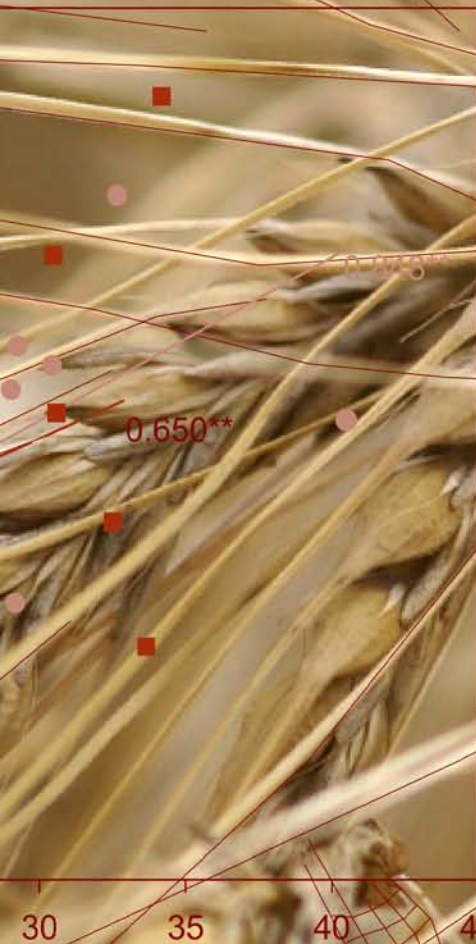


Αλληλεπιδράσεις της έλλειψης αζώτου και της υδατικής καταπόνησης
σε διαφορετικούς γονοτύπους κριθαριού (*Hordeum vulgare* L.)



Βασιλική Σταυρουλάκη
Διδακτορική Διατριβή

Γεώργιος Α. Καραμπουρνιώτης (Επιβλέπων Καθηγητής)

Αθήνα 2015

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ

**Αλληλεπιδράσεις της έλλειψης αζώτου και της υδατικής καταπόνησης
σε διαφορετικούς γονοτύπους κριθαριού (*Hordeum vulgare* L.)**

ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΣΤΑΥΡΟΥΛΑΚΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS
DEPARTMENT OF CROP SCIENCE
LABORATORY OF PLANT PHYSIOLOGY AND MORPHOLOGY

**Interactions between nitrogen deprivation and drought stress
in different genotypes of barley (*Hordeum vulgare* L.)**

VASSILIKI STAVROULAKI

PHD THESIS

‘Η έγκρισις της παρούσης διδακτορικής διατριβής υπό του
Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει αποδοχήν των
γνώμεων του συγγραφέως’

[Νόμος 5343/1932, άρθρο 202]

Η εικόνα του εξωφύλλου είναι ευγενική παραχώρηση
της κας Renate Eichert

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΜΕΛΗ

ΚΩΣΤΑΣ ΦΑΣΣΕΑΣ –ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΓΑΡΥΦΑΛΙΑ ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ-ΑΝΤΩΝΑΚΑ – ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Γ.Π.Α.

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΚΩΣΤΑΣ ΦΑΣΣΕΑΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΓΑΡΥΦΑΛΙΑ ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ-ΑΝΤΩΝΑΚΑ – ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Γ.Π.Α.

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΠΟΥΡΑΝΗΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΑΪΒΑΛΑΚΙΣ – ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΠΙΛΑΛΗΣ – ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΣΤΥΛΙΑΝΗ ΧΩΡΙΑΝΟΠΟΥΛΟΥ – ΛΕΚΤΟΡΑΣ Γ.Π.Α.

Η κυρία Β. Σταυρουλάκη έλαβε υποτροφία για την εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι αβιοτικοί παράγοντες καταπόνησης, μεταξύ των οποίων συγκαταλέγεται η έλλειψη νερού και αζώτου, είναι υπεύθυνοι για μεγάλες απώλειες στην φυτική παραγωγή. Με δεδομένες τις τρέχουσες αλλά και μελλοντικές κλιματικές αλλαγές που θα μετατρέψουν το κλίμα σε ακόμα ξηρότερο, είναι επιτακτική ανάγκη η περαιτέρω μελέτη των μακροχρόνιων αντιδράσεων των φυτών σε συνθήκες αλληλεπίδρασης των δύο καταπονήσεων. Προς αυτή την κατεύθυνση θεωρώ, ότι η παρούσα διδακτορική διατριβή πρόσθεσε αρκετά νέα στοιχεία σχετικά με τους μηχανισμούς εγκλιματισμού που αναπτύσσει ένα πολύ σημαντικό καλλιεργούμενο φυτό, το κριθάρι, το οποίο είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες.

Σε προσωπικό επίπεδο με την ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας κλείνει ο κύκλος των σπουδών μου στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο, χωρίς τούτο να σημαίνει ότι θα σταματήσω να υπηρετώ την γεωπονική επιστήμη και το όραμα μου για αειφόρο αγροτική ανάπτυξη σε όποια θέση και αν εργάζομαι. Όπως για κάθε εξειδικευμένη επιστημονική εργασία, η πραγματοποίηση της διδακτορικής μου διατριβής θα ήταν αδύνατη, χωρίς την επίβλεψη, την καθοδήγηση και την συνεργασία ορισμένων ανθρώπων τους οποίους θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα:

Τον Καθηγητή Γ.Π.Α. κ. Γεώργιο Καραμπουρνιώτη για την ανάθεση ενός τόσο ενδιαφέροντος θέματος καθώς και για την άοκνη επίβλεψη του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της μελέτης. Η γνωριμία μαζί του, ξεκίνησε από τα φοιτητικά μου χρόνια, όπου από τότε με καθοδηγούσε με πατρικό ενδιαφέρον στα πρώτα μου επιστημονικά βήματα.

Τον Καθηγητή Γ.Π.Α. κ. Κώστα Φασσέα για την συμμετοχή του στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή και την συμμετοχή του, σε κάθε στάδιο της εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α. κ. Γαρυφαλλιά Οικονόμου-Αντώνακα για την συμμετοχή της στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή και τον γόνιμο διάλογο που αναπτύσσαμε σε εξειδικευμένα θέματα σχετικά με την καλλιέργεια του κριθαριού.

Τον Καθηγητή Γ.Π.Α. κ. Δημήτριο Μπουράνη για την συμμετοχή του στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή και την εποικοδομητική συνεργασία που είχαμε από τα πρώτα χρόνια των σπουδών μου έως σήμερα.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή Γ.Π.Α. κ. Γεώργιο Αϊβαλάκι για την συμμετοχή του στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή, την φιλοξενία στον εργαστηριακό χώρο του, κυρίως όμως για την εκπαίδευση που μου παρείχε σε μεθόδους και τεχνικές της ανατομίας των φυτών.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή Γ.Π.Α. κ. Δημήτριο Μπιλάλη για την συμμετοχή του στη Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή και τις εύστοχες παρατηρήσεις του σχετικά με τον πειραματικό σχεδιασμό και το κείμενο της διατριβής.

Την Λέκτορα Γ.Π.Α. κα. Στυλιανή Χωριανοπούλου για την συμμετοχή της στη Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή και το ευχάριστο και δημιουργικό κλίμα που καλλιεργεί στο Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών.

-Πρόλογος-

Τον Δρ. Δημοσθένη Νικολόπουλο, μέλος Ε.Ε.ΔΙ.Π. του Εργαστηρίου Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών, για την σημαντικότερη βοήθεια του και τις πρακτικές συμβουλές του οποιαδήποτε στιγμή ήταν απαραίτητο.

Την Δρ. Παναγιώτα Μπρέστα επίσης μέλος Ε.Ε.ΔΙ.Π. του Εργαστηρίου με την οποία είχα μια άψογη συνεργασία στα πλαίσια της εκπόνησης των διδακτορικών μας διατριβών αλλά και με την οποία έβαλα τις βάσεις για μια βαθύτερη φιλική σχέση.

Τα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών κ. Σιψά Ανδριάντα Ε.Τ.Ε.Π., κ. Σταύρο Πίπιλα Ε.Τ.Ε.Π., τον Δρ Ανδρέα. Γιαννόπουλο, την κα. Χριστίνα Κοργιοπούλου που συνέβαλλαν λίγο ή πολύ στην πραγματοποίηση της εργασίας αυτής, αλλά και για το ευχάριστο εργασιακό περιβάλλον που διαμόρφωσαν στο εργαστήριο, όλα τα χρόνια της παραμονής μου.

Θα ήταν μεγάλη παράλειψη, αν ξεχνούσα να ευχαριστήσω και τους συναδέλφους μου από την Περιφέρεια Αττικής που μου συμπαραστάθηκαν σε όλη αυτή την διαδρομή. Το Προϊστάμενο της Διεύθυνσης Αγροτικής & Κτηνιατρικής Πολιτικής κ. Γεώργιο Τίτη, την Τμηματάρχη κα. Αλεξάνδρα Αδρασκέλα και τους συναδέλφους μου κ.κ. Θάνο Αντωνόπουλο, Ελένη Μπιτακλή, Στέφανο Αγγελικούση, Όλγα Ζαλούμη, Παγώνα Καλλιώρα και Ανδρέα Καλογερόπουλο για την ειλικρινή υποστήριξη τους, στην προσπάθεια μου. Τους κ.κ. Στάθη Κορμά, Γιώργο Καβαδάκη και Κωνσταντίνα Παπαδοπούλου ευχαριστώ ιδιαίτερα για την ενθάρρυνση και υποστήριξη τους στις δυσκολίες που αντιμετώπισα κατά την εκπόνηση της διατριβής καθώς και για την φιλία τους.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών για τη βοήθεια που μου παρείχε σχετικά με διοικητικά θέματα χρήσης της υποτροφίας κατά τις δυσκολίες που προέκυπταν από τις συνεχείς αλλαγές της νομοθεσίας σχετικά με τη λήψη της άδειας υπηρεσιακής εκπαίδευσης. Ευχόμαι στο μέλλον να ξαναδοθεί η ευκαιρία σε νέους πτυχιούχους να διεκδικήσουν υποτροφία μέσω εξετάσεων όπως έλαβα εγώ.

Πριν ακόμα ξεκινήσει αυτή η προσπάθεια, οι φίλοι μου Δέσποινα και Μιχάλης με προέτρεψαν καθοριστικά ώστε να πάρω την απόφαση να διαγωνιστώ στο Ι.Κ.Υ. και έμπρακτα βοήθησαν κατά το διάστημα της μελέτης. Για τους λόγους αυτούς τους ευχαριστώ από καρδιάς.

Ωστόσο το μεγαλύτερο κεφάλαιο στη ζωή μου είναι η οικογένεια μου. Ευχαριστώ από καρδιάς τους γονείς μου Γιώργο και Αρετή και τον αδελφό μου Σπύρο που με τις προσωπικές θυσίες τους και την αμέριστη στήριξη τους βοήθησαν και βοηθούν ώστε τα όνειρα μου να γίνονται πραγματικότητα. Τα παιδιά μου, Λένα και Αρετή που με στερήθηκαν κατά το διάστημα προετοιμασίας μου για τις εξετάσεις του Ι.Κ.Υ. αλλά και γιατί αποτελούν για μένα το κίνητρο για να εξελίσσομαι συνέχεια. Τέλος ευχαριστώ τον συνοδοιπόρο μου στις χαρές και στις δυσκολίες, Γιώργο Λιακόπουλο Επίκουρο Καθηγητή του Γ.Π.Α., για το γεγονός ότι είναι δίπλα μου και φωτίζει πάντα τα βήματά μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	vii
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	ix
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	xiii
ABSTRACT	xv
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	17
A. Το νερό.....	19
A.1. Γενικά.....	19
A.2. Δομή και ιδιότητες του νερού.....	19
A.2.1. Το μόριο του νερού είναι πολικό.....	20
A.2.2. Το νερό είναι εξαιρετικός διαλύτης.....	20
A.2.3. Το νερό έχει υψηλή ειδική θερμότητα και υψηλή λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης.....	20
A.2.4. Το νερό διαθέτει υψηλά σημεία πήξεως και βρασμού.....	21
A.2.5. Το νερό εμφανίζει υψηλή συνοχή, συνάφεια, επιφανειακή τάση.....	21
A.2.6. Το νερό είναι ασυμπίεστο και έχει υψηλή αντοχή στην τάση.....	21
A.2.7. Το νερό είναι διαφανές.....	21
A.3. Μηχανισμοί μετακίνησης του νερού.....	22
A.3.1. Διάχυση.....	22
A.3.2. Μαζική ροή.....	22
A.3.3. Όσμωση.....	22
A.4. Δυναμικό νερού.....	23
A.4.1. Το δυναμικό νερού των φυτικών κυττάρων.....	24
A.4.2. Υδατική κατάσταση του φυτού.....	25
A.5. Η κίνηση του νερού διαμέσου του φυτικού σώματος.....	25
A.5.1. Το νερό στο έδαφος.....	25
A.5.2. Η απορρόφηση του νερού από την ρίζα.....	26
A.5.3. Η μετακίνηση του νερού στα αγγεία.....	27
A.5.4. Ριζική πίεση.....	28
A.5.5. Η κίνηση του νερού από το φύλλο στην ατμόσφαιρα.....	28
A.6. Αποδοτικότητα χρήσης νερού (<i>WUE</i>).....	29
A.7. Υδατική καταπόνηση.....	30
A.7.1. Οι επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης.....	30
A.7.2. Στρατηγικές αντιμετώπισης της υδατικής καταπόνησης.....	31
A.7.3. Χαρακτηριστικά εγκλιματισμού και προσαρμογής στην υδατική καταπόνηση.....	31
A.7.4. Μηχανισμοί αντίληψης και διαβίβασης σήματος στην υδατική καταπόνηση.....	33
B. Η ανόργανη διατροφή των φυτών.....	35
B.1. Γενικά.....	35

-Περιεχόμενα-

B.1.1.	Η είσοδος των θρεπτικών στοιχείων διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης...	36
B.1.2.	Η κίνηση των θρεπτικών στοιχείων εντός της ρίζας και μέχρι τα αγγεία του ξύλου	37
B.1.3.	Η κίνηση των θρεπτικών στοιχείων στα αγγεία του ξύλου.....	37
B.1.4.	Η κίνηση των θρεπτικών στοιχείων στον ηθμό	38
B.2.	Το άζωτο ως απαραίτητο θρεπτικό στοιχείο	38
B.2.1.	Το άζωτο στο περιβάλλον.....	38
B.2.2.	Η κατανομή του αζώτου στα φυτά.....	39
B.2.3.	Πρόσληψη από τη ρίζα και μεταφορά των νιτρικών ιόντων εντός του φυτικού σώματος	39
B.2.3.1.	Πρόσληψη νιτρικών ιόντων από τη ρίζα	39
B.2.3.2.	Κίνηση των νιτρικών ιόντων εντός των αγγείων του ξύλου και μεταφορά τους στο υπέργειο μέρος.....	40
B.2.3.3.	Εκροή νιτρικών ιόντων	41
B.2.3.4.	Η ενδοκυτταρική κατανομή των νιτρικών ιόντων.....	41
B.2.4.	Η πρόσληψη και μεταφορά των αμμωνιακών ιόντων από τα φυτά.....	41
B.2.4.1.	Η πρόσληψη των αμμωνιακών ιόντων από τις ρίζες	41
B.2.5.	Η πρόσληψη οργανικού αζώτου	43
B.2.6.	Η αφομοίωση του αζώτου από τα φυτά	43
B.2.6.1.	Η αφομοίωση των νιτρικών ιόντων.....	43
B.2.6.2.	Η αφομοίωση των αμμωνιακών ιόντων	45
B.2.6.3.	Ο ρόλος των ενώσεων οργανικού αζώτου χαμηλού μοριακού βάρους.....	46
B.2.7.	Συνέργεια στη θρέψη των φυτών με νιτρικά και αμμωνιακά ιόντα.....	46
B.2.8.	Τοξικότητα αμμωνίου	47
B.2.9.	Συμπτώματα έλλειψης και υπερεπάρκειας αζώτου.....	48
B.2.10.	Αποδοτικότητα της χρήσης των αποθεμάτων αζώτου (<i>PNUE</i>).....	48
Γ.	Αλληλεπίδραση παραγόντων καταπόνησης.....	49
Γ.1.	Αλληλεπίδραση υδατικής καταπόνησης και έλλειψης αζώτου	49
Γ.1.1.	Η επίδραση της έλλειψης νερού στην δυναμική της θρέψης του φυτού με άζωτο	50
Γ.1.2.	Η επίδραση της έλλειψης νερού στις απαιτήσεις των φυτών σε άζωτο.....	51
Γ.1.2.1.	Αύξηση της βιομάζας του φυτού.....	51
Γ.1.2.2.	Η αναλογία ρίζας/βλαστού και οι ανάγκες του φυτού σε άζωτο	52
Γ.1.3.	Η επίδραση της έλλειψης νερού στην τροφοδοσία του φυτού με άζωτο.....	52
Γ.1.4.	Η αντίδραση των φυσιολογικών μηχανισμών που σχετίζονται με τη θρέψη σε άζωτο σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.....	54
Γ.1.4.1.	Η αφομοίωση του αζώτου στους φυτικούς ιστούς	54
Γ.1.4.2.	Η μεταφορά του αζώτου διαμέσου των αγγείων του ξύλου.....	54
Γ.1.4.3.	Τα νιτρικά ιόντα ως σήμα συναγερμού σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.....	55
Γ.1.4.4.	Η επανακινητοποίηση του αζώτου προς τα σπέρματα σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.....	55

Γ.1.4.5. Ο ρόλος των πρωτεασών κατά το συνδυασμό υδατικής καταπόνησης και έλλειψης αζώτου	55
Γ.1.4.6. Επίδραση της έλλειψης αζώτου στην αποδοτικότητα χρήσης νερού	57
Γ.2. Η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην υδατική καταπόνηση	58
Δ. Το κριθάρι	60
ΣΚΟΠΟΣ	63
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	65
Α. Φυτικό υλικό και πειραματικό σχέδιο	67
Β. Μετρήσεις πεδίου - δειγματοληψίες	69
Β.1. Μετρήσεις ανταλλαγής αερίων για τον υπολογισμό της μέγιστης φωτοσυνθετικής ταχύτητας (A_{max}), της ταχύτητας διαπνοής (E) και της στοματικής αγωγιμότητας (g_s)	69
Β.2. Μετρήσεις δυναμικού του νερού ψ_w του φύλλου και υπολογισμός του δείκτη WPI	69
Γ. Μορφολογικές και ανατομικές παράμετροι	70
Γ.1. Μέτρηση πάχους φύλλου (LT)	70
Γ.2. Μέτρηση συνολικής επιφάνειας και ξηρού βάρους φύλλου – υπολογισμός μάζας ανά φυλλική επιφάνεια (LMA)	70
Γ.3. Υπολογισμός πυκνότητας φύλλου (LD)	70
Γ.4. Μέτρηση στοματικής πυκνότητας (SD) και μήκους στομάτων (SL)	70
Γ.5. Μέτρηση διαμέτρου του δεσμικού κολεού ($MVBD$, $SVBD$) και των αγγείων του αγωγού ιστού (MVD , SVD) - υπολογισμός πυκνότητας νευρώσεων ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου (VD)	71
Γ.6. Υπολογισμός υδραυλικής αγωγιμότητας των αγγείων του φύλλου (k_{hp})	71
Γ.7. Μέτρηση επιφάνειας του άνω και κάτω σκληροεγχύματος, της επιφάνειας των επιδερμικών κυττάρων, των κυττάρων συστροφής (<i>bulliforms</i>), των παρεγχυματικών κυττάρων και των χλωροπλαστών	71
Δ. Βιοχημικές παράμετροι	74
Δ.1. Προσδιορισμός συγκέντρωσης χλωροφυλλών	74
Δ.2. Προσδιορισμός συγκέντρωσης αζώτου	74
Δ.3. Προσδιορισμός συγκέντρωσης ολικών φαινολικών συστατικών	75
Δ.4. Χρωματογραφική ανάλυση φλαβονοειδών	76
Δ.5. Προσδιορισμός συγκέντρωσης συμπυκνωμένων ταννινών	76
Δ.6. Προσδιορισμός συγκέντρωσης προλίνης	77
Ε. Στατιστική ανάλυση	78
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	79
Α. Παράμετροι σχετικές με τις επιβαλλόμενες καταπονήσεις	81
Α.1. Δείκτης δυναμικού νερού (WPI)	81
Α.2. Επίπεδα Αζώτου	81
Α.2.1. Αποδοτικότητα χρήσης αζώτου	82
Β. Κατασκευαστικές παράμετροι των φύλλων	83
Γ. Ανατομικές παράμετροι	85
Γ.1. Παράμετροι των στομάτων	85
Γ.2. Παράμετροι των αγγείων	86

Γ.3. Ιστολογικές παράμετροι	86
Δ. Λειτουργικές παράμετροι	94
Δ.1. Παράμετροι ανταλλαγής αερίων	94
Δ.1.1. Φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μονάδα επιφάνειας και ανά μονάδα μάζας	94
Δ.1.2. Διαπνοή (E)	94
Δ.1.3. Στοματική αγωγιμότητα (g_s)	94
Δ.1.4 Αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE) και ιδιοσυστηματική αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE)	94
Ε. Υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων	96
ΣΤ. Βιοχημικές παράμετροι	97
ΣΤ.1. Χλωροφύλλη	97
ΣΤ.2. Φαινολικά συστατικά	97
ΣΤ.3. Προλίνη	98
Ζ. Απόδοση σε σπόρο (GY)	101
Η. Συσχετίσεις παραμέτρων	102
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	109
Α. Γενικά	111
Β. Επίδραση των χειρισμών στο περιεχόμενο άζωτο	112
Γ. Επίδραση των χειρισμών στις παραμέτρους ανταλλαγής αερίων	113
Δ. Επίδραση των χειρισμών στις μικροσκοπικές παραμέτρους	115
Ε. Επίδραση των χειρισμών στις ιστολογικές παραμέτρους	118
ΣΤ. Επίδραση των χειρισμών στις βιοχημικές παραμέτρους	121
ΣΤ.1. Επίδραση των χειρισμών στη συγκέντρωση προλίνης	121
ΣΤ.2. Φαινολικές ενώσεις-Ταννίνες	121
Ζ. Επίδραση των χειρισμών στις παραμέτρους απόδοσης	124
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	125
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	133

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι αβιοτικές καταπονήσεις αποτελούν τον σημαντικότερο παράγοντα μείωσης της απόδοσης των καλλιεργειών. Τα φυτά βρίσκονται αντιμέτωπα με έναν ή συνήθως περισσότερους παράγοντες καταπόνησης κατά τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου. Η επίδραση των παραγόντων καταπόνησης στις λειτουργίες των καλλιεργούμενων φυτών καθώς και οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας αποτελούν ερευνητικό αντικείμενο αιχμής με στόχο την ανάπτυξη βελτιωμένων γονοτύπων, ανθεκτικότερων στις καταπονήσεις και με υψηλότερες αναμενόμενες αποδόσεις. Η επίδραση αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης παρουσιάζει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που συνήθως δεν είναι το αθροιστικό αποτέλεσμα κάθε παράγοντα καταπόνησης χωριστά αλλά αποτελεί ένα νέο είδος καταπόνησης. Επιπλέον, οι αντιδράσεις των φυτών στις καταπονήσεις κυμαίνονται χρονικά από μερικά λεπτά έως ημέρες ή ακόμα και εβδομάδες οδηγώντας στην επίτευξη βραχυπρόθεσμου έως μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού του οργανισμού. Κάθε είδος εγκλιματισμού έχει ξεχωριστή σημασία στην επιτυχή αντιμετώπιση της καταπόνησης ή του συνδυασμού των καταπονήσεων ενώ, ειδικότερα, η συμβολή του μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού (που συμβαίνει συνήθως σε συνθήκες πεδίου) δεν είναι πλήρως κατανοητή. Από τα παραπάνω προκύπτει η μεγάλη σημασία της μελέτης των χαρακτηριστικών μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού των φυτών έναντι συνδυασμών παραγόντων καταπόνησης.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκαν τα χαρακτηριστικά μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού δύο γονοτύπων κριθαριού, των *Δήμητρα* και *Νίκη*, οι οποίοι καλλιεργήθηκαν υπό κάλυψη με κλιμακούμενη διαθεσιμότητα νερού και αζώτου. Οι δύο αυτές παράμετροι αποτελούν τους πλέον σημαντικούς παράγοντες καταπόνησης διότι αφορούν δύο σημαντικούς αναπτυξιακούς πόρους, το νερό και το άζωτο. Για την αύξηση της ευαισθησίας του πειράματος, χρησιμοποιήθηκαν τρία επίπεδα συγκέντρωσης εδαφικού αζώτου ενώ τα επίπεδα περιεκτικότητας του εδάφους σε νερό ήταν δύο, επάρκεια και ανεπάρκεια. Μελετήθηκε μια σειρά χαρακτηριστικών της μορφολογίας, ανατομίας, βιοχημείας και φυσιολογίας των φυτών. Τα χαρακτηριστικά αυτά σχετίζονται λιγότερο ή περισσότερο με τον εγκλιματισμό των φυτών στους παραπάνω παράγοντες καταπόνησης με κεντρικό κορμό τη διαχείριση του νερού.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η ανεπάρκεια νερού είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση του δυναμικού νερού των φύλλων και στους δύο γονοτύπους ενώ η κλιμακωτή έλλειψη αζώτου προκάλεσε μείωση των επιπέδων αζώτου των φύλλων όταν συνδυάστηκε με έλλειψη νερού. Τόσο η έλλειψη αζώτου όσο και αυτή του νερού προκάλεσαν μείωση της επιφάνειας και του ξηρού βάρους των φύλλων. Η πυκνότητα των στομάτων επηρεάστηκε μόνο στο γονότυπο *Νίκη* και μόνο στο συνδυασμό υδατικής καταπόνησης και μεγάλης έλλειψης αζώτου. Η υδατική καταπόνηση, πολύ περισσότερο από την έλλειψη αζώτου, επηρέασε ιδιαίτερα την αρχιτεκτονική του αγγειακού συστήματος, το μέγεθος των ηθμαγγειωδών δεσμίδων και την πυκνότητα των νευρώσεων. Ο συνδυασμός των δύο καταπονήσεων επηρέασε έντονα τις ιστολογικές παραμέτρους των φύλλων με ιδιαίτερο τρόπο. Ενώ η υδατική καταπόνηση από μόνη της προκάλεσε μείωση του μεγέθους των κυττάρων σχεδόν κάθε ιστολογικής περιοχής του φύλλου όμοια και στους δύο γονοτύπους, όταν η έλλειψη νερού συνδυάστηκε με έλλειψη αζώτου στο έδαφος σημειώθηκε επαναφορά των διαστάσεων των κυττάρων σε επίπεδα συγκρίσιμα με αυτά των φυτών που αναπτύχθηκαν σε επάρκεια νερού και αζώτου. Η επαναφορά ως φαινόμενο ήταν γενικευμένη στον

γονότυπο *Δήμητρα* ενώ στον γονότυπο *Νίκη* παρατηρήθηκε μόνο στα επιδερμικά κύτταρα. Ιδιαίτερα αξιοσημείωτο είναι και το γεγονός ότι η μείωση των διαστάσεων των κυττάρων συνοδεύτηκε και από μείωση του εύρους των τιμών των διαστάσεων τους και συνεπώς, τα κύτταρα των φύλλων των φυτών που αναπτύχθηκαν υπό καθεστώς ανεπάρκειας νερού αλλά επάρκειας αζώτου εμφανίστηκαν περισσότερο ομοιόμορφα συγκριτικά με αυτά των φύλλων των φυτών που αναπτύχθηκαν υπό καθεστώς επάρκειας νερού και αζώτου ή ανεπάρκειας και των δύο αναπτυξιακών πόρων. Η έλλειψη νερού προκάλεσε σημαντική μείωση στις τιμές όλων των παραμέτρων ανταλλαγής αερίων η οποία, ωστόσο, στο γονότυπο *Νίκη* ήταν εξαρτώμενη από το επίπεδο έλλειψης αζώτου. Αισθητή μείωση σημειώθηκε επίσης στην υδραυλική αγωγιμότητα του αγωγού συστήματος των φύλλων λόγω έλλειψης νερού. Σε γενικές γραμμές, η παραπάνω καταπόνηση είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των δεικτών αποδοτικότητας χρήσης νερού ενώ η έλλειψη αζώτου είχε το αντίθετο αποτέλεσμα, ειδικά στο γονότυπο *Νίκη*. Στον ίδιο γονότυπο, η συγκέντρωση χλωροφυλλών μειώθηκε ως αποτέλεσμα και των δύο καταπονήσεων ενώ στον γονότυπο *Δήμητρα* παρέμεινε ανεπηρέαστη. Η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών επηρεάστηκε ποικιλοτρόπως, κυρίως από τα επίπεδα του εδαφικού αζώτου όπου, γενικά, παρατηρήθηκε μείωση των διαλυτών φαινολικών και αύξηση των συμπυκνωμένων ταννινών σε συνθήκες έλλειψης του στοιχείου. Τα επίπεδα της προλίνης αυξήθηκαν δραματικά λόγω έλλειψης νερού αλλά μόνο στο γονότυπο *Νίκη* υπό συνθήκες έλλειψης αζώτου. Τέλος, η έλλειψη νερού είχε ιδιαίτερα δυσμενή επίδραση στο βάρος σπόρων ανά φυτό ενώ η έλλειψη αζώτου είχε ποικίλη επίδραση.

Ένας μεγάλο πλήθος παραμέτρων βρέθηκαν να συσχετίζονται μεταξύ τους. Οι συσχετίσεις αφορούσαν τόσο ομοειδείς κατασκευαστικές παραμέτρους όσο και παραμέτρους που συνδέονται λειτουργικά όπως η υδραυλική αγωγιμότητα, το δυναμικό νερού ή η αρχιτεκτονική του αγγειακού συστήματος και οι παράμετροι ανταλλαγής αερίων. Οι δείκτες αποδοτικότητας νερού και αζώτου συσχετίστηκαν αρνητικά υποδηλώνοντας πως δεν είναι δυνατή η μεγιστοποίηση χρήσης και των δύο αυτών πόρων ταυτόχρονα. Η αντιμετώπιση του συνδυασμού υδατικής καταπόνησης και έλλειψης αζώτου από τους δύο γονοτύπους κριθαριού στηρίχθηκε τόσο σε μηχανισμούς βραχυπρόθεσμου εγκλιματισμού, όπως το κλείσιμο των στομάτων, όσο και σε μηχανισμούς μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού, όπως η αλλαγή της αρχιτεκτονικής του αγγειακού συστήματος και των διαστάσεων των κυττάρων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η αλλαγή των διαστάσεων των κυττάρων ανάλογα με το συνδυασμό των επιβαλλόμενων καταπονήσεων. Οι αλλαγές σε κυτταρικό επίπεδο δεν αντανάκλουν πάντα ομοειδείς αλλαγές σε επίπεδο οργάνου υποδηλώνοντας πως σε ορισμένες αποκρίσεις των φυτών ενδεχομένως να τροποποιήθηκε και ο συνολικός αριθμός των κυττάρων ανά ιστολογική περιοχή ή όργανο. Τέλος, ενώ ορισμένες παράμετροι επηρεάστηκαν εξίσου και στους δύο γονοτύπους υποδηλώνοντας θεμελιώδεις αντιδράσεις των φυτών στις καταπονήσεις, ορισμένες άλλες παράμετροι έδειξαν διαφορετική απόκριση ανάλογα το γονότυπο με χαρακτηριστικότερο παράδειγμα τη συσσώρευση προλίνης. Οι διαφορές αυτές ενδεχομένως σχετίζονται με το εύρος εγκλιματισμού κάθε γονοτύπου.

ABSTRACT

Abiotic stresses are the most important factors in reducing crop yield. Plants are confronted with usually one or more stressors during their life cycle. The effect of stress factors in the physiology of crop plants and the resistance mechanisms represent is a research frontier topic which can lead to the development of improved genotypes, more resistant to stressors and with higher expected yields. The interaction of two or more stress factors exhibits new characteristics that are not equal to the sum of each individual stress factor, thus a new type of stressor emerges. Furthermore, plant responses to stresses range in time from a few minutes to days or even weeks and result to the development of short-term and long-term acclimation characteristics of the plant. Each type of acclimation is significant for the successful confrontation of a stress factor or a combination of stress factors. Moreover, the contribution of long-term acclimation in particular (which usually develops under field conditions) is not fully understood. It follows that the study of long-term acclimation characteristics of plants against combinations of stressors is of particular importance for the understanding of plant responses.

In this thesis we studied the characteristics of long-term acclimation two genotypes of barley, '*Demetra*' and '*Niki*', which were cultivated in a greenhouse in water and nitrogen availability gradients. These two parameters are the most important stress factors because they represent two important growth resources, water and nitrogen. For increasing the sensitivity of the experiment, three soil nitrogen concentration levels were used while two soil water content levels were used, sufficient and drought. A number of morphological, anatomical, biochemical and physiological parameters of the plants were studied. These parameters are more or less related to the acclimation of plants in the above stressors with emphasis to plant water management.

According to the results, drought stress resulted in a significant reduction of leaf water potential in both genotypes while the stepwise reduction of nitrogen content caused a reduction of nitrogen levels of leaves when combined with water shortage. Both the lack of nitrogen and that of water caused a reduction of surface area and dry weight of the leaves. Stomatal density was affected only in genotype '*Niki*' and only when water stress was accompanied by severe lack of nitrogen. Drought stress, far more than the lack of nitrogen, particularly influenced the architecture of the vascular system, the size of the vascular bundles and vein density. The combination of both stressors strongly affected the histological parameters of the leaves in a particular manner. While drought stress alone induced a reduction in cell size almost in all leaf tissues similarly in both genotypes, when drought stress was combined with low levels of nitrogen in the soil, cell dimensions were restored to levels comparable to those of plants grown under sufficient water and nitrogen supply. Cell size restoration was more prominent in the '*Demetra*' genotype while in the '*Niki*' genotype the phenomenon was only observed in epidermal cells. Particularly noteworthy is the fact that the reduced dimensions of the cells was accompanied by a reduction of the size range and thus leaf cells of plants grown under drought stress and nitrogen adequacy appeared more uniform in size compared to those of plants grown under a regime of water and nitrogen adequacy or under a regime of deficiency in both developmental resources. Drought stress caused a significant reduction in the values of all gas exchange parameters which, however, in the '*Niki*' genotype was dependent on the level of soil nitrogen supply.

Noticeable decrease also occurred in the hydraulic conductivity of the leaf vascular system due to drought. In general, the above stress resulted in the increase of water use efficiency indices while lack of nitrogen had the opposite effect, especially in the '*Niki*' genotype. In the same genotype, the concentration of chlorophylls decreased as a result of both stressors while the '*Demetra*' genotype remained unaffected. The concentration of phenolic compounds was affected in many ways, especially depending on soil nitrogen supply wherein generally soluble phenolics were decreased and condensed tannins were increased under conditions of inadequate supply of this nutrient. The levels of proline increased dramatically due to drought stress but only in the '*Niki*' genotype under conditions of low nitrogen supply. Finally, drought stress had a very unfavorable effect on grain yield per plant while low nitrogen supply had a varied effect.

A large number of parameters were found to correlate with each other. Correlations were observed both among related structural parameters and among parameters related in a functional manner such as hydraulic conductivity, water potential or the architecture of the vascular system and gas exchange parameters. Water and nitrogen use efficiency indices were negatively correlated suggesting that optimization in the use efficiency of both these resources is not possible simultaneously. Confrontation of the combined drought stress and low nitrogen supply from the two barley genotypes was based both on short-term acclimation mechanisms, such as stomatal closure, and in long-term acclimation mechanisms, such as changing the architecture of the vascular system and cell dimensions. Of particular interest is the effects on cell dimensions which depended on the combination of the two imposed stressors. These effects at the cellular level were not always reflected to similar changes at the organ level indicating that, in some types of plant responses, the total number of cells on the tissue or organ level was possibly modified also. Finally, while some parameters were affected equally in both genotypes, suggesting fundamental plant responses to stressors, some other parameters showed a differential response depending on the genotype. This varied response was particularly prominent in the accumulation of proline. These differences may reflect the acclimation potential of each genotype.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A. Το νερό

A.1. Γενικά

Το νερό αποτελεί αναπόσπαστο χαρακτηριστικό της ζωής σε ολόκληρο τον πλανήτη. Το υδάτινο περιβάλλον (λίμνες, ποτάμια, θάλασσα) αποτέλεσε το περιβάλλον στο οποίο δημιουργήθηκε η ζωή και σε αυτό διαβίει έκτοτε ένας μεγάλος αριθμός έμβιων όντων. Εκτός από το ρόλο του ως περιβαλλοντικού υποστρώματος, το νερό αποτελεί επίσης βασικό συστατικό για την ανάπτυξη και λειτουργία των οργανισμών. Επομένως η ύπαρξη ζωής είναι αδιανόητη χωρίς την ύπαρξη του νερού και τα φυτά δεν αποτελούν εξαίρεση του κανόνα. Η περιεκτικότητα τους σε νερό είναι πολύ μεγάλη, στα ποώδη φυτικά είδη μπορεί να φθάσει το 70-90% του νωπού βάρους (Taiz and Zeiger, 2012). Όργανα όπως τα φύλλα ή οι σαρκώδεις καρποί μπορεί να περιέχουν νερό ως και 95% κατά βάρος (Μανέτας, 2003).

Το μεγαλύτερο ποσοστό του νερού που προσλαμβάνεται από τα φυτά μέσω του ριζικού συστήματος μεταφέρεται διαμέσου του φυτικού σώματος και εξατμίζεται από την επιφάνεια των φύλλων μέσω της διαπνοής. Χάρη στο διαπνευστικό ρεύμα, μεταφέρονται ανόργανες και οργανικές ουσίες στα σημεία κατανάλωσής τους. Ένα πολύ μικρό ποσοστό του νερού που απορροφούν οι ρίζες παραμένει στο φυτικό σώμα για να υποστηρίξει την αύξηση (2%) ή για να συμμετάσχει σε άλλες βιοχημικές διαδικασίες όπως η φωτοσύνθεση (1%) (Taiz and Zeiger, 2012). Η έξοδος του νερού από τα φύλλα πραγματοποιείται από τα στόματα τα οποία βρίσκονται στην επιφάνεια τους και τα οποία είναι ταυτόχρονα πύλη εισόδου για το CO₂ της ατμόσφαιρας. Το CO₂ μέσω της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης μετατρέπεται

σε μεταβολικά προϊόντα απαραίτητα για την ανάπτυξη του φυτού. Επειδή η κινούσα δύναμη για την έξοδο του νερού είναι πολύ μεγαλύτερη από την αντίστοιχη της πρόσληψης του CO₂ (σε ένα αντιπροσωπευτικό φυτό της χέρσου χάνονται 400 μόρια H₂O για την πρόσληψη ενός μορίου CO₂), το φυτό πρέπει να εξισορροπεί το ισοζύγιο των υδατικών απωλειών με αυτό του κέρδους σε άνθρακα μέσω της φωτοσύνθεσης ώστε αφενός να μην αφυδατωθεί και αφετέρου να μην κατασταλεί η ανάπτυξη του λόγω έλλειψης σκελετών άνθρακα (Taiz and Zeiger, 2012).

Με δεδομένο ότι τα φυτά καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες νερού για την ανάπτυξη και τις λειτουργίες τους, η διαθεσιμότητα του νερού επηρεάζει όχι μόνο την πρωτογενή παραγωγή των φυσικών οικοσυστημάτων, αλλά και την γεωργία στην οποία η διαθεσιμότητα του νερού ρυθμίζεται συνήθως με την άρδευση. Τέλος, οι διαφορές στη βλάστηση και τον τύπο της χλωρίδας διαφόρων περιοχών του πλανήτη σχετίζεται με το ύψος και την ετήσια κατανομή των βροχοπτώσεων (Taiz and Zeiger, 2012).

A.2. Δομή και ιδιότητες του νερού

Το νερό είναι άριστος διαλύτης, συμμετέχει στη διαμόρφωση της λειτουργικής στερεοδομής των βιολογικών μακρομορίων και παίρνει ενεργό μέρος στον μεταβολισμό. Επίσης αποτελεί την πηγή του O₂ που εκλύεται κατά τη φωτοσύνθεση και συμμετέχει σε αντιδράσεις υδρόλυσης. Οι λόγοι που το καθιστούν εξαιρετικό μέσο για την ανάπτυξη και διατήρηση της ζωής πρέπει να αναζητηθούν στις φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού.

A.2.1. Το μόριο του νερού είναι πολικό

Το μόριο του νερού αποτελείται από ένα άτομο οξυγόνου το οποίο είναι συνδεδεμένο με δύο άτομα υδρογόνου. Οι ενδομοριακοί ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ του οξυγόνου και του υδρογόνου σχηματίζουν μεταξύ τους γωνία 105° . Το άτομο του οξυγόνου είναι περισσότερο ηλεκτραρνητικό γι' αυτό τείνει να έλκει προς το μέρος του τα ηλεκτρόνια που συμμετέχουν στον ομοιοπολικό δεσμό. Επομένως, το τμήμα του μορίου που περιλαμβάνει το οξυγόνο διαθέτει αρνητικό φορτίο ενώ αυτό που περιλαμβάνει τα άτομα υδρογόνου θετικό φορτίο. Συνεπώς, παρότι το μόριο συνολικά εμφανίζεται ουδέτερο, το σχήμα του μορίου και ο μερικός διαχωρισμός του ηλεκτρικού φορτίου το καθιστούν δίπολο. Τα αντίθετα φορτία στα άκρα του μορίου τείνουν να έλκουν με δεσμούς υδρογόνου τα γειτονικά μόρια του νερού προσδίδοντας στο νερό ορισμένες ασυνήθιστες φυσικές ιδιότητες (Μανέτας, 2003).

A.2.2. Το νερό είναι εξαιρετικός διαλύτης

Το νερό διαλύει τις περισσότερες ουσίες λόγω των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζει με ιοντικές ενώσεις και άλλα βιολογικά μόρια που φέρουν πολικές ομάδες όπως τις $-OH$ και $-NH_2$. Τα μόρια του νερού περιβάλλουν το μόριο, σχηματίζοντας μία σφαίρα ενυδάτωσης. Επίσης, λόγω του μικρού μεγέθους του μορίου του νερού ελαττώνονται οι ισχυρές ηλεκτροστατικές δυνάμεις των μορίων με αποτέλεσμα αυτά να διατηρούνται σε διαλυτή μορφή. Αντίθετα μόρια που δεν διαθέτουν ανισοκατανεμημένα ηλεκτρικά φορτία, όπως τα λιπίδια, δεν μπορούν να διαλυθούν στο νερό. Στο γεγονός αυτό οφείλεται η σταθερότητα των κυτταροπλασματικών μεμβρανών

από την οποία εξαρτάται η διαμερισματοποίηση του κυττάρου. Σε υδατικό μέσο, τα λιπίδια συγκροτούν συσσωματώματα στο εσωτερικό των οποίων προτάσσουν τις υδρόφοβες περιοχές τους, μακριά από τα μόρια του νερού (Taiz and Zeiger, 2012).

A.2.3. Το νερό έχει υψηλή ειδική θερμότητα και υψηλή λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης

Ειδική θερμότητα, είναι η θερμότητα που απαιτείται για να ανέλθει η θερμοκρασία ενός g νερού κατά έναν $^\circ C$. Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία του νερού, αυξάνεται και η κινητική ενέργεια των μορίων του. Ωστόσο η κινητικότητά τους παρεμποδίζεται από την ύπαρξη των δεσμών υδρογόνου, οι οποίοι θα πρέπει να διασπαστούν προκειμένου να επιτευχθεί κίνηση των μορίων και συνεπώς περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας. Το νερό σε σχέση με άλλα υγρά απαιτεί την παροχή μεγαλύτερων ποσών θερμότητας ώστε να αυξηθεί η θερμοκρασία του. Εξαιτίας υψηλής τιμής ειδικής θερμότητας του νερού, τα φυτά που κατά το μεγαλύτερο μέρος τους αποτελούνται από νερό, αντισταθμίζουν ικανοποιητικά τις αιφνίδιες αυξομειώσεις της θερμοκρασίας της ατμόσφαιρας (Taiz and Zeiger, 2012).

Εξίσου σημαντική ιδιότητα του νερού, η οποία σχετίζεται με την ύπαρξη των δεσμών υδρογόνου, είναι και η υψηλή λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης, δηλαδή η ενέργεια που απαιτείται για τη διαφυγή ενός μορίου νερού από την υγρή στην αέρια φάση. Η λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης του νερού στους $25^\circ C$ ανέρχεται σε 44 kJ mol^{-1} και αυξανόμενης της θερμοκρασίας ελαττώνεται, λαμβάνοντας ελάχιστη τιμή πλησίον του σημείου βρασμού. Λόγω της υψηλής τιμής της λανθάνουσας θερμότητας εξάτμισης, η εξάτμιση του νερού μέσω της διαπνοής επιτρέπει την

αποτελεσματική ψύξη των φύλλων αποτρέποντας την υπερθέρμανσή τους (Μανέτας, 2003).

A.2.4. Το νερό διαθέτει υψηλά σημεία πήξεως και βρασμού

Μόρια παρόμοιας δομής και μεγέθους με αυτό του νερού όπως για παράδειγμα τα CO₂, CH₄ και SO₂ στις συνήθεις θερμοκρασίες του περιβάλλοντος απαντώνται ως αέρια διότι οι δυνάμεις που συγκρατούν τα μόρια είναι ασθενείς. Αντίθετα το νερό, λόγω των υψηλών σημείων πήξεως και βρασμού που διαθέτει, στις ίδιες συνθήκες απαντάται ως υγρό. Τα υψηλά σημεία πήξεως και βρασμού του νερού σχετίζονται και αυτά με την ισχυρή συγκράτηση των μορίων λόγω των δεσμών υδρογόνου.

A.2.5. Το νερό εμφανίζει υψηλή συνοχή, συνάφεια, επιφανειακή τάση

Η συνοχή αναφέρεται στις ελκτικές δυνάμεις που ασκούνται μεταξύ των μορίων του νερού ενώ η συνάφεια στις ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των μορίων του νερού και ενός στερεού όπως για παράδειγμα ένα γυάλινο δοχείο ή τα κυτταρικά τοιχώματα. Η συνοχή και η συνάφεια λαμβάνουν για το νερό υψηλές τιμές. Επίσης, λόγω επιφανειακής τάσης, το νερό αντιστέκεται στην αύξηση της επιφάνειας του και χρειάζεται αρκετά υψηλή ενέργεια προκειμένου να επιτευχθεί αυτή. Ένα μόριο νερού που βρίσκεται στο εσωτερικό της υδάτινης μάζας δέχεται ελκτικές δυνάμεις από όλα τα γειτονικά μόρια. Έτσι, απαιτείται αυξημένη ενέργεια για την θραύση των δεσμών υδρογόνου ώστε το μόριο να βρεθεί στην επιφάνεια της υδάτινης μάζας όπου δυνάμεις ασκούνται μόνο από τα μόρια της υγρής φάσης (οι υδρατμοί της ατμόσφαιρας λόγω χαμηλής

πυκνότητας δεν σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου). Ο συνδυασμός της υψηλής συνοχής, συνάφειας και επιφανειακής τάσης του νερού προκαλεί τα τριχοειδή φαινόμενα (ανύψωση νερού σε σωλήνες μικρής διαμέτρου) που εν μέρει εξηγούν το μηχανισμό μεταφοράς του νερού διαμέσου των αγγείων του ξύλου (Μανέτας, 2003).

A.2.6. Το νερό είναι ασυμπίεστο και έχει υψηλή αντοχή στην τάση

Το νερό δεν συμπιέζεται εύκολα αν ασκηθεί πίεση και επίσης διαθέτει υψηλή τάση εφελκυσμού. Ως τάση εφελκυσμού ορίζεται η μέγιστη δύναμη ανά μονάδα επιφάνειας που μπορεί να αντέξει μια συνεχής υδάτινη στήλη πριν υποστεί θραύση. Οι ιδιότητες αυτές οφείλονται στους δεσμούς υδρογόνου οι οποίοι αφενός εμποδίζουν τα μόρια να πλησιάσουν περαιτέρω μεταξύ του και αφετέρου προσδίδουν στο νερό υψηλή εσωτερική συνοχή η οποία είναι δύσκολο να διαταραχθεί. Η υψηλή πίεση που ασκεί το νερό στα κυτταρικά τοιχώματα οφείλεται στο ασυμπίεστο του νερού και εξηγεί γιατί η απώλεια νερού από το φυτό οδηγεί σε φαινόμενα μαρασμού. Επίσης λόγω της υψηλής τάσης εφελκυσμού του νερού αποτρέπεται η θραύση της στήλης του νερού μέσα στα αγγεία όπου αυτό βρίσκεται σε τάση με συνέπεια να μειώνεται η πιθανότητα δημιουργίας εμβολών (Μανέτας, 2003).

A.2.7. Το νερό είναι διαφανές

Το νερό είναι διαφανές, δηλαδή δεν απορροφά στην ορατή περιοχή του φάσματος. Λόγω της ιδιότητας αυτής, η ορατή ακτινοβολία που είναι απαραίτητη στη λειτουργία της φωτοσύνθεσης δεν εμποδίζεται να εισέλθει στο εσωτερικό των φύλλων αλλά ούτε και στα μεγάλα βάθη των υδάτινων μαζών.

A.3. Μηχανισμοί μετακίνησης του νερού

A.3.1. Διάχυση

Διάχυση είναι η αυθόρμητη μεταφορά ουσιών από περιοχές με υψηλή συγκέντρωση προς περιοχές με χαμηλή συγκέντρωση. Η μετακίνηση μέσω διάχυσης δεν αφορά μόνο το νερό αλλά οποιαδήποτε μόρια σε οποιοδήποτε μέσο. Η ταχύτητα μεταφοράς της ουσίας εκφράζεται από το μέγεθος **πυκνότητα ροής** (J_s) και περιγράφει την ποσότητα της ουσίας που διασχίζει μια μονάδα επιφάνειας στην μονάδα του χρόνου. Όπως φαίνεται στην εξίσωση 1 που περιγράφει τον πρώτο νόμο του Fick, η πυκνότητα ροής είναι ανάλογη της διαφοράς συγκέντρωσης της ουσίας (ΔC_s) και αντιστρόφως ανάλογη της απόστασης (Δx) μεταξύ των δύο σημείων της κλιμακούμενης συγκέντρωσης.

$$J_s = -D_s \frac{\Delta C_s}{\Delta x} \quad \text{Εξίσωση 1}$$

Ο συντελεστής διάχυσης (D_s) είναι μία σταθερά που περιγράφει την ικανότητα κίνησης της ουσίας (s) μέσα σε ένα συγκεκριμένο μέσο. Ο συντελεστής διάχυσης εξαρτάται από την θερμοκρασία (αυξάνεται αυξανόμενη της θερμοκρασίας) και από το είδος του υλικού. Επίσης είναι αντιστρόφως ανάλογος του μεγέθους του μορίου (Taiz and Zeiger, 2012).

Ο χρόνος που απαιτείται για την μετακίνηση ενός μορίου με απλή διάχυση εξαρτάται από το μέσο εντός του οποίου γίνεται η διάχυση και είναι αντιστρόφως ανάλογος του τετραγώνου της απόστασης μεταξύ δύο σημείων κλιμακούμενης συγκέντρωσης. Για το λόγο αυτό η διάχυση δεν αποτελεί έναν αποτελεσματικό μηχανισμό μεταφοράς μορίων σε μεγάλες αποστάσεις. Ωστόσο έχει σημαντική συμβολή στη μεταφορά μορίων στην υγρή φάση σε ενδοκυτταρικό επίπεδο αλλά και στην αέρια φάση ανεξαρτήτως αποστάσεων όπως π.χ. η ανταλλαγή των αερίων CO_2 , O_2 και των υδρατμών

που πραγματοποιείται μεταξύ του εσωτερικού των φύλλων και του ατμοσφαιρικού αέρα (Taiz and Zeiger, 2012).

A.3.2. Μαζική ροή

Η μαζική ροή αναφέρεται στη κίνηση του νερού που οφείλεται σε διαβάθμιση της πίεσης. Η μαζική ροή στους οργανισμούς πραγματοποιείται μέσω σωληνώσεων όπως για παράδειγμα η κίνηση του αίματος στα ζώα και η κίνηση του ανιόντος χυμού διαμέσου των αγγείων του ξύλου στα φυτά. Σύμφωνα με την εξίσωση του Poiseuille (εξίσωση 2) όταν η μαζική ροή πραγματοποιείται σε σωλήνα διαμέτρου r , η ταχύτητα ροής της μάζας (J_v) είναι ανάλογη της ακτίνας του σωλήνα και της διαφοράς πίεσης (ΔP) και αντιστρόφως ανάλογη του ιξώδους (η) του υγρού και της συνολικού μήκους του σωλήνα (L).

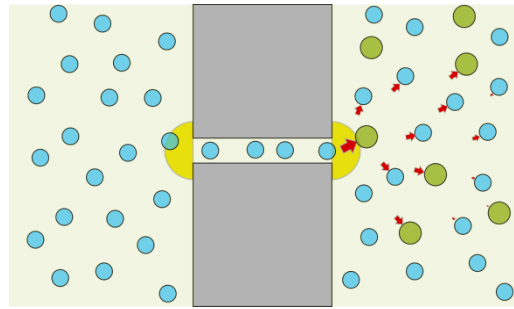
$$J_v = \frac{\pi r^4}{8\eta} \cdot \frac{\Delta P}{L} \quad \text{Εξίσωση 2}$$

Η μαζική ροή, με κινούσα δύναμη την πίεση, αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό μετακίνησης του νερού και διαλυμένων ουσιών σε μεγάλες αποστάσεις εντός των αγγείων του ξύλου. Βεβαίως εντός των αγγείων μπορεί να συμβαίνει ταυτόχρονα και διάχυση ουσιών με αντίθετη κατεύθυνση από αυτή της μαζικής ροής. Ωστόσο για την μετακίνηση σε μεγάλες αποστάσεις υπερτερεί ο μηχανισμός της μαζικής ροής (Taiz and Zeiger, 2012).

A.3.3. Όσμωση

Όπως είναι γνωστό οι κυτταρικές μεμβράνες οριοθετούν τα κύτταρα και τα κυτταρικά οργανίδια συμβάλλοντας στην διαμερισματοποίηση των βιομορίων και των λειτουργιών. Ο ρόλος αυτός των μεμβρανών επιτελείται χάρη στην εκλεκτική περατότητα τους (μέσω υδατοπορινών ή άλλων καναλιών μεταφοράς) όσον αφορά στο νερό και ορισμένα μικρού μεγέθους μη φορτισμένα μόρια.

Αντίθετα, τα μεγάλα μεγέθους ή φορτισμένα μόρια διαπερνούν τις μεμβράνες μέσω άλλων μηχανισμών. Η κίνηση του νερού διαμέσου ημιπερατών μεμβρανών από περιοχές υψηλής συγκέντρωσης του διαλύτη (μικρής συγκέντρωσης διαλυμένης ουσίας) σε περιοχές χαμηλής συγκέντρωσης του διαλύτη (υψηλής συγκέντρωση διαλυμένης ουσίας) λέγεται όσμωση. Η κινητική της όσμωσης δεν εξηγείται από τη διάχυση του διαλύτη λόγω διαβάθμισης της συγκέντρωσής του προερχόμενη από την αραιώση των μορίων του από τα μόρια της διαλυμένης ουσίας. Η εξήγηση του φαινομένου εστιάζεται στις δυνάμεις που ασκούνται στα μόρια του διαλύματος λόγω της ύπαρξης ημιπερατής μεμβράνης με πόρους οι οποίοι επιτρέπουν τη διέλευση των μορίων του νερού αλλά την ίδια στιγμή απωθούν τα μόρια της διαλυμένης ουσίας. Ως εκ τούτου, για ένα μικρό χρονικό παράθυρο που έπεται κάθε απόθησης των μορίων της διαλυμένης ουσίας αυτά παραμένουν σε απόσταση από την μεμβράνη. Λόγω των διαμοριακών δυνάμεων του διαλύματος, η απώθηση του πόρου προς τα μόρια της διαλυμένης ουσίας εξαπλώνεται στο σύνολο του διαλύματος και συνεπώς και στα μόρια του νερού (εικόνα 1). Με άλλα λόγια, παρόλο που ο πόρος απωθεί μόνο τα μόρια της διαλυμένης ουσίας, το τελικό αποτέλεσμα της δύναμης που ασκεί η μεμβράνη μεταφέρεται στα μόρια του νερού και έτσι, ένας πόρος ο οποίος επιτρέπει τη διέλευση των μορίων του νερού θα λειτουργεί απωθητικά προς τα ίδια τα μόρια του νερού εάν είναι παρούσα κάποια διαλυμένη ουσία. Όταν υπάρχουν διαφορετικές συγκεντρώσεις της διαλυμένης ουσίας ακόμα και στο άνοιγμα του πόρου, η δύναμη που δημιουργείται αναγκάζει το νερό να κινηθεί διαμέσου του πόρου προς την πλευρά της μεμβράνης με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση διαλυμένης ουσίας (Kramer and Myers, 2013).



Εικόνα 1. Ο μηχανισμός της μείωσης του δυναμικού νερού υπό την παρουσία μιας διαλυμένης ουσίας. Οι πόροι μιας ημιπερατής μεμβράνης (ένας από τους οποίους φαίνεται στο σχήμα) απωθούν τα μόρια της διαλυμένης ουσίας (δεξιά, με πράσινο χρώμα) όταν αυτά προσεγγίζουν την περιοχή απώθησης (κίτρινο ημικύκλιο). Παρόλο που η απωθητική δύναμη ασκείται μόνο στα μόρια της διαλυμένης ουσίας, αυτή μεταφέρεται και στα μόρια του νερού λόγω διαμοριακών δυνάμεων (κόκκινα βέλη). Το τελικό αποτέλεσμα είναι η απώθηση και των μορίων του νερού η οποία τα αποτρέπει από το να διασχίσουν τον πόρο (Kramer and Myers, 2013 με τροποποίηση).

A.4. Δυναμικό νερού

Το δυναμικό του νερού (Ψ_w) αποτελεί το μέτρο της ελεύθερης ενέργειας του νερού ανά μονάδα όγκου ή της ικανότητας του νερού να παράγει έργο. Εκφράζεται σε μονάδες ενέργειας ανά όγκο ($J m^{-3}$) οι οποίες είναι ισοδύναμες με μονάδες πίεσης. Συνήθως ως μονάδα πίεσης χρησιμοποιείται το MPa. Το δυναμικό νερού είναι σχετικό μέγεθος γιατί εκφράζει πάντοτε την διαφορά του δυναμικού του νερού σε δεδομένη κατάσταση σε σχέση με τη κατάσταση αναφοράς. Ως κατάσταση αναφοράς ορίζεται η τιμή του δυναμικού του καθαρού νερού σε κανονικές συνθήκες και σε ατμοσφαιρική πίεση. Το δυναμικό του νερού στην κατάσταση αναφοράς έχει την τιμή μηδέν. Η κίνηση του νερού γίνεται αυθόρμητα από περιοχές υψηλού δυναμικού σε περιοχές χαμηλού δυναμικού νερού.

Το δυναμικό νερού των διαλυμάτων επηρεάζεται από τους παρακάτω παράγοντες όπως φαίνεται στην ακόλουθη εξίσωση:

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g \quad \text{Εξίσωση 3}$$

Ο όρος Ψ_s ονομάζεται οσμωτικό δυναμικό και εκφράζει την επίδραση των διαλυμένων ουσιών στο

δυναμικό νερού. Όταν σε καθαρό νερό διαλυθεί μία ουσία, ένα μέρος του όγκου του διαλύματος καταλαμβάνεται από την διαλυμένη ουσία. Αυτό έχει ως συνέπεια να μειώνεται η συγκέντρωση του νερού και άρα λιγότερα μόρια νερού ανά μονάδα όγκου να είναι σε θέση να παράγουν έργο. Επειδή η διάλυση ουσιών σε καθαρό νερό μειώνει το δυναμικό αναφοράς του νερού, το ψ_s λαμβάνει αρνητικές τιμές. Το οσμωτικό δυναμικό είναι ανεξάρτητο από τη φύση των διαλυμένων ουσιών, εξαρτάται όμως από την συγκέντρωσή τους.

Ο όρος ψ_p ονομάζεται δυναμικό πίεσης και αφορά στην υδροστατική πίεση που ασκείται στο διάλυμα. Η άσκηση θετικής πίεσης αυξάνει το δυναμικό νερού του κυττάρου, ενώ η αρνητική πίεση (τάση) το μειώνει. Σε συνθήκες επάρκειας νερού στο εσωτερικό των φυτικών κυττάρων αναπτύσσεται θετική υδροστατική πίεση λόγω ύπαρξης των σχεδόν ανελαστικών κυτταρικών τοιχωμάτων. Ωστόσο η πίεση στα αγγεία του ξύλου μπορεί να λάβει αρνητικές τιμές (τάση). Η αρνητική πίεση παίζει σημαντικό ρόλο στη μετακίνηση του νερού εντός του φυτικού σώματος σε μεγάλες αποστάσεις. Το νερό στην κατάσταση αναφοράς υπό την επίδραση της ατμοσφαιρικής πίεσης έχει εξ ορισμού δυναμικό πίεσης μηδέν.

Ο όρος ψ_g ονομάζεται δυναμικό βαρύτητας και αφορά στην επίδραση της βαρύτητας στο δυναμικό του νερού. Εξαρτάται από το ύψος της υδάτινης μάζας σε σχέση με μια θέση αναφοράς, την πυκνότητα του νερού και την επιτάχυνση της βαρύτητας. Επειδή στην κίνηση του νερού μεταξύ γειτονικών κυττάρων ή μεταξύ μικρών αποστάσεων εντός του φυτού (μικρότερων των 5 m) η υψομετρική διαφορά έχει ασήμαντη συνεισφορά στο δυναμικό νερού ενός διαλύματος, ο όρος ψ_g απαλείφεται από την εξίσωση

του δυναμικού νερού και έτσι η εξίσωση 3 απλοποιείται προς την εξίσωση 4 (Taiz and Zeiger, 2012).

$$\psi_w = \psi_s + \psi_p \quad \text{Εξίσωση 4}$$

A.4.1. Το δυναμικό νερού των φυτικών κυττάρων

Όπως προαναφέρθηκε το δυναμικό του καθαρού νερού σε ατμοσφαιρική πίεση θεωρείται μηδέν. Το δυναμικό νερού των φυτικών κυττάρων είναι σχετικό μέγεθος και ισούται με τη διαφορά δυναμικού του νερού που περιέχει το κύτταρο σε σχέση με το δυναμικό του καθαρού νερού. Ως εκ τούτου το δυναμικό των φυτικών κυττάρων παίρνει τιμές μικρότερες ή ίσες με 0 MPa.

Ορισμένα χαρακτηριστικά του φυτικού κυττάρου το καθιστούν ένα ιδανικό οσμωτικό σύστημα. Πιο αναλυτικά, το φυτικό κύτταρο περιβάλλεται από το σχεδόν ανελαστικό κυτταρικό τοίχωμα, στο εσωτερικό του οποίου εφάπτεται η κυτταροπλασματική μεμβράνη. Η κυτταροπλασματική μεμβράνη περικλείει το κυτταρόπλασμα μέσα στο οποίο εντοπίζονται τα κυτταρικά οργανίδια τα οποία επίσης περιβάλλονται από μεμβράνες. Όλες οι κυτταρικές μεμβράνες είναι ημιπερατές, δηλαδή επιτρέπουν τη διέλευση των μορίων του νερού με μεγαλύτερη ταχύτητα συγκριτικά με αυτή της διέλευσης όλων των άλλων μορίων. Επειδή στο εσωτερικό του κυττάρου υπάρχουν διαλυμένες ουσίες, αναπτύσσεται ορισμένο οσμωτικό δυναμικό. Επίσης, το κυτταρικό τοίχωμα αντιστέκεται στην αύξηση του όγκου του κυττάρου προκαλώντας θετική υδροστατική πίεση στο εσωτερικό του η οποία ονομάζεται πίεση σπαργής. Η συμβολή της πίεσης σπαργής στο δυναμικό νερού εκφράζεται μέσω του δυναμικού πίεσης (Μανέτας, 2003).

Η μετακίνηση του νερού προς και από το φυτικό κύτταρο σχετίζεται με την διαφορά του δυναμικού

νερού μεταξύ του εσωτερικού του κυττάρου και του εξωτερικού διαλύματος (ή μεταξύ του κυττάρου και γειτονικών κυττάρων ή άλλων δομών). Αν το δυναμικό νερού του κυττάρου είναι μικρότερο από το δυναμικό νερού του εξωτερικού περιβάλλοντος, μόρια νερού εισέρχονται στο εσωτερικό του αυξάνοντας το οσμωτικό δυναμικό και, την πίεση σπαργής, μέχρι να εξισωθούν τα δυναμικά νερού του κυττάρου και του εξωτερικού περιβάλλοντος. Αντίθετα όταν το δυναμικό νερού του κυττάρου είναι μεγαλύτερο από το δυναμικό νερού του περιβάλλοντος, το νερό εξέρχεται από το κύτταρο. Στην περίπτωση αυτή, μειώνεται τόσο το οσμωτικό δυναμικό όσο και το δυναμικό πίεσης του κυττάρου λόγω αφυδάτωσης. Όταν το τελευταίο μηδενιστεί, παρατηρείται η αποκόλληση του πρωτοπλάστη από το κυτταρικό τοίχωμα (αρχόμενη πλασμόλυση) (Μανέτας, 2003).

A.4.2. Υδατική κατάσταση του φυτού

Το δυναμικό νερού ως έννοια κατέχει πολύ σημαντική θέση στην Φυσιολογία Φυτών γιατί αφενός προσδιορίζει την φορά μετακίνησης του νερού μεταξύ γειτονικών κυττάρων ή ιστών και του περιβάλλοντος, αφετέρου γιατί αποτελεί ένα μέτρο εκτίμησης της υδατικής κατάστασης του φυτού.

Σε φυσιολογικές συνθήκες παροχής νερού το Ψ_w των κυττάρων επιτρέπει οι φυσιολογικές διεργασίες να πραγματοποιούνται απρόσκοπτα. Ωστόσο εάν η τιμή Ψ_w πέσει κάτω από ένα όριο (π.χ. συνθήκες ξηρασίας), ορισμένες από τις βασικές λειτουργίες των κυττάρων παρεμποδίζονται. Η πλέον ευάλωτη διεργασία των φυτών έναντι της πτώσης του δυναμικού νερού είναι η αύξηση του μεγέθους του κυττάρου, η οποία προϋποθέτει τη διατήρηση του δυναμικού πίεσης σε ανεκτά επίπεδα (κατωφλική πίεση σπαργής). Όταν η έλλειψη νερού παρατείνεται, τα στόματα κλείνουν

προκειμένου να αποτραπεί η περαιτέρω απώλεια νερού μέσω της διαπνοής. Επομένως προκαλείται αναπόφευκτη μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας. Επιπλέον, παρεμποδίζεται η απρόσκοπτη σύνθεση των πρωτεϊνών και άλλων απαραίτητων βιομορίων του φυτού γεγονός που σχετίζεται και με τη μείωση της πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων. Είναι προφανές ότι η τρέχουσα τιμή του δυναμικού νερού των φυτικών ιστών αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη πρόβλεψης της έντασης της υδατικής καταπόνησης (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

A.5. Η κίνηση του νερού διαμέσου του φυτικού σώματος

Η κίνηση του νερού διαμέσου του φυτικού σώματος οφείλεται στη διαφορά δυναμικού νερού μεταξύ του εδαφικού διαλύματος και της ατμόσφαιρας, το δυναμικό της οποίας συνήθως είναι εξαιρετικά χαμηλό (Tyree and Cochard, 2003). Η κίνηση του νερού περιλαμβάνει και τη μετάβαση του μορίου από την υγρή στην αέρια φάση, αφού το νερό εισέρχεται στο φυτικό σώμα από το έδαφος και μεταφέρεται μέσω των αγγείων του ξύλου στα φύλλα ως υγρό, αλλά εξατμίζεται από τα φύλλα προς την ατμόσφαιρα ως αέριο. Στην ροή του νερού προς την ατμόσφαιρα παρεμβάλλονται ορισμένες αντιστάσεις από το φυτικό σώμα όπως, για παράδειγμα, η αντίσταση της ρίζας ή των αγγείων ή η στοματική αντίσταση. Ορισμένες από τις αντιστάσεις του φυτού ρυθμίζονται από παράγοντες του περιβάλλοντος ενώ άλλες παραμένουν σταθερές και σχετίζονται με χαρακτηριστικά προσαρμογής ή εγκλιματισμού του κάθε φυτικού είδους.

A.5.1. Το νερό στο έδαφος

Το υδατικό περιεχόμενο του εδάφους καθώς και η κίνηση του νερού προς το φυτό, είναι σε άμεση σχέση με το τύπο του εδάφους και τις διαστάσεις των

συστατικών του. Τα εδάφη απαρτίζονται από τρία είδη εδαφικών συστατικών σε σχετικές αναλογίες μεταξύ τους: την άμμο (διάμετρος σωματιδίων μικρότερη των 2000 μm), τον πηλό (με διάμετρο μεταξύ 2 και 20 μm) και την άργιλο (με διάμετρο σωματιδίων μικρότερη των 2 μm). Η σύσταση του εδάφους επηρεάζει το μέγεθος των πόρων του εδάφους. Συνεπώς τα αμμώδη εδάφη διαθέτουν πόρους μεγάλης διαμέτρου μέσω των οποίων το νερό αποστραγγίζεται ταχέως διότι οι δυνάμεις της βαρύτητας υπερτερούν έναντι αυτών με τις οποίες συγκρατείται στην εδαφική μάζα. Στο άλλο άκρο ταξινομούνται τα αργιλώδη εδάφη τα οποία διαθέτουν πόρους πολύ μικρής διαμέτρου και συγκρατούν το νερό λόγω τριχοειδών φαινομένων με αποτέλεσμα την αύξηση της υδατοχωρητικότητας του εδάφους (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

Μετά την ενυδάτωση του εδάφους μέσω βροχόπτωσης ή άρδευσης, και αφού έχει ολοκληρωθεί η αποστράγγιση, αποκαθίσταται η ισορροπία μεταξύ της δύναμης της βαρύτητας που έλκει νερό προς τα βαθύτερα στρώματα του εδάφους και των δυνάμεων συνάφειας και συνοχής που συγκρατούν το νερό στους εδαφικούς πόρους. Στην κατάσταση αυτή το έδαφος περιέχει το μέγιστο ποσό νερού που μπορεί να συγκρατήσει (κατάσταση εδαφοϊκανότητας του εδάφους). Περαιτέρω αφυδάτωση του εδάφους λόγω εξάτμισης και ανοδικής κίνησης του νερού ή απορρόφησης νερού από τις ρίζες αυξάνει τις τριχοειδείς δυνάμεις και μειώνει το δυναμικό νερού του εδάφους. (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012)

Η κίνηση του νερού προς το φυτό γίνεται μέσω μαζικής ροής. Η ρίζα, καθώς απορροφά νερό από το έδαφος προκαλεί πτώση του δυναμικού νερού στο άμεσο εδαφικό περιβάλλον της ριζόσφαιρας. Κατά συνέπεια το νερό ρέει από περιοχές υψηλότερου δυναμικού νερού προς τη ρίζα λόγω διαφοράς

δυναμικού. Ταυτόχρονα, το νερό που μεταφέρεται προς την ρίζα συμπαρασύρει διαλυμένα θρεπτικά στοιχεία με τα οποία εμπλουτίζεται η ριζόσφαιρα. Σε περιόδους έλλειψης νερού, διαταράσσεται η συνέχεια του εδαφικού νερού γιατί ο αέρας αντικαθιστά το νερό στα διάκενα του εδάφους (γεγονός το οποίο προκαλεί μείωση της υδραυλικής αγωγιμότητας του εδάφους) και επιπλέον μειώνεται περαιτέρω το δυναμικό νερού του εδάφους. Στις συνθήκες αυτές παρατηρείται όχι μόνο δυσχέρεια στην μετακίνηση του νερού αλλά και των θρεπτικών στοιχείων προς τις ρίζες (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

A.5.2. Η απορρόφηση του νερού από την ρίζα

Απαραίτητη προϋπόθεση για την απορρόφηση του νερού από την ρίζα, είναι η επαφή της με τα τεμαχίδια του εδάφους. Προκειμένου τα φυτά να αυξήσουν την επιφάνεια πρόσληψης του νερού, αυξάνουν τον αριθμό των ριζικών τριχιδίων και τον όγκο του ριζικού συστήματος. Από τη στιγμή που θα απορροφηθεί το νερό από τα ριζικά τριχίδια, η μετακίνησή του διαμέσου των ιστών και των κυττάρων πραγματοποιείται μέσω τριών εναλλακτικών οδών:

α) αποπλασματικά. Το νερό μεταφέρεται προς στο εσωτερικό της ρίζας μέσω των κυτταρικών τοιχωμάτων, των μεσοκυττάρων χώρων και του χώρου που προκύπτει από ξυλοποιημένα νεκρά κύτταρα (αγγεία ξύλου και σκληροεγχυματικές ίνες). Στην αποπλασματική κίνηση του νερού δεν εμπλέκονται μεμβράνες.

β) συμπλασματικά. Η συμπλασματική κίνηση του νερού πραγματοποιείται στον συμπλασματικό χώρο, ο οποίος ορίζεται ως η συνέχεια του κυτταροπλάσματος γειτονικών κυττάρων διαμέσου των πλασμοδεσμών.

γ) διαμεμβρανικά. Αποτελεί μια παραλλαγή της συμπλασματικής οδού. Το νερό διασχίζει κάθε κύτταρο διαμέσου τόσο της κυτταρικής μεμβράνης όσο και του τονοπλάστη. Συνεπώς, στην διαμεμβρανική κίνηση συμμετέχει και το χυμοτόπιο. Η διέλευση των μορίων του νερού από τις μεμβράνες υποβοηθείται από την παρουσία πρωτεϊνικών καναλιών μέσω των οποίων διέρχονται τα μόρια του νερού. Οι πρωτεΐνες αυτές ονομάζονται υδατοπορίνες και η καταστολή της έκφρασης των γονιδίων τους οδηγεί σε μείωση της υδραυλικής αγωγιμότητας των ριζών (Siefritz *et al.*, 2002).

Το νερό μετά την είσοδο του στα κύτταρα των ριζικών τριχιδίων κινείται προς τον κεντρικό κύλινδρο μέσω και των τριών εναλλακτικών οδών, με επικρατούσα την αποπλασματική οδό. Όταν το νερό φθάσει στην ενδοδερμίδα αναγκάζεται να ακολουθήσει την συμπλασματική οδό γιατί η αποπλασματική κίνηση παρεμποδίζεται από τις εναποθέσεις της υδρόφοβης ένωσης φελλίνης στα επικλινή κυτταρικά τοιχώματα της ενδοδερμίδας (η συνέχεια των φελλοποιημένων κυτταρικών τοιχωμάτων των κυττάρων της ενδοδερμίδας ονομάζεται κασπαρική λωρίδα).

A.5.3. Η μετακίνηση του νερού στα αγγεία

Το μεγαλύτερο μέρος του νερού διακινείται μέσω των αγγείων του ξύλου δεδομένου ότι παρουσιάζουν τις λιγότερες δυνατές αντιστάσεις. Τα στοιχεία του ξυλώματος είναι δύο τύπων: α) οι τραχειίδες τις οποίες διαθέτουν τα αγγειόσπερμα, τα γυμνόσπερμα και τα περιδόφυτα, β) τα ξυλώδη αγγεία τα οποία απαντώνται στα αγγειόσπερμα και σε ορισμένα είδη γυμνοσπέρμων και περιδοφύτων. Όταν έχει ολοκληρωθεί η δευτερογενής ανάπτυξη του ξυλώματος με την εναπόθεση λιγνίνης στα κυτταρικά τοιχώματα, τα αγγεία του ξύλου είναι πλέον νεκρά έχοντας

απωλέσει τον πρωτοπλάστη τους. Με τον τρόπο αυτό δημιουργούνται κενοί σωλήνες με παχιά και μηχανικώς ανθεκτικά τοιχώματα μέσω των οποίων διακινείται το νερό ως μία ενιαία στήλη. Οι πλευρικές επιφάνειες τόσο των αγγείων όσο και των τραχειίδων φέρουν βοθρία, τα οποία επιτρέπουν την μετακίνηση του νερού μεταξύ των γειτονικών κυττάρων προβάλλοντας σχετική αντίσταση. Τα εγκάρσια τοιχώματα των αγγείων του ξύλου διαθέτουν μια διάτρητη περιοχή η οποία ονομάζεται διάτρητη πλάκα μέσω της οποίας εύκολα διέρχεται το νερό. Αντίθετα οι τραχειίδες είναι οξύληκτα κύτταρα τα οποία δεν φέρουν διάτρητη πλάκα. Τα αγγεία του ξυλώματος διατάσσονται σε δέσμες, δημιουργώντας ένα αγωγό σύστημα μεταφοράς του νερού προς τα φύλλα.

Ο βασικός μηχανισμός της μετακίνησης του νερού στα αγγεία του ξύλου είναι η μαζική ροή. Όπως έχει προαναφερθεί, παρόλο που τα τριχοειδή φαινόμενα ή η ριζική πίεση που μπορεί να αναπτυχθεί στη βάση της ρίζας συνεισφέρουν στην ανοδική κίνηση του νερού, δεν επαρκούν για την μετακίνηση του σε μεγάλες αποστάσεις, ούτε και για την αναπλήρωσή του σε περιόδους έντονης διαπνοής και διαπνευστικών απωλειών. Στις περιπτώσεις αυτές η κινούσα δύναμη για την άνοδο του ανιόντος χυμού είναι η διαφορά της πίεσης μεταξύ της βάσης και της κορυφής των αγγείων. Προκειμένου να εξηγηθεί ο μηχανισμός της ανόδου του νερού προς τα φύλλα, διατυπώθηκε τον 19^ο αιώνα η *θεωρία της συνοχής-τάσης* η οποία, παρά τους όποιους προβληματισμούς που έχουν κατά καιρούς διατυπωθεί, αποτελεί την επικρατούσα άποψη. Το νερό στα αγγεία βρίσκεται υπό αρνητική πίεση η οποία σχετίζεται με τη ταχύτητα διαπνοής. Το δυναμικό νερού των κυτταρικών τοιχωμάτων μειώνεται και ως εκ τούτου μετακινείται νερό από τα γειτονικά αγγεία του ξύλου προς τα κύτταρα του μεσοφύλλου. Η μετακίνηση αυτή έχει με τη σειρά της ως συνέπεια τη

δημιουργία αρνητικής πίεσης (τάσης) στα αγγεία του ξύλου στις απολήξεις του ρεύματος ανόδου του ανιόντος χυμού. Όσο εντονότερη είναι η διαπνοή τόσο αρνητικότερη πίεση αναπτύσσεται στην κορυφή των αγγείων του ξύλου (Μανέτας, 2003).

A.5.4. Ριζική πίεση

Σε ορισμένες περιπτώσεις, η ταχύτητα διαπνοής είναι εξαιρετικά χαμηλή, όπως κατά τη διάρκεια της νύχτας όταν τα στόματα παραμένουν κλειστά ή υπό συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας της ατμόσφαιρας. Λόγω χαμηλής διαπνοής, δεν είναι δυνατόν να αναπτυχθεί αρνητική πίεση στα αγγεία του ξύλου στα σημεία απόληξης του διαπνευστικού ρεύματος η οποία θα προκαλούσε μετακίνηση του ανιόντος χυμού. Στις συνθήκες αυτές είναι δυνατόν να παρατηρηθεί το φαινόμενο της ριζικής πίεσης το οποίο αφορά στη μετακίνηση του ανιόντος χυμού όχι λόγω αρνητικής αλλά λόγω θετικής πίεσης η οποία αναπτύσσεται στη ρίζα και ωθεί το περιεχόμενο των αγγείων προς τα φύλλα. Η πίεση αυτή όπως μετράται στην κορυφή του ριζικού συστήματος μετά από καρατόμηση του υπέργειου μέρους μπορεί να κυμανθεί μεταξύ 0,05 και 0,5 MPa. Η ριζική πίεση αναπτύσσεται μέσω ενός μηχανισμού ανάλογου με αυτόν που λαμβάνει χώρα στον ηθμό. Η ρίζα αντλεί ιόντα από το εδαφικό διάλυμα τα οποία μέσω των κυττάρων του ξυλώδους παρεγχύματος καταλήγουν στον ανιόντα χυμό με αποτέλεσμα τη μείωση του οσμωτικού δυναμικού των αγγείων (και κατ' επέκταση και του δυναμικού του νερού τους). Απαραίτητη προϋπόθεση για να λειτουργήσει ο μηχανισμός αυτός είναι η ύπαρξη επαρκών ενεργειακών αποθεμάτων στη ρίζα.

Σύμφωνα με την επικρατέστερη θεωρία, αυτή του 'οσμωτικού μοντέλου' (Wegner, 2014), η είσοδος του νερού στα αγγεία και η συνακόλουθη ανάπτυξη θετικής υδροστατικής πίεσης σε αυτά, προκαλείται λόγω

διαφοράς δυναμικού νερού μεταξύ των αγγείων και του εξωτερικού εδαφικού διαλύματος. Στην περίπτωση αυτή, όλη η ρίζα λειτουργεί ως ένα τεράστιο οσμωτικό σύστημα ή εναλλακτικά ο συμπλάστης της ρίζας θεωρείται ως ένα ενδιάμεσο οσμωτικό διαμέρισμα. Σύμφωνα με το 'οσμωτικό μοντέλο', απαραίτητη προϋπόθεση για την είσοδο του νερού στα αγγεία του ξύλου είναι η ύπαρξη υψηλού δυναμικού νερού στο έδαφος ώστε η διαφορά δυναμικών νερού μεταξύ αγγείων και εδάφους να είναι πάντα αρνητική και άρα ευνοϊκή για την παθητική κίνηση του νερού προς τον αποπλάστη των αγγείων του ξύλου (Wegner, 2014). Αφού λόγω ριζικής πίεσης αναπτύσσεται υψηλή υδροστατική πίεση στη βάση του αγγειακού συστήματος, και με δεδομένη τη χαμηλότερη πίεση σε υψηλότερα σημεία του φυτού, προκαλείται μαζική ροή του νερού προς το υπέργειο τμήμα του φυτού. Λόγω ακριβώς της απουσίας διαπνοής, το περιεχόμενο των αγγείων φθάνει στα φύλλα και εξέρχεται από ειδικούς πόρους στα επάρματα του ελάσματος που ονομάζονται υδατώδη, ένα φαινόμενο το οποίο είναι γνωστό ως σταγονόρροια (Taiz and Zeiger, 2012).

A.5.5. Η κίνηση του νερού από το φύλλο στην ατμόσφαιρα

Το νερό που μεταφέρεται από τα αγγεία του ξύλου προς τα κυτταρικά τοιχώματα των κυττάρων του μεσοφύλλου εξατμίζεται τελικώς προς τους μεσοκυττάρους χώρους του φύλλου. Στην συνέχεια εξέρχεται από τους στοματικούς πόρους με την μορφή υδρατμών προς την ατμόσφαιρα. Η κινούσα δύναμη για την έξοδο των υδρατμών είναι η μεγάλη διαφορά δυναμικού του νερού μεταξύ της εσωτερικής ατμόσφαιρας του φύλλου (που περιλαμβάνει του μεσοκυττάρους χώρους και του υποστοματικούς θαλάμους) και της εξωτερικής ατμόσφαιρας. Ας σημειωθεί ότι η εσωτερική ατμόσφαιρα του φύλλου

θεωρείται κορεσμένη σε υδρατμούς σε όλες τις συνθήκες ενώ η εξωτερική ατμόσφαιρα σπανίως φθάνει σε τόσο υψηλά επίπεδα κορεσμού. Επομένως, η διαπνοή είναι ανάλογη της διαφοράς των μερικών πιέσεων των υδρατμών της εσωτερικής ατμόσφαιρας του φύλλου και της εξωτερικής ατμόσφαιρας, και αντιστρόφως ανάλογη των αντιστάσεων που παρεμβάλλονται.

Οι αντιστάσεις που εμφανίζουν τα φύλλα στη διάχυση των υδρατμών αποτελούν το 30% περίπου της συνολικής αντίστασης που συναντά το νερό κατά την κίνηση του από το έδαφος στην ατμόσφαιρα διαμέσου του φυτού. Σε ορισμένα φυτικά είδη το ποσοστό αυτό μπορεί να πάρει υψηλότερες τιμές (Sack and Holbrook, 2006). Η αντίσταση των φύλλων απαρτίζεται από τις εξής συνιστώσες:

α) Αντίσταση μεσοφύλλου. Το νερό που εισέρχεται στο έλασμα του φύλλου μέσω των αγγείων του ξυλώματος πρέπει να εξέλθει από τα τοιχώματα του ξύλου και να διαπεράσει πολλές στοιβάδες κυττάρων μεσοφύλλου έως ότου εξατμιστεί. Ο αριθμός, η κατανομή και το μέγεθος των αγωγών στοιχείων καθώς και οι υδραυλικές ιδιότητες των κυττάρων του μεσοφύλλου καθορίζει την υδραυλική αυτή αντίσταση (Taiz and Zeiger, 2012). Η παράμετρος αυτή μπορεί να διαφέρει έως και 40 φορές μεταξύ διαφορετικών φυτικών ειδών και εξαρτάται και από τη διάταξη των αγγείων τους (Brodribb *et al.*, 2007).

β) Αντίσταση των στομάτων. Επειδή τα φύλλα καλύπτονται από την εφυμενίδα που είναι σχεδόν αδιαπέραστη από το νερό, η μοναδική πύλη εξόδου του νερού από τα φύλλα είναι τα στόματα. Οι στοματικοί πόροι εμφανίζουν μεταβαλλόμενη αντίσταση στην διάχυση των υδρατμών ανάλογα με την υδατική κατάσταση του φυτού. Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης ή σε άλλες περιπτώσεις, προκειμένου να

αποτραπεί η απώλεια νερού (για παράδειγμα το μεσημέρι κατά την μεσημβρινή καταστολή της φωτοσύνθεσης), τα στόματα κλείνουν με αποτέλεσμα την μεγιστοποίηση της στοματικής αντίστασης. Σε περιπτώσεις όπου απαιτείται οικονομία νερού, μπορεί να παρατηρηθεί εξορθολογισμός της ανταλλαγής αερίων και εξορρόπηση των αναγκών του φυτού για CO₂ (που είναι απαραίτητο για την φωτοσύνθεση) με τις απώλειες νερού προς την ατμόσφαιρα για την διατήρηση του διαπνευστικού ρεύματος. Στις περιπτώσεις αυτές, μειώνεται η φωτοσυνθετική ταχύτητα αλλά παρατηρείται αύξηση της αποδοτικότητας χρήσης νερού (βλ. παρακάτω) καθώς η φωτοσύνθεση μειώνεται δυσανάλογα σε σχέση με τη διαπνοή.

γ) Αντίσταση οριακού στρώματος. Είναι η αντίσταση του στρώματος του ακίνητου αέρα, κορεσμένου σε υδρατμούς, που εφάπτεται στην επιφάνεια των φύλλων. Η διάχυση των υδρατμών από τον υποστοματικό θάλαμο μέχρι το στροβιλώδες περιβάλλον της ατμόσφαιρας περιλαμβάνει την διέλευσή τους μέσω του οριακού στρώματος. Όσο μεγαλύτερο είναι το πάχος του οριακού στρώματος, τόσο μεγαλύτερη είναι η αντίσταση του στη διάχυση των υδρατμών.

δ) Αντίσταση της εφυμενίδας. Η αντίσταση της εφυμενίδας είναι πολύ μεγάλη και λειτουργεί παράλληλα με τη στοματική αντίσταση. Η σχετική της επίδραση στις απώλειες νερού από το φύλλο είναι προφανώς σημαντική όταν τα στόματα είναι τελείως κλειστά.

A.6. Αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE)

Η απορρόφηση του CO₂ από το φυτό είναι αναπόφευκτα συνδεδεμένη με την απώλεια των

υδρατμών από τα ανοικτά στόματα, συνεπώς η φωτοσυνθετική αφομοίωση κάθε μορίου CO₂ να συνοδεύεται και από την απώλεια αρκετών δεκάδων έως εκατοντάδων μορίων νερού. Η αποδοτικότητα χρήσης νερού (water use efficiency, *WUE*) προκύπτει από την αναλογία του CO₂ που αφομοιώνεται μέσω της φωτοσύνθεσης προς το νερό που χάνεται μέσω της διαπνοής.

Η τιμή της *WUE* εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά προσαρμογής ή εγκλιματισμού κάθε φυτικού είδους και τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Για παράδειγμα, φυτά που διαβιούν σε ξηροθερμικά περιβάλλοντα διαθέτουν προσαρμοστικά χαρακτηριστικά που συμβάλλουν στην οικονομία νερού ενώ επιτρέπουν τη διεξαγωγή της φωτοσυνθετικής λειτουργίας σε ικανοποιητικές ταχύτητες, με αποτέλεσμα να καταγράφουν υψηλές τιμές *WUE*. Επίσης, ακόμα και βραχυπρόθεσμος εγκλιματισμός σε συνθήκες έλλειψης νερού (για παράδειγμα, μερικό κλείσιμο των στομάτων) οδηγεί σε αύξηση των τιμών της *WUE*.

Η παράμετρος αυτή μπορεί να εκφραστεί με δύο διαφορετικούς τρόπους. Σύμφωνα με τον πρώτο, υπολογίζεται η στιγμιαία αποδοτικότητα χρήσης νερού (instantaneous) *WUE* ως το πηλίκο της φωτοσυνθετικής ταχύτητας προς την ταχύτητα διαπνοής ενώ σύμφωνα με τον δεύτερο, υπολογίζεται η ενδογενής αποδοτικότητα χρήσης νερού (intrinsic *WUE*, *WUE_i*) ως το πηλίκο της φωτοσυνθετικής ταχύτητας προς την στοματική αγωγιμότητα (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

A.7. Υδατική καταπόνηση

Σε συνθήκες ξηρασίας, τα φυτά αδυνατούν να προσλάβουν νερό με ρυθμό που να εναρμονίζεται με τον ρυθμό διαπνευστικών απωλειών και ενεργοποιούν μηχανισμούς διαφύλαξης των υδατικών αποθεμάτων

τους με σκοπό την αποφυγής της αφυδάτωσης. Η έντονη ξηρασία προκαλεί υδατική καταπόνηση στα φυτά, δηλαδή μερική αφυδάτωση των κυττάρων η οποία έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση βασικών φυσιολογικών λειτουργιών (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

A.7.1. Οι επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης

Ήπια αφυδάτωση έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της κυτταρικής διαίρεσης και επιμήκυνσης ενώ ταυτόχρονα ενεργοποιούνται μηχανισμοί εγκλιματισμού των οποίων η αποτελεσματικότητα ποικίλει ανάλογα με το εύρος εγκλιματισμού κάθε φυτικού είδους. Οι δυσμενείς επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης σε κυτταρικό επίπεδο σχετίζονται με φυσιολογικές βλάβες οι οποίες οφείλονται στην αφυδάτωση του κυτταροπλάσματος. Επειδή η καλή υδατική κατάσταση του κυττάρου αποτελεί προϋπόθεση για τη λειτουργία του μεταβολισμού και την δομική και λειτουργική ακεραιότητα των κυτταρικών μεμβρανών, η αφυδάτωση του πρωτοπλάστη προκαλεί αντίστοιχα σοβαρές βλάβες στην διαμερισματοποίηση του κυττάρου και στην αποτελεσματικότητα και εκλεκτικότητα των μηχανισμών πρόσληψης οι οποίοι εντοπίζονται στις κυτταρικές μεμβράνες. Η απώλεια της μεμβρανικής λειτουργίας και της διαμερισματοποίησης επιφέρει με τη σειρά της γενικότερη μεταβολική δυσλειτουργία (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

Το κλείσιμο των στομάτων επηρεάζει αρνητικά τη φωτοσυνθετική αφομοίωση του CO₂. Η αδυναμία της εκμετάλλευσης της ενέργειας της φωτεινής ακτινοβολίας για την παραγωγή μεταβολικού έργου αυξάνει την πιθανότητα της φωτοπαρεμπόδισης, δηλαδή της μείωσης της φωτοσυνθετικής ικανότητας ή της απόδοσης της φωτοσυνθετικής συσκευής ανά

φωτόνιο. Η κατάσταση αυτή οδηγεί στη δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου η απόσβεση των οποίων εξαρτάται από το ρυθμό παραγωγής τους σε συνάρτηση με την αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Σε περίπτωση αδυναμίας απόσβεσης του οξειδωτικού φόρτου, οι χλωροπλάστες και ακολούθως τα κύτταρα υφίστανται οξειδωτική καταπόνηση με κατάληξη τον κυτταρικό θάνατο. Η έντονη υδατική καταπόνηση προκαλεί επίσης κατάρρευση της λειτουργικής ακεραιότητας της φωτοσυνθετικής συσκευής. Στις συνθήκες αυτές εμφανίζονται δυσλειτουργίες στην οξειδωτική φωτοφωσφορλίωση και τη φωτοσυνθετική ροή ηλεκτρονίων (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

A.7.2. Στρατηγικές αντιμετώπισης της υδατικής καταπόνησης

Στρατηγική ονομάζουμε την ακολουθία των μηχανισμών οι οποίοι δίνουν τη δυνατότητα σε ένα φυτό να επιβιώνει σε ένα περιβάλλον έναντι ενός δεδομένου παράγοντα καταπόνησης. Τα φυτά διαθέτουν ένα σύνολο μηχανισμών για την αντιμετώπιση της υδατικής καταπόνησης οι οποίοι εντάσσονται στις στρατηγικές της διαφυγής, της αποφυγής και της ανθεκτικότητας. Η στρατηγική της διαφυγής ακολουθείται από ετήσια είδη φυτών τα οποία διαθέτουν μικρή ικανότητα εγκλιματισμού και αναποτελεσματικά χαρακτηριστικά προσαρμογής έναντι της υδατικής καταπόνησης. Για το λόγο αυτό ολοκληρώνουν το βιολογικό τους κύκλο ή την ετήσια βλαστητική τους φάση εντός της ευνοϊκής περιόδου «διαφεύγοντας» τη δυσμενή περίοδο κατά την οποία η ξηρασία εμφανίζεται με τη μεγαλύτερη ένταση. Τα φυτά που ακολουθούν τη στρατηγική της αποφυγής διαθέτουν μέτρια έως μεγάλη ικανότητα εγκλιματισμού και σχετικά αποτελεσματικά ή πολύ αποτελεσματικά χαρακτηριστικά προσαρμογής έναντι της υδατικής

καταπόνησης οφειλόμενη σε μηχανισμούς εξεύρεσης ή/και διαφύλαξης υδατικών αποθεμάτων με σκοπό την αποτροπή της αφυδάτωσης. Ορισμένα φυτά ακολουθούν την τρίτη στρατηγική, αυτή της ανθεκτικότητας. Τη στρατηγική αυτή ακολουθούν φυτά με υψηλή ικανότητα εγκλιματισμού στην υδατική καταπόνηση και ιδιαίτερα χαρακτηριστικά προσαρμογής τα οποία τους επιτρέπουν να διατηρούν στοιχειώδη μεταβολική δραστηριότητα ακόμα και σε συνθήκες μερικής αφυδάτωσης των κυττάρων τους (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

Θα πρέπει εδώ να τονιστεί ότι στα γεωργικά οικοσυστήματα ακολουθούνται κατά κόρον γεωργικές πρακτικές οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την τροποποίηση των συνθηκών του περιβάλλοντος, ιδιαίτερα όσον αφορά στην παροχή νερού. Συνεπώς φυτά τα οποία υπό φυσικές συνθήκες σε ένα δεδομένο περιβάλλον θα ακολουθούσαν τη στρατηγική της αποφυγής, με την εφαρμογή συγκεκριμένων καλλιεργητικών μέτρων (άρδευση), μπορούν να καλλιεργηθούν αποδοτικά.

A.7.3. Χαρακτηριστικά εγκλιματισμού και προσαρμογής στην υδατική καταπόνηση

Τα χαρακτηριστικά εγκλιματισμού και προσαρμογής δεν διαφέρουν ως προς τα βαθμό συμβολής τους στην αντιμετώπιση της υδατικής καταπόνησης. Η μόνο διαφορά έγκειται στο εάν τα χαρακτηριστικά προϋπάρχουν της καταπόνησης ή εάν η ίδια η καταπόνηση επάγει την εμφάνιση των χαρακτηριστικών αυτών. Στην πρώτη περίπτωση αναφερόμαστε σε χαρακτηριστικά προσαρμογής ενώ στη δεύτερη περίπτωση σε χαρακτηριστικά εγκλιματισμού. Ο εγκλιματισμός διακρίνεται σε βραχυπρόθεσμο και μακροπρόθεσμο εγκλιματισμό,

ανάλογα με τη χρονική κλίμακα εντός της οποίας ολοκληρώνεται. Τα δύο είδη εγκλιματισμού διαφέρουν ανάλογα με το εάν οι αλλαγές είναι αναστρέψιμες ή όχι (γεγονός το οποίο με τη σειρά του καθορίζει το εάν οι αλλαγές αυτές μπορούν να λάβουν χώρα σε όψιμα στάδια ανάπτυξης των φυτών) και ανάλογα με το εύρος των αλλαγών από τις οποίες συνίσταται ο εγκλιματισμός (Καραμπουρνιώτης *κ.ά.*, 2012).

Η εμφάνιση της υδατικής καταπόνησης προκαλεί βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες αλλαγές στα ανατομικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φυτών τα οποία συμβάλλουν στην περαιτέρω αποτροπή της αφυδάτωσης. Μια από τις πρώιμες τροποποιήσεις των χαρακτηριστικών των φυτών αλλά και ένα σύνολο από μακροπρόθεσμες τροποποιήσεις εγκλιματισμού συνίσταται στην αύξηση των αντιστάσεων στην ροή του νερού. Οι αλλαγές στα υδραυλικά χαρακτηριστικά του φυτικού σώματος ποικίλουν από μικρής έντασης, βραχυπρόθεσμες και αναστρέψιμες αλλαγές (όπως το κλείσιμο των στομάτων, (Christmann *et al.*, 2007)) έως μεγάλης έκτασης, μόνιμες τροποποιήσεις της υδραυλικής αγωγιμότητας της ρίζας με την εναπόθεση φελλίνης στην υποδερμίδα. Μακροπρόθεσμες αλλαγές υφίσταται επίσης και το αγγειακό σύστημα των φυτών με κυριότερη τη μείωση της διαμέτρου των αγγείων καθώς τα στενόπορα αγγεία είναι λιγότερο επιρρεπή στη δημιουργία εμβολών (βλ. παρακάτω).

Ορισμένα ανατομικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων σχετίζονται επίσης με την αποφυγή της αφυδάτωσης, τους π.χ. η ισχυροποίηση της εφυμενίδας. Ορισμένα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων επηρεάζουν το πάχος του οριακού στρώματος το οποίο με τη σειρά του καθορίζει την αντίσταση διάχυσης των υδρατμών και συνεπώς τη διαπνευστική ταχύτητα. Τα κυριότερα από αυτά είναι το μέγεθος του φύλλου, η γεωμετρία του ελάσματος

(π.χ. κυλινδρισμός ή ύπαρξη στομάτων σε κρύπτες) και η ύπαρξη στρώματος τριχών. Επιπλέον, το πάχος του οριακού στρώματος εξαρτάται από την ταχύτητα του ανέμου. Χαρακτηριστικά όπως ο κυλινδρισμός των φύλλων και η ύπαρξη τριχών συνεισφέρουν στη βελτίωση του θερμικού ισοζυγίου και την αποφυγή της υπερθέρμανσης του φύλλου, ιδιαίτερα υπό συνθήκες παρεμπόδισης της διαπνοής η οποία προκαλεί την ψύξη του ελάσματος.

Ένα σύνολο από σημαντικά χαρακτηριστικά που συμβάλλουν στην ασφαλή μετακίνηση του νερού εντός των αγγείων του ξύλου είναι αυτά που αποτρέπουν την κατάρρευση των αγγείων και τη δημιουργία εμβολών. Λόγω της ανάπτυξης αρνητικής πίεσης στο εσωτερικό των αγγείων, ιδιαίτερα υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, υπάρχει ο κίνδυνος κατάρρευσής τους σε συνθήκες έντονης διαπνοής. Ο κίνδυνος αυτός αποτρέπεται με την ισχυροποίηση των κυτταρικών τοιχωμάτων των αγγείων μέσω της δευτερογενούς πάχυνσής τους καθώς και με την ισχυρή αποξύλωση των τραχειϊδων. Μια άλλη απειλή για την συνέχεια της υδατικής στήλης εντός των αγγείων, είναι ο σχηματισμός φυσαλίδων από τα διαλυμένα αέρια που υπάρχουν στον ανιόντα χυμό. Λόγω της τάσης και με δεδομένο ότι τα αέρια είναι συμπιεστά, οι φυσαλίδες έχουν την τάση να αυξήσουν τον όγκο τους και να εξαπλωθούν καταλαμβάνοντας σημαντικό μέρος του όγκου του αγγείου. Στην περίπτωση αυτή θα διακοπεί η συνέχεια της στήλης του νερού. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται εμβολή και εμφανίζεται σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης αλλά και σε περιπτώσεις τραυματισμών του αγγειακού συστήματος ή προσβολών από παθογόνα.

Κάθε εμβολή βγάζει εκτός λειτουργίας το αγγείο του ξύλου στο οποίο συνέβη. Ωστόσο τα βοηθία και οι διάτρητες πλάκες εμποδίζουν την εξάπλωση των

φυσαλίδων στα γειτονικά αγγεία ή τραχειίδες, ενώ το νερό παρακάμπτει το αγγείο που έχει εμβολή και κινείται μέσω του γειτονικού. Επίσης το γεγονός ότι τα αγγεία δεν συνίστανται από έναν ενιαίο σωλήνα αποτελεί ένα σημαντικό χαρακτηριστικό προσαρμογής έναντι των εμβολών. Η ύπαρξη στενότερων αγγείων σε φυτά που έχουν προσαρμοστεί σε ξηρότερα περιβάλλοντα επίσης συνεισφέρει στην αποφυγή σχηματισμού εμβολών γιατί ενισχύει τη συμβολή των δυνάμεων συνάφειας μεταξύ των μορίων του νερού και των τοιχωμάτων του αγγείου στη διατήρηση της ακεραιότητας της στήλης. Τέλος, πρέπει να τονιστεί πως ο αυστηρός έλεγχος των στοματικών κινήσεων καθώς και η μεσημβρινή καταστολή επίσης συμβάλλουν στην αποφυγή των εμβολών. Ιδιαίτερη συμβολή στην αντιμετώπιση της υδατικής καταπόνησης έχει και η δυνατότητα επιδιόρθωσης των εμβολών. Σε ορισμένα φυτικά είδη και υπό δεδομένες εδαφοκλιματικές συνθήκες, η υψηλή συχνότητα δημιουργίας εμβολών είναι αναμενόμενη και μη καταστροφική εάν αντισταθμίζεται με μεγάλη ικανότητα επιδιόρθωσης των εμβολών, κυρίως κατά τη διάρκεια της σκοτοπεριόδου (Καραμπουρνιώτης *κ.ά.*, 2012).

Μέσω της παρεμπόδισης της ανάπτυξης υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, περιορίζεται η επιφάνεια των αναπτυσσόμενων φύλλων με αποτέλεσμα το υπέργειο μέρος να χαρακτηρίζεται από μικρότερες διαπνευστικές απώλειες. Ωστόσο, ο περιορισμός της ανάπτυξης του υπέργειου μέρους οδηγεί στην περίσσεια οργανικού άνθρακα ο οποίος διατίθεται στη ρίζα, η ανάπτυξη της οποίας δεν παρεμποδίζεται στον ίδιο βαθμό υπό τις συνθήκες αυτές. Αυτό οδηγεί σε μείωση του λόγου του υπέργειου προς το υπόγειο μέρος με προφανή πλεονεκτήματα στην αναζήτηση εδαφικού νερού. Ένα άλλο χαρακτηριστικό το οποίο συμβάλλει στον

περιορισμό των διαπνευστικών απωλειών είναι ο περιορισμός της διαπνεύσας επιφάνειας με την εξορρόπηση φυλλικής επιφάνειας. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της πτώσης ποσοστού των φύλλων, ιδιαίτερα των γηραιότερων, η οποία επάγεται από συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Καραμπουρνιώτης *κ.ά.*, 2012).

Σε επίπεδο κυττάρου, σημαντική είναι η συμβολή της ικανότητας οσμωρύθμισης ή οσμωτικής εξορρόπησης. Ορισμένα φυτικά κύτταρα διαθέτουν την ικανότητα αυτή μέσω της οποίας αποφεύγονται οι δυσμενείς επιπτώσεις της απώλειας της σπαργής και της εμφάνισης πλασμόλυσης. Το παραπάνω επιτυγχάνεται μέσω της ενεργητικής μείωσης του οσμωτικού δυναμικού η οποία δεν προκαλείται, όπως στην περίπτωση της αφυδάτωσης, από τη μείωση του όγκου του νερού αλλά από την ενεργητική αύξηση της ποσότητας των διαλυμένων ουσιών. Οι ουσίες που συσσωρεύονται είναι οσμωτικά ενεργοί μεταβολίτες όπως πολυόλες, αμινοξέα, μονο- και ολιγοσακχαρίτες. Τα μόρια αυτά δεν είναι μόνο οσμωτικά ενεργά αλλά και συμβατά με τις μεταβολικές λειτουργίες των κυττάρων, γεγονός σημαντικό για τις υψηλές συγκεντρώσεις στις οποίες συσσωρεύονται (Καραμπουρνιώτης *κ.ά.*, 2012).

A.7.4. Μηχανισμοί αντίληψης και διαβίβασης σήματος στην υδατική καταπόνηση

Τα κύτταρα αντιλαμβάνονται την ανεπαρκή τροφοδοσία τους με νερό μέσω ενός συνδυασμού αισθητήρων οι οποίοι ενεργοποιούνται λόγω συγκεκριμένων δυσλειτουργιών όπως η απώλεια της σπαργής των κυττάρων, η αφυδάτωση των κυττάρων της ρίζας ή η μεταβολή του οσμωτικού δυναμικού του εδάφους. Όλα τα παραπάνω προκαλούν την παραγωγή

σημάτων συναγερμού, όπως της ορμόνης αμπισικό οξύ (ABA) η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στο συντονισμό των αντιδράσεων του φυτού στην υδατική καταπόνηση ή η αλλαγή των επιπέδων του κυτταροπλασματικού ασβεστίου. Οι αλλαγές αυτές προκαλούν την ενεργοποίηση μιας ακολουθίας βημάτων στα οποία εμπλέκονται σηματοδοτικά μόρια με κατάληξη την αλλαγή του προτύπου έκφρασης γονιδίων τα οποία σχετίζονται με την καταπόνηση. Τέσσερα σηματοδοτικά μονοπάτια έχουν περιγραφεί στην υδατική καταπόνηση. Τα δύο εξαρτώνται από το ABA ενώ τα άλλα δύο είναι ανεξάρτητα αυτού. Ένα μεγάλο ποσοστό γονιδίων των οποίων η έκφραση ρυθμίζεται υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης αφορά σε χαρακτηριστικές αντιδράσεις εγκλιματισμού, όπως

στην παραγωγή οσμωτικά ενεργών ουσιών, την αλλαγή του μορφογενετικού προτύπου ανάπτυξης, τη λειτουργία των στομάτων, των υδατοπορινών και της φωτοσύνθεσης. Τα γονίδια αυτά είναι υπεύθυνα για τη βιοσύνθεση κυρίως πρωτεϊνών με προστατευτικό ρόλο (για παράδειγμα ένζυμα του αντιοξειδωτικού μεταβολισμού, ή πρωτεΐνες αφυδάτωσης με κύριες τις αφυδατάσες και υποκατηγορία τους τις πρωτεΐνες LEA (Late Embryogenesis Abundant)). Πρόκειται για εξαιρετικά υδρόφιλες πρωτεΐνες οι οποίες εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα και λειτουργούν ως συνοδές πρωτεΐνες που σταθεροποιούν τη δομή κυστιδίων, μεμβρανών ή άλλων πρωτεϊνών σε συνθήκες αφυδάτωσης (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

B. Η ανόργανη διατροφή των φυτών

B.1. Γενικά

Ως θρεπτικά στοιχεία ορίζεται εκείνα τα χημικά στοιχεία που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη και αναπαραγωγή των φυτών. Για να χαρακτηριστεί ένα χημικό στοιχείο ως απαραίτητο, πρέπει να πληροί ορισμένες προϋποθέσεις: α) να είναι αναγκαίο για την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου του οργανισμού, β) να μην υπάρχουν άλλα χημικά στοιχεία που να υποκαθιστούν τον ρόλο του και γ) να είναι απαραίτητο για όλα τα φυτικά είδη. Δεκαεπτά χημικά στοιχεία πληρούν τα παραπάνω κριτήρια ώστε να μπορούν να χαρακτηριστούν ως απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία. Εκτός του άνθρακα, του οξυγόνου και του υδρογόνου που προέρχονται από την ατμόσφαιρα ή το νερό, τα υπόλοιπα δεκατέσσερα προσλαμβάνονται από το έδαφος ή από θρεπτικά διαλύματα. Τα θρεπτικά στοιχεία υποδιαιρούνται περαιτέρω σε δύο ομάδες, ανάλογα με το αν αποτελούν το 0,1% και άνω της ξηρής ουσίας του φυτού οπότε λέγονται μακροστοιχεία και αυτά που απαντώνται σε ποσά μικρότερα του 0,01% της ξηρής ουσίας και ονομάζονται ιχνοστοιχεία (Barker and Pilbeam, 2012).

Οι ανάγκες σε θρεπτικά στοιχεία εξαρτώνται τόσο από το φυτικό είδος όσο και από το στάδιο ανάπτυξης. Οι ανάγκες αυτές είναι δυνατό να ποσοτικοποιηθούν κατά περίπτωση και να ορισθούν τα βέλτιστα όρια τα οποία επιτρέπουν την άριστη ανάπτυξη. Παρέκκλιση από τα όρια αυτά προκαλεί τοξικά φαινόμενα (προς τα πάνω) ή τροφοπενίες (προς τα κάτω).

Τα θρεπτικά στοιχεία απορροφώνται από τις ρίζες συνήθως υπό την μορφή ιόντων. Η ικανότητα πρόσληψης και αξιοποίησης των θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά περιορίζεται σε ορισμένες μόνο χημικές μορφές. Προκειμένου ένα θρεπτικό στοιχείο να

αξιοποιηθεί θα πρέπει να διανύσει την απόσταση από το εδαφικό διάλυμα έως τα όργανα ή τους ιστούς όπου θα χρησιμοποιηθεί. Η πορεία αυτή περιλαμβάνει την απορρόφηση από τους επιφανειακούς ιστούς της ρίζας, την μετακίνηση κατά μήκος των εσωτερικών ιστών και τη φόρτωση στα αγγεία του ξυλώματος. Ακολουθώντας, μέσω του διαπνευστικού ρεύματος, διανέμεται σε διαφορετικά όργανα προς αξιοποίηση. Η κίνηση των ιόντων διαμέσου των ιστών της ρίζας και ως τα αγγεία του ξυλώματος ακολουθεί κατ' ακτίνα πορεία και πραγματοποιείται διαδοχικά μεταξύ των εξής ιστών: επιδερμίδα, φλοιός, ενδοδερμίδα και παρεγχυματικά κύτταρα του κεντρικού κυλίνδρου με τελική κατάληξη στα αγγεία του ξύλου. Η κατ' ακτίνα κίνηση των ιόντων ακολουθεί το ίδιο πρότυπο με την κίνηση του νερού και διακρίνεται σε α) αποπλασματική κίνηση (λαμβάνει χώρα τόσο στους μεσοκυττάριους χώρους όσο και στην υδατική φάση η οποία είναι προσροφημένη στα κυτταρικά τοιχώματα) και β) συμπλασματική κίνηση που συμβαίνει διαμέσου του πρωτοπλάστη των κυττάρων. Η αποπλασματική κίνηση θεωρείται παθητική και πραγματοποιείται είτε μέσω διάχυσης (λόγω ευνοϊκής διαβάθμισης συγκέντρωσης) είτε μέσω μαζικής ροής (λόγω διαφοράς δυναμικού νερού). Η συμπλασματική κίνηση λαμβάνει χώρα στον συμπλάστη, ο οποίος ορίζεται ως συνέχεια του κυτταροπλάσματος γειτονικών κυττάρων διαμέσου των πλασμοδεσμών. Προϋπόθεση για την συμπλασματική κίνηση είναι η είσοδος των ιόντων από τον αποπλάστη προς το εσωτερικό του κυττάρου διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Στην κυτταροπλασματική μεμβράνη εδράζονται πρωτεΐνες μεταφοράς στη δράση των οποίων οφείλονται τα κύρια χαρακτηριστικά των μηχανισμών πρόσληψης των θρεπτικών στοιχείων από τη ρίζα: η εξειδίκευση και η

συσσώρευση. Λόγω της εξειδίκευσης αποκλείονται ανεπιθύμητα ιόντα, ενώ η συσσώρευση απαιτεί δαπάνη μεταβολικής ενέργειας, και έχει ως αποτέλεσμα η συγκέντρωση των θρεπτικών στοιχείων εντός του κυττάρου να είναι πολύ υψηλότερη από αυτή του εξωτερικού διαλύματος, αντίθετα δηλαδή με την αυθόρμητη διαβάθμιση συγκέντρωσης.

B.1.1. Η είσοδος των θρεπτικών στοιχείων διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης

Η διέλευση των ιόντων διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης καθίσταται δυνατή με τη μεσολάβηση μεμβρανικών πρωτεϊνών, οι οποίες εμφανίζουν συνήθως εξειδίκευση για το είδος το ιόντος που μεταφέρεται. Η μεταφορά των ιόντων διαμέσου των μεμβρανικών πρωτεϊνών μπορεί να είναι είτε παθητική, είτε ενεργός. Προϋπόθεση για την παθητική μεταφορά είναι η ευνοϊκή διαβάθμιση του ηλεκτροχημικού δυναμικού, ενώ για την ενεργό μεταφορά η δαπάνη μεταβολικής ενέργειας.

Η παθητική μεταφορά των ιόντων διαμέσου των μεμβρανών πραγματοποιείται είτε μέσω διαύλων (channels) είτε με τη βοήθεια φορέων (ή διαπεραιωτών, carriers). Οι δίαυλοι είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που λειτουργούν ως πόροι μέσω των οποίων μπορούν να διαχυθούν μόρια ή ιόντα στο εσωτερικό του κυττάρου με μεγάλη ταχύτητα (για παράδειγμα, 10^8 ιόντα ανά δευτερόλεπτο). Οι πύλες τους ανοίγουν ή κλείνουν τον πόρο ανταποκρινόμενες σε ενδοκυτταρικά ή εξωκυτταρικά ερεθίσματα. Όταν η μεταφορά διεξάγεται από μια πρωτεΐνη-φορέα, η ουσία που πρόκειται να μεταφερθεί προσαρτάται σε ένα εξειδικευμένο σημείο του φορέα. Η προσάρτηση προκαλεί μια αλλαγή στη διαμόρφωση της πρωτεΐνης η οποία εκθέτει το υπόστρωμα στο διάλυμα της άλλης

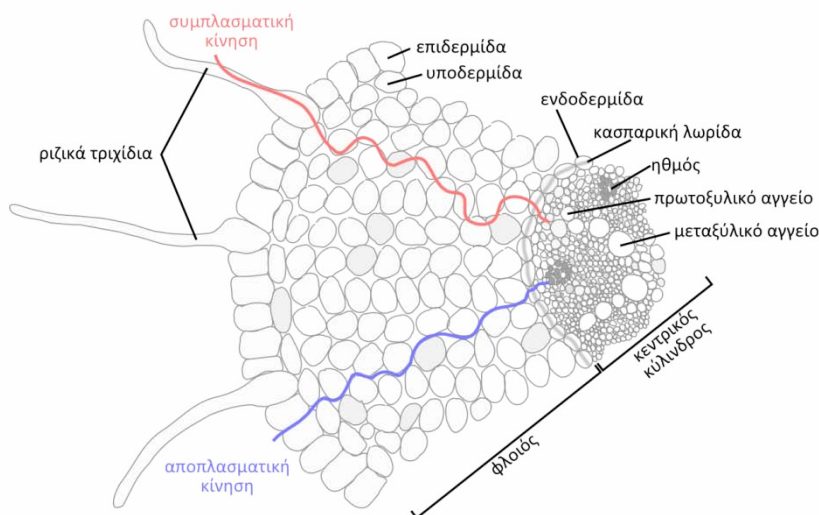
πλευράς της μεμβράνης το οποίο αποδεσμεύει στο τέλος της διαδικασίας μεταφοράς. Η διαδικασία απαιτεί ένα minimum χρονικό διάστημα για να ολοκληρωθεί, αφού προϋποθέτει αλλαγή στη διαμόρφωση της πρωτεΐνης (Taiz and Zeiger, 2012).

Προκειμένου να διεξαχθεί ενεργητική μεταφορά, η μεταφορά μιας διαλυμένης ουσίας προς ενεργειακά υψηλότερο επίπεδο, θα πρέπει να συζευχτεί με μία παράλληλη διαδικασία που απελευθερώνει ενέργεια. Οι πρωτεΐνες που υλοποιούν ενεργό μεταφορά ονομάζονται αντλίες (pumps) και διακρίνονται στις εξής ομάδες: α) ATP-εξαρτώμενες αντλίες πρωτονίων, οι οποίες επιτελούν μεταφορά πρωτονίων μέσω δαπάνης ενέργειας από την υδρόλυση του ATP, β) οι PP_i -εξαρτώμενες αντλίες πρωτονίων στις οποίες η ενέργεια για την μεταφορά των πρωτονίων προέρχεται από την υδρόλυση του πυροφωσφορικού δεσμού. Μέσω της μεταφοράς πρωτονίων επιτυγχάνεται το κατάλληλο ηλεκτροχημικό δυναμικό ώστε να είναι εφικτή η απορρόφηση άλλων ιόντων. γ) οι ABC-μεταφορείς μεμβρανικές πρωτεΐνες τύπου φορέα, οι οποίες επιτελούν μεταφορά ιόντων διαφορετικών από πρωτόνια με ταυτόχρονη κατανάλωση μεταβολικής ενέργειας (Taiz and Zeiger, 2012). Ορισμένες πρωτεΐνες τύπου φορέα μεταφέρουν το επιθυμητό ιόν μέσω ταυτόχρονης μεταφοράς ενός συνοδού ιόντος. Όταν το επιθυμητό ιόν μεταφέρεται προς την ίδια κατεύθυνση με το συνοδό ιόν οι πρωτεΐνες αυτές ονομάζονται συμμεταφορείς, ενώ όταν μεταφέρονται προς αντίθετες κατευθύνσεις, αντιμεταφορείς. Η μεταφορά του τύπου αυτού ονομάζεται δευτερογενής ενεργητική μεταφορά δότι το μεταφερόμενο ιόν κινείται αντίθετα από τη διαβάθμιση του ηλεκτροχημικού δυναμικού και η ενέργεια που την ωθεί προέρχεται από την κινητήρια δύναμη της διαβάθμισης πρωτονίων και όχι από άμεση υδρόλυση του ATP (Taiz and Zeiger, 2012).

B.1.2. Η κίνηση των θρεπτικών στοιχείων εντός της ρίζας και μέχρι τα αγγεία του ξύλου

Η κίνηση των ιόντων εντός της ρίζας αποτελεί συνδυασμό αποπλασματικής και συμπλασματικής κίνησης (εικόνα 2). Από την επιδερμίδα έως την ενδοδερμίδα τα ιόντα μπορούν να κινηθούν είτε αποπλασματικά είτε συμπλασματικά. Ωστόσο στην

περιοχή της ενδοδερμίδας οι εναποθέσεις φέλλινης (κασπαρική λωρίδα) παραπέμπουν σε υποχρεωτική αλλαγή του τρόπου μεταφοράς από την αποπλασματική στην συμπλασματική. Στη συνέχεια τα ιόντα κινούνται συμπλασματικά έως και τα κύτταρα του ξυλώδους παρεγχύματος και μεταφέρονται στα αγγεία του ξύλου είτε παθητικά μέσω διάχυσης, είτε μέσω ενεργού μεταφοράς (White, 2012*a*; White, 2012*b*).



Εικόνα 2. Διαγραμματική αναπαράσταση της συμπλασματικής και αποπλασματικής κατ' ακτίνα κίνησης του νερού και των ιόντων από την επιφάνεια της ρίζας έως τον κεντρικό κύλινδρο (White, 2012*b*).

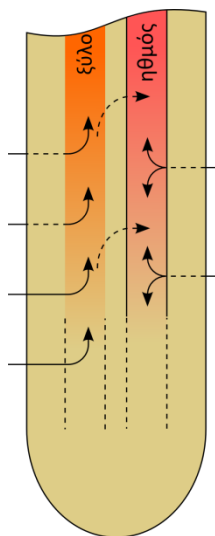
B.1.3. Η κίνηση των θρεπτικών στοιχείων στα αγγεία του ξύλου

Η κίνηση των θρεπτικών στοιχείων εντός των αγγείων του ξύλου είναι πλέον αποπλασματική και οφείλεται σε μηχανισμούς μαζικής ροής λόγω διαφοράς πίεσης την οποία δημιουργεί η λειτουργία της διαπνοής. Ως εκ τούτου ο κύριος όγκος των θρεπτικών στοιχείων προσλαμβάνεται και μεταφέρεται όταν οι συνθήκες ευνοούν τη διαπνοή. Η κίνηση των ιόντων πραγματοποιείται τελικά προς τα σημεία απόληξης του διαπνευστικού ρεύματος. Η διαδικασία εκφόρτωσης του ανιόντος χυμού στην περιοχή των φύλλων σχετίζεται με τη διάμετρο των αγγείων και την δυνατότητα απορρόφησης νερού και ιόντων από τα

παρακείμενα κύτταρα. Δεδομένου ότι στα σημεία εκφόρτωσης το νερό εγκαταλείπει τα αγγεία ταχύτερα έναντι των ιόντων, ιδιαίτερα σε μικρότερης διαμέτρου αγγεία αναμένεται βαθμιαία συμπύκνωση του ανιόντος χυμού. Συνεπώς στα σημεία απόληξης του διαπνευστικού ρεύματος παρατηρείται υψηλή συσσώρευση αλάτων θρεπτικών και μη στοιχείων (White, 2012*a*). Σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι δυνατόν να παρατηρηθεί οριζόντια μεταφορά ιόντων από τα αγγεία του ξύλου προς τους γειτονικούς ημωσωλήνες (εικόνα 3). Η διαδικασία αυτή, κατά την οποία παρεμβάλλονται τα παρεγχυματικά κύτταρα του ξύλου και του ηθμού θεωρείται πολύ σημαντική για την κατανομή, την αναδιανομή και την ανακύκλωση των στοιχείων εντός του φυτικού σώματος (White, 2012*a*).

B.1.4. Η κίνηση των θρεπτικών στοιχείων στον ηθμό

Ο χυμός του ηθμού εκτός από φωτοσυνθετικά προϊόντα και νερό μεταφέρει και ένα μέρος των θρεπτικών στοιχείων. Η διακίνηση ιόντων και μέσω των ηθμοσωλήνων είναι πολύ σημαντική γιατί επιτρέπει στα θρεπτικά στοιχεία να κινηθούν αντίθετα προς τη φορά κίνησης του ανιόντος χυμού συνεπώς είναι δυνατή η αναδιανομή τους σε όργανα με χαμηλούς διαπνευστικούς ρυθμούς. Επίσης, δίδεται η δυνατότητα επανεκκίνησης θρεπτικών στοιχείων μετά την αρχική τους κατανομή, όπως π.χ. συμβαίνει κατά την επαναδιανομή αζώτου από γηρασμένα προς νεαρά-αναπτυσσόμενα όργανα. Η διακίνηση μέσω του ηθμού καθορίζεται από την ροή των φωτοσυνθετικών προϊόντων από τα σημεία παραγωγής τους προς τα σημεία κατανάλωσης, όπου εντοπίζονται και οι ανάγκες σε θρεπτικά στοιχεία. Η δυνατότητα μεταφοράς θρεπτικών στοιχείων μέσω των ηθμοσωλήνων του ηθμού εξαρτάται από την ευχέρεια μεταφοράς (εάν είναι π.χ. ευκίνητα). Η ευκίνησια των θρεπτικών στοιχείων σχετίζεται με τη δυνατότητα διαχείρισης των αποθεμάτων σε περιπτώσεις τροφοπενιών.



Εικόνα 3. Συνιστώσες του προτύπου κίνησης σε μεγάλες αποστάσεις των θρεπτικών στοιχείων μέσω των αγγείων του ξύλου και των στοιχείων του ηθμού (White, 2012a).

B.2. Το άζωτο ως απαραίτητο θρεπτικό στοιχείο

B.2.1. Το άζωτο στο περιβάλλον

Η ατμόσφαιρα εμπεριέχει τεράστιες ποσότητες μοριακού αζώτου (περίπου 77% κατ' όγκο), το οποίο όμως δεν είναι άμεσα διαθέσιμο στους οργανισμούς. Η πρόσληψη του απαιτεί τη διάσπαση ενός ιδιαίτερα σταθερού τριπλού ομοιοπολικού δεσμού, ώστε να παραχθεί αμμωνιακό (NH_4^+) ή νιτρικό ιόν (NO_3^-). Η διάσπαση αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω συγκεκριμένων φυσικών, βιοχημικών και βιομηχανικών διεργασιών. Οι φυσικές διεργασίες μέσω των οποίων δεσμεύονται ετησίως περί τα $190 \cdot 10^{12}$ g αζώτου αφορούν σε ηλεκτρικές εκκενώσεις και σε φωτοχημικές αντιδράσεις μεταξύ αέριου NO και όζοντος, οπότε παράγεται HNO_3 . Οι βιοχημικές διεργασίες αφορούν κυρίως στη βιολογική δέσμευση του αζώτου. Οι ηλεκτρικές εκκενώσεις στην ατμόσφαιρα μετατρέπουν τους υδρατμούς και το οξυγόνο σε ελεύθερες δραστικές ρίζες υδροξυλίου και ελεύθερα άτομα οξυγόνου τα οποία έχουν τη δυνατότητα διάσπασης του ομοιοπολικού δεσμού του αέριου N_2 και σχηματισμό HNO_3 το οποίο πέφτει στο έδαφος με τη βροχή. Η βιολογική δέσμευση του αζώτου επιτελείται από συμβιωτικά ή ελεύθερα διαβιούντα βακτήρια ή κυανοβακτήρια που δεσμεύουν το N_2 υπό μορφή αμμωνίας (NH_3). Μετά τη δέσμευση του σε αμμωνία ή σε νιτρικά ιόντα το άζωτο εισέρχεται σε έναν βιογεωχημικό κύκλο που περιλαμβάνει την ενσωμάτωση του σε οργανικές ενώσεις, οι οποίες στη συνέχεια διασπώνται απελευθερώνοντας μοριακό N_2 (Taiz and Zeiger, 2012).

Το άζωτο, ως μακροστοιχείο, απαιτείται σε συγκριτικά μεγάλες ποσότητες από τα φυτά προκειμένου να ολοκληρώσουν τον βιολογικό τους

κύκλο. Το 1-5% της ξηρής μάζας των φυτών συνίσταται από άζωτο, το οποίο αποτελεί βασικό συστατικό των πρωτεϊνών, των νουκλεϊκών οξέων, της χλωροφύλλης, ορισμένων συνενζύμων, των φυτο-ορμονών και δευτερογενών μεταβολιτών. Δυνατότητα δέσμευσης του ατμοσφαιρικού αζώτου (N_2) διαθέτουν μόνο τα φυτά που εγκαθιστούν συμβιωτικές σχέσεις με αζωτοδεσμευτικά βακτήρια. Οι κύριες μορφές πρόσληψης του εδαφικού N_2 από τις ρίζες είναι τα νιτρικά και τα αμμωνιακά ιόντα. Τα νιτρικά ιόντα είναι περισσότερο ευκίνητα έναντι των αμμωνιακών στο εδαφικό διάλυμα, ενώ στα γεωργικά εδάφη απαντώνται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (1-5 mM) έναντι των αμμωνιακών (20-200 μM) (Barker and Bryson, 2012).

Στους φυτικούς μεταβολίτες το σθένος του αζώτου κυμαίνεται από +5 (νιτρικό οξύ, νιτρικά ιόντα) έως -3 (αμμωνία, αμμωνιακά ιόντα). Ωστόσο το σθένος του στα οργανικά μόρια των φυτών στα οποία συμπεριλαμβάνονται οι πρωτεΐνες, τα νουκλεϊκά οξέα, οι πουρίνες, οι πυριμιδίνες και τα συνένζυμα απαντάται ως -3.

B.2.2. Η κατανομή του αζώτου στα φυτά

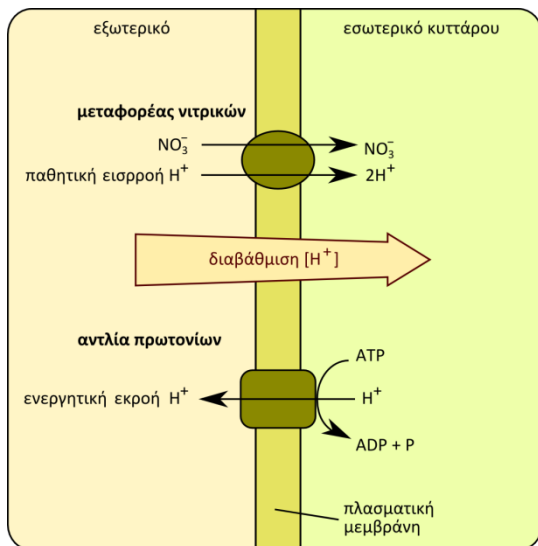
Το μεγαλύτερο μέρος του αζώτου των φυτικών ιστών βρίσκεται ενσωματωμένο στις πρωτεΐνες, καταλαμβάνοντας το 85% του ολικού αζώτου. Τα νουκλεϊκά οξέα περιλαμβάνουν το 5% του ολικού αζώτου, ενώ ορισμένες υδατοδιαλυτές, χαμηλού μοριακού βάρους οργανικές ενώσεις διαφόρων τάξεων το 5-10%.

B.2.3. Πρόσληψη από τη ρίζα και μεταφορά των νιτρικών ιόντων εντός του φυτικού σώματος

B.2.3.1. Πρόσληψη νιτρικών ιόντων από τη ρίζα

Η πρόσληψη των νιτρικών ιόντων σχετίζεται με τη διαθεσιμότητα των νιτρικών ιόντων στο εδαφικό διάλυμα και το ρυθμό διαπνοής. Αποτελεί μια πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει πολλαπλά σημεία ελέγχου και ρύθμισης λόγω της εκλεκτικότητας των μηχανισμών πρόσληψης. Στην πρόσληψη των νιτρικών ιόντων από τη ρίζα των ανώτερων φυτών εμπλέκονται δύο τύποι πρωτεϊνών-μεταφορέων. Οι μεταφορείς αυτοί κωδικοποιούνται από τις οικογένειες γονιδίων *NRT1* και *NRT2* και εδράζονται στην πλασματική μεμβράνη των επιδερμικών κυττάρων και των κυττάρων του φλοιώδους παρεγχύματος. Οι πρωτεΐνες *NRT1* εμφανίζουν χαμηλή συγγένεια για τα νιτρικά ιόντα και λειτουργούν όταν οι συγκεντρώσεις των τελευταίων στο εξωτερικό διάλυμα είναι υψηλότερες των 0,5 mM, ενώ αντίστοιχα οι *NRT2* παρουσιάζουν υψηλή συγγένεια για το υπόστρωμα και εμπλέκονται στην μεταφορά των νιτρικών ιόντων όταν αυτά απαντώνται στο διάλυμα σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες των 0,5 mM (Siddiqi *et al.*, 1990). Ανεξάρτητα από το είδος του μεταφορέα, η είσοδος των νιτρικών ιόντων εντός του κυττάρου διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης πραγματοποιείται με φορά αντίθετη στην (έντονη) διαβάθμιση του ηλεκτροχημικού δυναμικού. Τα αρνητικά φορτισμένα νιτρικά ιόντα θα πρέπει να ξεπεράσουν δύο σημαντικά αρνητικά φράγματα, το αρνητικό δυναμικό της

πλασματικής μεμβράνης αλλά και την υψηλότερη ενδοκυτταρική συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων έναντι αυτής του εξωτερικού μέσου. Συνεπώς, η εισροή νιτρικών ιόντων εντός του κυττάρου απαιτεί την κατανάλωση μεταβολικής ενέργειας. Πράγματι, η είσοδος των νιτρικών ιόντων μέσω των μεταφορέων NRT1 και NRT2 διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης απαιτεί την συμμεταφορά πρωτονίων. Προκειμένου να διατηρηθεί η διαβάθμιση πρωτονίων μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης δαπανάται ATP από μια αντλία πρωτονίων (ΑΤΡάση) απελευθερώνοντας ένα πρωτόνιο προς το εξωτερικό του κυττάρου (εικόνα 4).



Εικόνα 4. Σχηματική αναπαράσταση της μεταφοράς νιτρικών ιόντων από το εδαφικό διάλυμα προς τα κύτταρα της ρίζας (Hawkesford *et al.*, 2012).

Οι μεταφορείς NRT2 των ανώτερων φυτών, αντίθετα με τους NRT1, προκειμένου να λειτουργήσουν απαιτούν την συνύπαρξη της πρωτεΐνης NRT3 η οποία διαθέτει μια διαμεμβρανική περιοχή που συνδέεται άμεσα με την NRT2. Επομένως εάν οι δύο πρωτεΐνες διαχωριστούν δεν εκτελούν μεμονωμένα μεταφορά νιτρικών ιόντων.

Τα ένζυμα που απαιτούνται για την μεταφορά και αφομοίωση των νιτρικών ιόντων επάγονται από την παρουσία νιτρικών ιόντων στο περιβάλλον, ενώ σε

περίπτωση συσσώρευσης νιτρικών ιόντων στα κύτταρα η πρόσληψη τους καταστέλλεται. Στα περισσότερα φυτικά είδη η πρόσληψη των νιτρικών ιόντων μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου και συνήθως μειώνεται σημαντικά κατά την άνθηση.

B.2.3.2. Κίνηση των νιτρικών ιόντων εντός των αγγείων του ξύλου και μεταφορά τους στο υπέργειο μέρος

Η πρόσληψη των νιτρικών ιόντων και η μεταφορά τους στο υπέργειο μέρος του φυτού αποτελεί μια διαδικασία η οποία ελέγχεται από μια σειρά μηχανισμών καθώς επίσης και από την εναλλαγή ημέρας-νύχτας. Η πρόσληψη και μεταφορά των νιτρικών ιόντων δεν ελέγχεται μόνο από τη διαθεσιμότητά τους στο έδαφος αλλά και από τις ανάγκες των φυτών (Marschner *et al.*, 1996). Όταν η εδαφική διαθεσιμότητα είναι επαρκής, ο παράγοντας που κυρίως καθορίζει την πρόσληψη αζώτου είναι οι ανάγκες του φυτού.

Παρόλο που η μεταφορά των νιτρικών ιόντων είναι μια διαδικασία που επηρεάζεται από τις ημερονύκτιες εναλλαγές της διαπνευστικής δραστηριότητας, ιδιαίτερο ρόλο στη ρύθμισή της φαίνεται πως παίζει η αφομοίωση και ο μεταβολισμός των αζωτούχων ενώσεων στη ρίζα καθώς και ο μηχανισμός φόρτωσης των αγγείων του ξύλου (Gonzalez-Dugo *et al.*, 2010). Πειράματα στο φυτό *Ricinus communis* με σύγχρονο έλεγχο της διαθεσιμότητας αζώτου στη ρίζα και μέτρηση της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων στον ανιόντα χυμό, του ρυθμού πρόσληψής τους από τη ρίζα και του ρυθμού μεταφοράς τους προς το υπέργειο μέρος, έδειξαν ότι η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων στον ανιόντα χυμό ακολουθεί ημερήσιο ρυθμό και εμφανίζεται χαμηλή κατά τη διάρκεια της ημέρας ενώ αυξάνεται έντονα κατά την διάρκεια της νύχτας. Αντίθετα, ο ρυθμός πρόσληψης εμφανίζει ημερήσιο μέγιστο κατά την φωτεινή περίοδο κυρίως λόγω της

εντονότερης διαπνοής. Ωστόσο, ο ρυθμός μεταφοράς των νιτρικών ιόντων στο υπέργειο μέρος παρουσιάζει εντυπωσιακή σταθερότητα μεταξύ φωτεινής και σκοτεινής περιόδου, προφανώς επειδή κατά τη διάρκεια της ημέρας ένα σημαντικό μέρος του προσληφθέντος αζώτου συγκρατείται στη ρίζα (Herdel *et al.*, 2001). Η πτώση της συγκέντρωσης νιτρικών ιόντων του εδαφικού διαλύματος δεν επηρεάζει το χρονισμό των ημερονύκτιων ταλαντώσεων, παρά μόνο το εύρος τους (δηλαδή τις μέγιστες τιμές συγκέντρωσης του NO_3^-). Αύξηση της εδαφικής διαθεσιμότητας προκαλεί, εντός μερικών ωρών, αύξηση του ρυθμού πρόσληψης νιτρικών ιόντων και μεταφοράς αζωτούχων ενώσεων προς το υπέργειο μέρος η οποία ωστόσο είναι παροδική (Herdel *et al.*, 2001).

B.2.3.3. Εκροή νιτρικών ιόντων

Η είσοδος και η διαφύλαξη των αζωτούχων συστατικών στα κύτταρα της επιδερμίδας και του φλοιώδους παρεγχύματος της ρίζας είναι κεφαλιώδους σημασίας για την ανάπτυξη των φυτικών οργάνων, ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να συμβεί και εκροή νιτρικών ή αμμωνιακών ιόντων και αμινοξέων από τις ρίζες προς το εδαφικό διάλυμα. Η φαινομενικά σπάταλη από ενεργειακής άποψης διαδικασία αυτή φαίνεται ότι συνδέεται με την ύπαρξη περίσσειας αζώτου, ωστόσο η φυσιολογική σημασία της παραμένει ασαφής. Πιθανόν να παίζει τον ρόλο της ασφαλιστικής δικλείδας προκειμένου να αποτρέψει συσσώρευση νιτρικών σε τοξικά επίπεδα.

B.2.3.4. Η ενδοκυτταρική κατανομή των νιτρικών ιόντων

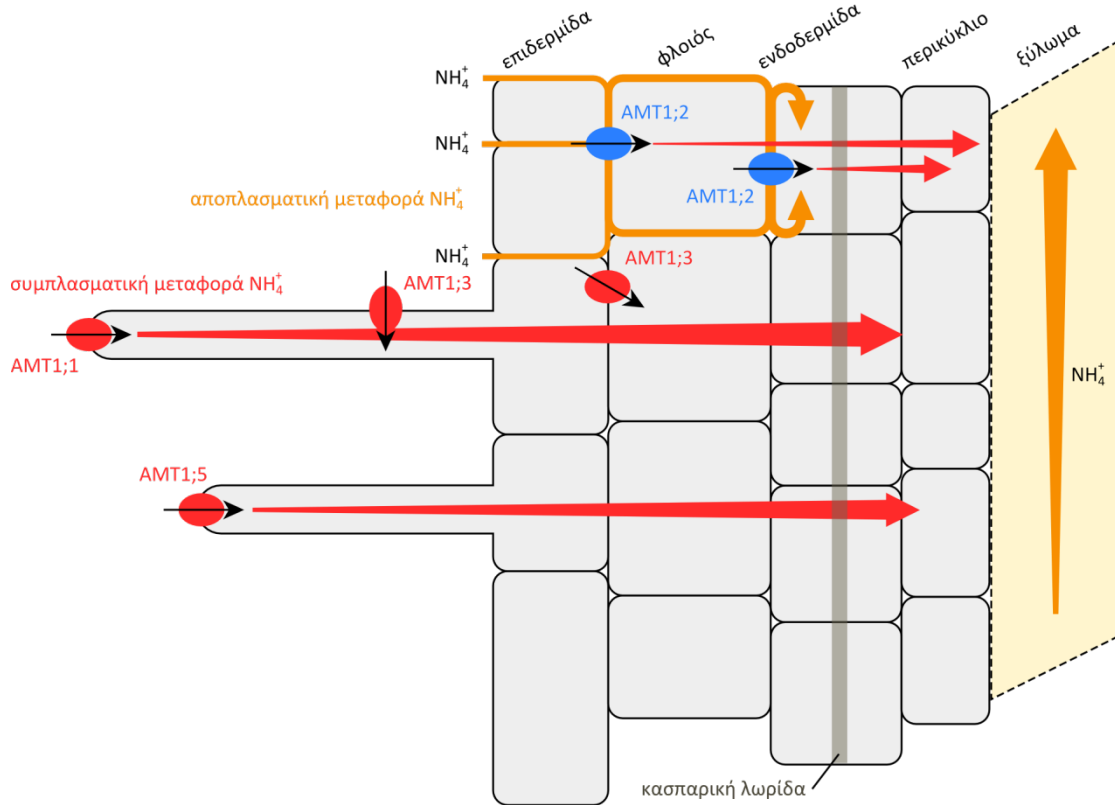
Σε αντίθεση με τα αμμωνιακά ιόντα τα οποία ενσωματώνονται ταχέως σε οργανικά συστατικά και παραμένουν στη ρίζα, τα νιτρικά ιόντα διανέμονται άμεσα σε όλα τα φυτικά όργανα. Σε επίπεδο κυττάρων ο κύριος όγκος των NO_3^- συσσωρεύεται στα χυμοτόπια, από τα οποία είναι δυνατόν να ανακτηθούν. Συνεπώς τα νιτρικά ιόντα που συσσωρεύονται στο χυμοτόπιο συγκροτούν μία αποθήκη που μπορεί να προμηθεύσει το στοιχείο σε περίπτωση έλλειψης. Ωστόσο το αποθηκευμένο αυτό άζωτο μπορεί να ικανοποιήσει μόνο ένα μέρος των αναγκών και εξαντλείται μέσα σε περίπου 48 ώρες από την επιβολή της έλλειψης νιτρικών. Η αποθήκευση νιτρικών στο χυμοτόπιο φαίνεται ότι έχει παροδικό χαρακτήρα αφού συμβαίνει κυρίως κατά τη διάρκεια της νύχτας, όταν δεν υπάρχει δυνατότητα περαιτέρω μεταβολισμού μέσω της αναγωγής των νιτρικών (Hawkesford *et al.*, 2012).

B.2.4. Η πρόσληψη και μεταφορά των αμμωνιακών ιόντων από τα φυτά

B.2.4.1. Η πρόσληψη των αμμωνιακών ιόντων από τις ρίζες

Η μεταφορά των αμμωνιακών ιόντων δια μέσου των μεμβρανών των κυττάρων της ρίζας πραγματοποιείται κυρίως μέσω της οικογένειας μεταφορέων AMT/MEP/Rh. Η υποοικογένεια AMT1 μεταφέρει αμμωνιακά ιόντα μέσω πρωτεϊνών φορέων μεταφοράς NH_4^+ ή συμμεταφοράς NH_4^+/H^+ (εικόνα 5).

-Εισαγωγή-



Εικόνα 5. Η αποπλασματική μεταφορά και ο ιστολογικός εντοπισμός και η λειτουργικότητα των πρωτεϊνικών μεταφορέων του συστήματος συμπλασματικής μεταφοράς υψηλής συνάφειας αμμωνιακών ιόντων των ριζών του φυτού *Arabidopsis thaliana* (Hawkesford *et al.*, 2012).

Η υποοικογένεια AMT2/MEP περιλαμβάνει το διάυλο μεταφορέας AmtB που έχει εντοπιστεί στο *Escherichia coli* και τους Mer1-3 μεταφορείς που έχουν αναφερθεί στις ζύμες.

Στο *Arabidopsis*, οι μεταφορείς AtAMT1.1, AtAMT1.2 και AtAMT1.3 εμφανίζουν υψηλή συγγένεια με το υπόστρωμα για αυτό και μεταφέρουν τα NH_4^+ όταν τα τελευταία βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, μικρότερες των 0,5 mM, στο εδαφικό διάλυμα. Οι AtAMT1.1 και AtAMT1.3 εκφράζονται στα κύτταρα της επιδερμίδας και του φλοιώδους παρεγχύματος της ρίζας ενώ οι AtAMT1.2 στα κύτταρα της ενδοδερμίδας και του φλοιώδους παρεγχύματος (εικόνα 5). Φαίνεται λοιπόν ότι δεν εμπλέκονται μόνο στην πρόσληψη των αμμωνιακών ιόντων, αλλά και στη μεταφορά του διαμέσου του αποπλάστη κατά την κατ' ακτίνα κίνηση. Σε συνθήκες έλλειψης αζώτου, τα

γονίδια AtAMT1.1 υπερεκφράζονται ενώ όταν το φυτό επανατροφοδοτείται με αμμωνιακά ιόντα, η έκφραση των γονιδίων αυτών μειώνεται. Η ενδοκυτταρική αύξηση των αμμωνιακών ιόντων ή της γλουταμίνης λειτουργεί ως σήμα αντίδρασης που παρεμποδίζει την περαιτέρω πρόσληψή τους (Hawkesford *et al.*, 2012).

Η πρόσληψη των αμμωνιακών ιόντων ακολουθεί τον ημερήσιο κύκλο και αυξάνεται κατά τη διάρκεια της ημέρας έως ότου γίνει μέγιστη στο τέλος της φωτοπεριόδου όπου, σταδιακά, αρχίζει να μειώνεται. Ο ημερήσιος κύκλος πρόσληψης των αμμωνιακών πιστοποιεί ότι η πρόσληψη αζώτου ρυθμίζεται από τα αποθέματα άνθρακα. Εξωτερική τροφοδοσία του φυτού με φωτοσυνθετικά προϊόντα κατά τη διάρκεια της νύχτας, οδηγεί σε εισροή αμμωνιακών ιόντων και σε υπερέκφραση των γονιδίων *AtAMT1* και *AtNRT2.1*

που κωδικοποιούν πρωτεΐνες-μεταφορείς νιτρικών ιόντων στο *Arabidopsis* (Hawkesford *et al.*, 2012).

Στο κριθάρι το οποίο είναι ευαίσθητο σε υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών στο εδαφικό διάλυμα, η συσσώρευση αμμωνιακών ιόντων εντός των κυττάρων της ρίζας αποτρέπεται μέσω της εκροής αμμωνιακών ιόντων προς το εδαφικό διάλυμα. Το φαινόμενο αυτό συνιστά μια άσκοπη ανακύκλωση των αμμωνιακών ιόντων διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης (Britto *et al.*, 2001).

B.2.5. Η πρόσληψη οργανικού αζώτου

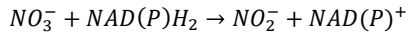
Εκτός των ανόργανων μορφών, και οι οργανικές μορφές του στοιχείου που υπάρχουν στο έδαφος συμβάλλουν στη θρέψη των φυτών. Το οργανικό άζωτο στο έδαφος απαντάται με την μορφή πεπτιδίων, πρωτεϊνών, αμινοξέων και ουρίας. Τα πεπτιδία και οι πρωτεΐνες διασπώνται από πρωτεάσες που εκκρίνονται από μικροοργανισμούς του εδάφους. Η συγκέντρωση των ελευθέρων αμινοξέων στα γεωργικά εδάφη κυμαίνεται από 1-100 μM και αποτελεί το μεγαλύτερο κλάσμα οργανικού αζώτου που απαρτίζεται από διαλυτές ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους. Η πρόσληψη των αμινοξέων από τις ρίζες παρουσιάζει ενεργειακό όφελος, ωστόσο οι μικροβιακοί πληθυσμοί του εδάφους αποτελούν ισχυρό ανταγωνιστή όσον αφορά στην πρόσληψη τους. Παρόλα αυτά έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη μεταφορέων αμινοξέων στις ρίζες, ορισμένοι εκ των οποίων λειτουργούν μέσω ευνοϊκής διαβάθμισης πρωτονίων (Näsholm *et al.*, 2009). Οι μεταφορείς αυτοί φαίνεται ότι εκτελούν εξειδικευμένες λειτουργίες σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων ενώ η συγγένεια και η εξειδίκευση ως προς το υπόστρωμα ποικίλλουν.

Όσον αφορά στην ουρία, πρόκειται για πηγή εδαφικού αζώτου που είτε απαντάται φυσικά στα εδάφη, είτε χρησιμοποιείται ως αζωτούχο λίπασμα. Η ουρία είτε υδρολύεται σε αμμωνιακά ιόντα από το ένζυμο ουρεάση των μικροοργανισμών του εδάφους είτε προσλαμβάνεται απευθείας από τις ρίζες. Τα περισσότερα φυτά διαθέτουν ένα μόνο γονίδιο που κωδικοποιεί την ουρεάση. Οι μεταφορείς της ουρίας διαμέσου των μεμβρανών είναι πιθανόν να συμπεριλαμβάνουν τον συμμεταφορέα πρωτονίων AtDUR3 που έχει εντοπιστεί στο *Arabidopsis* και που εμφανίζει υψηλή συγγένεια για την ουρία. Η παθητική μεταφορά της ουρίας επιτελείται από μια ομάδα της οικογένειας των πρωτεϊνών MIP (Major Intrinsic Proteins), των υδατοπορινών.

B.2.6. Η αφομοίωση του αζώτου από τα φυτά

B.2.6.1. Η αφομοίωση των νιτρικών ιόντων

Τα νιτρικά και τα αμμωνιακά ιόντα αποτελούν τις βασικές πηγές αζώτου των φυτών. Σε αερόβιες εδαφικές συνθήκες τα νιτρικά ιόντα συνιστούν την κύρια πηγή αζώτου. Τα ιόντα αυτά αφενός μεν χαρακτηρίζονται ως ιδιαίτερος ευκίνητα, αφετέρου μπορούν να αποθηκευτούν στο χυμοτόπιο. Ωστόσο η χρήση τους στη βιοσύνθεση των πρωτεϊνών και των άλλων οργανικών συστατικών προϋποθέτει την αναγωγή τους σε αμμωνιακά ιόντα. Η αναγωγή αυτή εκτελείται σε δύο στάδια. Το πρώτο στάδιο αφορά στη μετατροπή των νιτρικών ιόντων σε νιτρώδη με απόσπαση δύο ηλεκτρονίων. Η αντίδραση αυτή καταλύεται στο κυτταρόπλασμα από το ένζυμο αναγωγάση των νιτρικών. Ως δότης ηλεκτρονίων προσφέρεται το συνένζυμο NAD(P)H (αντίδραση 1, Barker and Bryson, 2012).



Αντίδραση 1

Οι αναγωγάσες των νιτρικών των ανώτερων φυτών αποτελούνται από δύο υπομονάδες, κάθε μία από τις οποίες περιλαμβάνει τρεις προσθετικές ομάδες: το φλαβινο-αδένινο-δινουκλεοτίδιο (FAD), την αίμη και ένα άτομο μολυβδαινίου. Το μολυβδαινίο σχηματίζει σύμπλοκο με ένα οργανικό μόριο που ονομάζεται πτερίνη.

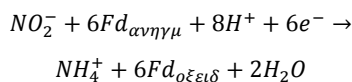
Η αναγωγή των νιτρικών αποτελεί ένζυμο-κλειδί στην αφομοίωση του αζώτου, διαδικασία η οποία απαιτεί ιδιαίτερο ρυθμιστικό έλεγχο προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση των νιτρικών σε τοξικά επίπεδα. Ο έλεγχος αυτός πραγματοποιείται σε διαφορετικά επίπεδα (μεταγραφικό, μεταφραστικό, μετα-μεταφραστικό) και περιλαμβάνει σύνθεση ή αποδόμηση του ενζύμου, αντιστρεπτή απενεργοποίησή του και ρύθμιση δραστηριότητας μέσω της συγκέντρωσης του υποστρώματος. Σε επίπεδο μεταγραφής και μετάφρασης η αναγωγή των νιτρικών ρυθμίζεται από τη συγκέντρωση νιτρικών ιόντων, την ύπαρξη φωτισμού και την επάρκεια σε φωτοσυνθετικά προϊόντα (Herdel *et al.*, 2001). Η αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων στο εδαφικό διάλυμα προκαλεί επαγωγή της σύνθεσης της πρωτεΐνης. Σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο το ένζυμο ενεργοποιείται μέσω αντιστρεπτής φωσφορυλίωσης από παράγοντες όπως η ύπαρξη φωτισμού και τα επίπεδα των υδατανθράκων (Taiz and Zeiger, 2012).

Η δραστηριότητα της αναγωγάσας των νιτρικών γίνεται μέγιστη όσο αυξάνει ο ρυθμός έκτασης του φύλλου, ενώ αντίστοιχα μειώνεται δραστικά στα πλήρως εκπτυγμένα φύλλα. Το γεγονός αυτό ίσως να εξηγεί γιατί περιορίζεται η χρήση των αποθηκευμένων νιτρικών ιόντων στα φύλλα που έχουν εισέλθει στη διαδικασία της γήρανσης.

Στα περισσότερα φυτικά είδη υπάρχει δυνατότητα αναγωγής των νιτρικών τόσο στο βλαστό όσο και στη ρίζα. Η επιμέρους συμβολή των δύο αυτών οργάνων εξαρτάται από τη συγκέντρωση νιτρικών ιόντων του εξωτερικού διαλύματος. Εάν η συγκέντρωση τους είναι χαμηλή, η αναγωγή τους επιτελείται κυρίως στη ρίζα. Όταν η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων του εξωτερικού διαλύματος αυξάνεται, η αναγωγή σε επίπεδο ρίζας καθίσταται περιοριστικός παράγοντας, οπότε αυξάνεται το κλάσμα των νιτρικών που μετακινείται και ανάγεται στο βλαστό. Εκτός αυτού, το είδος του συνοδού ιόντος κατά την μεταφορά των νιτρικών ιόντων διαμέσου των μεμβρανών, επηρεάζει το κλάσμα των νιτρικών ιόντων που ανάγονται στη ρίζα σε σχέση με αυτά που μετακινούνται και ανάγονται στον βλαστό. Εάν το συνοδό ιόν είναι K^+ , η αναγωγή των νιτρικών ιόντων στις ρίζες παραμένει σε χαμηλά επίπεδα, ενώ το αντίθετο συμβαίνει εάν τα συνοδά ιόντα είναι Ca^{2+} ή Na^+ (Hawkesford *et al.*, 2012).

Η αναγωγή του νιτρικών αποτελεί ενεργοβόρο διαδικασία που απαιτεί ενέργεια που ισοδυναμεί σε κατανάλωση 15 mole ATP ανά mole νιτρικών. Στην περίπτωση που η αναγωγή συμβαίνει στα φύλλα, τα ενεργειακά αυτά ισοδύναμα εξασφαλίζονται μέσω της φωτοφωσφορυλίωσης (Scheurwater *et al.*, 2002). Σε συνθήκες έλλειψης ενέργειας (όπως υπό χαμηλό φωτισμό ή κατά την περίοδο της καρποφορίας) η περιορισμένη προμήθεια ισοδυνάμων μπορεί να οδηγήσει κατά τη διάρκεια έντονων αναγκών σε σκελετούς άνθρακα σε ανταγωνισμό μεταξύ της αναγωγής του CO_2 και της αναγωγής των νιτρικών ιόντων. Από την άλλη πλευρά σε συνθήκες υπερτροφοδότησης της φωτοσυνθετικής συσκευής και κινδύνου φωτοοξειδωσής και φωτοπαρεμπόδισής, η αναγωγή των νιτρικών μπορεί να αναδειχτεί σε βαλβίδα εκτόνωσης της υπερπαραγωγής των ενεργειακών ισοδυνάμων (Hawkesford *et al.*, 2012).

Κατά το δεύτερο στάδιο αναγωγής των νιτρικών, τα νιτρώδη ιόντα που προκύπτουν στο κυτταρόπλασμα από το πρώτο στάδιο μεταφέρονται στους χλωροπλάστες των φύλλων και στα πλαστίδια των ριζών. Στα οργανίδια αυτά, ανάγονται από το ένζυμο αναγωγή των νιτρωδών σε αμμωνιακά ιόντα σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση (Barker and Bryson, 2012):



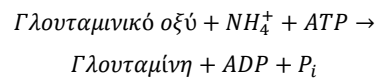
Αντίδραση 2

Η αναγωγή των νιτρωδών στους χλωροπλάστες επιτελείται με μεταφορά 6 ηλεκτρονίων από την ανηγμένη φερρεδοξίνη (η οποία ανάγεται μέσω της φωτοσυνθετικής ροής ηλεκτρονίων) ενώ σε μη φωτοσυνθετικούς ιστούς από το NADPH που παράγεται μέσω της οδού των φωσφορικών πεντοζών (Taiz and Zeiger, 2012). Τα ισοένζυμα της αναγωγής των νιτρωδών που εντοπίζονται στους χλωροπλάστες και τα πλαστίδια των ριζών έχουν ένα κοινό χαρακτηριστικό: αποτελούνται από ένα μόνο πολυπεπτιδίο που περιέχει δύο προσθετικές ομάδες, ένα σύμπλεγμα σιδήρου-θειού και μία εξειδικευμένη αίμη. Η ύπαρξη φωτισμού και η αυξημένη συγκέντρωση νιτρικών επάγουν την μεταγραφή της αναγωγής των νιτρωδών. Αντίθετα η συσσώρευση της ασπαραγίνης και της γλουταμίνης (τα οποία είναι τα τελικά προϊόντα της διαδικασίας) καταστέλλουν την επαγωγή αυτή.

B.2.6.2. Η αφομοίωση των αμμωνιακών ιόντων

Η αφομοίωση των αμμωνιακών ιόντων προς αμινοξέα και αμιδιαι πραγματοποιείται είτε στα μιτοχόνδρια είτε στους χλωροπλάστες. Η κύρια οδός για τη μετατροπή αυτή περιλαμβάνει τις διαδοχικές δράσεις της συνθετάσης της γλουταμίνης και της συνθετάσης του γλουταμινικού οξέος. Η συνθετάση

της γλουταμίνης (GS) καταλύει την προσθήκη αμινομάδας στο γλουταμινικό οξύ, οπότε παράγεται γλουταμίνη (αντίδραση 3).

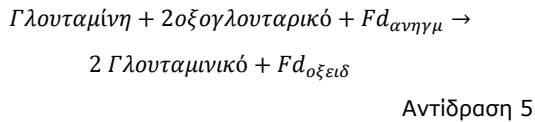
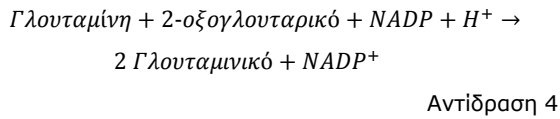


Αντίδραση 3

Η αντίδραση αυτή απαιτεί την υδρόλυση ενός μορίου ATP και την παρουσία ενός δισθενούς κατιόντος όπως το Mg^{2+} ή το Co^{2+} ως συμπράγοντα. Τα φυτά διαθέτουν δύο ισοένζυμα συνθετάσης της γλουταμίνης, ένα που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα και ένα που εντοπίζεται στα πλαστίδια των ριζών ή στους χλωροπλάστες των φωτοσυνθετικών ιστών. Το κυτταροπλασματικό ισοένζυμο εκφράζεται σε βλαστώντα σπέρματα ή στις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες των ριζών και των βλαστών και παράγουν ως φορέα αζώτου γλουταμίνη. Η πλαστιδιακή ισομορφή των ριζών παράγει αμιδιαι (γλουταμίνη, ασπαραγίνη) για τοπική κατανάλωση, ενώ η χλωροπλαστική των βλαστών επαναφομοιώνει τα ιόντα NH_4^+ που παράγονται μέσω φωτοαναπνοής. Η έκφραση των πλαστιδιακών ισομορφών του ενζύμου επηρεάζεται από την ύπαρξη φωτισμού και τα επίπεδα των υδατανθράκων (Taiz and Zeiger, 2012).

Η συνθετάση του γλουταμινικού οξέος (GOGAT) μεταφέρει την αμιδική ομάδα της γλουταμίνης στο ακετογλουταρικό οξύ παράγοντας δύο μόρια γλουταμινικού οξέος. Τα φυτά περιέχουν δύο ισομορφές GOGAT. Η πρώτη δέχεται ηλεκτρόνια από το NADH ενώ η δεύτερη από τη φερρεδοξίνη. Η πρώτη ισομορφή εντοπίζεται σε πλαστίδια των μη φωτοσυνθετικών ιστών όπως ρίζες ή ηθμαγγειώδεις δεσμίδες των αναπτυσσόμενων φύλλων. Στις ρίζες, η συνθετάση του γλουταμινικού οξέος παίζει ρόλο στην αφομοίωση των NH_4^+ που προέρχονται από το εδαφικό διάλυμα, ενώ στις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες αφομοιώνει NH_4^+ που προέρχεται από τη γλουταμίνη (αντιδράσεις

4 και 5) που έχει μεταφερθεί από τις ρίζες ή τα γηρασμένα φύλλα (Taiz and Zeiger, 2012).



B.2.6.3. Ο ρόλος των ενώσεων οργανικού αζώτου χαμηλού μοριακού βάρους

Στα ανώτερα φυτά οι ενώσεις οργανικού αζώτου χαμηλού μοριακού βάρους χρησιμοποιούνται ως ενδιάμεσα παράγωγα κατά την αφομοίωση του ανόργανου αζώτου και τη σύνθεση οργανικών ενώσεων υψηλού μοριακού βάρους. Επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταφορά του αζώτου από τα όργανα-παραγωγούς στα όργανα-καταναλωτές. Οι ενώσεις οργανικού αζώτου χαμηλού μοριακού βάρους χρησιμοποιούνται ως εναλλακτική πηγή αζώτου για τις περιόδους έλλειψης ανόργανου αζώτου (Hawkesford *et al.*, 2012).

Πιο αναλυτικά, προκειμένου να μειωθεί το ενεργειακό κόστος που απαιτείται για την μεταφορά του αφομοιωμένου αζώτου από τη ρίζα στον βλαστό, ο κύριος όγκος του μεταφέρεται με την μορφή αζωτούχων ενώσεων με υψηλή αναλογία N/C (>0,4). Συνεπώς, στον ανιόντα χυμό των ριζών κυριαρχούν τα αμιδία γλουταμίνη (2N/5C) και ασπαραγίνη (2N/4C), το αμινοξύ αργινίνη (4N/6C) και τα ουρεΐδια αλλαντοΐνη και αλλαντοϊκό οξύ (4N/4C) ((Hawkesford *et al.*, 2012).

Σημαντικό ρόλο στη μεταφορά αζώτου παίζουν επίσης ορισμένες ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, όπως οι αμίνες και οι πολυαμίνες, των οποίων η βιοσύνθεση πραγματοποιείται μέσω της

αποκαρβοξυλίωσης αμινοξέων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα της ομάδας αυτής είναι η πουτρεσκίνη της οποίας η συγκέντρωση μπορεί να φθάσει το 1.2% της ξηρής ουσίας των φυτών. Πολύ υψηλή συγκέντρωση πουτρεσκίνης εντοπίζεται σε μεριστωματικούς ιστούς που τροφοδοτούνται με υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών ιόντων ή βρίσκονται σε τροφопενία καλίου (Hawkesford *et al.*, 2012).

B.2.7. Συνέργεια στη θρέψη των φυτών με νιτρικά και αμμωνιακά ιόντα

Από τις πληροφορίες που παρατέθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους γίνεται φανερό ότι τα αμμωνιακά ιόντα θα έπρεπε να έχουν προτίμηση όσον αφορά στην απορρόφησή τους από τις ρίζες αφού η αφομοίωση των αμμωνιακών ιόντων δεν απαιτεί τα τεράστια ποσά ενέργειας που απαιτεί η αφομοίωση των νιτρικών ιόντων (Bloom *et al.*, 1992). Η προτίμηση ενός φυτικού είδους ως προς τα νιτρικά ή αμμωνιακά ιόντα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, τόσο ενδογενείς όσο και περιβαλλοντικούς. Εξ αυτών, οι παράγοντες που σχετίζονται με το εδαφικό περιβάλλον είναι ιδιαίτερα σημαντικοί. Γενικά, έχει παρατηρηθεί ότι όταν τα φυτά τροφοδοτούνται με συνδυασμό αμμωνιακών και νιτρικών ιόντων επιτυγχάνονται υψηλότεροι ρυθμοί ανάπτυξης και υψηλότερες αποδόσεις. Ωστόσο, φυτικά είδη που είναι προσαρμοσμένα να επιβιώνουν σε όξινα εδάφη ή σε εδάφη με χαμηλό δυναμικό οξειδαναγωγής (όπως κατακλυσμένα εδάφη) προτιμούν τα αμμωνιακά ιόντα. Αντίθετα, φυτικά είδη που επιβιώνουν σε ασβεστώδη εδάφη προτιμούν τα νιτρικά ιόντα. Στην περίπτωση που ο εφοδιασμός του φυτού με άζωτο είναι χαμηλός και οι συγκεντρώσεις των δύο ειδών ιόντων είναι παρόμοιες, απορροφώνται κατά προτίμηση τα αμμωνιακά ιόντα. Επίσης εντονότερη απορρόφηση

αμμωνιακών συμβαίνει όταν μειώνονται οι θερμοκρασίες του περιβάλλοντος ενώ σε θερμοκρασίες κάτω από 5 °C, η απορρόφηση των νιτρικών ιόντων σταματά (Hawkesford *et al.*, 2012).

Καθώς τα νιτρικά ή τα αμμωνιακά ιόντα συνιστούν το 80% των συνολικών κατιόντων και ανιόντων που προσλαμβάνονται από τα φυτά, γίνεται αντιληπτό ότι η μορφή με την οποία απορροφώνται είναι δυνατό να επηρεάσει την πρόσληψη άλλων κατιόντων ή ανιόντων, την ρύθμιση του κυτταρικού pH και του pH της ριζόσφαιρας. Η αφομοίωση των αμμωνιακών ιόντων στις ρίζες παράγει ένα πρωτόνιο ανά μόριο αμμωνίου. Τα πρωτόνια αυτά εκκρίνονται κατά ένα μεγάλο μέρος στο εξωτερικό μέσο με σκοπό τη διατήρηση σταθερού κυτταρικού pH και ουδέτερου ηλεκτρικού δυναμικού το οποίο αντισταθμίζει την πλεονασματική πρόσληψη κατιόντων έναντι ανιόντων. Στην περίπτωση της θρέψης του φυτού και με τα δύο είδη ιόντων, τα πρωτόνια που απελευθερώνονται κατά την αφομοίωση του αμμωνιακού ιόντος μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναγωγή των νιτρικών ιόντων, καθιστώντας πιο εύκολη για το φυτό τη ρύθμιση του ενδοκυτταρικού pH (Hawkesford *et al.*, 2012).

Η χημεία της ριζόσφαιρας επίσης επηρεάζεται από το είδος του ιόντος. Η τροφοδοσία με αμμωνιακά ιόντα είναι δυνατόν να μειώσει το pH της ριζόσφαιρας λόγω έκκρισης πρωτονίων ενώ η τροφοδοσία του φυτού με νιτρικά ιόντα να το αυξήσει, διότι οδηγεί σε μία καθαρή πρόσληψη πρωτονίων από τη ριζόσφαιρα. Οι αλλαγές στο pH έχουν επίδραση στην διαθεσιμότητα των άλλων θρεπτικών στοιχείων όπως του φωσφόρου και των ιχνοστοιχείων.

Η μορφή με την οποία το άζωτο προσλαμβάνεται από το φυτό είναι σημαντική για τη βιοσύνθεση και τη λειτουργία ορισμένων φυτο-ορμονών και ιδιαίτερα των

κυτοκινινών. Για παράδειγμα τα ένζυμα που εμπλέκονται στην βιοσύνθεση των κυτοκινινών επάγονται από τη θρέψη του φυτού με νιτρικά ιόντα και όχι με άλλο θρεπτικό στοιχείο. Ακόμα και όταν η ανάπτυξη ενός φυτού επιτελείται κυρίως με αμμωνιακά ιόντα, τα νιτρικά ιόντα είναι επωφελή επειδή προκαλούν ένα συνδυασμένο αποτέλεσμα στα επίπεδα κυτοκινινών και IAA του βλαστού. Αντίθετα αν ένα φυτό αναπτύσσεται σχεδόν αποκλειστικά με νιτρικά ιόντα, καθυστερεί να εισέλθει στην αναπαραγωγική φάση λόγω της υπερβολικής συγκέντρωσης κυτοκινινών. Σε αυτή την περίπτωση ο εφοδιασμός του φυτού με αμμωνιακά μπορεί να επάγει την άνθηση, πιθανόν αυξάνοντας την βιοσύνθεση των πολυαμινών που λειτουργούν ως δευτερογενή σηματοδοτικά μόρια (Hawkesford *et al.*, 2012).

B.2.8. Τοξικότητα αμμωνίου

Η πρόσληψη αμμωνιακών ιόντων σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να προκαλέσει της εμφάνιση τοξικών συμπτώματα στα φυτά. Τα συμπτώματα της τοξικότητας αμμωνίου συμπεριλαμβάνουν χλώρωση των φύλλων, καχεξία στην ανάπτυξη, νεκρωτικές κηλίδες στα φύλλα και τελικά νέκρωση του φυτού. Παρότι η τοξικότητα που επιφέρουν τα αμμωνιακά ιόντα στο φυτικό μεταβολισμό δεν έχει πλήρως κατανοηθεί, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι πιθανόν οφείλεται: α) στην παρεμπόδιση πρόσληψης κατιονικών θρεπτικών στοιχείων, β) σε αδυναμία ρύθμισης του pH του κυττάρου, γ) σε διαταραχές του μεταβολισμού του άνθρακα επειδή η αφομοίωση των αμμωνιακών ιόντων απαιτεί την κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων υδατανθράκων και δ) στην οξίνιση της ριζόσφαιρας που επάγεται από την πρόσληψη των αμμωνιακών μπορεί να οδηγήσει σε τοξικότητα αργιλίου, ιδιαίτερα σε όξινα εδάφη (Hawkesford *et al.*, 2012).

B.2.9. Συμπτώματα έλλειψης και υπερεπάρκειας αζώτου

α) Σε επίπεδο φυτικού οργανισμού

Η έλλειψη αζώτου περιορίζει την ανάπτυξη όλων των φυτικών οργάνων. Το φύλλωμα των φυτών με έλλειψη αζώτου παρουσιάζει ανοιχτό φωτεινό πράσινο έως κίτρινο χρωματισμό. Η απώλεια του πράσινου χρωματισμού είναι καθολική σε όλη την επιφάνεια του ελάσματος του φύλλου. Εάν οι συνθήκες έλλειψης αζώτου επικρατούν καθ' όλη τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου, τα φυτά παραμένουν καχεκτικά με ανοιχτό χρώμα. Εάν η έλλειψη αζώτου επικρατήσει κατά την φάση της βλαστητικής ανάπτυξης, το στοιχείο κινητοποιείται από τα κατώτερα φύλλα προς τα νεώτερα, με αποτέλεσμα τα παλαιότερα φύλλα να παρουσιάζουν ανοιχτό πράσινο χρωματισμό ενώ σε περίπτωση σοβαρής έλλειψης τα κατώτερα φύλλα αναπτύσσουν καστανό χρωματισμό και απορρίπτονται. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ακόμα και σε συνθήκες επάρκειας αζώτου, επειδή τα κατώτερα φύλλα προμηθεύουν με άζωτο τους καρπούς και τα σπέρματα, μπορεί να εμφανίσουν συμπτώματα τροφopenίας. Επομένως στις περιπτώσεις αυτές τα συμπτώματα αυτά δεν αποτελούν ένδειξη ότι η καλλιέργεια αναπτύχθηκε σε συνθήκες έλλειψης αζώτου, αλλά υποδηλώνουν μεταφορά του στοιχείου από τα παλαιότερα φύλλα σε άλλα όργανα με αυξημένες ανάγκες (Barker and Bryson, 2012).

β) σε επίπεδο χλωροπλάστων

Στους χλωροπλάστες εντοπίζεται ένα σημαντικό ποσοστό του αζώτου των φύλλων (25-75%), ενσωματωμένο κυρίως σε πρωτεΐνες του στρώματος ή των θυλακοειδών. Οι χλωροπλάστες των τροφopenιακών φυτών εμφανίζουν κυκλική αντί της φυσιολογικής ελλειπτικής μορφής και σε ορισμένες περιπτώσεις διόγκωση. Η έλλειψη αζώτου επιφέρει μείωση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών και αλλοίωση της λεπτής δομής των θυλακοειδών (μειώνεται ο αριθμός τους και καθίστανται περισσότερο δυσδιάκριτα). Η απώλεια των πρωτεϊνών και η αλλοίωση των μεμβρανικών δομών συνοδεύεται και από μείωση του περιεχομένου σε χλωροφύλλες, η οποία προκαλεί χλώρωση των τροφopenιακών φύλλων (Barker and Bryson, 2012).

B.2.10. Αποδοτικότητα της χρήσης των αποθεμάτων αζώτου (*PNUE*)

Ως αποδοτικότητα της χρήσης των αποθεμάτων αζώτου στο φωτοσυνθετικό έργο (*PNUE*) ορίζεται ο λόγος της φωτοσυνθετικής ικανότητας (A_{max}) προς την συγκέντρωση αζώτου του φύλλου (A_{max}/N). Η παράμετρος αυτή επιτρέπει την αξιολόγηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης ανά μονάδα επενδεδυμένου αζώτου. Το άζωτο αποτελεί βασικό συστατικό ενώσεων (όπως οι χλωροφύλλες) και ενζύμων που λαμβάνουν μέρος στην φωτοσύνθεση, με ένα σημαντικό ποσοστό του στοιχείου επενδύεται στην βιοσύνθεση της Rubisco που καταλύει την βασική αντίδραση καρβοξυλίωσης στους χλωροπλάστες (Evans, 1989).

Γ. Αλληλεπίδραση παραγόντων καταπόνησης

Τόσο στα φυσικά όσο και στα αγροτικά οικοσυστήματα, τα φυτά βρίσκονται αντιμέτωπα με περισσότερους του ενός παράγοντες καταπόνησης. Σε πειράματα στα οποία εξετάζεται η επίδραση ενός μόνο παράγοντα καταπόνησης η περιγραφή των επιπτώσεων είναι σχετικά ευχερής. Στην περίπτωση ωστόσο της συνύπαρξης περισσοτέρων του ενός παραγόντων καταπόνησης, η επίδραση του ενός επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την έκβαση της αντίδρασης του φυτού σε έναν δεύτερο παράγοντα καταπόνησης. Οι παράγοντες καταπόνησης που συνυπάρχουν σε μια δεδομένη χρονική στιγμή στο περιβάλλον μπορεί να αλληλεπιδρούν με διαφορετικούς τρόπους. Εάν η αλληλεπίδραση έχει ως αποτέλεσμα η επίδραση του ενός παράγοντα καταπόνησης να επαυξάνει τη ζημιογόνο δράση ενός δεύτερου παράγοντα, ονομάζεται συνεργιστική. Εάν αντίθετα η επίδραση του ενός παράγοντα καταπόνησης μειώνει τη ζημιογόνο δράση ενός δεύτερου παράγοντα, ονομάζεται ανταγωνιστική. Η περίπτωση των ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων αναφέρεται και ως διασταυρούμενη ανθεκτικότητα. Κατ' αυτή, οι μηχανισμοί που επάγονται ως απάντηση στην ύπαρξη ενός παράγοντα καταπόνησης (π.χ. συμβατοί οσμωλύτες στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης) λειτουργούν ευνοϊκά για την αντιμετώπιση ενός άλλου παράγοντα καταπόνησης (π.χ. χαμηλές θερμοκρασίες).

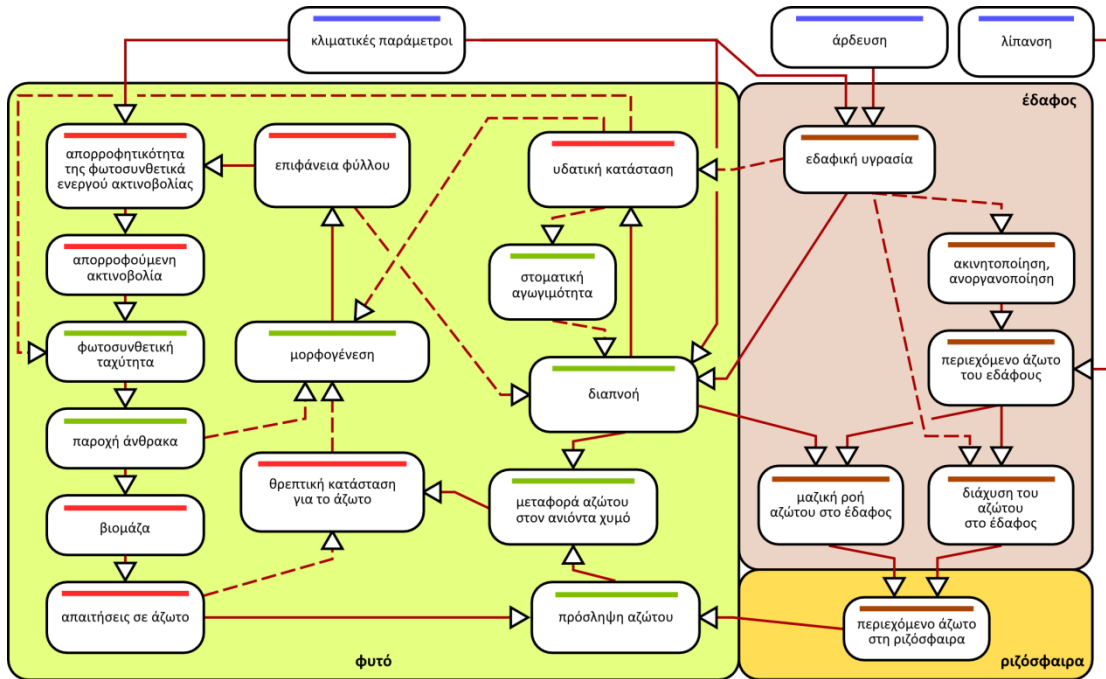
Οι αντιδράσεις αυτές αντανακλούν αλληλεπίδραση στο μοριακό επίπεδο αφού η έκφραση ορισμένων γονιδίων επάγεται από περισσότερους του ενός παράγοντες καταπόνησης. Πολλές ρυθμιστικές ακολουθίες οι οποίες ενεργοποιούν συγκεκριμένους μεταγραφικούς παράγοντες ενεργοποιούνται από περισσότερους του ενός παράγοντες καταπόνησης. Επίσης, ένα δεδομένο γονίδιο μπορεί να ενεργοποιηθεί

ή να ρυθμιστεί θετικά από διαφορετικά σηματοδοτικά μονοπάτια, δηλαδή από μια ποικιλία μεταγραφικών παραγόντων, οι οποίοι ενεργοποιούνται από διαφορετικά ερεθίσματα καταπόνησης. Αυτό εξυπηρετεί στις περιπτώσεις όπου οι παράγοντες καταπόνησης συνυπάρχουν διότι κοινά συστατικά της γονιδιακής ρύθμισης συνδέονται με ορισμένες κοινές αντιδράσεις των φυτικών κυττάρων οι οποίες ενισχύουν την ανθεκτικότητα.

Από την άλλη μεριά, η αντίδραση ενός φυτού στο συνδυασμό δύο ή περισσοτέρων παραγόντων καταπόνησης είναι μοναδική και δεν μπορεί να περιγραφεί ως το άθροισμα των αντιδράσεων σε κάθε επιμέρους παράγοντα καταπόνησης. Συνεπώς, η αλληλεπίδραση παραγόντων καταπόνησης αντιμετωπίζεται από το φυτό ως μια ιδιαίτερη κατάσταση καταπόνησης η οποία απαιτεί την κατάλληλη απάντηση (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

Γ.1. Αλληλεπίδραση υδατικής καταπόνησης και έλλειψης αζώτου

Το νερό και το άζωτο αποτελούν τους κυριότερους αναπτυξιακούς πόρους και συνήθως τους σημαντικότερους περιοριστικούς παράγοντες της γεωργικής παραγωγής στις περισσότερες περιοχές του πλανήτη, ιδιαίτερα στις ξηρές και ημίξηρες βιοκλιματικές ζώνες. Η κάλυψη της απαίτησης συνεχούς αύξησης της παραγωγής τροφίμων σε παγκόσμιο επίπεδο εξαρτάται από τη διαφύλαξη και αξιοποίηση των διαθέσιμων εδαφικών πόρων στο παρόν (κυρίως το νερό και τα θρεπτικά στοιχεία) και το άμεσο μέλλον. Το υψηλό οικονομικό και περιβαλλοντικό κόστος των καταχρηστικών πρακτικών χρήσης νερού και αζώτου στη γεωργική παραγωγή στις



Εικόνα 6. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ παραμέτρων του φυτού και του εδαφοκλιματικού περιβάλλοντος και λειτουργιών του φυτού στη θρέψη με άζωτο υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι τρεις βασικές περιοχές: έδαφος, ριζόσφαιρα, φυτό. Κάθε παράμετρος ή λειτουργία ανήκει σε μια κατηγορία (καστανό: εδαφολογικές παράμετροι, κυανό: κλιματολογικές παράμετροι ή καλλιεργητικοί χειρισμοί, ερυθρό: θεμελιώδεις ανατομικές ή φυσιολογικές παράμετροι, πράσινο: λειτουργίες του φυτού). Με συνεχείς γραμμές απεικονίζονται οι ροές ύλης ή ενέργειας ενώ με διακεκομμένες γραμμές οι αλληλεπιδράσεις (Gonzalez-Dugo et al., 2010 με τροποποίηση).

προηγούμενες δεκαετίες δικαιολογεί πλέον τον χαρακτηρισμό των πρακτικών αυτών ως μη βιώσιμων (Stevens *et al.*, 2004; Jury *et al.*, 2005).

Η επίδραση της έλλειψης νερού στην θρεπτική κατάσταση των φυτών σε άζωτο περιλαμβάνει τις επιπτώσεις τόσο στο επίπεδο του εδάφους (λόγω της διαθεσιμότητας ή μη του ανόργανου αζώτου για πρόσληψη από τις ρίζες) όσο και στο επίπεδο του φυτικού οργανισμού. Η διαθεσιμότητα νερού καθορίζει το κέρδος σε άνθρακα (μέσω της διαπνοής) και την κατανομή του (μέσω της αύξησης του φυτικού σώματος). Παράλληλα προσδιορίζει τις απαιτήσεις του φυτού σε άζωτο όπως και το ρυθμό αφομοίωσής του και την κατανομή του (Gonzalez-Dugo *et al.*, 2010). Οι πολύπλοκες αυτές σχέσεις παρουσιάζονται σχηματικά στην εικόνα 6.

Γ.1.1. Η επίδραση της έλλειψης νερού στην δυναμική της θρέψης του φυτού με άζωτο

Τα δεδομένα της βιβλιογραφίας συνηγορούν ότι η θρεπτική κατάσταση των φυτών σε άζωτο επηρεάζεται από την βραχυπρόθεσμη ή μεσοπρόθεσμη έλλειψη νερού. Σε πειράματα στο φυτό *Festuca* αναλύθηκε η επίδραση της ξηρασίας στην σχέση μεταξύ ρυθμού αύξησης και περιεχομένου σε άζωτο του βλαστού και διαπιστώθηκε ότι οι ελλειμματικές σε νερό μεταχειρίσεις εμφάνιζαν χαμηλότερη τιμή NW ¹ σε σχέση με τις αρδευόμενες. Επιπρόσθετα, η διαφορά

¹ Nitrogen Nutrition Index (NW) αναφέρεται στο λόγο της πραγματικής συγκέντρωσης αζώτου ως προς την κρίσιμη συγκέντρωση αζώτου της ξηρής ουσίας του βλαστού ώστε να επιτευχθεί ο μέγιστος ρυθμός αύξησης. Αποτελεί δείκτη της θρεπτικής κατάστασης σε άζωτο των φυτών μιας καλλιέργειας. Όταν το άζωτο δεν είναι περιοριστικός παράγοντας για την αύξηση, ο λόγος λαμβάνει τιμές μεγαλύτερες του 1.

αυτή εντάθηκε όταν το ποσό του διαθέσιμου αζώτου αυξήθηκε (Onillon *et al.*, 1995).

Οι Gonzalez-Dugo *et al.* (2005) σε πειράματα στα κτηνοτροφικά φυτά *Festuca* και *Lolium* sp. παρατήρησαν διαφοροποιήσεις στη θρεπτική κατάσταση των φυτών σε άζωτο, δεδομένου ότι τα δύο είδη έδειξαν σημαντική διαφορά στο ρυθμό αύξησης όπως και στην αρχιτεκτονική του ριζικού συστήματος όταν το νερό και το άζωτο ήταν περιοριστικοί παράγοντες. Το *Lolium* εμφάνισε χαμηλό ρυθμό αύξησης και υψηλό ποσοστό λεπτών ριζών (fine roots) ενώ το *Festuca* υψηλό ρυθμό αύξησης, παχύτερες και βαθύτερες ρίζες. Συνεπώς, το *Festuca* παρουσιάστηκε περισσότερο ευαίσθητο στη ανεπάρκεια αζώτου που προκλήθηκε από την έλλειψη νερού, διότι αφενός δεν μπορούσε να υποστηρίξει τον υψηλό ρυθμό αύξησης και αφετέρου η αρχιτεκτονική των ριζών δεν επέτρεπε επαρκή πρόσληψη αζώτου.

Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η ανεπαρκής εδαφική υγρασία επιφέρει μειωμένη ανάπτυξη της καλλιέργειας η οποία οδηγεί σε μειωμένη πρόσληψη αζώτου και συνεπώς σε χαμηλές τιμές του δείκτη αποδοτικής χρήσης του αζώτου (NUE^2 , Aulakh and Malhi (2005)).

² Ο δείκτης της αποδοτικής χρήσης του αζώτου είναι ο λόγος της παραγόμενης βιομάζας ανά μονάδα απορροφημένου αζώτου. Είναι συνισταμένη της αποτελεσματικότητας του φυτού να απορροφά από το έδαφος το διαθέσιμο άζωτο και της ικανότητας του να το χρησιμοποιεί για να παράγει βιομάζα (Hawkesford *et al.*, 2012)).

Γ.1.2. Η επίδραση της έλλειψης νερού στις απαιτήσεις των φυτών σε άζωτο

Γ.1.2.1. Αύξηση της βιομάζας του φυτού

Η φυσιολογική διεργασία που επηρεάζεται περισσότερο από κάθε άλλη από την έλλειψη νερού είναι η έκπτυξη των φύλλων. Επειδή τα φύλλα εμφανίζουν υψηλό περιεχόμενο σε άζωτο κατά τη διάρκεια του πρώιμου αναπτυξιακού σταδίου, είναι επόμενο οι απαιτήσεις του φυτού σε άζωτο να μειώνονται δραστικά όταν οι συνθήκες έλλειψης νερού εμφανίζονται κατά τη διάρκεια του σταδίου αυτού. Η έλλειψη νερού κατά τη φάση του εκθετικού ρυθμού αύξησης του φύλλου περιορίζει τη φωτοσυνθετική ενεργό επιφάνεια προκαλώντας μείωση του ρυθμού αφομοίωσης του άνθρακα και της διαπνοής. Όταν ο δείκτης φυλλικής επιφάνειας (LAI) λαμβάνει τιμές μικρότερες του 3, το ποσοστό της φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολίας (PAR) που απορροφάται από το φύλλωμα είναι πολύ μικρότερο της δυνητικά μέγιστης τιμής (Akmal and Janssens, 2004). Λόγω του γεγονότος αυτού, οι ανάγκες του φυτού σε άζωτο περιορίζονται περαιτέρω (Nielsen and Halvorson, 1991). Υπό τις συνθήκες αυτές μπορεί να εμφανιστεί το παράδοξο, για το ίδιο ποσό προσλαμβανόμενου αζώτου, ένα ποτισμένο φυτό να εμφανίζει τροφопενία αζώτου ενώ ένα φυτό που εκτίθεται περιοδικά σε περιόδους ξηρασίας (για παράδειγμα μεταξύ περιόδων βροχόπτωσης) να έχει μικρότερο μέγεθος, αλλά να εμφανίζει άριστη θρεπτική κατάσταση (Gonzalez-Dugo *et al.*, 2005). Είναι προφανές ότι στη διάρκεια του εγκλιματισμού τα καταπονημένα φυτά αποκτούν σταδιακά ρυθμούς ανάπτυξης που δεν απαιτούν υψηλές εισροές αζώτου (Durand *et al.*, 1995; Jeuffroy *et al.*, 2002). Αντίθετα, όταν σε ένα φυτό επιβάλλεται

έντονη υδατική καταπόνηση για μεγάλο χρονικό διάστημα, έτσι ώστε να μην δίνεται η δυνατότητα του εγκλιματισμού, δημιουργούνται συνθήκες έλλειψης αζώτου. Λόγω αυτής, περιορίζεται η φωτοσύνθεση καθώς η φωτοσυνθετική ταχύτητα εξαρτάται και από την συγκέντρωση της Rubisco και των χλωροφυλλών των οποίων σύνθεση απαιτεί σημαντικά ποσά αζώτου. Η αλληλεπίδραση μεταξύ έλλειψης νερού και αζώτου μπορεί να επηρεάζει και τις παραμέτρους ανταλλαγής αερίων. Σύμφωνα με τους Broadley *et al.* (2001), η μείωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας στο μαρούλι σε συνθήκες έλλειψης αζώτου οφείλεται στην μείωση της στοματικής αγωγιμότητας ενώ κατά τους Jacob *et al.* (1995) από στην μείωση της αγωγιμότητας στο επίπεδο του μεσοφύλλου.

Οι αλλαγές που επέρχονται στη φωτοσύνθεση προκαλούν στο φυτό την έναρξη πενίας άνθρακα η οποία οδηγεί σε μία σηματοδοτική ακολουθία μέσω υδατανθράκων για την αναδιοργάνωση του κυτταρικού μεταβολισμού. Η πενία άνθρακα, σε συνδυασμό με τις αλλαγές στην αναλογία C/N και στην υδραυλική αγωγιμότητα, είναι οι μεγαλύτερες απειλές που καλείται να αντιμετωπίσει το φυτό σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (McDowell, 2011). Επίσης, υπό αυτές τις συνθήκες, η δαπάνη ενέργειας για την μετατροπή του αζώτου σε χρησιμοποιήσιμες μορφές είναι πολύ μεγάλη (Pinheiro and Chaves, 2011). Είναι ενδιαφέρον ότι σε φυτά *Arabidopsis* που υφίστανται καταπόνηση από έλλειψη υδατανθράκων εξαιτίας της παραμονής τους σε παρατεταμένο σκότος, η συνθετάση της ασπαραγίνης εμφάνισε ιδιαίτερα έντονη δραστηριότητα. Επειδή η ασπαραγίνη αποτελεί το κύριο μόριο μεταφοράς αζώτου σε συνθήκες καταπόνησης, πιθανόν η αυξημένη δραστηριότητα της συνθετάσης της ασπαραγίνης να δείχνει ότι, η επανεκκίνηση του αζώτου σε συνθήκες πενία άνθρακα είναι ζωτικής σημασίας (Gaufichon *et al.*, 2010).

Γ.1.2.2. Η αναλογία ρίζας/βλαστού και οι ανάγκες του φυτού σε άζωτο

Σε συνθήκες έλλειψης νερού, η αναλογία υπόγειου προς υπέργειο μέρος τείνει να αυξηθεί, αφού στις συνθήκες αυτές δίδεται προτεραιότητα στην αύξηση του ριζικού συστήματος. Σε ορισμένες ακραίες περιπτώσεις το ριζικό σύστημα συνεχίζει να επεκτείνεται ενώ η αύξηση του υπέργειου τμήματος παρεμποδίζεται πλήρως (Wu *et al.*, 1996). Δεδομένου ότι η ανάπτυξη των ριζών απαιτεί πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις αζώτου σε σύγκριση με το υπέργειο μέρος, οι τροποποιήσεις στην κατανομή του αζώτου περιορίζουν συνολικά τις ανάγκες του φυτού σε άζωτο. Ωστόσο οι θετικές επιδράσεις της υδατικής καταπόνησης στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος δεν εξασφαλίζουν απαραίτητα και ευνοϊκότερες συνθήκες θρέψης σε άζωτο διότι συνήθως οι περιοχές του εδάφους που αποικούν οι νέες ρίζες βρίσκονται βαθύτερα από τους πλούσιους σε άζωτο επιφανειακούς εδαφικούς ορίζοντες (Gonzalez-Dugo *et al.*, 2010).

Γ.1.3. Η επίδραση της έλλειψης νερού στην τροφοδοσία του φυτού με άζωτο

Το μέγεθος των αποθεμάτων του εδάφους σε νιτρικά και αμμωνιακά ιόντα αντικατοπτρίζει το ισοζύγιο μεταξύ των εισροών αζώτου (ανοργανοποίηση, ακινητοποίηση του αζώτου στη μικροβιακή βιομάζα ή στα συστατικά του εδάφους, νιτροποίηση, κ.λπ.) και των απωλειών του (πρόσληψη αζώτου από τα φυτά, απώλειες προς την ατμόσφαιρα μέσω της απονιτροποίησης, κ.λπ., Lemaire *et al.* (2004)). Οι εισροές που βασίζονται στην μικροβιακή εδαφική χλωρίδα επηρεάζονται από τη θερμοκρασία και το περιεχόμενο του εδάφους σε νερό. Σύντομοι περίοδοι ξηρασίας (διάρκειας μικρότερης των δύο μηνών)

προκαλούν περιορισμό της μικροβιακής δραστηριότητας του εδάφους, ωστόσο δεν έχουν καταστροφικά αποτελέσματα, αφού η μικροβιακή κοινότητα ανακάμπτει μετά από την επανύγρανση του εδάφους (Smolander *et al.*, 2005). Αν και η επίδραση της ξηρασίας στη μικροβιακή βιομάζα, τη νιτροποίηση και την ανοργανοποίηση είναι ευρέως μελετημένη σε διαφορετικούς τύπους βλάστησης, δεν φαίνεται ότι η επίδραση της έλλειψης νερού στην μακροχρόνια διαθεσιμότητα του ανόργανου αζώτου ακολουθεί ένα γενικευμένο πρότυπο (Gonzalez-Dugo *et al.*, 2010).

Όπως έχει προαναφερθεί, η μετακίνηση του ανόργανου αζώτου προς τις ρίζες γίνεται κυρίως μέσω του μηχανισμού της μαζικής ροής, με την προϋπόθεση ότι υπάρχει κίνηση του εδαφικού νερού προς τις ρίζες. Το νερό κατά την κίνηση του εντός του εδάφους και προς τις ρίζες του φυτού, συμπαρασύρει θρεπτικά στοιχεία (ανιόντα, κατιόντα και διαλυτά οργανικά μόρια). Όταν επικρατεί υψηλός ρυθμός διαπνοής, ο οποίος συντηρείται από τα ανοιχτά στόματα των φύλλων και την επάρκεια εδαφικού νερού, είναι δυνατόν το ρεύμα του νερού προς τις ρίζες να προκαλέσει υψηλό ρυθμό πρόσληψης του αζώτου (van Keulen, 1981). Το γεγονός αυτό προκαλεί συσσώρευση των ιόντων στη ριζόσφαιρα και αραιώση των ιόντων στον ανιόντα χυμό. Αυτό συμβαίνει διότι η μεταφορά των ιόντων διαμέσου του πρωτοπλάστη των κυττάρων της ρίζας είναι μια σχετικά αργή διαδικασία που πραγματοποιείται με δαπάνη ενέργειας και είναι ανεξάρτητη της συγκριτικά ταχύτερης κίνησης του νερού διαμέσου των μεμβρανών. Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης ο ρυθμός διαπνοής μειώνεται εξαιτίας του γεγονότος ότι τα στόματα κλείνουν. Στην περίπτωση αυτή η συγκέντρωση των ιόντων στη ριζόσφαιρα μπορεί να μειωθεί διότι η μεταφορά των ιόντων διαμέσου των μεμβρανών συνεχίζει αμείωτη παρόλο που η ροή του νερού μειώνεται. Λόγω του φαινομένου

αυτού, η διαβάθμιση στις συγκεντρώσεις των ιόντων γίνεται εντονότερη, καθιστώντας τη διάχυση ως το κυριότερο τρόπο μετακίνησης των ιόντων από το εδαφικό διάλυμα προς την επιφάνεια της ρίζας (Porporato *et al.*, 2003). Ωστόσο, η διάχυση εξαρτάται ισχυρά όχι μόνο από την υγρασία αλλά και από το πορώδες του εδάφους. Γενικότερα, η πρόσληψη των ανιόντων σχετίζεται και με την αρχιτεκτονική του ριζικού συστήματος και με καθοριστικής σημασίας παραμέτρους, όπως η πυκνότητα και η διασπορά των ριζών (van Keulen, 1981). Οι Vamerali *et al.* (2003) μελέτησαν το συνδυασμό υδατικής καταπόνησης και έλλειψης αζώτου σε δύο υβρίδια καλαμποκιού και παρατήρησαν ότι το πλέον ευαίσθητο υβρίδιο ακολούθησε τη στρατηγική της αποφυγής εμφανίζοντας την τάση να εκμεταλλευτεί ευκαιρικά τα αποθέματα νερού και θρεπτικών στοιχείων, υιοθετώντας παράλληλα μια περισσότερο αποτελεσματική διαμόρφωση του ριζικού του συστήματος. Αντίθετα η πιο ανθεκτική ποικιλία στο συνδυασμό των καταπονήσεων επέλεξε να περιορίσει τόσο την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, όσο και το ρυθμό διαπνοής.

Όπως έχει προαναφερθεί, δύο οικογένειες πρωτεϊνών-μεταφορέων ευθύνονται για τη μεταφορά των νιτρικών και των αμμωνιακών ιόντων διαμέσου της μεμβράνης των κυττάρων της ρίζας. Οι υψηλής συγγένειας μεταφορείς, οι οποίοι λειτουργούν σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης των ιόντων στο εδαφικό διάλυμα και οι χαμηλής συγγένειας μεταφορείς οι οποίοι λειτουργούν παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων στο εδαφικό διάλυμα. Οι υψηλές συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων στο εδαφικό διάλυμα είναι συνηθισμένο φαινόμενο σε συνθήκες έλλειψης νερού του εδάφους. Οι Matzner and Richards (1996) κατέληξαν ότι η διαφοροποίηση που παρατηρείται στην πρόσληψη του αζώτου από την

ρίζα του φυτού *Artemisia tridentata* σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης οφείλεται μάλλον στην διαφορετική ευαισθησία που παρουσιάζουν τα πρωτεϊνικά συστήματα μεταφοράς στην υδατική καταπόνηση. Ο Larsson (1992) έδειξε ότι η πρόσληψη του αζώτου στο σιτάρι μειώνεται εντυπωσιακά σε συνθήκες ωσμωτικής καταπόνησης. Η επίδραση αυτή φαίνεται να σχετίζεται περισσότερο με την υδατική κατάσταση ολόκληρου του φυτού παρά με το ωσμωτικό περιβάλλον της ρίζας. Επίσης η συσσώρευση των νιτρικών ιόντων στην ρίζα αποτελεί ενδεχομένως το αίτιο της παρεμπόδισης της πρόσληψης αζώτου (Larsson, 1992).

Είναι προφανές ότι η διαδικασία που ελέγχουν την πρόσληψη αζώτου σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης απαιτούν λεπτομερέστερη διερεύνηση τόσο σε μοριακό επίπεδο (συστήματα μεταφοράς) όσο και σε φυσιολογικό- ανατομικό επίπεδο (τροποποιήσεις λειτουργιών και δομών).

Γ.1.4 Η αντίδραση των φυσιολογικών μηχανισμών που σχετίζονται με τη θρέψη σε άζωτο σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης

Γ.1.4.1. Η αφομοίωση του αζώτου στους φυτικούς ιστούς

Σε συνθήκες έλλειψης νερού, τα φυτικά είδη που ανάγουν τα νιτρικά ιόντα στα φύλλα θεωρούνται αποδοτικότερα έναντι αυτών στα οποία η αναγωγή λαμβάνει χώρα στις ρίζες, επειδή στη δεύτερη περίπτωση το ενεργειακό κόστος της αναγωγής είναι υψηλότερο (Raven, 1985). Σύμφωνα με τους Lawlor and Cornic (2002), η έλλειψη νερού επηρεάζει περισσότερο την αφομοίωση, παρά την διαδικασία πρόσληψης του αζώτου από το έδαφος, διότι στις

συνθήκες αυτές μειώνεται η δραστηριότητα της αναγωγής των νιτρικών.

Γ.1.4.2. Η μεταφορά του αζώτου διαμέσου των αγγείων του ξύλου

Οι Bahgun *et al.* (2002), λαμβάνοντας υπόψη ότι η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων σε απόβια φυτά καλαμποκιού μειώθηκε κατά πολύ περισσότερο από 50% σε σύγκριση με τα ποτισμένα φυτά, υπέθεσαν ότι το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να αποδοθεί και στην μειωμένη μεταφορά του αζώτου προς τον βλαστό. Ωστόσο η σχέση μεταξύ της ροής του ανιόντος χυμού και της σύστασής του σε ιόντα φαίνεται να είναι αρκετά πολύπλοκη. Σε συνθήκες απρόσκοπτης τροφοδοσίας των φυτών με νερό, η αύξηση των διαλυμένων ουσιών στον ανιόντα χυμό μειώνει την υδραυλική αντίσταση των αγγείων του ξύλου (Zwieniecki *et al.*, 2001). Συνεπώς για δεδομένο ρυθμό διαπνοής, η ροή του νερού στα αγγεία του ξύλου μπορεί να ενισχυθεί εφόσον η συγκέντρωση των διαλυμένων ουσιών αυξηθεί. Ωστόσο, σε συνθήκες έλλειψης νερού, αν η αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυμένων ουσιών οφείλεται μόνο στην μείωση του όγκου του διαλύτη, το ρεύμα του ανιόντος χυμού θα μειωθεί (Gonzalez-Dugo *et al.*, 2010). Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο σιτάρι, η αύξηση του οσμωτικού δυναμικού του θρεπτικού διαλύματος προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης του αζώτου αγγεία του ξύλου, ωστόσο δεν αντιστάθμισε την μείωση του ρυθμού διαπνοής. Ως συνέπεια αυτού, η διανομή των νιτρικών ιόντων στον βλαστό μειώθηκε (Larsson *et al.*, 1989). Αντίθετα, οι Nicolas *et al.* (1985) έδειξαν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του αζώτου στον ανιόντα χυμό αντιστάθμισε το χαμηλό διαπνευστικό ρεύμα και κατά συνέπεια το ποσό του αζώτου που έφτασε στον βλαστό διατηρήθηκε

σταθερό παρόλο που τα φυτά αντιμετώπισαν υδατική καταπόνηση.

Γ.1.4.3. Τα νιτρικά ιόντα ως σήμα συναγερμού σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης

Τα νιτρικά ιόντα (από κοινού με τις μεταβολές στις συγκεντρώσεις του αμψισικού οξέος και των κυτοκινινών και την αύξηση του pH του ανιόντος χυμού) θεωρούνται ένα σήμα συναγερμού που προέρχεται από τις ρίζες και πληροφορεί το υπέργειο μέρος του φυτού για την έλλειψη νερού στο περιβάλλον της ρίζας (Wilkinson *et al.*, 2007). Έχει ήδη αναφερθεί ότι η μεταφορά των νιτρικών ιόντων στον αποπλασματικό χώρο των αγγείων του ξύλου απαιτεί την συμμεταφορά με πρωτόνια, γεγονός που οδηγεί στην αύξηση του pH ανιόντος χυμού, μηχανισμός ο οποίος πιθανόν εμπλέκεται και στη ρύθμιση του εύρους του στοματικού πόρου σε συνθήκες έλλειψης αζώτου (McDonald and Davies, 1996). Η επίδραση της ξηρασίας στην συγκέντρωση των νιτρικών ιόντος του ανιόντος χυμού δεν εξαρτάται μόνο από τον ρυθμό πρόσληψης των νιτρικών ιόντων από το έδαφος, αλλά τόσο από τον ρυθμό μεταφοράς στον ανιόντα χυμό όσο και από τον ρυθμό αφομοίωσης μέσω της δράσης της αναγωγάσης των νιτρικών. Μειωμένες τιμές δυναμικού νερού των φυτικών ιστών σχετίζονται και με μειωμένη δραστηριότητα της αναγωγάσης των νιτρικών.

Γ.1.4.4. Η επανακινητοποίηση του αζώτου προς τα σπέρματα σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης

Το αζώτο που αφομοιώνεται κατά το στάδιο πριν την άνθηση αποτελεί την κύρια πηγή των αζωτούχων συστατικών (σε ποσοστό 63-100%) που απαιτούνται για την πλήρη ανάπτυξη των σπερμάτων. Τα ποσοστά

αυτά εξαρτώνται από την ικανότητα αποθήκευσης μεγάλων ποσοτήτων αζωτούχων οργανικών ενώσεων στα βλαστητικά όργανα πριν την άνθηση. Η ποσότητα του αζώτου που επανακινητοποιείται εξαρτάται από το διαθέσιμο άζωτο και την αποδοτικότητα της επανακινητοποίησης. Η αποδοτικότητα της επανακινητοποίησης αζώτου είναι υψηλότερη σε συνθήκες χαμηλής τροφοδοσίας με άζωτο ή σε συνθήκες χαμηλής διαθεσιμότητας του αζώτου (Barbottin *et al.*, 2005).

Η έλλειψη νερού επιταχύνει την γήρανση των φύλλων, μειώνει τη φωτοσυνθετική επιφάνεια για μεγάλο διάστημα και ως εκ τούτου επηρεάζει την ανάπτυξη των σπερμάτων και τις τελικές αποδόσεις. Επίσης, λόγω της υδατικής καταπόνησης, τα μεταβολικά προϊόντα κατευθύνονται προς τις ρίζες ώστε να διατηρηθεί στοιχειώδης απορρόφηση νερού και αζώτου. Το γεγονός αυτό εξηγεί την υψηλή αποτελεσματικότητα της επανεκκίνησης του αζώτου των μεσογειακών φυτικών ειδών τα οποία συνήθως εκτίθενται σε συνθήκες ξηρασίας κατά τη διαδικασία ανάπτυξης των σπερμάτων τους (Dreccer, 2006).

Γ.1.4.5. Ο ρόλος των πρωτεασών κατά το συνδυασμό υδατικής καταπόνησης και έλλειψης αζώτου

Είναι γνωστό ότι οι πρωτεάσες εμπλέκονται σε ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών λειτουργιών των φυτών που εκτείνεται από την έκφραση των γονιδίων, την στόχευση των πρωτεϊνών και την τροφοδοσία με θρεπτικά στοιχεία έως τη διαφοροποίηση των κυττάρων και τον κυτταρικό θάνατο. Η περιορισμένη σε έκταση πρωτεόλυση σε εξειδικευμένες περιοχές των πρωτεϊνών προκαλεί μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις που ρυθμίζουν πολυάριθμες λειτουργίες (Kohli *et al.*, 2012).

Οι πρωτεάσες που υπερεκφράζονται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης στις ρίζες κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες: α) αυτές που εμπλέκονται στις διαδικασίες του κυτταρικού θανάτου και β) αυτές που εμπλέκονται σε διαδικασίες που οδηγούν σε αποδοτικότερη πρόσληψη και επανεκκίνηση του αζώτου. Παρόμοια κατηγοριοποίηση έχει παρατηρηθεί στις πρωτεάσες των φυτικών ειδών όπως του σιταριού, στο οποίο ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο και το βαθμό έλλειψης νερού, παρατηρείται μεταβολή στη δράση των πρωτεασών αποδόμησης που εδράζουν στο χυμοτόπιο έναντι άλλων πρωτεασών που δεν εδράζουν στο χυμοτόπιο και έχουν ρυθμιστικό ρόλο (Wiśniewski and Zagdańska, 2001). Η κατηγορία των πρωτεασών που επάγονται στο υπέργειο τμήμα του φυτού ως απάντηση στην υδατική καταπόνηση, σε ορισμένες περιπτώσεις αποτελεί και κριτήριο διαχωρισμού των ποικιλιών σε ευαίσθητες και ανθεκτικές στην ξηρασία.

Οι πρωτεάσες των ριζών φαίνεται ότι παίζουν καθοριστικό ρόλο στην διατήρηση της επάρκειας σε άζωτο σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης μέσω α) της αποδόμησης των πρωτεϊνών του εδαφικού διαλύματος και β) της ενδοκύτωσης πρωτεϊνών και βακτηρίων από τα κύτταρα της ρίζας. Οι Godlewski and Adamczyk (2007) έδειξαν ότι τα εκκρίματα των ριζών από δεκαπέντε διαφορετικά φυτικά είδη (καλλιεργούμενα και μη) περιείχαν πρωτεάσες, η έκκριση των οποίων ήταν ανεξάρτητη από την ύπαρξη μικροβιακής χλωρίδας ή πρωτεϊνών στο μέσο καλλιέργειας. Μετά από πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο σιτάρι και το κρεμμύδι προτάθηκε ότι η έκκριση των πρωτεασών συμβάλλει στην αύξηση της συγκέντρωσης των ελεύθερων αμινοξέων ως πηγής αζώτου στο εδαφικό διάλυμα (Adamczyk *et al.*, 2008; Adamczyk *et al.*, 2009). Συνεπώς, η αυξημένη δραστηριότητα των πρωτεασών των ριζών εξηγεί την αυξημένη περιεκτικότητα του εδαφικού διαλύματος σε αμινοξέα

σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Σε συνθήκες αγρού, η πρωτεολυτική ικανότητα του εδάφους η οποία διαμορφώνεται από τη συνδυασμένη έκκριση πρωτεασών από τα φυτά και τη μικροβιακή χλωρίδα, εμπλέκεται στην απορρόφηση οργανικών μορφών αζώτου οι οποίες συμβάλλουν αφενός στην απορρόφηση αζώτου και αφετέρου στη διατήρηση του ισοζυγίου C/N (Jones *et al.*, 2009).

Μέσω της ενδοκύτωσης τα κύτταρα της ρίζας δεσμεύουν και αποδομούν πρωτεϊνικά μόρια ή και ολόκληρα κύτταρα βακτηρίων ή ζυμών σε συνθήκες έλλειψης νερού, διαδικασία που προϋποθέτει την δράση πρωτεασών. Έχει αποδειχθεί ότι η ενδοκύτωση πραγματοποιείται μέσω ριζικών εκφύσεων οι οποίες περιβάλλουν το βακτήριο, προσκολλώντας το στην επιφάνεια της ρίζας μέσω βλέννης η οποία εκκρίνεται είτε από τις ρίζες είτε από το βακτήριο (Paungfoo-Lonhienne *et al.*, 2010). Εκτός του μηχανισμού της ενδοκύτωσης, στο φυτό *Arabidopsis* έχει παρατηρηθεί και η διαδικασία της αυτοφαγίας η οποία εμφανίζεται κατά τα αρχικά στάδια υδατικής καταπόνησης και συνοδεύεται από θετική ρύθμιση των αυτοφαγικών γονιδίων. Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι οι πρωτεάσες των ριζών αποτελούν αναπόσπαστο τμήμα του μηχανισμού της αυτοφαγίας αφού μεταλλάγματα φυτών *Arabidopsis* τα οποία δεν διέθεταν ορισμένες ριζικές πρωτεάσες, ήταν υπερευαίσθητα στην πείνα άνθρακα και αζώτου (Thompson *et al.*, 2005; Rose *et al.*, 2006).

Ωστόσο τα εκκρίματα των ριζών με την αυξημένη συγκέντρωση πρωτεασών ή αμινοξέων καθώς και ο μηχανισμός της ενδοκύτωσης χρησιμεύουν και για την απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων, νερού και οργανικών μορίων. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την ένταση και την χρονική στιγμή που εφαρμόζεται ο συνδυασμός των καταπονήσεων έλλειψης νερού και

αζώτου μπορεί να έχει σημαντική συμβολή στην επιβίωση του φυτού. Τα οργανικά μόρια που προκύπτουν από την δραστηριότητα των πρωτεασών των ριζών δεν είναι μόνο πηγές αζώτου αλλά και άνθρακα, όπως για παράδειγμα το οξαλοξικό οξύ που προκύπτει από την αποδόμηση της ασπαραγίνης από το ένζυμο ασπαραγινάση της κατηγορίας των αμιδοϋδρολασών (Kohli *et al.*, 2012) και χρησιμοποιείται στον κύκλο του Krebs. Επιπλέον, η προτεραιότητα που δίνεται στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος έναντι του υπέργειου μέρους σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, ενισχύεται με την τροφοδότηση με οργανικά συστατικά από το έδαφος, εξοικονομώντας την ενέργεια που θα δαπανούσε το φυτό για την μετατροπή του ανόργανου αζώτου σε αμινοξέα (Näsholm *et al.*, 2009).

Γ.1.4.6. Επίδραση της έλλειψης αζώτου στην αποδοτικότητα χρήσης νερού

Ο αγρονομικός δείκτης της αποδοτικότητας χρήσης νερού (WUE_v) ποσοτικοποιεί την απόδοση μιας καλλιέργειας ως προς το νερό που δαπανήθηκε. Η επιτυχής ολοκλήρωση μιας καλλιέργειας προϋποθέτει ότι το ισοζύγιο μεταξύ του νερού που προσλαμβάνεται (μέσω της άρδευσης, της βροχής και του αποθηκευμένου στο έδαφος) και του νερού που χάνεται στην ατμόσφαιρα μέσω της εξάτμισης από την επιφάνεια του εδάφους και της διαπνοής, είναι θετικό. Το κλάσμα του νερού που χάνεται λόγω εξάτμισης και διαπνοής κατά τη διάρκεια της νύχτας ορίζεται ως μη παραγωγικό νερό (Brueck, 2008). Κάθε αύξηση στην ποσότητα του μη παραγωγικού νερού συμβάλλει στη μείωση της απόδοσης της καλλιέργειας. Η ποσότητα του μη παραγωγικού νερού των καλλιεργειών αυξάνεται υπό συνθήκες σοβαρής έλλειψης αζώτου για δύο λόγους: α) στις συνθήκες αυτές μειώνεται η εδαφοκάλυψη και συνεπώς αυξάνεται το κλάσμα του

νερού που χάνεται λόγω εξάτμισης από την επιφάνεια του εδάφους και β) υπάρχουν ενδείξεις ότι η στοματική αγωγιμότητα των γηραιότερων φύλλων κατά τη διάρκεια της νύχτας είναι αυξημένη σε σχέση με αυτή των νεώτερων (Thomas *et al.*, 1991). Λαμβάνοντας υπόψη ότι η έλλειψη αζώτου συμβάλλει στην αύξηση του σχετικού αριθμού των γηραιότερων φύλλων, γίνεται αντιληπτό πώς η έλλειψη αζώτου επιδρά στην αύξηση του κλάσματος του μη παραγωγικού νερού.

Αναφέρεται συχνά ότι η ενδογενής WUE παραμένει σταθερή για ένα εύρος τιμών περιεκτικότητας αζώτου των φύλλων. Η αυξημένη τροφοδοσία των φυτών με άζωτο κατά κανόνα επιφέρει αύξηση και της ενδογενούς WUE . Η εξάρτηση της WUE από τη θρέψη σε άζωτο πιθανόν οφείλεται σε αλληλεπιδράσεις παραμέτρων του φωτεινού καθεστώτος (όπως η αυτοσκίαση αυξανόμενου του LAI), της ηλικίας του φύλλου (κινητοποίηση του αζώτου μεταξύ των διαφόρων στοιβάδων των φύλλων), της μορφολογίας του φύλλου (επίδραση αζώτου στην ειδική φυλλική επιφάνεια), του μεταβολισμού των υδατανθράκων στα φύλλα (επίδραση του οργανικού άνθρακα στη στοματική αγωγιμότητα, καταστολή των ενζύμων που εμπλέκονται στην φωτοσύνθεση), της ύπαρξης προσωρινής κεκαλυμμένης υδατικής καταπόνησης (υψηλή κατανάλωση νερού σε συνθήκες με υπερεπάρκεια αζώτου) και του ελλείμματος πίεσης διαχύσεως υδρατμών (καθώς το άζωτο επιδρά στην τραχύτητα της φυλλικής επιφάνειας και στη συμβολή της αγωγιμότητας του οριακού στρώματος στη διαπνοή, Yoo *et al.* (2009)).

Η έλλειψη αζώτου αντικατοπτρίζεται και στον δείκτη της WUE_B ($WUE_{Biomass}$, προκύπτει από το λόγο της βιομάζας που παρήχθη προς το νερό που δαπανήθηκε). Παρόλο που λίγα είναι γνωστά για την επίδραση της θρέψης με άζωτο στην WUE_B , έχει

αναφερθεί ότι υπό χαμηλή διαθεσιμότητα αζώτου σημειώνεται μείωση του WUE_B λόγω αύξησης των απωλειών άνθρακα μέσω της αναπνοής και της έκκρισης οργανικών ουσιών από το ριζικό σύστημα (Poorter *et al.*, 1995; Brueck, 2008). Επιπρόσθετα, η αύξηση του λόγου του ριζικού συστήματος προς το υπέργειο μέρος και ο περιορισμός της φυλλικής επιφάνειας, αντιδράσεις τυπικές της έλλειψης αζώτου, επίσης σχετίζονται με υψηλές απώλειες άνθρακα μέσω της αναπνοής και άρα με μείωση της WUE_B .

Γ.2. Η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην υδατική καταπόνηση

Η προσθήκη αζώτου στο έδαφος είναι δυνατόν να οδηγήσει σε μερική ή ολική άρση των συμπτωμάτων της ήπιας υδατικής καταπόνησης. Στα ετήσια φυτά *Malcolmia africana* και *Bassia hyssopifolia* που επιβιώνουν σε ερημικές συνθήκες οι οποίες συνδυάζουν την έλλειψη νερού και τα χαμηλά επίπεδα αζώτου στο έδαφος, η αζωτούχος λίπανση αύξησε τη φωτοσυνθετική ταχύτητα και τη συγκέντρωση των χλωροφυλλών και των διαλυτών πρωτεϊνών ενώ ελάττωσε το περιεχόμενο των διαλυτών σακχάρων και της προλίνης στην ξηρή ουσία των φύλλων (Zhou *et al.*, 2011). Ομοίως, όταν σε φυτά καλαμποκιού που εκτέθηκαν σε υδατική καταπόνηση προστέθηκε άζωτο στο έδαφος, εμφάνισαν αύξηση των διαλυτών πρωτεϊνών, της προλίνης και της γλυκίνης-μπεταΐνης (Zhang *et al.*, 2012b). Οι διαφοροποιήσεις που υπάρχουν στην τάση των φυτών να συσσωρεύουν ή όχι προλίνη πιθανόν οφείλεται στα διαφορετικά φυτικά είδη και στις διαφορετικές ποσότητες αζώτου που προστέθηκαν στο έδαφος δεδομένου ότι υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου διεγείρουν την σύνθεση και την συσσώρευση της προλίνης (Sánchez *et al.*, 2002; Guo

et al., 2010). Ωστόσο η αύξηση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας σε συνδυασμό με την μείωση της συγκέντρωσης των διαλυτών σακχάρων και της προλίνης που παρατηρήθηκε στα φυτά *Malcolmia africana* και *Bassia hyssopifolia* δηλώνει ότι η προσθήκη αζώτου στα καταπονημένα φυτά προήγαγε την αύξηση έναντι της ανάπτυξης μηχανισμών ανθεκτικότητας στην υδατική καταπόνηση. Ενδέχεται σε περίπτωση σοβαρότερης υδατικής καταπόνησης η αζωτούχος λίπανση που εκτός των παραπάνω, επιφέρει μείωση της αναλογίας ριζών προς βλαστούς να μειώσει την ικανότητα του φυτού να ανταπεξέλθει στην έλλειψη νερού δεδομένου ότι η διέγερση της αύξησης θα απαιτήσει επιπλέον υδατικά αποθέματα (Zhou *et al.*, 2011). Επιπλέον έχει αναφερθεί ότι σε σπορόφυτα *Abies fabri* η αζωτούχος λίπανση άμβλυνε τα συμπτώματα της έλλειψης νερού και ταυτόχρονα μείωσε τη δραστηριότητα ορισμένων αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως της καταλάσης, της υπεροξειδικής δεσμουτάσης, της υπεροξειδάσης και της υπεροξειδάσης του ασκορβικού οξέος χωρίς ωστόσο να παρατηρηθεί οξειδωτική καταπόνηση (Guo *et al.*, 2010). Αντίστοιχα, σε καταπονημένα από έλλειψη νερού φυτά του είδους *Agrostis palustris*, η αζωτούχος λίπανση εμπόδισε την καταστροφή των μεμβρανών, πιθανόν λόγω επιτυχούς οσμωρύθμισης αλλά και μείωσης των επιπέδων της μαλονυλ-διαλδεΐδης. Ως εκ τούτου η αζωτούχος λίπανση ενίσχυσε την ανθεκτικότητα του φυτού στην έλλειψη νερού (Saneoka *et al.*, 2004).

Σύμφωνα με τους Aulakh and Malhi (2005), η αζωτούχος λίπανση σε καταπονημένα από έλλειψη νερού φυτά βελτιώνει τη χρήση του νερού διότι διεγείρει την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος ώστε να γίνεται εκμετάλλευση του αποθηκευμένου νερού από βαθύτερες στοιβάδες του εδάφους. Η

-Εισαγωγή-

αποδοτικότερη χρήση του νερού αντικατοπτρίζεται στην αύξηση της αποδοτικότητας χρήσης νερού (*WUE*) και της αποδοτικότητας χρήσης του αζώτου (*PNUE*).

Οι Krček *et al.* (2008) έδειξαν ότι αν εφαρμοστεί αζωτούχος λίπανση στο κριθάρι που καταπονείται από

έλλειψη νερού, μπορεί να επιτευχθεί αύξηση της απόδοσης κατά 29% όταν η προσθήκη του αζώτου γίνει στο καλάμωμα και κατά 55% όταν η προσθήκη γίνει κατά την εμφάνιση της ταξιανθίας. Το ποσοστό της αύξησης αφορά φυτά που επιβιώνουν σε συνθήκες έλλειψης νερού και δεν λαμβάνουν αζωτούχο λίπανση.

Δ. Το κριθάρι

Το κριθάρι (εικόνα 7) είναι ένα από τα σημαντικότερα σιτηρά διότι εμφανίζει μεγάλη εξάπλωση και η καλλιέργεια του χρονολογείται από την αρχαιότητα έως σήμερα. Σε παγκόσμια κλίμακα, οι καλλιεργούμενες εκτάσεις ανέρχονται σε 54 εκατομμύρια εκτάρια ενώ η συνολική παραγωγή σε 152 τόνους (FAO 2011). Το κριθάρι είναι το πιο διαδεδομένο είδος σιτηρών γιατί έχει την ικανότητα να ευδοκίμει από τα μεγαλύτερα γεωγραφικά πλάτη και υψόμετρα έως τις ερήμους. Ως εκ τούτου το κριθάρι είναι η βασική τροφή των λαών που ζουν σε ακραίες κλιματικές συνθήκες όπως στις παρυφές των Ιμαλαίων, στην Αιθιοπία και στο Μαρόκο. Είναι ενδιαφέρον ότι στα Μεσογειακά κλίματα η απόδοση του σε καρπό είναι η πιο σταθερή σε σχέση με τα άλλα χειμερινά σιτηρά (Cossani *et al.*, 2011; Dordas, 2012).

Όλα τα καλλιεργούμενα κριθάρια είναι διπλοειδή ($2n = 14$) και ανήκουν στο είδος *Hordeum vulgare* της οικογένειας των αγρωστωδών (Poaceae). Οι ποικιλίες του κριθαριού ανάλογα με τις σειρές των κόκκων στον στάχυ διακρίνονται σε δίστοιχες όταν μόνο το κεντρικό σταχύδιο σχηματίζει γόνιμα άνθη και σε εξάστοιχες όταν και τα τρία σταχύδια σε κάθε γόνατο της ράχης του στάχους σχηματίζουν γόνιμα άνθη και άρα τρεις στήλες σπερμάτων σε κάθε πλευρά της ράχης. Παλαιότερα οι δύο τύποι κριθαριού θεωρούνταν ξεχωριστά είδη. Επειδή όμως οι μορφολογικές διαφορές τους οφείλονται σε 1-2 διαφορετικά γονίδια και επιπλέον μπορούν να αλληλοδιασταυρώνονται εύκολα δίνοντας γόνιμους απογόνους, οι δύο τύποι κριθαριού εντάχθηκαν στο ενιαίο είδος *Hordeum vulgare* (Καραμάνος, 1994).

Από πολλά αρχαιολογικά ευρήματα προκύπτει ότι το κριθάρι άρχισε να καλλιεργείται την ίδια



Εικόνα 7. Το φυτό του κριθαριού (Prof. Dr. Otto Wilhelm Thomé *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz* 1885, Gera, Germany).

περίπου εποχή με το σιτάρι (7.000-8.000 π.Χ.) στην Μέση Ανατολή. Νωρίτερα οι διάφορες νομαδικές φυλές της ίδιας περιοχής φαίνεται ότι χρησιμοποιούσαν τους καρπούς άγριων κριθαριών. Ειδικά στη Μεσοποταμία, τα εξάστοιχα κριθάρια εκτόπισαν ως το 2.500 π.Χ. σχεδόν κάθε άλλη καλλιέργεια λόγω της αντοχής τους στην αλατότητα του εδάφους. Από την Μέση Ανατολή η καλλιέργεια εξαπλώθηκε στην κοιλάδα του Ινδού ποταμού και έφθασε στην Κίνα γύρω στο 2.000-1.300 π.Χ.). Αποκλειστικά εξάστοιχα κριθάρια καλλιεργούνταν γύρω στο 3.000 π.Χ. στους λιμναίους οικισμούς της Ελβετίας απ' όπου εξαπλώθηκαν μέχρι τη Β. Ευρώπη. Δίστοιχα κριθάρια καλλιεργήθηκαν για πρώτη φορά στην Κ. Ευρώπη κατά τον Μεσαίωνα. Στην Ελλάδα υπάρχουν τεκμήρια για καλλιέργεια κριθαριού από τη

Νεολιθική εποχή (3.000- 4.000 π.Χ.) στους οικισμούς του Σέσκλου και του Διμηνίου. Το κριθάρι και η καλλιέργεια του αναφέρονται στον Όμηρο, τον Ηρόδοτο, τον Ξενοφώντα και άλλους αρχαίους συγγραφείς, ενώ από επιγραφές και νομίσματα γίνεται αντιληπτή η σπουδαιότητα του για τους αρχαίους Έλληνες (Καραμάνος, 1994).

Στην Ελλάδα το κριθάρι καταλαμβάνει την τρίτη θέση σε έκταση μετά το μαλακό και σκληρό σιτάρι και η καλλιέργεια του εκτείνεται από τις βόρειες μέχρι τις νότιες και νησιωτικές περιοχές της χώρας. Η προσαρμοστικότητα του οφείλεται στους πρώιμους τύπους του που προλαβαίνουν τις δυσμενείς επιπτώσεις της απότομης ανόδου της θερμοκρασίας και της ξηρασίας στην απόδοση και στην ποιότητα του καρπού. Οι ανοιξιότικοι τύποι στην Ελλάδα σπέρνονται τον Νοέμβριο – Δεκέμβριο λόγω του ήπιου χειμώνα και

επιπλέον για να προλάβει να αναπτυχθεί το ριζικό σύστημα πριν από την ταχεία ανάπτυξη του φυτού. Η καλλιεργούμενη έκταση στην Ελλάδα είναι 1-1,3 περίπου στρέμματα ενώ το μεγαλύτερο μέρος καλλιεργείται σε ορεινές και ημιορεινές περιοχές (Στρατηλάκης κ.ά., 1991).

Το κριθάρι καλλιεργείται είτε για την παραγωγή βιομάζας η οποία θα καταλήξει για βόσκηση, ενσίρωση και παραγωγή σανού είτε για τον καρπό ο οποίος χρησιμοποιείται στη βυνοζυθοποιία, ή ως κτηνοτροφία. Για ανθρώπινη χρήση χρησιμοποιείται το αλεύρι κριθαριού αφού προηγηθεί αποπιτύρωση και απομακρυνθούν τα λεπυρίδια, τα περιβλήματα και τα έμβρυα των καρπών. Από την ετήσια παραγωγή κριθαριού (300 χιλ. τόνοι) η μεγαλύτερη ποσότητα καταλήγει για κτηνοτροφία ενώ ένα μικρό μέρος (5%) διατίθεται στην ζυθοποιία (Στρατηλάκης κ.ά., 1991).

ΣΚΟΠΟΣ

Οι αβιοτικοί παράγοντες καταπόνησης είναι υπεύθυνοι για σημαντικότερες απώλειες στη γεωργική παραγωγή παγκοσμίως. Μεταξύ αυτών, η υδατική καταπόνηση επέχει κυρίαρχη θέση καθώς συνθήκες οι οποίες την ευνοούν εμφανίζονται σε μόνιμη βάση στο 40% περίπου της χέρσου ενώ εποχικά ή τοπικά σε ένα επιπλέον σημαντικό ποσοστό. Η αναγνώριση χαρακτηριστικών τα οποία συμβάλλουν στην ανθεκτικότητα των φυτών στην ξηρασία είναι σημαντική στις προσπάθειες βελτίωσης των καλλιεργειών. Τα χαρακτηριστικά αυτά μπορεί να είναι άμεσης απόκρισης λειτουργικά χαρακτηριστικά των φυτών όπως η διαχείριση του νερού μέσω των στοματικών κινήσεων ή δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά τα οποία εμφανίζονται ως αποτέλεσμα μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού και έχουν ιδιαίτερη σημασία για την επιβίωση του φυτικού οργανισμού κάτω από συνθήκες περιορισμένης υγρασίας. Η συμβολή των χαρακτηριστικών μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού στην αντιμετώπιση της έλλειψης νερού δεν είναι πλήρως κατανοητή.

Σημαντική είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ υδατικής κατάστασης και θρέψης των φυτών. Από τη μία πλευρά, τα επίπεδα της εδαφικής υγρασίας καθορίζουν την επάρκεια στην τροφοδοσία των φυτών με θρεπτικά στοιχεία, ενώ από την άλλη, η καλή θρεπτική κατάσταση των φυτών σχετίζεται με τον επιτυχή εγκλιματισμό τους σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Η σχέση αυτή νερού και θρέψης είναι ιδιαίτερα έντονη στην περίπτωση του αζώτου. Η αλληλεπίδραση μεταξύ νερού και αζώτου καθορίζει την αποτελεσματικότητα χρήσης κάθε πόρου χωριστά γεγονός σημαντικό εάν λάβουμε υπόψη πως αποτελούν τους κυριότερους αναπτυξιακούς πόρους και καθορίζουν το ύψος και την ποιότητα της γεωργικής παραγωγής. Η μελέτη των πολύπλοκων σχέσεων μεταξύ νερού και αζώτου είναι ιδιαίτερης σημασίας καθώς η κάλυψη της απαίτησης για υψηλή γεωργική παραγωγή σχετίζεται με τους δύο αυτούς πόρους και επηρεάζει τον οικονομικό και περιβαλλοντικό αντίκτυπο των γεωργικών εκμεταλλεύσεων. Επιπρόσθετα, οι τρέχουσες, αλλά και αναμενόμενες στο άμεσο μέλλον, κλιματικές αλλαγές σε ορισμένα σημεία του πλανήτη, συμπεριλαμβανομένης της κεντρικής και νότιας Ευρώπης, χαρακτηρίζονται από αυξημένη ανισοκατανομή των βροχοπτώσεων (περισσότερες το χειμώνα και την άνοιξη και λιγότερες το καλοκαίρι) και αυξημένες ετήσιες θερμοκρασίες. Λόγω των αλλαγών αυτών, η αύξηση των περιστατικών ξηρασίας η οποία θα συνδυάζεται με μειωμένη διαθεσιμότητα αζώτου είναι αναμενόμενη.

Είναι κατανοητό ότι απαιτούνται περισσότερα δεδομένα για τις αντιδράσεις των φυτών σε παρατεταμένες συνθήκες ξηρασίας αλλά για την έκβαση του μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού των φυτών στις παραπάνω συνθήκες αναφορικά με τη διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος. Με βάση τα παραπάνω, η παρούσα εργασία σχεδιάστηκε με σκοπό να διερευνήσει τα χαρακτηριστικά του μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού ενός σημαντικού καλλιεργούμενου είδους, του κριθαριού, το οποίο επιπλέον χαρακτηρίζεται ως φυτό ανθεκτικό στις δυσμενείς καλλιεργητικές συνθήκες, υπό συνθήκες παρατεταμένης έλλειψης νερού και χαμηλής διαθεσιμότητας αζώτου στο έδαφος. Για την διεξαγωγή των πειραμάτων, φυτά κριθαριού από δύο διαφορετικούς γονότυπους, τους *Δήμητρα* και *Νίκη*, καλλιεργήθηκαν υπό κάλυψη με κλιμακούμενη διαθεσιμότητα νερού και αζώτου. Μελετήθηκε μια σειρά χαρακτηριστικών της μορφολογίας, ανατομίας, βιοχημείας και φυσιολογίας των φυτών. Τα χαρακτηριστικά αυτά σχετίζονται λιγότερο ή περισσότερο με τον εγκλιματισμό των φυτών στους παραπάνω παράγοντες καταπόνησης με

-Σκοπός-

κεντρικό κορμό τη διαχείριση του νερού. Αφενός συμπεριελήφθησαν λειτουργικές παράμετροι όπως η φωτοσύνθεση και η στοματική αγωγιμότητα και αφετέρου ανατομικά χαρακτηριστικά όπως η διάμετρος και το πλήθος των αγγείων του ξύλου ή η στοματική πυκνότητα. Στο ανατομικό επίπεδο, μελετήθηκαν παράμετροι σε διάφορα επίπεδα οργάνωσης του φυτικού σώματος ξεκινώντας από το επίπεδο του οργάνου (επιφάνεια φύλλου) και φθάνοντας στο υποκυτταρικό επίπεδο (μέγεθος των χλωροπλαστών).

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

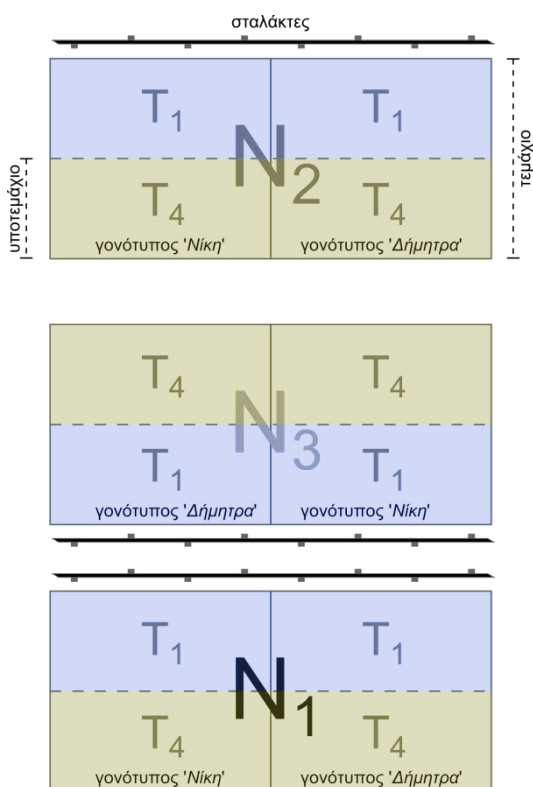
A. Φυτικό υλικό και πειραματικό σχέδιο

Οι δειγματοληψίες και οι επί τόπου μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο πειραματικό θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Γεωργίας του Γεωπονικού

Πανεπιστημίου Αθηνών (37° 59' N, 23° 32' E, 30 m asl) κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου 2010-2011 (Δεκέμβριος 2010-Μάιος 2011). Για τη

Πίνακας 1. Μορφολογικά, φαινολογικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά των δύο υπό μελέτη γονοτύπων (Στρατηλάκης κ.ά., 1991).

	Δήμητρα	Νίκη
Χαρακτηρισμός	Ποικιλία	Ποικιλία
Δημιουργός	Ινστιτούτο Σιτηρών	Ινστιτούτο Σιτηρών
Διατηρητής	Ινστιτούτο Σιτηρών	Ινστιτούτο Σιτηρών
Τύπος στάχου	Δίστοιχος	Δίστοιχος
Ύψος	Μέτρια (80-90 εκ.)	Μέτρια (85-95 εκ.)
Πρωιμότητα με βάση το ξεστάχασμα	Μεσοπρώιμη	Πρώιμη
Αδέλφωμα	Πλούσιο	Πλούσιο
Προσαρμοστικότητα	Πολύ καλή σε διάφορους τύπους εδαφοκλιματικών συνθηκών	Πολύ καλή σε διάφορους τύπους εδαφοκλιματικών συνθηκών
Πρωτεΐνη	12-12,5%	11-13%
Απόδοση	Εξαιρετική	Πολύ καλή
Χρήση	Ανθρώπινη κατανάλωση-Ζωοτροφή	Ζυθοποισία-Ζωοτροφή



Εικόνα 8. Απεικόνιση του πειραματικού σχεδίου που ακολουθήθηκε. Τα διαφορετικά χρώματα αντιστοιχούν στο επίπεδο της άρδευσης ανά υποτεμάχιο (κυανό: T₁, επάρκεια νερού, πράσινο: T₄, ανεπάρκεια νερού). Τα τρία επίπεδα λίπανσης με άζωτο συμβολίζονται σε κάθε τεμάχιο ως N₁: υψηλότερο, 25,7g θειικής αμμωνίας, N₂: μέσο, 12,8 g θειικής αμμωνίας, N₃: μηδενικό. Στο σχήμα σημειώνεται επίσης η θέση των σταλακτών.

διεξαγωγή των μετρήσεων επιλέχθηκαν δύο γονότυποι κριθαριού: ο γονότυπος 'Νίκη' και ο γονότυπος 'Δήμητρα' με διαφορετικά μορφολογικά και αναπτυξιακά χαρακτηριστικά (πίνακας 1) οι οποίοι υποβλήθηκαν σε δύο μεταχειρίσεις άρδευσης (T₁ και T₄, η υγρότερη και η ξηρότερη αντίστοιχα) με την μέθοδο της κλιμακούμενης απόστασης από την πηγή του νερού (σταλάκτες συστήματος στάγδην άρδευσης) και τρεις μεταχειρίσεις λίπανσης με άζωτο (N₁ έως N₃ από την επάρκεια αζώτου προς την έλλειψη αζώτου). Ο τύπος του λιπάσματος που χρησιμοποιήθηκε είναι η θειική αμμωνία (21-0-0) με την παραδοχή ότι η συνήθης ποσότητα που εφαρμόζεται στην γεωργική πρακτική είναι 8 μονάδες αζώτου ανά στρέμμα. Στην μεταχείριση N₁ χρησιμοποιήθηκαν 25,7 g θειικής αμμωνίας ανά τεμάχιο, στην μεταχείριση N₂ χρησιμοποιήθηκαν 12,8 g θειικής αμμωνίας ανά τεμάχιο και στην μεταχείριση N₃ δεν προστέθηκε καθόλου λίπασμα στο τεμάχιο.

Κάθε γονότυπος καταλάμβανε ένα πειραματικό τεμάχιο επιφάνειας 2,88 m² (13 γραμμές, με απόσταση 0,15 m και μήκος 1,6 m). Ανά δύο τα πειραματικά τεμάχια λάμβαναν την ίδια αζωτούχο λίπανση (N₁ έως N₃) και χωρίζονταν σε δύο υποτεμάχια (T₁ και T₄) επιφάνειας 1,44 m² τα οποία

αντιπροσώπευαν τα δύο επίπεδα άρδευσης (εικόνα 8). Τα εδαφολογικά χαρακτηριστικά του πειραματικού θερμοκηπίου είναι τα εξής: αργιλοπηλώδους σύστασης (35,6% άμμος, 35,9% άργιλος, 29,8% πηλός), ελαφρώς αλκαλικό (pH 7,4) με υψηλή συγκέντρωση ολικού CaCO₃ (24-25%).

B. Μετρήσεις πεδίου - δειγματοληψίες

Οι μετρήσεις πεδίου και οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν με βάση τις έξι πειραματικές κατηγορίες ανά γονότυπο που προέκυψαν από το συνδυασμό των μεταχειρίσεων της άρδευσης και της τροφοδοσίας των φυτών με άζωτο. Οι μετρήσεις για όλες τις κατηγορίες δειγμάτων έγιναν στο κατά σειρά αμέσως επόμενο φύλλο από το φύλλο σημαία, μεταξύ 8⁰⁰-12⁰⁰ π.μ. στο διάστημα από 8 έως 21 Απριλίου 2011. Η επιλογή των ημερών της δειγματοληψίας πραγματοποιήθηκε με βάση το αναπτυξιακό στάδιο των φυτών όπως προσδιορίζεται με την κλίμακα Zadoks (45-50) (Zadoks *et al.*, 1974). Μετά την ολοκλήρωση των μετρήσεων πεδίου κάθε ημέρας, πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία των φύλλων (πέντε δείγματα ανά πειραματική κατηγορία ή συνδυασμό μεταχειρίσεων) για την διεξαγωγή εργαστηριακών μετρήσεων.

B.1. Μετρήσεις ανταλλαγής αερίων για τον υπολογισμό της μέγιστης φωτοσυνθετικής ταχύτητας (A_{max}), της ταχύτητας διαπνοής (E) και της στοματικής αγωγιμότητας (g_s).

Οι μετρήσεις ανταλλαγής αερίων πραγματοποιήθηκαν ηλιόλουστες ημέρες κατά τη διάρκεια του πειράματος και ώρες μεταξύ 8⁰⁰ π.μ. και 12⁰⁰ μ.μ. Χρησιμοποιήθηκε φορητό όργανο μέτρησης φωτοσύνθεσης LCpro+ (ADC Bioscientific Ltd., England). Οι μετρήσεις διεξήχθησαν σε πυκνότητα

φωτονιακής ροής 1500 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ και θερμοκρασία αέρα 23 ± 2 °C. Η φωτοσυνθετική ταχύτητα και η ταχύτητα διαπνοής υπολογίστηκε με απευθείας μέτρηση του καθαρού ρυθμού αφομοίωσης CO₂ ή έκλυσης H₂O ανά φυλλική επιφάνεια ($A_{max,a}$ και E). Το όργανο LCpro+ υπολογίζει επίσης τη στοματική αγωγιμότητα για το H₂O (g_s). Μέσω της $A_{max,a}$ και των αντίστοιχων τιμών LMA , υπολογίστηκε η $A_{max,m}$, ως ποσότητα CO₂ που δεσμεύεται στη μονάδα του χρόνου και ανά ξηρή βιομάζα των φύλλων. Οι δύο εκφράσεις (WUE , WUE_i) της αποδοτικότητας χρήσης νερού υπολογίστηκαν ως το πηλίκο της μέγιστης φωτοσυνθετικής ταχύτητας με την ταχύτητα διαπνοής (E) και τη στοματική αγωγιμότητα (g_s) αντίστοιχα. Η αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου ($PNUE$) υπολογίστηκε ως ο λόγος $A_{max,a} / N_a$.

B.2. Μετρήσεις δυναμικού του νερού Ψ_w του φύλλου και υπολογισμός του δείκτη WPI .

Οι μετρήσεις του δυναμικού του νερού του φύλλου πραγματοποιήθηκαν από το Εργαστήριο Γεωργίας του Γ.Π.Α. μέσω θαλάμου Schollander (Schollander *et al.*, 1964), στις 12⁰⁰ μ.μ. ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Με τα αποτελέσματα των μετρήσεων υπολογίστηκε ο δείκτης WPI που σύμφωνα με τους Karamanos and Paratheohari (1999) εκφράζει το μέγεθος της συνολικής υδατικής καταπόνησης που υφίστανται τα πειρατόφυτα σε όλη τη διάρκεια υλοποίησης του πειράματος.

Γ. Μορφολογικές και ανατομικές παράμετροι

Γ.1. Μέτρηση πάχους φύλλου (*LT*)

Πραγματοποιήθηκαν εγκάρσιες τομές σε νωπά δείγματα στον μέσο του ελάσματος του φύλλου και παρατηρήθηκαν σε οπτικό μικροσκόπιο Zeiss AxioLab (Carl Zeiss, Jena, Germany). Η παρατήρηση έγινε σε μεγέθυνση 100× και το πάχος των τομών (πάχος των φύλλων) μετρήθηκε με τη χρήση βαθμολογημένου προσοφθάλμιου φακού. Για κάθε δείγμα οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε τρεις διαφορετικές θέσεις της εγκάρσιας τομής και το πάχος του δείγματος προέκυψε ως μέσος όρος των τριών τιμών. Το πάχος του φύλλου εκφράστηκε σε μm .

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

Πέντε νωπά δείγματα φύλλων φωτογραφήθηκαν με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή SSCD 38P/45 (SONY Corporation, Japan). Στην συνέχεια με το πρόγραμμα επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus (έκδοση 3.01, Media Cybernetics, Silver Spring, MD) μετρήθηκαν οι επιφάνειες των ελασμάτων και η συνολική επιφάνεια του φύλλου ανά κατηγορία δείγματος προέκυψε ως μέσος όρος των μετρήσεων αυτών, εκφρασμένος σε cm^2 . Μετά την φωτογράφιση, τα δείγματα αποξηράνθηκαν στους 60°C για 48 h και ζυγίστηκαν για τον υπολογισμό του ξηρού βάρους. Η μάζα ανά φυλλική επιφάνεια (*LMA*) υπολογίστηκε ως ο λόγος του ξηρού βάρους των φύλλων προς την αντίστοιχη φυλλική επιφάνεια, εκφρασμένος σε g m^{-2} .

Γ.3. Υπολογισμός πυκνότητας φύλλου (*LD*)

Η πυκνότητα φύλλου (*LD*) σε g cm^{-3} υπολογίστηκε από το πηλίκο της μάζας ανά φυλλική επιφάνεια (*LMA*) προς το πάχος του φύλλου (Witkowski and Lamont, 1991).

Γ.4. Μέτρηση στοματικής πυκνότητας (*SD*) και μήκους στομάτων (*SL*)

Η μέτρηση της πυκνότητας των στομάτων και του μήκους των στομάτων έγινε μετά από παρατήρηση της αποσαζονικής και προσασζονικής επιφάνειας πέντε νωπών δειγμάτων φύλλων στο μικροσκόπιο φθορισμού (Zeiss AxioLab εξοπλισμένο με φίλτρο διέγερσης G-365 και φίλτρο φθορισμού FT-395). Ως επαγωγέας φθορισμού χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 10% (w/v) KOH και η διέγερση του φθορισμού έγινε με υπεριώδες φως (μέγιστη ενέργεια εκπομπής στα 365 nm). Με αυτή τη μέθοδο η παρατήρηση των στομάτων είναι εφικτή γιατί ο εκπεμπόμενος φθορισμός (μπλε χρώμα) των καταφρακτικών κυττάρων των στομάτων είναι σαφώς εντονότερος από τον φθορισμό που εκπέμπουν τα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα (Karabourniotis *et al.* (2001), βλ. επίσης εικόνα 18). Για τον υπολογισμό του αριθμού των στομάτων, τρία παρασκευάσματα από κάθε δείγμα παρατηρήθηκαν σε μεγέθυνση 100× και φωτογραφήθηκαν με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή. Αντίστοιχα, για τον υπολογισμό του μήκους των στομάτων, τρία παρασκευάσματα παρατηρήθηκαν σε μεγέθυνση 400× και φωτογραφήθηκαν. Η βαθμονόμηση των μικροφωτογραφιών πραγματοποιήθηκε με τη

βοήθεια βαθμονομημένης αντικειμενοφόρου πλάκας και η πυκνότητα των στομάτων υπολογίστηκε ως αριθμός στομάτων ανά επιφάνεια (στόματα ανά cm^2) ενώ το μήκος των στομάτων μετρήθηκε μέσω ψηφιακής ανάλυσης εικόνας σε μm .

Γ.5. Μέτρηση διαμέτρου του δεσμικού κολεού (MVBD, SVBD) και των αγγείων του αγωγού ιστού (MVD, SVD) - υπολογισμός πυκνότητας νευρώσεων ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου (VD)

Χρησιμοποιήθηκαν εγκάρσιες τομές από το μέσο του ελάσματος πέντε νωπών φύλλων, ανά πειραματική κατηγορία. Οι τομές υπέστησαν χρώση με ρhloroglucinol (20% HCl) και παρατηρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο σε μεγεθύνσεις 100× και 400×. Στην συνέχεια οι κύριες και οι δευτερεύουσες ηθμαγγειώδεις δεσμιδες φωτογραφήθηκαν με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή. Με ψηφιακή ανάλυση εικόνας των μικροφωτογραφιών (εικόνα 17a) υπολογίστηκε η διάμετρος των κεντρικών και των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμιδων και των μεταξυλικών αγγείων τους σε μm . Επίσης καταμετρήθηκε ο αριθμός ηθμαγγειωδών δεσμιδων ανά φύλλο. Η πυκνότητα των νευρώσεων υπολογίστηκε ως ο αριθμός των νευρώσεων ανά φυλλική επιφάνεια (σε cm^2).

Γ.6. Υπολογισμός υδραυλικής αγωγιμότητας των αγγείων του φύλλου (k_{hp})

Η θεωρητική υδραυλική αγωγιμότητα k_{hp} υπολογίστηκε σύμφωνα με την τροποποιημένη

εξίσωση Hagen-Poiseuille σε $\text{kg m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Tyree and Ewers, 1991; Tombesi *et al.*, 2010):

$$k_{hp} = \frac{\pi \cdot \rho}{128 \cdot n} \sum_{i=1}^r (d_i)^4 \quad \text{Εξίσωση 5}$$

d_i : η διάμετρος του i -οστού αγγείου σε m , n : το ιξώδες του νερού σε MPa s ($\sim 10^{-9} \text{ MPa s}$ στους 20°C), ρ : η πυκνότητα του νερού ίση με 1000 kg m^{-3} .

Με την παραπάνω εξίσωση υπολογίστηκε η υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων της κεντρικής νεύρωσης του φύλλου Mk_{hp} και η υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων των δευτερευουσών (μεσαίου μεγέθους)νευρώσεων SVk_{hp} . Η συνολική υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων του φύλλου δίνεται από το άθροισμα:

$$k_{hp} = Mk_{hp} + SVk_{hp} \quad \text{Εξίσωση 6}$$

Παρόλο που ο υπολογισμός της k_{hp} σύμφωνα με την εξίσωση Hagen-Poiseuille υπερεκτιμά την πραγματική υδραυλική αγωγιμότητα, οι τιμές οι οποίες προκύπτουν λειτουργούν ως συγκρίσιμες μετρήσεις, αποδεκτές για όλα τα είδη (Steppe and Lemeur, 2007).

Γ.7. Μέτρηση επιφάνειας του άνω και κάτω σκληρεγγύματος, της επιφάνειας των επιδερμικών κυττάρων, των κυττάρων συστροφής (bulliforms), των παρεγχυματικών κυττάρων και των χλωροπλαστών

Για τον υπολογισμό της επιφάνειας του άνω και κάτω σκληρεγγύματος, της επιφάνειας των επιδερμικών κυττάρων, των κυττάρων συστροφής (bulliforms), των παρεγχυματικών κυττάρων και των

χλωροπλαστών ελήφθησαν τεμάχια νωπού φύλλου διαστάσεων 0,5 cm × 1 cm τα οποία κόπηκαν από το μέσο του ελάσματος. Για κάθε πειραματική κατηγορία (συνδυασμό μεταχειρίσεων) χρησιμοποιήθηκαν πέντε φύλλα από πέντε διαφορετικά φυτά. Στην συνέχεια εφαρμόστηκαν διαδοχικά τα ακόλουθα στάδια προκειμένου να ληφθούν μονιμοποιημένες τομές.

Προσήλωση δειγμάτων

Τα τεμαχίδια των νωπών φύλλων εμβαπτίστηκαν σε υδατικό προσηλωτικό διάλυμα FAA (63% (v/v) αιθανόλη, 5% (v/v) οξικό οξύ και 2% (v/v) φορμαλίνη) όπου και παρέμειναν τουλάχιστον 48 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (Jensen, 1962).

Αφυδάτωση

Η αφυδάτωση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με την διαδοχική εμβάπτιση τους σε διαλύματα αιθανόλης αυξανόμενης συγκέντρωσης (50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%) στα οποία παρέμειναν για 1 ώρα. Στο διάλυμα καθαρής αλκοόλης τα δείγματα παρέμειναν για 3 ώρες.

Διαφανοποίηση

Η διαφανοποίηση των δειγμάτων έγινε με διαδοχική εμβάπτιση τους σε διαλύματα ξυλενίου αυξανόμενης συγκέντρωσης (25% ξυλένιο-75% αιθανόλη, 50% ξυλένιο-50% αιθανόλη, 75% ξυλένιο-25% αιθανόλη, 100% ξυλένιο) στα οποία παρέμειναν για 1 ώρα. Στο διάλυμα 100% ξυλενίου η διαδικασία επαναλήφθηκε επιπλέον δύο φορές προκειμένου να εξασφαλιστεί η πλήρης απομάκρυνση της αιθανόλης.

Εγκλεισμός σε παραφίνη

Τα τεμαχίδια από κάθε δείγμα φύλλου τοποθετήθηκαν σε μικρά φιαλίδια μέσα σε διάλυμα

100% ξυλενίου. Σταδιακά και μέχρι να διαλυθούν πλήρως σε θερμοκρασία δωματίου, προστέθηκαν μικρά τεμάχια παραφίνης (Gurr, Poole UK). Όταν το διάλυμα ξυλενίου-παραφίνης κατέστη κορεσμένο, τα φιαλίδια μεταφέρθηκαν στους 42°C και επαναλήφθηκε η διαδικασία έως ότου επέλθει εκ νέου ο κορεσμός. Όταν τα διαλύματα ήταν πλέον κορεσμένα, μεταφέρθηκαν σε θερμαινόμενο θάλαμο σε θερμοκρασία 60°C. Στους 60°C η λιωμένη παραφίνη αντικαταστάθηκε τουλάχιστον τρεις φορές με νέα.

Για τον εγκλεισμό του δείγματος σε παραφίνη χρησιμοποιήθηκε μεταλλικό εκμαγείο, το οποίο τοποθετήθηκε σε δοχείο με πάγο. Στη συνέχεια το εκμαγείο πληρώθηκε με λιωμένη παραφίνη και το τεμαχίδιο του φύλλου τοποθετήθηκε εντός του εκμαγείου με κατάλληλο προσανατολισμό. Σε αυτό το στάδιο δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή στην αποτροπή εγκλεισμού φυσαλίδων αέρα εντός της παραφίνης.

Προετοιμασία αντικειμενοφόρων

Η προετοιμασία των αντικειμενοφόρων πλακών περιελάμβανε τα ακόλουθα στάδια:

- α) Εμβάπτιση σε διάλυμα 1% SDS (Serva, Haidenber, Germany) για 2 ώρες
- β) Ξέπλυμα με απιονισμένο νερό σε συνεχή ροή
- γ) Εμβάπτιση σε διάλυμα 5% HCl για 2 ώρες
- δ) Ξέπλυμα με απιονισμένο νερό σε συνεχή ροή
- ε) Εμβάπτιση σε διάλυμα 1% w/v πολυλυσίνης και στέγνωμα σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ημέρες.

Μικροτόμηση

Οι κύβοι που προέκυψαν από την πήξη της λιωμένης παραφίνης εντός του μεταλλικού εκμαγείου τοποθετήθηκαν σε χειροκίνητο μικροτόμο (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) και

πραγματοποιήθηκαν τομές πάχους 12 μm. Ακολούθησε επιλογή των τομών σε οπτικό μικροσκόπιο Zeiss AxioLab. Οι επιλεγμένες τομές τοποθετήθηκαν στις επεξεργασμένες με πολυλυσίνη αντικειμενοφόρους πλάκες μαζί με μία μικρή ποσότητα απεσταγμένου νερού. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν πάνω σε θερμαινόμενη πλάκα στους 42 °C. Μετά από 10 λεπτά αφαιρέθηκε το νερό με απορροφητικό χαρτί και οι αντικειμενοφόροι πλάκες παρέμειναν στους 42 °C για 48 ώρες προκειμένου το νερό να εξατμιστεί πλήρως και οι τομές να προσκολληθούν πάνω στις αντικειμενοφόρους.

Αποπαραφίνωση

Η αποπαραφίνωση έγινε με διαδοχική εμβάπτιση των τομών σε διαλύματα που περιείχαν: 100% ξυλένιο, 75% ξυλένιο-25% αιθανόλη, 50% ξυλένιο-50% αιθανόλη, 25% ξυλένιο-75% αιθανόλη και 100% αιθανόλη για 10min στο καθένα.

Χρώση με σαφρανίνη και fast green

Οι τομές εμβάπτιστηκαν διαδοχικά σε υδατικά διαλύματα αιθανόλης μειούμενης συγκέντρωσης (95%, 70% και 50%) στα οποία παρέμειναν 10 λεπτά. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε χρώση των τομών με σαφρανίνη για 24 ώρες. Το διάλυμα της σαφρανίνης προέκυψε από αρχικό διάλυμα σαφρανίνης (1% σαφρανίνη σε 95% αιθανόλη) το οποίο διαλύθηκε σε ίσο όγκο απεσταγμένου νερού. Μετά οι τομές ξεπλύθηκαν με νερό και μετά εμβάπτιστηκαν για 20 s σε διάλυμα οξιμισμένης αιθανόλης 70% προκειμένου να αποχρωματιστούν.

Ακολούθησε γρήγορη εμβάπτιση των τομών σε διάλυμα αιθανόλης 95% και σε διάλυμα απόλυτης αιθανόλης. Κατόπιν οι τομές εμβάπτιστηκαν στην χρωστική fast green (0,5% διαλύματος σε 50% γαρυφαλέλαιο, 50% αιθανόλη) για 30 s. Η διαφοροποίηση της χρώσης έγινε με την εμβάπτιση των τομών σε διάλυμα 50% γαρυφαλέλαιου, 25% απόλυτης αιθανόλης και 25% ξυλενίου για 20 min. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε για μία ακόμη φορά. Στη συνέχεια οι τομές τοποθετήθηκαν σε ξυλένιο όπου πραγματοποιήθηκαν τρεις αλλαγές ανά 15 λεπτά η κάθε μία. Τέλος οι τομές καλύφθηκαν με καλυπτρίδα η οποία κολλήθηκε με DePeX.

Με τη χρώση σαφρανίνης - fast green επιτυγχάνεται η χρώση των πυρηνίσκων, των χρωμοσωμάτων, της εφυμενίδας και των λιγνινοποιημένων κυτταρικών τοιχωμάτων με κόκκινο χρώμα, ενώ όλες οι υπόλοιπες κυτταρικές δομές χρωματίζονται πράσινες (Jensen, 1962).

Τέλος οι τομές παρατηρήθηκαν με οπτικό μικροσκόπιο και φωτογραφήθηκαν με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή SSCD 38P/45 (SONY Corporation). Στην συνέχεια με το πρόγραμμα επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus κατέστη δυνατή η μέτρηση της επιφάνειας του σκληρογύματος, των επιδερμικών κυττάρων, των κυττάρων συστροφής (bulliforms), των παρεγχυματικών κυττάρων και των χλωροπλαστών (εικόνα 17).

Δ. Βιοχημικές παράμετροι

Δ.1. Προσδιορισμός συγκέντρωσης χλωροφυλλών

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των χλωροφυλλών ελήφθησαν δίσκοι διαμέτρου 0,85 cm οι οποίοι τεμαχίστηκαν σε τεμάχια μεγέθους περίπου 1 mm² και εκχυλίστηκαν με 6 ml DMSO, τα οποία περιείχαν 0,1 g CaCO₃, σε υδατόλουτρο στους 65 °C για 40 λεπτά. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά στα 2972×g. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και μετρήθηκε η απορρόφηση του στα 665, 649 και 720 nm σε φασματοφωτόμετρο UV-160A (Shimadzu Corporation, Japan). Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων έγινε σύμφωνα με τις παρακάτω εξισώσεις (Hiscox and Israelstam, 1979):

$$Chl_{(a)} = 12,47 \cdot A_{665} - 3,62 \cdot A_{649}$$

Εξίσωση 7α

$$Chl_{(b)} = 25,06 \cdot A_{649} - 6,50 \cdot A_{665}$$

Εξίσωση 7β

$$Chl_{(a+b)} = Chl_{(a)} + Chl_{(b)}$$

Εξίσωση 7γ

Η τελική τιμή συγκέντρωσης των χλωροφυλλών εκφράστηκε σε μg cm⁻² επιφάνειας φύλλου (Chl_a). Η συγκέντρωση των χλωροφυλλών ανά μάζα (Chl_m) υπολογίστηκε ως το πηλίκο των Chl_a και LMA .

Δ.2. Προσδιορισμός συγκέντρωσης αζώτου

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

Προετοιμασία δειγμάτων

Τα δείγματα αφυδατώθηκαν σε κλίβανο στους 60 °C για 48 ώρες, και στην συνέχεια λειοτριβήθηκαν και ομογενοποιήθηκαν. Διατηρήθηκαν σε ξηραντήρα μέχρι τη διεξαγωγή των αναλύσεων.

Καύση δειγμάτων

Η ξηρά ουσία κάθε δείγματος ζυγίστηκε, τοποθετήθηκε σε φιάλη microkjeldahl και προστέθηκε 1 ml πυκνού H₂SO₄ και επαρκής ποσότητα καταλύτη (παρασκευαζόμενο με λειοτρίβηση και ομογενοποίηση 1 g CuSO₄, 8 g K₂SO₄ και 1 g SeO₂). Με την χρήση Vortex εξασφαλίστηκε η ομογενοποίηση και ολική διαβροχή του δείγματος. Στην συνέχεια η φιάλη τοποθετήθηκε σε θερμαντικό στοιχείο Tecator Block Digestor 2006 (Diversified Equipment Company, Lorton, VA, USA) στους 410 °C για περίπου 20–30 λεπτά μέχρι το περιεχόμενο να γίνει τελείως διαυγές και με χρώμα πράσινου μήλου. Κατά την διάρκεια της καύσης πραγματοποιείται οξειδωση της οργανικής ουσίας με αποτέλεσμα το άζωτο (εκτός αυτού που βρίσκεται υπό μορφή νιτρικών ιόντων) να μετατρέπεται ποσοτικά σε αμμωνία και αυτή σε θειικό αμμώνιο. Κατά τη διάρκεια της καύσης και ανά 10 λεπτά περίπου γινόταν ανάδευση των φιαλών microkjeldahl.

Στάδιο απόσταξης

Το προϊόν της καύσης μεταφέρθηκε σε κυλινδρική φιάλη Kjeldahl. Για την ποσοτική μεταφορά του προϊόντος έγιναν πλύσεις κάθε φιάλης microkjeldahl με 10 ml απεσταγμένου νερού. Ακολούθως προστέθηκαν 10 ml NaOH 40% w/v. Στη συνέχεια η φιάλη Kjeldahl τοποθετήθηκε στην κατάλληλη θέση σε αποστακτήρα Tecator Kjeltac System 1002 Distilling Unit (Diversified

Equipment Company). Στην θέση συλλογής του αποστάγματος της συσκευής τοποθετήθηκε γυάλινη κωνική φιάλη των 100 ml που περιείχε 20 ml H_3BO_3 2% w/w και 3 σταγόνες δείκτη Conway (παρασκευαζόμενου με ανάμιξη 12 ml δ/τος A (ως 25 ml αιθυλικής αλκοόλης 95% και 40 mg ερυθρού του μεθυλίου και μηχανική ανάδευση με ελαφρά θέρμανση κατά την οποία τα αντιδραστήρια πρέπει να διαλυθούν πλήρως), 24 ml δ/τος B (ως 25 ml απεσταγμένου νερού και 10 mg πράσινου της βρωμοκρεσόλης και ανάδευση) και 12 ml αιθανόλης 95%. Τελικός όγκος δείκτη 48 ml). Ακολούθησε απόσταξη κατά την οποία το θειικό αμμώνιο σε αλκαλικό περιβάλλον διασπάται και παράγεται αμμωνία η οποία διαβιβάζεται στην κωνική φιάλη με το διάλυμα βορικού οξέος. Η απόσταξη συνεχίστηκε έως συνολικού όγκου 40 ml του διαλύματος απόσταξης.

Τιτλοδότηση δειγμάτων

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

Υπολογισμός περιεχόμενου αζώτου

Για την αναγωγή των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε σειρά πρότυπων διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης αζώτου ($10-100 \text{ mg l}^{-1}$, 6 σημεία, $r^2 = 0,9972$). Σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη αναφοράς, 1 ml HCl N/28 αντιστοιχούσε σε 0,52 mg αζώτου. Υπολογίστηκε η ποσότητα αζώτου σε κάθε δείγμα και ακολούθως η συγκέντρωσή του ανά μάζα φύλλου (N_m , g kg^{-1}). Η συγκέντρωση του αζώτου ανά επιφάνεια ελάσματος (N_a) υπολογίστηκε ως το γινόμενο των N_m και LMA .

Δ.3. Προσδιορισμός συγκέντρωσης ολικών φαινολικών συστατικών

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

Εκχύλιση

Ζυγίστηκαν 50 mg κονιορτοποιημένου ξηρού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 6 ml υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50%, σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 40 °C για 1 ώρα (με ανάδευση ανά 10 λεπτά). Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά στα 4000×g. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και τοποθετήθηκε σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες.

Αντίδραση

Σε μεγαλύτερου μεγέθους δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 3,950 ml απιονισμένου νερού, 50 ml του υπερκείμενου, 250 ml αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu. Ακολούθησε επώαση για χρονικό διάστημα 1-8 min σε θερμοκρασία δωματίου και προστέθηκαν 750 ml διαλύματος ανθρακικού ασβεστίου (Na_2CO_3). Στο τυφλό διάλυμα σε αντικατάσταση των 50 ml του υπερκείμενου προστεθήκαν 50 ml υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50% και ακολούθησε η ίδια διαδικασία.

Η ομογενοποίηση των δειγμάτων έγινε με αναδευτήρα Vortex. Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες. Η απορρόφηση για κάθε δείγμα μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο στα 760 nm. Κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς για διαφορετικές συγκεντρώσεις ταννικού οξέος. Η συγκέντρωση συνολικών φαινολικών εκφράστηκε σε

mg ισοδύναμου ταννικού οξέος ανά g ξηρής ουσίας (Ph_m). Η συγκέντρωση συνολικών φαινολικών ανά επιφάνεια ελάσματος (Ph_a) υπολογίστηκε ως το γινόμενο των Ph_m και LMA .

Δ.4. Χρωματογραφική ανάλυση φλαβονοειδών

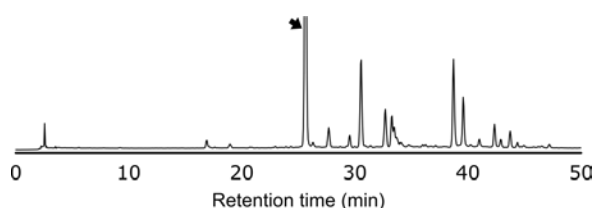
Εκχύλιση

Η εκχύλιση των φλαβονοειδών από την ξηρή μάζα πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τους (Waterman and Mole, 1994). Ζυγίστηκαν 100 mg ξηρού βάρους ιστού και εισήχθησαν σε δοκιμαστικό σωλήνα PET με 7 ml μεθανόλης 50%. Καλύφθηκαν με parafilm και παρέμειναν στο σκοτάδι για 20 h. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και απομονώθηκε το εκχύλισμα. Η διαδικασία επαναλήφθηκε μια δεύτερη φορά και τα δύο εκχυλίσματα ενοποιήθηκαν.

Χρωματογραφικός διαχωρισμός

Τα δείγματα διηθήθηκαν σε φίλτρο μεμβράνης οξικής κυτταρίνης (0,2 μ m, Macherey-Nagel, Duren, Germany) και υποβλήθηκαν σε αναλυτική υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης για τα περιεχόμενα φλαβονοειδή. Οι αναλύσεις έγιναν σε σύστημα Prominence (Shimadzu Co., Tokyo, Japan) εξοπλισμένο με απαιρωτή DGU-20A₅, αντλία LC-20AD, ανιχνευτή UV-Vis συστοιχίας φωτοδιόδων SPD-M20A και θερμοστατούμενο διαμέρισμα στηλών CTO-20A. Όγκος 20 μ l δείγματος εγχύθηκε σε στήλη Zorbax Stablebond-C₁₈, 5 μ m, 250×4,6 mm (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) και διαχωρίστηκε σε γραμμικό gradient των εξής διαλυτών: A (1% οξικό οξύ):B (μεθανόλη) 90:10 / μετάβαση προς 55:45 σε 50 min / μετάβαση προς 0:100 σε 3 min / μετάβαση προς 90:10 σε 2 min και έκλουση της στήλης για 10 min έως ότου ακολουθήσει η επόμενη ανάλυση. Θερμοκρασία στήλης: 40 °C, ροή κινητής φάσης 1 ml min⁻¹. Η

παρακολούθηση της ανάλυσης έγινε στα 340 nm ενώ τα χρωματογραφήματα κατεγράφησαν στην περιοχή από 190 έως 800 nm και αναλύθηκαν με λογισμικό LC Solutions ver. 1.23 SP1 (Shimadzu Co.). Τα εκλουόμενα συστατικά χαρακτηρίστηκαν βάσει του φάσματος απορρόφησης και της κινητικότητάς τους και ποσοτικοποιήθηκαν βάσει της επιφάνειας της κορυφής έκλουσης. Ως κύριο φλαβονοειδές αναγνωρίστηκε και ποσοτικοποιήθηκε ο 7-γλυκοσίδης της ισοοριεντίνης (Ferrerres *et al.*, 2008) και εκφράστηκε ως μ V×s g⁻¹ ξηρής μάζας ($ISOOR-7-GLU_m$, εικόνα 9). Πέραν του παραπάνω, ως φλαβονοειδή θεωρήθηκαν επιπλέον όσες κορυφές έκλουσης είχαν χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης φλαβονοειδούς. Ως ποσότητα ολικών φλαβονοειδών θεωρήθηκε το σύνολο του εμβαδού των αντίστοιχων κορυφών έκλουσης και η συγκέντρωσή τους εκφράστηκε ως μ V×s g⁻¹ ξηρής μάζας ($FLAV_m$).



Εικόνα 9. Αντιπροσωπευτική χρωματογραφική ανάλυση των φλαβονοειδών των φύλλων του κριθαριού. Ανίχνευση στα 340 nm. Οι κορυφές έκλουσης ταυτοποιήθηκαν ως φλαβονοειδή σύμφωνα με το φάσμα απορρόφησής τους. Ως κύριο φλαβονοειδές ταυτοποιήθηκε ο 7-γλυκοσίδης της ισοοριεντίνης (βέλος).

Δ.5. Προσδιορισμός συγκέντρωσης συμπυκνωμένων ταννινών

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

Εκχύλιση

Ζυγίστηκαν 50 mg κονιορτοποιημένου ξηρού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 6 ml υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50%, σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 40 °C για 1 ώρα (με ανάδευση ανά 10 λεπτά). Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά στα 4000×g. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και τοποθετήθηκε σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες.

Προετοιμασία αντιδραστηρίου βουτανόλης

Σε ογκομετρικό σωλήνα 1 l προστέθηκαν 50 ml συμπυκνωμένου υδροχλωρικού οξέος (HCl) και 0,7 g $\text{FeSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ και συμπληρώθηκε ο όγκος στο 1 l με βουτανόλη.

Αντίδραση

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 7 ml του αντιδραστηρίου βουτανόλης και 500 μl του υπερκείμενου. Στο τυφλό διάλυμα σε αντικατάσταση των 500 μl του υπερκείμενου προστεθήκαν 500 μl υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50%. Η ομογενοποίηση των δειγμάτων έγινε με αναδευτήρα Vortex. Στη συνέχεια σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 95°C για 40 min - 1 h. Μετά την επώαση τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν και ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης. Η απορρόφηση για κάθε δείγμα μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο στα 550 nm. Το περιεχόμενο σε ταννίνες εκφράστηκε σε mg ταννινών ανά g ξηρού βάρους δείγματος (CT_m). Η συγκέντρωση συμπυκνωμένων ταννινών ανά επιφάνεια ελάσματος (CT_a) υπολογίστηκε ως το γινόμενο των CT_m και LMA .

Δ.6. Προσδιορισμός συγκέντρωσης προλίνης

Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης της προλίνης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της όξινης νινυδρίνης, η οποία προτάθηκε από τους (Bates, 1973). Ζυγίστηκαν 50 mg νωπού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 10 ml υδατικού διαλύματος αιθανόλης 80%, σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 60 °C για 30 λεπτά. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν 2 ml εκχυλίσματος σε δοκιμαστικούς σωλήνες και προστέθηκαν 2 ml του αντιδραστηρίου της όξινης νινυδρίνης (1,25 g όξινη νινυδρίνη, 30 ml οξικό οξύ, 20 ml 6 M ορθοφωσφορικό οξύ, ανάδευση και ελαφριά θέρμανση) και 2 ml οξικού οξέος. Για την αντίδραση οι δοκιμαστικοί σωλήνες σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 100 °C για 1 ώρα. Η αντίδραση τερματίστηκε με τη μεταφορά των δοκιμαστικών σωλήνων σε πάγο. Ακολούθησε προσθήκη 4 ml τολουόλιου και ανάδευση. Μετά την ανάδευση τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν και ακολούθησε διαχωρισμός φάσεων: η οργανική φάση που περιείχε το παράγωγο προλίνης-νινυδρίνης διαχωρίστηκε από την υδατική φάση του διαλύματος. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και μετρήθηκε η απορρόφηση με φασματοφωτόμετρο στα 520 nm. Η συγκέντρωση προλίνης (Pr_m) υπολογίστηκε μέσω πρότυπης καμπύλης αναφοράς και εκφράστηκε ως μmol προλίνης ανά g νωπού βάρους δείγματος. Η συγκέντρωση προλίνης ανά επιφάνεια ελάσματος (Pr_a) υπολογίστηκε ως το γινόμενο των Pr_m και LMA .

Ε. Στατιστική ανάλυση

Για τη διάκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών χρησιμοποιήθηκε ανάλυση διασποράς (ANOVA) και οι διαφορές μεταξύ των μέσων βρέθηκαν μέσω πολλαπλών συγκρίσεων κατά Tukey-Kramer (Jmp 7.0, SAS Institute Inc, Cary, NC). Για την ανάλυση διασποράς εξασφαλίστηκε ότι οι τιμές ακολουθούσαν κανονική κατανομή και ότι οι διασπορές των μέσων ήταν ομοιογενείς. Όπου δεν ίσχυε κάποια από τις δύο προϋποθέσεις πραγματοποιήθηκε λογαριθμικός μετασχηματισμός, μετασχηματισμός αντιστροφής ή μετασχηματισμός τετραγωνικής ρίζας. Για τις μεταβλητές όπου δεν κατέστη δυνατή η διεξαγωγή ANOVA μέσω

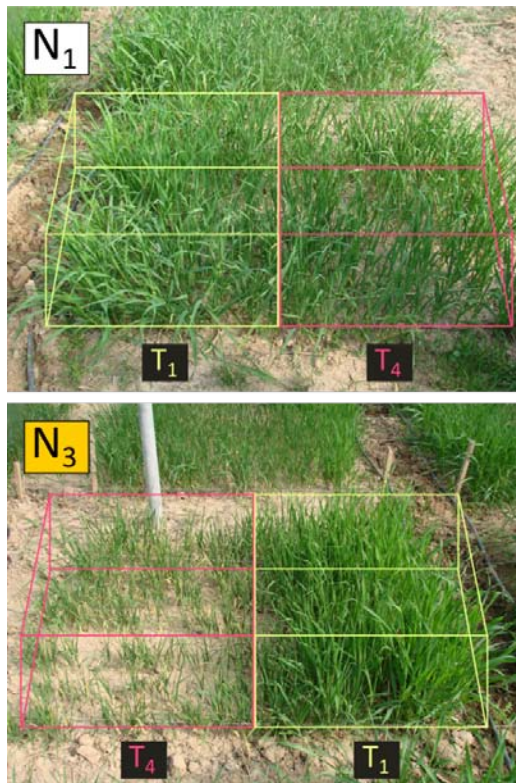
μετασχηματισμού, πραγματοποιήθηκε μη-παραμετρική ανάλυση κατά Kruskal-Wallis (Jmp 7.0, SAS Institute Inc, Cary, NC). Οι συσχετίσεις ανά ζεύγη μεταξύ των παραμέτρων πραγματοποιήθηκαν ανά γονότυπο και ανεξαρτήτως γονότυπου για το σύνολο των μεταχειρίσεων άρδευσης και λίπανσης αζώτου. Καταγράφηκαν οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης (κατά Pearson) και μη-γραμμικής συσχέτισης (κατά Spearman) (βλ. Παράρτημα, πίνακες 2-7) με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος SPSS Statistics (version 17.0, IBM® SPSS® Statistics).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

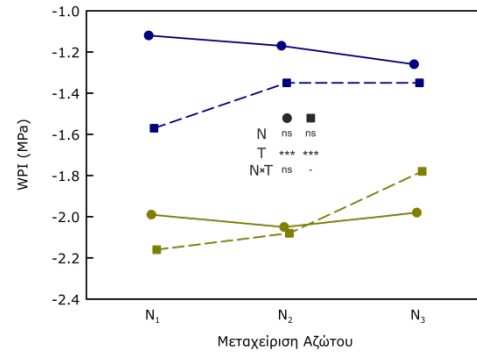
A. Παράμετροι σχετικές με τις επιβαλλόμενες καταπονήσεις

A.1. Δείκτης δυναμικού νερού (WPI)

Η σημαντική μείωση των τιμών του *WPI* και στους δύο γονοτύπους (εικόνα 11) πιστοποιεί ότι επετεύχθη υδατική καταπόνηση δύο επιπέδων (επάρκεια - ανεπάρκεια νερού) σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό.



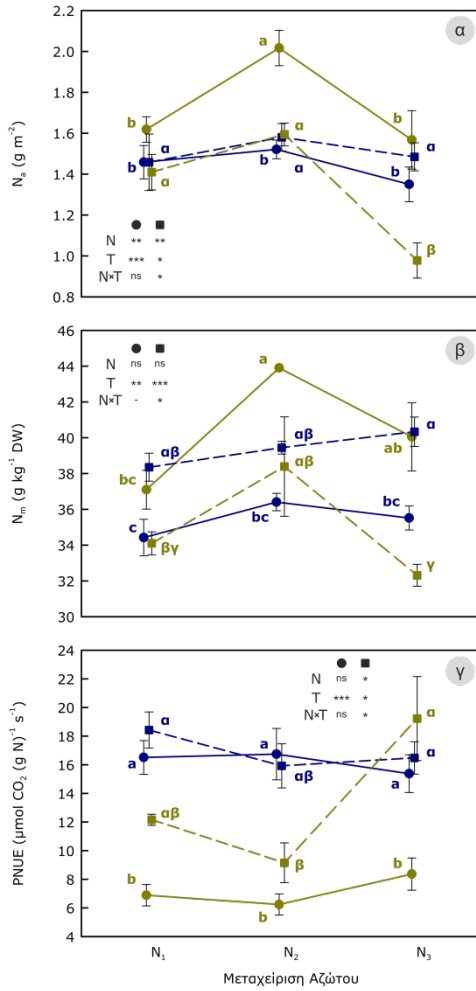
Εικόνα 10. Απεικόνιση δύο τεμαχίων με φυτά κριθαριού κατά τη διάρκεια του πειράματος. Σε κάθε τεμάχιο έχει εφαρμοστεί διαφορετική ποσότητα αζωτούχου λιπάσματος (N_1 : μέγιστη ποσότητα λιπάσματος ή N_3 : μηδενική ποσότητα λιπάσματος) σύμφωνα με τις πειραματικές επεμβάσεις. Σε κάθε υποτεμάχιο εφαρμόζεται διαφορετική ένταση έλλειψης νερού ανάλογα της απόστασης του υποτεμαχίου από τους σταλάκτες (T_1 : επάρκεια νερού, T_4 : ανεπάρκεια νερού).



Εικόνα 11. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N_1 : μεγαλύτερη έως N_3 : μηδενική) και της επάρκειας νερού στον δείκτη δυναμικού νερού (*WPI*) των φύλλων φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T_1 (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T_4 (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Τα δεδομένα προέρχονται από το Εργαστήριο Γεωργίας του ΓΠΑ.

A.2. Επίπεδα Αζώτου

Στις εικόνες 12α και β παρουσιάζονται οι μεταβολές του περιεχόμενου αζώτου των φύλλων εκφρασμένου ανά μονάδα επιφάνειας και ανά μονάδα ξηρής μάζας αντίστοιχα. Ο γονότυπος 'Νίκη' εμφανίζει στατιστικά σημαντική μείωση του περιεχόμενου αζώτου των φύλλων εκφρασμένου τόσο ανά μονάδα επιφάνειας (N_a) όσο και ανά μονάδα ξηρής μάζας (N_m) σε συνθήκες ανεπάρκειας νερού και μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο. Στον γονότυπο 'Δήμητρα' το περιεχόμενο άζωτο των φύλλων εκφρασμένο τόσο ανά μονάδα επιφάνειας (N_a) όσο και ανά μονάδα ξηρής μάζας (N_m) αυξάνεται σημαντικά σε συνθήκες έλλειψης νερού και στην ενδιάμεση τιμή τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο. Το επίπεδο του περιεχόμενου αζώτου των φύλλων σε συνθήκες μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο εμφανίζεται ίδιο με αυτό που διαθέτει το φυτό σε επάρκεια νερού και τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο (εικόνες 12α και β).



Εικόνα 12. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (Ν₁: μεγαλύτερη έως Ν₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού στο περιεχόμενο άζωτο ανά μονάδα επιφάνειας (Ν_s), περιεχόμενο άζωτο ανά μονάδα ξηρής μάζας (Ν_m) και αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (PNUE) των φύλλων φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση Τ₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση Τ₄ (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P < 0,05$). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Νίκη').

A.2.1. Αποδοτικότητα χρήσης αζώτου

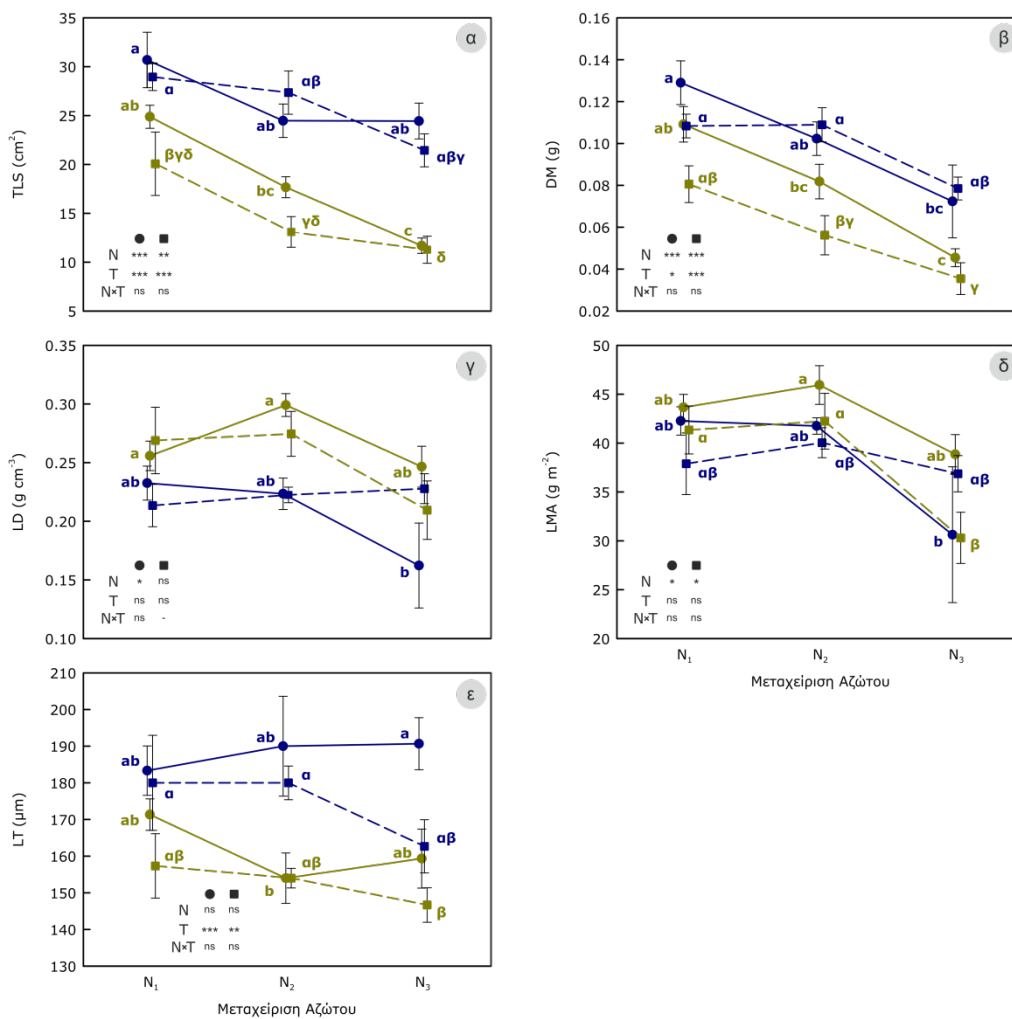
Η έλλειψη νερού φαίνεται ότι μειώνει σημαντικά την αποδοτικότητα της χρήσης των αποθεμάτων αζώτου για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (PNUE) στο γονότυπο 'Δήμητρα' με επίπεδο σημαντικότητας $P < 0,001$ (εικόνα 12γ). Αντίθετα, η έλλειψη αζώτου δεν φαίνεται να επηρεάζει την PNUE των δύο γονοτύπων καθώς δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών επιπέδων τροφοδοσίας του εδάφους σε άζωτο.

B. Κατασκευαστικές παράμετροι των φύλλων

Στην εικόνα 13 παρουσιάζονται οι μεταβολές των κατασκευαστικών παραμέτρων των φύλλων υπό την επίδραση υδατικής καταπόνησης και τροφοδοσίας του εδάφους με διαφορετικά επίπεδα αζώτου. Στις εικόνες 13α και β φαίνεται ότι τόσο η ανεπαρκής τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο όσο και η ανεπάρκεια νερού προκαλούν σημαντική μείωση της συνολικής

επιφάνειας του φύλλου (*TLS*) και της ξηρής μάζας του (*DM*). Τα δεδομένα αυτά ισχύουν και για τους δύο γονοτύπους κριθαριού.

Στις εικόνες 13γ και δ απεικονίζεται μια ήπια αύξηση της πυκνότητας του φύλλου (*LD*) και της ξηρής μάζας ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου (*LMA*) αντίστοιχα εξαιτίας της υδατικής καταπόνησης και για



Εικόνα 13. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N₁: μεγαλύτερη έως N₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού στη συνολική επιφάνεια φύλλου (*TLS*), ξηρή μάζα φύλλου (*DM*), πυκνότητα φύλλου (*LD*), ξηρή μάζα ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου (*LMA*) και πάχος ελάσματος (*LT*) φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T₄ (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P < 0,05$). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Νίκη').

-Αποτελέσματα-

τους δύο γονοτύπους. Η πυκνότητα του φύλλου (LD) και η ξηρή μάζα ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου (LMA) τείνει να μειωθεί σημαντικά μόνο στην περίπτωση της μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο χωρίς να επηρεάζεται από το επίπεδο της υδατικής καταπόνησης. Η τάση αυτή,

αφορά και τους δύο γονοτύπους.

Όπως φαίνεται στην εικόνα 13ε, το πάχος του φύλλου (LT) και για τους δύο γονοτύπους μειώνεται κυρίως λόγω της ανεπάρκειας νερού αν και οι επιμέρους διαφορές δεν είναι στατιστικά σημαντικές.

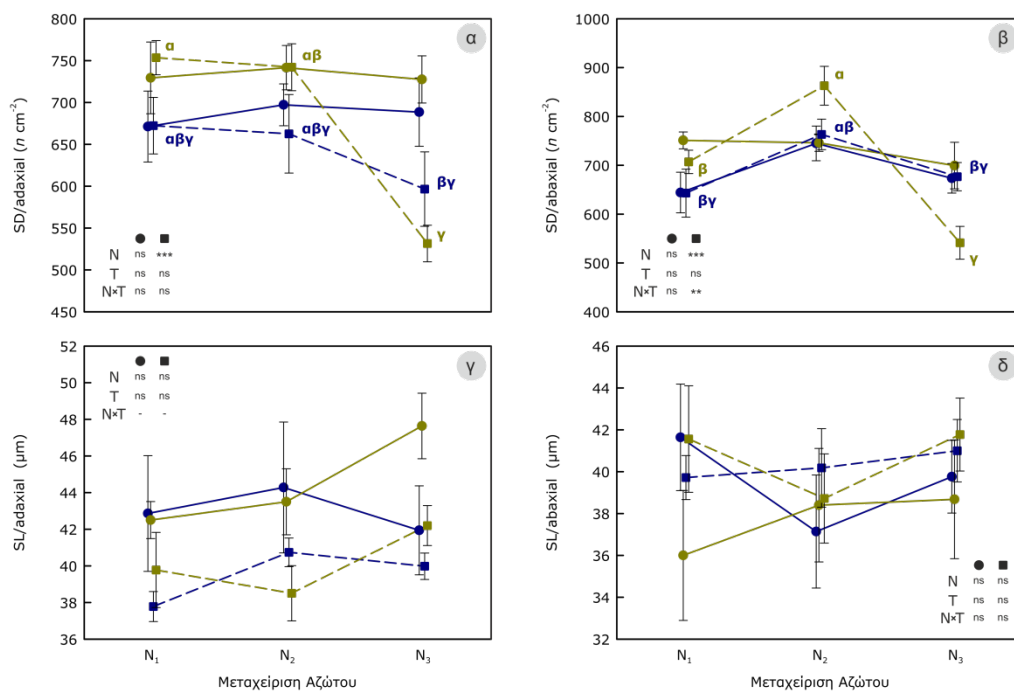
Γ. Ανατομικές παράμετροι

Γ.1. Παράμετροι των στομάτων

Η επίδραση της υδατικής καταπόνησης σε συνδυασμό με τα τρία επίπεδα τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο στην πυκνότητα των στομάτων της προσαξονικής ($SD/adaxial$) και της αποαξονικής επιφάνειας ($SD/abaxial$) παρουσιάζεται στις εικόνες 14α και β. Στο γονότυπο 'Δήμητρα' οι παραπάνω παράμετροι δεν επηρεάζονται από την τροφοδοσία με άζωτο ή την ανεπάρκεια νερού. Στον γονότυπο 'Νίκη' εμφανίζεται μείωση της στοματικής πυκνότητας στο χαμηλότερο επίπεδο τροφοδοσίας με άζωτο υπό την επίδραση υδατικής καταπόνησης. Επιπλέον, ειδικά στη στοματική πυκνότητα της αποαξονικής επιφάνειας

(εικόνα 14β), η υψηλότερη τιμή για τον γονότυπο 'Νίκη' εμφανίζεται στο συνδυασμό του ενδιάμεσου επιπέδου τροφοδοσίας με άζωτο και υδατικής καταπόνησης. Η εναλλαγή αυτή των τιμών στοματικής πυκνότητας μεταξύ των επιπέδων διαθεσιμότητας αζώτου υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης οφείλεται στη σημαντική αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων καταπόνησης ($P < 0,01$, εικόνα 14β).

Στις εικόνες 14γ και δ παρουσιάζονται οι μέσοι όροι του μήκους των στομάτων της προσαξονικής ($SL/adaxial$) και της αποαξονικής επιφάνειας ($SL/abaxial$) των φύλλων των δύο γονοτύπων κριθαριού. Από την στατιστική ανάλυση των τιμών των παραμέτρων σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης και



Εικόνα 14. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N_1 : μεγαλύτερη έως N_3 : μηδενική) και της επάρκειας νερού στη στοματική πυκνότητα (SD) και στο μήκος των στομάτων (SL) της προσαξονικής ($adaxial$) ή αποαξονικής επιφάνειας ($abaxial$) φύλλων φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T_1 (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T_4 (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P < 0,05$). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Νίκη').

μειωμένης τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο, φάνηκε ότι δεν υπάρχει ιδιαίτερη μεταβολή στις διαστάσεις των στομάτων των δύο γονοτύπων. Οι διαστάσεις των στομάτων της προσαξονικής επιφάνειας τείνουν να είναι χαμηλότερες υπό επίδραση υδατικής καταπόνησης αλλά δεν παρατηρείται κάτι ανάλογο για τα στόματα της αποαξονικής επιφάνειας.

Γ.2. Παράμετροι των αγγείων

Στις εικόνες 15α και β παρουσιάζονται οι διακυμάνσεις της μέσης διαμέτρου των μεταξυλικών αγγείων της κεντρικής νεύρωσης (*MVD*) και της μέσης διαμέτρου των μεταξυλικών αγγείων της δευτερεύουσας νεύρωσης (*SVD*) στους διαφορετικούς πειραματικούς χειρισμούς. Και στους δύο γονοτύπους παρατηρείται σημαντική μείωση της διαμέτρου των αγγείων ($P < 0,001$) η οποία οφείλεται στην επιβολή της υδατικής καταπόνησης. Στον γονότυπο *Δήμητρα* η μηδενική τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο φαίνεται να επιφέρει μία επιπλέον σμίκρυνση των αγγείων τόσο της κεντρικής όσο και της δευτερεύουσας νεύρωσης.

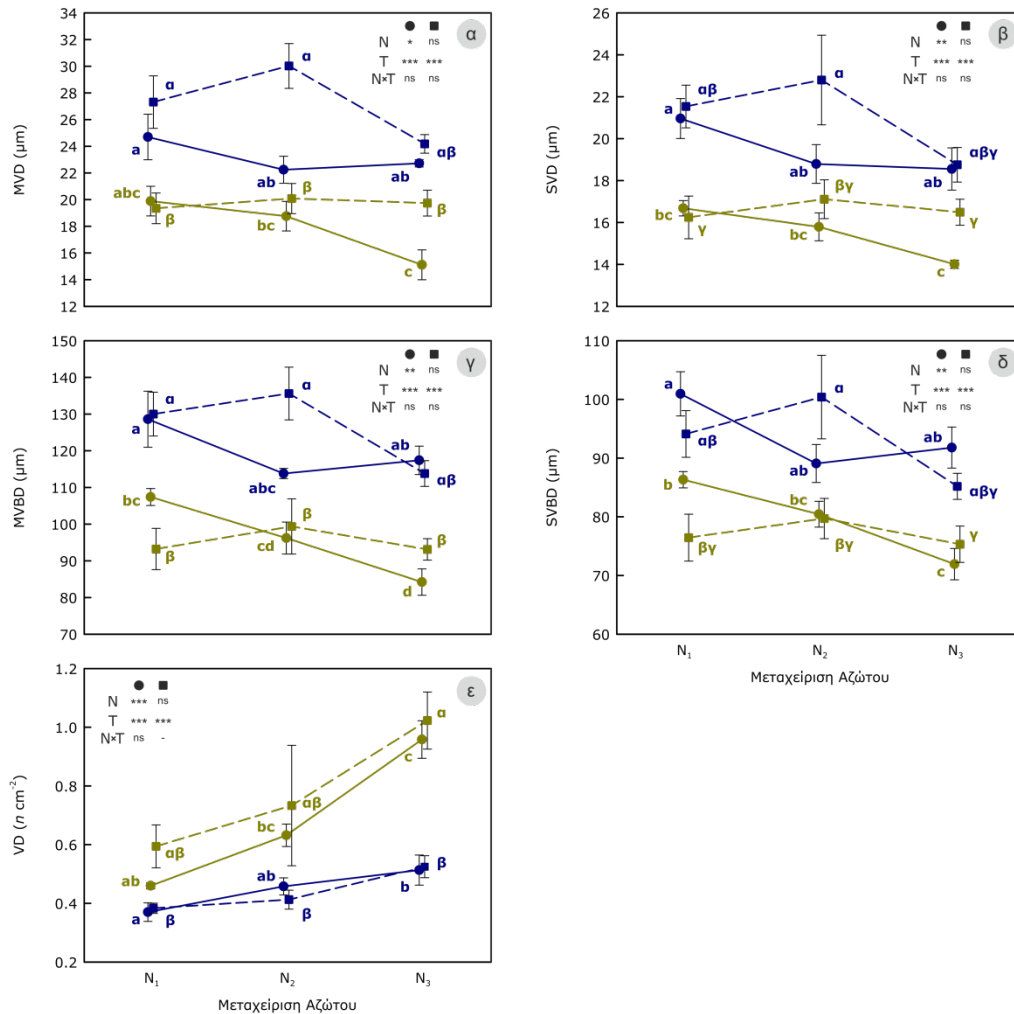
Στις εικόνες 15γ και δ απεικονίζεται ανάλογα σημαντική μείωση της διαμέτρου της κύριας (*MVBD*) και της δευτερεύουσας (*SVBD*) ηθμαγγειώδους δεσμίδας η οποία προκαλείται από την επίδραση της υδατικής καταπόνησης και στους δύο γονοτύπους κριθαριού ($P < 0,001$). Η διαβάθμιση στην τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο μειώνει περαιτέρω την διάμετρο τόσο της κύριας όσο και της δευτερεύουσας ηθμαγγειώδους δεσμίδας στο γονότυπο *Δήμητρα* ($P < 0,01$).

Όπως φαίνεται στην εικόνα 15ε, η πυκνότητα των νευρώσεων ανά επιφάνεια φύλλου (*VD*) αυξάνει υπό την επίδραση της υδατικής καταπόνησης και στους δύο γονοτύπους ($P < 0,001$). Σε επάρκεια νερού η διαβάθμιση της συγκέντρωσης του αζώτου στο έδαφος δεν επηρεάζει αισθητά την πυκνότητα των νευρώσεων του φύλλου. Ωστόσο, στο γονότυπο *Δήμητρα*, σε συνθήκες έλλειψης νερού, η πυκνότητα των νευρώσεων αυξάνεται περαιτέρω με την μείωση της συγκέντρωσης του αζώτου που προστίθεται στο έδαφος ($P < 0,001$). Στον γονότυπο *Νίκη*, η έλλειψη αζώτου προκαλεί μία ηπιότερη αύξηση της πυκνότητας των νευρώσεων.

Γ.3. Ιστολογικές παράμετροι

Οι ιστολογικές παράμετροι μετρήθηκαν μετά από ψηφιακή ανάλυση εικόνας σε μικροφωτογραφίες (εικόνες 17 και 18). Η επίδραση της υδατικής καταπόνησης και της λίπανσης αζώτου στη μέση επιφάνεια των επιδερμικών κυττάρων της προσαξονικής και της αποαξονικής επιφάνειας παρουσιάζεται στις εικόνες 6α και β. Η μέση επιφάνεια των επιδερμικών κυττάρων τόσο της προσαξονικής όσο και της αποαξονικής επιφάνειας καταγράφουν εμφανή μείωση όταν τα φυτά υφίστανται έλλειψη νερού. Η διαβάθμιση των συγκεντρώσεων αζώτου στο έδαφος τείνει να αυξήσει τις συγκριμένες παραμέτρους σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Ως αποτέλεσμα, η μέση επιφάνεια των κυττάρων εμφανίζεται παρόμοια υπό συνδυασμένη υδατική καταπόνηση και έλλειψη αζώτου. Τα δεδομένα αυτά ισχύουν και για τους δύο γονοτύπους.

-Αποτελέσματα-



Εικόνα 15. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N₁: μεγαλύτερη έως N₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού στη μέση διάμετρο των μεταξυλικών αγγείων της κεντρικής νεύρωσης (MVD), μέση διάμετρο των μεταξυλικών αγγείων δευτερεύουσας νεύρωσης (SVD), διάμετρο της ηθμαγγειώδους δεσμίδας της κεντρικής νεύρωσης (MVBD), διάμετρο της ηθμαγγειώδους δεσμίδας δευτερεύουσας νεύρωσης (SVBD) και πυκνότητας νευρώσεων ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου (VD) φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T₄ (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (P < 0,05). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Νίκη').

Στις εικόνες 16γ και δ απεικονίζεται η επίδραση της υδατικής καταπόνησης και των διαφορετικών επιπέδου αζώτου στην μέση επιφάνεια των κολλεγχυματικών κυττάρων της προσαξονικής και της αποαξονικής επιφάνειας των φύλλων των δύο γονοτύπων κριθαριού. Από την εικόνα 16γ προκύπτει ότι η υδατική καταπόνηση προκαλεί μείωση της μέση επιφάνειας των κολλεγχυματικών κυττάρων της προσαξονικής

επιφάνειας και για τους δύο γονοτύπους (P < 0,001), ενώ οι διαφορετικές συγκεντρώσεις αζώτου του εδάφους δεν φαίνεται να μεταβάλλουν την παράμετρο, ωστόσο, η μέση επιφάνεια των κυττάρων εμφανίζεται παρόμοια υπό συνδυασμένη υδατική καταπόνηση και έλλειψη αζώτου (εικόνα 16γ). Αντίστοιχη μείωση λόγω έλλειψης νερού εμφανίζει η μέση επιφάνεια των κολλεγχυματικών κυττάρων της αποαξονικής

επιφάνειας, ωστόσο μόνο για το γονότυπο 'Νίκη' ($P < 0,001$). Αντίθετα η μέση επιφάνεια των κολλεγχυματικών κυττάρων της αποαξονικής επιφάνειας του γονοτύπου 'Δήμητρα' δεν μεταβάλλεται λόγω έλλειψης νερού ή διαφορετικής μεταχείρισης αζώτου (εικόνα 16δ).

Στην εικόνα 16ε φαίνεται ότι η υδατική καταπόνηση επιδρά στην συνολική επιφάνεια των κυττάρων συστροφής του γονοτύπου 'Νίκη' επιφέροντας συρρίκνωση των διαστάσεων των κυττάρων. Σε συνθήκες μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο παρατηρείται μια επιπλέον τάση μείωσης της συνολικής επιφάνειας των κυττάρων. Οι μεταχειρίσεις με διαφορετικά επίπεδα αζώτου στο έδαφος και η έλλειψη νερού δεν έδειξαν να επηρεάζουν την συνολική επιφάνεια των κυττάρων συστροφής στον γονότυπο 'Δήμητρα'.

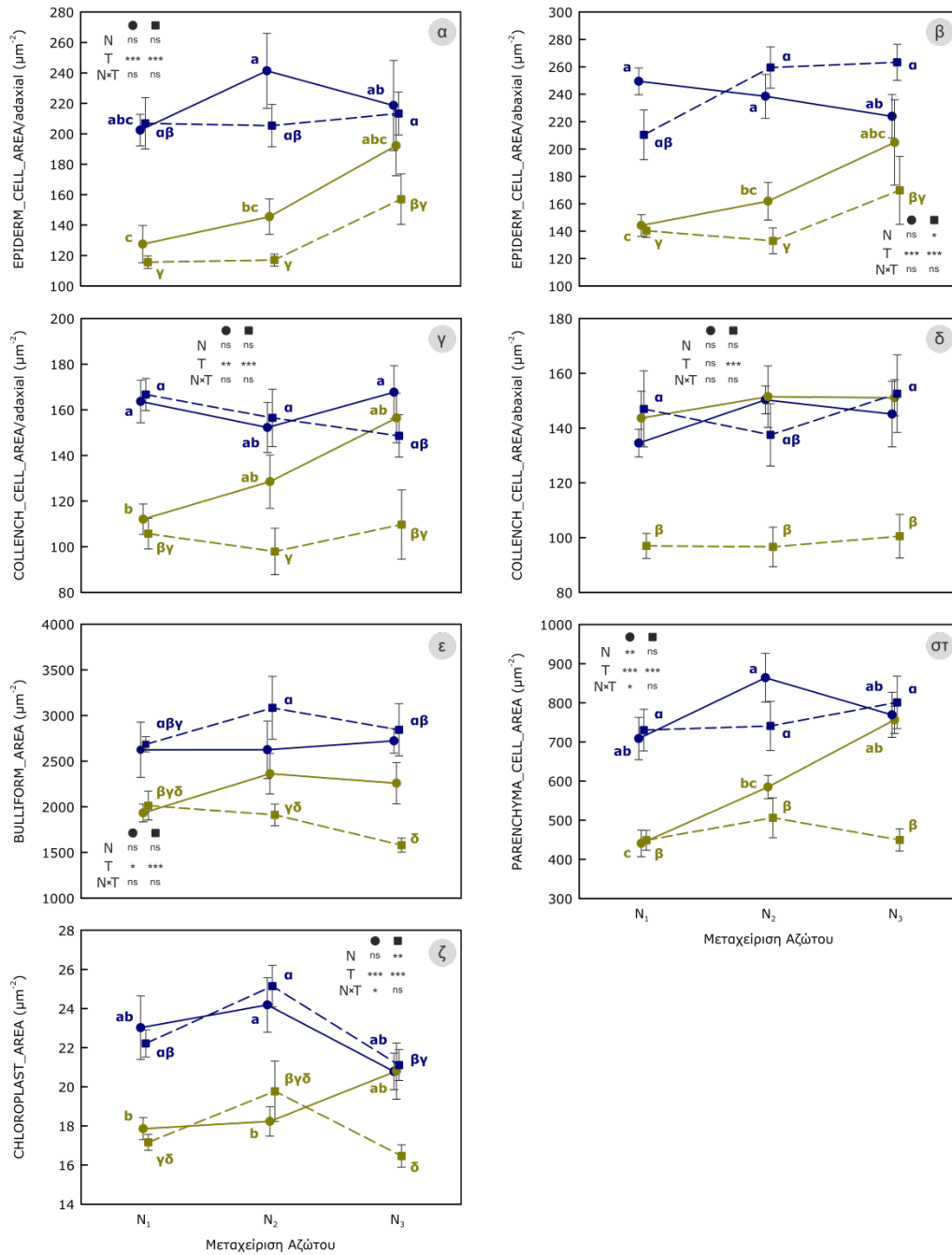
Η επίδραση της υδατικής καταπόνησης και των διαφορετικών επιπέδων τροφοδοσίας με άζωτο του εδάφους στην μέση επιφάνεια των κυττάρων του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος παρουσιάζεται στην εικόνα 16στ. Στον γονότυπο 'Νίκη' παρατηρείται έντονη μείωση του μεγέθους των παρεγχυματικών κυττάρων η οποία οφείλεται αποκλειστικά στη επίδραση της υδατικής καταπόνησης ($P < 0,001$). Στο γονότυπο 'Δήμητρα', η μέση επιφάνεια των κυττάρων του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος φαίνεται να επηρεάζεται από την ανεπάρκεια νερού ($P < 0,001$), τα διαφορετικά επίπεδα αζώτου ($P < 0,01$) και από την αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων καταπόνησης ($P < 0,05$). Σε συνθήκες έλλειψης νερού και πλήρους τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο εμφανίζεται μια

έντονη σμίκρυνση των παρεγχυματικών κυττάρων. Ωστόσο, μειούμενου του αζώτου στο έδαφος, η μέση επιφάνεια των παρεγχυματικών κυττάρων αυξάνεται ώσπου η μέση τιμή της, σε συνθήκες ανεπάρκειας νερού και μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο, να επανέρχεται στην αρχική τιμή που εμφανίζει το φυτό σε συνθήκες επάρκειας νερού και πλήρους τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο (εικόνα 16στ).

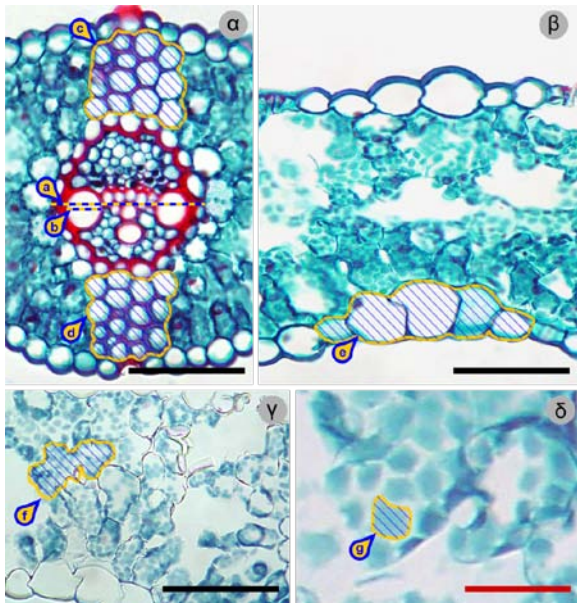
Στην εικόνα 16ζ φαίνεται ότι η υδατική καταπόνηση επιφέρει σημαντική μείωση της μέσης επιφάνειας των χλωροπλαστών και στους δύο γονοτύπους. Η μείωση της μέσης επιφάνειας των χλωροπλαστών στον γονότυπο 'Νίκη' οφείλεται εκτός από την επίδραση της υδατικής καταπόνησης και στα διαφορετικά επίπεδα αζώτου που εφαρμόζονται στο έδαφος ($P < 0,01$). Η μείωση αυτή δεν είναι ομαλή σε όλο το εύρος τιμών διαθεσιμότητας αζώτου αλλά εμφανίζει διακυμάνσεις καθώς στο ενδιάμεσο επίπεδο αζώτου (N_2) παρουσιάζεται η μεγαλύτερη τιμή. Στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση των δύο καταπονήσεων επηρεάζει μόνο τον γονότυπο 'Δήμητρα' με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0,05$). Είναι ενδιαφέρον ότι στο γονότυπο 'Δήμητρα', σε συνθήκες έλλειψης νερού και μειούμενης συγκέντρωσης αζώτου στο έδαφος, η μέση επιφάνεια των χλωροπλαστών αρχικά μειώνεται και στην συνέχεια αυξάνεται μέχρι να επανέλθει στην αρχική τιμή που εμφανίζει το φυτό σε συνθήκες επάρκειας νερού και πλήρους τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο (N_1).

Στην εικόνα 19 παρουσιάζεται η κατανομή των επιμέρους τιμών των ιστολογικών παραμέτρων (μέγεθος κυττάρων και χλωροπλαστών) υπό την

-Αποτελέσματα-



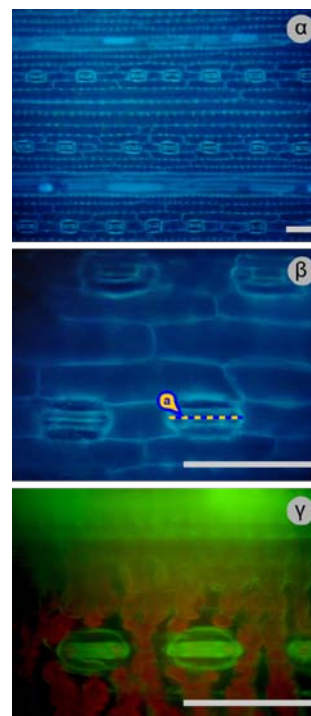
Εικόνα 16. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N₁: μεγαλύτερη έως N₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού στη μέση επιφάνεια των επιδερμικών κυττάρων (*EPIDERM_CELL_AREA*), μέση επιφάνεια των κολλεγχυματικών κυττάρων της κεντρικής νεύρωσης (*COLLENGH_CELL_AREA*) της προσαξονικής (adaxial) ή αποσαξονικής επιφάνειας (abaxial), συνολική επιφάνεια των κυττάρων συστροφής (*BULLIFORM_AREA*), μέση επιφάνεια κυττάρων του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος (*PARENCHYMA_CELL_AREA*) και μέση επιφάνεια των χλωροπλαστών (*CHLOROPLAST_AREA*) των φύλλων φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T₄ (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (P < 0,05). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Νίκη').



Εικόνα 17. Αντιπροσωπευτικές μικροφωτογραφίες εγκάρσιων τομών φύλλων κριθαριού μετά από μονιμοποίηση, τμήση και χρώση (βλ. κείμενο). α. κεντρική ηθμαγγειώδης δεσμίδα όπου διακρίνονται τα ανατομικά στοιχεία τα οποία μετρήθηκαν (α: μήκος κεντρικής ηθμαγγειώδους δεσμίδας, *MVBD*, b: μέση διάμετρος μεταξυλικών αγγείων κεντρικής ηθμαγγειώδους δεσμίδας, *MVD*, c: μέση επιφάνεια κυττάρων άνω κολλεγχύματος, *COLLENCH_CELL_AREA/adaxial*, d: μέση επιφάνεια κυττάρων κάτω κολλεγχύματος, *COLLENCH_CELL_AREA/abaxial*). β. περιοχή του μεσοφύλλου όπου διακρίνονται τα κύτταρα συστροφής (e: συνολική επιφάνεια κυττάρων συστροφής αποασονικής επιδερμίδας, *BULLIFORM_AREA*), γ. περιοχή του μεσοφύλλου (f: μέση επιφάνεια κυττάρου φωτοσυνθετικού παρεγχύματος, *PARENCHYMA_CELL_AREA*), δ. περιοχή του μεσοφύλλου (g: μέση επιφάνεια χλωροπλάστη, *CHLOROPLAST_AREA*). Κλίμακα 100 μm (α-γ), 20 μm (δ).

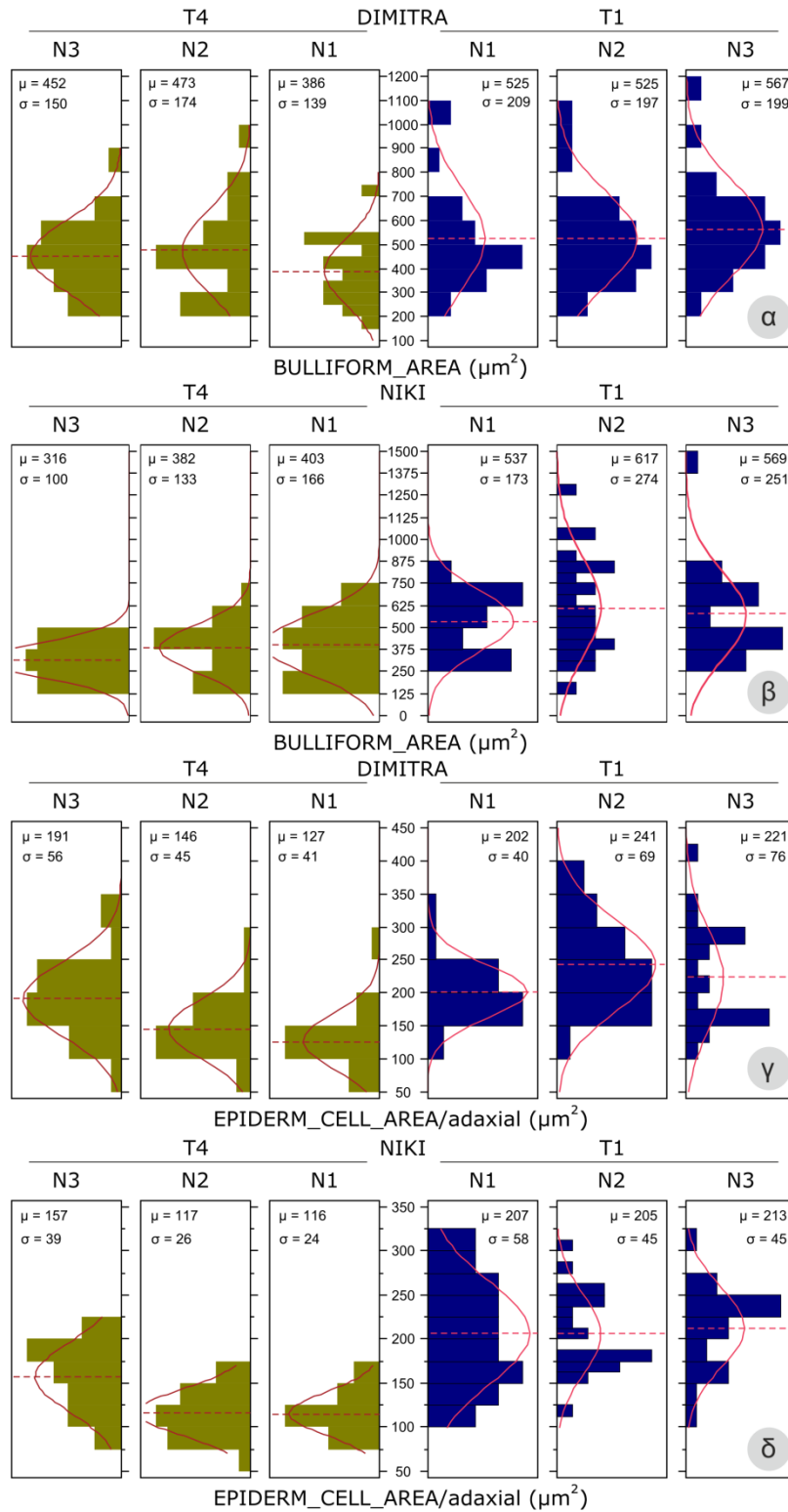
επίδραση των πειραματικών χειρισμών. Παρατηρείται πως η υδατική καταπόνηση προκαλεί μείωση της μέσης τιμής του μεγέθους σχεδόν όλων των κυτταρικών τύπων, ιδιαίτερα του γονότυπου *Νίκη* όπου παρατηρήθηκε σημαντική συρρίκνωση των κυττάρων συστροφής και των επιδερμικών κυττάρων (εικόνες 19β, δ και στ). Μικρότερης έκτασης συρρίκνωση παρατηρήθηκε στα αντίστοιχα κύτταρα του γονότυπου *Δήμητρα* υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης (εικόνες 19α, γ και ε). Αντίθετα με την περίπτωση των κυττάρων, η μείωση του μεγέθους των χλωροπλαστών ήταν εντονότερη στο γονότυπο *Δήμητρα* (εικόνα 19θ) συγκριτικά με τον γονότυπο *Νίκη* (εικόνα 19ι). Η έλλειψη αζώτου είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του

μεγέθους των κυττάρων και των χλωροπλαστών κατά περίπτωση και, ιδιαίτερα στο γονότυπο *Δήμητρα*, αφορούσε τα επιδερμικά (εικόνες 19γ και ε) και παρεγχυματικά κύτταρα (εικόνα 19ζ) υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Ιδιαίτερα εμφανής στην εικόνα 7 είναι η αλλαγή του εύρους των τιμών του μεγέθους των κυττάρων υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης ή/και έλλειψης αζώτου. Συγκεκριμένα, μείωση του εύρους παρατηρήθηκε στα κύτταρα συστροφής του γονότυπου *Νίκη* ως συνδυαστικό αποτέλεσμα και των δύο παραγόντων καταπόνησης ενώ, αντίθετα, η έλλειψη αζώτου υπό επάρκεια νερού προκάλεσε αύξηση του εύρους (εικόνα 19β). Μείωση του εύρους



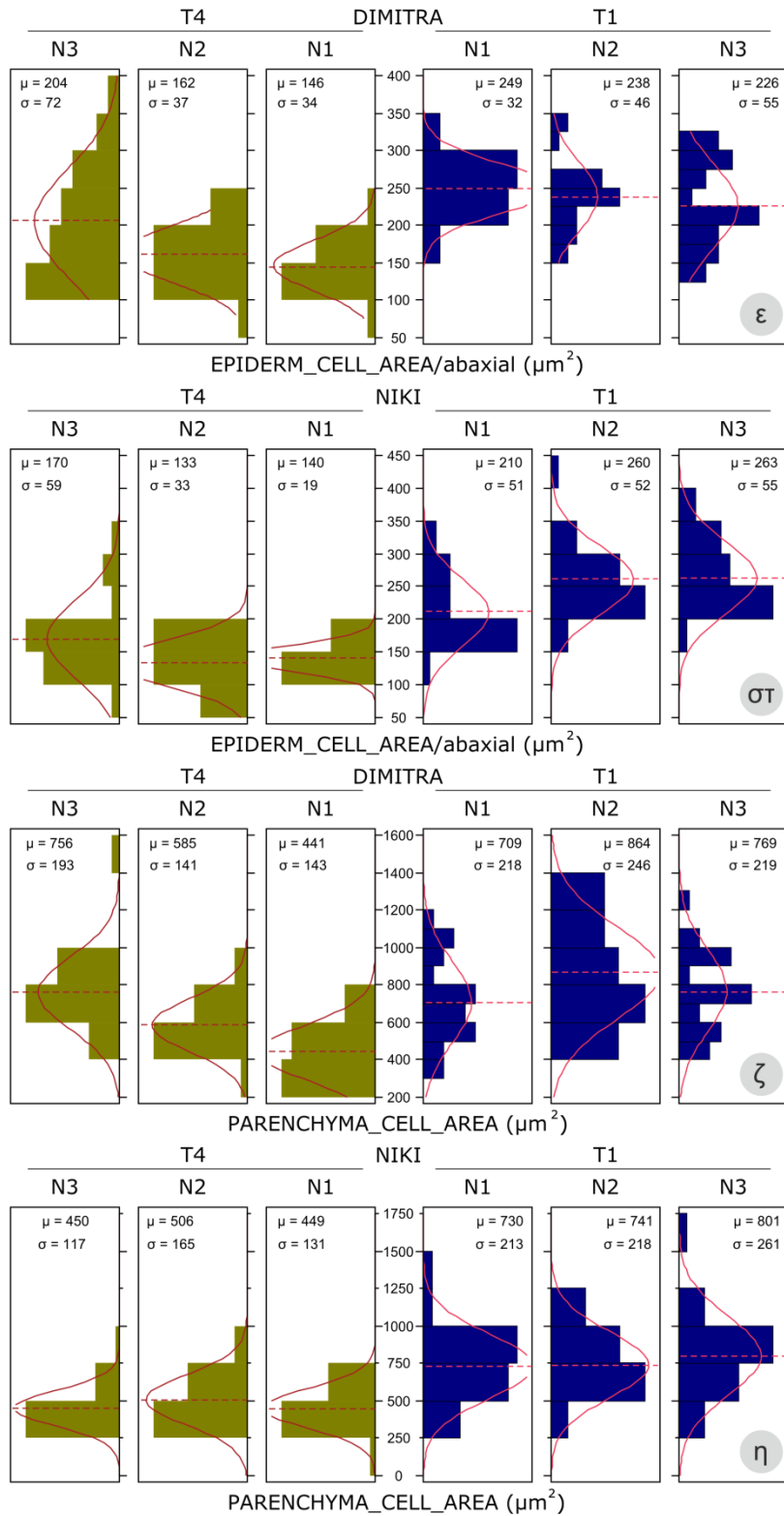
Εικόνα 18. Αντιπροσωπευτικές μικροφωτογραφίες επιφάνειας φύλλων κριθαριού στο μικροσκόπιο φθορισμού (βλ. κείμενο). α. αντιπροσωπευτική μικροφωτογραφία μετά από διέγερση στο υπεριώδες (365 nm) για τη μέτρηση της στοματικής πυκνότητας. β. αντιπροσωπευτική φωτογραφία μετά από διέγερση στο υπεριώδες για τη μέτρηση των διαστάσεων των στομάτων (a: μέσο μήκος στόματος, *SL*). γ. μικροφωτογραφία στοματικών συμπλόκων με διέγερση στο μπλε (450 nm). Κλίμακα 100 μm.

-Αποτελέσματα-



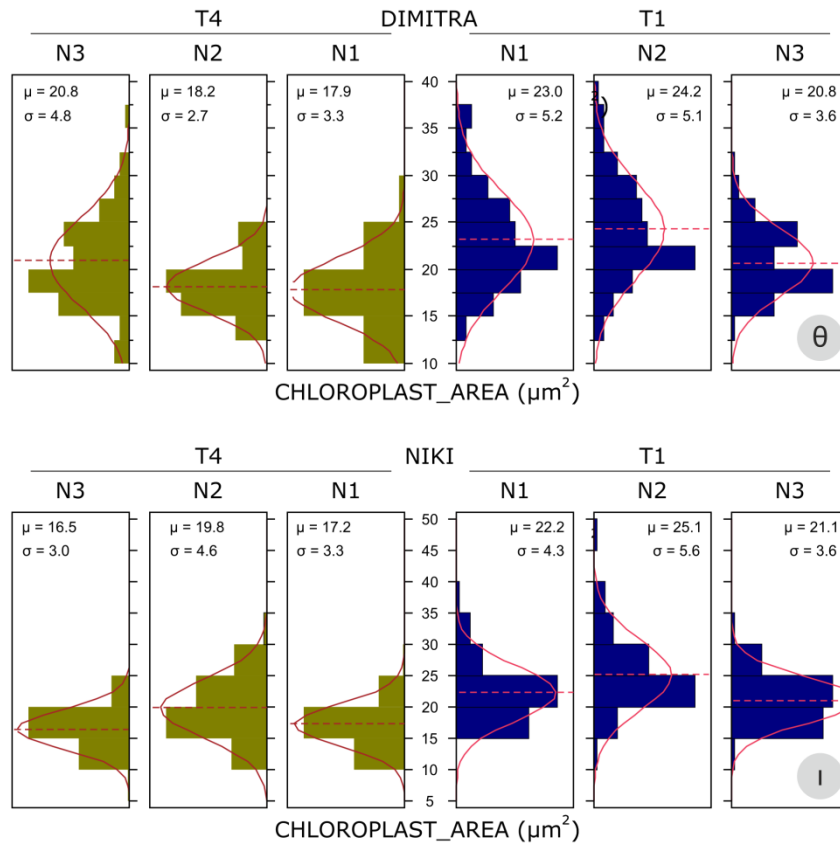
(Εικόνα 19, συνεχίζεται στην επόμενη σελίδα)

-Αποτελέσματα-



(Εικόνα 19, συνεχίζεται στην επόμενη σελίδα)

-Αποτελέσματα-



Εικόνα 19. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N₁: μεγαλύτερη έως N₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού (α, β) στη συνολική επιφάνεια των κυττάρων συστροφής (*BULLIFORM_AREA*), (γ, δ) στη μέση επιφάνεια των επιδερμικών κυττάρων (*EPIDERM_CELL_AREA*) της προσαξονικής (adaxial) ή (ε, στ) αποσαξονικής επιφάνειας (abaxial), (ζ, η) στη μέση επιφάνεια κυττάρων του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος (*PARENCHYMA_CELL_AREA*) και (θ, ι) στη μέση επιφάνεια των χλωροπλάστων (*CHLOROPLAST_AREA*) των φύλλων φυτών κριθαριού των γονοτύπων 'Δήμητρα' (α, γ, ε, ζ και θ) και 'Νίκη' (β, δ, στ, η και ι). Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T₄ (ανεπάρκεια νερού) για κάθε μεταχείριση αζώτου. Παρουσιάζεται το ιστόγραμμα των τιμών όλων των επαναλήψεων και προσαρμοσμένη η κανονική κατανομή σε κάθε περίπτωση (συνεχόμενη κόκκινη γραμμή). Με διακεκομμένη γραμμή σημειώνεται ο μέσος όρος κάθε ομάδας τιμών. Σε κάθε κατανομή εμφανίζεται ο μέσος όρος (μ) και η τυπική απόκλιση (σ).

ως αποτέλεσμα της έλλειψης νερού παρατηρήθηκε στα επιδερμικά κύτταρα του γονοτύπου 'Νίκη' (εικόνες 19δ και στ) και στο μέγεθος των παρεγχυματικών κυττάρων και των χλωροπλάστων και των δύο γονοτύπων (εικόνες 19ζ-ι). Η έλλειψη αζώτου, αντίθετα με την έλλειψη νερού, προκάλεσε αισθητή αύξηση του εύρους του μεγέθους σε πολλές περιπτώσεις. Συγκεκριμένα, η έλλειψη αζώτου προκάλεσε αύξηση του εύρους του μεγέθους των επιδερμικών κυττάρων στο γονότυπο 'Δήμητρα' ανεξαρτήτως της διαθεσιμότητας νερού (εικόνες 19γ και ε), ενώ, στον ίδιο γονότυπο, η έλλειψη αζώτου προκάλεσε αύξηση του εύρους του μεγέθους

των παρεγχυματικών κυττάρων και των χλωροπλάστων μόνο υπό συνθήκες έλλειψης νερού (εικόνες 19ζ και θ αντίστοιχα). Επιπλέον, παρατηρήθηκε μείωση στο εύρος του μεγέθους των χλωροπλάστων υπό έλλειψη αζώτου και επάρκεια νερού στο γονότυπο 'Δήμητρα' (εικόνα 19θ). Τέλος, στο γονότυπο 'Νίκη' υπό συνδυασμένη έλλειψη νερού και αζώτου προκλήθηκε αύξηση του εύρους του μεγέθους των επιδερμικών κυττάρων (εικόνες 19δ και στ) ενώ καμία άλλη επίδραση δεν παρατηρήθηκε στα υπόλοιπα κύτταρα ή στους χλωροπλάστες ως αποτέλεσμα της έλλειψης αζώτου στο γονότυπο 'Νίκη'.

Δ. Λειτουργικές παράμετροι

Δ.1. Παράμετροι ανταλλαγής αερίων

Δ.1.1. Φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μονάδα επιφάνειας και ανά μονάδα μάζας

Στις εικόνες 20α και β παρουσιάζεται η επίδραση της μεταχείρισης αζώτου και της επάρκειας νερού στην μέγιστη φωτοσυνθετική ταχύτητα ανά μονάδα επιφάνειας και ανά μονάδα μάζας αντίστοιχα για τους δύο γονότυπους. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση ($P < 0,001$) της $A_{max,a}$ και της $A_{max,m}$ λόγω της υδατικής καταπόνησης αλλά όχι λόγω των διαφορετικών επιπέδων τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο.

Δ.1.2. Διαπνοή (E)

Η διαπνοή εμφάνισε στατιστικά σημαντική μείωση λόγω της υδατικής καταπόνησης και στους δύο γονότυπους (εικόνα 20γ). Στο γονότυπο *Δήμητρα*, σε συνθήκες έλλειψης νερού, παρατηρείται αύξηση της διαπνοής όταν μειώνονται τα επίπεδα αζώτου στο έδαφος. Οι μεταβολές των μέσων όρων των τιμών της διαπνοής εξηγούνται από την αλληλεπίδραση της έλλειψης νερού και της μείωσης των επιπέδου αζώτου στο έδαφος ($P < 0,01$). Είναι επιπλέον ενδιαφέρον ότι, στο γονότυπο *Νίκη*, όταν μειώνεται η τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο αρχικά η διαπνοή εμφανίζει πτωτική τάση και στην συνέχεια αυξάνει, λαμβάνοντας την μέγιστη τιμή της σε συνθήκες μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο. Η παραπάνω επίδραση του αζώτου στη διαπνοή είναι ανεξάρτητη του επιπέδου της εδαφικής υγρασίας.

Δ.1.3. Στοματική αγωγιμότητα (g_s)

Η στοματική αγωγιμότητα στο νερό παρουσιάζεται στην εικόνα 20δ. Η επίδραση των μεταχειρίσεων στην παράμετρο αυτή είναι ανάλογη της ταχύτητας διαπνοής. Η στοματική αγωγιμότητα και των δύο γονοτύπων του κριθαριού παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μείωση η οποία οφείλεται στην υδατική καταπόνηση ($P < 0,001$). Αντίστοιχα με την διαπνοή, στον γονότυπο *Νίκη*, όταν μειώνεται η τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο αρχικά η στοματική αγωγιμότητα εμφανίζει πτωτική τάση και στην συνέχεια αυξάνει, λαμβάνοντας την μέγιστη τιμή της σε συνθήκες μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο. Η συγκεκριμένη επίδραση του αζώτου στην αγωγιμότητα δεν εξαρτάται από την επάρκεια του εδάφους σε νερό. Στον γονότυπο *Δήμητρα* η στοματική αγωγιμότητα μειώνεται, όσο το άζωτο του εδάφους μειώνεται. Ωστόσο, σε συνθήκες έλλειψης νερού, η στοματική αγωγιμότητα του φυτού δεν μεταβάλλεται παρά την μείωση των επιπέδων αζώτου στο έδαφος. Η εικόνα αυτή, είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των δύο παραγόντων καταπόνησης στη στοματική αγωγιμότητα.

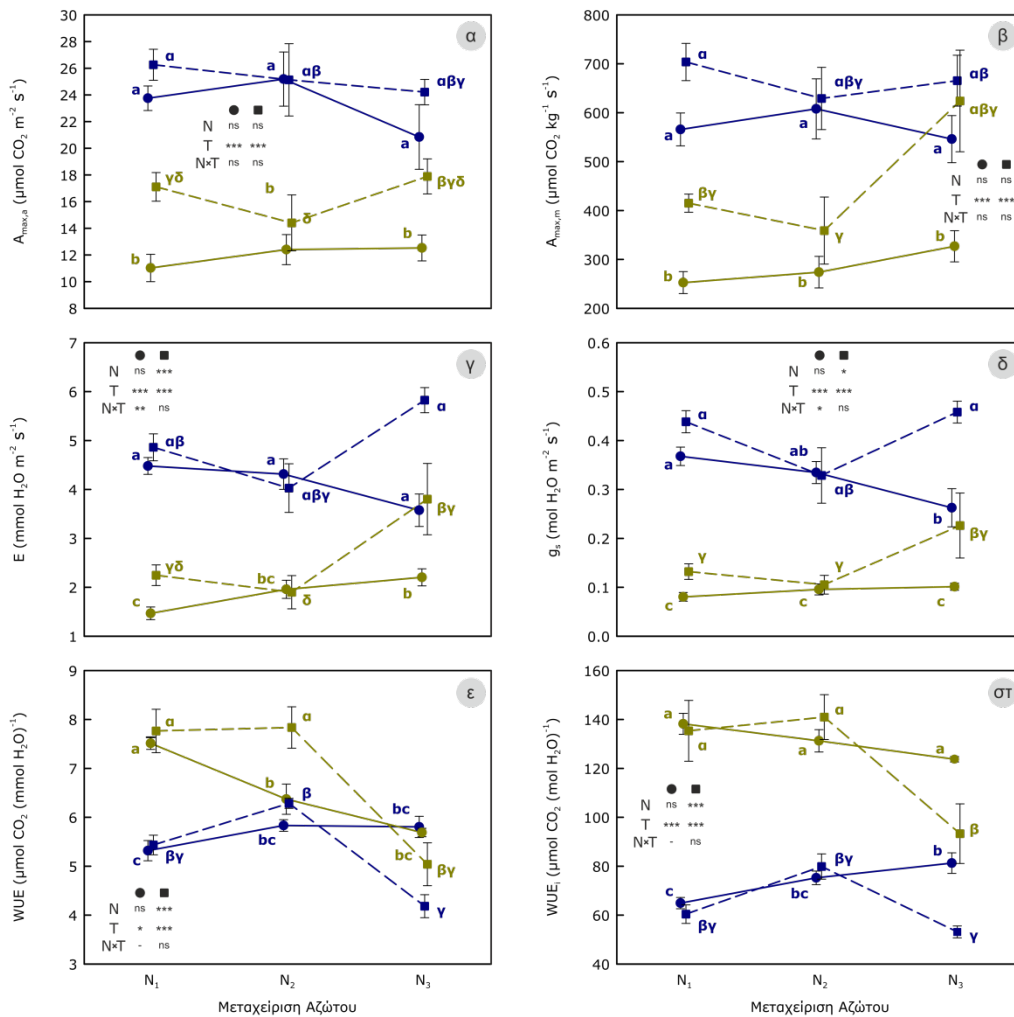
Δ.1.4 Αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE) και ιδιοσυστηματική αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE_i).

Σύμφωνα με τις εικόνες 20ε και στ, ο γονότυπος *Νίκη* εμφανίζει στατιστικά σημαντική αύξηση τόσο της αποδοτικότητας χρήσης νερού (WUE) όσο και της ιδιοσυστηματικής αποδοτικότητας χρήσης νερού (WUE_i) η οποία οφείλεται στην υδατική καταπόνηση ($P < 0,001$). Ωστόσο, από την ενδιάμεση τιμή (N_2) έως

-Αποτελέσματα-

την μηδενική τιμή τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο (N_3), παρατηρείται μία έντονη μείωση και των δύο εκφράσεων της αποδοτικότητας χρήσης νερού η οποία είναι ανεξάρτητη των επιπέδων νερού στο έδαφος ($P < 0,001$). Ο γονότυπος 'Δήμητρα' εμφανίζει επίσης αύξηση της αποδοτικότητας χρήσης νερού (WUE) σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης ($P < 0,05$) με την προϋπόθεση ότι υπάρχει επαρκής τροφοδοσία του

εδάφους με άζωτο. Όταν τα επίπεδα του εδαφικού αζώτου μειώνονται, η αποδοτικότητα χρήσης νερού μειώνεται στα επίπεδα των τιμών που παρατηρούνται υπό συνθήκες επάρκειας νερού (εικόνα 20ε). Η ιδιοσυστηματική αποδοτικότητα χρήσης νερού στον ίδιο γονότυπο αυξάνεται σημαντικά σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης και δεν επηρεάζεται σημαντικά από τα επίπεδα τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο.

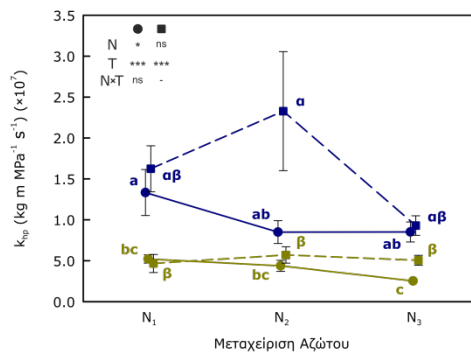


Εικόνα 20. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N_1 : μεγαλύτερη έως N_3 : μηδενική) και της επάρκειας νερού στη μέγιστη φωτοσυνθετική ταχύτητα ανά μονάδα επιφάνειας ($A_{max,a}$), μέγιστη φωτοσυνθετική ταχύτητα ανά μονάδα μάζας ($A_{max,m}$), ταχύτητα διαπνοής (E), στοματική αγωγιμότητα στο H_2O (g_s), αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE) και ιδιοσυστηματική (intrinsic) αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE_i) των φύλλων φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T_1 (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T_4 (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Nίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P < 0,05$). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Nίκη').

Ε. Υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων

Οι μεταβολές στην υδραυλική αγωγιμότητα απεικονίζονται στην εικόνα 21. Η υδατική καταπόνηση φαίνεται να είναι υπεύθυνη για την ελάττωση της υδραυλικής αγωγιμότητας των αγγείων και στους δύο γονοτύπους κριθαριού ενώ αντίθετα η ανεπάρκεια

αζώτου δεν επηρεάζει την υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων. Εξαιρέση αποτελεί ο γονότυπος 'Δήμητρα' όπου σε συνθήκες επάρκειας νερού η μείωση του εδαφικού αζώτου επιφέρει μία σχετική μείωση της υδραυλικής αγωγιμότητας ($P < 0,05$).

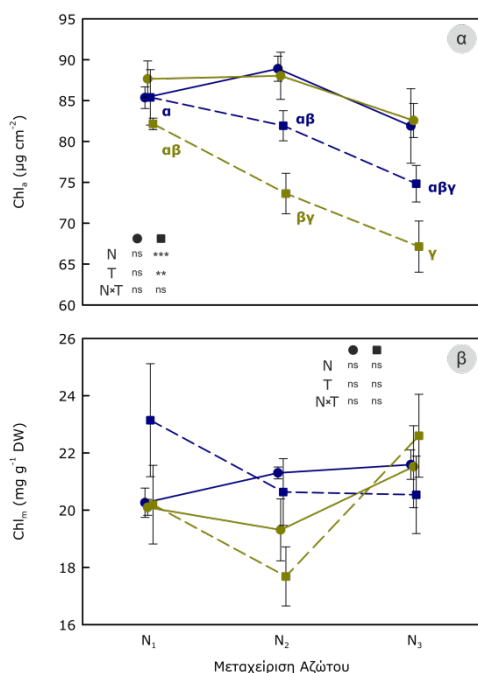


Εικόνα 21. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N₁: μεγαλύτερη έως N₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού στην υδραυλική αγωγιμότητα (k_{sp}) των φύλλων φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T₄ (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P < 0,05$). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Νίκη').

ΣΤ. Βιοχημικές παράμετροι

ΣΤ.1. Χλωροφύλλη

Η επίδραση της μεταχείρισης αζώτου και της επάρκειας νερού στην συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά επιφάνεια απεικονίζεται στην εικόνα 22α. Ο γονότυπος 'Δήμητρα' δεν εμφανίζει μεταβολές στη συγκέντρωση των χλωροφυλλών ανά επιφάνεια. Αντίθετα, στον γονότυπο 'Νίκη', η μείωση των επιπέδων αζώτου του εδάφους επιφέρει μία στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών ανά επιφάνεια ($P < 0,001$). Ταυτόχρονα διαπιστώνεται περαιτέρω μείωση



Εικόνα 22. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N₁: μεγαλύτερη έως N₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού στη συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά μονάδα επιφάνειας (Chl_a) και συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά μονάδα ξηρής μάζας (Chl_m) των φύλλων φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T₂ (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P < 0,05$). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Νίκη').

της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών ανά επιφάνεια εξαιτίας της έλλειψης νερού ($P < 0,01$).

ΣΤ.2. Φαινολικά συστατικά

Στις εικόνες 23α και β εμφανίζονται οι μεταβολές των μέσων όρων της συγκέντρωσης των διαλυτών φαινολικών συστατικών ανά μονάδα επιφάνειας και ξηρής μάζας αντίστοιχα λόγω της έλλειψης νερού και της μείωσης των επιπέδων αζώτου του εδάφους. Εκφράζοντας τη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών ανά μονάδα επιφάνειας δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές (εικόνα 23α). Όσον αφορά στην έκφραση της συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών ανά μονάδα ξηρής μάζας (εικόνα 23β), στον γονότυπο 'Δήμητρα' η υδατική καταπόνηση δεν επηρεάζει την συγκέντρωση των διαλυτών φαινολικών συστατικών σε αντίθεση με την μείωση των επιπέδων αζώτου στο έδαφος που προκαλεί έντονη αύξηση της συγκέντρωσής τους ($P < 0,001$). Στον γονότυπο 'Νίκη', η συγκέντρωση των διαλυτών φαινολικών συστατικών ανά μονάδα ξηρής μάζας εμφανίζεται μειωμένη σε συνθήκες έλλειψης νερού και επάρκειας εδαφικού αζώτου. Σε συνθήκες επάρκειας νερού η συγκέντρωση των διαλυτών φαινολικών συστατικών ανά μονάδα ξηρής μάζας μειώνεται ανάλογα με την μείωση του αζώτου στο έδαφος. Αντίθετα, σε συνθήκες έλλειψης νερού η μείωση του εδαφικού αζώτου προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών φαινολικών συστατικών ανά μονάδα ξηρής μάζας και σταθεροποιείται όταν η τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο λαμβάνει ενδιάμεσες έως μηδενικές τιμές. Η παραπάνω διαφορετική απόκριση του συγκεκριμένου γονοτύπου στη διαθεσιμότητα αζώτου ανάλογα με τη διαθεσιμότητα νερού οφείλεται στη σημαντική

αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων καταπόνησης ($P < 0,05$).

Η συγκέντρωση των φλαβονοειδών ως σύνολο και ειδικότερα του κύριου συστατικού, του 7-γλυκοσίδη της ισοοριεντίνης (εικόνες 23γ και δ) παρουσίασε μείωση και στους δύο γονότυπους λόγω της υδατικής καταπόνησης. Ειδικά στο γονότυπο *‘Δήμητρα*, η μείωση αυτή ήταν εμφανέστερη συγκριτικά με τον γονότυπο *‘Νίκη*. Επιπλέον διαφορές σημειώθηκαν στον γονότυπο *‘Δήμητρα* λόγω της μεταχείρισης του αζώτου όπου η έλλειψη του οδήγησε σε περαιτέρω μείωση των συγκεντρώσεων των φλαβονοειδών. Το γεγονός αυτό είναι αξιοσημείωτο καθώς οι τροφοπενίες των περισσότερων θρεπτικών στοιχείων θεωρείται πως αυξάνουν τη συγκέντρωση των φλαβονοειδών.

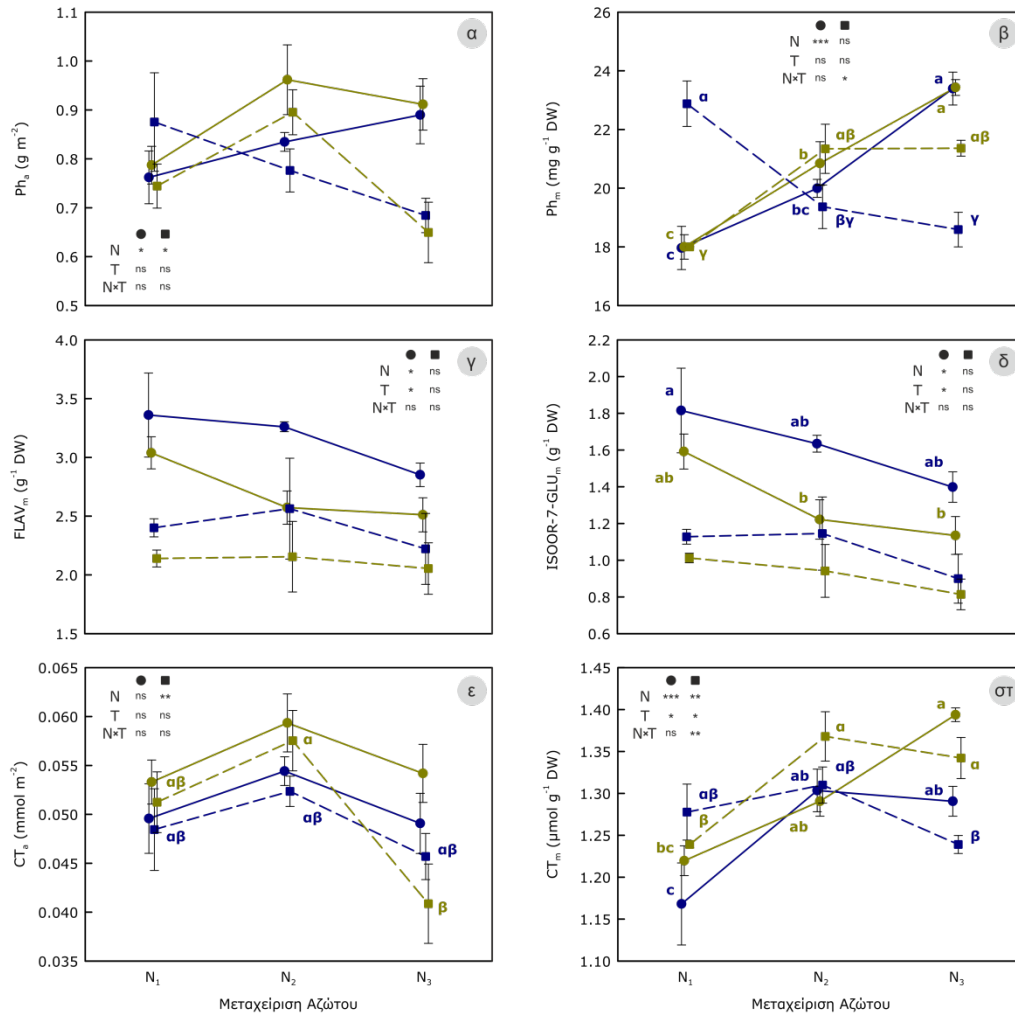
Στις εικόνες 23ε και δ απεικονίζονται οι μεταβολές της συγκέντρωσης των συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου και ξηρής μάζας αντίστοιχα. Η έλλειψη εδαφικού αζώτου μειώνει τη συγκέντρωση των ταννινών ανά μονάδα επιφάνειας μόνο στο γονότυπο *‘Νίκη* υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης (εικόνα 23ε). Στην εικόνα 23στ, παρατηρείται ότι στον γονότυπο *‘Νίκη* οι μεταβολές στην συγκέντρωση των συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα ξηρής μάζας επηρεάζονται στατιστικώς σημαντικά ($P < 0,01$) από την αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων καταπόνησης. Σε συνθήκες επάρκειας νερού, η συγκέντρωση των συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα ξηρής μάζας δεν επηρεάζεται από το επίπεδο του εδαφικού αζώτου. Ωστόσο, όταν τα φυτά υφίστανται υδατική καταπόνηση, η συγκέντρωση των συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα ξηρής μάζας αυξάνεται σημαντικά όσο τα επίπεδα αζώτου στο έδαφος μειώνονται ενώ από την ενδιάμεση τιμή

τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο έως την μηδενική, η συγκέντρωση ταννινών διατηρείται σταθερή (εικόνα 23στ). Στον γονότυπο *‘Δήμητρα*, η μείωση των επιπέδων αζώτου στο έδαφος προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης των συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα ξηρής μάζας και για μεν την επάρκεια νερού η συγκέντρωση των συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα ξηρής μάζας σταθεροποιείται όταν τα επίπεδα αζώτου στο έδαφος μειώνονται περαιτέρω από την ενδιάμεση τιμή, ενώ σε συνθήκες έλλειψης νερού η συγκέντρωση των συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα ξηρής μάζας αυξάνει όσο το εδαφικό άζωτο μειώνεται (εικόνα 23στ).

ΣΤ.3. Προλίνη

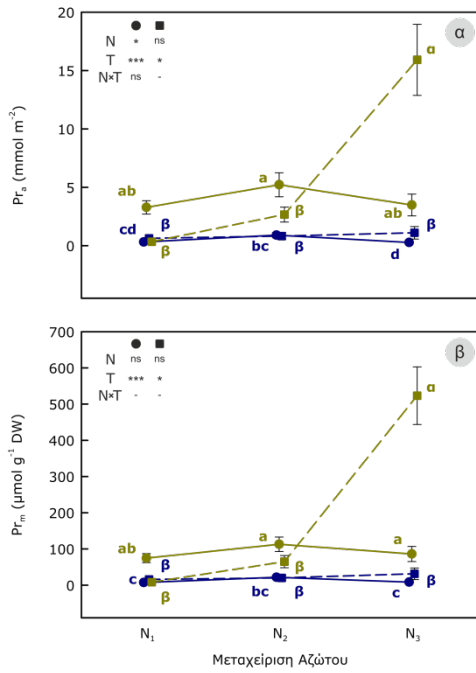
Σύμφωνα με την εικόνα 24, η επίδραση των δύο παραγόντων καταπόνησης στη συγκέντρωση προλίνης των φύλλων είναι διαφορετική ανάλογα με το γονότυπο. Σε κάθε περίπτωση, η συγκέντρωση προλίνης αυξάνεται υπό συνθήκες έλλειψης νερού (εικόνες 24α και β). Ωστόσο, ενώ στο γονότυπο *‘Δήμητρα* η αύξηση της συγκέντρωσης προλίνης ανά μονάδα ξηρής μάζας λόγω υδατικής καταπόνησης είναι σχετικά μικρή, από 5 έως 10 φορές συγκριτικά με το μάρτυρα, μη εξαρτώμενη ιδιαίτερα από το επίπεδο του εδαφικού αζώτου (εικόνα 24β), στο γονότυπο *‘Νίκη* μειώνεται περίπου στο ήμισυ υπό συνθήκες επάρκειας αζώτου, αυξάνεται περίπου κατά 3 φορές στον ενδιάμεσο επίπεδο διαθεσιμότητας αζώτου και αυξάνεται περίπου κατά 17 φορές στο χαμηλότερο επίπεδο αζώτου (εικόνα 24β). Όταν η συγκέντρωση της προλίνης εκφράζεται ανά μονάδα επιφάνειας, η επίδραση των διάφορων χειρισμών είναι παρόμοια αλλά οι διαφορές στη συγκέντρωση είναι μικρότερες ως απόλυτες τιμές (εικόνα 24α).

-Αποτελέσματα-

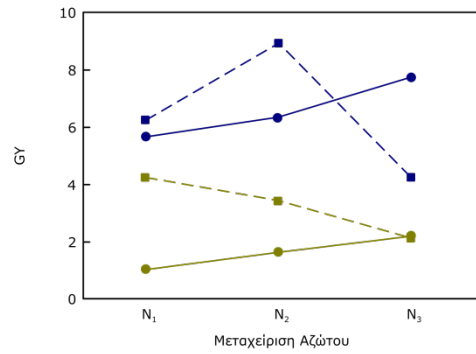


Εικόνα 23. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N₁: μεγαλύτερη έως N₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού στη συγκέντρωση διαλυτών φαινολικών ενώσεων ανά μονάδα επιφάνειας (*Ph_m*), συγκέντρωση διαλυτών φαινολικών ενώσεων ανά μονάδα ξηράς μάζας (*Ph_m*), συγκέντρωσης ολικών φλαβονοειδών ανά μονάδα ξηράς μάζας (*FLAV_m*), συγκέντρωσης του κύριου φλαβονοειδούς των φύλλων 7-γλυκοσίδη της ισοοριεντίνης ανά μονάδα ξηράς μάζας (*ISOOR-7-GLU_m*), συγκέντρωση συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα επιφάνειας (*CT_a*) και συγκέντρωση συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα ξηράς μάζας (*CT_m*) των φύλλων φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T₂ (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P < 0,05$). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Νίκη').

-Αποτελέσματα-



Εικόνα 24. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N₁: μεγαλύτερη έως N₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού στη συγκέντρωση προλίνης ανά μονάδα επιφάνειας (Pr_s) και συγκέντρωση προλίνης ανά μονάδα ξηράς μάζας (Pr_m) των φύλλων φυτών κριθαριού. Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T₄ (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Οι τιμές είναι μέσοι όροι πέντε επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (P < 0,05). Οι διαφορές των μέσων αφορούν στο συνδυασμό των δύο χειρισμών ξεχωριστά για κάθε γονότυπο (λατινικά γράμματα για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και ελληνικά γράμματα για τον γονότυπο 'Νίκη').



Εικόνα 25. Επίδραση της λίπανσης με άζωτο (N₁: μεγαλύτερη έως N₃: μηδενική) και της επάρκειας νερού στο βάρος σπόρων ανά φυτό (GY). Με μπλε χρώμα εμφανίζεται η μεταχείριση T₁ (επάρκεια νερού) και με πράσινο χρώμα η μεταχείριση T₄ (ανεπάρκεια νερού). Με κύκλους και συνεχείς γραμμές εμφανίζεται ο γονότυπος 'Δήμητρα' και με τετράγωνα και διακεκομμένες γραμμές ο γονότυπος 'Νίκη'. Τα δεδομένα προέρχονται από το Εργαστήριο Γεωργίας του ΓΠΑ.

Z. Απόδοση σε σπόρο (GY)

Η υδατική καταπόνηση προκάλεσε σημαντική μείωση στο δείκτη απόδοσης σε σπόρο (GY) και στους δύο γονότυπους (εικόνα 25). Τα επίπεδα αζώτου επέδρασαν ποικιλοτρόπως στις τιμές του δείκτη GY. Η μείωση των επιπέδων αζώτου υπό συνθήκες έλλειψης νερού προκάλεσε μείωση (υποδιπλασιασμό) στο GY στο γονότυπο 'Nίκη' και αύξηση (διπλασιασμό) στο GY στο γονότυπο 'Δήμητρα'. Ανάλογη επίδραση είχε η

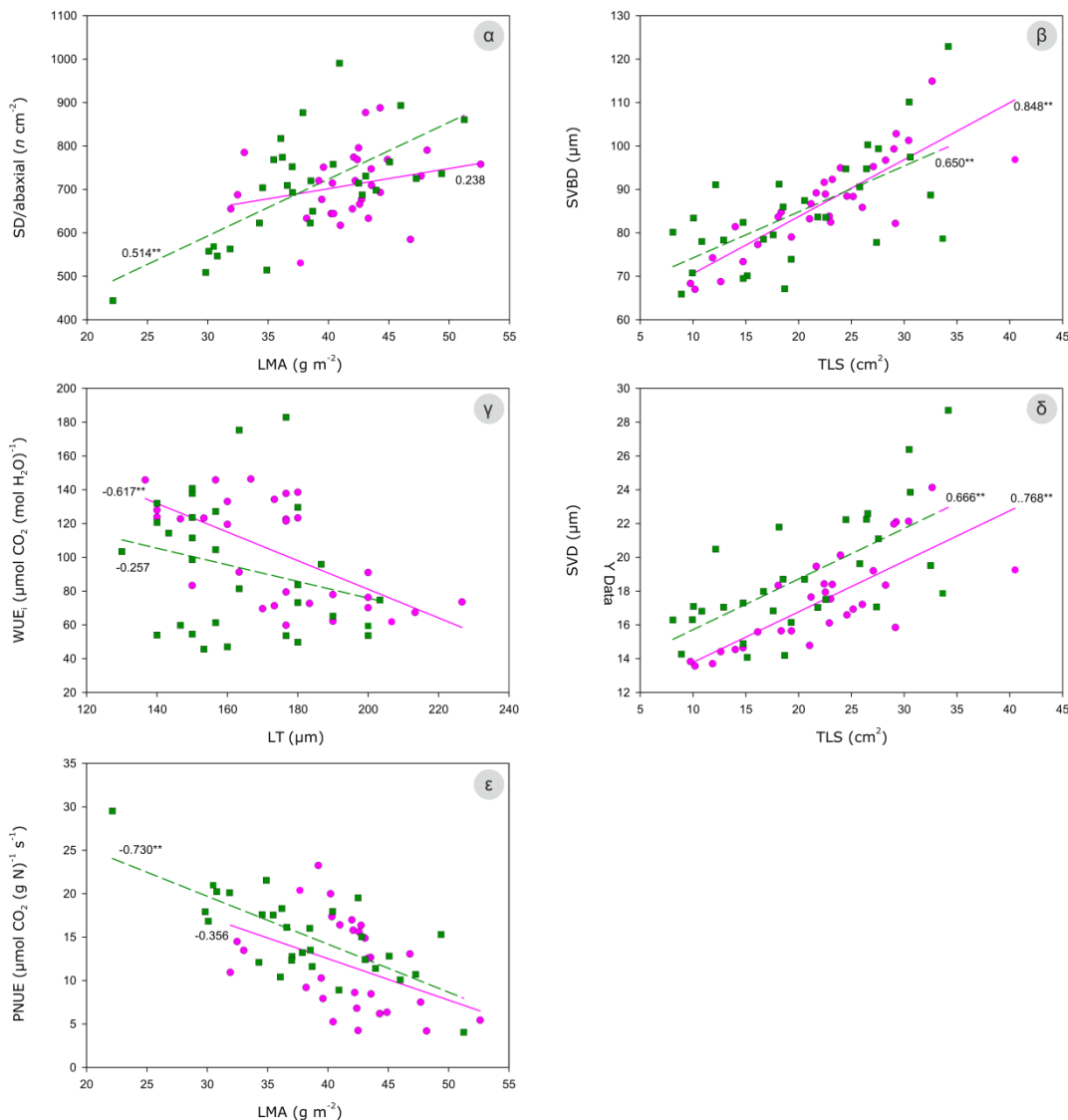
μείωση των επιπέδων εδαφικού αζώτου στο GY στο γονότυπο 'Δήμητρα' υπό συνθήκες επάρκειας νερού όπου σημειώθηκε αύξηση. Αντίθετα, η μείωση των επιπέδων αζώτου στο γονότυπο 'Nίκη' υπό συνθήκες επάρκειας νερού προκάλεσαν αρχικά σημαντική αύξηση (μεταξύ των επιπέδων αζώτου N₁ και N₂) και στη συνέχεια σημαντική μείωση (μεταξύ των επιπέδων αζώτου N₂ και N₃) στο GY.

Η. Συσχετίσεις παραμέτρων

Στους πίνακες 2 έως 7 (βλ. Παράρτημα) παρουσιάζονται οι συντελεστές γραμμικής και μη-γραμμικής συσχέτισης μεταξύ των παραμέτρων που μελετήθηκαν, συνολικά και για τους δύο γονότυπους αλλά και ξεχωριστά για κάθε γονότυπο.

κατασκευαστικών παραμέτρων των φύλλων και ορισμένων παραμέτρων με τις οποίες παρατηρείται ισχυρή συσχέτιση για έναν τουλάχιστον από τους δύο γονότυπους. Όπως φαίνεται στην εικόνα 26α, η παράμετρος *LMA* σχετίζεται θετικά με την πυκνότητα στομάτων της αποαξονικής επιφάνειας του φύλλου γεγονός που υποδηλώνει ότι περισσότερο συμπαγής

Στην εικόνα 26 εμφανίζονται συσχετίσεις μεταξύ



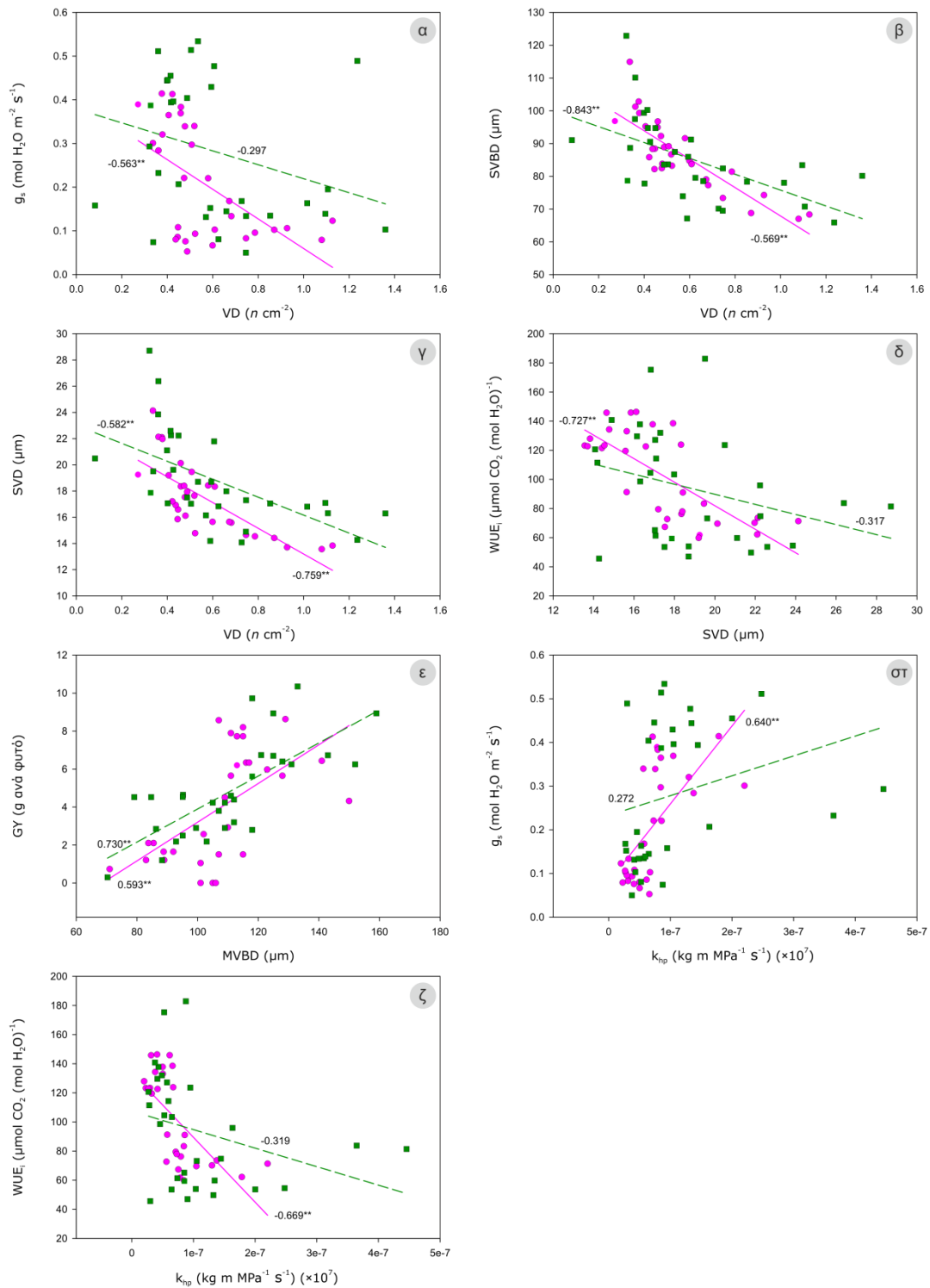
Εικόνα 26. Συσχετίσεις μεταξύ κατασκευαστικών/ ανατομικών παραμέτρων των φύλλων (*LMA*, *LT*, *TLS*) και παραμέτρων διαχείρισης του νερού (*SDabaxial*, *SVBD*, *SVD*, *WUE*) ή του αζώτου (*PNUe*). Με ερυθρό χρώμα παριστάνονται οι τιμές του γονότυπου 'Δήμητρα' ενώ με πράσινο οι τιμές του γονότυπου 'Νίκη'. Οι αναγραφόμενες τιμές είναι οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης και οι αστερίσκοι παριστάνουν το επίπεδο σημαντικότητας της συσχέτισης (***: $P < 0,001$, **: $P < 0,01$, *: $P < 0,05$).

κατασκευή ή/και αυξημένο πάχος φύλλου ενδεχομένως να απαιτεί καλύτερη ανταλλαγή αερίων και άρα περισσότερα στόματα. Η συσχέτιση είναι ισχυρή μόνο στο γονότυπο *'Niki'*. Η συνολική επιφάνεια φύλλου συσχετίζεται ιδιαίτερα ισχυρά, και για τους δύο γονοτύπους, με τη διάμετρο των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμιδών και τη διάμετρο των μεταξυλικών αγγείων των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμιδών (εικόνες 26β και δ). Η καθολική και ισχυρή συσχέτιση δείχνει τη στενή σχέση μεταξύ του μεγέθους του ελάσματος και της υδραυλικής του σύνδεσης με το υπόλοιπο φυτό. Στην εικόνα 26γ φαίνεται η αρνητική (στατιστικά σημαντική μόνο για το γονότυπο *'Δήμητρα'*) συσχέτιση μεταξύ του πάχους του ελάσματος και της ιδιοσυστηματικής αποδοτικότητας χρήσης νερού για τη φωτοσύνθεση. Αντίστοιχης φύσης είναι και η αρνητική (στατιστικά σημαντική μόνο για τον γονότυπο *'Niki'*) συσχέτιση μεταξύ λόγου μάζας προς επιφάνεια φύλλου με την αποδοτικότητα του αζώτου για τη φωτοσύνθεση (εικόνα 26ε).

Στην εικόνα 27 παρουσιάζονται ορισμένες συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων των ηθμαγγειωδών δεσμιδών και των αγγείων των φύλλων και ορισμένων παραμέτρων με τις οποίες παρατηρείται ισχυρή συσχέτιση για έναν τουλάχιστον από τους δύο γονοτύπους. Όπως φαίνεται στις εικόνες 27α-γ, η πυκνότητα των ηθμαγγειωδών δεσμιδών ανά μονάδα επιφάνειας του ελάσματος συσχετίζεται σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις στατιστικά σημαντικά με τη στοματική αγωγιμότητα, τη διάμετρο των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμιδών και τη διάμετρο των μεταξυλικών αγγείων. Όσον αφορά στην πρώτη παράμετρο, η συσχέτιση (στατιστικά σημαντική μόνο για τον γονότυπο *'Δήμητρα'*) υποδηλώνει πως

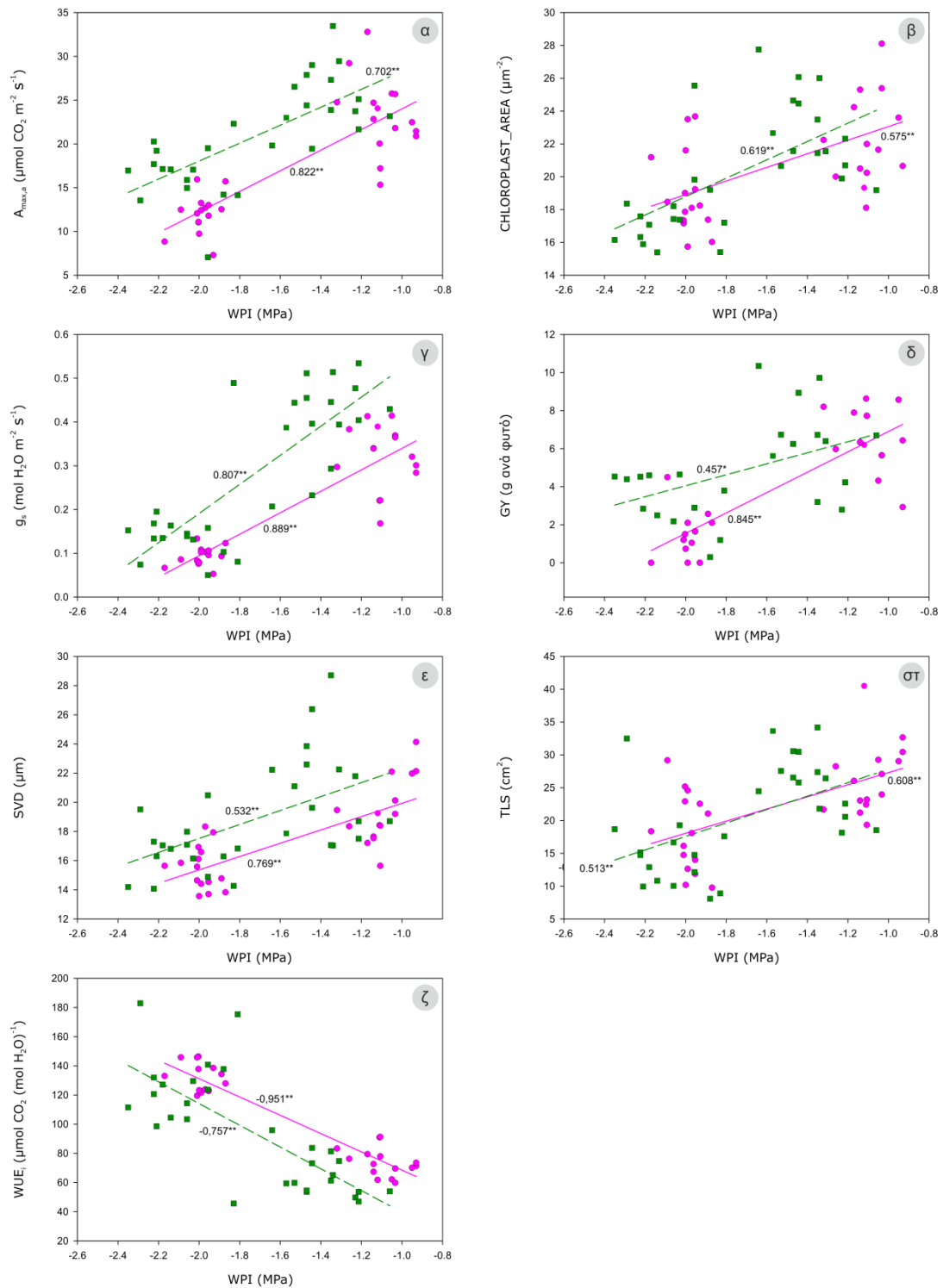
μικρότερης επιφάνειας φύλλα (με όμοιο αριθμό δευτερευουσών δεσμιδών) διαπνέουν λιγότερο προφανώς επειδή και οι δύο παράμετροι επηρεάζονται παράλληλα από το επίπεδο της καταπόνησης. Ανάλογα, καθώς το επίπεδο της καταπόνησης μειώνει τη διάμετρο των ηθμαγγειωδών δεσμιδών και τη διάμετρο των αγγείων, η πυκνότητα των ηθμαγγειωδών δεσμιδών συσχετίζεται αρνητικά με τις παραπάνω παραμέτρους (στατιστικώς σημαντικά και στους δύο γονοτύπους, εικόνες 27β και γ). Στην εικόνα 27δ παρουσιάζεται η αρνητική συσχέτιση μεταξύ της μέσης διαμέτρου των μεταξυλικών αγγείων των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμιδών και της ιδιοσυστηματικής αποδοτικότητας χρήσης νερού (στατιστικά σημαντική μόνο για τον γονότυπο *'Δήμητρα'*) που υποδηλώνει ότι τα στενότερης διαμέτρου αγγεία σχετίζονται με την αντιμετώπιση της υδατικής καταπόνησης, κατάσταση η οποία επιβάλλει αποδοτικότερη χρήση του νερού. Από την άλλη μεριά, τα ευρύπορα αγγεία σχετίζονται με την καλύτερη τροφοδοσία με νερό, την ταχύτερη αναπλήρωση των διαπνευστικών αποθεμάτων και τελικά με την υψηλότερη παραγωγικότητα όπως φαίνεται στην ισχυρή (και για τους δύο γονοτύπους) θετική συσχέτιση μεταξύ της μέσης διαμέτρου της κεντρικής ηθμαγγειώδους δεσμιδας και της παραγωγικότητας σε σπόρο των φυτών (εικόνα 27ε). Η υδραυλική αγωγιμότητα του αγγειακού συστήματος συσχετίζεται θετικά (στατιστικώς σημαντικά μόνο στο γονότυπο *'Δήμητρα'*) με τη στοματική αγωγιμότητα όπως φαίνεται στην εικόνα 27στ και αρνητικά με την αποδοτικότητα χρήσης νερού (στατιστικώς σημαντικά επίσης μόνο για το γονότυπο *'Δήμητρα'*) όπως φαίνεται στην εικόνα 27ζ.

-Αποτελέσματα-



Εικόνα 27. Συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων του αγγειακού συστήματος των φύλλων (*VD*, *SVD*, *MVBD*, *k_{hp}*) και παραμέτρων διαχείρισης του νερού (*g_s*, *SVBD*, *SVD*, *WUE*) ή του δείκτη απόδοσης (*GY*). Με ερυθρό χρώμα παριστάνονται οι τιμές του γονότυπου 'Δήμητρα' ενώ με πράσινο οι τιμές του γονότυπου 'Νίκη'. Οι αναγραφόμενες τιμές είναι οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης και οι αστερίσκοι παριστάνουν το επίπεδο σημαντικότητας της συσχέτισης (***: $P < 0,001$, **: $P < 0,01$, *: $P < 0,05$).

-Αποτελέσματα-

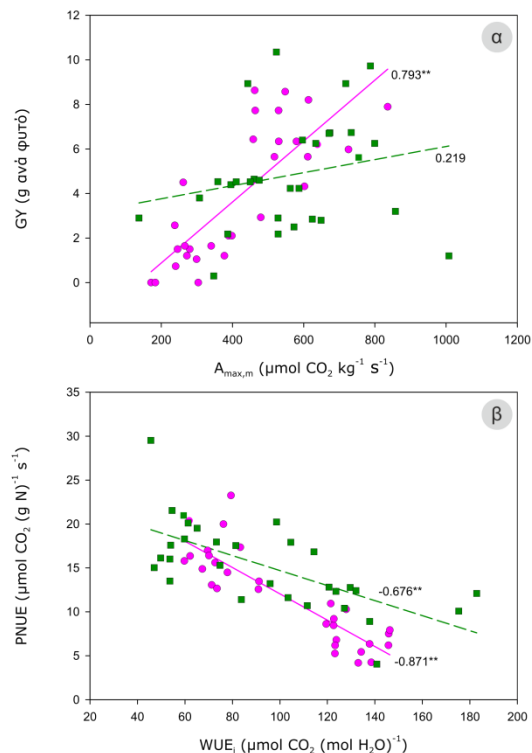


Εικόνα 28. Συσχετίσεις μεταξύ του δείκτη δυναμικού νερού του αγγειακού συστήματος (*WPI*) και διαφόρων ανατομικών ή φυσιολογικών παραμέτρων. Με ερυθρό χρώμα παριστάνονται οι τιμές του γονότυπου 'Δήμητρα' ενώ με πράσινο οι τιμές του γονότυπου 'Νίκη'. Οι αναγραφόμενες τιμές είναι οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης και οι αστερίσκοι παριστάνουν το επίπεδο σημαντικότητας της συσχέτισης (***: $P < 0,001$, **: $P < 0,01$, *: $P < 0,05$).

Στην εικόνα 28 παρουσιάζονται συσχετίσεις μεταξύ του δείκτη δυναμικού νερού του αγγειακού συστήματος και ορισμένων παραμέτρων με τις οποίες παρατηρείται ισχυρή συσχέτιση για έναν τουλάχιστον από τους δύο γονότυπους. Το δυναμικό νερού εμφανίζει ισχυρή θετική συσχέτιση και για τους δύο γονοτύπους με κρίσιμα ανατομικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φυτών όπως η φωτοσυνθετική ταχύτητα και η στοματική αγωγιμότητα (εικόνες 28α και γ), το μέγεθος των χλωροπλαστών (εικόνα 28β), η αποδοτικότητα σε σπόρο (εικόνα 28δ), τη μέση διάμετρο των μεταξυλικών αγγείων των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμιδων (εικόνα 28ε) και την επιφάνεια του ελάσματος (εικόνα 28στ). Το δυναμικό νερού συσχετίζεται αρνητικά (στατιστικώς σημαντικά και για τους δύο γονοτύπους) με την αποδοτικότητα χρήσης νερού (εικόνα 28ζ). Όλες οι παραπάνω συσχετίσεις υποδηλώνουν πως το δυναμικό νερού (ως δείκτης της υδατικής καταπόνησης) αποτελεί καθοριστικό παράγοντα (δεδομένου ότι η επίδρασή του είναι παρόμοια και για τους δύο γονοτύπους) για την εμφάνιση εγκλιματισμού σε μια σειρά από παραμέτρους που σχετίζονται με τη διαχείριση του νερού.

Η εικόνα 29 παρουσιάζει τη συσχέτιση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας ανά μονάδα μάζας με την αποδοτικότητα σε σπόρο των φυτών κριθαριού. Είναι αξιοσημείωτο πως, παρόλο που αναμένεται, η συσχέτιση των δύο αυτών παραμέτρων είναι στατιστικά σημαντική μόνο για τον γονότυπο 'Δήμητρα' και, επιπλέον, η διαφορά στην ισχύ της συσχέτισης μεταξύ των δύο γονοτύπων είναι πολύ μεγάλη (εικόνα 29α). Στην εικόνα 29β παρουσιάζεται η αρνητική συσχέτιση μεταξύ της αποδοτικότητας χρήσης δύο σημαντικών αναπτυξιακών πόρων, του νερού και του αζώτου, για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου. Είναι αξιοσημείωτο πως η συσχέτιση εμφανίζεται ισχυρή και για τους δύο γονοτύπους υποδηλώνοντας

πως οι δύο αυτές φυσιολογικές παράμετροι είναι έντονα ανταγωνιστικές μεταξύ τους. Φαίνεται πως η επίτευξη υψηλής αποδοτικότητας χρήσης για τον έναν αναπτυξιακό πόρο αντιβαίνει της επίτευξης υψηλής αποδοτικότητας χρήσης ταυτόχρονα και για τον δεύτερο.



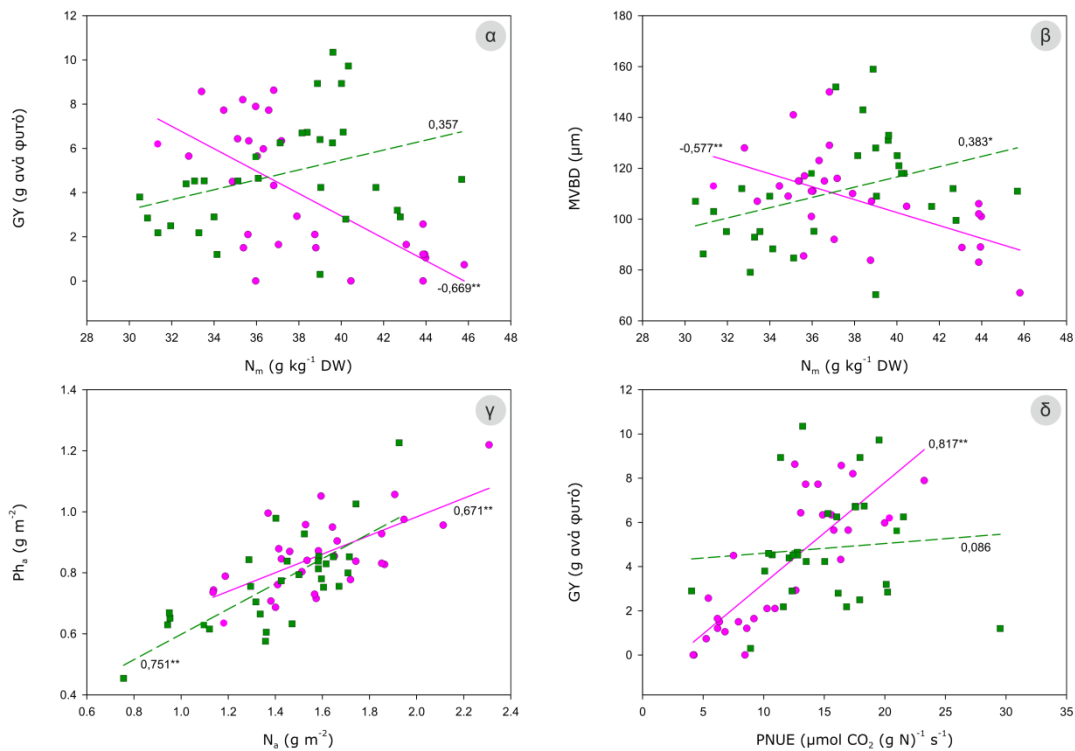
Εικόνα 29. Συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων που σχετίζονται με τη φωτοσύνθεση ($A_{max,m}$, WUE_i) και του δείκτη απόδοσης (GY) ή της αποδοτικότητας χρήσης αζώτου για τη φωτοσύνθεση (PNUE). Με ερυθρό χρώμα παριστάνονται οι τιμές του γονότυπου 'Δήμητρα' ενώ με πράσινο οι τιμές του γονότυπου 'Νίκη'. Οι αναγραφόμενες τιμές είναι οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης και οι αστερίσκοι παριστάνουν το επίπεδο σημαντικότητας της συσχέτισης (***: $P < 0,001$, **: $P < 0,01$, *: $P < 0,05$).

Στην εικόνα 30 παρουσιάζονται συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων που σχετίζονται με το άζωτο και ορισμένων παραμέτρων με τις οποίες παρατηρείται ισχυρή συσχέτιση για έναν τουλάχιστον από τους δύο γονοτύπους. Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται στην εικόνα 30α, είναι αξιοσημείωτο πως το περιεχόμενο άζωτο ανά μονάδα ξηρής μάζας συσχετίζεται αρνητικά με την αποδοτικότητα σε σπόρο για το γονότυπο 'Δήμητρα'

-Αποτελέσματα-

ενώ εμφανίζεται θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο παραμέτρων για το γονότυπο 'Νίκη' (αν και στατιστικά μη σημαντική). Παρόμοια, εκ διαμέτρου αντίθετη συσχέτιση μεταξύ των δύο γονοτύπων, παρατηρείται μεταξύ του περιεχομένου αζώτου ανά μονάδα ξηρής μάζας και της μέσης διαμέτρου της κεντρικής ηθμαγγειώδους δεσμιδας (εικόνα 30β). Ιδιαίτερα αξιοσημείωτη, ως μη αναμενόμενη, είναι η έντονα θετική, στατιστικά σημαντική (και για τους δύο γονοτύπους) σχέση μεταξύ περιεχομένου αζώτου ανά

μονάδα φυλλικής επιφάνειας και συγκέντρωσης φαιολικών συστατικών (εικόνα 30γ). Τέλος, όπως αναμένεται, διαπιστώνεται θετική συσχέτιση μεταξύ της αποδοτικότητας χρήσης των αποθεμάτων αζώτου και της αποδοτικότητας σε σπόρο. Ωστόσο, η συσχέτιση αυτή είναι στατιστικά σημαντική (και ιδιαίτερα ισχυρή) μόνο για το γονότυπο 'Δήμητρα' ενώ είναι παντελώς απύσα στο γονότυπο 'Νίκη' (εικόνα 30δ).



Εικόνα 30. Συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων που σχετίζονται με το άζωτο των φύλλων (N_m , N_s , $PNUE$) και διαφόρων ανατομικών ή φυσιολογικών παραμέτρων. Με ερυθρό χρώμα παριστάνονται οι τιμές του γονότυπου 'Δήμητρα' ενώ με πράσινο οι τιμές του γονότυπου 'Νίκη'. Οι αναγραφόμενες τιμές είναι οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης και οι αστερίσκοι παριστάνουν το επίπεδο σημαντικότητας της συσχέτισης (***: $P < 0,001$, **: $P < 0,01$, *: $P < 0,05$).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

A. Γενικά

Η διαθεσιμότητα του νερού αποτελεί τον κύριο περιοριστικό παράγοντα για την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών στις αγροτικές καλλιέργειες καθώς και τη βασική αιτία ελάττωσης των αποδόσεων των σιτηρών (Araus *et al.*, 2002; Claeys and Inzé, 2013). Ωστόσο, σε συνθήκες πεδίου, η συνύπαρξη διαφορετικών παραγόντων καταπόνησης είναι δυνατόν, λόγω συνέργειας, να αποβεί καταστροφικότερη για την αγροτική παραγωγή σε σχέση με έναν μεμονωμένο παράγοντα καταπόνησης, λόγω αδυναμίας ολοκλήρωσης του βιολογικού κύκλου του φυτού ή δραματικής μείωσης της απόδοσης του σε καρπό. Ο συνδυασμός δύο ή περισσότερων καταπονήσεων πρέπει να αντιμετωπίζεται ως μια νέα κατάσταση αβιοτικής καταπόνησης η οποία αναμένεται να προκαλέσει αντίστοιχα μια νέα απόκριση εγκλιματισμού των φυτών (Mittler, 2006). Ως εκ τούτου, η διερεύνηση των επιπτώσεων του συνδυασμού παραγόντων καταπόνησης θα πρέπει να αφορά σε όλα

τα επίπεδα της οργάνωσης του φυτού, δεδομένου ότι οι αλλαγές που προκαλούνται σε ένα επίπεδο επηρεάζουν ισχυρά και τα άλλα επίπεδα οργάνωσης.

Σε άγονα και ημιάγονα περιβάλλοντα όπως τα Μεσογειακά οικοσυστήματα, η παραγωγικότητα των φυτών περιορίζεται από την έλλειψη νερού και αζώτου. Σε ξηρά εδάφη, η πρόσληψη των θρεπτικών στοιχείων είναι περιορισμένη και συνεπώς αναμένεται εμφάνιση τροφopenιών. Η έλλειψη αζώτου η οποία οφείλεται σε ανεπάρκεια νερού περιορίζει σημαντικά την αύξηση των φυτών στις συνθήκες αυτές (Ahmad *et al.*, 2014). Αν και οι συνέπειες της ξηρασίας στην ανάπτυξη των φυτών είναι ιδιαίτερα μελετημένες, δεν υπάρχουν επαρκείς πληροφορίες για τις σχέσεις δομής-λειτουργίας που αναπτύσσονται κατά τον μακροπρόθεσμο εγκλιματισμό των φυτών στον συνδυασμό υδατικής καταπόνησης και έλλειψης αζώτου (Sadras and Richards, 2014).

B. Επίδραση των χειρισμών στο περιεχόμενο άζωτο

Σύμφωνα με τις εικόνες 12α και β, το περιεχόμενο άζωτο των φύλλων του γονοτύπου *'Δήμητρα'*, εκφρασμένο ανά μονάδα μάζας, αυξάνει σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης και δεν επηρεάζεται από τις διαφορετικές μεταχειρίσεις του αζώτου. Το περιεχόμενο άζωτο ανά επιφάνεια φύλλου (N_a) επίσης αυξάνεται σε συνθήκες έλλειψης νερού αλλά μόνο στην ενδιάμεση μεταχείριση αζώτου (N_2). Αντίθετη εικόνα παρουσιάζει ο γονότυπος *'Νίκη'* στον οποίο, σε συνθήκες έλλειψης νερού, το περιεχόμενο άζωτο των φύλλων, εκφρασμένο είτε ανά επιφάνεια είτε ανά μονάδα μάζας, δεν μεταβάλλεται παρά μόνο στην μηδενική τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο όπου εμφανίζει δραματική μείωση. Η μείωση του περιεχόμενου αζώτου ανά μονάδα επιφάνειας οφείλεται τόσο στην μείωση του N_m όσο και του LMA που παρατηρείται σε συνθήκες μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Ωστόσο η μη αναμενόμενη εικόνα που παρουσιάζει το ολικό άζωτο των φύλλων εκφρασμένο τόσο ανά μάζα όσο και ανά επιφάνεια σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης δεν είναι άγνωστη στη διεθνή βιβλιογραφία (Llorens *et al.*, 2003; Aranda *et al.*, 2005; Damour *et al.*, 2008).

Η έκφραση του ολικού αζώτου ανά επιφάνεια είναι σημαντική από φυσιολογικής άποψης γιατί όλες οι φυσικοχημικές διαδικασίες που σχετίζονται με την φωτοσύνθεση (δέσμευση ηλιακής ακτινοβολίας, διάχυση CO_2 , διαπνοή) εκφράζονται ανά μονάδα

φυλλικής επιφάνειας. Οι παράμετροι που είναι εκφρασμένες ανά μάζα είναι σημαντικές γιατί δηλώνουν την επένδυση του φύλλου με σκοπό την αφομοίωση του άνθρακα (Hikosaka, 2004). Σύμφωνα με τους (Wright *et al.*, 2004), απουσία παραγόντων καταπόνησης, παρατηρείται θετική συσχέτιση μεταξύ των N_a και της φωτοσυνθετικής ταχύτητας ανά μονάδα επιφάνειας ($A_{max,a}$) και αντίστοιχα της N_m και της φωτοσυνθετικής ταχύτητας ανά μονάδα μάζας ($A_{max,m}$). Το γεγονός ότι στην περίπτωση των δύο γονοτύπων κριθαριού δεν επιβεβαιώνεται η θετική αυτή συσχέτιση, πιθανόν να δηλώνει ότι ένα σημαντικό μέρος των αποθεμάτων αζώτου των φύλλων δεν επενδύεται στη φωτοσυνθετική συσκευή αλλά διατίθεται για την σύνθεση φαινολικών συστατικών (δεδομένου ότι η πρόδρομη ένωση για την βιοσύνθεση τους είναι φαινυλαανίνη ή η προλίνη, Jones and Hartley, 1999).

Λαμβάνοντας υπόψη ότι η έλλειψη νερού προκάλεσε μείωση στην ολική επιφάνεια του φύλλου (εικόνα 13α) και ελάττωσε την ταχύτητα διαπνοής E (εικόνα 20γ), η αύξηση του περιεχόμενου αζώτου ανά μονάδα επιφάνειας πιθανόν δηλώνει μία τάση του γονοτύπου *'Δήμητρα'* να βελτιστοποιήσει τα αποθέματα αζώτου σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Farquhar *et al.*, 2002). Τέλος η αύξηση της ξηρής μάζας ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου (LMA) που παρατηρήθηκε κατά την παρατεταμένη έλλειψη νερού, δεν οφείλεται στο αυξημένο πάχος του φύλλου (LT), το οποίο ελαττώθηκε, αλλά στην αύξηση της πυκνότητας (LD).

Γ. Επίδραση των χειρισμών στις παραμέτρους ανταλλαγής αερίων

Η φωτοσυνθετική ταχύτητα των φύλλων εκφρασμένη τόσο ανά επιφάνεια όσο και ανά μάζα μειώθηκε δραστικά υπό την επίδραση της μακροπρόθεσμης υδατικής καταπόνησης και στους δύο γονοτύπους κριθαριού. Οι μεταχειρίσεις με διαφορετικά επίπεδα αζώτου δεν φαίνεται να επιδρούν στην φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων των δύο γονοτύπων κριθαριού. Σε αντίθεση με τα παραπάνω, οι Waraich *et al.* (2011a) παρατήρησαν αύξηση της στοματικής αγωγιμότητας των φύλλων του μαλακού σιταριού σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης με την προσθήκη αζώτου στο έδαφος. Ανάλογη εικόνα με αυτή της φωτοσύνθεσης εμφανίζουν τόσο η ταχύτητα διαπνοής όσο και η στοματική αγωγιμότητα των φύλλων. Εξαιρέση στην παρατηρούμενη έλλειψη απόκρισης των παραμέτρων ανταλλαγής αερίων με τα διαφορετικά επίπεδα αζώτου στο έδαφος παρουσιάζει ο γονότυπος 'Nίκη' όπου σε συνθήκες μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο (N₃) παρατηρείται αύξηση των τιμών τόσο σε επάρκεια όσο και σε ανεπάρκεια νερού.

Η έντονη μείωση της στοματικής αγωγιμότητας των φύλλων και στους δύο γονοτύπους (εικόνες 20γ και δ) η οποία συνοδεύεται από ανάλογη μείωση της διαπνοής, οφείλεται προφανώς στο ότι η ανεπάρκεια νερού προκαλεί κλείσιμο των στομάτων των φύλλων με στόχο τη μείωση της απώλειας νερού μέσω της διαπνοής (Schulze *et al.*, 1994; Novriyanti *et al.*, 2012). Βεβαίως, η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας περιορίζει την πρόσβαση του CO₂ στην φωτοσυνθετική συσκευή με συνέπεια την μείωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας όπως απεικονίζεται στις εικόνες 20α και β.

Ένας άλλος παράγοντας που σχετίζεται αμφίδρομα με την μείωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας και στους δύο γονοτύπους κριθαριού είναι η μείωση της επιμήκυνσης των φύλλων (εικόνα 13α) και η μείωση της συσσώρευσης βιομάζας (εικόνα 13β). Όλες οι παραπάνω μεταβολές παρατηρούνται λόγω της έλλειψης αζώτου και της ανεπάρκειας νερού. Σύμφωνα με τους Charin III *et al.* (1988), η ελλιπής τροφοδοσία των φυτών κριθαριού με άζωτο προκαλεί άμεσα την μείωση της επιμήκυνσης των φύλλων (λόγω διαταραχών στην υδραυλική αγωγιμότητα των ριζών) με συνέπεια την μείωση της φωτοσυνθετικής επιφάνειας και κατ' επέκταση τον περιορισμό του φωτοσυνθετικού έργου.

Η μείωση του περιεχόμενου αζώτου των φύλλων στον γονότυπο 'Nίκη' (εικόνα 12β) ενδεχομένως συνδέεται ως ένα βαθμό με την μείωση που παρατηρείται στην συγκέντρωση των χλωροφυλλών λόγω ανεπάρκειας νερού και μειωμένης τροφοδοσίας αζώτου (εικόνα 22 α). Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα επίπεδα των χλωροφυλλών σχετίζονται στενά με το περιεχόμενο άζωτο των φύλλων, όπως αναφέρουν οι Shao *et al.* (2013) για το *Triticum aestivum*, είναι δυνατόν, κάτω από συνθήκες έλλειψης αζώτου, να εξασθενεί η ικανότητα των φωτοσυλλεκτικών συμπλόκων να συλλέγουν την ενέργεια της φωτεινής ακτινοβολίας αλλά και να μειώνεται η φωτοχημική απόδοση των δύο φωτοσυστημάτων. Η αλληλεπίδραση των δύο καταπονήσεων φαίνεται να επηρεάζει σοβαρά τον ρυθμό μετατροπής της ενέργειας της φωτεινής ακτινοβολίας σε φωτοχημική ροή ηλεκτρονίων με επακόλουθο την ενεργειακή ανεπάρκεια για την

επιτέλεση των αντιδράσεων αφομοίωσης του CO₂ (Shao *et al.*, 2013).

Η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας των φύλλων ως απόκριση των φυτών στην υδατική καταπόνηση και η συνεπακόλουθη ελάττωση της διαπνοής προκάλεσαν την αύξηση της στιγμιαίας αποδοτικότητας χρήσης νερού (το ηλίκο της καθαρής φωτοσύνθεσης προς την ταχύτητα διαπνοής) και της ιδιοσυστηματικής αποδοτικότητας χρήσης νερού (το ηλίκο της καθαρής φωτοσύνθεσης προς τη στοματική αγωγιμότητα). Ωστόσο αν και οι δύο μορφές έκφρασης της αποδοτικότητας χρήσης νερού αυξάνονται στα φυτά και των δύο γονοτύπων που υφίστανται έλλειψη νερού σε σχέση με τα επαρκώς αρδευόμενα, επηρεάζονται επίσης και από την τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο (εικόνες 20ε και στ). Συγκεκριμένα, όταν τα επίπεδα αζώτου στο έδαφος μειώνονται κάτω από την ενδιάμεση τιμή (N₂) η αποδοτικότητα χρήσης νερού μειώνεται έντονα. Η εικόνα αυτή επιβεβαιώνεται από τους Wang *et al.* (2013) που παρατήρησαν ότι στο μαλακό σιτάρι, υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, η αυξημένη τροφοδοσία με άζωτο μπορεί να οδηγήσει σε επιπλέον αύξηση της αποδοτικότητας χρήσης νερού. Ανάλογη θετική επίδραση του αζώτου στην αποδοτικότητα χρήσης νερού έδειξαν πειράματα σε φυτά χορτολιβαδικών εκτάσεων ημιάγονων περιοχών της Κίνας (Brueck *et al.*, 2010) ενώ αντίστοιχα έχει εξεταστεί η συμβολή της ανόργανης θρέψης των

φυτών στην ανακούφιση των αρνητικών επιπτώσεων της υδατικής καταπόνησης (Waraich *et al.*, 2011b).

Οι μετρήσεις των φωτοσυνθετικών παραμέτρων έδειξαν να υπάρχει αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στην στιγμιαία αποδοτικότητα χρήσης νερού και στην αποδοτικότητα χρήσης αποθεμάτων αζώτου για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (*PNUE*) (εικόνα 29β). Η εικόνα αυτή, εξηγείται από το δίλημμα που έχουν να αντιμετωπίσουν τα φυτά σε επίπεδο φύλλου: με δεδομένο ότι ο ενδοκυτταρικός χώρος των φωτοσυνθετικών κυττάρων δεν είναι δυνατόν να τελεί υπό συνθήκες κορεσμού σε CO₂, η συγκέντρωση του CO₂ στα κέντρα καρβοξυλίωσης αποτελεί τον περιοριστικό παράγοντα για την αύξηση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας. Συνεπώς, κάθε αύξηση στην συγκέντρωση του CO₂ αυξάνει τη φωτοσύνθεση και άρα και την αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου, με την προϋπόθεση της αύξησης της στοματικής αγωγιμότητας και άρα και της διαπνοής. Μία τέτοια αύξηση ωστόσο, προκαλεί μείωση της αποδοτικότητας χρήσης νερού. Από τα παραπάνω γίνεται κατανοητό ότι δεν μπορεί να μεγιστοποιηθεί ταυτόχρονα το *PNUE* και το *WUE* (Cabrera-Bosquet *et al.*, 2007; Gong *et al.*, 2011). Η αποδοτικότητα στην χρήση του πιο περιοριστικού πόρου, βελτιώνεται με δαπάνη του λιγότερου περιοριστικού πόρου.

Δ. Επίδραση των χειρισμών στις μικροσκοπικές παραμέτρους

Ως άμεση απόκριση στον περιορισμό των αποθεμάτων νερού του εδάφους, τα φυτά κριθαριού και των δύο γονοτύπων προβαίνουν στο κλείσιμο των στομάτων τους όπως αυτό εκφράζεται με την μείωση της στοματικής αγωγιμότητας και κατ' επέκταση στον περιορισμό των διαπνευστικών απωλειών (εικόνες 20γ και δ). Ο βαθμός περιορισμού της διαπνοής εξαρτάται από το βαθμό κλεισίματος των στομάτων ο οποίος με τη σειρά του εξαρτάται από την ευαισθησία τους και από το μέγεθος του ερεθίσματος. Το τελευταίο σχετίζεται με τη μείωση του δυναμικού νερού το οποίο εξαρτάται από την ικανότητα της ρίζας να απορροφά νερό, από τα υδραυλικά χαρακτηριστικά του αγγειακού συστήματος και από τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των φύλλων (Buckley *et al.*, 2003; Brodribb and Jordan, 2008). Η αρχιτεκτονική του υδραυλικού συστήματος μεταξύ των άλλων παραμέτρων διαμορφώνεται από τον τύπο των αγωγών στοιχείων, το μήκος τους και τη διάμετρο τους (Maseda and Fernández, 2006). Όταν η υδατική καταπόνηση παρατείνεται για μεγάλο χρονικό διάστημα τα φυτά οδηγούνται στην ξήρανση των κατώτερων φύλλων τους (εικόνα 10) και στη εμφάνιση χαρακτηριστικών μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού στα νέα όργανα. Οι μη-αντιστρεπτές αυτές τροποποιήσεις αφορούν συνήθως κατασκευαστικά χαρακτηριστικά των φύλλων όπως τα *TLS*, *LMA* και *LD*, αλλαγές στα ανατομικά και υδραυλικά χαρακτηριστικά του αγγειακού συστήματος καθώς και τον επανασχεδιασμό της φωτοσυνθετικής συσκευής και του μηχανισμού ανταλλαγής αερίων (Maseda and Fernández, 2006).

Ο εξορθολογισμός της διαπνοής και η εξασφάλιση της κάλυψης του υδατικού ισοζυγίου σε δοσμένες

περιβαλλοντικές συνθήκες απαιτεί την εναρμόνιση τουλάχιστον των εξής τριών παραμέτρων: α) της ευαισθησίας των στομάτων, β) της ευπάθειας των αγγείων στις εμβολές και γ) του λόγου της επιφάνειας των ριζών προς την επιφάνεια των φύλλων που καθορίζει κυρίως την υδραυλική αγωγιμότητα των φύλλων (Maseda and Fernández, 2006). Στην περίπτωση των δύο γονοτύπων κριθαριού, όπως φαίνεται στις εικόνες 14γ και δ, το μήκος των στομάτων παρέμεινε σχεδόν σταθερό χωρίς να παρατηρηθεί μείωση των διαστάσεών τους ως προσπάθεια για προσαρμογή των φύλλων στην παρατεταμένη υδατική καταπόνηση και αποφυγή των διαπνευστικών απωλειών όπως θα μπορούσε να αναμένεται βάσει των αναφορών της βιβλιογραφίας (Gray and Casson, 2008; Bresta *et al.*, 2011). Ωστόσο, η πυκνότητα των στομάτων και των δύο επιφανειών των φύλλων παρουσίασε μικρή αυξητική τάση η οποία οφείλεται στην μείωση την συνολικής επιφάνειας του φύλλου εξαιτίας της μείωσης του εδαφικού νερού. Η αύξηση της πυκνότητας των στομάτων εξαρτάται από την υδατική κατάσταση του φύλλου και επηρεάζει τις παραμέτρους ανταλλαγής αερίων όπως η στοματική αγωγιμότητα (Xu and Zhou, 2008). Επιπλέον η αύξηση της βιομάζας ανά μονάδα επιφάνειας (*LMA*) που παρατηρείται λόγω υδατικής καταπόνησης εμφανίζει θετική συσχέτιση με την πυκνότητα των στομάτων (εικόνα 26α) γεγονός που δηλώνει ότι απαιτούνται περισσότερα στόματα για να υποστηρίξουν την αύξηση της βιομάζας ανά δεδομένη επιφάνεια σε συνθήκες έλλειψης νερού (Xu and Zhou, 2008).

Η αγωγιμότητα των φύλλων αποτελεί ένα μέτρο της αποτελεσματικότητας της μεταφοράς νερού

διαμέσου των φύλλων (καθώς το νερό κινείται από τα αγγεία ξύλου του μίσχου και μέσω του μεσοφύλλου καταλήγει στις θέσεις όπου εξατμίζεται προς την ατμόσφαιρα) (Sack and Holbrook, 2006). Σύμφωνα με τον νόμο των Hagen-Poiseuille που αφορά την ροή των υγρών διαμέσου τριχοειδών αγγείων, η αγωγιμότητα των αγγείων (k_{hp}), ως συνιστώσα της αγωγιμότητας του φύλλου, εξαρτάται από τη διάμετρο των αγγείων και δηλώνει την ευκολία με την οποία πραγματοποιείται η μετακίνηση του νερού εντός των αγγείων. Στην εικόνα 27στ παρουσιάζεται η θετική συσχέτιση μεταξύ της αγωγιμότητας των αγγείων του φύλλου και της στοματικής αγωγιμότητας στους δύο γονοτύπους κριθαριού ανεξαρτήτως επιπέδου υδατικής καταπόνησης. Το γεγονός ότι η στοματική αγωγιμότητα δεν εμφάνισε ισχυρή συσχέτιση με τα ανατομικά χαρακτηριστικά των στομάτων υποδηλώνει ότι οι διαφορές στην μέγιστη στοματική αγωγιμότητα οφείλονται κυρίως στην αγωγιμότητα του αγγειακού συστήματος η οποία διαμορφώνεται από την ανατομία των αγγείων. Ανάλογα ευρήματα βρέθηκαν και από τους Bresta *et al.* (2011) σε σιτάρι το οποίο αναπτύχθηκε σε συνθήκες μακροχρόνιας υδατικής καταπόνησης. Οι Brodrribb and Holbrook (2003) έδειξαν ότι το κλείσιμο των στομάτων επηρεάζεται πιο άμεσα από την μείωση της αγωγιμότητας του φύλλου που προκαλείται σε συνθήκες έλλειψης νερού σε σχέση με άλλους παράγοντες που μπορεί να προκαλέσουν την μείωση της στοματικής αγωγιμότητας.

Όπως φαίνεται στην εικόνα 15, η επίδραση της υδατικής καταπόνησης στα αγωγά στοιχεία του ξύλου ήταν ανάλογη και στους δύο γονοτύπους κριθαριού αφού γενικά παρατηρήθηκε μείωση της διαμέτρου των μεταξυλικών αγγείων τόσο της κεντρικής όσο και των δευτερευουσών νευρώσεων. Ωστόσο, μικρές μεταβολές στην διάμετρο των αγγείων προκαλούν δραματική μείωση του k_{hp} όπως προκύπτει από

εφαρμογή του νόμου των Hagen-Poiseuille (Bacelar *et al.*, 2007). Με δεδομένη τη θετική συσχέτιση που έχει αναφερθεί μεταξύ της διαμέτρου των αγωγών στοιχείων και της ευπάθειας των φυτών στις εμβολές (Lo Gullo *et al.*, 1995; Hacke and Sperry, 2001), συνάγεται το συμπέρασμα ότι ο περιορισμός της διαμέτρου των αγγείων αποτελεί απόκριση εγκλιματισμού των γονοτύπων κριθαριού στη ξηρασία η οποία αποσκοπεί στο συγχρονισμό της μεταφοράς του νερού και της ανταλλαγής των αερίων με στόχο όχι μόνο τον περιορισμό των διαπνευστικών απωλειών αλλά και την εξασφάλιση της επιβίωσης με την αποφυγή των εμβολών (Bresta *et al.*, 2011).

Εκτός από την σμίκρυνση των αγγείων, η υδατική καταπόνηση προκαλεί αύξηση της πυκνότητας των νευρώσεων των φύλλων και στους δύο γονοτύπους (εικόνα 15ε). Ως εκ τούτου, τα φύλλα διαθέτουν στενότερα και πυκνότερα αγγεία αποτέλεσμα το οποίο επιπλέον επιβεβαιώνεται και από τις αρνητικές συσχετίσεις που εμφανίζει η πυκνότητα των νευρώσεων τόσο με την διάμετρο των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμιδών όσο και με την διάμετρο των μεταξυλικών αγγείων των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμιδών (εικόνες 27β και γ). Η μεγαλύτερη πυκνότητα των δευτερευόντων αγγείων δεν αυξάνει την υδραυλική αγωγιμότητα του αγγειακού συστήματος (k_{hp}) των φύλλων αλλά αυξάνει την επιφάνεια ανταλλαγής νερού μεταξύ των αγγείων και του μεσοφύλλου που τα περιβάλλει και ταυτόχρονα μειώνει τις αποστάσεις που διασχίζει το νερό εκτός του ξυλώματος (Cochard *et al.*, 2004).

Οι τροποποιήσεις της ανατομίας του ξυλώματος φαίνεται πως αποτελούν μια απόπειρα εγκλιματισμού των φυτών σε συνθήκες ξηρασίας δεδομένου ότι τα αγγεία παίζουν σημαντικό ρόλο στο συνδυασμό της μεταφοράς του νερού και της ανταλλαγής των αερίων

με σκοπό τη μείωση των απωλειών νερού και την εξασφάλιση της επιβίωσης του φυτικού οργανισμού σε συνθήκες ξηρασίας. Η άποψη αυτή τεκμηριώνεται όχι μόνο από τις ισχυρές συσχετίσεις των k_{hp} και των SVD με την στοματική αγωγιμότητα αλλά και με την ιδιοσυστηματική αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE) (εικόνες 27δ, στ και ζ). Στο γονότυπο *Δήμητρα*, η τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο επηρεάζει την αρχιτεκτονική του υδραυλικού συστήματος των φύλλων σε συνθήκες έλλειψης νερού. Σε συνθήκες

υδατικής καταπόνησης μειώνεται η διάμετρος τόσο της κεντρικής ηθμαγγειώδους δεσμίδας όσο και των δευτερευουσών δεσμίδων καθώς και η μέση διάμετρος των αντίστοιχων μεταξυλικών αγγείων (εικόνες 15α-δ). Έχει αναφερθεί ότι η λίπανση των φυτών με άζωτο αυξάνει την αγωγιμότητα των ακραίων βλαστών ενώ μειώνει την ευπάθεια σε εμβολές, την αγωγιμότητα των φύλλων και την πυκνότητα του ξύλου ορισμένων κοινών ειδών της σαβάνας της κεντρικής Βραζιλίας (Bucci *et al.*, 2006).

E. Επίδραση των χειρισμών στις ιστολογικές παραμέτρους

Η υδατική καταπόνηση επέφερε μείωση της μέσης τιμής του μεγέθους όλων σχεδόν των κυτταρικών τύπων και στους δύο γονοτύπους κριθαριού (εικόνες 16 και 19). Ωστόσο, στο γονότυπο *'Δήμητρα'* παρατηρήθηκε αύξηση του μεγέθους των επιδερμικών και παρεγχυματικών κυττάρων καθώς και των χλωροπλαστών, όταν η ανεπάρκεια νερού συνδυάστηκε με έλλειψη αζώτου. Η συγκεκριμένη αντίδραση των φυτών του γονοτύπου *'Δήμητρα'* στον συνδυασμό των δύο παραγόντων καταπόνησης φαίνεται να είναι μοναδική και δεν μπορεί να περιγραφεί ως το άθροισμα των αντιδράσεων σε κάθε ξεχωριστό παράγοντα καταπόνησης. Δηλαδή, η αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων καταπόνησης αντιμετωπίστηκε από τα φυτά ως μία διαφορετική κατάσταση καταπόνησης στην οποία αντέδρασαν με την επαναφορά του μεγέθους των κυττάρων τους που αρχικά ελαττώθηκε, στο μέγεθος που είχαν τα κύτταρα χωρίς την επιβολή καμίας καταπόνησης.

Είναι αξιοσημείωτο ότι όταν επιβάλλεται στα φυτά υδατική καταπόνηση και σταδιακά μειώνεται η τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο, οι διαστάσεις των παρεγχυματικών και επιδερμικών κυττάρων συρρικνώνονται έως κάποιο κατώφλι, πέρα από το οποίο αρχίζουν να αυξάνονται για να επανέλθουν στα αρχικά επίπεδα σε συνθήκες μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο (N_3). Ταυτόχρονα, η συνολική επιφάνεια του φύλλου (*TLS*), η ξηρή μάζα (*DM*) και η πυκνότητα του φύλλου (*LD*) (εικόνες 13α, β και γ αντίστοιχα) μειώνονται περαιτέρω σε συνθήκες ανεπάρκειας νερού και μηδενικής προσθήκης αζώτου στο έδαφος. Από τα παραπάνω προκύπτει ενδεχομένως ότι υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης και μηδενικής προσθήκης αζώτου επέρχεται μείωση του συνολικού

αριθμού των κυττάρων ανά όργανο. Έτσι, υπό τις παραπάνω συνθήκες, είναι πιθανή η μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Σύμφωνα με τον Tsukaya (2008), σε όργανο όπως το φύλλο, όταν ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των κυττάρων ελαττωθεί πέρα από ένα όριο μπορεί να ενεργοποιηθεί το φαινόμενο της αντιστάθμισης (*compensation*), δηλαδή να αυξηθεί ο όγκος των κυττάρων που απαρτίζουν το φύλλο. Η αντιστάθμιση του μεγέθους των κυττάρων λαμβάνει χώρα σε καταβολές οργάνων των οποίων η οργανογένεση υπόκειται σε αυστηρό έλεγχο όσο αφορά την έναρξη και την λήξη της και πραγματοποιείται με αύξηση του όγκου του χυμοτοπίου (Tsukaya, 2008; Horiguchi and Tsukaya, 2014). Ο μηχανισμός της αντιστάθμισης φαίνεται να εμπλέκει και το 26SP πρωτεάσωμα το οποίο είναι μια 2,4-MD πρωτεάση με πολλές υπομονάδες, καταλύει αντιδράσεις υδρόλυσης πρωτεϊνών και συμμετέχει σε ποικίλες βιολογικές διαδικασίες (Kurepa *et al.*, 2009). Ορισμένες πρωτεΐνες-στόχοι του 26SP πρωτεασώματος, πριν αποδομηθούν, υφίστανται τροποποίηση μέσω σύνδεσης με την ουμπικουιλίνη. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται από ενζυμικές αντιδράσεις σε τρία βήματα (Stone, 2014). Η αποδόμηση των συνδεόμενων με ουμπικουιλίνη πρωτεϊνών από το 26SP πρωτεάσωμα παίζει σημαντικό ρόλο στην κυτταρική διαίρεση. Οι Kurepa *et al.* (2009) έδειξαν ότι οποιοσδήποτε περιορισμός στην λειτουργία του 26SP πρωτεασώματος οδηγεί σε μείωση του αριθμού των κυττάρων η οποία στην συνέχεια συνοδεύεται από αύξηση του μεγέθους τους. Ο αριθμός των πρωτεασωμάτων σε ένα φυτικό όργανο καθώς και η δραστηκότητά τους επηρεάζονται από αλλαγές του περιβάλλοντος (Kurepa and Smalle, 2008). Ταυτόχρονα, η ικανότητα των φυτών να

επιβιώνουν σε συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων (όπως αλατότητα, ακτινοβολία, έλλειψη θρεπτικών, ξηρασία) εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό και από τη λειτουργικότητα των πρωτεασωμάτων καθώς η αποδόμηση των συνδεδεμένων με ουμπικουιλίνη πρωτεϊνών από το 26SP πρωτεάσωμα είναι καθοριστικής σημασίας γιατί επιτρέπει την αντικατάσταση των μη λειτουργικών πρωτεϊνών από λειτουργικές (Sato *et al.*, 2011).

Όπως φαίνεται στην εικόνα 16ζ, ο συνδυασμός της υδατικής καταπόνησης και της μειωμένης τροφοδοσίας με άζωτο επηρέασε άμεσα το μέγεθος των χλωροπλαστών και στους δύο γονοτύπους. Στον γονότυπο *Νίκη* παρατηρήθηκε μείωση του μεγέθους των χλωροπλαστών λόγω έλλειψης νερού ενώ στον γονότυπο *Δήμητρα* μείωση του μεγέθους των χλωροπλαστών λόγω έλλειψης νερού αλλά ταυτόχρονα επαναφορά του μεγέθους τους στις αρχικές τιμές όταν η έλλειψη νερού συνδυάστηκε με μηδενική τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, το μέγεθος των χλωροπλαστών μεταβάλλεται υπό την επίδραση αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης. Η πτώση του δυναμικού του νερού του φύλλου πέρα από μία τιμή η οποία εξαρτάται από το φυτικό είδος, προκαλεί μείωση του μεγέθους των χλωροπλαστών είτε λόγω αφυδάτωσης είτε λόγω περιορισμένης ανάπτυξης (Santakumari and Berkowitz, 1991). Όπως έδειξαν οι Li *et al.* (2012) στο ρύζι, σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης μπορεί να σημειωθεί μείωση του μεγέθους των χλωροπλαστών εάν το χορηγούμενο άζωτο είναι υπό μορφή νιτρικών ιόντων ενώ να μην μεταβληθεί το μέγεθός τους εάν η πηγή του αζώτου είναι υπό μορφή αμμωνιακών (McCain, 1995). Η σμίκρυνση των χλωροπλαστών επιφέρει μείωση της ολικής επιφάνειας του χλωροπλάστη καθώς και της επιφάνειας του που εκτίθεται στην αέρια φάση του μεσοφύλλου ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Λόγω

αυτού, προκαλείται μείωση της αγωγιμότητας του μεσοφύλλου στο CO₂ και κατ' επέκταση ελάττωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας (Li *et al.*, 2009). Το γεγονός ότι στον γονότυπο *Δήμητρα* οι διαστάσεις των χλωροπλαστών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης και μηδενικής τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο αυξήθηκαν και επανήλθαν στις αρχικές τιμές που είχαν πριν την επιβολή των καταπονήσεων καθώς και η αύξηση του εύρους της κανονικής κατανομής της επιφάνειας των χλωροπλαστών και των παρεγχυματικών κυττάρων (εικόνα 19), υποδηλώνει πιθανό εγκλιματισμό της φωτοσυνθετικής συσκευής στις νέες αντίξοες συνθήκες για τα συγκεκριμένα φυτά. Η αύξηση του εύρους της επιφάνειας των παρεγχυματικών κυττάρων (μεγαλύτερη ποικιλία μεγεθών των κυττάρων ανά επιφάνεια φύλλου) ενδεχομένως οδηγεί σε αύξηση του όγκου της αέριας φάσης του μεσοφύλλου και ως εκ τούτου σε αυξημένη αγωγιμότητα στο CO₂. Οι Muller *et al.* (2009), μελετώντας το αείφυλλο φυτό *Aucuba japonica*, διαπίστωσαν ότι τον χειμώνα αυξάνεται ο όγκος άρα και η επιφάνεια των χλωροπλαστών που εκτίθενται στην αέρια φάση του μεσοφύλλου εκφρασμένη ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Το χαρακτηριστικό αυτό εποχιακού εγκλιματισμού υποβοηθείται από τον σχηματισμό κενών χώρων στην επιφάνεια του μεσοφύλλου κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Το φαινόμενο αυτό σε συνδυασμό με το υψηλό περιεχόμενο των φύλλων σε Rubisco αντισταθμίζουν τη χαμηλή φωτοσυνθετική ταχύτητα και τη μειωμένη αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (PNUΕ) που παρατηρούνται κατά την χειμερινή περίοδο. Επίσης, φυτά σπανακιού εγκλιματισμένα σε χαμηλές τιμές δυναμικού νερού έδειξαν υψηλές τιμές φωτοσυνθετικής ταχύτητας υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης, γεγονός το οποίο αποδίδεται στο

-Συζήτηση-

σταθερό μέγεθος των χλωροπλαστών ακόμα και σε Berkowitz, 1991).
συνθήκες έντονης έλλειψης νερού (Santakumari and

ΣΤ. Επίδραση των χειρισμών στις βιοχημικές παραμέτρους

ΣΤ.1. Επίδραση των χειρισμών στη συγκέντρωση προλίνης

Η προλίνη συσσωρεύεται ως συμβατός οσμωλύτης σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Karamanos *et al.*, 1983). Πέραν της προστασίας που προσφέρει, η συσσώρευση του αμινοξέος προσφέρει το πλεονέκτημα ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εύχρηστη πηγή άνθρακα, αζώτου και ενέργειας κατά την επαναφορά του φυτού σε συνθήκες επάρκειας νερού (Szabados and Saviouré, 2010). Επίσης, κάτω από ευνοϊκές συνθήκες, λειτουργεί ως μόριο-σήμα το οποίο ελέγχει την έκφραση πολλών γονιδίων που επηρεάζουν την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών (Székely *et al.*, 2008). Η προλίνη συνδέεται στενά με τον μεταβολισμό του γλουταμινικού οξέος και της γλουταμίνης ο οποίος εμπλέκεται στην αποτελεσματική επανεκκίνηση του αζώτου κατά την αποκοπή των φύλλων η οποία επάγεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η έλλειψη νερού και αζώτου (Albert *et al.*, 2012). Επιπλέον, σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, η προλίνη προστατεύει ορισμένες σημαντικές πρωτεΐνες (όπως για παράδειγμα τη ρεδουκτάση των νιτρικών), ενισχύει την δραστηριότητα ενζύμων, δεσμεύει ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, σταθεροποιεί τα ένζυμα που δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες ή τέλος ενεργοποιεί εναλλακτικές οδούς αποτοξίνωσης (Sharma and Shanker Dubey, 2005; Szabados and Saviouré, 2010).

Η αζωτούχος λίπανση είναι δυνατό να ανακουφίσει τα συμπτώματα της ήπιας υδατικής καταπόνησης αυξάνοντας την δραστηριότητα των ενζύμων υπεύθυνων για την αποδόμηση των ελεύθερων ριζών καταλάσης και της υπεροξειδάσης (Ahmadi *et al.*, 2010) ή βελτιώνοντας την μικροδομή των

χλωροπλαστών και των μιτοχονδρίων (Yin *et al.*, 2012). Η εφαρμογή αζωτούχου λίπανσης σε φυτά καταπονημένα από έλλειψη νερού προκαλεί συνήθως αύξηση της συγκέντρωσης της προλίνης στους ιστούς (Sánchez *et al.*, 2002; Zhao and Liu, 2009), ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρείται μείωση (Zhou *et al.*, 2011). Οι διαφοροποιήσεις αυτές οφείλονται σε διαφορές μεταξύ των φυτικών ειδών ή σε διαφοροποιήσεις στα ποσά αζώτου που χρησιμοποιούνται. Στην περίπτωση του γονοτύπου 'Δήμητρα' σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης η αζωτούχος λίπανση δεν προκάλεσε ιδιαίτερη συσσώρευση προλίνης. Αντίθετα, στον γονότυπο 'Νίκη' η απουσία αζώτου σε συνδυασμό με έλλειψη νερού εικοσαπλασίασε την συγκέντρωση της προλίνης που συσσωρεύτηκε εντός των φύλλων. Σύμφωνα με τους Wang *et al.* (2011), ανάλογη εικόνα παρουσίασαν φυτά *Jatropha curcas* τα οποία αναπτύχθηκαν σε πολύ χαμηλά επίπεδα αζώτου και στην συνέχεια υποβλήθηκαν σε ωσμωτική καταπόνηση με πολυαιθυλενογλυκόλη. Τα φυτά αυτά παρουσίασαν αύξηση των μεταγραφημάτων του γονιδίου *JcP5CS* και αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου P5CS οδηγώντας σε αυξημένη συγκέντρωση της προλίνης των φύλλων.

ΣΤ.2. Φαινολικές ενώσεις-Ταννίνες

Οι καταπονήσεις από αβιοτικούς παράγοντες διαταράσσουν την οξειδοαναγωγική ομοιόσταση των κυττάρων λόγω της αύξησης της παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS) και της αδυναμίας των μηχανισμών προστασίας να τις εξουδετερώσουν (Asada, 2006). Η συσσώρευση ROS σε οργανίδια του φυτικού κυττάρου (μιτοχόνδρια, χλωροπλάστες,

υπεροξυσώματα, πυρήνας) προκαλεί οξειδωτικές βλάβες που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο. Ωστόσο, οι ROS λειτουργούν ταυτόχρονα ως ενδοκυτταρικά σήματα που ενεργοποιούν τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας, στους οποίους περιλαμβάνεται και η παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών όπως τα φαινολικά συστατικά. Από την άλλη πλευρά, η αυξημένη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών σε συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων ενισχύει και την άμυνα έναντι και των βιοτικών παραγόντων καταπόνησης (Harborne and Williams, 2000; Khan *et al.*, 2011; Karabourniotis *et al.*, 2014).

Ειδικότερα στο κριθάρι, η συγκέντρωση των φλαβονοειδών σε συνθήκες αλατότητας αυξήθηκε (Ali and Abbas, 2003) ενώ επίσης αυξήθηκαν τα φαινολικά συστατικά του βλαστού και ιδιαίτερα η συγκέντρωση του φλαβονοειδούς ομοοριεντίνη σε συνθήκες τροφοπενίας αζώτου με ταυτόχρονη εμφάνιση έντονων συμπτωμάτων οξειδωτικής καταπόνησης. Αντίθετα, στο ριζικό σύστημα των παραπάνω φυτών σημειώθηκε μικρή αύξηση των διαλυτών φαινολών και αύξηση των αντιοξειδωτικών ενώσεων πιθανόν για να επιτευχθεί εξισορρόπηση των ROS και να διατηρηθεί η ανάπτυξη του ριζικού συστήματος (Konáček *et al.*, 2014). Στην παρούσα εργασία, οι δύο γονότυποι (*Δήμητρα* και *Νίκη*) εμφάνισαν μείωση της συγκέντρωσης των φλαβονοειδών των φύλλων όταν εκτέθηκαν σε συνδυασμό υδατικής καταπόνησης και έλλειψης αζώτου (εικόνες 23γ και δ). Ανάλογη μείωση παρουσίασε η συγκέντρωση του φλαβονοειδούς 7-γλυκοσίδης της ισοοριεντίνης.

Η συγκέντρωση των διαλυτών φαινολικών ενώσεων και των συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα ξηρής μάζας αυξάνεται στον γονότυπο *Δήμητρα* όσο μειώνεται η τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο ενώ στον γονότυπο *Νίκη* η αύξηση των

συγκεντρώσεων φαίνεται να επηρεάζεται μόνο από την έλλειψη νερού (εικόνες 23β και στ). Η αύξηση της συγκέντρωσης των δευτερογενών μεταβολιτών με τον συνδυασμό της υδατικής καταπόνησης και της έλλειψης του αζώτου στο έδαφος ή αντίστοιχα η μείωση της συγκέντρωσης των με την αζωτούχο λίπανση είναι αρκετά τεκμηριωμένα στην βιβλιογραφία (Thomas and Schafellner, 1999; Kouki and Manetas, 2002; Zhang *et al.*, 2012a). Η αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών φαινολικών ενώσεων και των συμπυκνωμένων ταννινών ανά μονάδα ξηρής μάζας στον γονότυπο *Νίκη* φαίνεται να εξηγείται από την θεωρία της ισορροπίας ανάπτυξης-διαφοροποίησης (Herms and Mattson, 1992). Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης και τροφοδοσίας του εδάφους με άζωτο από την ενδιάμεση έως την μηδενική τιμή (από N₂ έως N₃) παρατηρείται αύξηση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας ανά μονάδα μάζας (εικόνα 20β) οπότε είναι πιθανό η περίσσεια των ενώσεων του άνθρακα που προκύπτει να μην επενδύεται στην ανάπτυξη (όπως φαίνεται από την μείωση των τιμών των περισσότερων κατασκευαστικών και ανατομικών παραμέτρων των φύλλων) αλλά να οδηγείται στην παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών που δεν περιέχουν άζωτο στο μόριό τους (Karabourniotis *et al.*, 2014). Επίσης, η θετική συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ την συγκέντρωσης των διαλυτών φαινολικών ενώσεων ανά μονάδα ξηρής μάζας και του περιεχόμενου αζώτου των φύλλων ανά μονάδα επιφάνειας πιθανόν να οφείλεται στον ανταγωνισμό για το άζωτο μεταξύ των πρωτεϊνών και των δευτερογενών μεταβολιτών σε συνθήκες έλλειψης νερού (εικόνα 30γ). Είναι γνωστό ότι η έλλειψη αζώτου στο έδαφος διεγείρει την παραγωγή και την συσσώρευση των πολυφαινολών και μειώνει την συγκέντρωση των πρωτεϊνών διότι, σύμφωνα με την θεωρία του μοντέλου του ανταγωνισμού των πρωτεϊνών (Jones and Hartley, 1999), υπάρχει

-Συζήτηση-

ανταγωνισμός μεταξύ των συγκεκριμένων κοινό πρόδρομο μόριο, το αμινοξύ φαινυλαλάνη δευτερογενών μεταβολιτών και των πρωτεϊνών για το (Koricheva *et al.*, 1998; Jones and Hartley, 1999).

Z. Επίδραση των χειρισμών στις παραμέτρους απόδοσης

Σύμφωνα με την εικόνα 25, η οποία απεικονίζει μετρήσεις του Εργαστηρίου Γεωργίας του Γ.Π.Α., η απόδοση και των δύο γονοτύπων εκφρασμένη ως βάρος σπόρων ανά φυτό, εμφάνισε σημαντική μείωση λόγω της επιβολής της υδατικής καταπόνησης. Η μείωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας λόγω έλλειψης νερού είχε ως αποτέλεσμα την ελλιπή συσσώρευση φωτοσυνθετικών προϊόντων κυρίως στο ανώτερο φύλλο και στον στάχυ τα οποία είναι γνωστό, ότι συμβάλλουν κατά 50-75% στο τελικό βάρος των καρπών (Καραμάνος, 1994).

Η απόδοση σε καρπό ως απόκριση στην τροφοδοσία του εδάφους με άζωτο εμφάνισε διαφοροποιήσεις στους δύο γονοτύπους, με τον γονότυπο *'Δήμητρα'* να εμφανίζει αύξηση του βάρους σπόρου ανά φυτό στην μεταχείριση με μηδενικό άζωτο ανεξαρτήτως επάρκειας νερού. Το εν λόγω αποτέλεσμα πιθανόν να σχετίζεται με το περιεχόμενο άζωτο του

καρπού, το οποίο εξαρτάται από το ποσό του αποθηκευμένου αζώτου στα φύλλα και την αποτελεσματικότητα της επανακινητοποίησής του. Το ποσό του αποθηκευμένου αζώτου των φύλλων εξαρτάται από τον γονότυπο, τις περιβαλλοντικές συνθήκες και το διαθέσιμο εδαφικό άζωτο, ενώ, όπως έχει δειχθεί από τους Palta *et al.* (1994), η αποτελεσματικότητα της επανακινητοποίησης είναι ιδιαίτερα ψηλή στα μεσογειακού τύπου κλίματα όπου τα φυτά συνήθως υποφέρουν από έλλειψη νερού κατά την περίοδο γεμίσματος του σπόρου (Papakosta and Garianas, 1991). Η αύξηση στην αποτελεσματικότητα επανακινητοποίησης σε αυτές τις συνθήκες πιθανόν είναι αποτέλεσμα της δυσκολίας του φυτού να απορροφήσει το εδαφικό άζωτο κατά την φάση της ωρίμανσης του καρπού και του εξαναγκασμού του σε αποδοτικότερη χρήση του αποθηκευμένου αζώτου των φύλλων (Barbottin *et al.*, 2005).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adamczyk, B., Godlewski, M., Smolander, A., Kitunen, V. 2009. Degradation of proteins by enzymes exuded by *Allium porrum* roots-A potentially important strategy for acquiring organic nitrogen by plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, **47**: 919-925.
- Adamczyk, B., Godlewski, M., Zimny, J., Zimny, A. 2008. Wheat (*Triticum aestivum*) seedlings secrete proteases from the roots and, after protein addition, grow well on medium without inorganic nitrogen. *Plant Biology*, **10**: 718-724.
- Ahmad, R., Waraich, E.A., Ashraf, M.Y., Ahmad, S., Aziz, T. 2014. Does nitrogen fertilization enhance drought tolerance in sunflower? A review. *Journal of Plant Nutrition*, **37**: 942-963.
- Ahmadi, A., Emam, Y., Pessarakli, M. 2010. Biochemical changes in maize seedlings exposed to drought stress conditions at different nitrogen levels. *Journal of Plant Nutrition*, **33**: 541-556.
- Akmal, M., Janssens, M.J.J. 2004. Productivity and light use efficiency of perennial ryegrass with contrasting water and nitrogen supplies. *Field Crops Research*, **88**: 143-155.
- Albert, B., Le Cahérec, F., Niogret, M.-F., Faes, P., Avice, J.-C., Leport, L., Bouchereau, A. 2012. Nitrogen availability impacts oilseed rape (*Brassica napus* L.) plant water status and proline production efficiency under water-limited conditions. *Planta*, **236**: 659-676.
- Ali, R.M., Abbas, H.M. 2003. Response of salt stressed barley seedlings to phenylurea. *Plant, Soil and Environment*, **49**: 158-162.
- Aranda, I., Castro, L., Pardos, M., Gil, L., Pardos, J.A. 2005. Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *Forest Ecology and Management*, **210**: 117-129.
- Araus, J.L., Slafer, G.A., Reynolds, M.P., Royo, C. 2002. Plant breeding and drought in C₃ cereals: What should we breed for? *Annals of Botany*, **89**: 925-940.
- Asada, K. 2006. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, **141**: 391-396.
- Aulakh, M.S., Malhi, S.S. 2005. Interactions of nitrogen with other nutrients and water: Effect on crop yield and quality, nutrient use efficiency, carbon sequestration, and environmental pollution. *Advances in Agronomy*, **86**: 341-409.
- Bacelar, E.A., Moutinho-Pereira, J.M., Gonçalves, B.C., Ferreira, H.F., Correia, C.M. 2007. Changes in growth, gas exchange, xylem hydraulic properties and water use efficiency of three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany*, **60**: 183-192.
- Bahrún, A., Jensen, C.R., Asch, F., Mogensen, V.O. 2002. Drought-induced changes in xylem pH, ionic composition, and ABA concentration act as early signals in field-grown maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, **53**: 251-263.
- Barbottin, A., Lecomte, C., Bouchard, C., Jeuffroy, M.-H. 2005. Nitrogen remobilization during grain filling in wheat: Genotypic and environmental effects. *Crop Science*, **45**: 1141-1150.
- Barker, A.V., Bryson, G.M. 2012. Nitrogen, *In: Books in Soils, Plants, and the Environment*, Vol. 117 - Handbook of Plant Nutrition (Baker, A.V., Pilbeam, D.J. eds.). CRC Press, Boca Raton, pp. 21-50.
- Barker, A.V., Pilbeam, D.J. 2012. Introduction, *In: Books in Soils, Plants, and the Environment*, Vol. 117 - Handbook of Plant Nutrition (Baker, A.V., Pilbeam, D.J. eds.). CRC Press, Boca Raton, pp. 3-17.
- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, **39**: 205-207.
- Bloom, A.J., Sukrapanna, S.S., Warner, R.L. 1992. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. *Plant Physiology*, **99**: 1294-1301.
- Bresta, P., Nikolopoulos, D., Economou, G., Vahamidis, P., Lyra, D., Karamanos, A., Karabourniotis, G. 2011. Modification of water entry (xylem vessels) and water exit (stomata) orchestrates long term drought acclimation of wheat leaves. *Plant and Soil*, **347**: 179-193.
- Britto, D.T., Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M., Kronzucker, H.J. 2001. Futile transmembrane NH₄⁺ cycling: A cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**: 4255-4258.
- Broadley, M.R., Escobar-Gutierrez, A.J., Burns, A., Burns, I.G. 2001. Nitrogen-limited growth of lettuce is associated with lower stomatal conductance. *New Phytologist*, **152**: 97-106.

- Brodribb, T.J., Feild, T.S., Jordan, G.J. 2007. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology*, **144**: 1890-1898.
- Brodribb, T.J., Holbrook, N.M. 2003. Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology*, **132**: 2166-2173.
- Brodribb, T.J., Jordan, G.J. 2008. Internal coordination between hydraulics and stomatal control in leaves. *Plant, Cell and Environment*, **31**: 1557-1564.
- Brueck, H. 2008. Effects of nitrogen supply on water-use efficiency of higher plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **171**: 210-219.
- Brueck, H., Erdle, K., Gao, Y., Giese, M., Zhao, Y., Peth, S., Lin, S. 2010. Effects of N and water supply on water use-efficiency of a semiarid grassland in Inner Mongolia. *Plant and Soil*, **328**: 495-505.
- Bucci, S.J., Scholz, F.G., Goldstein, G., Meinzer, F.C., Franco, A.C., Campanello, P.I., Villalobos-Vega, R., Bustamante, M., Miralles-Wilhelm, F. 2006. Nutrient availability constrains the hydraulic architecture and water relations of savannah trees. *Plant, Cell and Environment*, **29**: 2153-2167.
- Buckley, T.N., Mott, K.A., Farquhar, G.D. 2003. A hydromechanical and biochemical model of stomatal conductance. *Plant, Cell and Environment*, **26**: 1767-1785.
- Cabrera-Bosquet, L., Molero, G., Bort, J., Nogués, S., Araus, J.L. 2007. The combined effect of constant water deficit and nitrogen supply on WUE, NUE and $\Delta^{13}C$ in durum wheat potted plants. *Annals of Applied Biology*, **151**: 277-289.
- Chapin III, F.S., Walter, C.H.S., Clarkson, D.T. 1988. Growth response of barley and tomato to nitrogen stress and its control by abscisic acid, water relations and photosynthesis. *Planta*, **173**: 352-366.
- Christmann, A., Weiler, E.W., Steudle, E., Grill, E. 2007. A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. *Plant Journal*, **52**: 167-174.
- Claeys, H., Inzé, D. 2013. The agony of choice: How plants balance growth and survival under water-limiting conditions. *Plant Physiology*, **162**: 1768-1779.
- Cochard, H., Nardini, A., Coll, L. 2004. Hydraulic architecture of leaf blades: Where is the main resistance? *Plant, Cell and Environment*, **27**: 1257-1267.
- Cossani, C.M., Slafer, G.A., Savin, R. 2011. Do barley and wheat (bread and durum) differ in grain weight stability through seasons and water-nitrogen treatments in a Mediterranean location? *Field Crops Research*, **121**: 240-247.
- Damour, G., Vandame, M., Urban, L. 2008. Long-term drought modifies the fundamental relationships between light exposure, leaf nitrogen content and photosynthetic capacity in leaves of the lychee tree (*Litchi chinensis*). *Journal of Plant Physiology*, **165**: 1370-1378.
- Dordas, C. 2012. Variation in dry matter and nitrogen accumulation and remobilization in barley as affected by fertilization, cultivar, and source-sink relations. *European Journal of Agronomy*, **37**: 31-42.
- Dreccer, M.F. 2006. Nitrogen use at the leaf and canopy level: A framework to improve crop N use efficiency. *Journal of Crop Improvement*, **15**: 97-125.
- Durand, J.L., Onillon, B., Schnyder, H., Rademacher, I. 1995. Drought effects on cellular and spatial parameters of leaf growth in tall fescue. *Journal of Experimental Botany*, **46**: 1147-1155.
- Evans, J.R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C_3 plants. *Oecologia*, **78**: 9-19.
- FAO 2011. FAOSTAT Database Agricultural Production. Available at <http://apps.fao.org>. Food and Agricultural Organization of the United Nations.
- Farquhar, G.D., Buckley, T.N., Miller, J.M. 2002. Optimal stomatal control in relation to leaf area and nitrogen content. *Silva Fennica*, **36**: 625-637.
- Ferrerres, F., Andrade, P.B., Valentão, P., Gil-Izquierdo, A. 2008. Further knowledge on barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves O-glycosyl-C-glycosyl flavones by liquid chromatography-UV diode-array detection-electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1182**: 56-64.
- Gaufichon, L., Reisdorf-Cren, M., Rothstein, S.J., Chardon, F., Suzuki, A. 2010. Biological functions of asparagine synthetase in plants. *Plant Science*, **179**: 141-153.
- Godlewski, M., Adamczyk, B. 2007. The ability of plants to secrete proteases by roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, **45**: 657-664.
- Gong, X.Y., Chen, Q., Lin, S., Brueck, H., Dittert, K., Taube, F., Schnyder, H. 2011. Tradeoffs between nitrogen- and water-use efficiency in dominant species of the semiarid steppe of Inner Mongolia. *Plant and Soil*, **340**: 227-238.
- Gonzalez-Dugo, V., Durand, J.-L., Gastal, F. 2010. Water deficit and nitrogen nutrition of crops. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **30**: 529-544.

- Gonzalez-Dugo, V., Durand, J.-L., Gastal, F., Picon-Cochard, C. 2005. Short-term response of the nitrogen nutrition status of tall fescue and Italian ryegrass swards under water deficit. *Australian Journal of Agricultural Research*, **56**: 1269-1276.
- Gray, J.E., Casson, S. 2008. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist*, **178**: 9-23.
- Guo, J., Yang, Y., Wang, G., Yang, L., Sun, X. 2010. Ecophysiological responses of *Abies fabri* seedlings to drought stress and nitrogen supply. *Physiologia Plantarum*, **139**: 335-347.
- Hacke, U.G., Sperry, J.S. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **4**: 97-115.
- Harborne, J.B., Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**: 481-504.
- Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Skrumsager Møller, I., White, P. 2012. Functions of macronutrients, *In: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (Marschner, P. ed.). Academic Press, London, pp. 135-189.
- Herdel, K., Schmidt, P., Feil, R., Mohr, A., Schurr, U. 2001. Dynamics of concentrations and nutrient fluxes in the xylem of *Ricinus communis* - Diurnal course, impact of nutrient availability and nutrient uptake. *Plant, Cell and Environment*, **24**: 41-52.
- Hermes, D.A., Mattson, W.J. 1992. The dilemma of plants: to grow or to defend. *The Quarterly Review of Biology*, **67**: 283-335.
- Hikosaka, K. 2004. Interspecific difference in the photosynthesis-nitrogen relationship: Patterns, physiological causes, and ecological importance. *Journal of Plant Research*, **117**: 481-494.
- Hiscox, J.D., Israelstam, G.F. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, **57**: 1332-1334.
- Horiguchi, G., Tsukaya, H. 2014. Organ size regulation in plants: Insights from compensation. *Frontiers in Plant Science*, **2**: 24-24.
- Horneck, D.A., Miller, R.O. 1998. Determination of total nitrogen in plant tissue, *In: Handbook of Reference Methods for Plant Analysis* (Kalra, Y.P. ed.). CRC Press, Boca Raton, pp. 75-83.
- Jacob, J., Udayakumar, M., Prasad, T.G. 1995. Mesophyll conductance was inhibited more than stomatal conductance in nitrogen deficient plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, **17**: 55-61.
- Jensen, W.A. 1962. Botanical Histochemistry: Principles and Practice. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Jeuffroy, M.H., Ney, B., Ourry, A. 2002. Integrated physiological and agronomic modelling of N capture and use within the plant. *Journal of Experimental Botany*, **53**: 809-823.
- Jones, C.G., Hartley, S.E. 1999. A protein competition model of phenolic allocation. *Oikos*, **86**: 27-44.
- Jones, D.L., Nguyen, C., Finlay, R.D. 2009. Carbon flow in the rhizosphere: Carbon trading at the soil-root interface. *Plant and Soil*, **321**: 5-33.
- Jury, W.A., Vaux Jr., H. 2005. The role of science in solving the world's emerging water problems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**: 15715-15720.
- Karabourniotis, G., Liakopoulos, G., Nikolopoulos, D., Bresta, P., Stavroulaki, V., Sumbele, S. 2014. "Carbon gain vs. water saving, growth vs. defence": Two dilemmas with soluble phenolics as a joker. *Plant Science*, **227**: 21-27.
- Karabourniotis, G., Tzobanoglou, D., Nikolopoulos, D., Liakopoulos, G. 2001. Epicuticular phenolics over guard cells: Exploitation for *in situ* stomatal counting by fluorescence microscopy and combined image analysis. *Annals of Botany*, **87**: 631-639.
- Karamanos, A.J., Drossopoulos, J.B., Niavis, C.A. 1983. Free proline accumulation during development of two wheat cultivars with water stress. *Journal of Agricultural Science*, **100**: 429-439.
- Karamanos, A.J., Papatheohari, A.Y. 1999. Crop ecology, production and management: Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of the water potential index. *Crop Science*, **39**: 1792-1797.
- Khan, T.A., Mazid, M., Mohammad, F. 2011. Status of secondary plant products under abiotic stress: an overview. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, **7**: 75-98.
- Kohli, A., Narciso, J.O., Miro, B., Raorane, M. 2012. Root proteases: Reinforced links between nitrogen uptake and mobilization and drought tolerance. *Physiologia Plantarum*, **145**: 165-179.
- Koricheva, J., Larsson, S., Haukioja, E., Keinänen, M. 1998. Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. *Oikos*, **83**: 212-226.
- Kouki, M., Manetas, Y. 2002. Resource availability affects differentially the levels of gallotannins and condensed tannins in *Ceratonia siliqua*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **30**: 631-639.
- Kováčik, J., Klejdus, B., Babula, P., Jarošová, M. 2014. Variation of antioxidants and secondary metabolites in nitrogen-deficient barley plants. *Journal of Plant Physiology*, **171**: 260-268.
- Kramer, E.M., Myers, D.R. 2013. Osmosis is not driven by water dilution. *Trends in Plant Science*, **18**: 195-197.

- Krčec, M., Slamka, P., Olšovská, K., Brestič, M., Benčíková, M. 2008. Reduction of drought stress effect in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) by nitrogen fertilization. *Plant, Soil and Environment*, **54**: 7-13.
- Kurepa, J., Smalle, J.A. 2008. Structure, function and regulation of plant proteasomes. *Biochimie*, **90**: 324-335.
- Kurepa, J., Wang, S., Li, Y., Zaitlin, D., Pierce, A.J., Smalle, J.A. 2009. Loss of 26S proteasome function leads to increased cell size and decreased cell number in *Arabidopsis* shoot organs. *Plant Physiology*, **150**: 178-189.
- Larsson, M. 1992. Translocation of nitrogen in osmotically stressed wheat seedlings. *Plant, Cell and Environment*, **15**: 447-453.
- Larsson, M., Larsson, C.-M., Whitford, P.N., Clarkson, D.T. 1989. Influence of osmotic stress on nitrate reductase activity in wheat (*Triticum aestivum* L.) and the role of abscisic acid. *Journal of Experimental Botany*, **40**: 1265-1271.
- Lawlor, D.W., Cornic, G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, **25**: 275-294.
- Lemaire, G., Recous, S., Mary, B. 2004. Managing residues and nitrogen in intensive cropping systems. New understanding for efficient recovery by crops, *In*: 4th International Crop Science Congress (Fischer, T., Turner, N.C., Angus, J.F., McIntyre, L., Robertson M.J., Borrell A., Lloyd D. eds.). The Regional Institute Ltd, Gosford, Brisbane, Australia.
- Li, Y., Gao, Y., Xu, X., Shen, Q., Guo, S. 2009. Light-saturated photosynthetic rate in high-nitrogen rice (*Oryza sativa* L.) leaves is related to chloroplastic CO₂ concentration. *Journal of Experimental Botany*, **60**: 2351-2360.
- Li, Y., Ren, B., Yang, X., Xu, G., Shen, Q., Guo, S. 2012. Chloroplast downsizing under nitrate nutrition restrained mesophyll conductance and photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) under drought conditions. *Plant and Cell Physiology*, **53**: 892-900.
- Llorens, L., Peñuelas, J., Estiarte, M. 2003. Ecophysiological responses of two Mediterranean shrubs, *Erica multiflora* and *Globularia alypum*, to experimentally drier and warmer conditions. *Physiologia Plantarum*, **119**: 231-243.
- Lo Gullo, M.A., Salleo, S., Piaceri, E.C., Rosso, R. 1995. Relations between vulnerability to xylem embolism and xylem conduit dimensions in young trees of *Quercus cerris*. *Plant, Cell and Environment*, **18**: 661-669.
- Marschner, H., Kirkby, E., Cakmak, I. 1996. Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. *Journal of Experimental Botany*, **47**: 1255-1263.
- Maseda, P.H., Fernández, R.J. 2006. Stay wet or else: three ways in which plants can adjust hydraulically to their environment. *Journal of Experimental Botany*, **57**: 3963-3977.
- Matzner, S.L., Richards, J.H. 1996. Sagebrush (*Artemisia tridentata* Nutt.) roots maintain nutrient uptake capacity under water stress. *Journal of Experimental Botany*, **47**: 1045-1056.
- McCain, D.C. 1995. Combined effects of light and water stress on chloroplast volume regulation. *Biophysical Journal*, **69**: 1105-1110.
- McDonald, A.J.S., Davies, W.J. 1996. Keeping in touch: Responses of the whole plant to deficits in water and nitrogen supply. *Advances in Botanical Research*, **22**: 229-300.
- McDowell, N.G. 2011. Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality. *Plant Physiology*, **155**: 1051-1059.
- Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*, **11**: 15-19.
- Muller, O., Oguchi, R., Hirose, T., Werger, M.J.A., Hikosaka, K. 2009. The leaf anatomy of a broad-leaved evergreen allows an increase in leaf nitrogen content in winter. *Physiologia Plantarum*, **136**: 299-309.
- Näsholm, T., Kielland, K., Ganeteg, U. 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist*, **182**: 31-48.
- Nicolas, M.E., Simpson, R.J., Lambers, H., Dalling, M.J. 1985. Effects of drought on partitioning of nitrogen in two wheat varieties differing in drought-tolerance. *Annals of Botany*, **55**: 743-754.
- Nielsen, D.C., Halvorson, A.D. 1991. Nitrogen fertility influence on water stress and yield of winter wheat. *Agronomy Journal*, **83**: 1065-1070.
- Novriyanti, E., Watanabe, M., Makoto, K., Takeda, T., Hashidoko, Y., Koike, T. 2012. Photosynthetic nitrogen and water use efficiency of acacia and eucalypt seedlings as afforestation species. *Photosynthetica*, **50**: 273-281.
- Onillon, B., Durand, J.-L., Gastal, F., Tournebize, R. 1995. Drought effects on growth and carbon partitioning in a tall fescue sward grown at different rates of nitrogen fertilization. *European Journal of Agronomy*, **4**: 91-99.
- Palta, J.A., Kobata, T., Turner, N.C., Fillery, I.R. 1994. Remobilization of carbon and nitrogen in wheat as influenced by postanthesis water deficits. *Crop Science*, **34**: 118-124.

- Papakosta, D.K., Garianas, A.A. 1991. Nitrogen and dry matter accumulation, remobilization, and losses for Mediterranean wheat during grain filling. *Agronomy Journal*, **83**: 864-870.
- Paungfoo-Lonhienne, C., Rentsch, D., Robatzek, S., Webb, R.I., Sagulenko, E., Näsholm, T., Schmidt, S., Lonhienne, T.G.A. 2010. Turning the table: Plants consume microbes as a source of nutrients. *PLoS ONE*, **5**: 7.
- Pinheiro, C., Chaves, M.M. 2011. Photosynthesis and drought: Can we make metabolic connections from available data? *Journal of Experimental Botany*, **62**: 869-882.
- Poorter, H., van de Vijver, C.A.D.M., Boot, R.G.A., Lambers, H. 1995. Growth and carbon economy of a fast-growing and a slow-growing grass species as dependent on nitrate supply. *Plant and Soil*, **171**: 217-227.
- Porporato, A., D'Odorico, P., Laio, F., Rodriguez-Iturbe, I. 2003. Hydrologic controls on soil carbon and nitrogen cycles. I. Modeling scheme. *Advances in Water Resources*, **26**: 45-58.
- Raven, J.A. 1985. Regulation of pH and generation of osmolarity in vascular plants: a cost-benefit analysis in relation to efficiency of use of energy, nitrogen and water. *New Phytologist*, **101**: 25-77.
- Rose, T.L., Bonneau, L., Der, C., Marty-Mazars, D., Marty, F. 2006. Starvation-induced expression of autophagy-related genes in *Arabidopsis*. *Biology of the Cell*, **98**: 53-67.
- Sack, L., Holbrook, N.M. 2006. Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology*, **57**: 361-381.
- Sadras, V.O., Richards, R.A. 2014. Improvement of crop yield in dry environments: Benchmarks, levels of organisation and the role of nitrogen. *Journal of Experimental Botany*, **65**: 1981-1995.
- Sánchez, E., Ruiz, J.M., Romero, L. 2002. Proline metabolism in response to nitrogen toxicity in fruit of French Bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv Strike). *Scientia Horticulturae*, **93**: 225-233.
- Saneoka, H., Moghaieb, R.E.A., Premachandra, G.S., Fujita, K. 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds.. *Environmental and Experimental Botany*, **52**: 131-138.
- Santakumari, M., Berkowitz, G.A. 1991. Chloroplast volume: cell water potential relationships and acclimation of photosynthesis to leaf water deficits. *Photosynthesis Research*, **28**: 9-20.
- Sato, T., Maekawa, S., Yasuda, S., Yamaguchi, J. 2011. Carbon and nitrogen metabolism regulated by the ubiquitin-proteasome system. *Plant Signaling and Behavior*, **6**: 1465-1468.
- Scheurwater, I., Koren, M., Lambers, H., Atkin, O.K. 2002. The contribution of roots and shoots to whole plant nitrate reduction in fast- and slow-growing grass species. *Journal of Experimental Botany*, **53**: 1635-1642.
- Schollander, P.F., Hammel, H.T., Hemmingsen, E.A., Bradstreet, E.D. 1964. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **52**: 119-125.
- Schulze, E.D., Kelliher, F.M., Korner, C., Lloyd, J., Leuning, R. 1994. Relationships among maximum stomatal conductance, ecosystem surface conductance, carbon assimilation rate, and plant nitrogen nutrition: A global ecology scaling exercise. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **25**: 629-660.
- Shao, R.-X., Chen, J.-H., Miao, F., Zhao, G.-W., Yang, Q.-H. 2013. Photosynthetic performance of *Triticum aestivum* L. in response to water and nitrogen deficit. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, **11**: 1252-1256.
- Sharma, P., Shanker Dubey, R. 2005. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: Role of osmolytes as enzyme protectant. *Journal of Plant Physiology*, **162**: 854-864.
- Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M., Ruth, T.J., Rufty Jr., T.W. 1990. Studies of the uptake of nitrate in barley: I. Kinetics of $^{13}\text{NO}_3^-$ influx. *Plant Physiology*, **93**: 1426-1432.
- Siefritz, F., Tyree, M.T., Lovisolo, C., Schubert, A., Kaldenhoff, R. 2002. PIP1 plasma membrane aquaporins in tobacco: From cellular effects to function in plants. *Plant Cell*, **14**: 869-876.
- Smolander, A., Barnette, L., Kitunen, V., Lumme, I. 2005. N and C transformations in long-term N-fertilized forest soils in response to seasonal drought. *Applied Soil Ecology*, **29**: 225-235.
- Steppe, K., Lemeur, R. 2007. Effects of ring-porous and diffuse-porous stem wood anatomy on the hydraulic parameters used in a water flow and storage model. *Tree Physiology*, **27**: 43-52.
- Stevens, C.J., Dise, N.B., Mountford, J.O., Gowing, D.J. 2004. Impact of nitrogen deposition on the species richness of grasslands. *Science*, **303**: 1876-1879.
- Stone, S.L. 2014. The role of ubiquitin and the 26S proteasome in plant abiotic stress signaling. *Frontiers in Plant Science*, **5**: 135-135.
- Szabados, L., Saviouré, A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, **15**: 89-97.

- Székely, G., Ábrahám, E., Cséplő, Á., Rigó, G., Zsigmond, L., Csiszár, J., Ayaydin, F., Strizhov, N., Jásik, J., Schmelzer, E., Koncz, C., Szabados, L. 2008. Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *Plant Journal*, **53**: 11-28.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2012. Φυσιολογία Φυτών (Taiz, L., Zeiger, E. (πρωτότυπο), Θάνος, Κ. (Ελληνική Μετάφραση) eds.). Utopia Publishing.
- Thomas, C., Davis, S.D., Tallman, G. 1991. Responses of stomata of senescing and nonsenescing leaves of *Nicotiana glauca* to changes in intercellular concentrations of leaf carbon dioxide. *Plant, Cell and Environment*, **14**: 971-978.
- Thomas, F.M., Schafellner, C. 1999. Effects of excess nitrogen and drought on the foliar concentrations of allelochemicals in young oaks (*Quercus robur* L. and *Q. petraea* [Matt.] Liebl.). *Journal of Applied Botany*, **73**: 222-227.
- Thompson, A.R., Doelling, J.H., Suttangkakul, A., Vierstra, R.D. 2005. Autophagic nutrient recycling in *Arabidopsis* directed by the ATG8 and ATG12 conjugation pathways. *Plant Physiology*, **138**: 2097-2110.
- Tombesi, S., Johnson, R.S., Day, K.R., Dejong, T.M. 2010. Relationships between xylem vessel characteristics, calculated axial hydraulic conductance and size-controlling capacity of peach rootstocks. *Annals of Botany*, **105**: 327-331.
- Tsukaya, H. 2008. Controlling size in multicellular organs: Focus on the leaf. *PLOS Biology*, **6**: 1373-1376.
- Tyree, M.T., Cochard, H. 2003. Vessel contents of leaves after excision: A test of the scholander assumption. *Journal of Experimental Botany*, **54**: 2133-2139.
- Tyree, M.T., Ewers, F.W. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody-plants. *New Phytologist*, **119**: 345-360.
- Vameralli, T., Saccomani, M., Bona, S., Mosca, G., Guarise, M., Ganis, A. 2003. A comparison of root characteristics in relation to nutrient and water stress in two maize hybrids. *Plant and Soil*, **255**: 157-167.
- van Keulen, H. 1981. Modelling the interaction of water and nitrogen. *Plant and Soil*, **58**: 205-229.
- Wang, W.-G., Li, R., Liu, B., Li, L., Wang, S.-H., Chen, F. 2011. Effects of low nitrogen and drought stresses on proline synthesis of *Jatropha curcas* seedling. *Acta Physiologiae Plantarum*, **33**: 1591-1595.
- Wang, Y., Zhang, X., Liu, X., Zhang, X., Shao, L., Sun, H., Chen, S. 2013. The effects of nitrogen supply and water regime on instantaneous WUE, time-integrated WUE and carbon isotope discrimination in winter wheat. *Field Crops Research*, **144**: 236-244.
- Waraich, E.A., Ahmad, R., Saifullah, Ahmad, A. 2011a. Water stress and nitrogen management effects on gas exchange, water relations, and water use efficiency in wheat. *Journal of Plant Nutrition*, **34**: 1867-1882.
- Waraich, E.A., Ahmad, R., Saifullah, Ashraf, M.Y., Ehsanullah 2011b. Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. *Australian Journal of Crop Science*, **5**: 764-777.
- Waterman, P.G., Mole, S. 1994. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Blackwell Science, Oxford.
- Wegner, L.H. 2014. Root pressure and beyond: Energetically uphill water transport into xylem vessels? *Journal of Experimental Botany*, **65**: 381-393.
- White, P. 2012a. Long-distance transport in the xylem and phloem, *In: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (Marschner, P. ed.). Academic Press, London, pp. 49-70.
- White, P. 2012b. Ion uptake mechanisms of individual cells and roots: Short-distance transport, *In: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (Marschner, P. ed.). Academic Press, London, pp. 7-47.
- Wilkinson, S., Bacon, M.A., Davies, W.J. 2007. Nitrate signalling to stomata and growing leaves: Interactions with soil drying, ABA, and xylem sap pH in maize. *Journal of Experimental Botany*, **58**: 1705-1716.
- Wiśniewski, K., Zagdańska, B. 2001. Genotype-dependent proteolytic response of spring wheat to water deficiency. *Journal of Experimental Botany*, **52**: 1455-1463.
- Witkowski, E.T.F., Lamont, B.B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*, **88**: 486-493.
- Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B.B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C. et al. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, **428**: 821-827.
- Wu, Y., Sharp, R.E., Durachko, D.M., Cosgrove, D.J. 1996. Growth maintenance of the maize primary root at low water potentials involves increases in cell-wall extension properties, expansin activity, and wall susceptibility to expansins. *Plant Physiology*, **111**: 765-772.
- Xu, Z., Zhou, G. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with

- photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany*, **59**: 3317-3325.
- Yin, C., Pang, X., Chen, K., Gong, R., Xu, G., Wang, X. 2012. The water adaptability of *Jatropha curcas* is modulated by soil nitrogen availability. *Biomass and Bioenergy*, **47**: 71-81.
- Yoo, C.Y., Pence, H.E., Hasegawa, P.M., Mickelbart, M.V. 2009. Regulation of transpiration to improve crop water use. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **28**: 410-431.
- Zadoks, J.C., Chang, T.T., Konzak, C.F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, **14**: 415-421.
- Zhang, L.H., Shao, H.B., Ye, G.F., Lin, Y.M. 2012a. Effects of fertilization and drought stress on tannin biosynthesis of *Casuarina equisetifolia* seedlings branchlets. *Acta Physiologiae Plantarum*, **34**: 1639-1649.
- Zhang, L.X., Li, S.Q., Li, S.X., Liang, Z.S. 2012b. How does nitrogen application ameliorate negative effects of long-term drought in two maize cultivars in relation to plant growth, water status, and nitrogen metabolism? *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **43**: 1632-1646.
- Zhao, C., Liu, Q. 2009. Growth and physiological responses of *Picea asperata* seedlings to elevated temperature and to nitrogen fertilization. *Acta Physiologiae Plantarum*, **31**: 163-173.
- Zhou, X., Zhang, Y., Ji, X., Alison, D., Serpe, M. 2011. Combined effects of nitrogen deposition and water stress on growth and physiological responses of two annual desert plants in northwestern China. *Environmental and Experimental Botany*, **74**: 1-8.
- Zwieniecki, M.A., Melcher, P.J., Holbrook, N.M. 2001. Hydrogel control of xylem hydraulic resistance in plants. *Science*, **291**: 1059-1062.
- Καραμάνος, Α.Ι. 1994. Τα σιτηρά των ευκρατών κλιμάτων. Ελληνική Λιθογραφία, Αθήνα.
- Καραμπουρνιώτης, Γ., Λιακόπουλος, Γ., Νικολόπουλος, Δ. 2012. Φυσιολογία Καταπονήσεων των Φυτών: Οι λειτουργίες των Φυτών Κάτω Από Αντίξοες Συνθήκες του Περιβάλλοντος. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.
- Μανέτας, Ι. 2003. Πρόσληψη και μεταφορά νερού, *Εντός: Φυσιολογία Φυτών: Από το Μόριο στο Περιβάλλον* (Κ.Α. Ρουμπελάκη-Αγγελάκη *ed.*). Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, pp. 40-98.
- Στρατηλάκης, Σ., Γκόγκας, Δ., Κοτζαπαυλίδου, Κ., Χατζηλάμπρου-Βεζιργιανίδου, Κ., Ξυνιάς, Ι. 1991. Τα χειμωνιάτικα σιτηρά, *Εντός: Οι Ελληνικές ποικιλίες σιτηρών και η καλλιέργειά τους* (Γκόγκας, Δ. *ed.*). Γενική Διεύθυνση Γεωργικών Εφαρμογών και Έρευνας, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Ινστιτούτο Σιτηρών, pp. 15-96.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

