^{-1}$ H_2O)		0,965(*)							-0,995(**)		-0,981(*)	0,967(*)	-0,968(*)	-0,99(**)	-0,977(*)
TCA (mm^2)		-0,994(**)							0,970(*)				0,986(*)	0,99(*)	
DV (αριθ.αγγείων cm^{-2})									-0,962(*)						-0,975(*)
Nm (mgg^{-1})									0,952(*)						0,952(*)
STOM.D. (αριθ.στοματίων cm^{-2})									-0,962(*)				-0,996(**)	-0,989(*)	
khp (kg m $MPa^{-1}s^{-1}$)									0,976(*)					-0,993(**)	
MVULN									0,992(**)						
SV.VULN.									0,99(*)						

Πίνακας 1. Ανάλυση παλινδρόμησης στην ποικιλία Simeto.Δίδεται ο συντελεστής συσχέτισης (r) και η σημαντικότητα:* P<0,05,**P<0,01, ***P<0,001.

ΝΤΟΠΙΑ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ

	TLS	LMA	STOM.D	Amax a	Amax m	T	gs	WUE(A/T)	WUE(A/gs)	WPI	Nm	TCA	DV	Khp	MVULN	SV.VULN.
TLS (cm^2)										0,971(*)		0,988(**)	-0,990(*)		0,977(*)	0,996(**)
LMA (gm^{-2})				-0,999(***)	-0,999(***)				0,975(*)							
Amax a (μmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)																
Amax m (nmol CO_2 $g^{-1}s^{-1}$)									-0,981(*)							
T (mmol H_2O $m^{-2}s^{-1}$)			-0,990(*)													
g_s (mol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)								-0,988(*)						0,978(*)		
WUE(A/T) (μmol CO_2 $mmol^{-1}$																
WUE(A/g_s) (μmol CO_2 $mmol^{-1}$ H_2O)														-0,972(*)		
TCA (mm^2)										0,961(*)			-0,999(***)	0,969(*)	0,981(*)	0,99(**)
DV (αριθ.αγγείων cm^{-2})															-0,973(*)	-0,99(**)
Nm (mgg^{-1})															0,968(*)	
STOM.D. (αριθ.στοματίων cm^{-2})																
khp (kg m $MPa^{-1}s^{-1}$)																
MVULN										0,992(**)						
SV.VULN.										0,951(*)						

Πίνακας 2. Ανάλυση παλινδρόμησης στον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου. Δίδεται ο συντελεστής συσχέτισης (r) και η σημαντικότητα : * P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001.

ΚΟΝΤΟΠΟΥΛΙ 17

	TLS	LMA	STOM.D	Amax a	Amax m	T	gs	WUE(A/T)	WUE(A/gs)	WPI	Nm	TCA	DV	Khp	MVULN	SV.VULN.
TLS (cm^2)													-0,977(*)			
LMA (gm^{-2})								0,973(*)								
Amax a ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}s^{-1}$)						0,963(*)										
Amax m ($nmol\ CO_2\ g^{-1}s^{-1}$)						0,996(**)										
T ($mmol\ H_2O\ m^{-2}s^{-1}$)																
g_s ($mol\ CO_2\ m^{-2}s^{-1}$)									-0,980(*)	0,962(*)	-0,951(*)	0,982(*)				
WUE(A/T) ($\mu mol\ CO_2\ mmol^{-1}$)																
WUE(A/g_s) ($\mu mol\ CO_2\ mmol^{-1}\ H_2O$)										-0,995(*)	0,956(*)					
TCA (mm^2)										0,995(*)	-0,962(*)					
DV (αριθ.αγγείων cm^{-2})														-0,952(*)	-0,995(***)	-0,979(*)
Nm (mgg^{-1})										-0,968(*)						
STOM.D. (αριθ.στοματίων cm^{-2})																
khp ($kg\ m\ MPa^{-1}s^{-1}$)																0,963(*)
MVULN																
SV.VULN.															0,99(*)	

Πίνακας 3.Ανάλυση παλινδρόμησης στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17. Δίδεται ο συντελεστής συσχέτισης (r) και η σημαντικότητα :* P<0,05,**P<0,01, ***P<0,001

ΣΥΝΟΛΙΚΑ

	TLS	LMA	STOM.D	Amax a	Amax m	T	gs	WUE(A/T)	WUE(A/gs)	WPI	Nm	TCA	DN	Khp	MVULN	SV.VULN.
TLS (cm^2)							0,785(**)			0,830(***)	0,706(*)		-0,897(***)	0,915(***)	0,869(**)	0,94(***)
LMA (gm^{-2})			0,810(**)	-0,803(**)	-0,889(***)7	-0,887(***)			0,796(**)							
Amax a ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}s^{-1}$)						0,911(***)	0,924(***)		-0,922(***)	0,880(***)				0,716(**)	0,75(**)	
Amax m ($nmol\ CO_2\ g^{-1}s^{-1}$)						0,902(***)	0,855(***)		-0,869(***)	0,832(***)					0,705(*)	
T ($mmol\ H_2O\ m^{-2}s^{-1}$)			-0,859(***)				0,761(**)		-0,869(***)	0,757(**)						
g_s ($mol\ CO_2\ m^{-2}s^{-1}$)									-0,907(***)	0,885(***)			-0,754(**)	0,839(***)	0,823(**)	0,783(**)
WUE(A/T) ($\mu mol\ CO_2\ mmol^{-1}$)			0,835(***)													
WUE(A/g_s) ($\mu mol\ CO_2\ mmol^{-1}\ H_2O$)			0,701(*)							-0,900(***)			0,762(**)	-0,851(***)	-0,769(**)	-0,765(**)
TCA (mm^2)			-0,729(**)													
DV (αριθ.αγγείων cm^{-2})										-0,872(***)				-0,768(**)	-0,936(***)	-0,970(***)
Nm (mgg^{-1})																
STOM.D. (αριθ.στοματίων cm^{-2})																
khp ($kg\ m\ MPa^{-1}s^{-1}$)										0,784(**)					0,759(**)	0,818(**)
MVULN										0,882(***)						
SV.VULN.										0,849(***)					0,960(***)	

Πίνακας 4.Ανάλυση παλινδρόμησης για το σύνολο των βιοτύπων. Δίδεται ο συντελεστής συσχέτισης (r) και η σημαντικότητα :* P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η επιβίωση και παραγωγικότητα των φυτών εξαρτώνται άμεσα από την διαθεσιμότητα σε υδάτινους πόρους και την απρόσκοπτη μεταφορά του νερού με στόχο τη διατήρηση της ομαλής λειτουργίας της φωτοσύνθεσης και της ανάπτυξης (Stiller, 2009). Για αυτό το λόγο η ξηρασία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες αβιοτικής καταπόνησης, οι οποίοι περιορίζουν τη γεωργική παραγωγή σε παγκόσμιο επίπεδο (Boyer, 1982; Chaves et al, 2003; Flexas et al., 2004).

Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η επίδραση της υδατικής καταπόνησης σε μορφολογικές, ανατομικές, φυσιολογικές και βιοχημικές παραμέτρους ανθεκτικών και μη βιοτύπων σκληρού σίτου (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). Ο σίτος αποτελεί ένα από τα πιο ευρέως καλλιεργούμενα είδη από τους προϊστορικούς χρόνους και κατέχει την τρίτη θέση παραγωγής σε παγκόσμιο επίπεδο, μετά τον αραβόσιτο και το ρύζι. Το χαρακτηριστικό αυτό δικαιολογεί και το έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον στην αξιολόγηση των βιοτύπων του από πλευράς παραγωγικότητας και απόδοσης, με απώτερο στόχο την επιλογή των βιοτύπων με λιγότερες απαιτήσεις σε νερό. Η επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην απόδοση των καλλιεργούμενων βιοτύπων σίτου (λόγω ξηρασίας/αλατότητας) έχει μελετηθεί εκτενώς σε μορφολογικό, ανατομικό (Zhao et al., 2004), φυσιολογικό (Gales et al., 1984; Hafid et al., 1997; Zhao et al., 2008; Karam et al.,2008; Izanloo et al.,2008) βιοχημικό (Hong-Bo et al., 2008; Wang et al.,2008) και μοριακό επίπεδο (Diab et al., 2008).

Από τις μελέτες αυτές προκύπτει ότι ο κάθε βιότυπος φέρει συγκεκριμένα χαρακτηριστικά εγκλιματισμού με τα οποία αντιμετωπίζει την υδατική καταπόνηση, με αποτέλεσμα να εμφανίζουν και διαφορετικό βαθμό ευαισθησίας. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με τους Karamanos et al. (2008) οι εντόπιοι ελληνικοί πληθυσμοί σκληρού σίτου Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17, οι οποίοι απετέλεσαν το πειραματικό φυτικό υλικό της παρούσας εργασίας, χαρακτηρίζονται από διαφορετικό βαθμό ευαισθησίας στην υδατική καταπόνηση.

Για τον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου διαπιστώθηκε ότι διαθέτει σχετικά χαμηλής πυκνότητας ριζικό σύστημα, ωστόσο αντιπαρέρχεται του προβλήματος αυτού μέσω του ιδιαίτερα αποτελεσματικού ελέγχου των στοματικών κινήσεων και του υψηλού βαθμού οσμωρυθμιστικής ικανότητας. Από τη άλλη πλευρά, ο υψηλής αντοχής πληθυσμός Κοντοπούλι 17 εμφανίζει πολύ χαμηλού βαθμού ικανότητα οσμωρύθμισης, αλλά διαθέτει υψηλής πυκνότητας ριζικό σύστημα με παράλληλο αποτελεσματικό έλεγχο των στοματικών κινήσεων. Τέλος, η ιταλική ποικιλία

Simeto χαρακτηρίζεται από σχετική ικανότητα εγκλιματισμού με βάση τα αγρονομικά και βιοχημικά της χαρακτηριστικά σε σύγκριση όμως με άλλες ιταλικές ποικιλίες (Ricciardi, 2001).

Σύμφωνα με τα δεδομένα που προκύπτουν από την παρούσα εργασία, τα οποία παρουσιάζονται αναλυτικά στην συνέχεια, επιβεβαιώνεται η αρχική υπόθεση ότι σε συνθήκες έλλειψης νερού ο βαθμός εγκλιματισμού του αγγειακού συστήματος σχετίζεται με άλλες κρίσιμες λειτουργίες του φυτού. Όπως προκύπτει, σε συνθήκες έλλειψης νερού τα χαρακτηριστικά του αγγειακού συστήματος τροποποιούνται κατάλληλα ώστε να μειώνεται ο κίνδυνος θραύσης της στήλης του νερού. Παράλληλα οι τροποποιήσεις αυτές επιφέρουν μείωση της ροής του νερού στα φύλλα. Αυτό έχεις ως συνέπεια τη μείωση της φυλλικής επιφάνειας, την αύξηση της πυκνότητας των στοματίων και τη μείωση του εύρους του στοματικού πόρου. Άμεσο επακόλουθο των αλλαγών αυτών είναι η μείωση της ταχύτητας διαπνοής και της φωτοσυνθετικής ικανότητας.

Αναλυτικότερα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μετρήσεων των μορφολογικών παραμέτρων, διαπιστώνεται ότι η υδατική καταπόνηση επιφέρει στην ποικιλία Simeto εντονότερες τροποποιήσεις στην μορφολογία του φύλλου σε σύγκριση με τους δύο πληθυσμούς. Η μείωση της φυλλικής επιφάνειας (TLS)(εικόνα 1 a,b) αποτελεί κοινή αντίδραση των βιοτύπων και έχει καταγραφεί ως βραχυπρόθεσμο αποτέλεσμα της υδατικής καταπόνησης (Bussotti, 2002; Καραμπουρνιώτης 2003). Ωστόσο, στην ποικιλία Simeto παρατηρείται και αύξηση της μάζας ανά φυλλική επιφάνεια (LMA) (εικόνα 1 c, d). Η αύξηση της LMA ως απόκριση στην υδατική καταπόνηση έχει καταγραφεί σε πολλά Μεσογειακά είδη (Harley et al., 1987; Gratani, 1996; Medrano et al., 2008). Σύμφωνα με τα παραπάνω, η ποικιλία Simeto εγκλιματίζεται στην ξηρασία αναπτύσσοντας μικρότερα και περισσότερο συμπαγή φύλλα (μικρότεροι μεσοκυττάριοι χώροι, άρα αυξημένη αντίσταση του μεσόφυλλου R_m), χαρακτηριστικά τα οποία συντελούν στη μείωση των διαπνευστικών απωλειών.

Επίσης από τα αποτελέσματα του υπολογισμού της πυκνότητας του φύλλου προκύπτει ότι η πυκνότητα του φύλλου (LD) αυξάνεται αυξανομένου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης. Η αύξηση είναι σημαντική στην ποικιλία Simeto, λιγότερο έντονη στον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου, ενώ δεν υπάρχει μεταβολή στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το πάχος του φύλλου (LT) μειώνεται και στους τρεις βιότυπους. Έχει αναφερθεί ότι αύξηση της τιμής της LMA, η οποία παρατηρείται σε όλους τους τύπους βλάστησης κατά τον εγκλιματισμό σε συνθήκες έλλειψης νερού, πιθανόν να μην οφείλεται σε αύξηση του πάχους και της πυκνότητας του φύλλου, χαρακτηριστικά τα οποία συχνά συσχετίζονται με την αντοχή στην ξηρασία (Niinemets, 2001), αλλά σε προοδευτική συσσώρευση των φωτοσυνθετικών προϊόντων (Virgona and Barlow, 1991; Medrano et al. 2008), η οποία οφείλεται στη μείωση της φόρτωσης του ηθμού λόγω της υδατικής καταπόνησης (Bota et al., 2004). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της LD και LT δεν παρουσιάζονται διότι οι συσχετίσεις με τις υπόλοιπες παραμέτρους δεν τηρούσαν τα κριτήρια επιλογής (βλ.Κεφ. Υλικά και Μέθοδοι, § Ζ.) για την παρουσίαση των τελικών αποτελεσμάτων.

Όπως προαναφέρθηκε, στους δύο πληθυσμούς Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17 δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή του LMA αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης)(εικόνα 1 c, d). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την ύπαρξη και άλλων παραγόντων εκτός της μορφολογίας του φύλλου, οι οποίοι παίζουν καθοριστικό ρόλο στην αντίδραση έναντι της υδατικής καταπόνησης. Παρόμοιες ενδείξεις υπήρχαν και σε πρόσφατες μελέτες σε ορισμένα είδη ευκαλύπτου (Anderson et al., 2000; Macfarlane at al., 2004) καθώς και για το *Fraxinus ornus* (Gortan et al., 2008).

Πράγματι όπως προκύπτει από τα δεδομένα των μετρήσεων των παραμέτρων των υδατικών σχέσεων όπως η διαπνοή (Τ), η στοματική αγωγιμότητα και πυκνότητα, η αποδοτικότητα χρήσης νερού WUE (A/T, A/g_s) καθώς και η υδραυλική αγωγιμότητα των νευρώσεων του φύλλου, τόσο οι δύο πληθυσμοί όσο και οι ποικιλία Simeto αυξάνουν τη WUE μειώνοντας τις απώλειες σε νερό μέσω ελέγχου των στοματικών κινήσεων και μέσω τροποποίησης των ανατομικών χαρακτηριστικών του αγωγού ιστού.

Μέσω της μείωσης της g_s αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης, η οποία καταγράφηκε ως στατιστικά σημαντική στην ποικιλία Simeto και στον πληθυσμό Ντόπια Ηρακλείου και ως τάση στον πληθυσμό Κοντοπούλι 17 (εικόνα 5 g, h) ρυθμίζεται η ανταλλαγή αερίων με τέτοιο τρόπο ώστε η τιμή του υδατικού δυναμικού του φύλλου να παραμένει υψηλότερη από την οριακή τιμή της απώλειας σπαργής και να αποφευχθεί η δημιουργία εμβολών στα αγγεία του αγωγού ιστού (Nardini and Salleo, 2000; Brodribb and Holbrook, 2003; Brodribb et al., 2003).

Ως γνωστόν, το άνοιγμα των στοματίων επηρεάζεται από την υδραυλική αγωγιμότητα του συστήματος μετακίνησης του νερού από τη ρίζα έως τα φύλλα (Meinzer 2002) και συγκεκριμένα η αγωγιμότητα του φύλλου μπορεί εν δυνάμει να αποτελέσει περιοριστικό παράγοντα της συνολικής υδραυλικής αγωγιμότητας σε επίπεδο φυτού (Sack and Holbrook, 2006). Υπάρχουν αρκετές αναφορές ότι η υδραυλική αγωγιμότητα του φύλλου (K_{leaf}, η οποία υπολογίζεται μέσω πειραματικών μετρήσεων) επηρεάζει τους ρυθμούς ανταλλαγής αερίων και του φωτοσυνθετικού ρυθμού (Brodribb et al., 2005; Maherali et al., 2008). Η υδραυλική αγωγιμότητα του φύλλου, η οποία στην παρούσα εργασία προσεγγίζεται θεωρητικά μέσω των μετρήσεων ανατομικών παραμέτρων, μειώθηκε και στους τρεις βιότυπους αυξανομένου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης (εικόνα 3 e, f). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα από την ανάλυση παλινδρόμησης (Πίνακες 1 έως 4) της k_{hp} με τις υπόλοιπες παραμέτρους προκύπτουν στατιστικά σημαντικές και ισχυρές θετικές συσχετίσεις με την g_s (εξαιρουμένου του πληθυσμού Κοντοπούλι 17, Πίνακας 3) και την A_{max} (στην ποικιλία Simeto και συνολικά) οι οποίες επιβεβαιώνουν την θεωρία αυτή. Η k_{hp} εκφράζει την «ευκολία» με την οποία πραγματοποιείται η μετακίνηση του νερού εντός των αγγείων. Εξ ορισμού η εξάρτηση της k_{hp} από τη διάμετρο των αγγείων είναι πολύ ισχυρή αφού ο διπλασιασμός της διαμέτρου δεκαεξαπλασιάζει την υδραυλική αγωγιμότητα του αγγείου. Πράγματι, τα αποτελέσματα των μετρήσεων της διαμέτρου και της συνολικής επιφάνειας των στοιχείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης αλλά και των δευτερευουσών νευρώσεων δείχνουν ότι παρότι δεν παρατηρείται έντονη μείωση του μέσου όρου των MVD(εικόνα 2 a, b) και SVD (εικόνα 2 c, d) αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης, η μείωση αυτή επαρκεί ώστε να μειωθεί σημαντικά η k_{hp}.

Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι ο κίνδυνος της δημιουργίας εμβολών εξαρτάται από το μέγεθος των αγγείων (Zimmerman 1982,1983; Psaras and Sofroniou, 1999; Pockman and Sperry 2000; Kocacinar and Sage, 2003; Li et al., 2009). Τα αυξημένου μεγέθους αγγεία διευκολύνουν την μετακίνηση του νερού, ωστόσο είναι ευπαθή στη δημιουργία εμβολών (Tyree et al. 1994; Lo Gullo et al., 1995; Stiller, 2009). Η μείωση των M.Vuln (εικόνα 4 a, b) και SV.Vuln (εικόνα 4 c, d) σε όλους τους βιότυπους αυξανομένου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης αποτελεί ένδειξη της ικανότητας εγκλιματισμού των βιοτύπων μέσω τροποποίησης των χαρακτηριστικών του αγωγού ιστού με στόχο τη μείωση του κινδύνου δημιουργίας εμβολών. Η ισχυρή αρνητική συσχέτιση των παραμέτρων αυτών με την πυκνότητα των νευρώσεων (DV) του φύλλου (Πίνακας 1 έως 4) δείχνει ότι η DV αποτελεί επίσης περιοριστικό παράγοντα πιθανής δημιουργίας θραύσης της στήλης λόγω της υδατικής καταπόνησης. Επίσης, οι ισχυρές θετικές συσχετίσεις των M.Vuln και SV.Vuln με την φυλλική επιφάνεια (TLS) σε συνδυασμό με τα προηγούμενα και δεδομένης της μείωσης της (TLS) την οποία επιφέρει η έλλειψη νερού, καταδεικνύει την στρατηγική που ακολουθείται: μείωση του κινδύνου μίας καταστροφικής εμβολής των αγγείων μέσω αύξησης της πυκνότητας των νευρώσεων ανεξαρτήτως ενεργειακού κόστους και συνεπώς επιβίωση, έναντι της επένδυσης σε φυλλική επιφάνεια, συνεπώς αυξημένες διαπνευστικές απώλειες.

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων είκοσι χρόνων, έχουν εκπονηθεί πολλές μελέτες στην προσπάθεια βελτιστοποίησης της αποδοτικότητας χρήσης νερού (WUE) των φυτών (Turner 1997; Liu et al., 2004). Η WUE μπορεί να εκτιμηθεί σε διάφορετικά επίπεδα (Jones, 1992; Lambers et al., 2000). Σε επίπεδο φύλλου ορίζεται ως ο λόγος της μέγιστης φωτοσυνθετικής ικανότητας προς την στοματική αγωγιμότητα (A_{max}/g_s – intrinsic WUE) είτε προς την ταχύτητα διαπνοής (A_{max}/T – photosynthetic/instantaneous WUE). Είναι γνωστό ότι η WUE ποικίλει μεταξύ ειδών και επηρεάζεται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Steudle, 2000a; Zhang et al. 2002; Siemens and Zwiazek 2004; Zhao et al., 2004). Η βελτιστοποίηση της αφομοίωσης CO_2 και η ελαχιστοποίηση των απωλειών νερού περιγράφονται από τον Ehleringer (1993) ως χαρακτηριστικό εγκλιματισμού και από τους Reichstein et al. (2002, 2003) ως οικοφυσιολογική απόκριση στην έλλειψη νερού.

Η βελτίωση της WUE υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης επιτυγχάνεται μέσω της μείωσης του εύρους του στοματικού πόρου, η οποία έχει αποδειχθεί ότι οφείλεται στην ικανότητα προσαρμογής αλλά και εγκλιματισμού του φυτού (Flexas et al., 2003; Galmes et al. 2007a). Πράγματι, σύμφωνα με τις εικόνες 4 και 5, παρατηρείται μείωση της g_s και αύξηση της WUE (A/g_s) αυξανομένου του επιπέδου καταπόνησης σε όλους τους βιοτύπους. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί για το κουνουπίδι (Kochler 2000) και τη σόγια (Liu et al., 2004). Ως εκ τούτου, προκύπτει το συμπέρασμα ότι η ικανότητα ελέγχου του εύρους του στοματικού πόρου μπορεί να επιφέρει αύξηση της WUE.

Οι Zhang et al., (2006) αναφέρουν θετική συσχέτιση μεταξύ της πυκνότητας των στοματίων (STOM.D.), της g_s και της A_{max} υπό συνθήκες έλλειψης νερού. Οι θετικές αυτές συσχετίσεις επαληθεύονται απόλυτα στην περίπτωση της ποικιλίας Simeto (Πίνακας 1) και εν μέρει στην συνολική ανάλυση (Πίνακας 4). Επίσης, σύμφωνα με τον Πίνακα 4 υπάρχει ισχυρή θετική συσχέτιση της STOM.D με την WUE, η οποία συμφωνεί με τα αποτελέσματα προηγούμενων ερευνών σε μονοκότυλα φυτά (Yang et al., 2007; Xu and Zhou, 2005; Monclus et al., 2006, Agguirrezabal et al., 2006; Xu and Zhou, 2008). Εκτός αυτών, η αύξηση της WUE (εικόνα 6 a, b, c, d) σε συνδυασμό με την αύξηση της STOM.D (εικόνα 3 g, h) στην ποικιλία Simeto αποτελεί ένδειξη της ικανότητας εγκλιματισμού του συγκεκριμένου βιότυπου έναντι της υδατικής καταπόνησης.

Όπως προαναφέρθηκε, η μείωση του WPI η οποία παρατηρήθηκε και στους τρεις βιότυπους ήταν αναμενόμενη και οφείλεται στη μειωμένη ροή νερού προς τα φύλλα λόγω της υδατικής καταπόνησης.

Υπάρχουν αναφορές ότι υπάρχει αλληλεπίδραση της διαθεσιμότητας των νιτρικών στο έδαφος με τις υδραυλικά χαρακτηριστικά του ριζικού συστήματος, η οποία επιφέρει τροποποιήσεις στο σύστημα πρόσληψης και μετακίνησης του νερού με αποτέλεσμα την αύξηση της πρόσληψης αζώτου σε επίπεδο φυτού (Gorska et al., 2008). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, τα N_a και N_m δε παρουσίαζαν συσχετίσεις με τις υδραυλικές παραμέτρους. Το γεγονός αποτελεί ένδειξη ότι δεν υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ της ικανότητας της πρόσληψης αζώτου και των τροποποιήσεων των υδραυλικών παραμέτρων, παρόλο που ήταν αναμενόμενο ότι η μειωμένη ροή του διαπνευστικού ρεύματος θα είχε ως αποτέλεσμα τη μειωμένη μεταφορά αζώτου στα φύλλα.

Επίσης διερευνήθηκε η επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην σύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών και συγκεκριμένα των ολικών φαινολικών συστατικών και των ταννινών. Έχει διαπιστωθεί η αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών των φύλλων σε ποικιλίες σίτου σε συνθήκες έλλειψης νερού (Hura et al., 2007; Hura et al., 2009;) Η αρχική υπόθεση εργασίας, σύμφωνα με την οποία αναμενόταν αλληλεπίδραση της υδατικής καταπόνησης με τις παραμέτρους Ph_a Ph_m και την συγκέντρωση των ταννινών, δεν επιβεβαιώθηκε από τα αποτελέσματα των μετρήσεων. Κατά την ανάλυση παλινδρόμησης δεν παρατηρήθηκαν ισχυρές και στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των Ph_a και Ph_m με τις υπόλοιπες παραμέτρους αυξανομένου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης. Ενώ, όπως προαναφέρθηκε δεν ανιχνεύθηκαν ταννίνες στους ιστούς του φύλλου σε κανένα από τα παραπάνω δείγματα. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες με αντικείμενο τη βιοσύνθεση των ταννινών (Himi and Noda, 2005; MacKown et al., 2008) μπορεί να παρατηρηθεί συσσώρευση ταννινών στα φυτικά όργανα ποικιλιών σίτου συμπεριλαμβανομένων και των φύλλων, ωστόσο σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Η έλλειψη συσχέτισης μεταξύ της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών και του επιπέδου υδατικής καταπόνησης στην παρούσα εργασία μπορεί να αποδοθεί στο ιδιόμορφο φωτεινό περιβάλλον του στεγάστρου (βλ. Υλικά-Μέθοδοι) και πιθανώς στην χαμηλή ένταση UV ακτινοβολίας, φασματική περιοχή που ευθύνεται για την επαγωγή της σύνθεσης φαινολικών ουσιών.

Τέλος, η μείωση του συνολικού περιεχομένου χλωροφυλλών $Chl_{(a+b)\ a}$ και $Chl_{(a+b)\ m}$ δείχνει την επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην δομική και λειτουργική ακεραιότητα της φωτοσυνθετικής συσκευής. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν προηγούμενες αναφορές για τη μείωση του συνολικού περιεχομένου χλωροφυλλών λόγω της έλλειψης νερού (Li et al., 2009a; Li et al., 2009b; Parida et al., 2007; Agastian et al., 2000).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με τα δεδομένα που προέκυψαν από την παρούσα εργασία διαπιστώνεται ότι:

- Όλοι οι βιότυποι αντέδρασαν στην υδατική καταπόνηση.
- Η ποικιλία Simeto αντέδρασε εντονότερα σε σύγκριση με τους δύο πληθυσμούς Ντόπια Ηρακλείου και Κοντοπούλι 17, στους οποίους παρατηρήθηκαν χαμηλής έντασης τροποποιήσεις.
- Ανεξαρτήτως βιότυπου, φαίνεται να ακολουθείται ένα κοινό πρότυπο εγκλιματισμού στην υδατική καταπόνηση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aguirrezabal L., Bouchier-Combaud S., Radziejwoski A., Dauzat M., Cookson S.J. Granier C. 2006. Plasticity to soil water deficit in Arapidopsis thaliana: dissection to leaf development into underlying growth dynamic and cellular variables reveals invisible phenotypes. Plant, Cell and Environment 29: 2216-2227.

Agastian P., Kingsley S.J., Vivekanandan M. 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes Photosynthetica 38 (2), pp. 287-290.

Alder N.N., Sperry J.S., Pockman W.T. 1996. Root and stem xylem embolism, stomatal conductance, and leaf turgor in *Acer grandidentatum* popylations along a soil moisture gradient. Oecologia 105: 293-301

Anderson L.J., Harley P.C., Monson R.K., Jackson R.B. 2000. Isoprene emissions from live oak (*Quercus fusiformis*) with oak wilt. Tree Physiology 20:1199-1203.

Andersson B., Barber J. 1994. Molecular Processes of Photosynthesis. Advances in Molecular and Cell Biology 10: 1-53.

Blackman P.G., Davies W.J. 1985. Root to shoot communication in maize plants of the effects of soil drying. J Exp Bot 36: 39–48.

Blum A., Johnson J.W. 1993. Wheat cultivars respond differently to a drying top soil and a possible nonhydraulic root signal. J. Exp. Bot. 44: 1149–1153.

Bota J., Medrano H., Flexas J. 2004. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? New Phytol. 162: 671–681.

Boyer J.S. 1982. Plant productivity and environment. Science 218: 443-448.

Brodribb T.J., Holbrook N.M. 2003. Changes in leaf hydraulic conductance during leaf shedding in seasonally dry tropical forest. New Phytologist, 158 (2): 295-303.

Brodribb T.J., Holbrook N.M. 2003. Stomatal Closure during Leaf Dehydration, Correlation with Other Leaf Physiological Traits. Plant Physiology 132 (4): 2166-2173.

Brodribb T.J., Holbrook N.M. 2004. Stomatal protection against hydraulic failure: a comparison of coexisting ferns and angiosperms. New Phytologist 162 (3): 663-670.

Brodribb T.J., Holbrook N.M. 2005. Water Stress Deforms Tracheids Peripheral to the Leaf Vein of a Tropical Conifer. Plant Physiology 137: 1139-1146.

Brodribb T.J., Holbrook, N.M., Edwards E.J., Gutierrez M.V. 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. Plant, Cell and Environment 26 (3): 443-450.

Bussotti F., Schaub M., Novak N., Cozzi A., Kräuchi N., Ferretti M., Skelly J. 2002. Assessment of ozone visible symptoms in the field: perspectives of quality control. IUFRO Conference, 20th International Meeting for Specialists in Air Pollution Effects on Forest Ecosystems, Zvolen Republic.

Cao Y., Song Z. 1998. Plant Physiology, Lanzhou University Press, Lanzhou: 282–283.

Carlquist S. 1961. Comparative Plant Anatomy. Holt, Rinehart and Winston, NewYork.

Carlquist S. 1977. Wood anatomy of Onagraceae: additional species and concepts. Ann. Missouri Bot. Gard. 64:627-637.

Chaves M.M., Pereira J.S., Maroco J., Rodrigues M.L., Ricardo C.P.P., Osório M.L., Carvalho I., Faria T., Pinheriro C. 2002. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. Ann. Bot. 89: 907–916.

Chaves M.M., Maroco J.P., Pereira J.S. 2003. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. Funct. Plant Biol. 30: 239–264.

Chaves M.M., Oliveira M.M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits:prospects for water-saving agriculture. J. Exp. Bot. 55: 2365-2384.

Cochard H. 1992. Vulnerability of several conifers to air embolism. Tree Physiol 11: 73-83.

Crocker J.E., Harrison S., Sun L.C., Shaw L., Marcus H. 1998. Using SALDVI and SALD with multi-material structures, JOM 50 (12): 21–3.

Diab A.A., Kantety R.V., Ozturk N.Z., Benscher D.,. Nachit M.M, Sorrells M.E. 2008. Drought - inducible genes and differentially expressed sequence tags associated with components of drought tolerance in durum wheat. Scientific Research and Essays 3(1): 009–027.

Dixon H.H. 1914. Transpiration and the Ascent of sap. Macmillan. London.

Domec J.C., Scholz F.G., Bucci S.J., Meinzer F.C., Goldstein G., Villalobos-Vega R. 2006. Diurnal and seasonal variation in root xylem embolism in neotropical savanna woody species: impact on stomatal control of plant water status. Plant, Cell and Environment 29: 26–35.

Ehleringer J.R. 1993. Carbon and water relations in desert plants: an isotopic perspective. J.R. Ehleringer, A.E. Hall, and G.D. Farquhar (eds.), Stable Isotopes and Plant Carbon/Water Relations. Academic Press, San Diego : 155-172.
Esau K. 1965. Plant anatomy, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Fan X.W., Li F.M., Song L., Xiong Y.C., An L., Jia Y. 2009. Defense strategy of old and modern spring wheat varieties during soil drying. Physiologia Plantarum 136: 310-323.

Fahn A. 1991. Plant Anatomy. Pergamon press, Oxford.

Farquhar G., Sharkey T. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. Ann. Rev. Plant Physiol. 33: 317-345

Flexas, J., Medrano, H. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plant: stomatal and non-stomatal limitation revisited. Ann. Bot. 89: 183–189.

Flexas J., Bota J., Loreto F., Cornic G., Sharkey T.D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. Plant Biol. 6: 269–279.

Gales K., Ayling S.M., Canell R.Q. 1984. Effects of waterlogging and drought on winter wheat and winter barley grown on a clay and sandy loam soil. Plant and Soil 80: 67-78.

Galmés J., Flexas J., Savé R., Medrano H. 2007a. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. Plant and Soil 290:139–155.

Galmés J., Medrano H., Flexas J. 2007b. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. New Phytologist 175: 81–93.

Gibson A.C., Calkin H.W., Nobel P.S. 1984. Xylem anatomy, water flow, and hydraulic conductance in the fern *Cyrtomium falcatum*. Am, J, Bot. 7: 564-574.

Gorska A., Qing Ye N., Holbrook M., Zwieniecki M.A. 2008. Nitrate control of root hydraulic properties in plants: translating local information to whole plant response. Plant Physiology Preview 104: 108-122499

Gortan E., Nardini A., Gascó A. Salleo S. 2009. The hydraulic conductance of *Fraxinus ornus* leaves is constrained by soil water availability and coordinated with gas exchange rates. Tree Physiology 53.

Graham L.E., Graham, J.M. and Wilcox, L.W. 2006. Ecology and Plant Adaptations to the Environment, Plant Biology. Pearson Prentice Hall : 506-508.

Gratani L. 1996. Leaf and shoot growth dynamics of *Quercus ilex* L. Acta Oecol 17:17–27.

Hacke U., Sauter J.J. 1995. Vulnerability of xylem to embolism in *Fagus sylvatica* f. *purpurea* and *Populus balsamifera*. J Exp. Bot. 46:117–1183.

Hacke U., Sauter J.J. 1996. Xylem dysfunction during winter and recovery of hydraulic conductivity in diffuse-porous andring-porous trees. Oecologia 105: 435–439.

Hacke U.G., Sperry J.S., Pockman W.P., Davis S.D., McCulloh K.A. 2001. Trends in wood density and structureare linked to prevention of xylem implosion by negative ressure. Oecologia 126: 457–461.

Hafid R.EL., Smith D.H., Karrou M., Samir K. 1998. Physiological responses of spring durum wheat cultivars to early season drought in a Mediterranean Environment. Annals of Botany 81: 363-370.

Hall D.O., Rao K.K. 1999. Photosynthesis. 6th edn. Cambridge University Press, Cambridge.

Hargrave B., Sidall G., Steeves G., Awalt G. 1994. A current-activated sediment trap. Limnol.Oceanogr. 39: 383-390.

Himi E., Noda K. 2005. Red grain colour gene (R) of wheat is a Myb-type transcription factor. Euphytica 143:239–242.

Hong–Bo Shao, Li-ye Chu, Zhao Hua, Cong MinKang. 2008. Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells. Intl.J. Biol. Sci. 4: 8-14.

Hopkins W.G. 1995. Introduction to Plant Physiology. Wiley, New York.

Horneck D.A., Miller R.O. 1998. Determination of total nitrogen. Y.P. Kalra, D.A. Horneck, J.B. Jones, R.O. Miller, M.E. Watson and A.M. Wolf (eds.) Handbook of reference methods for plant analysis. Soil and Plant Analysis Council, Athens, GA : 75-84.

Hura T., Hura K., Grzesiak M., Rzepka A. 2007. Effect of long-term drought stress on leaf gas exchange and fluorescence parameters in C3 and C4 plants. - Acta Physiol. Plant. 29: 103-113.

Hura T., Hurab K., Grzesiaka S. 2009. Possible contribution of cell-wall-bound ferulic acid in drought resistance and recovery in triticale seedlings. Journal of Plant Physiology 166: 1720—1733.

Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. Ann. Rev. Plant Physiol. 24:519–570

Izanloo A., Condon A.G., Langridge P., Tester M., Schnurbusch T. 2008. Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. J. Exp. Bot. 59: 3327–3346.

Jacobsen A.L., Pratt R.B., , Davis S.D., Ewers F.W. 2007a. Cavitation resistance and seasonal hydraulics differ among three Californian arid communities. Plant, Cell and Environment 30: 1599-1609.

Jacobsen A.L., Pratt R.B., , Ewers F.W., Davis S.D. 2007b. Cavitation resistance among 26 chaparral species of Southern California. Ecol.Monogr. 77: 99-115.

Jacobsen A.L., Esler K.J., Pratt B.R., Ewers F.W. Davis S.D. 2007c. Xylem sensity , biomechanics and anatomical traits correlate with water stress in 17 evergreen shrub species of the Mediteranean type climate region of South Africa, J.Ecol. 95: 171-183.

Jacobsen A.L., Esler K.J., Pratt B.R., Ewers F.W. 2009. Water stress tolerance of shrubs in Mediteranean type like climate regions: convergence of Fynbos and succulent Karoo communities with California shrub communities. American Journal of Botany 96(8): 1445–1453.

Jarbeau J., Ewers F., Davis S. 1995. The mechanism of water-stress-induced embolism in two species of chaparral shrubs. Plant, Cell and Environment 18: 189–196.

Jones H.G. 1992. Plant and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology, second ed. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.

Kalapos T., Riki van den Boogaard, Lambers H. 1996. Effect of soil drying on growth, biomass allocation and leaf gas exchange of two annual grass species Plant and Soil Volume 185 (1): 137-149.

Karam. F., Kabalan R., Breidi J., Rouphael Y., Oweis T. 2009. Yield and water production functions of two durum wheat cultivars grown under different irrigation and nitrogen regimes. Agr. Water. Man. 96: 603-615.

Karamanos A.J., Papatheoxari A.Y. 1999. Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of the wate potential index. Crop Science 39: 1792-1797.

Karamanos A.J., Economou G., Livanos G., Papastavrou A. 2008. Evaluating yield responses to water stress and drought resistance mechanisms of 20 local bread and durum wheat landraces. Agricultural University of Athens.

Kocacinar F., Sage R.F. 2003. Photosynthetic pathway alters xylem structure and hydraulic function in herbaceous plants. Plant, Cell & Environment 26, 2015–2026.

Kochler M., Kage H., Stutzel H. 2000. Modelling the effects of soil water limitations on transpiration and stomatal regulation of cauliflower. European Journal of Agronomy 26 (4): 375-383.

Kochler M. 2000. Analyse und Modellierung der Anpassungsreaktionen von Blumenkohl (Brassica oleracea L.botrytis) an eine limitierte Wasserversorgung. Ph.D. Thesis. Department of Horticulture, University of Hannover, Hannover.

Larcher W. 1995. Physiological Plant Ecology. Springer,Berlin.

Lawlor D.W. 2001. Photosynthesis. Oxford: Biosis Scientific Publishers.

Lawlor D.W. 2002. Limitation to Photosynthesis in Water-stressed Leaves: Stomata vs. Metabolism and the Role of ATP. Annals of Botany 89: 871-885.

Levitt J. 1972. Responses of plants to environmental stresses. New York and London: Acad. Press.

Li W., Sui L., Gao L.H., Ren H.Z., Zhang Z.X. 2009a. Effect of rapid dehydration on photosynthetic and fluorescent properties of cucumber leaves detached from low light treated seedlings. European Journal of Horticultural Science 74 (5): 210-217.

Li, Y.L., Zhu F., Miki N., Sakamoto K., Yoshikawa K. 2009b. Seasonal changes of photosynthetic characteristics and pigment composition of *Sabina vulgaris* ant. under water stress. Shengtai Xuebao/ Acta Ecologica Sinica 29 (8): 4346-4352.

Lichtenthaler H.K., Wellburnt A.L Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. 603rd Meeting, Liverpool.

Linton M.J., Nobel P.S. 1999. Loss of water transport capacity due to xylem cavitation in roots of two CAM succulents. Am J Bot 86:1538–1543.

Liu S., Liu J., Cao J., Bai C., Shi R. 2006. Stomatal distribution and character analysis of leaf epidermis of jujube under drought stress. Journal of Anhui Agricultural Science 34:1315–1318.

Lizana C., Wentworth M., Martinez J.P., Villegas D., Meneses R., Murchie E.H., Pasienes C., Lercari B., Vernieri P., Horton P., Pinto M. 2006. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress: I Effects of drought on yield and photosynthesis. J Exp Bot. 57: 685-697.

Lo Gullo M.A., Salleo S., Piaceri E.C., Rosso R. 1995. Relations between vulnerability to xylem embolism and xylem conduit dimensions in young trees of *Quercus cerris*. Plant Cell Environ 995 (18): 661–9.

MacFarlane C., White D.A., Adams M.A. 2004.The apparent feed forward response to vapour pressure deficit of stomata in droughted, field-grown *Eucalyptus globulus* Labill. Plant Cell Environ 27:1268–80.

MacKown C.T., Brett F., Carverb, Edwards J.T. 2008. Occurrence of Condensed Tannins in Wheat and Feasibility for Reducing Pasture Bloat. Crop Sci 48:2470-2480.

Maherali H., Sherrard M.E., Clifford M.H., Latta R.G. 2008. Leaf hydraulic conductivity and photosynthesis are genetically correlated in an annual grass. New Phytologist 180(1): 240-247.

Medrano H., Flexas J., Galmés J. 2009. Variability in water use efficiency at the leaf level among Mediterranean plants with different growth forms. Plant and Soil 317 (1-2): 17-29.

Meinzer F.C. 2002. Co-ordination of vapour and liquid phase water transport properties in plants. Plant, Cell and Enviroment 25: 265–274.

Milburn J.A. 1979. Water Flow in Plants. Longman, London.

Miller C.E. 1931. Plant Physiology. McGraw-Hill Book company, Inc, New York:342-344.

Monclus R., Dreyer E., Villar M., Delmotte F.M., Delay D., Petit J.MI., Barbaroux C., Thiec D., Brechet C., Brignolas F., 2006. Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoidesX Populus nigra.* New Phytologist 169: 765-777.

Nardini A., Salleo S. 2000. Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: sensing or preventing xylem cavitation? Trees 15: 14–24.

Nardini A., Salleo S., Raimondo F. 2003. Changes in leaf hydraulic conductance correlate with leaf vein embolism in *Cercis siliquastrum* L. Trees 17: 529–534.

Niinemets Ü. 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. Ecology 82 (2): 453-469.

Nobel P.S. 1991. Physicochemical and Environmental Plant Physiology.Academic Press, San Diego.

Nobel P.S. 1994. Root-soil responses to water pulses in dry environments. M. M. Caldwell & R. W. Pearcy (eds). Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants. AcademicPress, San Diego, CA: 285–304.

Oppenheimer H.R. 1960. Adaptation to drought: Xerophytism. Plant-water relationships in arid and semi-arid conditions. Reviews of research, Unesco. Arid Zone Res. 15 : 105-138.

Parida M.M., Santhosh S.R., Dash P.K., Tripathi N.K., Lakshmi V., Mamadi N., Shrivastav A., Guptha N., Saxena P., Pradeep Babu J., Lakshmana Rao P.V., Morita K. 2007. Rapid and real-time detection of chikungunya virus by reverse transcription loop mediated isothermal amplification assay. J. Clin. Microbiol. 45(2): 351–357.

Pockman W.T., Sperry J.S. 2000. Vulnerability to cavitation and the distribution of Sonoran desert vegetation. American Journal of Botany 87:1287-1299.

Prasad M.N.V. 1997. Plant Ecophysiology. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Pratt R.B., Jacobsen A.L., Ewers F.W., Davis S.D. 2007. Relationships among xylem transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine Rachmnaceae species of the California chaparral. New Phytologist 174: 787-798.

Psaras G.K., Sofroniou I. 2004. Stem and root wood anatomy of the shrub *Phlomis fruticosa* (Labiatae). IAWA Journal 25 (1): 71–77.

Reichstein M., Tenhunen J.D., Roupsard O., Ourcival J.M., Rambal S., Miglietta F., Peressotti A., Pecchiari M., Tirone G., Valentini R. 2002. Severe drought effects on ecosystem CO_2 and H_2O fluxes at three Mediterranean evergreen sites: Revision of current hypothesis. Global Change Biology 8: 999–1017.

Ricciardi L. 2001. Relationships between bio-agronomic and biochemical traits recorded in durum wheat under water stress conditions. Journal of Genetics and Breeding 55 (1): 57-66

Richardson A.D., Duigan S.P., Berlyn G.P. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. New Phytol.153: 185-194

Sack L, Holbrook N.M. 2006. Leaf hydraulics. Annu. Rev. Plant Biol. 57: 361–381.

Salleo S., Lo Gullo M.A., Raimondo F., Nardini A. 2001. Vulnerability to cavitation of leaf minor veins: any impact on leaf gas exchange. Plant, Cell and Environment 24: 851–859.

Siemens J.A., Zwiazek J.J. 2004. Changes in root water flow properties of solution culture-grown trembling aspen (*Populus tremuloides*) seedlings under different intensities of water-deficit stress. Physiol. Plant. 121: 44–49.

Singh D.K., Sale P.W.G. 2000. Growth and Potential Conductivity of White Clover Roots in Dry Soil with Increasing Phosphorus Dupply and Defoliation Frequency. Agron. J. 92: 868-874.

Sperry J.S., Donnelly J.R., Tyree M.T. 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. Plant, Cell and Environment 11:35–40.

Sperry J.S., Alderand N.N., Eastlack S.E. 1993. The effect of reduced hydraulic conductance on stomatal conductance and xylem cavitation. J Exp Bot 44:1075–1082.

Sperry J.S., Ikeda T. 1997. Xylem cavitation in roots and stems of Douglas-fir and white fir. Tree Physiology 17: 275–280.

Sperry J.S., Hacke U.G., Comstock J.P., Oren R. 2002. Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. Plant Cell and Environment 25:251-264.

Sperry J.S., Hacke U.G. 2002. Desert shrub water relations with respect to soil characteristics and plant functional type. Funct . Ecol. 16:367–78.

Stavroulaki V., Liakopoulos G., Nikolopoulos D., Karabourniotis G. 2007. Deposition of fluorescing phenolics over guard cells during leaf development of Prunus persica leaves, Flora 202: 261-267.

Steppe K., Lemeur R. 2007. Effects of ring-porous and diffuse-porous stem wood anatomy on the hydraulic parameters used in a water flow and storage model.Tree Physiology 2: 743-52.

Steudle E. 2001. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. Annual Review of Plant Biology 52: 847-875.

Stiller V., LaFitte H.R., Sperry J.S. 2003. Hydraulic properties of rice and the response of gas exchange to water stress. Plant Physiology 132: 1698–1706.

Stiller V. 2009. Soil salinity and drought alter wood density and vulnerability xylem cavitation of baldcypress (*Taxodium distichum* (L.) Rich) seedlings. Env. Exp. Bot. 67: 164-171.

Taiz L., Zeiger E. 1998. Plant Physiology. Sinauer Associates, Inc, New York .

Turner N.C., Schulze E.D., Gollan T. 1985. The responses of stomata and leaf gas exchange to vapour pressure deficits and soil water content II. In the mesophytic herbaceous species *Helianthus annuus*. Oecologia 65: 348–355.

Turner N.C. 1986. Crop water deficits: a decade of progress. Adv.Agron. 39: 1–51.

Turner N.C. 1997. Further progress in crop water relations. Adv.Agron. 58, 293–338.

Tyree M.T., Sperry J.S. 1988. Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction by dynamic water stress. Plant Physiol 88:574–580.

Tyree M.T., Yang S., Cruiziat P., Sinclair B. 1994. Novel methods of meassuring hydraulic conductivity of tree root systems and interpretation using AMAIZED. Plant Physiol 104:189–199.

Tyree M.T. 1997. The Cohesion-Tension theory of sap ascent: Current controversies. J. Exp.l Bot. 48 (315): 1753-1765.

Wang H.L., Wang R.Y., Niu J.Y., Gan Y.T. 2008. Dry matter accumulation and allocation in spring wheat mulched with plastic film in Loess Plateau. Chinese Journal of Ecology 27(1): 28-32.

Waterman P.G., Mole S. 1994. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Blackwell Scientific Publications. Methods in Ecology. Oxford.

Woodhouse R.M., Nobel P.S. 1982. Stipe anatomy, water potentials, and xylem conductances in seven species of ferns (Filicapsida) Am. J. Bot. 69:135-140.

Yang L., Han M., Zhou G., Li J. 2007. The changes of water-use efficiency and stoma density of *Leymus chinensis* along Northeast China Transect. Acta Ecologica Sinica 27:16–24.

Xiong H., Wu J. , Chen J. 2006. K-means clustering versus validation measures: a data distribution perspective, Proceedings of the 12th ACM SIGKDD international conference on Knowledge discovery and data mining. Philadelphia, PA, USA.

Xu Z., Zhou G. 2005. Effects of water stress and nocturnal temperatute on carbon aalocation in the perennial grass Leymus chinensis. Physilogia plantarum 123: 272-280.

Xu Z., Zhou G. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. Exp Bot. 59(12): 3317–3325.

Zhang X.Y., Wang H.M., Hou Z.D., Wang G.X. 2003. Stomatal density and distributions of spring wheat leaves under different planting densities and soil moisture levels. Acta Phytoecologica Sinica 27:133–136.

Zhang Z.B. 2003. Fundamental of physiology and genetics and breeding in crop drought resistance and water saving. Chinese Science Press. Beijing.

Zhao L., Sack F.D. 1999. Ultrastructure of stomatal development in Arabidopsis (Brassicaceae) leaves. American Journal of Botany 86:929-939.

Zhao C.X., Deng X.P., Shan L., Steudle E. Zhang S.Q., Ye Q. 2004 . Changes in Root Hydraulic Conductivity During Wheat Evolution. Journal of Integrative Plant Biology 47(3): 302 – 310.

Zhao, H., He C.Y., Wang R.Y., Yang Q.G., Deng Z.Y., Wang H.L. 2008. Effects of climate warming on spring wheat growth and yield in high-altitude, cold and dankness region Chinese Journal of Ecology 27(12): 2111-2117.

Zimmermann M.H. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Berlin: Springer-Verlag, 143.

Αϊβαλάκις Γ., Καραμπουρνιώτης Γ., Φασσέας Κ. 2003. Σημειώσεις Γενικής Βοτανικής. Αθήνα: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών .

Γαβαλάς Α.Ν. 2003. Φωτοσύνθεση ΙΙ: Βιοχημικές αντιδράσεις. Από: Φυσιολογία φυτών από το Μόριο στο Περιβάλλον. Ρουμπελάκη-Αγγελάκη Α. Κ. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.

Δροσόπουλος Β.Ι. 1992. Η Μορφολογία και Ανατομία των Φυτών. Αθήνα: Εκδόσεις Γ.Π.Α.

Δροσόπουλος Ι. 1998. Φυσιολογία Φυτών. Αθήνα: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Καραμπουρνιώτης Γ. 2003. Φυσιολογία Καταπονήσεων των Φυτών. Αθήνα : Εκδόσεις Έμβρυο

Καράταγλης Σ.Σ. 1999. Φυσιολογία Φυτών. Θεσσαλονίκη : Εκδόσεις Art of text.