

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

**Σχέσεις δομής-λειτουργίας κατά τον εγκλιματισμό
διαφορετικών γονοτύπων κριθαριού (*Hordeum vulgare* L.)
σε παρατεταμένη υδατική καταπόνηση**

ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ Σ. ΜΠΡΕΣΤΑ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Επιβλέπων καθηγητής: Γεώργιος Καραμπουρνιώτης

ΑΘΗΝΑ 2013

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ**

**«Σχέσεις δομής-λειτουργίας κατά τον εγκλιματισμό
διαφορετικών γονοτύπων κριθαριού (*Hordeum vulgare* L.)
σε παρατεταμένη υδατική καταπόνηση»**

**ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ Σ. ΜΠΡΕΣΤΑ
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2013

'' Η έγκριση της παρούσης διδακτορικής διατριβής υπό του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώσεων του συγγραφέως ''
(Νόμος 5343/1932, άρθρο 202)

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Σχέσεις δομής-λειτουργίας κατά τον εγκλιματισμό διαφορετικών γονοτύπων κριθαριού (Hordeum vulgare L.) σε παρατεταμένη υδατική καταπόνηση»

ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ Σ. ΜΠΡΕΣΤΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ

Το θέμα της παρούσας διδακτορικής διατριβής εγκρίθηκε (Συνεδρία 9η/22-3-2010) και τροποποιήθηκε (Συνεδρία 17η/18-5-2011) με απόφαση της Γενικής Συνέλευσης Ειδικής Σύνοψης (ΓΣΕΣ) του Τμήματος Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γ. Καραμπουρνιώτης, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)
Κ.Φασσέας, Καθηγητής ΓΠΑ (μέλος)
Γ. Λιακόπουλος, Λέκτορας ΓΠΑ (μέλος)

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γ. Καραμπουρνιώτης, Καθηγητής Γ.Π.Α.
Α.Μ. Καραμάνος, Καθηγητής Γ.Π.Α.
Κ. Φασσέας, Καθηγητής Γ.Π.Α.
Δ. Μπουράνης, Καθηγητής Γ.Π.Α.
Γ. Αϊβαλάκης, Αν. Καθηγητής Γ.Π.Α.
Γ. Οικονόμου, Αν. Καθηγήτρια Γ.Π.Α.
Γ. Λιακόπουλος, Λέκτορας Γ.Π.Α.



Η Εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής υποστηρίχθηκε οικονομικά από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών.

Περίληψη

Η παρατεταμένη και σταδιακή έλλειψη νερού, όπως συμβαίνει σε φυσικές συνθήκες κατά της περιόδους ξηρασίας, επιφέρει την ενεργοποίηση μηχανισμών εγκλιματισμού από τους οποίους εξαρτάται τελικά η επιβίωση του φυτικού οργανισμού. Παράμετροι οι οποίες καθορίζουν την ικανότητα εγκλιματισμού αποτελούν βασικά κριτήρια επιλογής σε μελέτες βελτίωσης. Σε προηγούμενη αντίστοιχη μελέτη σχετική με τον εγκλιματισμό γονοτύπων σιταριού στην υδατική καταπόνηση (Bresta et al., 2011), προέκυψαν ισχυρές ενδείξεις ότι μια σημαντική παράμετρο της διαδικασίας εγκλιματισμού αποτελεί η σμίκρυνση των κυτταρικών, και πιθανόν και των υποκυτταρικών δομών, των φύλλων ώστε να αντιμετωπιστεί η έλλειψη νερού. Παρότι αποτελεί μία εντυπωσιακή αντίδραση, ελάχιστες εργασίες στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται σε αυτήν και συνήθως οι αναφορές είναι αποσπασματικές. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, διαμορφώθηκε υπόθεση εργασίας, σύμφωνα με την οποία ο μακροπρόθεσμος εγκλιματισμός του κριθαριού σε συνθήκες παρατεταμένης ξηρασίας περιλαμβάνει μια γενικευμένη συρρίκνωση κυτταρικών και υποκυτταρικών δομών των φύλλων με στόχο την αποτελεσματικότερη διαχείριση του νερού. Με τις γενικευμένες αυτές δομικές μεταβολές ευθυγραμμίζονται και όλες οι λειτουργίες των φύλλων (συμπεριλαμβανομένου του δευτερογενούς μεταβολισμού) με στόχο τελικά την επιβίωση του φυτού στις αντίξοες συνθήκες.

Προκειμένου να επαληθευτεί η υπόθεση εργασίας επιλέχθηκαν 3 γονότυποι κριθαριού (*Hordeum vulgare* L.) η ποικιλία Αθηναΐδα, η ποικιλία Τριπτόλεμος και ο βελτιωμένος πληθυσμός Σίμου, με διακριτά μορφολογικά και αναπτυξιακά χαρακτηριστικά, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε τέσσερις μεταχειρίσεις άρδευσης και προσδιορίστηκε πλήθος δομικών, φυσιολογικών και βιοχημικών παραμέτρων του φύλλου.

Σύμφωνα με τα δεδομένα της παρούσας διατριβής σε συνθήκες έλλειψης νερού τα φύλλα των εγκλιματισμένων φύλλων διαθέτουν μικρότερη επιφάνεια, μεγαλύτερη πυκνότητα, στενότερα και πυκνότερα αγγεία καθώς και μικρότερα και πυκνότερα στομάτια. Αυτές οι δομικές μεταβολές επιφέρουν δραματικές αλλαγές και στη λειτουργία των φύλλων. Υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης παρατηρήθηκε δραματική μείωση του ρυθμού ανταλλαγής αερίων, μείωση του συνολικού περιεχόμενου σε N και αύξηση της συγκεντρωσης προλίνης και των δευτερογενών μεταβολιτών. Η ένταση των μεταβολών εξαρτάται από τον γονότυπο.

Για τον ενδελεχή έλεγχο της υπόθεσης μιας γενικευμένης συρρίκνωσης των δομών σε επίπεδο οργάνου, ιστών, κυττάρων αλλά και σε υποκυτταρικό επίπεδο, επελέγη η ποικιλία Τριπτόλεμος, δεδομένου ότι ο γονότυπος αυτός εμφάνισε την μεγαλύτερη πλαστικότητα μεταξύ των τριών υπό μελέτη γονοτύπων και μελετήθηκε πλήθος ανατομικών παραμέτρων με τη βοήθεια της Οπτικής και Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανατομικής μελέτης του γονότυπου Τριπτόλεμου, υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης η δραματική μείωση της επιφάνειας του φύλλου οφείλεται στη γενικευμένη σμίκρυνση των κυττάρων όλων των ιστών του φύλλου. Η έλλειψη νερού προκάλεσε μείωση του μεγέθους

των κυττάρων του μεσόφυλλου, της επιδερμίδας, του αγωγού ιστού, των στομάτων και αύξηση του πάχους των κυτταρικών τοιχωμάτων του μεσόφυλλου και της εφυμενίδας. Τα κύτταρα των καταπονημένων φυτών τείνουν να έχουν σφαιρικό σχήμα σε αντίθεση με το τυπικό λοβοειδές σχήμα των κυττάρων υπό συνθήκες επάρκειας νερού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανατομικής μελέτης των υποκυτταρικών δομών, η υδατική καταπόνηση προκάλεσε σημαντική μείωση στην επιφάνεια των χλωροπλαστών και των μιτοχονδρίων και αλλαγές στη δομή των χλωροπλαστών (διόγκωση, πυκνότερα grana και θυλακοειδή των grana, μερική συντήρηση των μεμβρανών, ύπαρξη αμυλόκοκκων κ.τ.λ.). Τέλος στα φύλλα των καταπονημένων φυτών παρατηρήθηκε η δημιουργία προεκτάσεων στους χλωροπλάστες.

Συνοψίζοντας, η παρούσα μελέτη παρουσίασε πειραματικά δεδομένα που αφορούν στη σχέση δομής-λειτουργίας των κυττάρων σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, παρέχοντας ισχυρές ενδείξεις για επέκταση των σχέσεων αυτών και στο υπομικροσκοπικό επίπεδο. Φαίνεται ότι η υδατική καταπόνηση προκαλεί αναγκαστικές μεταβολές στη δομή των κυττάρων προκειμένου να εξοικονομηθεί νερό και να ελαχιστοποιηθούν οι απώλειες. Οι μεταβολές αυτές στη δομή επηρεάζουν αναπόφευκτα και το μεταβολισμό, με κύρια συνέπεια την έλλειψη αζώτου στα φωτοσυνθετικά κύτταρα, τα οποία εξαναγκάζονται να δημιουργήσουν φωτοσυνθετικά οργανίδια μικρότερου μεγέθους ή/και να αποδομήσουν τα ήδη σχηματισθέντα οργανίδια προκειμένου να εξευρεθεί άζωτο.

Summary

Prolonged and progressive water deficit, frequently met by plants under natural conditions during extended periods of drought, causes the activation of long term acclimating mechanisms which are crucial for the survival of the plant. Parameters that determine the acclimating ability are essential criteria in studies of genetic breeding. The results of a previous similar study concerning long term acclimation processes of wheat genotypes under water stress (Bresta *et al.*, 2011) strongly indicated that the shrinkage of the cells and possibly of the subcellular structures is an important parameter of the leaf acclimation process in order to confront water shortage. Although this constitutes an impressive response, there are only a few and scattered references in the literature. Considering the above, we tested the working hypothesis that long-term drought acclimation of barley includes a generalized contraction of cellular and subcellular structures of leaves aiming to a more efficient water management. All leaf functions (including secondary metabolism) are aligned with the generalized structural changes aiming to the plant survival under these adverse conditions.

For the verification of the hypothesis three genotypes of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivar Athinaida, cultivar Triptolemos and genetically improved landrace Simou, with distinct morphological and developmental features were selected. The three genotypes were subjected to different degrees of water shortage, whereas increasing levels of water shortage were induced by increasing the distance from the water source. A plethora of leaf structural, physiological and biochemical parameters were examined.

The results showed that drought acclimated leaves were smaller and denser while they possessed narrower and thicker vessels as well as smaller and denser stomata. These structural modifications lead to dramatic changes in leaf function. Under water stress a dramatic reduction in gas exchange rate and total content of leaf N was observed, whereas the concentration of proline and secondary metabolites were increased. The intensity of the changes depends on the genotype.

In order to scrutinize the hypothesis of a generalized contraction of leaf structures at the organ, tissue, cell and subcellular level, cultivar Triptolemos was selected due to its greatest plasticity among the three examined genotypes. An assiduous anatomical study was carried out using Optical and Electron Microscopy techniques. According to the results, under water stress conditions the dramatic reduction of the leaf area was ascribed to the generalized cell contraction of all leaf tissues. Water deficit caused a size reduction of the mesophyll and epidermal cells, xylem elements, stomata and an increase in the thickness of the mesophyll cell wall and the cuticle. Leaf cells of water stressed plants tended to have a spherical shape in contrast to the typical lobed shape of cells under water availability conditions. Moreover, water shortage caused a significant reduction in the area of the mitochondria and chloroplasts, as well as structural modifications of chloroplasts (swelling, denser grana and

thylakoids, partial conservation of the membranes, occurrence of starch granules, etc.). Lastly, chloroplast protrusions were observed in water stressed plants.

Summarising, this study showed experimental data relating to the structure-function relationship of cells under drought conditions, providing strong evidence for expansion of these relationships at the submicroscopic level. It appears that water stress causes forced changes in the cell structure in order to save water and minimize water losses. These structural changes inevitably affect the metabolism, resulting to nitrogen deficit in photosynthetic cells, which are thereby forced to create smaller photosynthetic organelles and / or to degrade the already formed ones in order to retrieve nitrogen.

Περιεχόμενα

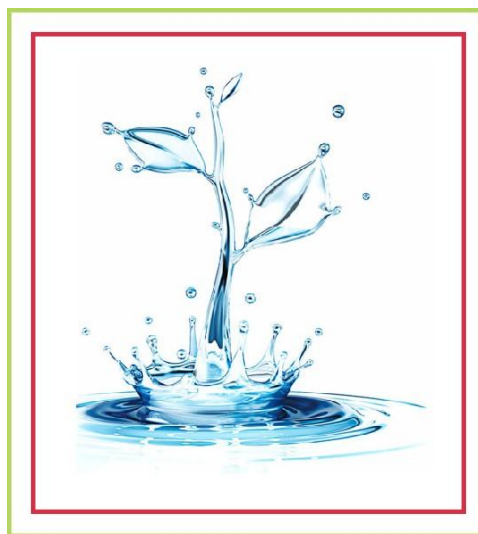
Περιεχόμενα	6
A. Εισαγωγή	10
A.1. Το Νερό στη Ζωή των Φυτών	10
A.2. Δομή και Ιδιότητες του Νερού	11
A.2.1. Το μόριο του νερού συμπεριφέρεται ως δίπολο	11
A.2.2. Το νερό είναι εξαιρετικός διαλύτης	11
A.2.3. Το νερό διαθέτει υψηλή ειδική θερμότητα και λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης	12
A.2.4. Το νερό παρουσιάζει υψηλά σημεία πήξης και βρασμού.	12
A.2.5. Το νερό παρουσιάζει υψηλή συνοχή και συνάφεια	13
A.2.6. Το νερό χαρακτηρίζεται ως ασυμπίεστο και παρουσιάζει υψηλή τάση εφελκυσμού	13
A.2.7. Το νερό είναι διαφανές	14
A.2.8. Το νερό λαμβάνει μέρος σε πολυάριθμες βιοχημικές αντιδράσεις.....	14
A.3. Μηχανισμοί μετακίνησης του νερού	14
A.3.1. Διάχυση: Η αυθόρμητη μεταφορά μορίων κατά μήκος μιας διαβάθμισης συγκεντρώσεων εξαιτίας τυχαίων θερμικών διαταραχών.	14
A.3.2. Μαζική ροή: Ο μηχανισμός μαζικής μετακίνησης νερού σε μεγάλες αποστάσεις εντός του φυτού.	15
A.3.3. Όσμωση: Η ειδική περίπτωση διάχυσης δια μέσου επιλεκτικά ημιπερατών μεμβρανών.....	16
A.4. Το δυναμικό του νερού.....	16
A.4.1. Το δυναμικό του νερού στα φυτικά κύτταρα	17
A.4.2. Ο προσδιορισμός του δυναμικού του νερού αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για τη κατανόηση των υδατικών σχέσεων των φυτικών οργανισμών.....	18
A.5. Η πορεία του νερού: το Συνεχές Έδαφος- Φυτό- Ατμόσφαιρα	19
A.5.1. Το νερό στο έδαφος	19
A.5.2. Η πρόσληψη νερού από τη ρίζα.....	20
A.5.3. Η μετακίνηση του νερού στα αγγεία	22
A.5.4. Φύλλο: ο τελικός προορισμός και η πύλη διαφυγής του νερού στην ατμόσφαιρα	24
A.6. Η δομή των φύλλων.....	25
A.7. Η λειτουργία των φύλλων	28
A.7.1. Διαπνοή: η κίνηση του νερού από το φύλλο στην ατμόσφαιρα	28
A.7.2. Παράγοντες που επιδρούν στην ταχύτητα διαπνοής	29
A.7.3. Η λειτουργία της φωτοσύνθεσης ολοκληρώνεται σε δύο φάσεις.....	33
A.8. Υδατική καταπόνηση	40
A.8.1. Στρατηγικές αντιμετώπισης της υδατικής καταπόνησης.....	41
A.8.2. Εγκλιματισμός στην υδατική καταπόνηση	44
A.9. Το κριθάρι (<i>Hordeum vulgare</i> L.).....	49
B. Υλικά και Μέθοδοι	53
B.1. Φυτικό υλικό και τοποθεσία δειγματοληψίας	53
B. 2. Πειραματικός σχεδιασμός.....	53
B.3. Μετρήσεις Πεδίου - Δειγματοληψίες.....	54
B.4. Μετρήσεις δυναμικού του νερού Ψ_w του φύλλου και υπολογισμός του δείκτη υδατικού δυναμικού (WPI).	54
B.5. Μορφολογικές και Ανατομικές Παράμετροι.....	55
B.5.1. Μέτρηση Πάχους Φύλλου (LT)	55
B.5.2. Μέτρηση συνολικής επιφάνειας (TLS) και ξηρού βάρους φύλλου – Υπολογισμός μάζας ανά φυλλική επιφάνεια (LMA)	55
B.5.3. Υπολογισμός Πυκνότητας φύλλου (LD).....	55
B.5.4. Μέτρηση Πυκνότητας (SD) και Μήκους Στοματίων (SL)	55
B.5.5. Μέτρηση διαμέτρου αγγείων αγωγού ιστού (SVD, MVD)	56
B.5.6. Υπολογισμός πυκνότητας νευρώσεων ανά φύλλο (VD).....	56
B.5.7. Υπολογισμός υδραυλικής αγωγιμότητας των αγγείων του φύλλου (k_{hp})	56
B.6. Φωτοσυνθετικές παράμετροι	57
B.6.1. Υπολογισμός Συγκέντρωσης Χλωροφυλλών (Chl)	57
B.6.2. Μέτρηση φωτοσυνθετικής ικανότητας & συναφών παραμέτρων	57
B.7. Βιοχημικές παράμετροι	58
B.7.1. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικού αζώτου ανά μάζα (N_m) και ανά επιφάνεια (N_a)	58
Προετοιμασία δειγμάτων.....	58

Καύση δειγμάτων	58
Στάδιο απόσταξης.....	58
Τιτλοδότηση δειγμάτων	59
Υπολογισμός περιεχόμενου αζώτου	59
B.7.2. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικών φαινολικών (Ph_m)	59
Αντίδραση	59
B.7.3. Υπολογισμός συγκέντρωσης συμπυκνωμένων ταννινών (CT_m)	60
Εκχύλιση.....	60
Προετοιμασία αντιδραστηρίου βουτανόλης.....	60
Αντίδραση	60
B.7.4 Υπολογισμός συγκέντρωσης προλίνης (Pr_m)	60
B.8. Οπτική και Ηλεκτρονική Μικροσκοπία	61
B.8.1. Προετοιμασία παρασκευασμάτων για παρατήρηση με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης και ημίλεπτων τομών με το οπτικό μικροσκόπιο	61
B.8.2. Τμήση τομών και χρώση μονιμοποιημένων παρασκευασμάτων	62
B.8.2.1. Οπτικό Μικροσκόπιο (Ο.Π.)	62
B.8.2.2. Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διέλευσης (Η.Μ.Δ.).....	62
B.8.3. Ανατομικές Μετρήσεις.....	63
B.8.3.1. Οπτικό Μικροσκόπιο (Ο.Π.)	63
B.8.3.1. Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διέλευσης (Η.Μ.Δ.).....	63
B.9. Στατιστική Ανάλυση	64
A' Μέρος	64
B' Μέρος	64
Σκοπός της εργασίας	65
A' ΜΕΡΟΣ.....	67
Γ.1. Μορφολογικές παράμετροι	67
Γ.1.1. Συνολική επιφάνεια του φύλλου (TLS)	67
Γ.1.2. Μάζα ανά φυλλική επιφάνεια (LMA)	67
Γ.1.3. Πυκνότητα φύλλου (LD)	68
Γ.2. Ανατομικές παράμετροι.....	68
Γ.2.1. Διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης (MVD) και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SVD) του φύλλου	68
Γ.2.2. Συνολική υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων του φύλλου (k_{hp})	68
Γ.2.3. Πυκνότητα νευρώσεων ανά φύλλο (VD)	69
Γ.2.4. Χαρακτηριστικά των στοματίων	69
Γ.3. Φυσιολογικές παράμετροι.....	71
Γ.3.1. Ο δείκτης υδατικού δυναμικού	71
Γ.3.2. Μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μάζα ($A_{max,m}$).....	71
Γ.3.3. Διαπνοή (E).....	71
Γ.3.4. Στοματική αγωγιμότητα (g_s)	71
Γ.3.5. Αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE_i)	72
Γ.3.6. Αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (PNUE).	72
Γ.4. Βιοχημικές παράμετροι.....	72
Γ.4.1. Συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά μάζα (N_m).....	72
Γ.4.2. Συνολική συγκέντρωση προλίνης ανά μάζα (Pr_m).....	73
Γ.4.3. Συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών ανά μάζα (Ph_m)	73
Γ.4. 4. Συγκέντρωση συμπυκνωμένων ταννινών ανά μάζα (CT_m)	74
Γ.6. Ανάλυση κυρίων συνιστωσών (PCA).....	75
B' ΜΕΡΟΣ:	79
Γ.7. Ανατομική μελέτη.....	79
Συζήτηση	84
Βιβλιογραφία	95
Παράρτημα.....	111

A.Εισαγωγή

A.1. Το Νερό στη Ζωή των Φυτών

Η ζωή στο πλανήτη οφείλει τη δημιουργία της στην ύπαρξη νερού. Το νερό όχι μόνο αποτελεί το πλέον βασικό συστατικό για την ανάπτυξη και λειτουργία των οργανισμών, αλλά και το αφθονότερο συστατικό των κυττάρων (Fitter and Hay, 2002). Οι φυτικοί οργανισμοί ακολουθούν και αυτοί τον κανόνα, αφού η περιεκτικότητα σε νερό των μη ξυλοποιημένων ιστών και οργάνων των περισσότερων καλλιεργούμενων φυτών κυμαίνεται μεταξύ 90-95%. (Αιβαλάκης κ.α., 2003). Το περιεχόμενο νερό των φυτικών κυττάρων, παρότι παραμένει



σχετικά σταθερό, ανανεώνεται συνεχώς μέσω της λειτουργίας της διαπνοής. Το νερό προσλαμβάνεται από το έδαφος και μέσω της ρίζας και του βλαστού μεταφέρεται προς τα υπέργεια όργανα για να εξατμισθεί στη συνέχεια από τα φύλλα. Συγχρόνως μέσω της μετακίνησης αυτής μεταφέρονται ανόργανες και οργανικές ουσίες από τα σημεία προσφοράς προς τα σημεία ζήτησης. Κατά τη διάρκεια του βιολογικού του κύκλου ένα ετήσιο φυτό απελευθερώνει στην ατμόσφαιρα κυρίως μέσω των στομάτων των φύλλων ποσότητα νερού που μπορεί να ισοδυναμεί με αρκετές χιλιάδες φορές το βάρος του (Γαλάτης κ.α., 2003). Παρά το γεγονός ότι η διαπνοή εμπεριέχει τον κίνδυνο της αφυδάτωσης των φυτικών ιστών, θεωρείται αναπόφευκτη συνέπεια της ανάγκης αφομοίωσης του CO₂ της ατμόσφαιρας μέσω της φωτοσύνθεσης (Hsiao, 1982; von Caemmerer, 2007; Taiz and Zeiger, 2012). Τα φυτά αντιμετωπίζουν συνεχώς το δίλλημα: ανοικτά στόματα (απρόσκοπτη φωτοσύνθεση, αλλά έντονες απώλειες νερού και επομένως κίνδυνος αφυδάτωσης) ή κλειστά στόματα (διαφύλαξη αποθεμάτων νερού, αλλά αδυναμία αφομοίωσης CO₂ και επομένως καταστολή της ανάπτυξης);

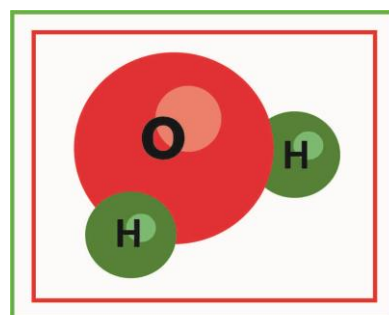
Το δίλλημα των φυτών ταλανίζει συνεχώς και τον άνθρωπο-καλλιεργητή. Η καλλιέργεια φυτικών ειδών εκτός του φυσιολογικού τους περιβάλλοντος αντιμετωπίζεται με την άρδευση η οποία αποτελεί την πλέον πολυδάπανη από πλευράς χρήσης νερού δραστηριότητα του σύγχρονου ανθρώπου. Ωστόσο η διαθεσιμότητα νερού δεν καθορίζει μόνο την αγροτική παραγωγή, αλλά και την πρωτογενή παραγωγικότητα των φυσικών οικοσυστημάτων. Λόγω της ανισοκατανομής των βροχοπτώσεων στις διαφορετικές περιοχές του πλανήτη καταγράφονται σημαντικές διαφορές τόσο στη χλωρίδα όσο και στη βλάστηση (Kramer and Boyer, 1995).

A.2. Δομή και Ιδιότητες του Νερού

Όπως προαναφέρθηκε το νερό αποτελεί αναπόσπαστο και αναντικατάστατο συστατικό των φυτικών οργανισμών, συνεπώς η ύπαρξη ζωής είναι αδιανόητη απουσία νερού. Ο κυρίαρχος αυτός ρόλος του νερού αποδίδεται στις ιδιόμορφες φυσικοχημικές ιδιότητες του μορίου του, οι οποίες του επιτρέπουν να δρα ως διαλύτης σε ευρεία κλίμακα και να μπορεί να μετακινείται δια μέσου του φυτικού σώματος.

A.2.1. Το μόριο του νερού συμπεριφέρεται ως δίπολο

Το μόριο του νερού αποτελείται από ένα άτομο οξυγόνου συνδεδεμένο με δύο άτομα υδρογόνου (Εικόνα 1). Το μόριο έχει σχετικά μικρές διαστάσεις, αλλά δεν είναι γραμμικό. Το άτομο του οξυγόνου είναι περισσότερο ηλεκτροαρνητικό από τα άτομα του υδρογόνου με αποτέλεσμα να τείνει να έλκει τα ηλεκτρόνια της περιοχής σύνδεσης, δημιουργώντας ένα μερικώς αρνητικό φορτίο στο άκρο του μορίου, στη θέση την οποία καταλαμβάνει το οξυγόνο και μερικώς θετικό φορτίο σε κάθε άτομο υδρογόνου. Ο μερικός διαχωρισμός του φορτίου και το σχήμα του μορίου (οι ενδομοριακοί ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ του Ο και του Η σχηματίζουν μεταξύ τους γωνία 105°) έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός μορίου που συμπεριφέρεται ως δίπολο. Ωστόσο το μόριο αυτό είναι ηλεκτρικά ουδέτερο επειδή τα μερικά φορτία είναι ίσα.



Εικόνα 1. Το μόριο του νερού

Η διάταξη του μορίου είναι τετραεδρική: σε δύο περιοχές βρίσκονται τα άτομα υδρογόνου (καθέ ένα έχει ένα μερικώς θετικό φορτίο) και στις άλλες δύο περιοχές υπάρχουν μονήρη ζεύγη ηλεκτρονίων (κάθε ένα αρνητικά φορτισμένο). Με αυτόν τον τρόπο δημιουργούνται δύο θετικοί και δύο αρνητικοί πόλοι. Τα αντίθετα μερικά φορτία στα δύο άκρα του μορίου δημιουργούν ηλεκτροστατική έλξη μεταξύ των όμορων μορίων νερού σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου. Οι δεσμοί αυτοί είναι αρκετά ασθενικοί για να προκαλέσουν μία μόνιμη ή ισχυρή προσέγγιση των μορίων του νερού, αλλά και αρκούντως ισχυροί ώστε να είναι υπεύθυνοι για μία σειρά από ασυνήθιστες φυσικές ιδιότητες του νερού.

A.2.2. Το νερό είναι εξαιρετικός διαλύτης

Λόγω της συμπεριφοράς του ως διπόλου, το μόριο του νερού αποτελεί εξαιρετικό διαλύτη πολικών ενώσεων μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται τα άλατα, τα μόρια των οποίων δίστανται σε ιόντα όταν διαλύονται στο νερό. Αποτελεί επίσης και έναν εξίσου αποτελεσματικό διαλύτη και πολλών μη ιοντικών ενώσεων, π.χ. σακχάρων, απλών αλκοολών και πρωτεϊνών, των οποίων τα μόρια διαθέτουν πολικές ομάδες όπως την $-OH$ ή $-NH_2$. Τα φορτισμένα ιόντα ή ομάδες των οργανικών ενώσεων περιβάλλονται από τα δίπολα του νερού

τα οποία εμποδίζουν την ανάπτυξη ηλεκτροστατικών δυνάμεων με αποτέλεσμα αυτά να παραμένουν σε διαλυμένη μορφή και να κινούνται πλέον ελεύθερα και συνεπώς να ευνοείται η διεξαγωγή των αντιδράσεων. Αντιθέτως, μη πολικές ενώσεις, όπως τα λιπίδια, δεν διαλύονται στο νερό και μπορούν να συμβάλλουν στη διαμερισματοποίηση του κυττάρου σχηματίζοντας μεμβράνες. Μη πολικά τμήματα μορίων τα οποία απωθούνται από το νερό χαρακτηρίζονται ως υδρόφοβα και συνήθως σε υδάτινο περιβάλλον συγκροτούν συσσωματώματα με τη μορφή σταγονιδίων. Τέτοιου είδους υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις αποτελούν τον κρίσιμο παράγοντα για τη διατήρηση της δομής και σταθερότητας των μεμβρανών, πολλών πρωτεϊνικών μορίων, νουκλεϊκών οξέων και άλλων υποκυτταρικών δομών.

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

Ειδική θερμότητα είναι η θερμότητα που απαιτείται για την άνοδο της θερμοκρασίας ενός χιλιόγραμμου ουσίας κατά 1°C . Δεδομένου ότι η θερμοκρασία αποτελεί μέτρο της κινητικής ενέργειας των μορίων, επομένως όταν η θερμοκρασία του υλικού αυξάνεται, τα μόρια πάλλονται σε μεγαλύτερο εύρος. Στη περίπτωση του νερού η κινητικότητα αυτή περιορίζεται, λόγω της ύπαρξης των δεσμών υδρογόνου οι οποίοι απορροφούν μέρος της θερμότητας με αποτέλεσμα τη μείωση της διαθέσιμης ενέργειας η οποία συμβάλλει στην αύξηση της κινητικότητας των μορίων. Κατά συνέπεια, σε σύγκριση με άλλα υγρά, το νερό απαιτεί σημαντικά υψηλότερες ποσότητες θερμότητας για την άνοδο της θερμοκρασίας του, παρουσιάζει δηλαδή υψηλή θερμοχωρητικότητα. Το φαινόμενο αυτό είναι καθοριστικό για τη ζωή των φυτών εφόσον συντελεί στην άμβλυνση των διακυμάνσεων της θερμοκρασίας.

Ένα ακόμη σημαντικό χαρακτηριστικό του μορίου του νερού αποτελεί και η υψηλή λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης, η οποία ορίζεται ως η ενέργεια η οποία απαιτείται για την απόσπαση των μορίων από την υγρή φάση και τη μετακίνησή τους στην αέρια φάση, διαδικασία η οποία λαμβάνει χώρα κατά τη διαπνοή. Η λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης του νερού στους 25°C ανέρχεται σε 44 kJ mol^{-1} και αποτελεί την υψηλότερη καταγεγραμμένη τιμή μεταξύ όλων των υγρών. Και αυτή η ιδιότητα σχετίζεται με την ύπαρξη δεσμών υδρογόνου στο μόριο του νερού, αφού απαιτούνται σημαντικά ποσά θερμότητας προκειμένου να σπάσουν οι δεσμοί αυτοί. Η θερμότητα αυτή απορροφάται από το περιβάλλον, με συνέπεια να ελαττώνεται η θερμοκρασία της επιφάνειας εξάτμισης. Το χαρακτηριστικό αυτό ευθύνεται για τη ψύξη των φύλλων κατά τη διαπνοή και την αποφυγή της υπερθέρμανσης του ελάσματος εξαιτίας της προσπίπτουσας ηλιακής ακτινοβολίας.

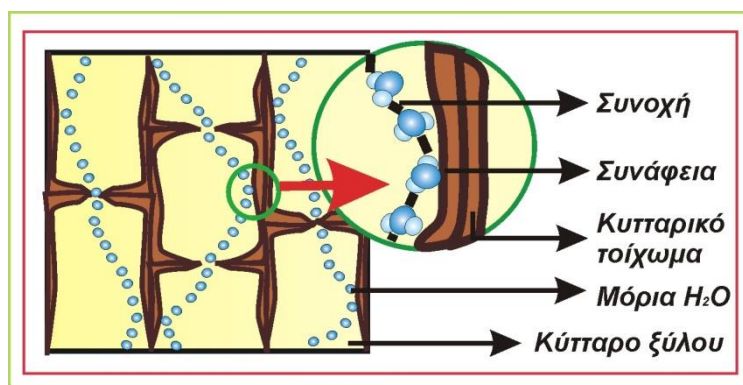
A.2.4. Το νερό παρουσιάζει υψηλά σημεία πήξης και βρασμού.

Στις περισσότερες περιπτώσεις, όσο χαμηλότερο μοριακό βάρος έχει μία ουσία τόσο αυξάνεται η πιθανότητα η ουσία αυτή να βρίσκεται σε αέρια φάση υπό κανονικές συνθήκες. Μόρια με

δομή και μέγεθος παρόμοια εκείνων του νερού, όπως τα CO_2 , SO_2 , CH_4 κ.λ.π., στις συνήθεις θερμοκρασίες απαντώνται στην αέρια φάση λόγω των ασθενών μοριακών δυνάμεων συγκράτησης. Αντίθετα το νερό παρουσιάζει διαφορετική συμπεριφορά λόγω της ύπαρξης των δεσμών υδρογόνου στο μόριό του. Στο γεγονός ότι το νερό παραμένει σε υγρή φάση σε ένα εύρος ήπιων θερμοκρασιών οφείλεται η εμφάνιση ζωής σε υγρό περιβάλλον.

A.2.5. Το νερό παρουσιάζει υψηλή συνοχή και συνάφεια

Η συνοχή αναφέρεται στις αμοιβαίες δυνάμεις έλξης μεταξύ των μορίων του νερού, ενώ η συνάφεια στις ελκτικές δυνάμεις μεταξύ του νερού και μιας στερεής επιφάνειας π.χ. των κυτταρικών τοιχωμάτων (Εικόνα 2) ή των τοιχωμάτων ενός γυάλινου δοχείου. Στην περίπτωση του νερού και οι δύο παράμετροι παρουσιάζουν υψηλές τιμές.



Εικόνα 2. Η μεταφορά του νερού στο ξύλωμα.

Επίσης, τα μόρια νερού τα οποία βρίσκονται σε μία ενδιάμεση κατάσταση, μεταξύ υδρατμών και ύδατος έλκονται από γειτονικά μόρια νερού με δεσμούς υδρογόνου και αυτή η σύνδεση είναι πολύ πιο ισχυρή από οποιαδήποτε αλληλεπίδραση με τη γειτονική αέρια φάση. Η μικρότερης ενέργειας (πιο σταθερή) διαμόρφωση ελαττώνει την επιφάνεια της ενδιάμεσης φάσης. Η αύξηση της ενδιάμεσης φάσης μπορεί να προκληθεί μόνο με την είσοδο ενέργειας, η οποία είναι απαραίτητη για το σπάσιμο των δεσμών υδρογόνου. Η ενέργεια η οποία απαιτείται για την αύξηση της επιφάνειας της ενδιάμεσης κατάστασης μεταξύ υδρατμών και ύδατος ορίζεται ως επιφανειακή τάση.

Η υψηλή συνοχή, συνάφεια και επιφανειακή τάση του νερού έχουν ως συνέπεια την εμφάνιση των τριχοειδών φαινομένων, δηλαδή την αυθόρμητη ανύψωση του νερού σε σωλήνες μικρής διαμέτρου. Η μεταφορά νερού μέσω των αγγείων του ξύλου μπορεί να ερμηνευτεί σ' ένα βαθμό και λόγω τριχοειδών φαινομένων.

A.2.6. Το νερό χαρακτηρίζεται ως ασυμπιέστο και παρουσιάζει υψηλή τάση εφελκυσμού

Ως τάση εφελκυσμού ορίζεται η μέγιστη δύναμη ανά μονάδα επιφάνειας την οποία μπορεί να αντέξει μία υδάτινη στήλη πριν παρατηρηθεί θραύση. Οι δεσμοί υδρογόνου στο νερό προσδίδουν υψηλή τάση εφελκυσμού, μία ιδιότητα η οποία καθιστά ικανή την άνοδο του νερού σε τριχοειδή σωλήνα και στην οποία βασίζεται η θεωρία για το μηχανισμό μετακίνησης του νερού στα χερσαία φυτά (Dixon and Joly, 1894; Pockman *et al.*, 1995; Cochard *et al.* 2001, Angeles *et al.*, 2004; Pitterman, 2010)

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

A.2.7. Το νερό είναι διαφανές

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

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

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

A.3. Μηχανισμοί μετακίνησης του νερού

A.3.1. Διάχυση: Η αυθόρμητη μεταφορά μορίων κατά μήκος μιας διαβάθμισης συγκεντρώσεων εξαιτίας τυχαίων θερμικών διαταραχών.

Το φαινόμενο της απλής διάχυσης δεν αφορά μόνο το νερό ή μόνο τα υγρά αλλά οποιαδήποτε μόρια σε οποιοδήποτε μέσο. Τα μόρια ενός διαλύματος δεν παραμένουν ακίνητα. Αντιθέτως βρίσκονται σε συνεχή κίνηση, συγκρούονται ανταλλάσσοντας κινητική ενέργεια και η τροχιά κάθε μορίου μετά την πρόσκρουση θεωρείται τυχαία. Οι κινήσεις αυτές επιφέρουν την τελική κίνηση των μορίων. Σύμφωνα με τον πρώτο νόμο του Fick (1850) η ταχύτητα διάχυσης είναι ανάλογη της διαβάθμισης της συγκέντρωσης δηλαδή ανάλογη προς τη διαφορά την οποία έχει η συγκέντρωση μίας ουσίας μεταξύ δύο σημείων τα οποία απέχουν κατά πολύ μικρή απόσταση. Ο πρώτος νόμος του Fick περιγράφεται μέσω της εξίσωσης:

$$J_s = - D_s \cdot (\Delta c_s / \Delta x) \quad [1]$$

J_s : πυκνότητα ροής (ταχύτητα μεταφοράς) δηλ. η ποσότητα μίας ουσίας s η οποία διαπερνά μία μονάδα επιφάνειας στη μονάδα του χρόνου και εκφράζεται σε $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

D_s : συντελεστής διάχυσης, αναλογική σταθερά η οποία περιγράφει την ευχέρεια με την οποία η ουσία s μετακινείται σε ένα συγκεκριμένο υλικό ή μέσο. Ο συντελεστής αυτός είναι χαρακτηριστικός για κάθε ουσία (αντιστρόφως ανάλογος του μεγέθους των μορίων) και εξαρτάται τόσο από το είδος του υλικού όσο και τη θερμοκρασία. Το αρνητικό πρόσημο δηλώνει τη φορά της ροής προς χαμηλότερες τιμές σε μία διαβάθμιση συγκεντρώσεων.

D_{cs} : διαβάθμιση της συγκέντρωσης

Δx : η πολύ μικρή απόσταση μεταξύ δύο σημείων με διαφορετικές συγκεντρώσεις της ουσίας. Ο χρόνος που απαιτείται για τη μετακίνηση ενός μορίου κατά μήκος μιας διαβάθμισης συγκεντρώσεων είναι ανάλογος του τετραγώνου της αποστάσεως και εξαρτάται σημαντικά από το μέσο εντός του οποίου γίνεται η διάχυση. Η διάχυση, ως μηχανισμός μεταφοράς, είναι αποτελεσματική σε διαστάσεις κυτταρικού επιπέδου, αλλά αναποτελεσματική για μεγάλες αποστάσεις. Η μετακίνηση των μορίων στους φυτικούς ιστούς μέσω διάχυσης αποτελεί ζωτικής σημασίας μηχανισμό σε δύο κυρίως περιπτώσεις: Ως διάχυση σε υγρή φάση σε μικρές αποστάσεις, στα πλαίσια των ορίων ενός κυττάρου, και ως διάχυση σε αέρια φάση ανεξαρτήτως απόστασης. Σε κυτταρικό επίπεδο η διάχυση αποτελεί τον κύριο τρόπο μεταφοράς ουσιών.

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

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

$$J_v = (\pi r^4 / 8 \eta) \cdot (\Delta P / \Delta x) \quad [2]$$

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

ΔP : διαφορά πίεσης μεταξύ δύο σημείων

Δx : απόσταση μεταξύ των δύο σημείων

Όπως φαίνεται από τον τύπο η εξάρτηση από την ακτίνα του αγγείου είναι εξαιρετικά ισχυρή, αφού ο διπλασιασμός της ακτίνας προκαλεί δεκαεξαπλασιασμό της ταχύτητας ροής. Η μαζική ροή, με κινητήρια δύναμη την πίεση, αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό μετακίνησης του νερού σε μεγάλες αποστάσεις μέσω των αγγείων του ξύλου (Tyree *et al.*, 1994; Tyree and Zimmermann, 2002; Pittermann, 2010).

A.3.3. Όσμωση: Η ειδική περίπτωση διάχυσης δια μέσου επιλεκτικά ημιπερατών μεμβρανών.

Η δομή και τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των βιολογικών μεμβρανών των φυτικών κυττάρων τις καθιστούν επιλεκτικά διαπερατές. Συνεπώς επιτρέπουν τη δίοδο του νερού, καθώς και χαμηλού M.B. και μη φορτισμένων μορίων, ενώ περιορίζουν την κίνηση μεγαλομορίων ή φορτισμένων μορίων (εκλεκτική διαπερατότητα) (Diamond and Wright, 1969). Η μετακίνηση των μορίων νερού πραγματοποιείται σχετικά ανεμπόδιστα. Το νερό κινείται από περιοχές χαμηλής συγκέντρωσης διαλυμένων ουσιών (υψηλής συγκέντρωσης του νερού) προς περιοχές υψηλής συγκέντρωσης διαλυμένων ουσιών (χαμηλής συγκέντρωσης του νερού). Το μέτρο για τη δυνατότητα μετακίνησης του νερού μέσω μιας ημιπερατής μεμβράνης δίδεται από την παράμετρο που ονομάζεται οσμωτικό δυναμικό διαλύματος, Ψ_s . Η έννοια του οσμωτικού δυναμικού περιγράφει και προβλέπει τη μετακίνηση των μορίων του διαλύτη μεταξύ ελεύθερων διαλυμάτων δηλ. διαλυμάτων στα οποία δεν εξασκείται πίεση. Προκειμένου να ερμηνευθεί η συμπεριφορά του νερού στις περιπτώσεις που υπεισέρχεται και η παράμετρος της πίεσης καθιερώθηκε η έννοια δυναμικό του νερού, Ψ_w .

A.4. Το δυναμικό του νερού

Το δυναμικό του νερού (Ψ_w) δίδει το μέτρο για τη δυνατότητα μετακίνησης του νερού μέσω μιας ημιπερατής μεμβράνης όταν υπεισέρχονται και άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την κίνηση, πλην της διαφοράς συγκεντρώσεων. Το νερό θεωρείται ότι ρέει αυθόρμητα (χωρίς ενεργειακές απαιτήσεις) από περιοχές υψηλότερου δυναμικού προς άλλες με χαμηλότερο δυναμικό. Στην πραγματικότητα το δυναμικό του νερού (Ψ_w) εκφράζει το χημικό δυναμικό του νερού διαιρούμενο με τον γραμμομοριακό του όγκο ($18 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$) και αποτελεί το μέτρο της ελεύθερης ενέργειας του νερού ανά μονάδα όγκου (J m^{-3}). Οι μονάδες αυτές είναι ισοδύναμες με μονάδες πίεσης π.χ. pascal (Pa).

Το δυναμικό του νερού των φυτών επηρεάζεται από τρεις συνιστώσες: τη συγκέντρωση διαλυμένων ουσιών, την πίεση και τη βαρύτητα και υπολογίζεται μέσω της εξίσωσης

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g \quad [3]$$

Τα Ψ_s , Ψ_p και Ψ_g περιγράφουν την επίδραση των τριών συνιστωσών (τη συγκέντρωση διαλυμένων ουσιών, την πίεση και τη βαρύτητα αντίστοιχα), στην ελεύθερη ενέργεια του νερού.

Συγκέντρωση διαλυμένων ουσιών: Ο όρος Ψ_s ονομάζεται οσμωτικό δυναμικό και αντιπροσωπεύει την επίδραση των διαλυμένων ουσιών στο νερό. Κατά τη διάλυσή τους οι διαλυόμενες ουσίες αυξάνουν την εντροπία του συστήματος μειώνοντας την ελεύθερη ενέργεια του νερού. Κατά συνέπεια το οσμωτικό δυναμικό είναι ανεξάρτητο από τη φύση των διαλυμένων ουσιών. Στην περίπτωση διαλυμάτων υδατοδιαλυτών ουσιών όπως η σακχαρόζη, το οσμωτικό δυναμικό περιγράφεται από την εξής σχέση:

$$\Psi_s = -c_s \cdot RT \quad [4]$$

R: η παγκόσμια σταθερά αερίων ($8,32 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)

T: η απόλυτη θερμοκρασία σε K

c_s : η μοριακή συγκέντρωση διαλυμένων ουσιών, η οποία εκφράζεται σε mol l^{-1} νερού. Το αρνητικό πρόσημο δηλώνει πως οι ευδιάλυτες διαλυμένες ουσίες ελαττώνουν το δυναμικό του νερού ενός διαλύματος σε σχέση με το δυναμικό του νερού του καθαρού νερού. Στη θεώρηση του δυναμικού του νερού υποθέτουμε ότι αναφερόμαστε σε ιδανικά διαλύματα (Friedman *et al.*, 1986; Nobel, 1999; Zhang *et al.*, 2003).

Πίεση: Το δυναμικό πίεσης (Ψ_p) αφορά στην άσκηση υδροστατικής πίεσης στο διάλυμα. Το δυναμικό του νερού του κυττάρου αυξάνεται όταν ασκούνται θετικές πιέσεις και μειώνεται κάτω από αρνητικές πιέσεις. Η θετική υδροστατική πίεση που αναπτύσσεται στο εσωτερικό των κυττάρων σε συνθήκες επάρκειας νερού ονομάζεται πίεση σπαργής. Ωστόσο στα αγγεία του ξύλου επικρατεί συνήθως τάση (αρνητική υδροστατική πίεση), επομένως το δυναμικό πίεσης παίρνει αρνητικές τιμές. Η τάση παίζει καθοριστικό ρόλο στη μετακίνηση του νερού σε μεγάλες αποστάσεις δια μέσου του φυτικού σώματος. Το καθαρό νερό σε κατάσταση αναφοράς (υπό την επίδραση της ατμοσφαιρικής πίεσης) παρουσιάζει εξ ορισμού δυναμικό $\Psi_p = 0 \text{ MPa}$.

Βαρύτητα: Η υψομετρική διαφορά, λόγω της βαρύτητας, προκαλεί αντίστοιχη κίνηση του νερού, εκτός εάν αντισταθμίζεται από ίση δύναμη αντίθετης φοράς (Γαλάτης κ.α., 2003). Το δυναμικό βαρύτητας εξαρτάται από το ύψος της θεωρούμενης υδάτινης μάζας (h), την πυκνότητα του νερού (ρ) και την επιτάχυνση της βαρύτητας (g). Δηλαδή:

$\Psi_g = \rho \cdot g \cdot h$ όπου το γινόμενο $\rho \cdot g$ είναι ίσο με $0,01 \text{ MPa}$. Το δυναμικό βαρύτητας επηρεάζει σημαντικά το δυναμικό του νερού σε περιπτώσεις μεγάλης υψομετρικής διαφοράς μεταξύ της ρίζας και των φύλλων (π.χ. σε υψηλόκορμα δένδρα), ωστόσο σε περιπτώσεις μετακίνησης του νερού σε μικρές αποστάσεις (π.χ. μεταξύ γειτονικών κυττάρων) η συνεισφορά του θεωρείται αμελητέα και παραλείπεται. Συνεπώς η εξίσωση [3] ισχύει ως εξής:

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p \quad [5]$$

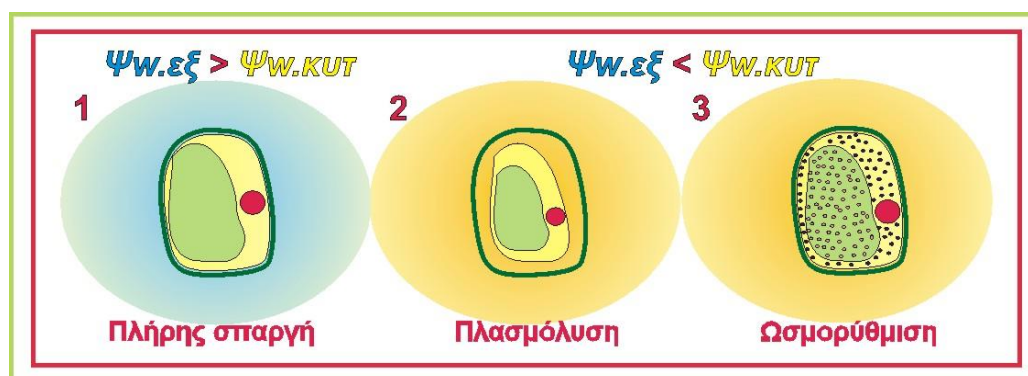
A.4.1. Το δυναμικό του νερού στα φυτικά κύτταρα

Το δυναμικό του νερού αποτελεί ένα σχετικό μέγεθος το οποίο εκφράζει τη διαφορά του δυναμικού του νερού σε δεδομένη κατάσταση σε σχέση με αυτή του καθαρού νερού υπό κανονική ατμοσφαιρική πίεση. Όπως προαναφέρθηκε, η τιμή του δυναμικού του καθαρού νερού ορίζεται αυθαιρέτως μηδέν. Επομένως το δυναμικό του νερού των φυτικών κυττάρων παίρνει τιμές $\leq 0 \text{ MPa}$.

Τα τυπικά φυτικά κύτταρα περιβάλλονται εξωτερικά από το πρακτικώς ανελαστικό κυτταρικό τοίχωμα, στην εσωτερική πλευρά του οποίου εφάπτεται η κυτταροπλασματική μεμβράνη, η οποία περικλείει το κυτταρόπλασμα και τα οργανίδια τα οποία και αυτά περιβάλλονται από

μεμβράνες. Η ύπαρξη των ημιπερατών μεμβρανών σε συνδυασμό με το πρακτικώς ανελαστικό κυτταρικό τοίχωμα, καθιστά το φυτικό κύτταρο ένα ιδεώδες ωσμωτικό σύστημα. Στο κυτταρόπλασμα εντοπίζονται διαλυμένες ουσίες, επομένως παρουσιάζει ορισμένο οσμωτικό δυναμικό. Η αντίσταση του τοιχώματος στην αύξηση του κυτταρικού όγκου, δημιουργεί θετικό δυναμικό πίεσης (πίεση σπαργής) στο εσωτερικό του κυττάρου.

Η είσοδος/έξοδος νερού προς/από τα φυτικά κύτταρα καθορίζεται από τις μεταβολές του δυναμικού του νερού των κυττάρων και του γειτονικού περιβάλλοντος. Εάν το δυναμικό του νερού ενός κυττάρου είναι μικρότερο από το δυναμικό του νερού του εξωτερικού περιβάλλοντος, το νερό εισέρχεται στο εσωτερικό του κυττάρου με αποτέλεσμα την αύξηση της πίεσης σπαργής έως ότου επιτευχθεί εξισορρόπηση των υδατικών δυναμικών κυττάρου και εξωτερικού περιβάλλοντος. Αντίθετα όταν το δυναμικό του νερού ενός κυττάρου είναι μεγαλύτερο από το δυναμικό του νερού του εξωτερικού περιβάλλοντος, νερό εξέρχεται από το εσωτερικό του κυττάρου. Στην περίπτωση που το κύτταρο παρουσιάζει αδυναμία ρύθμισης του οσμωτικού δυναμικού (ωσμορύθμιση), κατά τη διάρκεια της εξισορρόπησης η σημαντική μείωση της πίεσης σπαργής λόγω της αφυδάτωσης του πρωτοπλάστη μπορεί να προκαλέσει συρρίκνωση του πρωτοπλάστη και αποκόλληση της κυτταρικής μεμβράνης από το κυτταρικό τοίχωμα (πλασμόλυση). Εάν όμως το κύτταρο έχει τη δυνατότητα ωσμορύθμισης μέσω της συσσώρευσης συμβατών ωσμολυτών, τότε η εξισορρόπηση των υδατικών δυναμικών επιτυγχάνεται μέσω της ενεργητικής αύξησης της συγκέντρωσης διαλυμένων ουσιών στο εσωτερικό του κυττάρου και αποφεύγεται ο κίνδυνος πλασμόλυσης (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Οι τρεις πιθανές καταστάσεις ενός φυτικού κυττάρου, όπως διαμορφώνονται λόγω των διαφορών του δυναμικού του νερού μεταξύ του κυττάρου και του εξωτερικού περιβάλλοντος.

A.4.2. Ο προσδιορισμός του δυναμικού του νερού αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για τη κατανόηση των υδατικών σχέσεων των φυτικών οργανισμών

Το δυναμικό του νερού αποτελεί μια καθοριστική παράμετρο, ο προσδιορισμός της οποίας αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για τη κατανόηση των υδατικών σχέσεων των φυτών. Δεδομένου ότι η παράμετρος αυτή του δυναμικού του νερού καθορίζει τη μετακίνηση του

νερού από κύτταρο σε κύτταρο, από ιστό σε ιστό, από όργανο σε όργανο, αλλά και από το έδαφος προς τη ρίζα, ο ασφαλής προσδιορισμός της δίδει μια εκτίμηση της υδατικής κατάστασης κυττάρων, ιστών, οργάνων, αλλά και ενός φυτικού οργανισμού ως συνόλου (Hsiao, 1973; Boyer J.S., 1988; Fitter and Hay, 2002; Ryan and Way, 2011).

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

A.5. Η πορεία του νερού: το Συνεχές Έδαφος- Φυτό- Ατμόσφαιρα

Το νερό στο φυτικό σώμα αποτελεί ένα υδατικό συνεχές, το οποίο με αφετηρία το έδαφος όπου βρίσκεται σε υγρή μορφή, μεταφέρεται μέσω των ριζών και του βλαστού στα φύλλα, από τα στόματα των οποίων εξατμίζεται με τη μορφή υδρατμών προς την ατμόσφαιρα. Επομένως δημιουργείται μια μονόδρομη συνεχής ροή νερού από το έδαφος προς την ατμόσφαιρα μέσω του φυτικού σώματος. Η μονόδρομη αυτή μεταφορά νερού οφείλεται στη δημιουργία μιας διαβάθμισης δυναμικού νερού στο συνεχές έδαφος-φυτό ατμόσφαιρα, το οποίο παίρνει υψηλές τιμές στο έδαφος, χαμηλότερες στο φυτικό σώμα και ακόμη χαμηλότερες στην ατμόσφαιρα. Η κινητήρια δύναμη για τη μονόδρομη αυτή μεταφορά είναι η τεράστια διαφορά δυναμικού του νερού μεταξύ των φύλλων και της ατμόσφαιρας, η οποία εκμηδενίζεται μόνον όταν η ατμόσφαιρα είναι κορεσμένη σε υδρατμούς. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η ροή του νερού από το έδαφος και η απώλειά του από τα φύλλα θα ήταν ανεξέλεγκτη εάν στηριζόταν μόνο στη διαφορά δυναμικού του νερού. Όπως και στη περίπτωση του ηλεκτρικού ρεύματος, η ροή του νερού δεν εξαρτάται μόνο από τη διαφορά δυναμικού, αλλά και από τις παρεμβαλλόμενες αντιστάσεις, εκ των οποίων η μια (των στομάτων) είναι ρυθμιζόμενη.

A.5.1. Το νερό στο έδαφος

Το εδαφικό νερό και η κίνησή του στο έδαφος εξαρτώνται από τον τύπο του εδάφους και ιδιαίτερα από τη διάμετρο των συστατικών του. Τα τρία είδη εδαφικών συστατικών κατά σειρά μειούμενης διαμέτρου είναι η άμμος, ο πηλός και η άργιλος. Η σύσταση του εδάφους στα συστατικά αυτά (μηχανική σύσταση), καθορίζει τελικά το πορώδες (δηλ. το ποσοστό των κενών χώρων ως προς τον συνολικό όγκο εδάφους) αλλά και την κατανομή των πόρων

ανάλογα με τη διάμετρό τους. Μπορούν να διακριθούν δύο κατηγορίες πόρων: οι τριχοειδείς πόροι και οι πόροι μεγαλύτερης διαμέτρου. Στους πρώτους το νερό συγκρατείται μέσω τριχοειδών δυνάμεων και για το λόγο αυτό δεν επηρεάζεται από τις δυνάμεις βαρύτητας, ενώ στους δεύτερους το νερό αποστραγγίζεται προς βαθύτερα στρώματα.

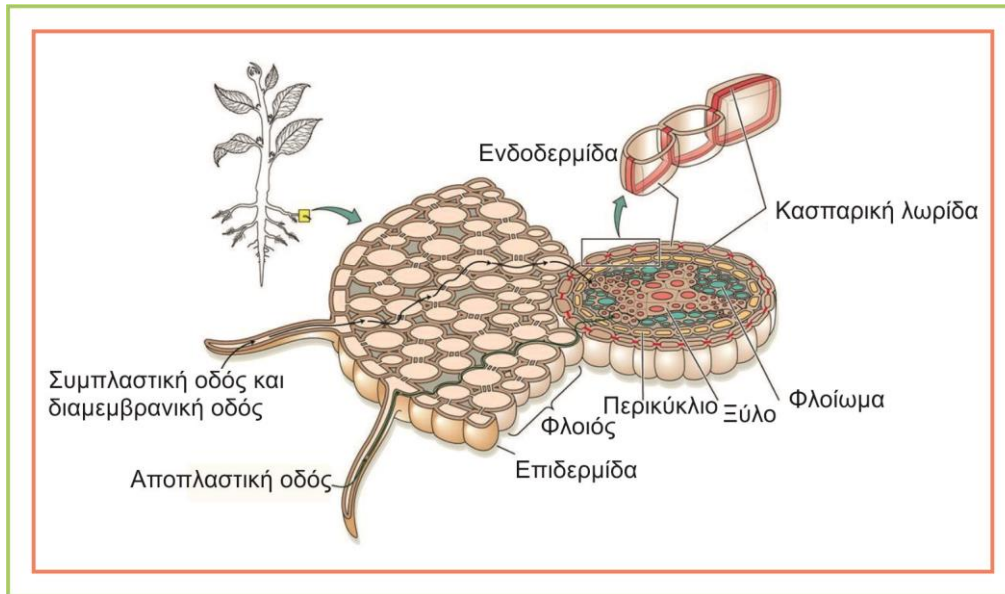
Το εδαφικό νερό διακρίνεται σε τρία κλάσματα ανάλογα με τη φύση των δυνάμεων οι οποίες το συγκρατούν στα συστατικά του εδάφους και επομένως ανάλογα με την ευχέρεια με την οποία τα φυτά το αντλούν μέσω του ριζικού συστήματος **α.** το αποστραγγιζόμενο νερό, το οποίο δεν είναι διαθέσιμο στα φυτά για μεγάλα χρονικά διαστήματα, **β.** το τριχοειδές νερό, που αποτελεί την κύρια πηγή τροφοδοσίας των φυτών με νερό επειδή είναι δυνατή η απορρόφησή του από τις ρίζες και παραμένει στο έδαφος για μεγάλα χρονικά διαστήματα, και **γ.** το νερό το οποίο έχει προσροφηθεί στις υγροσκοπικές επιφάνειες των ορυκτών συστατικών και στην οργανική ουσία του εδάφους και δεν είναι διαθέσιμο στα φυτά.

Σε συνθήκες επάρκειας του εδάφους σε νερό, η εξάτμιση του νερού μέσω της διαπνοής και η πρόσληψη από τις ρίζες δημιουργεί κίνηση του εδαφικού νερού μέσω μαζικής ροής προς τις ρίζες. Το νερό αυτό συμπαρασύρει και διαλυμένα θρεπτικά συστατικά τα οποία εμπλουτίζουν τη ριζόσφαιρα. Σε συνθήκες έλλειψης νερού, το δυναμικό του νερού του εδάφους σταδιακά ελαττώνεται, ενώ παράλληλα η υδραυλική αγωγιμότητα του εδάφους μειώνεται δραστικά λόγω της αντικατάστασης του νερού των εδαφικών πόρων από αέρα. Με αυτό τον τρόπο επέρχεται διατάραξη της ομαλής μαζικής ροής και συνεπώς και της παροχής θρεπτικών προς τη ριζόσφαιρα.

A.5.2. Η πρόσληψη νερού από τη ρίζα

Όπως προαναφέρθηκε, η απορρόφηση του νερού από τη ρίζα είναι δυνατή εφόσον το δυναμικό του νερού της ρίζας είναι μικρότερο από το δυναμικό του νερού του εδάφους. Βασική προϋπόθεση για την αποδοτική απορρόφηση του νερού από τη ρίζα αποτελεί η άμεση επαφή της ρίζας με τα συστατικά του εδάφους στα οποία είναι προσροφημένο το νερό. Από τη στιγμή που έρχεται σε επαφή με την επιφάνεια ενός ριζικού τριχιδίου, το νερό μπορεί να ακολουθήσει τρεις διαφορετικές οδούς (Εικόνα 4):

- την αποπλασμική οδό: το νερό μεταφέρεται προς το εσωτερικό της ρίζας μέσω των κυτταρικών τοιχωμάτων και εξωκυτταρικών χώρων και δεν διέρχεται από τις μεμβράνες
- την συμπλασμική οδό: το νερό διαπερνά την πλασματική μεμβράνη και μέσω των πλασμοδεσμών μεταφέρεται από κύτταρο σε κύτταρο
- τη διαμεμβρανική οδό: το νερό εισέρχεται σε ένα κύτταρο από τη μία πλευρά, εξέρχεται από την άλλη και εισέρχεται στο επόμενο γειτονικό κύτταρο διαπερνώντας διαδοχικές μεμβράνες, συμπεριλαμβανομένου και του τονοπλάστη. Η οδός αυτή περιλαμβάνει τη διέλευση του νερού μέσω των υδατοπορινών (βλ. παρακάτω).



Εικόνα 4. Οι τρεις εναλλακτικές οδοί μεταφοράς νερού στους ιστούς της ρίζας. Taiz L. and Zeiger E, 2012.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους μετακινείται το νερό στη ρίζα δεν είναι πλήρως γνωστοί. Μετά την είσοδό του στα επιδερμικά κύτταρα ή στα ριζικά τριχίδια το νερό κατευθύνεται προς τα αγγεία του ξύλου μέσω των οποίων μεταφέρεται προς το υπέργειο τμήμα. Το νερό κινείται έως τη περιοχή του κεντρικού κυλίνδρου μέσω των τριών εναλλακτικών οδών (Εικόνα 4), φαίνεται ωστόσο ότι επικρατεί η αποπλαστική οδός. Η αποπλαστική κίνηση του νερού θεωρείται ότι οφείλεται στη διαφορά δυναμικού του νερού μεταξύ των κυττάρων κατά την ακτίνα της ρίζας μέχρι και τα αγγεία του ξύλου. Στη περιοχή της ενδοδερμίδας η αποφέλλωση των κυττάρων της προβάλλει ισχυρή αντίσταση στη δίοδο του νερού μέσω της αποπλαστικής οδού, οπότε το νερό αναγκάζεται να διέλθει συμπλαστικά, κυρίως μέσω των περικλινών περιοχών των κυττάρων της ενδοδερμίδας ή των διεξοδικών κυττάρων της (Frensch *et al.* 1996, Steudle and Frensch, 1996, Bramley *et al.*, 2009).

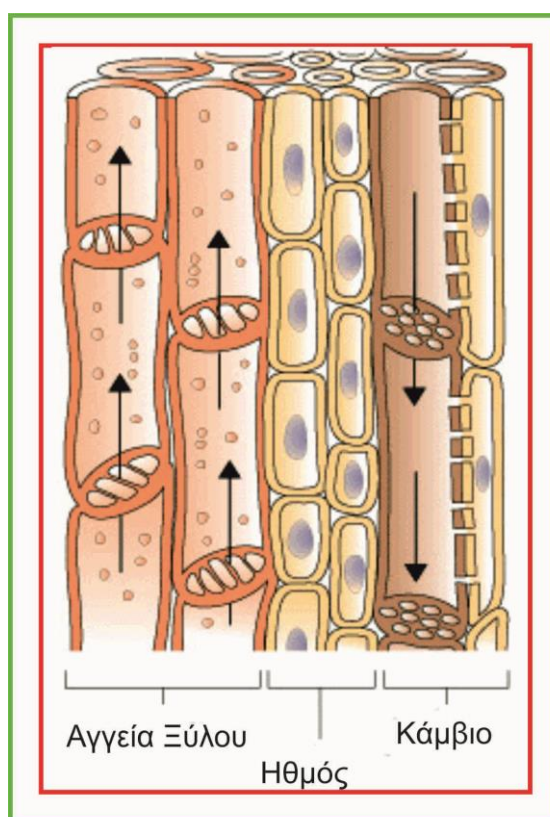
Στη συμπλαστική μεταφορά σημαντικό ρόλο παίζουν οι υδατοπορίνες. Πρόκειται για πρωτεϊνικά κανάλια που εντοπίζονται στη μεμβράνη και μέσω αυτών διευκολύνεται η διέλευση των μορίων του νερού δια μέσου του υδροφοβικού εμποδίου που παρεμβάλλει η μεμβράνη. Συνεπώς η υδραυλική αγωγιμότητά των ριζών εξαρτάται από την παρουσία των υδατοπορινών. Καταστολή της έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με τις υδατοπορίνες μειώνει σημαντικά την υδραυλική αγωγιμότητα των ριζών και επέρχεται γρήγορα μαρασμός του φυτού (Siefritz *et al.*, 2002) ή το φυτό αναπτύσσει μεγαλύτερο ριζικό σύστημα (Martre *et al.*, 2002). Από τα αγγεία του ξύλου της ρίζας το νερό κινείται προς το υπέργειο μέρος μέσω του διαπνευστικού ρεύματος.

Υπό ορισμένες προϋποθέσεις, κυριότερη από τις οποίες είναι η έλλειψη διαπνοής, η ρίζα ενδέχεται να εκδηλώσει το φαινόμενο της ριζικής πίεσης. Η εκλεκτική πρόσληψη από το εδαφικό διάλυμα των απαραίτητων ιόντων και η τελική άφιξή τους στα αγγεία της ρίζας αυξάνει τοπικά τη συγκέντρωσή τους, άρα αυξάνει την οσμωτική πίεση του νερού των

αγγείων και κατά συνέπεια μειώνει το δυναμικό του νερού. Επομένως το νερό εισέρχεται στα αγγεία από τα παρακείμενα κύτταρα, αυξάνοντας την υδροστατική πίεση στη βάση των αγγείων. Η υψηλή υδροστατική πίεση στη βάση των αγγείων, αν συνοδεύεται από χαμηλότερη πίεση σε υψηλότερο σημείο του αγωγού συστήματος, μπορεί να προκαλέσει μαζική ροή νερού προς το υπέργειο τμήμα. Το φαινόμενο της ριζικής πίεσης μπορεί μόνον εν μέρει να ερμηνεύσει την προς τα πάνω κίνηση του νερού στον βλαστό, δεδομένου ότι εμφανίζεται μόνο απουσία διαπνοής.

A.5.3. Η μετακίνηση του νερού στα αγγεία

Η ιδιόμορφη ανατομία των αγγείων του ξύλου ευνοεί την αποδοτική μεταφορά νερού με μικρή αντίσταση. Τα στοιχεία του ξυλώματος είναι δύο τύπων: οι τραχειίδες και τα αγγεία. Οι τραχειίδες απαντώνται στα αγγειόσπερμα και στα γυμνόσπερμα, στα περιδόφυτα και σε άλλες ομάδες αγγειόφυτων. Τα αγγεία του ξύλου απαντώνται στα αγγειόσπερμα, στα Gnetales (γυμνόσπερμα) και σε ορισμένα περιδόφυτα. Κατά την πλήρη ωρίμανσή τους τα στοιχεία του ξυλώματος αποτελούν νεκρές δομές, αφού με την ολοκλήρωση της εναπόθεσης του δευτερογενούς κυτταρικού επέρχεται κυτταρικός θάνατος με απώλεια του κυτταροπλάσματος. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργούνται κενοί σωλήνες με παχιά, λιγνινοποιημένα κυτταρικά τοιχώματα μέσω των οποίων μετακινείται το νερό. Τα άρθρα των αγγείων είναι βραχύτερα και πλατύτερα έναντι αυτών των τραχειίδων.



Τα εγκάρσια κυτταρικά τοιχώματα των αγγείων του ξύλου αποδομούνται μερικώς, οπότε προκύπτει η διάτρητη πλάκα μέσω της οποίας μπορεί να διέρχεται ανεμπόδιστα το νερό. Τα ακραία στοιχεία του ξυλώματος δεν φέρουν διάτρητη πλάκα στα τελικά κυτταρικά τους τοιχώματα αλλά όπως και στα πλευρικά τοιχώματα τόσο των αγγείων όσο και των τραχειίδων η σύνδεση μεταξύ γειτονικών κυττάρων επιτυγχάνεται μέσω των βοθρίων (Choat *et al.* 2008). Η διευθέτηση των αγγείων του ξύλου σε μία στήλη δημιουργεί έναν αγωγό ο οποίος μπορεί να φτάσει σε διάμετρο τα 0,5 mm και σε μήκος έως και 2 m (Pittermann J., 2010). Τα αγγεία αποτελούνται δηλαδή από νεκρά κύτταρα, απαιτούν ελάχιστες έως μηδαμινές μεταβολικές εισροές και παρέχουν ένα δίκτυο το

Εικόνα 5. Η μετακίνηση του νερού στον αγωγό ιστό. Elizabeth Morales με τροποποίηση.

οποίο επιτρέπει την άνοδο του νερού στο βλαστό σε ύψος άνω των 100m (Koch *et al.*, 2004; Burgess *et al.*, 2006; Domec *et al.*, 2008).

Η ανοδική κίνηση του νερού στα αγγεία του ξύλου δεν μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά στη ριζική πίεση ή σε τριχοειδή φαινόμενα. Η μαζική ροή, με κινητήρια δύναμη την διαφορά δυναμικού, αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό μετακίνησης του νερού σε μεγάλες αποστάσεις μέσω των αγγείων του ξύλου (Tyree *et al.*, 1994; Tyree and Zimmermann, 2002; Pittermann J, 2010;). Τα πειραματικά δεδομένα συγκλίνουν προς τη μερική τουλάχιστον επιβεβαίωση της θεωρίας συνοχής –τάσης που διατυπώθηκε τον 19^ο αιώνα (Dixon and Joly 1894, Rockman *et al.*, 1995, Cochard *et al.* 2001, Angeles *et al.*, 2004). Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η συνεχής απώλεια υδρατμών από τα φύλλα μέσω της διαπνοής προκαλεί πτώση του δυναμικού των κυττάρων του μεσόφυλλου το οποίο αναπληρώνεται μέσω των αγγείων του ξύλου. Κατά συνέπεια, υπάρχει διαφορά πίεσης μεταξύ της βάσης και της κορυφής των αγγείων, η οποία προκαλεί μαζική ροή νερού (και διαλυμένων ουσιών) από κάτω προς τα πάνω. Επομένως, το νερό αντλείται αναρροφητικά προς τα φύλλα και η αιτία της αρνητικής πίεσης στην κορυφή των αγγείων είναι η διαπνοή. Η λειτουργία ενός τέτοιου μηχανισμού ενέχει τον κίνδυνο διακοπής της συνεχούς στήλης νερού μέσα στα αγγεία του ξύλου (Tyree and Sperry, 1989; Sperry *et al.*, 1993, Hacke and Sperry 2001, Tyree and Zimmermann 2002; Choat *et al.*, 2008), η διατήρηση της οποίας είναι απαραίτητη προϋπόθεση. Η συνέχεια της στήλης εξασφαλίζεται κυρίως εξαιτίας της ανατομίας του αγγειακού συστήματος και των ιδιοτήτων του νερού. Τα ισχυρά λιγνιτοποιημένα κυτταρικά τοιχώματα των αγγείων του ξύλου εξαλείφουν τον κίνδυνο κατάρρευσης λόγω τάσης. Από την άλλη πλευρά το νερό διαθέτει υψηλή συνάφεια με τα κυτταρικά τοιχώματα των αγγείων, συνεπώς η απόσπαση νερού από την επιφάνεια τους δεν είναι ευχερής, και υψηλή συνοχή μεταξύ των μορίων του ώστε η θραύση της στήλης να καθίσταται δυσχερής.

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

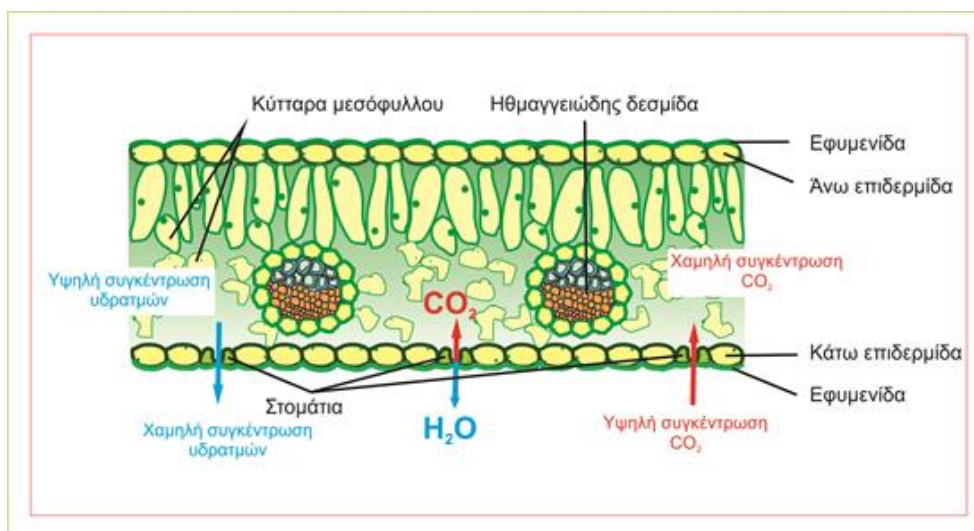
Η αντιμετώπιση των ανεπιθύμητων εμβολών πραγματοποιείται από μία σειρά μηχανισμούς όπως η παράκαμψη του προβληματικού αγγείου μέσω των βοθρίων και μετακίνηση του νερού από τα εναπομείναντα λειτουργικά αγγεία με μειωμένους όμως ρυθμούς. Ακόμη υπάρχει η δυνατότητα διαλυτοποίησης των φυσαλίδων κατά τη διάρκεια της νύχτας λόγω του κλεισίματος των στομάτων αλλά και της ενδεχόμενης ανάπτυξης ριζικής πίεσης. Επιπλέον, η παρουσία στενών αγγείων, παρ' ότι αυξάνει τις αντιστάσεις στη ροή, συνεισφέρει στην

αποφυγή δημιουργίας φυσαλίδων, αφού ενισχύει τις δυνάμεις συνάφειας (Carlquist, 1977; Αιβαλάκης, κ.α., 2003). Κατά συνέπεια φυτά τα οποία έχουν προσαρμοστεί σε ξηρά περιβάλλοντα διαθέτουν στενότερα αγγεία από εκείνα που ευδοκιμούν σε υγρά περιβάλλοντα (Pittermann, 2010, Olson and Rosell, 2013).

Η επικρατούσα θεωρία αναφέρει ότι η δομή και η λειτουργία του αγγειακού συστήματος έχουν βελτιστοποιηθεί εξελικτικά με στόχο την εξισορρόπηση μεταξύ των αντικρουόμενων απαιτήσεων ασφαλούς και αποδοτικής μεταφοράς μέσω του ξύλου (Tyree *et al.*, 1994; Rockman and Sperry, 2000; Hacke and Sperry, 2001, Westoby and Wright, 2006). Η αποδοτική μεταφορά προϋποθέτει την ύπαρξη μεγάλης διαμέτρου και μεγάλου μήκους αγγείων, με χαμηλή αντίσταση μεταξύ των βοθρίων. Μέσω της εξέλιξης ο συγκεκριμένος τύπος αγγειακού συστήματος επικράτησε σε φυτά τα οποία αναπτύσσονται σε συνθήκες επάρκειας εδαφικού νερού και χαμηλών εξατμισοδιαπνευστικών απαιτήσεων. Ενώ αντίθετα φυτά τα οποία έχουν προσαρμοστεί σε ξηρά περιβάλλοντα διαθέτουν στενότερα αγγεία από εκείνα που ευδοκιμούν σε υγρά περιβάλλοντα (Pittermann 2010, Olson and Rosell, 2013).

A.5.4. Φύλλο: ο τελικός προορισμός και η πύλη διαφυγής του νερού στην ατμόσφαιρα

Τα φύλλα αποτελούν εξειδικευμένα όργανα στα οποία επιτελούνται δύο βασικές λειτουργίες: η φωτοσύνθεση και η διαπνοή. Η δομή τους είναι στενά συνυφασμένη με τη λειτουργία τους με στόχο το συγκερασμό των δύο αυτών λειτουργιών. Όπως προαναφέρθηκε η διαπνοή, δηλαδή η εξάτμιση νερού με τη μορφή υδρατμών από την επιφάνεια των φύλλων μέσω των στομάτων, αποτελεί την αναπόφευκτη συνέπεια της ανάγκης αφομοίωσης του ατμοσφαιρικού CO₂ (Hsiao, 1982; Taiz and Zeiger ; von Caemmerer 2007), το οποίο σε συνδυασμό με τη φωτεινή ακτινοβολία αποτελούν τις «πρώτες ύλες» της φωτοσυνθετικής μηχανής. Η πρόσληψη CO₂ συνοδεύεται εξ ανάγκης με την απώλεια H₂O διότι οι πύλες ανταλλαγής



Εικόνα 6. Η μετακίνηση των υδρατμών και του CO₂ έχουν αντίθετες κατευθύνσεις.

αερίων (δηλ. τα στόματα) είναι κοινές: καθώς το εισερχόμενο CO₂ διαχέεται από την ατμόσφαιρα προς το εσωτερικό των φύλλων μέσω των στομάτων, οι υδρατμοί στο εσωτερικό του φύλλου διαχέονται με αντίθετη κατεύθυνση μέσω των ίδιων ανοιγμάτων (Εικόνα 6).

Η κινούσα δύναμη για την έξοδο του νερού από τα φύλλα είναι πολύ μεγαλύτερη από την αντίστοιχη για την πρόσληψη CO₂ (με αποτέλεσμα να χάνονται 400 μόρια H₂O για κάθε μόριο CO₂ που αφομοιώνεται). Η «αλόγιστη» αυτή σπατάλη νερού δεν είναι προϊόν ενός εξελικτικού λάθους, αλλά η αναπόφευκτη συνέπεια της λειτουργίας της φωτοσύνθεσης στο ατμοσφαιρικό περιβάλλον της χέρσου. Η ισχυρή επίδραση αυτής της άνισης και μειονεκτικής ανταλλαγής είναι εμφανής στην εξέλιξη της δομής και λειτουργίας των ανώτερων φυτών και εξηγεί σε μεγάλο βαθμό τον σημαντικό ρόλο τον οποίον παίζει το νερό στη φυσιολογία των φυτών. Είναι σαφές ότι ακόμη και μία μικρή διατάραξη του ισοζυγίου μεταξύ πρόσληψης, μετακίνησης και εξόδου του νερού στα φυτά μπορεί να επιφέρει υδατικό έλλειμμα με αποτέλεσμα την εμφάνιση σοβαρής βλάβης σε πολλές κυτταρικές διεργασίες. Συνεπώς, η διατήρηση αυτού του ισοζυγίου αποτελεί διαχρονικά μία ιδιαίτερης σημασίας πρόκληση για τα χερσαία φυτά. Φαίνεται ότι τελικώς τα φύλλα διαθέτουν μηχανισμούς μέσω των οποίων επιτυγχάνεται σε κάθε χρονική στιγμή ο συγκερασμός μεταξύ των δύο αυτών αντίρροπων τάσεων.

A.6. Η δομή των φύλλων

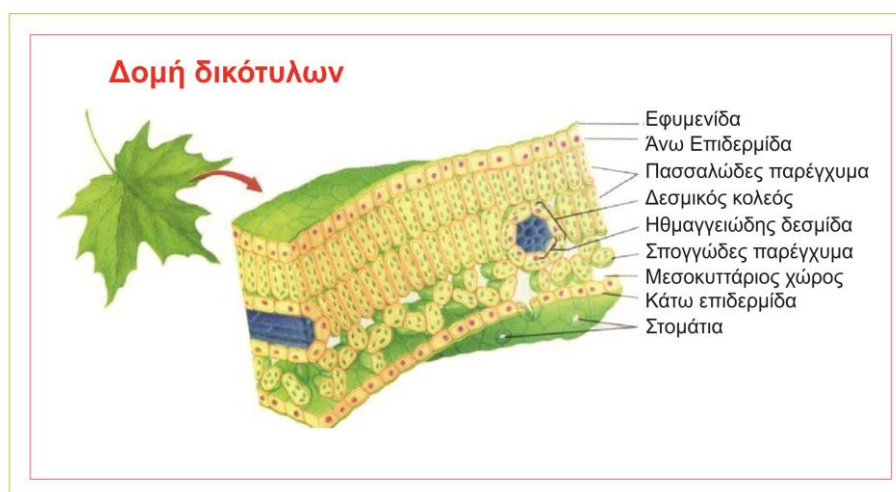
Τα φύλλα συγκροτούνται από εξειδικευμένους ιστούς με αυστηρά καταμερισμένους ρόλους. Ο επιδερμικός ιστός και η εφυμενίδα (υδρόφοβη επίστρωση) καλύπτουν την εξωτερική επιφάνεια των φύλλων κι απαρτίζουν ένα αδιαπέραστο περίβλημα. Το περίβλημα αυτό, παρεμποδίζει την εξάτμιση του νερού από το μεσόφυλλο προς την ατμόσφαιρα και ταυτόχρονα την είσοδο του CO₂ στο εσωτερικό του φύλλου. Η απαραίτητη επικοινωνία ανάμεσα στο μεσόφυλλο (η περιοχή μεταξύ της προσαξονικής και αποαξονικής επιδερμίδας) και στην εξωτερική ατμόσφαιρα αποκαθίσταται μέσω των χαρακτηριστικών πόρων της φυλλικής επιφάνειας, τα στόματα.

Τα στόματα αποτελούνται από δύο κύτταρα τα οποία ονομάζονται καταφρακτικά και περιβάλλουν τον στοματικό πόρο. Το άνοιγμα και το κλείσιμο του πόρου ρυθμίζεται μέσω των μεταβολών του σχήματος των καταφρακτικών κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά σε αρκετές περιπτώσεις βρίσκονται σε επαφή ή συνεργάζονται με τα παρακαταφρακτικά κύτταρα τα οποία διαφέρουν μορφολογικά και λειτουργικά από τα υπόλοιπα επιδερμικά κύτταρα. Τα δύο είδη κυττάρων αποτελούν το στοματικό σύμπλεγμα. Όσον αφορά την κατανομή των στομάτων, έχουν παρατηρηθεί τρία είδη φύλλων: α. τα αμφιστοματικά, διαθέτουν στόματα και στις δύο επιφάνειες του φύλλου, β. τα υποστοματικά, στα οποία παρατηρούνται στόματα μόνο στην αποαξονική επιφάνεια και γ. τα επιστοματικά, τα οποία διαθέτουν στόματα μόνο στην προσαξονική επιφάνεια. Η πυκνότητα των στομάτων ποικίλει ανάλογα με το φυτικό είδος, ενώ στα αμφιστοματικά φύλλα μπορεί να παρουσιάζει διαφορές μεταξύ των δύο επιφανειών. Στις περισσότερες περιπτώσεις η πυκνότητα των στομάτων είναι μεγαλύτερη

στην αποξονική επιφάνεια. Στα φύλλα των δικότυλων φυτών η κατανομή των στομάτων είναι άτακτη και τα καταφρακτικά κύτταρα ανήκουν στον νεφροειδή τύπο δηλαδή παρουσιάζουν μορφή ημισέληνου. Στα μονοκότυλα φυτά, τα στόματα κατανέμονται σε παράλληλες σειρές και τα καταφρακτικά κύτταρα στα σιτηρά είναι επιμήκη και έχουν τη μορφή αλτήρων. Γι' αυτόν τον λόγο τα στόματα ονομάζονται αλτηροειδή.

Το μεσόφυλλο περιλαμβάνει το φωτοσυνθετικό παρέγχυμα, τις ηθμαγγειώδεις δεσμιδες και τους στηρικτικούς ιστούς.

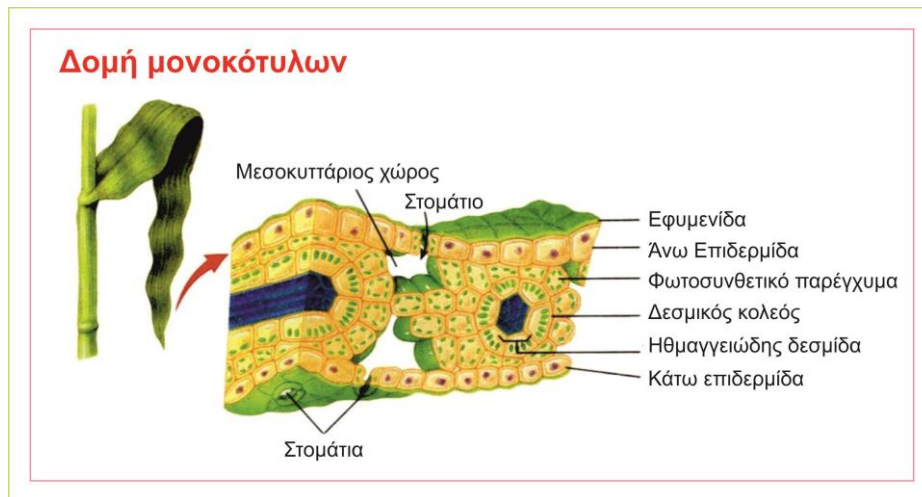
Τα κύτταρα του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος διαθέτουν πολυάριθμους χλωροπλάστες. Το φωτοσυνθετικό παρέγχυμα χαρακτηρίζεται την ύπαρξη εκτεταμένων μεσοκυττάριων χώρων οι οποίοι διευκολύνουν την ανταλλαγή αερίων. Στα τυπικά φύλλα των δικότυλων, ο φωτοσυνθετικός ιστός απαρτίζεται από δύο τύπους κυττάρων, το δρυφακτοειδές ή πασσαλώδες, και το σπογγώδες παρέγχυμα (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Τρισδιάστατη απεικόνιση ενός τυπικού ετερόπλευρου φύλλου δικότυλου φυτού. <http://www.docstoc.com/docs/80630921/Leaf-Structure-Illustrations-Dicot-Leaf-Structure-Dicot-Leaf> με τροποποίηση.

Τα φύλλα αυτά ονομάζονται ετερόπλευρα. Τα πασσαλώδη κύτταρα έχουν τη μορφή πασσάλων και διατάσσονται κάθετα προς την προσοξονική επιφάνεια, σε μία ή περισσότερες στοιβάδες. Τα κύτταρα του σπογγώδους παρεγχύματος είναι συνήθως έλοβα, ακανόνιστα, με μεγάλους μεσοκυττάριους χώρους. Σε ορισμένες περιπτώσεις κυρίως ξηροφυτικών ειδών, το πασσαλώδες παρέγχυμα καταλαμβάνει και τις δύο πλευρές του ελάσματος ενώ το σπογγώδες παρέγχυμα είτε απουσιάζει εντελώς είτε περιορίζεται στο μέσο του ελάσματος.

Τα φύλλα των μονοκότυλων φυτών και γυμνόσπερμων χαρακτηρίζονται ως ομοιογενή, εφόσον διαθέτουν μόνον έναν τύπο παρεγχυματικών κυττάρων, τα οποία είναι έλοβα και ακανόνιστου σχήματος (Εικόνα 8).

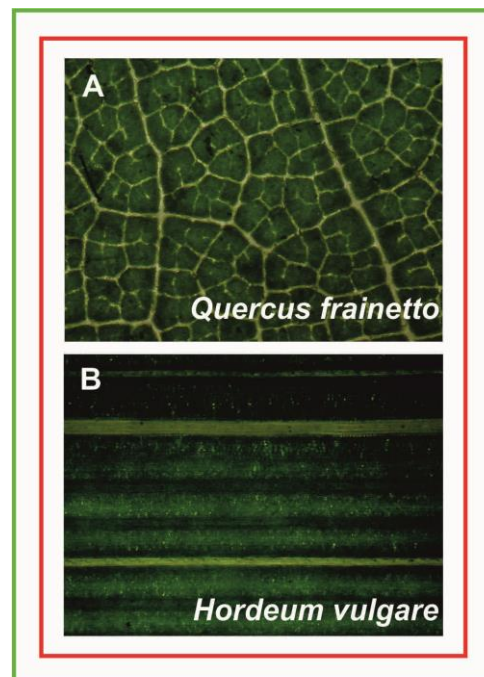


Εικόνα 8. Τρισδιάστατη απεικόνιση ενός τυπικού ομοιογενούς φύλλου μονοκότυλου φυτού. <http://www.docstoc.com/docs/80630921/Leaf-Structure-Illustrations-Dicot-Leaf-Structure-Dicot-Leaf> με τροποποίησηση.

Οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες γίνονται αντιληπτές με τη μορφή των νευρώσεων. Οι νευρώσεις διασχίζουν το φύλλο και αποτελούν τις τελικές προεκτάσεις (απολήξεις) του συστήματος μεταφοράς με αφετηρία τη ρίζα, το οποίο διασχίζει όλο το βλαστό.

Το νερό και τα θρεπτικά συστατικά μεταφέρονται μέσω των αγγείων του ξύλου, τα οποία βρίσκονται στην πλευρά της δεσμίδας προς την προσαξονική επιφάνεια. Τα φωτοσυνθετικά προϊόντα εξαγονται μέσω των στοιχείων του ηθμού, τα οποία εντοπίζονται στην πλευρά της δεσμίδας προς την αποαξονική επιφάνεια. Οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες προστατεύονται συνήθως από σκληρεγχυματικές ίνες και περιβάλλονται από παρεγχυματικά κύτταρα, τον δεσμικό κολεό. Οι σκληρεγχυματικές ίνες παρέχουν μηχανική στήριξη και προστασία έναντι προσβολών από παθογόνα και έντομα, ενώ τα κύτταρα του κολεού βοηθούν κυρίως στη φόρτωση του ηθμού με σάκχαρα. Στα C_4 φυτά, τα κύτταρα του δεσμικού κολεού (ανατομία τύπου Kranz) έχουν καθοριστικό ρόλο στη λειτουργία της C_4 φωτοσυνθετικής οδού. Σε πολλές περιπτώσεις, ιδιαίτερως στα ξηρόφυτα, ο δεσμικός κολεός σχηματίζει προεκτάσεις, οι οποίες συγκροτούνται από κύτταρα παρεγχύματος, κολεγχύματος ή σκληρεγχύματος, εφαπτόμενες στις δύο επιδερμίδες του φύλλου.

Στα τυπικά φύλλα των δικότυλων, τα οποία συνήθως είναι έμμισχα, το αγωγό σύστημα διασχίζει το μίσχο και προεκτείνεται στο έλασμα με τη μορφή ενός δικτύου διασταυρώσεων, το οποίο περιλαμβάνει την κεντρική και τις πλάγιες



Εικόνα 9. Φωτογραφίες ελάσματος σε διελαύνον φως: Α. Δικτυόνηυρου φύλλου (Φωτέλλη κ.α., 2011), Β. Παραλληλόνηυρου φύλλου

νευρώσεις. Για τον λόγο αυτό τα φύλλα αυτά ονομάζονται δικτυόνευρα (Εικόνα 9α). Τα φύλλα των μονοκότυλων φυτών συνήθως στερούνται μίσχου (άμμισχα ή επιφυή) και το έλασμα συνδέεται απευθείας με τον βλαστό μέσω μίας περιοχής σύνδεσης η οποία περιβάλλει τον βλαστό, τον κολεό. Οι νευρώσεις διατάσσονται παράλληλα προς τον άξονα του ελάσματος και για τον λόγο αυτό τα φύλλα ονομάζονται παραλληλόνευρα (Εικόνα 9β).

Ο διαφορετικός αρχιτεκτονικός σχεδιασμός και διάταξη των νευρώσεων των φύλλων μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στη μεταφορά νερού. Π.χ. η υδραυλική αντίσταση των φύλλων μπορεί να διαφέρει μέχρι και 40 φορές, λόγω της διαφορετικής αρχιτεκτονικής διάταξης των αγγείων τους (Brodribb *et al.*, 2007).

Η υδραυλική αντίσταση ενός φύλλου αντανakλά τον αριθμό, την κατανομή και το μέγεθος των αγωγών στοιχείων και τις υδραυλικές ιδιότητες των κυττάρων του μεσόφυλλου (Taiz and Zeiger, 2012). Συνεπώς η διακύμανση στην υδραυλική αντίσταση οφείλεται στο μέγεθος, στην πυκνότητα των αγγείων και την απόστασή τους από την επιφάνεια εξάτμισης του φύλλου. Μεγαλύτερη πυκνότητα συνεπάγεται μικρότερη υδραυλική αντίσταση και υψηλότερη φωτοσυνθετική ταχύτητα, υποδηλώνοντας ότι η γεινίαση των αγγείων με περιοχές εξάτμισης έχει σημαντική επίδραση στην ταχύτητα της ανταλλαγής αερίων. Η μείωση του δυναμικού του νερού του φύλλου επιφέρει αξιοσημείωτη αύξηση της υδραυλικής του αντίστασης (Taiz and Zeiger, 2012). Η αύξηση αυτή μπορεί να προέρχεται είτε από εμβολή στοιχείων του ξυλώματος, είτε από φυσική καταστροφή αγωγών στοιχείων λόγω τάσης (Cochard *et al.* 1992, Brodribb and Holbrook 2005).

Η μορφή του φύλλου εξαρτάται από το φυτικό είδος και αποτελεί έναν από τους βασικότερους γενετικούς παράγοντες της προσαρμοστικής ικανότητας σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον (Αϊβαλάκης κ.α., 2003) Τροποποιήσεις στη μορφή των φύλλων μπορούν να παρατηρηθούν και στην περίπτωση εγκλιματισμού σε ιδιαίτερες περιβαλλοντικές συνθήκες όπως η έλλειψη νερού, η σκίαση κ.α. Οι τροποποιήσεις της δομής κατά τον εγκλιματισμό στην υδατική καταπόνηση, άρρηκτα συνδεδεμένες με λειτουργικές και μεταβολικές μεταβολές αποτελούν το αντικείμενο της παρούσας εργασίας και θα εξετασθούν αναλυτικά στη συνέχεια.

A.7. Η λειτουργία των φύλλων

A.7.1. Διαπνοή: η κίνηση του νερού από το φύλλο στην ατμόσφαιρα

Η διαπνοή αναφέρεται στην απώλεια νερού από τα φυτά, κυρίως από τα φύλλα. Το φαινόμενο είναι σύνθετο και πραγματοποιείται σε δύο φάσεις. Το νερό εισέρχεται στο φύλλο μέσω των αγγείων του ξύλου και στη συνέχεια μεταφέρεται προς τα κυτταρικά τοιχώματα των κυττάρων του μεσόφυλλου από όπου και εξατμίζεται προς τους μεσοκυττάρους χώρους και τον υποστομάτιο θάλαμο. Το νερό εξέρχεται με τη μορφή υδρατμών μέσω των στοματικών πόρων. Η κίνηση του νερού μέσω των ιστών του φύλλου ελέγχεται από διαβαθμίσεις του δυναμικού του νερού, ενώ η κίνηση των υδρατμών οφείλεται σε διάχυση.

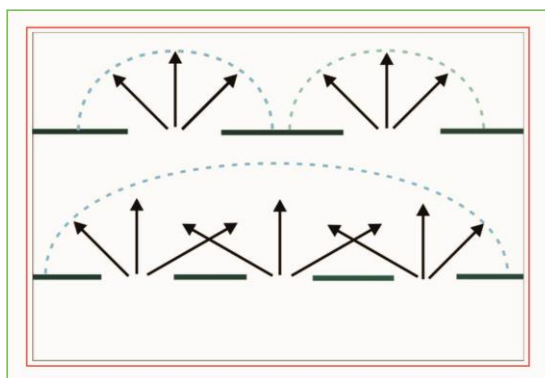
Συνεπώς το τελικό στάδιο του διαπνευστικού ρεύματος ελέγχεται από τη διαβάθμιση της συγκέντρωσης υδρατμών.

Λόγω του φραγμού της εφυμενίδας μόνο ένα πολύ μικρό ποσοστό (περίπου 5%) από το νερό που εισέρχεται στο φύλλο εξατμίζεται μέσω αυτής. Συνεπώς ένα συντριπτικό ποσοστό των απωλειών νερού οφείλονται στη διάχυση των υδρατμών από τα στόματα. Παρά το γεγονός ότι οι αποστάσεις τις οποίες πρέπει να διανύσει το νερό στο φύλλο είναι πολύ μικρές σε σύγκριση με τη συνολική διαδρομή από το έδαφος στην ατμόσφαιρα, η συμβολή των φύλλων στη συνολική υδραυλική αντίσταση είναι υψηλή. Το ποσοστό συμμετοχής των φύλλων στη συνολική υδραυλική αντίσταση ανέρχεται κατά μέσο όρο σε 30%, ενώ σε ορισμένα είδη έχει καταγραφεί πολύ μεγαλύτερο ποσοστό (Sack and Holbrook, 2006).

A.7.2. Παράγοντες που επιδρούν στην ταχύτητα διαπνοής

A.7.2.1. Ανατομικά χαρακτηριστικά των φύλλων.

Ο αριθμός, οι διαστάσεις (μήκος και πλάτος), η κατανομή και η θέση των στομάτων στην επιδερμίδα αποτελούν κρίσιμα ανατομικά χαρακτηριστικά τα οποία επηρεάζουν τη ταχύτητα διαπνοής (Μανέτας, 2005). Ωστόσο η πυκνότητα των στομάτων δεν συσχετίζεται πάντα με την ταχύτητα διαπνοής διότι εκτός από τον αριθμό των στομάτων σημαντικό ρόλο παίζουν και οι διαστάσεις του στοματικού πόρου.



Εικόνα 10. Διαγραμματική απεικόνιση διαφορετικών κατανομών των στομάτων: όταν η πυκνότητα αυξάνεται οι αλληλοεπικαλύψεις των κελυφών διάχυσης διατηρούν το πάχος του οριακού στρώματος σταθερό.

Επίσης η κατανομή των στομάτων στην επιφάνεια του φύλλου έχει σημαντική επίδραση στην ταχύτητα διαπνοής. Αυτό οφείλεται στο σχηματισμό ενός ημισφαιρικού κελύφους διάχυσης με υψηλή σχετική υγρασία πάνω από κάθε στομάτιο. Από την επιφάνεια αυτού του κελύφους διαφεύγουν οι υδρατμοί προς την ελεύθερη ατμόσφαιρα.

Όταν η κατανομή είναι ομοιόμορφη, δηλαδή οι αποστάσεις μεταξύ των στομάτων είναι παρόμοιες, το πάχος του οριακού στρώματος

εμφανίζεται μειωμένο στις περιοχές που παρεμβάλλονται μεταξύ των στομάτων. Στην περίπτωση ωστόσο ύπαρξης ομάδων στομάτων (κατανομή κατά σμήνη), τα κελύφη διάχυσης αλληλοεπικαλύπτονται επιφέροντας αύξηση του πάχους του οριακού στρώματος (Εικόνα 10) και της αντίστασης αυτού και κατά συνέπεια μείωση της ταχύτητας διαπνοής. Η αντίσταση του μεσόφυλλου (R_m), η οποία εκφράζει τη «δυσκολία» διάχυσης των υδρατμών στο εσωτερικό του φύλλου, παρουσιάζεται υψηλότερη σε περισσότερο συμπαγή φύλλα. Ως αποτέλεσμα, ο χαρακτήρας «συμπαγές φύλλο» συσχετίζεται με την επάρκεια νερού στο περιβάλλον.

A.7.2.2. Οι μεταβολές περιβαλλοντικών παραμέτρων

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

Ατμοσφαιρική σχετική υγρασία: Δεδομένου ότι η ατμόσφαιρα στον υποστοματικό θάλαμο είναι συνήθως κορεσμένη σε υδρατμούς (σχετική υγρασία 100%), ενώ η σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 50-70% η διαφορά δυναμικού του νερού μεταξύ του εσωτερικού του φύλλου και της εξωτερικής ατμόσφαιρας εξαρτάται από την σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας. Η διαφορά αυτή στη σχετική υγρασία αντιπροσωπεύει μια πολύ υψηλή διαφορά δυναμικού του νερού που τελικά αποτελεί τη κινητήρια δύναμη για την έξοδο των υδρατμών από τα στόματα. Παρόλο που ο συνολικός όγκος των μεσοκυττάρων χώρων είναι περιορισμένος, η εσωτερική επιφάνεια εξάτμισης του νερού είναι εκτεταμένη. Ενδεικτικά, ο όγκος αυτός καταλαμβάνει περίπου 5% του όγκου του φύλλου στις πευκοβελόνες, 10% σε φύλλα καλαμποκιού, 30% σε φύλλα κριθαριού και 40% σε φύλλα καπνού. Ο μεγάλος λόγος επιφάνειας/ όγκου και οι μικρές αποστάσεις μεταξύ των μεσοκυττάρων χώρων συμβάλλουν στην ταχεία εξισορρόπηση της συγκέντρωσης των υδρατμών στο εσωτερικό του φύλλου. Επομένως οι μεσοκυττάριοι χώροι και η επιφάνεια εξάτμισης των κυτταρικών τοιχωμάτων βρίσκονται κοντά σε συνθήκες εξισορρόπησης των υδατικών δυναμικών τους. Σύμφωνα με τα παραπάνω η σχετική υγρασία στο εσωτερικό του φύλλου ανέρχεται στο 100% (είναι δηλ. κορεσμένη σε υδρατμούς), συνεπώς η διαφορά συγκέντρωσης υδρατμών μεταξύ της εσωτερικής και εξωτερικής ατμόσφαιρας των φύλλων καθορίζεται από τη σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας.

Αντίσταση διάχυσης η οποία παρεμβάλλεται στη διανυόμενη διαδρομή. Η αντίσταση διάχυσης εξαρτάται από δύο συνιστώσες: 1.τη στοματική αντίσταση, η οποία αποτελεί τη μοναδική παράμετρο που επιδέχεται ενεργό ρύθμιση, μέσω των αυξομειώσεων του εύρους των στοματικών πόρων, και 2. την αντίσταση του οριακού στρώματος του φύλλου, δηλαδή την αντίσταση του στρώματος ακίνητου αέρα στην επιφάνεια του φύλλου. Το πάχος του στρώματος είναι αντιστρόφως ανάλογο της ταχύτητας του ανέμου και αυξάνεται από την παρουσία τριχών ή άλλων ανάγλυφων σχηματισμών καθώς και από την συστροφή των φύλλων. Οι τροποποιήσεις αυτές έχουν ως αποτέλεσμα οι εξερχόμενοι υδρατμοί από τα στόματα ή την εφυμενίδα να διαχέονται στο σχετικά αδιατάρακτο οριακό στρώμα, αυξάνοντας τη σχετική υγρασία του.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να τονιστεί ότι η διαπνοή δεν πρέπει να αντιμετωπίζεται αποκλειστικά ως μια αναπόφευκτη διαδικασία απωλειών νερού, διότι μέσω αυτής εκτελούνται δύο ζωτικής σημασίας λειτουργίες:

Η ψύξη των φύλλων λόγω της εξάτμισης του νερού, αφού μέρος της ενέργειας ακτινοβολίας που προσπίπτει στο φύλλο καταναλώνεται για τη μετατροπή του νερού από υγρό σε αέριο.

Η διατήρηση του διαπνευστικού ρεύματος μέσω του οποίου είναι δυνατή η συνεχής ροή νερού δια μέσου των αγγείων του ξύλου, ευθύνεται και για την τροφοδοσία των υπέργειων

οργάνων με τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία τα οποία συμπαρασύρονται από το διακινούμενο νερό.

Θερμοκρασία (φύλλου-αέρα): Η θερμοκρασία επηρεάζει τη μερική πίεση των υδρατμών κυρίως στην ελεύθερη ατμόσφαιρα. Η αύξηση της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος προκαλεί ελάττωση της μερικής πίεσης των υδρατμών της ατμόσφαιρας, ενώ δεν συμβαίνει το ίδιο με την ατμόσφαιρα στο εσωτερικό του φύλλου που παραμένει κορεσμένη. Επομένως αυξομειώσεις της θερμοκρασίας μπορεί να μεταβάλλουν τη διαφορά μερικών πιέσεων των υδρατμών μεταξύ εσωτερικής και εξωτερικής ατμόσφαιρας του φύλλου, η οποία είναι ανάλογη προς την ταχύτητα διάχυσης των υδρατμών.

A.7.2.3. Ο έλεγχος των στοματικών κινήσεων «συμβιβάζει» τη διαπνοή με τη φωτοσύνθεση

Το εύρος του στοματικού πόρου ρυθμίζεται από ορισμένους παράγοντες του περιβάλλοντος εις τρόπον ώστε να πραγματοποιείται η μέγιστη δυνατή φωτοσύνθεση με τις λιγότερες απώλειες νερού. Οι κυριότεροι παράγοντες του περιβάλλοντος που επηρεάζουν το άνοιγμα των στομάτων, εκτός από την επάρκεια νερού, είναι η συγκέντρωση του CO₂ της ατμόσφαιρας και η ένταση της φωτεινής ακτινοβολίας.

A.7.2.4. Η επάρκεια νερού και η επίδραση της φυτοορμόνης ABA

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

Ο μηχανισμός των στοματικών κινήσεων παρουσιάζεται ευαίσθητος στην έλλειψη νερού στο έδαφος και το εύρος του πόρου μειώνεται κατάλληλα. Η αντίληψη διαμόρφωσης συνθηκών ανεπάρκειας νερού στο έδαφος γίνεται μέσω ενός ορμονικού σήματος, του αμπισικού οξέος (ABA). Η ορμόνη αυτή συντίθεται στις ρίζες και σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης η συγκέντρωσή της αυξάνεται. Το ABA μεταφέρεται μέσω των αγγείων του ξύλου στα φύλλα και τον κύριο στόχο αποτελούν τα στόματα. Το ABA προσδένεται σε ειδικούς υποδοχείς στις κυτοπλασματικές μεμβράνες των καταφρακτικών κυττάρων και προκαλεί ταχεία έξοδο ιόντων K⁺ και των συνοδών ανιόντων προς τα παρακαταφρακτικά κύτταρα. Η απώλεια ιόντων K⁺ προκαλεί πτώση της πίεσης σπαργής των καταφρακτικών κυττάρων και μείωση του εύρους του στοματικού πόρου. Σε συνθήκες αγρού σε πολλά φυτικά είδη μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και πολλά καλλιεργούμενα, μέτρια υδατική καταπόνηση επιφέρει το μεσημβρινό κλείσιμο των στομάτων, ενώ σε συνθήκες έντονης έλλειψης νερού τα στόματα ανοίγουν μόνο τις πρωινές ώρες της ημέρας.

A.7.2.5. Η συγκέντρωση του CO₂

Η επικράτηση χαμηλών συγκεντρώσεων CO₂ στο εσωτερικό ενός φύλλου προκαλεί άνοιγμα των στομάτων, ενώ υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ προκαλούν το κλείσιμο (Horskins, 1995; Αϊβαλάκις κ.α. 2003). Με τη ρύθμιση αυτή επιτυγχάνεται ο συντονισμός της φωτοσυνθετικής λειτουργίας με το μηχανισμό των κινήσεων των καταφρακτικών κυττάρων. Σε συνθήκες ικανοποιητικών επιπέδων φωτισμού, η συνεχής αφομοίωση CO₂ από τα κύτταρα του μεσόφυλλου έχει ως αποτέλεσμα την ταχεία πτώση της συγκέντρωσης του CO₂ στους μεσοκυττάρους χώρους. Η επικράτηση χαμηλών συγκεντρώσεων CO₂ προκαλεί περαιτέρω άνοιγμα των στομάτων, ταχύτερη διάχυσή του από την ατμόσφαιρα προς το εσωτερικό του φύλλου και επομένως αύξηση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας. Σε συνθήκες ανεπαρκών επιπέδων φωτισμού ή στη διάρκεια της νύχτας η φωτοσύνθεση υπολειπεται ή παρεμποδίζεται πλήρως, οπότε η συγκέντρωση CO₂ στο εσωτερικό του φύλλου αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς λόγω της αναπνευστικής δραστηριότητας. Αφού δεν υπάρχει ανάγκη πλέον εισόδου του CO₂ της ατμόσφαιρας, τα στόματα κλείνουν προκειμένου να μην υπάρξουν άσκοπες απώλειες νερού.

A.7.2.6. Η ένταση φωτεινής ακτινοβολίας

Σε συνθήκες επάρκειας νερού και ικανοποιητικών τιμών ατμοσφαιρικής υγρασίας, το εύρος του στοματικού πόρου εξαρτάται από την ένταση φωτεινής ακτινοβολίας που προσπίπτει στο φύλλο. Απουσία φωτισμού τα στόματα παραμένουν κλειστά. Σύμφωνα με τα παραπάνω, στα περισσότερα φυτικά είδη τα στόματα ανοίγουν την ημέρα και κλείνουν τη νύκτα. Ωστόσο έχουν αναφερθεί περιπτώσεις φυτικών ειδών στα οποία τα στόματα παραμένουν ανοικτά ή μισόκλειστα κατά την διάρκεια της νύκτας προκειμένου να αντληθούν ανόργανα θρεπτικά στοιχεία του εδάφους. Εκτός αυτού στα φυτά CAM, λόγω του ιδιόμορφου μεταβολισμού τους τα στόματα ανοίγουν κατά τη διάρκεια της νύκτας και παραμένουν ερμεικικά κλειστά στη διάρκεια της ημέρας..

Η ρύθμιση του ανοίγματος του στοματικού πόρου μέσω της έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας υλοποιείται μέσω της αντίληψης φωτεινών ερεθισμάτων από δύο διαφορετικούς μηχανισμούς.

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

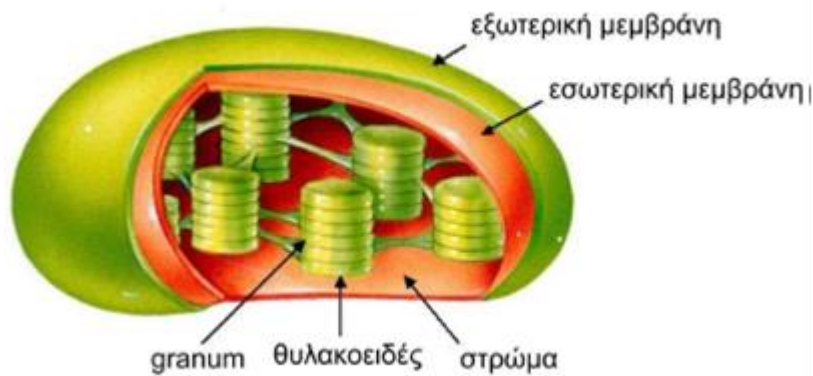
β. Τα φωτεινά ερεθίσματα γίνονται αντιληπτά μέσω ενός κατάλληλου μηχανισμού στον οποίο το ρόλο φωτοδέκτη παίζει το καροτενοειδές ζεαξανθίνη. Ο μηχανισμός αυτός είναι ευαίσθητος στο μπλε φως και προκαλεί το άνοιγμα των στομάτων μέσω της ενεργοποίησης αντλιών πρωτονίων και της επαγωγής της υδρόλυσης του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

A.7.3. Η λειτουργία της φωτοσύνθεσης ολοκληρώνεται σε δύο φάσεις

Η φωτοσυνθετική λειτουργία πραγματοποιείται σε εξειδικευμένα υποκυτταρικά οργανίδια, τους χλωροπλάστες, και ολοκληρώνεται σε δύο φάσεις. Περιλαμβάνει πολυάριθμες, στενά συνδεδεμένες μεταξύ τους φωτοευαίσθητες και θερμοευαίσθητες αντιδράσεις και αφορά στην απορρόφηση πρωτονίων, τη μεταφορά ηλεκτρονίων και το μεταβολισμό του άνθρακα (Ridge, 2002; Rost *et al.*, 1998).

A.7.3.1. Η φωτοσύνθεση επιτελείται στους χλωροπλάστες

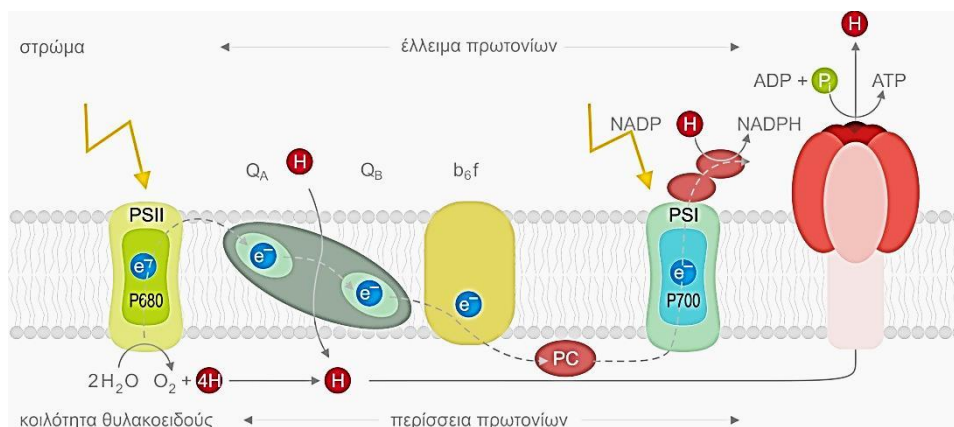
Οι χλωροπλάστες συνιστούν τα οργανίδια στα οποία καθίσταται δυνατή η διεξαγωγή της φωτοσυνθετικής διαδικασίας. Τα οργανίδια αυτά περιβάλλονται από διπλή εξωτερική μεμβράνη, τον φάκελο, ο οποίος περικλείει στο εσωτερικό του ένα άμορφο ζελατινώδες υλικό, το στρώμα. Ο φάκελος αποτελείται από δύο διλιπιδιακές μεμβράνες από γαλακτολιπίδια οι οποίες περιέχουν καροτενοειδή, αλλά όχι χλωροφύλλη (Δροσόπουλος, 1998; Lawlor, 2001). Εντός του στρώματος αναπτύσσεται ένα δίκτυο μεμβρανών, τα θυλακοειδή, τα οποία σε ορισμένες περιοχές στοιβάζονται σε επάλληλες σειρές σχηματίζοντας τα grana. Η κοιλότητα η οποία σχηματίζεται στο εσωτερικό κάθε θυλακοειδούς ονομάζεται lumen. Στα θυλακοειδή πραγματοποιούνται οι φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης καθώς σε αυτά εντοπίζονται όλα τα μόρια της χλωροφύλλης και των βοηθητικών φωτοσυνθετικών χρωστικών (Sestak, 1985; Northington and Schneider, 1996; Rost *et al.*, 1998; Taiz and Zeiger, 2012). Τα λιπόφιλα μόρια των φωτοσυνθετικών χρωστικών εντοπίζονται βυθισμένα στη διπλοστοιβάδα των λιπιδίων των θυλακοειδών και σχηματίζουν σύμπλοκα με πρωτεΐνες. Τα σύμπλοκα χρωστικών-πρωτεϊνών οργανώνονται σε δύο φωτοσυστήματα (PS I και PS II). Επίσης στις μεμβράνες των θυλακοειδών εντοπίζεται το σύμπλοκο του κυτοχρώματος b6f που αποτελεί το σημαντικότερο ενδιάμεσο φορέα για τη μεταφορά των ηλεκτρονίων από το PS II στο φωτοχημικό κέντρο του PS I. Οι σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης δηλαδή οι αντιδράσεις αναγωγής του διοξειδίου του άνθρακα, οι οποίες καταλύονται από υδατοδιαλυτά ένζυμα, λαμβάνουν χώρα το στρώμα.



Εικόνα 11. Τρισδιάστατη απεικόνιση χλωροπλάστη. Διακρίνεται το σύστημα διπλών μεμβρανών και των μεμβρανικών διατάξεων των θυλακοειδών του στρώματος και των grana.

A.7.3.2. . Η παραγωγή φωτοσυνθετικών προϊόντων προϋποθέτει τη συνεργασία των φωτεινών και σκοτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης

Η πρώτη φάση της φωτοσύνθεσης περιλαμβάνει αντιδράσεις στις οποίες είναι απαραίτητη η παρουσία φωτός (φωτεινές αντιδράσεις). Σε αυτές η ενέργεια ακτινοβολίας μετατρέπεται σε χημική υπό τη μορφή σταθερών χημικών ενώσεων με υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο, του NADPH και του ATP. Παράλληλα φωτολύονται μόρια νερού και παρέχουν πρωτόνια, ηλεκτρόνια και μοριακό οξυγόνο ως παραπροϊόν (Αιβαλάκης κ.α., 2003). Τα προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων ATP και NADPH (Εικόνα 12), είναι πλούσια σε ενέργεια και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πλήθος βιοχημικών αντιδράσεων σύνθεσης και μεταφοράς που απαιτούν δαπάνη ενέργειας. Μέρος αυτής της ενέργειας καταναλώνεται για τη δέσμευση του CO₂ και την αναγωγή του στο επίπεδο των υδατανθράκων κατά τη δεύτερη φάση (Bjorkman and Demmig, 1987; Schulze and Cadwell, 1995; Northington and Schneider, 1996; Lawlor, 2001; Ridge, 2002).



Εικόνα 12. Απλουστευμένη σχηματική απεικόνιση των φωτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης.

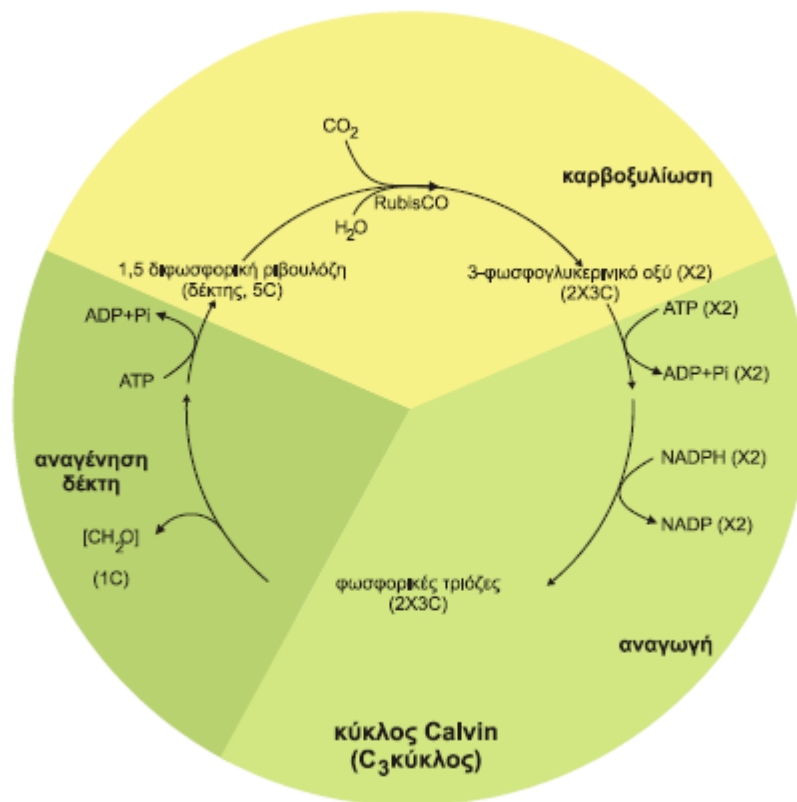
Η δεύτερη φάση δεν εξαρτάται άμεσα από την ύπαρξη φωτισμού (Northington and Schneider, 1996), λαμβάνουν χώρα καθαρά βιοχημικές αντιδράσεις (σκοτεινές αντιδράσεις) και η ενέργεια που απαιτείται για τη σύνθεση τριοζών από άτομα άνθρακα, οξυγόνου και υδρογόνου προσφέρεται από το ATP (Taiz and Zeiger, 1998). Παράλληλα η κατανάλωση NADPH προσφέρει τα πρωτόνια και ηλεκτρόνια για την αναγωγή του CO₂ στο επίπεδο του υδατάνθρακα. Η βασική αντίδραση (I) είναι ισχυρά ενδεργονική καθώς απαιτεί μεγάλη δαπάνη ενέργειας (2840 kJ για κάθε mole εξόζης που παράγεται) και εμπεριέχει πολυάριθμες αντιδράσεις που συνεργάζονται ώστε να παραχθούν τα τελικά φωτοσυνθετικά προϊόντα.



Η αντίδραση αυτή υλοποιείται μέσω τριών βιοχημικών παραλλαγών που είναι γνωστές έως σήμερα (Taiz and Zeiger, 2006):

- α. Η C₃ φωτοσύνθεση, με πρώτο προϊόν το 3-φωσφογλυκερινικό οξύ (3-PGA)
- β. Η C₄ φωτοσύνθεση με πρώτο προϊόν το οξαλοξικό οξύ, και
- γ. Ο μεταβολισμός οξέων τύπου Crassulaceae (CAM)

Στη C₃ φωτοσύνθεση το δεσμευόμενο CO₂ ανάγεται έως το επίπεδο του υδατάνθρακα μέσω μιας κυκλικής διαδικασίας, τον αναγωγικό κύκλο των φωσφοπεντοζών (RPPC) ή κύκλο του Calvin. Το CO₂ μετατρέπεται σε φωσφορυλιωμένα σάκχαρα ενώ ο δέκτης του CO₂ (1,5-διφωσφορική ριβουλόζη) αναγεννάται. Ο κύκλος αυτός λειτουργεί σε όλους τους φωτοσυνθετικούς ευκαρυωτικούς οργανισμούς καθώς και σε ορισμένους προκαρυωτικούς. Ο κύκλος Calvin δεν περιλαμβάνει φωτοχημικές αντιδράσεις, ωστόσο για τη λειτουργία του είναι απαραίτητος ο εφοδιασμός με ATP και NADPH καθώς και με CO₂. Ο κύκλος περιλαμβάνει τρία επί μέρους στάδια: καρβοξυλίωση, αναγωγή και αναγέννηση του δέκτη (Εικόνα 13) (Huffaker and Miller, 1978; Ridge, 2002; Rost et al., 1998).



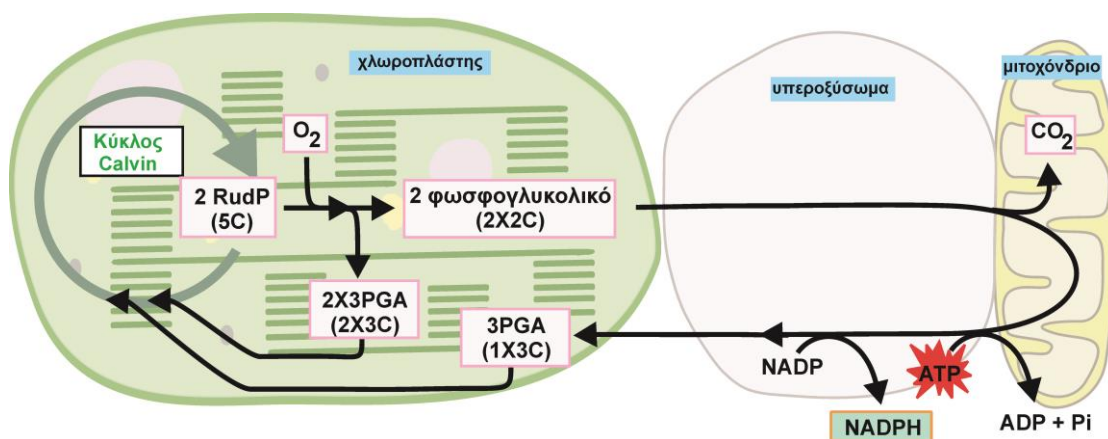
Εικόνα 13. Ο κύκλος του Calvin περιλαμβάνει τρία στάδια με τελική κατάληξη την αφομοίωση και αναγωγή ενός μορίου CO₂ στο επίπεδο του υδατάνθρακα και την αναγέννηση του αρχικού υποστρώματος.

Στο αρχικό στάδιο του κύκλου, το CO₂ ενσωματώνεται με τη μορφή μιας καρβοξυλομάδας στην 1,5-διφωσφορική ριβουλόζη και παράγονται δύο μόρια 3-φωσφογλυκερικού οξέος (πρώτο προϊόν). Η αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο καρβοξυλάση-οξυγενάση της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης (RubisCO). Στο δεύτερο στάδιο το 3PGA ανάγεται προς φωσφορικές τριόζες (3-φωσφορική γλυκεριναλδεύδη ή φωσφορική διϋδρόξυακετόνη) με κατανάλωση ATP και NADPH. Όταν έχει ολοκληρωθεί του στάδιο αυτό το CO₂ έχει πλέον αναχθεί στο επίπεδο του υδατάνθρακα με κέρδος μια υδατανθρακική μονάδα, ενώ για κάθε έξι περιστροφές του κύκλου το καθαρό προϊόν είναι ένα μόριο εξόζης.

Στο τρίτο στάδιο επιτελούνται μια σειρά από αντιδράσεις, οι οποίες είναι απαραίτητες για την αναγέννηση του μορίου-δέκτη. Η καταναλισκόμενη ενέργεια κατά τη διεξαγωγή αυτών των αντιδράσεων προσφέρεται με τη μορφή ATP. Με την αναγέννηση του μορίου-δέκτη ο κύκλος Calvin έχει ολοκληρωθεί και η 1,5-διφωσφορική ριβουλόζη είναι διαθέσιμη εκ νέου ως υπόστρωμα της RubisCO.

A.7.3.3. Η φωτοαναπνοή προκαλεί απώλειες άνθρακα

Κάτω από ορισμένες συνθήκες λόγω της διπτής φύσης της RubisCO, η οποία μπορεί να δρα εκτός από καρβοξυλάση και ως οξειγενάση, το κανονικό υπόστρωμα (το CO₂) μπορεί να αντικατασταθεί από το μοριακό οξυγόνο και ο δέκτης (1,5-διφωσφορική ριβουλόζη) να οξειδωθεί. Η οξειδωση της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης συνοδεύεται και από τη διάσπασή της παράγοντας ένα μόριο 3-φωσφογλυκερικού οξέος, το οποίο συνεχίζει την πορεία του στον κύκλο του Calvin, και ένα μόριο φωσφογλυκολικού οξέος. Στη συνέχεια το φωσφογλυκολικό μέσω μίας σειράς αντιδράσεων οι οποίες διεξάγονται σε διαφορετικά υποκυτταρικά οργανίδια (χλωροπλάστες, υπεροξεισώματα, μιτοχόνδρια) μετατρέπεται τελικά σε 3-φωσφογλυκερικό το οποίο επανεισάγεται στον κύκλο Calvin. Η παράπλευρη αυτή βιοχημική οδός ονομάζεται φωτοαναπνοή διότι επάγεται από το φως αλλά παρουσιάζει και κοινά χαρακτηριστικά με την αναπνοή: εκλύεται CO₂ και καταναλώνεται O₂, ενώ παράλληλα καταναλώνεται ενέργεια. Η ένταση της φωτοαναπνοής εξαρτάται από μια σειρά παράγοντες, όπως το είδος του φυτού, την ένταση της φωτεινής ακτινοβολίας, τη θερμοκρασία κ.α. Η αναλογία των μερικών πιέσεων CO₂/O₂ στο περιβάλλον στο οποίο λειτουργεί η RubisCO είναι καθοριστικής σημασίας. Ο κύκλος Calvin λειτουργεί κανονικά παρουσία υψηλής μερικής πίεσης CO₂ και χαμηλής O₂. Ωστόσο κάτω από τις υπάρχουσες συνθήκες αέριου περιβάλλοντος (0.040% CO₂, 21% O₂) η εκτροπή άνθρακα προς τις μεταβολικές διαδικασίες της φωτοαναπνοής φθάνει το 30%. Οι απώλειες αυτές μπορεί να αυξηθούν περαιτέρω σε συνθήκες ανεπαρκούς τροφοδοσίας των χλωροπλάστων με CO₂, όταν π.χ. τα στόματα παραμένουν κλειστά ή μισόκλειστα λόγω έλλειψης νερού, οπότε περιορίζονται μεν οι απώλειες νερού, αλλά ταυτόχρονα παρεμποδίζεται και η διάχυση του CO₂ προς τα φωτοσυνθετικά κύτταρα.



Εικόνα 14. Η πορεία των βιοχημικών αντιδράσεων της φωτοαναπνοής. Οι σχέσεις μεγέθους των οργανιδίων δεν ανταποκρίνονται στην πραγματικότητα. Οι επί μέρους αντιδράσεις μετατροπής των δύο μορίων φωσφογλυκολικού προς ένα μόριο 3-φωσφογλυκερικού που πραγματοποιούνται στα υπεροξυσώματα και στα μιτοχόνδρια δεν παρουσιάζονται.

Τέλος, υπάρχουν βάσιμες ενδείξεις ότι η λειτουργία της φωτοαναπνοής παρέχει προστασία, κάτω από αντίξοες συνθήκες ή σε συνθήκες υπερφόρτωσης της φωτοσυνθετικής συσκευής λειτουργώντας ως βαλβίδα εκτόνωσης της περίσσειας ενέργειας (Ridge, 2002; Taiz and Zeiger, 2006, Gill and Tuteja, 2010).

A.7.3.4. Ο υπολογισμός της φωτοσυνθετικής ταχύτητας

Η φωτοσυνθετική ταχύτητα μπορεί να υπολογιστεί είτε ως η ποσότητα CO₂ που δεσμεύει ένα φύλλο στη μονάδα του χρόνου, είτε ως ποσότητα O₂ που εκλύεται στη μονάδα του χρόνου. Οι μετρήσεις στη συνέχεια ανάγονται είτε ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου, είτε ανά μονάδα βάρους φύλλου είτε ανά ποσότητα χλωροφύλλης. Οι μετρήσεις της φωτοσυνθετικής ταχύτητας δεν καταγράφουν άμεσα το πραγματικό της μέγεθος, αλλά τη διαφορά μεταξύ φωτοσύνθεσης και των δύο «αντίρροπων» λειτουργιών, δηλ. της αναπνοής και της φωτοαναπνοής. Η μετρήσιμη φωτοσυνθετική ταχύτητα ορίζεται ως καθαρή φωτοσύνθεση, ενώ η ολική φωτοσύνθεση υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\text{Ολική Φωτοσύνθεση} = \text{Καθαρή Φωτοσύνθεση} + \text{Αναπνοή} + \text{Φωτοαναπνοή}$$

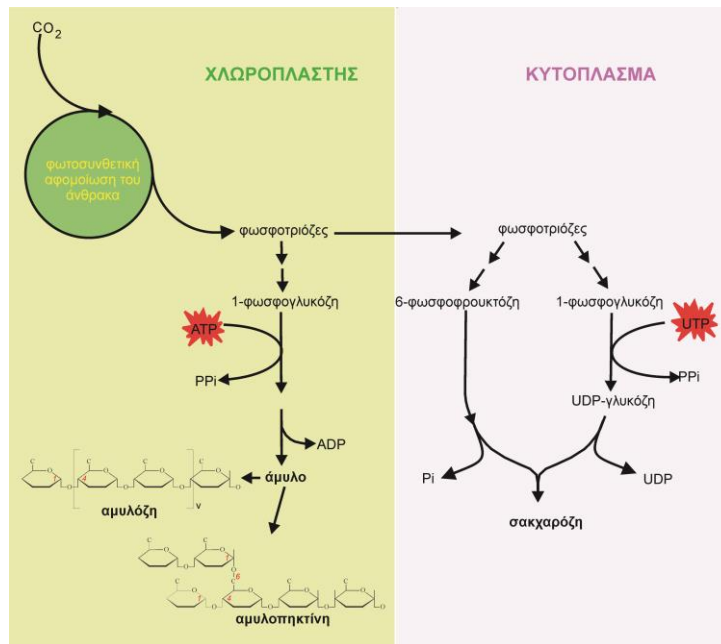
A.7.3.5. Τα φωτοσυνθετικά προϊόντα αποτελούν το καθαρό κέρδος σε άνθρακα

Το καθαρό αποτέλεσμα της φωτοσύνθεσης είναι η παραγωγή υδατανθράκων μέσω του κύκλου του Calvin. Οι φωσφορικές τριόζες που σχηματίζονται κατά το δεύτερο στάδιο του κύκλου (κυρίως η 3-φωσφορική γλυκεριναλδεύδη) αποτελούν μόρια –κλειδιά για το σύνολο του μεταβολισμού των φυτικών οργανισμών. Μέσω αναβολικών διαδικασιών με βάση αυτόν τον σκελετό των τριών μόνο ατόμων άνθρακα και χρησιμοποιώντας νερό και ανόργανα θρεπτικά στοιχεία, το φυτικό κύτταρο μπορεί να συνθέσει οποιοδήποτε μόριο είναι αναγκαίο για την ομαλή αύξηση και ανάπτυξη. Με αυτόν τον τρόπο είναι δυνατή η βιοσύνθεση των απαιτούμενων για την κάλυψη των τρεχουσών αναγκών μορίων αλλά και αυτή των μεγαλομορίων για την αποταμίευση σκελετών άνθρακα και ενέργειας, τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν όταν υπάρξει ανάγκη. Η δυνατότητα αποταμίευσης είναι καθοριστικής σημασίας για τα φύλλα, αφού αυτά παράγουν συνεχώς μέσω της φωτοσύνθεσης πλεόνασμα σε σκελετούς άνθρακα και ενέργεια. Στο σημείο αυτό πρέπει να τονιστεί ότι ενώ το ATP και το NADPH (προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων) αποτελούν ιδανικές μορφές μεταφοράς μεταβολικής ενέργειας, ωστόσο λόγω της εξαιρετικής αστάθειας των μορίων τους προσφέρονται μόνο για σύντομη αποθήκευση ενέργειας. Συνεπώς η αποταμίευση ενέργειας ή/και σκελετών άνθρακα μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της σύνθεσης ορισμένων μορίων, η δομή των οποίων καθορίζει και τη διάρκεια της αποθήκευσης:

- **Γλυκόζη, σακχαρόζη.** Προσφέρονται για μεσοπρόθεσμη αποταμίευση σκελετών άνθρακα και ενέργειας, αλλά και για μεταφορά σε μεγάλες αποστάσεις μέσω του ηθμού (κυρίως ο δισακχαρίτης σακχαρόζη, ο οποίος αποτελείται από γλυκόζη και φρουκτόζη).

Και τα δύο μόρια παρουσιάζουν σταθερότητα, ωστόσο δεν είναι δυνατό να συσσωρευτούν σε μεγάλες ποσότητες διότι λόγω του χαμηλού μοριακού βάρους τους, αποτελούν οσμωτικά ενεργές ουσίες. Η σύνθεση της σακχαρόζης πραγματοποιείται στο κυτόπλασμα (Εικόνα 14). Κατά τη διάρκεια της ημέρας η σακχαρόζη μεταφέρεται συνεχώς από τα κύτταρα του μεσόφυλλου προς τους ετερότροφους ιστούς μέσω του ηθμού, οι οποίοι θα την καταναλώσουν (βλαστούς, ρίζες, κόνδυλους, καρπούς). Σε ορισμένα φυτικά είδη μεταφέρονται μέσω του ηθμού και άλλοι υδατάνθρακες όπως η ραφφινόζη, η σταχυόζη και η βερμπασκόζη, οι οποίες προκύπτουν με την προσθήκη στη σακχαρόζη ενός, δύο και τριών μορίων γαλακτόζης, αντίστοιχα, καθώς και οι αλκοόλες των σακχάρων σορβιτόλη και μαννιτόλη. Η σύνθεση των υδατανθράκων αποτελεί σημαντικό παράγοντα μεταβολικής ρύθμισης, έτσι ώστε η βιοσύνθεσή τους να εξισορροπείται με τη μεταβολική ζήτηση. Η παραγωγή σακχαρόζης στο κυτόπλασμα των κυττάρων του φύλλου, συνδυαζόμενη με τη φόρτωσή της στον ηθμό και τη μεταφορά της στους υπόλοιπους ιστούς εγγυάται την αριστοποίηση της φυτικής ανάπτυξης. Κατά συνέπεια η σακχαρόζη όχι μόνο προμηθεύει σκελετούς άνθρακα για τις ανάγκες της συντήρησης, ανάπτυξης και αποθήκευσης όλων των φυτικών οργάνων, αλλά αποτελεί και ένα ενδιάμεσο σήμα επικοινωνίας μεταξύ των σημείων παραγωγής και κατανάλωσης, ώστε να επιμερίζεται κατάλληλα ο άνθρακας σε όλους τους ιστούς.

- **Άμυλο, λιπίδια.** Αποτελούν τις ιδανικές μορφές μακροπρόθεσμης αποταμίευσης άνθρακα και ενέργειας. Πρόκειται για σταθερά μόρια, μη οσμωτικά ενεργά λόγω του υψηλού μοριακού τους βάρους (άμυλο) ή του υδρόφοβου χαρακτήρα τους (λιπίδια). Η σύνθεση των πολυσακχαριτών (στους οποίους συμπεριλαμβάνεται και το άμυλο) πραγματοποιείται μέσω της γλυκονογένεσης, μιας μεταβολικής πορείας παρόμοιας, αλλά με αντίθετη φορά αυτής της γλυκόλυσης. Για τη σύνθεση του αμύλου οι τριόζες μετατρέπονται σε εξόζες, κυρίως σε γλυκόζη. Η δομική μονάδα του αμύλου είναι η α-D-γλυκόζη. Ο πολυμερισμός της α-D-γλυκόζης σε ευθύγραμμες αλυσίδες με γλυκοζιτικούς δεσμούς α-1,4 παράγει το συστατικό του αμύλου αμυλόζη, ενώ η προσθήκη και πλάγιων διακλαδώσεων στις ευθύγραμμες αλυσίδες μέσω 1,6 γλυκοζιτικών δεσμών δημιουργεί το συστατικό αμυλοπηκτίνη. Η σύνθεση του αμύλου πραγματοποιείται στο στρώμα των χλωροπλαστών (Εικόνα 14). Η κατακράτηση μέρους των φωτοσυνθετικών προϊόντων με τη μορφή αμύλου στον χλωροπλάστη κατά τη διάρκεια της ημέρας εξασφαλίζει την ύπαρξη φωτοσυνθετικού προϊόντος προς μετατροπή σε σακχαρόζη και εξαγωγή κατά τη διάρκεια της νύχτας.



Εικόνα 15. Η πορεία σχηματισμού του αμύλου και της σακχαρόζης

A.8. Υδατική καταπόνηση

Σε παγκόσμιο επίπεδο, η ξηρασία σε συνδυασμό με υψηλές θερμοκρασίες και υψηλής έντασης ηλιακή ακτινοβολία αποτελεί τον σημαντικότερο περιοριστικό περιβαλλοντικό παράγοντα καταπόνησης για την επιβίωση των φυτών και την παραγωγικότητα των καλλιεργειών (Boyer, 1982; Chaves *et al.*, 2003; Flexas *et al.*, 2006).



Η ξηρασία, ως κλιματικός παράγοντας, είναι το αποτέλεσμα του συνδυασμού της περιορισμένης διαθεσιμότητας νερού (από την ατμόσφαιρα ή/και από το έδαφος) και της απώλειάς του (μέσω της εξατμισοδιαπνοής). Οι επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης στην παραγωγικότητα ή και επιβίωση των φυτών είναι πολυσύνθετες και διαφέρουν ανάλογα με την ένταση και τη διάρκεια της καταπόνησης (Chaves and Oliveira, 2004; Lizana *et al.*, 2006; Fan *et al.*, 2009).

Σήμερα, η συνεχώς αυξανόμενη ανησυχία για τις επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής οδηγεί την έρευνα σε νέες κατευθύνσεις οι οποίες έχουν ως στόχο την βελτιστοποίηση των καλλιεργητικών και αρδευτικών μεθόδων και την επιλογή γονοτύπων με λιγότερες απαιτήσεις σε νερό. Τα σενάρια της κλιματικής αλλαγής προβλέπουν αύξηση των συνθηκών ξηρασίας σε πολλές περιοχές του πλανήτη όπου στο πρόσφατο παρελθόν δεν είχαν καταγραφεί προβλήματα (IPCC 2007) με αποτέλεσμα τη μείωση των καλλιεργητικών αποδόσεων (Long

and Ort, 2010). Η ανάπτυξη και επιβίωση των φυτών σε συνθήκες ξηρασίας εξαρτώνται άμεσα από την ικανότητα προσαρμογής και εγκλιματισμού τους. Για αυτόν τον λόγο οι μηχανισμοί αντοχής στην ξηρασία αποτελούν ερευνητικό αντικείμενο εξέχουσας σημασίας.

A.8.1. Στρατηγικές αντιμετώπισης της υδατικής καταπόνησης

Ο όρος στρατηγική αναφέρεται σε μια ακολουθία γενετικά καθοριζόμενων μηχανισμών οι οποίοι δίδουν τη δυνατότητα σε έναν φυτικό οργανισμό να επιβιώνει σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον.

Η επιλογή της επιμέρους στρατηγικής από το κάθε φυτό έναντι συγκεκριμένου παράγοντα καταπόνησης, προϋποθέτει και τις κατάλληλες τροποποιήσεις σε επίπεδο δομών ή/και λειτουργιών. Εάν οι τροποποιήσεις καθορίζονται γενετικά και εμφανίζονται μέσω της διαδικασίας της επιλογής για ένα διάστημα αρκετών γενεών, περιγράφονται με τον όρο προσαρμογή.

Οι επίκτητες τροποποιήσεις μορφολογικών ή/και φυσιολογικών χαρακτηριστικών κατά τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου ενός φυτικού οργανισμού, ως απάντηση στην ύπαρξη ενός ή περισσότερων παραγόντων καταπόνησης αναφέρονται ως εγκλιματισμός (Nilsen and Orcutt 1996). Αυτές οι επαγόμενες τροποποιήσεις δεν μεταβιβάζονται ως χαρακτήρας στην επόμενη γενεά. Ωστόσο η ικανότητα εγκλιματισμού αποτελεί γενετικά καθοριζόμενο χαρακτηριστικό.

Τα φυτά έχουν αναπτύξει τρεις κυρίως στρατηγικές για την αντιμετώπιση της έλλειψης νερού την διαφυγή, την ανθεκτικότητα και την αποφυγή (Levitt, 1972; Turner, 1986; Chaves *et al.*, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2012).

Διαφυγή. Τη στρατηγική αυτή υιοθετούν φυτικοί οργανισμοί οι οποίοι ολοκληρώνουν το (σύντομο) βιολογικό τους κύκλο εντός της ευνοϊκής περιόδου με επάρκεια νερού, επομένως δεν έχουν την ανάγκη λειτουργίας μηχανισμών αντιμετώπισης της ξηρασίας.

Ανθεκτικότητα. Αφορά τη διατήρηση στοιχειώδους μεταβολικής δραστηριότητας ακόμη και σε πολύ χαμηλά επίπεδα δυναμικού του νερού του κυτοπλάσματος.

- Οσμωτική εξισορρόπηση ή οσμωρύθμιση. Η οσμωρύθμιση αφορά τη ρύθμιση του οσμωτικού δυναμικού των ιστών σε χαμηλότερα επίπεδα μέσω συσσώρευσης οσμωτικά ενεργών μεταβολιτών. Η οσμωτική εξισορρόπηση έχει ως αποτέλεσμα τη διευκόλυνση της πρόσληψης νερού μέσω της δημιουργίας χαμηλότερου δυναμικού στους ιστούς (Shackel *et al.*, 1982; Parker and Pallardy, 1987; Gunasekera and Berkowitz, 1992; Martiinez *et al.*, 2004). Στις συνθήκες αυτές καθίσταται δυνατή η αφομοίωση CO₂, αφού τα στόματα μπορεί να παραμένουν πλήρως ή εν μέρει ανοικτά. Η οσμωρύθμιση αποτελεί σημαντικό παράγοντα της αντοχής στην ξηρασία για έναν σημαντικό αριθμο καλλιεργούμενων φυτών (Ludlow and Muchow, 1990; Kramer and Boyer, 1995; Martiinez *et al.*, 2007). Οι οσμωτικά ενεργοί μεταβολίτες οι οποίοι συσσωρεύονται περιλαμβάνουν ανόργανα ιόντα και οργανικές ενώσεις. Οι οργανικές αυτές ενώσεις αναφέρονται ως συμβατοί ωσμολύτες διότι πέραν της οσμωρυθμιστικής τους δράσης,

προστατεύουν ευαίσθητα μόρια (κυρίως πρωτεΐνες) από την αφυδάτωση και περαιτέρω αποδιάταξη και καταστροφή των μορίων τους (Bohnert and Jensen, 1995; Chen and Murata, 2002; Khan *et al.*, 2011). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ετερογενής ομάδα των οργανικών ουσιών η οποία περιλαμβάνει εξαιρετικά ευδιάλυτα μόρια, όπως αμινοξέα (προλίνη), ενώσεις του τεταρτοταγούς αμμωνίου (βεταΐνη της αλανίνης, βεταΐνη της προλίνης, βεταΐνη της γλυκίνης) και σάκχαρα- κυρίως του τύπου των πολυ-υδροξυ αλκοολών (μαννιτόλη, σορβιτόλη, πινιτόλη). Εκτός αυτού, ορισμένοι συμβατοί οσμωλύτες (όπως η σορβιτόλη, η μαννιτόλη και η προλίνη) λειτουργούν και ως αντιοξειδωτικές ουσίες, εξουδετερώνοντας ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Gill and Tuteya, 2010).

- Ανθεκτικότητα έναντι έντονης και παρατεταμένης αφυδάτωσης. Αυτού του τύπου ανθεκτικότητα εμφανίζουν κυρίως οργανισμοί των οποίων το σχετικό περιεχόμενο σε νερό βρίσκεται σε ισορροπία με τη σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας, όπως οι ποικιλοϋδρικοί οργανισμοί, οι οποίοι έχουν προσαρμοστεί κατάλληλα ώστε τα κύτταρά τους να επιβιώνουν για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα, παρότι το σχετικό τους περιεχόμενο σε νερό πέφτει σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν μονοκύτταροι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, βρυόφυτα, λειχήνες, καθώς και ορισμένα ανώτερα φυτά. Στη περίπτωση των βρυοφύτων, η ικανότητα επιβίωσης υπό καθεστώς σχεδόν πλήρους αφυδάτωσης οφείλεται κυρίως στη λειτουργία μηχανισμών επιδιόρθωσης των ζημιών που προκλήθηκαν στα κύτταρα από την αφυδάτωση όταν ο οργανισμός ενυδατωθεί εκ νέου. Στα ανώτερα φυτά περιλαμβάνονται ορισμένα είδη *Ramonda* και *Haberlea* της οικογένειας Gesneriaceae (ενδημικά της Βαλκανικής χερσονήσου), καθώς και τα λεγόμενα φυτά αναβίωσης, είδη των οικογενειών Myrothamnaceae, Scrophulariaceae, Lamiaceae, Cyperaceae, Poaceae, Liliaceae και Velloziaceae, τα οποία εποικίζουν ξηρές περιοχές της κεντρικής Ασίας, της Αυστραλίας, της Νότιας Αμερικής και της Νότιας Αφρικής. Η ικανότητα επιβίωσης των κυττάρων σε συνθήκες σχεδόν πλήρους αφυδάτωσης, η οποία επέρχεται με τη μετάβαση στη λεγόμενη κατάσταση αναβίωσης αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό των ειδών αυτών. Η αντικατάσταση του νερού των χυμοτοπιών με συμβατούς οσμωλύτες και οι αντιστρεπτές μεταβολές στα μηχανικά χαρακτηριστικά του κυτταρικού τοιχώματος (μέσω της επαγωγής της έκφρασης γονιδίων που κωδικοποιούν εκτασίνες και ενδοτρανσγλουκοσυλάσες της ξυλογλυκάνης) εξασφαλίζουν τη μηχανική σταθεροποίηση των υποκυτταρικών δομών. Επιπρόσθετη προστασία έναντι γενικευμένης αποσταθεροποίησης των υποκυτταρικών δομών υπό συνθήκες ισχυρής αφυδάτωσης εξασφαλίζεται με την υαλοποίηση του κυτταροπλάσματος, η οποία επιτυγχάνεται μέσω της σύνθεσης ορισμένων μορίων υδατανθράκων (όπως η σακχαρόζη, η ραφινόζη και η τρεαλόζη), τα οποία προσφέρουν προστασία στα φωσφολιπίδια των μεμβρανών, ορισμένων πρωτεϊνών. Επίσης οι ιστοί των φυτών αυτών φέρουν λιγότερες πλασμοδέσμες

και ανθεκτικά στην αφυδάτωση κυτταρικά τοιχώματα. Ακόμη η ισχυρή αντιοξειδωτική προστασία παίζει σημαντικό ρόλο, διότι η σταδιακή αφυδάτωση των ιστών επιφέρει αύξηση των ενεργών μορφών οξυγόνου. Σε περίπτωση ενυδάτωσης, τα φυτά ανακτούν σύντομα την κανονική μεταβολική τους δραστηριότητα.

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

α. Αποφυγή με οικονομία νερού. Τα φυτά αυτά διαθέτουν την ικανότητα περιορισμού των διαπνευστικών απωλειών με ταυτόχρονη διατήρηση της ικανότητας αφομοίωσης CO₂ από την ατμόσφαιρα (παρουσιάζουν υψηλή αποδοτικότητα χρήσης νερού WUE). Η εξοικονόμηση νερού και η διαφύλαξη των λιγοστών αποθεμάτων κατά τη διάρκεια της δυσμενούς περιόδου επιτυγχάνεται μέσω της διατήρησης υψηλού δυναμικού του νερού στα κύτταρα των ιστών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα φυτά CAM. Η επιτυχία της στρατηγικής αυτής βασίζεται σε ορισμένα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά:

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

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

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

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

A.8.2. Εγκλιματισμός στην υδατική καταπόνηση

Η ανάπτυξη και επιβίωση ενός φυτού υπό συνθήκες καταπόνησης είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τα προσαρμοστικά χαρακτηριστικά του και την ικανότητα εγκλιματισμού του. Ανεξάρτητα των προσαρμοστικών χαρακτηριστικών και της στρατηγικής που διαθέτει κάθε φυτικό είδος, η σταδιακή έλλειψη νερού έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση μηχανισμών εγκλιματισμού που αποτελεί και την ύστατη προσπάθεια διατήρησης βιολογικής δραστηριότητας (Flexas 2004).

A.8.2.1. Βραχυπρόθεσμος εγκλιματισμός

Ο βραχυπρόθεσμος εγκλιματισμός αναφέρεται στις μορφολογικές και φυσιολογικές τροποποιήσεις στα υπάρχοντα όργανα.

A.8.2.1.1. Περιορισμός της επιφάνειας των αναπτυσσόμενων φύλλων

Η υδατική καταπόνηση έχει ως τελικό βραχυπρόθεσμο αποτέλεσμα το σημαντικό περιορισμό της φυλλικής επιφάνειας (Bussotti, 2002; Καραμπουρνιώτης 2012) λόγω της παρεμπόδισης των κυτταρικών διαιρέσεων και της διάτασης των κυττάρων (Hsiao and Xu, 2000). Υπό συνθήκες ήπιας καταπόνησης η ισχυρή παρεμπόδιση της έκπτυξης των φύλλων σε συνδυασμό με την σχετικά απρόσκοπτη φωτοσυνθετική λειτουργία προκαλεί διαταραχή του μεταβολισμού του άνθρακα με αποτέλεσμα τη συσώρευση σακχάρων και άλλων οργανικών ενώσεων.

A.8.2.1.2. Αποφυγή υπερθέρμανσης του ελάσματος μέσω κατάλληλων κινήσεων

Η απορροφούμενη από τα φύλλα ηλιακή ακτινοβολία τείνει να ανεβάσει τη θερμοκρασία του φύλλου πάνω από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Οι αναπόφευκτες επιπτώσεις στην αύξηση της θερμοκρασίας του ελάσματος αμβλύνονται μέσω κατάλληλων κινήσεων του ελάσματος, ώστε αυτό να μην εκτίθεται πλέον άμεσα στις ηλιακές ακτίνες. Στην περίπτωση των αγροστωδών αλλά και σε ορισμένα δικότυλα φυτά (δενδρολίβανο, ασφάκα) αυτό επιτυγχάνεται μέσω της συστροφής του ελάσματος (Cao and Song, 1998), η οποία οφείλεται στην ύπαρξη κατάλληλων κυττάρων συστροφής.

A.8.2.1.3. Η φυτοορμόνη ABA προκαλεί κλείσιμο των στομάτων υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης

Όπως προαναφέρθηκε (βλ. A.7.2.4. Η επάρκεια νερού και η επίδραση της φυτοορμόνης ABA) ο μηχανισμός των στοματικών κινήσεων παρουσιάζεται ευαίσθητος στην έλλειψη νερού στο έδαφος και το εύρος του πόρου μειώνεται κατάλληλα, ώστε να περιοριστούν οι διαπνευστικές απώλειες. Το εύρος του στοματικού πόρου ρυθμίζεται μέσω αλλαγών στην πίεση σπαργής των καταφρακτικών κυττάρων. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να είναι:

α. *παθητικές* λόγω της απώλειας νερού από τα καταφρακτικά κύτταρα μέσω εξάτμισης,
β. *ενεργητικές* μέσω της απώλειας σπαργής λόγω της εξόδου ιόντων K⁺ από τα καταφρακτικά κύτταρα. Η αντίληψη διαμόρφωσης συνθηκών ανεπάρκειας νερού στο έδαφος και η ενεργοποίηση του μηχανισμού γίνεται μέσω του αμπισιακού οξέος (ABA), το οποίο προέρχεται από δύο πηγές:

- Από τα φύλλα. Υπό κανονικές συνθήκες το ABA συντίθεται με αργούς ρυθμούς στα κύτταρα του μεσοφύλλου και συσσωρεύεται κυρίως στους χλωροπλάστες. Λόγω της σταδιακής αφυδάτωσης του κυτταροπλάσματος ένα ποσοστό του συνολικού ABA των χλωροπλάστων απελευθερώνεται στους αποπλάσματικούς χώρους και μπορεί πλέον να μεταφερθεί μέσω του διαπνευστικού ρεύματος προς τα καταφρακτικά κύτταρα ενώ ο ρυθμός σύνθεσης νέων μορίων ABA αυξάνεται.
- Από τις ρίζες. Η συγκέντρωση της ορμόνης στις ρίζες αυξάνεται δραματικά υπό συνθήκες έλλειψης νερού στο εδαφικό περιβάλλον. Οι ρίζες παράγουν και εξάγουν ABA προς τα αγγεία του ξύλο (Blackman and Davies 1985, Blum and Johnson 1993, Croker *et al.* 1998), το οποίο μεταφέρεται στα φύλλα και προκαλεί κλείσιμο των στομάτων. Το διασυστηματικό αυτό σήμα κινδύνου (non-hydraulic root sourced signal (nHRs)) προειδοποιεί για τα επερχόμενα προβλήματα στην τροφοδοσία με νερό του υπέργειου τμήματος (Xiong *et al.*, 2006).

A.8.2.1.4. Ρύθμιση της δραστηριότητας των υδατοπορινών και άλλων ενζύμων

Όπως προαναφέρθηκε (βλ. A.5.2. Η πρόσληψη του νερού από τη ρίζα) οι υδατοπορίνες αποτελούν πρωτεϊνικά κανάλια που εντοπίζονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (PIPs, Plasma Membrane Intrinsic Proteins) και στον τονοπλάστη (TIPs, Tonoplast Intrinsic Proteins). Οι PIP υδατοπορίνες σχετίζονται με την ροή και, περαιτέρω, την οικονομία νερού σε επίπεδο φυτού. Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης η καταστολή της έκφρασής τους προκαλεί αύξηση της αντίστασης στην διακυτταρική κίνηση του νερού ενώ μετά από την καταπόνηση η ικανότητα ανάκαμψης ενός φυτού σχετίζεται μεταξύ άλλων και με την αυξημένη έκφραση των PIPs. Οι TIPs εμπλέκονται στην κατανομή νερού μεταξύ κυτταροπλάσματος και χυμοτοπίου και συνεπώς στην ικανότητα οσμωρύθμισης των κυττάρων (Maurel *et al.*, 1997).

A.8.2.1.5. Περιορισμός των εμβολών

Όπως προαναφέρθηκε (βλ. A.5.3. Η μετακίνηση του νερού στα αγγεία) υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης μπορεί να παρατηρηθεί δημιουργία εμβολών στα αγγεία του ξύλου. (Carlquist, 1977; Sperry and Ikeda, 1997; Αιβαλάκης, κ.α., 2003; Gortan *et al.*, 2009). Οι εμβολές που έχουν δημιουργηθεί μπορούν να περιοριστούν είτε παρακάμπτοντας το προβληματικό αγγείο μέσω των βοθρίων είτε με την διαλυτοποίηση των φυσαλίδων κυρίως κατά τη διάρκεια της νύχτας όταν οι διαπνευστικές απώλειες είναι περιορισμένες.

A.8.2.1.6. Ενεργοποίηση αντιοξειδωτικών μηχανισμών και αύξηση της συγκέντρωσης δευτερογενών μεταβολιτών.

Ο ρόλος του μοριακού οξυγόνου ως τελικού αποδέκτη των ηλεκτρονίων στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων της αναπνευστικής λειτουργίας των αερόβιων οργανισμών, είναι συνυφασμένος με τον αναπόφευκτο σχηματισμό τοξικών ανηγμένων ενδιάμεσων μορφών οξυγόνου (ενεργές μορφές οξυγόνου, reactive oxygen species, ROS), οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν βλάβες στις πρωτεΐνες, λιπίδια, υδαάνθρακες και το DNA με αποτέλεσμα τη δημιουργία οξειδωτικής καταπόνησης. Υπό φυσιολογικές συνθήκες οι ROS εξουδετερώνονται μέσω μιας πληθώρας αντιοξειδωτικών μηχανισμών (Foyer and Noctor, 2005). Η επίδραση ποικίλων παραγόντων καταπόνησης όπως η αλατότητα, η UV ακτινοβολία, η ξηρασία, τα βαρέα μέταλλα, οι ακραίες θερμοκρασίες, η έλλειψη θρεπτικών συστατικών, η ατμοσφαιρική ρύπανση και οι επιθέσεις εχθρών και παθογόνων, έχει κατά κανόνα ως αποτέλεσμα τη διατάραξη της ισορροπίας μεταξύ παραγωγής και εξουδετέρωσης των ROS λόγω της ραγδαίας ενδοκυτταρικής αύξησης της συγκέντρωσής τους, η οποία εν δυνάμει μπορεί να προκαλέσει σημαντικές κυτταρικές βλάβες (Asada, 1999; Gill and Tuteja, 2010; Khan *et al.*, 2011). Η συσσώρευση των ROS υπό συνθήκες καταπόνησης αποτελεί μία από τις σημαντικότερες αιτίες απώλειας της παραγωγικότητας των καλλιεργούμενων ειδών παγκοσμίως (Mittler, 2002; Apel and Hirt, 2004; Mahajan and Tuteja, 2005; Khan and Singh, 2008; Tuteja, 2010; Gill *et al.*, 2010).

Οι ROS παράγονται σε διάφορα κυτταρικά οργανίδια (μιτοχόνδρια, χλωροπλάστες, περοξυσώματα) αλλά και στο κυτόπλασμα και στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Τα μιτοχόνδρια ως «εργοστάσια παραγωγής ενέργειας» των φυτικών κυττάρων αποτελούν σημαντικό σημείο παραγωγής ROS, όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) ενώ αποτελούν και εν δυνάμει στόχο της δράσης των ROS (Rasmusson *et al.*, 2004 ; Ott *et al.*, 2007). Η παραγωγή των ROS, φυσιολογική διαδικασία κατά τη διάρκεια της αναπνοής, μπορεί να αυξηθεί υπό συνθήκες καταπόνησης. Η δημιουργία των ROS ελέγχεται μέσω συστημάτων ενεργειακής απόσβεσης και πιθανόν παίζουν σημαντικό ρόλο στον εγκλιματισμό του κυττάρου έναντι αβιοτικών καταπονήσεων (Dutilleul *et al.*, 2003; Gill and Tuteja, 2010).

Η παραγωγή ROS επάγεται και στους χλωροπλάστες υπό την επίδραση αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης όπως η υψηλής έντασης ακτινοβολία, η ξηρασία, η αλατότητα και σε συνθήκες ανεπάρκειας CO_2 (Doyle *et al.*, 2010).

Η αύξηση της συγκέντρωσης των ROS επιφέρει αύξηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών μηχανισμών αλλά και των μηχανισμών επιδιόρθωσης των ζημιών που έχουν προκληθεί από την ανεξέλεγκτη δράση των ROS και αποτελούν μία από τις κύριες συνιστώσες εγκλιματισμού στην καταπόνηση σε βιοχημικό επίπεδο. Οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη δραστηριότητα ορισμένων ενζυμικών συστημάτων όπως της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD), της υπεροξειδάσης του ασκορβικού (APX), της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPX), της S τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GST) και της καταλάσης (CAT), καθώς και τη σύνθεση μεταβολιτών χαμηλού μοριακού βάρους όπως του ασκορβικού οξέος (ASH), της γλουταθειόνης (GSH), της α-τοκοφερόλης, των καροτενοειδών, των φλαβονοειδών (Mittler *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2008; Gill *et al.*, 2010), των ταννινών και προδρόμων της λιγνίνης (Olga *et al.*, 2003). Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονιστεί ότι η προλίνη εκτός από τη δράση της ως ωσμολύτη, παρουσιάζει και σημαντική αντιοξειδωτική δραστηριότητα (Temple *et al.*, 2005).

A.8.2.1.7. Επαγωγή του μεταβολισμού τύπου *Crassulaceae*

Ορισμένα φυτικά είδη αναφέρονται ως προαιρετικά CAM (π.χ. *Mesembryanthemum crystallinum*). Τα φυτά αυτά σε συνθήκες επάρκειας νερού συμπεριφέρονται ως C₃. Ωστόσο σε περίπτωση υδατικής καταπόνησης (αφυδάτωση/οσμωτική καταπόνηση) ο μεταβολισμός τους μεταβάλλεται σε τύπου CAM, μεταβολή η οποία προϋποθέτει κατάλληλες διευθετήσεις σε επίπεδο έκφρασης γονιδίων, μετακίνηση μηλικού οξέως από και προς τα χυμοτόπια, αναστροφή της περιοδικότητας των στοματικών κινήσεων, συσσώρευση συμβατών οσμωλυτών κ.α.

A.8.2.2. Μακροπρόθεσμος εγκλιματισμός

Η υδατική καταπόνηση διαταράσσει τη λειτουργία του φυτού σε όλα τα επίπεδα οργάνωσης και οι αλλαγές σε ένα επίπεδο αλληλεπιδρούν έντονα με τις αλλαγές σε κάποιο άλλο επίπεδο (Heckenberger *et al.*, 1998, Niinemets and Sack, 2006). Ο μακροπρόθεσμος εγκλιματισμός σε παρατεταμένη υδατική καταπόνηση αποτελεί συστημική αντίδραση και περιλαμβάνει όχι μόνον λειτουργικές τροποποιήσεις αλλά και μη αναστρέψιμες δομικές τροποποιήσεις σε ολόκληρο τον φυτικό οργανισμό (για τις οποίες απαιτούνται αλλαγές στην έκφραση πολυάριθμων γονιδίων) (Flexas *et al.*, 2006).

A.8.2.2.1. Η δομή και η λειτουργία των νέων φύλλων που εκπύσσονται ανταποκρίνονται καλύτερα στις νέες δυσμενείς συνθήκες παροχής νερού.

Σημαντικό χαρακτηριστικό του μακροπρόθεσμου εγκλιματισμού αποτελεί η έκπτυξη «νέων» φύλλων τα οποία φέρουν χαρακτηριστικά συμβατά με τις συνθήκες έλλειψης νερού και στοχεύουν στην αποτελεσματικότερη εξοικονόμηση νερού. Η έκπτυξη εγκλιματισμένων φύλλων απαιτεί μη αναστρέψιμες δομικές τροποποιήσεις οι οποίες συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων (Flexas *et al.*, 2006). Η ένταση των τροποποιήσεων

εξαρτάται από την ικανότητα εγκλιματισμού του συγκεκριμένου είδους φυτού. Τα φύλλα αυτά συνήθως έχουν μικρότερο μέγεθος, μεγαλύτερο πάχος και πυκνότητα, στενότερα αγγεία, μικρότερα και σε πυκνότερη διάταξη στόματα. Οι τροποποιήσεις αυτές αποσκοπούν στη μείωση της ροής του νερού μέσω των βαλβίδων ελέγχου της εισόδου του νερού στο φύλλο (αγγεία ξύλου) και της εξόδου του νερού από αυτό (στόματα) (Salleo *et al.*, 2000; Sperry, 2000; Aasamaa *et al.*, 2001; Nardini *et al.*, 2001;; Bresta *et al.*, 2011). Σύμφωνα με τον Pitterman (2010), η λειτουργία του αγγειακού συστήματος συνδέεται με την πυκνότητα των στομάτων συσχέτιση που υποδηλώνει συντονισμό μεταξύ του καμβίου που δημιουργεί τις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες και των μεριστωμάτων που δημιουργούν τα στόματα κατά τη διάρκεια ανάπτυξης του φύλλου.

Επίσης, υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι οι λειτουργικές ιδιότητες του αγγειακού συστήματος αποτελούν καθοριστικό παράγοντα της λειτουργίας ολόκληρου του φυτικού οργανισμού υποδεικνύοντας την ύπαρξη κάποιου είδους αναπτυξιακού συντονισμού μεταξύ των φωτοσυνθετικών και υδραυλικών χαρακτηριστικών (Brodribb, 2009; Beerling and Franks, 2010; Franks and Brodribb, 2010). Επιπλέον, ο αναπτυξιακός έλεγχος των φωτοσυνθετικών και υδραυλικών χαρακτηριστικών διασφαλίζει τη διατήρηση της ισορροπίας στην κατανομή των πόρων μεταξύ αυτών των δύο συνδεδεμένων διαδικασιών (Brodribb, 2009).

Κατά τον εγκλιματισμό του αγγειακού συστήματος μείωση της διαμέτρου των αγγείων περιορίζει τον κίνδυνο δημιουργίας εμβολών, αφού στα αγγεία μεγάλης διαμέτρου αυξάνεται ο κίνδυνος διακοπής της στήλης του νερού.

Ο μακροπρόθεσμος εγκλιματισμός των αγγείων του ξύλου δεν περιορίζεται μόνο στα φύλλα. Η δημιουργία εμβολών ευνοείται σε αγγεία μεγάλης διαμέτρου, αλλά και στο βλαστό και τη ρίζα. Στα πολυετή φυτά το εαρινό ξύλωμα (αποτελούμενο από ευρύπορα αγγεία) αντικαθίσταται σταδιακά από το θερινό (με στενόπορα ή 'ασφαλή' αγγεία) το οποίο λειτουργεί καλύτερα τους θερινούς μήνες (Καραμπουρνιώτης 2012).

A.8.2.2.2. Μεταβολή του λόγου υπέργειου/υπόγειου τμήματος του φυτού

Η ανάπτυξη της ρίζας σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης εμφανίζεται κατά κανόνα λιγότερο ευαίσθητη έναντι εκείνης του βλαστού και ιδιαίτερα των φύλλων. Η δυνατότητα οσμωρύθμισης των κυττάρων των ριζών, μέσω της οποίας επιτυγχάνεται η πτώση του δυναμικού του νερού (σε χαμηλότερα επίπεδα του δυναμικού του εδαφικού νερού) στα κύτταρα, έχει ως αποτέλεσμα οι ρίζες να διατηρούν την ικανότητα άντλησης νερού από το έδαφος (Καραμπουρνιώτης, 2012). Επίσης τα κύτταρα των ριζών έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε χαμηλότερα υδατικά δυναμικά έναντι των κυττάρων των φύλλων. Συνεπώς, υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης ο ρυθμός ανάπτυξης της ρίζας είναι ταχύτερος εκείνου του βλαστού με αποτέλεσμα ο λόγος βλαστού ρίζας να μεταβάλλεται προς όφελος του υπόγειου τμήματος (Sharp, 2002; Gorai *et al.*, 2010) το οποίο είναι υπεύθυνο για την άντληση του νερού και επομένως για την επιβίωσή του φυτού. Ο λόγος αυτός ρυθμίζεται ,

εκτός των συνθηκών θρέψης και του αναπτυξιακού σταδίου, τόσο από τη δυνατότητα τροφοδοσίας του βλαστού με νερό από τη ρίζα, όσο και από τη δυνατότητα τροφοδοσίας της ρίζας με φωτοσυνθετικά προϊόντα από το βλαστό.

Ο περιορισμός της διάτασης των φύλλων (βλ. Α.8.2.1.1. Περιορισμός της επιφάνειας των αναπτυσσόμενων φύλλων) συνεπάγεται μείωση των αναγκών των φύλλων σε φωτοσυνθετικό προϊόν και μετακίνηση υψηλότερου ποσοστού φωτοσυνθετικών προϊόντων προς τη ρίζα με αποτέλεσμα την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος προς βαθύτερα εδαφικά στρώματα.

A.9. Το κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.)

Το κριθάρι (μεταγενέστερη ελληνική κριθάριον, υποκοριστικό του κριθή) αποτελεί τη δεύτερη κατά σειρά σπουδαιότητας καλλιέργεια χειμερινών σιτηρών μετά το σιτάρι και κατατάσσεται τέταρτο από άποψη ύψους παραγωγής, σε παγκόσμια κλίμακα, μετά το σιτάρι, το ρύζι και το καλαμπόκι (Μπλαδενόπουλος και Ματσούκας, 2000).

Σύμφωνα με αρχαιολογικά ευρήματα το κριθάρι άρχισε να καλλιεργείται περίπου την ίδια εποχή με το σιτάρι (7000-8000 π.Χ) στην Εγγύς και Μέση Ανατολή και εντάχθηκε νωρίτερα από κάθε άλλο δημητριακό, στην ανθρώπινη διατροφή (τοποθεσία Wadi Kubbanya, 15.000 έως 16.300 π.Χ., στην κοιλάδα του Νείλου, κοντά στο Ασσουάν)(Wendorf *et al.*, 1979, Μπλαδενόπουλος και Ματσούκας, 2000). Κατά τη Νεολιθική Εποχή η καλλιέργεια του κριθαριού υπήρξε διαδεδομένη στη Μεσοποταμία, στην αρχαία Αίγυπτο αλλά και στον ελλαδικό χώρο. Τα αρχαιολογικά ευρήματα της εποχής εκείνης δείχνουν σχεδόν αποκλειστική



καλλιέργεια του δίστοιχου κριθαριού, ενώ αργότερα στην Αίγυπτο και Μεσοποταμία επικράτησε το εξάστοιχο λόγω των υψηλών αποδόσεων του και της αντοχής του στην αλατότητα του εδάφους. Το κριθάρι και η καλλιέργειά του μνημονεύονται από τον Όμηρο, τον Ηρόδοτο (Β. 36 και 77), τον Ξενοφώντα (Κύρου Ανάβασιν 4,5 και 26), τον Αριστοτέλη (παρ' Αθήν. 10,447,b) (Χριστίδης, 1963) και τον Θεόφραστο (Φ. I.8.4.2) και η σημασία του πιστοποιείται από επιγραφές και νομίσματα. Την εποχή εκείνη η χρήση του κριθαριού προοριζόταν καθαρά για ανθρώπινη κατανάλωση καθώς και για παρασκευή μπίρας.

Σύμφωνα με τον Vanilov (1951) τα καλλιεργούμενα είδη κριθαριού κατάγονται από δυο κύρια κέντρα: α) τη βορειοανατολική Αφρική

και τις ορεινές περιοχές της Αβυσσυνίας, από όπου προήλθαν είδη με μεγάλο μήκος άγανα και β) τη νοτιοανατολική Ασία (Κίνα, Ιαπωνία, Θιβέτ), από όπου προήλθαν είδη με μικρού μήκους ή καθόλου άγανα. Τα είδη μεταξύ των δύο κέντρων καταγωγής παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές με αποτέλεσμα τη μερική στειρότητα κατά τη διασταύρωσή τους (Χριστίδης, 1963).

Στους νεώτερους χρόνους, προπάντων από την εποχή του Λινναίου (1753) και έπειτα, πολλοί έχουν ασχοληθεί με την ταξινόμηση του κριθαριού. Σταθμό όμως απετέλεσε η εργασία του Koernicke (1885), ο οποίος κατέταξε όλα τα καλλιεργούμενα κριθάρια σε ένα και μόνο είδος, το *Hordeum vulgare* L., με τέσσερα υποείδη (ο ίδιος έχει περιγράψει 74 ποικιλίες). Η ένταξη όλων των τύπων σε ενιαίο είδος (*Hordeum vulgare*) υποστηρίζεται από το γεγονός ότι οι διάφοροι τύποι κριθαριού αλληλοδιασταυρώνονται με ευκολία δίνοντας γόνιμους απογόνους, καθώς και από το ότι οι μορφολογικές διαφορές οφείλονται σε διαφορές 1-2 γόνων.

Το κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.) ανήκει στο γένος *Hordeum*, στο τμήμα *Cerealialia*, οικογένεια των αγρωστωδών (*Poaceae*) και είναι διπλοειδές ($2n=14$). Στο γένος *Hordeum* περιλαμβάνονται καλλιεργούμενα και αυτοφυή κριθάρια και τα καλλιεργούμενα υπάγονται σε ένα μόνο είδος, που ονομάστηκε από τον Atterberg (1899) *H. sativum*.

Οι ποικιλίες κριθαριού, ανάλογα με τις σειρές των κόκκων στον στάχυ, διακρίνονται σε α) δίστοιχες: μόνον το κεντρικό σταχύδιο σχηματίζει γόνιμα άνθη (*H. zeocriton*, *H. distichon*, *H. deficiens*) και β) εξάστοιχες: τα τρία σταχύδια σε κάθε γόνατο της ράχης είναι γόνιμα με αποτέλεσμα τη δημιουργία τριών στηλών σπερμάτων σε κάθε πλευρά της ράχης (*H. hexastichon*, *H. vulgare*).

Επίσης οι ποικιλίες κατηγοριοποιούνται βάσει των φυσιολογικών τους διαφορών σε χειμερινές ή εαρινές. Διαφορές εντοπίζονται ως προς την πρωιμότητα, τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου, την περίοδο του λήθαργου του σπόρου, την αντοχή τους στο ψύχος, στην ξηρασία, στην αλατότητα του εδάφους και στις προσβολές από παθογόνα.

Το κριθάρι στην Ελλάδα καλλιεργείται ως χειμερινό σιτηρό ενώ σε περιοχές με ιδιαίτερα χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια του χειμώνα, ως ανοιξιάτικη καλλιέργεια. Καλλιεργείται για την παραγωγή καρπών οι οποίοι χρησιμοποιούνται ως τροφή ζώων ή με προορισμό την ανθρώπινη κατανάλωση και στη βυνοζυθοποιΐα, καθώς και για την παραγωγή βιομάζας η οποία αποσκοπεί στη βόσκηση, ενσίρωση και παραγωγή σανού αλλά και στην παραγωγή ενέργειας. Ο καρπός του κριθαριού είναι πλούσιος σε άμυλο και σάκχαρα και σχετικά πτωχός σε πρωτεΐνες και λίπη.

Όσον αφορά την ανθρώπινη χρήση, λαμβάνεται το αλεύρι κριθαριού μέσω της αποπιτύρωσης, διαδικασία κατά την οποία απομακρύνονται τα λεπυρίδια, τα περιβλήματα και τα έμβρυα από τον καρπό. Το αλεύρι αυτό δεν περιέχει γλουτένη και χρησιμοποιείται σε παιδικές τροφές, παξιμάδια και γενικά στη βιομηχανία τροφίμων. Ως κτηνοτροφή υστερεί σε ενεργειακό περιεχόμενο αλλά υπερτερεί σε πρωτεΐνη, τέφρα και ινώδεις ουσίες.

Στη βυνοζυθοποιΐα το κριθάρι πρέπει να παρουσιάζει ποιοτικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την βλαστική ικανότητα των σπόρων και την περιεκτικότητα του ενδοσπερμίου σε άμυλο και αζωτούχες ουσίες. Εφόσον φέρει αυτά τα χαρακτηριστικά περνάει αρχικά από τη διαδικασία της βυνοποίησης, κατά την οποία το άμυλο του ενδοσπερμίου υδρολύεται σε διαλυτά σάκχαρα και στη συνέχεια από τα στάδια της ζυθοποιΐας από τα οποία θα προκύψει ως τελικό προϊόν η μπύρα (Καραμάνος, 1994).

B. Υλικά και Μέθοδοι

B.1. Φυτικό υλικό και τοποθεσία δειγματοληψίας

Όλες οι δειγματοληψίες και οι επί τόπου μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο θερμοκήπιο του πειραματικού αγρού 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, ημερομηνία σποράς 8 Δεκεμβρίου). Για τη διεξαγωγή των μετρήσεων επιλέχθηκαν τρεις γονότυποι κριθαριού με διακριτά μορφολογικά και αναπτυξιακά χαρακτηριστικά (Πίνακας 1): η ποικιλία Αθηναΐδα, η ποικιλία Τριπτόλεμος και ο βελτιωμένος πληθυσμός Σίμου, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε τέσσερις μεταχειρίσεις άρδευσης (Α, Β, C και D, από την υγρότερη προς την ξηρότερη) με τη μέθοδο της κλιμακούμενης απόστασης από την πηγή του νερού (σταλάκτες συστήματος στάγδην άρδευσης, Εικόνα 1).

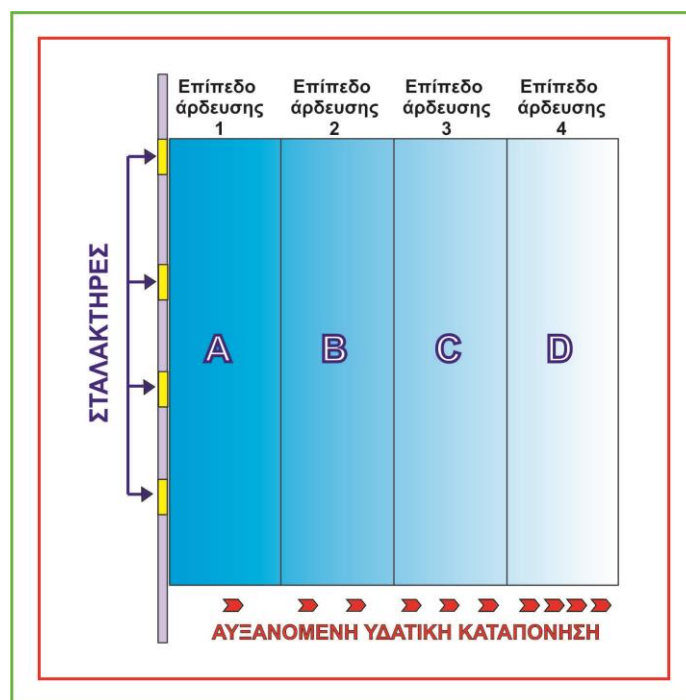
Το έδαφος χαρακτηρίζεται αργιλοπηλώδες (35.6% άμμος, 35.9% άργιλος, και 29.8% πηλός), ελαφρώς αλκαλικό (pH 7.24) με υψηλή συγκέντρωση ολικού CaCO₃ (16%).

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά των υπο μελέτη γονοτύπων

	Αθηναΐδα	Τριπτόλεμος	Σίμου
Χαρακτηρισμός:	Ποικιλία	Ποικιλία	Βελτ.Πληθυσμός
Δημιουργός:	Γ.Π.Α.	Γ.Π.Α.	Ινστιτούτο Σιτηρών
Διατηρητής:	Ινστιτούτο Σιτηρών	Ινστιτούτο Σιτηρών	Ινστιτούτο Σιτηρών
Τύπος στάχου:	Εξάστοιχος	Εξάστοιχος	Εξάστοιχος
Ύψος:	Μέτρια (90-95 εκ.)	Μέτρια (80-90 εκ.)	Δεν έχει χαρακτηριστεί
Πρωιμότητα με βάση το ξεστάχασμα	Πολύ πρώιμη	Μεσοπρώιμη	Δεν έχει χαρακτηριστεί
Αδέλφωμα:	Μέτριο	Πλούσιο	Δεν έχει χαρακτηριστεί
Προσαρμοστικότητα:	Πολύ καλή σε άγονες, ξηρικές και θερμές περιοχές	Πολύ καλή	Δεν έχει χαρακτηριστεί
Απόδοση:	Εξαιρετική	Εξαιρετική	Δεν έχει χαρακτηριστεί
Χρήση:	Κτηνοτροφική	Κτηνοτροφική Διατροφή Ανθρώπου	Δεν έχει χαρακτηριστεί

B. 2. Πειραματικός σχεδιασμός

Για τη σπορά των γονοτύπων κριθαριού εφαρμόσθηκε το πειραματικό σχέδιο των υποδιαιρεμένων ομάδων (strip-plot design) (Gomez and Gomez, 1984), τρεις οριζόντιες λωρίδες-τεμάχια (horizontal-strip plot) αντιπροσώπευαν τους γονότυπους (horizontal factor) και οι τέσσερις κάθετες λωρίδες-τεμάχια (vertical-strip plot) αντιπροσώπευαν τα τέσσερα επίπεδα άρδευσης (Εικόνα 1). Η επιφάνεια κάθε τεμαχίου ήταν 2,88 m² (13 γραμμές, με απόσταση 0,15 m και μήκος 1,6 m), ενώ των υποτεμαχίων 0.72 m² (0.40 m x 1.8 m).



Εικόνα 1. Διαγραμματική απεικόνιση του πειραματικού τεμαχίου με το εγκατεστημένο αρδευτικό σύστημα.

B.3. Μετρήσεις Πεδίου - Δειγματοληψίες

Για τις ανάγκες των πειραματικών μετρήσεων διακρίθηκαν τέσσερις πειραματικές κατηγορίες ανά γονότυπο με βάση τις τέσσερις μεταχειρίσεις άρδευσης. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν για όλες τις κατηγορίες δειγμάτων στο κατά σειρά αμέσως επόμενο φύλλο από το φύλλο «σημαία», μεταξύ 8.00 - 12.00 π.μ., ανά τακτά χρονικά διαστήματα στο διάστημα 8–21 Απριλίου 2011, με γνώμονα το αναπτυξιακό στάδιο σύμφωνα με την κλίμακα Zadoks (45-50). Αμέσως μετά την ολοκλήρωση των μετρήσεων πεδίου, ακολούθησε δειγματοληψία των φύλλων (5 δείγματα/μεταχείριση) για την διεξαγωγή των εργαστηριακών μετρήσεων.

B.4. Μετρήσεις δυναμικού του νερού Ψ_w του φύλλου και υπολογισμός του δείκτη υδατικού δυναμικού (WPI).

Οι μετρήσεις του δυναμικού του νερού του φύλλου πραγματοποιήθηκαν ανά τακτά χρονικά διαστήματα στις 12.00 π.μ. με τη μέθοδο Schollander (Schollander *et al.*, 1964; Cochard *et al.*, 2001). Σύμφωνα με τα δεδομένα των μετρήσεων τα οποία παραχωρήθηκαν από το Εργαστήριο Γεωργίας του Γ.Π.Α., πραγματοποιήθηκε ο υπολογισμός του δείκτη υδατικού δυναμικού (water potential index, WPI) σύμφωνα με τη μέθοδο που προτάθηκε από τους Karamanos and Paratheoxari (1999). Ο WPI αντιπροσωπεύει την συνολική υδατική καταπόνηση καθόλη τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.

B.5. Μορφολογικές και Ανατομικές Παράμετροι

B.5.1. Μέτρηση Πάχους Φύλλου (LT)

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

B.5.2. Μέτρηση συνολικής επιφάνειας (TLS) και ξηρού βάρους φύλλου – Υπολογισμός μάζας ανά φυλλική επιφάνεια (LMA)

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

B.5.3. Υπολογισμός Πυκνότητας φύλλου (LD)

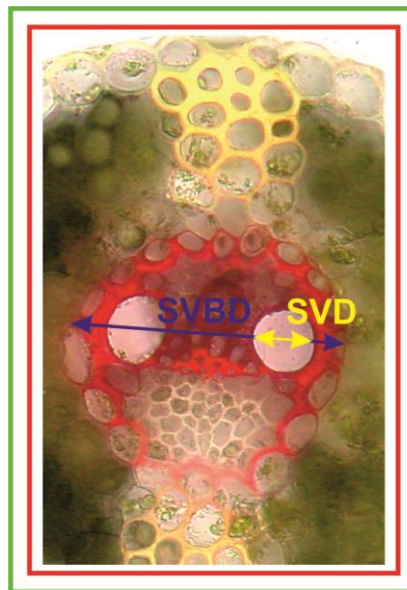
Η πυκνότητα φύλλου υπολογίστηκε διαιρώντας τη μάζα ανά φυλλική επιφάνεια με το πάχος.

B.5.4. Μέτρηση Πυκνότητας (SD) και Μήκους Στοματίων (SL)

Για τη μέτρηση της πυκνότητας των στοματίων παρατηρήθηκε η αποαξονική και προσαξονική επιφάνεια 5 νωπών δειγμάτων φύλλων στο Μικροσκόπιο Επιφθορισμού με προσπίπτον υπεριώδες φως (μέγιστη ενέργεια στα 365nm) χωρίς υγρό παρατήρησης. Ως επαγωγέας φθορισμού χρησιμοποιήθηκε διάλυμα KOH. Υπό τις συνθήκες αυτές το στρώμα των επιεφυμενιδικών κηρών των καταφρακτικών κυττάρων φθορίζει έντονα μπλε φως ενώ αυτό των επιδερμικών κυττάρων εκπέμπει συγκριτικά ασθενέστερο φθορισμό με αποτέλεσμα να καθίσταται ευχερής η μέτρηση του αριθμού των στοματίων και να είναι διακριτός ο στοματικός πόρος (Karabourniotis *et al.* 2001). Καταγράφηκαν 6 φωτογραφίες ανά δείγμα (3 σε μεγέθυνση 10x και 3 σε μεγέθυνση 40x) σε κάμερα SSCD 38P/45 (SONY Corporation, Japan) και αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή. Με τη βοήθεια του προγράμματος επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus, μετρήθηκε ο αριθμός (μεγέθυνση 10x) και το μήκος των στοματίων (μεγέθυνση 40x: 3 στομάτια). Η πυκνότητα των στοματίων εκφράστηκε σε στομάτια cm^{-2} και το μήκος σε μm .

B.5.5. Μέτρηση διαμέτρου αγγείων αγωγού ιστού (SVD, MVD)

Εγκάρσιες τομές νωπών φύλλων οι οποίες πραγματοποιήθηκαν στο μέσον του ελάσματος και για τις οποίες προηγήθηκε χρώση με Phloroglucinol (20% HCl), παρατηρήθηκαν στο Οπτικό Μικροσκόπιο Zeiss Axiolab (Carl Zeiss, Jena, Germany) και καταγράφηκαν φωτογραφίες των κεντρικών και δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους ($d > 100 \mu\text{m}$) ηθμαγγειωδών δεσμιδών σε κάμερα SSCD 38P/45 (SONY Corporation, Japan), οι οποίες αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή (Εικόνα 2). Με τη βοήθεια του προγράμματος επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus, μετρήθηκε η διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού. Η διάμετρος εκφράστηκε σε μm .



Εικόνα 2. Μικροφωτογραφία εγκάρσιας τομής φύλλου. Δευτερεύουσα νεύρωση μετά από χρώση με Phloroglucinol (20% HCL). Απεικονίζεται σχηματικά ο τρόπος μέτρησης των χαρακτηριστικών του αγωγού ιστού.

B.5.6. Υπολογισμός πυκνότητας νευρώσεων ανά φύλλο (VD)

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

B.5.7. Υπολογισμός υδραυλικής αγωγιμότητας των αγγείων του φύλλου (k_{hp})

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

$$k_{hp} = \left(\frac{n}{128n} \right) \Sigma d_v^4$$

d : η διάμετρος σε μm του νιοστού αγγείου

n : το ιξώδες του νερού σε MPa s ($\sim 10 \text{ Pa s}$ στους 20°C ; Milburn, 1979)

Οι επιμέρους υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις εξής εξισώσεις:

Υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων της κεντρικής νεύρωσης του φύλλου

$$Mk_{hp} = \left(\frac{n}{128n} \right) \Sigma d_v^4$$

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

Υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων των δευτερευουσών (μεσαίου μεγέθους) νευρώσεων

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

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

Συνολική υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων του φύλλου

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

Η k_{hp} εκφράστηκε σε $kg\ m\ MPa^{-1}\ s^{-1}10^{-10}$. 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).

B.6. Φωτοσυνθετικές παράμετροι

B.6.1. Υπολογισμός Συγκέντρωσης Χλωροφυλλών (Chl)

Από τα φύλλα που συλλέχθηκαν λαμβάνονταν δίσκοι διαμέτρου 0,85cm. Στη συνέχεια οι δίσκοι αφού τεμαχίστηκαν σε τεμάχια μεγέθους περίπου 1 mm² τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες στους οποίους προστέθηκαν 0,1gr CaCO₃ και 6ml DMSO και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 65°C για 40 min. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10min στα 2972 g. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και μετρήθηκε η απορρόφηση του στα 665 nm, 649 nm και 720nm σε φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV 160. Για τον κάθε βιότυπο ανά μεταχείριση πραγματοποιήθηκαν 5 επαναλήψεις. Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων έγινε σύμφωνα με τις εξισώσεις (Lichtenthaler *et al.*, 1983):

$$Chl_a = 12,47 A_{665} - 3,62 A_{649}$$

$$Chl_b = 25,06 A_{649} - 6,5 A_{665}$$

$$Chl_{a+b} = Chl_a + Chl_b$$

Οι τελικές τιμές των συγκεντρώσεων των χλωροφυλλών εκφράστηκαν σε mg Chl cm⁻² επιφάνειας φύλλου.

B.6.2. Μέτρηση φωτοσυνθετικής ικανότητας & συναφών παραμέτρων

Οι μετρήσεις της φωτοσυνθετικής ικανότητας διεξήχθησαν στο διάστημα στο διάστημα 8–21 Απριλίου 2011 κατά τις πρωινές ώρες 8 – 12 π.μ. ηλιόλουστων ημερών. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το φορητό όργανο μέτρησης φωτοσύνθεσης LCpro⁺ (ADC Bioscientific Ltd, England). Ο φωτισμός του φύλλου στο θάλαμο του οργάνου πραγματοποιείται από πηγή LED. Οι μετρήσεις διεξήχθησαν υπό τις εξής συνθήκες: φωτισμό έντασης 1500 μmol φωτονίων m⁻² s⁻¹ και θερμοκρασία αέρα 23° C.

Ο ρυθμός ανταλλαγής αερίων υπολογίστηκε με απευθείας μέτρηση του καθαρού ρυθμού αφομίωσης του CO₂ ανά φυλλική επιφάνεια ($A_{max,a}$). Το όργανο LCpro+ διαθέτει αυτόματο σύστημα μέτρησης και καταγραφής και άλλων παραμέτρων όπως η ταχύτητα διαπνοής (E) και

η στοματική αγωγιμότητα (g_s). Μέσω της $A_{max,a}$ και τις αντίστοιχες τιμές LMA, υπολογίστηκε η $A_{max,m}$ ως ποσότητα CO_2 που δεσμεύεται στη μονάδα του χρόνου και ανά ξηρή βιομάζα των φύλλων. Οι δύο εκφράσεις (WUE , WUE_i) της αποδοτικότητας χρήσης νερού υπολογίσθηκαν ως το πηλίκο της μέγιστης φωτοσυνθετικής ικανότητας ταχύτητα διαπνοής (E) και προς 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.7. Βιοχημικές παράμετροι

B.7.1. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικού αζώτου ανά μάζα (N_m) και ανά επιφάνεια (N_a)

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

Προετοιμασία δειγμάτων

Τα δείγματα αφυδατώθηκαν σε κλίβανο στους $60^\circ C$ για 48 ώρες, και στην συνέχεια λειοτριβήθηκαν και ομογενοποιήθηκαν. Διατηρήθηκαν σε ξηραντήρα μέχρι την στιγμή που χρησιμοποιήθηκαν.

Καύση δειγμάτων

Η ξηρά ουσία κάθε δείγματος ζυγίστηκε, τοποθετήθηκε σε φιάλη microkjeldahl και προστέθηκε 1 ml πυκνού H_2SO_4 και επαρκής ποσότητα καταλύτη (παρασκευαζόμενο με λειοτριβήση και ομογενοποίηση 1gr $CuSO_4$, 8 gr K_2SO_4 και 1gr SeO_2). Με την χρήση Vortex εξασφαλίστηκε η ομογενοποίηση και ολική διαβροχή του δείγματος. Στην συνέχεια η φιάλη τοποθετήθηκε σε θερμαντικό στοιχείο Tecator Block Digestor 2006 (Diversified Equipment Company, Lorton, VA, USA) στους $410^\circ C$ για περίπου 20–30 min μέχρι το περιεχόμενο να γίνει τελείως διαυγές και με χρώμα πράσινο του 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. Κρίνεται σκόπιμη κατά τη διάρκεια της καύσης η ανάδευση των φιαλών microkjeldahl ανά 10 λεπτά περίπου.

Στάδιο απόσταξης

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

Copway (παρασκευαζόμενου με ανάμιξη 12 ml δ/τος Α:ως 25 ml αιθυλικής αλκοόλης 95% και 40 mg ερυθρού του μεθυλίου και μηχανική ανάδευση με ελαφρά θέρμανση κατά την οποία τα αντιδραστήρια πρέπει να διαλυθούν πλήρως), 24 ml δ/τος Β (ως 25 ml απεσταγμένου νερού και 10 mg πράσινου της βρωμοκρεσόλης και ανάδευση) και 12 ml αλκοόλης 95%, τελικός όγκος δείκτη 48 ml). Ακολούθησε απόσταξη κατά την οποία το θειικό αμμώνιο σε αλκαλικό περιβάλλον διασπάται και παράγεται αμμωνία η οποία διαβιβάζεται στην κωνική 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 ορίστηκε μέσω αλλαγής του χρώματος του δείκτη Copway από ανοιχτό πράσινο σε ροζ σε τιμή pH 5,5.

Υπολογισμός περιεχόμενου αζώτου

Για την αναγωγή των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε σειρά πρότυπων διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης αζώτου (10–100 mg l⁻¹, 6 σημεία, r² = 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, mg/mol/g). Η συγκέντρωση του αζώτου ανά επιφάνεια ελάσματος (N_a) υπολογίστηκε ως το γινόμενο N_m και LMA.

B.7.2. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικών φαινολικών (Phm)

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

Εκχύλιση

Ζυγίστηκαν 50 mg κονιορτοποιημένου ξηρού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 6ml υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50 %, σφραγίστηκαν και επώστηκαν σε υδατόλουτρο στους 40°C για 1 h (με ανάδευση κάθε 10 min). Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 min στα 4.000xg. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και τοποθετήθηκε σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες.

Αντίδραση

Σε μεγαλύτερου μεγέθους δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 3.950 μl απιονισμένου νερού, 50μl του υπερκείμενου, 250μl αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu. Ακολούθησε επώαση για χρονικό διάστημα 1-8 min σε θερμοκρασία δωματίου και προστέθηκαν 750 μl διαλύματος ανθρακικού ασβεστίου (Na₂CO₃). Στο τυφλό διάλυμα σε αντικατάσταση των 50 μl του υπερκείμενου προστέθηκαν 50 μl υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50 % και ακολούθησε η ίδια διαδικασία.

Η ομογενοποίηση των δειγμάτων έγινε με αναδευτήρα Vortex. Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 2 h. Η απορρόφηση για κάθε δείγμα μετρήθηκε με

φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 160) στα 760nm. Κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς για διαφορετικές συγκεντρώσεις ταννικού οξέος. Η συγκέντρωση συνολικών φαινολικών εκφράστηκε σε mg ισοδύναμου ταννικού οξέος ανά g ξηρής ουσίας (Ph_m). Η συγκέντρωση συνολικών φαινολικών ανά επιφάνεια ελάσματος (Ph_a) υπολογίστηκε ως το γινόμενο Ph_m και LMA.

B.7.3. Υπολογισμός συγκέντρωσης συμπυκνωμένων ταννινών (CT_m)

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

Εκχύλιση

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

Προετοιμασία αντιδραστηρίου βουτανόλης

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

Αντίδραση

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

Η ομογενοποίηση των δειγμάτων έγινε με αναδευτήρα Vortex. Στη συνέχεια σφραγίστηκαν και επώστηκαν σε υδατόλουτρο στους 95°C για 40 min - 1 h. Μετά την επώση τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν και ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης. Η απορρόφηση για κάθε δείγμα μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 160) 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 CT_m και LMA.

B.7.4 Υπολογισμός συγκέντρωσης προλίνης (Pr_m)

Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης της προλίνης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της όξινης νινυδρίνης, η οποία προτάθηκε από τους Bates *et al.* (1973).

Ζυγίστηκαν 50mg νωπού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 10ml υδατικού διαλύματος αιθανόλης 80 %, σφραγίστηκαν και επώστηκαν σε υδατόλουτρο στους 60°C για 30 min. 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 6M ορθοφωσφορικό οξύ,

ανάδευση και ελαφριά θέρμανση) και 2 ml οξικού οξέος. Για την αντίδραση οι δοκιμαστικοί σωλήνες σφραγίστηκαν και επώστηκαν σε υδατόλουτρο στους 100°C για 1 h. Η αντίδραση τερματίστηκε με τη μεταφορά των δοκιμαστικών σωλήνων σε πάγο. Ακολούθησε προσθήκη 4ml τολουόλιου και ανάδευση. Μετά την ανάδευση τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν και ακολούθησε διαχωρισμός φάσεων: το χρωμοφόρο το οποίο περιέχει τολουόλιο διαχωρίστηκε από την υδατική φάση του διαλύματος. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και μετρήθηκε η απορρόφηση με φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 160) στα 520 nm. Η συγκέντρωση προλίνης υπολογίστηκε μέσω πρότυπης καμπύλης αναφοράς και εκφράστηκε ως $[\mu\text{g προλίνης} \times \text{ml τολουόλιου}] / 115.5 \mu\text{g}/\mu\text{mole}] / (\text{g δείγματος}/5) = \mu\text{moles προλίνης ανά g νωπού βάρους δείγματος}$.

B.8. Οπτική και Ηλεκτρονική Μικροσκοπία

B.8.1. Προετοιμασία παρασκευασμάτων για παρατήρηση με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης και ημίλεπτων τομών με το οπτικό μικροσκόπιο

Φυτικός ιστός μεγέθους 2 x 3 mm με ξυραφάκι εντός τρυβλίου με μονιμοποιητικό στους 4° C από το μέσον 5 φύλλων για κάθε μεταχείριση.

Η μονιμοποίηση (στερέωση, καθήλωση, προσήλωση, fixation) πραγματοποιήθηκε με εμβάπτιση των δειγμάτων σε μονιμοποιητικό διάλυμα γλουταρικής αλδεΐδης ($\text{CHOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$) 2.5% με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικό 0,1 M (Sorensen), σε φιαλίδια των 5 ml στους 4° C για 24h. Για την καλύτερη διείσδυση του μονιμοποιητικού στο εσωτερικό των ιστών, αφαιρέθηκε ο αέρας από τους μεσοκυττάριους χώρους σε ήπιο κενό με αντλία βρύσης στο φιαλίδιο. Ακολούθησαν οι εξής διαδικασίες:

- έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα για 15 min (3 φορές),
- μεταστερέωση με OsO_4 0.1% σε H_2O για 18h,
- έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα για 15 min (3 φορές),
- αφυδάτωση με διάλυμα αιθανόλης 30% για 15 min,
- αφυδάτωση με διάλυμα αιθανόλης 50% για 15 min,
- αφυδάτωση με 1% οξικό ουρανύλιο σε διάλυμα αιθανόλης 70%, στο οποίο τα δείγματα παρέμειναν όλη τη νύχτα για χρώση en block,
- αφυδάτωση με διάλυμα αιθανόλης 90% για 15 min και 100% για 15 min (3 φορές),
- αλλαγή διαλύτη από αιθανόλη σε προπυλενοξειδίο, ως ενδιάμεσος διαλύτης μεταξύ αιθανόλης και εποξικών ρητινών, για 1h,
- εμποτισμός με ρητίνη. Στο φιαλίδιο προστίθεται ρητίνη Spurr και προπυλενοξειδίο σε ίσες ποσότητες και τοποθετείται ανοικτό στον απαγωγό, υπό συνεχή ανάδευση για 18 h, ώστε να εξατμιστεί το προπυλενοξειδίο και να παραμείνουν τα δείγματα σε ρητίνη 100 %, και τέλος έγκλειση των δειγμάτων σε εποξική ρητίνη σε καλούπια σιλικόνης και πολυμερισμός σε κλίβανο, στους 68°C για 48-72h.

B.8.2. Τμήση τομών και χρώση μονιμοποιημένων παρασκευασμάτων

B.8.2.1. Οπτικό Μικροσκόπιο (Ο.Π.)

Η τμήση των εγκάρσιων τομών πραγματοποιήθηκε με τον υπερμικροτόμο, τύπου Reichert OMU-III. Για την τμήση χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα μαχαίρια, τα οποία κατασκευάστηκαν στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας με την ειδική συσκευή (knife-maker, Reicher-Taab). Οι τομές πάχους 1,5 - 2 μm τοποθετήθηκαν σε σταγόνα απεσταγμένου νερού πάνω σε αντικειμενοφόρους πλάκες με ειδική επικάλυψη ζελατίνας (Grimstone and Skaer, 1972).

Για την επικάλυψη των αντικειμενοφόρων με ζελατίνα, η οποία είχε προηγηθεί, σχολαστικά πλυμένες και στεγνές αντικειμενοφόροι εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα 1 g ζελατίνας ανά L χλιαρού απεσταγμένου νερού στο οποίο προστέθηκε 0,1 g $\text{CrK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Οι πλάκες αφήνονται να στεγνώσουν σε κατακόρυφη θέση, σε χώρο χωρίς σκόνη.

Χρώση με κυανό της τολουιδίνης

Τα παρασκευάσματα τοποθετήθηκαν σε θερμαινόμενη πλάκα στους 70-80° C. Μετά την εξάτμιση του νερού, ακολούθησε η χρώση των τομών με κυανό της τολουιδίνης 0,5% σε βόρακα 1%.

Ακολούθησε έκπλυση με απεσταγμένο νερό και στέγνωμα του παρασκευάσματος σε θερμαινόμενη πλάκα. Για την επικόλληση της καλυπτρίδας και μονιμοποίηση του παρασκευάσματος χρησιμοποιήθηκε μία σταγόνα Entellan (Merck, Germany).

B.8.2.2. Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διέλευσης (Η.Μ.Δ.)

Η τμήση των τομών πραγματοποιήθηκε με τον υπερμικροτόμο, τύπου Reichert OMU-III. Για την τμήση χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα μαχαίρια, τα οποία κατασκευάστηκαν στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας με την ειδική συσκευή (knife-maker της εταιρείας Reicher-Taab). Για την συλλογή των τομών σχηματίζεται ένα μικρό δοχείο επάνω στα μαχαίρια με την τοποθέτηση ειδικής αυτοκόλλητης ταινίας (Silver tape, 3M). Η στεγανοποίηση του δοχείου επιτυγχάνεται με την χρήση οδοντιατικού κεριού. Στο δοχείο προστέθηκε απεσταγμένο νερό. Με αυτόν τον τρόπο, καθίσταται δυνατή η συλλογή των τομών οι οποίες επιπλέον στην ελεύθερη επιφάνεια του νερού. Η τεχνική αυτή επιτρέπει την σχετική εκτίμηση του πάχους των τομών με τη συμβολή του φωτός λόγω διαφορετικού χρώματος της τομής ανάλογα με το πάχος αυτής. Οι τομές με πάχος 60-80 nm, οι οποίες είναι και οι πλέον κατάλληλες για παρατήρηση στο Η.Μ.Δ. εμφανίζουν χρώμα ασημί. Οι διαδοχικές τομές σχηματίζουν μία ταινία στην ελεύθερη επιφάνεια του νερού, η οποία συλλέγεται επάνω σε ειδικά πλέγματα χαλκού (grids) τύπου ATHENA, hexagonal G75 και διαμέτρου 3mm. Τα πλέγματα φέρουν επικάλυψη με λεπτή μεμβράνη πυροξυλίνης 2% σε οξικό αμυλεστέρα (Φασσέας, 1999).

Διπλή χρώση: Reynolds και οξικό ουρανύλιο 1% σε υδατικό διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης 50%

Για την διπλή χρώση των παρασκευασμάτων (grids) με κιτρικό μόλυβδο ή χρώση Reynolds (Reynolds, 1963) και οξικό ουρανύλιο 1% σε υδατικό διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης 50% (Venable and Coggeshall, 1965) ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:

Τα grids τοποθετήθηκαν πάνω σε σταγόνες οξικού ουρανυλίου (40-50 μL) εντός επιστρωμένου με σιλικόνη (Silastic, Dow Corning) τρυβλίου Petri, όπου παρέμειναν στο σκοτάδι για 45 min.

Ακολούθησε έκπλυση των grids με απεσταγμένο νερό (20-30 σταγόνες). Για το στέγνωμα χρησιμοποιήθηκε διηθητικό χαρτί.

Τα grids επανατοποθετήθηκαν πάνω σε σταγόνες κιτρικού μολύβδου (40-50 μL) εντός επιστρωμένου με σιλικόνη (Silastic, Dow Corning) τρυβλίου Petri, όπου παρέμειναν για 15 min. Εντός του τρυβλίου τοποθετήθηκαν επίσης κρύσταλλοι καυστικού νατρίου για την απορρόφηση του διοξειδίου του άνθρακα και την αποφυγή κρυστάλλων ανθρακικού μολύβδου.

Ακολούθησε έκπλυση των grids με απεσταγμένο νερό (20-30 σταγόνες). Πριν την παρατήρηση, τα grids τοποθετήθηκαν πάνω σε διηθητικό χαρτί για να στεγνώσουν (με τις τομές προς τα επάνω).

B.8.3. Ανατομικές Μετρήσεις

B.8.3.1. Οπτικό Μικροσκόπιο (Ο.Π.)

Τα παρασκευάσματα παρατηρήθηκαν στο Οπτικό Μικροσκόπιο OLYMPUS Bx40 και καταγράφηκαν φωτογραφίες σε κάμερα SSCD 38P/45 (SONY Corporation, Japan), οι οποίες αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή. Για τις ανατομικές μετρήσεις καταγράφηκαν 13 φωτογραφίες ανά δείγμα (3 σε μεγέθυνση 40x και 10 σε μεγέθυνση 100x). Με τη βοήθεια του προγράμματος επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus, μετρήθηκε η επιφάνεια και ο αριθμός όλων των κυττάρων του μεσόφυλλου και της επιδερμίδας. Ο υπολογισμός της επιφάνειας των χλωροπλαστών πραγματοποιήθηκε σε 5 χλωροπλάστες ανά φωτογραφία, στις φωτογραφίες σε μεγέθυνση 100x.

B.8.3.1. Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διέλευσης (Η.Μ.Δ.)

Τα παρασκευάσματα παρατηρήθηκαν στο ΗΜΔ, τύπου Jeol 100S (Jeol, Japan) και καταγράφηκαν φωτογραφίες οι οποίες αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή. Για τις ανατομικές μετρήσεις καταγράφηκαν 15 φωτογραφίες ανά δείγμα (5 διαφορετικά σημεία ανά τομή σε 3 τομές ανά δείγμα). Με τη βοήθεια του προγράμματος επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus, μετρήθηκε η επιφάνεια των μιτοχονδρίων, το πάχος του κυτταρικού τοιχώματος και της εφυμενίδας.

B.9. Στατιστική Ανάλυση

A' Μέρος

Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων των μεταχειρίσεων εντοπίστηκαν με ανάλυση διασποράς (ANOVA) και πολλαπλές συγκρίσεις μέσω του κριτηρίου Tukey-Kramer ($p < 0.05$) (Jmp 7.0, SAS Institute Inc, Cary, NC) όπου ίσχυαν οι προϋποθέσεις της κανονικότητας και της ομοιότητας των διασπορών των μέσων. Οι συσχετίσεις ανά ζεύγη μεταξύ των παραμέτρων ανά γονότυπο και ανεξαρτήτως γονότυπου για το σύνολο των μεταχειρίσεων άρδευσης (επίπεδα καταπόνησης A, B, C, και D) για την καταγραφή των συντελεστών συσχέτισης κατά Spearman (Παράρτημα: Πίνακες 1, 2, 3 και 4) σε επίπεδο σημαντικότητας 95% ($p < 0.05$) πραγματοποιήθηκαν με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος SPSS Statistics (version 17.0, IBM® SPSS® Statistics). Η ισχύς και η σημαντικότητα των συσχετίσεων καθώς και ο αριθμός των στατιστικά σημαντικών και ισχυρών συσχετίσεων ανά ζεύγη, όπως προέκυψαν από την μήτρα των συσχετίσεων (Παράρτημα: Πίνακας 4) των παραμέτρων ανεξαρτήτως γονότυπου για το σύνολο των μεταχειρίσεων άρδευσης αποτέλεσαν τα κριτήρια επιλογής των παραμέτρων, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση κύριων συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA). Για την PCA εξαιρέθηκαν οι παράμετροι οι οποίες: α. δεν παρουσιάζουν συσχετίσεις μεγαλύτερες του 0.3 σε μεγάλο ποσοστό επί του συνόλου, β. συσχετίζονται τέλεια μεταξύ τους και γ. αποτελούν διαφορετική έκφραση της ίδιας παραμέτρου. Η PCA αποτελεί μία τεχνική μείωσης διαστάσεων με στόχο τον εντοπισμό μη συσχετισμένων δεδομένων μέσα από ένα σύνολο συσχετισμένων δεδομένων. Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες πραγματοποιείται μέσω γραμμικού μετασχηματισμού των μεταβλητών με αποτέλεσμα τον υπολογισμό αξόνων στους οποίους παρατηρείται η μέγιστη διασπορά των δεδομένων. Η PCA για τις 20 παραμέτρους που επιλέχθηκαν πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια του στατιστικού προγράμματος STATISTICA (version 7.0.61.0, StatSoft, Inc.).

B' Μέρος

Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων των δύο μεταχειρίσεων (Επίπεδα καταπόνησης A και D) εντοπίστηκαν μέσω t-test ($p < 0.05$) (Jmp 7.0, SAS Institute Inc, Cary, NC).

Οι συσχετίσεις ανά ζεύγη μεταξύ των παραμέτρων για τις δύο μεταχειρίσεις άρδευσης (Επίπεδα καταπόνησης A και D) για την καταγραφή των συντελεστών συσχέτισης (Παράρτημα: Πίνακας 5.α, β, και γ) σε επίπεδο σημαντικότητας 95% ($p < 0.05$) πραγματοποιήθηκαν με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος STATISTICA (version 7.0.61.0, StatSoft, Inc.).

Σκοπός της εργασίας

Οι άμεσες βραχυπρόθεσμες λειτουργικές αποκρίσεις των φύλλων σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, όπως το κλείσιμο των στοματίων και η μείωση του ρυθμού φωτοσύνθεσης και της διαπνοής, έχουν μελετηθεί επαρκώς. Ωστόσο η παρατεταμένη και σταδιακή έλλειψη νερού, όπως συμβαίνει σε φυσικές συνθήκες κατά της περιόδους ξηρασίας, επιφέρει την ενεργοποίηση μηχανισμών εγκλιματισμού από τους οποίους εξαρτάται τελικά η επιβίωση του φυτικού οργανισμού, ανεξάρτητα των προσαρμοστικών χαρακτηριστικών και της στρατηγικής που διαθέτει κάθε φυτικό είδος. Ο εγκλιματισμός περιλαμβάνει επίκτητες τροποποιήσεις των δομών και λειτουργιών όλου του φυτικού οργανισμού, ωστόσο η ικανότητα εγκλιματισμού εξαρτάται άμεσα από το γονότυπο. Παράμετροι οι οποίες καθορίζουν την ικανότητα αυτή αποτελούν βασικά κριτήρια επιλογής σε μελέτες βελτίωσης. Στα σιτηρά, η συγκέντρωση προλίνης η οποία και αντανακλά την ικανότητα οσμωρύθμισης, θεωρείται μια από τις σημαντικότερες παραμέτρους-δείκτες, χωρίς ωστόσο να αποτελεί ασφαλές κριτήριο. Σε προηγούμενη αντίστοιχη μελέτη σχετική με τον εγκλιματισμό γονοτύπων σιταριού στην υδατική καταπόνηση (Bresta et al., 2011), προέκυψαν ισχυρές ενδείξεις ότι μια σημαντική παράμετρο της διαδικασίας εγκλιματισμού αποτελεί η σμίκρυνση των κυτταρικών, και πιθανόν και των υποκυτταρικών δομών, των φύλλων ώστε να αντιμετωπιστεί η έλλειψη νερού. Παρότι αποτελεί μία εντυπωσιακή αντίδραση, ελάχιστες εργασίες στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται σε αυτήν και συνήθως οι αναφορές είναι αποσπασματικές. Επίσης οι απόψεις για τον ρόλο των φαινολικών συστατικών και των ταννινών στην αντιμετώπιση των συνεπειών της υδατικής καταπόνησης είναι αντικρουόμενες, αφού παραδοσιακά θεωρούνται ως βασικά συστατικά της άμυνας έναντι βιοτικών παραγόντων καταπόνησης. Σταδιακά ωστόσο πληθαίνουν οι ενδείξεις ότι οι ουσίες αυτές παίζουν σημαντικό ρόλο και στην αντιμετώπιση αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης. Κρίθηκε λοιπόν απαραίτητο να μελετηθούν και να αποσαφηνιστούν οι σχέσεις δομικών (με έμφαση στις μεταβολές των διαστάσεων κυτταρικών και υποκυτταρικών δομών) και λειτουργικών χαρακτηριστικών των φύλλων κατά τον εγκλιματισμό στην υδατική καταπόνηση και να εντοπιστούν τα κρίσιμα χαρακτηριστικά τα οποία θα μπορούσαν να αποτελέσουν ασφαλή κριτήρια επιλογής ανθεκτικών στην έλλειψη νερού γονοτύπων κριθαριού (*Hordeum vulgare* L.). Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, διαμορφώθηκε υπόθεση εργασίας, σύμφωνα με την οποία Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, διαμορφώθηκε υπόθεση εργασίας, σύμφωνα με την οποία ο μακροπρόθεσμος εγκλιματισμός του κριθαριού σε συνθήκες παρατεταμένης ξηρασίας περιλαμβάνει μια γενικευμένη συρρίκνωση κυτταρικών και υποκυτταρικών δομών των φύλλων με στόχο την αποτελεσματικότερη διαχείριση του νερού. Με τις γενικευμένες αυτές δομικές μεταβολές ευθυγραμμίζονται και όλες οι λειτουργίες των φύλλων (συμπεριλαμβανομένου του δευτερογενούς μεταβολισμού) με στόχο τελικά την επιβίωση του φυτού στις αντίξοες συνθήκες.

Προκειμένου να επαληθευτεί η υπόθεση εργασίας επιλέχθηκαν 3 γονότυποι κριθαριού (*Hordeum vulgare* L.) η ποικιλία Αθηναΐδα, η ποικιλία Τριπτόλεμος και ο βελτιωμένος πληθυσμός Σίμου, με διακριτά μορφολογικά και αναπτυξιακά χαρακτηριστικά, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε τέσσερις μεταχειρίσεις άρδευσης, ο επιτυχής διαχωρισμός των οποίων επιβεβαιώθηκε με τον υπολογισμό του δείκτη υδατικού δυναμικού (WPI).

Για κάθε γονότυπο και επίπεδο υδατικής καταπόνησης:

Προσδιορίστηκαν οι ακόλουθες δομικές παράμετροι των φύλλων: Συνολική επιφάνεια του φύλλου (TLS), Μάζα ανά φυλλική επιφάνεια (LMA), Πάχος φύλλου (LT), Πυκνότητα φύλλου (LD), Διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης (MVD) και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων του φύλλου (SVD), Διάμετρος του δεσμικού κολεού της κεντρικής νεύρωσης (MVBD) και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων του φύλλου (SVBD), Υδραυλική αγωγιμότητα του φύλλου (k_{hp}), Πυκνότητα των νευρώσεων (VD), Πυκνότητα στοματίων από- (SD_{ab}) και προσαξονικής (SD_{ad}) επιφάνειας του φύλλου, Μήκος στοματίων από- (SL_{ab}) και προσαξονικής (SL_{ad}) επιφάνειας.

Υπολογίστηκε η μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα (A_{max}) αλλά και συναφείς παράμετροι της ανταλλαγής αερίων όπως η διαπνοή (E), η στοματική γωγιμότητα (g_s), η αποτελεσματικότητα χρήσης νερού (WUE και WUE_i) και η αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (PNUE).

Προσδιορίστηκε η συγκέντρωση χλωροφύλλης (Chl), αζώτου (N), προλίνης (Pr), φαινολικών συστατικών (Ph) και ταννινών (CT).

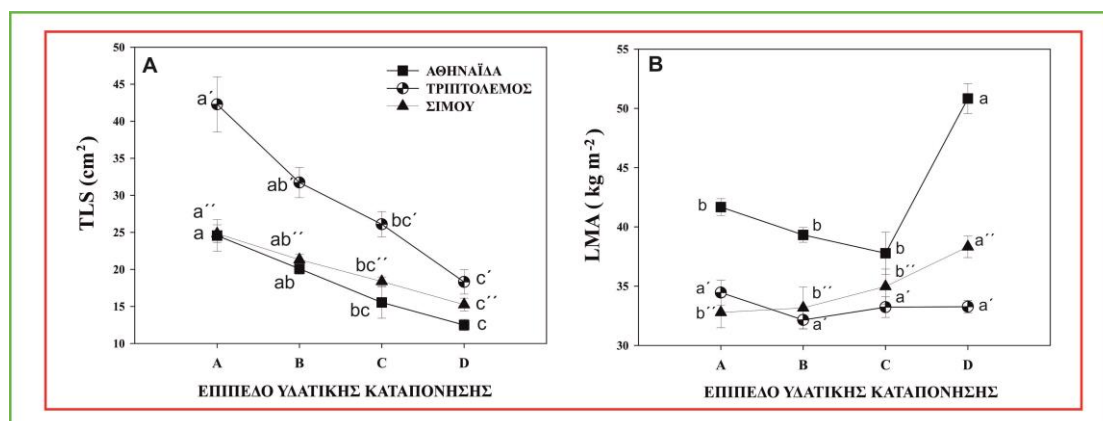
Για τον επιτυχή εντοπισμό πιθανών διαφορών στην ανατομία των εγκλιματισμένων στην υδατική καταπόνηση φύλλων με γνώμονα τις ενδείξεις για γενικευμένη συρρίκνωση όλων των δομών, ακολούθησε δεύτερος κύκλος εργασιών με την χρήση Οπτικής και Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας. Για τον ενδεδειχμένο έλεγχο της υπόθεσης μιας γενικευμένης συρρίκνωσης των δομών σε επίπεδο οργάνου, ιστών, κυττάρων αλλά και σε υποκυτταρικό επίπεδο, επελέγη η ποικιλία Τριπτόλεμος, δεδομένου ότι ο γονότυπος αυτός εμφάνισε την μεγαλύτερη πλαστικότητα μεταξύ των τριών υπό μελέτη γονοτύπων σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πρώτου κύκλου εργασιών της παρούσας διατριβής. Η ανατομία των δομών του φύλλου μελετήθηκε σε συνθήκες επάρκειας νερού και σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης και μετρήθηκαν οι ακόλουθες ανατομικές παράμετροι: Αριθμός κυττάρων ανά mm², επιφάνεια κυττάρου μεσόφυλλου, επιφάνεια χλωροπλάστη, επιφάνεια μιτοχονδρίου, επιφάνεια επιδερμικού κυττάρου, επιφάνεια κυττάρου συστροφής, επιφάνεια φωτοσυνθετικού κυττάρου κολεού, πάχος κυτταρικού τοιχώματος των επιδερμικών και των φωτοσυνθετικών κυττάρων και πάχος εφυμενίδας.

A' ΜΕΡΟΣ

Γ.1. Μορφολογικές παράμετροι

Γ.1.1. Συνολική επιφάνεια του φύλλου (TLS)

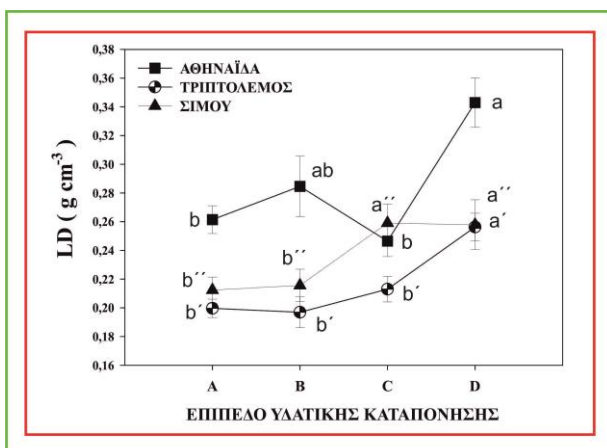
Στην εικόνα 1.A παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της TLS για τους τρεις γονότυπους: Αθηναΐδα, Τριπτόλεμος και Σίμου, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (A, B,C, D). Αυξανόμενου του επιπέδου καταπόνησης παρατηρείται μείωση των τιμών της παραμέτρου TLS και στους τρεις γονότυπους, ωστόσο η μείωση είναι εντονότερη στον Τριπτόλεμο, ο οποίος σε συνθήκες επάρκειας νερού διαθέτει τη μεγαλύτερη φυλλική επιφάνεια, σε σύγκριση με τους άλλους δύο γονότυπους.



Εικόνα 1: Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στις μορφολογικές παραμέτρους TLS (A) και LMA (B) στους 3 γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($p \leq 0.05$). Οι διαφορές των μέσων εντοπίστηκαν μέσω συγκρίσεων μεταξύ των μέσων όρων σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης ανά γονότυπο.

Γ.1.2. Μάζα ανά φυλλική επιφάνεια (LMA)

Η επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην LMA παρουσιάζεται στην Εικόνα 1B. Υπό συνθήκες έντονης έλλειψης νερού (D) παρατηρείται μικρή αύξηση της LMA στην Σίμου και σημαντική αύξηση στην Αθηναΐδα ενώ αυξανόμενου του επιπέδου καταπόνησης δεν παρατηρείται μεταβολή στον Τριπτόλεμο.



Εικόνα 4. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην πυκνότητα του φύλλου (LD) στους τρεις γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων ± τυπικό σφάλματος μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($p \leq 0.05$). Οι διαφορές των μέσων εντοπίστηκαν μέσω συγκρίσεων μεταξύ των μέσων όρων σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης ανά γονότυπο.

Γ.1.3. Πυκνότητα φύλλου (LD)

Στην εικόνα 4 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της LD. Αυξανόμενου του επιπέδου της καταπόνησης παρατηρείται αύξηση των τιμών της LD και για τους τρεις γονότυπους. Η σημαντικότερη αύξηση αν και μη γραμμική καταγράφηκε για τον γονότυπο Αθηναΐδα.

Γ.2. Ανατομικές παράμετροι

Γ.2.1. Διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης (MVD) και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SVD) του φύλλου

Στην εικόνα 2Α παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της MVD για τους τρεις υπό μελέτη γονότυπους όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (A, B, C, D). Παρατηρείται σημαντική μείωση της MVD στον Τριπτόλεμο, του οποίου τα φύλλα διαθέτουν ευρύτερα αγγεία σε σύγκριση με τους άλλους δύο γονότυπους, στους οποίους δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική μεταβολή αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης.

Οι μέσοι όροι της SVD παρουσιάζονται στην εικόνα 2Β. Καταγράφεται στατιστικά σημαντική μείωση της SVD στον Τριπτόλεμο και στην Αθηναΐδα, ενώ στον Σίμου δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική μεταβολή αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης. Όπως φαίνεται, η SVD μειώνεται στους δύο γονότυπους των οποίων ο αγωγός ιστός χαρακτηρίζεται από ευρύτερα αγγεία, ενώ εξ' αυτών των δύο την εντονότερη μεταβολή της SVD παρουσιάζει ο Τριπτόλεμος, ο οποίος διαθέτει συγκριτικά ευρύτερα αγγεία σε συνθήκες επάρκειας νερού.

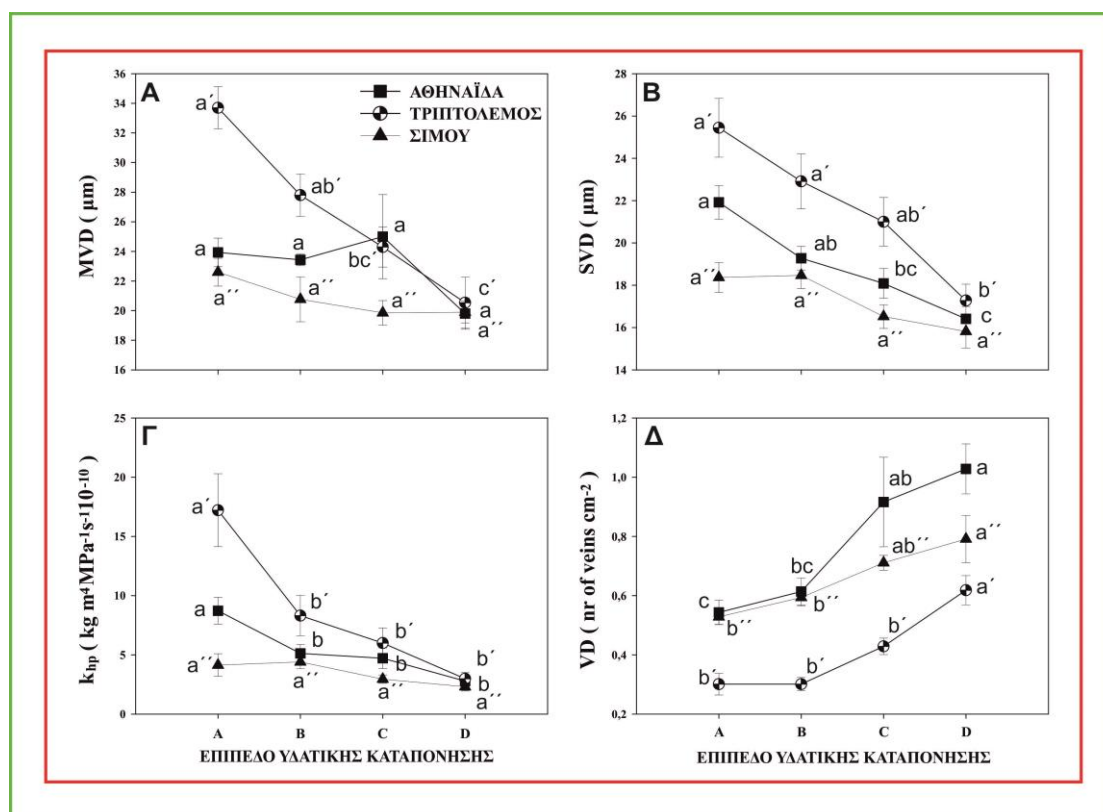
Γ.2.2. Συνολική υδραυλική αγωγιμότητα των αγγείων του φύλλου (k_{hp})

Η παράμετρος k_{hp} αποτελεί το άθροισμα της υδραυλικής αγωγιμότητας της κεντρικής νεύρωσης και των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων του φύλλου (βλ. Κεφ. Υλικά και Μέθοδοι). Στην εικόνα 2Γ παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της k_{hp} για τους τρεις γονότυπους: Αθηναΐδα, Τριπτόλεμος και Σίμου, όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (A, B, C, D). Παρατηρείται μείωση της k_{hp} στον Τριπτόλεμο και στην

Αθηναΐδα όσο αυξάνεται το επίπεδο καταπόνησης. Και σε αυτήν την περίπτωση η μείωση είναι εντονότερη στον Τριπτόλεμο. Για τον γονότυπο Σίμου δεν καταγράφεται στατιστικά σημαντική μεταβολή.

Γ.2.3. Πυκνότητα νευρώσεων ανά φύλλο (VD)

Στην εικόνα 2Δ παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της VD των τριών γονοτύπων αυξανόμενου του επιπέδου καταπόνησης. Διαπιστώνεται ότι σε όλους τους βιότυπους η VD αυξάνεται. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο Τριπτόλεμος σε συνθήκες επάρκειας νερού (A) χαρακτηρίζεται από μικρή πυκνότητα νευρώσεων σε σύγκριση με τους άλλους δύο γονότυπους. Ηπιότερη μεταβολή της VD αυξανόμενου του επιπέδου καταπόνησης παρατηρείται στο γονότυπο Σίμου.

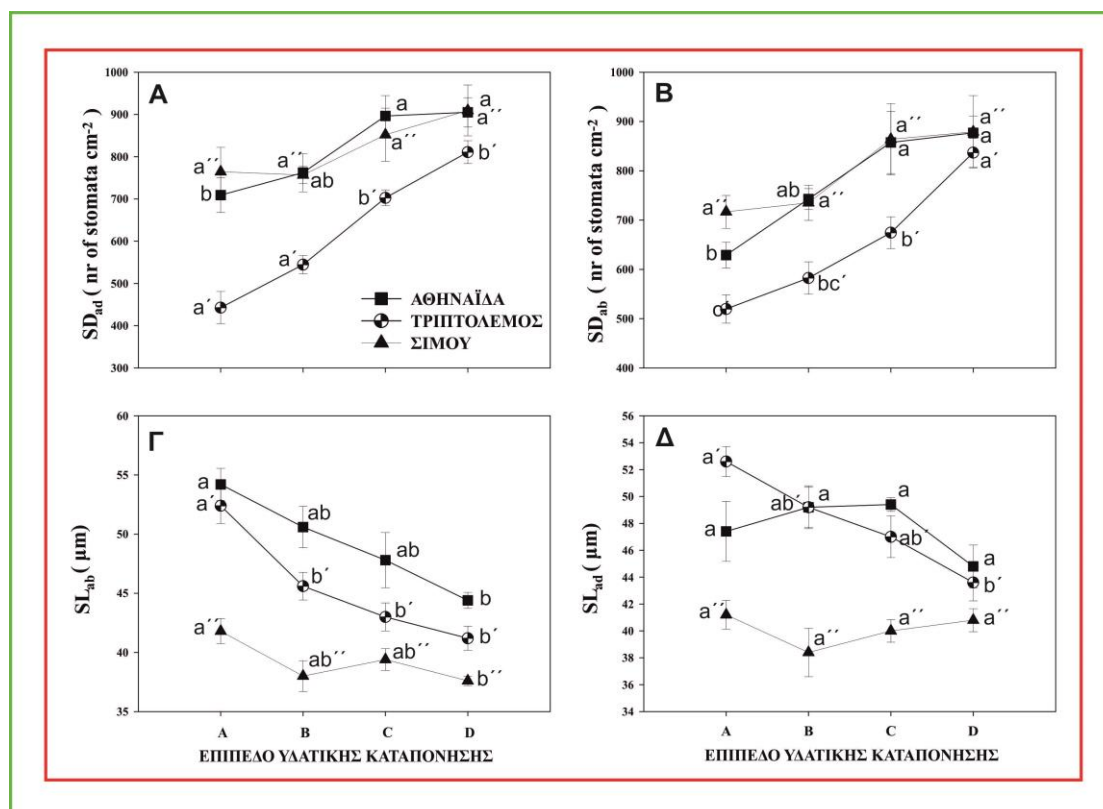


Εικόνα 2: Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στα χαρακτηριστικά του αγωγού ιστού στους 3 γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. (Α) Διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού της κεντρικής νεύρωσης (MVD), (Β) Διάμετρος των αγγείων του αγωγού ιστού των δευτερευουσών μεσαίου μεγέθους νευρώσεων (SVD), (Γ) Υδραυλική αγωγιμότητα του φύλλου (k_{hp}) και (Δ) Πυκνότητα των νευρώσεων του φύλλου (VD). Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($p \leq 0.05$). Οι διαφορές των μέσων εντοπίστηκαν μέσω συγκρίσεων μεταξύ των μέσων όρων σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης ανά γονότυπο.

Γ.2.4. Χαρακτηριστικά των στοματιών

Γ.2.4.1. Πυκνότητα στοματιών απόξονικής (SD_{ab}) και προσαξονικής (SD_{ad}) επιφάνειας του φύλλου

Η επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην πυκνότητα των στοματίων της προσαξονικής SD_{ad} και της αποαξονικής επιφάνειας SD_{ab} παρουσιάζεται στην Εικόνα 3 (Α και Β, αντίστοιχα). Τόσο η SD_{ad} όσο και η SD_{ab} καταγράφουν σημαντική αύξηση αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης για τους γονότυπους Τριπτόλεμο και Αθηναΐδα. Στον γονότυπο Σίμου, η μεταβολή της SD_{ad} δεν είναι στατιστικά σημαντική παρότι και σε αυτήν την περίπτωση καταγράφεται μια αυξητική τάση αυξανόμενου του επιπέδου της καταπόνησης. Αξίζει να σημειωθεί ότι η εντονότερη μεταβολή εμφανίζεται στον Τριπτόλεμο, για τον οποίο σε συνθήκες επάρκειας νερού (Α) καταγράφηκαν οι χαμηλότερες τιμές στην πυκνότητα των στοματίων και στις δύο επιφάνειες του φύλλου.



Εικόνα 3: Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στα χαρακτηριστικά των στοματίων στους 3 γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. (Α) Πυκνότητα των στοματίων της προσαξονικής επιφάνειας (SD_{ad}), (Β) Πυκνότητα των στοματίων της αποαξονικής επιφάνειας (SD_{ab}), (Γ) Μήκος των στοματίων της προσαξονικής επιφάνειας (SL_{ad}) και (Δ) Μήκος των στοματίων της αποαξονικής επιφάνειας (SL_{ab}). Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($p \leq 0.05$). Οι διαφορές των μέσων εντοπίστηκαν μέσω συγκρίσεων μεταξύ των μέσων όρων σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης ανά γονότυπο.

Γ.2.4.2. Μήκος στοματίων αποαξονικής (SL_{ab}) και προσαξονικής (SL_{ad}) επιφάνειας του φύλλου

Στην εικόνα 3 (Γ και Δ) παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των SL_{ad} και SL_{ab} , όπως καταγράφηκαν σε καθένα από τα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης (Α, Β, C, D). Το SL_{ad} και για τους τρεις γονότυπους παρουσιάζει μείωση, ενώ στον Σίμου, ο οποίος διαθέτει μικρότερα στομάτια σε όλα τα επίπεδα καταπόνησης, η μεταβολή είναι ηπιότερη. Σημαντική μείωση και του SL_{ab}

παρατηρείται στον Τριπτόλεμο, ενώ στην Αθηναΐδα και στον Σίμου η μεταβολή δεν εμφανίζεται στατιστικά σημαντική.

Γ.3. Φυσιολογικές παράμετροι

Γ.3.1. Ο δείκτης υδατικού δυναμικού

Η σημαντική μείωση των τιμών του WPI και στους τρεις γονότυπους (Εικόνα 4) ήταν αναμενόμενη και επαληθεύει τον διαχωρισμό σε τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό. Η ένταση της μείωσης ήταν σχεδόν η ίδια σε όλους τους γονότυπους, ενώ για την Αθηναΐδα καταγράφηκαν οι αρνητικότερες τιμές του WPI.

Γ.3.2. Μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μάζα ($A_{max,m}$)

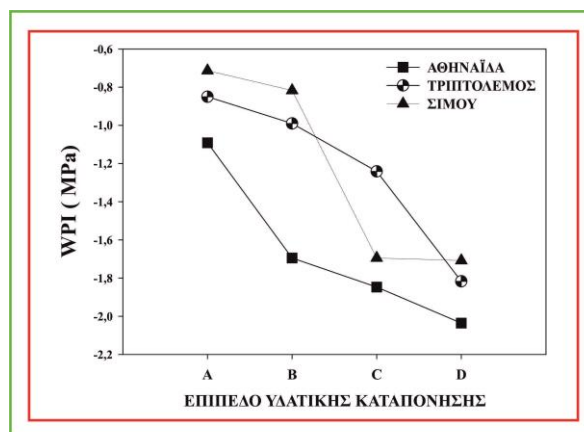
Στην Εικόνα 5.A παρουσιάζεται η μεταβολή της $A_{max,m}$ αυξανόμενου του επιπέδου υδατικής καταπόνησης για τους τρεις γονότυπους: Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της $A_{max,m}$ και για τους τρεις γονότυπους.

Γ.3.3. Διαπνοή (E)

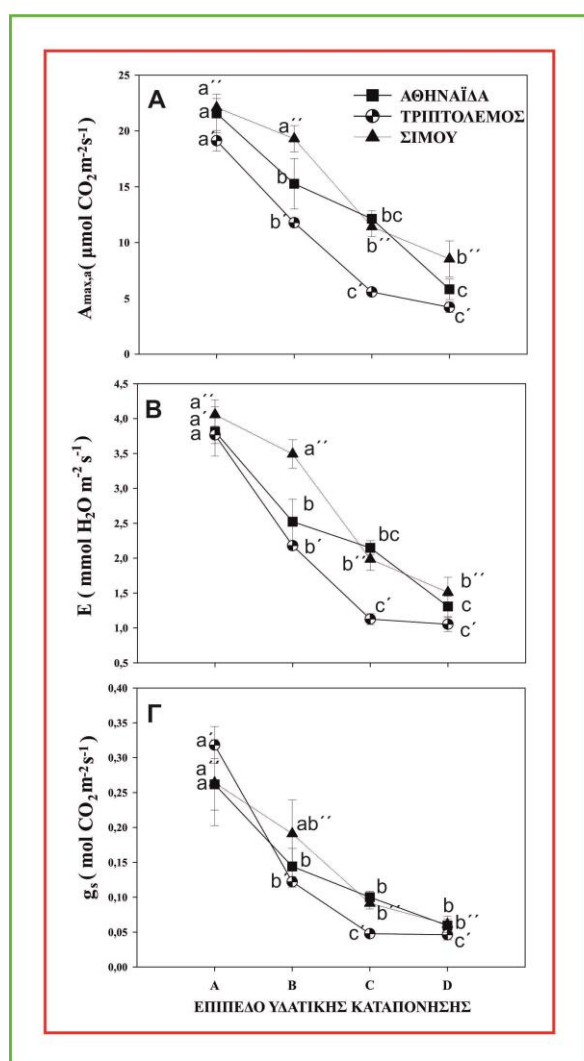
Οι μέσοι της E παρουσιάζονται στην Εικόνα 5.B. Η μείωση της διαπνοής ήταν στατιστικά σημαντική ανεξαρτήτως γονότυπου.

Γ.3.4. Στοματική αγωγιμότητα (g_s)

Όπως και για τις υπόλοιπες παραμέτρους που αφορούν την ανταλλαγή αερίων, $A_{max,m}$ και E, καταγράφηκε στατιστικά σημαντική μείωση της g_s για όλους τους γονότυπους, ενώ ο Τριπτόλεμος παρουσιάζει την εντονότερη μεταβολή, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 5.Γ.



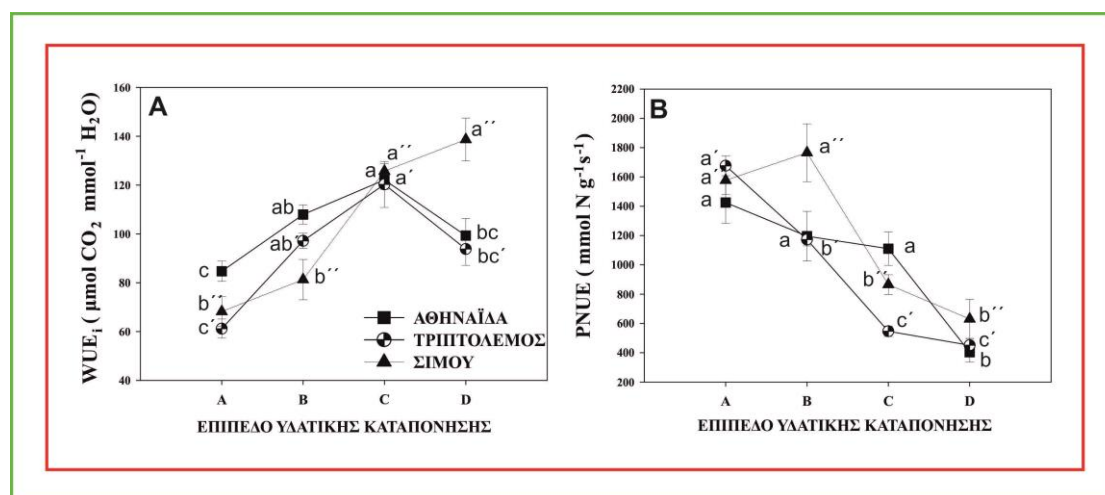
Εικόνα 4. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στον δείκτη υδατικού δυναμικού (WPI) στους τρεις γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης.



Εικόνα 5. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στις φυσιολογικές παραμέτρους Α. Μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μάζα ($A_{max,m}$), Β. Διαπνοή (E) και Γ. Στοματική αγωγιμότητα (g_s) στους 3 γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($p \leq 0.05$). Οι διαφορές των μέσων εντοπίστηκαν μέσω συγκρίσεων μεταξύ των μέσων όρων σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης ανά γονότυπο.

Γ.3.5. Αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE_i)

Στην Εικόνα 6.A παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της WUE_i αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης για τους τρεις υπό μελέτη γονότυπους. Στις ποικιλίες Αθηναΐδα και Τριπτόλεμος η WUE_i παρουσιάζει μέγιστο στο επίπεδο καταπόνησης C και μειώνεται στο μέγιστο επίπεδο υδατικής καταπόνησης (D). Αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης, ο πληθυσμός Σίμου παρουσιάζει γραμμική αύξηση της WUE_i .



Εικόνα 6. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στις φυσιολογικές παραμέτρους Α. Αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE_i) και Β. Αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (PNUE) στους 3 γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($p \leq 0.05$). Οι διαφορές των μέσων εντοπίστηκαν μέσω συγκρίσεων μεταξύ των μέσων όρων σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης ανά γονότυπο.

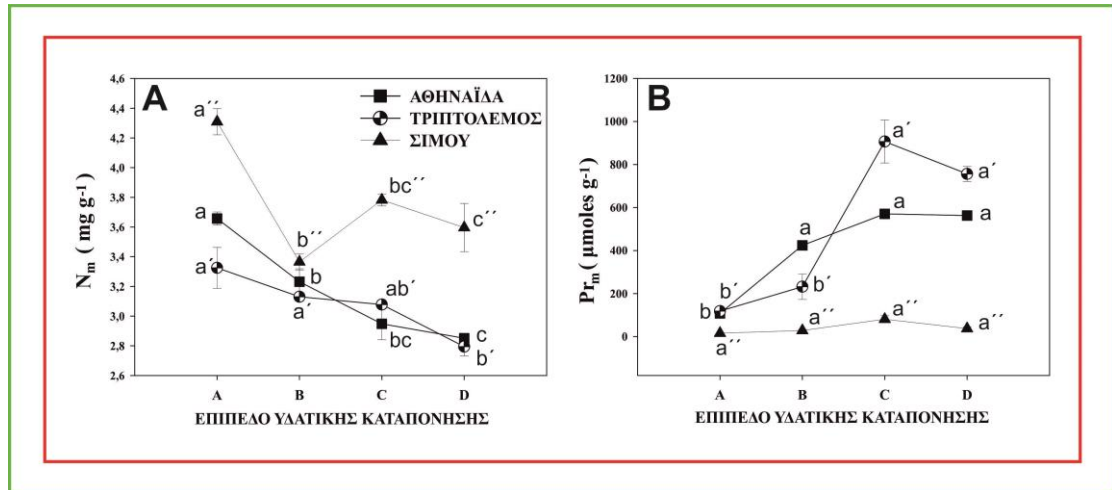
Γ.3.6. Αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (PNUE).

Οι μέσοι της PNUE παρουσιάζονται στην Εικόνα 5.B. Η μείωση αυξανόμενου του επιπέδου υδατικής καταπόνησης ήταν στατιστικά σημαντική ανεξαρτήτως γονότυπου.

Γ.4. Βιοχημικές παράμετροι

Γ.4.1. Συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά μάζα (N_m)

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων του N_m παρουσιάζονται στην Εικόνα 7.A. Αυξανόμενου του επιπέδου καταπόνησης παρατηρείται μείωση του N_m και στους τρεις γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου. Οι μεγαλύτερες τιμές του N_m καταγράφηκαν στον βελτιωμένο πληθυσμό Σίμου, ο οποίος παρά την έντονη μείωση σε συνθήκες ήπιας έλλειψης νερού (B), σε συνθήκες έντονης καταπόνησης (C, D) εμφανίζει υψηλότερες τιμές σε όλες τις μεταχειρίσεις άρδευσης σε σύγκριση με τις δύο ποικιλίες.



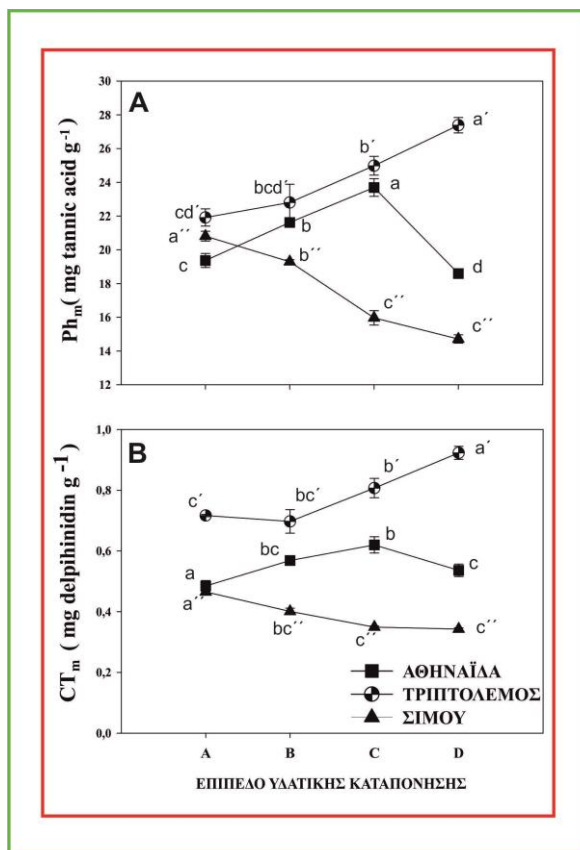
Εικόνα 7. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στο Α. Συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά μάζα φύλλου (N_m) και Β. Συγκέντρωση προλίνης ανά μάζα (Pr_m) στους 3 γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($p \leq 0.05$). Οι διαφορές των μέσων εντοπίστηκαν μέσω συγκρίσεων μεταξύ των μέσων όρων σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης ανά γονότυπο.

Γ.4.2. Συνολική συγκέντρωση προλίνης ανά μάζα (Pr_m)

Οι μέσοι όροι της Pr_m παρουσιάζονται στην Εικόνα 7.Β. Για τις δύο ποικιλίες Αθηναΐδα και Τριπτόλεμο παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της Pr_m αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης. Εντονότερη μεταβολή καταγράφηκε στον Τριπτόλεμο. Αντιθέτως, ο βελτιωμένος πληθυσμός Σίμου δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή.

Γ.4.3. Συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών ανά μάζα (Ph_m)

Η μεταβολή της παραμέτρου Ph_m υπό την επίδραση της υδατικής καταπόνησης για τους τρεις υπο μελέτη γονότυπους παρουσιάζεται στην Εικόνα 8.Α. Κάθε γονότυπος παρουσιάζει διαφορετική συμπεριφορά. Αύξηση της Ph_m



Εικόνα 8. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στο Α. Συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών ανά μάζα (Ph_m) και Β. Συγκέντρωση συμπυκνωμένων ταννινών ανά μάζα (Ct_m) στους 3 γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου ανά επίπεδο υδατικής καταπόνησης. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($p \leq 0.05$). Οι διαφορές των μέσων εντοπίστηκαν μέσω συγκρίσεων μεταξύ των μέσων όρων σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης ανά γονότυπο.

καταγράφηκε για την ποικιλία Τριπτόλεμο. Αντιθέτως ο γονότυπος Σίμου εμφανίζει μείωση της Rh_m αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης. Στην ποικιλία Αθηναΐδα παρατηρήθηκε αύξηση της Rh_m για τις τρεις πρώτες μεταχειρίσεις άρδευσης (Α,Β, C), ενώ ελάχιστο της Rh_m καταγράφηκε στο επίπεδο καταπόνησης D.

Γ.4. 4. Συγκέντρωση συμπυκνωμένων ταννινών ανά μάζα (CT_m)

Στην Εικόνα 8.Β. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της παραμέτρου CT_m . Η μεταβολή της CT_m παρουσιάζει το ίδιο πρότυπο για κάθε γονότυπο με την μεταβολή της Rh_m . Συνεπώς η ποικιλία Τριπτόλεμος εμφανίζει αύξηση της CT_m , ο γονότυπος Σίμου εμφανίζει μείωση αυξανόμενου του επιπέδου υδατικής καταπόνησης, ενώ στην ποικιλία Αθηναΐδα η CT_m εμφανίζει αύξηση για τις τρεις πρώτες μεταχειρίσεις άρδευσης (Α,Β, C), και ελάχιστο στο επίπεδο καταπόνησης D.

Γ.5. Συσχετίσεις παραμέτρων

Οι συντελεστές συσχέτισης ανά ζεύγος παραμέτρων παρουσιάζονται στους πίνακες 1, 2, 3 και 4 του Παραρτήματος. Λόγω του πλήθους των παραμέτρων και του διπαραγοντικού σχεδιασμού του πειράματος, ο όγκος των δεδομένων και συνεπώς των αποτελεσμάτων καθιστά την εξαγωγή συμπερασμάτων δυσχερή και χρήζει διαφορετικής προσέγγισης μέσω μεθόδων ανάλυσης οι οποίες επιτρέπουν τη μείωση των διαστάσεων μέσω του μετασχηματισμού των δεδομένων. Για αυτόν τον λόγο οι συσχετίσεις των παραμέτρων δεν εξετάζονται αναλυτικά αλλά αξιοποιήθηκαν για την τελική επιλογή των προς περαιτέρω ανάλυση παραμέτρων (βλ. Υλικά και Μέθοδοι, Στατιστική ανάλυση). Ωστόσο, οι πληροφορίες που εξάγονται από τις μήτρες των συσχετίσεων συνοψίζονται ως εξής:

1. Ισχυρές και στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις καταγράφηκαν για όλους τους γονότυπους μεταξύ του WPI και της πλειοψηφίας των υπό μελέτη παραμέτρων, όπως ήταν αναμενόμενο.
2. Για τις ποικιλίες Τριπτόλεμο και Αθηναΐδα ανεξαρτήτως επιπέδου υδατικής καταπόνησης, στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με υψηλούς συντελεστές εντοπίστηκαν κυρίως μεταξύ των χαρακτηριστικών του αγγειακού συστήματος και α) των χαρακτηριστικών των στοματίων, β) των σχετικών με την ανταλλαγή αερίων παραμέτρων και γ) τη συγκέντρωση προλίνης.
3. Η ποικιλία Τριπτόλεμος παρουσίασε το μεγαλύτερο πλήθος ισχυρών και στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων ενώ για τον γενετικά βελτιωμένο πληθυσμό Σίμου το πλήθος των ισχυρών και στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων παρουσιάστηκε συγκριτικά περιορισμένο.
4. Ανεξαρτήτως γονότυπου και επιπέδου υδατικής καταπόνησης καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις των σχετικών με την ανταλλαγή αερίων παραμέτρων και των βιοχημικών παραμέτρων.

Γ.6. Ανάλυση κυρίων συνιστωσών (PCA)

Για την αποσαφήνιση της σχέσης μεταξύ δομικών και λειτουργικών χαρακτηριστικών των φύλλων και των συνεπειών των δομικών τροποποιήσεων στη λειτουργία του φύλλου κατά τον εγκλιματισμό στην υδατική καταπόνηση, κρίθηκε απαραίτητη η ανάλυση των δεδομένων σε κύριες συνιστώσες λόγω του πλήθους των υπό μελέτη παραμέτρων και του υψηλού βαθμού συσχέτισεων μεταξύ αυτών (Παράρτημα: Πίνακες 1, 2, 3 και 4).

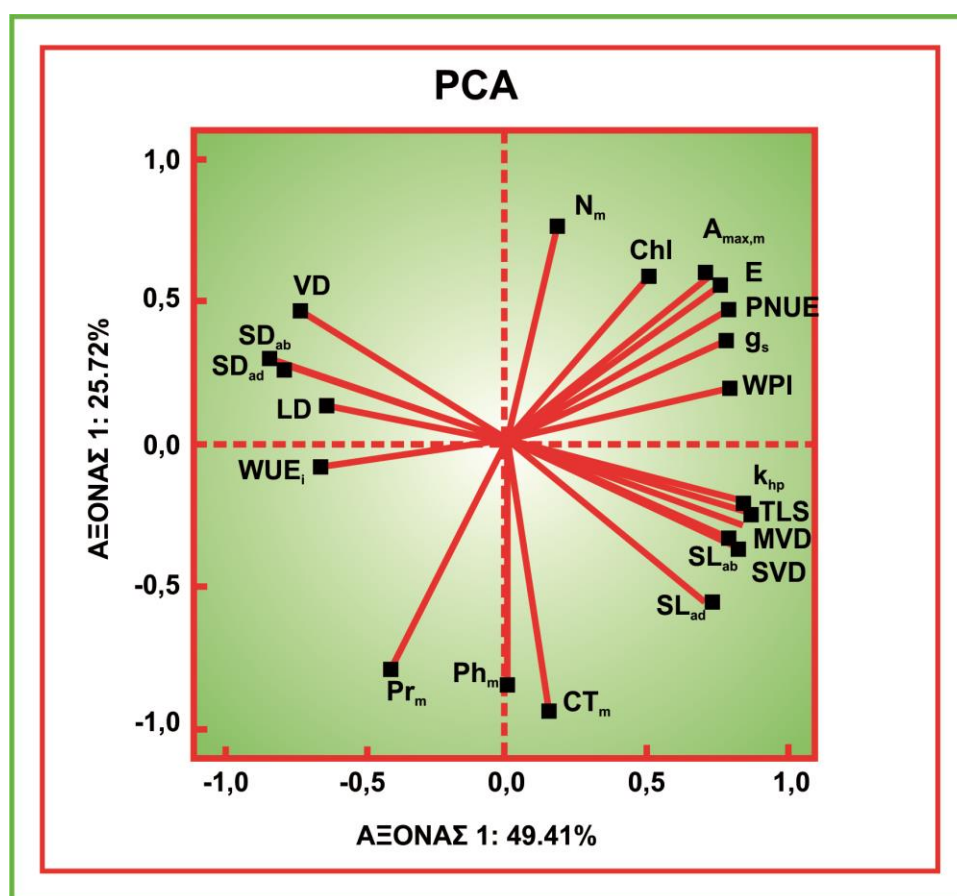
Τα αποτελέσματα της ανάλυσης κυρίων συνιστωσών (PCA) αναφέρονται στον υπολογισμό (μέσω γραμμικού μετασχηματισμού των αρχικών μεταβλητών) αξόνων στους οποίους καταγράφεται η μέγιστη διασπορά των δεδομένων. Ο συντελεστής (ιδιοδιάνυσμα) με τον οποίο πολλαπλασιάζεται η αρχική μεταβλητή κατά τον γραμμικό μετασχηματισμό για την εξαγωγή κύριων συνιστωσών (άξονες), δηλώνει την βαρύτητα της συνεισφοράς κάθε μεταβλητής (παράμετρος) στη συνολική διακύμανση των τιμών. Στην παρούσα μελέτη, η PCA (Εικόνα 9) ανέδειξε δύο βασικούς άξονες οι οποίοι αθροιστικά εξηγούν ποσοστό 75.13 % της συνολικής διακύμανσης (ιδιοτιμή). Η σωρευτική ιδιοτιμή του πρώτου άξονα είναι 49.41 και του δεύτερου άξονα 25.72. Οι τιμές των ιδιοδιανυσμάτων για κάθε παράμετρο σε κάθε έναν από τους δύο άξονες παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Επίσης στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται οι συντελεστές συσχέτισης των παραμέτρων με κάθε έναν από τους δύο άξονες.

Σύμφωνα με τις τιμές των ιδιοδιανυσμάτων (Πίνακας 1) στον πρώτο άξονα η TLS εμφανίζει την μεγαλύτερη βαρύτητα (0.279). Ακολουθούν η πυκνότητα των στοματίων (SD_{ad} , SD_{ad}), τα χαρακτηριστικά του αγγειακού συστήματος (MVD , SVD , k_{hp}) και ο δείκτης υδατικού δυναμικού (WPI) με τιμές από 0.269 έως 0.250. Οι τιμές των ιδιοδιανυσμάτων της αποδοτικότητας χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου ($PNUE$) και της πυκνότητας των νευρώσεων (VD) είναι 0.244 και -0.241 αντίστοιχα. Τέλος η βαρύτητα της στοματικής αγωγιμότητας (g_s), της πυκνότητας του φύλλου (LD), του μήκους των στοματίων της προσαξονικής επιφάνειας (SL_{ad}) και της αποδοτικότητας χρήσης νερού (WUE_i) αποδίδονται από τις τιμές των ιδιοδιανυσμάτων με εύρος από 0.240 έως -0.200 αντίστοιχα.

Όσον αφορά τη βαρύτητα της μέγιστης φωτοσυνθετικής ικανότητας ανά μάζα ($A_{max,m}$) και της διαπνοής (E) στους δύο άξονες, οι τιμές των ιδιοδιανυσμάτων δεν έχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ πρώτου και δεύτερου άξονα, ωστόσο οι δύο αυτές παράμετροι φαίνεται να έχουν μεγαλύτερη βαρύτητα στον δεύτερο άξονα.

Η συνεισφορά των βιοχημικών παραμέτρων στον πρώτο άξονα είναι ιδιαίτερα χαμηλή, ενώ στον δεύτερο άξονα καταγράφονται υψηλές τιμές ιδιοδιανυσμάτων. Τη μεγαλύτερη συνεισφορά εμφανίζεται να έχουν οι συγκεντρώσεις των δευτερογενών μεταβολιτών (Ph_m και CT_m) και ακολουθούν οι άμεσα ή έμμεσα σχετιζόμενες με το άζωτο παράμετροι όπως η συγκέντρωση προλίνης ανά μάζα (Pr_m), το συνολικό περιεχόμενο σε άζωτο ανά μάζα (N_m) και η συγκέντρωση χλωροφυλλών (Chl).

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται οι συντελεστές συσχέτισης των υπό μελέτη παραμέτρων με κάθε άξονα. Όλες οι μορφολογικές, ανατομικές και φυσιολογικές παράμετροι εμφανίζουν ισχυρότερες συσχετίσεις με τον πρώτο άξονα, ενώ οι βιοχημικές παράμετροι με τον δεύτερο άξονα. Οι υψηλότεροι συντελεστές συσχέτισης (0.882 έως 0.803) καταγράφηκαν μεταξύ του πρώτου άξονα και των δομικών χαρακτηριστικών του φύλλου όπως η TLS, τα χαρακτηριστικά των στοματίων (SD_{ad} , SD_{ab} και SL_{ab}) και του αγγειακού συστήματος (MVD , SVD , k_{hp}) καθώς και ο δείκτης υδατικού δυναμικού (WPI). Ισχυρή θετική συσχέτιση καταγράφηκε μεταξύ του δεύτερου άξονα και του N_m , ενώ οι συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών (Ph_m και CT_m) και της προλίνης (Pr_m) παρουσίασαν ισχυρές αρνητικές συσχετίσεις.



Εικόνα 9. Ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) για τους τρεις γονότυπους: Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο, Σίμου και όλα τα επίπεδα υδατικής καταπόνησης. N_m :συνολικό περιεχόμενο σε άζωτο ανά μάζα, Chl : συγκέντρωση χλωροφυλλών, $A_{max,m}$: μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μάζα, E : διαπνοή, $PNUE$: αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου, g_s : στοματική αγωγιμότητα, WPI : δείκτης υδατικού δυναμικού, k_{hp} : υδραυλική αγωγιμότητα, TLS : επιφάνεια φύλλου, MVD : διάμετρος αγγείων κεντρική νεύρωσης, SVD : διάμετρος αγγείων δευτερευουσών νευρώσεων, SL_{ad} , SL_{ab} : μήκος στοματίων, CT_m : συγκέντρωση συμπυκνωμένων ταννινών ανά μάζα, Ph_m : συγκέντρωση ολικών φαινολικών ανά μάζα, Pr_m : συγκέντρωση προλίνης ανά μάζα, WUE_i : αποδοτικότητα χρήσης νερού, LD : πυκνότητα φύλλου, SD_{ad} , SD_{ab} : πυκνότητα στοματίων, VD : πυκνότητα νευρώσεων.

Πίνακας 1: Τιμές ιδιοδιανυσμάτων της ανάλυσης κυρίων συνιστωσών (PCA) για κάθε έναν από τους δύο πρώτους άξονες. Οι παράμετροι παρουσιάζονται βάσει της τιμής του ιδιοδιανύσματος στον Άξονα 1 με φθίνουσα σειρά. Η μέγιστη τιμή που καταγράφηκε για κάθε παράμετρο μεταξύ των δύο αξόνων επισημαίνεται με έντονη γραφή. Σε ποσοστό % αναγράφεται η βαρύτητα (ιδιοτιμή) του κάθε άξονα στη συνολική διακύμανση των τιμών.

Παράμετρος	Άξονας 1 (49,41%)	Άξονας 2 (25,72%)
TLS	0,274	-0,103
SD_{ad}	-0,269	0,128
MVD	0,269	-0,128
SD_{ab}	-0,260	0,119
k_{hp}	0,257	-0,092
WPI	0,257	0,096
SVD	0,256	-0,160
SL_{ab}	0,250	-0,151
PNUE	0,244	0,210
VD	-0,241	0,197
g_s	0,240	0,167
A_{max,m}	0,233	0,262
E	0,232	0,250
LD	-0,221	0,057
SL_{ad}	0,202	-0,200
WUE_i	-0,200	-0,042
ChI_m	0,158	0,250
Pr_m	-0,126	-0,347
N_m	0,047	0,334
CT_m	0,017	-0,398
Ph_m	-0,000	-0,405

Πίνακας 2: Συντελεστές συσχέτισης των παραμέτρων με τον κάθε έναν από τους δύο πρώτους άξονες της ανάλυσης κυρίων συνιστωσών (PCA). Οι παράμετροι παρουσιάζονται βάσει της τιμής του συντελεστή συσχέτισης για τον Άξονα 1 με φθίνουσα σειρά. Ο μέγιστος συντελεστής συσχέτισης που καταγράφηκε για κάθε παράμετρο μεταξύ των δύο αξόνων επισημαίνεται με έντονη γραφή. Σε ποσοστό % αναγράφεται η βαρύτητα (ιδιοτιμή) του κάθε άξονα στη συνολική διακύμανση των τιμών. Το αρνητικό πρόσημο υποδηλώνει αρνητική συσχέτιση.

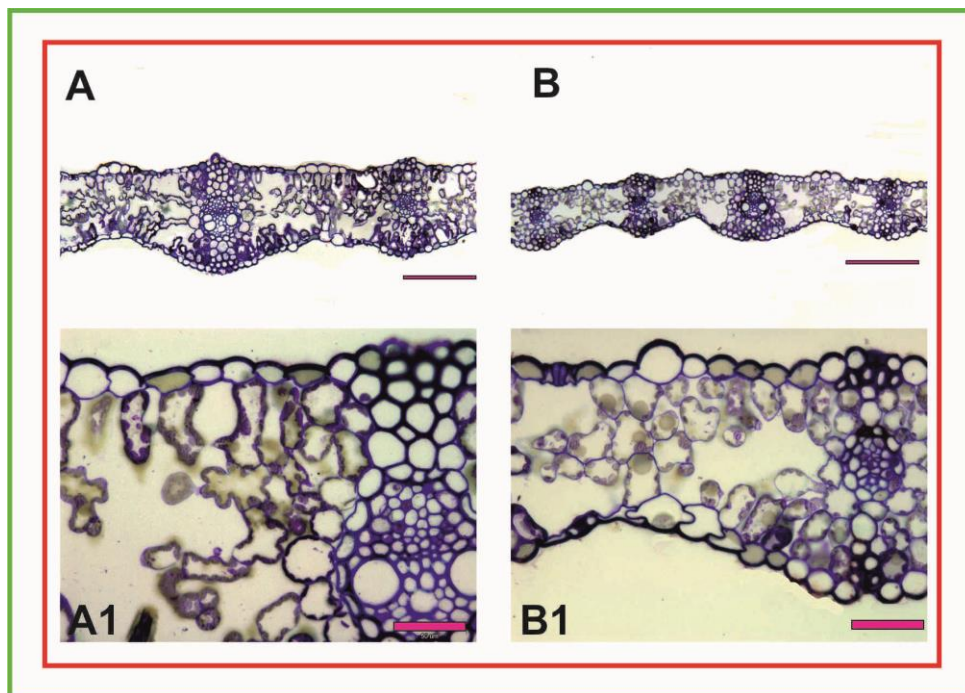
Παράμετρος	Άξονας 1 (49,41%)	Άξονας 2 (25,72%)
TLS	0,882	-0,239
SD_{ad}	-0,869	0,298
MVD	0,865	-0,298
SD_{ab}	-0,835	0,277
k_{hp}	0,829	-0,213
WPI	0,829	0,224
SVD	0,823	-0,374
SL_{ab}	0,803	-0,352
PNUE	0,789	0,497
VD	-0,778	0,458
g_s	0,770	0,387
E	0,747	0,580
A_{max,m}	0,723	0,610
LD	-0,712	0,132
SL_{ad}	0,651	-0,505
WUE_i	-0,645	-0,099
chl	0,508	0,580
Pr_m	-0,407	-0,807
N_m	0,151	0,775
CT_m	0,053	-0,924
Ph_m	-0,001	-0,829

B' ΜΕΡΟΣ:

Στο δεύτερο μέρος της παρούσας μελέτης τέθηκε σε δοκιμασία η υπόθεση εργασίας σύμφωνα με την οποία ο μακροπρόθεσμος εγκλιματισμός του κριθαριού σε συνθήκες παρατεταμένης ξηρασίας περιλαμβάνει μια γενικευμένη συρρίκνωση κυτταρικών και υποκυτταρικών δομών των φύλλων με στόχο την αποτελεσματικότερη διαχείριση του νερού (βλ. Σκοπός της εργασίας). Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκε ο γονότυπος Τριπτόλεμος, ο οποίος σε σύγκριση με τους άλλους δύο γονότυπους παρουσιάζει τη μεγαλύτερη πλαστικότητα χαρακτηριστικών. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν μόνο σε δύο χειρισμούς (control A και D), λόγω του μεγάλου όγκου πειραματικής εργασίας.

Γ.7. Ανατομική μελέτη

Τα φύλλα του κριθαριού, ως μονοκότυλου αγροστώδους, διαθέτουν μόνον έναν τύπο παρεγχυματικών κυττάρων, τα οποία είναι έλοβα και ακανόνιστου σχήματος. Οι νευρώσεις διατάσσονται παράλληλα και ο δεσμικός κολεός σχηματίζει προεκτάσεις, οι οποίες αποτελούνται κυρίως από σκληροεγχυματικά κύτταρα και εφάπτονται στην άνω και κάτω επιδερμίδα. Τα κύτταρα συστροφής εντοπίζονται και στις δύο επιφάνειες του φύλλου, παρεμβάλλονται των επιδερμικών κυττάρων κατά ομάδες μεταξύ των ηθμαγγειωδών



Εικόνα 10. Εγκάρσιες ημίελεπτες τομές A, A1. φύλλου υπό συνθήκες επάρκειας νερού (επίπεδο υδατικής καταπόνησης A) και B, B1. φύλλου υπό συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (επίπεδο υδατικής καταπόνησης D). Διακρίνεται η σημαντική διαφορά στο μέγεθος των κυττάρων όλων των ιστών καθώς και στο πάχος του φύλλου. Χρώση με κυανό της τολουιδίνης. Κλίμακα A και B 200μm, A1 και B1 50μm.

δεσμίδων και διαχωρίζονται από τα επιδερμικά κύτταρα λόγω του χαρακτηριστικού σχήματος και μεγέθους. Τα κύτταρα του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος του κολεού είναι μικρότερα σε σύγκριση με τα παρεγχυματικά κύτταρα του μεσόφυλλου και το σχήμα τους είναι σχεδόν σφαιρικό. Επίσης εντοπίζονται στομάτια και στις δύο επιφάνειες του φύλλου.

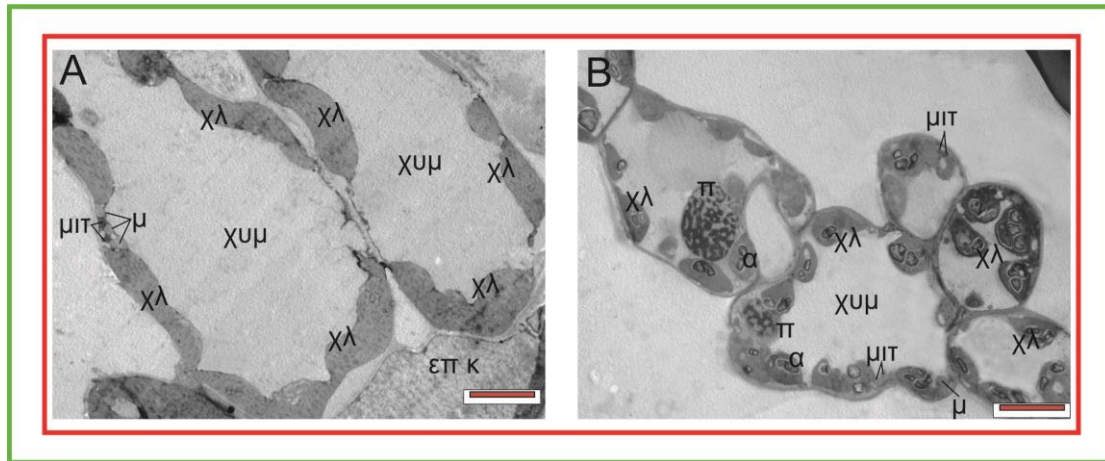
Υπό συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (Επίπεδο υδατικής καταπόνησης D) το πάχος του φύλλου μειώνεται (Πίνακας 3) όπως παρατηρείται και στην Εικόνα 10. Επίσης σε σύγκριση με τα εκπτυγμένα υπό συνθήκες επάρκειας νερού φύλλα (Εικόνες 10. Α, Α1 και 12.Α.) η επιφάνεια των κυττάρων του μεσόφυλλου (παρεγχυματικά κύτταρα και φωτοσυνθετικά κύτταρα του κολεού) και της επιδερμίδας (επιδερμικά κύτταρα και κύτταρα συστροφής) καθώς και η διάμετρος του δεσμικού κολεού και των αγγείων ξύλου (κεντρικής νεύρωσης και δευτερευουσών νευρώσεων) (Πίνακας 3) δηλαδή οι διαστάσεις όλων ανεξαιρέτως των ιστών του εγκλιματισμένου φύλλου (Εικόνα 10.Β και Β1) μειώνονται.

Η παρατεταμένη υδατική καταπόνηση προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση του πάχους της εφυμενίδας (Εικόνα 11) και του τοιχώματος των κυττάρων του μεσόφυλλου, ενώ το πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων της επιδερμίδας δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντική μεταβολή (Πίνακας 3).



Εικόνα 11. Παρατήρηση με το Η.Μ.Δ. εγκάρσιων τομών φύλλου κριθαριού Α. υπό συνθήκες επάρκειας νερού (επίπεδο υδατικής καταπόνησης Α) και Β. υπό συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (επίπεδο υδατικής καταπόνησης D). Παρατηρούνται κύτταρα της επιδερμίδας. Το πάχος της εφυμενίδας εμφανίζεται εμφανώς αυξημένο στα φύλλα των καταπονημένων φυτών. Κλίμακα 1μm. β, βοθρίο, ε: εφυμενίδα, κτ: κυτταρικό τοίχωμα.

Σε υποκυτταρικό επίπεδο, η επιφάνεια των χλωροπλαστών των εγκλιματισμένων στην υδατική καταπόνηση φύλλων είναι μικρότερη σε σύγκριση με τις αντίστοιχες επιφάνειες σε συνθήκες επάρκειας νερού (Πίνακας 3, Εικόνα 13) . Μέσω της παρατήρησης με το ΗΜΔ εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές και στη λεπτή δομή τόσο των κυττάρων όσο και των χλωροπλαστών.



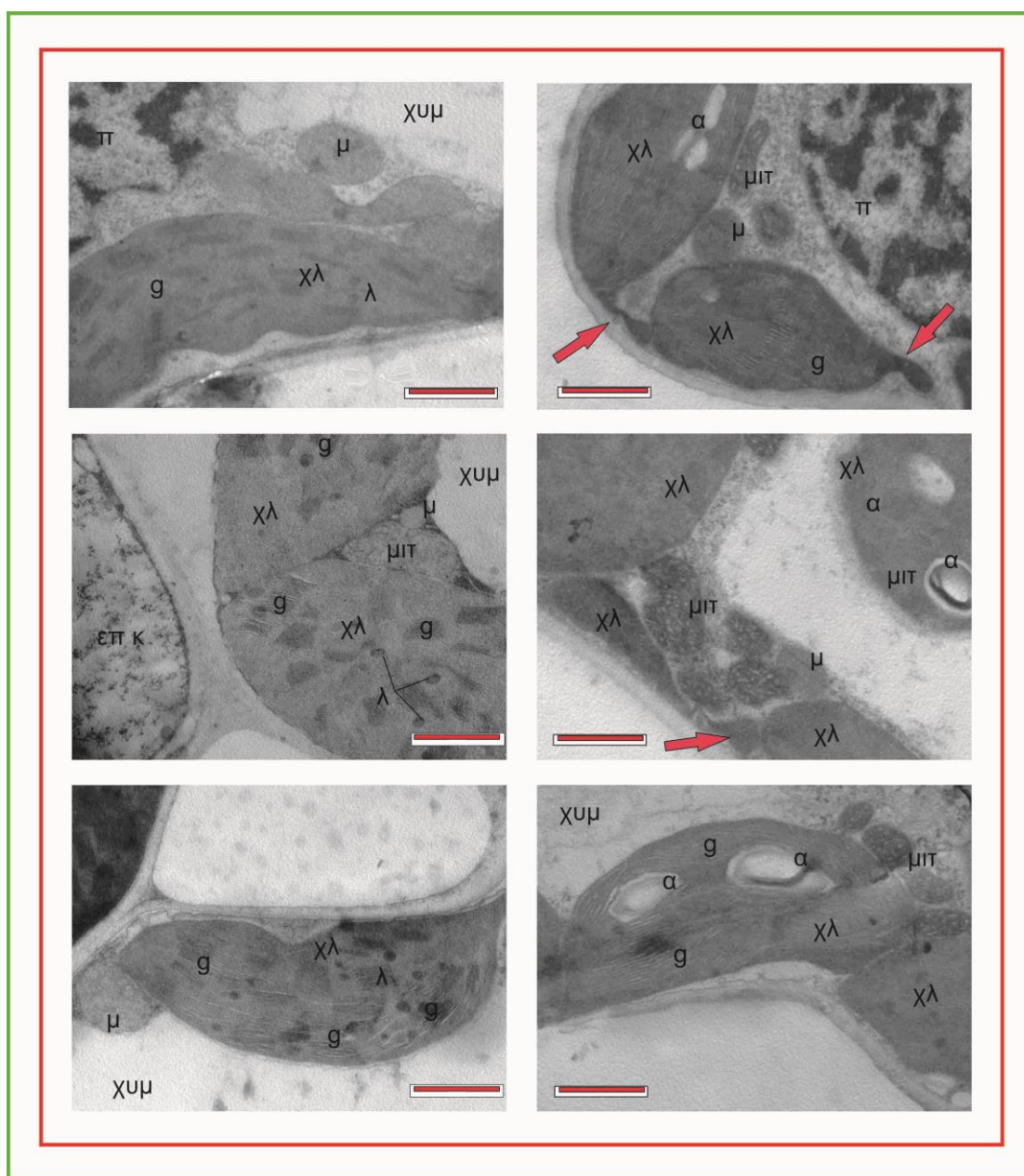
Εικόνα 11. Παρατήρηση με το Η.Μ.Δ. εγκάρσιων τομών φύλλου κριθαριού Α. υπό συνθήκες επάρκειας νερού (επίπεδο υδατικής καταπόνησης Α) και Β. υπό συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (επίπεδο υδατικής καταπόνησης D). Παρατηρούνται κύτταρα του μεσόφυλλου. Η διάταξη των χλωροπλάστων είναι περιμετρική έτσι ώστε να βρίσκονται σε επαφή με τους μεσοκυττάρους χώρους. Διακρίνεται η διαφορά μεγέθους των κυττάρων και των χλωροπλάστων μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων άρδευσης. Τα κύτταρα και οι χλωροπλάστες των καταπονημένων φυτών είναι μικρότερα. Στους χλωροπλάστες των καταπονημένων φυτών εντοπίζονται αμυλόκοκκοι οι οποίοι καταλαμβάνουν σημαντικό μέρος του στρώματος διογκώνοντας τους χλωροπλάστες. Κλίμακα 5μm. α: αμυλόκοκκοι, επ κ: επιδερμικό κύτταρο, μ: μικροσωμάτιο, μιτ: μιτοχόνδριο, π: πυρήνας, χλ: χλωροπλάστης, χυμ: χυμοτόπιο.

Πίνακας 3. Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στα ανατομικά χαρακτηριστικά του φύλλου του κριθαριού.

Ανατομικές παράμετροι	Μεταχείριση άρδευσης	
	A	D
Αριθμός κυττάρων ανά mm ²	1057.8 ± 48.6 ^b	1508.7 ± 172.7 ^a
Επιφάνεια κυττάρου μεσόφυλλου (μm ²)	893,8 ± 148 ^a	391.14 ± 82.3 ^b
Επιφάνεια χλωροπλάστη (μm ²)	20.5 ± 1.32 ^a	15.59 ± 2.94 ^b
Επιφάνεια μιτοχονδρίου (μm ²)	0.478 ± 0.07 ^a	0.277 ± 0.06 ^b
Επιφάνεια επιδερμικού κυττάρου (μm ²)	534,8 ± 87.8 ^a	305.15 ± 26.5 ^b
Επιφάνεια κυττάρου συστροφής (μm ²)	554,14 ± 241.5 ^a	229.58 ± 89.4 ^b
Επιφάνεια φωτοσ. κυττάρου κολεού (μm ²)	568.32 ± 64.7 ^a	275.05 ± 5.39 ^b
Πάχος κυτ. τοιχώματος μεσόφυλλο (μm)	0.163 ± 0.03 ^b	0.229 ± 0.4 ^a
Πάχος κυτ. τοιχώματος επιδερμίδα (μm)	1.38 ± 0.35 ^a	1.80 ± 0.33 ^a
Πάχος εφυμενίδας (μm)	0.742 ± 0.13 ^b	1.26 ± 0.18 ^a
Πάχος φύλλου (μm)	172,6 ± 43,5 ^a	130,6 ± 13,62 ^b
Διάμετρος κολεού κεντρικής νεύρωσης (μm)	144 ± 19.5 ^a	106.6 ± 10.3 ^b
Διάμετρος κολεού δευτ. νευρώσεων (μm)	107.3 ± 9.9 ^a	79 ± 5.2 ^b
Διάμετρος αγγείων κεντρικής νεύρωσης (μm)	33.7 ± 3.2 ^a	20.53 ± 3.9 ^b
Διάμετρος αγγείων δευτ. νευρώσεων (μm)	25.4 ± 3.1 ^a	17.28 ± 1.7 ^b

Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα. Διαφορετικοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων (p<0.05).

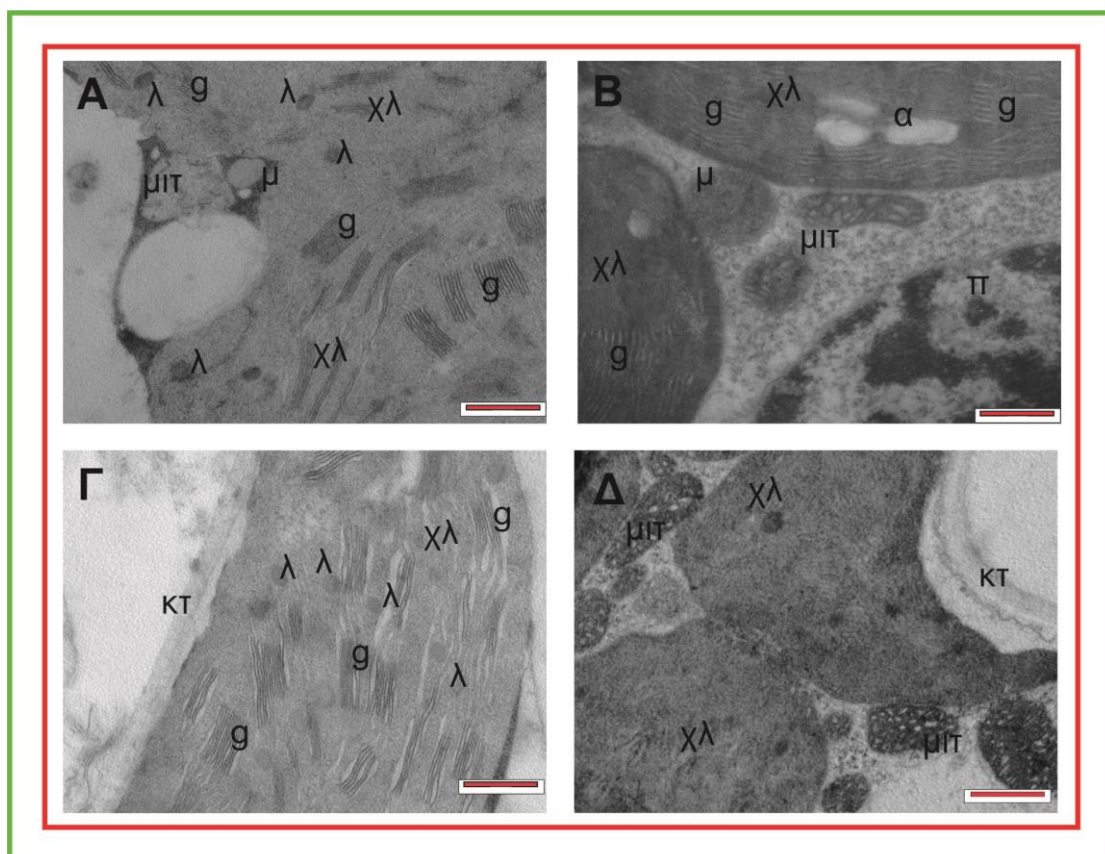
Οι χλωροπλάστες διατάσσονται περιμετρικά των φωτοσυνθετικών κυττάρων έτσι ώστε να βρίσκονται σε επαφή με τους μεσοκυττάριους χώρους (Εικόνα 12). Επίσης, σε επαφή με τους χλωροπλάστες παρατηρήθηκαν μιτοχόνδρια και μικροσωμάτια (Εικόνα 13). Ειδικότερα, στους χλωροπλάστες των καταπονημένων φυτών εντοπίζονται αμυλόκοκκοι οι οποίοι καταλαμβάνουν σημαντικό μέρος του στρώματος διογκώνοντάς τους (Εικόνες 12.B, 13.B, Δ και ΣΤ, 14.B, 15.B, και 16.B). Υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης η διάταξη των



Εικόνα 13. Παρατήρηση με το Η.Μ.Δ. εγκάρσιων τομών φύλλου κριθαριού στην περιοχή του μεσοφύλλου Α, Γ, Ε. υπό συνθήκες επάρκειας νερού (επίπεδο υδατικής καταπόνησης Α) και Β, Δ, ΣΤ. υπό συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (επίπεδο υδατικής καταπόνησης D). Σε συνθήκες έντονης καταπόνησης οι χλωροπλάστες είναι εμφανώς μικρότεροι, ενώ εντοπίζονται μικρότερα και περισσότερα μιτοχόνδρια. Κλίμακα 1μm. α: αμυλόκοκκοι, επ κ: επιδερμικό κύτταρο, λ: λιποσταγονίδια, μ: μικροσωμάτιο, μιτ: μιτοχόνδριο, π: πυρήνας, χλ: χλωροπλάστης, χυμ: χυμοτόπιο, g: grana.

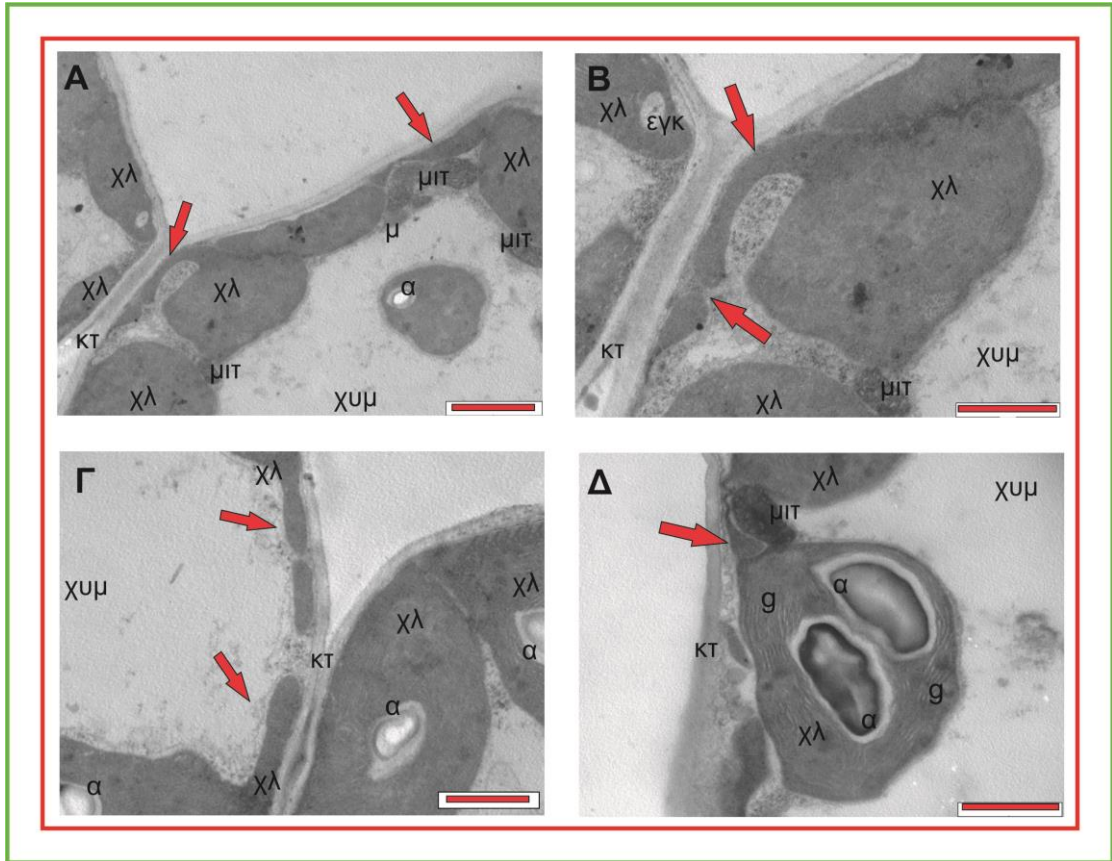
θυλακοειδών και των grana είναι πυκνότερη (Εικόνες 14.B, Δ και 15.B και Δ). Επίσης παρατηρήθηκε ότι οι δομές των μεμβρανών δεν έχουν διατηρηθεί πλήρως σε αντίθεση με αυτές των δειγμάτων της πρώτης μεταχείρισης (επάρκεια νερού, Α).

Ακόμη, μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων άρδευσης εντοπίστηκαν διαφορές στο μέγεθος και τον αριθμό των μιτοχονδρίων. Όπως φαίνεται στις Εικόνες 13 και 14, υπό συνθήκες έλλειψης νερού τα κύτταρα του μεσόφυλλου διαθέτουν περισσότερα και μικρότερου μεγέθους μιτοχόνδρια.



Εικόνα 14. Παρατήρηση με το Η.Μ.Δ. εγκάρσιων τομών φύλλου κριθαριού στην περιοχή του μεσοφύλλου Α, Γ. υπό συνθήκες επάρκειας νερού (επίπεδο υδατικής καταπόνησης Α) και Β, Δ. υπό συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (επίπεδο υδατικής καταπόνησης D). Σε συνθήκες έντονης καταπόνησης η λεπτή δομή του χλωροπλάστη μεταβάλλεται. Η διάταξη των θυλακοειδών και των grana είναι πυκνότερη. Παρατηρείται ότι οι δομές των μεμβρανών δεν έχουν διατηρηθεί πλήρως. Εντοπίζονται μικρότερα και περισσότερα μιτοχόνδρια. Κλίμακα 500nm. α: αμυλόκοκκοι, κτ: κυτταρικό τοίχωμα, λ: λιπασταγονίδια, μ: μικροσωμάτιο, μιτ: μιτοχόνδριο, π: πυρήνας, χλ: χλωροπλάστης, χμ: χυμοτόπιο, g: grana.

Σε αρκετούς χλωροπλάστες των εγκλιματισμένων στην υδατική καταπόνηση φύλλων εντοπίστηκαν προεκτάσεις του στρώματος των χλωροπλάστων (Εικόνα 15), ενώ δεν εντοπίστηκαν στις τομές φύλλων υπό συνθήκες επάρκειας νερού.



Εικόνα 15. Παρατήρηση με το Η.Μ.Δ. εγκάρσιων τομών φύλλου κριθαριού στην περιοχή του μεσοφύλλου υπό συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (επίπεδο υδατικής καταπόνησης D). Σε συνθήκες έντονης καταπόνησης εντοπίζονται προεκτάσεις του στρώματος των χλωροπλάστων (κόκκινα βέλη), οι οποίες ενδεχομένως αποκόπτονται από το κεντρικό τμήμα του χλωροπλάστη. Α. Κλίμακα 1μm. Β. Λεπτομέρεια της εικόνας Α, Κλίμακα 2μm. Γ, Δ. Κλίμακα 2μm α: αμυλόκοκκοι, εγκ: έγκλειστο, επ κ: επιδερμικό κύτταρο, κτ: κυτταρικό τοίχωμα, λ: λιποσταγονίδια, μ: μικροσωμάτιο, μιτ: μιτοχόνδριο, π: πυρήνας, χλ: χλωροπλάστης, χυμ: χυμοτόπιο, g: grana.

Συζήτηση

Αντικείμενο μελέτης της παρούσας διατριβής απετέλεσε η διερεύνηση των σχέσεων δομής και λειτουργίας των φύλλων τριών γονοτύπων κριθαριού (*Hordeum vulgare* L.) κατά τον εγκλιματισμό σε συνθήκες παρατεταμένης υδατικής καταπόνησης, με έμφαση στις μεταβολές των διαστάσεων κυτταρικών και υποκυτταρικών δομών.

Σύμφωνα με τα δεδομένα που προκύπτουν οι διαφορετικές μεταχειρίσεις άρδευσης προκάλεσαν διακύμανση στην υδατική κατάσταση των φύλλων των υπό μελέτη γονοτύπων. Η αναμενόμενη μείωση του δείκτη υδατικού δυναμικού (WPI) (Γ.3.1, Εικόνα 4) , η οποία παρατηρήθηκε και στους τρεις γονότυπους Αθηναΐδα, Τριπτόλεμο και Σίμου κι οφείλεται στη μειωμένη ροή νερού προς τα φύλλα αυξανόμενου του επιπέδου υδατικής καταπόνησης, επέφερε σημαντικές μεταβολές σε μορφο-ανατομικό, φυσιολογικό και βιοχημικό επίπεδο (βλ. Παράρτημα, Πίνακες 1, 2, 3, 4 και 5).

Η ικανότητα εγκλιματισμού στην υδατική καταπόνηση εξαρτάται από τον γονότυπο.

Οι αλλαγές σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις αλληλεπιδρούν με τον γονότυπο (Haugen et al. 2008). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, επιβεβαιώνουν την αλληλεπίδραση αυτή και στο κριθάρι, δεδομένου ότι η ένταση της μεταβολής των παραμέτρων αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης εξαρτάται από τον γονότυπο. Οι ποικιλίες Τριπτόλεμος και Αθηναΐδα εμφανίζουν μεγαλύτερη πλαστικότητα σε σύγκριση με τον βελτιωμένο πληθυσμό Σίμου. Στον γονότυπο Σίμου δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στις διαστάσεις του αγγειακού συστήματος (MVD, SVD, k_{hp} , βλ. Γ.2.3., Εικόνα 2) και στα χαρακτηριστικά των στοματίων (SD και SL, Γ.2.4., Εικόνα 3), καθώς επίσης και στη συγκέντρωση προλίνης (Pr_m , Γ.4.2., Εικόνα 7B), ενώ αναφορικά με τη συγκέντρωση δευτερογενών μεταβολιτών σε αντίθεση με τις δύο ποικιλίες , καταγράφηκε μείωση της συγκέντρωσής τους (Ph_m και CT_m , Γ.4.3. και 4., Εικόνα 8). Η διαφορετική συμπεριφορά κάθε γονοτύπου κατά τον εγκλιματισμό στην έλλειψη νερού, καταδεικνύεται και από το διαφορετικό πλήθος και την ισχύ των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων (βλ. Παράρτημα, Πίνακες 1, 2 και 3). Σε αντίθεση με τον γονότυπο Σίμου, η ποικιλία Τριπτόλεμος παρουσίασε το μεγαλύτερο πλήθος ισχυρών και στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων καταδεικνύοντας τις δραματικές τροποποιήσεις που επέφερε η έλλειψη νερού στη δομή και λειτουργία του συγκεκριμένου γονοτύπου. Φαίνεται ότι ο βελτιωμένος πληθυσμός Σίμου, ο οποίος σε αντίθεση με τις ποικιλίες διαθέτει στενότερα αγγεία, μικρότερα και πυκνότερα στομάτια, καταφέρνει να βελτιώσει την αποδοτικότητα χρήσης νερού (WUE_i) ακόμη και υπό συνθήκες έντονης καταπόνησης (Γ.3.5., Εικόνα 6A). Η θετική συσχέτιση μεταξύ των χαρακτηριστικών των στοματίων και της WUE_i έχει καταγραφεί σε προηγούμενες μελέτες μονοκότυλων φυτών (Xu and Zhou, 2005; Aguirrezabal et al., 2006; Monclus et al., 2006, Yang et al., 2007; Xu and Zhou, 2008; Bresta et al., 2011).

Οι τροποποιήσεις στη δομή του φύλλου του κατά τον εγκλιματισμό στην υδατική καταπόνηση επιφέρουν και λειτουργικές τροποποιήσεις.

Η μείωση της φυλλικής επιφάνειας (TLS, Γ.1.1., Εικόνα 1Α) αποτέλεσε κοινή αντίδραση όλων των υπό μελέτη γονοτύπων, επιβεβαιώνοντας τον περιορισμό της διαπνέουσας επιφάνειας ως ζωτικής σημασίας αντίδραση έναντι της υδατικής καταπόνησης (βλ. Α.8.2.1.1.). Επίσης, παρατηρήθηκε αύξηση της πυκνότητας του φύλλου (LD, Γ.1.3) και στους τρεις γονότυπους καθώς και της μάζας ανά φυλλική επιφάνεια για τους γονότυπους Αθηναΐδα και Σίμου (LMA, Γ.1.1., Εικόνα 1Β). Αύξηση της LMA (Salleo and Lo Gullo, 1997; Yin, 2002) και της LD, έχει παρατηρηθεί σε όλους τους τύπους βλάστησης κατά τον εγκλιματισμό σε συνθήκες έλλειψης νερού και αποτελούν χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την αντοχή στην ξηρασία (Niinemets, 2001; Marron *et al.*, 2003, Ogaya and Penuelas, 2006; Poorter *et al.*, 2009). Η υψηλότερη LMA μπορεί να οφείλεται είτε σε αύξηση της LD είτε του πάχους του φύλλου LT, ή και των δύο. Στην παρούσα εργασία το LT μειώθηκε στην ποικιλία Τριπτόλεμο (βλ. Γ.7., Πίνακας 3) ενώ δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή στους άλλους δύο γονότυπους Αθηναΐδα και Σίμου (τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται), υποδεικνύοντας ότι η αύξηση της LMA πιθανόν να οφείλεται σε προοδευτική συσσώρευση των φωτοσυνθετικών προϊόντων (Virgona and Barlow, 1991; Medrano *et al.*, 2009) λόγω της μείωσης της φόρτωσης του ηθμού σε συνθήκες έλλειψης νερού (Bota *et al.*, 2004).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, σε συνθήκες έλλειψης νερού η διάμετρος των αγγείων του ξύλου παρουσιάζει μείωση, για τις ποικιλίες Αθηναΐδα και Τριπτόλεμο με αποτέλεσμα τη μείωση της υδραυλικής αγωγιμότητας (k_{hp} , Γ.2.2., Εικόνα 2Γ). Η k_{hp} εκφράζει την «ευκολία» με την οποία πραγματοποιείται η μετακίνηση του νερού εντός των αγγείων. Εξ ορισμού η εξάρτηση της k_{hp} από τη διάμετρο των αγγείων είναι πολύ ισχυρή αφού ο διπλασιασμός της διαμέτρου δεκαεξαπλασιάζει την υδραυλική αγωγιμότητα του αγγείου. Παράλληλα, η πυκνότητα των νευρώσεων (VD, Γ.2.3, Εικόνα 2Δ) αυξάνεται αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης για όλους τους γονότυπους. Συνεπώς τα εγκλιματισμένα φύλλα έχουν στενότερα και πυκνότερα αγγεία. Έχει διαπιστωθεί ότι ο κίνδυνος της δημιουργίας εμβολών εξαρτάται από το μέγεθος των αγγείων (Zimmerman, 1983; Psaras and Sofroniou, 1999; Pockman and Sperry 2000; Kocacinar and Sage, 2003; Li *et al.*, 2009). Τα αυξημένου μεγέθους αγγεία διευκολύνουν την μετακίνηση του νερού, ωστόσο είναι ευπαθή στη δημιουργία εμβολών (Tyree *et al.* 1994; Lo Gullo *et al.*, 1995; Stiller, 2009). Η μείωση της διαμέτρου των αγγείων και η αύξηση της πυκνότητας τους αποτελεί ένδειξη της ικανότητας εγκλιματισμού των γονοτύπων μέσω τροποποίησης των χαρακτηριστικών του αγωγού ιστού με στόχο τη μείωση του κινδύνου δημιουργίας εμβολών και είναι συμβατή με την υπόθεση της εξελικτικής βελτιστοποίησης της δομής του ξύλου για την εξισορρόπηση των αναγκών αποτελεσματικής μεταφοράς και ασφαλούς μεταφοράς μέσω του αγωγού ιστού (Tyree *et al.* 1994; Pockman and Sperry, 2000; Hacke and Sperry, 2001; Westoby and Wright, 2006). Οι τροποποιήσεις των χαρακτηριστικών του αγγειακού συστήματος σε συνδυασμό με τη μείωση

της TLS καταδεικνύει την στρατηγική που ακολουθείται: μείωση του κινδύνου μίας καταστροφικής εμβολής των αγγείων μέσω αύξησης της πυκνότητας των νευρώσεων ανεξαρτήτως ενεργειακού κόστους και συνεπώς επιβίωση, έναντι της επένδυσης σε φυλλική επιφάνεια που αντιπροσωπεύει αυξημένες διαπνευστικές απώλειες.

Οι διαπνευστικές απώλειες όμως μπορούν να περιοριστούν και μέσω του ελέγχου των στοματικών κινήσεων, ενώ επηρεάζονται και από το μέγεθος και την κατανομή των στομάτων. Στην παρούσα εργασία, το μέγεθος των στομάτων (SL_{ad} και SL_{abr} , Γ.2.4.2, Εικόνα 3Γ και Δ) μειώθηκε, ενώ αυξήθηκε η πυκνότητά τους (SD_{ad} και SD_{abr} , Γ.2.4.1., Εικόνα 3Α και Β) και στις δύο επιφάνειες του φύλλου αυξανόμενου του επιπέδου υδατικής καταπόνησης. Οι συσχετίσεις μεταξύ των χαρακτηριστικών του αγγειακού συστήματος και των στομάτων (βλ. Παράρτημα, Πίνακας 4), οι οποίες καταγράφηκαν ανεξαρτήτως γονότυπου και επιπέδου υδατικής καταπόνησης, συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες που αναφέρουν ότι η συσχέτιση των ανατομικών χαρακτηριστικών του ξύλου και των στομάτων πιθανόν ευθύνονται για τη συσχέτιση μεταξύ της υδραυλικής αγωγιμότητας και της στοματικής αγωγιμότητας (g_s) (Aasamaa *et al.* (2001a, b), αφού και στην παρούσα εργασία η θετική συσχέτιση καταγράφηκε στατιστικά σημαντική (βλ. Παράρτημα, Πίνακες 1, 2, 3 και 4). Σύμφωνα με τους συγγραφείς, οι διαφορές στη μέγιστη g_s οφείλονται εκτός από το μέγεθος και την συχνότητα των στομάτων και στη μέγιστη υδραυλική αγωγιμότητα του ξύλου, η οποία καθορίζεται από τα ανατομικά χαρακτηριστικά αυτού. Οι Xu and Zhou (2008) αναφέρουν ότι η SD και το μέγεθος των στομάτων εξαρτώνται από την υδατική κατάσταση του φύλλου και ότι η SD συσχετίζεται με τις παραμέτρους της ανταλλαγής αερίων όπως η A_{max} , g_s και η WUE. Στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις για τις εν λόγω παραμέτρους καταγράφηκαν για τους δύο γονότυπους Αθηναΐδα και Τριπτόλεμο (βλ. Παράρτημα, Πίνακας 1 και 2), ενώ η ισχύς τους διέφερε ανά γονότυπο.

Η βελτίωση της WUE υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης επιτυγχάνεται μέσω της μείωσης του εύρους του στοματικού πόρου, η οποία έχει αποδειχθεί ότι οφείλεται στην ικανότητα προσαρμογής αλλά και εγκλιματισμού του φυτού (Flexas *et al.*, 2004; Galmes *et al.* 2007a). Η WUE μπορεί να εκτιμηθεί σε διαφορετικά επίπεδα (Jones, 1992; Lambers *et al.*, 1998). Σε επίπεδο φύλλου ορίζεται ως ο λόγος της μέγιστης φωτοσυνθετικής ικανότητας προς την στοματική αγωγιμότητα (A_{max}/g_s – intrinsic WUE) είτε προς την ταχύτητα διαπνοής (A_{max}/T – photosynthetic/instantaneous WUE). Είναι γνωστό ότι η WUE ποικίλει μεταξύ ειδών και επηρεάζεται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Stedle, 2000a; Zhang *et al.* 2003; Siemens and Zwiazek, 2004; Zhao *et al.*, 2004). Πράγματι, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μετρήσεων της WUE_i (Γ.3.5., Εικόνα 6Α) παρατηρήθηκε βελτίωσή της αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης, ενώ φαίνεται ότι για τις δύο ποικιλίες υπάρχει ένα κρίσιμο σημείο (επίπεδο καταπόνησης C), στο οποίο η ένταση της υδατικής καταπόνησης εμποδίζει την περαιτέρω βελτίωση της WUE_i .

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων των παραμέτρων που σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά του αγγειακού συστήματος και των στοματίων, συμφωνούν με τα αποτελέσματα προηγούμενης αντίστοιχης εργασίας σχετική με τον εγκλιματισμό γονοτύπων σιταριού στην υδατική καταπόνηση (Bresta *et al.*, 2011), υποδεικνύοντας ότι ο μηχανισμός εγκλιματισμού των φύλλων των μονοκότυλων ειδών βασίζεται σε τροποποιήσεις των «βαλβίδων» ελέγχου της εισόδου του νερού στο φύλλο (αγγεία ξύλου) και της εξόδου του νερού από αυτό (στόματα). Τα εγκλιματισμένα φύλλα έχουν μικρότερο μέγεθος, μεγαλύτερη πυκνότητα, στενότερα και πυκνότερα αγγεία, καθώς και μικρότερα και πυκνότερα στόματα. Το σύνολο αυτών των χαρακτηριστικών στοχεύει στην ασφαλέστερη μετακίνηση και αποτελεσματικότερη εξοικονόμηση του νερού υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης.

Οι βιοχημικές τροποποιήσεις αφορούν κυρίως το άζωτο, τη προλίνη και τους δευτερογενείς μεταβολίτες

Η ύπαρξη μειωμένων διαστάσεων αλλά ασφαλέστερου αγγειακού συστήματος, μπορεί να έχει και επιπρόσθετες συνέπειες. Το N και άλλα θρεπτικά στοιχεία μεταφέρονται από τη ρίζα στο φύλλο μέσω του διαπνευστικού ρεύματος. Η έλλειψη νερού στο έδαφος σε συνδυασμό με τη μειωμένη ροή λόγω ανατομικών περιορισμών στην υδραυλική αγωγιμότητα μπορεί να περιορίσει τη μεταφορά θρεπτικών συστατικών λόγω της μείωσης του όγκου του νερού το οποίο μετακινείται εντός του φυτού. Πράγματι, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης το συνολικό περιεχόμενο σε N ανά μάζα (N_m) παρουσίασε σημαντική μείωση για και για τους τρεις γονότυπους, Αθηναΐδα, Τριπόλεμο και Σίμου (Γ.4.1, Εικόνα 7A), ενώ καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του N_m και των χαρακτηριστικών των στομάτων για τις ποικιλίες Αθηναΐδα και Τριπόλεμο (βλ. Παράρτημα, Πίνακες 1 και 2). Σύμφωνα με τους McDonald *et al.* (2002), οι συνέπειες της μείωσης της διαπνοής (E), η οποία παρατηρήθηκε για όλους τους γονότυπους και στην παρούσα εργασία (Γ.3.3., Εικόνα 5B), στο περιεχόμενο N εξαρτάται εν μέρει από την WUE_i . Η υπόθεση αυτή στηρίχθηκε στη βεβαιότητα ότι το ποσοστό του συνολικού N το οποίο παρέχεται από την ροή νερού λόγω του διαπνευστικού ρεύματος είναι αντιστρόφως ανάλογο της WUE σε φυτά τα οποία έχουν ίδια πρόσβαση στους εδαφικούς πόρους θρεπτικών. Άλλωστε, τα είδη με υψηλή WUE τείνουν να παρουσιάζουν μειωμένη A_{max} και g_s (Schulze *et al.*, 1994) και γι' αυτό εμφανίζουν και λιγότερες απαιτήσεις σε N, δεδομένου ότι υψηλό ποσοστό του συνολικού N χρησιμοποιείται στη φωτοσύνθεση (Hikosaka, 2004). Επίσης, είδη με χαμηλή αγωγιμότητα στη διάχυση του CO_2 τείνουν να παρουσιάζουν χαμηλή αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (PNUE), παράμετρος η οποία αντανάκλα την επένδυση N στη φωτοσυνθετική συσκευή (Hikosaka, 2004). Η PNUE δεν εξαρτάται μόνον από το N αλλά και από την υδατική κατάσταση του φυτού και εμφανίζει αντιστρόφως ανάλογη σχέση με την WUE (Reich *et al.*, 1989). Αυξανόμενου του επιπέδου της υδατικής καταπόνησης παρατηρήθηκε μείωση της PNUE σε όλους τους γονότυπους (Γ.3.6, Εικόνα 6B), ενώ στατιστικά σημαντική αρνητική

συσχέτιση μεταξύ PNUE και WUE_i καταγράφηκε στην ποικιλία Τριπτόλεμο και τον βελτιωμένο πληθυσμό Σίμου (βλ. Παράρτημα, Πίνακες 2 και 3). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί σε φυτά *Picea asperata*, στα οποία η έλλειψη νερού επέφερε μείωση της PNUE όταν τα φυτά προέρχονταν από πληθυσμούς οι οποίοι αναπτύσσονται σε υγρά εδάφη, ενώ δεν παρατηρήθηκε μεταβολή σε φυτά πληθυσμών από ξηρά εδάφη (Duan *et al.*, 2010).

Η υδατική καταπόνηση προκαλεί μεταβολές στο μεταβολισμό και στη διαχείριση του N μέσω επιδράσεων στη μεταφορά και την αφομοίωση του N. Οι αποκλίσεις στο μεταβολισμό του N μπορεί να είναι είτε «παθητικές» δηλ. το αποτέλεσμα των επαγόμενων από την καταπόνηση αλλαγών σε ενζυμικά συστήματα είτε «προσαρμοστικές» δηλ. προσαρμοσμένες ώστε να αποδώσουν στο φυτό τη δυνατότητα να ανταπεξέλθει της καταπόνησης (Karamanos, 1986). Σε πολλά είδη μία από τις σημαντικότερες αλλαγές στον μεταβολισμό του N υπό την επίδραση της έλλειψης νερού είναι η συσσώρευση προλίνης ως αποτέλεσμα της de novo σύνθεσης από το γλουταμινικό οξύ (Hare, and Cress, 1997). Ο ακριβής ρόλος της προλίνης δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί. Το αμινοξύ αυτό μπορεί να έχει ωσμορυθμιστική δράση (Delauney and Verma, 1993), προστατευτική προς ευαίσθητα μόρια (κυρίως πρωτεΐνες) από την αφυδάτωση και περαιτέρω αποδιάταξη και καταστροφή των μορίων τους (Csonka, 1989; Bohnert and Jensen, 1996; Chen and Murata, 2000; Khan *et al.*, 2011), αλλά και αντιοξειδωτική δράση (Bellinger, and Larher, 1987; Gill and Tuteya, 2010). Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης προλίνης (Pr_m) στις δύο ποικιλίες Αθηναΐδα και Τριπτόλεμο, ενώ ο γονότυπος Σίμου δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή (Γ.4.2., Εικόνα 7B). Η συσσώρευση προλίνης διαφέρει μεταξύ των ειδών αλλά και εντός του είδους. Διαφορές στην ικανότητα συσσώρευσης προλίνης έχει παρατηρηθεί και στο παρελθόν μεταξύ γονοτύπων κριθαριού (Singh *et al.*, 1972a, b), αλλά και σε άλλα είδη όπως ο σίτος (Karamanos, 1995), ο αραβόσιτος (Verslues and Sharp, 1999; Mohammadkhani and Heidari, 2008) καθώς και σε άλλα δικότυλα είδη (Hessini *et al.*, 2008; Verslues, 2010; Guha *et al.*, 2012). Οι Sanchez *et al.* (2004) αναφέρουν ότι η συσσώρευση προλίνης υπό συνθήκες καταπόνησης λόγω έλλειψης νερού ή αλατότητας, πραγματοποιείται κυρίως στο κυτόπλασμα. Σε συνθήκες μέτριας ανεπάρκειας νερού αλλά και N, σύμφωνα με την υπόθεση ισορροπίας άνθρακα/θρεπτικών (C/N) (Bryant *et al.*, 1983; Herms and Mattson, 1992; Castells *et al.*, 2002) η ανάπτυξη περιορίζεται περισσότερο από την φωτοσύνθεση με αποτέλεσμα την περίσσεια φωτοσυνθετικού προϊόντος, το οποίο στις δεδομένες συνθήκες δε μπορεί να επενδυθεί σε αναπτυξιακές διαδικασίες. Συνεπώς το πλεόνασμα αυτό συσσωρεύεται π.χ. με τη μορφή υδατανθράκων και επομένως ο λόγος C/N αυξάνεται. Η έλλειψη νερού αποτελεί έναν από του σημαντικότερους περιβαλλοντικούς παράγοντες καταπόνησης ο οποίος προκαλεί αύξηση των δευτερογενών μεταβολιτών (Bussotti *et al.*, 1998; Jaleel *et al.*, 2007; Zobayed *et al.*, 2007; Edreva *et al.*, 2008; Oh *et al.*, 2009; Petridis *et al.*, 2012). Στην παρούσα εργασία καταγράφηκε αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών συστατικών (Ph_m) και των συμπυκνωμένων ταννινών (CT_m) στους γονότυπους Αθηναΐδα και Τριπτόλεμο, ενώ δεν

καταγράφηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή για καμία από τις δύο παραμέτρους στον βελτιωμένο πληθυσμό Σίμου. Η αύξηση των ολικών φαινολικών στους φυτικούς ιστούς συνδέεται άμεσα με την προστασία από οξειδωτικές βλάβες που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) στη φωτοσυνθετική συσκευή (Jaleel *et al.*, 2009; Close and McArthur 2002), γεγονός που ενισχύεται από τις στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις που καταγράφηκαν μεταξύ των σχετικών με την ανταλλαγή αερίων παραμέτρων όπως η $A_{max,m}$ και η g_s και των $P_{h,m}$ και CT_m (βλ. Παράρτημα Πίνακες 2 και 3). Μια αναπόφευκτη συνέπεια της έλλειψης νερού είναι η παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS) στα οργανίδια του κυττάρου που διαχειρίζονται την ενέργεια, όπως οι χλωροπλάστες, τα μιτοχόνδρια και τα υπεροξυσώματα (Cruz De Carvalho, 2008). Εάν η καταπόνηση είναι παρατεταμένη, η παραγωγή ROS είναι τέτοια ώστε το αντιοξειδωτικό σύστημα να μην επαρκεί, με αποτέλεσμα την πρόκληση εκτεταμένων βλαβών στα κύτταρα και τελικά το θάνατο (Chaves *et al.* 2002; Cruz De Carvalho, 2008; Jaleel *et al.*, 2009). Η εύρυθμη λειτουργία των μηχανισμών προστασίας ενάντια στις οξειδωτικές βλάβες και επιδιόρθωσης των οξειδωτικών ζημιών αποτελεί λοιπόν προτεραιότητα για φυτά που αντιμετωπίζουν συνθήκες έλλειψης νερού.

Ο εγκλιματισμός στην υδατική καταπόνηση αποσκοπεί στην επίτευξη ισορροπίας μεταξύ ανάπτυξης και προστασίας.

Όπως προαναφέρθηκε, ανεξαρτήτως γονότυπου και επιπέδου υδατικής καταπόνησης, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές και ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ κρίσιμων παραμέτρων. Από την PCA (Γ.6., Εικόνα 9) με βάση τις αλληλεπιδράσεις (συσχετίσεις) των παραμέτρων προέκυψαν ομαδοποιήσεις κατά μήκος των δύο αξόνων οι οποίοι αντιπροσωπεύουν τις δύο κύριες συνιστώσες. Στον πρώτο άξονα στη δεξιά θετική πλευρά ομαδοποιήθηκαν οι παράμετροι που σχετίζονται με την ανάπτυξη: α. στο άνω δεξιά τεταρτημόριο ομαδοποιούνται οι παράμετροι ανταλλαγής αερίων ($A_{max,m}$, g_s , E , $PNUE$), το N_m , η Chl και ο WPI και β. στο κάτω δεξιά τεταρτημόριο η TLS , οι διαστάσεις των αγγείων (MVD , SVD) και η k_{hp} , καθώς και το μήκος των στοματίων (SI_{ab} , SI_{ad}). Οι τιμές των ιδιοδιανύσματος της $A_{max,m}$ και της E εμφανίζουν ελάχιστα υψηλότερες τιμές στον δεύτερο άξονα (Γ.6., Πίνακας 1). Ωστόσο οι συντελεστές συσχέτισης (Γ.6., Πίνακας 2) των δύο αυτών παραμέτρων με τον πρώτο άξονα είναι υψηλότεροι σε σύγκριση με τους συντελεστές συσχέτισης με τον δεύτερο άξονα, υποδηλώνοντας ότι ο πρώτος άξονας είναι επίσης καθοριστικός στη διακύμανση των τιμών αυτών των παραμέτρων.

Στην αρνητική αριστερή πλευρά του άξονα ομαδοποιήθηκαν οι παράμετροι οι οποίες σχετίζονται με την προστασία όπως η πυκνότητα του φύλλου (LD), των νευρώσεων και των στομάτων (SD_{ab} και SD_{ad}) καθώς και η WUE_i . Συνεπώς ο πρώτος άξονας αντιπροσωπεύει την προσπάθεια αντιστάθμισης μεταξύ ανάπτυξης και δομικής προστασίας κατά τον εγκλιματισμό στην υδατική καταπόνηση. Οι δομικές τροποποιήσεις των φύλλων στοχεύουν στη διατήρηση της ανάπτυξης υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης αλλά με ασφαλέστερο τρόπο, ο οποίος

να διασφαλίζει την επιβίωση του φυτού. Οι τροποποιήσεις αυτές επιφέρουν αλλαγές και στη λειτουργία του φύλλου, επηρεάζοντας την ανταλλαγή αερίων.

Κατά μήκος του δευτέρου άξονα ομαδοποιούνται στην θετική (άνω) πλευρά το N_m , η Chl , η $A_{max,m}$ και η E , ενώ στην αρνητική (κάτω) πλευρά ομαδοποιούνται η Pr_m , Ph_m και CT_m . Όπως προαναφέρθηκε οι τιμές των ιδιοδιανυσμάτων της $A_{max,m}$ και της E είναι μόνον ελάχιστα υψηλότερες σε αυτόν τον άξονα. Ο δεύτερος άξονας πιθανόν αντιπροσωπεύει την ισορροπία C/N , η οποία διαταράσσεται υπό την επίδραση της έλλειψης νερού. Η κατανομή του N μεταβάλλεται και επάγεται η συσσώρευση προλίνης. Η περίσσεια φωτοσυνθετικού προϊόντος επενδύεται σε δευτερογενείς μεταβολίτες, οι οποίοι διαδραματίζουν προστατευτικό ρόλο. Πιθανότατα η σύνθεση και συσσώρευση φαινολικών και η διαδικασία της φωτοσύνθεσης αποτελούν μία συνεργασία των διαδικασιών του πρωτογενούς και του δευτερογενούς μεταβολισμού (Fritz *et al.*, 2006).

Φαίνεται ότι ο εγκλιματισμός στην υδατική καταπόνηση αποτελεί μία συμβιβαστική απάντηση στο αιώνιο δίλλημα των φυτών: απρόσκοπτη φωτοσύνθεση (έντονες απώλειες νερού - κίνδυνος αφυδάτωσης) ή διαφύλαξη αποθεμάτων νερού (αδυναμία αφομοίωσης CO_2 - καταστολή της ανάπτυξης);

Η γενικευμένη σμίκρυνση αποτελεί σημαντική παράμετρο της διαδικασίας εγκλιματισμού

Το τελικό μέγεθος του φύλλου εξαρτάται από τον συνολικό αριθμό των κυττάρων και το μέγεθος των κυττάρων (Ichihashi *et al.*, 2010), παράμετροι οι οποίες εξαρτώνται από τον ρυθμό της κυτταρικής διαίρεσης και διάτασης (Beemster *et al.*, 2005). Έχει διαπιστωθεί ότι υπό συνθήκες καταπόνησης τα φυτά επαναπρογραμματίζουν την ανάπτυξή τους μέσω μηχανισμών οι οποίοι κατά κύριο λόγο παραμένουν άγνωστοι (Skirycz and Inze, 2010). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανατομικής μελέτης του γονότυπου Τριπόλεμου, υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης η δραματική μείωση της επιφάνειας του φύλλου (TLS) οφείλεται στη γενικευμένη σμίκρυνση των κυττάρων όλων των ιστών του φύλλου. Η έλλειψη νερού προκάλεσε μείωση του μεγέθους των κυττάρων του μεσόφυλλου, της επιδερμίδας, του αγωγού ιστού, των στομάτων και αύξηση του πάχους των κυτταρικών τοιχωμάτων του μεσόφυλλου και της εφυμενίδας (Γ.7. Πίνακας 3). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες στις οποίες οι ιστοί φυτών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης παρουσιάζουν μείωση του κυτταρικού μεγέθους και αύξηση του πάχους του κυτταρικού τοιχώματος (Cutler *et al.*, 1980a; Matsuda and Riazzi, 1981; Van Volkenburgh and Boyer, 1985, Cutler *et al.*, 1977; Guerfel *et al.*, 2009, Makbul *et al.*, 2011). Οι μηχανισμοί που έχουν αναφερθεί για τη μείωση του κυτταρικού μεγέθους είναι τρεις: α. μειωμένος ρυθμός κυτταρικών διαιρέσεων, (Schuppler *et al.*, 1998; Granier *et al.*, 2005), β. σκλήρυνση του κυτταρικού τοιχώματος, (Matthews *et al.*, 1984; Neumann, 1995), γ. μειωμένη σπαργή (Hsiao *et al.*, 1998; Bouchabke *et al.*, 2006). Η μείωση του μεγέθους των κυττάρων και όχι του αριθμού αυτών, ο οποίος στην παρούσα εργασία παρουσίασε αύξηση (Πίνακας 3),

πιθανόν αποδίδεται στην εντονότερη επίδραση της έλλειψης νερού στην διάταξη των κυττάρων σε σχέση με την κυτταροδιαίρεση (Granier & Tardieu, 1999; Skirycz and Inze, 2010). Οι αρνητικές επιδράσεις της έλλειψης νερού στη διάρκεια της κυτταρικής διάταξης και στο κυτταρικό μέγεθος έχουν αναφερθεί, όμως τα αποτελέσματα και συμπεράσματα διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των μελετών (Rawson & Turner 1982; Granier & Tardieu, 1999; Skirycz and Inze, 2010). Επίσης, υπάρχουν ενδείξεις ότι φυτά υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης μπορεί να αποφεύγουν τη μείωση του δυναμικού του νερού και να διατηρούν την σπαργή μέσω της μείωσης του όγκου των κυττάρων τους, η οποία οφείλεται σε συρρίκνωση που σχετίζεται με τη ρύθμιση της ελαστικότητας των κυτταρικών τους τοιχωμάτων (Martinez et al. 2007). Ωστόσο η επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην ελαστικότητα του κυτταρικού τοιχώματος δεν έχει αποσαφηνιστεί (Mustard and Renault 2004). Σύμφωνα με τις προβλέψεις των προσομοιώσεων αυτού του μοντέλου, τα μικρότερα κύτταρα διατηρούν την σπαργή τους σε χαμηλότερες τιμές υδατικού δυναμικού από ότι μεγαλύτερου μεγέθους κύτταρα.

Η υδατική καταπόνηση επέφερε αλλαγές όχι μόνον στο μέγεθος των κυττάρων του μεσόφυλλου αλλά και στο σχήμα και τον αριθμό κυττάρων. Τα κύτταρα των καταπονημένων φυτών τείνουν να έχουν σφαιρικό σχήμα σε αντίθεση με το τυπικό λοβοειδές σχήμα των κυττάρων υπό συνθήκες επάρκειας νερού. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν καταγραφεί σε επιδερμικά κύτταρα του *Arapidopsis* υπό συνθήκες οσμωτικής καταπόνησης (Skirycz and Inze, 2010). Η αλλαγή του σχήματος επέφερε 15% μείωση της περιμέτρου του κυττάρου ανά μονάδα επιφάνειας του κυττάρου. Όσον αφορά τον αριθμό των κυττάρων ανά όργανο, τα αποτελέσματα των μελετών είναι αντικρουόμενα. Σε πολλές περιπτώσεις διαπιστώθηκε μείωση του αριθμού των κυττάρων (Lu and Neumann, 1998; Tardieu et al., 2000; Skirycz et al., 2010), ενώ άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η υδατική καταπόνηση επιδρά κυρίως στο τελικό μέγεθος των κυττάρων και όχι στον αριθμό αυτών ανά όργανο (Verelst et al., 2012).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανατομικής μελέτης των υποκυτταρικών δομών, η υδατική καταπόνηση προκάλεσε σημαντική μείωση στην επιφάνεια των χλωροπλαστών και των μιτοχονδρίων (Γ.7., Πίνακας 3). Παρά τις εκτενείς βιβλιογραφικές αναφορές στη μείωση του μεγέθους των κυττάρων και της επιφάνειας του φύλλου, καθώς και στις μεταβολές της λεπτής δομής των χλωροπλαστών υπό την επίδραση της υδατικής καταπόνησης (Freeman and Dnisen, 1975; Maroti et al. 1984; Zuili-Fadil et al., 1990; Stoyanova et al., 2002), οι οποίες παρατηρήθηκαν και στην παρούσα εργασία, ελάχιστες αναφορές υπάρχουν σχετικά με την επίδραση της έλλειψης νερού στο μέγεθος των οργανιδίων. Παράδειγμα, οι Zellnig et al. (2010) αναφέρουν μείωση του όγκου των χλωροπλαστών και των μιτοχονδρίων υπό την επίδραση παρατεταμένης έλλειψης νερού στην ερυθρελάτη (*Picea abies*), ενώ οι Kivimaenpaa et al. (2005) αναφέρουν μεταβολές στον αριθμό των μιτοχονδρίων ανάλογα με την ένταση της υδατικής καταπόνησης. Μείωση του μεγέθους των μιτοχονδρίων έχει αναφερθεί και υπό συνθήκες οξειδωτικής καταπόνησης στο *Arapidopsis thaliana* (Yoshinaga et al., 2005). Παρά

το γεγονός ότι οι μηχανισμοί της διαίρεσης των οργανιδίων δεν είναι πλήρως γνωστοί (Basak and Moller, 2013), τα δύο αυτά οργανίδια είναι άμεσα αλληλοεξαρτώμενα (Kromer, 1995) λόγω της ενεργειακής και μεταβολικής τους «διασταύρωσης» με το κυτόπλασμα (Hoefnagel *et al.*, 1998; Raghavendra and Padmasree, 2003). Σύμφωνα με τη πρόσφατη θεωρία των Goehring and Hyman (2012) η οποία στηρίζεται σε πειραματικά δεδομένα και παρατηρήσεις από ζωικά κύτταρα, το τελικό μέγεθος ενός οργανιδίου εξαρτάται από τις διαθέσιμες «κατασκευαστικές μονάδες» που υπάρχουν στο κυτταρόπλασμα του αναπτυσσόμενου κυττάρου. Μειωμένο μέγεθος κυτταροπλάσματος ή/και μειωμένη συγκέντρωση των πρώτων υλών κατασκευής οδηγούν σε μειωμένο μέγεθος των υποκυτταρικών οργανιδίων. Εάν αυτή η θεωρία ισχύει, στη περίπτωση του μειωμένου μεγέθους των υποκυτταρικών οργανιδίων σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης θα πρέπει να συνδέεται με το μέγεθος της δεξαμενής του διαθέσιμου αζώτου, το οποίο μειώνεται στις συνθήκες αυτές. Η κατάσταση θα πρέπει να επιδεινώνεται λόγω της επί πλέον ζήτησης αζώτου για τη βιοσύνθεση προλίνης. Πράγματι, τόσο το μέγεθος των χλωροπλαστών, όσο και εκείνο των μιτοχονδρίων σχετίζεται αρνητικά με τη συγκέντρωση προλίνης.

Εκτός από τις αλλαγές στη δομή των χλωροπλαστών (διόγκωση, πυκνότερα grana και θυλακοειδή των grana, μερική συντήρηση των μεμβρανών, ύπαρξη αμυλόκοκκων κ.τ.λ.), στα φύλλα των καταπονημένων φυτών παρατηρήθηκε η δημιουργία προεκτάσεων στους χλωροπλάστες. Αντίστοιχες προεκτάσεις, οι οποίες αναφέρονται ως stromules ή CPs (chloroplast protrusions) και αποτελούνται από στρώμα, έχουν παρατηρηθεί σε αρκετά μονοκότυλα όπως στον αραβόσιτο (*Zea mays*), στην ίριδα (*Iris sp.*), το ρύζι (*Oryza sativa*) και το σιτάρι (*Triticum aestivum*; Bourett *et al.*, 1999; Langeveld *et al.*, 2000; Gray *et al.*, 2001; Gunning, 2005; Sattarzadeh *et al.*, 2010; Hanson and Sattarzadeh, 2011). Ο τρόπος σχηματισμού των προεκτάσεων αυτών δεν έχει διελευκανθεί (Hanson and Sattarzadeh, 2011). Ωστόσο έχει διαπιστωθεί ότι η δημιουργία τους σε νεαρά φυτά καπνού και σίτου επάγεται υπό την επίδραση καταπόνησης λόγω έλλειψης νερού ή αλατότητας (Gray *et al.*, 2012).

Μια σειρά από υποθέσεις έχουν διατυπωθεί σχετικά με τη χρησιμότητα αυτών των προεκτάσεων:

- Αύξηση της ενεργού επιφάνειας του φακέλλου. Έχει παρατηρηθεί ότι η εμφάνιση προεκτάσεων είναι πιο συχνή όταν η πυκνότητα των πλαστιδίων στο κύτταρο είναι χαμηλότερη και το μήκος των προεκτάσεων αυτών είναι αντιστρόφως ανάλογο της πυκνότητας των πλαστιδίων (Waters *et al.*, 2004)
- Μείωση της απόστασης διάχυσης μεταξύ οργανιδίων τα οποία ανταλλάσσουν υλικά και ταχύτερη μεταφορά μέσω καθορισμένου «καναλιού» (Hanson and Sattarzadeh, 2011).

- Διευκόλυνση της επικοινωνίας και ανταλλαγής ουσιών και σημάτων μεταξύ των πλαστιδίων (Kwok and Hanson, 2004).
- Ανακύκλωση των πρωτεϊνών του χλωροπλάστη σε περιπτώσεις έλλειψης θρεπτικών ή μειωμένης φωτοσύνθεσης (Wildman et al., 1962; Gunning, 2005). Σύμφωνα με τους Hanson and Sattarzadegh (2011), έχουν παρατηρηθεί κυστίδια τα οποία αποκόπτονται από τις προεκτάσεις και των οποίων η τύχη δεν είναι γνωστή. Πιθανότατα προορισμό αυτών των κυστιδίων να αποτελεί το χυμοτόπιο όπου και αποδομούνται, προκειται δηλαδή για μία διαδικασία αυτοφαγίας (βλ. Ishida *et al.*, 2008).

Η τελευταία υπόθεση θεωρούμε ότι είναι περισσότερο συμβατή με τη κατάσταση που επικρατεί στα κύτταρα σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης και πιθανόν σχετίζεται και με τη μείωση του μεγέθους των χλωροπλάστων. Η παρατηρούμενη έλλειψη αζώτου αντιμετωπίζεται είτε με μείωση του μεγέθους των χλωροπλάστων, είτε με αυτοφαγία των ήδη σχηματισμένων χλωροπλάστων, σε μια απέλιδα προσπάθεια να εξοικονομηθεί το πολύτιμο άζωτο.

Συνοψίζοντας, η παρούσα μελέτη παρουσίασε πειραματικά δεδομένα που αφορούν τη σχέση δομής-λειτουργίας των κυττάρων σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, παρέχοντας ισχυρές ενδείξεις για επέκταση των σχέσεων αυτών και στο υπομικροσκοπικό επίπεδο. Φαίνεται ότι η υδατική καταπόνηση προκαλεί αναγκαστικές μεταβολές στη δομή των κυττάρων προκειμένου να εξοικονομηθεί νερό και να ελαχιστοποιηθούν οι απώλειες. Οι μεταβολές αυτές στη δομή επηρεάζουν αναπόφευκτα και το μεταβολισμό, με κύρια συνέπεια την έλλειψη αζώτου στα φωτοσυνθετικά κύτταρα, τα οποία εξαναγκάζονται να δημιουργήσουν φωτοσυνθετικά οργανίδια μικρότερου μεγέθους ή/και να αποδομήσουν τα ήδη σχηματισθέντα οργανίδια προκειμένου να εξευρεθεί άζωτο.

Βιβλιογραφία

Aasamaa K., Sober A. 2001a. Hydraulic conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in six deciduous tree species. *Biol. Plant.* 44: 65-73.

Aasamaa K., Sober A., Rahi M. 2001b. Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Austr. J. Plant. Physiol.* 28: 765-774.

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

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

Angeles G., Bond B., Boyer J.S. 2004. The cohesion-tension theory. *New Phytol.* 163:451–452.

Basak I., Møller S.G. 2013. Emerging facets of plastid division regulation. *Planta.* 237, 389-398.

Bates L., Waldren R.P., Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

Beemster G.T., De Veylder L., Vercruyse S., West G., Rombaut D., Van Hummelen P., Galichet A., Gruissem W., Inze D., Vuylsteke M. 2005. Genome-wide analysis of gene expression profiles associated with cell cycle transitions in growing organs of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 138: 734-743

Beerling D.J., Franks P.J. 2010. The hidden cost of transpiration. *Nature* 464: 495-496.

Bellinger Y., Larher F. 1987. Proline accumulation in higher plants: A redox buffer? *Plant Physiol.* 6: 23–27.

Bjorkman O., Demmig B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504.

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

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

- Bohnert H.J., Nelson D.E., Jensen, R.G.** 1995. Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell* 7: 1099-1111.
- Bota J., Medrano H., Flexas J.** 2004. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytol.* 162: 671–681.
- Bouchabké O., Tardieu F., Simonneau T.** 2006. Leaf growth and turgor in growing cells of maize (*Zea mays* L.) respond to evaporative demand in well-watered but not in water saturated soil. *Plant Cell and Envir.* 29: 1138-1148.
- Bourett T.M., Czymmek K.J., Howard R.J.** 1999. Ultrastructure of chloroplast protuberances in rice leaves preserved by high-pressure freezing. *Planta* 208: 472–479.
- Boyer J.S.** 1982. Plant productivity and environment. *Science* 218: 443-448.
- Bresta P., Nikolopoulos D., Ekonomou 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.
- Brodribb T.J., Holbrook N.M.** 2005. Water Stress Deforms Tracheids Peripheral to the Leaf Vein of a Tropical Conifer. *Plant Phys.* 137: 1139-1146.
- Brodribb T.J.** 2009. Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Sci* 177: 245-251.
- Brodribb T.J., Field T.S, Jordan G.J.** 2007. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiol* 144: 1890-1898.
- Bryant J.P., Chapin F.S. III, Klein D.R.** 1983. Carbon/Nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* 40: 357-368.
- Bussotti F., Schaub M., Novak N., Cozzi A., Kräuchi N., Ferretti M., Skelly J.** 2002. Assessment of ozone visible symptoms in the field: perspectives of quality control. IUFRO Conference, 20th International Meeting for Specialists in Air Pollution Effects on Forest Ecosystems, Zvolen Republic.
- Cao Y., Song Z.** 1998. *Plant Physiology*, Lanzhou University Press, Lanzhou: 282–283.
- Carlquist S.** 1977. Wood anatomy of Onagraceae: additional species and concepts. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 64:627-637.

Castells E., Roumet C., Penuelas J., Roy, J. 2002. Intraspecific variability of phenolics concentrations and their responses to elevated CO₂ in two Mediterranean perennial grasses. *Envir. and Exp. Bot.* 47: 205-216.

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

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

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

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

Chen T.H.H., Murata N. 2002. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current Opinion in Plant Biol.* 5:250-257.

Close D.C., McArthur C. 2002. Rethinking the role of many plant phenolics –protection from photodamage not herbivores? *Oikos* 99: 166-172.

Cochard H., Forestier S., Ameglio T. 2001. A new validation of Scholander pressure chamber technique based on stem diameter variations. *J. of Exp.l Bot.* 52: 1361–1365.

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

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

Cruz de Carvalho M.H. 2008. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. *Plant sign. and beh.* 3: 156-165.

Csonka L.N. 1989. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiol. Rev.* 53: 121-147

Cutler J.M., Rains D.W., Loomis R.S. 1977. The importance of cell size in the water relations of plants. *Physiol. Plant.* 40: 255-260.

Cutler J.M., Shahan K.W., Steponkus P.L. 1980a. Influence of water deficits and osmotic adjustment of leaf elongation in rice. *Crop Sc.* 20, 314–19.

Cutler J.M., Steponkus P.L., Wach M.J., Shahan K.W. 1980b. Dynamic aspects and enhancement of leaf elongation in rice. *Plant Phys.* 66, 147–52.

Delauney A., Verma D.P.S. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.* 4: 215–223.

Diamond J.M., and Wright E.M. 1969. Biological Membranes: the Physical Basis of ION and Nonelectrolyte Selectivity. *An. R. of Phys.* 31: 581-646

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

Dixon H.H., Joly J. 1894. On the ascent of sap. *An. of Bot.* 8: 468–470.

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

Duan B., Li Y., Ahang X., Korpelainen H., Li C. 2010. Water deficit affects mesophyll limitation of leaves more strongly in sun than in shade in two contrasting *Picea asperata* populations. *Tree Physiol.* 29: 1551-1561.

Edreva A.V., Velikova T., Tsonev T., Dagnon S., Gurel A., Atkas L., Gesheva E. 2008. Stressprotective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. *Gen. Appl. Plant Physiol.* 34: 67-78.

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

Fitter A.H., Hay R.K.M. 2001. *Environmental physiology of plants.* 3rd edn. London: Academic Press.

Flexas J., Bota J., Galmés J., Medrano H., Ribb-Carbó M. 2006. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiol. Plant.* 127: 343-352.

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

Franks P.J., Brodribb T.J. 2010 Stomatal control and water transport in the xylem. In: Holbrook and Zwieniecki (eds) *Vascular transport in plants.* Elsevier- Academic Press, pp 69-89.

Freedman B., Butterfield R.O., Pryde E.H. 1986. Transesterification kinetics of soybean oil. *J. Am. Oil Soc. Chem.* 63, 1375– 1380.

Freeman T., Murray P., Duysen E. 1975. The effect of imposed water stress on the development and ultrastructure of wheat chloroplasts. *Protopl.* 83: 131–145.

Fritz C., Palacios-Rojas N., Feil R., Stitt M. 2006. Regulation of secondary metabolism by the carbon-nitrogen status in tobacco: nitrate inhibits large sectors of phenylpropanoid metabolism. *The plant J.* 46: 533-548.

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

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

Gill S.S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48: 909-930.

Goehring N.W., Hyman A.A. 2012. Organelle growth control through limiting pools of cytoplasmic components. *Current Biology* 22: R330-R339.

Gomez K.A., Gomez A.A. 1984. Statistical procedures for agricultural research. John Wiley and sons, Inc. London, UK (2nd edtn): 13-175.

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

Granier C., Aguirrezabal L., Chenu K., et al. 2005. Phenopsis, an automated platform for reproducible phenotyping of plant responses to soil water deficit in *Arabidopsis thaliana* permitted the identification of an accession with low sensitivity to soil water deficit. *New Phyt.* 169: 623–635.

Granier C., Tardieu F. 1999. Water deficit and spatial pattern of leaf development. Variability in responses can be simulated using a simple model of leaf development. *Plant Phys.* 119: 609–620.

Gray J.C., Sullivan J.A., Hibberd J.M., Hansen M.R. 2001. Stromules: mobile protrusions and interconnections between plastids. *Plant Biol. (Stuttg)* 3: 223–233.

Guerfel M., Baccouri O., Boujnah D., Chaibi W., Zarrouk M. 2009. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Sci.Hortic.* 119: 257-263.

Guha A., Debashree S., Rasineni G.K. 2012. Non-enzymatic antioxidative defence in drought-stressed mulberry (*Morus indica* L.) genotypes. *Trees* 26: 903-918.

Gunasekera, D., Berkowitz, G.A. 1992. Evaluation of contrasting cellular-level acclimation responses to leaf water deficits in three wheat genotypes. *Plant Science* 86:1-12.

Gunning B.E. 2005. Plastid stromules: video microscopy of their outgrowth, retraction, tensioning, anchoring, branching, bridging, and tip-shedding. *Protopl.* 225: 33–42.

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

Hacke U.G., Sperry J.S. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. *Persp. Plant. Ecol. Evol. Syst.* 4: 97-115.

Hanson M.R., Sattarzadeh A. 2011. Fluorescent labeling and imaging of chloroplasts and non-green plastids. In Maliga P. ed. *Chloroplast Biotechnology: Methods and Protocols*. Humana Press, New York.

Hare P.D., Cress W.A. 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Gr. Reg.* 21: 79-102.

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

Haugen R., Steffes L., Wolf J., Brown P., Matzner S., Siemens D.G. 2008. Evolution of drought tolerance and defence: dependence of tradeoffs on mechanism, environment and defence switching. *Oikos* 117: 231-244.

Heckenberger U., Roggatz U., Schurr U. 1998. Effect of drought stress on the cytological status in *Ricinus communis*. *J. Exp. Bot.* 49: 181-189.

Herms D.A., Mattson W.J. 1992. The dilemma of plants: to grow or to defend. *Quart. Rev. of Biol.* 67: 283-335.

Hessini K., Ghandour M., Albouchi A., Soltani A., Werner K., Abdelly C. 2008. Biomass production, photosynthesis, and leaf water relations of *Spartina alterniflora* under moderate water stress. *J. Plant Res.* 121:311–318.

Hikosaka K. 2004. Interspecific difference in the photosynthesis-nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *J. Plant Res.* 117: 481-494.

Hoefnagel M.H.N., Atkin O.K., Wiskich J.T. 1998. Interdependence between chloroplasts and mitochondria in the light and the dark. *Bioch. et Bioph. Acta—Bioen.* 1366: 235-255

- Hopkins W.G.** 1995. Introduction to Plant Physiology. Wiley, New York.
- Horneck D.A., Miller R.O.** 1998. Determination of total nitrogen. Y.P. Kalra, D.A. Horneck, J.B. Jones, R.O. Miller, M.E. Watson and A.M. Wolf (eds.) Handbook of reference methods for plant analysis. Soil and Plant Analysis Council, Athens, GA : 75-84.
- Hsiao T.C., Frensch J., Rojas-Lara B.A.** 1998. The pressure-jump technique shows maize leaf growth to be enhanced by increases in turgor only when water status is not too high. Plant, Cell and Env. 21: 33–42.
- Hsiao T.C., Xu L.K.** 2000. Sensitivity of width of roots versus leaves to water stress: Biophysical analysis and relation to water. J. Exp. Bot. 51: 1595-1616.
- Hsiao T.C.** 1973. Plant responses to water stress. Ann. Rev. Plant Physiol. 24: 519–570.
- Ichihashi Y., Horiguchi G., Gleissberg S., Tsukaya H.** 2010. The bHLH transcription factor SPATULA controls final leaf size in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiol. 51: 252-261.
- IPCC. 2007.** Climate change 2007. Fourth assessment report of intergovernmental panel on climate change. Cambridge: Cambridge University Press, 114 p.
- Ishida H., Yoshimoto K., Izumi M., Reisen D., Yano Y., Makino A., Ohsumi Y., Hanson M.R., Mae T.** 2008. Mobilization of Rubisco and stroma-localized fluorescent proteins of chloroplasts to the vacuole by an ATG gene-dependent autophagic process. Plant. Physiol. 148: 142–155.
- Jaleel C.A., Riadh K., Gopi R., Manivannan P., Ines J., Al-Juburi H. ., Chang-Xing, Z., (...), Panneerselvam R.** 2009. Antioxidant defense responses: Physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. Acta Phys. Plant. 31: 427- 436.
- Jones H.G.** 1992. Plant and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology, second ed. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- 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. Ann. Bot. 87: 631–639.
- Karamanos A.J., Papatheoxari A.Y.** 1999. Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of the wate potential index. Crop Sc. 39: 1792-1797.
- Karamanos A.J.** 1995. The involvement of proline and some metabolites in water stress and their importance as drought resistance indicators. Bulg. J. of Plant Phys. 21: 98-110.

Karamanos A.J. 1986. Effects of plant water status on leaf area development and yield of the *Vicia faba* crop. *Vortr. zur Pflanz.* 11: 25-39.

Khan T.A., Mazid M. Mohammad F. 2011. Status of secondary plant products under abiotic stress: an overview. *J. Stress Phys. and Bioch.* 7: 75-98.

Kivimäenpää M., Sutinen S., Karlsson P., Sellén G. 2003 Cell Structural Changes in the Needles of Norway Spruce Exposed to Long-term Ozone and Drought. *An. Bot.* 92: 779-793.

Kocacinar F. and Sage R.F. 2003. Photosynthetic pathway alters xylem structure and hydraulic function in herbaceous plants. *Plant, Cell and Env.* 26: 2015-2026.

Kramer P.J., Boyer J.S. 1995. Water relations of plants and soils. Academic Press, San Diego.

Kwok E.Y., Hanson M.R. 2004. Plastids and stromules interact with the nucleus and cell membrane in vascular plants. *Plant Cell Rep.* 23: 188-195.

Lambers H., Poorter H. 1992. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for ecological causes and consequences. *Adv. Ecol. R.* 23: 187-261.

Langeveld S.M., van Wijk R., Stuurman N., Kijne J.W., de Pater S. 2000. B-type granule containing protrusions and interconnections between amyloplasts in developing wheat endosperm revealed by transmission electron microscopy and GFP expression. *J. Exp. Bot.* 51: 1357–1361.

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

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

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

Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Bioch. Soc. Tran.* 11: 591-592.

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

Lizana C., Wentworth M., Martinez J.P., Villegas D., Meneses R., Murchie E.H., Pasienes C., Lercari B., Vernieri P., Horton P., Pinto M. 2006. Differential adaptation of

two varieties of common bean to abiotic stress: I Effects of drought on yield and photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 57: 685-697.

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

Long S.P., Ort D.R. 2010. More than taking the heat: crops and global change. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 13: 241-248.

Lu Z., Neumann P.M. 1998 Water stressed maize, barley and rice seedlings show species specific diversity in mechanisms of leaf growth inhibition. *J. Exp. Bot.* 49: 1945-1952.

Ludlow, M.M., Muchow, R.C. 1990. A Critical Evaluation of Traits for Improving Crop Yields in Water-Limited Environments. *Advances in Agronomy* 43:107-153.

Macdonald A.J.D., Carpenter G.I., Box O., et al. 2002. Dementia and use of psychotropic medication in non-'Elderly Mentally Infirm' nursing homes in South East England. *Age and Aging.* 31: 58– 64.

Makbul S., Coskuncelebi K., Türkmen Z., Beyazoglu O. 2011. Comparison of foliar anatomy of *Scorzonera* L. (Asteraceae) taxa from North East Anatolia. *Pak. J. Bot.* 43:135-155.

Maroti I., Tuba Z., Csik M. 1984. Changes of chloroplast ultrastructure and carbohydrate level in *Festuca*, *Achillea* and *Sedum* during drought and after recovery. *J. Plant Physiol.*, 116, 1–10.

Marron N., Dreyer E., Boudouresque E., Delay D., Petit J.-M., Delmotte F.M., Brignolas F. 2003. Impact of successive drought and re-watering cycles on growth and specific leaf area of two *Populus×Canadensis* (Moench) clones, 'Dorskamp' and 'Luisa_Avanzo'. *Tree Physiol.* 23:1225–1235.

Martinez J.P., Silva H. Ledent J.F., Pinto M. 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European J. Agron.*, 26: 30–38.

Matsuda K., Riazi A. 1981. Stress induced osmotic adjustment in growing regions of barley leaves. *Plant Phys.* 68: 571–76.

Matthews R.C, Burnie J.P. Tabaqchali S. 1984 Immunoblot analysis of the serological response in systemic candidosis. *Lancet* 2: 1415-1418.

Maurel C., Tacnet F., Guclu J., Guern J. & Ripoche P. 1997. Purified vesicles of tobacco cell vacuolar and plasma membranes exhibit dramatically different water permeability and water channel activity. *Proc. Nat. Ac. Sc. USA* 94: 7103–7108.

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

Milburn JA. 1996. Sap ascent in vascular plants: Challengers to the Cohesion Theory ignore the significance of immature xylem and the recycling of Munch water. *An. Bot.* 78: 399–407.

Mohammadkhani N. Heidari R. 2008. Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Ap.Sc. J.* 3: 448-453.

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

Mustard J., Renault S. 2004. Effects of NaCl on water relations and cell wall elasticity and composition of red-osier dogwood (*Cornus stolonifera*) seedlings. *Physiol. Plant.* 121: 265-271.

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

Neumann P.M. 1995. The role of cell wall adjustment in plant resistance to water deficits. *Crop Sc.* 35:1258-1266.

Niinemets U., Sack L. 2006. Structural determinants of leaf light-harvesting capacity and photosynthetic potentials. *Progr. Bot* 67: 385-419.

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

Nobel P.S. 1999. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*, 2nd edn. Academic Press, San Diego.

Northington D.K., Schneider E.L. 1996. *The Botanical World*. 2nd Ed. Wm. C. Brown Publishers.

Ogaya R., Penuelas J. 2006. Contrasting foliar responses to drought in *Quercus ilex* and *Phillyrea latifolia*. *Biol. Plant.*50: 373–382.

Oh M.M., Trick H.N., Rajashekar C.B. 2009. Secondary metabolism and antioxidants are involved in environmental adaption and stress tolerance in Lettuce. *J. Plant Phys.* 166: 180-191.

Olga B., Eija V., Kurt V.F. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *An.Bot.* 91: 179-194.

Olson M.E., Rosell J.A. 2013. Vessel diameter–stem diameter scaling across woody angiosperms and the ecological causes of xylem vessel diameter variation. *New Phyt.* 197: 1204–1213.

Ott M., Gogvadze V. 2007. Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis* 12: 913–922.

Parker W. & Pallardy S. 1987 The influence of resaturation method and tissue-type on pressure-volume analysis of 3 *Quercus alba* L.L. seedlings. *Journal of Experimental Botany* 38:535–549.

Petridis A., Therios I., Samouris G., Tananaki C. 2012. Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. *Env. Exp. Bot.* 79: 37-43.

Pittermann J. 2010. The evolution of water transport in plants: an integrated approach. *Geobiology* 8: 112-139.

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

Pockman W.T., Sperry J.S., O’Leary J.W. 1995. Sustained and significant negative water pressure in xylem. *Nature* 378: 715–716.

Poorter H., Niinemets U., Poorter L., Wright I.J., Villar R. 2009. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phyt.* 182: 565–588.

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

Raghavendra A.S., Padmasree K. 2003. Beneficial interactions of mitochondrial metabolism with photosynthetic carbon assimilation. *Tr. Plant Sc.* 8: 546-553.

Rawson H.M., Turner N.C. 1982. Recovery from water stress in five sunflower cultivars. II The development of leaf area. *Aus. J. Plant Phys.* 9: 449–460.

Reich P.B., Walters M.B, Tabone T.J. 1989. Response of *Ulmus americana* seedlings to varying nitrogen and water status. 2. Water and nitrogen use efficiency in photosynthesis. *Tree Physiol.* 5: 173-184.

Reynolds E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17:208-12.

Ridge I. 2002. *Plants*. Oxford University Press. Oxford, UK.

Rost T.L., Barbour M.G., Stocking C.R., Murphy T.M. 1998. *Plant Biology*. Wadsworth Publishing Company.

Ryan M.G. Way D. Tree responses to drought. *Tree Phys.* Volume 31: 237-239.

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

Sage R.F. 2004. The evolution of C4 Photosynthesis. *New Phytol* 161: 341-370.

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

Salleo, S., Nardini, A., Lo Gullo, M.A. 1997. Is sclerophylly of Mediterranean evergreens an adaptation to drought? *New Phyt.* 135: 603-612.

Sanchez F.J., De Andres E.F., Tenorio J.L., Ayerbe L. 2004. Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress. *Field Crops Res.*, 86: 81-90.

Sattarzadeh A., Fuller J., Moguel S., Wostrikoff K., Sato S., Covshoff S., Clemente T., Hanson M., Stern D.B. 2010. Transgenic maize lines with cell-type specific expression of fluorescent proteins in plastids. *Plant Biotechnol. J.* 8: 112–125.

Sattarzadeh A., Krahmer J., Germain A.D., Hanson M.R. 2009. A myosin XI tail domain homologous to the yeast myosin vacuole-binding domain interacts with plastids and stromules in *Nicotiana benthamiana*. *Mol. Plant.* 2: 1351–1358.

Scholander 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. *Proc. Nat. Ac. Sc. USA* 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. *Annu. Rev. Eco. Syst.* 25: 629-660.

Schulze E. D., Cadwell M.M. 1995. *Ecophysiology of photosynthesis*. New York, Springer.

Schuppler U., He P.H., John P.C.L., Munns R. 1998. Effect of water stress on cell division and cell-division-cycle 2-like cell-cycle kinase activity in wheat leaves. *Plant Physiol.* 117: 667–678.

Sestak Z. 1985. Photosynthesis during leaf development. Boston, Dordrecht.

Shackel, K.A., Foster K.W., Hall A.E. 1982. Genotypic Differences in Leaf Osmotic Potential Among Grain Sorghum Cultivars Grown Under Irrigation and Drought. *Crop Science* 22:1121-1125.

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

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

Singh, T.N., Paleg L.G, Aspinall D. 1973. Stress metabolism. III. Variations in response to water deficit in the barley plant. *Aust. J. Biol. Sci.*, 26: 65-76.

Skirycz A., De Bodd S., Obata T., De Clercq I., Claeys H., De Rycke R., Andriankaja M., Van Aken O., Van Breusegem F., Fernie A.R., Inzé D. 2010. Developmental stage specificity and the role of mitochondrial metabolism in the response of *Arabidopsis* leaves to prolonged mild osmotic stress. *Plant Physiol.* 152: 226-44.

Skirycz, A., Inzé, D. 2010. More from less: plant growth under limited water. *Curr. Opin. Biotechnol.* 21: 197-203.

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

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

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

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

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 Phys.* 2: 743-52.

Steudle E. 2001. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. *An. R. Plant Biol.* 52: 847-875.

Steudle E. 2000. Water uptake by plant roots: an integration of views. *Plant Soil.* 226: 45-56.

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

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

Stoyanova D., Tchakalova E., Yordanov I. 2002. Influence Of Different Soil Moisture On Anatomy Of Maize Leaves And Ultrastructure Of Chloroplasts. *Bulg. J. Plant Physiol.* 28: 11–20.

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

Taiz, L. and Zeiger, E. 2006. *Plant Physiology.* 4th Ed. Sinauer Associates.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2012. *Plant Physiology.* 5th Ed. Sinauer Associates.

Tardieu F., Reymond M., Hamard P., Granier C., Muller B., 2000. Spatial distributions of expansion rate, cell division rate and cell size in maize leaves. A synthesis of the effects of soil water status, evaporative demand and temperature. *J. Exp. Bot.* 51: 1505–1514.

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

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

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

Tyree M.T., Davis S.D., Cochard H. 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? *IAWA J.* 15: 335-360.

Tyree M.T, Sperry J.S. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annu. Rev. Plant Biol.* 40: 19-38.

Tyree M.T., Zimmermann M.H. 2002. *Xylem structure and the ascent of sap.* Berlin, Germany: Springer Verlag.

Van Volkenburgh E., Boyer J.S. 1985. Inhibitory effects of water deficit on maize leaf elongation. *Plant Phys.* 77: 190–4.

Venable, J.H., Coggeshall R. 1965. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 25: 407.

Verelst W., Bertolini E., De Bodt S., Vandepoele K., Demeulenaere M., Pè M.E., Inzé D. 2012. Molecular and physiological analysis of growth-limiting drought stress in *Brachypodium distachyon* leaves. *Mol. Plant.* 6: 311–322.

Verslues P.E. 2010. Quantification of water stress-induced osmotic adjustment and proline accumulation for *Arabidopsis thaliana* molecular genetic studies. *Plant Stress Tolerance: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology.* Vol 639. Humana Press, New York: 301–316.

Virgona J.M., Barlow W.R. 1991. Drought stress induces changes in the non structural carbohydrates composition of wheat stems. *Aust. J. Plant Physiol.* 18: 239-247.

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

Westoby M., Wright I.J. 2006. Land-plant ecology on the basis of functional traits. *Trends Ecol. Evol.* 21: 261-268.

Wildman S.G., Hongladarom T., Honda S.I. 1962. Chloroplasts and mitochondria in living plant cells: cinephotomicrographic studies. *Science* 138: 434–436.

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

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

Xu Z., Zhou G. 2005. Effects of water stress and nocturnal temperature on carbon allocation in the perennial grass *Leymus chinensis*. *Phys. Plan.* 123: 272-280.

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

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

Yin X. 2002. Responses of leaf nitrogen concentration and specific leaf area to atmospheric CO₂ enrichment: a retrospective synthesis across 62 species. *Global Change Biology* 8: 631-642.

Yoshinaga K., Arimuram S., Niwa Y., Tsutsumi N., Uchimiya H., Kawai-Yamada M. 2005. Mitochondrial behaviour in the early stages of ROS stress leading to cell death in *Arabidopsis thaliana*. *An. Bot.* 96: 337–342.

Zellig G., Perktold A., Zechmann B. 2010. Fine structural quantification of drought-stressed *Picea abies* (L.) organelles based on 3D reconstructions. *Protoplasma* 243: 129–136.

Zhao C.X., Deng X.P., Shan L., Steudle E. Zhang S.Q., Ye Q. 2004. Changes in Root Hydraulic Conductivity During Wheat Evolution. *J. Int. Plant Biol.* 47: 302 – 310.

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

Zobayed, S.M.A., F. Afreen, T. Kozai. 2007. Phytochemical and physiological changes in the leaves of St. John's wort plants under a water stress condition. *Environ. Exp. Bot.* 59: 109-116.

Zuily-Fodil Y., Tello A., Vazquez J., da Silva V. 1990. Effect of water deficit on cell permeability and on chloroplast integrity. *Bull. Soc. Bot. Fr. Actul. Bot.*, 137, 115–123.

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

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

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

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

Καραμάνος Α.Ι. 1984. Τα σπηρά των εύκρατων κλιμάτων. Αθήνα: Εκδόσεις Παπαζήσης

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

Φασσέας Κ. 1999. Λεπτή Δομή Κυττάρου. Μικροσκοπία Εφαρμοσμένη στη Γεωπονία. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, Αθήνα.

Παράρτημα

Πίνακας 1. Συντελεστές συσχέτισης (r_s) ανά ζεύγος παραμέτρων ανεξαρτήτως επιπέδου υδατικής καταπόνησης για τον γονότυπο Αθηναΐδα.

	TLS	VD	SVD	SL _{ab}	SD _{ab}	SD _{ad}	k _{hp}	WPI	A _{max,m}	g _s	WUE _i	N _m	Ph _m
VD	-0,956**												
SVD	0,757**	-0,668**											
SL _{ab}	0,788**	-0,765**	0,672**										
SL _{ad}				0,502*									
SD _{ab}	-0,822**	0,789**	-0,809**	-0,715**									
SD _{ad}	-0,697**	0,720**	-0,747**	-0,575**	0,906**								
k _{hp}	0,752**	-0,639**	0,985**	0,660**	-0,802**	-0,704**							
WPI	0,853**	-0,799**	0,843**	0,786**	-0,769**	-0,659**	0,807**						
A _{max,m}	0,738**	-0,705**	0,623**	0,746**	-0,554*		0,605**	0,861**					
g _s	0,847**	-0,808**	0,722**	0,836**	-0,656**	-0,493*	0,707**	0,915**	0,961**				
WUE _i					0,461*					-0,460*			
PNUE	0,666**	-0,626**	0,541*	0,690**	-0,466*		0,537*	0,783**	0,979**	0,920**			
N _m	0,672**	-0,668**	0,700**	0,658**	-0,717**	-0,597**	0,659**	0,838**	0,638**	0,683**			
Chl	0,711**	-0,681**	0,505*	0,655**	-0,576**		0,474*	0,682**	0,635**	0,704**	-0,605**	0,722**	
Pr _m	-0,725**	0,594**	-0,725**	-0,592**	0,688**	0,621**	-0,722**	-0,745**	-0,621**	-0,675**	0,453*	-0,532*	
Ph _m											0,704**		
CT _m											0,708**		0,752**

N=20, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Οι συσχετίσεις με συντελεστή > 0.7 επισημαίνονται με έντονη γραφή.

Πίνακας 2. Συντελεστές συσχέτισης (r_s) ανά ζεύγος παραμέτρων ανεξαρτήτως επιπέδου υδατικής καταπόνησης για τον γονότυπο Τριπτόλεμο.

α .	TLS	VD	MVD	SVD	SL _{ab}	SL _{ad}	SD _{ab}	SD _{ad}	k _{hp}	WPI
VD	-0,911**									
MVD	0,839**	-0,775**								
SVD	0,774**	-0,756**	0,875**							
Slab	0,759**	-0,681**	0,860**	0,761**						
SL _{ad}	0,602**	-0,466*	0,681**	0,645**	0,603**					
SD _{ab}	-0,923**	0,870**	-0,879**	-0,804**	-0,808**	-0,673**				
SD _{ad}	-0,876**	0,840**	-0,857**	-0,818**	-0,774**	-0,824**	0,897**			
k _{hp}	0,839**	-0,776**	0,919**	0,965**	0,796**	0,680**	-0,834**	-0,834**		
WPI	0,892**	-0,799**	0,881**	0,768**	0,841**	0,787**	-0,876**	-0,927**	0,830**	
A _{max,m}	0,827**	-0,756**	0,863**	0,710**	0,826**	0,806**	-0,866**	-0,938**	0,764**	0,938**
g _s	0,761**	-0,662**	0,787**	0,624**	0,785**	0,815**	-0,793**	-0,891**	0,696**	0,907**
WUE _i			-0,446*		-0,577**	-0,555*		0,571**		-0,551*
PNUE	0,814**	-0,744**	0,851**	0,656**	0,819**	0,787**	-0,860**	-0,911**	0,722**	0,931**
N _m	0,690**	-0,657**	0,630**	0,716**	0,495*	0,661**	-0,629**	-0,766**	0,696**	0,729**
Chl	0,795**	-0,681**	0,817**	0,675**	0,705**	0,757**	-0,754**	-0,839**	0,738**	0,907**
Pr _m	-0,665**	0,614**	-0,700**	-0,543*	-0,795**	-0,558*	0,719**	0,748**	-0,579**	-0,799**
Ph _m	-0,778**	0,752**	-0,682**	-0,525*	-0,719**	-0,639**	0,773**	0,802**	-0,566**	-0,826**
CT _m	-0,705**	0,702**	-0,598**	-0,516*	-0,627**	-0,636**	0,698**	0,790**	-0,517*	-0,778**
β .	A _{max,m}	g _s	WUE _i	PNUE	N _m	Chl	Pr _m			
g _s	0,973**									
WUE _i	-0,648**	-0,737**								
PNUE	0,991**	0,973**	-0,665**							
N _m	0,698**	0,602**		0,623**						
Chl	0,880**	0,899**	-0,531*	0,884**						
Pr _m	-0,783**	-0,820**	0,753**	-0,806**	-0,728**					
Ph _m	-0,812**	-0,775**	0,449*	-0,827**	-0,706**	0,763**				
CT _m	-0,749**	-0,730**		-0,743**	-0,694**	0,725**	0,941**			

N=20, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Οι συσχετίσεις με συντελεστή > 0.7 επισημαίνονται με έντονη γραφή.

Πίνακας 3. Συντελεστές συσχέτισης (r_s) ανά ζεύγος παραμέτρων ανεξαρτήτως επιπέδου υδατικής καταπόνησης για τον γονότυπο Σίμου.

α .	TLS	VD	MVD	SVD	Slab	SL _{ad}	SD _{ab}	SD _{ad}	k _{hp}	WPI
VD	-0,929**									
MVD	0,541 [*]	-0,588**								
SVD	0,654**	-0,577**								
Slab	0,492 [*]									
SL _{ad}					0,510 [*]					
SD _{ab}			-0,520 [*]		-0,539 [*]					
SD _{ad}	-0,477 [*]	0,444 [*]					0,658**			
k _{hp}	0,624**	-0,525 [*]		0,893**			-0,553 [*]	-0,527 [*]		
WPI	0,931**	-0,822**	0,461 [*]	0,614**	0,513 [*]			-0,500 [*]	0,589**	
A _{max,m}	0,881**	-0,792**		0,616**	0,460 [*]			-0,529 [*]	0,553 [*]	0,892**
g _s	0,499 [*]			0,673**					0,460 [*]	0,594**
WUE _i	-0,814**	0,802**		-0,450 [*]						-0,869**
PNUE	0,815**	-0,761**		0,551 [*]			-0,367	-0,612**	0,531 [*]	0,807**
N _m										
Chl	-0,468 [*]	0,498 [*]								-0,465 [*]
Pr _m	-0,483 [*]	0,516 [*]								-0,597**
Ph _m	0,877**	-0,800**	0,478 [*]	0,672**					0,579**	0,938**
CT _m	0,947**	-0,869**	0,479 [*]	0,737**			-0,453 [*]	-0,514 [*]	0,653**	0,919**
β .	A _{max,m}	g _s	WUE _i	PNUE	N _m	Chl	Pr _m	Ph _m		
g _s	0,619 [*]									
WUE _i	-0,805**									
PNUE	0,947**	0,470 [*]	-0,767**							
N _m			-0,111							
Chl			0,508 [*]							
Pr _m	-0,538 [*]	-0,563**	0,471 [*]							
Ph _m	0,815**	0,612**	-0,812**	0,720**			-0,629**			
CT _m	0,900**	0,551 [*]	-0,772**	0,815**			-0,553 [*]	0,904**		

N=20, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Οι συσχετίσεις με συντελεστή > 0.7 επισημαίνονται με έντονη γραφή.

Πίνακας 4α. Συντελεστές συσχέτισης (r_s) ανά ζεύγος παραμέτρων ανεξαρτήτως γονοτύπου και επιπέδου καταπόνησης.

	TLS	LMA	LD	VD	LT	SL _{ab}	SL _{ad}	SD _{ad}	SD _{ab}	MVD	SVD	MVBD	SVBD	k _{hp}	WPI
LD	-0,698**	0,718**													
VD	-0,966**	0,468**	0,719**												
LT	0,522**		-0,653**	-0,527**											
SL _{ab}	0,371**			-0,325*	0,367**										
SL _{ad}	0,316*			-0,327*		0,719**									
SD _{ad}	-0,784**	0,359**	0,559**	0,780**	-0,405**	-0,403**	-0,508**								
SD _{ab}	-0,792**		0,540**	0,747**	-0,511**	-0,537**	-0,490**	0,875**							
MVD	0,666**		-0,459**	-0,657**	0,482**	0,622**	0,570**	-0,596**	-0,714**						
SVD	0,769**		-0,471**	-0,736**	0,466**	0,558**	0,537**	-0,735**	-0,792**	0,735**					
MVBD	0,742**		-0,503**	-0,726**	0,583**	0,524**	0,500**	-0,647**	-0,754**	0,822**	0,797**				
SVBD	0,734**		-0,461**	-0,711**	0,572**	0,573**	0,527**	-0,695**	-0,748**	0,711**	0,901**	0,792**			
k _{hp}	0,720**		-0,393**	-0,649**	0,435**	0,607**	0,517**	-0,697**	-0,792**	0,762**	0,959**	0,775**	0,860**		
WPI	0,762**	-0,497**	-0,644**	-0,687**	0,360**			-0,593**	-0,590**	0,346**	0,511**	0,388**	0,461**	0,480**	
A _{max,a}	0,446**	-0,051	-0,302*	-0,318*	0,327*	0,305*		-0,305*	-0,388**	0,259*	0,331**	0,239	0,351**	0,390**	0,703**
A _{max,m}	0,528**	-0,262*	-0,460**	-0,413**	0,333**			-0,389**	-0,435**	0,286*	0,371**	0,268*	0,366**	0,409**	0,796**
E	0,475**		-0,356**	-0,353**	0,366**	0,308*		-0,337**	-0,407**	0,291*	0,359**	0,290*	0,372**	0,409**	0,722**
g _s	0,464**		-0,297*	-0,335**	0,383**	0,401**		-0,343**	-0,445**	0,298*	0,502**	0,328*	0,502**	0,516**	0,599**
WUE _i	-0,499**		0,315*	0,468**	-0,290*	-0,294*		0,405**	0,367**	-0,280*	-0,377**	-0,348**	-0,359**	-0,359**	-0,598**
WUE															
PNUE	0,540**	-0,275*	-0,501**	-0,444**	0,381**	0,327*		-0,421**	-0,461**	0,369**	0,406**	0,316*	0,387**	0,451**	0,746**
N _m								-0,340**							0,562**
Ph _m	0,316*	-0,316*	-0,278*	-0,385**		0,280*	0,444**	-0,256*		0,412**	0,387**	0,340**	0,292*	0,324*	
Ph _a		0,322*	0,335**				0,425**	0,419**							-0,523**
CT _m	0,344**	-0,256*		-0,438**		0,400**	0,569**	-0,361**	-0,288*	0,449**	0,419**	0,414**	0,348**	0,349**	
CT _a						0,378**	0,503**								-0,373**
Pr _m						0,281*	0,442**								-0,594**
Pr _a			0,272*			0,310*	0,440**								-0,633**
Chl		0,493**				0,312*									

N=60, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Οι συσχετίσεις με συντελεστή > 0.5 επισημαίνονται με έντονη γραφή.

Πίνακας 4β. Συντελεστές συσχέτισης (r_s) ανά ζεύγος παραμέτρων ανεξαρτήτως γονοτύπου και επιπέδου καταπόνησης

	$A_{max,a}$	$A_{max,m}$	E	g_s	WUE_i	WUE	PNUE	N_m	Ph_m	Ph_m	CT_m	CT_m	Pr_m	Pr_a
$A_{max0,m}$	0,970**													
E	0,975**	0,969**												
g_s	0,841**	0,825**	0,860**											
WUE_i	-0,533**	-0,571**	-0,618**	-0,529**										
WUE	0,523**	0,442**	0,377**	0,345**										
PNUE	0,936**	0,972**	0,946**	0,804**	-0,590**	0,414**								
N_m	0,604**	0,596**	0,549**	0,433**		0,414**	0,419**							
Ph_m						-0,286*		-0,459**						
Ph_a	-0,354**	-0,429**	-0,340**			-0,329*	-0,337**	-0,658**	0,622**					
CT_m	-0,325*	-0,276*	-0,266*			-0,443**		-0,623**	0,897**	0,679**				
CT_a	-0,459**	-0,465**	-0,407**	-0,276*		-0,535**	-0,359**	-0,696**	0,726**	0,861**	0,894**			
Pr_m	-0,634**	-0,647**	-0,621**	-0,474**	0,256*	-0,366**	-0,534**	-0,729**	0,638**	0,805**	0,763**	0,833**		
Pr_a	-0,619**	-0,651**	-0,608**	-0,464**	0,256*	-0,360**	-0,541**	-0,726**	0,567**	0,844**	0,710**	0,837**	0,988**	
Chl	0,543**	0,428**	0,503**	0,508**		0,479**	0,411**	0,425**	-0,496**	-0,256*	-0,461**	-0,393**	-0,386**	-0,334**

$N=60$, * $p<0.05$, ** $p<0.01$ Οι συσχετίσεις με συντελεστή >0.5 επισημαίνονται με έντονη γραφή.

Β΄ ΜΕΡΟΣ
Πίνακας 5α. Συντελεστές συσχέτισης (r) ανά ζεύγος παραμέτρων ανεξαρτήτως επιπέδου καταπόνησης (A και D) για τον γονότυπο Τριπτόλεμο

	TLS	LD	VD	LT	SL _{ab}	SL _{ad}	SD _{ad}	SD _{ab}	MVD	SVD	MVBD	SVBD	k _{hp}
LD	-0,85												
VD	-0,97	0,81											
LT	0,82	-0,95	-0,83										
SL _{ab}	0,88	-0,76	-0,89	0,8									
SL _{ad}	0,71	-0,74		0,79	0,73								
SD _{ad}	-0,93	0,83	0,9	-0,84	-0,86	-0,89							
SD _{ab}	-0,96	0,84	0,94	-0,85	-0,85	-0,83	0,97						
MVD	0,9	-0,81	-0,92	0,86	0,88	0,76	-0,9	-0,92					
SVD	0,87	-0,74	-0,89	0,82	0,91	0,73	-0,9	-0,84	0,93				
MVBD	0,95	-0,83	-0,91	0,77	0,82		-0,82	-0,87	0,89	0,81			
SVBD	0,9	-0,79	-0,91	0,85	0,9	0,75	-0,92	-0,87	0,94	0,99	0,84		
k _{hp}	0,8		-0,8	0,74	0,87	0,81	-0,89	-0,81	0,9	0,97	0,72	0,96	
WPI	0,9	-0,87	-0,88	0,92	0,91	0,87	-0,94	-0,94	0,9	0,88	0,8	0,89	0,85
A _{max,m}	0,9	-0,86	-0,87	0,9	0,88	0,92	-0,97	-0,96	0,92	0,89	0,8	0,91	0,89
E	0,87	-0,86	-0,84	0,92	0,84	0,92	-0,95	-0,94	0,88	0,84	0,75	0,87	0,83
g _s	0,82	-0,8	-0,8	0,87	0,8	0,93	-0,94	-0,92	0,88	0,83	0,7	0,85	0,84
WUE _i	-0,7	-0,795		-0,77		-0,88	0,85	0,81					
PNUE	0,91	-0,88	-0,88	0,91	0,86	0,9	-0,95	-0,97	0,91	0,83	0,81	0,86	0,82
N _m					0,74	0,8	-0,81			0,84		0,84	0,89
Ph _m	-0,91	0,89	0,88	-0,89	-0,83	-0,86	0,92	0,96	-0,88	-0,78	-0,84	-0,81	-0,76
CT _m	-0,9	0,83	0,92	-0,9	-0,85	-0,83	0,93	0,96	-0,91	-0,87	-0,79	-0,89	-0,83
Pr _m	-0,89	0,88	0,88	-0,94	-0,9	-0,83	0,92	0,92	-0,92	-0,88	-0,82	-0,9	-0,84
Chl	0,72	-0,8	-0,71	0,91	0,7	0,88	-0,85	-0,82	0,78	0,77		0,79	0,76
MCA	0,8	-0,78	-0,81	0,84	0,8	0,83	-0,83	-0,9	0,8			0,7	
MCCA	0,92	-0,88	-0,83	0,85	0,84	0,8	-0,89	-0,91	0,84	0,78	0,86	0,81	0,76
EpCA													
ChIA	0,74		-0,78		0,83		-0,75	-0,82	0,74				
EpWT													
CutT	-0,75	0,78		-0,8		-0,83	0,79	0,84	-0,72				
CN/mm ²	-0,9	0,86	0,88	-0,89	-0,89	-0,89	0,96	0,94	-0,86	-0,86	-0,77	-0,88	-0,83
MitA	-0,9	0,89	0,94	-0,9	-0,83		0,82	0,89	-0,85	-0,76	-0,86	-0,8	

$N=10$, $p<0.05$, Οι συσχετίσεις με συντελεστή >0.8 επισημαίνονται με έντονη γραφή.

Πίνακας 5β. Συντελεστές συσχέτισης (r) ανά ζεύγος παραμέτρων ανεξαρτήτως επιπέδου καταπόνησης (A και D) για τον γονότυπο Τριπτόλεμο

	WPI	A _{max,m}	E	g _s	WUE _i	PNUE	N _m	Ph _m	CT _m	Pr _m	ChI	MCA
A _{max,m}	0,99											
E	0,99	0,99										
g _s	0,96	0,98	0,99									
WUE _i	-0,83	-0,85	-0,88	-0,89								
PNUE	0,98	0,99	0,99	0,97	-0,86							
N _m	0,78	0,81	0,78	0,77		0,71						
Ph _m	-0,94	-0,95	-0,94	-0,9	0,77	-0,98						
CT _m	-0,96	-0,96	-0,95	-0,93	0,73	-0,96	-0,74	0,95				
Pr _m	-0,99	-0,97	-0,97	-0,95	0,83	-0,97	-0,73	0,92	0,93			
ChI	0,92	0,92	0,95	0,95	-0,82	0,9	0,78	-0,84	-0,9	-0,91		
MCA	0,92	0,9	0,92	0,9	-0,79	0,94		-0,93	-0,92	-0,9	0,85	
MCCA	0,94	0,93	0,92	0,87	-0,74	0,95	0,7	-0,96	-0,9	-0,91	0,82	0,86
BCA	0,71		0,7	0,7					-0,7		0,73	0,86
EpCA												0,88
ChIA	0,77	0,76	0,73	0,74	-0,71	0,78		-0,74	-0,74	-0,75		0,84
MesWT				-0,7								
EpWT					0,71		-0,71					
CutT	-0,88	-0,88	-0,9	-0,87	0,7	-0,91		0,93	0,88	0,83	-0,87	-0,91
CN/mm ²	-0,98	-0,98	-0,98	-0,95	0,88	-0,97	-0,8	0,92	0,93	0,96	-0,9	-0,89
MitA	-0,86	-0,83	-0,82	-0,76		-0,87		0,88	0,88	0,87	-0,72	-0,86

N=10, p<0.05, Οι συσχετίσεις με συντελεστή >0.8 επισημαίνονται με έντονη γραφή.

Πίνακας 5γ. Συντελεστές συσχέτισης (r) ανά ζεύγος παραμέτρων ανεξαρτήτως επιπέδου καταπόνησης (A και D) για τον γονότυπο Τριπτόλεμο

	MCCA	BCA	EpCA	ChIA	MesWT	CutT	CN/mm ²
EpCA		0,97					
ChIA							
MesWT							
EpWT					0,7		
CutT	-0,92	-0,77	-0,74				
CN/mm ²	-0,91			-0,78		0,83	
MitA	-0,81			-0,73		0,71	0,85

N=10, p<0.05, Οι συσχετίσεις με συντελεστή >0.8 επισημαίνονται με έντονη γραφή.