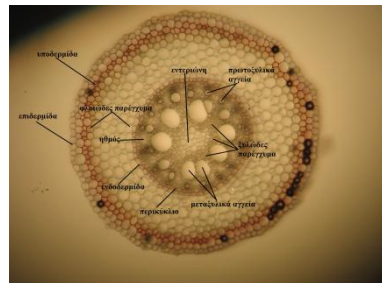
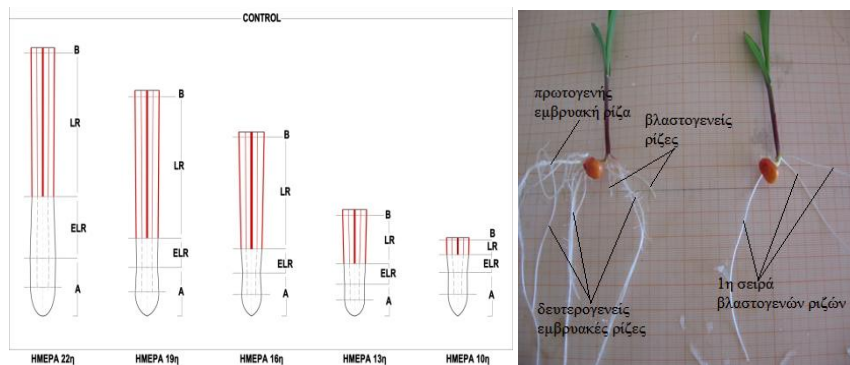




Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας
Τομέας Βιολογίας Φυτών
Εργαστήριο Φυσιολογίας & Μορφολογίας Φυτών
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Βιοτεχνολογία & Εφαρμογές στη Γεωπονία»
Κατεύθυνση: Μοριακή Οικολογία & Ανίχνευση Γενετικά
Τροποποιημένων Οργανισμών



"Συγκριτική μελέτη της απόκρισης των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου χωρίς εμβρυακό ριζικό σύστημα, τα οποία αναπτύσσονται σε νερό ή ελλειμματικό σε θειικά θρεπτικό διάλυμα έναντι πλήρους θρεπτικού διαλύματος"

ΝΙΚΟΛΑΟΣ Δ. ΑΓΓΕΛΗΣ

Επιβλέπων:
Μπουράνης Δημήτριος
Καθηγητής
Εργαστήριο Μορφολογίας και Φυσιολογίας Φυτών

Μεταπτυχιακή εργασία

Αθήνα 2011

**Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας
Τομέας Βιολογίας Φυτών
Εργαστήριο Φυσιολογίας & Μορφολογίας Φυτών**

«Συγκριτική μελέτη της απόκρισης των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου χωρίς εμβρυακό ριζικό σύστημα, τα οποία αναπτύσσονται σε νερό ή ελλειμματικό σε θειικά θρεπτικό διάλυμα έναντι πλήρους θρεπτικού διαλύματος»

Η ανάθεση της μελέτης έγινε με απόφαση της Γενικής Συνέλευσης του Τμήματος Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας (Συνεδρία /19-05-2010) κατά την οποία εγκρίθηκε το θέμα.

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

Δ. Μπουράνης, Καθηγητής (Επιβλέπων)
Γ. Καραμπουρνιώτης, Καθηγητής (Μέλος)
Σ. Χωριανοπούλου, Λέκτορας (Μέλος)

**Μεταπτυχιακή εργασία του μεταπτυχιακού φοιτητή
Νικολάου Δ. Αγγέλη**

Πρόλογος

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας & Μορφολογίας Φυτών, του τμήματος Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, στα πλαίσια του προγράμματος Μεταπτυχιακών σπουδών «Βιοτεχνολογία & Εφαρμογές στη Γεωπονία».

Στο σημείο αυτό νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω κάποιους ανθρώπους που με τον τρόπο τους ο καθένας συνέβαλαν στο να ολοκληρωθεί αυτή η εργασία. Πρώτα από όλα οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στο δάσκαλό μου, τον καθηγητή κ. Δ. Μπουράνη, ο οποίος ήταν και επιβλέπων στην συγκεκριμένη εργασία, τόσο για την επιλογή του θέματος, όσο και για την αμέριστη βοήθεια και καθοδήγηση σε οποιοδήποτε πρόβλημα μου παρουσιάστηκε κατά τη διάρκεια υλοποίησής της. Επίσης θέλω να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Γ. Καραμπουρνιώτη, μέλος της συμβουλευτικής και εξεταστικής επιτροπής, για τις πολύτιμες διορθώσεις και προτάσεις του, που είχαν ως αποτέλεσμα τη βελτίωση του τελικού κειμένου αυτής της εργασίας. Στο σημείο αυτό θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τη Λέκτορα κα. Σ. Χωριανοπούλου, η οποία αποτελεί και μέλος της συμβουλευτικής και εξεταστικής επιτροπής, για την πολύτιμη βοήθειά της, την υπομονή της αλλά και την κατανόηση της σε αρκετά θέματα που προέκυψαν κατά τη διάρκεια του πειραματικού μέρους αυτής της ερευνητικής εργασίας. Παράλληλα θέλω να αναφερθώ σε τρεις μεταπτυχιακούς συμφοιτητές μου, τον Τ. Πιτσιλαδή, τον Γ. Μπεκιάρη και την Χ. Ρέππα και να τους ευχαριστήσω για τη βοήθεια και τη συμπαράστασή τους σε τεχνικά θέματα, τόσο στη διάρκεια του πειράματος, όσο και στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Ένα μεγάλο ευχαριστώ επίσης στην Αρχιτέκτονα Μηχανικό κα. Ε. Σφαντού, χωρίς τη συμβολή της οποία δεν θα μπορούσα να αποτυπώσω τα αποτελέσματα της εργασίας μου σε τόσο ωραίες εικόνες. Τέλος θέλω να ευχαριστήσω τους γονείς μου για την ηθική κυρίως συμπαράσταση και τη γυναίκα μου για την κατανόηση και την υπομονή της για τις μέρες που απουσίαζα για να καταφέρω να ολοκληρώσω την εργασία αυτή.

Η ερευνητική αυτή εργασία αφιερώνεται στον νεογέννητο γιο μου, ο οποίος γεννήθηκε κατά τη διάρκειά της, για τις ώρες που δεν με είχε στο πλάι του, όπως όφειλα.

Περιεχόμενα

Πρόλογος	σελ. 2
Περίληψη	σελ. 6
Abstract	σελ. 8
1. Εισαγωγή	σελ. 9
1.1 Ταξινόμηση και οικονομικά στοιχεία	σελ. 9
1.2 Μορφολογία καλαμποκιού	σελ. 9
1.2.1 Ριζικό σύστημα	σελ. 9
1.2.2 Βλαστός	σελ. 14
1.2.3 Φύλλα	σελ. 14
1.3 Επίδραση της έλλειψης θεικών στο φυτό	σελ. 15
1.3.1 Οι πηγές θείου για το φυτό	σελ. 15
1.3.2 Η απορρόφηση των θεικών από τη ρίζα	σελ. 15
1.3.3 Η μετακίνηση των θεικών μέσα στο φυτό	σελ. 15
1.3.4 Η γενική εικόνα της συμμετοχής του θείου στο φυτικό μεταβολισμό	σελ. 15
1.3.5 Τα αμινοξέα και οι πρωτεΐνες που περιέχουν θείο	σελ. 16
1.3.6 Τα αίτια της έλλειψης του θείου	σελ. 17
1.3.7 Τα συμπτώματα της έλλειψης θείου στο φυτό	σελ. 17
1.4 Λιγνίνη	σελ. 17
1.4.1 Δευτερογενές κυτταρικό τοίχωμα	σελ. 17
1.4.2 Γενικά για λιγνίνη	σελ. 18
1.4.3 Ρόλος της λιγνίνης	σελ. 19
1.4.4 Το πολυμερές της λιγνίνης	σελ. 20
1.5 Ενεργές μορφές οξυγόνου	σελ. 23
1.6 Σκοπός της εργασίας	σελ. 26
2. Πειραματικό μέρος	σελ. 27
2.1 Φυτικό υλικό και ανάπτυξη φυταρίων	σελ. 27
2.2 Υδροπονική καλλιέργεια	σελ. 28
2.3 Μεταχειρίσεις	σελ. 28
2.4 Δειγματοληψίες	σελ. 30
2.5 Μορφολογικές και ανατομικές παρατηρήσεις	σελ. 32
2.6 Μέθοδος εντοπισμού κωνιφερυλικών και σιναπυλικών αλδεϋδών σε G και S λιγνίνες ή πρόδρομες ενώσεις τους (μέθοδος Wiesner)	σελ. 32
2.7 Μέθοδος εντοπισμού σουπεροξειδικού ανιόντος	σελ. 32
2.8 Μέθοδος εντοπισμού υπεροξειδίου του υδρογόνου	σελ. 32
3. Αποτελέσματα	σελ. 33
3.1 Μορφολογικές-αναπτυξιακές μετρήσεις ρίζας	σελ. 33
3.1.1 Μετρήσεις μήκους ρίζας	σελ. 33
3.1.2 Απόσταση της αρχής της περιοχής ELR από ακρορρίζιο	σελ. 34

3.1.3 Απόσταση της αρχής της περιοχής LR από ακρορρίζιο	σελ. 35
3.1.4 Απόσταση της αρχής της περιοχής B από ακρορρίζιο	σελ. 37
3.2 Μορφολογικές-αναπτυξιακές μετρήσεις τομών ρίζας	σελ. 39
3.2.1 Διάμετρος ρίζας	σελ. 39
3.2.1.1 Μέσο περιοχής A	σελ. 39
3.2.1.2 Αρχή περιοχής ELR	σελ. 40
3.2.1.3 Αρχή περιοχής LR	σελ. 41
3.2.1.4 Αρχή περιοχής B	σελ. 43
3.2.2 Διάμετρος κεντρικού κυλίνδρου ρίζας	σελ. 44
3.2.2.1 Μέσο περιοχής A	σελ. 44
3.2.2.2 Αρχή περιοχής ELR	σελ. 45
3.2.2.3 Αρχή περιοχής LR	σελ. 47
3.2.2.4 Αρχή περιοχής B	σελ. 48
3.2.3 Αριθμός μεταξυλικών αγγείων	σελ. 49
3.2.3.1 Μέσο περιοχής A	σελ. 49
3.2.3.2 Αρχή περιοχής ELR	σελ. 51
3.2.3.3 Αρχή περιοχής LR	σελ. 52
3.2.3.4 Αρχή περιοχής B	σελ. 53
3.2.4 Συνολικό εμβαδόν μεταξυλικών αγγείων (μm^2)	σελ. 54
3.2.4.1 Μέσο περιοχής A	σελ. 54
3.2.4.2 Αρχή περιοχής ELR	σελ. 56
3.2.4.3 Αρχή περιοχής LR	σελ. 57
3.2.4.4 Αρχή περιοχής B	σελ. 58
3.3 Παρατηρήσεις χρώσεων τομών	σελ. 60
3.3.1 Εντοπισμός λιγνινών	σελ. 62
3.3.1.1 Μέσο περιοχής A	σελ. 62
3.3.1.2 Αρχή περιοχής ELR	σελ. 62
3.3.1.3 Αρχή περιοχής LR	σελ. 62
3.3.1.4 Αρχή περιοχής B	σελ. 62
3.3.2 Εντοπισμός υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2)	σελ. 63
3.3.2.1 Μέσο περιοχής A	σελ. 63
3.3.2.2 Αρχή περιοχής ELR	σελ. 63
3.3.2.3 Αρχή περιοχής LR	σελ. 63
3.3.2.4 Αρχή περιοχής B	σελ. 63
3.3.3 Εντοπισμός σουπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-)	σελ. 64
3.3.3.1 Μέσο περιοχής A	σελ. 64
3.3.3.2 Αρχή περιοχής ELR	σελ. 64
3.3.3.3 Αρχή περιοχής LR	σελ. 64
3.3.3.4 Αρχή περιοχής B	σελ. 64
4. Συζήτηση	σελ. 68

4.1 Μορφομετρικά στοιχεία	σελ. 68
4.2 <i>In situ</i> στοιχεία	σελ. 69
4.3 Συγκριτική απεικόνιση όλων των παραπάνω δεδομένων	σελ. 70
5. Συμπεράσματα	σελ. 76
6. Βιβλιογραφία	σελ. 79
Παράρτημα	σελ. 85

Περίληψη

Στην παρούσα ερευνητική εργασία μελετήθηκε η ανάπτυξη φυτών αραβόσιτου σε καθορισμένα υγρά υποστρώματα ανάπτυξης και χωρίς όλο το ριζικό τους σύστημα. Συγκεκριμένα τα φυτά του αραβόσιτου αναπτύχθηκαν για 22 ημέρες μέσα σε ειδικούς εργαστηριακούς θαλάμους ανάπτυξης ελεγχόμενων συνθηκών. Τα υποστρώματα ανάπτυξης ήταν 3 (πλήρες, ελλειμματικό σε S και απιονισμένο νερό). Κατά την 7^η ημέρα του πειράματος, όπου και τα φυτά χωρίστηκαν στα 3 υποστρώματα ανάπτυξης, αφαιρέθηκε όλο το εμβρυακό τους ριζικό σύστημα και έμειναν μόνο οι βλαστογενείς ρίζες και ο σπόρος. Οι μετρήσεις που έγιναν αφορούσαν το ριζικό σύστημα που απέμεινε. Έτσι προσδιορίστηκαν τόσο μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως μήκος ρίζας, αποστάσεις τμημάτων ρίζας από το ακρορρίζιο, διάμετρος ρίζας και κεντρικού κυλίνδρου, αριθμός και συνολικό εμβαδόν μεταξυλικών αγγείων, όσο και ο εντοπισμός λιγνίνης και η εμφάνιση ενεργών μορφών οξυγόνου και συγκεκριμένα υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και σουπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-).

Αναλύοντας τα αποτελέσματα διαπιστώνουμε ότι σχεδόν για τις 2 πρώτες εβδομάδες του πειράματος ο σπόρος παρέχει στο φυτό τα κατάλληλα θρεπτικά στοιχεία για την ανάπτυξή του. Το μήκος της ρίζας, μέχρι την 13^η ημέρα, είναι σχεδόν το ίδιο και στις 3 μεταχειρίσεις. Στα φυτά που στρεσάρονται (ελλειμματικό σε S διάλυμα και απιονισμένο νερό) οι πλάγιες ρίζες εντοπίζονται πιο κοντά στο ακρορρίζιο από ότι στα φυτά του πλήρες θρεπτικού διαλύματος. Παράλληλα τα φυτά – S έχουν αυξημένη διάμετρο ρίζας και κεντρικού κυλίνδρου, όπως και εμβαδόν μεταξυλικών αγγείων. Αυτό συμβαίνει λόγω της τάσης των φυτών, εξαιτίας της καταπόνησης, να αυξήσουν το ριζικό τους σύστημα και να απορροφήσουν περισσότερο νερό για την εξισορρόπηση των στοιχείων που είναι σε έλλειψη.

Όσον αφορά για τις *in situ* μετρήσεις, οι λιγνίνες εντοπίζονται σε όλες τις μεταχειρίσεις και για όλες τις ημέρες, στα παλαιότερα στρώματα των ριζών (LR και B) τόσο εξωτερικά του κεντρικού κυλίνδρου όσο και εσωτερικά. Στα νεότερα τμήματα (A και ELR) έχουμε διακυμάνσεις. Στα φυτά που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα δεν εμφανίζονται καθόλου, σε αυτά του ελλειμματικού σε S εμφανίζονται στο ELR μετά την 16^η ημέρα και σε αυτά που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό έχουμε πλήρη παρουσία, εκτός από την περιοχή A την 10^η ημέρα.

Από την άλλη, ενεργές μορφές οξυγόνου εντοπίζονται όλες της ημέρες του πειράματος, σε όλες τις περιοχές της ρίζας και στις 3 μεταχειρίσεις. Κυρίως εντοπίζεται σε μεσοκυττάριους χώρους και σε αερέγχυμα, όπου αυτό σχηματίζεται (συνήθως σε ρίζες φυτών καταπονημένων θρεπτικά). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στις ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται σε – S θρεπτικό διάλυμα εντοπίζεται περισσότερο σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-) από ότι σε εκείνες που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα. Το αντίθετο συμβαίνει για το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Αυτό ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι λόγω της καταπόνησης, τα φυτά που αναπτύσσονται σε – S θρεπτικό διάλυμα χρειάζονται μια πιο δραστική μορφή για ταχύτερη δημιουργία αερεγγύματος.

Επιστημονική περιοχή: Φυσιολογία θρέψης φυτού

Λέξεις κλειδιά: αραβόσιτος, θρεπτική καταπόνηση, μορφομετρικά στοιχεία, λιγνίνη, ROS

Comparative study of response of crown roots of maize plants without embryonic root system, grown in water or sulphate – deficient nutrient solution versus complete nutrient solution.

Abstract

This research project studied the development of maize plants in defined liquid growth substrates without the whole root system. Specifically, the maize plants grown for 22 days in special growth chambers controlled laboratory conditions. The growth substrates were 3 (complete, deficient in S and deionized water). During the 7th day of the experiment, where plants were divided in 3 growing medium, removed all the embryonic root system, leaving only the crown roots and seed. Measurements taken were the root system left. This identified both morphological characteristics like length root segments distances from the root apex, root diameter master cylinder, number and total area of metaxylem vessels, and the identification of lignin and the appearance of active forms of oxygen, namely hydrogen peroxide (H₂O₂) and superoxide anion (O₂⁻).

Analyzing the results we see that almost for the first 2 weeks of the experiment, the seed of the plant provides adequate nutrients for growth. The length of the root, until the 13th day is almost the same in all 3 treatments. In plants that becomes stressed (deficient in S solution and deionized water), the lateral roots are located closer to the apex than in plants of the complete nutrient solution. While plants - S have increased root diameter master cylinder, and area of metaxylem vessels. This happens because of the tendency of plants because of fatigue, increase the root system and absorb more water to balance the elements in a shortage.

With regard to *in situ* measurements, lignins are found in all treatments and all the days in the older sections of roots (LR and B), both outside the master cylinder and internally. In later sections (A and ELR) have variations. In plants grown in complete nutrient solution did not appear at all in those of the deficit in S appear in ELR after the 16th day and those grown in deionized water, we are fully present, except for the area A on the 10th day.

On the other hand, active oxygen species found all the days of the experiment in all regions of the root and 3 treatments. Mainly found in intercellular spaces and aerenchyma, where it formed (usually fatigued nutritious plant roots). It is noteworthy that the roots of plants growing in - S nutrient solution lies more superoxide anion (O₂⁻) than in those grown in complete nutrient solution. The opposite happens for the hydrogen peroxide (H₂O₂). This may be due to the fact that due to stress, plants grown in - S nutrient solution required a more active form for faster creation of aerenchyma.

Scientific area: Physiology of plant nutrition

Keywords: maize, nutritional stress, morphometric data, lignin, ROS

1. Εισαγωγή

1.1 Ταξινόμηση και οικονομικά στοιχεία

Το καλαμπόκι (*Zea mays* L.) ανήκει στην οικογένεια *Poaceae*, γνωστή και ως *Graminae*. Η οργάνωση των αρτίβλαστων της οικογένειας αυτής διαφέρει έναντι των άλλων οικογενειών μονοκότυλων, ενώ έχουν θεσπιστεί συγκεκριμένοι όροι προκειμένου να περιγραφούν οι δομές τους (επικοτύλιο, κόμβος κολεοπτίλου, μεσοκοτύλιο ή κολεόρριζα) (Tillich 1977, Hochholdinger et al. 2004). Κατάγεται από την Κεντρική Αμερική και είναι είδος μόνικο δίκλινο, φέρει την αρσενική ταξιανθία (φόβη) στην κορυφή και την θηλυκή (σπάδικας) σε πλευρικές διακλαδώσεις, περίπου στο μέσο του βλαστού. Έχει μεγάλος ύψος με μακριά λογχοειδή φύλλα, κατ' εναλλαγή τοποθετημένα σε ισχυρό στέλεχος. Το ριζικό σύστημα είναι θυσανώδες με λίγες διακλαδώσεις και αποκτά ξυλώδη υφή. Ο καρπός του είναι καρύοψη και μπορεί να έχει διάφορους χρωματισμούς, σχήματα και μεγέθη ανάλογα με το βιότυπο.

Τα δημητριακά, συμπεριλαμβανομένου του καλαμποκιού, συνεισφέρουν κατά 70% στη θρέψη του ανθρώπου παγκοσμίως (Chandler and Brendel 2002). Το καλαμπόκι είναι η δεύτερη κατά σειρά σπουδαιότητας καλλιέργεια όσον αφορά στα δημητριακά, αμέσως μετά το σιτάρι. Η συνολική παγκόσμια παραγωγή υπερβαίνει τα 400 εκατομμύρια τόνους. Αποτελεί την πρώτη κατά σειρά σπουδαιότητας καλλιέργεια στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, στις οποίες παράγεται σχεδόν το μισό καλαμπόκι σε παγκόσμια κλίμακα. Αμέσως μετά έρχεται η Κίνα και η Βραζιλία. Το καλαμπόκι αποτελεί το κυριότερο δημητριακό για τη διατροφή του ανθρώπου στο Μεξικό, στην Κεντρική Αμερική και σε ορισμένα μέρη της Νότιας Αμερικής, στην Κίνα και στην Αφρική. Στην Ελλάδα χρησιμοποιείται κυρίως ως ζωοτροφή, καθώς επίσης και ως πηγή αρκετών βιομηχανικών προϊόντων.

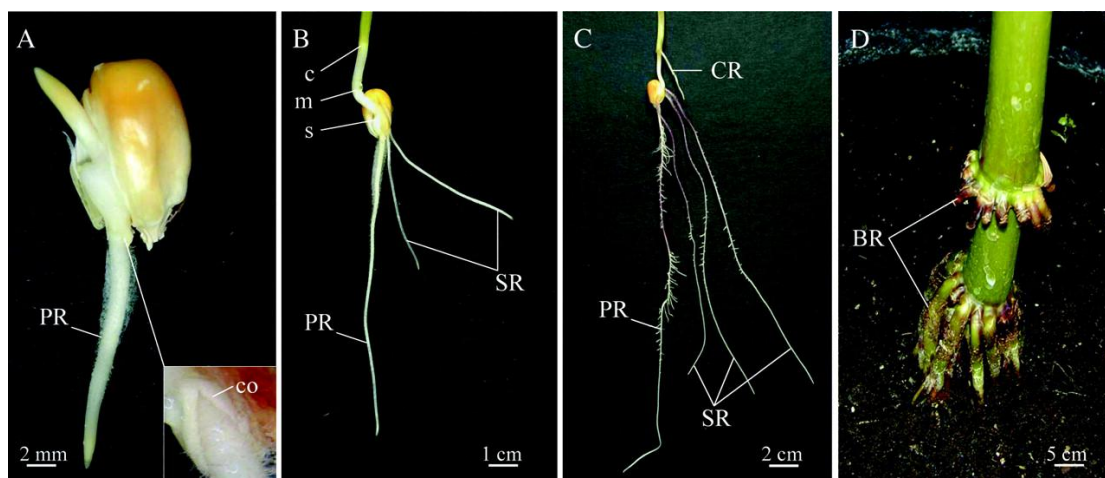
1.2 Μορφολογία καλαμποκιού

1.2.1 Ριζικό σύστημα

Το ριζικό σύστημα του καλαμποκιού διακρίνεται στο εμβρυακό ριζικό σύστημα (Abbe and Stein 1954) που αποτελείται από μία πρωτογενή ρίζα και έναν αριθμό δευτερογενών ριζών, και στο μετεμβρυακό ριζικό σύστημα που απαρτίζεται από τις βλαστογενείς ρίζες, εκπτυσσόμενες από τους διαδοχικούς κόμβους του βλαστού, και από τις ρίζες που εκφύονται αργότερα από όλους τους τύπους κύριων ριζών. Οι βλαστογενείς ρίζες που εκπτύσσονται από διαδοχικούς υπόγειους κόμβους, ονομάζονται επίκτητες (crown roots), ενώ αυτές που σχηματίζονται σε διαδοχικούς κόμβους πάνω από το έδαφος ονομάζονται εναέριες (Hochholdinger et al. 2004).

Αρχικά, παρατηρείται ένα εμβρυακό ριζικό σύστημα αποτελούμενο από μία πρωτογενή ρίζα (primary root) και έναν ποικίλο αριθμό δευτερογενών ριζών (seminal roots) και στη συνέχεια, ένα μετά-εμβρυακό ριζικό σύστημα αποτελούμενο από νεοσηματιζόμενες ρίζες (shoot-borne ή adventitious roots). Οι νεοσηματιζόμενες ρίζες που εκφύονται από διαδοχικούς κόμβους που βρίσκονται κάτω από την επιφάνεια του εδάφους ονομάζονται βλαστογενείς ρίζες (crown roots), ενώ οι αντίστοιχες ρίζες που εκφύονται από διαδοχικούς κόμβους που βρίσκονται πάνω από την επιφάνεια του

εδάφους ονομάζονται εναέρια ρίζες (brace roots). Πλάγιες ρίζες (lateral roots) οι οποίες εκφύονται από όλους τους κύριους τύπους ριζών ανήκουν, επίσης, στο μετά-εμβρυακό ριζικό σύστημα (Hochholdinger et al. 2004).



Εικόνα 1.2.1: Το ριζικό σύστημα του καλαμποκιού σε διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια. Απεικονίζεται η διαδοχική έκπτυξη των τεσσάρων κύριων τύπων ριζών: (A), (B), (C) απεικονίζουν το ριζικό σύστημα 3, 5 και 10 ημέρες από τη βλάστηση αντίστοιχα, ενώ το (D) απεικονίζει το υπέργειο ριζικό σύστημα περίπου 6 εβδομάδες από τη βλάστηση. Οι διαφορετικοί τύποι ρίζας επισημαίνονται με κεφαλαία γράμματα, ενώ τα ειδικά χαρακτηριστικά των αρτίβλαστων καλαμποκιού με μικρά γράμματα PR: πρωτογενής εμβρυακή, SR: δευτερογενείς εμβρυακές, CR: επίκτητες ή βλαστογενείς, BR: εναέρια, co: κολεόρριζα; c: κόμβος κολεοπτίλου, m: μεσοκοτύλιο και s: επικοτύλιο (από Hochholdinger et al. 2004).

Σε αντίθεση με τις πρωτογενείς εμβρυακές ρίζες των περισσότερων αγγειοσπέρμων οι οποίες σχηματίζονται από το εξωτερικό στρώμα κυττάρων του εμβρύου, η πρωτογενής εμβρυακή ρίζα του αραβοσίτου (Εικόνα 1.2.1.A) σχηματίζεται βαθιά μέσα στο έμβρυο αυτού (ενδογενετικά) και γίνεται ορατή σαν μία ευδιάκριτη περιοχή 10-15 ημέρες μετά την επικονίαση (ριζίδιο). Ομοίως σχηματίζονται οι πρωτογενείς ρίζες σε όλη την οικογένεια Gramineae. Το αποτέλεσμα αυτού του τρόπου σχηματισμού είναι ότι το ακρορρίζιο (root tip), συμπεριλαμβανομένης της καλύπτρας της ρίζας (root cap), πρέπει να διεισδύσει και να διαρρήξει άλλους ιστούς πριν γίνει ορατό. Ο ιστός ο οποίος καταστρέφεται κατά τη διάρκεια εμφάνισης της πρωτογενούς ρίζας ονομάζεται κολεόρριζα (Hochholdinger et al. 2004).

Οι δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες (Εικόνα 1.2.1.B) οι οποίες εμφανίζονται από το ασπίδιο (τμήμα του εμβρύου που περιβάλλει τον εμβρυακό άξονα) σχηματίζονται, επίσης, ενδογενετικά και γίνονται ορατές μέσα στο έμβρυο μεταξύ 22ης και 40ης ημέρας μετά την επικονίαση. Οι ρίζες αυτές δεν περιβάλλονται από κολεόρριζα, γιατί το ασπίδιο είναι ήδη διαφοροποιημένο όταν εμφανίζονται και μπορεί εύκολα να διαπεραστεί. Ο αριθμός των δευτερογενών ριζών ανά σποριόφυτο ποικίλλει από 0 έως 13 και είναι ισχυρά εξαρτώμενος από το γενετικό υπόβαθρο του σποριόφυτου (Hochholdinger et al. 2004).

Οι πρωτογενείς και δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες μπορούν να αντέξουν και να παραμείνουν λειτουργικές καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του φυτού του αραβοσίτου (McCully and Canny 1985). Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί και το αντίθετο, να πεθαίνουν μετά το σχηματισμό του νέου ριζικού συστήματος (βλαστογενείς και εναέρια ρίζες) (Hochholdinger

et al. 2004). Το ότι η πρωτογενής εμβρυακή ρίζα και οι πλάγιες ρίζες αυτής είναι επαρκείς από μόνες τους για το σχηματισμό ενός γόνιμου, ώριμου φυτού αποδείχθηκε από σειρά που εκφράζει το υπολειπόμενο γονίδιο *rct5* (Hetz et al. 1996), το οποίο είναι υπεύθυνο για το σχηματισμό μόνο μίας πρωτογενούς ρίζας με πλάγιες ρίζες, αλλά όχι δευτερογενών ή μετά-εμβρυακών ριζών.

Κατά τη διάρκεια των πρώτων δύο εβδομάδων ανάπτυξης, οι πρωτογενείς και δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες αποτελούν το κύριο μέρος του ριζώματος των σποριόφυτων. Αργότερα, οι μετά-εμβρυακές ρίζες γίνονται κυρίαρχες και σχηματίζουν τον κύριο σκελετό του ριζικού συστήματος του αραβοσίτου. Η ανάπτυξη των πρώτων μετά-εμβρυακών ριζών χαρακτηρίζεται από δύο τύπους ριζών: α) τις πλάγιες ρίζες οι οποίες εκφύονται από τις πρωτογενείς και δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες περίπου 6-7 ημέρες μετά το σχηματισμό αυτών των κύριων ριζών και β) τις νεοσχηματιζόμενες βλαστογενείς ρίζες (*shoot-borne crown roots*) οι οποίες σχηματίζονται στον κόμβο του κολεόπτου περίπου 10-14 ημέρες μετά τη βλάστηση (Κωσταράς 2010)

Οι πλάγιες ρίζες έχουν μεγάλη επιρροή στην αρχιτεκτονική της ρίζας (Lynch 1995) και είναι υπεύθυνες για την πρόσληψη του μεγαλύτερου μέρους του νερού και των θρεπτικών στοιχείων για το φυτό του αραβοσίτου (McCully and Canny 1988, Varney and Canny 1993, Wang et al. 1991) λόγω της ικανότητας διακλάδωσής τους, η οποία οδηγεί σε πλάγιες ρίζες της 2ης, 3ης και μεγαλύτερης τάξεως. Αυτές οι ρίζες, οι οποίες μερικές φορές αναφέρονται ως ρίζες διακλάδωσης (*branch roots*), διαφέρουν από τις κύριες ρίζες του αραβοσίτου στο ότι είναι συνήθως πολύ κοντές (Varney et al. 1991), αντιδρούν περισσότερο στην ξηρασία λόγω εξάτμισης (Wang et al. 1991), χάνουν το μερίστωμά τους και περιορίζεται η αποτελεσματικότητά τους πολύ σύντομα (Varney and McCully 1991). Τέλος, έχουν τέτοια ανατομική κατασκευή στο μεγαλύτερο από το μήκος τους ώστε να έχουν τον κυρίαρχο ρόλο στην πρόσληψη νερού (Wang et al. 1995). Οι πλάγιες ρίζες εμφανίζονται στη ζώνη διαφοροποίησης των ήδη σχηματισμένων ριζών, μετά την αποδιαφοροποίηση των ήδη διαφοροποιημένων κυττάρων του περικυκλίου. Αυτό είναι ακόμα υπό συζήτηση στον αραβόσιτο, αλλά σίγουρα στο σχηματισμό πλάγιας ρίζας εμπλέκονται, εκτός από τα κύτταρα του περικυκλίου, και τα κύτταρα της ενδοδερμίδας δίνοντας τη νεοσχηματιζόμενη επιδερμίδα. Μία πρόβλεψη του ποια κύτταρα του περικυκλίου θα διαιρεθούν είναι δύσκολη (Hochholdinger et al. 2004).

Οι καταβολές των βλαστογενών ριζών (Εικόνα 1.2.1C) σχηματίζονται απέναντι από παράλληλες αγγειακές δεσμίδες (Martin and Harris 1976). Το ριζικό σύστημα του αραβοσίτου αναπτύσσει 70 τέτοιες ρίζες κατά τη διάρκεια του βιολογικού του κύκλου, οι οποίες οργανώνονται κατά μέσο όρο σε 6 δακτυλίους των κάτω από την επιφάνεια του εδάφους ριζών και 2-3 δακτυλίους των πάνω από την επιφάνεια του εδάφους εναέριων ριζών (Horpe et al. 1986). Ο σχηματισμός των δακτυλίων αυτών ξεκινά περίπου 3-4 εβδομάδες μετά τη βλάστηση, σε συνεχόμενους κόμβους, ξεκινώντας από το δεύτερο. Η μέση διάμετρος και ο αριθμός ανά δακτύλιο των βλαστογενών ριζών αυξάνει στους υψηλότερους κόμβους (Horpe et al. 1986). Επειδή τα πρώτα τέσσερα υπόγεια μεσογονάτια είναι μικρού μήκους, οι αντίστοιχοι κόμβοι είναι τοποθετημένοι πολύ κοντά μεταξύ τους σχηματίζοντας ένα πυκνό ριζώμα (Horpe et al. 1986). Οι ρίζες στους χαμηλότερους κόμβους αναπτύσσονται αρχικά οριζόντια και στη συνέχεια, σύμφωνα με τη βαρύτητα (κάθετη πορεία), ενώ στους υψηλότερους κόμβους αναπτύσσονται αμέσως προς τα κάτω.

Οι βλαστογενείς ρίζες σχηματίζουν το κύριο μέρος του ενήλικου ριζώματος δίνοντας στηρικτική αντοχή στα φυτά. Επίσης, είναι υπεύθυνες για το μεγαλύτερο μέρος της απορρόφησης νερού και θρεπτικών μέσω των πλάγιων ριζών τους (McCully and Canny 1988).

Τέλος, οι εναέριες ρίζες (Εικόνα 1.2.1.D) που εμφανίζονται πάνω από το έδαφος αργότερα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του φυτού σχηματίζονται, επίσης, ενδογενετικά. Από αυτές δε διεισδύουν όλες μέσα στο έδαφος και μόνον όσες καταλήγουν σε αυτό σχηματίζουν πλάγιες ρίζες. Έτσι, παρέχουν επιπρόσθετη στήριξη, καθώς και πρόσληψη νερού και θρεπτικών στοιχείων μέσω των πλάγιων ριζών τους (Hochholdinger et al. 2004).

Επιπλέον των ριζών οι οποίες καθορίζονται από το ενδογενές αναπτυξιακό πρόγραμμα, ο αραβόσιτος μπορεί να αναπτύξει άλλες ρίζες οι οποίες σχηματίζονται κάτω από ασυνήθιστες συνθήκες, όπως τραυματισμός, εφαρμογή ορμονών ή άλλης εξωγενούς διέγερσης, σε μη χαρακτηριστικά μέρη του φυτού, όπως στο μεσοκοτύλιο. Στον αραβόσιτο αυτές οι ρίζες συνήθως αναφέρονται ως τυχαίες (συμπτωματικές) ρίζες (Hochholdinger et al. 2004).

Ανατομικά οι ρίζες του αραβόσιτου χωρίζονται σε τέσσερις ζώνες ανάπτυξης. Στην εικόνα 1.2.2 παρουσιάζεται επιμήκης τομή ρίζας του αραβόσιτου όπου διακρίνονται κατά μήκος οι τέσσερις ζώνες ανάπτυξης: η καλύπτρα, η μεριστωματική περιοχή, η ζώνη επιμήκυνσης και η ζώνη ωρίμανσης της ρίζας (Taiz and Zeiger, 2006).

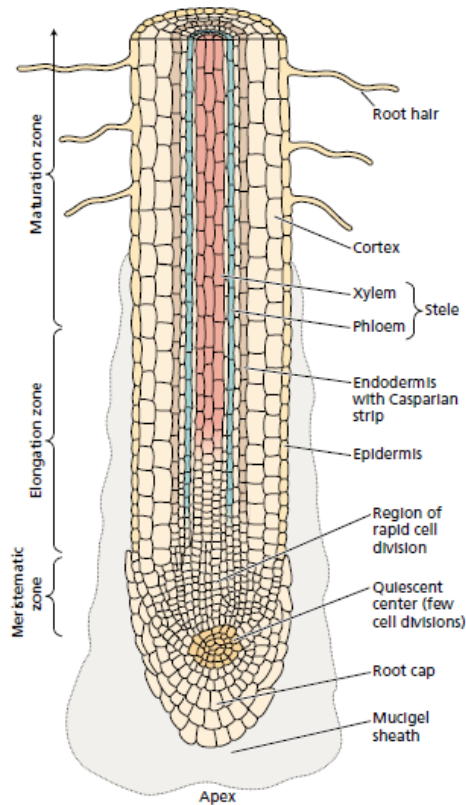
Ξεκινώντας από το κάτω άκρο της ρίζας διακρίνεται η καλύπτρα, ένας κωνικός σχηματισμός που σκοπό έχει να προστατεύει τη μεριστωματική περιοχή κατά τη διείσδυση της ρίζας στο έδαφος. Επίσης στην καλύπτρα της ρίζας εδράζεται ο μηχανισμός αντίληψης της βαρύτητας. Η καλύπτρα εκκρίνει οργανικές ενώσεις που σχετίζονται με τη δημιουργία κατάλληλης ριζόσφαιρας αλλά και την πρόσληψη ιόντων από το έδαφος.

Πάνω από την καλύπτρα βρίσκεται η μεριστωματική περιοχή, μια στρώση αδιαφοροποίητων κυττάρων τα οποία διαιρούνται με γρήγορο ρυθμό για να παράγουν νέους ιστούς. Η μεριστωματική περιοχή εκτός από το κορυφαίο μερίστωμα περιλαμβάνει το καλυπτρογόνο, το πρωτόδερμα, το προκάμβιο και το θεμελιώδες μερίστωμα που θα δώσουν εξειδικευμένα κύτταρα των ιστών της νέας ρίζας.

Η αμέσως επόμενη περιοχή είναι η ζώνη επιμήκυνσης στην οποία τα νέα κύτταρα αυξάνουν γρήγορα σε όγκο και παίρνουν το τελικό τους σχήμα. Στην περιοχή αυτή ξεκινάει η διαφοροποίηση των κυττάρων του ηθμού και του φλοιώδους παρεγχύματος.

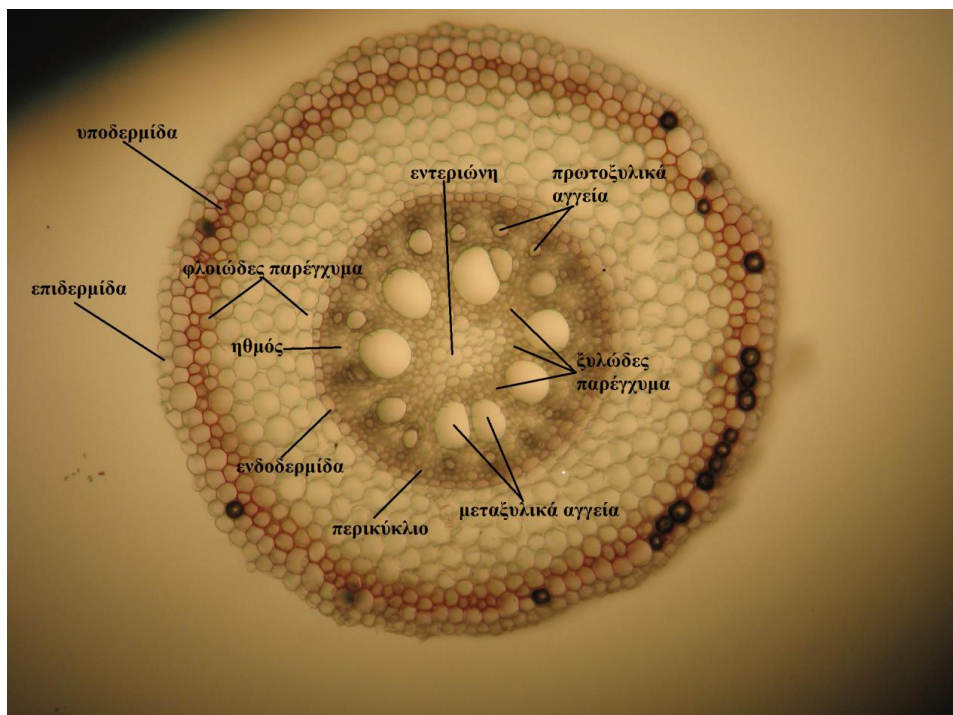
Η ζώνη επιμήκυνσης είναι αυτή που ευθύνεται για την κάμψη της ρίζας. Αντιδρά δηλαδή στα ερεθίσματα που δέχεται η καλύπτρα και αλλάζει την κατεύθυνση της αυξανόμενης ρίζας.

Τέλος υπάρχει η ζώνη ωρίμανσης ή διαφοροποίησης όπου τα κύτταρα του ξύλου και της ενδοδερμίδας διαφοροποιούνται και καθίσταται λειτουργικοί οι αγωγοί ιστοί της ρίζας. Επίσης στη ζώνη αυτή έχουμε δημιουργία ριζικών τριχιδίων, που προεκβάλλουν από τα κύτταρα της επιδερμίδας, αυξάνοντας σημαντικά την επιφάνεια απορρόφηση (Κωσταράς 2010).



Εικόνα 1.1.2. Οι ζώνες ανάπτυξης της ρίζας (Taiz and Zeiger, Plant Physiology, 2006)

Στην εικόνα 1.1.3 φαίνεται η αρχιτεκτονική της ρίζας σε εγκάρσια τομή. Όλοι οι τύποι ριζών του αραβοσίτου παρουσιάζουν κοινή αρχιτεκτονική. Από την περιφέρεια προς το κέντρο συναντάμε την επιδερμίδα, το φλοιώδες παρέγχυμα και τον κεντρικό κύλινδρο.



Εικόνα 1.1.3: Αρχιτεκτονική ρίζας αραβοσίτου σε εγκάρσια τομή

Η επιδερμίδα ή ριζοδερμίδα (epidermis) αποτελείται από μια στοιβάδα κυττάρων στενά συνδεδεμένων μεταξύ τους. Τα κύτταρα αυτά είναι λεπτότοιχα { υποτυπώδη εφυμενίδα. Όπως αναφέρθηκε τα επιδερμικά κύτταρα προεκβάλλουν προς το εδαφικό περιβάλλον σχηματίζοντας τα ριζικά τριχίδια. Αυτή η κατασκευή φαίνεται πως έχει μεγάλη συμβολή στην απορρόφηση νερού και ιόντων αλλά και στην προστασία των νεαρών ιστών από την αφυδάτωση και τους ξενοβιοτικούς παράγοντες. Τα ριζικά τριχίδια είναι βραχύβια και ανανεώνονται από τους νέους ιστούς της αυξανόμενης ρίζας (Fahn 1982, Freeling and Walbot 1994).

Το φλοιώδες παρέγχυμα (cortex) είναι το τμήμα της ρίζας που παρεμβάλλεται μεταξύ της επιδερμίδας και του κεντρικού κυλίνδρου. Μέσω του φλοιώδους παρεγχύματος πραγματοποιείται η αποπλασμική και συμπλασμική κίνηση νερού και ουσιών από την επιδερμίδα προς τον κεντρικό κύλινδρο. Εκτός από την διακίνηση το φλοιώδες παρέγχυμα έχει και αποταμιευτικό χαρακτήρα. Τέλος τα κύτταρα που βρίσκονται κοντά στην επιδερμίδα λιγνινοποιούνται, παρέχοντας έτσι προστασία στη ρίζα με το σκληρογχευματικό ιστό που συγκροτούν (Freeling and Walbot 1994). Η εσωτερική στρώση κυττάρων του φλοιώδους παρεγχύματος ονομάζεται ενδοδερμίδα (endodermis). Αποτελείται από κύτταρα όπου στα τοιχώματά τους, τα οποία εφάπτονται του κυλίνδρου, έχει εναποτεθεί λιγνίνη και σουβερίνη. Έτσι περιμετρικά δημιουργείται η λωρίδα Caspari, η οποία μονώνει τον κεντρικό κύλινδρο, αποτρέποντας την κίνηση του νερού από τον κύλινδρο προς το φλοιώδες παρέγχυμα.

Εσωτερικά της ενδοδερμίδας εφάπτεται μια στοιβάδα κυττάρων που αποτελούν το περικύκλιο (pericycle). Τα κύτταρα του περικυκλίου των νεαρών ριζών είναι λεπτότοιχα, παρεγχυματικής δομής και προέρχονται από το κορυφαίο μερίστωμα. Το περικύκλιο διατηρεί τη μεριστωματική του ικανότητα για μεγάλο χρονικό διάστημα, γεγονός που συνδέεται με το σχηματισμό πλάγιων ριζών (Fahn 1982).

Μετά το περικύκλιο εντοπίζεται το αγωγό σύστημα, το οποίο περιλαμβάνει τα στοιχεία του ηθμώδους (phloem) και ξυλώδους (xylem) αγγειακού συστήματος. Στο κέντρο της ρίζας υπάρχουν παρεγχυματικά κύτταρα που συγκροτούν την εντεριώνη.

1.2.2 Βλαστός

Ο βλαστός του καλαμποκιού είναι κάλαμος συμπαγής, κυλινδρικής διατομής με πλάγια επιμήκη αύλακα και φέρει συνήθως 8 – 21 μεσογονάτια, από τα οποία, αυτά της βάσης, είναι βραχύτερα από εκείνα της κορυφής. Η κατάσταση αυτή του στελέχους, σε συνδυασμό με την εντεριώνη που γεμίζει εσωτερικά το βλαστό και τις εναέριες ρίζες, προσδίδει αντοχή στο πλάγιασμα και κάνει το βλαστό συμπαγή, ιδιότητες που είναι απαραίτητες, εάν ληφθεί υπόψη ότι το ύψος του μπορεί να υπερβεί, σε ορισμένους γονότυπους, τα 4 μέτρα και στις πιο συνηθισμένες περιπτώσεις τα 2 – 2,5 μέτρα (Duncan 1975)

1.2.3 Φύλλα

Τα φύλλα αναπτύσσονται ανά ένα σε κάθε κόμβο. Ο αριθμός των φύλλων ανά φυτό, ποικίλει από 8 – 48 (συνήθως 8 – 21) στους διάφορους βιότυπους του καλαμποκιού και είναι συνάρτηση κυρίως του γονότυπου του και δευτερευόντως της θερμοκρασίας του μεριστώματός του κατά την περίοδο του σχηματισμού των καταβολών. Το φύλλο του

καλαμποκιού αποτελείται από ένα ισχυρό κολεό που περιβάλλει το μεσογονάτιο έως τον αμέσως επόμενο κόμβο, ένα λογχοειδές έλασμα που είναι παραλληλόνευρο και τη γλωσσίδα (Duncan and Hesketh 1968).

1.3 Επίδραση της έλλειψης θεικών στο φυτό

1.3.1 Οι πηγές θείου για το φυτό

Το φυτό αξιοποιεί το θείο που περιέχεται είτε στα θειικά ιόντα (SO_4^{2-}) του εδαφικού διαλύματος είτε στο διοξείδιο του θείου (SO_2) της ατμόσφαιρας. Τα θειικά ιόντα αποτελούν τη σημαντικότερη πηγή θείου για το φυτό και προσροφώνται από τις ρίζες, ενώ το ατμοσφαιρικό διοξείδιο του θείου ενσωματώνεται από τα εναέρια μέρη των ανωτέρων φυτών (Mills and Jones 1996).

1.3.2 Η απορρόφηση των θεικών από τη ρίζα

Τα θειικά μετακινούνται προς τη ρίζα κυρίως με μαζική μεταφορά, επομένως η πρόσληψή τους εξαρτάται από την εδαφική υγρασία. Συγκεντρώσεις 3 ως 5 mg S ανά L εδαφικού διαλύματος θεωρούνται επαρκείς για τα περισσότερα φυτικά είδη. Τα θειικά ιόντα μόλις βρεθούν στην επιφάνεια της ρίζας απορροφώνται ενεργά, αντίθετα προς την διαβάθμιση ηλεκτροχημικού δυναμικού. Στο συνηθισμένο εύρος pH του εδάφους η πρόσληψη του θεικού ανιόντος από τις ρίζες πραγματοποιείται με σχετικά χαμηλό ρυθμό. Το pH του εδάφους και η παρουσία άλλων θρεπτικών στοιχείων έχει γενικά περιορισμένη επίδραση στην απορρόφηση θεικών. Για τις περισσότερες καλλιέργειες, η πρόσληψη θείου είναι παρόμοια με αυτή του φωσφόρου και κυμαίνεται από 1 kg * στρ⁻¹ για τα αγρωστώδη έως 4,5 kg * στρ⁻¹ για τα σταυρανθή (Marschner 1995).

Εκτός από τη συγκέντρωση του ολικού θείου στο θρεπτικό υπόστρωμα, είναι πολύ σημαντική και η σχέση N:S, καθώς και η σχέση $\text{SO}_4\text{-S}$: ολικό-S σ' αυτό. Μία σχέση N:S = 15:1 θεωρείται επαρκής για τα περισσότερα φυτικά είδη, ενώ για τα σταυρανθή ανέρχεται σε 3:1 και για τα αγρωστώδη σε 17:1 (Marschner 1995).

1.3.3 Η μετακίνηση των θεικών μέσα στο φυτό

Τα θειικά, μετά την πρόσληψή τους από τη ρίζα μετακινούνται στο βλαστό μέσω των αγγείων του ξύλου. Σε περίπτωση περιορισμένης τροφοδοσίας, τα θειικά αναδιανέμονται από τις ρίζες και τους μίσχους σε νεαρότερους ιστούς. Τα παλαιότερα φύλλα δεν συνεισφέρουν σημαντικά στον εφοδιασμό των νεαρότερων ιστών με θειικά (Marschner 1995).

Η μετακίνηση των θεικών μέσω του ηθμού είναι πολύ περιορισμένη. Το θείο που μετακινείται στον ηθμό βρίσκεται σε ανηγμένη μορφή, αυτή των ενώσεων που περιέχουν σουλφυδρυλομάδες (-SH). Η μετακίνηση αυτή προϋποθέτει την αναγωγή των θεικών ώστε να δημιουργηθούν οι σουλφυδρυλομάδες που θα ενσωματωθούν στα αμινοξέα κυστεΐνη, κυστίνη και μεθειονίνη. Η αναγωγή των θεικών γίνεται κατά κύριο λόγο στις μεμβράνες των χλωροπλαστών, στη διάρκεια της ημέρας (Marschner 1995).

1.3.4 Η γενική εικόνα της συμμετοχής του θείου στο φυτικό μεταβολισμό

Πολυάριθμες ζωτικές λειτουργίες του φυτού απαιτούν θείο ώστε να πραγματοποιηθούν απρόσκοπτα (Marschner 1995). Δισουλφιδικοί δεσμοί (-S-S-)

σχηματίζονται από δύο σουλφυδρυλομάδες (-SH) της κυστεΐνης ή της μεθειονίνης. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί συμμετέχουν στη διαμόρφωση της τεταρτοταγούς δομής των πρωτεϊνών. Κατά συνέπεια το θείο εμπλέκεται στη λειτουργική διαμόρφωση και τη δραστηριότητα πολλών ενζύμων (Marschner 1995).

Η φερρεδοξίνη αποτελεί ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα σημαντικής πρωτεΐνης που περιέχει θείο. Η φερρεδοξίνη συμμετέχει ως ρυθμιστικός παράγοντας ή δότης ηλεκτρονίων σε μεταβολικούς μηχανισμούς όπως η αφομοίωση του CO₂, η σύνθεση της γλυκόζης, η σύνθεση του γλουταμικού οξέος, η αφομοίωση του N₂ και η αναγωγή των νιτρικών (Marschner 1995).

Το θείο αποτελεί συστατικό του συνενζύμου-A (CoA), των βιταμινών βιοτίνης και θειαμίνης και του τριπεπτιδίου της γλουταθειόνης. Το CoA διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον κύκλο του κιτρικού οξέος και στο μεταβολισμό των λιπιδίων και των λιπαρών οξέων. Η βιοτίνη σχετίζεται με την αφομοίωση του CO₂ και την αποκαρβοξυλίωση. Η θειαμίνη δρα ως συνένζυμο στην αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού και την οξείδωση των ακετονοξέων. Η γλουταθειόνη αντιπροσωπεύει το 90% του υδατοδιαλυτού θειολικού κλάσματος των φυτικών ιστών (Dekok and Stulen 1993) και συμμετέχει ως αναγωγικός παράγοντας σε πολυάριθμες λειτουργίες του φυτού (Bergmann and Rennenberg 1993).

Το θείο αποτελεί βασικό συστατικό ορισμένων πτητικών ενώσεων που εντοπίζονται σε φυτά του γένους *Allium* (πχ σκόρδο και κρεμμύδι). Οι ενώσεις αυτές συμβάλλουν στην άμυνα των φυτών έναντι βιοτικών παραγόντων καταπόνησης. Επιπλέον το θείο προάγει τον σχηματισμό των φυματίων στα ψυχανθή, ενεργοποιεί τον σχηματισμό των σπερμάτων και βοηθάει τα φυτά να αντέξουν στις χαμηλές θερμοκρασίες (Marschner 1995).

1.3.5 Τα αμινοξέα και οι πρωτεΐνες που περιέχουν θείο

Το θείο αποτελεί συστατικό των δύο αμινοξέων κυστεΐνης και μεθειονίνης, καθώς και των πρωτεϊνών που τα περιέχουν. Και τα δύο αμινοξέα είναι πρόδρομοι άλλων ενώσεων που περιέχουν θείο, όπως ορισμένα συνένζυμα και δευτερογενείς μεταβολίτες. Το θείο είτε είναι δομικό συστατικό ενώσεων του τύπου R₁-C-S-C-R₂, είτε δρα ως λειτουργική ομάδα (π.χ. R-SH) που συμμετέχει άμεσα σε μεταβολικές αντιδράσεις.

Η περιεκτικότητα των πρωτεϊνών σε θείο ποικίλλει σημαντικά τόσο μεταξύ των πρωτεϊνικών κλασμάτων των επιμέρους κυττάρων όσο και μεταξύ των φυτικών ειδών. Οι πρωτεΐνες των ψυχανθών περιέχουν κατά μέσον όρο λιγότερο θείο από τις πρωτεΐνες των σιτηρών, ενώ ο λόγος N:S είναι 40:1 και 30:1 αντίστοιχα (Dijkshoorn and van Wijk 1967).

Η κυστεΐνη διαδραματίζει ιδιαίτερο ρόλο στη δομή και τη λειτουργία των πρωτεϊνών ως δομικό συστατικό τους. Η αντιστρεπτή μετατροπή των σουλφυδρυλομάδων δύο γειτονικών δομικών μονάδων κυστεΐνης (κυστεΐνυλο-τμήμα του μορίου) σε δισουλφιδικό δεσμό στην πολυπεπτιδική αλυσίδα έχει θεμελιώδη σημασία για την τεταρτοταγή δομή και επομένως τη λειτουργία των ενζυμικών πρωτεϊνών. Η μετατροπή αυτή συμβάλλει στον μετα-μεταγραφικό έλεγχο της δραστηριότητας ενζύμων-κλειδιών που συμμετέχουν σε ζωτικές λειτουργίες των κυττάρων, όπως η φωτοσύνθεση και η αναπνοή.

Κατά την ενυδάτωση αυξάνει ο αριθμός των δισουλφιδικών δεσμών στις πρωτεΐνες. Αυτός ο μετασηματισμός δισουλφιδικών γεφυρών σχετίζεται με συσσωμάτωση και αποδόμηση πρωτεϊνών (Tomati and Galli 1979), προστατεύει τις σουλφυδρυλικές ομάδες

και θεωρείται ότι έχει μεγάλη σημασία στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας του κυττάρου στην αφυδάτωση (που προκαλείται από την ξηρασία και την θερμότητα) και στην καταστροφή από ψύξη (Levitt 1980).

1.3.6 Τα αίτια για την έλλειψη του θείου

Οι βασικοί παράγοντες που προκαλούν έλλειψη θείου σε καλλιεργούμενες φυτείες είναι τα χαμηλά επίπεδα θείου στο έδαφος και/ή τα υψηλά επίπεδα αζώτου στο έδαφος, ο ρυθμός έκπλυσης των θεικών και η ανεπάρκεια νερού (Πρωτονοτάριος 2008).

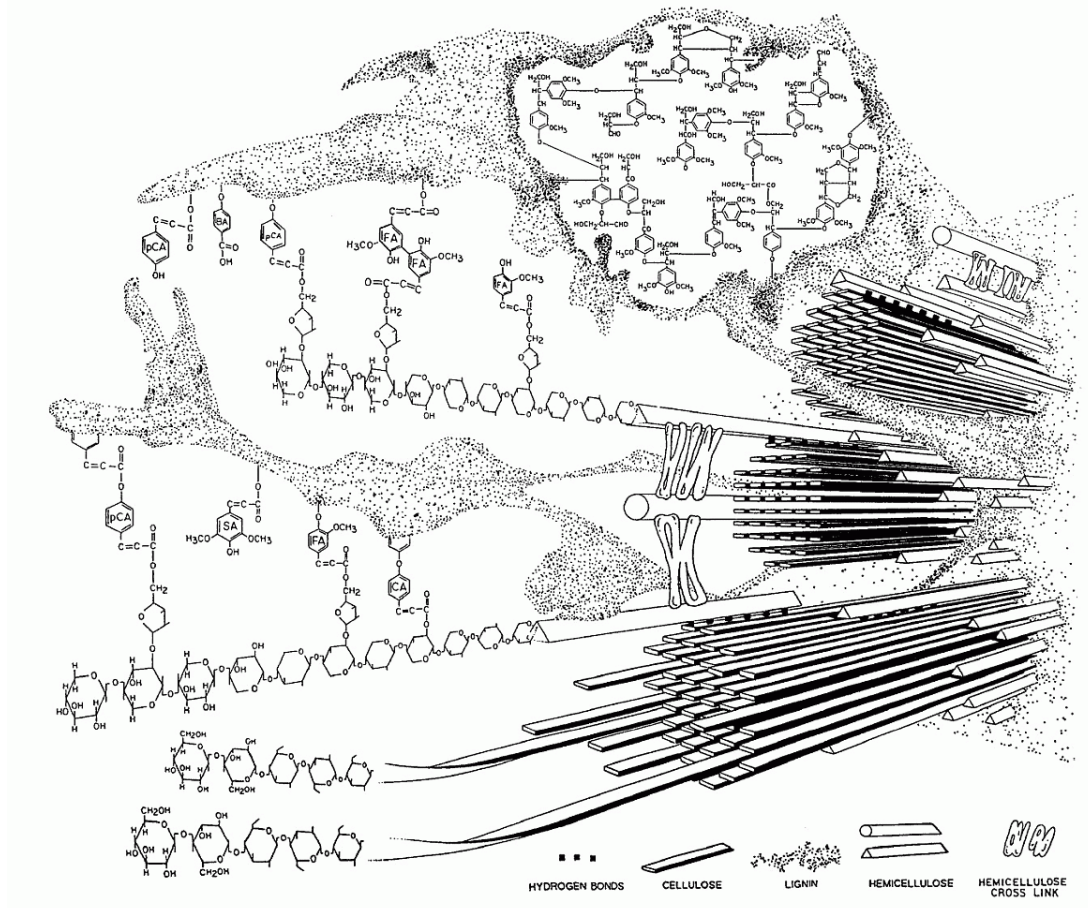
1.3.7 Τα συμπτώματα της έλλειψης θείου στο φυτό

Τα συμπτώματα της έλλειψης θείου παρουσιάζουν ομοιότητες με εκείνα της έλλειψης αζώτου, διότι η έλλειψη και των δύο στοιχείων προκαλεί διαταραχές στη βιοσύνθεση των πρωτεϊνών και της χλωροφύλλης. Ωστόσο, αντίθετα προς το άζωτο, το θείο δεν χαρακτηρίζεται ως ευκίνητο στοιχείο. Συνεπώς, τα συμπτώματα της έλλειψης θείου εμφανίζονται αρχικά σε νεαρά φύλλα. Τα φύλλα με έλλειψη θείου αρχικά εμφανίζουν ελαφρά κίτρινο-πράσινο χρώμα, το οποίο στη συνέχεια μπορεί να μετατραπεί σε κόκκινο ή πορφυρό, ενώ το μέγεθός τους παραμένει μικρό. Οι βλαστοί χαρακτηρίζονται ως ξυλώδεις, λεπτότεροι και κοντότεροι. Οι καρποί είναι ελαφρά πράσινοι, χωρίς να είναι χυμώδεις. Η παραγωγή καρπών είναι περιορισμένη, ενώ η ωρίμανση καθυστερεί. Οι ρίζες είναι μακρύτερες απ' ότι συνήθως και στα ψυχανθή, η δημιουργία φυματίων είναι περιορισμένη. Συμπτώματα έλλειψης θείου μπορεί να εμφανιστούν σε αναπτυσσόμενα νεαρά αρτίβλαστα αλλά τείνουν να εξαφανιστούν με την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος (Πρωτονοτάριος 2008).

1.4 Λιγνίνη

1.4.1 Δευτερογενές κυτταρικό τοίχωμα

Το δευτερογενές κυτταρικό τοίχωμα των φυτών περιέχει κυτταρίνη (40-80%), ημικυτταρίνη (10-40%) και λιγνίνη (5-25%) (Salisbury and Ross 1992). Συγκεκριμένα για τα σιτηρά, η αναλογία αυτή τροποποιείται μερικώς: 45-60% κυτταρίνη, 20-40% ημικυτταρίνη και 5-10% λιγνίνη (Bidlack et al. 1992). Η διάταξη αυτών των συστατικών επιτρέπει στα μικροϊνίδια κυτταρίνης να ενσωματωθούν στη λιγνίνη (Εικόνα 1.4.1.1). Στα αγγεία του ξύλου υπάρχουν τρία στρώματα δευτερογενούς κυτταρικού τοιχώματος, που ονομάζονται S1, S2 και S3 και προκύπτουν από διαφορετική διάταξη των μικροϊνιδίων. Η στρώση S1 που δημιουργήθηκε πρώτη (εξωτερική) έχει αριστερόστροφες και δεξιόστροφες έλικες μικροϊνιδίων, η S2 και η S3 (εσωτερική) έχουν από μία έλικα μικροϊνιδίων με αντίθετη μεταξύ τους φορά. Κατά το σχηματισμό του δευτερογενούς τοιχώματος η λιγνινοποίηση πραγματοποιείται στις στρώσεις S1 και S2, ενώ σπάνια συμβαίνει στην S3 (Bidlack et al. 1992, Fromm et al. 2003, Marjamaa et al. 2007).



Εικόνα 1.4.1.1: Η αντιπροσωπευτική δομή του δευτερογενούς κυτταρικού τοιχώματος σιτηρών. Οι ενώσεις είναι τοποθετημένες με τέτοιο τρόπο ώστε τα μικροϊνίδια κυτταρίνης και οι αλυσίδες ημικυτταρίνης να ενσωματώνονται στη λιγνίνη. Διακρίνονται οι εξειδικευμένες συνδέσεις και τα συστατικά της περιφερειακής λιγνίνης, όπως το *p*-κουμαρικό οξύ (*p*CA), το φερουλικό οξύ (FA), το *p*-υδροξυβενζοϊκό οξύ (BA), το σιναπικό οξύ (SA) και το κινναμικό οξύ (CA) (Bidlack et al. 1992).

1.4.2 Γενικά για λιγνίνη

Η λέξη λιγνίνη προέρχεται από τη λατινική λέξη *lignum* που σημαίνει ξύλο και χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από το Γάλλο επιστήμονα De Candolle το 1832 για να περιγράψει τις μη κυτταρινικές, προστατευτικές ουσίες που βρίσκονταν στο ξύλο. Από τότε μέχρι σήμερα έχει συσσωρευθεί μεγάλος όγκος δεδομένων που σχετίζεται με τη χημεία, τη βιοσύνθεση, την κατανομή και τον γονιδιακό έλεγχο των λιγνινών (Boudet 2000). Το ενδιαφέρον σχετικά με τις λιγνίνες για αρκετά χρόνια υστερούσε σε σχέση με το ενδιαφέρον για άλλα φυτικά πολυμερή, όπως η κυτταρίνη και οι ημικυτταρίνες, οι οποίες βρίσκονται στενά συνδεδεμένες με τις λιγνίνες στο κυτταρικό τοίχωμα. Αυτή η έλλειψη ενδιαφέροντος φαίνεται ότι οφείλεται στη χημική πολυπλοκότητα του πολυμερούς αυτού και στην έλλειψη κατάλληλων αναλυτικών τεχνικών. Επιπλέον, σε αντίθεση με άλλα φυτικά πολυμερή που έχουν σημαντικές διατροφικές (π.χ. άμυλο) ή αγροβιομηχανικές (π.χ. κυτταρίνη) εφαρμογές, η αξιοποίηση των λιγνινών καθώς και των παραπροϊόντων τους σε βιομηχανικό επίπεδο δεν έχει ακόμα επιτευχθεί πλήρως (Boudet 2000).

Η λιγνίνη αποτελεί το δεύτερο σε αφθονία φυτικό πολυμερές μετά την κυτταρίνη και το τρίτο φυσικό πολυμερές, μετά την κυτταρίνη και τη χυτίνη. Αντιπροσωπεύει το 30% περίπου των 1.4×10^{12} κιλών άνθρακα που προσλαμβάνονται από τα φυτά κάθε χρόνο και αποτελεί το 15-36% του ξηρού βάρους του ξύλου στα δέντρα (Humphreys and Chapple 2002). Η οικονομική σημασία των λιγνινών είναι πολύ μεγάλη. Επηρεάζουν την πεπτικότητα των ζωοτροφών, αφού τις καθιστούν δύσπεπτες και δυσχεραίνουν τη πολτοποίηση του ξύλου σε χαρτί, με αποτέλεσμα να χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση της λιγνίνης χημικές διεργασίες οι οποίες αυξάνουν το κόστος και τη ρύπανση του περιβάλλοντος (Humphreys and Chapple 2002, Boudet et al. 2003). Υψηλός βαθμός μεθυλίωσης της λιγνίνης ευνοεί την απομάκρυνσή της με χημική κατεργασία. Από την άλλη πλευρά, η λιγνίνη μπορεί να αποτελέσει μια αποδοτική πρώτη ύλη για παρασκευή ενώσεων όπως οι αρωματικές αλδεΐδες, οι κετόνες, η βανιλίνη και το βανιλικό οξύ, μετά από αλκαλική οξείδωση που καταλύεται από Fe^{3+} και Cu^{2+} (Xiang and Lee 2001).

Σε σχέση με τα υπόλοιπα φυσικά πολυμερή, η λιγνίνη παρουσιάζει δύο σημαντικές διαφορές: την έλλειψη επαναληψιμότητας των δομικών της μονάδων και ομοιογένειας, καθώς επίσης και την έλλειψη ενζύμων για την αποδόμησή της, γεγονός ασυνήθιστο για φυτικό πολυμερές (Sederoff et al. 1999). Πιστεύεται ότι υπάρχουν περίπου 20 είδη σύνδεσης των δομικών μονάδων και αρκετά σημεία σε κάθε δομική μονάδα μπορούν να συμμετέχουν σε δεσμούς μεταξύ μονάδων. Έτσι, οι λιγνίνες μπορούν να συγκριθούν με σύνθετους πολυσακχαρίτες, αν και αυτοί είναι πολύ απλούστεροι. Κάθε μια από τις δομικές μονάδες μπορεί να συνδεθεί με άλλα πολυμερή του κυτταρικού τοιχώματος, διασυνδέοντας πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες με τη λιγνίνη σε ένα πολύπλοκο τρισδιάστατο δίκτυο (Whetten et al. 1998).

1.4.3 Ρόλος της λιγνίνης

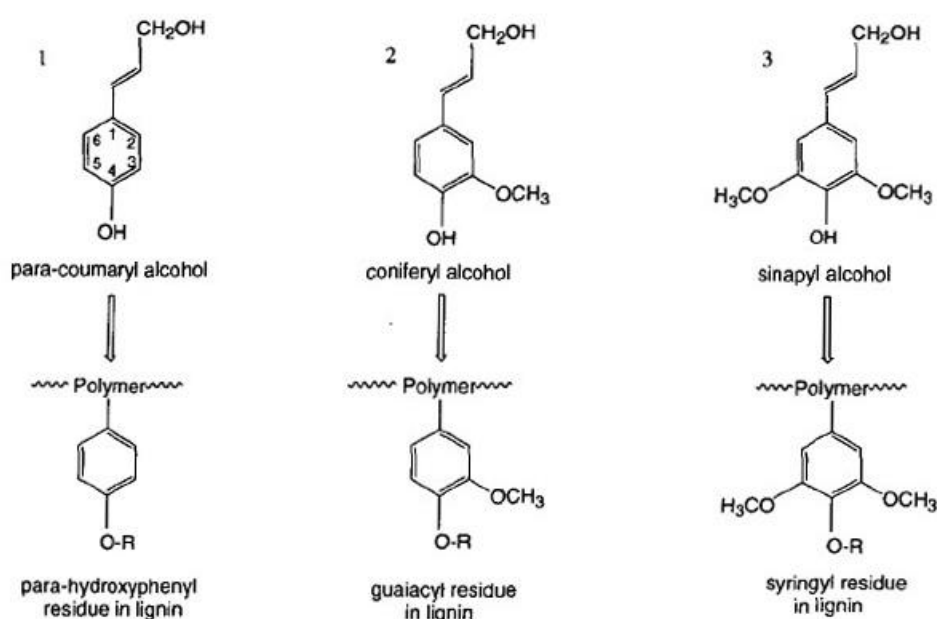
Έχει δειχθεί ο φυσιολογικός ρόλος της λιγνίνης τόσο για τη μηχανική στήριξη του φυτού μέσω της ενδυνάμωσης των ιστών (Zhong et al. 1998) όσο και στην αύξηση της ανθεκτικότητας των ιστών έναντι βιοτικών παραγόντων καταπόνησης (Moershbacher et al. 1990). Η λιγνίνη καθιστά τα κυτταρικά τοιχώματα υδρόφοβα και αδιαπέραστα από το νερό και αποκλείει τις περιοχές τραυματισμού ή προσβολής από παθογόνα. Γενικά αποτελεί βασικό δομικό συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος συγκεκριμένων φυτικών κυττάρων όπως οι τραχεΐδες και οι σκληρεΐδες (Douglas 1996). Πέρα όμως από αυτά υπάρχουν και αποδείξεις ότι συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων παίζουν σημαντικό ρόλο στην επικοινωνία μεταξύ γειτονικών κυττάρων. Παρόμοιες βιολογικές λειτουργίες έχουν αναφερθεί για ενώσεις που προέρχονται από τις μονολιγνόλες. Για παράδειγμα, η διϋδροκωνιφερυλική αλκοόλη, που είναι ενδογενές συστατικό του αναπτυσσόμενου ξύλου στο *Pinus contorta* δίνει το ερέθισμα για την καμβιακή κυτταροδιαίρεση και διαφοροποίηση των τραχεΐδων. Επίσης τα γλυκοσίδια της δεϋδροδικωνιφερυλικής αλκοόλης, τα οποία προέρχονται από την κωνιφερυλική αλκοόλη επάγουν την κυτταροδιαίρεση σε κυτταροκαλλιέργειες απουσία κυτοκινινών (Samuels et al. 2002).

Λιγνίνη εναποτίθεται μόνο σε εξειδικευμένα κύτταρα και ιστούς, των οποίων η ανάπτυξη έχει σταματήσει και εμπλέκονται σε μηχανική υποστήριξη (π.χ. σκληρέγχυμα), μεταφορά χυμού (π.χ. ξύλο), προστασία και άμυνα (π.χ. περιδέρμα) (Boudet 1998). Έχει βρεθεί μάλιστα (Piquemal et al. 1998) ότι η έλλειψη της λιγνίνης από το αγγειακό σύστημα

των φυτών προκαλεί κατάρρευση των αγγείων. Γενικά η λιγνινοποίηση είναι μια από τις αντιδράσεις των φυτών σε αντίξοες συνθήκες όπως ο τραυματισμός ή η μηχανική καταπόνηση (Douglas 1996, Boudet 1998).

1.4.4 Το πολυμερές της λιγνίνης

Η λιγνίνη αποτελεί ένα πολύπλοκο, υδρόφοβο, τρισδιάστατο δίκτυο από δομικές μονάδες φαινυλοπροπανοειδών που προέρχονται από τον οξειδωτικό πολυμερισμό ενός ή περισσότερων από τα τρία είδη μονολιγνολών (υδροξυκιναμυλικών αλκοολών), που είναι η κουμαρυλική (4-υδροξυ-κιναμική), η κωνιφερυλική (3-μέθοξυ-4-υδροξυ-κιναμική) και η σιναπυλική αλκοόλη (3,5-μέθοξυ-4-υδροξυ-κιναμική) (Εικόνα 1.4.4.1).

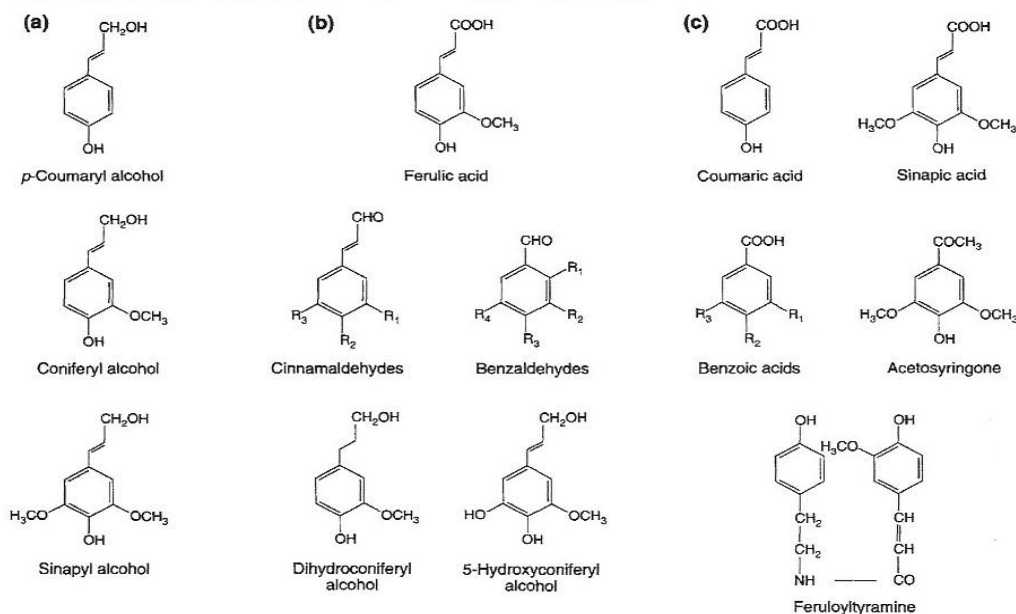


Εικόνα 1.4.4.1: Η δομή των τριών μονολιγνολών και τα πολυμερή που προκύπτουν από αυτές. Ο αυξανόμενος βαθμός μεθοξυλίωσης του αρωματικού δακτυλίου από την p-κουμαρυλική αλκοόλη (1) στην κωνιφερυλική αλκοόλη (2) και στη σιναπυλική αλκοόλη (3) αντιστοιχεί σε μείωση των θέσεων αντίδρασης του αρωματικού δακτυλίου (Whetten and Sederoff 1995).

Τα τρία συμβατικά μονομερή της λιγνίνης διαφέρουν ως προς το βαθμό μεθοξυλίωσης του αρωματικού δακτυλίου τους. Διαφοροποιήσεις στη σχετική αναλογία τους παρατηρείται ακόμα και στο ίδιο φυτό ανάλογα με τον ιστό, τη θέση του κυττάρου και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν (βιοτικές ή μηχανικές καταπονήσεις). Οι διαφοροποιήσεις αυτές φαίνεται ότι ελέγχονται από τη σχετική δραστηριότητα και τη συγγένεια του υποστρώματος των επιμέρους μεθυλιωτικών ενζύμων στη βιοσυνθετική πορεία της λιγνίνης (Boudet 2000). Πρακτικά, η λιγνίνη αποτελεί το αδιάλυτο σε νερό υπόλειμμα που προκύπτει μετά από όξινη ή ενζυμική υδρόλυση των πολυσακχαριτών κατά το χημικό διαχωρισμό των συστατικών του ξύλου (Whetten and Sederoff 1995). Όταν οι μονολιγνόλες p-κουμαρυλική, κωνιφερυλική και σιναπυλική ενσωματώνονται στο πολυμερές της λιγνίνης ονομάζονται p-υδροξυφαινυλικές (H), γουαϊακυλικές (G) και συριγγυλικές (S) μονάδες αντίστοιχα (Raes et al. 2003).

Ωστόσο, εκτός από τις τρεις μονολιγνόλες σε διαφορετικές αναλογίες, η λιγνίνη περιέχει σημαντικές προσμίξεις άλλων ουσιών όπως οι υδροξυκιναμυλικές αλδεΐδες (στην ύπαρξη των οποίων βασίζεται η χρώση με όξινη φλωρογλουσινόλη, (Sederoff et al. 1999), τα υδροξυκιναμυλικά οξέα (p-υδροξυβενζοϊκό και p-κουμαρικό οξύ) και οι υδροξυκιναμυλικοί εστέρες (Raes et al. 2003). Συγκεκριμένα στο καλαμπόκι, τα κυτταρικά τοιχώματα περιέχουν έως και 4% φερουλικού και 3% p-κουμαρικού οξέος (Grabber and Lu 2007). Άλλες ασυνήθιστες δομικές μονάδες παρατηρούνται κυρίως σε διαγονιδιακά φυτά, σε φυσικές μεταλλάξεις αλλά και σε πολύ μικρότερο βαθμό σε φυσιολογικά φυτά (Boudet 1998) (Εικόνα 1.4.4.2).

Φαίνεται ότι δεν υπάρχει φυτό που να περιέχει λιγνίνη η οποία προέρχεται αποκλειστικά από τις τρεις μονολιγνόλες (Εικόνα 1.4.4.3) και επομένως εκτός από τα κύρια βιοσυνθετικά μονοπάτια λειτουργούν και εναλλακτικά. Η αυξημένη έκφραση ορισμένων οξειδοαναγωγασών του μονοπατιού των μονολιγνολών με συγκεκριμένη συγγένεια υποστρώματος μπορεί να οδηγήσει σε ανακατανομή των τριών μονομερών της λιγνίνης (Boudet 2000). Δεν είναι ξεκάθαρο ποιός τύπος κυττάρων πραγματικά συνθέτει τις μονολιγνόλες, δηλαδή αν είναι μόνο τα λιγνινοποιούμενα κύτταρα αυτά που παράγουν μονομερή ή και γειτονικά κύτταρα τα οποία παράγουν μονολιγνόλες που μεταφέρονται στα λιγνινοποιούμενα κύτταρα (Ruelland et al. 2003).

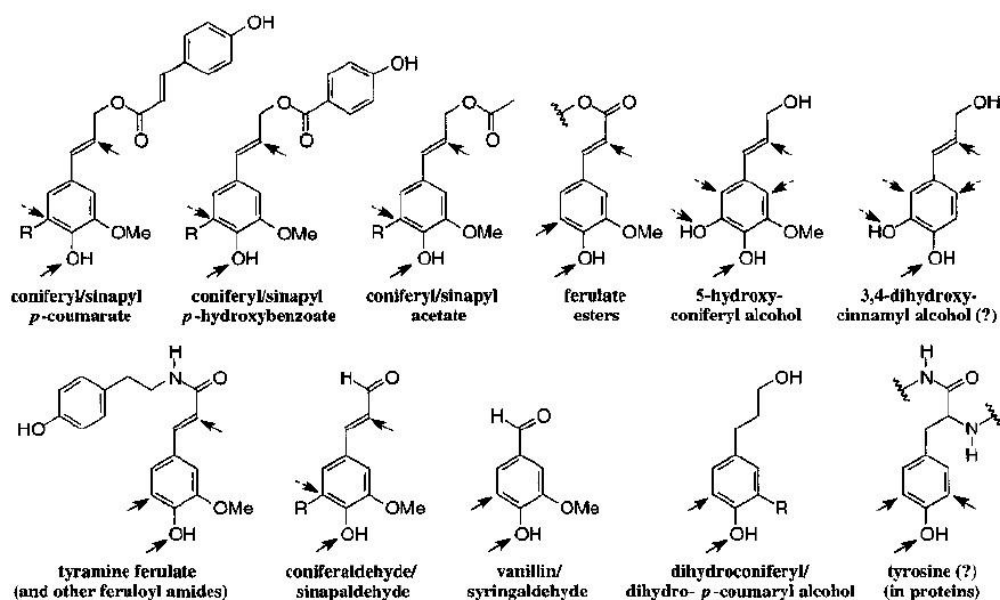


Εικόνα 1.4.4.2: Οι δομικές μονάδες της λιγνίνης και ενώσεις που μπορούν να ενσωματωθούν στο πολυμερές της λιγνίνης: (a) συμβατικές μονάδες, (b) μη συμβατικές μονάδες, (c) φαινολικές ουσίες των κυτταρικών τοιχωμάτων ή τα προϊόντα αποδόμησής τους. Τα R₁, R₂, R₃ και R₄ υποδηλώνουν H, OH ή OCH₃ (Boudet 1998).

Σύμφωνα με τον Boudet (1998), η σύνθεση της λιγνίνης απαιτεί ένα φαινολικό πολυμερές με συγκεκριμένες μηχανικές ιδιότητες ενώ η παρατηρούμενη σύσταση της λιγνίνης δεν είναι τόσο σημαντική. Σε αυτήν την άποψη συμβάλλει το γεγονός ότι φυτά στα οποία έχει παρεμποδιστεί η παραγωγή των κύριων μονομερών της λιγνίνης δεν παρουσιάζουν κανένα πρόβλημα, αφού βιοσυνθέτουν μια πλήρως λειτουργική λιγνίνη από ασυνήθιστες πρόδρομες ενώσεις (Πρωτονοτάριος 2008).

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

Οι πρόδρομες ενώσεις προέρχονται από την φαινυλαλανίνη με απαμίνωση (Sederoff et al. 1999). Εκτός των πρόδρομων ενώσεων της λιγνίνης από την φαινυλαλανίνη προέρχονται και άλλες υπο-ομάδες φαινολικών ενώσεων, όπως τα φλαβονοειδή, οι κουμαρίνες, τα σιλβένια καθώς και παράγωγα του βενζοϊκού οξέος. Πολυάριθμες ενδιάμεσες ενώσεις και τελικά προϊόντα του μονοπατιού αυτού διαδραματίζουν σημαντικούς αμυντικούς ρόλους, όπως η αντιμετώπιση παθογόνων (φυτοαλεξίνες), ο αντιοξειδωτικός μεταβολισμός, η προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία (φλαβονοειδή), ο χρωματισμός των ανθέων (ανθοκυάνες) κ.α. Τα αρχικά στάδια βιοσύνθεσης των ενώσεων αυτών είναι κοινά με των λιγνινών, ωστόσο το υψηλότερο ποσοστό του άνθρακα κατευθύνεται προς τη βιοσύνθεση της λιγνίνης (Humphreys and Chapple 2002).



Εικόνα 1.4.4.3: Μονομερή της λιγνίνης, διαφορετικά από τις συμβατικές μονολιγνόλες, τα οποία είναι γνωστό ή πιστεύεται ότι ενσωματώνονται στο πολυμερές της λιγνίνης. Με βέλος επισημαίνονται τα σημεία στα οποία γίνεται η σύζευξη των ριζών, ενώ με διακεκομμένο βέλος άλλα πιθανά σημεία, με άγνωστη συμπεριφορά σύζευξης (Sederoff et al. 1999).

Η μετατροπή της φαινυλαλανίνης σε μία από τις τρεις μονολιγνόλες πραγματοποιείται μέσω αυστηρά καθορισμένων αντιδράσεων, των οποίων όμως η σειρά δεν είναι ακόμα καθορισμένη. Για παράδειγμα, η ακολουθία με την οποία συμβαίνουν οι αντιδράσεις υδροξυλίωσης, μεθυλίωσης, προσάρτησης του CoA και αναγωγής μπορεί να διαφοροποιείται (Whetten and Sederoff 1995). Σύμφωνα με το επικρατέστερο μοντέλο για τη βιοσύνθεση της λιγνίνης, η απαμίνωση της φαινυλαλανίνης ακολουθείται από την υδροξυλίωση του αρωματικού δακτυλίου, τη μεθυλίωση και τελικά την αναγωγή της καρβοξυλικής ομάδας προς υδροξυλική. Οι προκύπτουσες αλκοόλες στη συνέχεια υπόκεινται σε οξειδωτική σύζευξη οπότε σχηματίζονται οι ενεργές ρίζες, οι οποίες μπορούν να συνδεθούν σε αρκετά σημεία μεταξύ τους, ή πιο συχνά να συνδεθούν με το σχηματιζόμενο πολυμερές της λιγνίνης που θα καταλήξει σε ένα σύνθετο πολυμερές με μεγάλη ποικιλία ενδομοριακών δεσμών (Sederoff et al. 1999).

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

1.5 Ενεργές μορφές οξυγόνου

Ως ενεργές (ή δραστικές) μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) αναφέρονται τα παράγωγα του μοριακού οξυγόνου που προκύπτουν μετά από τη μερική, μη πλήρη αναγωγή του. Με την αναγωγή ενός ηλεκτρονίου παράγεται το υπεροξειδίο (O_2^-), με την αναγωγή δύο ηλεκτρονίων παράγεται το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) και με την αναγωγή τριών ηλεκτρονίων παράγεται η υδροξυλική ρίζα (HO^\cdot). Στην ομάδα των ROS συμπεριλαμβάνεται επίσης το υπεροξυνιτρώδες ανιόν ($OONO^-$), το μονήρες οξυγόνο (1O_2) και το όζον (O_3) γιατί όπως και οι άλλες ενεργές μορφές του οξυγόνου είναι τοξικά μόρια αφού προκαλούν την παραγωγή ελευθέρων ριζών.

Η προσαρμογή σε περιβαλλοντικές αλλαγές είναι πολύ σημαντική για την ανάπτυξη και επιβίωση των φυτών. Παρόλα αυτά, οι μοριακοί και βιοχημικοί μηχανισμοί προσαρμογής δεν έχουν γίνει πλήρως κατανοητοί και τα μονοπάτια μετάδοσης σήματος που εμπλέκονται παραμένουν άγνωστα. Οι ενεργές μορφές οξυγόνου έχουν προταθεί ως τα κύρια στοιχεία της προσαρμογής των φυτών, τόσο σε βιοτικές όσο και σε αβιοτικές καταπονήσεις. Κάτω από τέτοιες συνθήκες, οι ενεργές μορφές οξυγόνου μπορεί να

διαδραματίσουν δύο πολύ διαφορετικούς ρόλους: αύξηση της ζημιάς ή μετάδοση σήματος για την ενεργοποίηση των αμυντικών γονιδίων. Αυτή η διπλή λειτουργία περιγράφηκε αρχικά στην παθογένεση, αλλά πρόσφατα έχει παρουσιαστεί κατά τη διάρκεια διαφόρων αντιδράσεων σε αβιοτικές καταπονήσεις. Για να επιτραπούν αυτοί οι διαφορετικοί ρόλοι, τα κυτταρικά επίπεδα των ενεργών μορφών οξυγόνου πρέπει να βρίσκονται κάτω από αυστηρό έλεγχο. Οι πολυάριθμες πηγές ενεργών μορφών οξυγόνου και ένα πολύπλοκο αντιοξειδωτικό σύστημα παρέχουν την ελαστικότητα που απαιτείται για αυτές τις λειτουργίες (Dat et al. 2000, Van Breusegem et al. 2001).

Η αυξημένη παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου μέσα σε ορισμένα υποκυτταρικά διαμερίσματα του φυτικού κυττάρου είναι κοινό χαρακτηριστικό πολλών αντίξων συνθηκών (Lamb and Dixon 1997).

Πολλές μεταβολικές διεργασίες (συμπεριλαμβανομένων των χλωροπλαστικών, μιτοχονδριακών και συνδεδεμένων στην κυτοπλασμική μεμβράνη συστημάτων μεταφοράς ηλεκτρονίων) παράγουν ενεργές μορφές οξυγόνου ακόμα και σε φυσιολογικές συνθήκες. Η επιβολή συνθηκών βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων μπορεί να προκαλέσει σύνθεση αυξημένων συγκεντρώσεων ενεργών μορφών οξυγόνου, με αποτέλεσμα την οξειδωτική βλάβη σε κυτταρικό επίπεδο (Shigeoka et al. 2002).

Οι ενεργές μορφές οξυγόνου είναι κυρίως παραπροϊόντα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού, αλλά μπορούν να παραχθούν και από την κατάρρευση των συστημάτων μεταφοράς ηλεκτρονίων κάτω από συνθήκες στρες. Τα κύρια σημεία παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου στο φυτικό κύτταρο, κατά τη διάρκεια αβιοτικής καταπόνησης, είναι τα οργανίδια στα οποία παρατηρούνται έντονα οξειδωτικές μεταβολικές δραστηριότητες ή ηλεκτρονικές ροές μεγάλης έντασης, όπως οι χλωροπλάστες, τα μιτοχόνδρια και τα μικροσώματα (Dat et al. 2000).

Όταν η αύξηση και άλλες διεργασίες των φυτών που απαιτούν ενέργεια μειώνονται σαν αποτέλεσμα καταπόνησης, η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια μπορεί να γίνει υπερ-ανηγμένη, γεγονός που ευνοεί την παραγωγή σουπεροξειδικού ανιόντος (Purvis 1997, Vranová et al. 2002).

Πηγή ενεργών μορφών οξυγόνου στα φυτά είναι και οι αντιδράσεις αποτοξίνωσης που καταλύονται από τα κυτοχρώματα και ειδικότερα το κυτόχρωμα P₄₅₀ στο κυτόπλασμα και το ενδοπλασμικό δίκτυο. Ενεργές μορφές οξυγόνου σχηματίζονται στα φυτά και σε επίπεδο κυτοπλασμικής μεμβράνης, αλλά κι εξωκυτταρικά στον αποπλασμικό χώρο, π.χ. από την οξειδάση του NADPH στις κυτοπλασματικές μεμβράνες, η οποία θεωρείται πηγή ενεργών μορφών οξυγόνου κατά την οξειδωτική καταπόνηση. Εκτός από την οξειδάση του NADPH έχουν προταθεί σαν πηγές υπεροξειδίου του υδρογόνου στον αποπλάστη διάφορες εξαρτώμενες από το pH υπεροξειδάσες του κυτταρικού τοιχώματος, germin-like οξειδάσες του οξαλικού και οξειδάσες αμινών (Vranová et al. 2002).

Οι υπεροξειδάσες των κυτταρικών τοιχωμάτων που εξαρτώνται από το pH ενεργοποιούνται από αλκαλικό pH και με παρουσία ενός δότη ηλεκτρονίων σχηματίζεται υπεροξείδιο του υδρογόνου (Vranová et al. 2002).

Οι οξειδάσες των αμινών καταλύουν την οξείδωση διαφόρων αμινών στις αντίστοιχες αλδεΐδες με την απελευθέρωση NH₃ και H₂O₂. Το H₂O₂ που σχηματίζεται από

την οξειδωση αμινών μπορεί να χρησιμοποιηθεί άμεσα από τις συνδεδεμένες στο τοίχωμα υπεροξειδάσες στη λιγνινοποίηση και την ενδυνάμωση του κυτταρικού τοιχώματος, αλλά και κατά την κανονική αύξηση και σαν απόκριση σε εξωγενή ερεθίσματα (Vranová et al. 2002).

Η δραστική φύση των ενεργών μορφών οξυγόνου τα καθιστά πιθανώς βλαβερά σε όλα τα κυτταρικά συστατικά. Ευτυχώς τα φυτά έχουν τη δυνατότητα να αντιμετωπίσουν αυτές τις ενεργές μορφές οξυγόνου με την εξουδετέρωσή τους με ένα αποδοτικό σύστημα απομάκρυνσης αυτών (Shigeoka et al. 2002).

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου μπορεί να λειτουργήσει ως υπόστρωμα σε αντιδράσεις δημιουργίας σταυροδεσμών με υπεροξείδωση πρόδρομων ουσιών της λιγνίνης και επάγει τη σύνδεση πρωτεϊνών με το κυτταρικό τοίχωμα (Σιγιάννης 2003).

Επειδή το H_2O_2 είναι σχετικά σταθερό και διαχέεται εύκολα μέσω των μεμβρανών (σε αντίθεση με το σουπεροξειδικό ανιόν) αποτελεί ιδανικό υποψήφιο για να δράσει ως μόριο-σήμα κατά τη διάρκεια αποκρίσεων σε καταπόνηση (Foyer et al. 1997, Lamb and Dixon 1997).

Η καθολική παρουσία του οξυγόνου στο περιβάλλον και οι διάφορες κυτταρικές θέσεις όπου παράγονται οι ενεργές μορφές οξυγόνου καθορίζουν τα αντιοξειδωτικά που απαιτούνται για την ανάπτυξη και την επιβίωση των φυτών. Το πλήθος των ενεργών μορφών οξυγόνου που λειτουργούν ως σήματα αυξάνει τη σπουδαιότητα των αντιοξειδωτικών που ρυθμίζουν εξειδικευμένα τις διαφορετικές ενεργές μορφές οξυγόνου σε διάφορες περιοχές του κυττάρου. Τα φυτά έχουν αρκετά αντιοξειδωτικά ένζυμα και μόρια που βρίσκονται σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα, τα κυριότερα από τα οποία είναι οι σουπεροξειδικές δισμουτάσες (SODs), μια οικογένεια μεταλλοενζύμων που καταλύουν τη μετατροπή του $O_2^{\cdot -}$ σε H_2O_2 (Bowler et al. 1992, 1994), οι καταλάσες (CATs), πρωτεΐνες της αίμης που καταλύουν την απομάκρυνση του H_2O_2 (Willekens et al., 1995), και τα ένζυμα και οι μεταβολίτες του κύκλου του ασκορβικού-γλουταθειόνης που εμπλέκονται στην απομάκρυνση του H_2O_2 (Noctor and Foyer 1998, Dat et al. 2000).

Η πλειονότητα των ενζύμων του κύκλου του ασκορβικού-γλουταθειόνης (δηλαδή η υπεροξειδάση του ασκορβικού (APX), η ρεδουκτάση της γλουταθειόνης (GR) και η ρεδουκτάση της αφυδρογονάσης του ασκορβικού (DHAR)) έχουν βρεθεί στους χλωροπλάστες, στο κυτόπλασμα, στα μιτοχόνδρια και στα περοξυσώματα (Noctor and Foyer 1998, Bowler et al. 1992).

Παρόλο που οι αντιδράσεις μετάδοσης σήματος στα φυτά και οι πιθανές ανεπιθύμητες παρεμβολές μεταξύ διαφορετικών διαδικασιών μετάδοσης σήματος έχουν γίνει κατανοητά, ο ρόλος του H_2O_2 παραμένει άγνωστος. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις μπορεί να λειτουργεί ως δευτερογενές σήμα αλλά εξακολουθεί να είναι τοξικό για το φυτό σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (Greenberg et al. 1990).

Το H_2O_2 που σχηματίζεται μετά από την προσβολή παθογόνου λαμβάνει μέρος στη διασύνδεση των πρωτεϊνών του κυτταρικού τοιχώματος και των φαινολικών που είναι συνδεδεμένα στο φυτικό κυτταρικό τοίχωμα (Bradley et al. 1992, Grant and Loake 2000, Neill et al. 2002a).

Έχει βρεθεί ότι το H_2O_2 τροποποιεί την έκφραση γονιδίων κατά την απόκριση σε καταπονήσεις σε διάφορα φυτά. Έτσι, το H_2O_2 επάγει την έκφραση των γονιδίων της S-μεταφοράσης της γλουταθειόνης, της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και της φαινυλαλανίνη-αμμωνία-λυάσης (Levine et al. 1994, Desikan et al. 1998, Neill et al. 2002a).

Η πρώτη ένδειξη ότι το H_2O_2 είναι ένα πιθανό σήμα στην αμυντική απόκριση του φυτού ήρθε με την ταυτοποίηση ότι η καταλάση είναι πρωτεΐνη που συνδέεται με το σαλικυλικό οξύ. Η απενεργοποίηση της καταλάσης θα οδηγούσε στη συσσώρευση H_2O_2 , το οποίο είχε δείχθει ότι δρα ως δευτερογενές σήμα για να επάγει γονίδια σχετικά με την παθογένεση (Even-Chen et al. 1993). Η ιδιότητα του H_2O_2 να δρα ως σήμα στα φυτά επιβεβαιώνεται από την εξειδικευμένη επαγωγή γονιδίων που κωδικοποιούν την S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) και την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX) από 2 mM H_2O_2 σε καλλιέργειες κυττάρων σόγιας (Levine et al. 1994).

Είδαμε ότι ο κυτταρικός θάνατος είναι μια απαραίτητη διαδικασία στο βιολογικό κύκλο του φυτού και διακρίνεται σε ΠΚΘ και σε νέκρωση. Ο ΠΚΘ ελέγχεται γενετικά και παρουσιάζει χαρακτηριστικά όπως συρρίκνωση του κυττάρου, συμπύκνωση του κυτοπλάσματος και της χρωματίνης και κατακερματισμός του DNA. Η νέκρωση προκαλείται από σοβαρούς τραυματισμούς και δεν θεωρείται ότι ελέγχεται γενετικά (Gilchrist 1998). Ένα οξειδωτικό «ξέσπασμα» συμπίπτει με την επαγωγή του κυτταρικού θανάτου στο σημείο επαγωγής του. Αυτός ο εντοπισμένος χαρακτήρας του κυτταρικού θανάτου περιορίζει την εξάπλωση του σε γειτονικά κύτταρα. Η πηγή του οξειδωτικού ξεσπάσματος θεωρείται ότι είναι εν μέρει ένα σύμπλοκο οξειδάσης του NADPH και εξαρτώμενων από το pH υπεροξειδασών του κυτταρικού τοιχώματος (Bolwell and Wojtaszek 1997, Lamb and Dixon 1997). Η μείωση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων πιθανώς να προκαλεί παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου. Η καταστολή της δράσης των ουσιών που απομακρύνουν το H_2O_2 πιθανώς να συμβάλλει στη συσσώρευση οριακών επιπέδων H_2O_2 ή αλλαγές στην ομοιόσταση του, που απαιτείται για την ενεργοποίηση της διαδικασίας του ενεργού κυτταρικού θανάτου (Van Breusegem et al. 2001).

Συνεπώς οι αλλαγές στα επίπεδα του H_2O_2 δεν είναι αυτές καθαυτές οι «εκτελεστές» του κυτταρικού θανάτου, αλλά πυροδοτούν μια αλληλουχία μετάδοσης σήματος που τελικά οδηγεί στον ενεργό κυτταρικό θάνατο (Van Breusegem et al. 2001).

1.6 Σκοπός της εργασίας

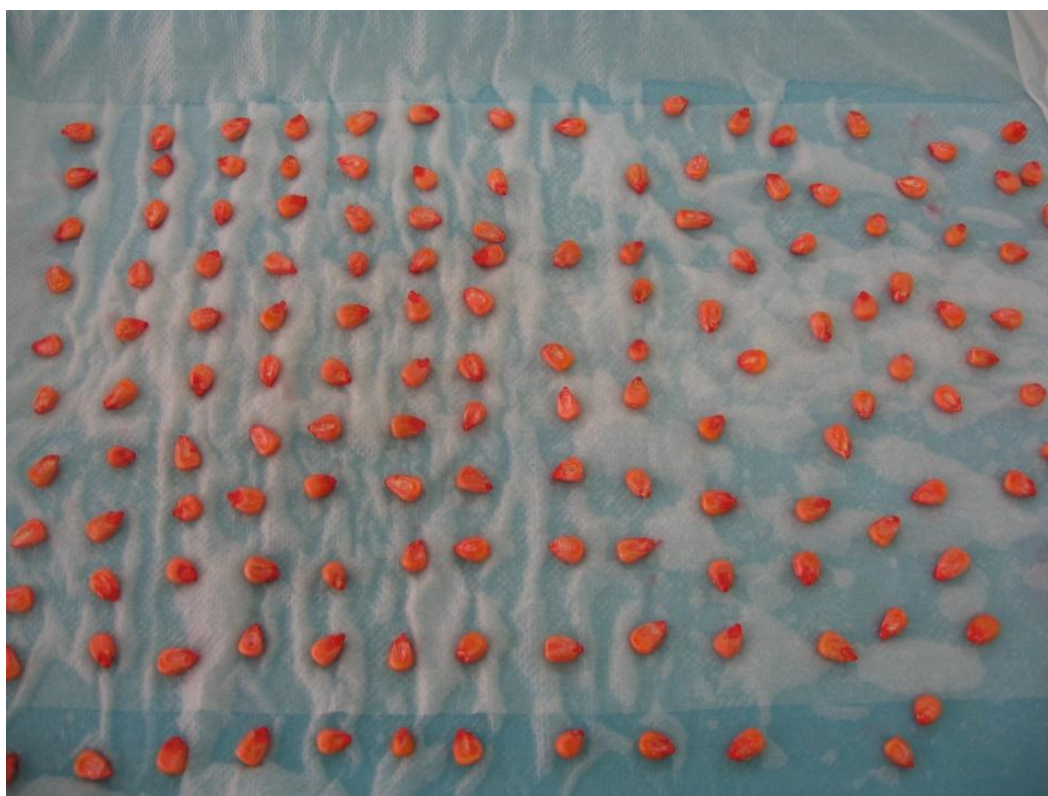
Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ανάπτυξη νεαρών φυτών αραβόσιτου κάτω από ορισμένες συνθήκες στα υδατικά τους περιβάλλοντα. Συγκεκριμένα μελετήθηκε η ανάπτυξη φυτών αραβόσιτου από τα οποία αφαιρέθηκε ολόκληρο το εμβρυακό ριζικό σύστημα. Τα φυτά αυτά, με τις εναπομείνουσες βλαστογενείς ρίζες και το σπόρο, τοποθετήθηκαν σε τρία διαφορετικά υγρά υποστρώματα ανάπτυξης. Σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα, σε ελλειμματικό σε S διάλυμα, και σε απιονισμένο νερό. Η συγκριτική μελέτη της ανάπτυξης της πρώτης σειράς των βλαστογενών ριζών αποτέλεσε το ουσιαστικό ερώτημα. Ακόμη μελετήθηκαν η εναπόθεση της λιγνίνης στους διαφόρους ιστούς των βλαστογενών ριζών καθώς και η εμφάνιση ενεργών μορφών οξυγόνου και συγκεκριμένα υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και σουπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-).

2. Πειραματικό μέρος

2.1 Φυτικό υλικό και ανάπτυξη φυταρίων

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για το πείραμα είναι σπόροι αραβοσίτου (*Zea mays L.*) του υβριδίου Cisko της εταιρείας Syngenta. Είναι υβρίδιο μικρού βιολογικού κύκλου και φυσιολογικής ωρίμανσης στις 102 ημέρες. Σημαντικά χαρακτηριστικά αποτελούν η γρήγορη άνθιση, η άριστη γονιμοποίηση, οι υψηλές αποδόσεις σε καρπό και η μεγάλη προσαρμοστικότητα.

Οι σπόροι τοποθετούνται σε δίσκο, στον οποίο έχει τοποθετηθεί διηθητικό χαρτί, και διαβρέχονται με άφθονο απιονισμένο νερό (Εικ. 2.1.1). Στη συνέχεια σκεπάζονται επίσης με διηθητικό χαρτί το οποίο διαβρέχεται και τέλος καλύπτονται με μαύρο πολυμερές για να εξασφαλιστούν συνθήκες σκότους και υψηλής σχετικής υγρασίας. Οι σπόροι και το διηθητικό χαρτί διαβρέχονται κάθε μέρα, για να διατηρηθεί η σχετική υγρασία σε υψηλά επίπεδα, και το όλο σύστημα τοποθετείται σε χώρο με σταθερή θερμοκρασία, περίπου 28 °C.

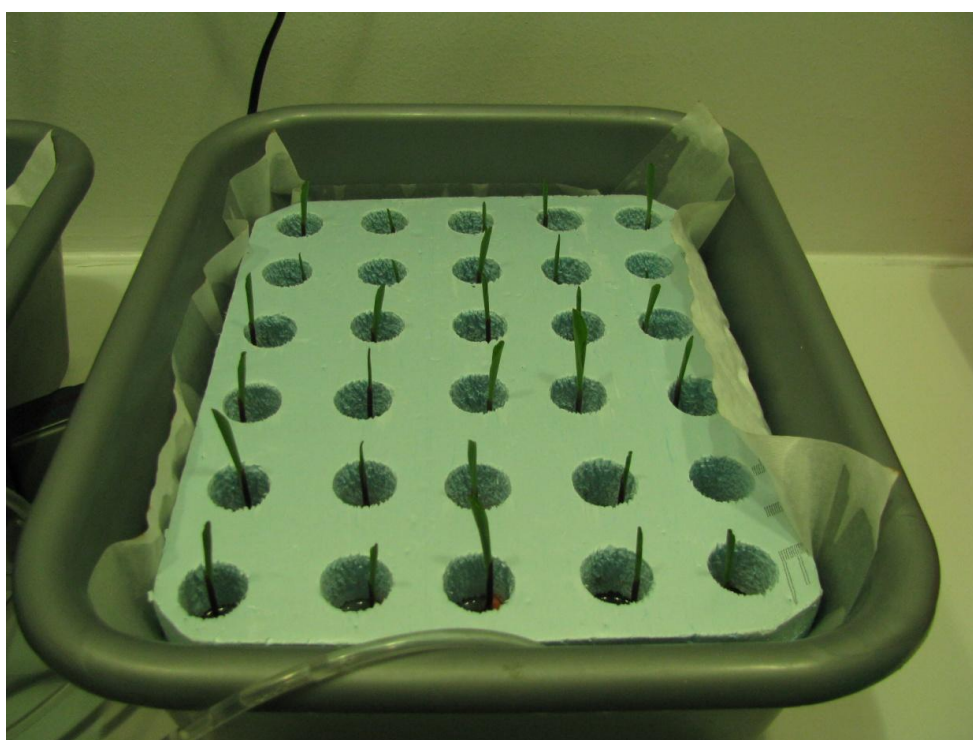


Εικόνα 2.1.1 Σπόροι αραβοσίτου σε δίσκους βλάστησης

Η ημέρα που οι σπόροι του καλαμποκιού τοποθετούνται στον πλαστικό δίσκο αποτελεί την ημέρα 0 του πειράματος.

2.2 Υδροπονική καλλιέργεια

Μετά από 3 ημέρες (3^η ημέρα του πειράματος), έχουν πλέον εκπτυχθεί τόσο οι πρωτογενείς και οι δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες, καθώς επίσης και το κολεόπιλο. Τα νεαρά φυτάρα αραβόσιτου τοποθετούνται σε λεκάνες με απιονισμένο νερό, κατά τέτοιο τρόπο, ώστε το ριζικό σύστημα και ο σπόρος να καλύπτονται από νερό και το κολεόπιλο να βρίσκεται έξω από αυτό (1^η μεταφύτευση, Εικ. 2.2.1) και στη συνέχεια αυτές οι λεκάνες τοποθετούνται σε θάλαμο ανάπτυξης. Οι συνθήκες στο θάλαμο ανάπτυξης ήταν: θερμοκρασία περίπου στους 28⁰ C, σχετική υγρασία 37%, φωτοπερίοδος 14h φως/10h σκοτάδι και ένταση φωτισμού 186 $\mu\text{E m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ στο ύψος των φύλλων των νεαρών φυταρίων. Ο αερισμός των ριζών εξασφαλίζεται με τη χρήση αντλιών αέρα που τοποθετούνται στις λεκάνες.



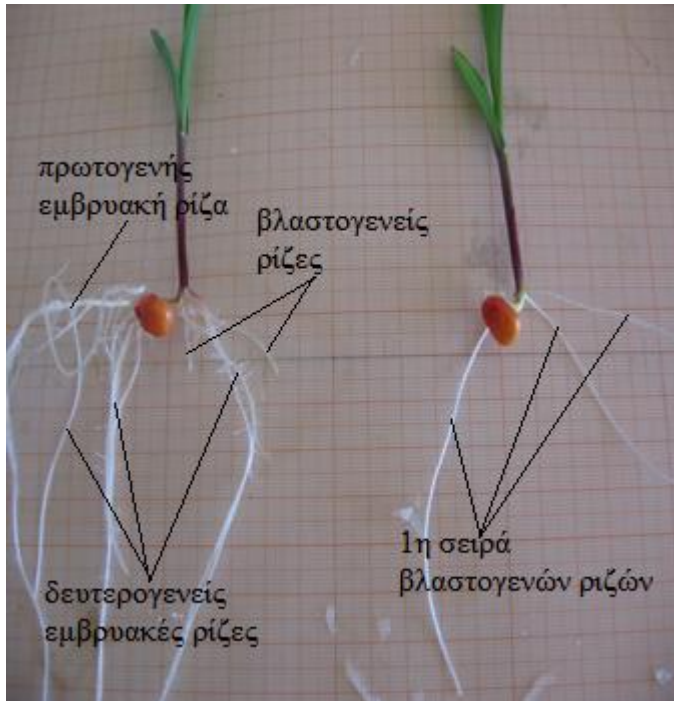
Εικόνα 2.2.1 Φυτά αραβόσιτου κατά την πρώτη μεταφύτευση

2.3 Μεταχειρίσεις

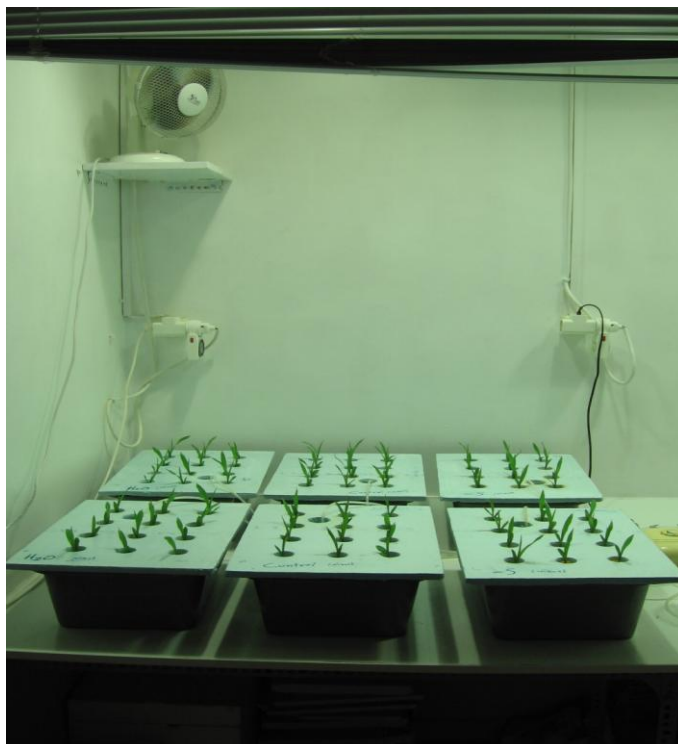
Την 7^η ημέρα από τη σπορά έχει εκπτυχθεί και η πρώτη σειρά των βλαστογενών ριζών. Την ημέρα αυτή κόβουμε τις εμβρυακές ρίζες (πρωτογενείς και δευτερογενείς) και αφήνουμε μόνο τις βλαστογενείς ρίζες σε κάθε φυτάριο (Εικ. 2.3.1). Στη συνέχεια τοποθετούμε τα φυτά του αραβόσιτου σε λεκάνες, οι οποίες περιέχουν 3 διαφορετικά υγρά υποστρώματα ανάπτυξης. (2^η μεταφύτευση, Εικ.2.3.2).

1. Απιονισμένο νερό (H_2O)
2. Πλήρες θρεπτικό διάλυμα (**Control**)
3. Ελλειμματικό σε θειικά θρεπτικό διάλυμα (**- S**)

Και σε αυτή την περίπτωση ο αερισμός του ριζικού τμήματος των φυτών εξασφαλίζεται με τη χρήση αντλιών αέρα και οι συνθήκες θερμοκρασίας, φωτισμού, υγρασίας είναι οι ίδιες όπως και κατά τις προηγούμενες ημέρες. Επιπλέον, όλα τα υγρά υποστρώματα ανάπτυξης αντικαθιστούνται με νέα κάθε τρεις ημέρες.



Εικόνα 2.2.1 Αριστερά φυτό με όλες τις ρίζες, δεξιά φυτό μόνο με τις βλαστογενείς του ρίζες



Εικόνα 2.3.2 Θάλαμος ανάπτυξης φυτών στα 3 υγρά υποστρώματα ανάπτυξης

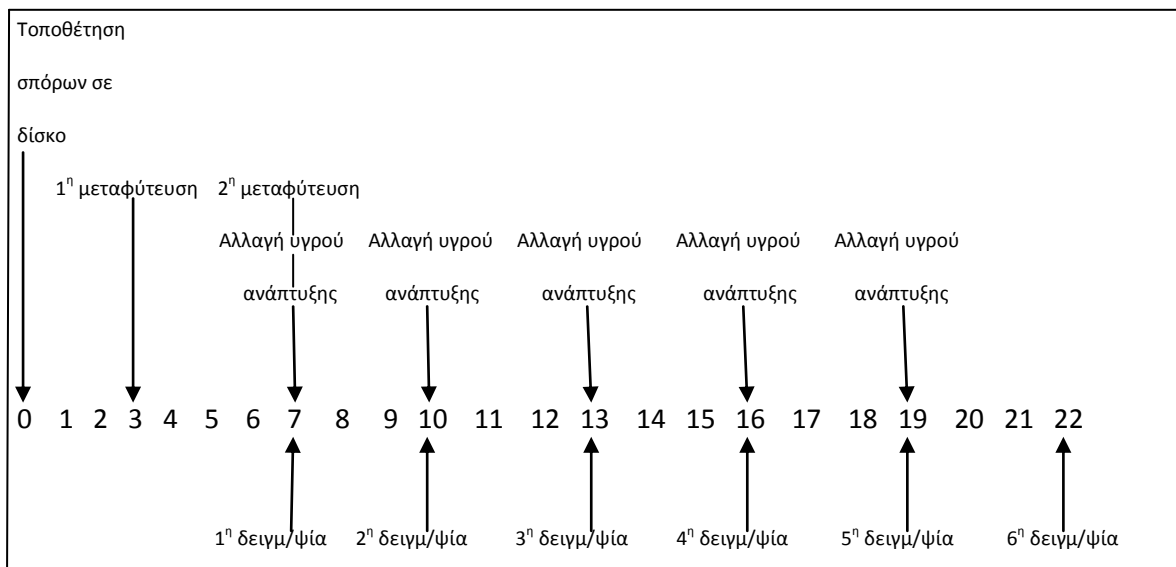
Η σύσταση του πλήρους θρεπτικού διαλύματος ήταν: 5 mM KNO₃, 1 mM KH₂PO₄, 2 mM Mg(NO₃)₂·6H₂O, 2.5 mM CaSO₄·2H₂O, 1 mM MgSO₄·7H₂O, 0.07 mM EDTA FeNa, 4 mM Ca(NO₃)₂·4H₂O, 0.9 μM ZnCl₂, 30 μM H₃BO₃, 0.9 μM CuCl₂·2H₂O, 0.5 μM MoO₃ 85% και 20 μM MnCl₂·4H₂O.

Η σύσταση του ελλειμματικού σε θειικά θρεπτικού ήταν: Η σύσταση του πλήρους θρεπτικού διαλύματος ήταν: 5 mM KNO₃, 1 mM KH₂PO₄, 2 mM Mg(NO₃)₂·6H₂O, 0.07 mM EDTA FeNa, 4 mM Ca(NO₃)₂·4H₂O, 0.86 mM CaCl₂·2H₂O, 0.9 μM ZnCl₂, 30 μM H₃BO₃, 0.9 μM CuCl₂·2H₂O, 0.5 μM MoO₃ 85% και 20 μM MnCl₂·4H₂O.

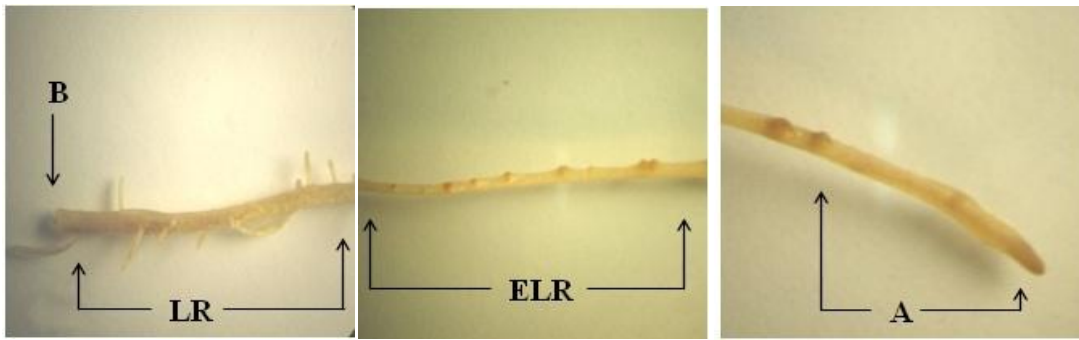
2.4 Δειγματοληψίες

Το πείραμα διήρκεσε συνολικά τρεις εβδομάδες και οι δειγματοληψίες γίνονταν κάθε τρεις ημέρες, αρχίζοντας από την 7^η ημέρα από τη σπορά, όπως φαίνεται στο παρακάτω χρονοδιάγραμμα

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

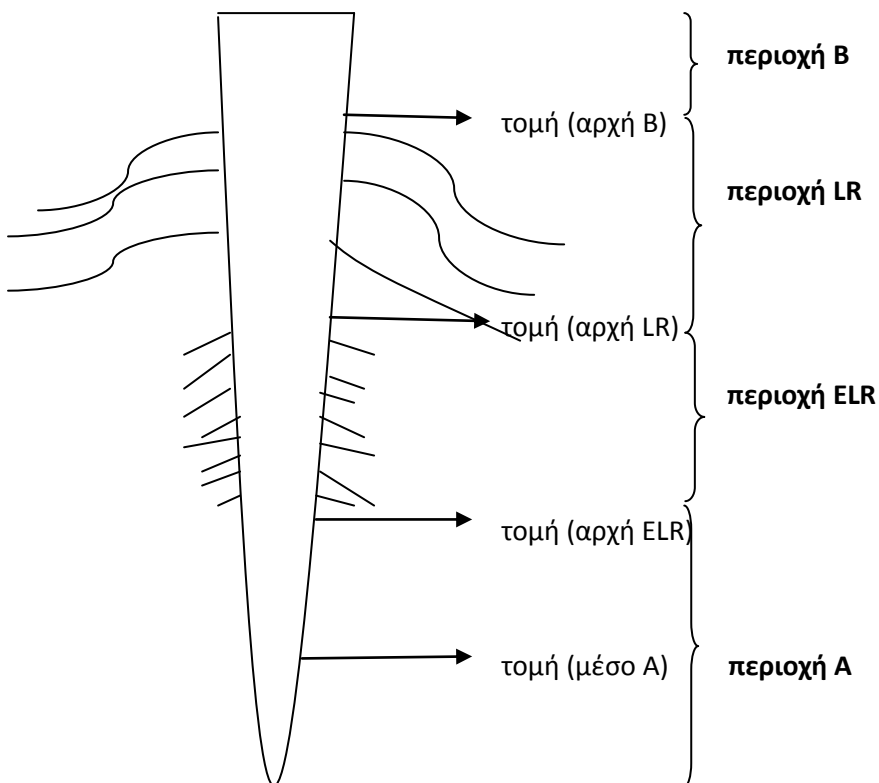


Σε κάθε δειγματοληψία λαμβάνονταν τρία φυτά από κάθε μεταχείριση, οι βλαστογενείς ρίζες των οποίων χρησιμοποιήθηκαν για τις μετρήσεις και τους προσδιορισμούς που ακολουθούν. Επιπλέον, οι ρίζες χωρίστηκαν σε 4 περιοχές: A, ELR, LR και B (Bouranis *et al.* 2006). Ως A ορίστηκε η περιοχή κοντά στο ακρορρίζιο όπου δεν υπάρχουν πλάγιες ρίζες, ELR η περιοχή όπου υπάρχουν πρωτοεμφανιζόμενες πλάγιες ρίζες, LR η περιοχή με πλάγιες ρίζες και B η περιοχή στη βάση της ρίζας όπου δεν υπάρχουν πλάγιες ρίζες (Εικόνα 2.4.1)



Εικόνα 2.4.1 Τμηματοποίηση μιας πρωτογενούς ρίζας αραβοσίτου με βάση την παρουσία των πλάγιων ριζών.

Οι μετρήσεις που αφορούν σε διάμετρο και εμβαδόν, καθώς επίσης και οι *in situ* προσδιορισμοί έγιναν σε τομές σε συγκεκριμένα σημεία των ριζών, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα (σχήμα 2.4.1). Όλες οι τομές έγιναν με το χέρι μέσα σε νερό.



Σχήμα 2.4.1 Περιοχές της ρίζας και σημεία όπου έγιναν τομές

2.5 Μορφολογικές και ανατομικές παρατηρήσεις

Για την περιγραφή της μορφολογίας και της ανατομίας της 1^{ης} δειράς βλαστογενών ριζών έγιναν οι παρακάτω μετρήσεις:

Μήκος ρίζας

Απόσταση της αρχής των περιοχών ELR, LR και B από το ακρορρίζιο

Διάμετρος ρίζας

Διάμετρος κεντρικού κυλίνδρου

Αριθμός και συνολικό εμβαδόν μεταξυλικών αγγείων

2.6 Μέθοδος εντοπισμού κωνιφερυλικών και σιναπυλικών αλδεϋδών σε G και S λιγνίνες ή πρόδρομες ενώσεις τους (μέθοδος Wiesner)

Για τον εντοπισμό των κωνιφερυλικών και σιναπυλικών αλδεϋδών σε G και S λιγνίνες ή πρόδρομες ενώσεις τους χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Wiesner (Pomar et al. 2002).

Για τη χρώση, οι τομές επώαστηκαν για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε διάλυμα φλωρογλυκινόλης 2% σε 95% αιθανόλη και στη συνέχεια παρατηρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο σε σταγόνα διαλύματος HCl 6M. Η μεταχείριση είχε ως αποτέλεσμα τη χρώση των περιοχών όπου εντοπίζονται κωνιφερυλικές και σιναπυλικές αλδεϋδες σε G- και S-λιγνίνες από πορτοκαλί μέχρι βαθύ κόκκινο (μωβ), ανάλογα με το ποσοστό λιγνινοποίησης (Ros Barcheló 1998, Lin et al. 2002, Pomar et al. 2002).

2.7 Μέθοδος εντοπισμού σουπεροξειδικού ανιόντος

Για τον εντοπισμό των περιοχών των τομών όπου παράγεται σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-) χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 0.25 mM nitroblue tetrazolium (NBT) σε 50 mM ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (pH 7.8) (Ros Barcheló 1998). Η χρωστική προκαλεί τη δημιουργία blue formazan (μπλε της φορμαζάνης) και άρα την εμφάνιση μπλε χρώματος στα σημεία όπου παράγεται O_2^- .

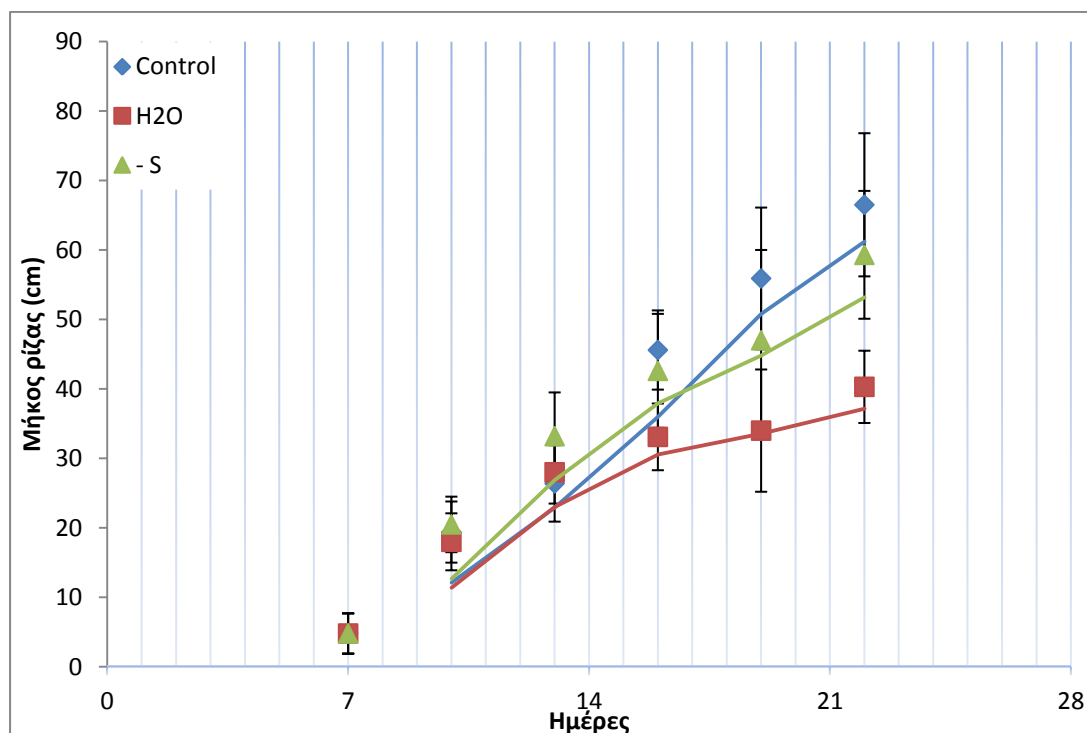
2.8 Μέθοδος εντοπισμού υπεροξειδίου του υδρογόνου

Για τον εντοπισμό των περιοχών των τομών όπου παράγεται υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 4% (w/v) σε άμυλο και 0.1 M KI (pH 5.0 με KOH). Η μέθοδος βασίζεται στην οξείδωση του KI προς I_2 από το H_2O_2 . Η οξείδωση αυτή γίνεται ορατή από τον σχηματισμό του μπλε-μαύρου συμπλόκου I_2 -αμύλου. Έτσι η μεταχείριση με την χρωστική αυτή έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μπλε-μαύρου χρώματος στα σημεία όπου εντοπίζεται H_2O_2 .

3. Αποτελέσματα

3.1 Μορφολογικές-αναπτυξιακές μετρήσεις ρίζας

3.1.1 Μετρήσεις μήκους ρίζας



Διάγραμμα 3.1.1.1 Τα μήκη των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Όπως φαίνεται από το διάγραμμα 3.1.1, οι ρίζες των φυτών που αναπτύχθηκαν σε control, παρουσιάζουν μια σταθερή αυξητική τάση έως τη 19^η ημέρα. Από εκεί και έπειτα, ο ρυθμός αυτός της αύξησης του μήκους τους μειώνεται μέχρι το τέλος του πειράματος (22^η ημέρα). Τα μήκη των ριζών κυμαίνονται από 4,8 έως 66,5 cm.

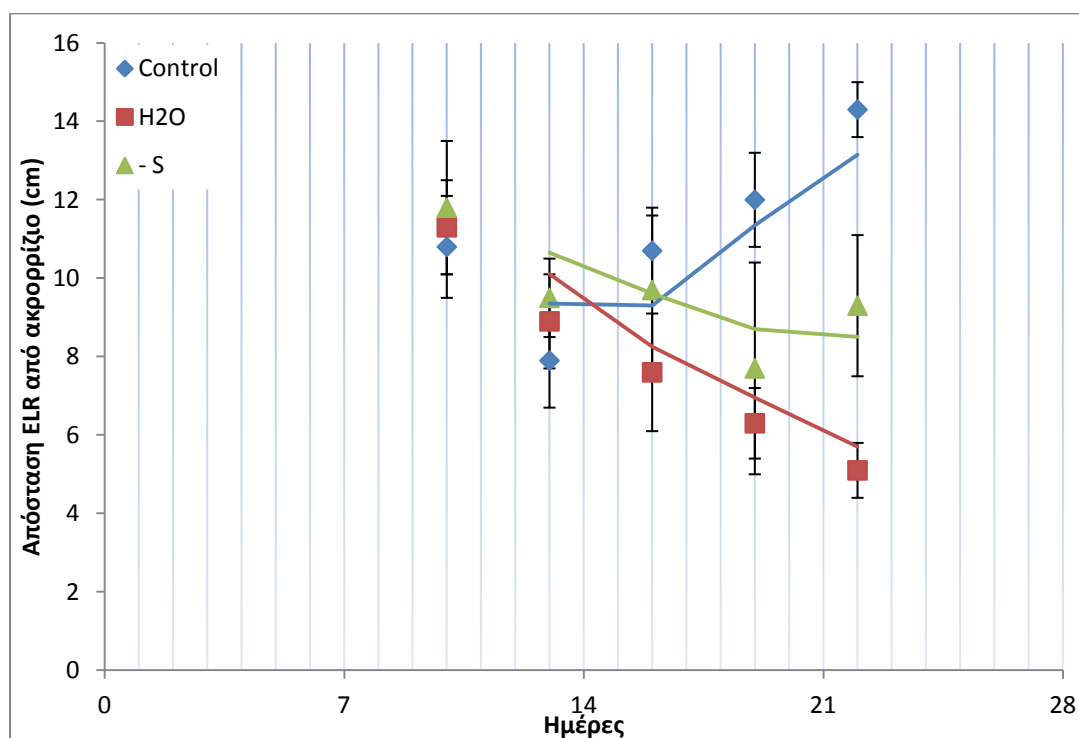
H₂O: Οι ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται σε νερό, ενώ στις πρώτες μέρες του πειράματος έχουν κανονική ανάπτυξη και συμβαδίζουν με αυτές στο Control, από τη 13^η ημέρα και μετά παρουσιάζουν μια επιβράδυνση της αύξησης τους σε μήκους που διατηρείται έως το τέλος του πειράματος. Τα μήκη των ριζών κυμαίνονται από 4,8 έως 40,3 cm. Όπως φαίνεται και από τον διπλανό πίνακα από τη 16^η ημέρα ως το τέλος του πειράματος η αύξηση του μήκους των ριζών στο H₂O παρουσιάζει μια συνεχώς αυξανόμενη μείωση συγκριτικά με αυτή των ριζών στο Control, της τάξης από 27,4% έως 39,4%.

-S: Από την άλλη, στα φυτά που αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S διάλυμα, οι ρίζες αυξάνουν σε μήκος με γοργούς ρυθμούς κατά το μεγαλύτερο διάστημα του πειράματος, περίπου έως τη 16 ημέρα, όπου έχουν ίδιο περίπου μήκος με τις ρίζες των φυτών στο Control. Από εκεί και έπειτα συνεχίζουν να μεγαλώνουν με ικανοποιητικό ρυθμό, μικρότερο όμως αυτών στο Control. Τα μήκη των ριζών κυμαίνονται από 4,8 έως 59,3 cm. Συγκριτικά με την αύξηση του μήκους των ριζών στο Control, στο -S παρατηρείται μια αυξημένη τάση την 13^η ημέρα της τάξης του 25,8%.

Πίνακας 3.1.1.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής των μηκών των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	—	25,8%
16 ^η ημέρα	-27,4%	—
19 ^η ημέρα	-38,8%	—
22 ^η ημέρα	-39,4%	—

3.1.2 Απόσταση της αρχής της περιοχής ELR από ακρορρίζιο



Διάγραμμα 3.1.2.1 Η απόσταση της αρχής της περιοχής ELR από το ακρορρίζιο των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στο παραπάνω διάγραμμα φαίνεται ότι έχουμε μείωση της απόστασης της περιοχής ELR από το ακρορρίζιο για τη χρονική περίοδο από τη 10^η έως τη 13^η ημέρα. Από εκεί και έπειτα παρατηρούμε μια συνεχόμενη αύξηση της απόστασης αυτής μέχρι την 22^η ημέρα. Η απόσταση αυτή κυμαίνεται από 7,9 έως 14,3 cm.

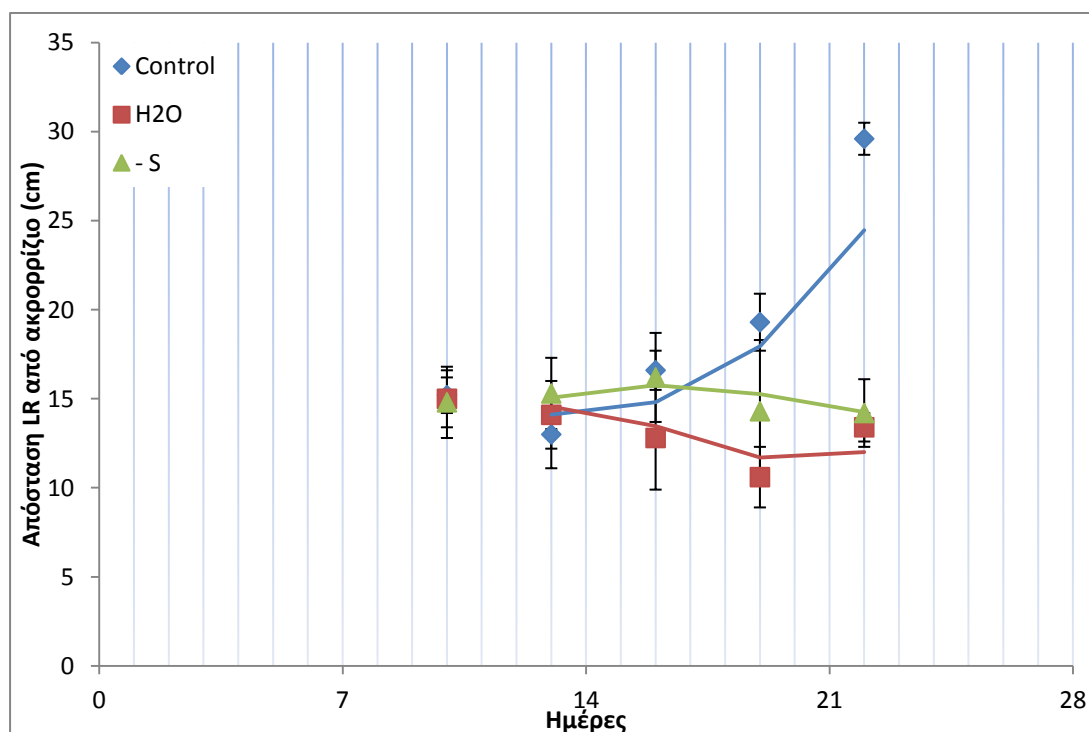
H₂O: Σε αντίθεση με το Control, στο νερό παρατηρείται φθίνουσα πορεία, όσον αφορά την απόσταση της περιοχής ELR από το ακρορρίζιο, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, η οποία παίρνει τιμές από 5,1 έως 11,3 cm. Συγκριτικά με το Control, στις ρίζες που αναπτύσσονται σε νερό, η απόσταση της περιοχής ELR από το ακρορρίζιο παρουσιάζει μια συνεχώς αυξανόμενη μείωση που κυμαίνεται από 29% έως 64,3%.

-S: Στο διάλυμα αυτό, η απόσταση της περιοχής ELR από το ακρορρίζιο παρουσιάζει μια αυξομείωση. Συγκεκριμένα έως τη 13^η ημέρα και από την 16^η έως την 19^η ημέρα παρατηρείται μείωση. Στα διαστήματα 13^η – 16^η ημέρα και 19^η – 22^η ημέρα παρατηρείται αύξηση της απόστασης αυτής. Στις ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται εδώ η απόσταση της περιοχής ELR έχει μέγιστη τιμή τα 11,8 cm και ελάχιστη τα 7,7 cm. Όσον αφορά τη σύγκριση με τις ρίζες που αναπτύσσονται στο Control, στο -S παρατηρείται αύξηση της τάξης του 20,3% την 13^η ημέρα και από τη 19^η έως την 22^η μείωση του 35% με 35,8%.

Πίνακας 3.1.2.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της απόστασης της αρχής της περιοχής ELR από το ακρορρίζιο των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	—	20,3%
16 ^η ημέρα	-29,0%	—
19 ^η ημέρα	-47,5%	-35,8%
22 ^η ημέρα	-64,3%	-35,0%

3.1.3 Απόσταση της αρχής της περιοχής LR από ακρορρίζιο



Διάγραμμα 3.1.3.1 Η απόσταση της αρχής της περιοχής LR από το ακρορρίζιο των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στην περίπτωση αυτή έχουμε μια συνεχόμενη αύξηση της απόστασης από την αρχή έως το τέλος του πειράματος. Οι τιμές κυμαίνονται από 13 cm έως 29,6 cm.

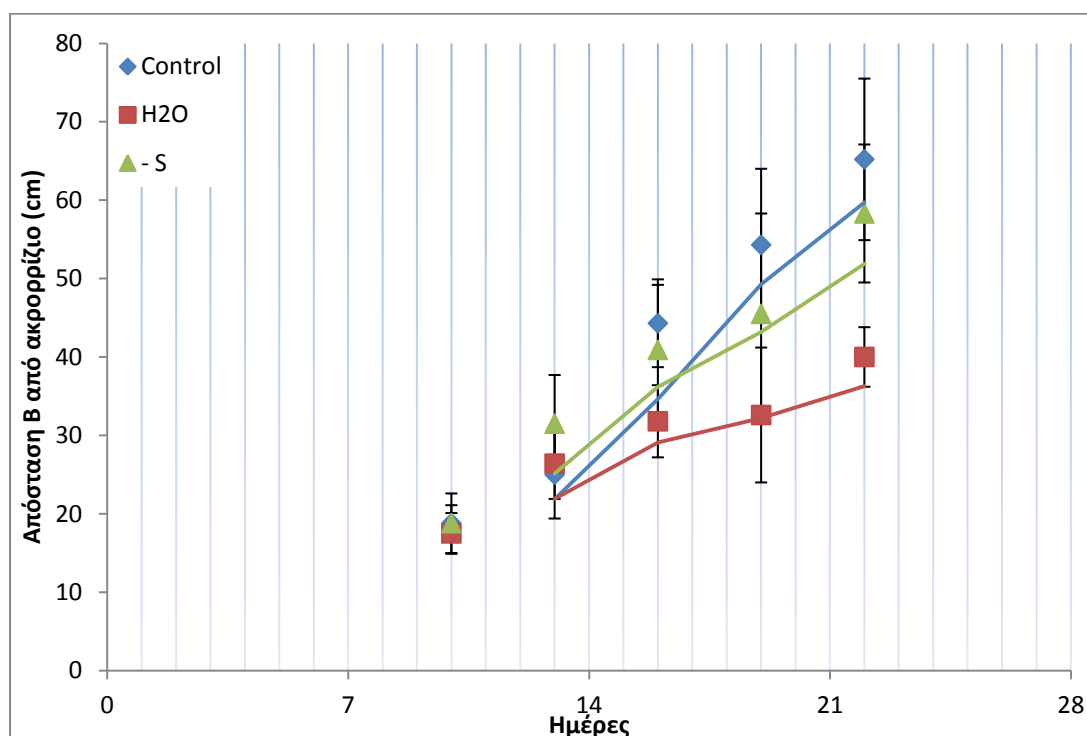
H₂O: Στις ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται στο νερό, η συγκεκριμένη απόσταση παίρνει τη μέγιστη τιμή (15cm) την 10^η ημέρα του πειράματος. Στη συνέχεια παρατηρείται μια συνεχόμενη μείωση της απόστασης της περιοχής LR από το ακρορρίζιο μέχρι τη 19^η ημέρα, όπου και παίρνει την ελάχιστη τιμή (10,6 cm). Έπειτα και μέχρι το τέλος του πειράματος παρατηρείται αύξηση της απόστασης. Συγκρίνοντας πάντα με τις ρίζες του Control, συμπεραίνουμε ότι έχουμε και σε αυτή την περίπτωση μια αυξανόμενη μείωση, από 22,9% έως 54,7%.

-S: Στην περίπτωση αυτή έχουμε αύξηση της απόστασης της LR περιοχής έως τη 16^η ημέρα, όπου και παρατηρείται μέγιστη τιμή (16,2 cm). Στη συνέχεια και μέχρι το τέλος, έχουμε μείωση, που καταλήγει στην ελάχιστη τιμή (14,2 cm). Συγκριτικά τώρα με τις τιμές των μετρήσεων στο control διάλυμα, παρατηρείται μείωση από τη 19^η ημέρα με τιμές από 25,9% έως 52%.

Πίνακας 3.1.3.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της απόστασης της αρχής της περιοχής LR από το ακρορρίζιο των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	—	—
16 ^η ημέρα	-22,9%	—
19 ^η ημέρα	-45,1%	-25,9%
22 ^η ημέρα	-54,7%	-52,0%

3.1.4 Απόσταση της αρχής της περιοχής Β από ακρορρίζιο



Διάγραμμα 3.1.4.1 Η απόσταση της αρχής της περιοχής Β από το ακρορρίζιο των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Σε αυτή την περίπτωση παρατηρείται αύξηση της απόστασης της συγκεκριμένης περιοχής με σχεδόν σταθερό ρυθμό. Η μέγιστη τιμή είναι στα 65,2 cm και η ελάχιστη στα 18,8 cm.

H₂O: Για τις ρίζες που αναπτύσσονται σε αυτό το υγρό υπόστρωμα, η απόσταση της περιοχής Β παρουσιάζει, όπως και στο Control, αυξητική τάση, η οποία είναι εντονότερη έως την 16^η ημέρα και συμβαδίζει με αυτή των ριζών του Control. Από εκεί και έπειτα, η αύξηση αυτή, συγκριτικά με το Control, μειώνεται σε ποσοστά που κυμαίνονται από 28,2% έως 39,9%. Η μέγιστη τιμή που παίρνει αυτή η απόσταση είναι 40 cm, ενώ η ελάχιστη 17,5 cm.

-S: Όσον αφορά το συγκεκριμένο διάλυμα, όπως και στα άλλα δυο, η απόσταση της περιοχής Β από το ακρορρίζιο παρουσιάζει αυξητική τάση, η οποία είναι μεγαλύτερη μέχρι τη 16^η ημέρα. Η μέγιστη τιμή της απόστασης αυτής είναι 58,3 cm και η ελάχιστη 18,8 cm. Συγκριτικά με το Control, η απόσταση παρουσιάζεται αυξημένη την 13^η ημέρα κατά 26%.

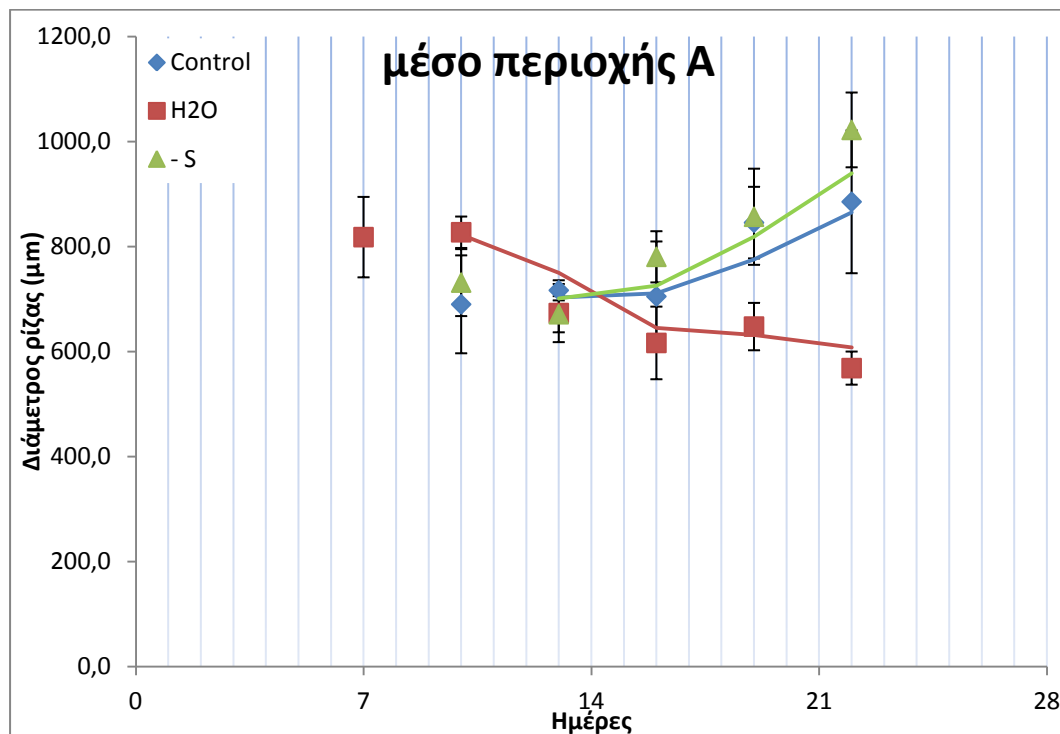
Πίνακας 3.1.4.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της απόστασης της αρχής της περιοχής Β από το ακρορρίζιο των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	—	26,0%
16 ^η ημέρα	-28,2%	—
19 ^η ημέρα	-39,9%	—
22 ^η ημέρα	-38,7%	—

3.2 Μορφολογικές-αναπτυξιακές μετρήσεις τομών ρίζας

3.2.1 Διάμετρος ρίζας

3.2.1.1 Μέσο περιοχής A



Διάγραμμα 3.2.1.1.1 Η διάμετρος του μέσου της περιοχής A των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στην περίπτωση αυτή η διάμετρος της ρίζας παρουσιάζει μικρή αύξηση στις πρώτες μέρες (έως την 13^η ημέρα) και μια φαινομενική σταθεροποίηση έως την 16^η ημέρα. Από εκεί και έπειτα συνεχίζει να αυξάνει με ταχύτερους ρυθμούς και παίρνει τη μέγιστη τιμή της την τελευταία ημέρα του πειράματος. Οι τιμές κυμαίνονται από 690,1 μm έως 885,4 μm.

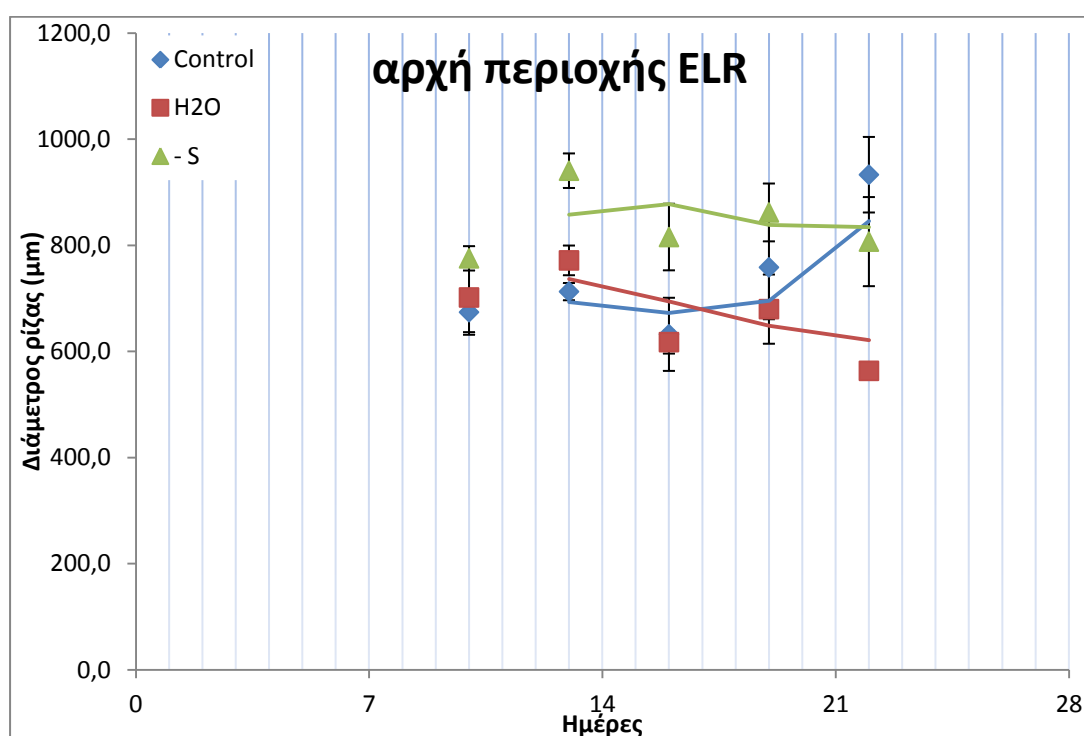
H₂O: Στις ρίζες που αναπτύσσονται σε νερό, η διάμετρός τους παρουσιάζει μια τάση μείωσης. Ξεκινάει από μια μέγιστη τιμή, 827,4 μm, την 10^η ημέρα, παρατηρείται μια μικρή αύξηση από την 16^η έως την 19^η ημέρα και καταλήγει στην ελάχιστη τιμή, 568,6 μm, την τελευταία ημέρα. Συγκριτικά με το Control, τη 10^η ημέρα είναι 19,9% μεγαλύτερη ενώ στις δυο τελευταίες μετρήσεις παρουσιάζεται μικρότερη κατά 23,4% και 35,8% αντίστοιχα.

-S: Όσον αφορά αυτήν την περίπτωση, εκτός από την 13^η ημέρα όπου παρατηρείται μικρή μείωση και έχουμε και ελάχιστη τιμή 671,2 μm, η διάμετρος των ριζών συνεχώς αυξάνεται. Αν εξαιρέσουμε την ημέρα με την ελάχιστη τιμή, όπου υπολείπεται του Control κατά 6,3%, όλες τις υπόλοιπες ημέρες δεν παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά και μάλιστα οι τιμές του -S είναι ελαφρώς μεγαλύτερες αυτών του Control.

Πίνακας 3.2.1.1.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της διαμέτρου του μέσου της περιοχής Α των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	19,9%	—
13 ^η ημέρα	—	-6,3%
16 ^η ημέρα	—	—
19 ^η ημέρα	-23,4%	—
22 ^η ημέρα	-35,8%	—

3.2.1.2 Αρχή περιοχής ELR



Διάγραμμα 3.2.1.2.1 Η διάμετρος της αρχής της περιοχής ELR των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Σε αυτήν την περιοχή η διάμετρος της ρίζας συνεχίζει ακριβώς όπως και στην Α περιοχή με τη μόνη διαφορά ότι ελάχιστη τιμή έχουμε την 16^η ημέρα. Οι τιμές κυμαίνονται από 632,1 μm έως 933 μm.

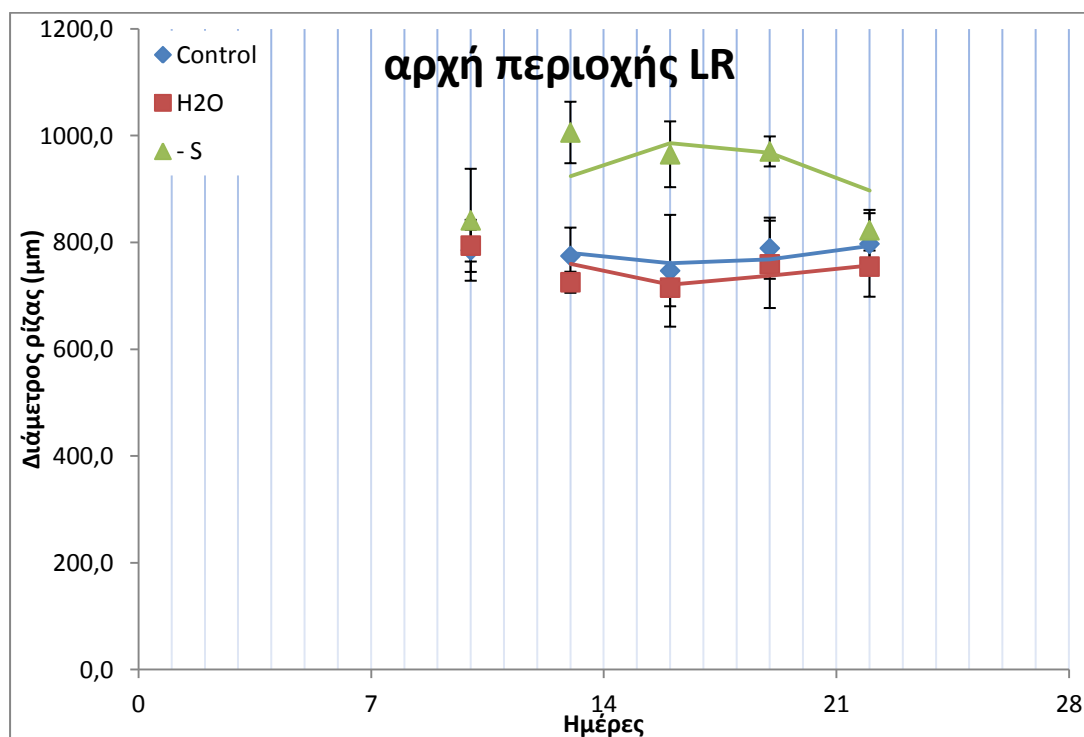
H₂O: Η διάμετρος των ριζών του συγκεκριμένου υγρού υποστρώματος, παρουσιάζει διακυμάνσεις. Έχουμε μια αύξηση από τη 10^η στη 13^η ημέρα καθώς επίσης και από τη 16^η στη 19^η ημέρα. Σε γενικές γραμμές όμως η διάμετρος των ριζών έχει μειωτική τάση, με ελάχιστο την 22^η ημέρα (563,3 μm) και μέγιστο την 13^η ημέρα (771,5 μm). Σε σύγκριση με το Control, υπερτερεί την ημέρα της μέγιστης τιμής κατά 8,3% και υπολείπεται την ημέρα της ελάχιστης τιμής κατά 39,6%.

-S: Στην περίπτωση των ριζών του συγκεκριμένου διαλύματος, η διάμετρος τους παρουσιάζει μια φαινομενική σταθερότητα. Έχουμε μέγιστη τιμή την 13^η ημέρα (940,5 μm) και ελάχιστη την 10^η (775,4 μm). Παρατηρούνται μικρές διακυμάνσεις ως το τέλος του πειράματος, χωρίς μεγάλες αποκλίσεις τιμών. Συγκριτικά με τις διαμέτρους των ριζών στο Control, αυτές του –S υπερτερούν μέχρι την 16^η ημέρα με ποσοστά που κυμαίνονται από 15,1% έως 32%.

Πίνακας 3.2.1.2.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της διαμέτρου της αρχής της περιοχής ELR των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και –S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	15,1%
13 ^η ημέρα	8,3%	32,0%
16 ^η ημέρα	—	29,0%
19 ^η ημέρα	—	—
22 ^η ημέρα	-39,6%	—

3.2.1.3 Αρχή περιοχής LR



Διάγραμμα 3.2.1.3.1 Η διάμετρος της αρχής της περιοχής LR των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Σε αυτή την περιοχή της ρίζας, η διάμετρος δεν παρουσιάζει μεγάλες αποκλίσεις τιμών. Έως την 16^η ημέρα παρατηρείται μια συνεχόμενη μικρή μείωση, όπου εντοπίζεται και η ελάχιστη τιμή (747,2 μm). Από εκεί και ως το τέλος του πειράματος σημειώνεται μια συνεχής μεν, μικρή δε αύξηση με μέγιστη τιμή την 22^η ημέρα (797,5 μm).

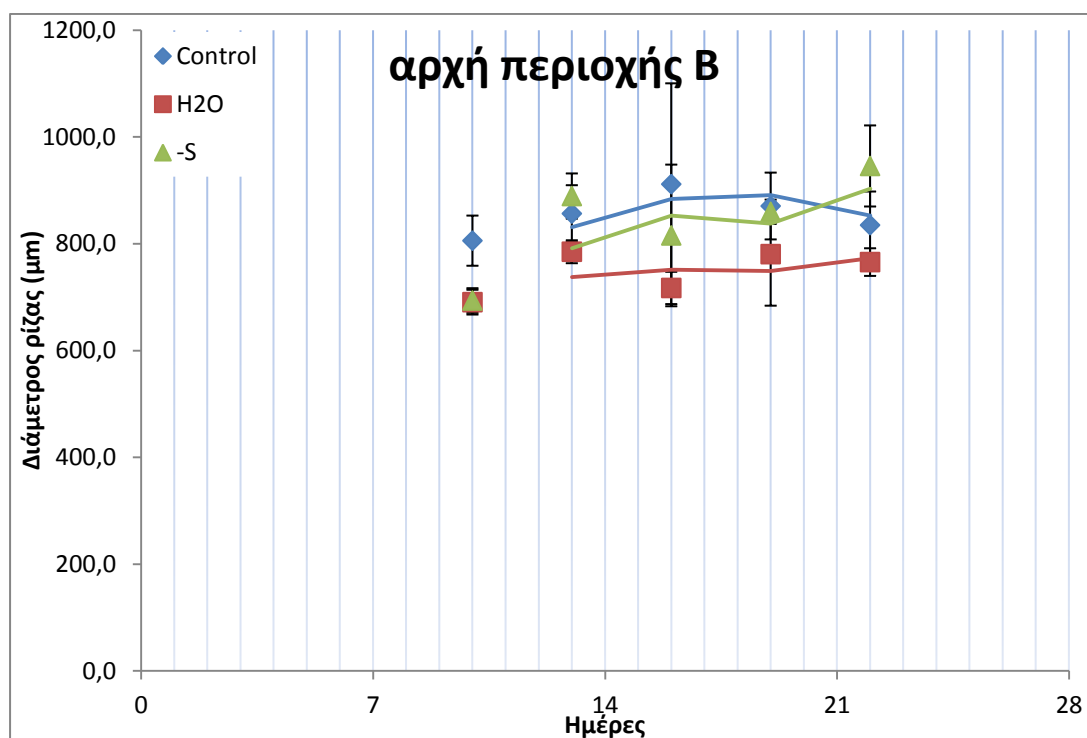
H₂O: Η διάμετρος των εν λόγω ριζών, παρουσιάζουν τάση μείωσης ως την 16^η ημέρα, όπου και παρατηρείται η ελάχιστη τιμή (715,6 μm). Στη συνέχεια αυξάνεται έως τη 19^η ημέρα και μειώνεται ελάχιστα στο τέλος του πειράματος. Μέγιστο παρατηρείται την 10^η ημέρα με τιμή 797,5 μm. Μοναδική διαφορά με το Control είναι ότι οι μέσες τιμές στο νερό είναι λίγο μικρότερες, αλλά δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

-S: Στην περίπτωση αυτή έχουμε μεγάλη αύξηση από την 10^η έως την 13^η ημέρα, όπου παρατηρείται και η μέγιστη τιμή (1006,2 μm). Στη συνέχεια σημειώνεται μικρή μείωση έως την 16^η ημέρα και μια φαινομενική σταθεροποίηση έως την 19^η ημέρα. Από εκεί και έως το τέλος του πειράματος παρατηρείται σημαντική μείωση μέχρι την ελάχιστη τιμή που είναι 823,1 μm. Αυτό που αξίζει να σημειωθεί είναι ότι οι τιμές στο -S υπερτερούν των αντίστοιχων του Control, από την 13^η έως την 19^η ημέρα σε ποσοστά από 23% έως 29,8%.

Πίνακας 3.2.1.3.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της διαμέτρου της αρχής της περιοχής LR των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	—	29,8%
16 ^η ημέρα	—	29,2%
19 ^η ημέρα	—	23,0%
22 ^η ημέρα	—	—

3.2.1.4 Αρχή περιοχής Β



Διάγραμμα 3.2.1.4.1 Η διάμετρος της αρχής της περιοχής Β των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα, η διάμετρος των ριζών του Control παρουσιάζει αύξηση έως την 16^η ημέρα και εν συνεχεία μείωση έως το τέλος του πειράματος. Μέγιστη τιμή εντοπίζεται την 16^η ημέρα (911,7 μm) και ελάχιστη την 10^η (805,8 μm).

H₂O: Στην περίπτωση αυτή έχουμε διακυμάνσεις της τιμής της διαμέτρου, με ελάχιστο την 10^η ημέρα και τιμή 690,7 μm, ενώ μέγιστο την 13^η ημέρα με τιμή 785,1 μm. Σε σύγκριση με το Control παρουσιάζονται μειωμένες τιμές την 10^η, 13^η και 22^η ημέρα σε ποσοστά από 8,3% έως 14,3%.

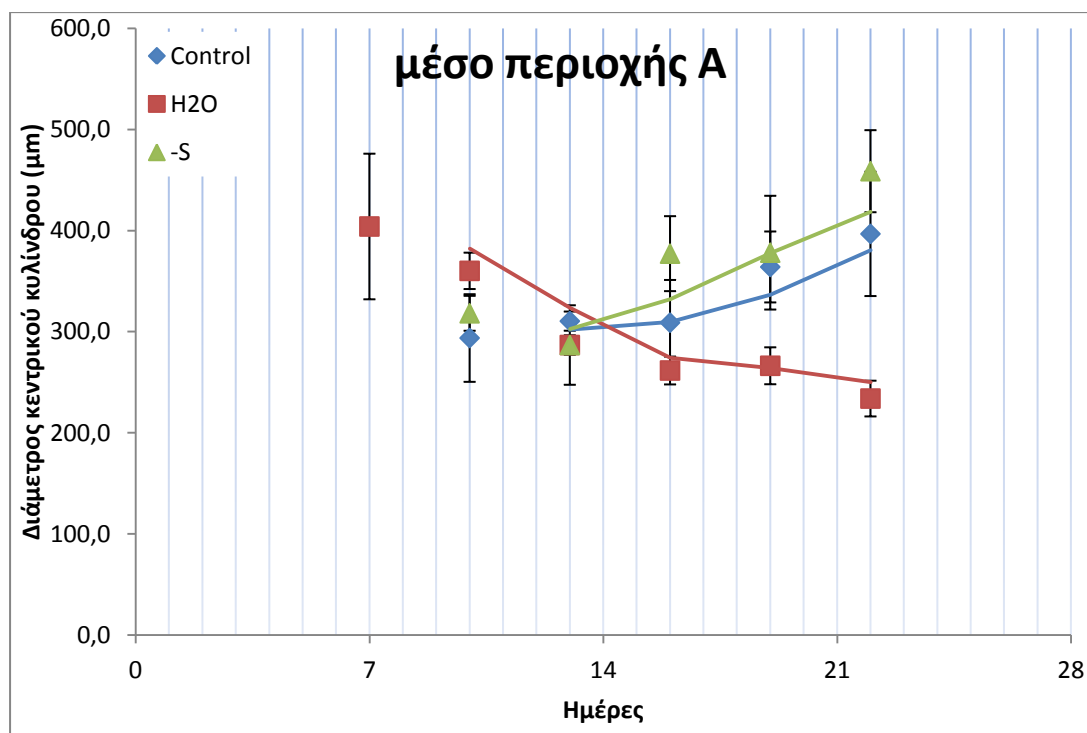
-S : Όσον αφορά τη διάμετρο των ριζών του εν λόγω διαλύματος, παρουσιάζει αύξηση από την ελάχιστη τιμή (693,8 μm) την 10^η έως τη 13^η ημέρα, μικρή μείωση έως την 16^η ημέρα και τέλος αύξηση έως το τέλος του πειράματος, όπου παίρνει και τη μέγιστη τιμή (945,8 μm). Συγκριτικά με το Control, ενώ ξεκινά με υστέρηση της τάξης του 13,9%, στη συνέχεια ισορροπεί με αποτέλεσμα στο τέλος του πειράματος να υπερτερεί κατά 13,3%.

Πίνακας 3.2.1.4.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της διαμέτρου της αρχής της περιοχής Β των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	-14,3%	-13,9%
13 ^η ημέρα	-8,3%	—
16 ^η ημέρα	—	—
19 ^η ημέρα	—	—
22 ^η ημέρα	-8,3%	13,3%

3.2.2 Διάμετρος κεντρικού κυλίνδρου ρίζας

3.2.2.1 Μέσο περιοχής Α



Διάγραμμα 3.2.2.1.1 Η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου του μέσου της περιοχής Α των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στις συγκεκριμένες ρίζες, η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου έχει συνεχόμενη αυξητική τάση. Εκτός από το διάστημα μεταξύ της 13^{ης} και 16^{ης} που παρουσιάζει σταθερότητα έως μια ελαφρά μείωση. Οι τιμές κυμαίνονται από 293,8 μm (10^η ημέρα) έως 396,8 μm (22^η ημέρα).

H₂O: Σε αυτήν την περίπτωση παρατηρείται συνεχόμενη μείωση της διαμέτρου, με εξαίρεση από την 16^η έως την 19^η ημέρα, όπου σημειώνεται πολύ μικρή αύξηση. Οι τιμές κυμαίνονται από 404,1 μm (7^η ημέρα) έως 233,9 μm (22^η ημέρα). Συγκριτικά με το Control, οι ρίζες που αναπτύσσονται στο νερό υπερτερούν ως προς τη διάμετρο του κεντρικού

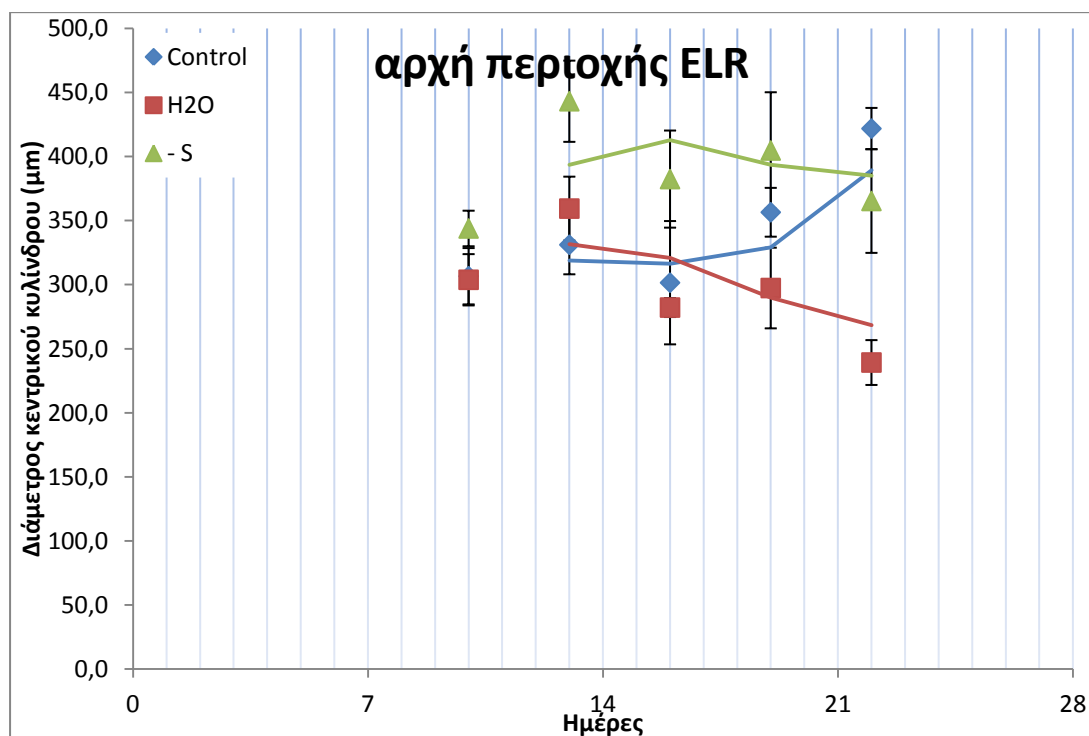
κυλίνδρου, την 10^η ημέρα κατά 22,6%. Στη συνέχεια παρατηρείται υστέρηση από την 16^η έως την 22^η ημέρα της τάξεως 15,3% έως 41,1%.

-S: Όσον αφορά αυτό το διάλυμα, η διάμετρος παρουσιάζει αρχικά μείωση έως την 13^η ημέρα (ελάχιστη τιμή 286,9 μm) και στη συνέχεια αύξηση έως το τέλος του πειράματος (μέγιστη τιμή 458,8 μm). Σε σχέση με το Control, η διάμετρος παρουσιάζεται μειωμένη κατά 7,6% την 13^η ημέρα, ενώ αντιστρέφεται και παρουσιάζεται αυξημένη για το επόμενο διάστημα και έως την 16^η ημέρα σε ποσοστό 22,1%.

Πίνακας 3.2.2.1.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου του μέσου της περιοχής A των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	22,6%	—
13 ^η ημέρα	—	-7,6%
16 ^η ημέρα	-15,3%	22,1%
19 ^η ημέρα	-26,9%	—
22 ^η ημέρα	-41,1%	—

3.2.2.2 Αρχή περιοχής ELR



Διάγραμμα 3.2.2.2.1 Η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου της αρχής της περιοχής ELR των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στην περιοχή αυτή της ρίζας, η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου συμπεριφέρεται όπως και στην περίπτωση της περιοχής A. Στο μόνο που διαφέρει είναι ότι το ελάχιστο εδώ εντοπίζεται την 16^η ημέρα (301,6 μm). Το μέγιστο παίρνει την τιμή 421,8 μm την 22^η ημέρα.

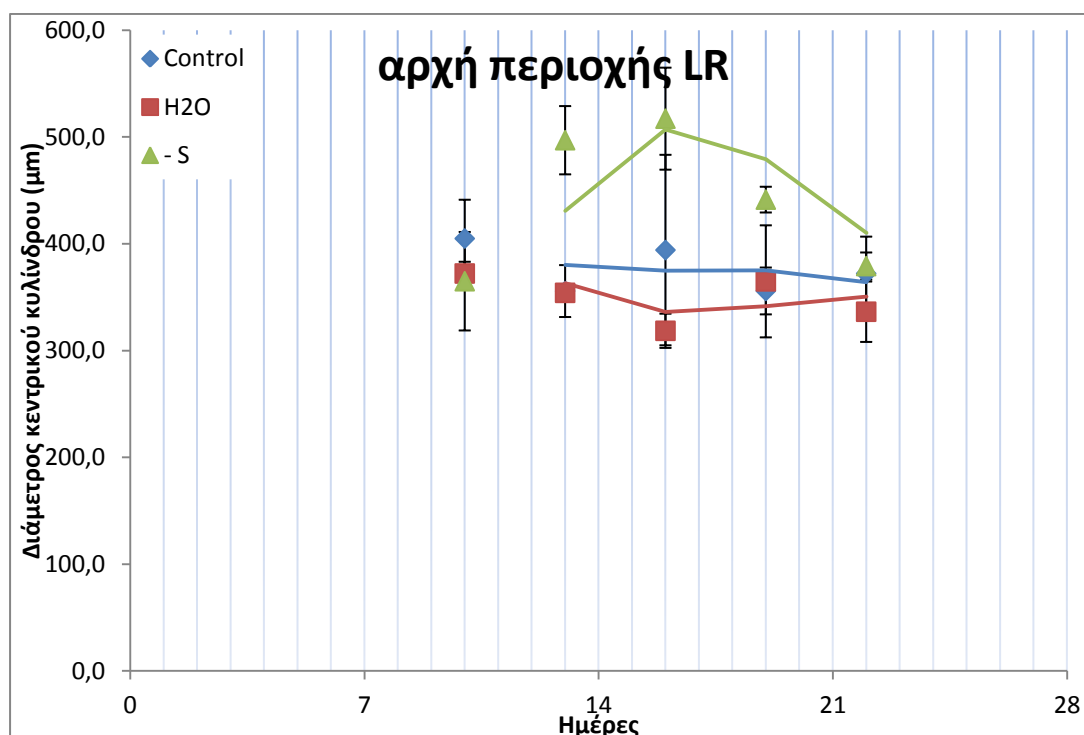
H₂O: Και σε αυτή την περίπτωση, η διάμετρος συμπεριφέρεται όπως και στην περίπτωση της περιοχής A, με εξαίρεση την περίοδο από την 10^η έως την 13^η ημέρα όπου παρατηρείται αύξηση αντί για μείωση. Οι τιμές κυμαίνονται από 239,3 μm (22^η ημέρα) έως 359,4 μm (13^η ημέρα). Όσον αφορά τη σχέση με το Control, σημειώνεται μείωση από την 19^η έως την 22^η ημέρα με ποσοστά από 16,6% έως 43,3%.

-S: Στις ρίζες του εν λόγω διαλύματος, η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου αυξάνεται μέχρι την 13^η ημέρα, όπου εντοπίζεται και τη μέγιστη τιμή (443,2 μm) για να μειωθεί έως την 16^η, να αυξηθεί ξανά έως την 19^η και να μειωθεί έως το τέλος του πειράματος. Ελάχιστη τιμή παρατηρείται την 10^η ημέρα (343,9 μm). Συγκριτικά με το Control, παρατηρούμε ότι υπερτερεί από την 10^η έως την 19^η ημέρα με ποσοστά 12,2% - 33,8% και μια υστέρηση έως το τέλος του πειράματος με ποσοστό 13,4%.

Πίνακας 3.2.2.2.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου της αρχής της περιοχής ELR των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	12,2%
13 ^η ημέρα	—	33,8%
16 ^η ημέρα	—	26,8%
19 ^η ημέρα	-16,6%	13,5%
22 ^η ημέρα	-43,3%	-13,4%

3.2.2.3 Αρχή περιοχής LR



Διάγραμμα 3.2.2.3.1 Η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου της αρχής της περιοχής LR των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στην περίπτωση αυτή, η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου παρουσιάζει διακυμάνσεις. Μέγιστο παρατηρείται την 10^η ημέρα (404,9 μm) και ελάχιστο την 13^η ημέρα (355,7 μm).

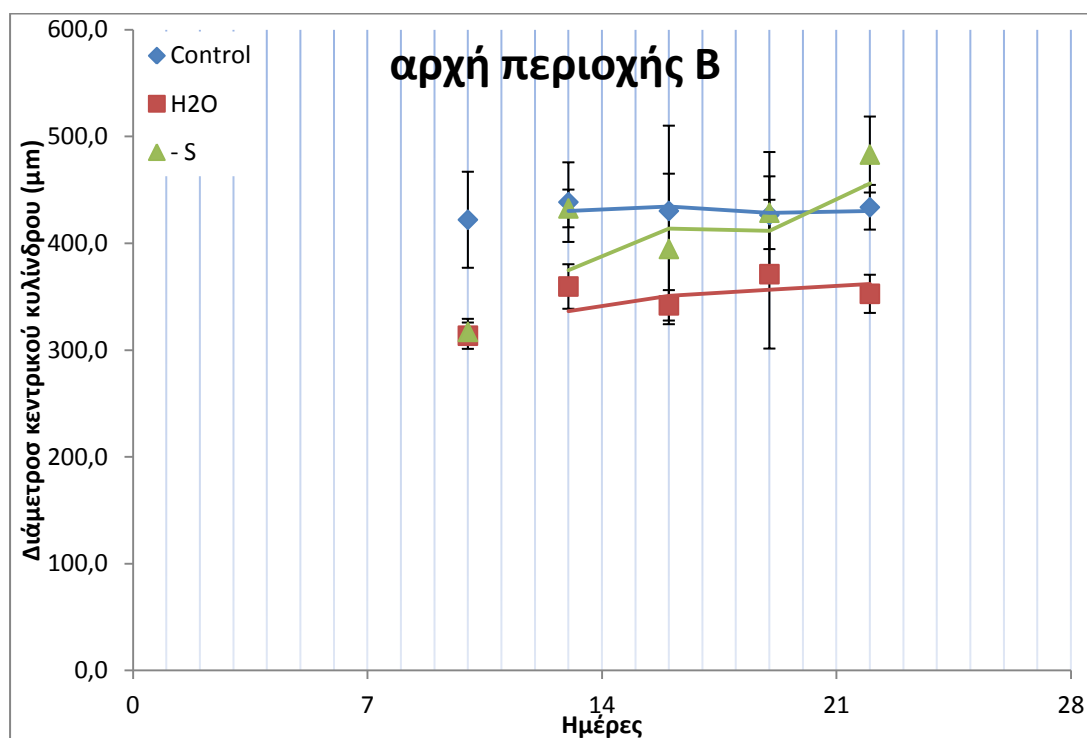
H₂O: Στην περίπτωση αυτή, η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου παρουσιάζει μείωση μέχρι την 16^η ημέρα, όπου έχουμε την ελάχιστη τιμή (318,5 μm). Στη συνέχεια και μέχρι την 19^η ημέρα σημειώνεται αύξηση για να τελειώσει το πείραμα με μια ακόμη μείωση. Μέγιστη τιμή παρατηρούμε την 10^η ημέρα. Συγκριτικά με το Control δεν παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

-S: Σε αυτές τις ρίζες, οι τιμές της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου παρουσιάζουν αρχικά αύξηση (έως την 16^η ημέρα) και στη συνέχεια μείωση. Οι τιμές αυτές κυμαίνονται από 365 μm (10^η ημέρα) έως 517,2 μm (16^η ημέρα). Σε σύγκριση με τις ρίζες του Control, αυτές του -S υπερτερούν από τη 13^η έως την 19^η ημέρα σε ποσοστά από 24,1% έως 39,7%.

Πίνακας 3.2.2.3.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου της αρχής της περιοχής LR των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	—	39,7%
16 ^η ημέρα	—	31,2%
19 ^η ημέρα	—	24,1%
22 ^η ημέρα	—	—

3.2.2.4 Αρχή περιοχής B



Διάγραμμα 3.2.2.4.1 Η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου της αρχής της περιοχής B των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στις ρίζες του εν λόγω διαλύματος έχουμε σχετική σταθερότητα στις τιμές του κεντρικού κυλίνδρου, οι οποίες κυμαίνονται από 422,1 μm (10^η ημέρα) έως 438,6 μm (13^η ημέρα). Όσον αφορά τις διακυμάνσεις παρατηρούμε δυο αυξήσεις (10^η – 13^η ημέρα και 19^η – 22^η ημέρα) και μια μείωση (13^η – 19^η ημέρα).

H₂O: Οι τιμές του κεντρικού κυλίνδρου των ριζών που αναπτύσσονται σε νερό, παρουσιάζουν διακυμάνσεις, με μέγιστο την 19^η ημέρα (371,1 μm) και ελάχιστο την 10^η ημέρα (313,5 μm). Συγκριτικά με τις ρίζες του Control, εκτός από την 19^η ημέρα παρουσιάζουν μια διαρκή υστέρηση με ποσοστά 18% - 25,7%.

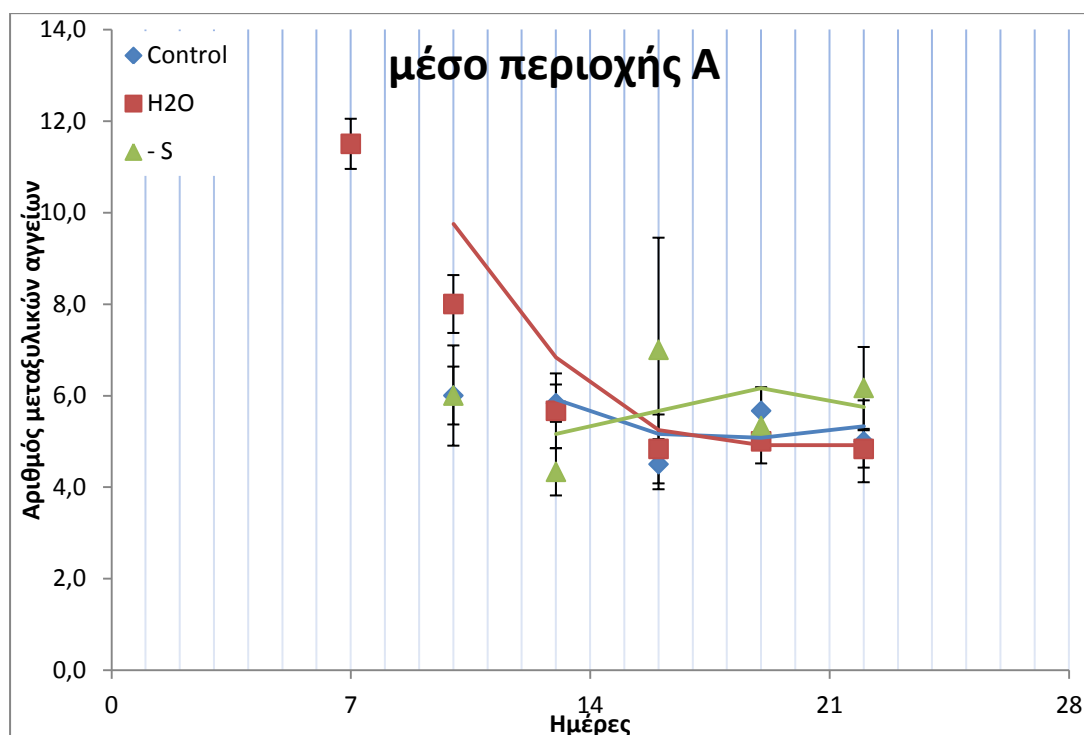
-S: Σε αυτήν την περίπτωση, αν εξαιρέσουμε την περίοδο από την 13^η έως την 16^η ημέρα, όπου διαπιστώνεται μείωση, σε όλη την υπόλοιπη διάρκεια του πειράματος παρατηρείται συνεχόμενη αύξηση. Ελάχιστη τιμή έχουμε την 10^η ημέρα (317,1 μm) και μέγιστη την 22^η (483,2 μm). Σε σχέση με το Control εντοπίζεται μείωση της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου την 10^η ημέρα κατά 24,9% και αύξηση την 22^η ημέρα κατά 11,4%.

Πίνακας 3.2.2.4.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου της αρχής της περιοχής Β των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	-25,7%	-24,9%
13 ^η ημέρα	-18,0%	—
16 ^η ημέρα	-20,5%	—
19 ^η ημέρα	—	—
22 ^η ημέρα	-18,7%	11,4%

3.2.3 Αριθμός μεταξυλικών αγγείων

3.2.3.1 Μέσο περιοχής Α



Διάγραμμα 3.2.3.1.1 Ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων του μέσου της περιοχής Α των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Όπως φαίνεται και από το παραπάνω διάγραμμα, ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων του ξύλου παρουσιάζει μείωση έως την 16^η ημέρα, αύξηση έως την 19^η και πάλι μείωση έως το τέλος του πειράματος. Παίρνει δε την μέγιστη τιμή του την 10^η ημέρα (6) και την ελάχιστη την 16^η (4,5).

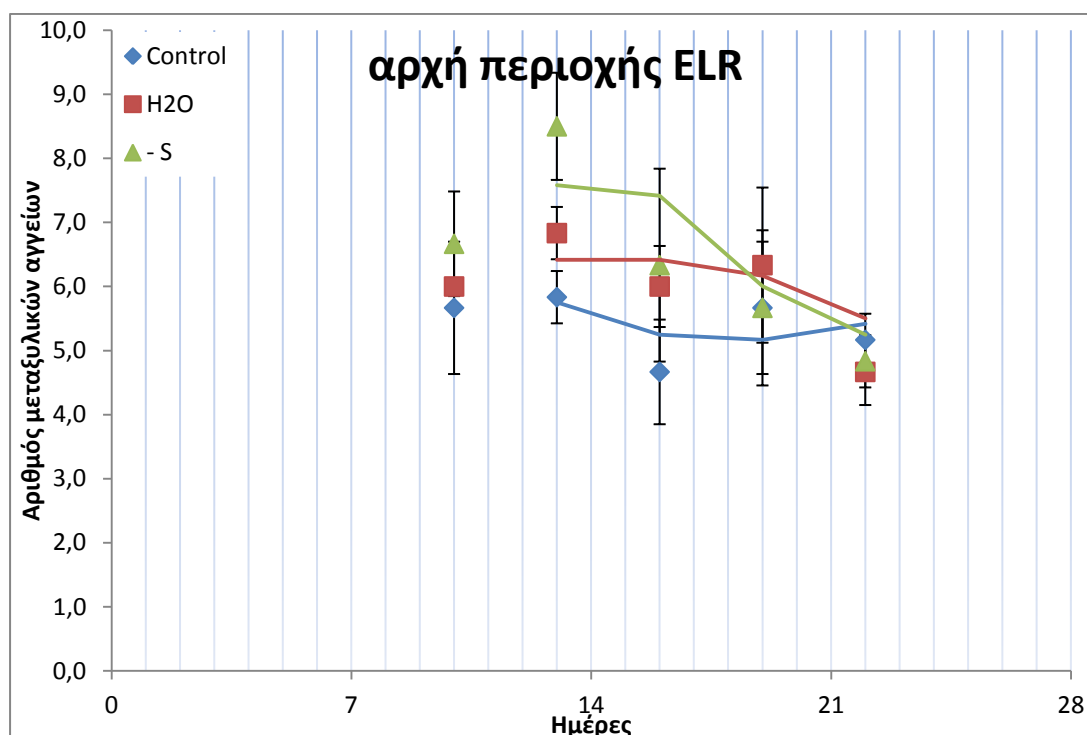
H₂O: Στις ρίζες του συγκεκριμένου υγρού υποστρώματος, ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων παρουσιάζει μείωση, εκτός από το διάστημα 16^η – 19^η ημέρα. Σημειώνεται μέγιστη τιμή την 7^η ημέρα (11,5) και ελάχιστη την 16^η και την 22^η ημέρα (4,8). Σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές στο Control, παρουσιάζεται αύξηση την 10^η ημέρα σε ποσοστό 33,3% και μείωση την 19^η ημέρα της τάξης του 12,3%.

-S: Ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων στο συγκεκριμένο διάλυμα παρουσιάζει διακυμάνσεις, με μέγιστο την 16^η ημέρα (7) και ελάχιστο την 13^η ημέρα (4,3). Συγκριτικά με τις αντίστοιχες τιμές του Control, παρατηρείται μια υστέρηση την 13^η ημέρα σε ποσοστό 25,9%.

Πίνακας 3.2.3.1.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής του αριθμού των μεταξυλικών αγγείων του μέσου της περιοχής A των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	33,3%	—
13 ^η ημέρα	—	-25,9%
16 ^η ημέρα	—	—
19 ^η ημέρα	-12,3%	—
22 ^η ημέρα	—	—

3.2.3.2 Αρχή περιοχής ELR



Διάγραμμα 3.2.3.2.1 Ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων της αρχής της περιοχής ELR των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Σύμφωνα με το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε μια αυξομείωση Μ μορφής στον αριθμό των αγγείων του ξύλου στην ELR περιοχή. Οι τιμές κυμαίνονται από 5,8 (13^η ημέρα) έως 4,7 (16^η ημέρα).

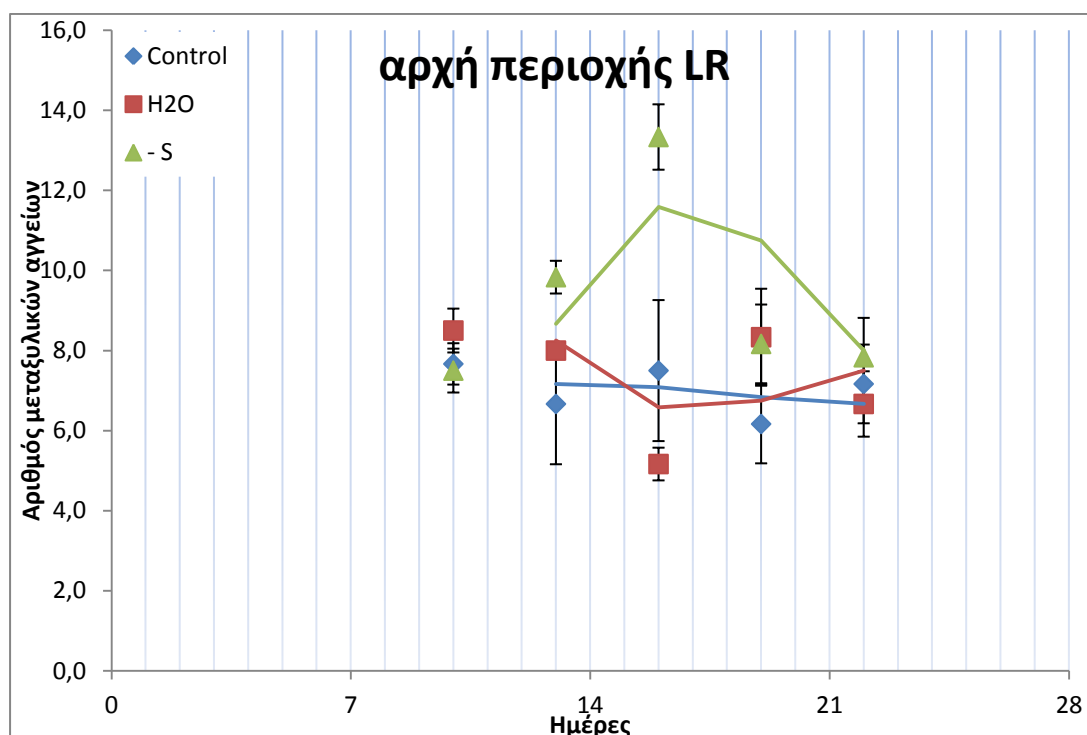
H₂O: Όπως και στο Control διάλυμα, έτσι και εδώ έχουμε αυξομειώσεις μορφής Μ, με μέγιστο την 13^η (6,8) και ελάχιστο την 22^η ημέρα (4,7). Σε σχέση με το Control παρουσιάζεται ο αριθμός των αγγείων του ξύλου αυξημένος την 13^η και 16^η ημέρα 17,2% και 27,7% αντίστοιχα.

-S: Και σε αυτή την περίπτωση έχουμε αυξομειώσεις μορφής Μ, με μέγιστο την 13^η ημέρα (8,5) και ελάχιστο την 22^η (4,8). Στην σύγκριση με το Control, παρουσιάζεται μια αύξηση την 13^η και 16^η ημέρα σε ποσοστά 46,6% και 34% αντίστοιχα.

Πίνακας 3.2.3.2.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής του αριθμού των μεταξυλικών αγγείων της αρχής της περιοχής ELR των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	17,2%	46,6%
16 ^η ημέρα	27,7%	34,0%
19 ^η ημέρα	—	—
22 ^η ημέρα	—	—

3.2.3.3 Αρχή περιοχής LR



Διάγραμμα 3.2.3.3.1 Ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων της αρχής της περιοχής LR των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control διάλυμα: Οι τιμές των μεταξυλικών αγγείων στο εν λόγω διάλυμα παρουσιάζουν διακυμάνσεις. Οι τιμές αυτές κυμαίνονται από 6,2 (19^η ημέρα) έως 7,7 (10^η ημέρα).

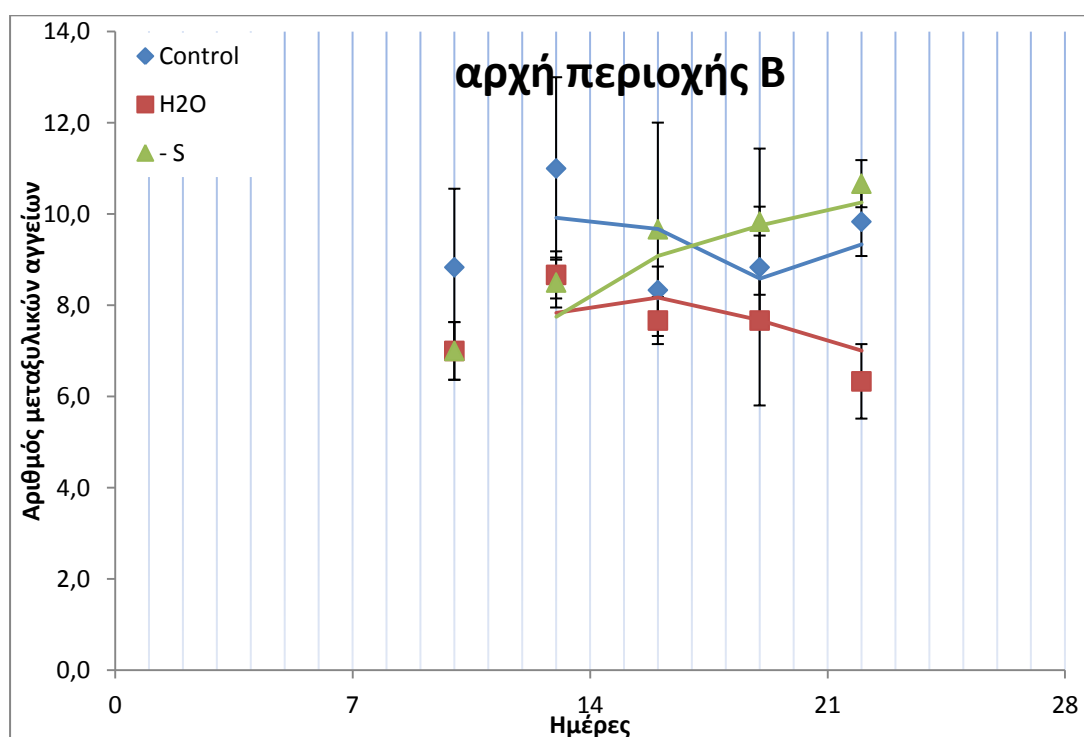
H₂O: Στις ρίζες που αναπτύσσονται στο νερό, ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων μειώνεται έως την 16^η ημέρα, για να παρουσιάσει στη συνέχεια αύξηση έως την 19^η και να μειωθεί ξανά έως το τέλος του πειράματος. Μέγιστη τιμή παρατηρείται την 10^η ημέρα (8,5) και ελάχιστη την 16^η (5,2). Σε σχέση με το Control, οι τιμές αυξάνονται κατά 10,4% και 33,9% (10^η και 19^η ημέρα) και μειώνονται σε ποσοστό 30,7% την 16^η ημέρα.

-S διάλυμα: Στον αριθμό των μεταξυλικών αγγείων του συγκεκριμένου διαλύματος παρουσιάζεται αύξηση μέχρι την 16^η ημέρα (μέγιστο με τιμή 13,3) και από εκεί και έπειτα μείωση μέχρι το τέλος του πειράματος. Το ελάχιστο παρατηρείται την 10^η ημέρα (7,5). Όσον αφορά τη σύγκριση με το Control, ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων παρουσιάζεται αυξημένος από την 13^η έως 19^η ημέρα σε ποσοστά 32,3% - 77,3%.

Πίνακας 3.2.3.3.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής του αριθμού των μεταξυλικών αγγείων της αρχής της περιοχής LR των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	10,4%	—
13 ^η ημέρα	—	46,3%
16 ^η ημέρα	-30,7%	77,3%
19 ^η ημέρα	33,9%	32,3%
22 ^η ημέρα	—	—

3.2.3.4 Αρχή περιοχής B



Διάγραμμα 3.2.3.4.1 Ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων της αρχής της περιοχής B των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στην συγκεκριμένη περίπτωση έχουμε μια διαρκή αύξηση, εκτός από την περίοδο 13^η – 16^η ημέρα. Η μέγιστη τιμή που παίρνει ο αριθμός των αγγείων του ξύλου είναι 11 (13^η ημέρα) και η ελάχιστη 8,3 (16^η ημέρα).

H₂O: Στις ρίζες που αναπτύσσονται μέσα σε νερό, ο αριθμός των αγγείων του ξύλου, μέχρι την 13^η ημέρα παρουσιάζει μια αύξηση, μέχρι τη μέγιστη τιμή (8,7), στη συνέχεια μειώνεται έως την 16^η ημέρα. Στο επόμενο διάστημα μέχρι την 19^η ημέρα παρατηρούμε μια σταθερότητα, μέχρις ότου καταλήξουμε στην ελάχιστη τιμή (6,3) στο τέλος του πειράματος. Συγκριτικά με τις τιμές στο Control διάλυμα, αυτές του νερού παρουσιάζουν υστέρηση για το διάστημα 10^η – 16^η ημέρα σε ποσοστά 7,2% - 20,9%.

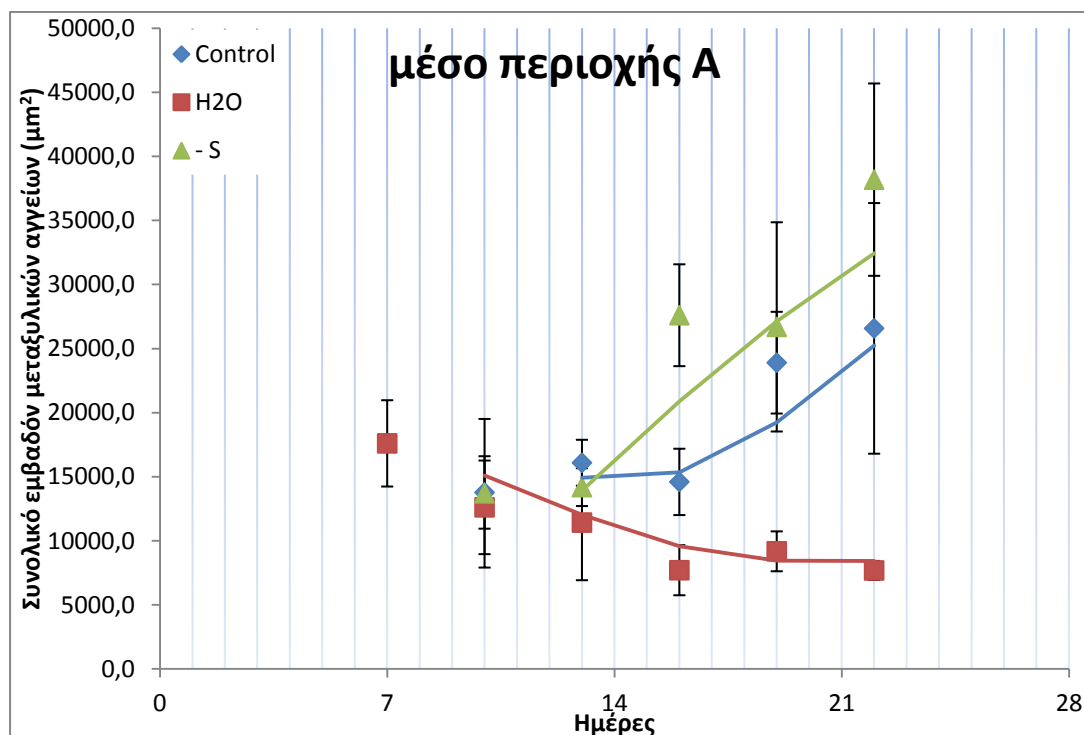
-S: Στο διάλυμα αυτό, οι τιμές που παίρνει ο αριθμός των αγγείων του ξύλου είναι συνεχόμενα αυξημένες με ελάχιστη και μέγιστη τιμή 7 και 10,7 αντίστοιχα. Σε σχέση με το Control διάλυμα, παρατηρείται κι εδώ μια υστέρηση στον αριθμό των αγγείων της τάξης του 20,5% - 22,7% και για το χρονικό διάστημα από την 10^η έως την 13^η ημέρα.

Πίνακας 3.2.3.4.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής του αριθμού των μεταξυλικών αγγείων της αρχής της περιοχής Β των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	-20,5%	-20,5%
13 ^η ημέρα	-20,9%	-22,7%
16 ^η ημέρα	-7,2%	—
19 ^η ημέρα	—	—
22 ^η ημέρα	—	—

3.2.4 Συνολικό εμβαδόν μεταξυλικών αγγείων (μm²)

3.2.4.1 Μέσο περιοχής Α



Διάγραμμα 3.2.4.1.1 Το συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων (μm²) του μέσου της περιοχής Α των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Σύμφωνα με το παραπάνω διάγραμμα, συμπεραίνουμε ότι το συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων παρουσιάζει συνεχόμενη αύξηση, εκτός από την

περίοδο μεταξύ 13^{ης} και 16^{ης} ημέρας, όπου και έχουμε μείωση. Οι τιμές κυμαίνονται από 13773,2 μm^2 (10 ημέρα) έως 26576,1 μm^2 (22^η ημέρα).

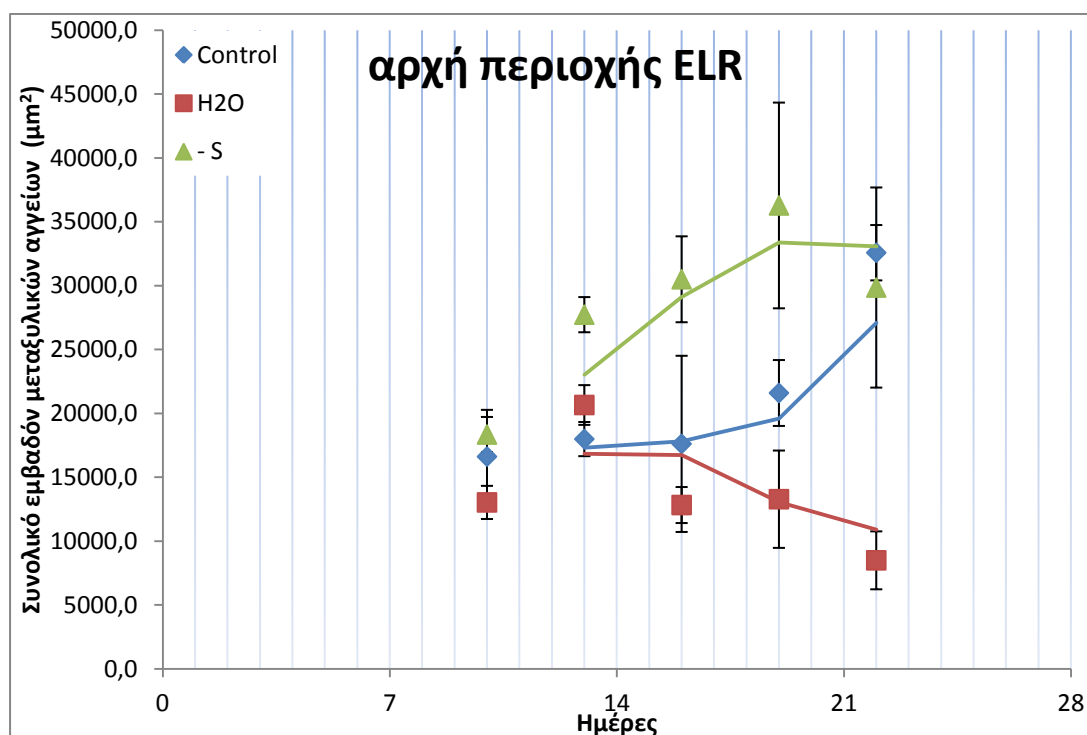
H₂O: Στο συγκεκριμένο υγρό υπόστρωμα, οι τιμές του συνολικού εμβαδού των μεταξυλικών αγγείων παρουσιάζουν τάση μείωσης, εκτός του διαστήματος 16^η – 19^η ημέρα. Οι τιμές κυμαίνονται από 7685,3 μm^2 (22^η ημέρα) έως 17601,8 μm^2 (7^η ημέρα). Σε σχέση με τις τιμές του Control, παρουσιάζουν, από την 16^η ημέρα και έπειτα, σημαντική υστέρηση που κυμαίνεται από 47,2% έως 71,1%.

-S: Στην περίπτωση αυτού του διαλύματος παρατηρείται το αντίστροφο από ότι στις τιμές στο νερό. Όπου δηλαδή έχουμε μείωση στο νερό, έχουμε αύξηση στο – S και το αντίστροφο. Ελάχιστη τιμή παίρνουμε την 10^η ημέρα (13708,7 μm^2) και μέγιστη την 22^η (38184,5 μm^2). Συγκριτικά με τις αντίστοιχες τιμές του Control, υπερτερούν την 16^η και την 22^η ημέρα κατά 89,1% και 43,7% αντίστοιχα.

Πίνακας 3.2.4.1.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής του συνολικού εμβαδού των μεταξυλικών αγγείων του μέσου της περιοχής A των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και –S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	—	—
16 ^η ημέρα	-47,2%	89,1%
19 ^η ημέρα	-61,6%	—
22 ^η ημέρα	-71,1%	43,7%

3.2.4.2 Αρχή περιοχής ELR



Διάγραμμα 3.2.4.2.1 Το συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων (μm^2) της αρχής της περιοχής ELR των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H_2O)

Control: Σε αυτήν την περίπτωση έχουμε την ίδια συμπεριφορά στις τιμές, όπως και στην προηγούμενη περιοχή της ρίζας (περιοχή A). Η ελάχιστη τιμή είναι $16620,3 \mu\text{m}^2$ και η μέγιστη $32583,1 \mu\text{m}^2$.

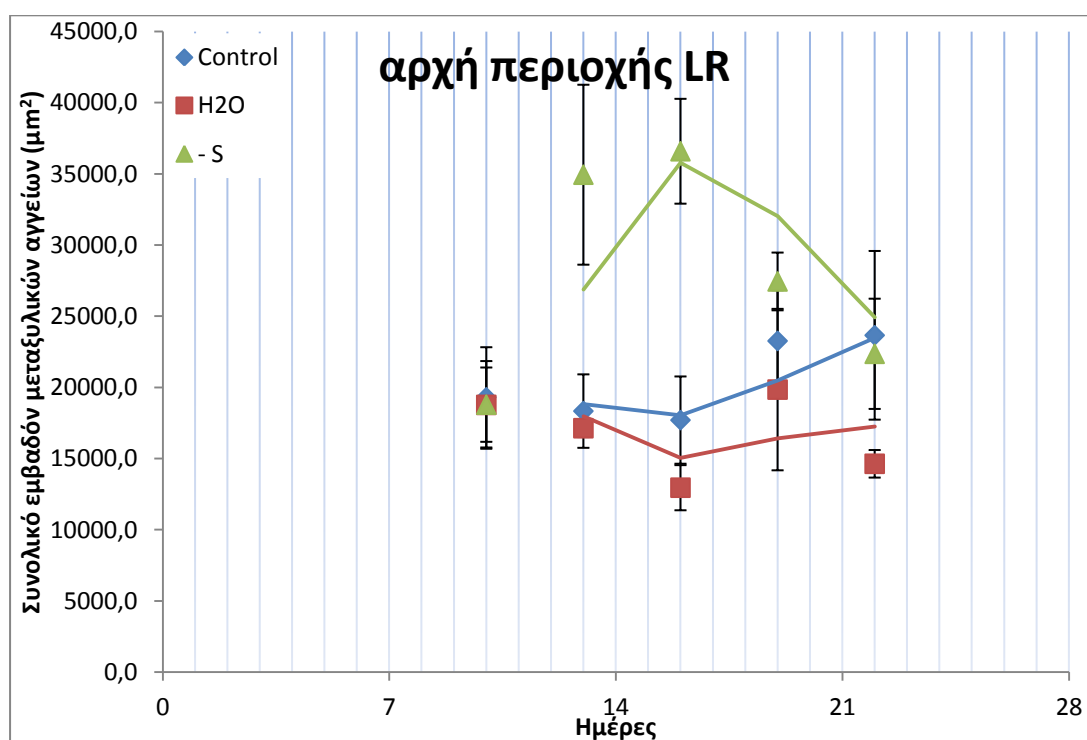
H₂O: Το συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων στις συγκεκριμένες ρίζες, παρουσιάζουν διακυμάνσεις. Η μέγιστη τιμή σημειώνεται την 13^η ημέρα ($20661,4 \mu\text{m}^2$) και η ελάχιστη την 22^η ($8499,3 \mu\text{m}^2$) με μια συνεχόμενη τάση μείωσης. Σε σχέση με τις αντίστοιχες ρίζες που αναπτύσσονται σε Control, οι τιμές υπερτερούν την 13^η ημέρα κατά 14,8% και υστερούν από την 19^η έως το τέλος του πειράματος με ποσοστά που κυμαίνονται από 38,5% έως 73,9%.

-S: Στο διάλυμα αυτό, οι τιμές του συνολικού εμβαδού των μεταξυλικών αγγείων αυξάνονται έως την 19^η ημέρα, για να μειωθούν στη συνέχεια έως την 22^η. Οι τιμές κυμαίνονται από $18349,3 \mu\text{m}^2$ (10^η ημέρα) έως $36281,4 \mu\text{m}^2$ (19^η ημέρα). Συγκριτικά με τιμές του Control, υπερτερούν κατά το διάστημα 13^η – 19^η ημέρα με ποσοστά της τάξης 54,1% - 73,1%.

Πίνακας 3.2.4.2.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής του συνολικού εμβαδού των μεταξυλικών αγγείων της αρχής της περιοχής ELR των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	14,8%	54,1%
16 ^η ημέρα	—	73,1%
19 ^η ημέρα	-38,5%	68,0%
22 ^η ημέρα	-73,9%	—

3.2.4.3 Αρχή περιοχής LR



Διάγραμμα 3.2.4.3.1 Το συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων (μm²) της αρχής της περιοχής LR των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στο συγκεκριμένο διάλυμα, παρατηρείται μια μείωση του συνολικού εμβαδού μέχρι την 16^η ημέρα, όπου και η ελάχιστη τιμή (17713,4 μm²) και στη συνέχεια μια αύξηση έως το τέλος του πειράματος, όπου έχουμε και την μέγιστη τιμή (23668,3 μm²).

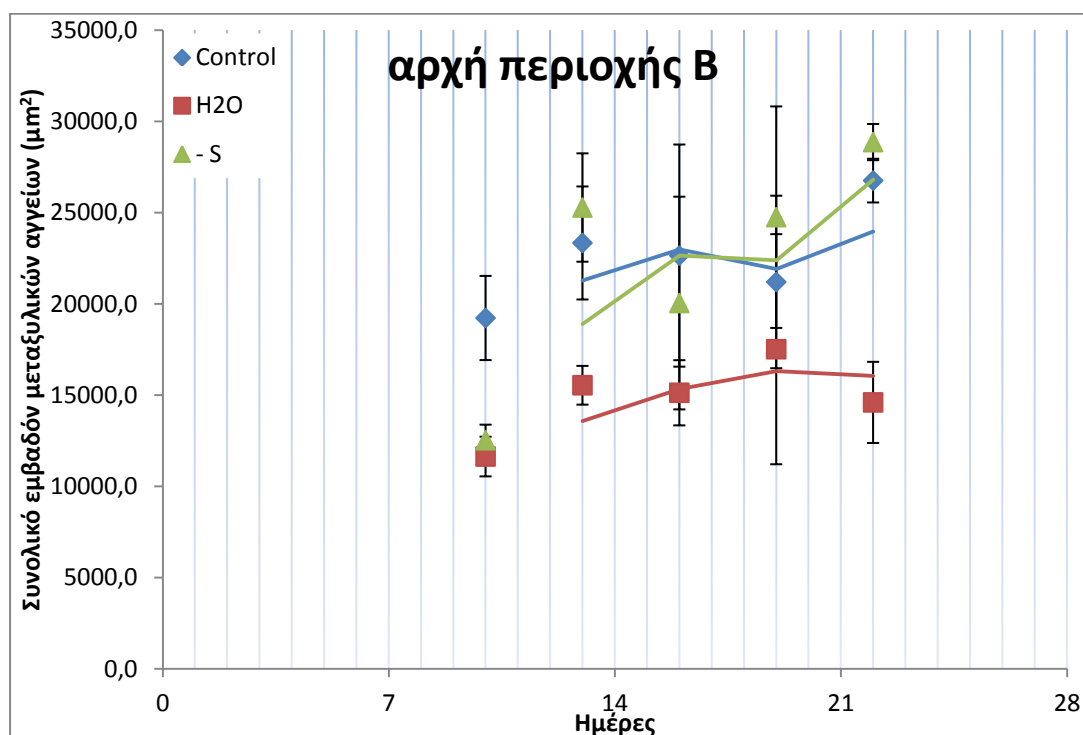
H₂O: Σε αυτή την περίπτωση, οι τιμές μειώνονται μέχρι την 16^η ημέρα, όπου παρατηρείται ελάχιστο (12964,3 μm²), για να αυξηθούν έως την 19^η, όπου σημειώνεται μέγιστο (19856 μm²) και να μειωθούν ξανά μέχρι το τέλος του πειράματος. Συγκριτικά με το Control, οι τιμές υστερούν την 16^η και την 22^η ημέρα με ποσοστά 26,8% και 38,1% αντίστοιχα.

-S: Στο συγκεκριμένο διάλυμα έχουμε μια ραγδαία αύξηση μέχρι την 13^η ημέρα, η οποία συνεχίζει έως και την 16^η, για να πάρει την μέγιστη τιμή (36595,4 μm^2). Από εκεί και έπειτα, το συνολικό εμβαδόν μειώνεται επίσης ραγδαία μέχρι το τέλος του πειράματος. Ελάχιστη τιμή παρατηρείται την 10^η ημέρα (18797,3 μm^2). Σε σχέση πάντα με το Control, για το διάστημα 13^η – 19^η ημέρα, οι τιμές υπερτερούν σε ποσοστά που κυμαίνονται από 18% έως 106,6%.

Πίνακας 3.2.4.3.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής του συνολικού εμβαδού των μεταξυλικών αγγείων της αρχής της περιοχής LR των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	—	—
13 ^η ημέρα	—	90,5%
16 ^η ημέρα	-26,8%	106,6%
19 ^η ημέρα	—	18,0%
22 ^η ημέρα	-38,1%	—

3.2.4.4 Αρχή περιοχής B



Διάγραμμα 3.2.4.4.1 Το συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων (μm^2) της αρχής της περιοχής B των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου που αναπτύσσονται σε πλήρες (Control) ή ελλειμματικό σε θειικά (-S) θρεπτικό διάλυμα ή σε νερό (H₂O)

Control: Στην περιοχή αυτή της ρίζας και για το εν λόγω διάλυμα, οι τιμές του συνολικού εμβαδού των μεταξυλικών αγγείων παρουσιάζουν μια αύξηση έως την 13^η

ημέρα, για να μειωθούν μέχρι την 19^η και να αυξηθούν ξανά ως το τέλος του πειράματος, όπου έχουμε μέγιστο (26747,4 μm^2). Ελάχιστο παρατηρούμε την 10^η ημέρα (19218,9 μm^2).

H₂O: Στην συγκεκριμένη περίπτωση, οι τιμές παρουσιάζουν διακυμάνσεις, με ελάχιστο την 10^η ημέρα (11625,8 μm^2) και μέγιστο την 19^η (17508,2 μm^2). Όσον αφορά τη σχέση με το Control και αν εξαιρέσουμε την 19^η ημέρα, οι τιμές παρουσιάζουν μια συνεχόμενη υστέρηση που κυμαίνεται από 33,2% έως 45,4%.

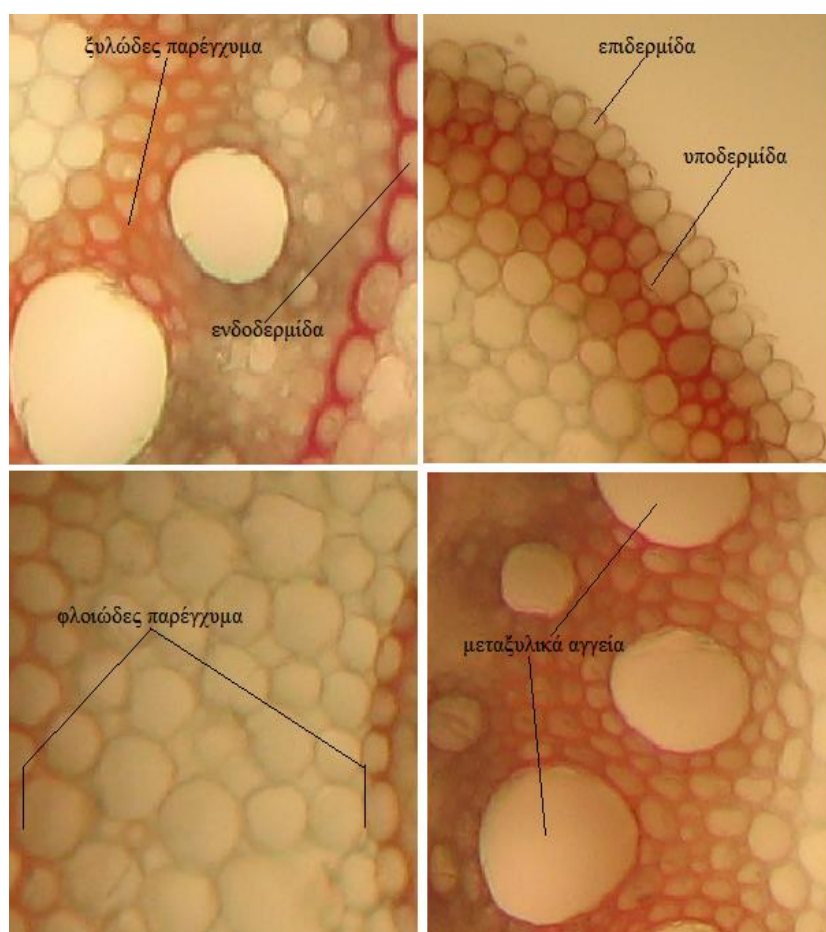
-S: Τέλος, σε αυτή την περίπτωση, οι τιμές του συνολικού εμβαδού αυξάνονται απότομα μέχρι την 13^η ημέρα, για να μειωθούν έως την 16^η και να αυξηθούν ξανά μέχρι το τέλος του πειράματος. Παρατηρείται ελάχιστο την 10^η ημέρα (12517 μm^2) και μέγιστο την 22^η (28858,2 μm^2). Συγκριτικά με τις τιμές στο Control, παρουσιάζονται μειωμένες την 10^η ημέρα κατά 34,9% και αυξημένες στο τέλος του πειράματος κατά 7,9%.

Πίνακας 3.2.4.4.1 Οι πιθανότητες να διαφέρουν τα εύρη μεταβολής του συνολικού εμβαδού των μεταξυλικών αγγείων της αρχής της περιοχής Β των βλαστογενών ριζών σύμφωνα με τη δοκιμασία t-test (two-tailed) μεταξύ των μεταχειρίσεων Control, H₂O και -S για κάθε ημέρα δειγματοληψίας, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Όπου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, έχει υπολογισθεί η % μεταβολή ως προς το Control

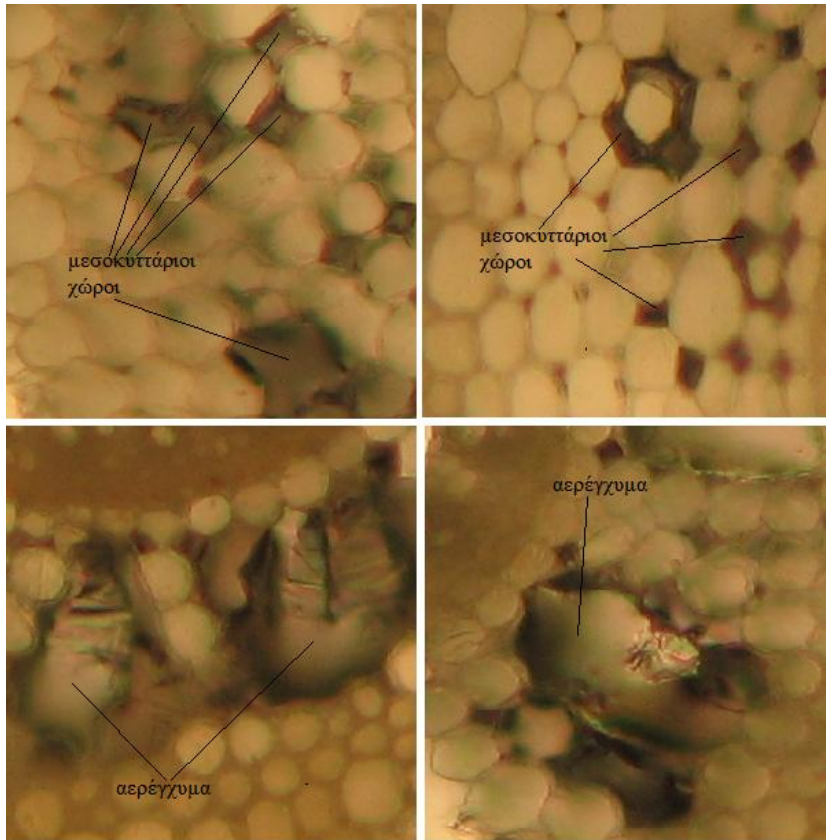
	H ₂ O/Control (t-test)	-S /Control (t-test)
7 ^η ημέρα	—	—
10 ^η ημέρα	-39,5%	-34,9%
13 ^η ημέρα	-33,4%	—
16 ^η ημέρα	-33,2%	—
19 ^η ημέρα	—	—
22 ^η ημέρα	-45,4%	7,9%

3.3 Παρατηρήσεις χρώσεων τομών

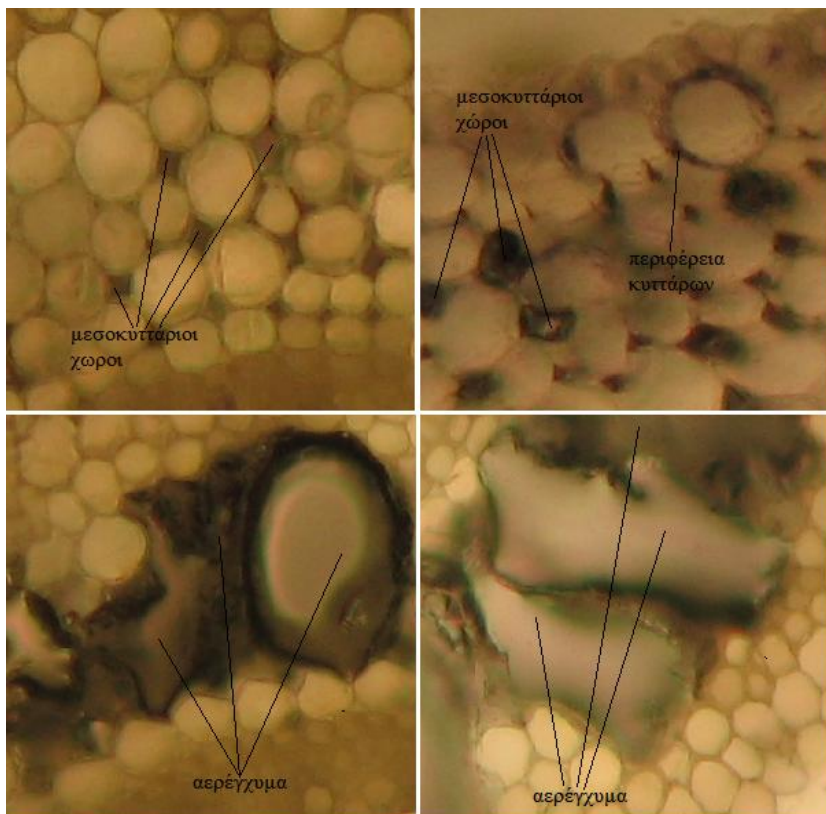
Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται οι παρατηρήσεις των χρώσεων εγκάρσιων τομών σε διάφορα τμήματα της ρίζας (A, ELR, LR, B). Συγκεκριμένα μελετούμε τη χρώση για τον εντοπισμό λιγνινών με τη μέθοδο Wiesner, τον εντοπισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) με τη χρήση KI/starch και τον εντοπισμό σουπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-) με τη χρήση nitroblue tetrazilium (εικόνες 3.3.1 – 3.3.3)



Εικόνα 3.3.1 Τομές της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσιτου, επώαση σε διάλυμα φλωρογλυκινόλης και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό των λιγνινών.



Εικόνα 3.3.2 Τομές της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσιτου, επώαση σε διάλυμα KI και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2).



Εικόνα 3.3.3 Τομές της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσιτου, επώαση σε διάλυμα nitroblue tetrazolium (NBT) και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό σουπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-).

3.3.1 Εντοπισμός λιγνινών

3.3.1.1 Μέσο περιοχής A

Στην περιοχή αυτή δεν παρατηρείται καθόλου χρωματισμός στις τομές των ριζών που αναπτύσσονται σε Control και σε διάλυμα με έλλειψη S, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Αντίθετα στις τομές των ριζών που αναπτύσσονται σε νερό παρατηρείται ένας ελαφρύς χρωματισμός από την 16^η ημέρα έως το τέλος του πειράματος. Συγκεκριμένα ο χρωματισμός αυτός εντοπίζεται στα κύτταρα της επιδερμίδας, της υποδερμίδας και της ενδοδερμίδας, καθώς επίσης και στα πρωτοξυλικά αγγεία.

3.3.1.2 Αρχή περιοχής ELR

Σε αυτό το σημείο της ρίζας, οι τομές των ριζών που αναπτύσσονται στο Control δεν χρωματίζονται καθόλου. Όσον αφορά τις τομές των ριζών που αναπτύσσονται στο νερό, έχουμε χρωματισμό στην επιδερμίδα, στην υποδερμίδα, στην ενδοδερμίδα και στα πρωτοξυλικά αγγεία σε όλη τη διάρκεια του πειράματος. Επιπρόσθετα την 10^η ημέρα έχουμε χρώση στα μεταξυλικά αγγεία και σε κύτταρα του ξυλώδους παρεγχύματος. Τέλος, στο – S, χρωματισμός στις τομές παρατηρείται καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Εντοπίζεται την 10^η και την 13^η ημέρα στην επιδερμίδα και στα πρωτοξυλικά αγγεία, την 16^η ημέρα εντοπίζεται επιπρόσθετα στην υποδερμίδα και στην ενδοδερμίδα και από την 19^η ημέρα έως το τέλος του πειράματος εντοπίζεται και στα μεταξυλικά αγγεία, καθώς και στο ξυλώδες παρέγχυμα. Αξίζει να σημειωθεί ότι, όπως και στην περίπτωση της περιοχής A, έτσι κι εδώ, οι περιοχές που προαναφέρθηκαν χρωματίζονται ελαφρώς.

3.3.1.3 Αρχή περιοχής LR

Στην περίπτωση αυτή, οι τομές που προέρχονται από το Control χρωματίζονται ελαφρώς όλες τις ημέρες στα κύτταρα της επιδερμίδας, της υποδερμίδας, της ενδοδερμίδας, στα πρωτοξυλικά αγγεία, στα μεταξυλικά αγγεία και στα κύτταρα του ξυλώδους παρεγχύματος. Την 16^η ημέρα η χρώση είναι λίγο εντονότερη. Για τις τομές των ριζών του νερού έχουμε πιο έντονο χρωματισμό για όλες τις ημέρες και εντοπίζονται στα ίδια σημεία όπως και στις ρίζες που αναπτύσσονται στο Control διάλυμα. Όσον αφορά τις ρίζες στο – S, χρώση έχουμε όλες τις ημέρες και στα ίδια σημεία όπως και στα δυο προηγούμενα υγρά υποστρώματα ανάπτυξης. Και στην περίπτωση αυτή, όπως και στο Control διάλυμα, ο χρωματισμός είναι σχετικά ελαφρύς.

3.3.1.4 Αρχή περιοχής B

Στην περιοχή αυτή της ρίζας ο χρωματισμός των τομών των ριζών και των τριών μεταχειρίσεων έχει γίνει πλέον πολύ έντονος και παρατηρείται όλες τις ημέρες. Συγκεκριμένα χρωματίζονται η επιδερμίδα, η υποδερμίδα, η ενδοδερμίδα, τα πρωτοξυλικά αγγεία, τα μεταξυλικά αγγεία και τα κύτταρα του ξυλώδους παρεγχύματος, τόσο στις τομές των ριζών που αναπτύσσονται στο Control, όσο και στις τομές που αναπτύσσονται στα άλλα δυο υγρά υποστρώματα ανάπτυξης.

3.3.2 Εντοπισμός υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂)

3.3.2.1 Μέσο περιοχής A

Στην περιοχή αυτή, τόσο οι τομές των ριζών που αναπτύσσονται στο Control, όσο και οι τομές των ριζών στο – S, χρωματίζονται σε τυχαίους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος, σχηματίζοντας μαύρους – μπλε ρομβοειδείς περιοχές ανάμεσα από τα κύτταρα. Όσον αφορά τις ρίζες που αναπτύσσονται στο νερό, δεν χρωματίζονται οι τομές από την 10^η έως την 13^η ημέρα, την 7^η και την 16^η ημέρα έχουμε χρώση όπου υπάρχει αερέγχυμα στο φλοιώδες παρέγχυμα και την 19^η και 22^η ημέρα στους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος, όπως και στο Control και στο – S.

3.3.2.2 Αρχή περιοχής ELR

Στην περίπτωση αυτή συνεχίζουμε να έχουμε παρόμοιους χρωματισμούς. Στο Control ο χρωματισμός εντοπίζεται στους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος σε όλη τη διάρκεια του πειράματος. Στο νερό, όπως και στην προηγούμενη περίπτωση ο χρωματισμός εμφανίζεται από την 16^η ημέρα και μετά, με τη μόνη διαφορά ότι σε όλες τις ημέρες εντοπίζεται στις περιοχές όπου έχουμε αερέγχυμα στο φλοιώδες παρέγχυμα. Τέλος στο – S, έχουμε ότι και στο Control με τις μόνες διαφορές ότι την 19^η ημέρα δεν παρατηρείται χρώση και η ένταση του χρωματισμού είναι πιο ήπια.

3.3.2.3 Αρχή περιοχής LR

Εδώ, όπως και στις δυο προηγούμενες περιπτώσεις, ο χρωματισμός συνεχίζει να υφίσταται στους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος στις τομές που προέρχονται από ρίζες του Control. Η ένταση είναι παρόμοια. Στο νερό, χρωματίζονται οι τομές σε όλες πλέον τις ημέρες στις περιοχές του φλοιώδους παρεγχύματος που σχηματίζεται αερέγχυμα, με κάπως πιο αυξημένη ένταση και μόνο την 16^η ημέρα εντοπίζεται σε μεσοκυττάριους χώρους. Επίσης και στο – S έχουμε ότι και στην προηγούμενη περιοχή της ρίζας με τη διαφορά ότι από την 22^η ημέρα παρατηρούμε χρώση και σε μεσοκυττάριους χώρους, αλλά και σε περιοχές του φλοιώδους παρεγχύματος με αερέγχυμα.

3.3.2.4 Αρχή περιοχής B

Στην περιοχή αυτή της ρίζας, η χρώση των τομών των ριζών στο Control συνεχίζει να εντοπίζεται στους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος, για όλες τις ημέρες. Στις τομές των ριζών του νερού, χρωματίζονται οι περιοχές του φλοιώδους παρεγχύματος που σχηματίζουν αερέγχυμα. Τέλος, οι τομές των ριζών που αναπτύσσονται στο – S, χρωματίζονται σε μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος.

3.3.3 Εντοπισμός σουπεροξειδικού ανιόντος (O₂⁻)

3.3.3.1 Μέσο περιοχής A

Στην περιοχή αυτή της ρίζας, οι τομές που προέρχονται από ρίζες του Control, χρωματίζονται για όλες τις μέρες σε τυχαίους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος, με τον ίδιο τρόπο όπως και στην περίπτωση του χρωματισμού με τη χρήση KI, για τον εντοπισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου. Εξαίρεση αποτελεί η 10^η ημέρα, στην οποία έχουμε χρωματισμό επιπλέον της επιδερμίδας και της ενδοδερμίδας καθώς επίσης και της περιφέρειας ολόκληρων κυττάρων αυτών των περιοχών. Παράλληλα την ίδια συμπεριφορά παρατηρούμε και στις τομές των ριζών που αναπτύσσονται στα άλλα δύο υγρά υποστρώματα ανάπτυξης, με μόνη διαφορά την 7^η, την 16^η και την 22^η ημέρα στην περίπτωση του νερού, όπου χρωματίζονται περιοχές του φλοιώδους παρεγχύματος με αερέγχυμα, καθώς επίσης και την 19^η που χρωματίζεται η περιφέρεια ολόκληρων κυττάρων.

3.3.3.2 Αρχή περιοχής ELR

Στην περίπτωση αυτή, οι τομές των ριζών του Control, χρωματίζουν σε τυχαίους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος, εκτός από την 13^η και την 19^η ημέρα, όπου δεν παρατηρείται χρώση. Στις δε τομές που προέρχονται από ρίζες που αναπτύσσονται στο νερό, χρώση έχουμε στις περιοχές του φλοιώδους παρεγχύματος που υπάρχει αερέγχυμα, με εξαίρεση την 10^η ημέρα, όπου χρωματίζονται τυχαίοι μεσοκυττάριοι χώροι στο φλοιώδες παρέγχυμα. Τέλος στο – S, οι τομές των ριζών χρωματίζονται όλες τις ημέρες, εκτός από την 22^η ημέρα, σε τυχαίους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος.

3.3.3.3 Αρχή περιοχής LR

Στην περιοχή αυτή της ρίζας, οι τομές που προέρχονται από το Control, χρωματίζονται όπως ακριβώς οι τομές της A περιοχής. Όσον αφορά τις ρίζες που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, εκτός από την 10^η ημέρα, όπου παρατηρείται χρώση σε τυχαίους μεσοκυττάριους χώρους και στην περιφέρεια κυττάρων, όλες τις υπόλοιπες ημέρες έχουμε χρώση σε περιοχές του φλοιώδους παρεγχύματος με αερέγχυμα. Τέλος στο – S διάλυμα εντοπίζεται χρώση σε μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος για όλες τις ημέρες και για την 22^η και σε αερέγχυμα.

3.3.3.4 Αρχή περιοχής B

Στην περίπτωση αυτή και στα τρία υποστρώματα ανάπτυξης, για όλες τις μέρες, οι τομές των ριζών χρωματίζονται σε τυχαίους μεσοκυττάριους χώρους του φλοιώδους παρεγχύματος. Με εξαίρεση την 10^η ημέρα τόσο στο Control, όσο και στο νερό, όπου χρωματίζονται και κύτταρα του φλοιώδους παρεγχύματος περιφερειακά.

Συνοψίζοντας όλα τα προηγούμενα της ενότητας 3.3 προκύπτουν συγκεντρωτικά οι παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 3.3.1 Απεικόνιση σε μορφή πίνακα των περιοχών που εμφανίζουν χρώση με την τεχνική Wiesner των βλαστογενών ριζών καλαμποκιού που αναπτύσσονται σε Control διάλυμα

	A	ELR	LR	B
10ⁿ	—	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ, ΕΝΔ, ΞΥΛ ΠΑΡ
13ⁿ	—	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ, ΕΝΔ, ΞΥΛ ΠΑΡ
16ⁿ	—	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ, ΕΝΔ, ΞΥΛ ΠΑΡ
19ⁿ	—	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ, ΕΝΔ, ΞΥΛ ΠΑΡ
22ⁿ	—	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ, ΕΝΔ, ΞΥΛ ΠΑΡ

Πίνακας 3.3.2 Απεικόνιση σε μορφή πίνακα των περιοχών που εμφανίζουν χρώση με την τεχνική Wiesner των βλαστογενών ριζών καλαμποκιού που αναπτύσσονται σε H₂O

	A	ELR	LR	B
7ⁿ	—	—	—	—
10ⁿ	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ
13ⁿ	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ
16ⁿ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ
19ⁿ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ
22ⁿ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ

Πίνακας 3.3.3 Απεικόνιση σε μορφή πίνακα των περιοχών που εμφανίζουν χρώση με την τεχνική Wiesner των βλαστογενών ριζών καλαμποκιού που αναπτύσσονται σε – S διάλυμα

	A	ELR	LR	B
10ⁿ	—	ΕΠ ΠΑ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ
13ⁿ	—	ΕΠ ΠΑ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ
16ⁿ	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ
19ⁿ	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ
22ⁿ	—	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ	ΕΠ, ΥΠ ΕΝΔ, ΠΑ, ΜΑ, ΞΠ

*ΕΠ: επιδερμίδα, ΥΠ: υποδερμίδα, ΕΝΔ: ενδοδερμίδα, ΜΑ: μεταξυλικά αγγεία,
ΠΑ: πρωτοξυλικά αγγεία, ΞΠ: ξυλώδες παρέγχυμα

Πίνακας 3.3.4 Απεικόνιση σε μορφή πίνακα των περιοχών που εμφανίζουν χρώση με την τεχνική ΚΙ των βλαστογενών ριζών καλαμποκιού που αναπτύσσονται σε Control διάλυμα

	A	ELR	LR	B
10^η	(MX)	MX	MX	MX
13^η	MX	MX	MX	MX
16^η	MX	MX	MX	MX
19^η	MX	MX	MX	MX
22^η	(MX)	MX	(MX)	MX

Πίνακας 3.3.5 Απεικόνιση σε μορφή πίνακα των περιοχών που εμφανίζουν χρώση με την τεχνική ΚΙ των βλαστογενών ριζών καλαμποκιού που αναπτύσσονται σε H₂O

	A	ELR	LR	B
7^η	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	—	—	—
10^η	—	—	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ
13^η	—	—	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ
16^η	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	(MX)	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ
19^η	MX	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ
22^η	(MX)	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ

Πίνακας 3.3.6 Απεικόνιση σε μορφή πίνακα των περιοχών που εμφανίζουν χρώση με την τεχνική ΚΙ των βλαστογενών ριζών καλαμποκιού που αναπτύσσονται σε – S διάλυμα

	A	ELR	LR	B
10^η	MX	(MX)	MX	MX
13^η	(MX)	MX	MX	MX
16^η	MX	(MX)	(MX)	(MX)
19^η	MX	—	(MX)	(MX)
22^η	(MX)	MX	MX ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	MX

*Για τους πίνακες 3.3.4 – 3.3.6 όλα εντοπίζονται στο φλοιώδες παρέγχυμα.

**MX : Μεσοκυττάρια Χώροι

***Σε παρένθεση αναγράφονται οι περιοχές όπου εντοπίζονται σποραδικά ή σε μικρή έκταση O₂⁻

Πίνακας 3.3.7 Απεικόνιση σε μορφή πίνακα των περιοχών που εμφανίζουν χρώση με την τεχνική NBT των βλαστογενών ριζών καλαμποκιού που αναπτύσσονται σε Control διάλυμα

	A	ELR	LR	B
10ⁿ	ΜΧ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	ΜΧ	ΜΧ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	ΜΧ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ
13ⁿ	ΜΧ	—	(ΜΧ)	ΜΧ
16ⁿ	ΜΧ	ΜΧ	ΜΧ	ΜΧ
19ⁿ	(ΜΧ)	—	(ΜΧ)	(ΜΧ)
22ⁿ	ΜΧ	ΜΧ	(ΜΧ)	ΜΧ

Πίνακας 3.3.8 Απεικόνιση σε μορφή πίνακα των περιοχών που εμφανίζουν χρώση με την τεχνική NBT των βλαστογενών ριζών καλαμποκιού που αναπτύσσονται σε H₂O

	A	ELR	LR	B
7ⁿ	ΜΧ ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	—	—	—
10ⁿ	ΜΧ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	(ΜΧ)	(ΜΧ) (ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ)	ΜΧ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ
13ⁿ	ΜΧ	(ΜΧ) ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΜΧ
16ⁿ	ΜΧ ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΜΧ
19ⁿ	(ΜΧ) ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΜΧ
22ⁿ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΜΧ

Πίνακας 3.3.9 Απεικόνιση σε μορφή πίνακα των περιοχών που εμφανίζουν χρώση με την τεχνική NBT των βλαστογενών ριζών καλαμποκιού που αναπτύσσονται σε – S διάλυμα

	A	ELR	LR	B
10ⁿ	ΜΧ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	ΜΧ	ΜΧ	ΜΧ
13ⁿ	(ΜΧ)	ΜΧ	ΜΧ	ΜΧ
16ⁿ	ΜΧ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	ΜΧ	ΜΧ	ΜΧ
19ⁿ	(ΜΧ)	(ΜΧ)	ΜΧ	ΜΧ
22ⁿ	ΜΧ	—	ΜΧ ΑΕΡΕΓΧΥΜΑ	ΜΧ

*Για τους πίνακες 3.3.7 – 3.3.9 όλα εντοπίζονται στο φλοιώδες παρέγχυμα εκτός από τις Α περιοχές την 10ⁿ ημέρα, όπου παρατηρούνται και στην επιδερμίδα και στην ενδοδερμίδα.

** ΜΧ : Μεσοκυττάριοι Χώροι

***Σε παρένθεση αναγράφονται οι περιοχές όπου εντοπίζονται σποραδικά ή σε μικρή έκταση H₂O₂

4. Συζήτηση

4.1 Μορφομετρικά στοιχεία

Από τα αποτελέσματα παρατηρούμε σημαντικά πράγματα όσον αφορά τα μορφομετρικά στοιχεία. Συγκεκριμένα, βλέπουμε ότι το μήκος της ρίζας, μέχρι την 13^η ημέρα, στο ελλειμματικό σε S διάλυμα είναι μεγαλύτερο έναντι των άλλων δυο υγρών υποστρωμάτων ανάπτυξης. Από την 16^η ημέρα έως το τέλος του πειράματος υπερέχουν σε μήκος οι ρίζες που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα. Όσον αφορά για τις ρίζες που αναπτύσσονται μόνο σε απιονισμένο νερό, μέχρι και την 13^η ημέρα, αναπτύσσονται με σχετικά παρόμοιους ρυθμούς, όπως αυτές στα πλήρες και -S θρεπτικά διαλύματα, πράγμα που φανερώνει ότι για τις δυο πρώτες εβδομάδες του πειράματος ο σπόρος τροφοδοτεί ανεπηρέαστα το φυτό με θρεπτικά στοιχεία. (Πιτσιλαδής 2009)

Κάτι αντίστοιχο συμβαίνει και με την απόσταση του ELR από το ακρορρίζιο, όπου έχει μεγαλύτερη τιμή στο -S θρεπτικό διάλυμα για τις πρώτες 13 ημέρες του πειράματος και στη συνέχεια να υπερτερεί το πλήρες θρεπτικό διάλυμα. Στις ρίζες που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, όπως και πριν, έτσι και τώρα, για τις 2 πρώτες εβδομάδες συμβαδίζει με τις ρίζες των άλλων δυο υγρών υποστρωμάτων ανάπτυξης. Με άλλα λόγια για τις δυο πρώτες εβδομάδες, οι πρώτες πλάγιες ρίζες εμφανίζονται πιο μακριά από το ακρορρίζιο στα φυτά που αναπτύσσονται σε -S διάλυμα, ενώ για το υπόλοιπο χρονικό διάστημα του πειράματος, πιο μακριά από το ακρορρίζιο εμφανίζονται οι πρώτες πλάγιες ρίζες σε φυτά που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα. Αυτό δείχνει ότι το φυτό, κάτω από θρεπτική καταπόνηση, προσπαθεί να αυξήσει τον ριζικό του όγκο, κυρίως εκείνον που είναι υπεύθυνος για την απορρόφηση νερού (πλάγιες ρίζες), οπότε και αρχίζει η έκπτυξη των πλάγιων ριζών πιο κοντά στο ακρορρίζιο στα φυτά τα οποία δεν αναπτύσσονται σε πλήρη θρεπτικά υδάτινα υποστρώματα.

Πραγματοποιώντας τις μετρήσεις στις τομές των ριζών, παρατηρούμε εξίσου σημαντικά στοιχεία. Καταρχάς, μελετώντας τη διάμετρο της ρίζας, βλέπουμε ότι στα φυτά που αναπτύσσονται σε - S θρεπτικό διάλυμα, από την 13^η ημέρα και μετά κυρίως, έχουμε σημαντικά αυξημένη τη διάμετρο, σε σχέση πάντα με τις ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα. Κάτι αντίστοιχο συμβαίνει και στη διάμετρο του κεντρικού κυλίνδρου. Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι παρατηρείται μια μικρή διόγκωση στο ακρορρίζιο στα φυτά που αναπτύσσονται σε συνθήκες έλλειψης S, ιδιαίτερα τις τελευταίες μέρες του πειράματος. Εξετάζοντας τόσο τον αριθμό των μεταξυλικών αγγείων, όσο και το συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων, συμπεραίνουμε ότι και αυτά ακολουθούν το ίδιο μοτίβο. Δηλαδή την τελευταία κυρίως εβδομάδα του πειράματος, όπου και το στρες για τα φυτά λόγω έλλειψης θρεπτικών ουσιών είναι εντονότερο, παρατηρείται μια αύξηση των δυο παραπάνω στοιχείων στα φυτά που αναπτύσσονται σε συνθήκες έλλειψης S. Αυτό το γεγονός ίσως να συμβαίνει λόγω της τάσης για αύξηση του ριζικού συστήματος στα φυτά αυτά, με την ταχύτερη έκπτυξη των πλάγιων ριζών και άρα και πιθανόν της μεγαλύτερης απορρόφησης νερού. Όσον αφορά τις ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, για όσο διαρκούν τα αποθέματα του σπόρου (μέχρι την 13^η ημέρα περίπου) συμβαδίζουν σχετικά με τις ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται

στα άλλα δυο υγρά υποστρώματα ανάπτυξης. Στη συνέχεια όμως παρατηρούμε σημαντική υστέρηση κυρίως στο συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων.

4.2 *In situ* στοιχεία

Το πειραματικό μας σύστημα είναι αυτό της υδροπονικής καλλιέργειας. Το υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών είναι υγρό άρα οι λόγοι της λιγνινοποίησης με την έννοια της απόκτησης μηχανικής αντοχής ελαχιστοποιούνται ή εκλείπουν. Εφόσον λοιπόν υπάρχει λιγνινοποίηση είναι προφανές ότι αυτή οφείλεται στην απόδοση αδιαβροχοποίησης και στήριξη στο συγκεκριμένο σύστημα και την προστασία από την προσβολή παθογόνων μικροοργανισμών που μπορεί να υπάρχουν στο θρεπτικό διάλυμα διότι αυτό δεν είναι αποστειρωμένο. Κατά συνέπεια αν η τροφοπενία πράγματι επιδρά στον μηχανισμό της λιγνινοποίησης αυτό θα φαίνεται ξεκάθαρα διότι εκλείπει με την υδροπονική καλλιέργεια ο παράγοντας «εδαφικά σωματίδια», τα οποία εντείνουν τη λιγνινοποίηση.

Εξετάζοντας λοιπόν τα αποτελέσματα των χρώσεων, πρώτα απ' όλα βλέπουμε ότι και στα τρία υγρά υποστρώματα ανάπτυξης, στα παλαιότερα τμήματα της ρίζας (LR, B), έχουμε έντονη την παρουσία της λιγνίνης, τόσο εξωτερικά (επιδερμίδα, υποδερμίδα), όσο και εσωτερικά (ενδοδερμίδα, πρωτοξυλικά αγγεία, μεταξυλικά αγγεία, ξυλώδες παρέγχυμα) και για όλες τις μέρες του πειράματος (10^{n} – 22^{n}). Αυτό προφανώς οφείλεται στο γεγονός ότι λιγνίνη εναποτίθεται μόνο σε εξειδικευμένα κύτταρα και ιστούς, των οποίων η ανάπτυξη έχει σταματήσει και εμπλέκονται σε μηχανική υποστήριξη (π.χ. σκληρόγχυμα), μεταφορά χυμού (π.χ. ξύλο), προστασία και άμυνα (π.χ. περίδερμα) (Boudet 1998). Όσον αφορά τα νεότερα τμήματα της ρίζας (A, ELR), αυτά παρουσιάζουν διάφορες διακυμάνσεις. Έτσι, στις ρίζες που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα, δεν έχουμε ένδειξη παρουσίας λιγνίνης. Για τα φυτά που αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S διάλυμα, στην περιοχή A λιγνίνη δεν εντοπίζεται, ενώ στην περιοχή ELR, έχουμε ένδειξη από την 16^{n} ημέρα και μετά, πρώτα στην ενδοδερμίδα και μετά στο ξυλώδες παρέγχυμα και την επιδερμίδα. Τέλος για τα φυτά που αναπτύσσονται στο απιονισμένο νερό, λιγνίνη εντοπίζεται σε όλες τις ημέρες και για όλες τις περιοχές της ρίζας, με εξαίρεση την περιοχή A την 10^{n} και 13^{n} ημέρα. Πρέπει δε να τονίσουμε ότι στην περιοχή A οι ενδείξεις εντοπίζονται στην επιδερμίδα και την ενδοδερμίδα, ενώ στην περιοχή ELR, οι ενδείξεις γίνονται εντονότερες και εντοπίζονται και στην υποδερμίδα.

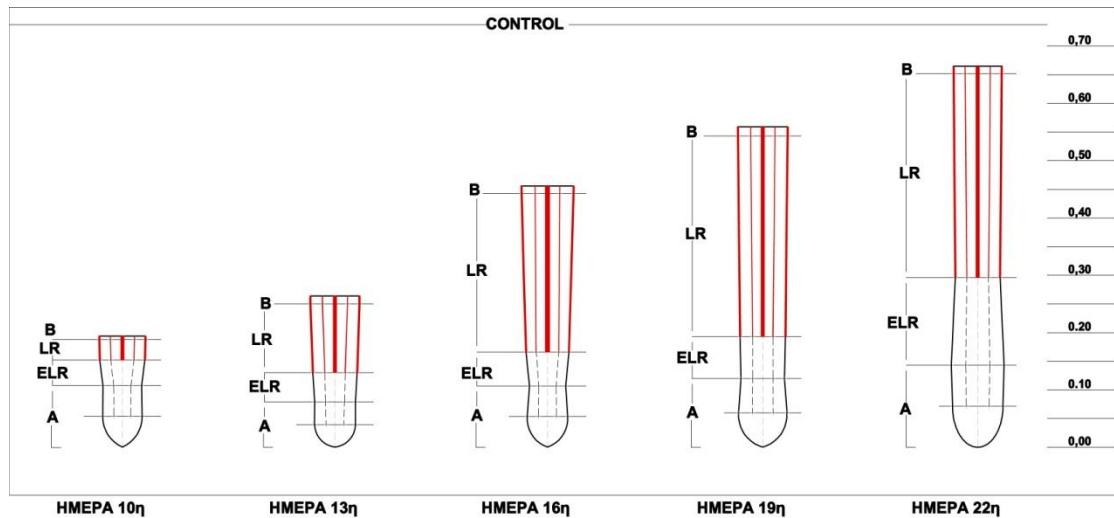
Οι ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) συμμετέχουν στις διαδικασίες αύξησης και έχουν παρουσία σε όλα τα τμήματα της ρίζας (Dat et al. 2000, Van Breusegem et al. 2001, Shigeoka et al. 2002). Παρατηρώντας τις τομές των διαφόρων τμημάτων των ριζών και από τα τρία υγρά υποστρώματα ανάπτυξης, συμπεραίνουμε ότι τόσο το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), όσο και το σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-), εντοπίζονται όλες τις ημέρες του πειράματος, σε όλες σχεδόν τις περιοχές της ρίζας. Εντοπίζονται κυρίως σε τυχαίους μεσοκυττάριους χώρους, ως επί το πλείστον στην περιοχή του φλοιώδους παρεγχύματος. Σε περιπτώσεις όπου έχουμε σχηματισμό αερεγχύματος, κυρίως στις ρίζες που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, έχουμε κι εκεί έντονη παρουσία των ενεργών αυτών μορφών οξυγόνου. Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι στα φυτά που αναπτύσσονται σε πλήρες και σε $-S$ διάλυμα, τα ROS εμφανίζονται εντονότερα.

4.3 Συγκριτική απεικόνιση όλων των παραπάνω δεδομένων

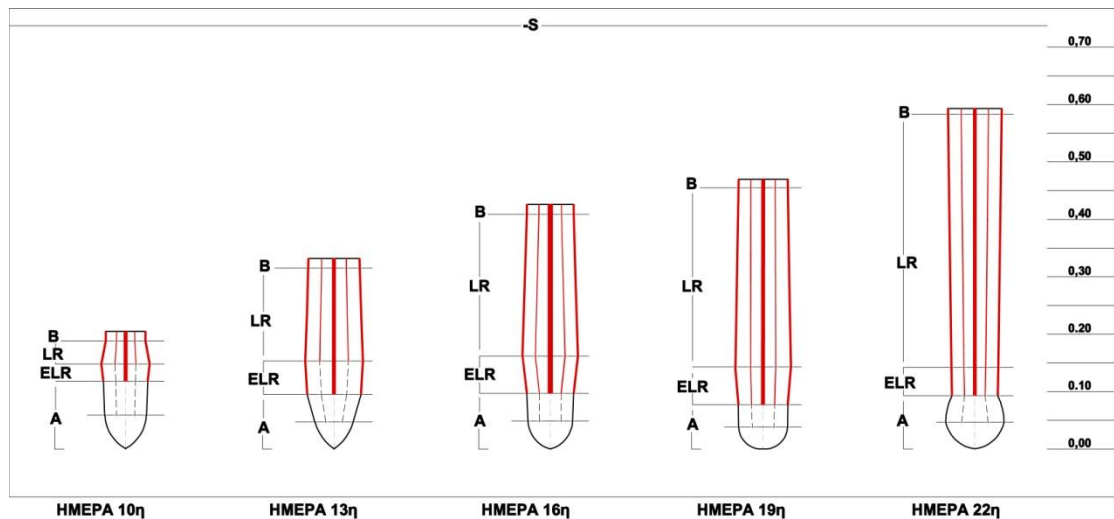
Εάν απεικονίσουμε τις μορφομετρικές μεταβολές των δευτερογενών ριζών και στις τρεις μεταχειρίσεις σε συνδυασμό με την κατανομή των λιγνινών, προκύπτουν οι παρακάτω εικόνες (4.3.1 – 4.3.3). Οι εικόνες αυτές έχουν σχεδιαστεί υπό κλίμακα, ώστε να φαίνονται οι σχετικές μεταβολές τόσο του μήκους όσο και της διαμέτρου της ρίζας.

Μελετώντας αυτές τις εικόνες διαπιστώνουμε ότι στις ρίζες που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό και σε ελλειμματικό σε S διάλυμα, το μήκος των περιοχών A, ELR και LR είναι μικρότερο από το αντίστοιχο των ριζών που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα. Στο σημείο αυτό πρέπει να τονίσουμε το γεγονός ότι στις ρίζες που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό και σε ελλειμματικό σε S διάλυμα, το μήκος της περιοχής A συνεχώς μικραίνει, της περιοχής ELR παραμένει σχετικά σταθερό, ενώ της περιοχής LR διαρκώς αυξάνει. Επιπλέον στο – S διάλυμα, τόσο η διάμετρος της ρίζας, όσο και η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου και ο αριθμός των μεταξυλικών αγγείων, είναι μεγαλύτερος από αυτόν στο πλήρες θρεπτικό διάλυμα τις ημέρες 13 – 19, με ένα maximum μεταξύ των ημερών 13 – 16, στις περιοχές ELR και LR.

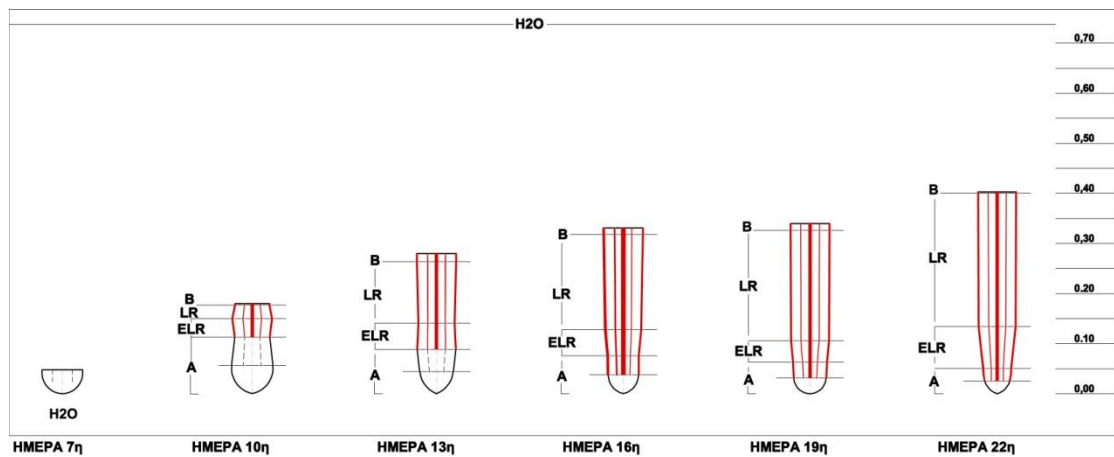
Από την άλλη μεριά, λιγνινοποίηση παρατηρείται μετά την ημέρα 10 του πειράματος, τόσο στο πλήρες θρεπτικό διάλυμα (στις περιοχές LR και B) όσο και στο ελλειμματικό σε S θρεπτικό διάλυμα (στις περιοχές ELR, LR και B) και στο απιονισμένο νερό (στις περιοχές ELR, LR και B καθώς και στο μέσο της περιοχής A μετά την 16^η ημέρα). Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι η λιγνινοποίηση, τόσο στο πλήρες θρεπτικό διάλυμα, όσο και στο απιονισμένο νερό, ξεκινά σχεδόν ταυτόχρονα από έξω μέχρι το εσωτερικό (από την επιδερμίδα έως τον κεντρικό κύλινδρο). Σε αντίθεση με αυτό που συμβαίνει στις ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, στο διάλυμα με έλλειψη S η ενδοδερμίδα λιγνινοποιείται μετά την 16^η ημέρα στο ELR.



Εικόνα 4.3.1 Σχηματική απεικόνιση των βλαστογενών ριζών φυτών αραβόσιτου, τα οποία αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα, όπου φαίνονται και οι περιοχές που εντοπίζονται λιγνίνες



Εικόνα 4.3.2 Σχηματική απεικόνιση των βλαστογενών ριζών φυτών αραβόσιτου, τα οποία αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S θρεπτικό διάλυμα, όπου φαίνονται και οι περιοχές που εντοπίζονται λιγνίνες



Εικόνα 4.3.3 Σχηματική απεικόνιση των βλαστογενών ριζών φυτών αραβόσιτου, τα οποία αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, όπου φαίνονται και οι περιοχές που εντοπίζονται λιγνίνες

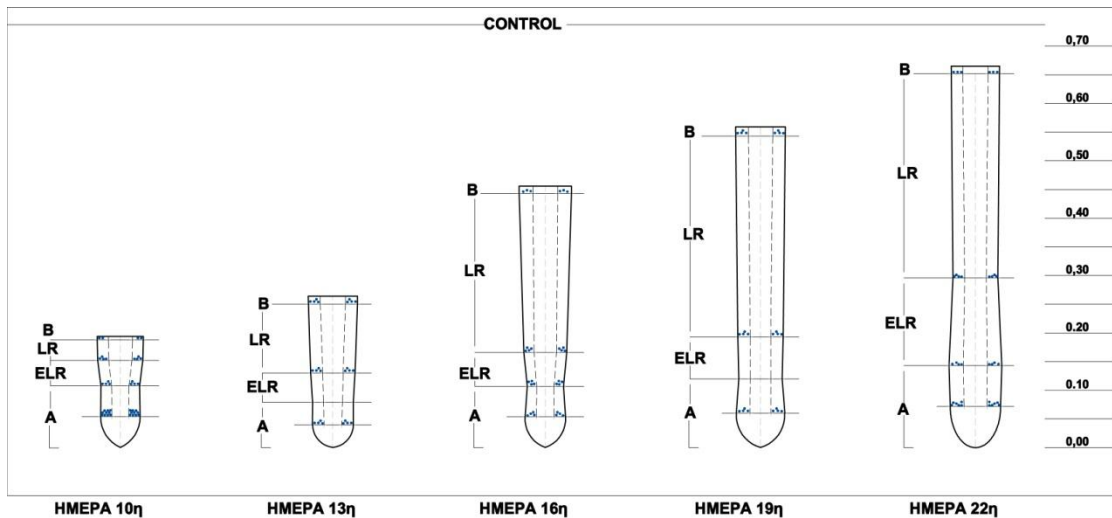
Ακολουθώντας την ίδια τακτική για την απεικόνιση των αποτελεσμάτων και για τον *in situ* εντοπισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και σουπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-), προέκυψαν οι παρακάτω εικόνες (4.3.4 – 4.3.9). Στις εικόνες αυτές όπου υπάρχει ● σημαίνει χρώση σε μεσοκυττάριους χώρους και όπου υπάρχει ○ σημαίνει χρώση σε αερέγχυμα.

Σύμφωνα με όσα είναι ήδη γνωστά από προηγούμενες ερευνητικές εργασίες του εργαστηρίου Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών, η ανάπτυξη φυτών αραβοσίτου υπό συνθήκες έλλειψης S έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό αερεγγύματος στις βλαστογενείς ρίζες του φυτού και την έντονη παρουσία ενεργών μορφών οξυγόνου σε αυτές (Bouranis et al. 2003, Bouranis et al. 2006). Οι εργασίες αυτές βέβαια αφορούσαν φυτά τα οποία είχαν ολόκληρο το ριζικό τους σύστημα.

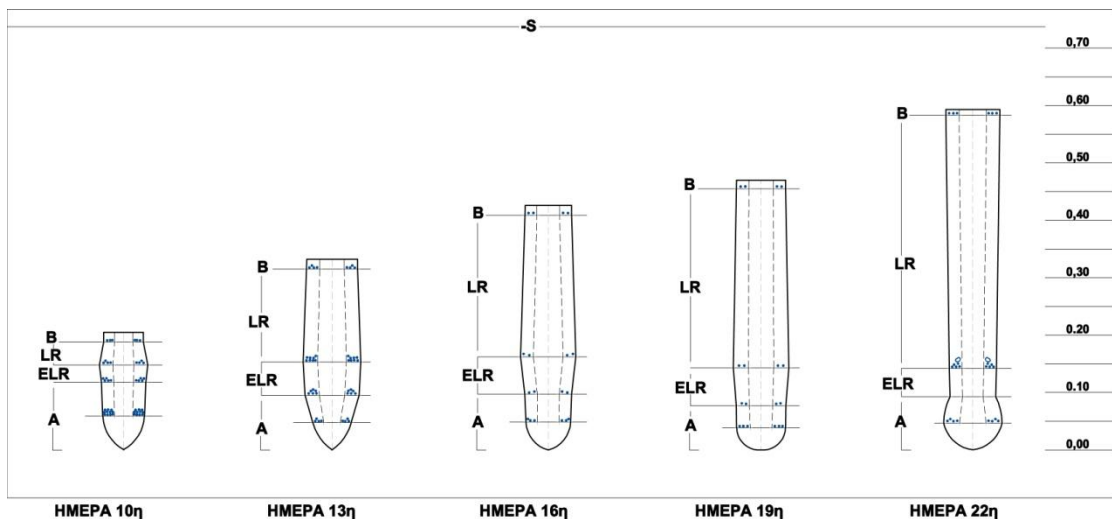
Στην παρούσα ερευνητική εργασία, η μελέτη αφορά στον εντοπισμό σουπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-) και υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) κατά μήκος των βλαστογενών ριζών φυτών αραβοσίτου, από τα οποία την 7^η ημέρα από τη σπορά κόψαμε ολόκληρο το εμβρυακό ριζικό σύστημα. Αποτελέσματα από άλλη ερευνητική εργασία που έγινε παράλληλα στο εργαστήριο (Πιτσιλαδής, μεταπτυχιακή μελέτη, αδημοσίευτα δεδομένα), όπου οι ίδιες μεταχειρίσεις και μετρήσεις έγιναν σε φυτά αραβοσίτου τα οποία είχαν ολόκληρο το ριζικό τους σύστημα, έδειξαν ότι οι βλαστογενείς ρίζες τόσο των φυτών που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα, όσο και αυτών που αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S θρεπτικό διάλυμα, είχαν γενικώς μεγαλύτερο μήκος και διάμετρο. Αντίθετα, οι ρίζες των φυτών που αναπτύχθηκαν σε απιονισμένο νερό είχαν παραπλήσιες διαστάσεις.

Τα δεδομένα αυτά, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι, όπως είναι γνωστό, οι ενεργές μορφές οξυγόνου σχετίζονται άμεσα με φυσιολογικές λειτουργίες ανάπτυξης των φυτικών οργάνων, εξηγεί σε μεγάλο βαθμό την εικόνα κατανομής που βλέπουμε κατά μήκος των ριζών. Έτσι, την 10^η ημέρα, δηλαδή 3 ημέρες μετά την αποκοπή του εμβρυακού ριζικού συστήματος, εντοπίζεται σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-) στην περιφέρεια των κυττάρων και στους μεσοκυττάριους χώρους κατά μήκος ολόκληρης της ρίζας των φυτών που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα και σε αρκετά σημεία των άλλων δυο μεταχειρίσεων. Προφανώς, τα φυτά στην προσπάθεια ταχείας αύξησης των ριζών τους για την αποκατάσταση της παροχής θρεπτικών συστατικών, έχουν ενεργοποιήσει τις φυσιολογικές διεργασίες χαλάρωσης των κυτταρικών τοιχωμάτων και προσθήκης νέων υλικών σε αυτά, χρησιμοποιώντας και το σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-).

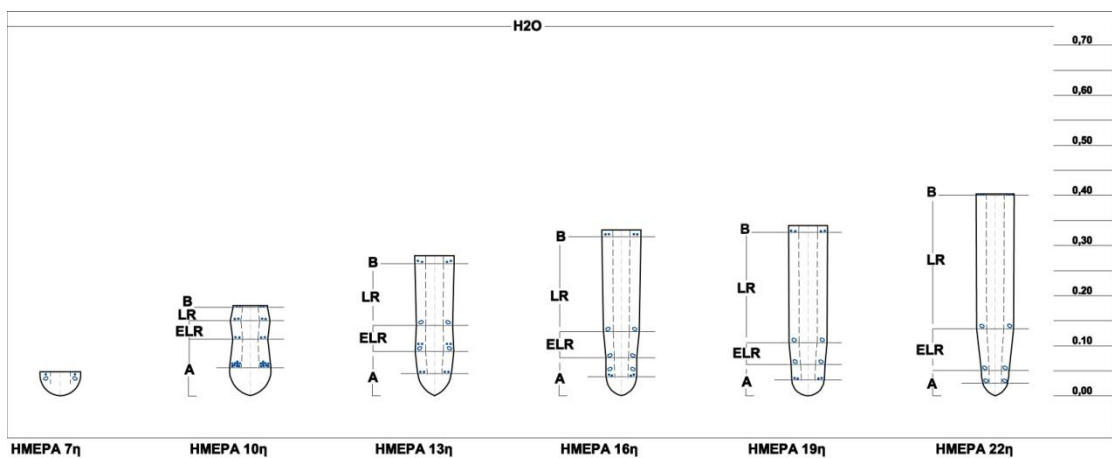
Στην πορεία των ημερών, οι ενεργές μορφές οξυγόνου που μελετήθηκαν εντοπίζονται σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό στο φλοιώδες παρέγχυμα των ριζών. Ιδιαίτερα εντοπίζονται στα σημεία εκείνα που είτε αναμένεται να υπάρχει αέρας, είτε χρειάζονται δραστικές ενεργές μορφές οξυγόνου για την καταστροφή δομών (μεμβρανών και τοιχωμάτων). Με άλλα λόγια εντοπίζονται τόσο σε μεσοκυττάριους χώρους όσο και στο αερέγχυμα (όπου αυτό υπάρχει). Φυσικά, επειδή η ανάπτυξη σε απιονισμένο νερό έχει ως αποτέλεσμα την εκτεταμένη δημιουργία αερεγγύματος στις ρίζες, η εικόνα που έχουμε για τη μεταχείριση αυτή είναι η παρουσία και των δύο μορφών ως επί το πλείστον στο αερέγχυμα.



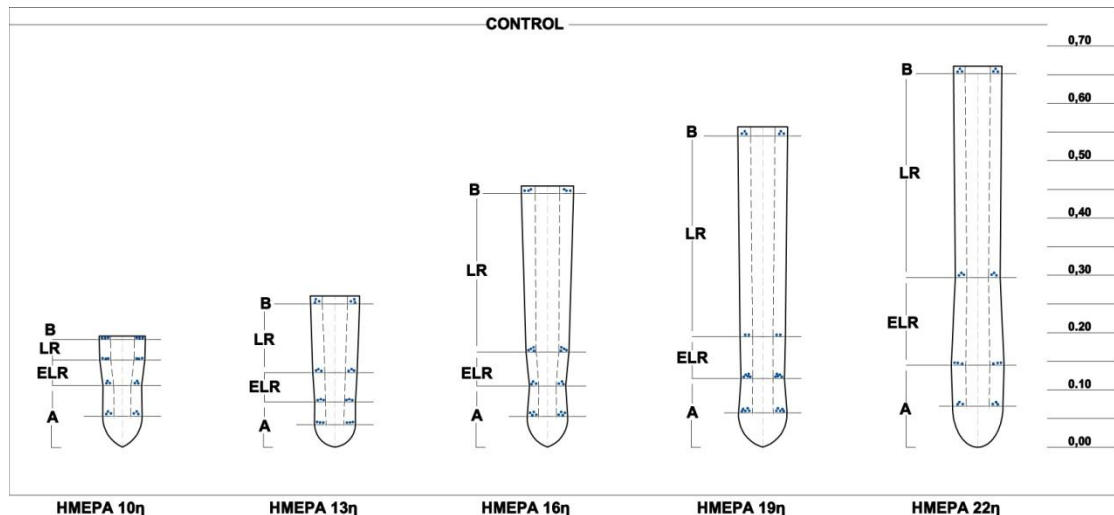
Εικόνα 4.3.4 Σχηματική απεικόνιση των βλαστογενών ριζών φυτών αραβόσιτου, τα οποία αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα, όπου φαίνονται και οι περιοχές που εντοπίζεται σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-)



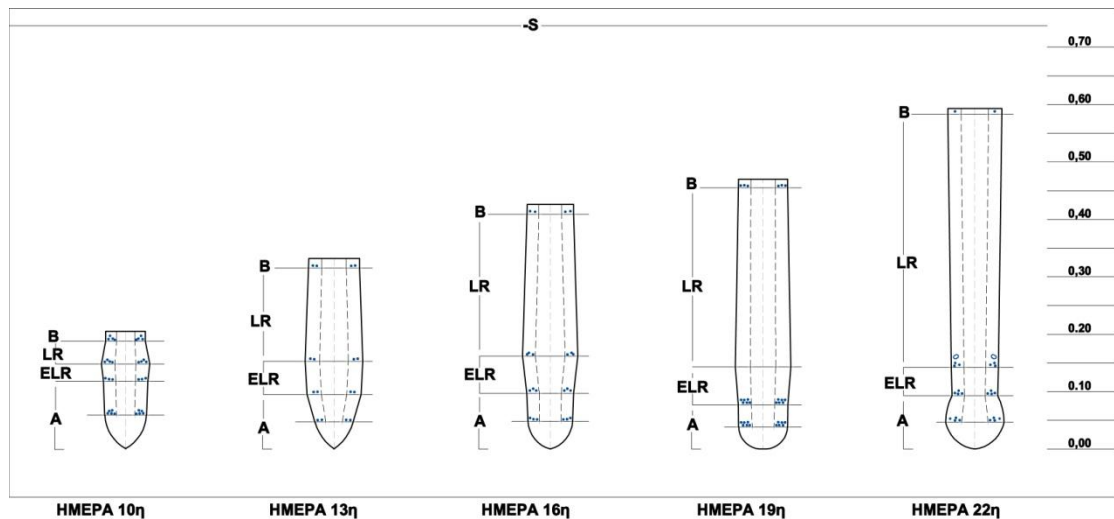
Εικόνα 4.3.5 Σχηματική απεικόνιση των βλαστογενών ριζών φυτών αραβόσιτου, τα οποία αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S θρεπτικό διάλυμα, όπου φαίνονται και οι περιοχές που εντοπίζεται σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-)



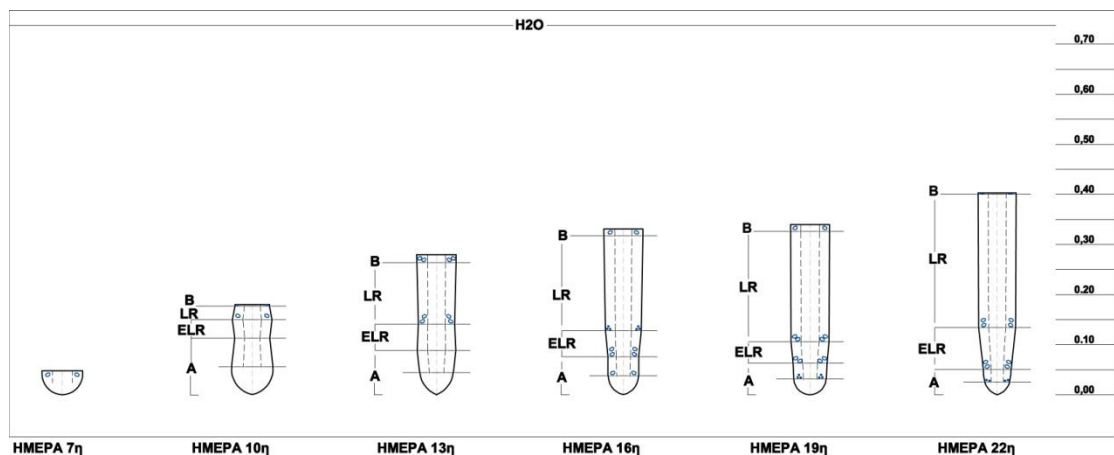
Εικόνα 4.3.6 Σχηματική απεικόνιση των βλαστογενών ριζών φυτών αραβόσιτου, τα οποία αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, όπου φαίνονται και οι περιοχές που εντοπίζεται σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-)



Εικόνα 4.3.7 Σχηματική απεικόνιση των βλαστογενών ριζών φυτών αραβόσιτου, τα οποία αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα, όπου φαίνονται και οι περιοχές που εντοπίζεται υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2)



Εικόνα 4.3.8 Σχηματική απεικόνιση των βλαστογενών ριζών φυτών αραβόσιτου, τα οποία αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S θρεπτικό διάλυμα, όπου φαίνονται και οι περιοχές που εντοπίζεται υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2)



Εικόνα 4.3.9 Σχηματική απεικόνιση των βλαστογενών ριζών φυτών αραβόσιτου, τα οποία αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, όπου φαίνονται και οι περιοχές που εντοπίζεται υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2)

Επιπλέον, φαίνεται ότι περισσότερο σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-) εντοπίζεται στα φυτά που αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S διάλυμα έναντι αυτών που αναπτύσσονται σε πλήρες, ενώ σε ότι αφορά στο υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) συμβαίνει το αντίθετο. Αυτή η διαφοροποίηση ίσως να σχετίζεται με την καταπόνηση της έλλειψης S και την ανάγκη παρουσίας μιας πιο δραστηκής μορφής ενεργού οξυγόνου, η οποία θα έχει ως αποτέλεσμα την ταχύτερη δημιουργία αερεγχύματος στα φυτά που αναπτύσσονται σε - S διάλυμα έναντι αυτών σε πλήρες.

Τέλος, επειδή στις ενεργές μορφές οξυγόνου και ιδιαιτέρως στο υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) έχουν αποδοθεί και ρόλοι στη διαδικασία μεταγωγής σήματος, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η εικόνα που βλέπουμε σχετίζεται και με τέτοιες διεργασίες. Είναι φυσικό άλλωστε να συμβαίνει κάτι τέτοιο σε ένα φυτό αραβόσιτου 7 ημερών από το οποίο κόβουμε το εμβρυακό ριζικό του σύστημα και το αναγκάζουμε να επιβιώσει με 3 – 4 βλαστογενείς ρίζες μήκους περίπου 2 – 7 cm η κάθε μία.

5. Συμπεράσματα

Από την παρούσα ερευνητική εργασία προέκυψαν τελικά τα παρακάτω συμπεράσματα

Φυτά που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα

- Το μήκος των ριζών των φυτών που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα, (C φυτά) είναι μικρότερο μέχρι την 13 ημέρα, έναντι αυτών των άλλων δυο υγρών υποστρωμάτων ανάπτυξης.
- Η διάμετρος της ρίζας στα C φυτά είναι σχεδόν σταθερή (παρουσιάζει μικρές αυξομειώσεις) σε όλα τα τμήματα της ρίζας, εκτός από την περιοχή A, όπου αυξάνει διαρκώς.
- Για την διάμετρο του κεντρικού κυλίνδρου ισχύει ότι και για τη διάμετρο της ρίζας.
- Το ίδιο συμβαίνει και στο συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων.
- Μέχρι την 13^η ημέρα, τα μήκη όλων των περιοχών της ρίζας που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα, υστερούν έναντι των δύο άλλων μεταχειρίσεων.
- Από την 13^η ημέρα και μετά τα μήκη των περιοχών A, ELR, και LR είναι μεγαλύτερα σε σύγκριση με τα άλλα δυο υγρά υποστρώματα ανάπτυξης.
- Στο C διάλυμα, το μήκος όλων των περιοχών των ριζών συνεχώς αυξάνεται.
- Στα παλιότερα τμήματα της ρίζας (LR και B), έχουμε έντονη την παρουσία της λιγνίνης, τόσο εξωτερικά (επιδερμίδα, υποδερμίδα), όσο και εσωτερικά (ενδοδερμίδα, πρωτοξυλικά αγγεία, μεταξυλικά αγγεία, ξυλώδες παρέγχυμα) και για όλες τις μέρες του πειράματος (10^η – 22^η).
- Στα νεότερα τμήματα της ρίζας (A και ELR) των C φυτών, δεν έχουμε ένδειξη παρουσίας λιγνίνης.
- Ενεργές μορφές οξυγόνου εντοπίζονται όλες τις ημέρες του πειράματος, σε όλες σχεδόν τις περιοχές της ρίζας.
- Εντοπίζονται κυρίως σε τυχαίους μεσοκυττάρους ως επί το πλείστον στην περιοχή του φλοιώδους παρεγχύματος.
- Το σουπεροξειδικό ανιόν (O₂⁻) εντοπίζεται την 10^η ημέρα και στην περιφέρεια κυττάρων του φλοιώδους παρεγχύματος, σε όλες τις περιοχές της ρίζας.
- Περισσότερο υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) εντοπίζεται στα φυτά που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα.

Φυτά που αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S θρεπτικό διάλυμα

- Το μήκος των ριζών των φυτών που αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S θρεπτικό διάλυμα (- S φυτά) είναι μεγαλύτερο μέχρι την 13 ημέρα, έναντι αυτών των άλλων δυο υγρών υποστρωμάτων ανάπτυξης.
- Από την 13 ημέρα και μετά, τα - S φυτά παρουσιάζουν αυξημένη διάμετρο της ρίζας, κυρίως στην περιοχή LR, με ένα maximum μεταξύ των ημερών 13 – 16, σε σχέση πάντα με τα φυτά που αναπτύσσονται σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα (C φυτά).

- Η διάμετρος της ρίζας στα – S φυτά είναι σχεδόν σταθερή (παρουσιάζει μικρές αυξομειώσεις) σε όλα τα τμήματα της ρίζας, εκτός από την περιοχή A, όπου αυξάνει διαρκώς.
- Το ίδιο ισχύει και για τη διάμετρο του κεντρικού κυλίνδρου.
- Όσον αφορά τον αριθμό των μεταξυλικών αγγείων, όπως και πριν, παρατηρούμε πάλι αυξημένες τιμές, σε σχέση με τις άλλες δυο μεταχειρίσεις, κυρίως στις περιοχές LR, μετά την 13^η ημέρα και με ένα μέγιστο μεταξύ 13^{ης} – 16^{ης} ημέρας.
- Το ίδιο συμβαίνει και στο συνολικό εμβαδόν των μεταξυλικών αγγείων.
- Μέχρι την 13^η ημέρα, τα μήκη όλων των περιοχών της ρίζας υπερτερούν στα – S φυτά, έναντι των φυτών των άλλων δύο μεταχειρίσεων.
- Στις ρίζες των – S φυτών το μήκος των περιοχών A, ELR και LR είναι μικρότερο από το αντίστοιχο των ριζών των C φυτών, από την 13^η ημέρα και μετά.
- Το μήκος της περιοχής A συνεχώς μικραίνει, της περιοχής ELR παραμένει σχετικά σταθερό, ενώ της περιοχής LR διαρκώς αυξάνει.
- Στα παλιότερα τμήματα της ρίζας (LR και B), έχουμε έντονη την παρουσία της λιγνίνης, τόσο εξωτερικά (επιδερμίδα, υποδερμίδα), όσο και εσωτερικά (ενδοδερμίδα, πρωτοξυλικά αγγεία, μεταξυλικά αγγεία, ξυλώδες παρέγχυμα) και για όλες τις μέρες του πειράματος (10^η – 22^η).
- Για τα φυτά που αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S διάλυμα, στην περιοχή A λιγνίνη δεν εντοπίζεται, ενώ στην περιοχή ELR, έχουμε ένδειξη από την 16^η ημέρα και μετά, πρώτα στην ενδοδερμίδα και μετά στο ξυλώδες παρέγχυμα και την επιδερμίδα.
- Στις ρίζες των φυτών του – S θρεπτικού διαλύματος, η ενδοδερμίδα λιγνινοποιείται μετά την 16^η ημέρα στο ELR, σε αντίθεση με τις ρίζες που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, όπου η λιγνινοποίηση ξεκινά από τη 10^η ημέρα.
- Ενεργές μορφές οξυγόνου εντοπίζονται όλες τις ημέρες του πειράματος, σε όλες σχεδόν τις περιοχές της ρίζας.
- Εντοπίζονται κυρίως σε τυχαίους μεσοκυττάριους χώρους και όπου έχουμε σχηματισμό αερεγχύματος, ως επί το πλείστον στην περιοχή του φλοιώδους παρεγχύματος.
- Το σουπεροξειδικό ανιόν (O₂⁻) εντοπίζεται την 10^η ημέρα και στην περιφέρεια κυττάρων του φλοιώδους παρεγχύματος μόνο στην περιοχή A.
- Περισσότερο σουπεροξειδικό ανιόν (O₂⁻) εντοπίζεται στα φυτά που αναπτύσσονται σε ελλειμματικό σε S διάλυμα έναντι αυτών που αναπτύσσονται σε πλήρες.

Φυτά που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό

- Το μήκος των ριζών των φυτών που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό είναι παρόμοιο με αυτό των ριζών των άλλων δυο μεταχειρίσεων μέχρι την 10^η ημέρα.
- Στα φυτά που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, μέχρι την 13^η περίπου ημέρα, η διάμετρος των ριζών τους συμβαδίζει σχετικά με αυτή των άλλων δυο μεταχειρίσεων στις περιοχές A και B. Στις περιοχές ELR και LR συμβαδίζει σχετικά μέχρι την 10^η ημέρα.

- Η διάμετρος της ρίζας, στα φυτά που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, είναι σχεδόν σταθερή (παρουσιάζει μικρές αυξομειώσεις) σε όλα τα τμήματα της ρίζας, εκτός από την περιοχή A, όπου διαρκώς μειώνεται.
- Για την διάμετρο του κεντρικού κυλίνδρου ισχύει ότι και για τη διάμετρο της ρίζας.
- Στις μετρήσεις του εμβαδού φαίνεται ξεκάθαρα η μεγάλη υστέρηση των φυτών που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό σε σχέση με τις άλλες δυο μεταχειρίσεις, ιδίως μετά την 13^η ημέρα και για όλες τις περιοχές της ρίζας.
- Μέχρι την 13^η ημέρα, τα μήκη όλων των περιοχών της ρίζας υπερτερούν έναντι του πλήρους θρεπτικού διαλύματος.
- Στις ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, το μήκος των περιοχών A, ELR και LR είναι μικρότερο από το αντίστοιχο των ριζών των C φυτών, από την 13^η ημέρα και μετά.
- Στο απιονισμένο νερό το μήκος της περιοχής A συνεχώς μικραίνει, της περιοχής ELR παραμένει σχετικά σταθερό, ενώ της περιοχής LR διαρκώς αυξάνει.
- Στα παλιότερα τμήματα της ρίζας (LR και B), έχουμε έντονη την παρουσία της λιγνίνης, τόσο εξωτερικά (επιδερμίδα, υποδερμίδα), όσο και εσωτερικά (ενδοδερμίδα, πρωτοξυλικά αγγεία, μεταξυλικά αγγεία, ξυλώδες παρέγχυμα) και για όλες τις μέρες του πειράματος (10^η – 22^η).
- Για τα φυτά που αναπτύσσονται στο απιονισμένο νερό, λιγνίνη εντοπίζεται σε όλες τις ημέρες και για όλες τις περιοχές της ρίζας, με εξαίρεση την περιοχή A την 10^η και 13^η ημέρα.
- Στις ρίζες των φυτών που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό η λιγνινοποίηση ξεκινά από πιο νεότερες περιοχές της ρίζας, έναντι των ριζών των άλλων δυο μεταχειρίσεων.
- Ενεργές μορφές οξυγόνου εντοπίζονται όλες τις ημέρες του πειράματος, σε όλες σχεδόν τις περιοχές της ρίζας.
- Εντοπίζονται κυρίως σε τυχαίους μεσοκυττάριους χώρους και όπου έχουμε σχηματισμό αερεγχύματος, ως επί το πλείστον στην περιοχή του φλοιώδους παρεγχύματος.
- Το σουπεροξειδικό ανιόν (O₂⁻) εντοπίζεται την 10^η ημέρα και στην περιφέρεια κυττάρων του φλοιώδους παρεγχύματος, σε όλες τις περιοχές της ρίζας.

Βιβλιογραφία

- Abbe E. and Stein O. (1954)** The growth of the shoot apex in maize: Embryogeny. *American Journal of Botany*, Vol. 41(4): 285-293.
- Bergmann L. and Rennenberg H. (1993)** Glutathione metabolism in plants. In: DeKok L., Stulen I., Rennenberg H., Brunold C. and Rauser W. eds. *Sulfur nutrition and assimilation in higher plants*. The Hague, The Netherlands: SPB Academic Publishing, pp. 109–123.
- Bidlack J., Malone M. and Benson R. (1992)** Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. *Proceedings of Oklahoma Academic Sciences* 72: 51-56.
- Boudet A-M., Kajita S., Grima-Pettenati J. and Goffner D. (2003)** Lignins and lignocellulosics: a better control of synthesis for new and improved uses. *Trends in Plant Science* 8(12): 576-581.
- Boudet A-M. (2000)** Lignins and lignification: Selected issues. *Plant Physiology and Biochemistry* 38(1/2): 81–96.
- Boudet A-M. (1998)** A new view of lignification. *Trends in Plant Science* 3(2): 67-71.
- Bouranis D.L, S.N. Chorianopoulou, C. Kollias, Ph. Maniou, V.E. Protonotarios, V.F. Siyiannis, and M. J. Hawkesford (2006)** Dynamics of aerenchyma distribution in the cortex of sulphate-deprived adventitious roots of maize. [Annals of Botany 97, 695-704.](#)
- Bouranis D.L, S.N. Chorianopoulou, V.F. Siyiannis, V.E. Protonotarios, and M. J. Hawkesford (2003)** Aerenchyma formation in roots of maize during sulphate starvation. [Planta 217: 382-391.](#)
- Bolwell G.P. and Wojtaszek P. (1997)** Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defense-broad perspective. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 51: 347-366.
- Bowler C., Van Camp W., Van Mondagu M. and Inzé D. (1994)** Superoxide dismutase in plants. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 13: 199-218.
- Bowler C., Van Mondagu M. and Inzé D. (1992)** Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 83-116.
- Bradley D., Kjellbom P. and Lamb C. (1992)** Elicitor-and wound-induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein: A novel, rapid defense response. *Cell* 70: 21-30.
- Chandler VL, Brendel V. (2002)** The maize Genome Sequencing Project. *Plant Physiology* 130: 1594 – 1597.

- Dat J., Vandenabeele S., Vranová E., Van Montagu M., Inzé D. and Van Breusegem F. (2000)** Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell. Mol. Life Sci.* 57: 779 – 795.
- DeKok L. and Stulen I. (1993)** Role of glutathione in plants under oxidative stress. In: DeKok L., Stulen I., Rennenberg H., Brunold C. and Rauser W. eds. *Sulfur nutrition and assimilation in higher plants*. The Hague, The Netherlands: SPB Academic Publishing, pp. 125–138.
- Desikan R., Reynolds A., Hancock J.T. and Neill S.J. (1998)** Harpin and hydrogen peroxide both initiate programmed cell death but have differential effects on gene expression in *Arabidopsis* suspension cultures. *Biochemical Journal* 330: 115-120.
- Dijkshoorn W. and van Wijk A. (1967)** The sulphur requirements of plants as evidenced by the sulphur-nitrogen ratio in the organic matter. A review of published data. *Plant and Soil* 26(1): 129-157.
- Douglas C. (1996)** Phenylpropanoid metabolism and lignin biosynthesis. *Trends in Plant Science* 1(6): 171-178.
- Duncan W.G. & Hesketh J.D. (1968)** Net photosynthetic rates and leaf numbers of 22 races of maize grown at eight temperatures. *Crop Sci.* 8: 670 – 674.
- Duncan N.G. (1975)** Maize In: *Crop Physiology. Some Case Histories* (L.T. Evans, ed), Cambridge Univ. Press.
- Fahn, A. (1982)** *Plant anatomy* (3rd ed.). Pergamon, Oxford
- Even-Chen Z., Silva H. and Klessig D.F. (1993)** Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 262: 1883-1886.
- Foyer C.H., Lopez-Delgado H., Dat J.F and Scott I.M. (1997)** Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Plant Physiol* 100: 241 – 254.
- Freeling M. and Walbot V. (1994)** *The Maize Handbook*, Springer-Verlag, New York. pp. 11-33.
- Fromm J., Rockel B., Lautner S., Windeisen E. and Wanner G. (2003)** Lignin distribution in wood cell walls determined by TEM and backscattered SEM techniques. *Journal of Structural Biology* 143: 77–84.
- Gilchrist D.G. (1998)** Programmed cell death in plant disease: The purpose and promise of cellular suicide. *Ann. Rev Phytopathol.* 36: 393-414.
- Grabber J. and Lu F. (2007)** Formation of syringyl-rich lignins in maize as influenced by feruloylated xylans and p-coumaroylated monolignols. *Planta* 226: 741-751.

- Grant J.J. and Loake G.J. (2000)** Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. *Plant Physiol.* 124: 21-29.
- Greenberg J., Monach P., Chou J.H., Josephy P.D. and Demple B. (1990)** Positive control of a global antioxidant defense regulon activated by superoxide-generating agents in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 6181-6185.
- Hetz W., Hochholdinger F., Schwall M. and Feix G. (1996)** Isolation and characterization of *rctcs*, a maize mutant deficient in the formation of nodal roots. *Plant Journal* 10: 845-857.
- Hochholdinger F., Woll K., Sauer M. and Dembinsky D. (2004)** Genetic dissection of root formation in maize (*Zea mays*) reveals root-type specific developmental programmes. *Annals of Botany* 93: 359-368.
- Hoppe D.C., McCully M.E. and Wenzel C.L. (1986)** The nodal roots of *Zea*: their development in relation to structural features of the stem. *Canadian Journal of Botany* 64: 2524 - 2537.
- Humphreys J. and Chapple C. (2002)** Rewriting the lignin roadmap. *Current Opinion in Plant Biology* 5(3): 224-229.
- Lamb C. and Dixon R. (1997)** The oxidative burst in plant disease resistance. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 251-275.
- Levine A., Tenhaken R., Dixon R. and Lamb C. (1994)** H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79: 583-593.
- Levitt J. (1980)** Responses of plants to environmental stresses; water, radiation, salt, and other stresses. 2nd edition, New York, Academic Press.
- Lynch J. (1995)** Root Architecture and Plant Productivity. *Plant Physiol.* 109(1): 7-13.
- Marjamaa K., Kukkola E. and Fagerstedt K. (2007)** Lignification in development. *International Journal of Plant Developmental Biology* 1: 160-169.
- Marschner H. (1995)** Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. London, GB.
- McCully M.E. and Canny M.J. (1988)** Pathways and processes of water and nutrient movements in roots. *Plant Soil* 111: 159-170.
- McCully M. and Canny M. (1985)** Localization of translocated ¹⁴C in root exudates of field grown maize. *Physiol. Plant.* 65: 380-392.
- Mills H. and Jones J. (1996)** Plant analysis handbook II: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide. Athens, GA (EUA).

- Moershbacher B., Noll U., Gorrichon L. and Reisener H. (1990)** Specific inhibition of lignification breaks hypersensitive resistance of wheat to stem rust. *Plant Physiology* 93: 465–470.
- Natr L. (1992)** Mineral nutrients. A ubiquitous stress factor for photosynthesis. *Photosynthetica* 27: 271-294.
- Neill S., Desikan R., Clarke A., Hurst R. and Hancock J. (2002a)** Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *J. Exp. Bot.* 53: 1237-1247.
- Noctor G. and Foyer C.H. (1998)** Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 249-279.
- Piquemal J., Lapierre C., Myton K., O'Connell A., Schuch W., Grima-Pettenati J. and Boudet A-M. (1998)** Down regulation of cinnamoyl CoA reductase induces significant changes of lignin profiles in transgenic tobacco plants. *Plant J.* 13: 71–83.
- Plaxton W. (1996)** The organization and regulation of plant glycolysis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 47: 185-214.
- Pomar F., Merino F. and Barcelo A.R. (2002)** O-4-Linked coniferyl and sinapyl aldehydes in lignifying cell walls are the main targets of the Wiesner (phloroglucinol-HCl) reaction. *Protoplasma* (1-2):17-28.
- Purvis A.C. (1997)** Role of the alternative oxidase in limiting superoxide production by plant mitochondria. *Physiol. Plant.* 100: 165-170.
- Raes J., Rohde A., Christensen J., Van de Peer Y. and Boerjan W. (2003)** Genome-wide characterization of the lignification toolbox in Arabidopsis. *Plant Physiology* 133(3): 1051–1071.
- Ros Barcheló A. (1998)** The generation of H₂O₂ in the xylem of *Zinnia elegans* is mediated by an NADPH-oxidase-like enzyme. *Planta* 207: 207 – 216.
- Ruelland E., Campalans A., Selman-Housein G. and Rigau J. (2003)** Cellular and subcellular localization of the lignin biosynthetic enzymes caffeic acid-O-methyltransferase (COMT), cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD) and cinnamoyl-coenzyme A reductase (CCR) in two monocots, sugarcane and maize. *Physiologia Plantarum* 117(1): 93-99.
- Salisbury F. and Ross C. (1992)** *Plant Physiology and Plant Cells*. In *Plant Physiology*. Wadsworth, Inc., Belmont, CA, pp. 3-26.
- Samuels A., Rensing K., Douglas C., Mansfield S., Dharmawardhana D. and Ellis B. (2002)** Cellular machinery of wood production: differentiation of secondary xylem in *Pinus contorta* var. *latifolia*. *Planta* 216(1): 72-82.

- Sederoff R., MacKay J., Ralph J. and Hatfield R. (1999)** Unexpected variation in lignin. *Current Opinion in Plant Biology* 2(2): 145-152.
- Shigeoka S., Ishikawa T., Tamoi M., Miyagawa Y., Takeda T., Yabuta Y. and Yoshimura K. (2002)** Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.* 53: 1305-1319.
- Taiz L. and Zeiger E., (2006)** *Plant Physiology*. 4th edition publications: Sinauer Associates, Sunderland.
- Tillich H. (1977)** Vergleichend morphologische Untersuchungen zur Identität der Gramineen-Primärwurzel. *Flora* 166: 415-421.
- Tomati U. and Galli E. (1979)** Water stress and –SH-dependent physiological activities in young maize plants. *J. Exp. Bot.* 30: 557-563.
- Van Breusegem F., Vranová E., Dat J. and Inzé D. (2001)** The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science* 161: 405 – 414.
- Varney G., Canny M., Wang X. and McCully M. (1991)** The branch roots of *Zea*. I. First order branches, their number, sizes and division into classes. *Annals of Botany* 67: 357-364.
- Varney G. and Canny M. (1993)** Rates of Water Uptake into the Mature Root System of Maize Plants. *New Phytologist* 123(4): 775-786.
- Varney G. and McCully M. (1991)** The branch roots of *Zea*. II. Developmental loss of the apical meristem in field-grown roots. *New Phytologist* 118: 535-546.
- Vranová E., Inzé D. and Van Breusegem F. (2002)** Signal transduction during oxidative stress. *J. Exp. Bot.* 53: 1227-1236.
- Wang X., McCully M. and Canny M. (1995)** Branch Roots of *Zea*. V. Structural features that may influence water and nutrient transport. *Botanica Acta* 108: 209-219.
- Wang X., Canny M. and McCully M. (1991)** The water status of the roots of soil-grown maize in relation to the maturity of their xylem. *Physiologia Plantarum* 82: 157-162.
- Whetten R., MacKay J. and Sederoff R. (1998)** Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 585-609.
- Whetten R. and Sederoff R. (1995)** Lignin Biosynthesis. *The Plant Cell* 7: 1001-1013.
- Willekens H., Inzé D., Van Montagu M. and Van Camp W. (1995)** Catalases in plants. *Mol. Breed* 1: 207-228.
- Xiang Q. and Lee Y. (2001)** Production of oxychemicals from precipitated hardwood lignin. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 91-93: 71-80.

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

Κωσταράς Δ. (2010) Μελέτη της ανάπτυξης νεαρών φυτών αραβοσίτου σε στάσιμο νερό. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Μεταπτυχιακή Μελέτη, Αθήνα.

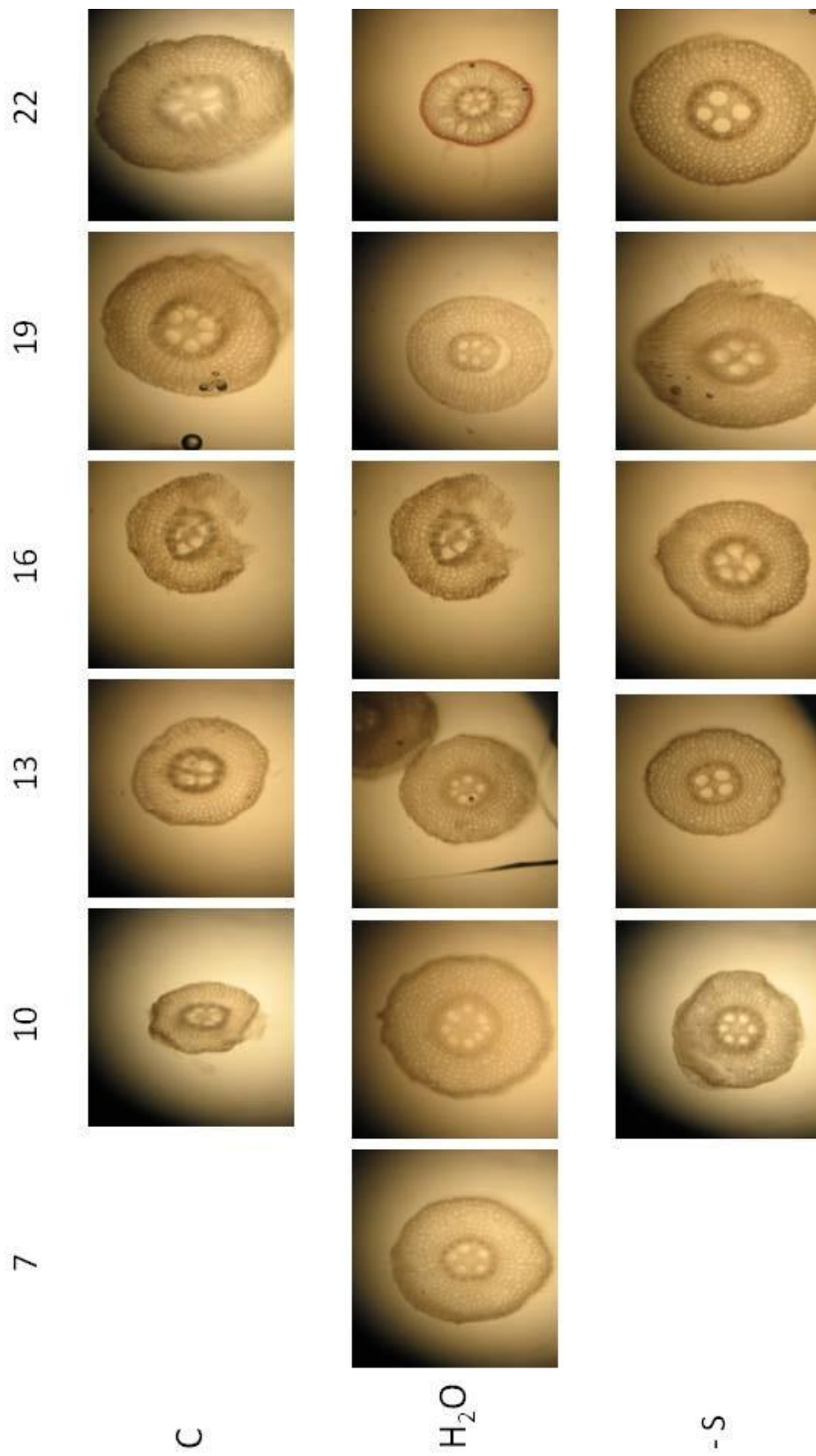
Πιτσιλαδής Α. (2009) Δυναμική της κατανομής του αποθεματικού του αζώτου του σπέρματος στα επιμέρους όργανα του αρτίβλαστου αραβοσίτου στα αρχικά στάδια βλάστησης. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πτυχιακή Μελέτη, Αθήνα.

Πρωτονοτάριος Β. (2008) Συγκριτική μελέτη της επίδρασης της τροφοπενίας αζώτου, φωσφόρου ή θείου στον μηχανισμό της λιγνινοποίησης των βλαστογενών ριζών του καλαμποκιού (*Zea mays* L., Poaceae). Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα.

Σιγιάννης Β. (2003) Επίδραση της έλλειψης θεικών στις ρίζες νεαρών φυτών καλαμποκιού. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Μεταπτυχιακή Μελέτη, Αθήνα.

Παράρτημα

ΠΕΡΙΟΧΗ Α (WIESNER)



Εικόνα Π.1 Τομές στο μέσο της περιοχής Α της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσιπου, επώαση σε διάλυμα φλωρογλυκινόλης και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό των λιγνινών.

ΠΕΡΙΟΧΗ ELR (WIESNER)

7



10



13



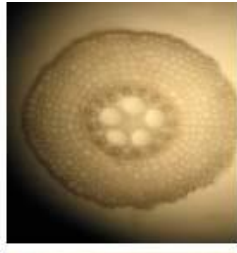
16



19

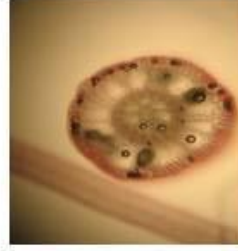


22

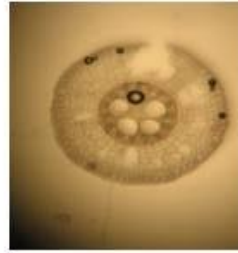


C

H₂O



-S



Εικόνα Π.2 Τομές στην αρχή της περιοχής ELR της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσπυτου, επώαση σε διάλυμα φλωρογλυκινόλης και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό των λιγνινών.

ΠΕΡΙΟΧΗ LR (WIESNER)

7

10

13

16

19

22

C



H₂O



-S



Εικόνα Π.3 Τομές στην αρχή της περιοχής LR της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσπιτου, επώση σε διάλυμα φλωρογλυκινόλης και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό των λιγνινών.

ΠΕΡΙΟΧΗ Β (WIESNER)

7

10

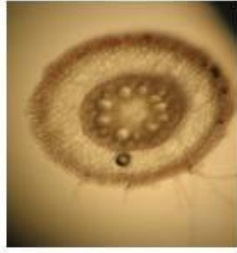
13

16

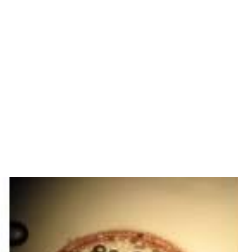
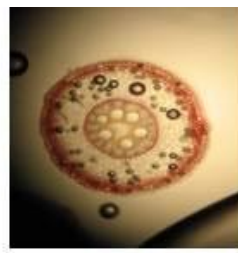
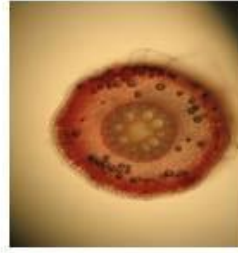
19

22

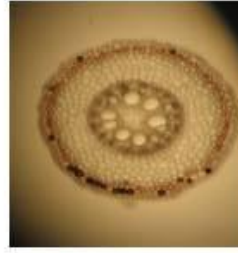
C



H₂O



-S



Εικόνα Π.4 Τομές στην αρχή της περιοχής Β της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσιπου, επώση σε διάλυμα φλωρογλυκινόλης και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό των λιγνινών.

ΠΕΡΙΟΧΗ Α (ΚΙ)

7

10

13

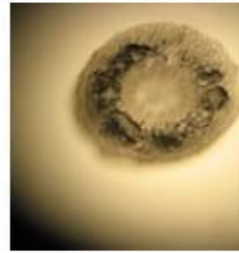
16

19

22



C



H₂O



-S



Εικόνα Π.5 Τομές στο μέσο της περιοχής Α της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσιτου, επώση σε διάλυμα ΚΙ και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό υπερφειδίου του υδρογόνου (H₂O₂).

ΠΕΡΙΟΧΗ ELR (ΚΙ)

7

10

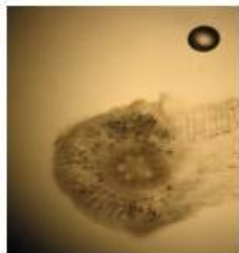
13

16

19

22

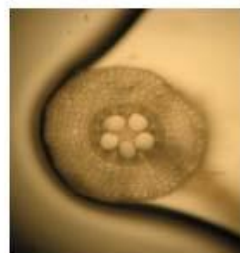
C



H₂O



-S



Εικόνα Π.6 Τομές στην αρχή της περιοχής ELR της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσπιτου, επώαση σε διάλυμα ΚΙ και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂).

ΠΕΡΙΟΧΗ LR (ΚΙ)

7

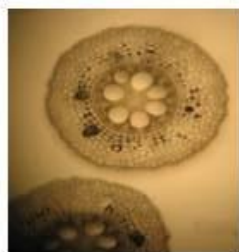
10

13

16

19

22



C



H₂O



-S

Εικόνα Π.7 Τομές στην αρχή της περιοχής LR της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσιτου, επώαση σε διάλυμα ΚΙ και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂).

ΠΕΡΙΟΧΗ Β (ΚΙ)

7

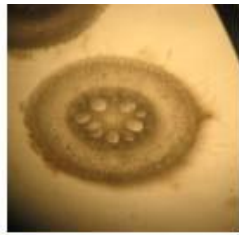
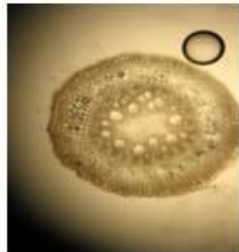
10

13

16

19

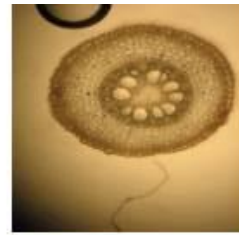
22



C



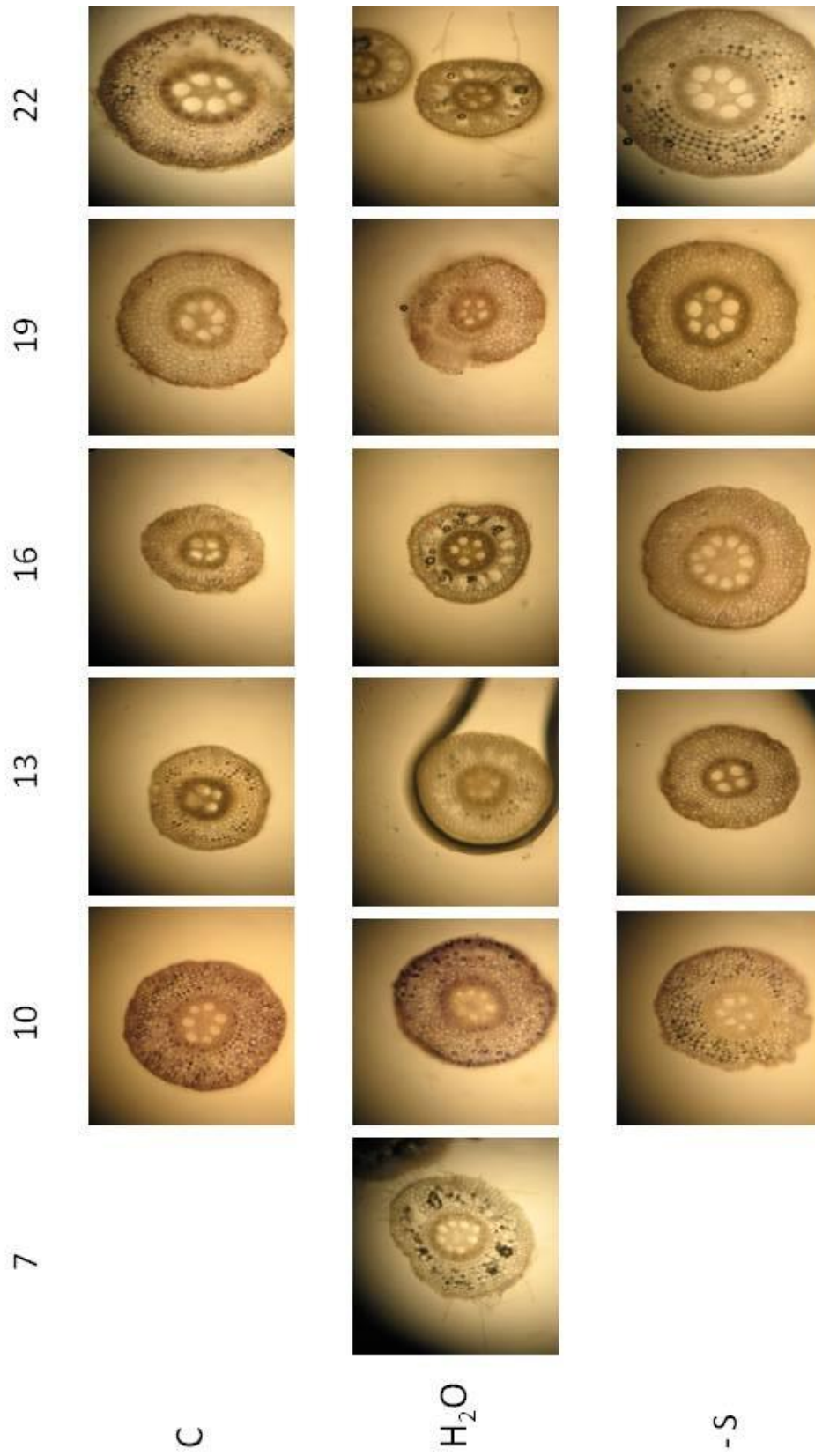
H₂O



-S

Εικόνα Π.8 Τομές στην αρχή της περιοχής Β της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσπυτου, επώαση σε διάλυμα ΚΙ και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂).

ΠΕΡΙΟΧΗ Α (NBT)



Εικόνα Π.9 Τομές στο μέσο της περιοχής Α της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσπιτου, επώση σε διάλυμα nitro blue tetrazolium (NBT) και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό σουπεροξειδικού ανιόντος (O₂⁻).

ΠΕΡΙΟΧΗ ELR (NBT)

7

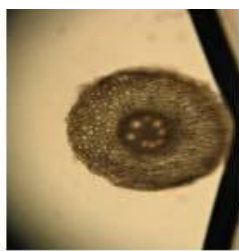
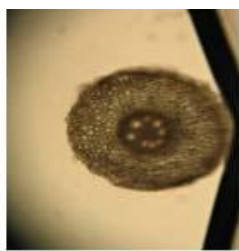
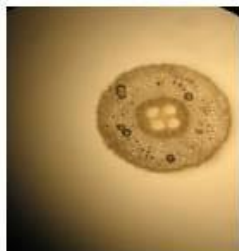
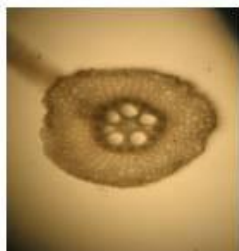
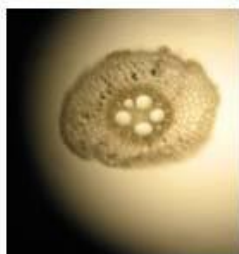
10

13

16

19

22



C



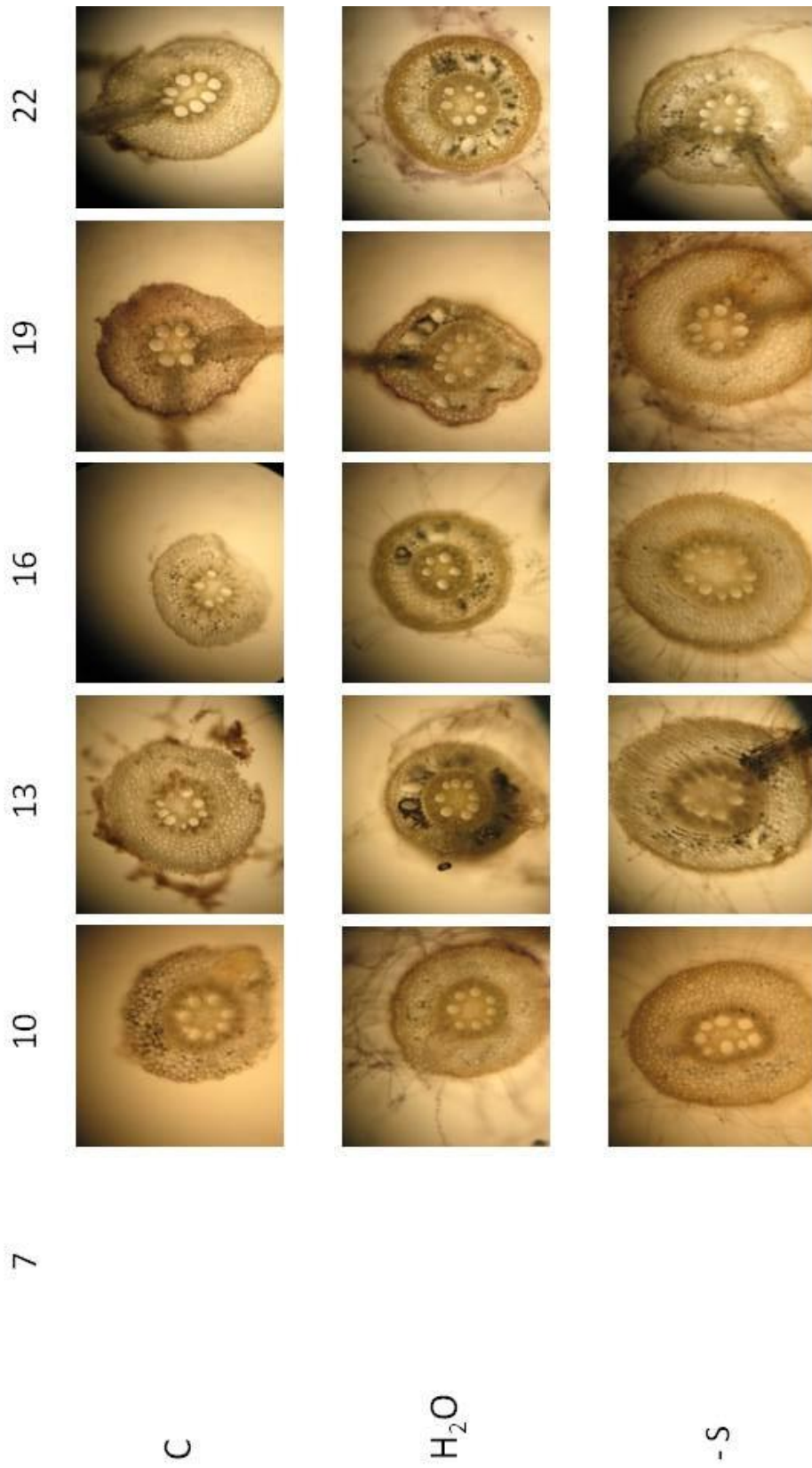
H₂O



-S

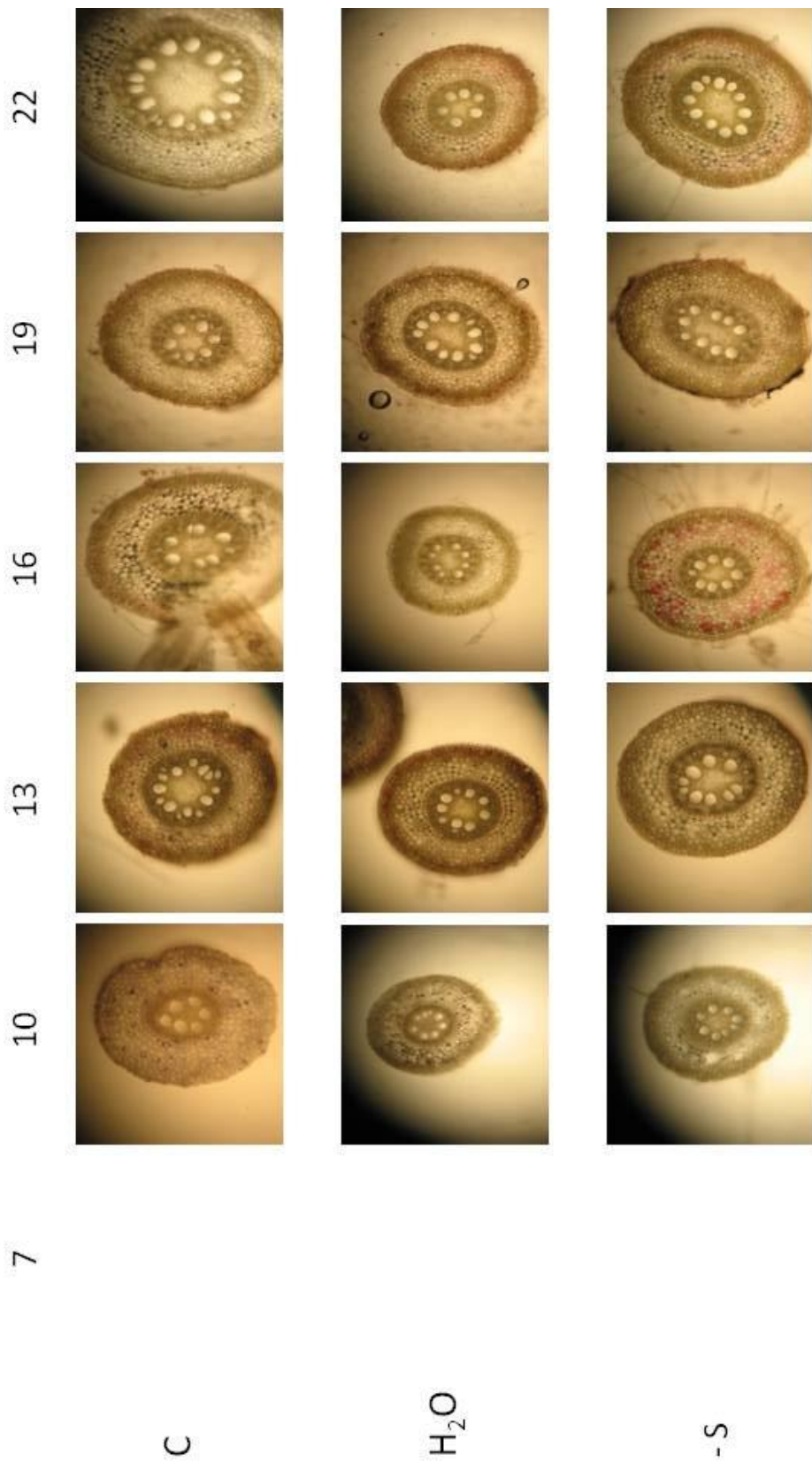
Εικόνα Π.10 Τομές στην αρχή της περιοχής ELR της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσπυρου, επώαση σε διάλυμα nitroblue tetrazolium (NBT) και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό σουπεροξειδικού ανιόντος (O₂⁻).

ΠΕΡΙΟΧΗ LR (NBT)



Εικόνα Π.11 Τομές στην αρχή της περιοχής LR της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσπου, επώαση σε διάλυμα nitroblue tetrazolium (NBT) και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό σουπεροξειδικού ανιόντος (O₂⁻).

ΠΕΡΙΟΧΗ Β (NBT)



Εικόνα Π.12 Τομές στην αρχή της περιοχής Β της πρώτης σειράς βλαστογενών ριζών αραβόσπυτου, επώαση σε διάλυμα nitroblue tetrazolium (NBT) και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο με σκοπό τον εντοπισμό σουπεροξειδικού ανιόντος (O₂⁻).