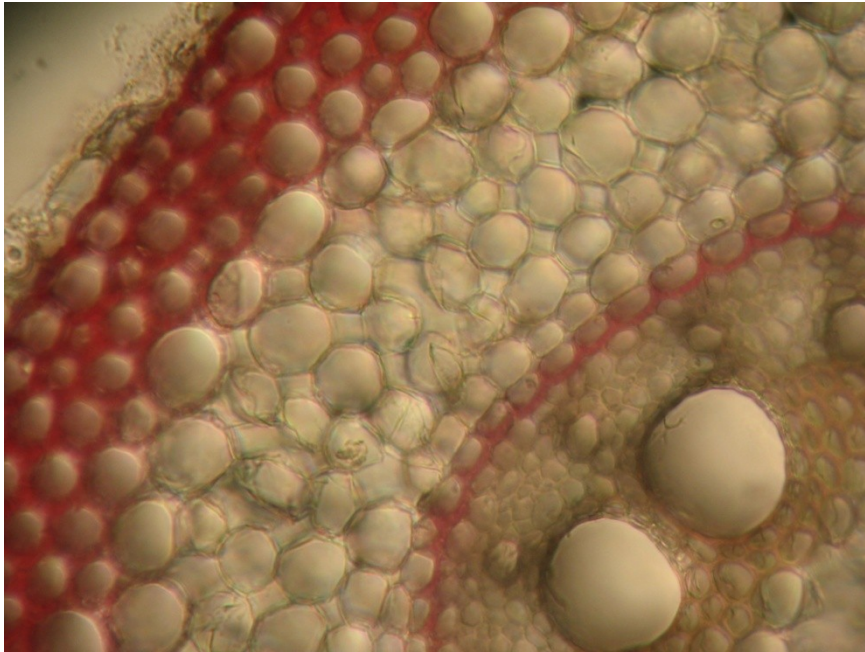


Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας
Τομέας Βιολογίας Φυτών
Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Βιοτεχνολογία και Εφαρμογές στη Γεωπονία»
Κατεύθυνση: Μοριακή Οικολογία και Ανίχνευση Γενετικά
Τροποποιημένων Οργανισμών



Συγκριτική μελέτη της απόκρισης επιλεγμένων λειτουργικών χαρακτηριστικών των οργάνων του υπέργειου μέρους και των βλαστογενών ριζών νεαρών φυτών αραβοσίτου, αναπτυσσομένων στο νερό ή υπό συνθήκες έλλειψης θειϊκών κατά τη βλαστητική φάση.

Πιτσιλαδής Αναστάσιος

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Αθήνα 2011

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

Δ. Μπουράνης, Καθηγητής
(Επιβλέπων)

Γ. Καραμπουρνιώτης, Καθηγητής
(Μέλος)

Σ. Χωριανοπούλου, Λέκτορας
(Μέλος)

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	4
1. Εισαγωγή.....	6
1.1 Ο αραβόσιτος (<i>Zea mays</i> L.) και η καλλιεργητική του σημασία.....	6
1.2 Μορφολογία και ανατομία νεαρού φυτού αραβόσιτου.....	6
1.3 Η βλάστηση του σπόρου.....	14
1.4 Το άζωτο μέσα στο φυτό.....	15
1.5 Το θείο μέσα στο φυτό.....	19
1.6 Οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή.....	21
1.7 Προσαρμογές στην αρχιτεκτονική και ανατομία της ρίζας ελλείπει θρεπτικών.....	23
1.8 Σκοπός της εργασίας.....	24
2. Πειραματικό μέρος.....	25
2.1 Φυτικό υλικό.....	25
2.2 Μεταχειρίσεις.....	25
2.3 Εγκατάσταση υδροπονικής καλλιέργειας.....	25
2.4 Πειραματικά σκέλη και δειγματοληψία.....	26
2.5 Υγρή καύση νωπού φυτικού ιστού μεθειικό οξύ.....	27
2.6 Προσδιορισμός αζώτου με τη μέθοδο Kjeldahl (Κένταλ).....	28
2.7 Προσδιορισμός της ποσότητας χλωροφυλλών και καροτενοειδών στα φύλλα.....	29
3. Αποτελέσματα.....	32
3.1 Προσδιορισμός ξηρής μάζας, υγρασίας, οργανικού αζώτου και χρωστικών.....	32
3.2 Μορφομετρικά και ανατομικά χαρακτηριστικά βλαστογενών ριζών πρώτου κόμβου.....	60
4. Συζήτηση.....	71
4.1 Σπόρος.....	71
4.2 Ριζικό Σύστημα.....	71
4.3 Υπέργειο τμήμα.....	72
5. Συμπεράσματα.....	75
5.1 Συμπεράσματα σχετικά με την ξηρή μάζα, την υγρασία, το οργανικό άζωτο και τις χρωστικές των φύλλων.....	75
5.2 Συμπεράσματα για τα μορφομετρικά και ανατομικά χαρακτηριστικά των βλαστογενών ριζών.....	77
6. Βιβλιογραφία.....	80

Περίληψη

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή μελετάει την επίδραση της πλήρους έλλειψης θρεπτικών και της έλλειψης θεικών ιόντων στον αραβόσιτο, κατά τα πρώτα αναπτυξιακά του στάδια. Για το σκοπό αυτό έγιναν μετρήσεις ξεχωριστά για το κάθε φυτικό όργανο, σε φυτά τα οποία αναπτύχθηκαν σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα και σε απιονισμένο νερό. Οι χαρακτήρες που μετρήθηκαν ήταν η ξηρή μάζα και η υγρασία, το αμμωνιακό άζωτο και στα φύλλα υπολογίστηκαν επίσης οι ποσότητες των χλωροφυλλών και των καροτενοειδών. Επιπλέον μελετήθηκαν μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά των βλαστογενών ριζών του πρώτου κόμβου σε τέσσερις διαφορετικές ζώνες της ρίζας. Σε αυτό το πειραματικό σκέλος εκτός από τα φυτά που αναπτύχθηκαν σε απιονισμένο νερό και σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα προστέθηκε μία ακόμη μεταχείριση, αυτή της έλλειψης θεικών ιόντων από το υπόστρωμα ανάπτυξης.

Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι στα φυτάρια που αναπτύχθηκαν σε απιονισμένο νερό υπάρχει μια καθυστέρηση στην τροφοδοσία, καθώς ο σπόρος χάνει ξηρή μάζα με πιο αργό ρυθμό. Ωστόσο η μεταχείριση δεν επηρέασε την πορεία αδειάσματος των αποθεμάτων οργανικού αζώτου του σπόρου.

Για το ριζικό σύστημα, η πρωτογενής και οι δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες βρέθηκε ότι έχουν αρκετά κοινά στοιχεία στη αναπτυξιακή τους πορεία. Το τμήμα της ρίζας που διαφοροποιείται εμφανώς σε όλους τους χαρακτήρες που μελετήθηκαν ήταν εκείνο των βλαστογενών ριζών. Είναι σαφής η προτεραιότητα που δίνεται στις βλαστογενείς ρίζες μετά τις πρώτες μέρες ανάπτυξης, κάτι που φαίνεται από τους ρυθμούς συσσώρευσης ξηρής μάζας, υγρασίας και αζώτου στο Control και τη συνεχή αύξηση μέχρι το τέλος του πειράματος στη μεταχείριση του απιονισμένου νερού, φαινόμενα που δεν παρατηρούνται στις εμβρυακές ρίζες. Το πρότυπο που αναγνωρίστηκε κατά την πλήρη έλλειψη θρεπτικών είναι ότι πυροδοτείται μία γρήγορη πρώτη ανάπτυξη στις βλαστογενείς ρίζες, που εκφράζεται ως σημαντικά μεγαλύτερη ξηρή μάζα σε σχέση με το Control.

Η μελέτη των μορφομετρικών και ανατομικών χαρακτηριστικών των βλαστογενών ριζών αποκάλυψε ότι η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επηρεάζει κυρίως το συνολικό εμβαδόν των αγγείων του ξύλου και λιγότερο τον αριθμό τους. Ο αριθμός των αγγείων του ξύλου είναι μεγαλύτερος στα πρώτα ηλικιακά στάδια της ρίζας και στη συνέχεια μειώνεται για όλες τις μεταχειρίσεις. Αντίθετα το συνολικό εμβαδόν των αγγείων αυξάνεται κατά τη διάρκεια του πειράματος στις μεταχειρίσεις της έλλειψης θεικών και στο Control. Γενικά το χαρακτηριστικό που επηρεάστηκε λιγότερο από την έλλειψη θρεπτικών ήταν ο αριθμός των αγγείων του ξύλου. Επίσης βρέθηκε ότι η έλλειψη θεικών επηρεάζει κυρίως τις διαμέτρους ρίζας και κεντρικού κυλίνδρου και τον αριθμό των αγγείων του ξύλου τις πρώτες μέρες και ειδικά τη 13^η μέρα του πειράματος. Η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επηρέασε κυρίως τις δύο διαμέτρους και το συνολικό εμβαδόν των αγγείων του ξύλου από τη μέση του πειράματος και μετά δηλαδή μετά τη 13^η μέρα μέχρι το τέλος. Τέλος οι περιοχές της ρίζας που επηρεάστηκαν λιγότερο από τη θρέψη είναι αυτές κοντά στη βάση της ρίζας.

Από τη μέτρηση του μήκους των βλαστογενών ριζών είδαμε ότι η πλήρης έλλειψη θρεπτικών και η έλλειψη θεικών από το διάλυμα ανάπτυξης δεν επέφερε σημαντικές αποκλίσεις από το Control, κατά τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια του αραβόσιτου.

Στα φύλλα βρέθηκε ότι η μειωμένη συσσώρευση αζώτου στη μεταχείριση του απιονισμένου νερού δε συνοδεύεται απαραίτητα από έλλειψη χλωροφυλλών, στις ίδιες χρονικές περιόδους. Κοινή παρατήρηση για τα δύο πρώτα φύλλα είναι ότι η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επιταχύνει τη διαδικασία της γήρανσης. Τα επόμενα φύλλα αποκτούν μικρότερο μέγεθος σε σχέση με το Control. Επίσης η έλλειψη θρεπτικών είχε ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της έκπτυξης νέων φυτομερών. Στο βλαστό περιορίστηκε από πολύ νωρίς η συσσώρευση ξηρής μάζας υγρασίας και αζώτου.

Επιστημονική περιοχή: Φυσιολογία θρέψης φυτού

Λέξεις κλειδιά: αραβόσιτος, θρεπτική καταπόνηση, ανατομικά χαρακτηριστικά, βλαστογενείς ρίζες, έλλειψη θείου, έλλειψη θρεπτικών στοιχείων

Abstract

This postgraduate thesis studies the influence that total nutrient deprivation and sulfur deprivation may have in maize plants, in the course of the first developmental stages. For this purpose, measurements have been conducted separately on each plant's organ, in seedlings that had been developed in either complete nutrient solution or deionized water. The measured features were dry mass, content water and organic nitrogen, whereas the amounts of chlorophylls and carotenoids in leaves were also estimated. Furthermore morphological and anatomical characteristics in crown (adventitious) roots were studied, in four different zones of the root. In this experimental part, except for seedlings that had been developed in complete nutrient solution and deionized water, a third treatment of sulfur deficiency was added.

The results showed that seedlings which had been developed in deionized water had a delay in supply, as the seed loses dry mass more slowly. However this treatment did not affect the course of draining of the reserved organic nitrogen in the seed.

In the root system, the primary and the seminal roots have been found to have many common features in their developmental course. The part of the root system that markedly differs in all studied characters was that of the crown roots. There is a clear priority given to crown roots after the first days of development, which is shown by the rate of accumulation of dry mass, content water and nitrogen in complete nutrient and the continuous increase in treatment of deionized water, until the end of the experiment, phenomena not observed in embryonic roots. The norm, recognized in deionized water, is that a rapid growth of the crown roots is triggered, expressed as significantly greater dry mass compared with complete nutrient solution.

The study of morphological and anatomical characteristics of crown roots revealed that the complete lack of nutrients primarily affects the total surface of xylem vessels rather than their number. The number of vessels in the xylem is greater in the early stages of root age and then decreases for all treatments. Unlike the total surface of vessels increases during the experiment in the absence of sulphate treatments and Control. Generally the trait less affected by lack of nutrients was the number of xylem vessels. We also found that lack of sulfate affects mainly root diameter, stele diameter and the number of xylem vessels in the early days and especially on the 13th day of the experiment. The complete lack of nutrients mainly affected the two diameters and the total area of xylem vessels from the 13th day until the end. Finally, the less affected root surfaces are those near the base of the root.

By measuring the length of the crown roots we saw that complete lack of nutrients and lack of sulphate from the solution did not have significant differences compared to Control, in the early developmental stages of maize.

In leaves, it was found that the reduced accumulation of nitrogen in the treatment of deionized water is not necessarily accompanied by a lack of chlorophyll, the same time periods. Common observation for the first two leaves is that complete lack of nutrients accelerates the aging process. The next leaves become smaller compared to Control. Also the lack of nutrients resulted in the delay of new phytomer development. At the shoot, the accumulation of dry mass, moisture and nitrogen was limited almost from the start of the experiment.

Scientific field: Plant Physiology of nutrition

Key words: maize, nutritional deficiency, anatomical traits, crown roots, sulfur deficiency, lack of nutrients

1. Εισαγωγή.

1.1 Ο αραβόσιτος (*Zea mays* L.) και η καλλιεργητική του σημασία.

Ο αραβόσιτος (κν. καλαμπόκι αγγλ.: corn ή maize) ανήκει στην οικογένεια Graminae ή Poaceae (αγρωστώδη) και αποτελεί το μοναδικό είδος του γένους *Zea*. Κατάγεται από την κεντρική Αμερική όπου καλλιεργείται επί χιλιάδες χρόνια. Είναι είδος μόνικο δίκλινο, φέρει την αρσενική ταξιανθία (φόβη) στην κορυφή και τη θηλυκή (σπάδικας) σε πλευρικές διακλαδώσεις, περίπου στο μέσο του βλαστού. Έχει γενικά μεγάλο ύψος, με μακριά λογχοειδή φύλλα, κατ' εναλλαγή τοποθετημένα σε ισχυρό στέλεχος. Το ριζικό σύστημα είναι θυσσανώδες με λίγες διακλαδώσεις και αποκτά ξυλώδη υφή. Ο καρπός του είναι καρύωση και μπορεί να έχει διάφορους χρωματισμούς, σχήματα και μεγέθη ανάλογα με το βιότυπο.

Διαχρονικά ο αραβόσιτος συγκαταλέγεται ανάμεσα στις σημαντικότερες καλλιέργειες. Καλλιεργείται κυρίως για παραγωγή καρπού αλλά και για παραγωγή βιομάζας λόγω των πολύ υψηλών αποδόσεων, συγκριτικά και με άλλα σιτηρά. Ο καρπός χρησιμοποιείται στην κτηνοτροφία, στη διατροφή του ανθρώπου και την παρασκευή υποπροϊόντων για βιομηχανική χρήση. Η βιομάζα προορίζεται για ενσίρωση και σαν νωπή ή ξηρή ζωοτροφή, ενώ έχει και άλλες χρήσεις όπως παραγωγή χαρτιού, αιθανόλης και βιοκαυσίμων.

1.2 Μορφολογία και ανατομία νεαρού φυτού αραβόσιτου.

1.2.1 Ο σπόρος.

Όπως αναφέρθηκε ο καρπός του αραβόσιτου είναι καρύωση, είναι δηλαδή είδος ξηρού καρπού, μονόσπερμου με πολύ λεπτό περικάρπιο που περιβάλλει στενά το σπόρο. Αποτελείται από τέσσερα τμήματα, το περικάρπιο, το ενδοσπέρμιο, το έμβryo και τον ποδίσκο.

Το περικάρπιο δημιουργείται από ιστούς της ωοθήκης μετά τη γονιμοποίηση. Αποτελείται από κυτταρίνη και ημικυτταρίνες και έχει ρόλο να προστατεύει το σπέρμα από εχθρούς και μολύνσεις. Το νερό και το οξυγόνο διαπερνούν τους ιστούς του περικαρπίου για να ξεκινήσει η βλάστηση.

Το ενδοσπέρμιο προέρχεται από τη συγχώνευση ενός από τους δύο σπερματικούς πυρήνες του γυρεόκοκκου με τους δύο πολικούς πυρήνες του εμβρυόσاکου, συνεπώς είναι τριπλοειδές. Αποτελείται από κύτταρα με λεπτά κυτταρικά τοιχώματα, τα οποία είναι γεμάτα με αμυλόκοκκους. Εκτός από υδατάνθρακες όμως, περιέχει πρωτεΐνες και μικρότερες ποσότητες ανόργανων αλάτων και ελαίων. Χωρίζεται με βάση την υφή του σε υαλώδες και αλευρώδες ενδοσπέρμιο. Ο τρόπος που κατανέμονται τα δύο αυτά είδη στον καρπό επηρεάζει διάφορα χαρακτηριστικά του, όπως το σχήμα και τη σκληρότητά του. Οι εξωτερικές στρώσεις κυττάρων του ενδοσπερμίου διαθέτουν παχιά κυτταρικά τοιχώματα και συγκροτούν διαφοροποιημένο ιστό, που ονομάζεται αλευρώνη. Η αλευρώνη περιέχει μεγάλες πρωτεϊνικές δομές, τα πρωτεϊνικά σώματα, τα οποία περικλείονται σε μεμβράνες (Salisbury and Ross, 1991). Το ενδοσπέρμιο ουσιαστικά είναι ο πόλος

τροφοδοσίας του αρτίβλαστου και είναι εξοπλισμένο με όλα τα απαραίτητα υλικά για τη διαδικασία της βλάστησης, μέχρι το φυτάριο να γίνει αυτότροφο.



Εικόνα 1: Επιμήκης τομή καρπού αραβόσιτου (υβρίδιο Cisco Syngenta) όπου φαίνεται πλευρικά το υαλώδες και εσωτερικά το αλευρώδες ενδοσπέρμιο.

Το έμβρυο είναι μία μικρογραφία του φυτού και φέρει τις καταβολές των πρώτων οργάνων του. Είναι το αποτέλεσμα της ένωσης του δεύτερου σπερματικού πυρήνα του γυρεόκοκκου με το ωκύτταρο. Αποτελείται από τον εμβρυακό άξονα και το ασπίδιο. Στον εμβρυακό άξονα διακρίνουμε το πτερίδιο, το μεσοκοτύλιο και το ριζίδιο. Το πτερίδιο φέρει το σημείο αύξησης και διαφοροποιημένες καταβολές των πρώτων πέντε φύλλων του φυτού. Καλύπτεται από το κολεόπτιλο, έναν προστατευτικό ιστό, που λόγω του ατρακτοειδούς σχήματος βοηθάει στην ανάδυση του φυταρίου από το έδαφος. Το μεσοκοτύλιο είναι το όργανο που στηρίζει το φυτό και συνδέει το ριζικό με το υπέργειο μέρος. Επίσης φέρει τις καταβολές των δευτερογενών εμβρυακών ριζών και συμβάλλει ουσιαστικά με την επιμήκυνσή του, στην ανάδυση του φυταρίου. Το ριζίδιο θα εξελιχθεί στην πρωτογενή εμβρυακή ρίζα και καλύπτεται από την κολεόρριζα, που έχει και αυτή προστατευτικό χαρακτήρα. Το ασπίδιο ή κοτύλη διαθέτει εξειδικευμένα κύτταρα που υδρολύουν το άμυλο του ενδοσπερμίου και μεταφέρουν τα προϊόντα στον εμβρυακό άξονα. Το έμβρυο στο σύνολό του έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε έλαια και πρωτεΐνες καθώς και το μεγαλύτερο ποσοστό των ανόργανων θρεπτικών του καρπού.

Τέλος ο ποδίσκος είναι το όργανο με το οποίο στηρίζεται ο καρπός πάνω στο σπάδικα και μεταφέρει υλικά από το μητρικό φυτό κατά το γέμισμα του καρπού. Έχει προκύψει από τη χάλαζα της σπερματικής βλάστης μετά τη γονιμοποίηση.

Βοτανικά, σπόρος ή σπέρμα του αραβόσιτου είναι ο καρπός χωρίς το περικάρπιο. Στην εικόνα 2 παρατηρούμε σε μεγέθυνση το σπόρο του αραβόσιτου, στον οποίο έχει μόλις ξεκινήσει τη διαδικασία της βλάστησης. Είναι εμφανής η διόγκωση του ριζιδίου μετά από την ενυδάτωση των ιστών.

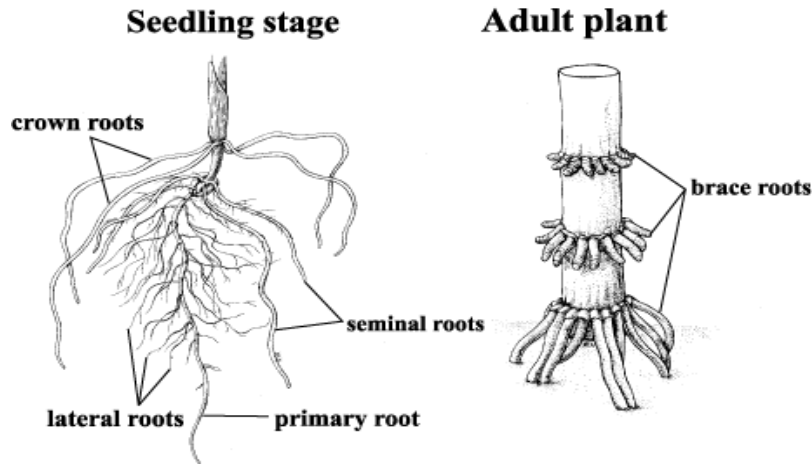


Εικόνα 2: Επιμήκης τομή σπέρματος αραβόσιτου. Διακρίνονται: περικάρπιο, ενδοσπέρμιο, ασπίδιο, περικότιο, κολεόπτιλο, καταβολές φύλλων, μεσοκοτύλιο, ριζίδιο κολεόρριζα, καλύπτρα.

1.2.2 Το ριζικό σύστημα.

Ο αραβόσιτος στα αρχικά στάδια της βλάστησης αναπτύσσει γρήγορα το ριζικό του σύστημα, το οποίο χωρίζεται σε εμβρυακό και μετεμβρυακό (Abbe and Stein, 1954). Το εμβρυακό ριζικό σύστημα αποτελείται από μία πρωτογενή εμβρυακή ρίζα (primary root ή radicle), η οποία προέρχεται από την επιμήκυνση του ριζιδίου και από τις δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες (seminal roots) οι οποίες εκπτύσσονται από το ασπίδιο. Ο αριθμός των δευτερογενών εμβρυακών ριζών ποικίλει από 0 έως 13 και εξαρτάται άμεσα από το γενετικό υπόβαθρο του φυτού. Το μετεμβρυακό ριζικό σύστημα αποτελείται από ρίζες που εκπτύσσονται από το βλαστό, οι οποίες χωρίζονται σε βλαστογενείς ή μόνιμες ρίζες (adventitious ή crown roots) και εναέριες ρίζες (aerial ή brace roots) και αργότερα στην εξέλιξη του φυτού θα αποτελέσουν το κύριο ριζικό σύστημα. Οι βλαστογενείς ρίζες σχηματίζονται από τους πρώτους κόμβους του φυταρίου κάτω από το έδαφος. Οι εναέριες ρίζες σχηματίζονται πολύ αργότερα, συνήθως όταν έχει ολοκληρωθεί η διαφοροποίηση των φύλλων από το κορυφαίο μερίστωμα και εκπτύσσονται από τους πρώτους κόμβους πάνω από το έδαφος. Από τον άξονα κάθε κύριας ρίζας εκπτύσσονται οι πλευρικές ρίζες (lateral roots), οι οποίες κατατάσσονται επίσης στο μετεμβρυακό ριζικό σύστημα (Hochholdinger et al., 2004). Οι πλευρικές ρίζες παίζουν σπουδαίο ρόλο στην αρχιτεκτονική της ρίζας, καθώς είναι υπεύθυνες για την πρόσληψη του μεγαλύτερου μέρους του νερού και των θρεπτικών στοιχείων για το φυτό, λόγω της μεγάλης ικανότητας διακλάδωσής τους. Αυτός ο τύπος ριζών διαφέρει από τις κύριες ρίζες καθώς είναι συνήθως πολύ κοντές, αντιδρούν περισσότερο στην ξηρασία και χάνουν γρήγορα την αποτελεσματικότητά τους (Wang et al., 1991; Varney et al., 1991). Οι κύριοι τύποι των ριζών φαίνονται στην εικόνα 3.

Major root types of maize



drawings by: Miwa Kojima, Schnable lab, ISU

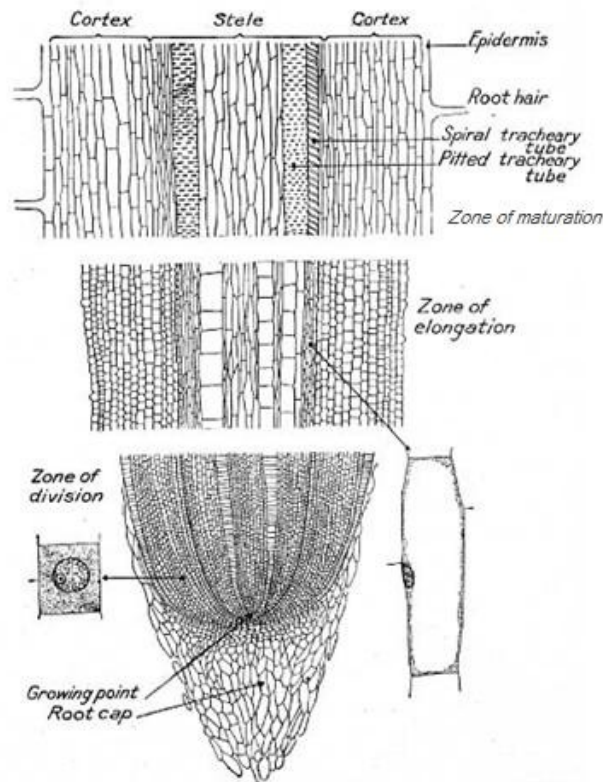
Εικόνα 3: Οι τύποι ριζών του αραβόσιτου.

Το ριζικό σύστημα του αραβόσιτου αναπτύσσεται πολύ γρήγορα σε σχέση με το υπέργειο μέρος. Οι βλαστογενείς ρίζες στα πρώτα στάδια της βλάστησης αναπτύσσονται πλάγια και περιορίζονται στα πρώτα 30 cm του εδάφους. Το εμβρυακό ριζικό σύστημα είναι δυνατό να παραμένει ενεργό καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του φυτού και να φτάσει σε βάθος 1,5 μέτρου.

Στην εικόνα 4 φαίνεται σε επιμήκη τομή η νεαρή ρίζα του αραβόσιτου, στην οποία διακρίνονται κατά μήκος τέσσερις ζώνες ανάπτυξης: η καλύπτρα, η μεριστωματική περιοχή, η ζώνη επιμήκυνσης και η ζώνη ωρίμανσης της ρίζας (Ishikawa, 1995; 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. Τα κύτταρα της καλύπτρας ανανεώνονται διαρκώς, καθώς μερικά από αυτά καταστρέφονται κατά την διείσδυση της ρίζας. Τέλος 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 της ρίζας, μία 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 τα εξειδικευμένα κύτταρα των ιστών της νέας ρίζας.

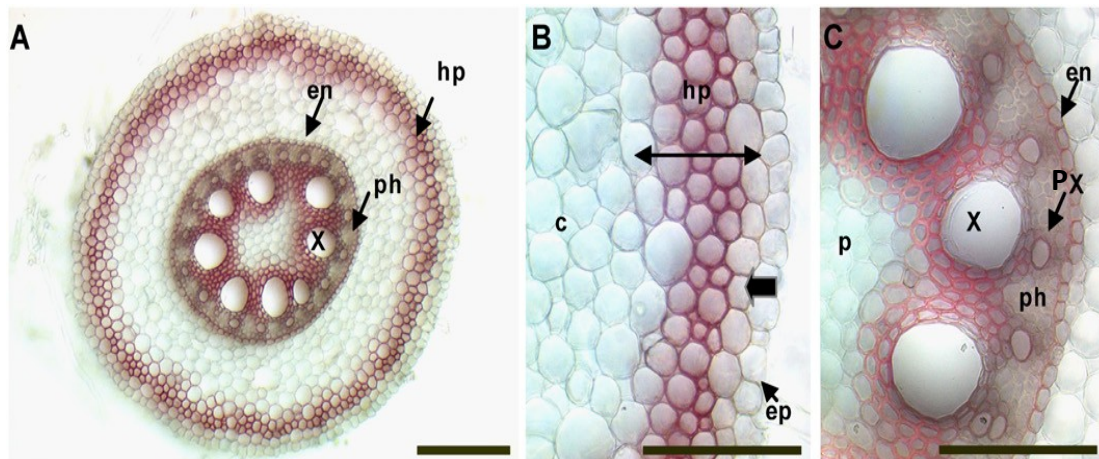


Εικόνα 4: Οι ζώνες ανάπτυξης της ρίζας: καλύπτρα, μεριστωματική περιοχή, ζώνη επιμήκυνσης και ζώνη ωρίμανσης.

Η αμέσως επόμενη περιοχή είναι η ζώνη επιμήκυνσης στην οποία τα νέα κύτταρα αυξάνουν γρήγορα σε όγκο για να πάρουν 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, αντιδρώντας έτσι στα ερεθίσματα που δέχεται η καλύπτρα, καθώς μεταβάλλει την κατεύθυνση της ρίζας.

Τέλος υπάρχει η ζώνη ωρίμανσης ή διαφοροποίησης όπου τα κύτταρα του ξύλου και της ενδοδερμίδας διαφοροποιούνται και καθίστανται λειτουργικοί οι αγωγοί ιστοί της ρίζας. Στη ζώνη αυτή έχουμε δημιουργία ριζικών τριχιδίων, που προεκβάλλουν από τα κύτταρα της επιδερμίδας, αυξάνοντας σημαντικά την επιφάνεια απορρόφησης. Επίσης από τη ζώνη διαφοροποίησης εκπτύσσονται οι πλάγιες ρίζες.

Η παρακάτω εικόνα δείχνει την αρχιτεκτονική της ρίζας σε εγκάρσια τομή (Guillaumie et al., 2007). Όλοι οι τύποι ριζών έχουν την ίδια αρχιτεκτονική. Από την περιφέρεια προς το κέντρο συναντάμε την επιδερμίδα, το φλοιό και τον κεντρικό κύλινδρο (Taiz and Zeiger, 2006).



Εικόνα 5: Α. Εγκάρσια τομή ρίζας, διακρίνονται υποδερμίδα (hp), ενδοδερμίδα (en), ηθμώδες αγγειακό σύστημα (ph), ξυλώδες αγγειακό σύστημα (x). Β. Λεπτομέρεια ρίζας, διακρίνονται επιδερμίδα (ep), ζώνες υποδερμίδας (hp), φλοιώδες παρέγχυμα (c). C. Λεπτομέρεια κεντρικού κυλίνδρου, ενδοδερμίδα (en), αγγεία ηθμού (ph), πρωτοξυλικά (px) και μεταξυλικά αγγεία (x), παρέγχυμα εντεριώνης (p). (Guillaumie et al., 2007).

Η επιδερμίδα ή ριζοδερμίδα (epidermis) αποτελείται από μια στοιβάδα κυττάρων στενά συνδεδεμένων μεταξύ τους. Τα κύτταρα αυτά είναι λεπτότοιχα και καλύπτονται από υποτυπώδη εφυμενίδα. Όπως αναφέρθηκε ορισμένα από τα επιδερμικά κύτταρα προεκβάλλουν προς το εδαφικό περιβάλλον σχηματίζοντας ριζικά τριχίδια. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται τριχοβλάστες. 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. Η επιφάνεια απορρόφησης των ριζικών τριχιδίων αποτελεί ως και το 70% της ολικής επιφάνειας της ρίζας (Lopez-Bucio et al., 2003). Τα ριζικά τριχίδια είναι βραχύβια και ανανεώνονται από τους νέους ιστούς της αυξανόμενης ρίζας (Freeling and Walbot, 1994).

Το φλοιώδες παρέγχυμα ή φλοιός (cortex) είναι το τμήμα της ρίζας που παρεμβάλλεται μεταξύ της επιδερμίδας και του κεντρικού κυλίνδρου. Μέσω του φλοιού πραγματοποιείται η αποπλασμική και συμπλασμική κίνηση νερού και ουσιών από την επιδερμίδα προς τον κεντρικό κύλινδρο. Εκτός από τη διακίνηση ο φλοιός έχει και αποταμιευτικό χαρακτήρα. Κάτω από τα κύτταρα της επιδερμίδας βρίσκονται στρώσεις κυττάρων που συγκροτούν την υποδερμίδα. Τα κύτταρα αυτά έχουν παχιά κυτταρικά τοιχώματα εξαιτίας της έντονης εναπόθεσης λιγνίνης και σουβερίνης, παρέχοντας έτσι προστασία στη ρίζα με το σκληρογυματικό ιστό που συγκροτούν, εξασφαλίζοντας ταυτόχρονα την υδραυλική μόνωση της ρίζας. (Freeling and Walbot, 1994; Zeier et al., 1999).

Η εσωτερη στρώση κυττάρων του φλοιού ονομάζεται ενδοδερμίδα (endodermis). Αποτελείται από κύτταρα όπου στα τοιχώματά τους που 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 φλοιό.

Εσωτερικά της ενδοδερμίδας εφάπτεται μία στιβάδα 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 των πλάγιων ριζών (Freeling and Walbot, 1994).

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

1.2.3 Το υπέργειο μέρος.

Το υπέργειο μέρος του αραβόσιτου αποτελείται από επιμέρους δομικές μονάδες, οι οποίες ονομάζονται φυτομερές. Κάθε ένα φυτομερές αποτελείται από ένα φύλλο, τον κόμβο έκφυσης με την καταβολή του οφθαλμού και το υπερκείμενο μεσογονάτιο διάστημα. Κάθε νέο φυτομερές εκφύεται μέσα από το φυτομερές που έχει εκπτυχθεί νωρίτερα (Morrison et al., 1994).

Στα πρώτα στάδια της ανάπτυξης ο βλαστός αποτελείται ουσιαστικά από τους κόμβους και το κορυφαίο μερίστωμα. Το σημείο αύξησης του φυταρίου βρίσκεται κοντά ή και κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Οι κόμβοι διαφοροποιούνται με γρήγορο ρυθμό αλλά τα μεσογονάτια διαστήματα δεν επιμηκύνονται πριν ολοκληρωθεί ο σχηματισμός όλων των οργάνων του υπέργειου. Έτσι ο βλαστός μένει βραχύς με κωνικό σχήμα και καλύπτεται από τους κολεούς των φύλλων. Στην εικόνα 6 φαίνεται σε μεγέθυνση ο βλαστός με τους κόμβους και το κορυφαίο μερίστωμα φυταρίου αραβόσιτου σε επιμήκη τομή. Επίσης φαίνεται η σύνδεση του βλαστού με τον κολεό του εμβρυακού φύλλου.

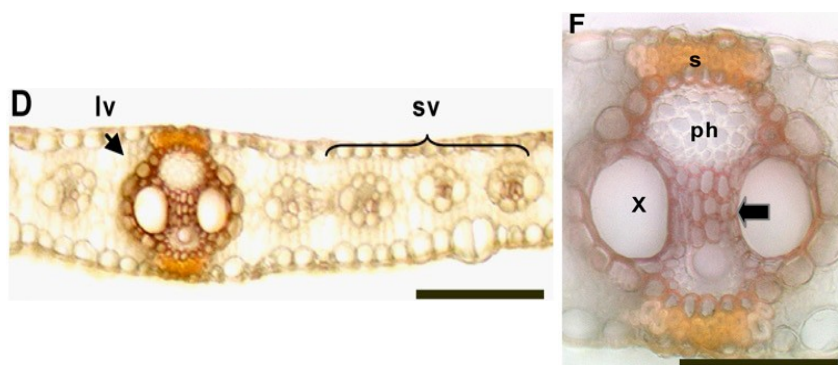


Εικόνα 6: Βλαστός και κορυφαίο μερίστωμα φυταρίου αραβόσιτου σε επιμήκη τομή.

Το κορυφαίο μερίστωμα είναι επιφορτισμένο με τη δημιουργία νέων οργάνων του υπέργειου. Όταν ολοκληρωθεί η διαδικασία του σχηματισμού των φύλλων το κορυφαίο μερίστωμα μεταπίπτει σε αναπαραγωγική καταβολή, η οποία θα εξελιχθεί σε φόβη.

Τα φύλλα του αραβόσιτου εκφύονται κατ' εναλλαγή από το βλαστό. Όπως σε όλα τα αγρωστώδη, αποτελούνται από τον κολεό και το έλασμα. Ο κολεός προστατεύει το βλαστό και το κορυφαίο μερίστωμα και αργότερα παρεμποδίζει τη θραύση των μεσογονατίων. Στο σημείο ένωσης του κολεού με το έλασμα υπάρχει η γλωσσίδα, η οποία προσφύεται στον αναπτυσσόμενο βλαστό και αποτρέπει την είσοδο του νερού. Το έλασμα του αραβόσιτου είναι λογχοειδές, στενό και επίμηκες, με παράλληλη νεύρωση. Κατά την ανάπτυξή του ξετυλίγεται σταδιακά μέσα από το προηγούμενο φύλλο. Το εμβρυακό φύλλο είναι πιο βραχύ από τα επόμενα φύλλα.

Η ανατομική κατασκευή του φύλλου φαίνεται στη εικόνα 7 (Guillaumie et al., 2007). Σε αυτή διακρίνουμε τις άνω και κάτω επιδερμίδες και το μεσόφυλλο. Η κάθε επιδερμίδα αποτελείται από μία στρώση επιδερμικών κυττάρων, τα οποία δε διαθέτουν χλωροπλάστες. Όλη η επιφάνεια της επιδερμίδας καλύπτεται από μία λεπτή στρώση εφυμενίδας. Και στις δύο επιφάνειες του φύλλου υπάρχουν στοματίδια. Επίσης στην επιδερμίδα υπάρχουν κύτταρα συστροφής και τρίχες. Ρόλος της είναι η προστασία του φύλλου από εξωτερικούς παράγοντες, η ρύθμιση της ανταλλαγής των αερίων και η ψύξη του φύλλου μέσω των στοματιών.



Εικόνα 7: Ανατομική κατασκευή φύλλου αραβόσιτου. D. Εγκάρσια τομή, διακρίνονται κεντρική ηθμαγγειώδης δεσμίδα (lv), ηθμαγγειώδεις δεσμίδες (sv). F. Λεπτομέρεια κεντρικής ηθμαγγειώδους δεσμίδας, διακρίνονται αγγεία ξύλου (x), αγγεία ηθμού (ph), στομάτιο (s) (Guillaumie et al., 2007).

Το μεσόφυλλο περιλαμβάνει δύο τύπους φωτοσυνθετικών κυττάρων τα οποία βρίσκονται περιφερειακά των ηθμαγγειωδών δεσμίδων. Εξωτερικά βρίσκονται τα κύτταρα του μεσοφύλλου τα οποία διαθέτουν λεπτά κυτταρικά τοιχώματα και συνδέονται χαλαρά μεταξύ τους. Εσωτερικά και σε επαφή με την ηθμαγγειώδη δεσμίδα υπάρχουν τα κύτταρα του παρεγχυματικού κολεού τα οποία διαθέτουν παχιά κυτταρικά τοιχώματα και μεγάλο αριθμό χλωροπλάστων, ενώ συνδέονται στενά μεταξύ τους. Τα κύτταρα του μεσοφύλλου δεσμεύουν το διοξείδιο του άνθρακα μέσω της C₄ φωτοσυνθετικής οδού και το προωθούν στα κύτταρα του παρεγχυματικού κολεού. Εκεί παράγονται εκ νέου ενώσεις του άνθρακα, μέσω του κύκλου του Calvin και προωθούνται στις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες.

1.3 Η βλάστηση του σπόρου.

Ο σπόρος του αραβόσιτου βλαστάνει όταν οι συνθήκες υγρασίας, θερμοκρασίας και αερισμού το επιτρέψουν. Συγκεκριμένα η ελάχιστη θερμοκρασία βλάστησης είναι 10° C, με άριστη θερμοκρασία τους 20° C (Aldrich et al., 1975). Αρχικά υπάρχει μία φάση διόγκωσης του σπέρματος και ειδικά του εμβρύου, το οποίο απορροφάει υγρασία μέσω του περικαρπίου. Στη συνέχεια παρατηρείται ανάπτυξη του ριζιδίου, σκίσιμο του περικαρπίου και της κολεόρριζας και έτσι εκπτύσσεται η πρωτογενής εμβρυακή ρίζα. Στο επόμενο στάδιο εμφανίζεται το πτερίδιο και παράλληλα σχεδόν εκπτύσσονται οι δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες. Το μεσοκοτύλιο επιμηκύνεται για να αναδυθεί τελικά το πτερίδιο από το έδαφος. Ακολουθεί το σκίσιμο του κολεοπίλου και η εμφάνιση του εμβρυακού φύλλου. Το φυτάριο σε αυτή τη φάση έχει αρχίσει να απορροφάει θρεπτικά στοιχεία από το εδαφικό διάλυμα και σταδιακά εξαρτάται όλο και λιγότερο από την τροφοδοσία του σπέρματος, μέχρι να γίνει αποκλειστικά αυτότροφο.

1.3.1 Ορμονικός έλεγχος της ωρίμανσης και του φυτρώματος του σπόρου.

Στη διαδικασία της ωρίμανσης και της έναρξης του φυτρώματος του αραβόσιτου εμπλέκονται δύο ορμονικοί παράγοντες, οι γιββερελλίνες και το αμψισικό οξύ (White et al., 2000). Οι δύο ορμόνες είναι ανταγωνιστικές μεταξύ τους και φαίνεται ότι η ισορροπία των δύο, ελέγχει την έναρξη του φυτρώματος στο σύστημα που περιγράφεται.

Το αμψισικό οξύ (ABA) δρα παρεμποδιστικά στη διαδικασία του φυτρώματος. Έχει βρεθεί ότι συντίθεται κυρίως στο έμβρυο. Υπάρχει μία περίοδος αύξησης του ABA κατά την εμβρυογένεση, η οποία φτάνει στο ανώτατο σημείο πριν τη φυσιολογική ωρίμανση του καρπού και στη συνέχεια παρατηρείται φάση σταδιακής μείωσης. Το ABA ευθύνεται για τη μείωση της υδατοπεριεκτικότητας του σπόρου και την ανεκτικότητα του εμβρύου στην αφυδάτωση (Taiz and Zeiger, 2006). Έτσι ο μεταβολισμός ελαχιστοποιείται και ο σπόρος εισέρχεται σε ανενεργή φάση. Υπάρχουν περιπτώσεις γονοτύπων αραβόσιτου που βλαστάνουν πρόωρα πάνω στο μητρικό φυτό. Οι περιπτώσεις αυτές αφορούν σε μεταλλαγή του γονιδίου που σχετίζεται με τη σύνθεση του ABA, ή σε άλλους γονότυπους στην έλλειψη αντίδρασης στο ABA (Robertson, 1955; Neil et al., 1986).

Όταν ο σπόρος φτάσει στη φυσιολογική του ωρίμανση τα επίπεδα του ABA έχουν μειωθεί σημαντικά. Ο αραβόσιτος δεν περνάει φάση ληθάργου και μόλις έρθει σε επαφή με υγρασία και οξυγόνο βλαστάνει. Έτσι, όταν υπάρχουν ιδανικές συνθήκες αρχίζει η δράση των γιββερελλινών (GAs), οι οποίες αντίθετα από το ABA επάγουν τη βλάστηση. Οι γιββερελλίνες συντίθενται στο έμβρυο, αμέσως μετά την ενυδάτωσή του και διαχέονται μέσω του ενδοσπερμίου μέχρι το στρώμα της αλευρώνης. Εκεί επάγουν τη σύνθεση υδρολυτικών ενζύμων και συγκεκριμένα α- και β-αμυλασών, οι οποίες διοχετεύονται στο αμυλώδες ενδοσπέρμιο. Έτσι ξεκινάει η διαδικασία της υδρόλυσης του αμύλου. Παράλληλα, πρωτεολυτικά ένζυμα δρουν στο πρωτεϊνικό απόθεμα του ενδοσπερμίου παράγοντας αμινοξέα. Το επιθήλιο του ασπιδίου αναλαμβάνει στη συνέχεια να προωθήσει σάκχαρα και αμινοξέα στον εμβρυακό άξονα για να συντεθούν νέα βιομόρια και να παραχθεί μεταβολική ενέργεια. Οι GAs

δρουν επίσης στα κύτταρα του ριζιδίου και του περιδίου επάγοντας την επιμήκυνση και τη διαίρεσή τους. Έτσι μακροσκοπικά παρατηρείται η έκπτυξη του ριζιδίου και του περιδίου.

Μετά την έναρξη του φυτρώματος, δύο ακόμα ορμονικοί παράγοντες εμπλέκονται, εκτός από τις GAs, στη βλάστηση. Το ινδολοξικό οξύ (IAA) συντίθεται στο έμβρυο και ιδιαίτερα στην περιοχή του περιδίου και επάγει τις γρήγορες διαιρέσεις των νεαρών κυττάρων. Μετά την πρώτη ανάπτυξη του φυτού το IAA παράγεται περισσότερο στα νεαρά φύλλα και στο κορυφαίο μερίστωμα αλλά και σε μικρότερο βαθμό στη μεριστωματική ζώνη του ακροριζίου. Εκτός του IAA, στα ακραία μεριστώματα των ριζών συντίθενται και κυτοκινίνες, οι οποίες μέσω του ξυλώδους αγγειακού συστήματος, μεταφέρονται σε ολόκληρο το φυτό. Επάγουν την κυτταρική διαίρεση και τη διαφοροποίηση των νέων ιστών, δρώντας έτσι συνεργιστικά με το IAA. Γενικά παρουσία κυτοκινινών συνεπάγεται αύξηση της μεταβολικής δραστηριότητας, προσέλκυση μεταβολιτών και αναστολή της διαδικασίας γήρανσης του οργάνου. Τέλος έχει βρεθεί ότι το άζωτο προάγει τη σύνθεση κυτοκινινών στις ρίζες και επομένως τα επίπεδά τους σε ολόκληρο το φυτό (Samuelson et al., 1992; Forde, 2002).

1.4 Το άζωτο μέσα στο φυτό.

Το άζωτο είναι το τέταρτο κατά σειρά αφθονίας στοιχείο στο φυτικό σώμα μετά τον άνθρακα, το οξυγόνο και το υδρογόνο. Όλες σχεδόν οι λειτουργίες του φυτού έχουν ανάγκη, άμεσα ή έμμεσα, το άζωτο προκειμένου να πραγματοποιηθούν. Έτσι λοιπόν εμπλέκεται σε όλα τα μονοπάτια βιοσύνθεσης των αμινοξέων και κατ' επέκταση στο σχηματισμό όλων των πρωτεϊνών που προκύπτουν από αυτά. Ένα μεγάλο μέρος του αζώτου χρησιμοποιείται στη σύνθεση νουκλεϊνικών οξέων του κυττάρου. Βρίσκεται ακόμα στις χλωροφύλλες α και β παίζοντας έτσι σημαντικό ρόλο στη φωτοσυνθετική διαδικασία. Επειδή αποτελεί κομμάτι πολλών σημαντικών ενζύμων, παίρνει μέρος σε ένα μεγάλο αριθμό αντιδράσεων μέσα στο φυτικό σώμα. Αποτελεί ακόμα σημαντικό δομικό στοιχείο αφού συμμετέχει σε πολλές δομικές κατασκευές.

1.4.1 Αφομοίωση των νιτρικών.

Ο αραβόσιτος όπως και τα περισσότερα φυτά προσλαμβάνουν το άζωτο με δύο μορφές, σαν νιτρικό ανιόν και σαν αμμωνιακό κατιόν. Υπό κανονικές συνθήκες αερισμού και pH του εδάφους και με ικανό αριθμό νιτροποιητικών μικροοργανισμών, το άζωτο βρίσκεται κυρίως σε νιτρική μορφή στο εδαφικό διάλυμα. Αυτό ωστόσο δε δείχνει προτίμηση του αραβόσιτου στο νιτρικό έναντι του οργανικού, καθώς πειράματα που έχουν διεξαχθεί έδειξαν ότι αφομοιώνει και τις δύο πηγές αζώτου εξίσου καλά (Nelson, 1956).

Το νιτρικό ανιόν (NO_3^-) το οποίο βρίσκεται στον αποπλασματικό χώρο του επιδερμικού κυττάρου της ρίζας, εισέρχεται με εξειδικευμένο πρωτεϊνικό μεταφορέα μέσα στο κυτταρόπλασμα, με ταυτόχρονη μεταφορά H^+ ή άλλων κατιόντων. Εκεί υπάρχει το ένζυμο αναγωγή (ρεδουκτάση) του νιτρικού, η οποία ανάγει το νιτρικό ανιόν σε νιτρώδες (NO_2^-). Ακολουθεί η διακίνηση του νιτρώδους με μεταφορέα στο

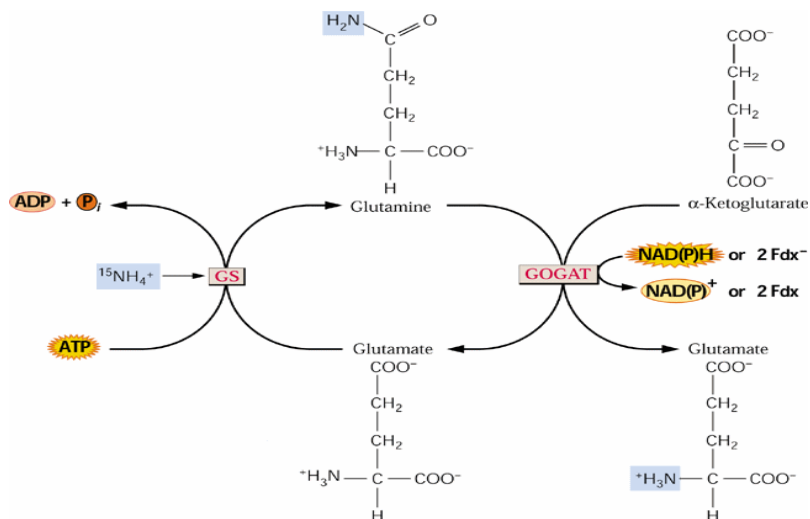
πλαστίδιο του κυττάρου, όπου και ανάγεται με την αναγωγή του νιτρώδους σε αμμώνιο (NH_4^+).

Η περίσσεια των αμμωνιακών και των νιτρικών ιόντων αποθηκεύεται στο χυμοτόπιο του κυττάρου και αποδεσμεύεται όταν τα επίπεδα στο κυτταρόπλασμα είναι χαμηλά. Εναλλακτικά το νιτρικό μπορεί να μεταφερθεί μέσω του ξυλώδους αγγειακού συστήματος στα φωτοσυνθετικά κύτταρα του φύλλου και να αναχθεί αρχικά σε νιτρώδες στο κυτταρόπλασμα και στη συνέχεια σε αμμώνιο στο χλωροπλάστη. Το ποσοστό του νιτρικού που θα μεταφερθεί στα φύλλα δεν είναι σταθερό και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, που έχουν να κάνουν με την ηλικία του φυτού και με το ρυθμό εισόδου των ιόντων στη ρίζα (Taiz and Zeiger, 2006). Γενικά όταν υπάρχουν μικρές ποσότητες νιτρικών αυτές ανάγονται στη ρίζα. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι το νιτρικό ανιόν δε μεταφέρεται μέσω του ηθμώδους αγγειακού συστήματος, κάτι που σημαίνει ότι δεν υπάρχει ανακύκλωση του αποθηκευμένου νιτρικού από τα νεότερα στα παλαιότερα φύλλα.

1.4.2 Αφομοίωση των αμμωνιακών.

Το αμμώνιο είναι τοξικό σε μεγάλες συγκεντρώσεις για τους φυτικούς και τους ζωικούς οργανισμούς επειδή καταστρέφει την ηλεκτρική ισορροπία μεταξύ των μεμβρανών, η οποία είναι απαραίτητη για τη φωτοσυνθετική και την αναπνευστική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και για το λόγο αυτό δεν πρέπει να συσσωρεύεται στους ιστούς (Taiz and Zeiger, 2006). Έτσι υπάρχει ένα σύστημα που δεσμεύει αμέσως το αμμώνιο μόλις παραχθεί. Το γλουταμινικό (glutamate) και το α-κετογλουταρικό (α-ketoglutarate) είναι οι δύο πρώτοι αποδέκτες του αμμωνίου.

Το ένζυμο συνθέτωση της γλουταμίνης (GS) καταλύει την αντίδραση της δέσμευσης του αμμωνίου από το γλουταμινικό, όπου παράγεται γλουταμίνη (glutamine). Υψηλές συγκεντρώσεις γλουταμίνης μέσα στο πλαστίδιο, ενεργοποιούν το ένζυμο συνθάση του γλουταμινικού (GOGAT), που μεταφέρει το αμιδικό άζωτο από τη γλουταμίνη στο α-κετογλουταρικό, παράγοντας έτσι δύο μόρια γλουταμινικού. Ισότυποι του GS βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα, στα πλαστίδια της ρίζας και στους χλωροπλάστες. Στα πλαστίδια της ρίζας και στο αγγειακό σύστημα υπάρχει επίσης το GOGAT. Το σύστημα των δύο ενζύμων συνεργάζεται στενά για να παρέχει τη γλουταμίνη και το γλουταμινικό, που αποτελούν κομβικά αμινοξέα στη σύνθεση άλλων αζωτούχων ενώσεων. Στην εικόνα 8 παρουσιάζεται σχηματικά η αφομοίωση του αμμωνίου μέσω του συστήματος GS-GOGAT.



Εικόνα 8: από αριστερά, αφομοίωση του αμμωνίου από το γλουταμινικό και παραγωγή γλουταμίνης, απόσπαση αμινομάδας από τη γλουταμίνη και τοποθέτησή της στο α -κετογλουταρικό συνθέτοντας γλουταμινικό.

Εναλλακτικά της προηγούμενης μεταβολικής οδού, μπορεί να αφομοιωθεί αμμώνιο με το ένζυμο αφυδρογονάση του γλουταμινικού (GDH), που καταλύει την ακόλουθη αμφίδρομη αντίδραση:



Το ένζυμο βρίσκεται στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες των φωτοσυνθετικών οργάνων. Αν και υπάρχει σχετική αφθονία του ενζύμου, δεν μπορεί να υποκαταστήσει το μηχανισμό GS-GOGAT για την αφομοίωση του αμμωνίου. Ο κύριος ρόλος του GDH είναι η απαμίνωση του γλουταμινικού, δηλαδή η αντίστροφη πορεία, κατά την ανακατανομή του αζώτου στους ιστούς και τα όργανα.

1.4.3 Διακίνηση του αζώτου στο φυτικό σώμα.

Το μητρικό φυτό έχει εξοπλίσει το σπόρο με αποθέματα αζώτου που υπάρχουν κυρίως στα πρωτεϊνικά σώματα της αλευρώνης και στο έμβρυο. Με την έναρξη του φυτρώματος, πρωτεάσες και πεπτιδάσες υδρολύουν τις πρωτεΐνες σε αμινοξέα και αμίδια. Αυτά τα υλικά διοχετεύονται στο έμβρυο για να συντεθούν νέες πρωτεΐνες και νουκλεϊνικά οξέα για τα νέα κύτταρα. Όσο προχωράει η ανάπτυξη του εμβρύου οργανώνεται το αγγειακό σύστημα, το οποίο αναλαμβάνει το ρόλο της μεταφοράς σε μεγάλη απόσταση. Υπό κανονικές συνθήκες οι νεαρές ρίζες τροφοδοτούν το φυτάριο με άζωτο και θρεπτικά στοιχεία από το εδαφικό διάλυμα. Έτσι συντίθεται νέο γλουταμινικό και γλουταμίνη στις ρίζες και στα φύλλα, τροφοδοτώντας τους νέους ιστούς με άζωτο.

Το άζωτο είναι ιδιαίτερα ευκίνητο στο φυτικό σώμα, καθώς λόγω της σημαντικότητάς του στο μεταβολισμό έχουν αναπτυχθεί μηχανισμοί που το μεταφέρουν ταχύτατα στα σημεία που έχουν μεγαλύτερη ανάγκη. Οι βασικές δομές αζώτου που διακινούνται σε μεγάλη απόσταση είναι το γλουταμινικό, το ασπαραγινικό και τα αμίδιά τους. Η ασπαραγίνη κατέχει σημαντικό ρόλο εκτός από

τη διακίνηση και στην αποθήκευση του πλεονάζοντος αζώτου, καθώς διαθέτει 2 άτομα N στους 4 C, ενώ το γλουταμινικό έχει 1N προς 5C και η γλουταμίνη 2N προς 5C (Taiz and Zeiger, 2006). Υπάρχει λοιπόν μια συνεχής ανακύκλωση των τεσσάρων αμινοξέων, συνεπώς και του αζώτου, ακόμα και σε ημερήσια βάση μέσα στο φυτό. Πρωτεΐνες και ένζυμα συντίθενται και αποσυντίθενται διαρκώς για να καλύψουν τις μεταβολικές δραστηριότητες στα διάφορα όργανα.

Όταν υπάρχει έλλειψη αζώτου, κινείται η διαδικασία της γήρανσης των παλαιότερων φύλλων, ώστε να τροφοδοτηθούν τα νεότερα και λειτουργικότερα όργανα. Η γήρανση (senescence) είναι μία γενετικά προγραμματισμένη διαδικασία, η οποία αποσκοπεί στην ανάκτηση ενός ποσοστού χρήσιμων υλικών από τα λιγότερο παραγωγικά όργανα. Κατά τη διάρκεια της γήρανσης αποδομούνται οργανίδια όπως χλωροπλάστες, περοξυσώματα και μεμβράνες. Οι χλωροφύλλες, οι πρωτεΐνες και ένα μεγάλο ποσοστό του RNA διασπώνται και το άζωτο και τα υπόλοιπα θρεπτικά στοιχεία διοχετεύονται στο αγγειακό σύστημα, για να καταλήξουν στα άλλα όργανα του φυτού. Ο πυρήνας παραμένει ενεργός μέχρι το θάνατο του κυττάρου, επειδή πρέπει να εκφραστούν γονίδια που επάγουν την αποδόμηση και την έξοδο των υλικών (Taiz and Zeiger, 2006). Έτσι ένα μεγάλο μέρος των νουκλεϊνικών οξέων δεν κινητοποιείται και παραμένει τελικά στο νεκρό κύτταρο. Κεντρικό ρόλο σε αυτό το σύστημα, από ορμονικής σκοπιάς, παίζει το αιθυλένιο. Η σύνθεση και η διακίνηση του αιθυλενίου στους ιστούς, συνδέεται με ένα μεγάλο αριθμό γονιδίων γήρανσης και έτσι συντίθενται από την αρχή και μέσα στο ίδιο το κύτταρο πρωτεάσες, ριβονουκλεάσες, πηκτινάσες, λιπάσες και χλωροφυλλάσες. Επίσης συντίθενται ένζυμα όπως η συνθετάση της γλουταμίνης, η οποία δεσμεύει NH_4^+ στη γλουταμίνη, την οποία διακινεί στη συνέχεια.

Έχει υπολογιστεί ότι περίπου το 85% του αζώτου που υπάρχει στο φύλλο ανακτάται από το φυτό με τη διαδικασία της γήρανσης (Salisbury and Ross, 1991). Στα φύλλα, η μισή περίπου ποσότητα αζώτου βρίσκεται στους χλωροπλάστες και είναι γνωστό ότι οι χλωροπλάστες είναι τα πρώτα οργανίδια που αποδομούνται.

1.4.4 Συμπτώματα έλλειψης αζώτου στα αρχικά στάδια βλάστησης στον αραβόσιτο.

Λόγω του πολλαπλού δομικού και μη ρόλου του, το άζωτο απαιτείται σε μεγάλες ποσότητες από τα φυτά και ιδιαίτερα από τον αραβόσιτο, λόγω και του υψηλού ρυθμού αφομοίωσης άνθρακα. Έτσι συχνά παρουσιάζεται ανεπάρκεια κάτω από ορισμένες συνθήκες.

Όταν η στάθμη του αζώτου είναι χαμηλή, εμφανίζονται χλωρώσεις στα κατώτερα φύλλα του φυτού, λόγω κινητοποίησης αμινοξέων και αμιδίων, προς τα νεότερα φύλλα που χαρακτηρίζονται από μεγάλη ταχύτητα ανάπτυξης (Ridge, 2005). Οι χλωρώσεις αυτές είναι γενικευμένες και συνήθως καλύπτουν το μεγαλύτερο μέρος της κεντρικής νεύρωσης, σχηματίζοντας V στο έλασμα. Στην εξέλιξή τους οι χλωρωτικές περιοχές κιτρινίζουν και επεκτείνονται προς τη βάση του ελάσματος. Έτσι τα κατώτερα φύλλα σταδιακά νεκρώνονται. Όταν η έλλειψη διαρκεί περισσότερο, ο αποχρωματισμός προχωράει σε ολόκληρο το φυτό. Το τελικό στάδιο αυτής της κατάστασης είναι η νέκρωση ολόκληρου του φυτικού σώματος.

Σε πολλές περιπτώσεις, παρατηρείται συσσώρευση ανθοκυανίνης, η οποία προσδίδει ερυθρή απόχρωση στο βλαστό, στην κεντρική νεύρωση των φύλλων ειδικά στην κάτω επιφάνεια και κάποιες φορές στις ρίζες. Γενικά το νεαρό φυτό παρουσιάζει μειωμένη ανάπτυξη, γενικευμένες χλωρώσεις και καθυστέρηση στο σχηματισμό νέων οργάνων. Έτσι ο αριθμός των φυτομερών που παράγονται τελικά είναι μικρότερος του αναμενόμενου. Επίσης παρατηρείται ανάσχεση της ανάπτυξης του υπέργειου σε σχέση με το ριζικό το οποίο συνεχίζει την αύξησή του (Chun et al., 2005).

1.5 Το θείο μέσα στο φυτό.

Τα ανώτερα φυτά αφομοιώνουν άζωτο και θείο σε ανάλογες ποσότητες με αυτές που χρειάζονται στην πρωτεϊνσύνθεση. Ωστόσο όταν υπάρχει έλλειψη S, η πρωτεϊνσύνθεση παρεμποδίζεται με αποτέλεσμα νιτρικά και αμμωνιακά να συσσωρεύονται στους ιστούς του φυτού. Το αντίστοιχο συμβαίνει όταν υπάρχει έλλειψη αζώτου, όπου τα SO_4^{2-} συσσωρεύεται. Η αλληλεπίδραση που υπάρχει μεταξύ N και S υποδηλώνει ότι υπάρχει στενή σύνδεση μεταξύ τους κατά τον μεταβολισμό. (Friedrich and Schrader, 1978). Τα φυτά αντιμετωπίζουν ανισσοροπίες που προκύπτουν στη στάθμη αζώτου-θείου μέσω της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης και πιθανώς της ενζυμικής δραστηριότητας. Επομένως τα μεταβολικά μονοπάτια αφομοίωσης και αποθήκευσης αζώτου και θείου συνεργάζονται και αλληλεπιδρούν στενά μεταξύ τους (Bouranis et al., 2006).

Πολλές βασικές λειτουργίες του φυτού χρειάζονται θείο για 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. Έτσι το θείο εμπλέκεται στη διαμόρφωση και τη δραστηριότητα πολλών ενζύμων (Marschner, 1995). Μία από τις πιο σημαντικές πρωτεΐνες που περιέχουν θείο είναι η φερεδοξίνη. Η φερεδοξίνη συμμετέχει στην αφομοίωση του διοξειδίου του άνθρακα CO_2 , στη σύνθεση της γλυκόζης, στη σύνθεση του γλουταμικού, στην αφομοίωση του αζώτου και στην αναγωγή των νιτρικών.

Το θείο είναι συστατικό του συνενζύμου-A (CoA), των βιταμινών βιοτίνης και θειαμίνης και του τριπεπτιδίου της γλουταθειόνης. Το CoA έχει σημαντικό ρόλο στον κύκλο του κιτρικού οξέος και στο μεταβολισμό των λιπιδίων και των λιπαρών οξέων. Η βιοτίνη σχετίζεται με την αφομοίωση του CO_2 και την αποκαρβοξυλίωση. Η θειαμίνη δρα ως συνένζυμο στην αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού και την οξείδωση των α-κετονοξέων. Από το οργανικό ανηγμένο θείο στο φυτό, το 2% περίπου υπάρχει ως υδατοδιαλυτό θειολικό κλάσμα (R-SH). Το 90% αυτού του κλάσματος (Dekok and Stulen, 1993) κάτω από κανονικές συνθήκες είναι το τριπεπτίδιο γλουταθειόνη, ένα μόριο του αποτοξινωτικού μηχανισμού.

Τέλος το θείο είναι βασικό συστατικό πτητικών ενώσεων που βρίσκονται σε φυτά του γένους *Alium* (σκόρδο, κρεμμύδι) και σχετίζεται με μηχανισμούς άμυνας από βιοτικούς παράγοντες. Επιπλέον το θείο προάγει το σχηματισμό των φυματίων στα ψυχανθή, ενεργοποιεί τον σχηματισμό των σπερμάτων και συνεισφέρει στην αντοχή των φυτών στις χαμηλές θερμοκρασίες.

1.5.1 Πρόσληψη, αφομοίωση και διακίνηση του θείου στο φυτικό σώμα.

Το φυτό αξιοποιεί το θείο που υπάρχει στα θειικά ιόντα (SO_4^{2-}) του εδαφικού διαλύματος ή στο διοξείδιο του θείου (SO_2) της ατμόσφαιρας. Τα θειικά ιόντα αποτελούν την πιο σημαντική πηγή θείου για το φυτό και παραλαμβάνονται από τις ρίζες, ενώ το ατμοσφαιρικό διοξείδιο του θείου παραλαμβάνεται και χρησιμοποιείται από τα εναέρια μέρη των ανωτέρων φυτών (Mills and Jones, 1996).

Η επάρκεια και η πρόσληψη των θεικών εξαρτάται από την εδαφική υγρασία. Συγκεντρώσεις 3 ως 5 mg S ανά λίτρο εδαφικού διαλύματος επαρκούν για τα περισσότερα φυτικά είδη. Τα θειικά ιόντα μόλις βρεθούν στην επιφάνεια της ρίζας απορροφώνται ενεργά μέσω πρωτεϊνικού μεταφορέα με συμμεταφορά πρωτονίων. Το θεικό ανιόν λαμβάνεται από τις ρίζες με σχετικά αργό ρυθμό στο συνηθισμένο εύρος pH του εδάφους. Το pH του εδάφους και η παρουσία άλλων θρεπτικών στοιχείων έχει γενικά περιορισμένη επίδραση στην απορρόφηση θεικών. Εκτός από τη συγκέντρωση του ολικού θείου στο θρεπτικό υπόστρωμα, είναι πολύ σημαντική και η σχέση N:S. Μία σχέση N:S ίση με 15:1 είναι επαρκής για τα περισσότερα φυτικά είδη, για τα σταυρανθή είναι 3:1 και για τα αγρωστώδη 17:1 (Marschner, 1995).

Το θεικό μέσω ενός βιοχημικού μονοπατιού ανάγεται σε κυστεΐνη, το πρώτο αμινοξύ που φέρει θείο στο μόριο του, με πρόδρομο μόριο τη σερίνη. Η αφομοίωση των θεικών γίνεται κυρίως στους φωτοσυνθετικούς ιστούς, πιθανώς επειδή η διαδικασία απαιτεί δότες ηλεκτρονίων (NAD(P)H, φερεδοξίνη, γλουταθειόνη) και επίσης σερίνη που παράγεται από τον κύκλο της φωτοαναπνοής (Taiz and Zeiger, 2006).

Τα θειικά μετά την πρόσληψή τους μετακινούνται στο βλαστό μέσα από τα αγγεία του ξύλου και από εκεί στα φύλλα. Η μετακίνηση των θεικών μέσα στον ηθμό είναι πολύ περιορισμένη. Το θείο που αφομοιώνεται στα φύλλα διοχετεύεται μέσω του ηθμού στα σημεία πρωτεϊνοσύνθεσης κυρίως ως γλουταθειόνη (Bergmann and Rennenberg, 1993). Εκτός από αποτοξινωτικό μόριο η γλουταθειόνη δρα και ως σήμα που συντονίζει τις δύο διαδικασίες της απορρόφησης θεικών από τις ρίζες και της αφομοίωσης στα φύλλα (Taiz and Zeiger, 2006).

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) καθώς το θείο δεν είναι άμεσα κινητοποιήσιμο στοιχείο μέσα στο φυτικό σώμα.

1.5.2 Το θείο ως δομικός λίθος των πρωτεϊνών.

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 Wijk, 1967). Η κυστεΐνη έχει ιδιαίτερη επίδραση στη δομή και τη λειτουργία των πρωτεϊνών ως δομικό συστατικό τους. Ο αναστρέψιμος σχηματισμός δισουλφιδικών δεσμών μεταξύ δύο γειτονικών δομικών μονάδων κυστεΐνης (κυστεΐνυλο-τμήμα του

μορίου) στην πολυπεπτιδική αλυσίδα έχει θεμελιώδη σημασία για την τεταρτοταγή δομή και επομένως τη λειτουργία των ενζυμικών πρωτεϊνών. Αυτός ο δεσμός μπορεί να σχηματίσει μία μόνιμη ομοιοπολική σύνδεση μεταξύ πολυπεπτιδικών αλυσίδων ή μία αντιστρεπτή διπεπτιδική γέφυρα, συγκρίσιμη με τις οξειδοαναγωγικές λειτουργίες της γλουταθειόνης. Κατά την ενυδάτωση, ο αριθμός των δισουλφιδικών δεσμών στις πρωτεΐνες αυξάνει με κατανάλωση σουλφυδρυλικών ομάδων και αυτή η μετάπτωση σχετίζεται με συσσωμάτωση και αποδόμηση πρωτεϊνών (Tomati and Galli 1979). Η προστασία των σουλφυδρυλικών ομάδων στις πρωτεΐνες από το σχηματισμό δισουλφιδικών γεφυρών θεωρείται ότι έχει μεγάλη σημασία στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας του κυττάρου στην αφυδάτωση (που προκαλείται από την ξηρασία και την θερμότητα) και στη λύση του από ψύξη (Levitt 1980).

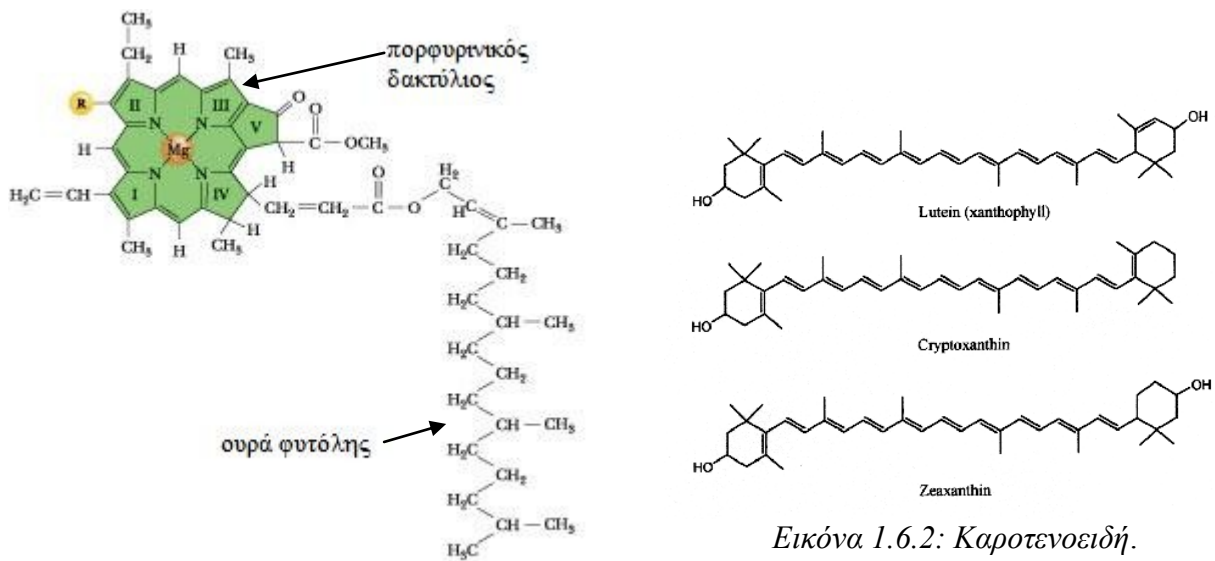
1.5.3. Συμπτώματα έλλειψης θείου.

Τα συμπτώματα της έλλειψης θείου μοιάζουν με τα συμπτώματα της έλλειψης αζώτου, επειδή και το θείο συμμετέχει στο σχηματισμό πρωτεϊνών. Όμως σε αντίθεση με το άζωτο, το θείο δεν είναι πολύ ευκίνητο στο φυτό. Έτσι, τα συμπτώματα της έλλειψης θείου εμφανίζονται πρώτα στα νεαρά φύλλα. Τα φύλλα με έλλειψη θείου αρχικά εμφανίζουν ελαφρά κίτρινο-πράσινο χρώμα, το οποίο αργότερα μπορεί να γίνει κόκκινο ή πορφυρό και η επιφάνειά τους είναι περιορισμένη. Οι βλαστοί γίνονται ξυλώδεις, λεπτότεροι και κοντότεροι. Οι καρποί είναι ελαφρά πράσινοι, χωρίς να είναι χυμώδεις. Η εγκατάστασή τους είναι περιορισμένη, ενώ στις καλλιέργειες για καρπό καθυστερεί η ωρίμανση. Οι ρίζες είναι μακρύτερες από ότι συνήθως και στα ψυχανθή, η δημιουργία φυματίων είναι περιορισμένη. Συμπτώματα έλλειψης θείου μπορεί να εμφανιστούν σε φυτάρια που φύτεψαν πρόσφατα αλλά τείνουν να εξαφανιστούν με την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος.

1.6 Οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή.

Στους ανώτερους φυτικούς οργανισμούς συναντάμε δύο είδη χλωροφυλλών, τις χλωροφύλλες α και β, οι οποίες υπάρχουν σε αφθονία σε όλους τους φωτοσυνθετικούς ιστούς. Οι χλωροφύλλες βρίσκονται βυθισμένες στις μεμβράνες των θυλακοειδών των χλωροπλαστών και συνδέονται με πρωτεΐνες, που ονομάζονται φωτοσυστήματα I και II (PSI, PSII). Το μόριό τους αποτελείται από ένα τμήμα πορφυρίνης και ένα τμήμα φυτόλης, όπως φαίνεται και στην εικόνα 9. Το τμήμα της πορφυρίνης αποτελείται από ένα τετραπυρολικό δακτύλιο με ένα άτομο μαγνησίου στο κέντρο και αποτελεί το υδρόφιλο μέρος των χλωροφυλλών. Το τμήμα της φυτόλης είναι το υδρόφοβο μέρος και είναι βυθισμένο μέσα στα λιπίδια της μεμβράνης του θυλακοειδούς. Η χλωροφύλλη α φέρει μεθυλομάδα στον 2^ο πυρολικό δακτύλιο, ενώ στη χλωροφύλλη β υπάρχει αλδεϋδομάδα στην ίδια θέση. Αυτή είναι και η μόνη διαφορά μεταξύ των δύο χρωστικών, με συνέπεια το φάσμα της χλωροφύλλης α να εμφανίζει ισχυρή απορρόφηση περίπου στα 660nm, ενώ της χλωροφύλλης β στα 645nm. Όπως φαίνεται στο φάσμα απορρόφησης οι χλωροφύλλες απορροφούν στις περιοχές του ερυθρού και του κυανού αντανακλώντας ακτινοβολία στην περιοχή του πράσινου.

Οι χλωροφύλλες λόγω της δομής τους, έχουν την ιδιότητα να απορροφούν την ενέργεια των φωτονίων που προσπίπτουν πάνω στον πορφυρινικό δακτύλιο και να τη μεταφέρουν σε επόμενο μόριο. Οι χλωροφύλλες είναι διευθετημένες στο χώρο των PS κατά τέτοιο τρόπο ώστε να δρουν συνολικά σαν αντένα συλλογής και μεταφοράς ενέργειας προς ένα ενεργό κέντρο (Taiz and Zeiger, 2006). Η ενέργεια που φτάνει στο ενεργό κέντρο μέσω ηλεκτρονίων, ενεργοποιεί μία σειρά από οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Ηλεκτρόνια που αποσπώνται από τα μόρια του νερού μεταφέρονται μέσω πρωτεϊνικών και μη δομών στον τελικό αποδέκτη που είναι το ενεργειακό μόριο NADPH. Έτσι η ενέργεια των φωτονίων που συλλέγεται από τις χρωστικές μετατρέπεται σε χημική μέσω της αναγωγής του NADPH.



χλωροφύλλη α R = CH₃
 χλωροφύλλη β R = CHO
 Εικόνα 9: Χλωροφύλλες α και β.

Τα καροτενοειδή είναι γραμμικά πολυένια με τους διπλούς δεσμούς σε αλληλικές θέσεις. Λόγω της δομής τους τα ηλεκτρόνια των π δεσμών είναι ευκίνητα και μεταφέρουν την ενέργειά τους στα επόμενα μόρια. Τα καροτενοειδή είναι αναπόσπαστα εξαρτήματα των θυλακοειδών και συνδέονται με πολλές από τις πρωτεΐνες που απαρτίζουν τη φωτοσυνθετική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Συμμετέχουν επίσης στις αντένες συλλογής των φωτονίων. Τα φωτόνια διεγείρουν τα ηλεκτρόνια των καροτενοειδών μεταφέροντας μέρος της ενέργειας στις χλωροφύλλες. Εκτός όμως από τη λειτουργία αυτή έχουν και προστατευτικό ρόλο, καθώς αποτρέπουν βλάβες των πρωτεϊνών και των χλωροφυλλών από την ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας.

1.7 Προσαρμογές στην αρχιτεκτονική και ανατομία της ρίζας ελλείπει θρεπτικών.

Η ικανότητα των φυτών να αντιδρούν ανάλογα στην επάρκεια των θρεπτικών είναι θεμελιώδους σημασίας για την προσαρμογή τους στο περιβάλλον. Θρεπτικά στοιχεία όπως το άζωτο, ο φώσφορος, το θείο και ο σίδηρος δρουν ως μεταβολικά σήματα. Τα θρεπτικά αυτά, όπως και άλλα εξωτερικά ερεθίσματα, ενεργοποιούν μοριακούς μηχανισμούς που τροποποιούν τη διαίρεση και διαφοροποίηση των κυττάρων της ρίζας και έχουν άμεσο αντίκτυπο στην αρχιτεκτονική του ριζικού συστήματος. Σημαντικές διαδικασίες διαφοροποίησης, όπως είναι ο σχηματισμός ριζικών τριχιδίων, ο σχηματισμός αερεγχύματος στο φλοιώδες παρέγχυμα και η έκπτυξη πλευρικών ριζών, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στις μεταβολές των συγκεντρώσεων των θρεπτικών, μέσα και έξω από τους φυτικούς ιστούς. Έχουν αναγνωριστεί εξειδικευμένα μονοπάτια μεταγωγής σημάτων, που ελέγχουν τις συγκεντρώσεις θρεπτικών και ρυθμίζουν την ανάπτυξη της ρίζας (Lopez-Bucio et al., 2003).

Μία προσαρμογή των φυτών στην έλλειψη θρεπτικών στο εδαφικό διάλυμα αφορά στην αύξηση της πυκνότητας των τριχοβλαστών στην επιδερμίδα στη ρίζα. Η προσαρμογή αυτή έχει βρεθεί ότι επηρεάζεται άμεσα από τη διαθεσιμότητα του φωσφόρου. Συγκεκριμένα οι Ma et al. (2001) απέδειξαν ότι η πυκνότητα των ριζικών τριχιδίων μειώνεται λογαριθμικά, σαν αντίδραση στην αύξηση της συγκέντρωσης του φωσφόρου στο διάλυμα ανάπτυξης. Η έλλειψη σιδήρου επίσης φέρει τα ίδια αποτελέσματα στην πυκνότητα των ριζικών τριχιδίων, διαφέροντας ωστόσο στον τρόπο επαγωγής του σήματος (Schmidt and Schikora, 2001).

Μεταβολές στις συγκεντρώσεις νιτρικών και φωσφορικών στο διάλυμα ανάπτυξης επιδρούν στην έκπτυξη και επιμήκυνση κύριων και πλευρικών ριζών. Η αυξημένη συγκέντρωση νιτρικών μειώνει το μήκος των κύριων ριζών, ενώ η έκπτυξη πλάγιων μένει σχετικά ανεπηρέαστη. Αντίθετα η μεγάλη διαθεσιμότητα φωσφορικών στο διάλυμα ανάπτυξης επάγει την επιμήκυνση και μειώνει σημαντικά την πυκνότητα των πλευρικών ριζών. Επίσης μεγάλες συγκεντρώσεις και των δύο θρεπτικών καταστέλλουν την επιμήκυνση των πλευρικών ριζών (Linkohr et al., 2002). Η έλλειψη θεικών έχει βρεθεί επίσης ότι προάγει τη διακλάδωση των κύριων ριζών. Σε φυτά *Arabidopsis* όπου υπήρχε επάρκεια θεικών, η πρωτογενής ρίζα είχε μεγαλύτερο μήκος και οι πλευρικές αναπτύχθηκαν με κανονική πυκνότητα σε απόσταση από το μερίστωμα, σε αντίθεση με φυτά που δεν τροφοδοτήθηκαν με θειικά (Kutz et al., 2002).

Ο σχηματισμός αερεγχύματος στις ρίζες των φυτών σχετίζεται με συνθήκες υποξίας, ωστόσο στον αραβόσιτο ενεργοποίηση του μηχανισμού σχηματισμού αερεγχύματος προκαλεί και η έλλειψη αζώτου, φωσφόρου ή θείου (Konings and Verschuren, 1980; Bouranis et al., 2006). Αντίθετα όμως με την αντίδραση στην υποξία, η επαγωγή του αερεγχύματος λόγω της έλλειψης θρεπτικών στις ρίζες του αραβόσιτου, δε σχετίζεται με αυξημένη βιοσύνθεση και συσσώρευση αιθυλενίου στο ακραίο μερίστωμα (Malcolm et al., 1989), γεγονός που προϋποθέτει διαφορετικούς μηχανισμούς μεταγωγής σήματος και ενεργοποίησης του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Οι Konings και Verschuren (1980) απέδειξαν ότι ο σχηματισμός

αερεγχύματος σε εμβρυακές ρίζες καλαμποκιού ενεργοποιήθηκε κάτω από πλήρως αερόβιες συνθήκες με την παράληψη είτε πηγής αζώτου (νιτρικά ή αμμωνιακά) ή φωσφορικών, ενώ η έλλειψη καλίου κάτω από παρόμοιες συνθήκες δεν προκάλεσε επαγωγή αερεγχύματος.

1.8 Σκοπός της εργασίας.

Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της έλλειψης θρεπτικών στον αραβόσιτο κατά τα πρώτα αναπτυξιακά του στάδια. Για το σκοπό αυτό έγιναν μετρήσεις ξεχωριστά για το κάθε φυτικό όργανο, σε φυτά τα οποία αναπτύχθηκαν σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα και σε απιονισμένο νερό. Οι χαρακτήρες που μετρήθηκαν ήταν η ξηρή μάζα και η υγρασία, το οργανικό άζωτο και στα φύλλα υπολογίστηκαν επίσης οι ποσότητες των χλωροφυλλών και των καροτενοειδών. Επιπλέον μελετήθηκαν μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά των βλαστογενών ριζών του πρώτου κόμβου σε τέσσερις διαφορετικές ζώνες της ρίζας. Σε αυτό το πειραματικό σκέλος εκτός από τα φυτά που αναπτύχθηκαν σε απιονισμένο νερό και σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα προστέθηκε μία ακόμη μεταχείριση, αυτή της έλλειψης θεικών ιόντων από το υπόστρωμα ανάπτυξης.

Μέσα από τη σχεδίαση του πειραματικού μέρους επιχειρήθηκε η αναγνώριση συγκεκριμένων μηχανισμών απόκρισης των φυτικών οργάνων σε συνθήκες έλλειψης εξωτερικής τροφοδοσίας του φυταρίου. Έγινε επίσης προσπάθεια να αναγνωριστούν μορφολογικές και ανατομικές προσαρμογές των βλαστογενών ριζών που οφείλονται στην πλήρη έλλειψη θρεπτικών και στην έλλειψη θεικών.

2. Πειραματικό μέρος.

2.1 Φυτικό υλικό.

Στο πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκαν σπόροι αραβόσιτου (*Zea mays L. indentata*) του υβριδίου Cisko της εταιρείας Syngenta. Πρόκειται για απλό υβρίδιο μικρού βιολογικού κύκλου (FAO 400) και φυσιολογικής ωρίμανσης στις 102 ημέρες. Το ύψος του στελέχους είναι μέτριο προς μεγάλο, με πλούσιο φύλλωμα και μεγάλο μήκος σπάδικα. Έχει άριστη φυτρωτική ικανότητα, είναι ανθεκτικό στις φουζαριώσεις και προορίζεται για παραγωγή καρπού σαν επίσπορη καλλιέργεια, αλλά και για πρώιμη συγκομιδή.

2.2 Μεταχειρίσεις.

Το πειραματικό μέρος χωρίζεται σε τρία πειραματικά σκέλη. Στα δύο πρώτα σκέλη που αναλύονται σε ξεχωριστή ενότητα, εφαρμόστηκαν οι δύο από τις τρεις μεταχειρίσεις ενώ στο τρίτο σκέλος εφαρμόστηκαν και οι τρεις μεταχειρίσεις. Έτσι υπήρχαν φυτά που αναπτύχθηκαν σε απιονισμένο νερό χωρίς την προσθήκη θρεπτικών στοιχείων (H_2O), σε θρεπτικό διάλυμα ελλειμματικό σε θειικά ανιόντα (-S) και σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα (Control).

Η σύσταση του ελλειμματικού διαλύματος σε θειικά ήταν: 5 mM KNO_3 , 1 mM KH_2PO_4 , 2 mM $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, 0,07 mM EDTA FeNa, 4 mM $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 0,86 mM $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,9 μM $ZnCl_2$, 30 μM H_3BO_3 , 0,9 μM $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,5 μM MoO_3 85%, 20 μM $MnCl_2 \cdot 4H_2O$.

Η σύσταση του πλήρους θρεπτικού διαλύματος ήταν: 5 mM KNO_3 , 1 mM KH_2PO_4 , 2 mM $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, 2,5 mM $CaSO_4 \cdot 2H_2O$, 1 mM $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,07 mM EDTA FeNa, 4 mM $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 0,9 μM $ZnCl_2$, 30 μM H_3BO_3 , 0,9 μM $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,5 μM MoO_3 85%, 20 μM $MnCl_2 \cdot 4H_2O$.

Το pH των θρεπτικών διαλυμάτων ρυθμιζόταν στο 5,5 με KOH 1M.

2.3 Εγκατάσταση υδροπονικής καλλιέργειας.

Οι σπόροι είναι επενδυμένοι με GAUCHO[®], ένα μείγμα δύο μυκητοκτόνων και ενός εντομοκτόνου και για το λόγο αυτό ξεπλένονται με απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια τοποθετούνται σε δίσκους βλάστησης (ημέρα 0), οι οποίοι φέρουν διπλά φύλλα διηθητικού χαρτιού για να συγκρατούν την υγρασία. Οι δίσκοι αφού καλυφθούν με μαύρο πλαστικό φύλλο για να μην περνάει το φως, τοποθετούνται σε σταθερή θερμοκρασία 25 °C για να βλαστήσουν οι σπόροι. Τα διηθητικά φύλλα διαβρέχονται καθημερινά με απιονισμένο νερό. Τη 2^η μέρα, όσοι σπόροι έχουν βλαστήσει κανονικά, μεταφέρονται σε παλέτες ανάπτυξης από φελιζόλ, οι οποίες διαθέτουν θέσεις για 30 φυτάρια (εικόνα 1). Στο κάτω μέρος κάθε παλέτας στερεώνεται ένα φύλλο διηθητικού χαρτιού, το οποίο συγκρατεί τα φυτάρια. Οι παλέτες τοποθετούνται σε λεκάνες με απιονισμένο νερό και σε κάθε λεκάνη εφαρμόζεται αντλία αέρα για την οξυγόνωση του νερού. Για τις επόμενες μέρες του πειράματος τα φυτάρια αναπτύσσονται σε θάλαμο σταθερών συνθηκών, θερμοκρασίας 28 °C, σχετικής υγρασίας 36%, φωτοπεριόδου 16 h φως/8h σκοτάδι και έντασης φωτισμού 186 $\mu Em^{-2}sec^{-1}$ στο επίπεδο της φυλλικής επιφάνειας.

Από την 7^η μέρα εφαρμόζονται οι τρεις διαφορετικές μεταχειρίσεις. Τα φυτάρια που έχουν κανονική ανάπτυξη μεταφυτεύονται σε παλέτες των 12 θέσεων (εικόνα 1), ενώ τα υπόλοιπα εξαιρούνται από τη διαδικασία. Για τη στερέωση των φυταρίων στις παλέτες χρησιμοποιούνται σπόγγοι. Στη συνέχεια οι παλέτες τοποθετούνται σε λεκάνες, όπου κάθε μία από αυτές περιέχει 10 λίτρα με το αντίστοιχο θρεπτικό διάλυμα ή απιονισμένο νερό για κάθε μεταχείριση. Σε κάθε λεκάνη αντιστοιχεί μία αντλία αέρα. Κάθε τρίτη μέρα γίνεται αλλαγή των θρεπτικών διαλυμάτων ώστε να διατηρείται σε ικανοποιητικό βαθμό η δυναμικότητά τους. Αλλαγή επίσης γίνεται και για τη μεταχείριση του απιονισμένου νερού.

2.4 Πειραματικά σκέλη και δειγματοληψία (διάγραμμα ροής σελ.31).

Το πειραματικό μέρος χωρίζεται σε τρία σκέλη στο κάθε ένα από τα οποία εφαρμόστηκαν διαφορετικές τεχνικές για τον προσδιορισμό μεγεθών στα φυτάρια του αραβόσιτου. Στα πρώτα δύο σκέλη έχουμε δύο μεταχειρίσεις των φυταρίων, ανάπτυξη σε απιονισμένο νερό (H₂O) και σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα (Control). Στο τρίτο πειραματικό σκέλος προστέθηκε και η τρίτη μεταχείριση, αυτή του θρεπτικού διαλύματος ελλειμματικού σε θειικά (-S).

Στο πρώτο σκέλος του πειραματικού μετρήθηκαν η νωπή και η ξηρή μάζα των οργάνων των φυτών των τριών μεταχειρίσεων και στη συνέχεια το περιεχόμενο οργανικό άζωτο. Για το σκοπό αυτό λαμβάνονται, με τυχαία δειγματοληψία, τρία φυτά από κάθε μεταχείριση, κάθε δεύτερη μέρα, από την 7^η μέχρι την 21^η. Ως ημέρα 0 υπολογίζεται η μέρα τοποθέτησης των σπόρων στους δίσκους βλάστησης. Τα φυτά σφουγγίζονται, για να απομακρυνθεί το νερό εξωτερικά των ριζών και τεμαχίζονται σε έντεκα τμήματα: σπόρος, πρωτογενής εμβρυακή ρίζα, δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες, βλαστογενείς ρίζες, εμβρυακό φύλλο, 1^ο, 2^ο, 3^ο, 4^ο κανονικό φύλλο, λοιπά φύλλα και βλαστός. Για τα φύλλα λαμβάνεται μόνο το έλασμα και ως λοιπά φύλλα χαρακτηρίζονται συνολικά όσα εκπτύσσονται μετά το 4^ο κανονικό φύλλο. Το δείγμα του βλαστού περιλαμβάνει το μεσοκοτύλιο, τους κολεούς των φύλλων και το κορυφαίο μερίστωμα. Τα φυτικά τμήματα ζυγίζονται και καταγράφονται τα αποτελέσματα της νωπής μάζας. Για να περιοριστούν οι απώλειες των ιστών σε υγρασία, ζυγίζονται πρώτα τα τμήματα του ριζικού συστήματος και σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά την έξοδο του φυταρίου από το νερό. Στη συνέχεια τα δείγματα τυλίγονται σε αλουμινόχαρτο και τοποθετούνται σε φούρνο ξήρανσης στους 80 °C, μέχρι να αφαιρεθεί πλήρως η υγρασία τους. Ακολούθως ζυγίζονται και καταγράφονται τα αποτελέσματα της ξηρής τους μάζας. Τέλος από τα αποξηραμένα δείγματα προσδιορίζεται το οργανικό άζωτο με τη μέθοδο Kjeldahl (Κένταλ), που περιγράφεται παρακάτω σε ξεχωριστή ενότητα.

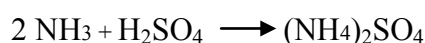
Στο δεύτερο σκέλος του πειράματος μετρήθηκε η ποσότητα χλωροφυλλών και καροτενοειδών που περιέχονται στα φύλλα. Γίνεται τυχαία δειγματοληψία τριών φυτών από κάθε μεταχείριση, κόβονται τα ελάσματα των φύλλων όπως ακριβώς έγινε και στο πρώτο πειραματικό σκέλος και προσδιορίζεται η ποσότητα των χρωστικών τους, με φωτομετρία όπως περιγράφεται παρακάτω σε ξεχωριστή ενότητα. Η δειγματοληψία γίνεται επίσης ανά δεύτερη μέρα, ξεκινώντας από την 7^η και τελειώνοντας την 21^η.

Σε τρίτο πειραματικό χρόνο μελετήθηκαν τα μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά των βλαστογενών ριζών του πρώτου κόμβου, φυτών από τις τρεις μεταχειρίσεις. Για το σκοπό λαμβάνονται τυχαία τρία φυτά από κάθε μία μεταχείριση, σε κάθε δειγματοληψία. Οι δειγματοληψίες γίνονται κάθε τρίτη μέρα, από την 7^η μέχρι και την 22^η. Αρχικά μετράται με πλαστικοποιημένο μιλιμετρέ χαρτί, το μήκος όλων των βλαστογενών ριζών και υπολογίζεται το μέσο μήκος των ριζών ανά φυτάριο. Στη συνέχεια γίνονται εγκάρσιες τομές, στο χέρι με ξυράφι, σε τέσσερα σημεία της κάθε ρίζας: πάνω από την περιοχή LR, πάνω από την περιοχή ELR, κάτω από την περιοχή ELR και στην περιοχή A (εικόνα 2). Γίνεται μικροσκοπική παρατήρηση και φωτογράφιση των τομών και με το λογισμικό imagej μετρώνται τα εξής ανατομικά χαρακτηριστικά: διάμετρος ρίζας, διάμετρος κεντρικού κυλίνδρου, εμβαδόν αγγείων του ξύλου και αριθμός αγγείων του ξύλου. Για τις μετρήσεις επιλέγονται λεπτές τομές στις οποίες διακρίνεται καθαρά η αρχιτεκτονική της ρίζας. Για τον υπολογισμό της διαμέτρου της ρίζας λαμβάνονται δύο μετρήσεις από κάθε τομή και ο μέσος όρος τους αποτελεί την τελική μέτρηση. Με τον ίδιο τρόπο υπολογίζεται και η μέτρηση της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου. Τέλος αφού υπολογιστούν τα επιμέρους εμβαδά όλων των αγγείων κάθε τομής, υπολογίζεται το άθροισμα των εμβαδών των αγγείων του ξύλου.

2.5 Υγρή καύση νοπού φυτικού ιστού με θειικό οξύ (H₂SO₄ 95%).

Αρχή της μεθόδου

Για να προσδιοριστεί η συγκέντρωση του αζώτου στους φυτικούς ιστούς είναι απαραίτητη η καύση τους με H₂SO₄. Κατά την καύση ολόκληρη η ποσότητα του αζώτου που υπάρχει στο φυτικό ιστό, εκτός από τα νιτρικά ιόντα, μετατρέπεται ποσοτικά σε αμμωνία (NH₃) και δεσμεύεται υπό μορφή θειικού αμμωνίου, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



Πειραματική διαδικασία

Τα αντιδραστήρια που χρειάζονται στην πειραματική διαδικασία είναι τα εξής:

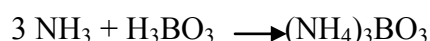
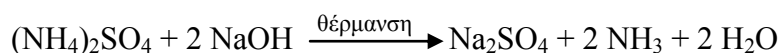
- Πυκνό θειικό οξύ 95% (H₂SO₄)
- Υπεροξειδίου του υδρογόνου 30% (H₂O₂)

Αρχικά το φυτικό δείγμα ζυγίζεται, τεμαχίζεται ελαφρά και τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως, όπου προστίθενται 2 ml H₂SO₄. Το ποτήρι καλύπτεται με ύαλο ωρολογίου ώστε να συγκρατούνται οι ατμοί εντός. Στη συνέχεια θερμαίνεται κοντά στο σημείο βρασμού του H₂SO₄, περίπου στους 300 °C, σε θερμοαντική πλάκα εντός απαγωγού εστίας. Σαν οξειδωτικό της αντίδρασης χρησιμοποιείται H₂O₂, από το οποίο προστίθενται τμηματικά 2,5-5 ml, ανάλογα με το είδος του φυτικού ιστού. Όταν ολοκληρωθεί η διαδικασία της καύσης το υγρό είναι διαυγές και αφού κρυώσει μεταφέρεται σε φιάλη falcon. Τέλος το διάλυμα αραιώνεται με αποσταγμένο νερό μέχρι τα 10ml. Αντίστοιχα παρασκευάζεται ο μάρτυρας χωρίς την τοποθέτηση φυτικού δείγματος στο θειικό οξύ.

2.6 Προσδιορισμός αζώτου με τη μέθοδο Kjeldahl (Κένταλ).

Αρχή της μεθόδου

Το θειικό αμμώνιο σε θερμό αλκαλικό περιβάλλον διασπάται και παράγεται αμμωνία, η οποία ψύχεται και διαβιβάζεται σε διάλυμα βορικού οξέος όπου δεσμεύεται με τη μορφή βορικού αμμωνίου. Οι αντιδράσεις παραγωγής και δέσμευσης της αμμωνίας έχουν ως εξής:



Ακολουθεί ογκομέτρηση με υδροχλωρικό οξύ και δείκτη, μίγμα ερυθρού του μεθυλίου και πράσινου της βρωμοκρεσόλης. Ο όγκος του πρότυπου διαλύματος HCl που καταναλώθηκε προσδιορίζει τη συγκέντρωση αμμωνίας στο δείγμα.

Η αρχική μέθοδος έχει δεχτεί αρκετές τροποποιήσεις με αποτέλεσμα να υπάρχουν πολλές παραλλαγές. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η συγκεκριμένη μέθοδος δεν ανιχνεύει άζωτο που βρίσκεται σε οξειδωμένη μορφή, όπως τα νιτρικά και τα νιτρώδη. Για να προσδιοριστούν οι νιτροενώσεις πρέπει να αντιδράσουν με κάποιο αναγωγικό παράγοντα ώστε να μετατραπούν σε ιόντα αμμωνίου. Ορισμένοι ερευνητές έχουν παρατηρήσει ότι ένα μέρος των νιτρικών μπορεί να μετατραπούν σε αμμωνιακά ιόντα κατά τη διαδικασία της καύσης χωρίς προηγούμενη αναγωγή (Nelson and Sommers, 1980). Συμπερασματικά το άζωτο που προσδιορίζεται κατά Kjeldahl δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως ολικό άζωτο του υπό εξέταση δείγματος.

Πειραματική διαδικασία

Τα διαλύματα που χρειάζονται στην πειραματική διαδικασία είναι τα εξής:

- διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 10N (NaOH)
- διάλυμα υδροχλωρικού οξέος N/28 (HCl)
- διάλυμα βορικού οξέος 2% (H₃BO₃)
- δείκτης Kjeldahl (ερυθρό μεθυλίου, πράσινο βρωμοκρεσόλης, απόλυτη αιθυλική αλκοόλη, 1:2:1)
- διάλυμα υγρής καύσης που θα προσδιοριστεί

Κωνική φιάλη με 20 ml βορικού οξέος και 1 ml δείκτη τοποθετείται σε αποστακτική συσκευή, στον ψυκτήρα, με το άκρο του βυθισμένο στο διάλυμα. Ο δείκτης αραιωμένος στο διάλυμα δίνει ανοιχτό κυανό χρώμα. Στη συνέχεια μεταφέρονται σε σωλήνα Kjeldahl, 10 ml NaOH και 5ml του διαλύματος που παραλάβαμε από την υγρή καύση. Ο σωλήνας εφαρμόζεται στην αποστακτική συσκευή και διοχετεύονται υδρατμοί μέσα στο αλκαλικό διάλυμα. Με τη θέρμανση παράγεται αμμωνία, η οποία αναμιγνύεται με τους υδρατμούς και περνάει στον ψυκτήρα. Εκεί υγροποιείται και μεταγγίζεται στην κωνική φιάλη όπου δεσμεύεται υπό μορφή βορικού αμμωνίου. Όταν συλλεχθούν 50 ml διαλύματος στην κωνική φιάλη, διακόπτεται η παροχή υδρατμών. Η φιάλη εξάγεται από την αποστακτική συσκευή. Το διάλυμα έχει αποκτήσει πράσινο ανοιχτό χρώμα, γεγονός που δείχνει την ύπαρξη αμμωνίας στο αρχικό δείγμα. Η τιτλοδότηση γίνεται με HCl, σε μικροπροχοΐδα, όπου το διάλυμα της κωνικής φιάλης αποκτά ρόδινη απόχρωση και συγκρίνεται με το χρώμα του μάρτυρα. Ο όγκος HCl που καταναλώθηκε θα δώσει τα γραμμάρια αμμωνίας που υπήρχαν στο υγρό της καύσης και συνεπώς στο φυτικό

δείγμα. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για δεύτερη φορά και ο μέσος όρος των δύο τιμών δίνει το τελικό αποτέλεσμα.

2.7 Προσδιορισμός της ποσότητας χλωροφυλλών και καροτενοειδών στα φύλλα.

Αρχή της μεθόδου

Οι χλωροφύλλες α και β και τα καροτενοειδή των φύλλων εκχυλίζονται με διμέθυλο-σουλφοξείδιο (DMSO). Το εκχύλισμα παραλαμβάνεται, αραιώνεται κατάλληλα και υπολογίζεται η απορρόφηση του διαλύματος με φασματοφωτόμετρο. Με τους κατάλληλους τύπους προσδιορίζεται η συγκέντρωση και η ποσότητα των χρωστικών στα φύλλα.

Πειραματική διαδικασία

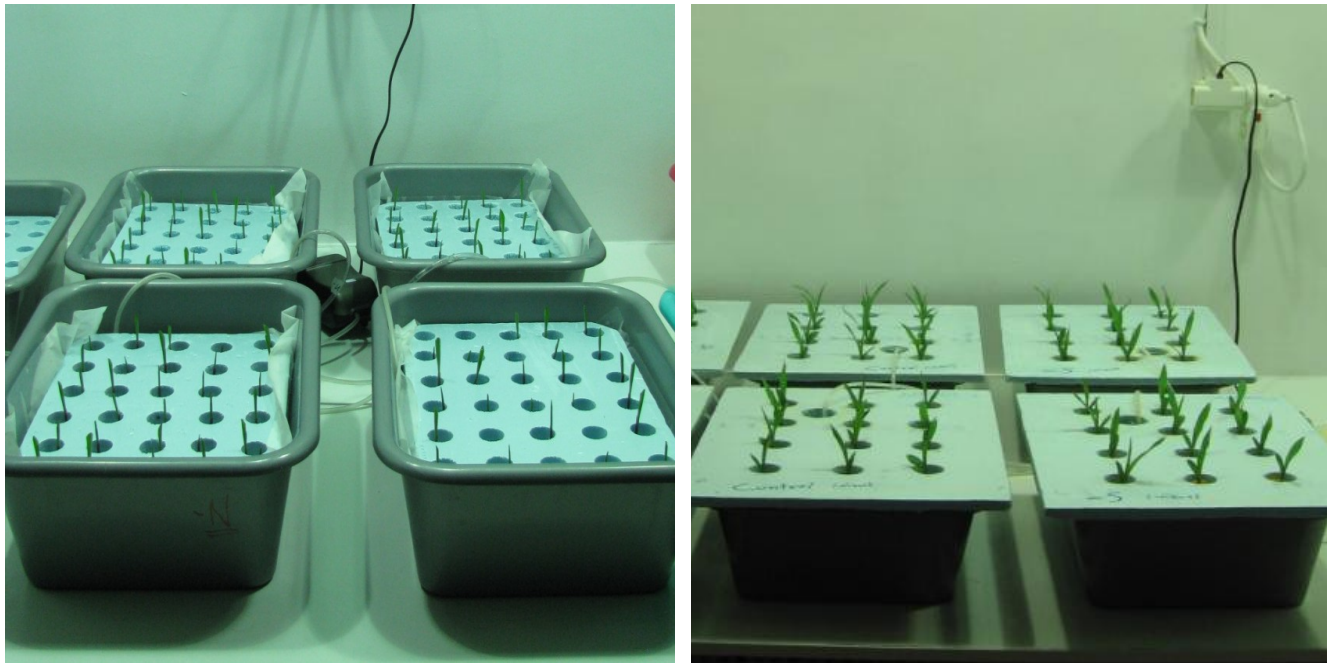
Φύλλα αραβοσίτου κόβονται στο σημείο της γλωσσίδας και το έλασμα χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό. Το δείγμα ζυγίζεται και αφού ξεπλυθεί με αποσταγμένο νερό τεμαχίζεται σε τμήματα του 1cm. Τα τεμαχίδια τοποθετούνται σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα και προστίθενται 3ml DMSO. Το δείγμα θερμαίνεται σε υδατόλουτρο στους 65 °C για 15 λεπτά. Ακολουθεί διήθηση του δείγματος και παραλαβή του εκχυλίσματος σε φιάλη falcon, στην οποία αραιώνεται στα 5ml με αποσταγμένο νερό. Αντίστοιχα παρασκευάζεται ο μάρτυρας χωρίς την τοποθέτηση φυτικού δείγματος στο DMSO. Ακολουθεί η διαδικασία της μέτρησης της απορρόφησης του δείγματος στο φασματοφωτόμετρο. Αρχικά μηδενίζεται το φασματοφωτόμετρο ως προς το μάρτυρα. Στη συνέχεια το δείγμα μεταφέρεται σε κυψελίδα και μετράται στα 470, 645 και 663nm ως προς το μάρτυρα και καταγράφεται η τιμή της απορρόφησης. Με τους τύπους

$$C_{\alpha} = 12,21 \times A_{663} - 2,81 \times A_{645}$$

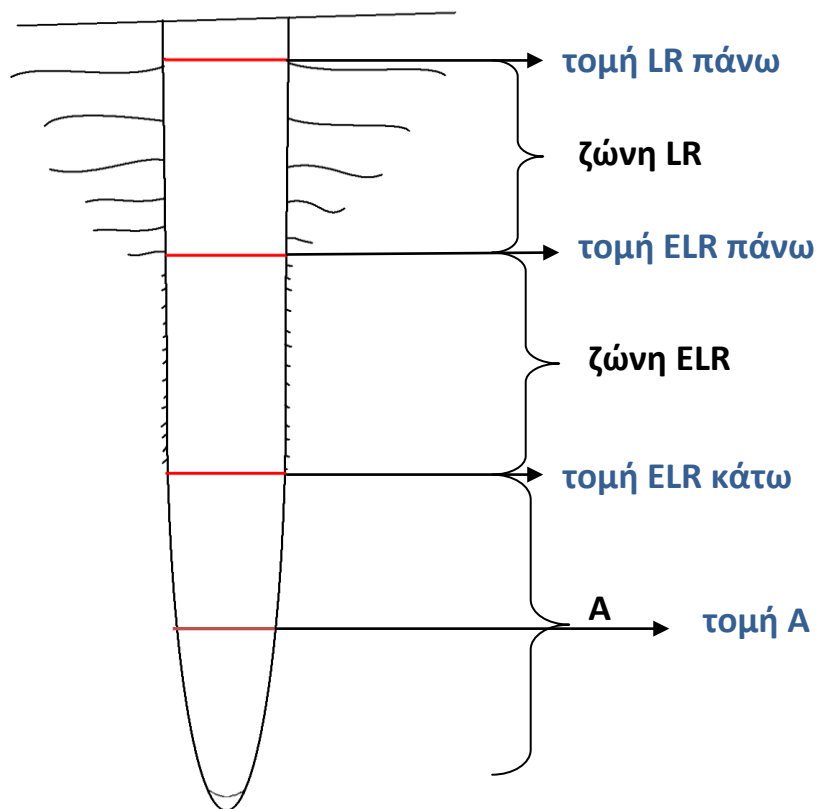
$$C_{\beta} = 20,13 \times A_{645} - 5,03 \times A_{663}$$

$$C_{\text{καρ}} = (1000 \times A_{470} - 3,27 \times C_{\alpha} - 104 \times C_{\beta}) / 229$$

(όπου A η απορρόφηση στο αντίστοιχο μήκος κύματος)
υπολογίζεται η συγκέντρωση των χλωροφυλλών α, β και των καροτενοειδών στο διάλυμα και γίνεται αναγωγή σε mg χρωστικής στο φύλλο (Hiscox and Israelstam, 1979).

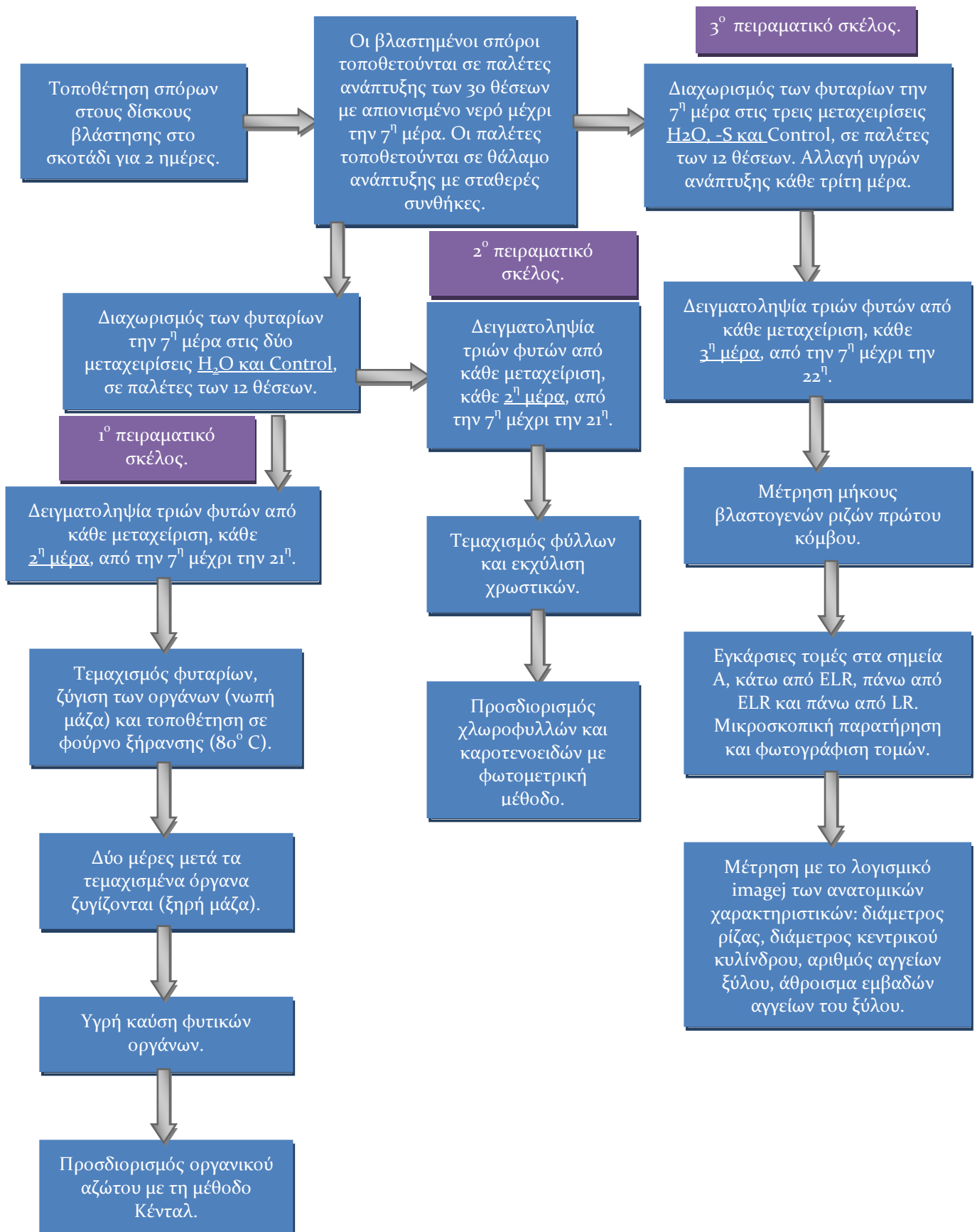


Εικόνα 1: αριστερά, παλέτες ανάπτυξης φυταρίων σε λεκάνες με H_2O ($2^{\text{η}}$ - $7^{\text{η}}$ ημέρες πειράματος). Δεξιά, παλέτες ανάπτυξης φυταρίων σε λεκάνες διαφορετικών μεταχειρίσεων H_2O , -S και Control ($7^{\text{η}}$ - $22^{\text{η}}$ μέρα).



Εικόνα 2: Σκαρίφημα ρίζας όπου επισημαίνονται οι ζώνες της ρίζας και οι τομές που διενεργήθηκαν.

Διάγραμμα ροής πειραματικού μέρους



3. Αποτελέσματα.

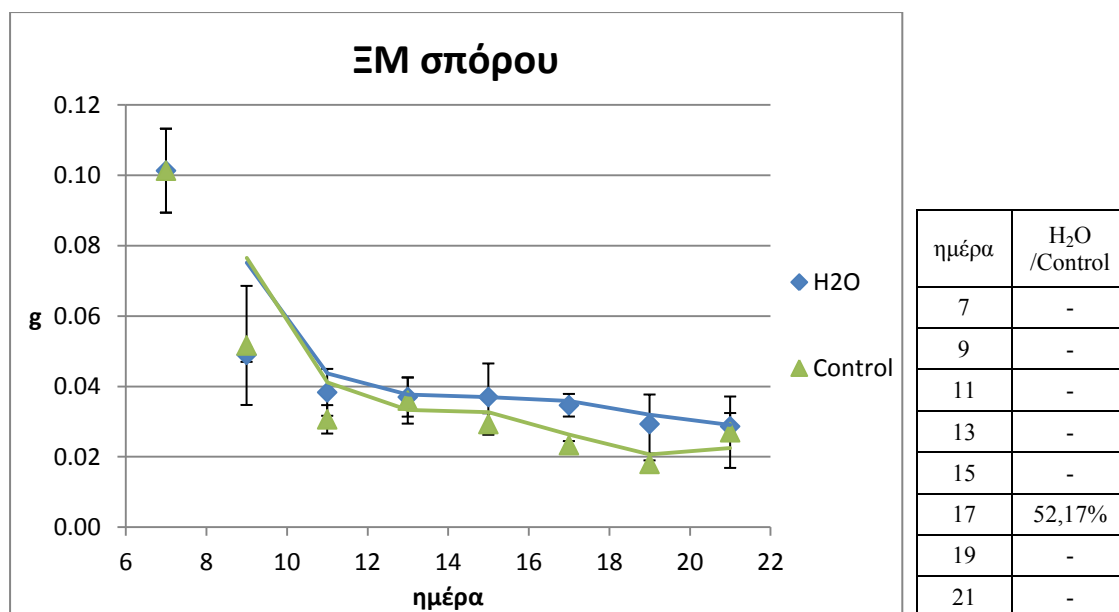
Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν και παρουσιάζονται με τη μορφή διαγραμμάτων ξεχωριστά για κάθε ένα από τα φυτικά όργανα. Οι τρεις μεταχειρίσεις του απιονισμένου νερού, του ελλειμματικού σε θειικά θρεπτικού και του πλήρους θρεπτικού, για συντομία αναφέρονται συχνά ως H₂O, -S και Control αντίστοιχα. Σε κάθε διάγραμμα σημειώνονται οι τιμές των παρατηρήσεων, η γραμμή τάσης κυλιόμενου μέσου και οι γραμμές τυπικών σφαλμάτων. Κάθε διάγραμμα συνοδεύεται από έναν πίνακα με τις συγκρίσεις των μέσων όρων, μεταξύ των μεταχειρίσεων H₂O/Control, με τη μέθοδο του ttest ($\alpha=0,05$). Όπου το ttest δεν είναι στατιστικά σημαντικό σημειώνεται το σύμβολο πλην (-), ενώ όπου υπάρχουν σημαντικές διαφορές αναγράφεται το ποσοστό διαφοράς του H₂O από το Control. Στο τρίτο πειραματικό σκέλος προστίθεται και η σύγκριση -S/Control. Η ανάλυση των δεδομένων και των αποτελεσμάτων έγινε με το λογισμικό Microsoft Office Excel.

3.1 Προσδιορισμός Ξηρής Μάζας, Υγρασίας, οργανικού αζώτου και χρωστικών.

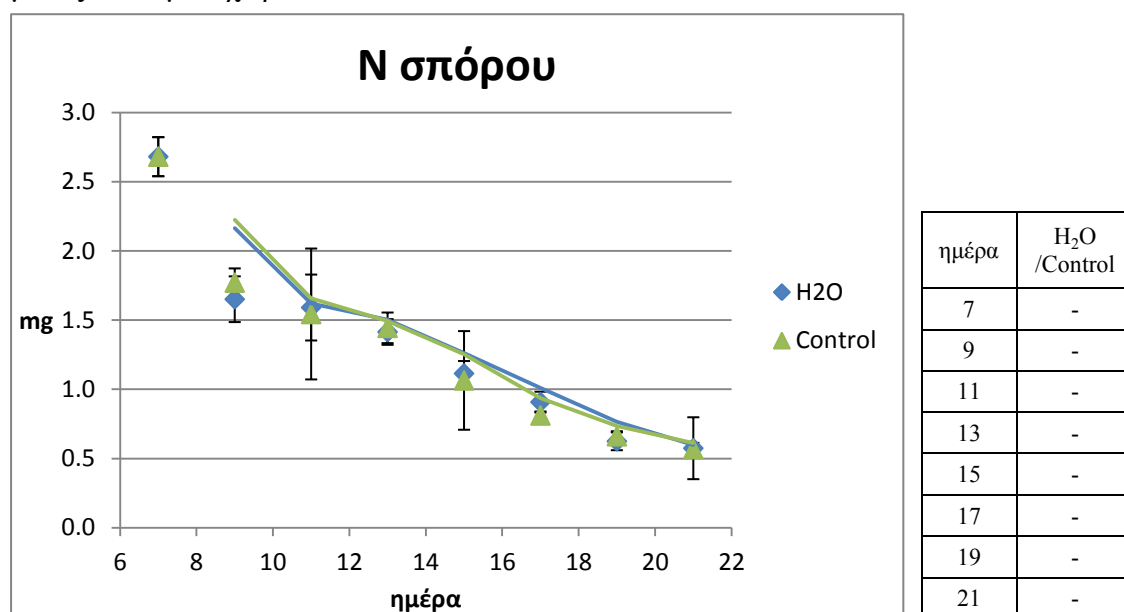
Στην πρώτη ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του πρώτου και του δεύτερου πειραματικού σκέλους. Στο πρώτο σκέλος μετρήθηκε η νωπή και η ξηρή μάζα (EM) των φυτικών οργάνων του αραβόσιτου, από την 7^η μέχρι και την 21^η μέρα της βλάστησης. Από τη διαφορά νωπής και ξηρής μάζας προκύπτει η περιεχόμενη υγρασία του φυτικού οργάνου. Στη συνέχεια, στα ίδια δείγματα μετρήθηκε η περιεκτικότητα σε οργανικό άζωτο. Σε δεύτερο πειραματικό χρόνο μετρήθηκε η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλες α και β και σε καροτενοειδή. Υπενθυμίζεται ότι στα δύο πρώτα σκέλη είχαμε τις δύο μεταχειρίσεις του απιονισμένου νερού και του πλήρους θρεπτικού διαλύματος.

3.1.1 Σπόρος.

Στο πρώτο διάγραμμα φαίνεται η πορεία της ΞΜ του σπόρου να φθίνει, καθώς φυσιολογικά αδειάζουν τα αποθέματα για να τροφοδοτήσουν το νεαρό φυτό. Η σύγκριση των μέσων όρων που φαίνεται στον πίνακα 1, δείχνει ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, ανάμεσα στις μεταχειρίσεις H₂O και Control, τη 17^η μέρα. Η ΞΜ του σπόρου στο H₂O είναι κατά 52,17% μεγαλύτερη από την αντίστοιχη στο Control. Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις το ttest υποδεικνύει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην περιεκτικότητα των σπόρων σε ξηρή μάζα.

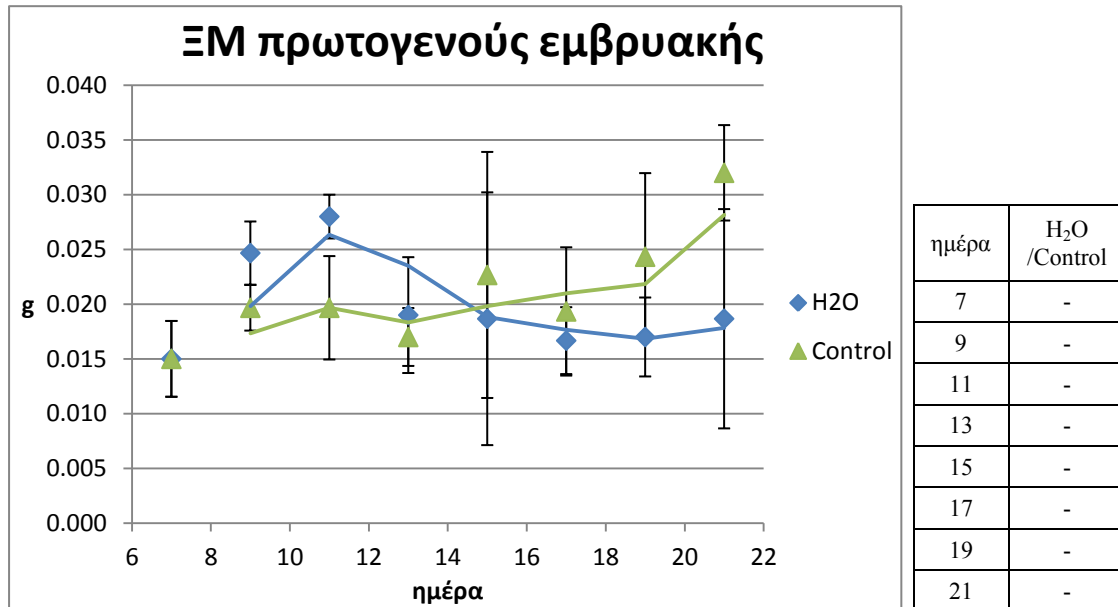


Στο επόμενο διάγραμμα φαίνεται η πορεία του οργανικού αζώτου στο σπόρο, η οποία είναι επίσης πτωτική. Στην περίπτωση αυτή δεν ανιχνεύονται διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.



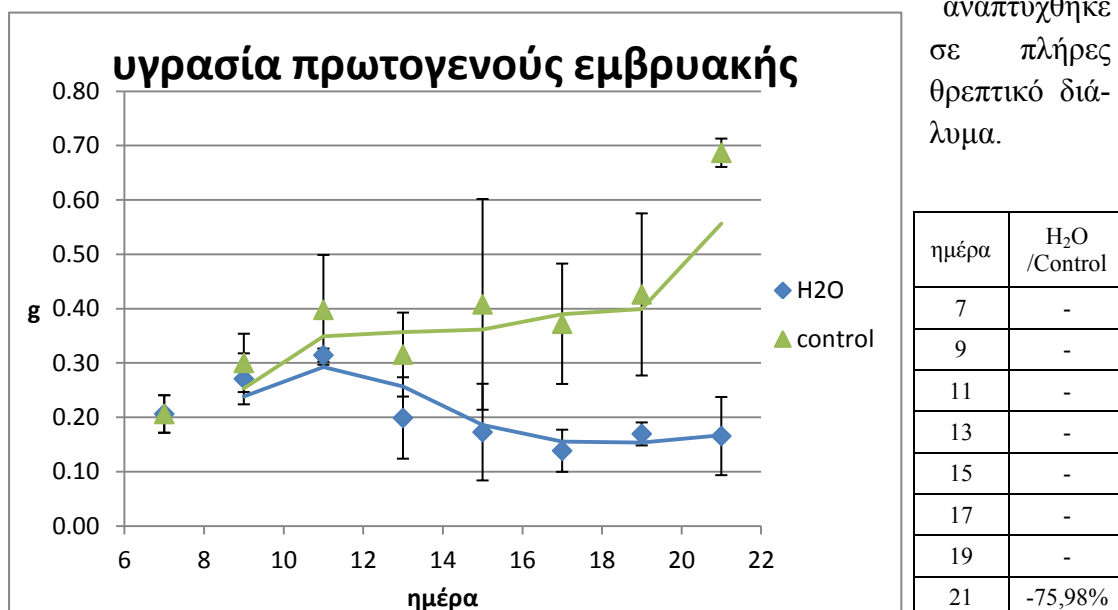
3.1.2 Ριζικό σύστημα.

Η πρωτογενής εμβρυακή ρίζα αυξάνει σε ΞΜ μέχρι την 11^η μέρα και για τις δύο μεταχειρίσεις και στη συνέχεια παραμένει μάλλον σταθερή χωρίς να διαφοροποιείται μέχρι το τέλος του πειράματος, όπως προκύπτει από το ttest. Παρατηρούμε ωστόσο ότι οι γραμμές τάσης διαχωρίζονται από τη 17^η μέρα και μετά, με αυξανόμενη διαφορά του Control από το H₂O.

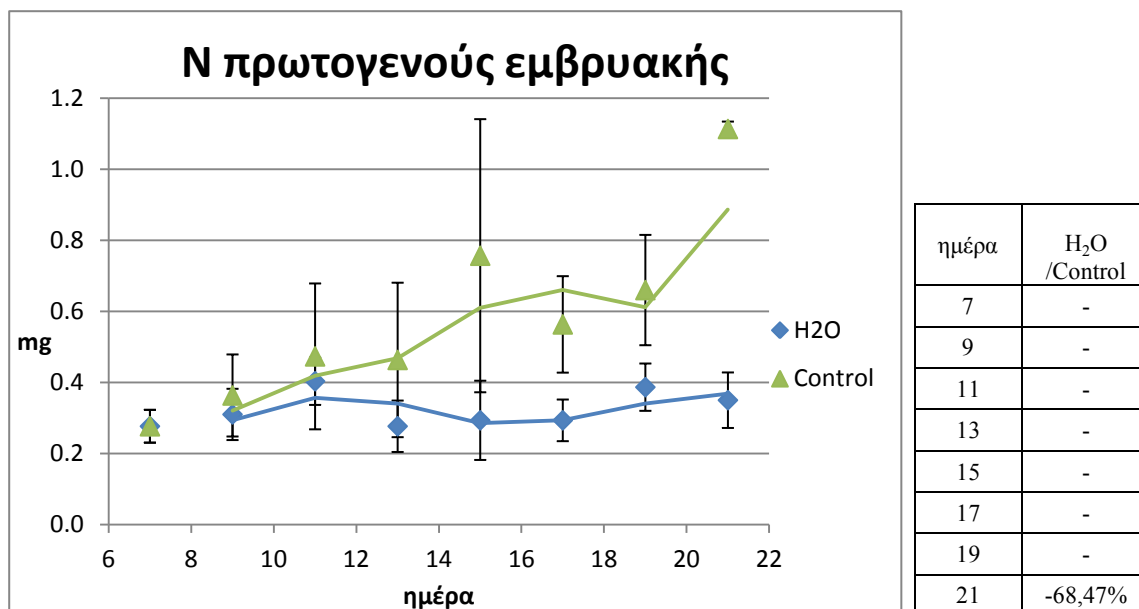


Στο επόμενο διάγραμμα η υγρασία της πρωτογενούς εμβρυακής ρίζας αυξάνεται μέχρι την 11^η μέρα και για τις δύο μεταχειρίσεις και στη συνέχεια οι γραμμές τάσης διαχωρίζονται, με το H₂O να χάνει σε υγρασία και να σταθεροποιείται από τη 17^η μέρα μέχρι το τέλος του πειράματος, ενώ αντίθετα το Control αυξάνεται σταδιακά μέχρι την 21^η μέρα. Η διαφορά μεταξύ H₂O και Control την 21^η μέρα είναι στατιστικά σημαντική. Έτσι συνάγεται το συμπέρασμα ότι τη συγκεκριμένη μέρα η πρωτογενής εμβρυακή ρίζα του φυτού που αναπτύσσεται σε απιονισμένο νερό, διαθέτει λιγότερη υγρασία κατά 75,98% από την αντίστοιχη ρίζα του φυτού που

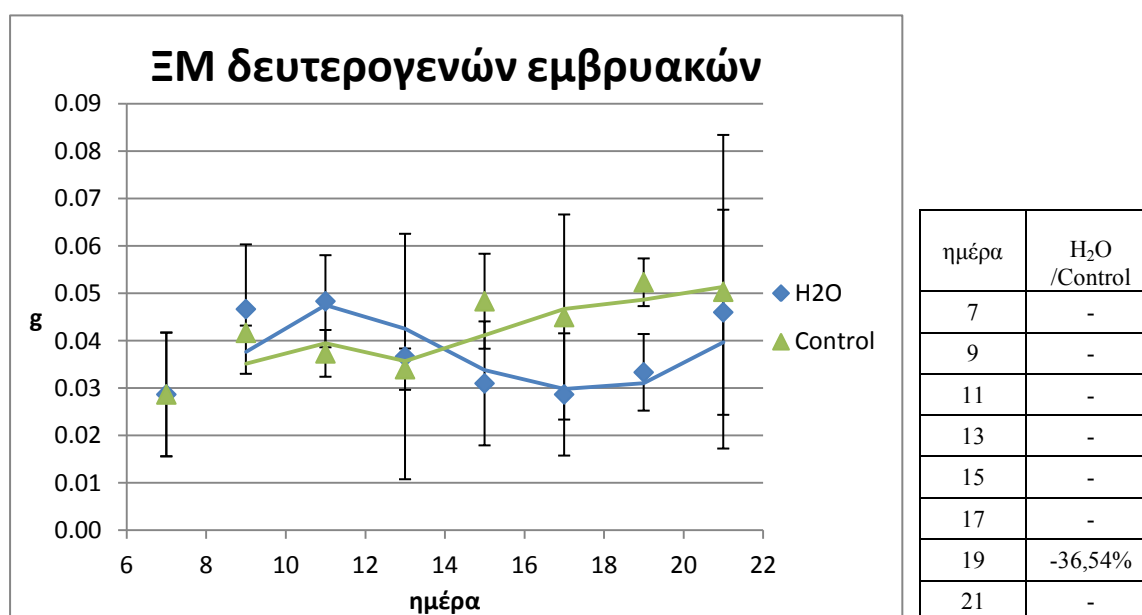
αναπτύχθηκε σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα.



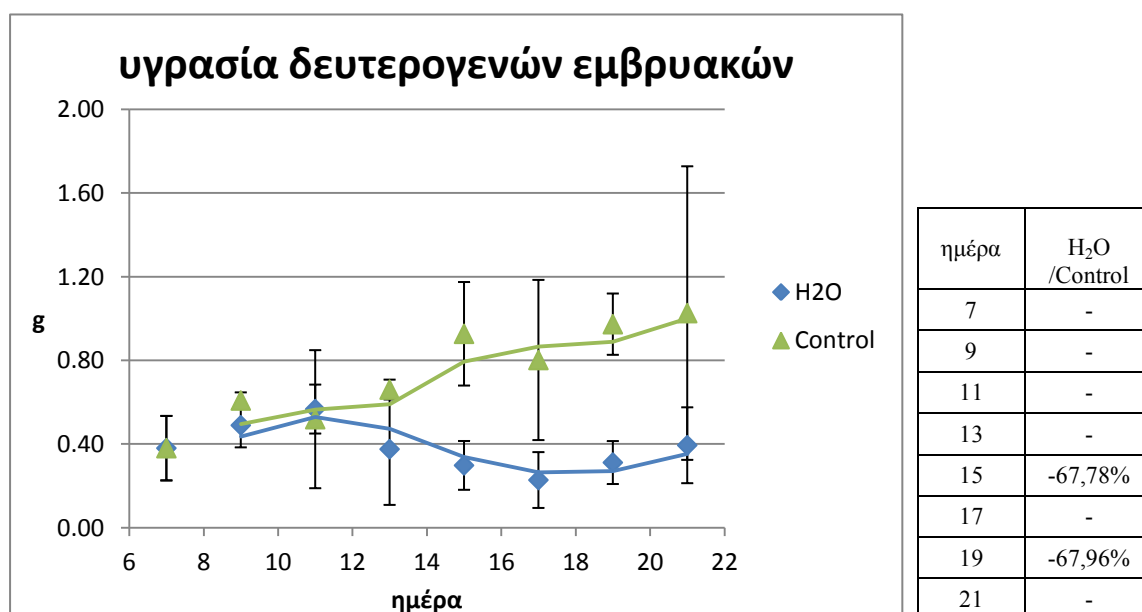
Η πορεία του οργανικού αζώτου, όπως κυμαίνεται στην πρωτογενή εμβρυακή ρίζα, παρουσιάζεται στο παρακάτω διάγραμμα. Είναι σχετικά σταθερό για το H₂O και αυξάνεται για το Control μέχρι το τέλος του πειράματος. Η γραμμή τάσης του H₂O βρίσκεται διαρκώς χαμηλότερα από τη γραμμή του Control. Την 21^η μέρα υπάρχει διαφοροποίηση της τιμής του H₂O από το Control κατά -68,47%.



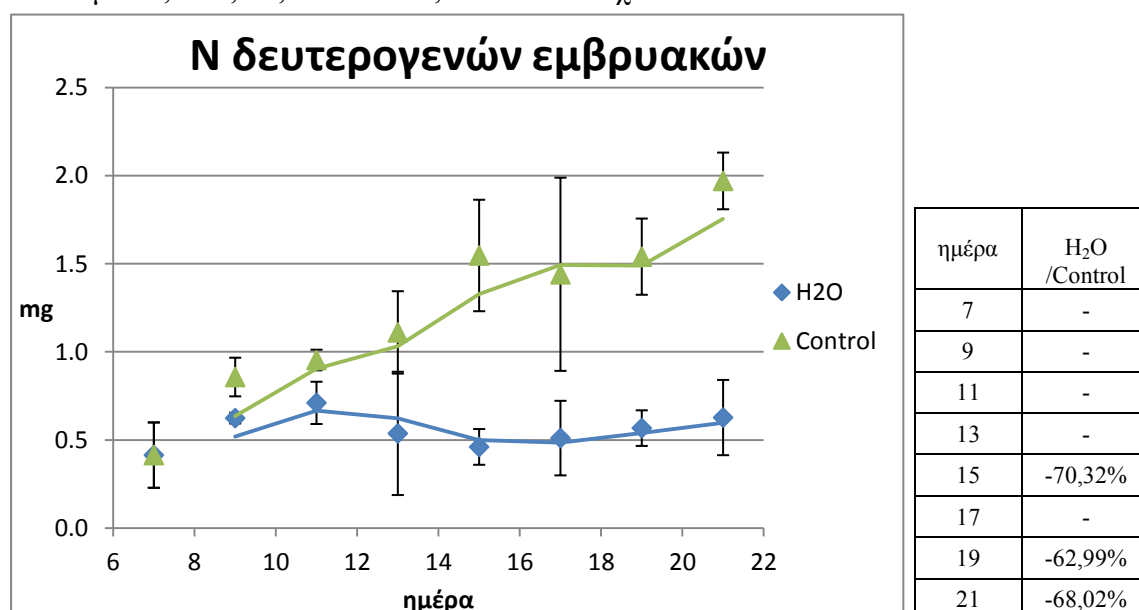
Η πορεία της ΞΜ των δευτερογενών εμβρυακών ριζών παρουσιάζεται μάλλον αυξητική για τη μεταχείριση Control, ενώ για το H₂O η ΞΜ παραμένει σταθερή. Στον πίνακα παρουσιάζεται διαφοροποίηση μεταξύ H₂O και Control τη 19^η μέρα κάτι που δείχνει ότι οι δευτερογενείς ρίζες του Control διαθέτουν περισσότερη ΞΜ τη συγκεκριμένη μέρα.



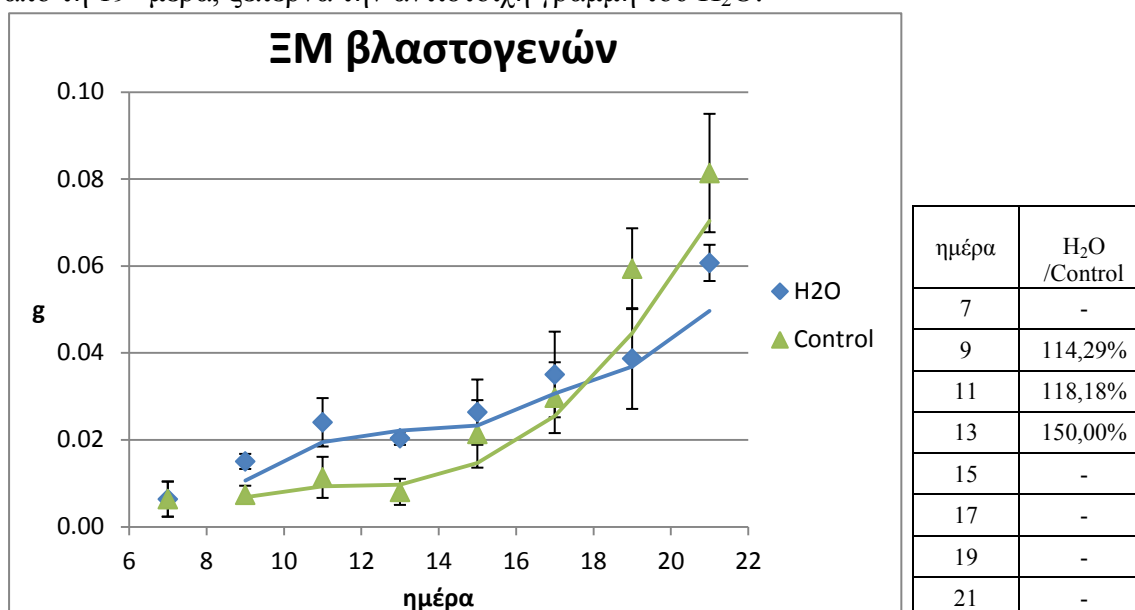
Η υγρασία των δευτερογενών για το H₂O αυξάνεται μέχρι την 11^η μέρα και στη συνέχεια μειώνεται και σταθεροποιείται από τη 13^η μέρα περίπου και μέχρι το τέλος. Για τη μεταχείριση Control αντίθετα αυξάνεται σχετικά σταθερά. Εδώ διακρίνεται καλύτερα η διαφορά μεταξύ H₂O και Control για τις δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες, όπου τη 15^η και 19^η μέρα οι ρίζες του H₂O περιέχουν, σύμφωνα με το ttest, λιγότερη υγρασία κατά 68% περίπου.



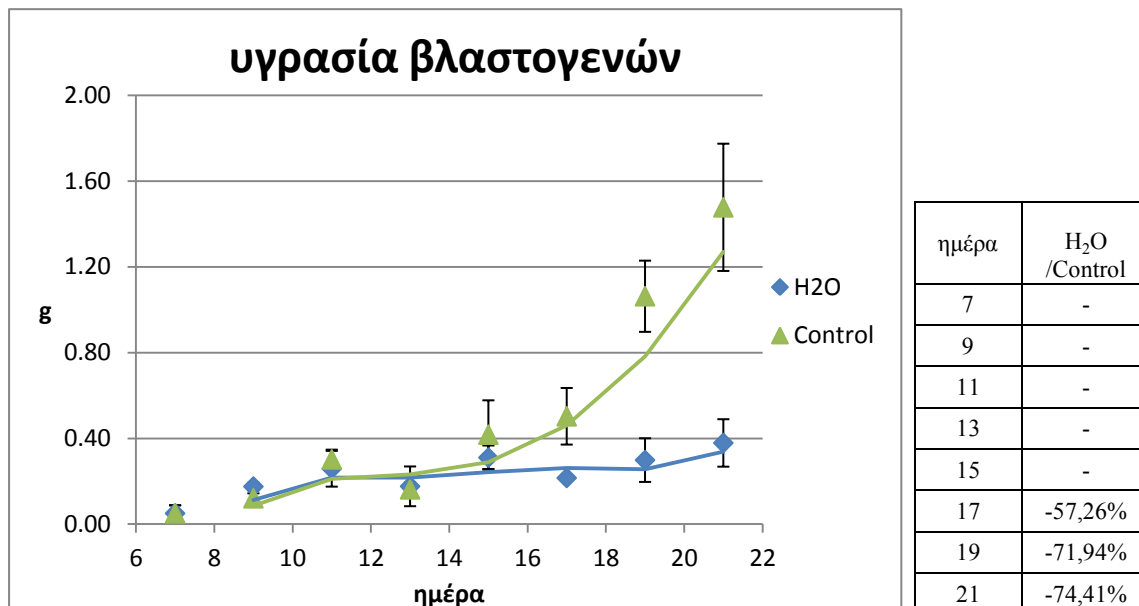
Το οργανικό άζωτο κυμαίνεται παρόμοια με την υγρασία για τις δύο μεταχειρίσεις, δηλαδή για το H₂O αυξάνεται μέχρι την 11^η μέρα, στη συνέχεια μειώνεται και σχεδόν σταθεροποιείται από τη 13^η μέχρι την 21^η, ενώ για το Control είναι διαρκώς αυξανόμενο. Υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά τις ημέρες 15, 19 και 21 με 70,32%, 62,99% και 68,02% αντίστοιχα.



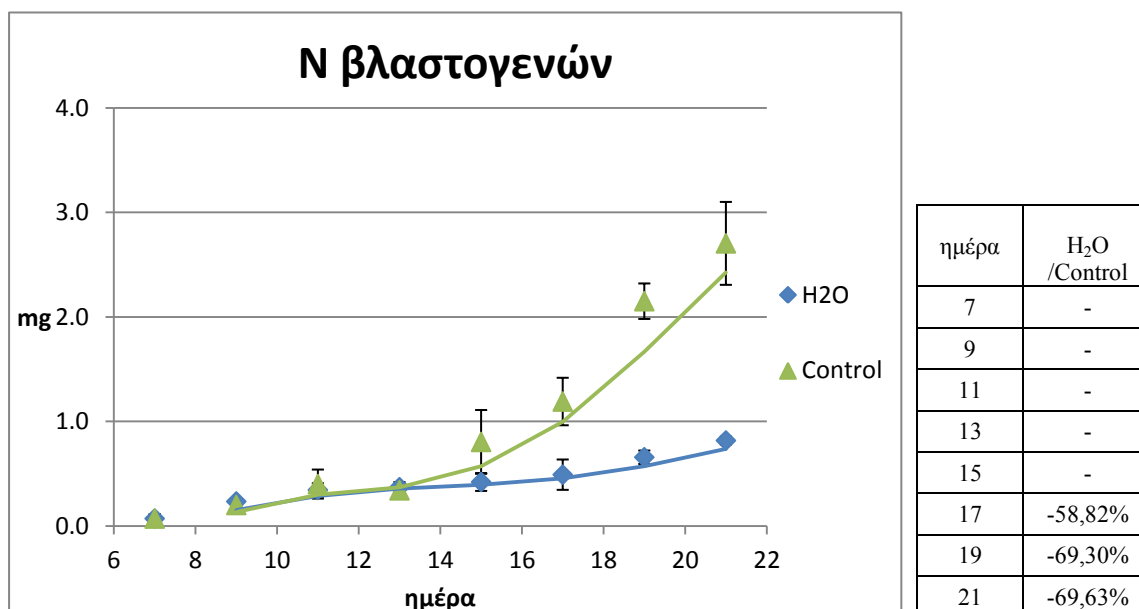
Για τις βλαστογενείς ρίζες βλέπουμε να υπάρχει ένα διαφορετικό πρότυπο ανάπτυξης σε σχέση με τις εμβρυακές ρίζες. Έτσι παρατηρούμε ότι έχουν σαφώς τάση συσσώρευσης ΞΜ καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος και στις δύο μεταχειρίσεις. Μία δεύτερη παρατήρηση αφορά στις συγκρίσεις των μέσων όρων του πίνακα, όπου βλέπουμε ότι από την 9^η μέρα μέχρι και τη 13^η τα φυτά που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό έχουν σημαντικά περισσότερη ΞΜ στις βλαστογενείς ρίζες τους από τα φυτά που αναπτύχθηκαν σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα. Τα ποσοστά για αυτές τις ημέρες δηλώνουν ότι η ΞΜ για το H₂O είναι υπερδιπλάσια της αντίστοιχης για το Control. Τέλος βλέπουμε ότι η γραμμή τάσης του Control, από τη 19^η μέρα, ξεπερνά την αντίστοιχη γραμμή του H₂O.



Η υγρασία για τις βλαστογενείς του H₂O έχει ελαφρά αυξητική τάση σε σχέση με τη μεταχείριση Control, στην οποία από τη 17η μέρα και μετά αυξάνεται σημαντικά ο ρυθμός συσσώρευσης υγρασίας. Αυτό φαίνεται και στον πίνακα, όπου παρατηρούμε ότι τα ποσοστά του H₂O προς το Control αυξάνονται με το χρόνο, δηλαδή αυξάνεται η διαφορά τους.

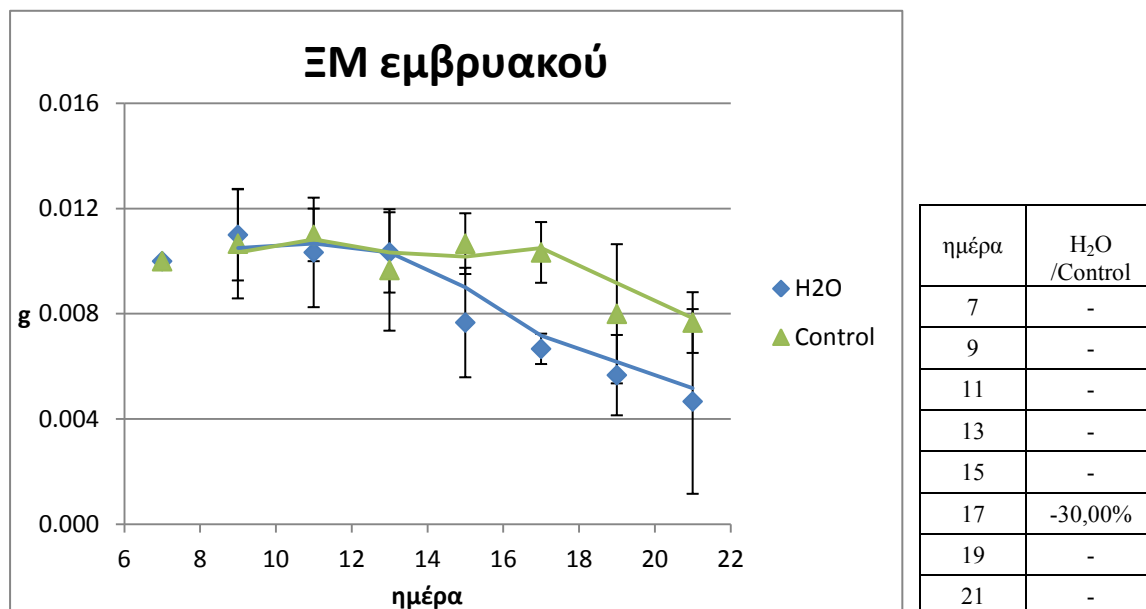


Παρόμοιο διάγραμμα είναι και το παρακάτω του οργανικού αζώτου των βλαστογενών ριζών, με μικρή αύξηση για το H₂O και μεγαλύτερη για το Control, από τη 17^η μέρα μέχρι το τέλος. Η διαφορές των βλαστογενών ριζών του H₂O ως προς το Control είναι 58,82%, 69,30% και 69,63% για τις μέρες 17^η, 19^η και 21^η αντίστοιχα.

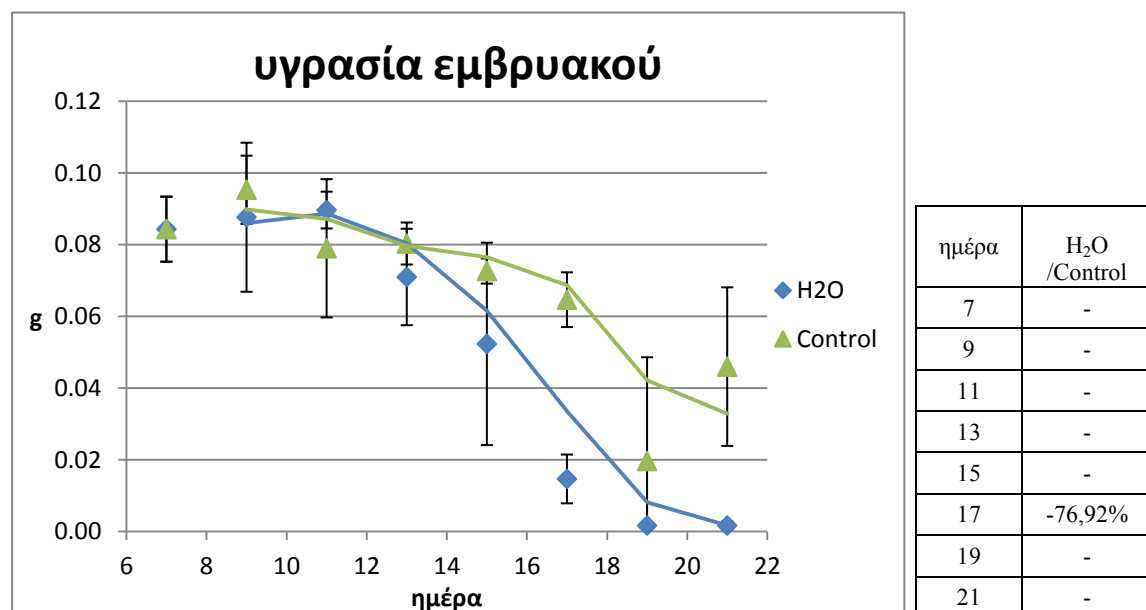


3.1.3 Φύλλα.

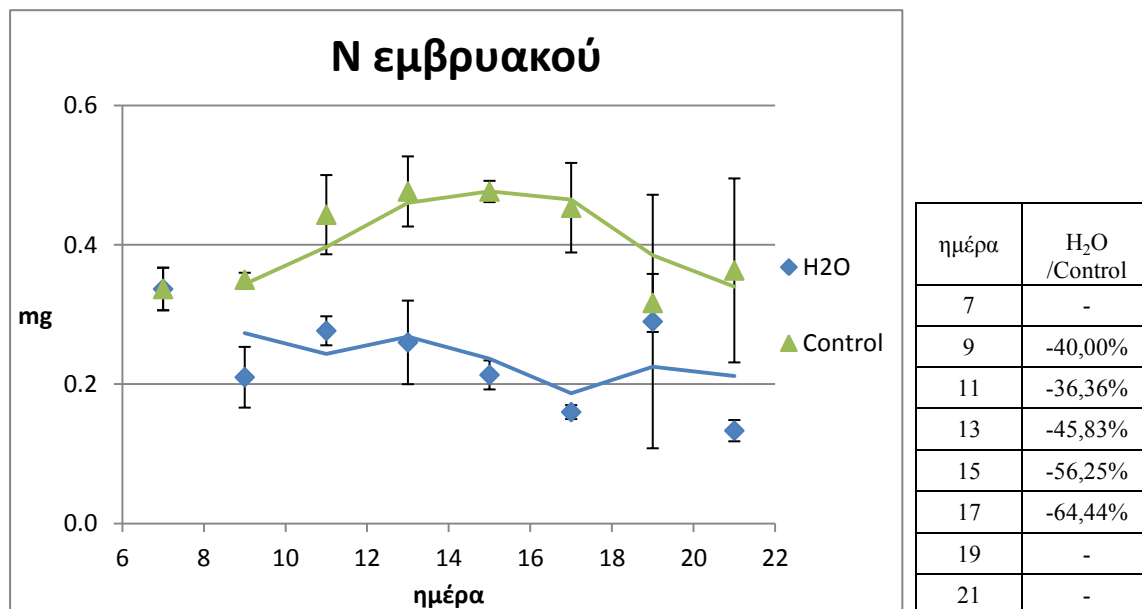
Η ΞΜ του εμβρυακού φύλλου είναι περίπου σταθερή από την 7^η μέρα μέχρι και τη 13^η και για τις δύο μεταχειρίσεις. Στη συνέχεια για το H₂O έχουμε σταθερά φθίνουσα πορεία, ενώ η πτώση φαίνεται να καθυστερεί για το Control σε σχέση με το H₂O. Τη 17^η μέρα το H₂O έχει στατιστικά σημαντική διαφορά της τάξης του 30% , γεγονός που επιβεβαιώνει την επιτάχυνση του αδειάσματος του εμβρυακού φύλλου σε σχέση με το Control.



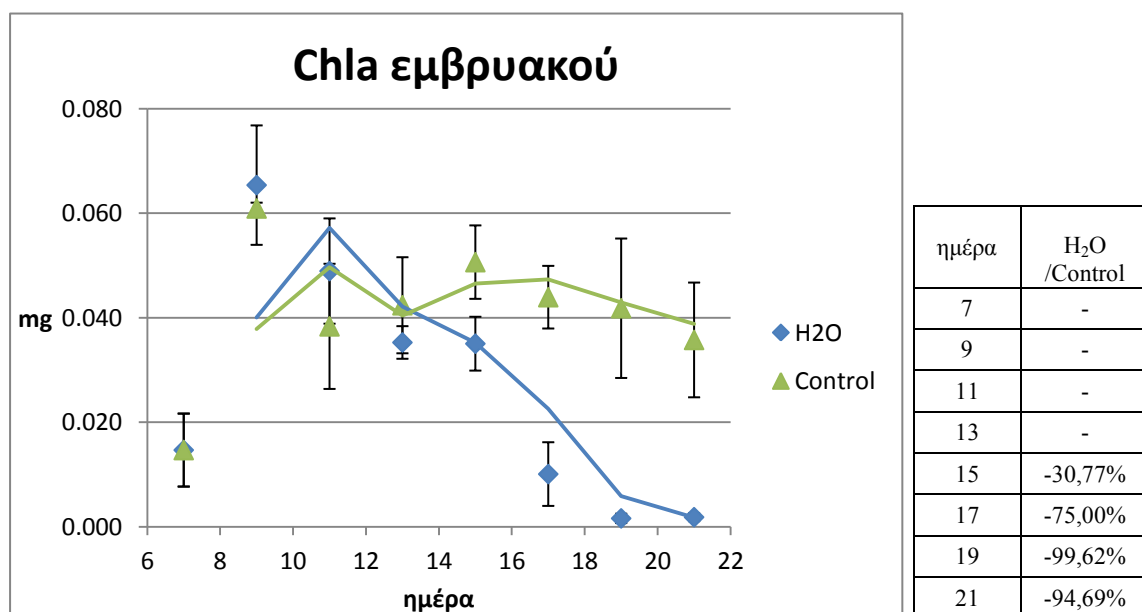
Η υγρασία του εμβρυακού φύλλου επίσης διαφέρει ανάμεσα στις μεταχειρίσεις, όπου για το H₂O αυξάνεται ελαφρά μέχρι την 11^η μέρα και μετά μειώνεται, μέχρι σχεδόν να μηδενιστεί τη 19^η μέρα. Για το Control η μείωση είναι σαφώς πιο αργή, καθώς διατηρείται το μεγαλύτερο ποσοστό της υγρασίας μέχρι τη 17^η μέρα και στη συνέχεια φθίνει με μεγαλύτερο ρυθμό. Τη 17^η μέρα επίσης έχουμε σημαντική διαφορά μεταξύ H₂O και Control κατά 76,92% .



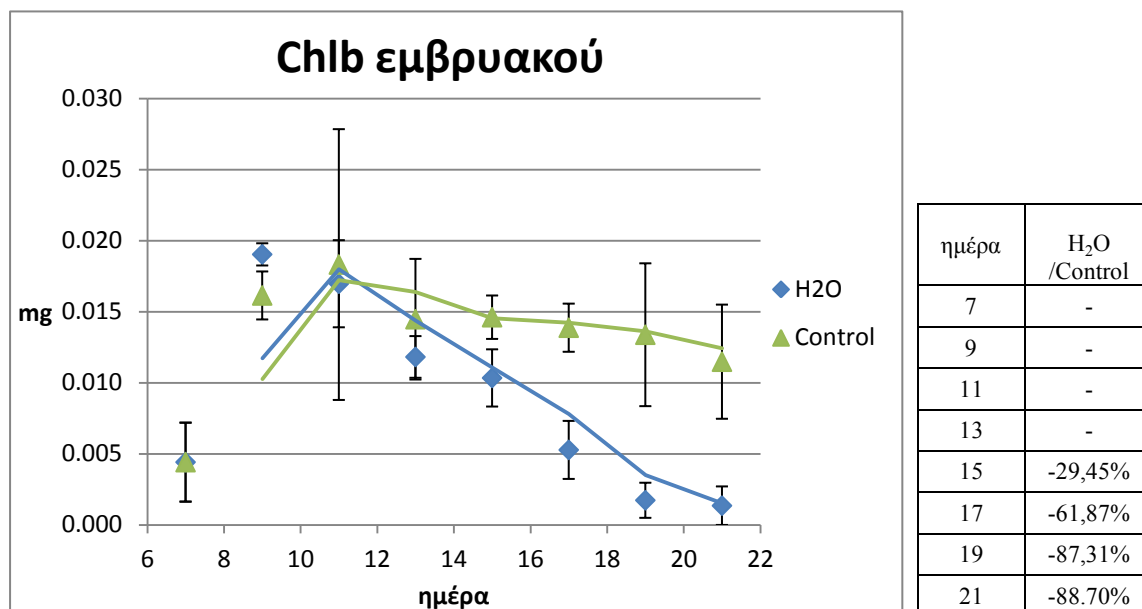
Η πρώτη εικόνα για το οργανικό άζωτο του εμβρυακού φύλλου είναι ότι η γραμμή τάσης του H₂O βρίσκεται χαμηλότερα από ότι η αντίστοιχη γραμμή του Control, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Επίσης το H₂O έχει τάση μείωσης, ενώ το Control ακολουθεί αυξητική πορεία, μέχρι περίπου τη 15^η μέρα και στη συνέχεια μειώνεται. Από τον πίνακα βλέπουμε ότι το H₂O σε σχέση με το Control, από την 9^η μέρα ήδη, έχει σημαντικά μικρότερη ποσότητα οργανικού αζώτου κατά 40% και συνεχίζει μέχρι και τη 17^η με μέγιστη διαφορά 64,44% .



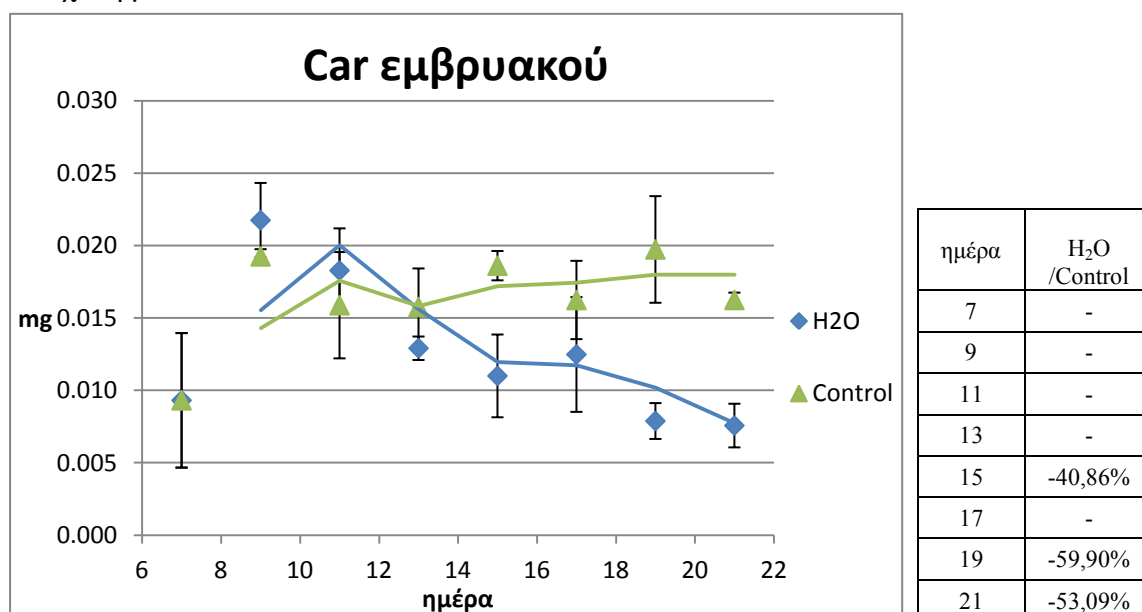
Η πορεία της χλωροφύλλης α στο εμβρυακό φύλλο φαίνεται στο επόμενο διάγραμμα. Την 9^η μέρα παίρνει τη μέγιστη τιμή για τις δύο μεταχειρίσεις γύρω στα 0,060 mg και στη συνέχεια έχουμε πτωτική πορεία. Το H₂O έχει το μεγαλύτερο ρυθμό μείωσης. Στη σύγκριση των μέσων τιμών μεταξύ H₂O και Control, από τη 15^η μέχρι την 21^η μέρα το ttest είναι θετικό με τα ποσοστά που φαίνονται στον πίνακα.



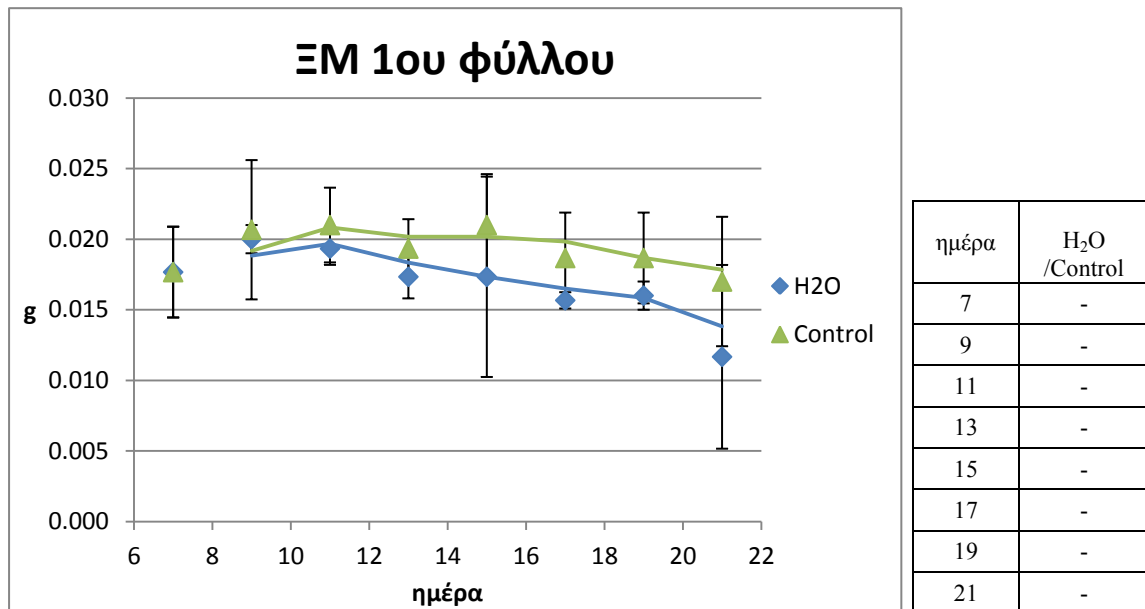
Η χλωροφύλλη β λαμβάνει τη μέγιστη τιμή της περίπου την 11^η μέρα και στη συνέχεια φθίνει με μεγαλύτερη μείωση και σε αυτή την περίπτωση για το H₂O. Συγκρίνοντας H₂O με Control παρατηρείται διαφορά από τη 15^η μέρα με 29,45%, που στη συνέχεια αυξάνεται μέχρι την 21^η μέρα, καθώς ο ρυθμός μείωσης του H₂O είναι μεγαλύτερος.



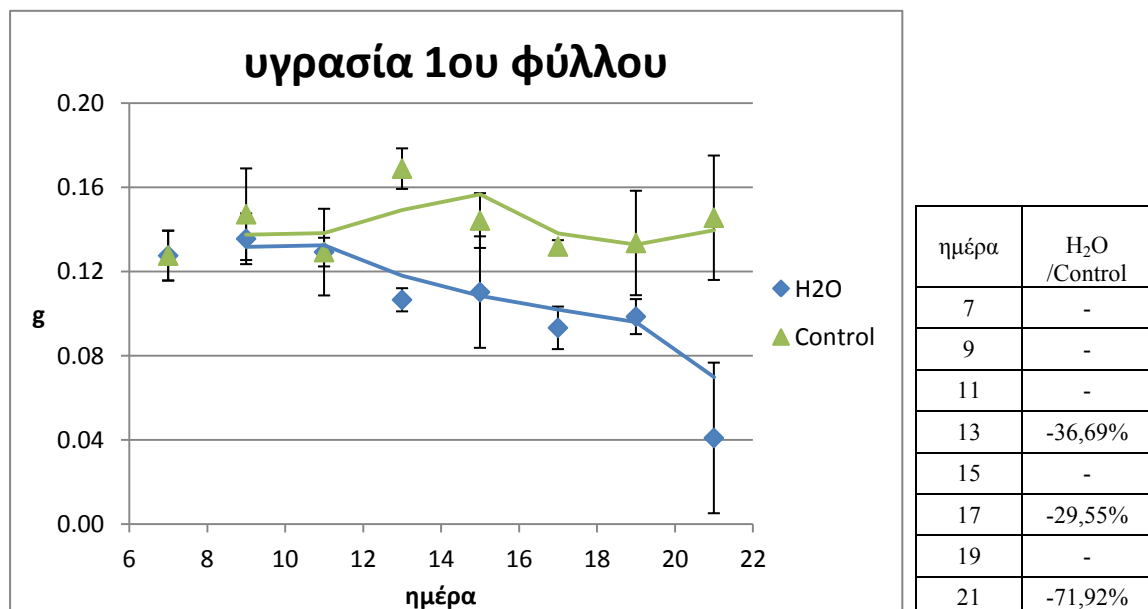
Παρόμοια εικόνα υπάρχει και για τα καροτενοειδή του εμβρυακού φύλλου, με τις διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων αμβλυμμένες σε σχέση με τις χλωροφύλλες. Για το Control τα καροτενοειδή παραμένουν σχετικά σταθερά, ενώ για το H₂O έχουμε σαφή μείωση, με στατιστικά σημαντικές διαφορές τη 15^η, 19^η και 21^η μέρα, σε σχέση με το Control.



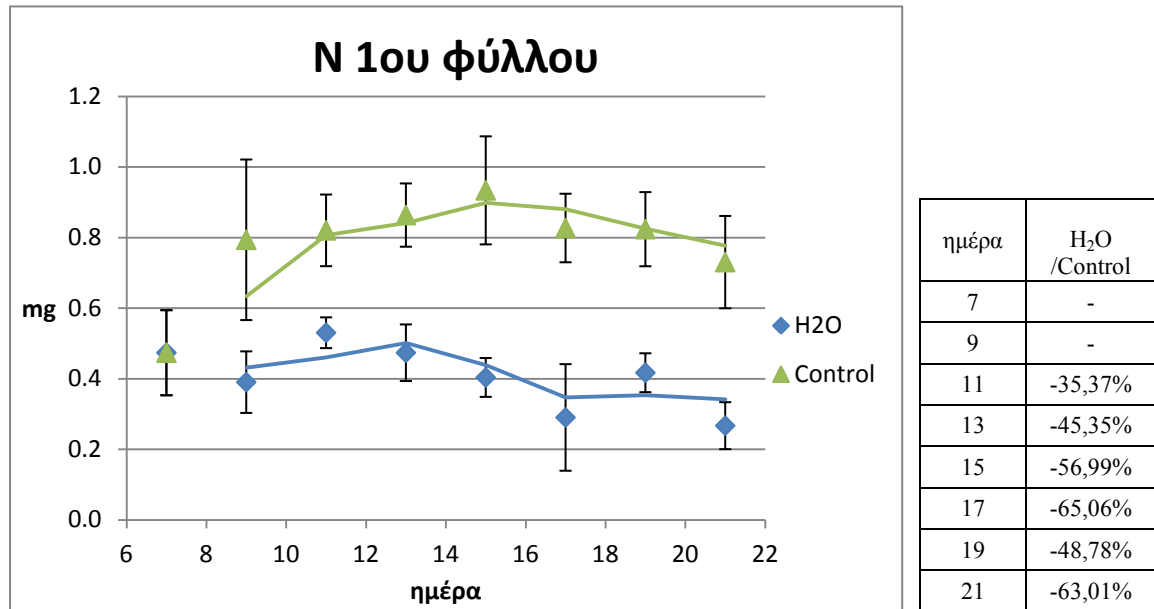
Η ΞΜ του 1^{ου} φύλλου έχει μικρή αύξηση μέχρι περίπου την 11^η μέρα και στη συνέχεια παραμένει σχεδόν σταθερή για το Control με μικρή μείωση προς το τέλος, ενώ για το H₂O η γραμμή τάσης διαγράφει σαφή πτωτική πορεία. Το ttest δεν ανιχνεύει διαφορές για καμία από τις συγκρίσεις, ωστόσο η γραμμή τάσης του νερού είναι καθ'όλη τη διάρκεια του πειραματικού χαμηλότερα από αυτή του Control.



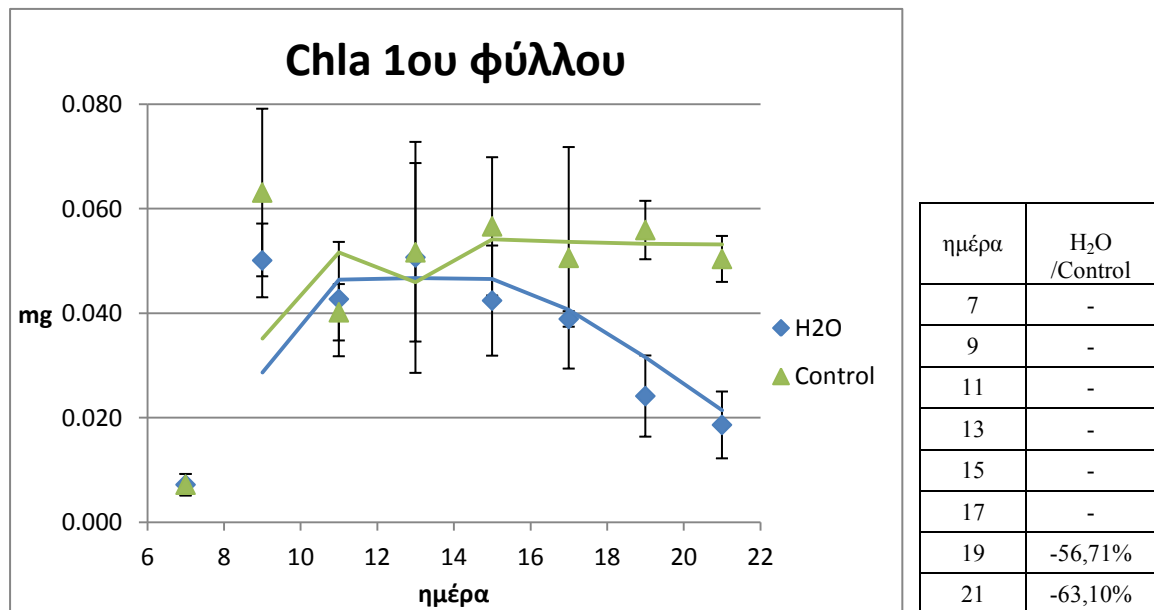
Η υγρασία αυξάνεται για το Control μέχρι τη 13^η μέρα και στη συνέχεια έχει πτωτική τάση. Αντίθετα για το H₂O έχουμε μείωση μετά την 11^η μέρα, με διαφορές του ttest τη 13^η, 17^η και 21^η μέρα ως προς το Control.



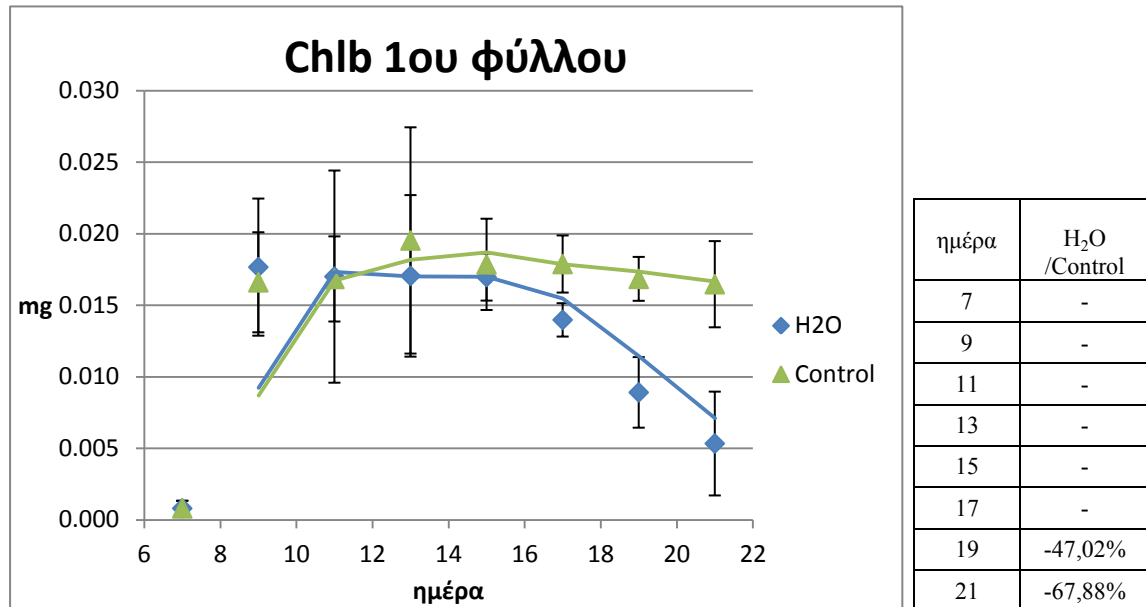
Στην περίπτωση του οργανικού αζώτου για το 1^ο κανονικό φύλλο βλέπουμε ότι για το H₂O έχουμε σταθερή κατάσταση μέχρι και τη 13^η μέρα και στη συνέχεια μικρή μείωση, ενώ για το Control σαφή αύξηση μέχρι τη 15^η και μείωση μέχρι την 21^η μέρα. Στη σύγκριση μεταξύ H₂O και Control βλέπουμε σημαντικές διαφορές, από την 11^η μέρα και μετά.



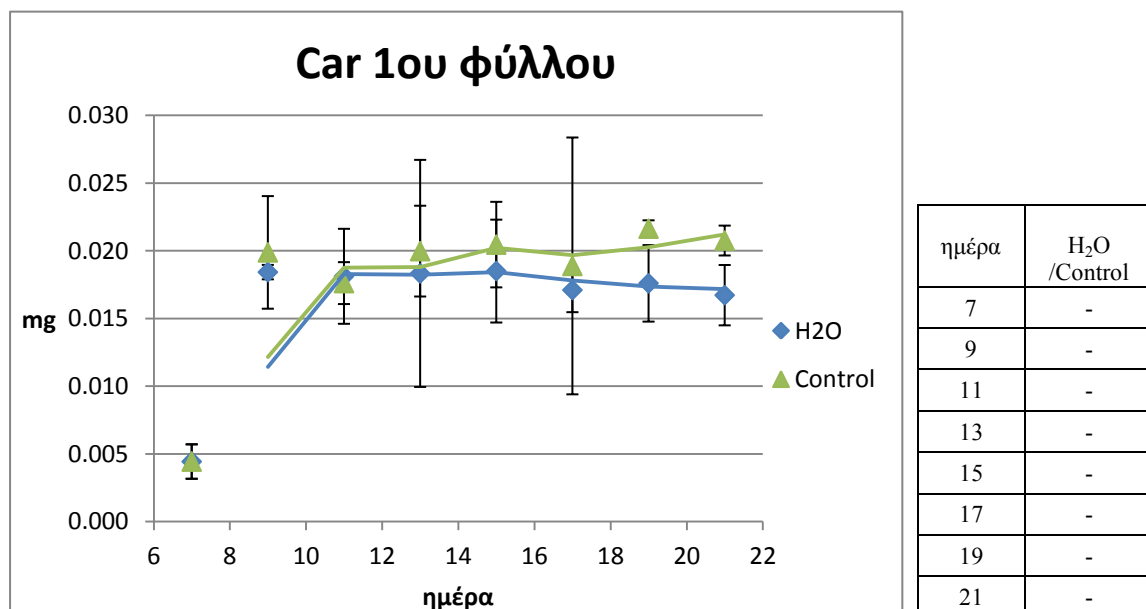
Η χλωροφύλλη α παίρνει τη μέγιστη τιμή της την 9^η μέρα και στη συνέχεια για το Control σταθεροποιείται, ενώ για το H₂O μειώνεται ακόμα περισσότερο μέχρι το τέλος του πειράματος. Σημαντικές διαφορές βλέπουμε μεταξύ H₂O και Control τη 19^η και 21^η μέρα.



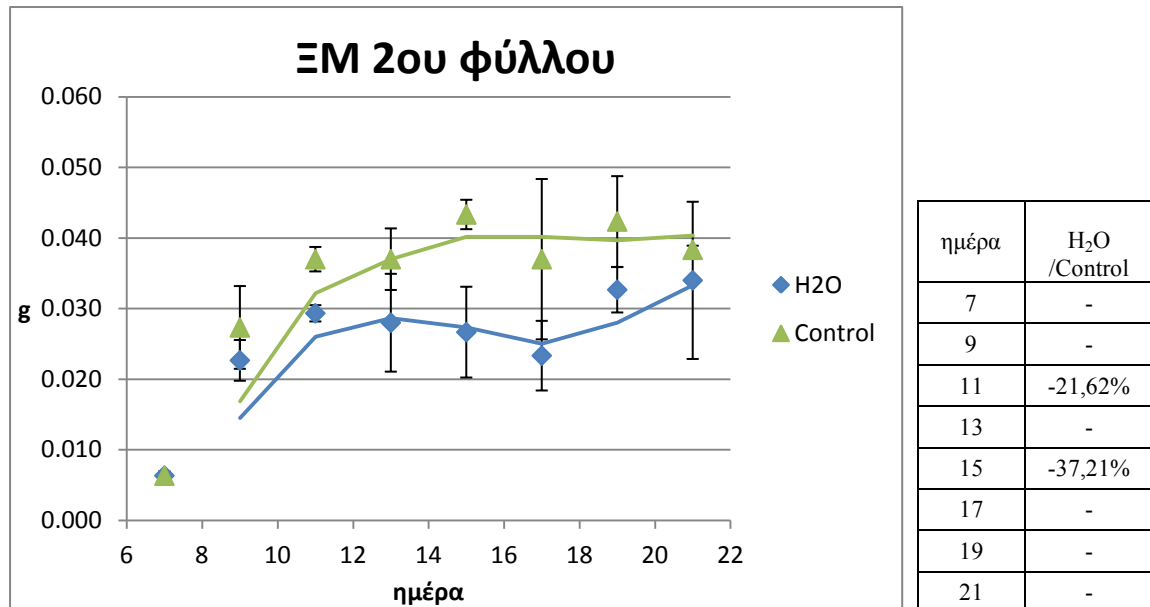
Παρόμοια εικόνα υπάρχει και για τη χλωροφύλλη β με μέγιστη τιμή για το H₂O την 9^η μέρα και για το Control τη 13^η. Στη συνέχεια έχουμε σταθεροποίηση και ίσως μικρή μείωση για το Control, ενώ μεγαλύτερη μείωση παρατηρείται για το H₂O. Τη 19^η και 21^η μέρα το H₂O έχει στατιστικά σημαντική διαφορά από το Control, με ποσοστό διαφοράς 47,02% και 67,88% αντίστοιχα.



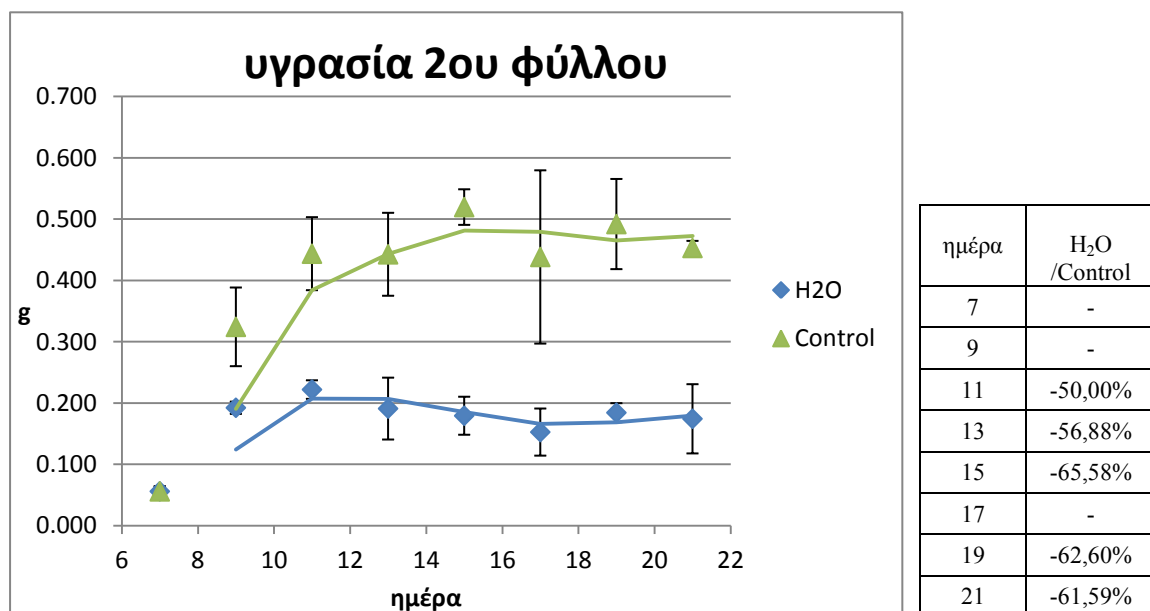
Τα καροτενοειδή στο 1^ο κανονικό φύλλο, από την 9^η μέρα και μετά παραμένουν μάλλον σταθερά, με μικρές διακυμάνσεις των γραμμών τάση. Το ttest δε δείχνει διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.



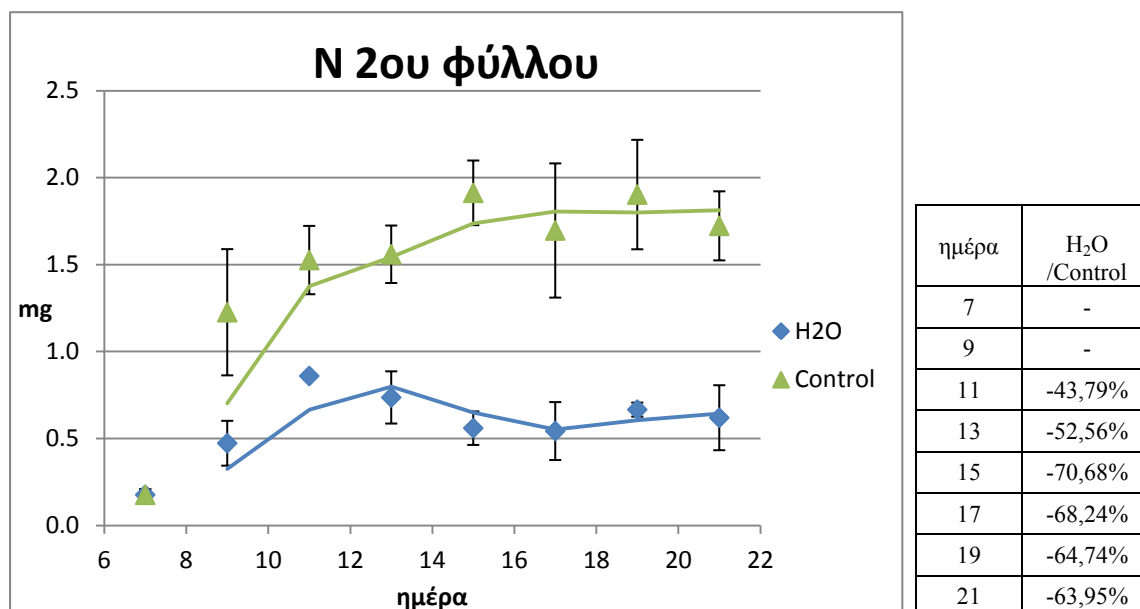
Η ΞΜ του 2^{ου} κανονικού φύλλου αυξάνεται μέχρι τη 15^η μέρα και στη συνέχεια σταθεροποιείται για το Control. Για το H₂O παρατηρούμε σταθεροποίηση μετά την 11^η μέρα ενώ υπάρχει μία δεύτερη φάση μικρής αύξησης από τη 19^η μέρα. Σημαντικές διαφορές μεταξύ H₂O και Control εμφανίζονται την 11^η και 15^η μέρα.



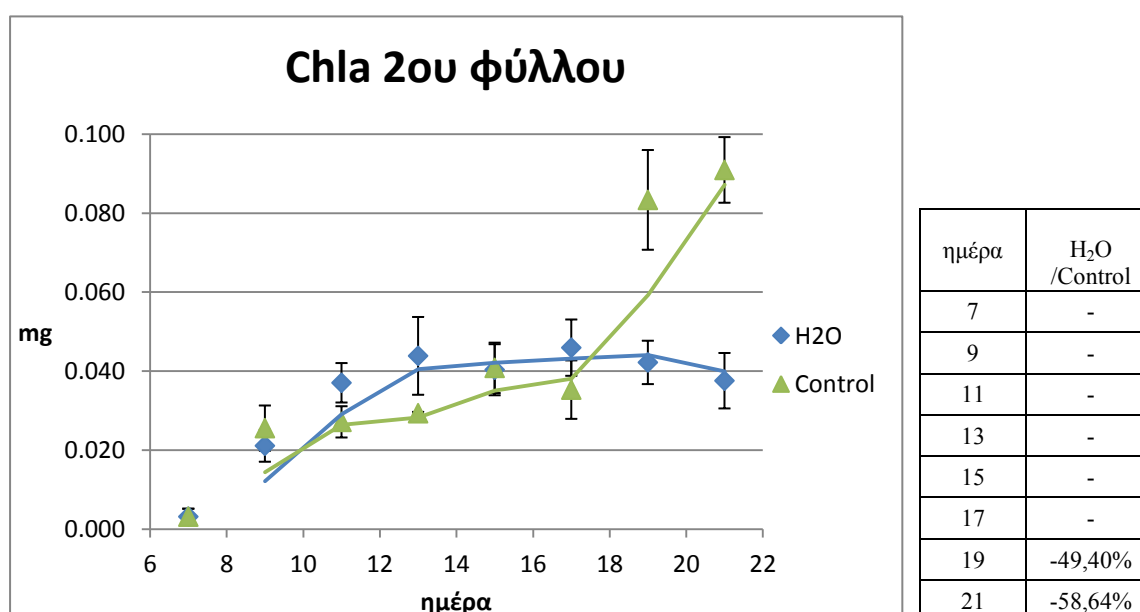
Παρόμοια είναι και η τάση της υγρασίας του 2^{ου} φύλλου για τις δύο μεταχειρίσεις, με τις διαφορές μεταξύ τους να είναι πιο έντονες. Έτσι στη σύγκρισή τους το ttest είναι θετικό από την 11^η μέρα και μετά, με μόνη εξαίρεση τη 17^η μέρα. Οι τιμές του H₂O είναι από 50% μέχρι 65,58% μικρότερες των αντίστοιχων τιμών του Control.



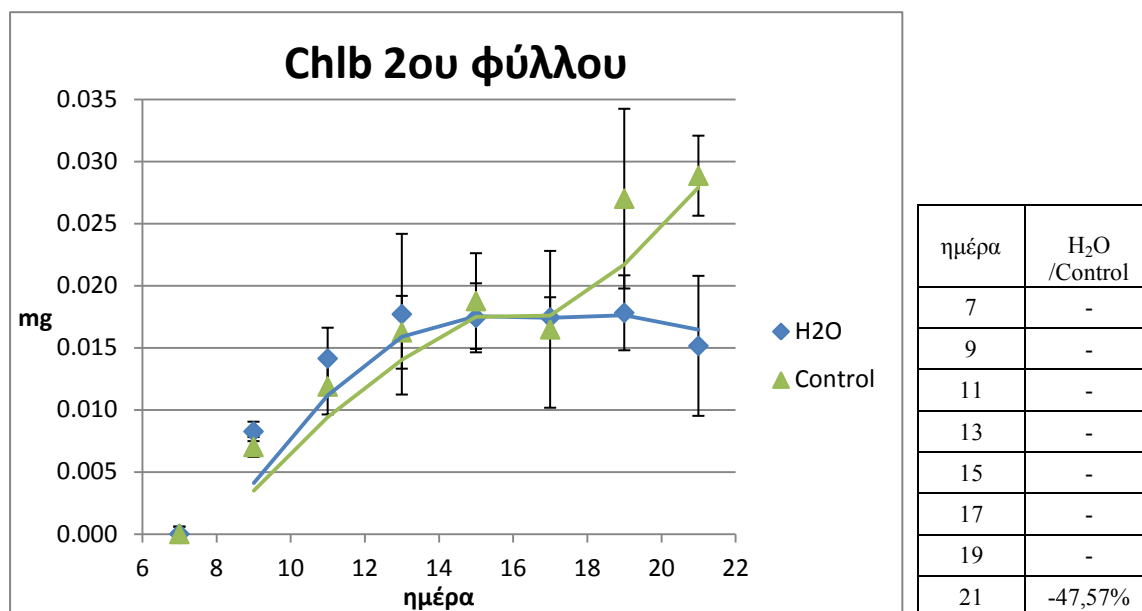
Το οργανικό άζωτο του 2^{ου} φύλλου αυξάνεται και στις δύο μεταχειρίσεις αρχικά, ωστόσο η συσσώρευση διακόπτεται νωρίς για το H₂O, περίπου τη 13^η μέρα και στη συνέχεια μειώνεται ελαφρά και σταθεροποιείται. Στο Control δεν παρατηρείται κάτι ανάλογο μέχρι την 21^η μέρα, καθώς αυξάνεται μέχρι τη 15^η μέρα και μετά σταθεροποιείται. Το ttest παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ H₂O και Control, από την 11^η μέχρι την 21^η μέρα όπως φαίνεται στον πίνακα.



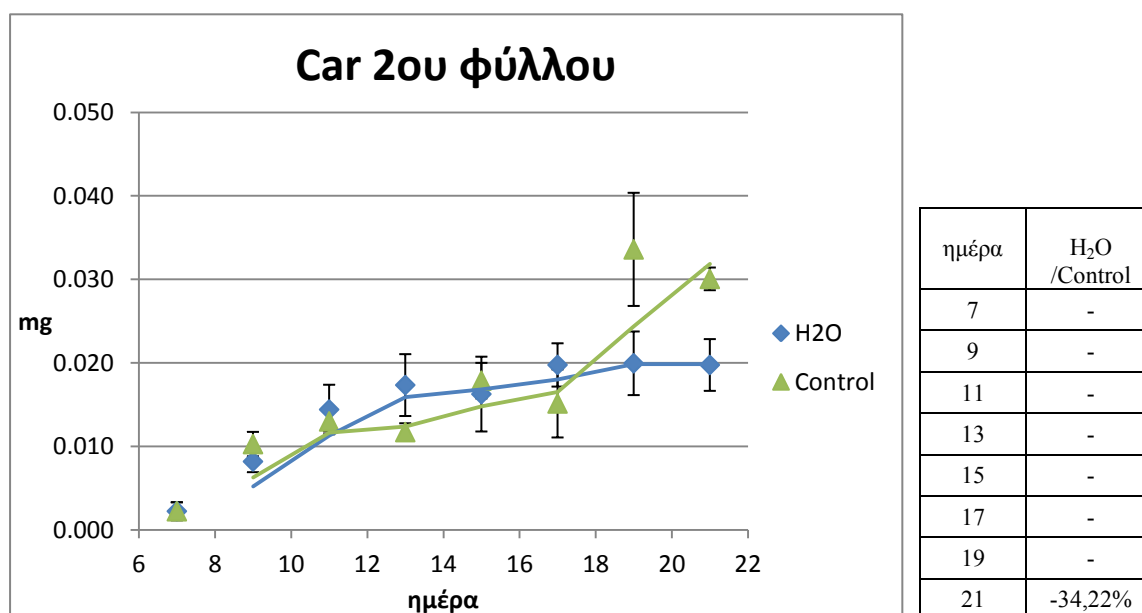
Η χλωροφύλλη α σταθεροποιείται νωρίς για το H₂O σε σχέση με το Control, στο οποίο συσσωρεύεται η χρωστική μέχρι το τέλος του πειράματος. Μεγαλύτερες τιμές αποκτά το Control την 21^η μέρα καθώς έχει σημαντική αύξηση μετά τη 17^η μέρα. Τη 19^η και 21^η μέρα το H₂O έχει στατιστικά σημαντική διαφορά από το Control.



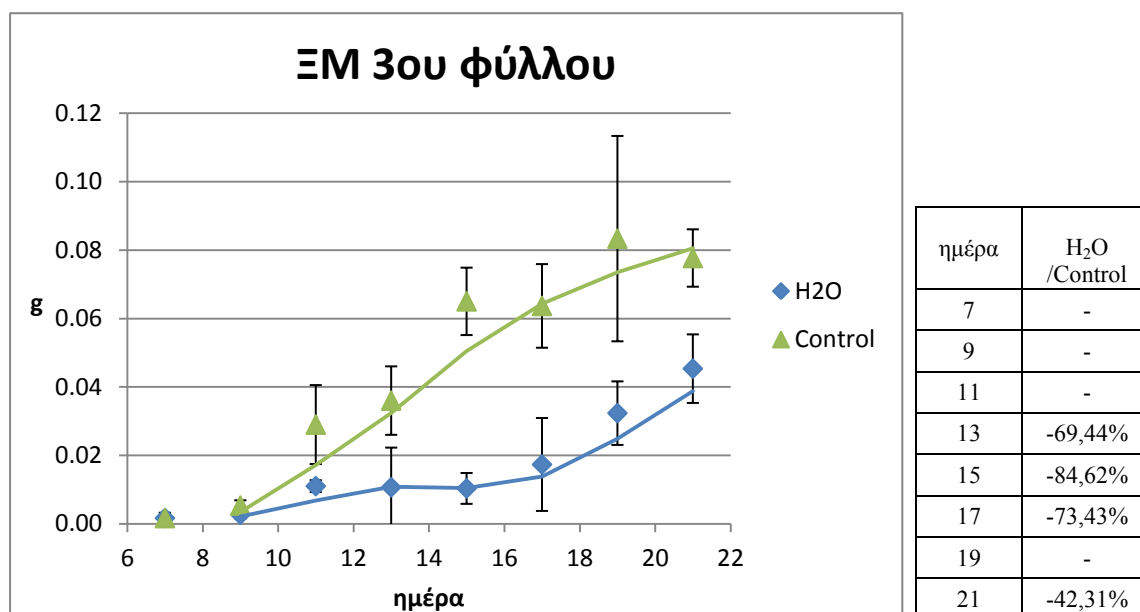
Η χλωροφύλλη β αυξάνεται επίσης και για τις δύο μεταχειρίσεις και σταθεροποιείται για το H₂O μετά τη 13^η μέρα, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα ενώ δε συμβαίνει το ίδιο για το Control, που την 21^η μέρα αποκτά τη μέγιστη τιμή, με στατιστικά σημαντική διαφορά από το H₂O. Συγκεκριμένα το Control παρουσιάζει κάμψη στο ρυθμό συσσώρευσης από τη 15^η έως τη 17^η μέρα και στη συνέχεια αυξάνεται και πάλι.



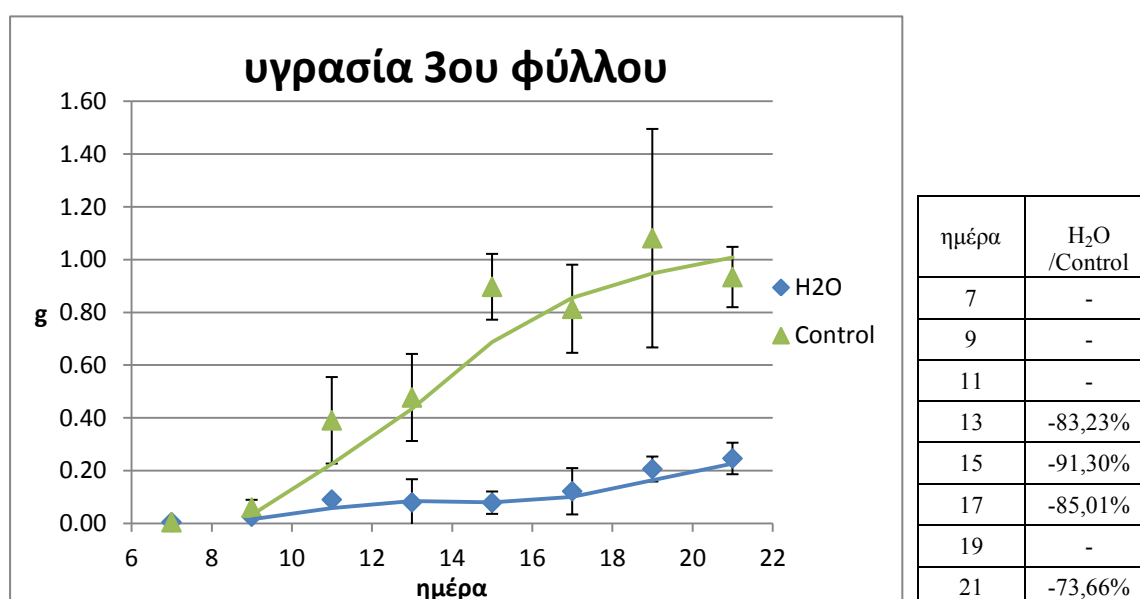
Βλέπουμε στο επόμενο διάγραμμα των καροτενοειδών ότι οι δύο μεταχειρίσεις ακολουθούν κοινή αυξητική πορεία, με μόνη εξαίρεση τη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ H₂O και Control κατά 34,22% την 21^η μέρα.



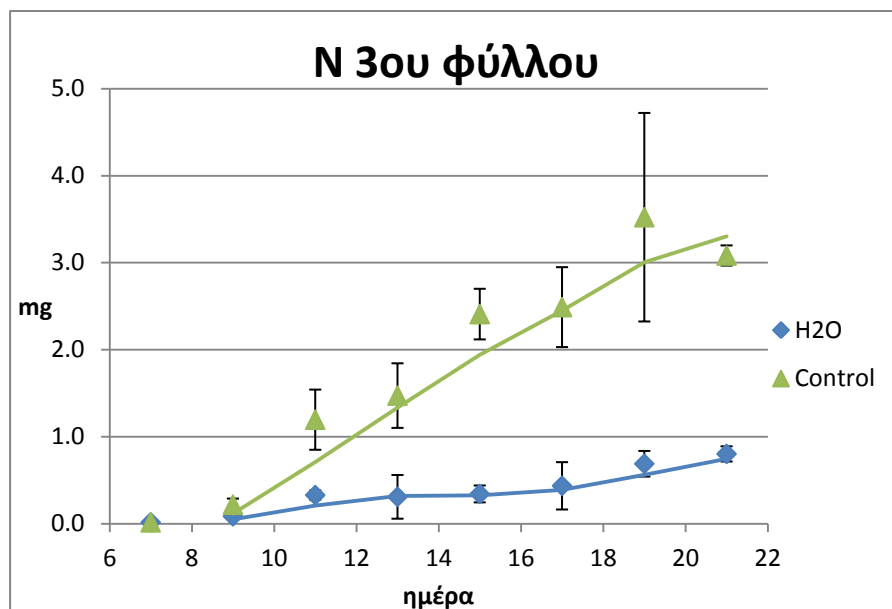
Η συσσώρευση της ΞΜ στο 3^ο κανονικό φύλλο για το H₂O είναι σαφώς διαφοροποιημένη από το Control, καθώς υπάρχει σημαντική χρονική καθυστέρηση στη γρήγορη φάση ανάπτυξης. Παρατηρούμε ότι το Control αυξάνεται γρήγορα μέχρι τη 17^η μέρα και αργά μέχρι την 21^η, ενώ η φάση αυτή για το H₂O συμβαίνει μετά τη 17^η μέρα. Έτσι έχουμε στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε H₂O και Control τη 13^η, 15^η, 17^η και 21^η μέρα, με τα ποσοστά που φαίνονται στον πίνακα.



Παρόμοια είναι η εικόνα και για την υγρασία του 3^{ου} κανονικού φύλλου, με το ttest ανάμεσα σε H₂O και Control να δείχνει διαφορές πάλι για τις μέρες 13^η, 15^η, 17^η και 21^η.

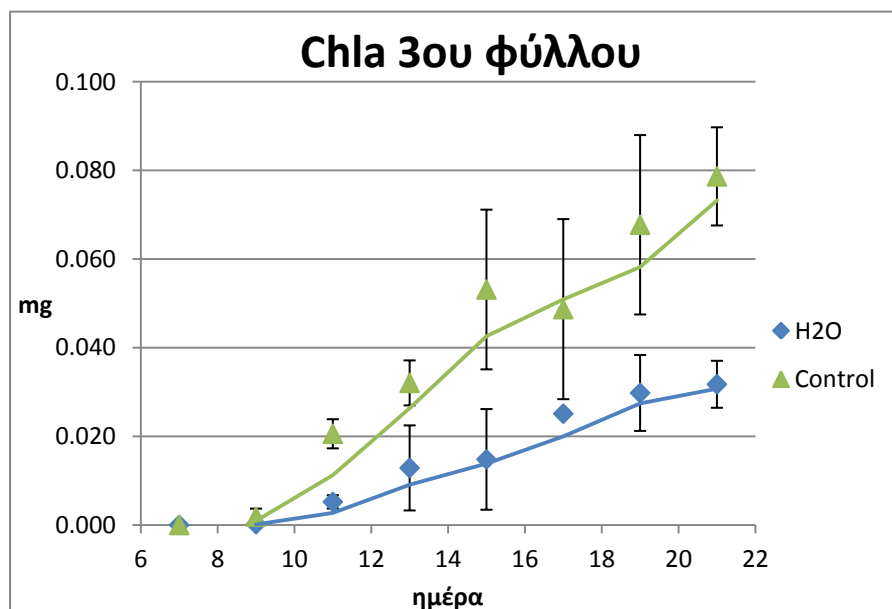


Το οργανικό άζωτο συσσωρεύεται αργά στο 3^ο κανονικό φύλλο για το H₂O σε σχέση με το Control. Σημαντικές διαφορές μεταξύ τους υπάρχουν από την 11^η μέρα μέχρι την 21^η με εξαίρεση τη 19^η. Βλέπουμε ότι οι τιμές του H₂O σε σχέση με το Control είναι από 72,5% μέχρι και 85,89% μειωμένες.



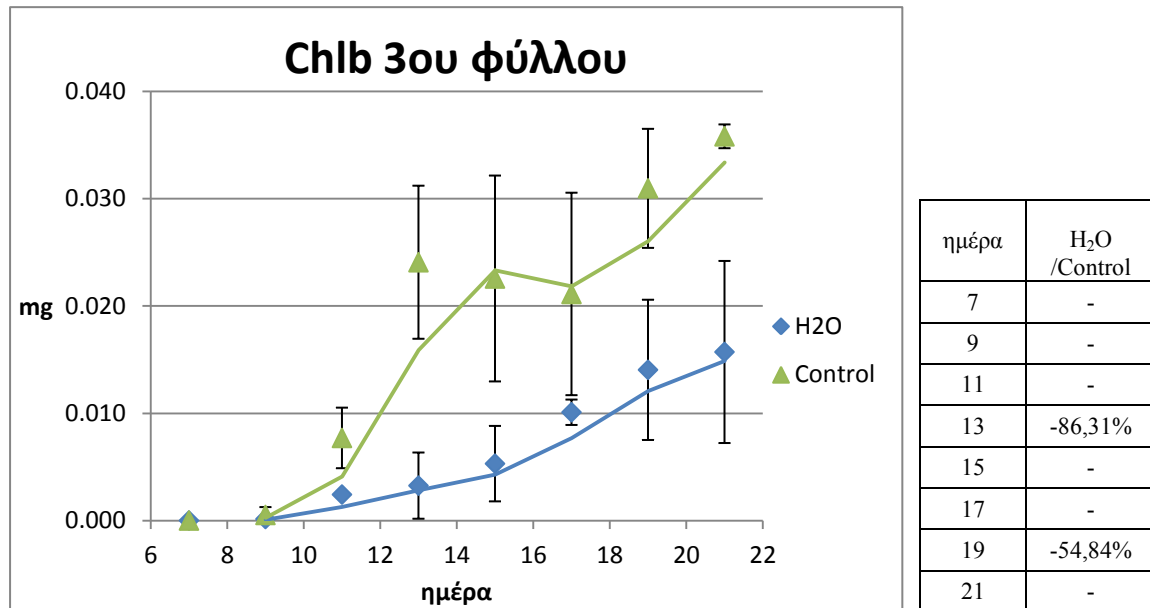
ημέρα	H ₂ O /Control
7	-
9	-
11	-72,50%
13	-78,91%
15	-85,89%
17	-82,33%
19	-
21	-74,03%

Βλέπουμε ότι οι γραμμές τάσης της χλωροφύλλης α έχουν αρχίσει να διαχωρίζονται σε σχέση και με τα προηγούμενα φύλλα, με μεγαλύτερη τάση αύξησης του Control από την αντίστοιχη του H₂O. Σημαντικές διαφορές μεταξύ τους υπάρχουν την 11^η τη 15^η και την 21^η μέρα.

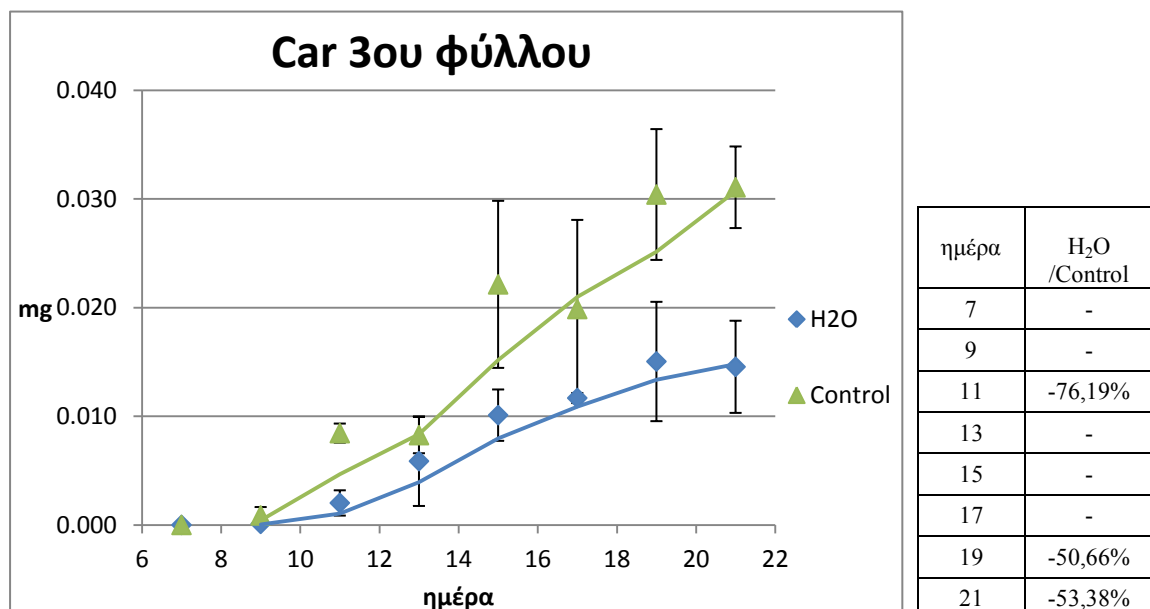


ημέρα	H ₂ O /Control
7	-
9	-
11	-74,76%
13	-
15	-72,13%
17	-
19	-
21	-59,72%

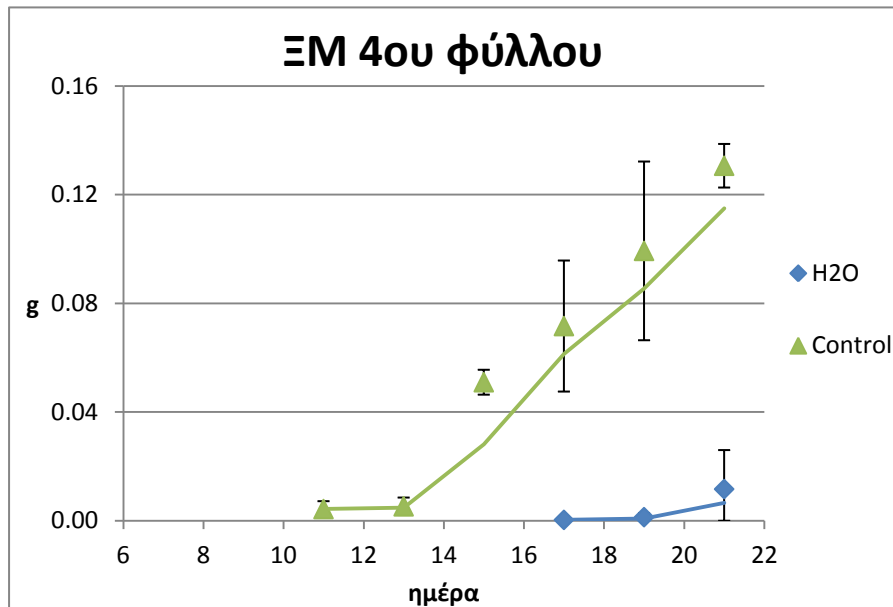
Το διάγραμμα της χλωροφύλλης β μοιάζει με το προηγούμενο, με τις διαφορές μεταξύ H₂O και Control να εντοπίζονται τη 13^η και τη 19^η μέρα με τα ποσοστά που φαίνονται στον πίνακα.



Αντίστοιχα με τα προηγούμενα μεγέθη του 3^{ου} κανονικού φύλλου αυξάνονται και τα καροτενοειδή και στις δύο μεταχειρίσεις, με μεγαλύτερη αύξηση εκείνη του Control τις τελευταίες μέρες του πειράματος. Η γραμμή τάσης του H₂O είναι για άλλη μία φορά χαμηλότερα, με σημαντικές διαφορές σε σχέση με το Control την 11^η, 19^η και 21^η μέρα.

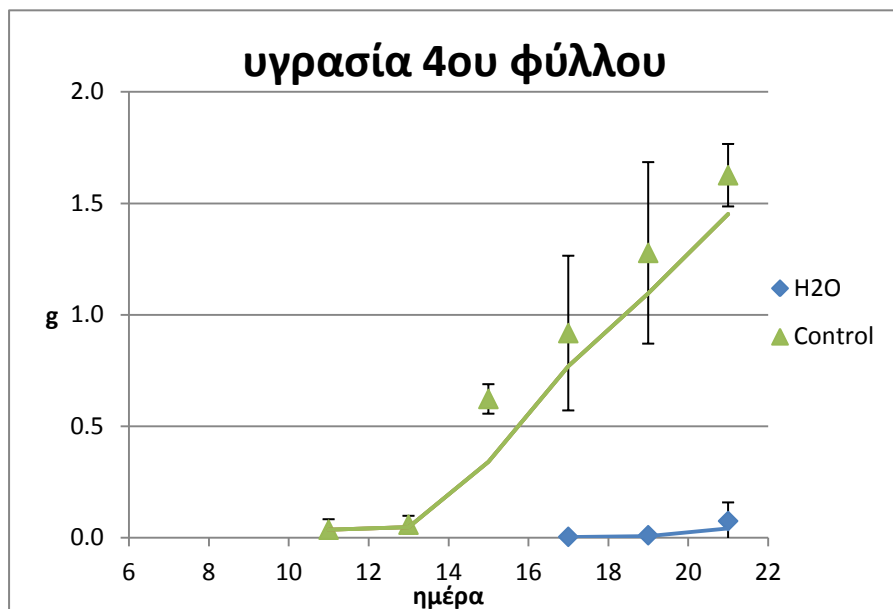


Η ΞΜ του 4^{ου} κανονικού φύλλου φαίνεται στο επόμενο διάγραμμα, όπου βλέπουμε το Control να αυξάνεται σχεδόν γραμμικά μετά τη 13^η μέρα, ενώ το H₂O αναπτύσσεται ελάχιστα από τη 19^η μέρα. Έτσι το ttest διακρίνει διαφορές μεταξύ H₂O και Control από τη 15^η μέρα, μέχρι το τέλος.



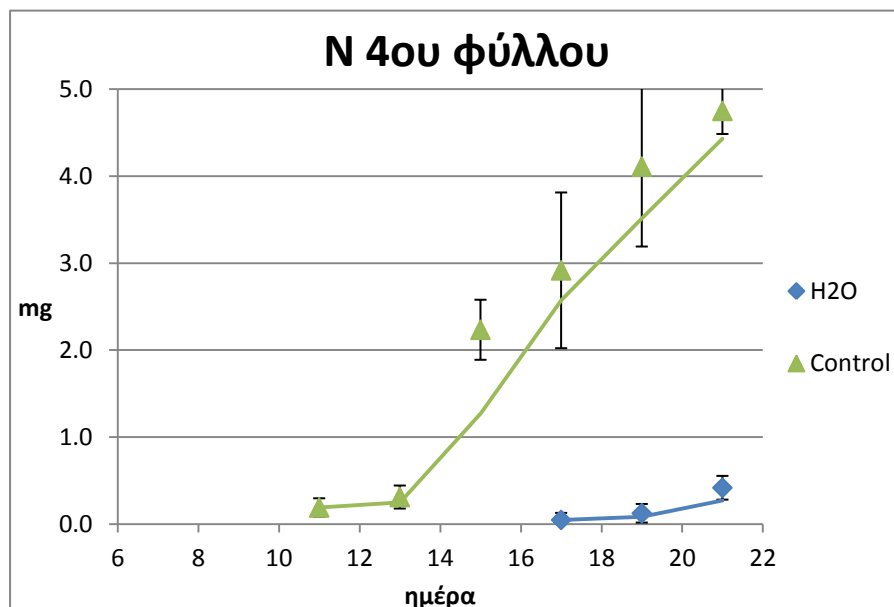
ημέρα	H ₂ O /Control
7	-
9	-
11	-
13	-
15	-100,00%
17	-100,00%
19	-98,98%
21	-90,84%

Ίδια εικόνα και για την υγρασία του 4^{ου} φύλλου με στατιστικά σημαντικές διαφορές από τη 15^η μέχρι την 21^η μέρα, όπως φαίνεται στον πίνακα.



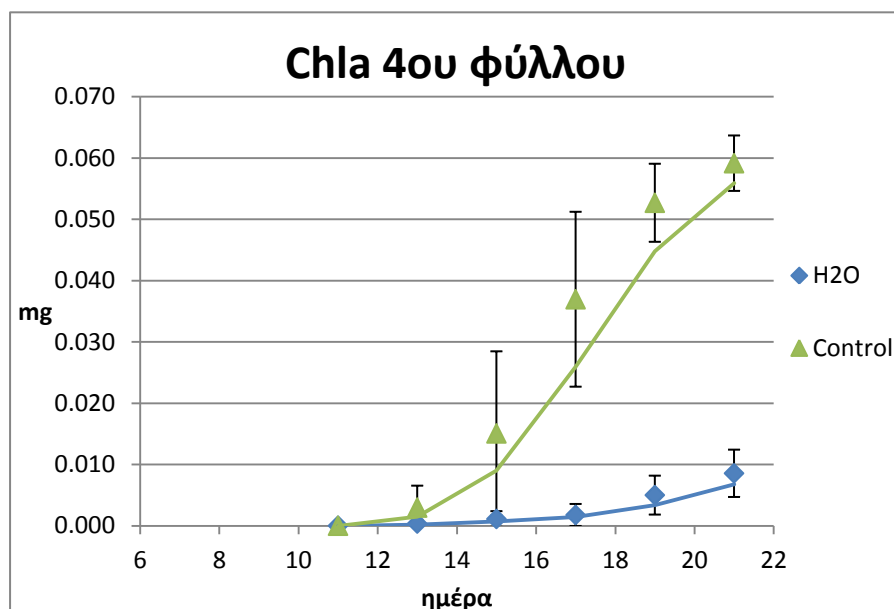
ημέρα	H ₂ O /Control
7	-
9	-
11	-
13	-
15	-100,00%
17	-99,56%
19	-99,14%
21	-95,39%

Δεν παρουσιάζει διαφορές το διάγραμμα του οργανικού αζώτου σε σχέση με τα προηγούμενα, καθώς το Control αυξάνεται γραμμικά από τη 13^η μέρα και μετά, ενώ το H₂O αυξάνεται αργά από τη 17^η μέρα και μετά. Οι διαφορές του ttest μεταξύ H₂O και Control φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.



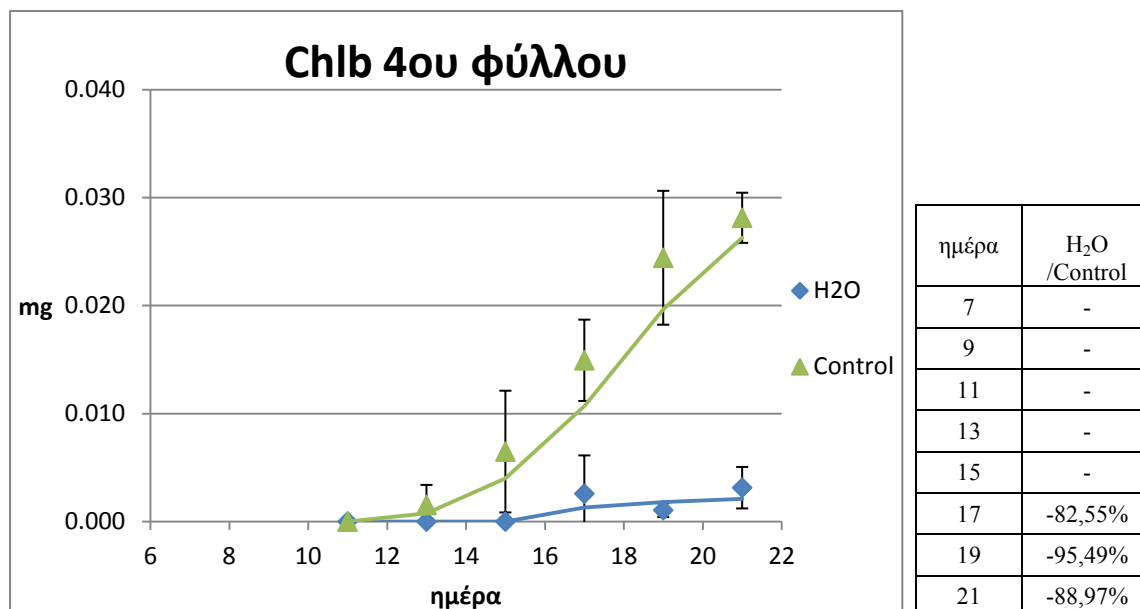
ημέρα	H ₂ O /Control
7	-
9	-
11	-
13	-
15	-100,00%
17	-98,29%
19	-97,08%
21	-91,16%

Για τη χλωροφύλλη α βλέπουμε ότι το H₂O αυξάνεται αργά και διαφέρει σημαντικά από το Control από τη 17^η μέχρι την 21^η μέρα.

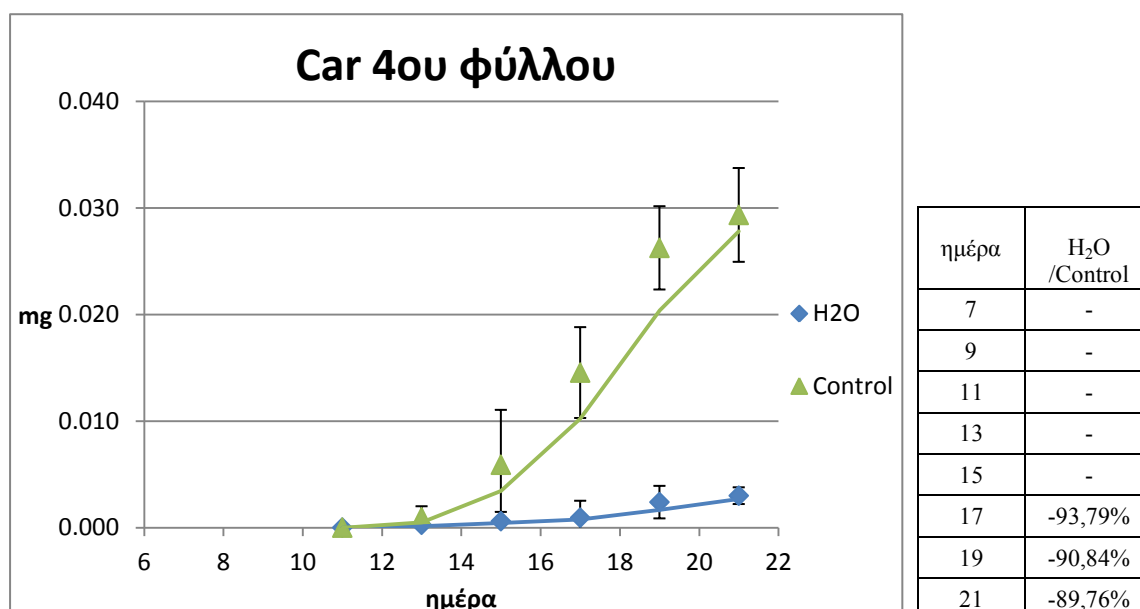


ημέρα	H ₂ O /Control
7	-
9	-
11	-
13	-
15	-
17	-95,12%
19	-90,51%
21	-85,62%

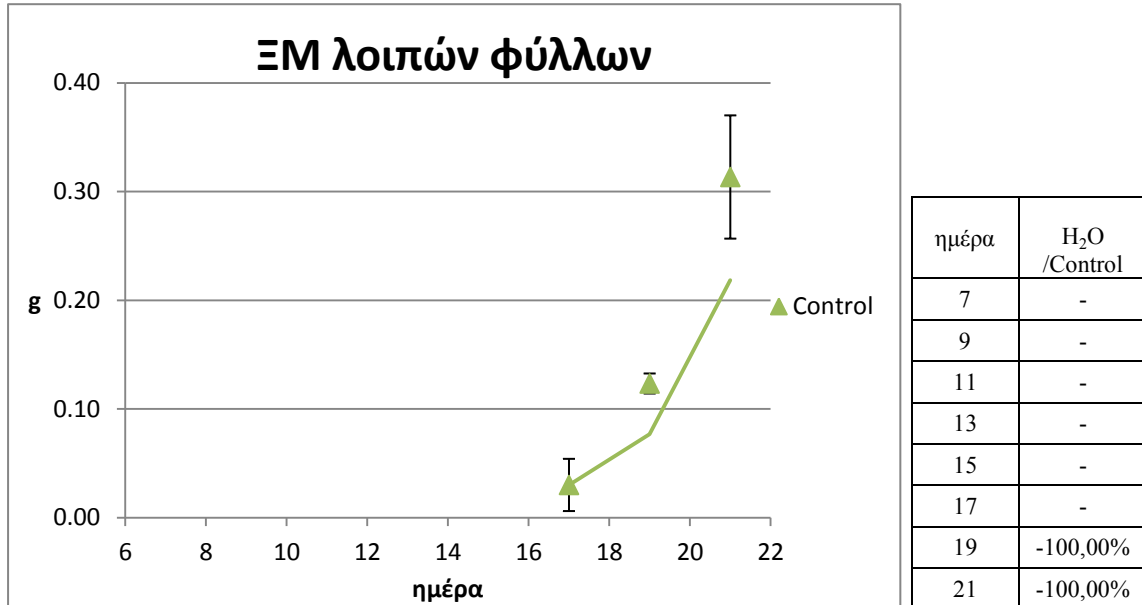
Παρόμοιο είναι και το διάγραμμα της χλωροφύλλης β, με στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ H₂O και Control από τη 17^η μέχρι την 21^η μέρα. Και στις δύο μεταχειρίσεις έχουμε αυξητική τάση από τη 13^η μέρα και καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.



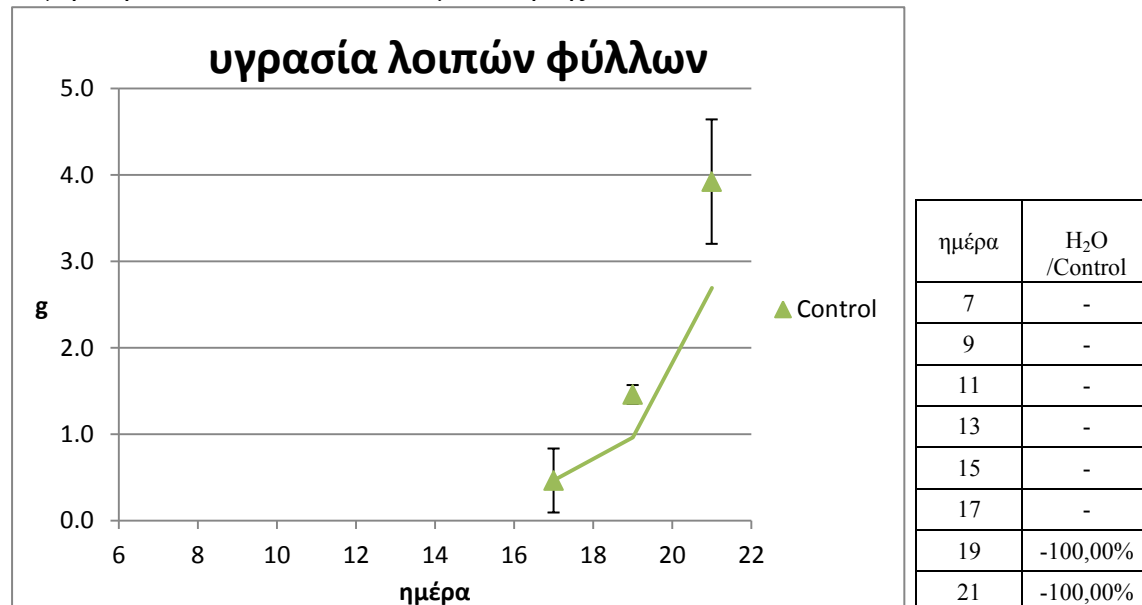
Τα καροτενοειδή παρουσιάζουν επίσης αυξητική τάση από τη 13^η μέρα και μετά, Το H₂O αυξάνεται αργά και ελάχιστα σε σχέση με το Control, με στατιστικά σημαντικές διαφορές από τη 17^η μέχρι την 21^η μέρα.



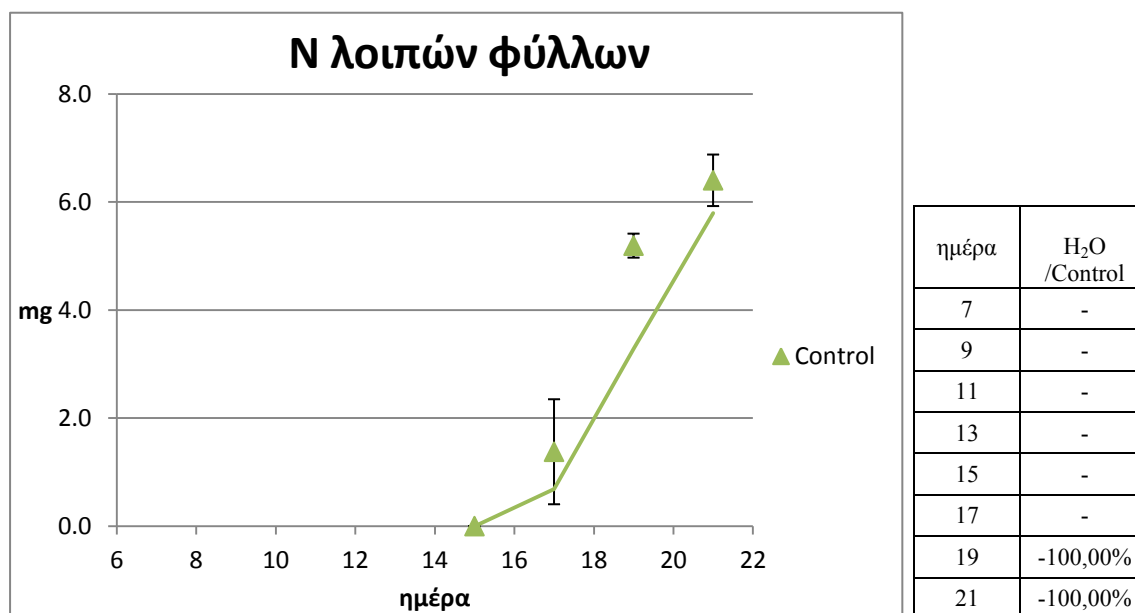
Τα φύλλα που εμφανίζονται μετά το 4^ο περιγράφονται συνολικά στην παρούσα εργασία και αναφέρονται ως λοιπά φύλλα. Στο χρονικό διάστημα του πειραματικού μέρους λοιπά φύλλα εμφανίζονται μόνο στις μεταχειρίσεις -S και Control, ενώ στη μεταχείριση H₂O δεν προλαβαίνουν να εκπτυχθούν μέσα στον πειραματικό χρόνο. Παρακάτω φαίνεται το διάγραμμα της ΞΜ για τα λοιπά φύλλα που δείχνει την αύξηση του Control. Το ttest βγαίνει θετικό στη σύγκριση H₂O προς Control τη 19^η και 21^η μέρα.



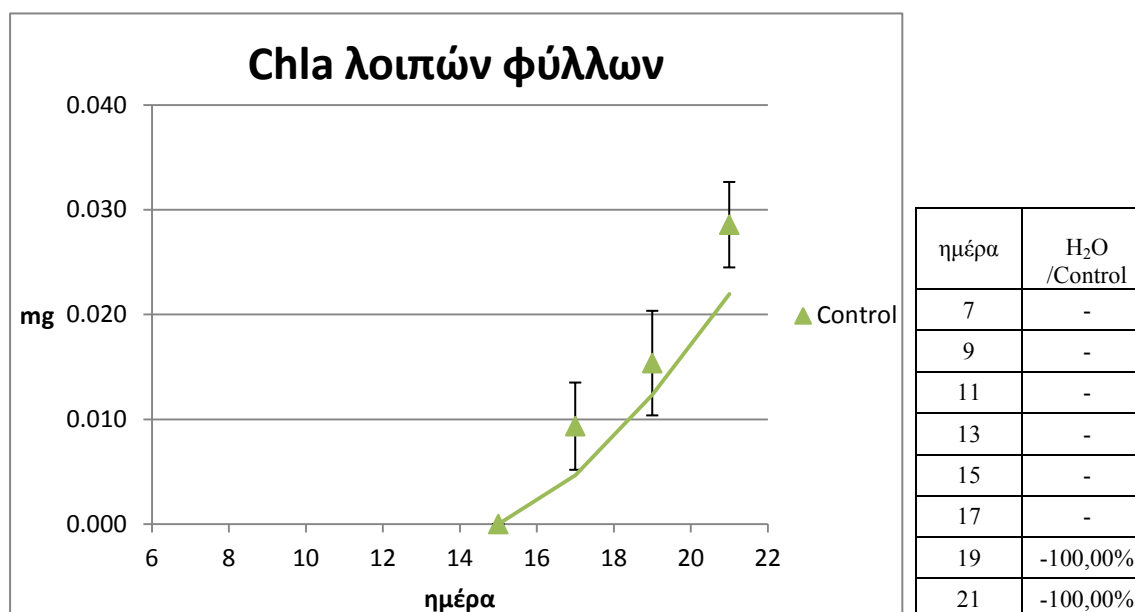
Παρόμοια εικόνα παρουσιάζει και η υγρασία των λοιπών φύλλων. Η σύγκριση H₂O/Control είναι ίδια με αυτή της ΞΜ.



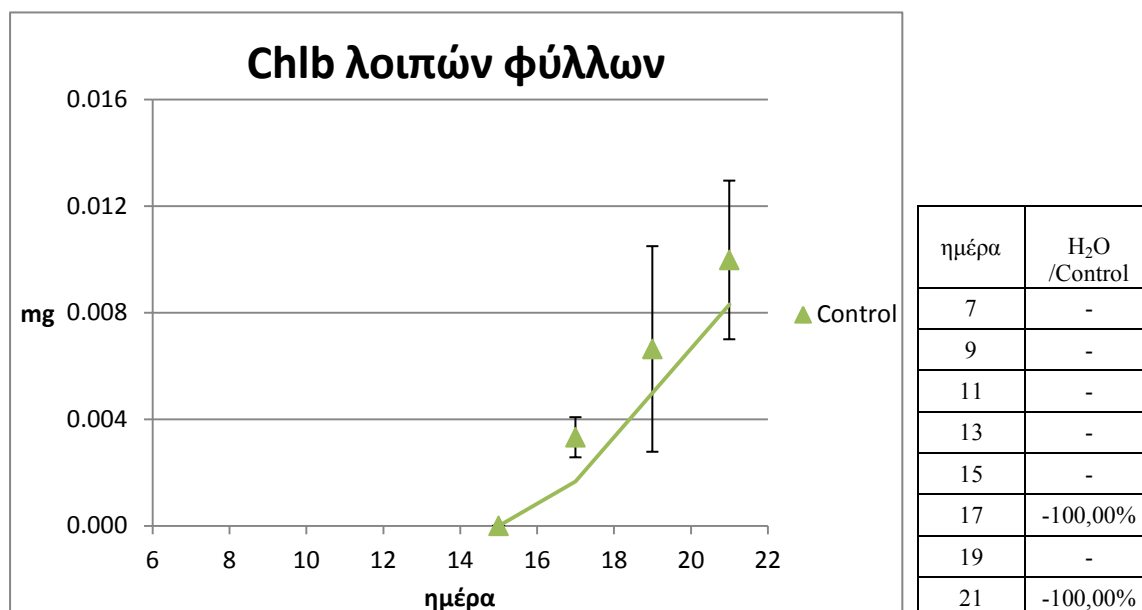
Η πορεία του οργανικού αζώτου των λοιπών φύλλων φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα. Η σύγκριση H₂O/Control δείχνει σημαντικές διαφορές από τη 19^η μέρα και μετά.



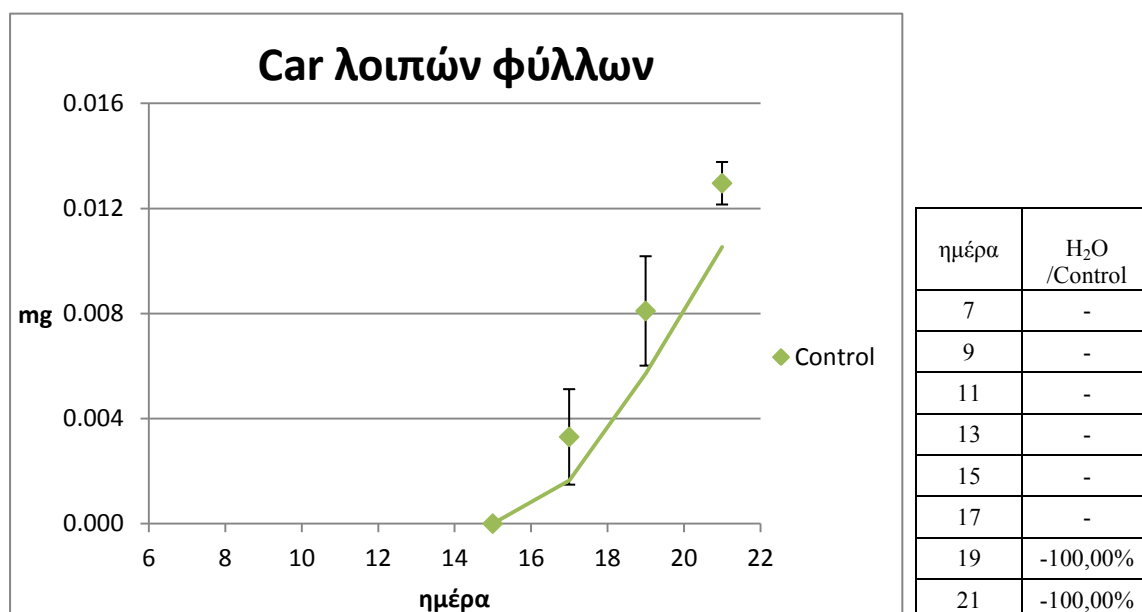
Η πορεία της χλωροφύλλης α φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα. Διαφορές μεταξύ H₂O και Control υπάρχουν τη 19^η και 21^η μέρα.



Για τη χλωροφύλλη β η εικόνα του διαγράμματος είναι παρόμοια, με το ttest H₂O/Control να δείχνει διαφορές τη 17^η και 21^η μέρα.



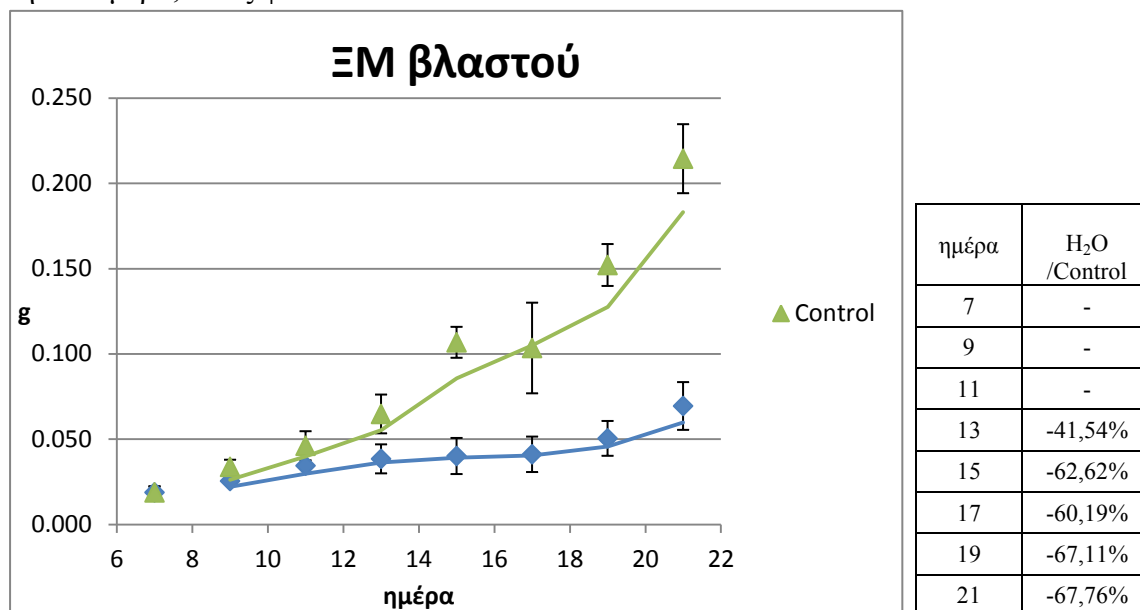
Στην περίπτωση των καροτενοειδών έχουμε επίσης αύξηση για το Control. Η σύγκριση H₂O προς Control παρουσιάζει διαφορές τη 19^η και 21^η μέρα.



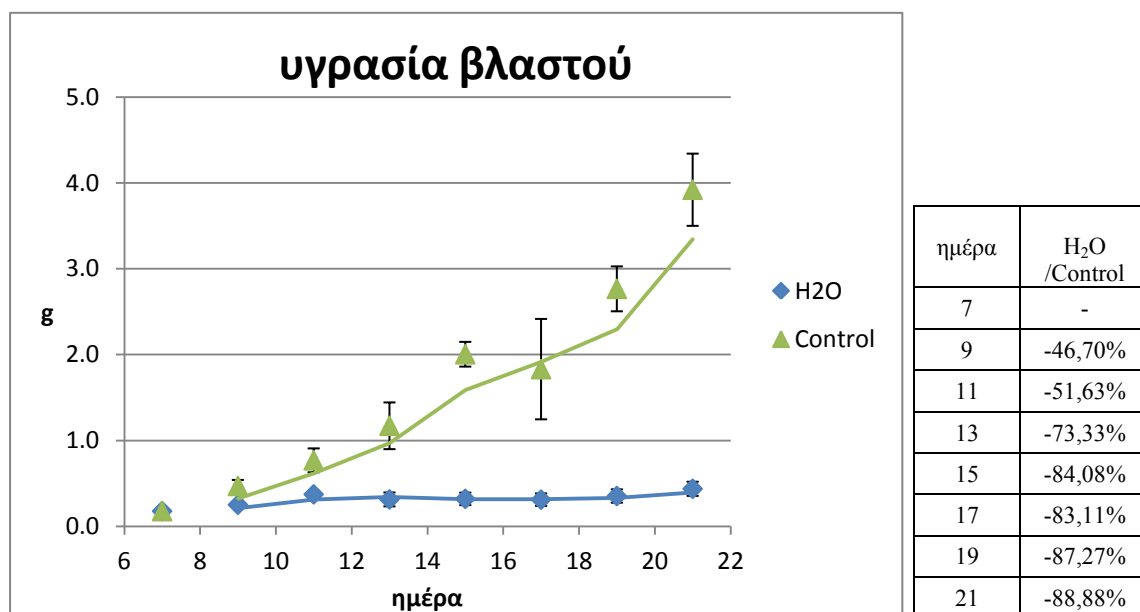
3.1.4 Βλαστός.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται η πορεία της ΞΜ στο βλαστό των φυτών, των δύο μεταχειρίσεων. Το Control παρουσιάζει αύξηση και μάλιστα με αυξανόμενο ρυθμό, που μοιάζει εκθετικός. Η γραμμή τάσης του H₂O διαφοροποιείται, καθώς είναι χαμηλότερα την αντίστοιχη του Control και παρουσιάζει αύξηση με μειούμενο ρυθμό μέχρι τη 17^η μέρα, ενώ στη συνέχεια ο

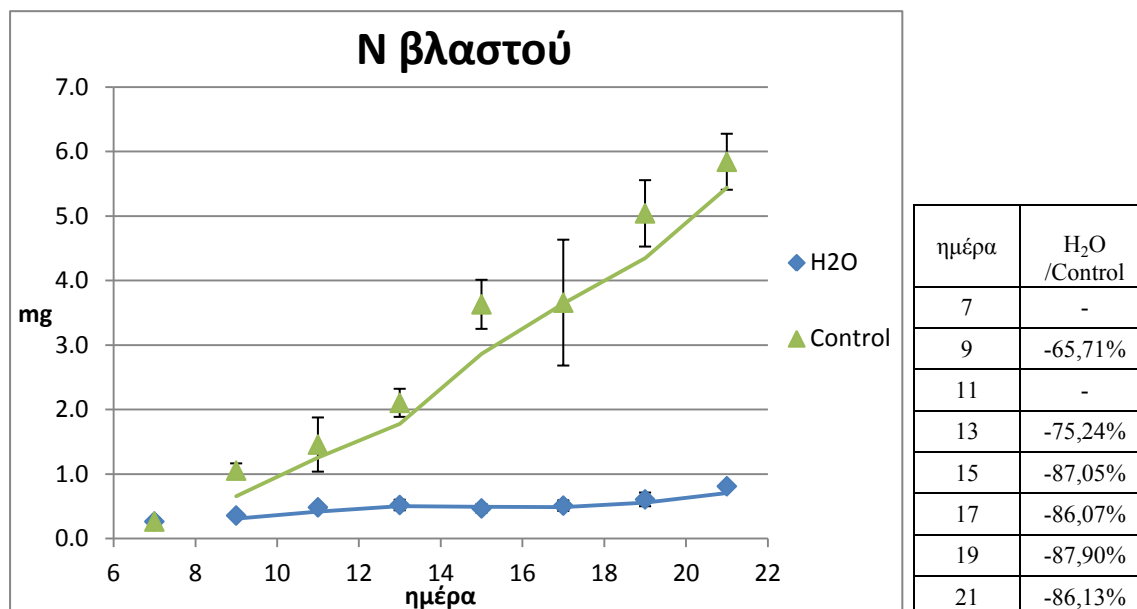
ρυθμός αύξησης είναι θετικός μέχρι και την 21^η μέρα. Η δοκιμή του ttest στη σύγκριση H₂O/Control δείχνει στατιστικά σημαντικές διαφορές από τη 13^η μέχρι και την 21^η μέρα, όπως φαίνεται στον πίνακα.



Παρόμοια είναι η εικόνα και για την υγρασία του βλαστού, με μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ H₂O και Control, σε σχέση με το διάγραμμα της ΞΜ. Παρατηρούμε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ήδη από την 9^η μέρα μέχρι το τέλος του πειράματος. Επίσης διαπιστώνεται ότι τα ποσοστά των διαφορών μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων αυξάνονται, καθώς η υγρασία της μεταχείρισης H₂O είναι ουσιαστικά σταθερή σε σχέση και με την αύξηση του Control.

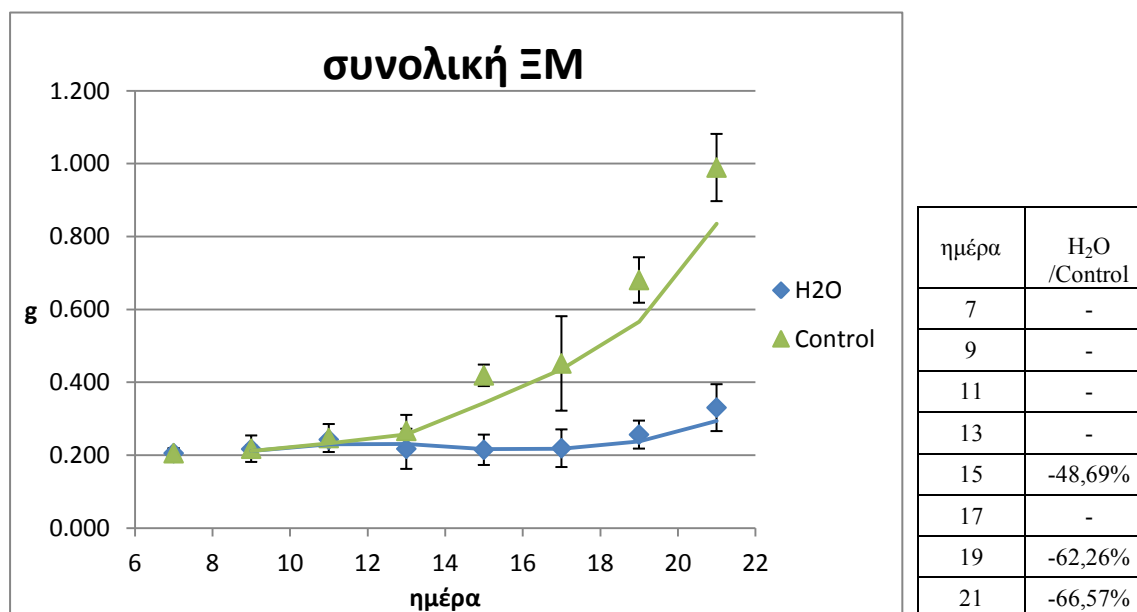


Το οργανικό άζωτο στο βλαστό παρουσιάζει περισσότερο γραμμική παρά εκθετική αύξηση για τη μεταχείριση Control. Το N στο βλαστό του H₂O και σε αυτή την περίπτωση είναι σχετικά σταθερό, με μία μικρή αύξηση μετά τη 17^η μέρα. Στον πίνακα φαίνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές, που εντοπίζονται στη σύγκριση H₂O προς Control από την 9^η μέρα και μετά, εκτός της 11^{ης}.

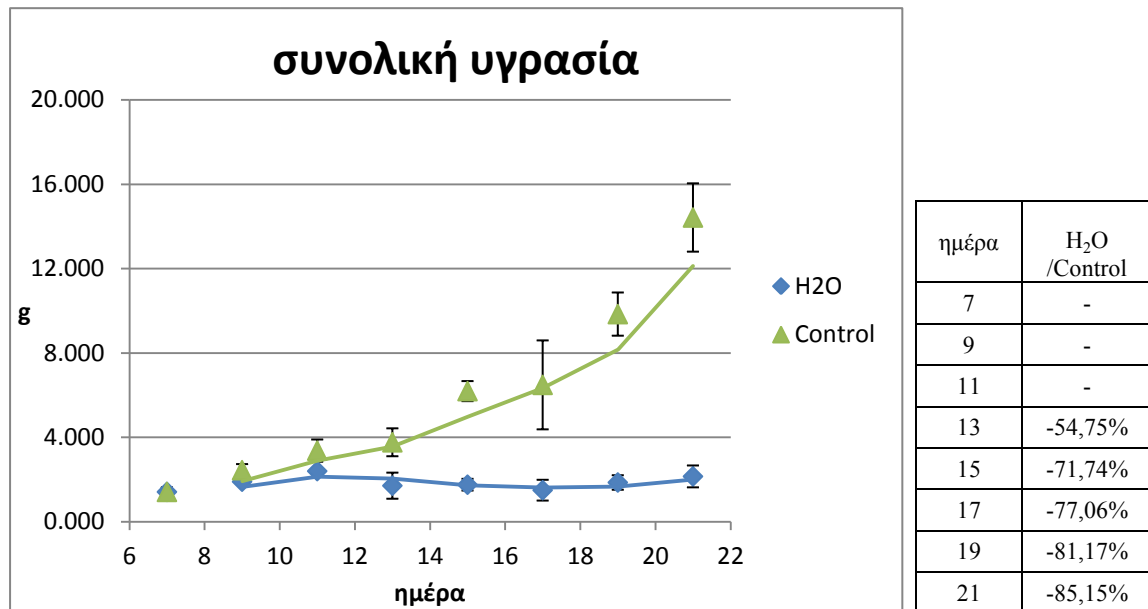


3.1.5 Συνολικά στο φυτό.

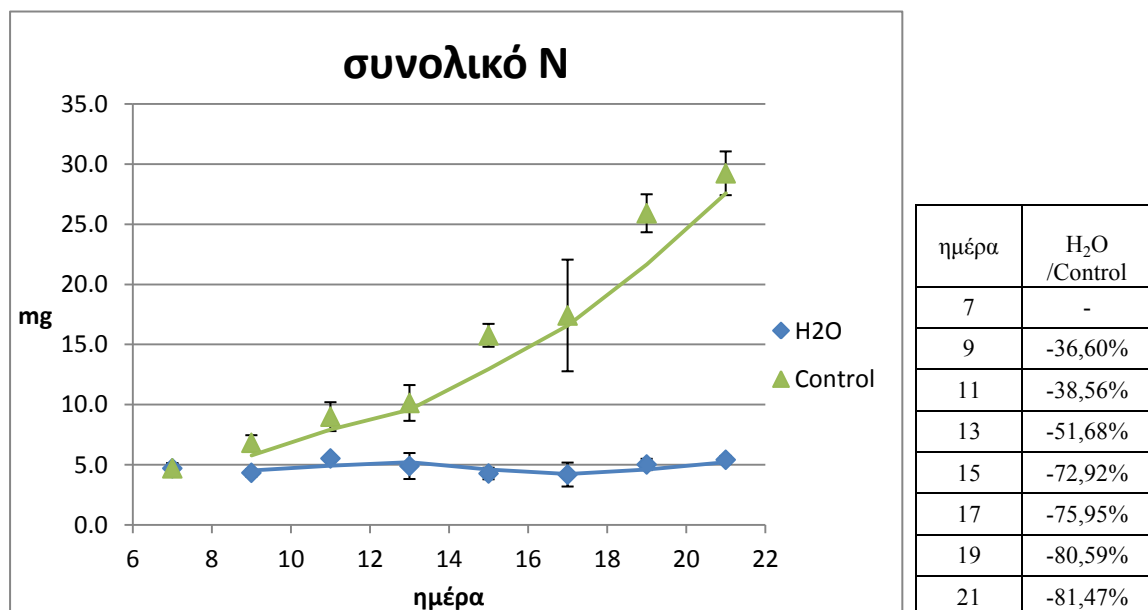
Όταν αθροίζεται η ΞΜ όλων των φυτικών οργάνων προκύπτει το παρακάτω διάγραμμα, στο οποίο βλέπουμε ότι από την 9^η μέρα το Control αυξάνεται εκθετικά, ενώ το H₂O είναι σταθερό, με μικρή αύξηση μετά τη 17^η μέρα. Το ttest H₂O/Control δίνει στατιστικά σημαντικές διαφορές τη 15^η, 19^η και 21^η μέρα.



Παρακάτω βλέπουμε την υγρασία συνολικά στο φυτό, όπου για τη μεταχείριση Control είναι και πάλι εκθετική, ενώ για το H₂O αυξάνεται μέχρι την 11^η μέρα και στη συνέχεια έχει πτώση και σταθεροποίηση. Το ttest δείχνει σημαντικές διαφορές ανάμεσα στο H₂O και στο Control, από τη 13^η μέρα και μετά, με αυξανόμενες διαφορές.



Παρόμοια εικόνα υπάρχει και για το οργανικό άζωτο συνολικά στο φυτό, όπου το H₂O είναι σχετικά σταθερό, ενώ το Control αυξάνεται. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ H₂O και Control υπάρχουν από την 9^η μέρα και μέχρι το τέλος του πειράματος, με αυξανόμενα ποσοστά.

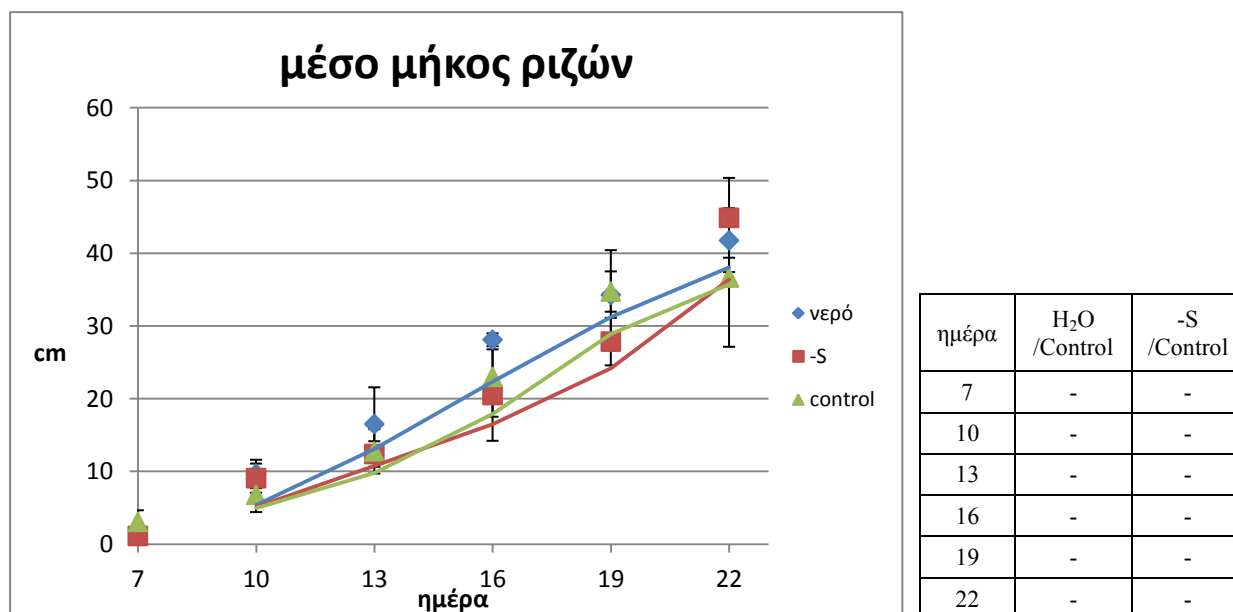


3.2 Μορφομετρικά και ανατομικά χαρακτηριστικά βλαστογενών ριζών πρώτου κόμβου.

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του τρίτου πειραματικού σκέλους. Στο τρίτο σκέλος μετρήθηκαν τα μήκη των βλαστογενών ριζών που εκπτύχθηκαν από τον πρώτο κόμβο του βλαστού και υπολογίστηκε το μέσο μήκος ανά φυτάριο, από την 7^η μέχρι και την 22^η μέρα της βλάστησης. Στη συνέχεια έγιναν εγκάρσιες τομές σε τέσσερα σημεία της κάθε ρίζας: πάνω από την περιοχή LR, πάνω από την περιοχή ELR, κάτω από την περιοχή ELR και στην περιοχή A. Από τις φωτογραφίες που ελήφθησαν από το μικροσκόπιο μετρήθηκαν η διάμετρος της ρίζας, η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου, το εμβαδόν των αγγείων του ξύλου και ο αριθμός των αγγείων του ξύλου. Σε αυτό το σκέλος μαζί με τις μεταχειρίσεις H₂O και Control προστέθηκε και η μεταχείριση του θρεπτικού διαλύματος ελλειμματικού σε θειικά.

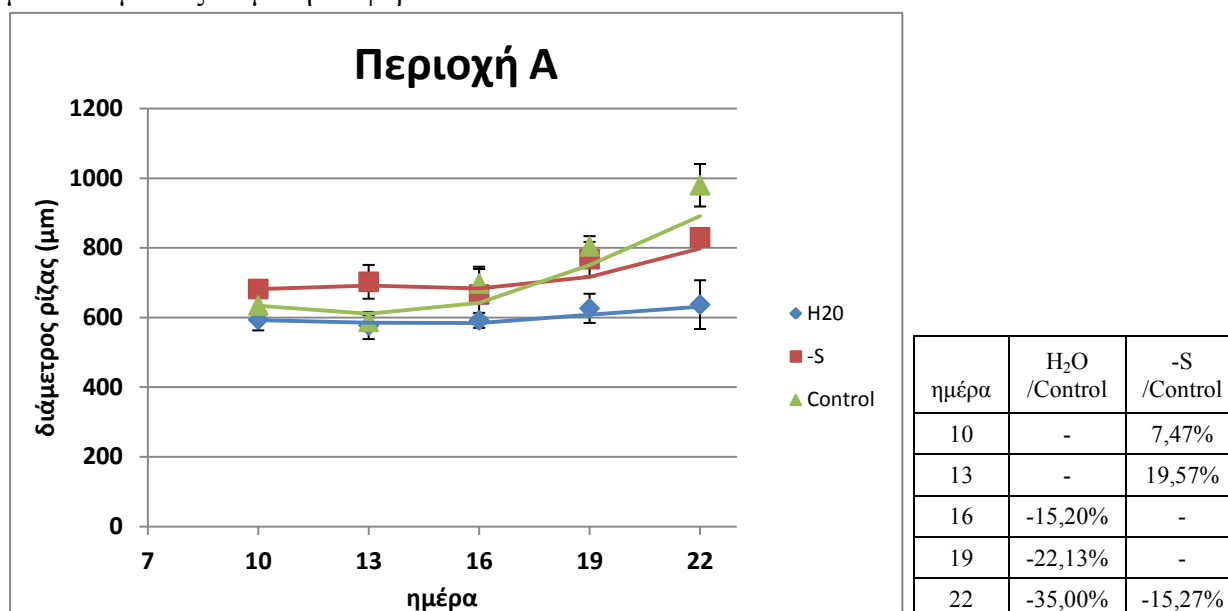
3.2.1 Μέσο μήκος βλαστογενών ριζών.

Στο παρακάτω διάγραμμα απεικονίζεται το μέσο μήκος των βλαστογενών ριζών κατά τη διάρκεια των 22 ημερών του πειράματος. Πρώτη εμφάνιση βλαστογενών ριζών έχουμε την 7^η μέρα. Τη 13^η και 16^η μέρα, για τη μεταχείριση H₂O, έχουμε σχετικά μεγαλύτερο μέσο μήκος ριζών από εκείνο των άλλων δύο μεταχειρίσεων, χωρίς όμως κάτι τέτοιο να ανιχνεύεται στο αντίστοιχο ttest. Φαίνεται πως και για τις τρεις μεταχειρίσεις έχουμε μια γραμμική αύξηση του μέσου μήκους των βλαστογενών ριζών, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.

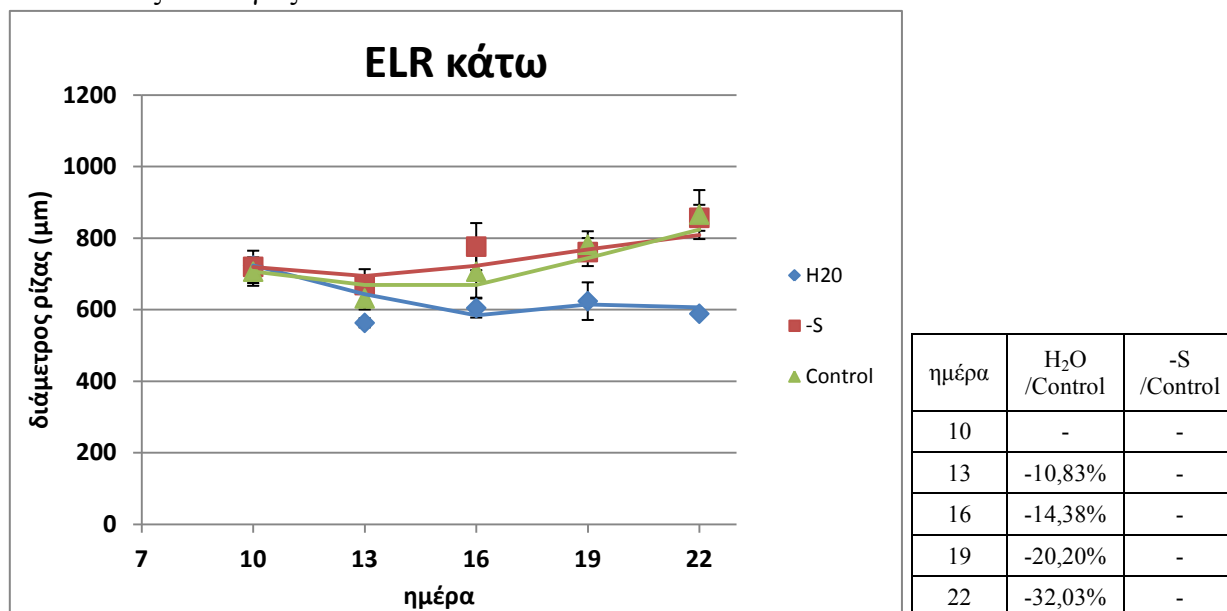


3.2.2 Διάμετρος ρίζας.

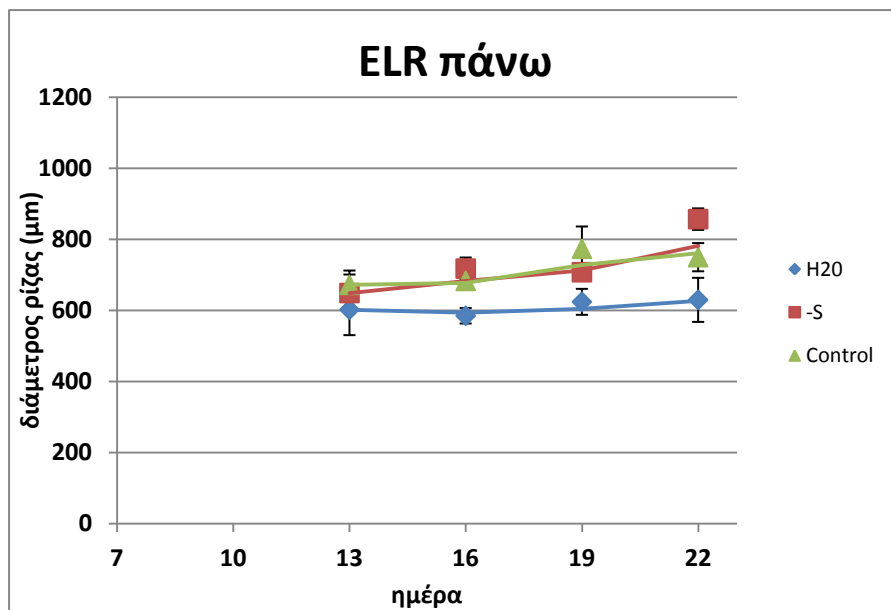
Κατά την πρώτη δειγματοληψία της 7^{ης} μέρας, οι βλαστογενείς ρίζες μόλις είχαν εκπτυχθεί και δεν ήταν δυνατό να γίνουν τομές κατά περιοχή. Για το λόγο αυτό δεν συμπεριλήφθησαν μετρήσεις της 7^{ης} μέρας στα διαγράμματα που παρουσιάζονται για τα ανατομικά χαρακτηριστικά των βλαστογενών ριζών. Στο πρώτο διάγραμμα βλέπουμε τη διάμετρο της ρίζας στην περιοχή Α. Η γραμμή τάσης της μεταχείρισης H₂O βρίσκεται χαμηλότερα των άλλων δύο καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, με τη διάμετρο να παραμένει σχετικά σταθερή και να αυξάνεται ελαφρά μετά τη 16^η μέρα. Παρόμοια με το H₂O κυμαίνονται και οι άλλες δύο μεταχειρίσεις, με τη διαφορά ότι το Control έχει μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης και λαμβάνει τη μεγαλύτερη τιμή διαμέτρου την 22^η μέρα. Το ttest δείχνει ότι τη 10^η και τη 13^η μέρα το -S έχει σημαντικά μεγαλύτερη διάμετρο κατά 7,47% και 19,57% αντίστοιχα αλλά την τελευταία μέρα το Control έχει τη μεγαλύτερη διάμετρο. Στη σύγκριση του H₂O με το Control, το πρώτο είναι σημαντικά μικρότερο, από τη 16^η μέχρι και την 22^η μέρα και μάλιστα με αυξανόμενη διαφορά.



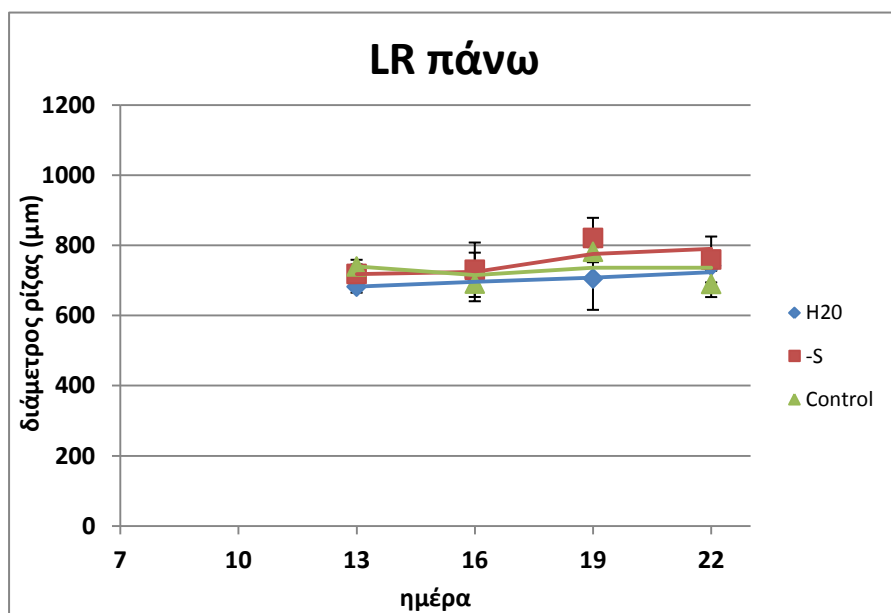
Η διάμετρος της ρίζας στην περιοχή ELR είναι παρόμοια για τα -S και Control στη διάρκεια του πειράματος, με αυξητική τάση από τη 13^η μέχρι την 22^η μέρα. Αντίθετα στη μεταχείριση H₂O η διάμετρος μειώνεται αρχικά και μένει στάσιμη από τη 16^η μέρα. Η εικόνα αυτή ενισχύεται με τη σύγκριση H₂O/Control που εμφανίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές από τη 13^η μέχρι την 22^η μέρα, με αυξανόμενες ποσοστιαίες αναλογίες.



Στις βλαστογενείς ρίζες φυταρίων 10 ημερών έχει εμφανιστεί μία μικρή ζώνη με εκπτυσσόμενες πλευρικές ρίζες (emerging lateral roots, ELR), που φτάνει μέχρι τη βάση της ρίζας. Για το λόγο αυτό στη συγκεκριμένη δειγματοληψία έγιναν εγκάρσιες τομές μόνο στις περιοχές A και κάτω από την ELR. Επομένως μετρήσεις μορφομετρικών χαρακτηριστικών για τις περιοχές πάνω από την ELR και πάνω από την LR λαμβάνονται από τη 13^η μέρα μέχρι την 22^η. Στο παρακάτω διάγραμμα βλέπουμε τη διάμετρο της ρίζας στην περιοχή πάνω από την ELR να έχει αυξητική τάση και για τις τρεις μεταχειρίσεις, με το H₂O να έχει το μικρότερο ρυθμό αύξησης. Παρατηρούμε επίσης στην ίδια μεταχείριση ότι η βλαστογενής ρίζα έχει σαφώς μικρότερη διάμετρο από τις άλλες δύο μεταχειρίσεις, κάτι που διακρίνεται και από το ttest από τη 16^η μέρα και μετά. Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει το γεγονός ότι την 22^η μέρα η μεταχείριση -S έχει σημαντικά μεγαλύτερη διάμετρο κατά 14,29% από το Control.

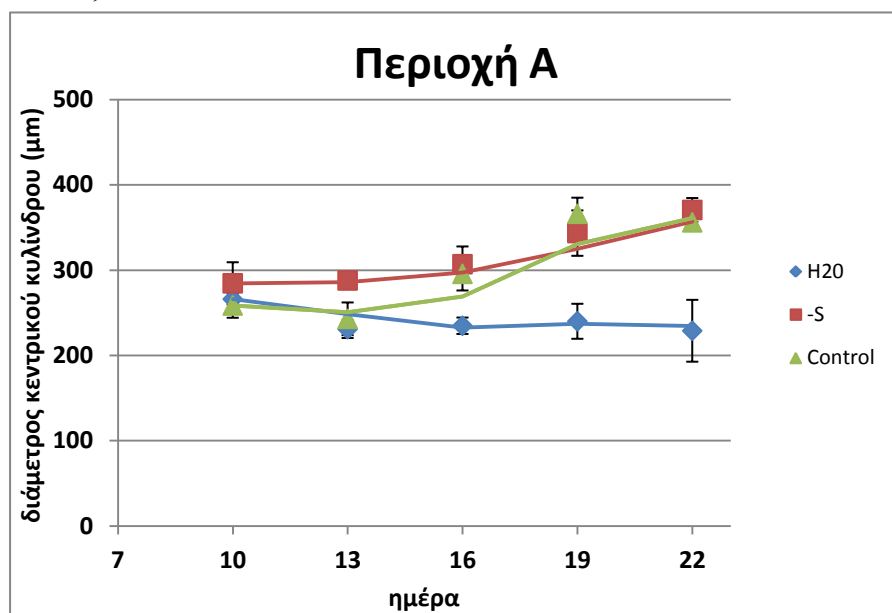


Στην περιοχή LR έχουμε τις μικρότερες διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων στη διάμετρο της ρίζας. Εδώ εμφανίζεται σχετική σταθερότητα ενώ μπορούμε να πούμε ότι στη μεταχείριση H₂O υπάρχει αύξηση. Το ttest δείχνει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ H₂O και Control τη 13^η μέρα κατά 7,8%.



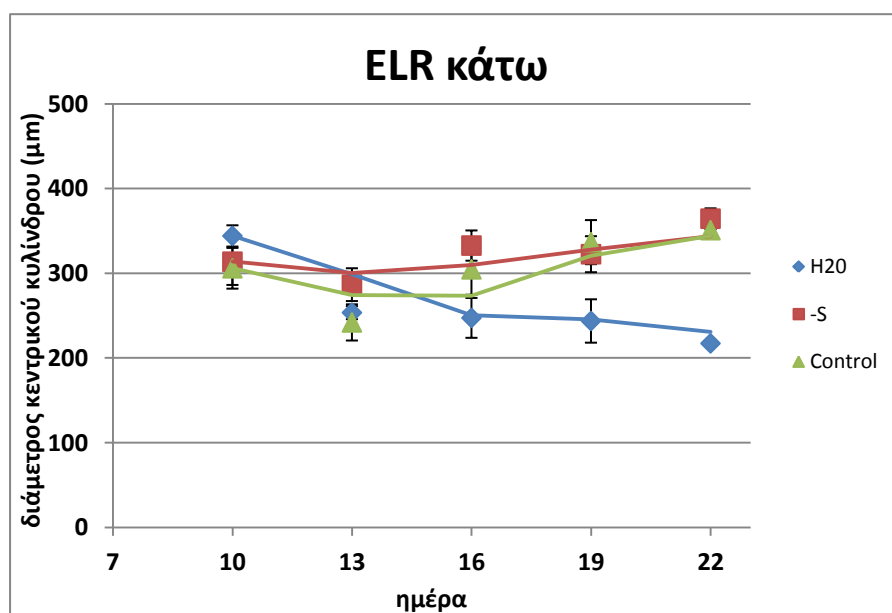
3.2.3 Διάμετρος κεντρικού κυλίνδρου.

Το πρώτο διάγραμμα παρουσιάζει τις ρίζες των φυτών των -S και Control να έχουν τάση αύξησης της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου στην περιοχή Α, ενώ αντίθετα στη μεταχείριση H₂O ο κεντρικός κύλινδρος παρουσιάζει μικρή μείωση και υπολείπεται στη σύγκριση με το Control, σύμφωνα με τον πίνακα του ttest, από τη 16^η μέρα και μετά. Παρατηρούμε επίσης ότι τη 13^η μέρα το -S έχει στατιστικά μεγαλύτερη διάμετρο σε σχέση με το Control κατά 18,53%, όπως και την 22^η μέρα κατά 4,08%.



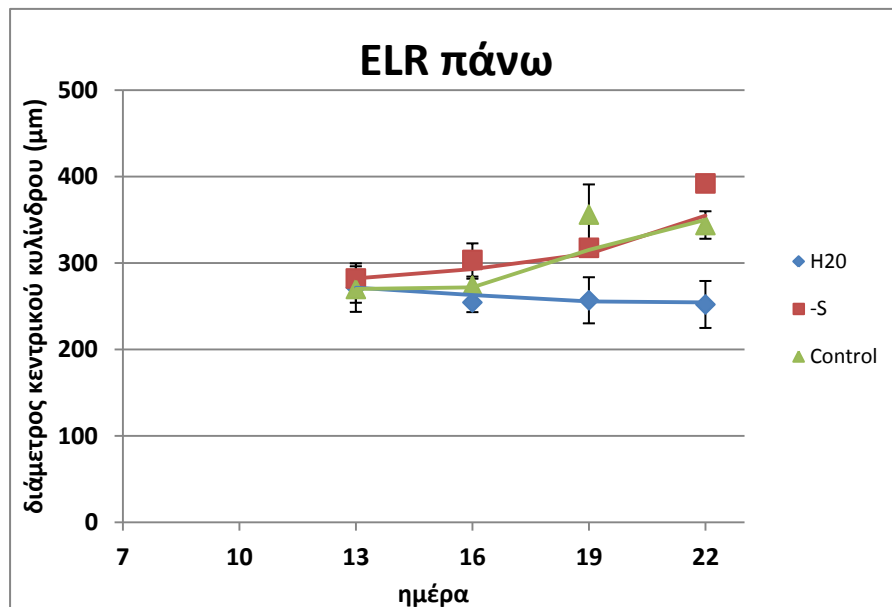
ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10	-	-
13	-	18,53%
16	-20,59%	-
19	-34,45%	-
22	-35,73%	4,08%

Στο επόμενο διάγραμμα που αφορά την περιοχή κάτω από τη ζώνη ELR βλέπουμε το H₂O να έχει μεγαλύτερη διάμετρο από το Control κατά 12,48% και στη συνέχεια η γραμμή τάσης ακολουθεί φθίνουσα πορεία. Αντίθετα οι μεταχειρίσεις -S και Control έχουν μικρή μείωση στην αρχή και ακολούθως αυξάνονται μέχρι το τέλος του πειράματος. Ο πίνακας του ttest στη σύγκριση H₂O/Control από τη 16^η μέρα και μετά δείχνει σημαντικές διαφορές με αυξανόμενα ποσοστά. Επίσης τη 13^η μέρα το -S έχει μεγαλύτερη διάμετρο από το Control κατά 18,42%.



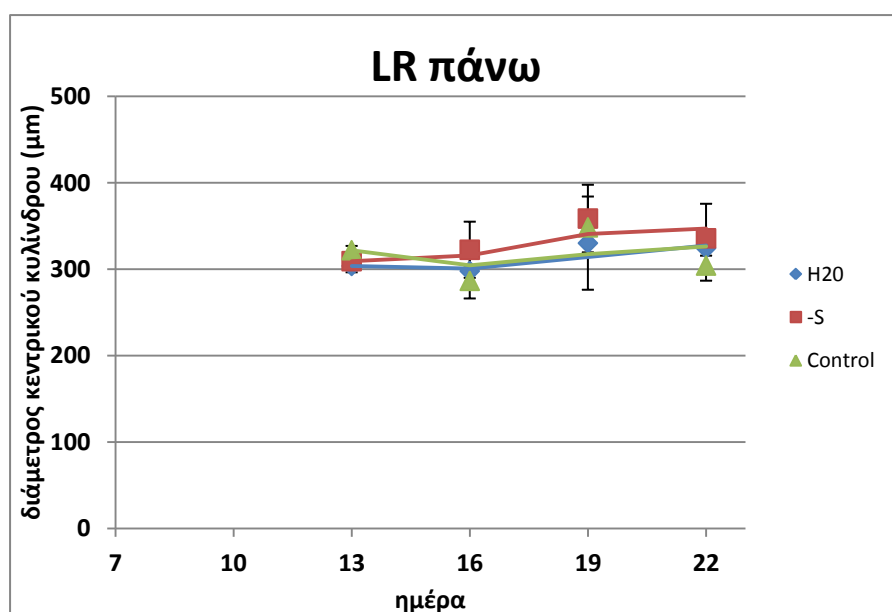
ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10	12,48%	-
13	-	18,42%
16	-18,80%	-
19	-27,62%	-
22	-38,08%	-

Στη ζώνη πάνω από το ELR στη μεταχείριση H₂O βλέπουμε και πάλι μείωση της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου, ενώ τα -S και Control αυξάνονται. Από τη 16^η μέρα μέχρι την 22^η ανιχνεύονται διαφορές μεταξύ H₂O και Control όπως επίσης τη 16^η και 22^η μέρα στη σύγκριση -S /Control, με μεγαλύτερες διαμέτρους στο -S.



ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10		
13	-	-
16	-7,12%	10,82%
19	-27,85%	-
22	-26,73%	14,00%

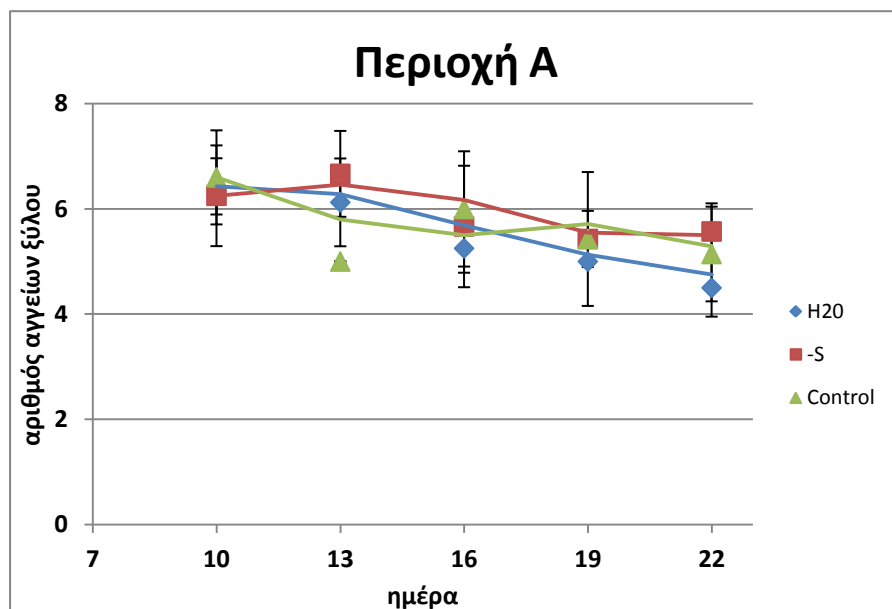
Στην περιοχή πάνω από το LR οι γραμμές τάσης των μεταχειρίσεων έχουν μικρή αύξηση και παρουσιάζουν μικρότερες διαφορές μεταξύ τους, όπως φαίνεται και στον πίνακα. Στη σύγκριση -S/Control τη 13^η μέρα το -S υπολείπεται κατά 3,93%, ενώ τη 16^η έχει σημαντικά μεγαλύτερη διάμετρο κατά 12,54%. Επίσης το H₂O παρουσιάζει σημαντικά μεγαλύτερη διάμετρο τη 13^η μέρα από το Control, κατά 5,65%. Παρόμοια εικόνα για την περιοχή πάνω από το LR είχαμε και στην προηγούμενη ενότητα για τη διάμετρο της ρίζας.



ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10		
13	-5,65%	-3,93%
16	-	12,54%
19	-	-
22	-	-

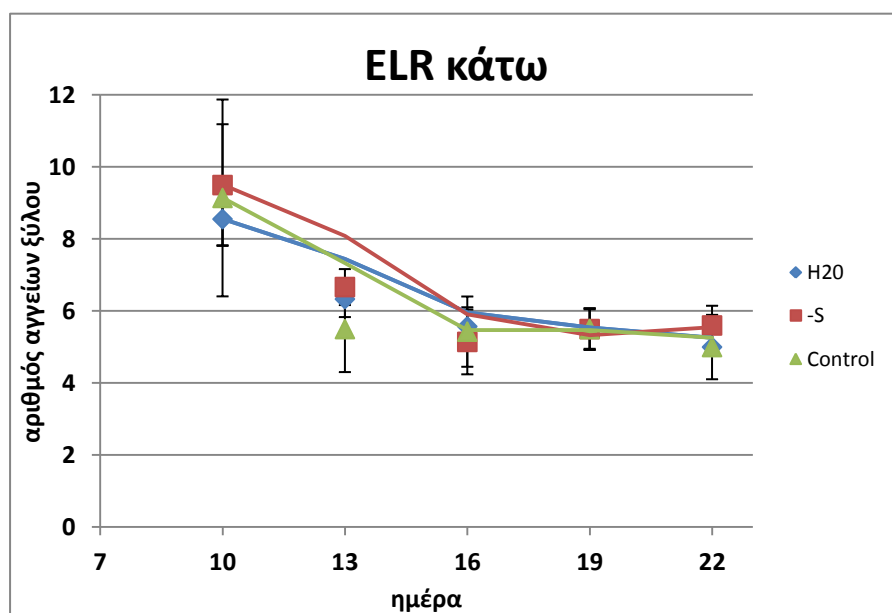
3.2.4 Αριθμός των αγγείων του ξύλου.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα σχετικά με τον αριθμό των αγγείων του ξύλου. Στην περιοχή Α, μια πρώτη εκτίμηση είναι ότι στα πρώτα στάδια της ρίζας υπάρχουν περισσότερα αγγεία από ότι στο τέλος του πειράματος και για τις τρεις μεταχειρίσεις. Επίσης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων, εκτός από την 13^η μέρα που το Control έχει σημαντικά μικρότερο αριθμό αγγείων από το H₂O και το -S.



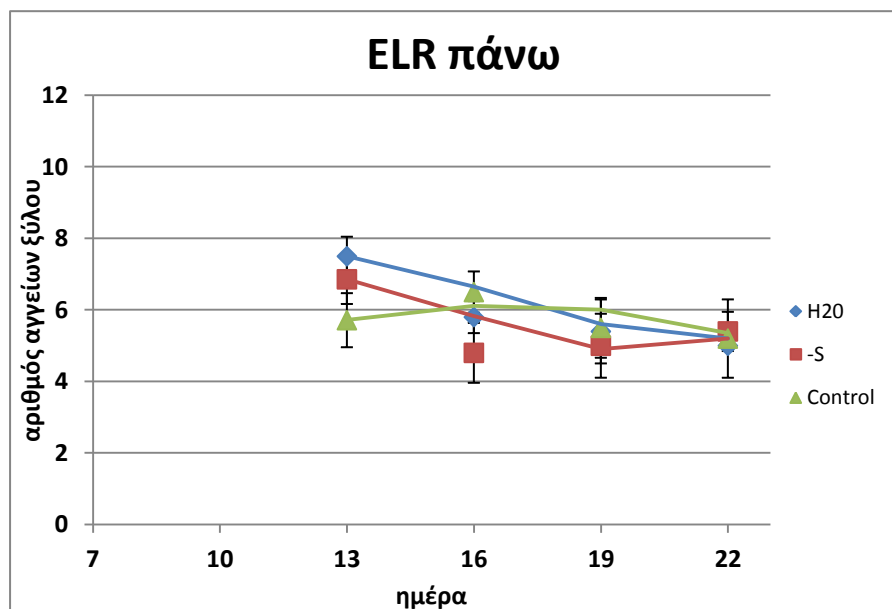
ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10	-	-
13	22,50%	33,33%
16	-	-
19	-	-
22	-	-

Στην περιοχή κάτω από τη ζώνη ELR έχουμε μεγάλη μείωση στον αριθμό των αγγείων και για τις τρεις μεταχειρίσεις μέχρι το τέλος του πειράματος. Τη 10^η μέρα υπάρχουν περίπου 9 αγγεία ενώ την 22^η μέρα 5. Επίσης βλέπουμε ότι οι γραμμές τάσης συμπορεύονται, με εξαίρεση τη 13^η μέρα που υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, όπου το -S είναι μεγαλύτερο από το Control κατά 21,21%.



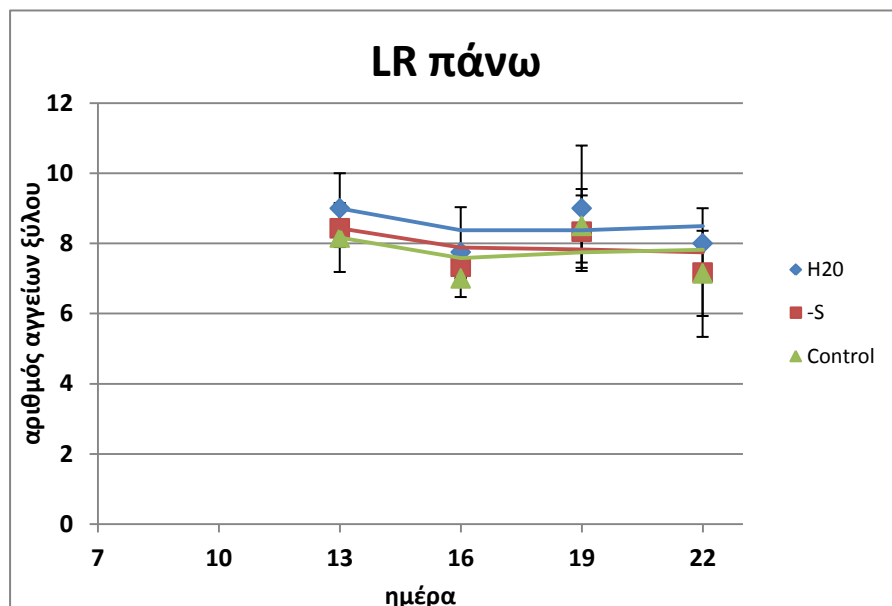
ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10	-	-
13	-	21,21%
16	-	-
19	-	-
22	-	-

Στο επόμενο διάγραμμα βλέπουμε τον αριθμό των αγγείων του ξύλου στην περιοχή πάνω από τη ζώνη ELR. Για το H₂O και το -S έχουμε μείωση του αριθμού και μετά τη 19^η μέρα σταθεροποίηση. Στο Control τη 13^η μέρα έχουμε σημαντικά μικρότερο αριθμό αγγείων από τις άλλες δύο μεταχειρίσεις όπως φαίνεται από το ttest, τη 16^η μέρα αυξάνεται ελαφρά και στη συνέχεια μειώνεται μέχρι το τέλος του πειράματος.



ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10		
13	31,25%	20,00%
16	-	-26,15%
19	-	-
22	-	-

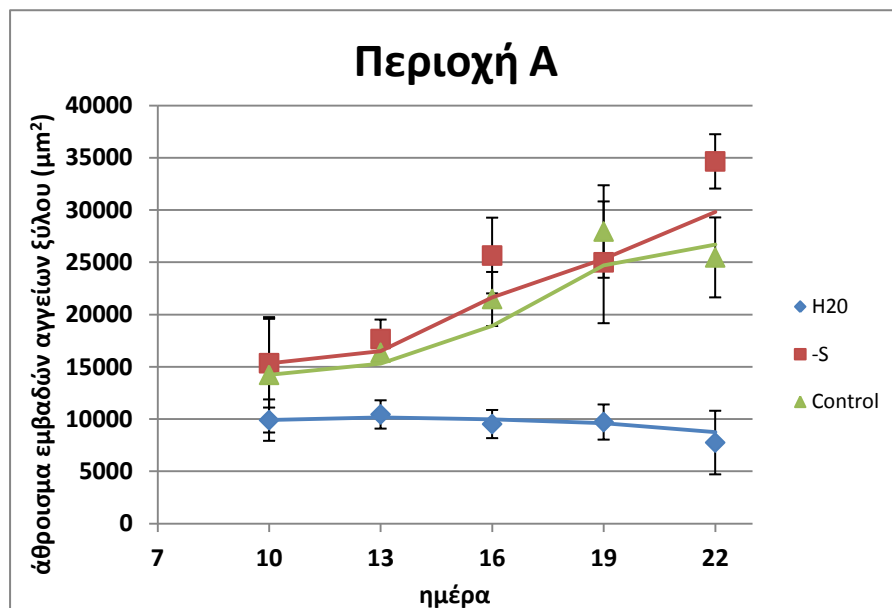
Στο τελευταίο διάγραμμα στην περιοχή πάνω από τη ζώνη LR βλέπουμε ότι ο αριθμός των αγγείων του ξύλου είναι μάλλον σταθερός με μικρές διακυμάνσεις για τις τρεις μεταχειρίσεις. Δεν ανιχνεύονται διαφορές μεταξύ τους από το ttest.



ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10		
13	-	-
16	-	-
19	-	-
22	-	-

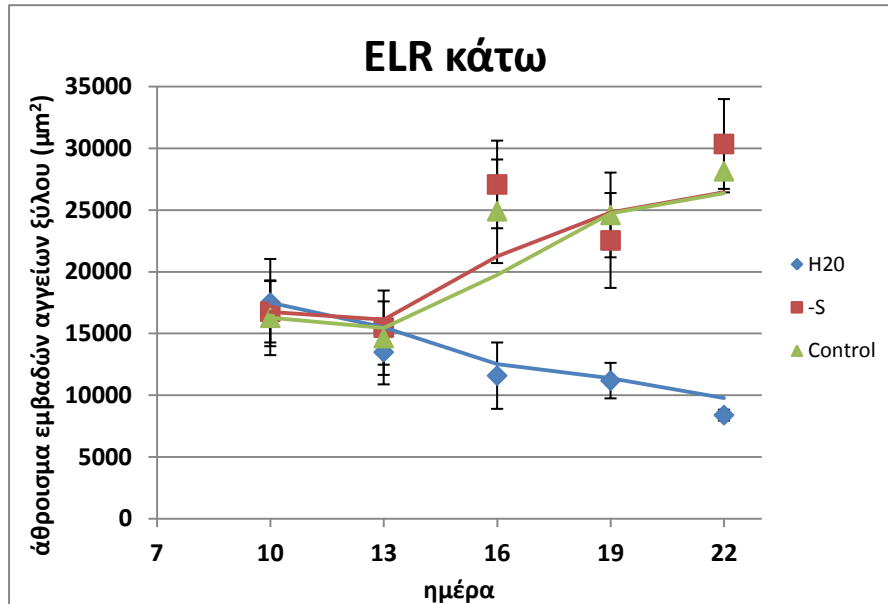
3.2.5 Άθροισμα εμβαδών των αγγείων του ξύλου.

Στην τελευταία ενότητα θα δούμε πώς εξελίσσεται το συνολικό εμβαδόν των αγγείων του ξύλου στις τρεις μεταχειρίσεις. Το επόμενο διάγραμμα αφορά στην περιοχή A όπου βλέπουμε ότι η γραμμή τάσης του H₂O είναι σταθερή με μικρή μείωση μετά τη 19^η μέρα, ενώ οι γραμμές των άλλων μεταχειρίσεων έχουν αυξητική τάση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ H₂O και Control υπάρχουν από τη 13^η μέρα με αυξανόμενα ποσοστά που φτάνουν στο 69,55% την 22^η μέρα. Στη σύγκριση -S/Control σημαντική διαφορά υπάρχει την 22^η μέρα με μεγαλύτερο άθροισμα εμβαδών αυτό του -S κατά 36,07%.

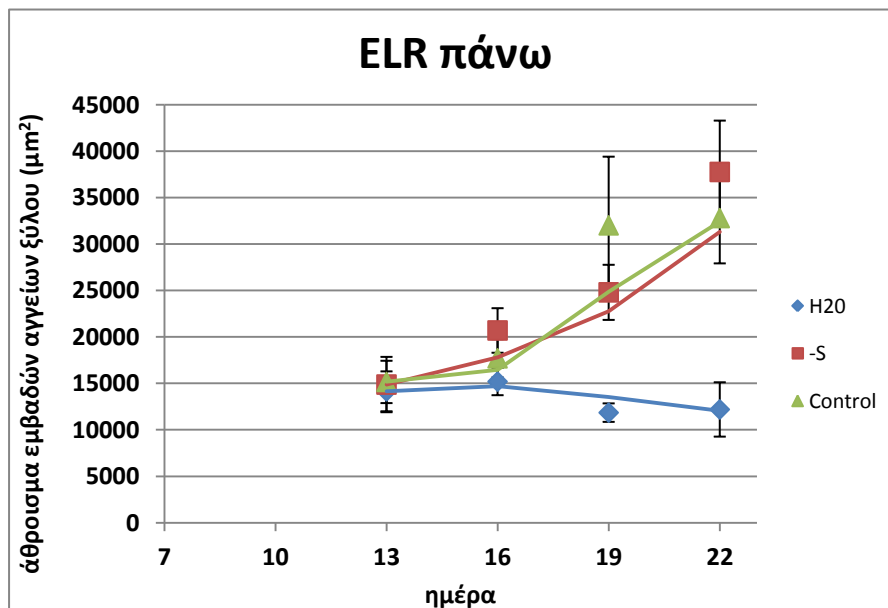


ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10	-	-
13	-36,13%	-
16	-55,68%	-
19	-65,23%	-
22	-69,55%	36,07%

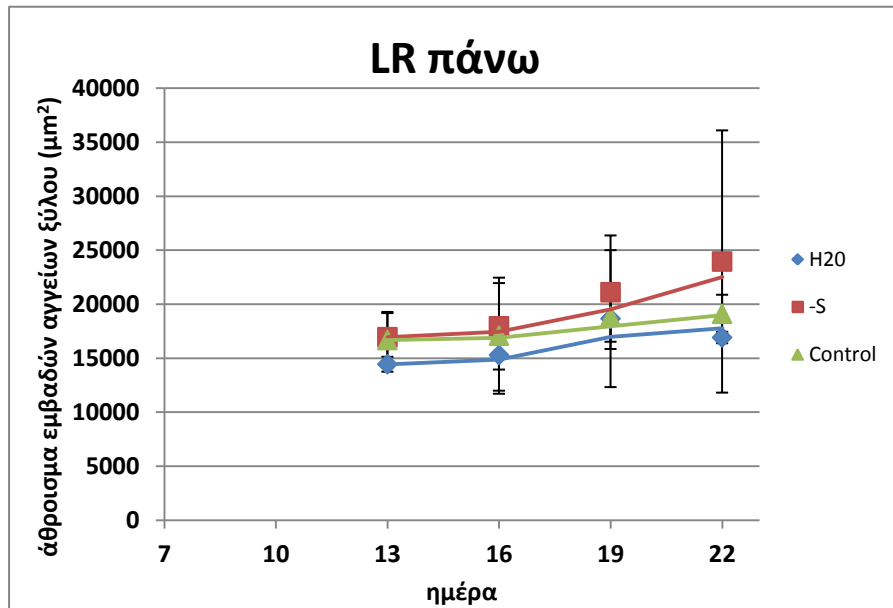
Στην περιοχή κάτω από τη ζώνη ELR παρατηρούμε σημαντική αύξηση για τις μεταχειρίσεις -S και Control μετά τη 13^η μέρα μέχρι και το τέλος, χωρίς να φαίνονται από το ttest σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Αντίθετα στο H₂O παρατηρείται μείωση του συνολικού εμβαδού των αγγείων του ξύλου, καθώς στο τέλος του πειράματος έχει περίπου το μισό αρχικό εμβαδό. Σύμφωνα με τον πίνακα παρατηρούνται σημαντικές διαφορές από τη 16^η μέρα μέχρι και την 22^η με αυξανόμενα ποσοστά, όπου το H₂O έχει σαφώς μικρότερα συνολικά εμβαδά.



Παρόμοια εικόνα έχουμε και για την περιοχή πάνω από το ELR, με τη διαφορά ότι μεταξύ H₂O και Control ανιχνεύονται σημαντικές αποκλίσεις από τη 19^η μέρα μέχρι την 22^η. Επίσης βλέπουμε ότι δεν υπάρχουν διαφορές στη σύγκριση -S/Control.



Τέλος στο διάγραμμα της περιοχής πάνω από το LR υπάρχει αύξηση και για τις τρεις μεταχειρίσεις στα συνολικά εμβαδά, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.



ημέρα	H ₂ O /Control	-S /Control
10	-	-
13	-	-
16	-	-
19	-	-
22	-	-

4. Συζήτηση.

4.1 Σπόρος.

Ο ρυθμός αδειάσματος του σπόρου επηρεάστηκε στην περίπτωση της ξηρής μάζας αλλά όχι στο άζωτο. Συγκεκριμένα τη 17^η μέρα του πειράματος παρατηρούμε ότι ο σπόρος του H₂O έχει 50% περίπου περισσότερη ξηρή μάζα από τον αντίστοιχο του Control. Αυτό πιθανώς να σχετίζεται με τη μειωμένη ανάπτυξη και την απουσία θρεπτικών και θα μπορούσε να είναι μία προσπάθεια διατήρησης των αποθεμάτων ή και αδυναμίας αξιοποίησης με τον ίδιο αποδοτικό ρυθμό, όπως γίνεται στα φυτά του Control. Ο ρυθμός αδειάσματος του αζώτου αντίθετα δεν επηρεάζεται από τη μεταχείριση.

4.2 Ριζικό τμήμα.

Ένα σημαντικό στοιχείο είναι ότι ο αραβόσιτος σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών δίνει προτεραιότητα στο ριζικό του σύστημα. Η πλήρης έλλειψη θρεπτικών στο πειραματικό μέρος, πυροδότησε μία γρήγορη πρώτη ανάπτυξη στις βλαστογενείς ρίζες, που εκφράζεται ως σημαντικά μεγαλύτερη ξηρή μάζα, από την 9^η μέχρι και τη 13^η μέρα. Οι ποσότητες υγρασίας και αζώτου σε αυτή τη φάση δεν επηρεάστηκαν από την έλλειψη. Οι εμβρυακές ρίζες στο σύνολό τους είχαν λιγότερες αποκλίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων κάτι που τονίζει τη σημασία των βλαστογενών ριζών στην αναπτυξιακή πορεία του φυτού. Από τη συνολική αύξηση της ξηρής μάζας και του αζώτου στις βλαστογενείς ρίζες, φαίνεται πως υπάρχει συνεχής ανάπτυξη, πιθανώς εις βάρος του υπέργειου μέρους, για να μπορέσει να διεισδύσει σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα, ώστε να απορροφήσει θρεπτικά στοιχεία. Αυτή η αντίδραση του αραβόσιτου στην έλλειψη θρεπτικών στηρίζεται από πολλές δημοσιεύσεις. Οι Chun et al. (2005) αναφέρουν πως η έλλειψη αζώτου στον αραβόσιτο μειώνει την ανάπτυξη του υπέργειου μέρους και αυξάνει το λόγο ριζικού προς υπέργειο. Επίσης παρατηρούν αλλαγές στη δομή και την αρχιτεκτονική της ρίζας, με αύξηση του συνολικού μήκους των ριζών και αύξηση του μήκους των κύριων και των πλευρικών ριζών. Σε αρκετές περιπτώσεις γονοτύπων, οι ίδιοι ερευνητές τονίζουν την αύξηση της βιομάζας του ριζικού μέρους των φυτών που υπέστησαν την έλλειψη αζώτου, σε σχέση με το μάρτυρα. Σε άλλη εργασία (Wang et al., 2004) συμπεραίνεται ότι κάτω από έλλειψη αζώτου ο αραβόσιτος αναπτύσσει μεγαλύτερο ριζικό σύστημα, σε μήκος και σε επιφάνεια ριζών, με περισσότερες πλευρικές ρίζες, ώστε να ανταπεξέλθει στις συνθήκες αυτές. Σε παρόμοια συμπεράσματα καταλήγουν και άλλοι ερευνητές (Feil et al., 1990; Liu et al., 2009). Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφοροποίηση στο μήκος των βλαστογενών ριζών σε καμία από τις δύο μεταχειρίσεις σε σχέση με το Control.

Τα ανατομικά χαρακτηριστικά των βλαστογενών ριζών επηρεάστηκαν επίσης από την έλλειψη θρεπτικών. Στην περιοχή A η έλλειψη θεικών επέφερε αύξηση της διαμέτρου της ρίζας και του κεντρικού κυλίνδρου μέχρι και τη 13^η μέρα περίπου της τάξης του 20% σε σχέση με το Control. Επίσης την ίδια ημέρα παρατηρείται

μεγαλύτερος αριθμός αγγείων του ξύλου κατά 33%. Οι διαφορές μεταξύ -S και Control ήταν μικρότερες στην περίπτωση του συνολικού εμβαδού των αγγείων του ξύλου. Στην περίπτωση της πλήρους έλλειψης θρεπτικών είχαμε μειωμένη διάμετρο ρίζας και κεντρικού κυλίνδρου στην περιοχή A από τη 16^η μέρα και μετά, σε σχέση με το Control. Η πιο εμφανής επίπτωση από την πλήρη έλλειψη ήταν στο συνολικό εμβαδόν των αγγείων που ήταν από 30% μέχρι 70% μειωμένο σε σχέση με το Control από τη 13^η μέχρι την 22^η μέρα.

Στην περιοχή κάτω από τη ζώνη ELR η έλλειψη θεικών προκάλεσε αύξηση περίπου 20% στη διάμετρο του κεντρικού κυλίνδρου και στον αριθμό των αγγείων του ξύλου τη 13^η μέρα. Η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επέφερε σημαντική μείωση της διαμέτρου της ρίζας από τη 13^η μέρα και μετά, της διαμέτρου του κεντρικού κυλίνδρου και του συνολικού εμβαδού των αγγείων από τη 16^η μέρα και μετά.

Στην περιοχή πάνω από τη ζώνη ELR στη μεταχείριση -S είχαμε μικρή αύξηση της διαμέτρου της ρίζας και του κεντρικού κυλίνδρου κυρίως την 22^η μέρα. Επίσης τη 13^η μέρα είχαμε μεγαλύτερο αριθμό αγγείων του ξύλου και για τις δύο μεταχειρίσεις σε σχέση με το Control. Στη μεταχείριση H₂O είχαμε μείωση των διαμέτρων της ρίζας και του κεντρικού κυλίνδρου από τη 16^η μέρα και μετά και σημαντική μείωση στο εμβαδόν των αγγείων από τη 19^η μέρα.

Στην περιοχή πάνω από τη ζώνη LR είχαμε τις μικρότερες διαφοροποιήσεις σε όλες τις μετρήσεις και τις μεταχειρίσεις. Η περιοχή αυτή είναι η πρώτη που δημιουργείται κατά την έκπτυξη της ρίζας περίπου μεταξύ 7^{ης} - 9^{ης} μέρας όπου τα φυτά δεν έχουν επηρεαστεί τόσο έντονα από την έλλειψη θρεπτικών όπως γίνεται στη συνέχεια. Αυτή είναι μία πιθανή εξήγηση για τα ευρήματα που αφορούν την περιοχή αυτή.

Συγκεντρωτικά, η έλλειψη θεικών επηρέασε κυρίως τις διαμέτρους ρίζας και κεντρικού κυλίνδρου και τον αριθμό των αγγείων του ξύλου τις πρώτες μέρες και ειδικά τη 13^η μέρα. Η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επηρέασε κυρίως τις δύο διαμέτρους και το συνολικό εμβαδόν των αγγείων του ξύλου από τη μέση του πειράματος και μετά δηλαδή μετά τη 13^η μέρα μέχρι το τέλος. Από τα ανατομικά χαρακτηριστικά εκείνο που επηρεάστηκε λιγότερο από την έλλειψη θρεπτικών ήταν ο αριθμός των αγγείων του ξύλου. Γενικά μπορούμε να πούμε ότι ένας συγκεκριμένος αριθμός αγγείων θα δημιουργηθεί ανεξάρτητα από τις συνθήκες θρέψης και από εκεί και πέρα το μέγεθός τους είναι το χαρακτηριστικό που μπορεί να διαφοροποιείται. Τέλος οι περιοχές που επηρεάζονται λιγότερο από τη θρέψη είναι αυτές κοντά στη βάση της ρίζας δηλαδή η ζώνη πάνω από το LR που εξετάστηκε.

4.3 Υπέργειο τμήμα.

Μία επίπτωση της έλλειψης θρεπτικών στα φύλλα είναι η επιτάχυνση της διαδικασίας της γήρανσης, που εκφράζεται ως ταχύτερη μείωση ξηρής μάζας, υγρασίας, και χλωροφυλλών. Αυτό παρατηρείται κυρίως στα πρώτα δύο φύλλα που μπαίνουν στη διαδικασία γήρανσης μέσα στις 21 ημέρες μετά τη βλάστηση των σπόρων.

Η χλωροφύλλη α διαρκώς και σε όλα τα φύλλα βρίσκεται σε μεγαλύτερες ποσότητες από ότι η χλωροφύλλη β και τα καροτενοειδή. Βλέπουμε επίσης ότι τα

καροτενοειδή δεν έχουν μεγάλες διακυμάνσεις σε σχέση με τις χλωροφύλλες συνολικά. Μία εξήγηση μπορεί να είναι ότι τα καροτενοειδή είναι υδρογονάνθρακες και δεν περιέχουν άλλα θρεπτικά στοιχεία. Επομένως αποδομούνται σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με τις χλωροφύλλες. Επίσης τα καροτενοειδή είναι απαραίτητα για την επιβίωση του φυτού καθώς απορροφούν μέρος της ακτινοβολίας και για το λόγο αυτό να διατηρούνται σε σημαντικό βαθμό.

Κατά το σχεδιασμό του πειραματικού μέρους περιμέναμε να δούμε την ποσότητα των χλωροφυλλών να έχει μία πορεία ανάλογη του αζώτου όντας και οι ίδιες αζωτούχες ενώσεις, δηλαδή αρχικά αύξηση και μετά κάμψη και μείωση. Ωστόσο από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η έλλειψη αζώτου στα φύλλα των φυτών που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, δε συνοδεύεται απαραίτητα από έλλειψη χλωροφυλλών. Για παράδειγμα στο 2^ο φύλλο ενώ η ποσότητα αζώτου είναι σημαντικά μικρότερη από την 11^η μέρα οι χλωροφύλλες είναι στα ίδια επίπεδα με το Control μέχρι και τη 17^η μέρα. Ουσιαστικά δηλαδή στο 1^ο και στο 2^ο φύλλο η ποσότητα των χλωροφυλλών δεν επηρεάζεται σημαντικά μέχρι τη 17^η μέρα, κάτι που δηλώνει την τεράστια σημασία που έχει η διατήρηση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Η έλλειψη του αζώτου φαίνεται από την 9^η μέρα στο εμβρυακό φύλλο δηλαδή τη δεύτερη μέρα μετά την τοποθέτηση των φυτών του Control σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα. Επίσης σε όλα τα φύλλα η ποσότητα του αζώτου είναι σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με το Control από ένα σημείο και μετά. Η έκπτυξη νέων φύλλων καθυστερεί σημαντικά και η συσσώρευση αζώτου συμβαδίζει με την αύξηση της ξηρής του μάζας. Σε ένα σύστημα που δεν έχει εξωγενείς εισροές ο μόνος τρόπος για να παραχθούν νέοι ιστοί και να εκπτυχθούν νέα όργανα είναι η ανακύκλωση των υλικών.

Είναι γνωστό ότι το άζωτο είναι ευκίνητο μέσα στο φυτικό ιστό και ότι διακινείται διαρκώς, μέσω του αγγειακού συστήματος, ακόμα και σε φυτά με καλή θρεπτική κατάσταση (Salisbury and Ross, 1991). Οι Cooper and Clarkson (1989) συμπεραίνουν πως υπάρχει διακίνηση μεταξύ βλαστών και ριζών και μάλιστα το μεγαλύτερο μέρος του αζώτου στο ξύλο είναι αμινοξέα και αμίδια και όχι νιτρικά ή αμμωνιακά ιόντα. Συνεπώς η στάθμη του αζώτου σε κάθε φυτικό όργανο είναι διαρκώς μεταβαλλόμενη, υπάρχει δηλαδή μία δυναμική κατάσταση. Ο έλεγχος της διακίνησης του αζώτου και γενικά των θρεπτικών σε κάθε στάδιο του φυτού γίνεται από τις κυτοκινίνες (Forde, 2002; Taiz and Zeiger, 2006), οι οποίες παράγονται στις ρίζες και οι παρουσία τους σε ένα φυτικό όργανο συνδέεται με την προσέλκυση θρεπτικών. Ένα μέρος του αζώτου παραμένει στα φύλλα αφού νεκρωθούν. Αυτό το άζωτο δεν είναι κινητοποιήσιμο και παραμένει στους νεκρούς φυτικούς ιστούς με τη μορφή κυρίως νουκλεοξέων του πυρήνα (Salisbury and Ross, 1991). Έτσι θα μπορούσαμε να πούμε πως το φυτό χάνει ένα σημαντικό μέρος του αξιοποιήσιμου αζώτου σε μορφή μη κινητοποιήσιμου αζώτου στα νεκρά φύλλα.

Ο βλαστός είναι επιφορτισμένος κυρίως με την παραγωγή νέων φυτομερών και την τροφοδότηση των υπαρχόντων με θρεπτικά και νερό, καθώς και με τη σύνδεση και επικοινωνία ριζικού και υπέργειου μέρους. Συνεπώς ο ρόλος του είναι ζωτικής σημασίας για το φυτό κάτι που φαίνεται από τη συνεχή αύξηση της ξηρής

του μάζας και του αζώτου. Η έλλειψη θρεπτικών φαίνεται από την 9^η μέρα καθώς βλέπουμε διαφορά στην υγρασία και στην ποσότητα αζώτου, ενώ την 11^η μέρα εμφανίζεται μειωμένη και η ξηρή μάζα. Η παραγωγή νέων φυτομερών επηρεάζεται σημαντικά καθώς δεν εκπύσσονται νέα φύλλα όπως γίνεται στο Control.

Τέλος συνολικά στο φυτό υπάρχει καθήλωση της ξηρής μάζας κατά την πλήρη έλλειψη θρεπτικών σε σχέση με το Control, όπου υπάρχει εκθετική αύξηση. Σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ τους υπάρχει από τη 15^η μέρα. Η διαφορά ωστόσο στη συσσώρευση αζώτου γίνεται εμφανής ήδη από την 9^η μέρα ενώ η υγρασία στο H₂O διαφοροποιείται από τη 13^η μέρα.

5. Συμπεράσματα.

5.1 Συμπεράσματα σχετικά με την ξηρή μάζα, την υγρασία, το οργανικό άζωτο και τις χρωστικές των φύλλων.

5.1.1 Σπόρος.

1. Το φυσιολογικό άδειασμα των αποθεμάτων του σπόρου ώστε να τροφοδοτηθεί το φυτάριο, αντικατοπτρίζεται στη σταδιακή μείωση της ξηρής μάζας και του οργανικού αζώτου.
2. Συγκρίνοντας τις δύο μεταχειρίσεις, φαίνεται πως στη μεταχείριση H₂O υπάρχει καθυστέρηση στην τροφοδοσία των φυταρίων, καθώς ο σπόρος χάνει ξηρή μάζα με πιο αργό ρυθμό.
3. Το μέσο ανάπτυξης (μεταχείριση) δεν επηρέασε την πορεία αδειάσματος των αποθεμάτων οργανικού αζώτου του σπόρου.

5.1.2 Ριζικό σύστημα.

4. Η πρωτογενής και οι δευτερογενείς εμβρυακές ρίζες έχουν αρκετά κοινά στοιχεία στη αναπτυξιακή τους πορεία. Η ξηρή μάζα στη μεταχείριση H₂O παρουσιάζει μέγιστο την 11^η μέρα και στη συνέχεια φθίνει, ενώ στο Control παρατηρείται αύξηση. Για την υγρασία παρατηρείται επίσης μέγιστο την 11^η μέρα και πτώση για το H₂O, ενώ για το Control έχουμε και πάλι συνεχή αύξηση. Το άζωτο στο H₂O εμφανίζει μέγιστο την 11^η μέρα και στη συνέχεια μικρή μείωση και σταθεροποίηση ενώ το Control αύξηση.
5. Το πρότυπο ανάπτυξης των βλαστογενών ριζών διαφέρει αρκετά από το αντίστοιχο των εμβρυακών. Είναι σαφής η προτεραιότητα που δίνεται στις βλαστογενείς ρίζες μετά τις πρώτες μέρες ανάπτυξης, κάτι που φαίνεται από τους ρυθμούς συσσώρευσης ξηρής μάζας, υγρασίας και αζώτου στο Control και τη συνεχή αύξηση μέχρι το τέλος του πειράματος στο H₂O, φαινόμενα που δεν παρατηρούνται στις εμβρυακές ρίζες.
6. Η πλήρης έλλειψη θρεπτικών πυροδότησε μία γρήγορη πρώτη ανάπτυξη στις βλαστογενείς ρίζες, που εκφράζεται ως σημαντικά μεγαλύτερη ξηρή μάζα, από την 9^η μέχρι και τη 13^η μέρα. Ωστόσο οι τιμές της υγρασίας και του αζώτου δεν επηρεάζονται από την έλλειψη θρεπτικών, τις συγκεκριμένες μέρες.
7. Σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα, μεγάλη ώθηση στις βλαστογενείς ρίζες δίνεται μετά τη 15^η μέρα όπου παρατηρούνται και οι διαφορές σε σχέση με τη μεταχείριση H₂O.

5.1.3 Φύλλα.

8. Η έλλειψη αζώτου στα φύλλα των φυτών που αναπτύσσονται σε απιονισμένο νερό, δε συνοδεύεται απαραίτητα από έλλειψη χλωροφυλλών. Αυτό παρατηρείται έντονα στο εμβρυακό, στο πρώτο και στο δεύτερο φύλλο. Ενώ το άζωτο στο H₂O είναι σημαντικά μειωμένο, οι χλωροφύλλες διατηρούνται στο ίδιο επίπεδο με τις αντίστοιχες τιμές του Control. Μετά τη 13^η μέρα αρχίζουν να παρατηρούνται διαφορές στην ποσότητα χλωροφυλλών μεταξύ των μεταχειρίσεων, όταν δηλαδή ξεκινάει η διαδικασία της γήρανσης.

9. Κοινή παρατήρηση για τα δύο πρώτα φύλλα είναι ότι η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επιταχύνει τη διαδικασία της γήρανσης, που εκφράζεται ως ταχύτερη μείωση ξηρής μάζας, υγρασίας, και χλωροφυλλών.

10. Στη μεταχείριση H₂O τα φύλλα από το 2^ο και μετά γενικά συσσωρεύουν λιγότερη ξηρή μάζα, υγρασία και άζωτο, καθώς αποκτούν μικρότερο μέγεθος από το Control.

Ειδικά συμπεράσματα για το κάθε φύλλο.

11. Στο εμβρυακό φύλλο η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επιδρά αρνητικά στην ποσότητα του αζώτου από την 9^η μέχρι και τη 17^η μέρα.

12. Οι χλωροφύλλες στο εμβρυακό φύλλο παρουσιάζουν μέγιστο την 9^η μέρα και για τις δύο μεταχειρίσεις και στη συνέχεια φθίνουν. Τα καροτενοειδή μειώνονται όταν υπάρχει έλλειψη θρεπτικών, ενώ στη μεταχείριση Control έχουν σχεδόν σταθερή τιμή.

13. Στο πρώτο φύλλο το H₂O έχει σαφώς μικρότερη ποσότητα αζώτου από την 11^η μέρα μέχρι το τέλος και μάλιστα με αυξανόμενη διαφορά από το Control. Η ξηρή μάζα δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων, ωστόσο οι μικρότερες τιμές για το H₂O από την 11^η μέρα και μετά, αποτελούν ένδειξη ότι η έλλειψη θρεπτικών επηρεάζει την ξηρή μάζα του φύλλου.

14. Το δεύτερο φύλλο του H₂O υστερεί στην αύξηση της ξηρής μάζας, της υγρασίας και του αζώτου από την 11^η μέρα. Οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή αυξάνονται στο Control από τη 19^η μέρα και μετά, κάτι που δε συμβαίνει στο H₂O.

15. Το τρίτο φύλλο της μεταχείρισης H₂O υστερεί σε ανάπτυξη από την 11^η μέρα σε σχέση με το Control. Η μειωμένη ανάπτυξη σε αυτό το φύλλο φαίνεται και από τις μικρότερες ποσότητες χρωστικών.

16. Το τέταρτο φύλλο εμφανίζεται αρκετά πιο αργά για το H₂O. Η μειωμένη σε σχέση με το Control ανάπτυξη είναι έκδηλη σε όλα τα διαγράμματα.

17. Στη μεταχείριση H₂O δεν εμφανίζονται άλλα φύλλα μετά το τέταρτο. Στο Control αντίθετα η ανάπτυξη συνεχίζεται και εκπύσσονται διαρκώς νέα φύλλα από τη 17^η μέρα.

5.1.4 Βλαστός.

18. Η έλλειψη θρεπτικών παρεμποδίζει σημαντικά την ανάπτυξη του βλαστού από την 9^η μέρα καθώς βλέπουμε διαφορά στην υγρασία και στην ποσότητα αζώτου, ενώ την 11^η μέρα εμφανίζεται μειωμένη και η ξηρή μάζα. Μετά τη 17^η μέρα υπάρχει μία μικρή αύξηση σε όλες τις τιμές. Σε πλήρες θρεπτικό διάλυμα ο βλαστός συσσωρεύει ξηρή μάζα και υγρασία με αυξανόμενο ρυθμό ενώ το άζωτο αυξάνεται γραμμικά με το χρόνο.

5.2. Συμπεράσματα για τα μορφομετρικά και ανατομικά χαρακτηριστικά των βλαστογενών ριζών.

19. Η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επηρεάζει κυρίως το εμβαδόν των αγγείων του ξύλου και λιγότερο τον αριθμό τους.
20. Ο αριθμός των αγγείων του ξύλου είναι μεγαλύτερος στα πρώτα ηλικιακά στάδια της ρίζας και στη συνέχεια μειώνεται. Αντίθετα το συνολικό εμβαδόν των αγγείων αυξάνεται κατά τη διάρκεια του πειράματος στις μεταχειρίσεις -S και Control.
21. Η έλλειψη θεικών επηρέασε κυρίως τις διαμέτρους ρίζας και κεντρικού κυλίνδρου και τον αριθμό των αγγείων του ξύλου τις πρώτες μέρες και ειδικά τη 13^η μέρα.
22. Η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επηρέασε κυρίως τις δύο διαμέτρους και το συνολικό εμβαδόν των αγγείων του ξύλου από τη μέση του πειράματος και μετά δηλαδή μετά τη 13^η μέρα μέχρι το τέλος.
23. Γενικά το χαρακτηριστικό που επηρεάστηκε λιγότερο από την έλλειψη θρεπτικών ήταν ο αριθμός των αγγείων του ξύλου.
24. Οι περιοχές της ρίζας που επηρεάζονται λιγότερο από τη θρέψη είναι αυτές κοντά στη βάση της ρίζας δηλαδή η ζώνη πάνω από το LR.

Ειδικά συμπεράσματα για το μορφομετρικά και ανατομικά χαρακτηριστικά.

5.2.1 Μήκος ριζών.

25. Η πλήρης έλλειψη θρεπτικών και η έλλειψη θεικών από το διάλυμα ανάπτυξης δεν επέφερε σημαντικές αποκλίσεις από το Control, στο μήκος των βλαστογενών ριζών.

5.2.2 Διάμετρος ρίζας.

26. Η διάμετρος της ρίζας στην περιοχή A αυξάνεται σε σχέση με το χρόνο και στις τρεις μεταχειρίσεις.
27. Στην περιοχή A, μεγαλύτερη πρώτη ανάπτυξη μέχρι τη 13^η μέρα επιφέρει η έλλειψη θεικών ιόντων.
28. Την 22^η μέρα η έλλειψη θεικών έχει προκαλέσει υστέρηση στη διάμετρο της ρίζας στην περιοχή A.
29. Η ανάπτυξη της ρίζας στην περιοχή A είναι καθηλωμένη στην περίπτωση της πλήρους έλλειψης θρεπτικών, σε σχέση με το Control, κάτι που φαίνεται έντονα από τη 16^η μέρα και μετά.
30. Στην περιοχή κάτω από τη ζώνη ELR, η διάμετρος της ρίζας μειώνεται στην πλήρη έλλειψη θρεπτικών ενώ στις άλλες δύο μεταχειρίσεις αυξάνεται. Παρατηρείται σημαντική υστέρηση για το H₂O από τη 13^η μέρα μέχρι το τέλος του πειράματος.
31. Η έλλειψη θεικών δεν επιφέρει μεταβολή στη διάμετρο της ρίζας στην περιοχή κάτω από το ELR.
32. Η διάμετρος στην περιοχή πάνω από τη ζώνη ELR αυξάνεται και για τις τρεις μεταχειρίσεις.
33. Στην περιοχή πάνω από τη ζώνη ELR η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επιδρά αρνητικά στη διάμετρο της ρίζας από τη 16^η μέρα και μετά.

34. Την 22^η μέρα η έλλειψη θεικών προκαλεί αύξηση της διαμέτρου στην περιοχή πάνω από το ELR.

35. Η περιοχή πάνω από τη ζώνη LR παραμένει ως η πιο σταθερή στις μεταβολές της θρεπτικής κατάστασης, όσον αφορά στη διάμετρο της ρίζας.

5.2.3 Διάμετρος κεντρικού κυλίνδρου.

36. Στην περιοχή A, η διάμετρος του κεντρικού κυλίνδρου υστερεί σε ανάπτυξη στη μεταχείριση H₂O, ενώ αυξάνεται για τις άλλες δύο μεταχειρίσεις. Σημαντικές διαφοροποιήσεις σε σχέση με το Control έχουμε από τη 16^η μέρα και μετά όπως συμβαίνει και στη διάμετρο της ρίζας.

37. Μεγαλύτερη πρώτη ανάπτυξη του κεντρικού κυλίνδρου στην περιοχή A, επιφέρει η έλλειψη θεικών ιόντων, κάτι που παρατηρείται και στη διάμετρο της ρίζας.

38. Στην περιοχή κάτω από την ELR τη 10^η μέρα, έχουμε αυξημένη διάμετρο κεντρικού κυλίνδρου κατά την πλήρη έλλειψη θρεπτικών. Στη συνέχεια υπάρχει μείωση της διαμέτρου και σημαντική διαφορά από το Control από τη 16^η μέρα.

39. Στην ίδια περιοχή, κατά την έλλειψη θεικών έχουμε αυξημένη διάμετρο τη 13^η μέρα, σε σχέση με τη μεταχείριση του Control.

40. Στην περιοχή πάνω από την ELR η πλήρης έλλειψη θρεπτικών επιφέρει μικρή μείωση ενώ στις άλλες μεταχειρίσεις έχουμε αύξηση της διαμέτρου.

41. Στην ίδια περιοχή, κατά την έλλειψη θεικών παρατηρούμε αυξημένη διάμετρο σε σχέση με το Control, τις μέρες 16 και 22.

42. Στην περιοχή πάνω από τη ζώνη LR υπάρχουν μικρότερες διαφοροποιήσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων τις πρώτες μέρες του πειράματος.

5.2.4 Αριθμός αγγείων του ξύλου.

43. Στην περιοχή A έχουμε μείωση του αριθμού των αγγείων του ξύλου κατά τη διάρκεια του πειράματος ανεξάρτητα από το είδος της μεταχείρισης. Η διαφορά μεταξύ τους εμφανίζεται τη 13^η μέρα όπου έχουμε στατιστικά μικρότερο αριθμό αγγείων στη μεταχείριση Control. Αυτό πιθανώς δείχνει μία τάση στα φυτά που έχουν έλλειψη θρεπτικών, να διατηρούν περισσότερα αγγεία στην περιοχή A στα αρχικά στάδια της ρίζας.

44. Στην περιοχή κάτω από τη ζώνη ELR, παρατηρείται μεγάλη μείωση στον αριθμό των αγγείων του ξύλου και για τις τρεις μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια του πειράματος. Στη μεταχείριση -S τη 13^η μέρα υπάρχουν περισσότερα αγγεία από το Control, όπως συμβαίνει και στην περιοχή A, γεγονός που ενισχύει την υπόθεση ότι η έλλειψη θρεπτικών έχει ως αποτέλεσμα τη διατήρηση περισσότερων αγγείων του ξύλου στα νεανικά στάδια της ρίζας.

45. Στην περιοχή πάνω από τη ζώνη ELR, επίσης μειώνεται ο αριθμός των αγγείων. Η έλλειψη θρεπτικών γίνεται και σε αυτή τη ζώνη αντιληπτή τη 13^η μέρα από τον αυξημένο αριθμό αγγείων.

46. Στη ζώνη LR ο αριθμός των αγγείων του ξύλου είναι σχετικά σταθερός κατά τη διάρκεια του πειράματος και η έλλειψη θρεπτικών δεν προκαλεί καμία μεταβολή.

5.2.5 Άθροισμα εμβαδών των αγγείων του ξύλου.

47. Στην περιοχή A, το συνολικό εμβαδόν των αγγείων επηρεάζεται έντονα από την πλήρη έλλειψη θρεπτικών, σχεδόν από τις πρώτες μέρες ανάπτυξης των βλαστογενών ριζών. Η έλλειψη έχει ως αποτέλεσμα τα νέα αγγεία που δημιουργούνται στην περιοχή να μην αποκτούν μεγάλο συνολικό εμβαδόν όπως συμβαίνει με τα αντίστοιχα των άλλων δύο μεταχειρίσεων. Συγκριτικά στο H₂O, τα αγγεία της 22^{ης} ημέρας έχουν μικρότερο συνολικό εμβαδόν από ότι την 10^η.

48. Η έλλειψη S στην περιοχή A, προκαλεί αύξηση του συνολικού εμβαδού των αγγείων του ξύλου την 22^η μέρα.

49. Στην περιοχή κάτω από τη ζώνη ELR, η πλήρης έλλειψη θρεπτικών προκαλεί σημαντική μείωση του συνολικού εμβαδού των αγγείων από τη 16^η μέχρι την 22^η μέρα. Η έλλειψη θεικών δεν προκαλεί μεταβολή στο συνολικό εμβαδόν των αγγείων.

50. Στην περιοχή πάνω από το ELR, η πλήρης έλλειψη θρεπτικών προκαλεί σημαντική μείωση του συνολικού εμβαδού από τη 19^η μέχρι και την 22^η μέρα. Η έλλειψη θεικών δεν προκαλεί καμία μεταβολή σε σχέση με το Control.

51. Στην περιοχή πάνω από το LR, η έλλειψη θρεπτικών δεν προκαλεί μεταβολή στο συνολικό εμβαδόν των αγγείων του ξύλου σε σχέση με το Control. Το συνολικό εμβαδόν ωστόσο αυξάνεται και για τις τρεις μεταχειρίσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος.

6. Βιβλιογραφία.

Abbe EC, Stein OL (1954). The origin of the shoot apex in maize: embryogeny. *Am. J. Bot* 41:285-293.

Aldrich S, Scott W, Leng E (1975). *Modern Corn Production*. 2nd edition, A. & L. Publications, Illinois.

Bergmann L and Rennenberg H (1993). Glutathione metabolism in plants. In LJ DeKok, I Stulen, H Rennenberg, C Brunold, WE Rauser, eds, *Sulfur Nutrition and Sulfur Assimilation in Higher Plants*. SPB Academic Publishers, The Hague, The Netherlands, pp 109-123.

Bouranis DL, Chorianopoulou SN, Kollias C, Maniou P, Protonotarios VE, Siyiannis VF and Hawkesford MJ (2006). Dynamics of aerenchyma distribution in the cortex of sulfate-deprived adventitious roots of maize. *Annals of Botany* 97: 695–704.

Chun L, Mi GH, Li JS, Chen FJ and Zhang FS (2005). Genetic analysis of maize root characteristics in response to low nitrogen stress. *Plant and soil*. Vol: 276 issue: 1-2 Pages: 369-382.

Cooper HD and Clarkson DT (1989). Cycling of amino-nitrogen and other nutrients between the shoots and roots in cereals: a possible mechanism integrating shoot and root in regulation of nutrient uptake. *J. Exp. Bot.* 480: 753–762.

Dekok LJ and Stulen I (1993). Role of glutathione in plants under oxidative stress. In LJ DeKok, I Stulen, H Rennenberg, C Brunold, WE Rauser, eds, *Sulfur Nutrition and Sulfur Assimilation in Higher Plants*. SPB Academic Publishers, The Hague, The Netherlands, pp. 125-138.

Dijkshoorn W and van Wijk AL (1967). The sulphur requirement of plants as evidenced by the sulphur-nitrogen ratio in the organic matter. A review of published data. *Plant and Soil* 26: 129-157.

Ericsson T (1995). Growth and shoot:root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. *Plant and Soil* 168-169: 205-214.

Feil B, Thiraporn R, Geisler G and Stamp P (1990). Root traits of maize seedlings m indicators of nitrogen efficiency. *Plant and Soil* 123: 155-159.

Forde BG (2002). The role of long-distance signaling in plant responses to nitrate and other nutrients. *Jour. Of exp. Bot.* Volume 53 no. 366 pp. 39-43.

Freeling M and Walbot V (1994). *The Maize Handbook*, Springer-Verlag, New York. pp. 11-33.

Friedrich JW and Schrader LE (1978). Sulfur deprivation and nitrogen metabolism in maize seedlings. *Plant Physiol.* 61: 900-903.

Guillaumie S, San-Clemente H, Deswarte C, Martinez Y, Lapierre C, Murigneux A, Barriere Y, Pichon M, Goffner D (2007). MAIZEWALL. Database and developmental gene expression profiling of cell wall biosynthesis and assembly in maize. *Plant Physiol* 2007, 143:339-363.

Hiscox J.D. and Israelstam (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can J Bot* 57: 1332-1334.

Hochholdinger F, Woll K, Sauer M, Dembinsky D (2004). Genetic dissection of root formation in maize (*Zea mays*) reveals root-type specific developmental programmes. *Annals of Botany* 93: 359–368.

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

Konings H and Verschuren G (1980). Formation of aerenchyma in roots of *Zea mays* in aerated solutions, and its relation to nutrient supply. *Physiol. Plant* 49: 265-270.

Kutz A, Muller A, Henning P, Kaiser WM, Piotrowsky M, Weiler EW (2002). A role for nitrilase 3 in the regulation of root morphology in sulphur-starving *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 30:95-106.

Levitt J (1980). Responses of plants to environmental stresses. 2nd ed. Vol.2, Academic Press, New York.

Linkohr BI, Williamson LC, Fitter AH, Leyser O (2002). Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of *Arabidopsis*. *Plant J.* 29:751-760.

Liu JX, Chen FJ, Olokhnuud C, Glass ADM, Tong YP, Zhang FS and Mi GH (2009). Root size and nitrogen-uptake activity in two maize (*Zea mays*) inbred lines differing in nitrogen-use efficiency. *Journal of plant nutrition and soil science*. Volume: 172 Issue 2: 230-236 .

Lopez-Bucio J, Cruz-Ramirez A and Herrera-Estrella L (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion in Plant Biology*. 6: 280–287.

Ma Z, Bielenberg DG, Brown KM, Lynch JP (2001). Regulation of root hair density by phosphorus availability in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*, 24:459-467.

Marschner H (1995). Mineral nutrition of Higher Plants. 2nd edition. Academic Press, London, UK, pp 255-265.

Mills HA and Jones JB (1996). Plant analysis handbook II. MicroMacro Publishing Inc., Athens, Georgia, USA, pp 30-35.

- Malcolm CD, Chuan-Jiu H, Page WM (1989). Decreased Ethylene Biosynthesis, and Induction of Aerenchyma, by Nitrogen - or Phosphate - Starvation in Adventitious Roots of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 91: 266-27.
- Morrison TA, Kessler JR, and Buxton DR (1994). Maize internode elongation patterns. *Crop Sci.* 34:1055–1060.
- Neil SJ, Horgan R, Parry AD (1986). The carotenoid and abscisic acid content of viviparous kernels and seedlings of *Zea mays* L. *Planta* 169: 87-96.
- Nelson DW and Sommers (1980). Total nitrogen analysis of soil and plant tissues. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63: 770-778.
- Nelson LB (1956). The mineral nutrition of corn as related to its growth and culture. *Adv. Agron.* 8: 321-68.
- Ridge I (2005). *Plants*. Oxford University Press.
- Robertson DS (1955). The genetics of vivipary in maize. *Genetics* 40: 745-760.
- Salisbury FB and Ross CW (1991). *Plant Physiology* 4th edition, Cengage Learning.
- Samuelson ME, Eliasson L, Larsson CM (1992). Nitrate regulated growth and cytokinin responses in seminal roots of barley. *Plant Physiol.* 98: 309-315.
- Schmidt W, Schikora A (2001). Different pathways are involved in phosphate and iron stress-induced alterations of root epidermal cell development. *Plant Physiol.* 125:2078-2084.
- Taiz L and Zeiger E (2006). *Plant Physiology*. 4th edition publications: Sinauer Associates, Sunderland.
- Tomati U and Galli E (1979). Water stress and -SH- dependent physiological activities in young maize plants. *Journal of Experimental Botany* 30: 557-563.
- Varney GT, Canny MJ, Wang XL and McCully ME (1991). The branch roots of *Zea*. I. First order branches, their number, sizes and division into classes. *Annals of Botany* 67: 357-364.
- Wang XL, Canny MJ and McCully ME (1991). The water status of the roots of soil-grown maize in relation to the maturity of their xylem. *Physiologia Plantarum* 82: 157-162.
- Wang Y, Mi GH, Chen FJ, Zhang JH and Zhang FS (2004). Response of root morphology to nitrate supply and its contribution to nitrogen accumulation in maize. *Journal of plant nutrition* 27: 2189-2202.
- White CN, Rivin CJ (2000). Gibberellins and seed development in maize. II. Gibberellin synthesis inhibition enhances abscisic acid signaling in cultured embryos. *Plant Physiol.* 122: 1089–1098.

Zeier J, Ruel K, Ryser U, Schreiber L (1999). Chemical analysis and immunolocalisation of lignin and suberin in endodermal and hypodermal/ rhizodermal cell walls of developing maize (*Zea mays* L.) primary roots. *Planta* 209: 1–12.