



Γ Ε Ω Π Ο Ν Ι Κ Ο Π Α Ν Ε Π Ι Σ Τ Η Μ Ι Ο Α Θ Η Ν Ω Ν

ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΥΠΟΔΟΜΩΝ

& ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

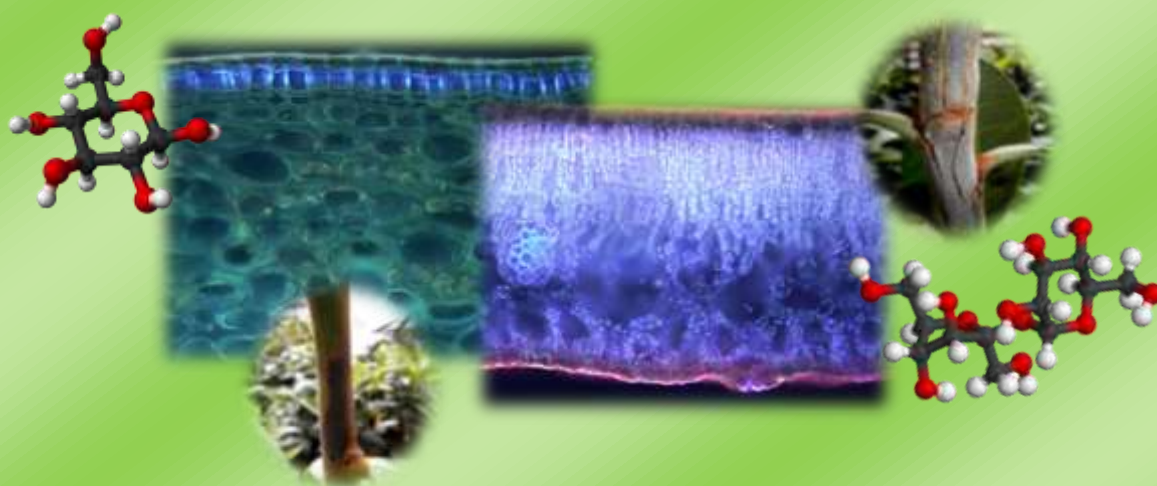
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ

«Επιστήμες & Συστήματα Φυτικής Παραγωγής»
Κατεύθυνση Φυτοπροστασία & Περιβάλλον

Μεταπτυχιακή διατριβή

*«Συμπεριφορά της ιαπωνικής
μουσμουλιάς υπο συνθήκες
υπερεπάρκειας βορίου»*



Τ Σ Ι Α Ν Τ Α Σ Ι . Π Ε Τ Ρ Ο Σ

ΑΘΗΝΑ

2015

ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ)



Γ Ε Ω Π Ο Ν Ι Κ Ο Π Α Ν Ε Π Ι Σ Τ Η Μ Ι Ο Α Θ Η Ν Ω Ν

ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΥΠΟΔΟΜΩΝ

& ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ

**«Επιστήμες & Συστήματα Φυτικής Παραγωγής»
Κατεύθυνση Φυτοπροστασία & Περιβάλλον**

Μεταπτυχιακή διατριβή

**«ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΗΣ ΙΑΠΩΝΙΚΗΣ ΜΟΥΣΜΟΥΛΙΑΣ ΥΠΟ
ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΠΕΡΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΒΟΡΙΟΥ»**

Τ Σ Ι Α Ν Τ Α Σ Ι . Π Ε Τ Ρ Ο Σ

ΑΘΗΝΑ

2015

ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ)

Μεταπτυχιακή διατριβή

**«ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΗΣ ΙΑΠΩΝΙΚΗΣ ΜΟΥΣΜΟΥΛΙΑΣ ΥΠΟ
ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΠΕΡΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΒΟΡΙΟΥ»**

Τ Σ Ι Α Ν Τ Α Σ Ι . Π Ε Τ Ρ Ο Σ

ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ)

Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Παπαδάκης Ιωάννης (Λέκτορας, Επιβλέπων)

Βέμμος Σταύρος (Καθηγητής)

Τζάμος Σωτήριος (Επίκουρος Καθηγητής)

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Ι. Παπαδάκη, Λέκτορα του εργαστηρίου Δενδροκομίας Γ.Π.Α. και υπεύθυνο για την εκπόνηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής, για την πολύτιμη βοήθειά του τόσο πρακτικά σε θέματα έρευνας όσο και ηθικά. Ευχαριστώ επίσης τον κύριο Σ. Βέμμο, Καθηγητή-Διευθυντή του εργαστηρίου για την στήριξη που μου παρείχε όλο αυτό το διάστημα καθώς και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου για την ολόθερμη συμπαράστασή τους. Επιπλέον, ευχαριστώ την κυρία Μ. Ψυχογιού, Επίκουρη Καθηγήτρια του Εργαστηρίου Γεωργικής Υδραυλικής Γ.Π.Α., για την πολύτιμη βοήθειά της σε θέματα χημικής ανάλυσης των διαφόρων θρεπτικών στοιχείων. Επίσης, τον γεωπόνο Ο. Γερογιάννη για την πολύτιμη βοήθειά του σε θέματα καλλιέργειας των σποροφύτων ιαπωνικής μουσμουλιάς. Ακόμη, τους Κυρίους Κωνσταντίνο Φασσέα, Καθηγητή του Εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Γ.Π.Α., για την αμέριστη βοήθειά του σε θέματα ανατομίας φυτικών ιστών και Σωτήριο Τζάμο, Επίκουρο Καθηγητή Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας Γ.Π.Α., για τις πολύτιμες παρατηρήσεις του. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την διοίκηση και το προσωπικό του εργαστηρίου FOOD ALLERGENS LAB στο οποίο και εργάζομαι, για την βοήθεια και συμπαράστασή τους. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και πιο πολύ τον παππού μου που ήθελε τόσο πολύ να με δει να τελειώνω το μεταπτυχιακό μου αλλά δεν πρόλαβε και τώρα βρίσκεται ψηλά στον Ουρανό. Σε ευχαριστώ πολύ παππού μου!!

Στον αγαπημένο μου παππούλακο...

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο – ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
1. Η ιαπωνική μουσμουλιά	2
1.1 Βοτανική ταξινόμηση, καταγωγή και διάδοση	2
1.1.1.1 Στοιχεία παραγωγής	2
1.2 Βοτανικοί χαρακτήρες-οργανογραφία	2
1.2.1 Το Δέντρο	2
1.2.2 Τα Φύλλα	3
1.2.3 Τα Άνθη	3
1.2.4 Οι Καρποί	3
1.2.4.1 Η θρεπτική αξία των καρπών	3
1.3 Τρόπος καρποφορίας και συγκομιδή	4
2. Το βόριο (B)	4
2.1 Το βόριο ως χημικό στοιχείο στη φύση	4
2.1.2 Πηγές βορίου	5
2.1.2.1 Έδαφος	5
2.1.2.2 Λιπάσματα που περιέχουν βόριο	5
2.1.2.3 Νερό άρδευσης	6
2.1.2.4 Αιωρούμενη τέφρα	7
2.1.2.5 Απόβλητα και βιομηχανικές εφαρμογές	7
2.1.2.6 Εξορύξεις ορυχείων	8
2.2 Το βόριο ως θρεπτικό στοιχείο των φυτών	8
2.3 Οι ρόλοι του βορίου στην βιολογία των φυτών	9
2.3.1 Ο ρόλος του βορίου στη δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων	10
2.3.2 Ο ρόλος του βορίου στη δομή και λειτουργία των μεμβρανών	11

Περιεχόμενα

2.3.3	Ο ρόλος του βορίου στο μεταβολισμό των φυτών.....	12
2.4	Η απορρόφηση του Β από τα φυτά.....	13
2.4.1	Παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση βορίου από τα φυτά.....	14
2.4.1.1	Το εδαφικό pH και τα επίπεδα Ca.....	14
2.4.1.2	Η υφή του εδάφους και τα ορυκτά της αργίλλου.....	14
2.4.1.3	Η οργανική ουσία.....	15
2.4.1.4	Ο γονότυπος του φυτού.....	15
2.4.1.5	Το περιβάλλον.....	15
2.4.1.6	Η διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων.....	16
2.4.1.7	Η αλατότητα.....	17
2.5	Η κινητικότητα του Β εντός του φυτικού σώματος.....	17
2.6	Συνθήκες έλλειψης και τοξικότητας βορίου στα φυτά.....	19
2.6.1	Η έλλειψη βορίου.....	21
2.6.2	Η τοξικότητα βορίου.....	22
2.7	Μεταβολικές αντιδράσεις των φυτών υπό συνθήκες αβιοτικής καταπόνησής τους.....	23
2.7.1	Ενζυμικά και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά συστήματα.....	25
2.7.2	Ο ρόλος των διαλυτών σακχάρων.....	26
2.7.3	Ο ρόλος της προλίνης.....	26
2.8	Σκοπός της εργασίας.....	27

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	29
ΠΕΙΡΑΜΑ Α: Μελέτη της επίδρασης διαφόρων επιπέδων βορίου, χορηγούμενων υδροπονικά, στην πρόσληψη, τις συγκεντρώσεις και την κατανομή του βορίου και άλλων ανόργανων στοιχείων σε φυτά ιαπωνικής μουσμουλιάς, καθώς και στις συγκεντρώσεις των διαλυτών υδατανθράκων, του αμύλου και της προλίνης στα φύλλα ή/και στις ρίζες τους.....	29
2.1 Υλικά και Μέθοδοι	29
2.1.1 Προετοιμασία του πειράματος	29
2.1.2 Εργαστηριακές αναλύσεις	30
2.1.2.1 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του βορίου	30
2.1.2.2 Προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των υπόλοιπων ανόργανων χημικών στοιχείων (P, K,Ca, Mg, Mn, Zn,Fe και Na)	31
2.1.2.3 Υπολογισμός των ποσοτήτων του βορίου και των λοιπών ανόργανων στοιχείων στα φύλλα, τους βλαστούς και τις ρίζες	32
2.1.2.4 Προσδιορισμός συγκέντρωσης προλίνης	32
2.1.2.5 Εκχύλιση και ανάλυση διαλυτών σακχάρων και αμύλου	33
2.1.2.5.1 Ανάλυση διαλυτών σακχάρων	33
2.1.2.5.2 Ανάλυση αμύλου	34
2.1.3 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων	34
2.2 Αποτελέσματα	35
2.2.1 Συγκεντρώσεις βορίου στα φύλλα, στο βλαστό και στη ρίζα	35
2.2.2 Συνολική ποσότητα βορίου που απορροφήθηκε από τα φυτά	35
2.2.3 Συνολικές ποσότητες λοιπών θρεπτικών στοιχείων (K, P, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn και Na) που απορροφήθηκαν από τα φυτά	37
2.2.4 Περιεκτικότητα διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα	40

Περιεχόμενα

2.2.5	Περιεκτικότητα προλίνης σε φύλλα και ρίζες.....	47
2.2.6	Συμπτωματολογία των φυτών.....	47
2.2.7	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) των δεδομένων.....	49
2.2.7.1	Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα και των συγκεντρώσεων του βορίου στα φύλλα, στο βλαστό και στη ρίζα των φυτών.....	49
2.2.7.2	Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα και των συνολικών ποσοτήτων B, K, P, Ca, Mg, Zn, Mn, Fe και Na ανά φυτό.....	49
2.2.7.3	Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και της περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα.....	50
2.2.7.4	Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του B στα φύλλα και της περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα.....	52
2.2.7.5	Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του B στους βλαστούς και της περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα.....	53
2.2.7.6	Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του B στις ρίζες και της περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα.....	55
2.2.7.7	Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα, στα φύλλα, τη ρίζα ή το βλαστό και της συγκέντρωσης της προλίνης στα φύλλα ή στη ρίζα.....	56

Περιεχόμενα

ΠΕΙΡΑΜΑ Β: Απόκριση φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου: (α) πρόσληψη, συγκεντρώσεις και κατανομή του βορίου και ορισμένων άλλων ανόργανων στοιχείων εντός των φυτών, (β) συγκεντρώσεις διαλυτών υδατανθράκων, αμύλου, μαλονικής διαλδεΐδης, προλίνης και υπεροξειδίου του υδρογόνου στα φύλλα, στους βλαστούς ή/και στις ρίζες, και (γ) ανατομική και μορφομετρική μελέτη φύλλων και βλαστών.....	58
2.3 Υλικά και Μέθοδοι.....	58
2.3.1 Προετοιμασία του πειράματος.....	58
2.3.2 Εργαστηριακές αναλύσεις.....	59
2.3.2.1 Προσδιορισμός των συγκεντρώσεων ανόργανων θρεπτικών στοιχείων.....	59
2.3.2.2 Υπολογισμός των ποσοτήτων του βορίου και των λοιπών ανόργανων στοιχείων στα διάφορα φυτικά μέρη.....	60
2.3.2.3 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) και της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA, malondialdehyde)...	60
2.3.2.4 Προσδιορισμός συγκέντρωσης προλίνης.....	61
2.3.2.5 Εκχύλιση και ανάλυση διαλυτών σακχάρων και αμύλου.....	61
2.3.2.5.1 Ανάλυση διαλυτών σακχάρων.....	61
2.3.2.5.2 Ανάλυση αμύλου.....	62
2.3.2.6 Ανατομική μελέτη των φύλλων και των βλαστών.....	62
2.3.2.6.1 Στερέωση φυτικών ιστών.....	62
2.3.2.6.2 Μικροσκοπία - Μορφομετρικές μετρήσεις.....	63
2.3.2.7 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων.....	63
2.4 Αποτελέσματα.....	63
2.4.1 Συγκεντρώσεις και ποσότητες θρεπτικών στοιχείων.....	63
2.4.1.1 Βόριο (B).....	63

Περιεχόμενα

2.4.1.2	Κάλιο (K).....	68
2.4.1.3	Φώσφορος (P).....	73
2.4.1.4	Νάτριο (Na).....	77
2.4.2	MDA και H ₂ O ₂	81
2.4.3	Προλίνη.....	82
2.4.4	Άμυλο.....	82
2.4.5	Διαλυτά σάκχαρα.....	83
2.4.5.1	Περιεκτικότητα διαλυτών σακχάρων στα φύλλα.....	83
2.4.5.2	Περιεκτικότητα διαλυτών σακχάρων στο φλοιό του βλαστού.....	86
2.4.5.3	Κατανομή διαλυτών σακχάρων σε φύλλα και φλοιό.....	89
2.4.5.4	Σύγκριση περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων στα φύλλα και στο φλοιό.....	89
2.4.6	Συμπτωματολογία των φυτών.....	93
2.4.7	Ανατομική και μορφομετρική μελέτη των φύλλων και του βλαστού	94
2.4.7.1	Φύλλα.....	94
2.4.7.2	Φλοιός.....	96
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο – ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ		99
3.1	Συζήτηση.....	99
3.1.1	Οι συγκεντρώσεις του βορίου στους φυτικούς ιστούς και τα συμπτώματα της υπερεπάρκειάς του.....	99
3.1.2	Η επίδραση του βορίου στην απορρόφηση των ανόργανων στοιχείων.....	101
3.1.3	Συγκεντρώσεις προλίνης, υπεροξειδίου του υδρογόνου (H ₂ O ₂) και μαλονικής διαλδεΐδης (MDA).....	105
3.1.4	Πορεία διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φυτά.....	108
3.1.4.1	Σε περιβάλλον με φυσιολογικά επίπεδα βορίου (25 μM B).....	108
3.1.4.2	Σε περιβάλλον με αυξημένα επίπεδα βορίου.....	110
3.1.5	Μορφολογικές και ανατομικές αλλοιώσεις φύλλων και βλαστών....	114

Περιεχόμενα

3.2	Συμπεράσματα.....	116
	BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	118
A.	Ξενόγλωσση	118
B.	Ελληνική	130
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	131
A.	Ευρετήριο εικόνων.....	131
B.	Ευρετήριο πινάκων.....	135

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η συμπεριφορά των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου (B). Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα. Στο πρώτο πείραμα μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων επιπέδων βορίου (25, 50, 100, 200 ή 400 μM B), χορηγούμενων υδροπονικά, στην πρόσληψη, τις συγκεντρώσεις και την κατανομή του βορίου και άλλων ανόργανων στοιχείων στα φυτά, καθώς και στις συγκεντρώσεις των διαλυτών υδατανθράκων, του αμύλου και της προλίνης στα φύλλα ή/και στις ρίζες τους. Στο δεύτερο πείραμα τα φυτά αναπτύχθηκαν επίσης υδροπονικά με διαλύματα που περιείχαν είτε 25 μM B (μάρτυρας) είτε 400 μM B (επέμβαση υπερεπάρκειας βορίου). Διερευνήθηκε η απόκρισή τους σε ό,τι αφορά: (α) την πρόσληψη, τις συγκεντρώσεις και την κατανομή του βορίου και ορισμένων άλλων ανόργανων στοιχείων εντός των φυτών, (β) τις συγκεντρώσεις των διαλυτών υδατανθράκων, του αμύλου, της μαλονικής διαλδεΐδης, της προλίνης και του υπεροξειδίου του υδρογόνου στα φύλλα, στους βλαστούς ή/και στις ρίζες, και (γ) τις πιθανές μεταβολές στην ανατομία φύλλων και βλαστών.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η ιαπωνική μουσμουλιά είναι ευαίσθητη έως πολύ ευαίσθητη καλλιέργεια στην υπερεπάρκεια βορίου, αφού ακόμη και η συγκέντρωση των 50 μM B (περίπου 0,54 ppm B) στο θρεπτικό διάλυμα προκάλεσε την εμφάνιση συμπτωμάτων τοξικότητας βορίου. Επίσης, το βόριο στα φυτά της ιαπωνικής μουσμουλιάς είναι ευκίνητο στοιχείο, αφού συσσωρεύεται επιλεκτικά στο φλοιό του βλαστού καθώς και στα νεότερα φύλλα. Υπό συνθήκες παρατεταμένης και μόνο έκθεσης των φυτών σε συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της πρόσληψης των υπόλοιπων ανόργανων στοιχείων. Επιπλέον, υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές μαλονικής διαλδεΐδης στους φυτικούς ιστούς, στοιχείο που καταμαρτυρεί την ύπαρξη βλαβών στις κυτταρικές μεμβράνες, πιθανόν λόγω οξειδωτικής καταπόνησής τους. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων επεμβάσεων βορίου σε ό,τι αφορά τα επίπεδα της προλίνης και του υπεροξειδίου του υδρογόνου στα φύλλα, στο φλοιό του βλαστού ή/και στις ρίζες. Ωστόσο, υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου παρατηρήθηκε σημαντική διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων τόσο στα φύλλα όσο και στο φλοιό των βλαστών. Συγκεκριμένα, μειώθηκαν οι συγκεντρώσεις της σακχαρόζης και αυξήθηκαν αυτές της σορβιτόλης, της γλυκόζης και της φρουκτόζης. Επιπρόσθετα, από την ανατομική μελέτη των φύλλων προέκυψε πως η υπερεπάρκεια του βορίου προκάλεσε αύξηση του πάχους του ελάσματός τους, κυρίως λόγω της αύξησης του πάχους του σπογγώδους παρεγχύματός τους. Τέλος, η ανατομική μελέτη των βλαστών έδειξε ξεκάθαρα πως η υπερεπάρκεια του βορίου επιταχύνει τη δευτερογενή αύξησή τους.

«Behavior of Japanese Loquat under conditions of excessive boron»

The purpose of this work was to study the behavior of the Japanese Loquat plant under conditions of excessive boron (B). For this reason, two experiments were performed. The first experiment studied the effect of different boron levels (25, 50, 100, 200 or 400 μM B), administered hydroponic, on the intake, the concentrations measured, the distribution of boron and other minerals in the plant, and the concentration of the soluble carbohydrates, starch and proline, in the leaves and / or the roots. In the second experiment the plants were also grown hydroponically and were treated with solutions containing either 25 μM B (control) or 400 μM B (excess boron treatment). The following were studied: (a) Boron intake, concentration and distribution of boron and other minerals in the plant, (b) concentration of soluble carbohydrates, starch, malonic dialdehyde, proline and hydrogen peroxide, in leaves, stems and / or roots; and (c) potential changes in leaf and shoot anatomy. According to the results, the Japanese Loquat plant is sensitive to very sensitive to excess boron, since, even the concentration of 50 μM B (about 0,54 ppm B) in the solution, caused boron toxicity symptoms. Also, boron is a mobile element in Japanese Loquat, and selectively accumulates in the cortex of the shoot and the youngest leaves. Only under conditions of prolonged exposure of plants to an excess of boron resulted in a significant reduction in the intake of other minerals. Moreover, under excess boron conditions, elevated levels of malonic dialdehyde were observed in plant tissues, evidence that testifies a damage to the membrane of the cells, possibly due to oxidative stress. On the contrary, no statistically significant differences for the various treatments with boron, in the levels of proline and hydrogen peroxide in leaves, bark of the stem and / or roots. However, under excess boron, disorder of carbohydrate metabolism was observed, both in the leaves and the bark of the shoots. Specifically, concentration of sucrose decreased while concentration of sorbitol, glucose and fructose were increased. Additionally, the anatomical study of the leaves showed that excess of boron increased the thickness of the laminates, mainly due to the increase of the thickness of the spongy parenchyma. Finally, the anatomical study of the stems clearly showed that boron excess accelerates their secondary growth.

Keywords: boron toxicity, carbohydrate metabolism, MDA, H_2O_2 , proline, anatomical tissues study

1. Η ιαπωνική μουσμουλιά

1.1 Βοτανική ταξινόμηση, καταγωγή και διάδοση

Η ιαπωνική μουσμουλιά (*Eriobotrya japonica* Lindl.) ανήκει στην οικογένεια Rosaceae και είναι ιθαγενές φυτό της νοτιοανατολικής Κίνας. Η ιαπωνική μουσμουλιά καλλιεργείται στην Κίνα, στην Ιαπωνία, στην Ινδία, στο Πακιστάν, στην Κύπρο, στην Αίγυπτο, στην Ελλάδα, στο Ισραήλ, στην Ισπανία, στην Ιταλία, στην Τυνησία, στην Τουρκία και σε πολλές άλλες χώρες (Pareek *et al.*, 2014). Η καλλιέργειά της στη χώρα μας έχει δευτερεύουσα οικονομική σημασία. Συνήθως, συγκαλλιεργείται με εσπεριδοειδή, ελιά και άλλα καρποφόρα δέντρα κυρίως σε Πελοπόννησο, Κρήτη, Δωδεκάνησα και Επτάνησα (Ποντίκης, 2003). Σύμφωνα με τα επίσημα στοιχεία της Ελληνικής Στατιστικής Αρχής, η συνολική έκταση της καλλιέργειας στη χώρα μας ήταν μόλις 828 στρέμματα το 2006.

1.1.1 Στοιχεία παραγωγής

Οπωρώνες ιαπωνικής μουσμουλιάς σε νάνα υποκείμενα στο Ισραήλ παράγουν από 700 kg/στρέμμα, όταν η καλλιέργεια είναι τριών χρονών, μέχρι 2500 kg/στρέμμα, όταν η καλλιέργεια είναι επτά χρονών. Η ποικιλία Wolf στη νότια Φλόριδα αποδίδει ετησίως 45 kg/δέντρο κατά τα πρώτα πέντε χρόνια καλλιέργειας και 136 kg/δέντρο στα επόμενα δεκαπέντε με είκοσι χρόνια (Morton, 1987). Στη χώρα μας, η παραγωγή σε μούσμουλα ανέρχεται περίπου στους 2.000 τόνους/έτος με το μεγαλύτερο κέντρο παραγωγής το Νομό Αχαΐας (Ελληνική Στατιστική Αρχή, 2006). Σε παγκόσμια κλίμακα, η Ιαπωνία είναι η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα σε μούσμουλα και ακολουθούν το Ισραήλ και η Βραζιλία (Morton, 1987).

1.2 Βοτανικοί χαρακτήρες-οργανογραφία

1.2.1 Το δέντρο

Η μουσμουλιά είναι δέντρο αειθαλές με στρογγυλή θολωτή κόμη. Μπορεί να φτάσει σε ύψος τα 6-10 m. Έχει επιφανειακό ριζικό σύστημα και γι' αυτό θα πρέπει να δίδεται ιδιαίτερη προσοχή κατά την μηχανική καλλιέργεια του εδάφους για τυχόν καταστροφή των ριζών (Crane και Caldeira, 2009).

1.2.2 Τα φύλλα

Τα φύλλα είναι ελλειπτικά-λογχοειδή ως αντιωοειδή-λογχοειδή με 12-30 cm μήκος και 3-10 cm πλάτος. Έχουν σκούρο πράσινο γυαλιστερό χρώμα στην πάνω επιφάνεια και υπόλευκο-χνοώδες στην κάτω επιφάνεια (Crane και Caldeira, 2009).

1.2.3 Τα άνθη

Τα άνθη φύονται σε επάκριες βοτρυώδεις ταξιανθίες μήκους 10-20 cm. Συνήθως, ανά ταξιανθία απαντώνται 30-100 άνθη. Η μέση διάμετρος των ανθέων κυμαίνεται από 1,25 έως 2 cm και αποτελούνται από πέντε λευκά πέταλα, πέντε σέπαλα, μια υπόγυνη ωοθήκη και από περίπου 20 στήμονες (Crane και Caldeira, 2009).

1.2.4 Οι καρποί

Οι καρποί φέρονται σε ταξικαρπίες των 4-30 καρπών και περιέχουν στο εσωτερικό-κέντρο τους 1 με 10 σκούρα καφέ σπέρματα. Το σχήμα των καρπών είναι ωοειδές-στρογγυλό, με 2,5-5 cm μήκος και 30-40 g βάρος. Υπάρχουν, βέβαια, βελτιωμένες ποικιλίες που το βάρος του καρπού ξεπερνά τα 70 g. Ο φλοιός του καρπού είναι λείος έως ελαφρά χνουδωτός με ανοιχτό κίτρινο έως πορτοκαλί χρώμα. Παρόμοιες αποχρώσεις αποκτά και η σάρκα. Ο χυμός των καρπών έχει γλυκιά, υπόξινη γεύση (Crane και Caldeira, 2009).

1.2.4.1 Η θρεπτική αξία των καρπών

Η ιαπωνική μουςμουλιά χαρακτηρίζεται από την παραγωγή καρπών (μούσμουλα) με γλυκιά και παράλληλα ήπια υπόξινη γεύση. Εκτός από τις βιταμίνες και τα ανόργανα συστατικά, τα μούσμουλα είναι πλούσια σε φαινολικές ουσίες και καροτινοειδή συστατικά, που έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλουν τη δράση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL χοληστερίνη) (Koba *et al.*, 2007). Τα βιοδραστικά συστατικά των καρπών της μουςμουλιάς περιλαμβάνουν φλαβονοειδή, τριτερπενικά οξέα και καροτινοειδή τα οποία παρουσιάζουν έντονη ικανότητα εκκαθάρισης των ενεργών ριζών οξυγόνου που παράγονται στον ανθρώπινο οργανισμό, καθιστώντας έτσι αποτελεσματική την αναστολή της δραστηριότητας των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL χοληστερίνη, «κακή χοληστερίνη») (Pareek *et al.*, 2014).

1.3 Τρόπος καρποφορίας και συγκομιδή

Η μουςμουλιά καρποφορεί από απλούς ανθοφόρους οφθαλμούς σε βλαστούς μέτριας ζωηρότητας του τρέχοντος έτους. Οι καρποί αναπτύσσονται επάκρια των βλαστών αυτών. Στη χώρα μας, τα μούσμουλα ωριμάζουν από τα μέσα Απριλίου μέχρι τα μέσα Ιουνίου, ανάλογα με την ποικιλία και την περιοχή. Γενικά, πριν τη συγκομιδή οι καρποί θα πρέπει να αφήνονται πάνω στο δέντρο για να ωριμάσουν πλήρως μιας και είναι μη κλιμακτηρικοί. Τα δέντρα ανθίζουν το φθινόπωρο, συνήθως Οκτώβριο με Νοέμβριο, ανάλογα με την περιοχή, την ποικιλία ή/και την χρονιά. Οι καρποί ωριμάζουν σε περίπου 4-6 μήνες μετά την ολοκλήρωση της άνθησης. Όταν ωριμάσει ο καρπός, ο φλοιός αναπτύσσει ένα διακριτικό χρώμα, που είναι χαρακτηριστικό της ποικιλίας, και αρχίζει να μαλακώνει. Οι καρποί είναι δύσκολο να αποκοπούν από την ταξικαρπία χωρίς να σχιστούν, γι' αυτό πρέπει να κόβονται προσεκτικά, είτε μεμονωμένα, είτε αφαιρώντας ολόκληρη την ταξικαρπία με τα χέρια. Ωριμα μούσμουλα μπορεί να αποθηκευτούν στο ψυγείο για 1-2 εβδομάδες (Morton, 1987).

2. Το βόριο (B)

2.1. Το βόριο ως χημικό στοιχείο στη φύση

Το βόριο (B) είναι ένα ανόργανο χημικό στοιχείο που ανήκει στην IIIA ομάδα του περιοδικού πίνακα, μαζί με το αλουμίνιο (Al), το γάλλιο (Ga), το ίνδιο (In) και το θάλλιο (Tl). Διαφέρει ως προς τις χημικές ιδιότητες από το αλουμίνιο, αλλά μοιάζει με το πυρίτιο (Si), το αρσενικό (As) και το γερμάνιο (Ge), διαθέτοντας μια ιδιαίτερα πολύπλοκη χημεία (Cotton και Wilkinson, 1988; Marschner, 1995). Οι Tanaka και Fujiwara (2008) υποστηρίζουν ότι το βόριο ανήκει στα στοιχεία της ομάδας των μεταλλοειδών (ομάδα V), επειδή τα χαρακτηριστικά που εμφανίζει βρίσκονται μεταξύ των μετάλλων και των αμετάλλων (Marschner, 1995) και μοιάζει να είναι περισσότερο ημιαγώγιμο παρά μεταλλικά αγωγό.

2.1.2 Πηγές βορίου

2.1.2.1 Έδαφος

Αν και η συνολική συγκέντρωση βορίου στα εδάφη κυμένεται από 7 με 80 mg/kg, μόνο το 5% από αυτό είναι διαθέσιμο για τα φυτά (Tisdale *et al.*, 1993). Το πιο κοινό ορυκτό που περιέχει βόριο είναι ο τουρμαλίνης [$H_2MgNaAl_3(BO)_2SiO_{20}$] το οποίο βρίσκεται σε ηφαιστιογενείς περιοχές και σχηματίζεται σε θαλάσσια ιζήματα (Wiklander, 1958). Τα εδάφη των παράκτιων περιοχών περιέχουν 10 έως 50 φορές περισσότερο βόριο σε σύγκριση με εκείνα των ορεινών περιοχών. Επιπλέον, το βόριο είναι συστατικό του βόρακα ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$), του κερνίτη ($Na_2B_4O_7 \cdot 4H_2O$), του κολεμανίτη ($Ca_2B_6O_{11} \cdot 5H_2O$), του ουλεξίτη ($NaCaB_5O_9 \cdot 8H_2O$) και του αξινίτη (Adriano, 1986).

Στη φύση, το βόριο βρίσκεται υπό την μορφή βορικού οξέος (H_3BO_3) ή ως βοριοπυριτικό ορυκτό (Holleman και Wiberg, 2001). Σύμφωνα με τον Gurta (1993), η μεγαλύτερη ποσότητα βορίου στα εδάφη, που είναι διαθέσιμη για τα φυτά, προέρχεται από είτε από ιζήματα είτε από φυτικά υπολείμματα.

Στα εδάφη, τα επίπεδα του εκχυλιζόμενου με ζεστό νερό βορίου κυμαίνονται από 0,1 έως 2 mg/kg (Cox, 1987). Η τοξικότητα βορίου στις καλλιέργειες παρουσιάζεται συνήθως όταν το επίπεδο του υδατοδιαλυτού βορίου στο έδαφος ξεπεράσει τα 5 mg/kg. Ωστόσο, σημειώνεται ότι περίπου 1 mg/kg βορίου στο έδαφος δεν είναι επαρκές για την βέλτιστη ανάπτυξη των περισσότερων φυτών (Reisehauer *et al.*, 1973).

2.1.2.2 Λιπάσματα που περιέχουν βόριο

Το βόριο συχνά περιέχεται σε λιπάσματα τα οποία χρησιμοποιούνται είτε για την πρόληψη είτε για τη διόρθωση τροφοπενιών βορίου στα καλλιεργούμενα φυτά (Chatzissavidis και Therios, 2011). Τα κύρια λιπάσματα που περιέχουν βόριο φαίνονται στον Πίνακα 1. Το τετραβορικό νάτριο είναι το κύριο συστατικό των λιπασμάτων του βορίου (Therios, 1996). Επίσης, άλλα λιπάσματα που χρησιμοποιούνται είναι ο βόρακας και το βορικό οξύ. Η εφαρμογή αυτών των λιπασμάτων γίνεται είτε στο έδαφος, με διασκορπισμό ή υδρολίπναση, είτε διαφυλλικά. Ωστόσο, θα πρέπει να δίδεται ιδιαίτερη προσοχή στη δοσολογία, επειδή το όριο μεταξύ τροφοπενίας και τοξικότητας βορίου είναι στενό και συχνά παρατηρούνται τοξικότητες λόγω αδόκιμης εφαρμογής των λιπασμάτων του βορίου.

Κεφάλαιο 1ο: Εισαγωγή

Πίνακας 1: Κύρια λιπάσματα που περιέχουν βόριο.

Κοινό όνομα λιπάσματος	Χημικός τύπος	Περιεκτικότητα σε Β (%)
Βορικό οξύ	H_3BO_3	17
Βόρακας	$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	11
Τετραβορικό νάτριο (άνυδρο)	$Na_2B_4O_7$	20
Πενταβορικό νάτριο	$Na_2B_{16}O_{16} \cdot 10H_2O$	18
Τετραβορικό νάτριοπενταυδρικό	$Na_2B_4O_7 \cdot 5H_2O$	14
Διάφορα μίγματα βορίου		10-17
Οξείδιο του βορίου	B_2O_3	31

2.1.2.3 Νερό άρδευσης

Το αρδευτικό νερό είναι η κύρια πηγή βορίου για τις καλλιέργειες. Για την καλύτερη αξιολόγηση του παράγοντα αυτού θα πρέπει να ληφθούν υπόψη και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εδάφους (Goldberg, 1993). Η ιοντο-ανταλλακτική ικανότητα ενός εδάφους παίζει κρίσιμο ρόλο στην τελική συγκέντρωση του Β που θα υπάρχει στο εδαφικό διάλυμα, μετά από την εφαρμογή αρδευτικού νερού με συγκεκριμένη περιεκτικότητα βορίου. Ένα έδαφος με υψηλή ιοντο-ανταλλακτική ικανότητα αναμένεται να διατηρήσει χαμηλότερη ποσότητα Β στο εδαφικό διάλυμα και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, σε σχέση με ένα έδαφος που έχει χαμηλή ιοντο-ανταλλακτική ικανότητα, όταν και τα δύο εδάφη ποτίζονται με νερό που έχει τα ίδια επίπεδα Β (Nable *et al.*, 1997). Τα επίπεδα βορίου στο εδαφικό διάλυμα είναι το βασικό κριτήριο για τον προσδιορισμό της ωφέλιμης συγκέντρωσης αυτού στο αρδευτικό νερό (Chatzissavidis και Therios, 2011). Το νερό της άρδευσης συνήθως περιέχει 0,1 με 0,3 mg B/L ή λιγότερο (Adriano, 1986). Σε πολλές περιοχές όμως τα υπόγεια νερά έχουν μεγάλες συγκεντρώσεις βορίου (Allison, 1964; Ryan *et al.*, 1977; Watson *et al.*, 1994; Chatzissavidis *et al.*, 2004 και Sotiropoulos *et al.*, 2006).

Παρ' όλο που τα αποδεκτά όρια βορίου στο αρδευτικό νερό είναι υπό μελέτη (Nicholaichuk *et al.*, 1988), εκείνα τα νερά που περιέχουν περισσότερο από 5 mg B/L είναι μάλλον επιζήμια για τις περισσότερες καλλιέργειες (Tanjii, 1990). Οι επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις Β στο αρδευτικό νερό, σύμφωνα με τους Keren και Bingham (1985), κυμαίνονται μέχρι 0,3 mg/L για τα ευαίσθητα (αβοκάντο, μηλιά, κερασιά, φασολιά αμπέλι,

Κεφάλαιο 1ο: Εισαγωγή

πορτοκαλιά), 1-2 mg/L για τα ημιανθεκτικά (βρώμη, καλαμπόκι, πατάτα, κολοκυνθοειδή) και 2-4 mg/L για τα ανθεκτικά φυτά (καρότα, μηδική, ζαχαρότευτλα, τομάτα).

Γενικά, η απορρόφηση του βορίου (που περιέχεται στο αρδευτικό νερό) από τα φυτά είναι σχετικά μικρή. Έτσι, νερά με υψηλή συγκέντρωση B μπορεί να μην είναι άμεσα τοξικά για τα φυτά αλλά μόνο μετά από τη συνεχή τους χρήση. Ωστόσο, η συγκέντρωση του βορίου στο εδαφικό διάλυμα μπορεί να γίνει ίση ή μεγαλύτερη από αυτή του νερού άρδευσης, ειδικά σε περιοχές με περιορισμένη βροχόπτωση ή όπου δεν υπάρχει διαθέσιμο νερό καλής ποιότητας για έκπλυση (Nable *et al.*, 1997).

2.1.2.4 Αιωρούμενη τέφρα

Η χρήση του κάρβουνου στα εργοστάσια παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας οδηγεί στην ολοένα και μεγαλύτερη παραγωγή τέφρας (Nable *et al.*, 1997). Η επιμόλυνση των εδαφών με κατάλοιπα ορυκτών καυσίμων είναι ικανή να αυξήσει τη συγκέντρωση του βορίου στο έδαφος (Adriano, 1986), ιδιαίτερα εάν το βόριο στην τέφρα είναι ευδιάλυτο (Eary *et al.*, 1990; Kukier και Sumner, 1996).

Οι συγκεντρώσεις του βορίου στην τέφρα είναι ανησυχητικές διότι μεγάλες ποσότητες του βορίου είναι άμεσα διαθέσιμες στα φυτά και εμποδίζουν την βλαστική ανάπτυξη όταν καλλιεργούνται σε εδάφη που έχουν δεχτεί μεγάλες ποσότητες τέφρας (Elseewi *et al.*, 1980; James *et al.*, 1982; Kukier *et al.*, 1994; Piha *et al.*, 1995). Το παραπάνω πρόβλημα μπορεί να είναι ιδιαίτερα οξύ κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών, π.χ. σε νεαρά σπορόφυτα (Wong *et al.*, 1996).

2.1.2.5 Απόβλητα και βιομηχανικές εφαρμογές

Το βορικό οξύ και τα βορικά ορυκτά χρησιμοποιούνται ευρέως σε μια σειρά από βιομηχανικές εφαρμογές, όπως στην υαλουργία, στην κατασκευή πορσελάνης, δερμάτινων ειδών και λιπασμάτων. Ωστόσο, η κύρια βιομηχανική εφαρμογή του βορίου αφορά στη χρήση υπερβορικού νατρίου, μιας δηλαδή χημικής ουσίας που χρησιμοποιείται ως λευκαντικό σε οικιακά και βιομηχανικά προϊόντα. Η απελευθέρωση του υπερβορικού νατρίου στο περιβάλλον κατά τη διάρκεια παραγωγής και χρήσης των απορρυπαντικών

Κεφάλαιο 1ο: Εισαγωγή

έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση του βορίου στα απόβλητα εκροής και κατά συνέπεια στα υπόγεια ύδατα και φυσικά υδάτινα οικοσυστήματα (Vengosh *et al.*, 1994). Δεδομένης της έντονης λειψυδρίας που παρατηρείται τα τελευταία πολλά χρόνια (Chatzissavidis και Therios, 2011), η άρδευση των καλλιεργειών με τέτοιου είδους νερά, προερχόμενα από τα απόβλητα των βιομηχανιών, είναι η πλέον διαδεδομένη. Ωστόσο, η χρήση τέτοιων νερών μπορεί να δημιουργήσει σοβαρά προβλήματα τοξικότητας βορίου στα φυτά (Aucejo *et al.*, 1997).

2.1.2.6 Εξορύξεις ορυχείων

Η επιφανειακή εξόρυξη διαφόρων μεταλλευμάτων συχνά παράγει ανθρακούχα υλικά τα οποία αποτελούν σημαντικές πηγές βορίου. Τέτοια υλικά είναι δομημένα από αδρανή οργανική ύλη που συχνά περιέχει υψηλά επίπεδα βορίου (Barth *et al.*, 1987). Η οξείδωση αυτών των υλικών, μέσω των διαφόρων διεργασιών εξόρυξης, μπορεί να οδηγήσει σε σταδιακή απελευθέρωση σημαντικών ποσοτήτων υδατοδιαλυτού βορίου στα γεωργικά εδάφη (Nable *et al.*, 1997).

2.2 Το βόριο ως θρεπτικό στοιχείο των φυτών

Ως γνωστόν, τα ιχνοστοιχεία είναι χημικά στοιχεία τα οποία είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των φυτών και απαιτούνται σε πολύ μικρότερες ποσότητες από αυτές των μακροστοιχείων, όπως είναι το άζωτο (N), ο φώσφορος (P), το κάλιο (K) και το θείο (S). Μεταξύ των ιχνοστοιχείων που είναι απαραίτητα για τα ανώτερα φυτά αναφέρονται το βόριο (B), το χλώριο (Cl), ο χαλκός (Cu), ο σίδηρος (Fe), το μαγγάνιο (Mn), το μολυβδένιο (Mo) και ο ψευδάργυρος (Zn) (Chatzissavidis και Therios, 2011).

Σύμφωνα με όσα αναφέρονται σε εργασία των Blevins και Lukaszewski (1998), αρχικά το βόριο δεν θεωρούνταν απαραίτητο χημικό στοιχείο για τα φυτά, αν και από σχετικές αναλύσεις που είχαν γίνει σε πολλά φυτικά είδη βρέθηκε ότι αυτά περιείχαν βόριο. Στη συνέχεια, υπήρξαν ορισμένες αναφορές πως το βόριο, το αλουμίνιο, το φθόριο και το ιώδιο ήταν απαραίτητα για τα φυτά, δεδομένα που ωστόσο αμφισβητήθηκαν από πολλούς άλλους ερευνητές. Ο Warington το 1923 με τις διάφορες μελέτες του κατάφερε να αποδείξει ότι το βόριο είναι απαραίτητο για την κανονική ανάπτυξη των ανώτερων φυτών.

Η παρατήρηση «κλειδί» που τον βοήθησε σε αυτό ήταν το γεγονός ότι τα φυτά που μελέτησε απαιτούσαν μια συνεχή παροχή βορίου, κάτι το οποίο ήταν πολύ σημαντικό για την σημερινή κατανόηση της λειτουργίας του βορίου στην ανάπτυξη των φυτών. Ύστερα από τον Warington, οι Sommer και Lipman (1926) δημοσίευσαν τις απαιτήσεις σε βόριο έξι δικοτυλήδων (μη ψηχανθών) φυτών και ενός αγρωστώδους (κριθάρι). Επομένως, το βόριο είναι ένα απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τα φυτά. Μάλιστα, οι απαιτήσεις των φυτών σε βόριο είναι μικρότερες από τις απαιτήσεις των υπόλοιπων ιχνοστοιχείων, με εξαίρεση το μολυβδένιο και τον χαλκό (Chatzissavidis και Therios, 2011). Επιπλέον, σημειώνεται ότι το βόριο είναι το μοναδικό ιχνοστοιχείο στο οποίο το όριο του στο εδαφικό διάλυμα, μεταξύ της εμφάνισης τροφопενίας ή τοξικότητας στα φυτά, είναι στενό (Mortvedt *et al.*, 1991).

Όσον αφορά τις μορφές με τις οποίες υπάρχει μέσα στα φυτά, κάτω από φυσικές συνθήκες, το βόριο εντοπίζεται ως βορικό οξύ (H_3BO_3) ή ως βορικό ανιόν ($B(OH)_4^-$) (Woods, 1996). Το βορικό οξύ είναι ένα πολύ ασθενές οξύ, με pK_a 9,24. Έτσι, στο pH του κυτταροπλάσματος ($pH \approx 7,5$) περισσότερο από το 98% του βορίου υπάρχει ως ελεύθερο βορικό οξύ και λιγότερο από 2% ως βορικό ανιόν (Woods, 1996). Στο pH του αποπλάστη ($pH \approx 5,5$), το 99,95% περίπου του βορίου βρίσκεται υπό μορφή βορικού οξέος και μόλις το 0,05% υπό την μορφή βορικού ανιόντος (Brown *et al.*, 2002).

2.3 Οι ρόλοι του βορίου στην βιολογία των φυτών

Το βόριο μπορεί να είναι ένα απαραίτητο ιχνοστοιχείο για όλα τα ανώτερα φυτά, παρουσιάζονται, ωστόσο, σημαντικές διαφορές μεταξύ των φυτικών ειδών σε ό,τι αφορά τα απαιτούμενα επίπεδά του για την κανονική ανάπτυξή τους. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένες συγκεντρώσεις βορίου είναι απαραίτητες για την βιοχημική, φυσιολογική και μορφολογική ανάπτυξη των φυτών. Συγκεκριμένα, το βόριο παίζει σημαντικό ρόλο σε πολλές λειτουργίες, όπως είναι η συμμετοχή του σε διάφορα μεταβολικά μονοπάτια, στην απορρόφηση των ιόντων ασβεστίου, στην μετακίνηση των σακχάρων, στη βλάστηση του γυρεοσωλήνα, στις λειτουργίες των ορμονών, στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, στη διαφοροποίηση των οφθαλμών, στη φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργικότητα του επάκριου μεριστώματος, στην απορρόφηση και μεταφορά του νερού από τις ρίζες στο

υπέργείο τμήμα του φυτού καθώς, επίσης, στην δομή και λειτουργικότητα των μεμβρανών (Abdulnour *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2000; Lou *et al.*, 2001).

2.3.1 Ο ρόλος του βορίου στη δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων

Υπολογίζεται ότι περισσότερο από 90% του συνολικού βορίου των φυτών εντοπίζεται στα κυτταρικά τοιχώματα. Τα φυσικοχημικά και βιολογικά χαρακτηριστικά του βορίου οδηγούν στην θεώρηση ότι μια πιθανή λειτουργία του βορίου είναι η πρόσδωση χημικής σταθερότητας στις κυτταρικές δομές (Brown *et al.*, 2002). Έρευνες έχουν δείξει ότι το βόριο είναι απαραίτητο στη δομή και λειτουργία των φυτικών κυτταρικών τοιχωμάτων. Σύμφωνα με όσα αναφέρονται από τους Kaneko *et al.* (1996) και Kobayashi *et al.* (1996), το βόριο συμμετέχει στη δομή της πηκτίνης του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος (το δευτερογενές κυτταρικό τοίχωμα περιέχει ελάχιστη πηκτίνη). Μεταγενέστερες εργασίες αποσαφήνισαν ότι το βορικό οξύ λειτουργεί ως συνδετικό μόριο μεταξύ των αλυσίδων ραμνογαλακτουρονάνης II (RG-II) της πηκτίνης, και πιο συγκεκριμένα, μεταξύ των υπολειμμάτων της απιόζης των πηκτινικών αλυσίδων (O'Neill *et al.*, 1996). Επομένως, η απουσία των παραπάνω δια-δεσμών, λόγω έλλειψης βορίου, έχει δραματικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη των φυτών (O'Neill *et al.*, 2001).

Η ραμνογαλακτουρονάνη II (RG-II) είναι ένα χαμηλού μοριακού βάρους δομικό πολυμερές του πηκτινικού κλάσματος, το οποίο εντοπίζεται στο κυτταρικό τοίχωμα των αναπτυσσόμενων φυτικών κυττάρων (O'Neill *et al.*, 1991; O'Neill *et al.*, 1996). Είναι η πρώτη ένωση που περιέχει βόριο, η οποία κάτω από σταθερές φυσικές συνθήκες παρέχει σταθερότητα στη δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων (Chatzissavidis και Therios, 2011). Οι Reid *et al.* (2004) διευκρίνισαν ότι αυτή η συμπλοκοποίηση με το βόριο γίνεται μόνο με εκείνες τις ενώσεις που περιέχουν δύο υδροξυλικές ομάδες με *cis* διαμόρφωση, οι οποίες κατατάσσονται στις *cis*-διόλες. Τα πιο σταθερά σύμπλοκα σχηματίζονται με *cis*-διόλες, που είναι συνδεδεμένες σε έναν φουρανικό δακτύλιο (Hunt, 2002). Αυτό αποτελεί τη βάση της σύνδεσης του βορίου με το σάκχαρο απιόζη, το οποίο είναι το κύριο συστατικό της ραμνογαλακτουρονάνης II (RG-II). Ο παραπάνω ρόλος του βορίου (Blevins και Lukaszewski, 1998; Goldbach *et al.*, 2001; Brown *et al.*, 2002; Dannel *et al.*, 2002; O'Neill *et al.*, 2004) είναι ο πλέον αποσαφηνισμένος έως σήμερα. Η συμμετοχή του βορίου στην πηκτίνη επηρεάζει όχι μόνο τη σταθερότητα και ελαστικότητα των κυτταρικών τοιχωμάτων, διαμορφώνοντας έτσι τα μηχανικά τους χαρακτηριστικά, αλλά σχετίζεται και με το μέγεθος

των πόρων του κυτταρικού τοιχώματος, διαδραματίζοντας παράλληλα και λειτουργικό ρόλο (Fleischer *et al.*, 1998; Fleischer *et al.*, 1999).

Η απαίτηση των φυτών σε βόριο καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από το περιεχόμενο της ραμνογαλακτουρονάνης II (RG-II) των κυτταρικών τοιχωμάτων. Το γεγονός αυτό προκύπτει και από την παρατήρηση ότι τα υψηλότερα ποσοστά βορίου στους φυτικούς ιστούς βρίσκονται υπό τη συμπλοκοποιημένη μορφή του, προσδεδεμένο στα πηκτινικά πολυμερή (Shelp *et al.*, 1995; Brown και Hu, 1994). Κατά συνέπεια, οι απαιτήσεις σε βόριο μεταξύ των μονοκότυλων και των δικότυλων φυτών είναι διαφορετικές, ακολουθώντας τις αντίστοιχες διαφορές στην ποσότητα της πηκτίνης (Hu *et al.*, 1996). Συγκεκριμένα, τα δικότυλα παρουσιάζουν υψηλότερες απαιτήσεις σε βόριο (20–70 mg/kg ξηρής ουσίας), συγκριτικά με τα μονοκότυλα αγρωστώδη φυτά (5–10 mg/kg ξηρής ουσίας). Επιπλέον, πολύ μεγαλύτερες ανάγκες σε βόριο (80–100 mg/kg ξηρής ουσίας) παρουσιάζουν τα φυτά που παράγουν κόμμεα (Loomis και Durst, 1992; Shelp *et al.*, 1995; Welch, 1995; Δροσόπουλος, 1992; Δροσόπουλος, 1998).

Τέλος, το βόριο σχηματίζει ισχυρά σύμπλοκα με αλκοολικά σάκχαρα, όπως είναι η μαννιτόλη και η σορβιτόλη. Ωστόσο, υψηλές συγκεντρώσεις των αλκοολικών σακχάρων παρατηρούνται μόνο σε μικρό αριθμό φυτικών ειδών. Κατά συνέπεια, οι διαφορές μεταξύ των διαφόρων φυτικών ειδών ως προς τις απαιτήσεις τους σε βόριο σχετίζονται κυρίως με τα διαφορετικά επίπεδα παραγωγής της ραμνογαλακτουρονάνης II (RG-II) παρά των αλκοολικών σακχάρων (Camacho-Cristobal *et al.*, 2008).

2.3.2 Ο ρόλος του βορίου στη δομή και λειτουργία των μεμβρανών

Ο φυσιολογικός ρόλος του βορίου στις κυτταρικές μεμβράνες υποστηρίζεται από αρκετές πληροφορίες, σύμφωνα με τις οποίες η ανεπάρκεια βορίου φαίνεται να διαταράσσει σημαντικά: α) τις διαδικασίες μεταφοράς διαφόρων στοιχείων και μορίων μέσω των μεμβρανών, β) την δραστηριότητα των πρωτεϊνών που βρίσκονται σε αυτές και τέλος, γ) την σύνθεση και την σταθερότητα των μεμβρανών (Brown *et al.*, 2002).

Οι Par και Loughman (1983) υποστήριξαν ότι το βόριο παίζει σημαντικό δομικό ρόλο στις κυτταροπλασματικές μεμβράνες, αφού η έλλειψη βορίου στο φυτό προκαλεί υποβάθμιση της δομής και λειτουργίας των μεμβρανών, με αποτέλεσμα την διατάραξη των υποδοχέων απαραίτητων ενζυμικών συστημάτων που εδράζονται πάνω σε αυτές.

Ο ρόλος του βορίου στη λειτουργία της κυτταροπλασματικής μεμβράνης φαίνεται να σχετίζεται με την ικανότητά του να σχηματίζει σύμπλοκα με ορισμένα συστατικά των μεμβρανών που έχουν δομή *cis*-διόλης, όπως είναι οι γλυκοπρωτεΐνες και τα γλυκολιπίδια. Η πρόσδεση του βορίου σε πολύ-υδροξυλομάδες των μεμβρανών διεγείρει την ενεργότητα της προσδεμένης στη μεμβράνη ΑΤΡάσης και έτσι διατηρείται η δομική ακεραιότητα των κυτταροπλασματικών μεμβρανών και ο έλεγχος της διαπερατότητάς τους (Brown *et al.*, 2002; Cakmak *et al.*, 1995). Τέλος, σύμφωνα με τον Goldbach και την ομάδα του (2007), ο κύριος ρόλος του βορίου στα βιολογικά συστήματα είναι η σταθεροποίηση μορίων με ομάδες *cis*-διολών, ανεξάρτητα από την λειτουργία τους.

2.3.3 Ο ρόλος του βορίου στο μεταβολισμό των φυτών

Υπάρχουν πολλές εργασίες που αναφέρουν τον ρόλο του βορίου στη λειτουργικότητα των ενζυμικών συστημάτων και άλλων πρωτεϊνών των κυτταροπλασματικών μεμβρανών, στη διαδικασία μεταφοράς ουσιών κατά μήκος των μεμβρανών καθώς και στην ακεραιότητα των μεμβρανών (Cakmak και Romheld, 1997; Brown *et al.*, 2002). Συγκεκριμένα, το βόριο φαίνεται να έχει διάφορες επιδράσεις σε ποικίλες φυσιολογικές και βιοχημικές διαδικασίες των ανώτερων φυτών. Μερικές απ' αυτές είναι: η επιμήκυνση της ρίζας, το μονοπάτι της ινδολο-3-οξεικής οξειδάσης, η μεταφορά των σακχάρων, ο μεταβολισμός των υδατανθράκων, η σύνθεση νουκλεϊνικών οξέων και η ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα. Οι Gonzales-Fontes *et al.* (2008) υποστηρίζουν ότι το βόριο μπορεί να εμπλακεί μαζί με το Ca σε τρεις φυσιολογικές λειτουργίες: α) στη δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων, β) στην κινητικότητα και διαλυτότητα διαφόρων στοιχείων και ουσιών, και γ) σε λειτουργίες μεταφοράς σημάτων. Παραδείγματα βιομορίων τα οποία μπορούν να συνδεθούν ισχυρά με το βορικό οξύ είναι η απιόζη, η ριβόζη, η σορβιτόλη και άλλες πολυόλες, καθώς επίσης ορισμένα φαινολικά και αμινοξέα, όπως η σερίνη (Loomis και Durst, 1992).

Σχετικά με το ρόλο του βορίου στην φωτοσύνθεση, οι κύριοι μηχανισμοί είναι ακόμη άγνωστοι, αλλά έχουν βρεθεί σημαντικές επιδράσεις του στις μεμβράνες των χλωροπλαστών. Συγκεκριμένα, η έλλειψη βορίου οδηγεί σε εμπλοκή της μεταφοράς των ηλεκτρονίων στα θυλακοειδή, πράγμα το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την φωτοαναστολή της φωτοσύνθεσης. Ωστόσο, είναι πολύ πιθανό οι επιδράσεις του βορίου που παρατηρούνται

στους χλωροπλάστες να είναι δευτερογενείς. Πιθανόν, δηλαδή, να προκαλούνται από την αναστολή της ανάπτυξης της ρίζας και των αυξανόμενων βλαστικών κορυφών, λόγω μειωμένης αγγειακής δραστηριότητας, κάτι το οποίο τελικά οδηγεί στην συσσώρευση ηλεκτρονίων στους αποδέκτες: φωτοσυστήματα PSI και PSII (Goldbach, 2007).

2.4 Η απορρόφηση του Β από τα φυτά

Το Β βρίσκεται στο εδαφικό διάλυμα σε διάφορες μορφές, αλλά στα περισσότερα εδάφη, όπου οι τιμές του pH κυμαίνονται από 5,5-7,5, η μορφή που επικρατεί είναι το διαλυτό βορικό οξύ. Σε pH μεγαλύτερα του 7 με 8, το βορικό οξύ προσλαμβάνει υδροξύλια από το νερό και σχηματίζει το βορικό ανιόν $[B(OH)_3 + 2H_2O \leftrightarrow B(OH)_4^- + H_3O^+]$. Έχει αποδειχθεί ότι τα φυτά απορροφούν το Β από το έδαφος κυρίως υπό μορφή βορικού οξέος. Ανάλογα με τη διαθεσιμότητα του Β στο έδαφος, το βορικό οξύ απορροφάται από τα φυτά με τρεις διαφορετικούς μηχανισμούς: 1) με παθητική διάχυση δια μέσου της διπλοστιβάδας των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών, 2) μέσω ορισμένων πρωτεϊνικών καναλιών, με τη μεσολάβηση φορέων (διευκολυνόμενη μεταφορά) και 3) με ενεργητική μεταφορά, η οποία πιθανότατα επάγεται όταν τα επίπεδα Β στο εδαφικό διάλυμα είναι χαμηλά (Tanaka και Fujiwara, 2007).

Κάτω από συνθήκες επαρκούς ή υπερβολικής διαθεσιμότητας Β, η απορρόφηση του βορικού οξέος από τις ρίζες επιτυγχάνεται μέσω μιας παθητικής διαδικασίας, η οποία περιλαμβάνει ως επί το πλείστον διάχυση του βορικού οξέος διαμέσου της λιπιδικής διπλοστιβάδας (Brown *et al.*, 2002; Tanaka και Fujiwara, 2007). Στην πραγματικότητα, ο συντελεστής λιπιδικής διαπερατότητας για το βορικό οξύ, που υπολογίζεται τόσο θεωρητικά (Raven, 1980) όσο και πειραματικά (Dordas και Brown, 2000; Dordas *et al.*, 2000; Stangoulis *et al.*, 2001), ενισχύει την άποψη ότι το Β μπορεί να διαπεράσει τις μεμβράνες παθητικά με σκοπό την ικανοποίηση των αναγκών του φυτού (Brown *et al.*, 2002).

Οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση του Β από τα φυτά είναι το pH, η θερμοκρασία του εδάφους, η εδαφική υγρασία, το ανθρακικό ασβέστιο, η οργανική ουσία, τα διάφορα οξειδία Fe, Al, τα υδροξείδια Fe, Al και Mg, τα ορυκτά της αργίλου, η κοκκομετρική σύσταση του εδάφους, τα υπόλοιπα θρεπτικά στοιχεία, το φυτικό

είδος και η ποικιλία, το υποκείμενο, τα επίπεδα αλατότητας του εδάφους, η βροχόπτωση και ο ρυθμός διαπνοής των φυτών (Παπαδάκης, 2002). Για παράδειγμα, η απορρόφηση του βορίου από τα φυτά μειώνεται σταδιακά με την αύξηση του εδαφικού pH από 4 έως 9, ενώ αυξάνεται με την αύξηση της έντασης του φωτός. Επίσης, ο ρυθμός απορρόφησης του βορίου αυξάνεται έντονα σε θερμοκρασίες από 10-30 °C, ενώ μειώνεται σημαντικά πάνω από τους 35 °C.

2.4.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση βορίου από τα φυτά

2.4.1.1 Το εδαφικό pH και τα επίπεδα Ca

Μεταξύ των εδαφικών παραγόντων που επιδρούν στην απορρόφηση του βορίου από τα φυτά, το pH είναι ο πιο σημαντικός (Gurta, 1980). Η προσρόφηση του βορίου στο έδαφος αυξάνεται ως αποτέλεσμα της αύξησης του pH στο εδαφικό διάλυμα από 3 έως 9 (Mezuman και Keren, 1981), κάτι το οποίο οδηγεί σε μειωμένη απορρόφηση από τα φυτά.

Η εφαρμογή ασβεστίου στο έδαφος αυξάνει το pH και ως εκ τούτου μειώνει τη διαθεσιμότητα του βορίου για τα φυτά. Ασβεστώδη εδάφη μειώνουν την συγκέντρωση του βορίου στους φυτικούς ιστούς σε πολλές καλλιέργειες και σε ακραίες περιπτώσεις μπορούν είτε να προκαλέσουν τροφопενίες βορίου είτε να προστατέψουν από την τοξικότητα του βορίου.

2.4.1.2 Η υφή του εδάφους και τα ορυκτά της αργίλλου

Η προσρόφηση του βορίου στα εδαφικά τεμαχίδια εξαρτάται από την υφή του εδάφους και είναι μεγαλύτερη καθώς αυξάνεται η περιεκτικότητα του εδάφους σε ορυκτά της αργίλλου. Μεταξύ των ορυκτών, ο ιλλίτης είναι με το πλεόν ενεργό ορυκτό για το βόριο, ενώ το λιγότερο ενεργό είναι ο καολινίτης. Γενικά, η ελάττωση των αποθεμάτων του βορίου είναι πιο συχνή σε αμμώδη εδάφη παρά σε αργιλώδη. Οι Mezuman και Keren (1981) ανέφεραν πως σε ό,τι αφορά τη μάζα των ορυκτών της αργίλλου, η προσρόφηση βορίου στα εδαφικά κolloειδή αυξάνεται καθώς το μέγεθος των τεμαχιδίων τους μειώνεται.

2.4.1.3 Η οργανική ουσία

Παρόλο που τα περισσότερα καλλιεργούμενα εδάφη περιέχουν 1-5% οργανική ουσία, ακόμα και αυτά τα μικρά σχετικά ποσοστά της τροποποιούν σημαντικά τις χημικές ιδιότητες των εδαφών. Είναι γνωστό ότι η οργανική ουσία του εδάφους αποτελεί μια δεξαμενή βορίου και παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της διαθεσιμότητάς του στα φυτά (Brady και Weil, 1996). Καλλιέργειες που αναπτύσσονται σε οργανικά εδάφη συνήθως δεν παρουσιάζουν συμπτώματα τοξικότητας βορίου, ακόμα και όταν λιπαίνονται με τέτοιες ποσότητες βορίου που προκαλούν τοξικότητα σε ανόργανα εδάφη. Πάντως, το μεγαλύτερο μέρος από το συνολικό βόριο του εδάφους συγκρατείται από την οργανική ουσία και αποδεσμεύεται σταδιακά, μετά από την δράση των μικροοργανισμών (ανοργανοποίηση οργανικής ουσίας) (Evans και Sparks, 1983). Επιπλέον, η οργανική ουσία αποτελεί την κυριότερη πηγή βορίου στα όξινα εδάφη, αφού η απορρόφηση του βορίου από τα φυτά μέσω των ορυκτών της αργίλου (ανόργανη φάση του εδάφους), λόγω χαμηλού pH, είναι μάλλον ιδιαίτερα μικρή.

2.4.1.4 Ο γονότυπος του φυτού

Η απορρόφηση του βορίου από τα φυτά διαφέρει όχι μόνο μεταξύ των διαφορετικών φυτικών ειδών αλλά και μεταξύ των διαφορετικών γονοτύπων του ίδιου είδους. Σύμφωνα με τον Nable (1988), η αντοχή των φυτών στην περίσσεια-υπερεπάρκεια βορίου βασίζεται όχι τόσο στις διαφορετικές συγκεντρώσεις βορίου στους φυτικούς ιστούς όσο στην μειωμένη απορρόφηση του βορίου από τα φυτά και συνεπώς στην μικρότερη συσσώρευση του στις ρίζες και στους βλαστούς. Για παράδειγμα, η μεγαλύτερη αντοχή της ελιάς στην περίσσεια βορίου απ' ότι της ροδακινιάς, της δαμασκηνιάς, της μηλιάς και της βερικοκιάς, οφείλεται πιθανότατα στη χαμηλότερη συσσώρευση βορίου στα φύλλα στα φύλλα της ελιάς (Hansen, 1945).

2.4.1.5 Το περιβάλλον

Υπάρχει πληθώρα δημοσιευμάτων που αναφέρουν ότι η απορρόφηση του βορίου από τη ρίζα είναι, σε μεγάλο βαθμό, μια φυσική-μη μεταβολική διεργασία η οποία σχετίζεται με την απορρόφηση του αδιάστατου βορικού οξέος και την εν συνεχεία μεταφορά του στο υπέργειο μέρος μέσω του ρεύματος της διαπνοής. Έτσι, ο ρυθμός

Κεφάλαιο 1ο: Εισαγωγή

διαπνοής σε υδροπονικές καλλιέργειες αποτελεί τον κύριο παράγοντα ρύθμισης της απορρόφησης του βορίου από τα φυτά (Hu *et al.*, 1997). Κατά συνέπεια, η θερμοκρασία του αέρα, η σχετική υγρασία, η ένταση του φωτός και η εδαφική υγρασία μπορούν έμμεσα να επιδράσουν στην απορρόφηση του βορίου από τα φυτά. Η αύξηση της θερμοκρασίας του αέρα, δημιουργεί ένα έλλειμμα πίεσης υδρατμών, αυξάνοντας έτσι τον ρυθμό απορρόφησης βορίου. Η μείωση της σχετικής υγρασίας του αέρα αυξάνει την διαπνοή στα φυτά με αποτέλεσμα την αυξημένη απορρόφηση του βορίου. Είναι γνωστό ότι η αύξηση της έντασης του φωτός, μέχρι ενός σημείου, επίσης προκαλεί μια αύξηση στην διαπνοή και άρα στην απορρόφηση βορίου από τα φυτά. Τέλος, η εδαφική υγρασία φαίνεται να είναι ένας από τους κυριότερους λόγους για την μεγάλη παραλλακτικότητα των συγκεντρώσεων βορίου στους φυτικούς ιστούς κατά την διάρκεια της ανάπτυξής τους. Στα πλαίσια αυτά, έχει παράλληλα αναφερθεί ότι η εναλλαγή ξηρών και υγρών περιόδων αυξάνει την προσρόφηση του βορίου στα εδαφικά συσσωματώματα (Biggar και Fireman, 1960).

2.4.1.6 Η διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων

Το βόριο φαίνεται να αλληλοεπιδρά με ορισμένα απαραίτητα για τα φυτά ανόργανα θρεπτικά στοιχεία, αλλά δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο αν εμπλέκεται άμεσα ή έμμεσα σε αυτές τις αλληλοεπιδράσεις (Tarig και Mott, 2007). Μεταξύ των μακροστοιχείων, το άζωτο (N) φαίνεται να έχει την μεγαλύτερη επίδραση στην απορρόφηση του βορίου. Πολλοί ερευνητές αναφέρουν ότι η εφαρμογή μεγάλων ποσοτήτων αζώτου στα φυτά οδηγεί στην μείωση της απορρόφησης του βορίου ή στην ελάττωση των συμπτωμάτων της τοξικότητας βορίου. Η εφαρμογή αζωτούχων λιπασμάτων μειώνει την συγκέντρωση του βορίου στις μηλιές και στα σπορόφυτα φιστικιάς (Tarig και Mott, 2007).

Είναι, επίσης, γνωστό ότι στη θρέψη των φυτών υπάρχει ένας ανταγωνισμός μεταξύ βορίου και ασβεστίου. Ως εκ τούτου, οι τοξικές επιπτώσεις του βορίου στα φυτά μπορεί να περιοριστούν ή ακόμη και να προληφθούν μέσω της προσθήκης ασβεστίου στο έδαφος. Τέλος, κάτω από ορισμένες συνθήκες, η εφαρμογή ψευδαργύρου (Zn), είτε διαφυλλικά είτε μέσω του εδάφους, μπορεί να ανακουφίσει τα φυτά από τα συμπτώματα της τοξικότητας του βορίου. Οι Cibes *et al.* (1955) σε διάφορα πειράματα που έκαναν σε δέντρα ροδακινιάς διαπίστωσαν ότι υπάρχει μια ανταγωνιστική σχέση ανάμεσα στο βόριο και στον

Κεφάλαιο 1ο: Εισαγωγή

ψευδάργυρο, και ότι τα δέντρα στα οποία δεν εφαρμόστηκε καθόλου ψευδάργυρος παρουσίασαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βορίου.

2.4.1.7 Η αλατότητα

Συνήθως, οι υψηλές συγκεντρώσεις βορίου συνδέονται και με προβλήματα αλατότητας, ειδικά σε περιοχές που χαρακτηρίζονται από χαμηλό ύψος βροχόπτωσης και στα εδάφη με κακή αποστράγγιση (Adcock *et al.*, 2007). Έχει αναφερθεί ότι η αλατότητα μπορεί να αλληλεπιδράσει με την τοξικότητα βορίου μέσω μιας συνδυασμένης επίδρασης στην απορρόφηση του βορίου και του νερού. Έχει, επίσης, αναφερθεί ότι στα φυτά στα οποία εφαρμόστηκε ταυτόχρονα NaCl και B, υπάρχει κάποιος μηχανισμός ο οποίος ρυθμίζει την απορρόφηση νερού από τις ρίζες και το άνοιγμα-κλείσιμο των στοματίων, μηχανισμός που φαίνεται να σχετίζεται με την λειτουργικότητα των ακουαπορινών. Μάλιστα, η συνδυασμένη επίδραση υπερεπάρκειας βορίου και αλατότητας συνεπάγεται μια ανταγωνιστική σχέση όσον αφορά την ανάπτυξη και την απόδοση των φυτών, προκαλώντας μείωση της ανάπτυξης και της παραγωγικότητάς τους. Ωστόσο, η τοξική-αρνητική επίπτωση στην αύξηση και απόδοση των φυτών είναι λιγότερο σοβαρή (ηπιότερη) από τον συνδυασμό βορίου και αλατότητας απ' ό,τι θα αναμενόταν εάν οι επιδράσεις των επιμέρους παραγόντων δρούσαν αθροιστικά.

2.5 Η κινητικότητα του B εντός του φυτικού σώματος

Είναι γνωστό ότι το βορικό οξύ μπορεί εύκολα να διαπεράσει άμεσα την διπλαστιβάδα λιπιδίων και ότι η ροή του μπορεί περαιτέρω να επιταχυνθεί μέσω της κίνησής του από κανάλια, με τη βοήθεια ακουαγλυκοπρωτεϊνών, που επιτρέπουν την κατευθυνόμενη κίνηση μικρών ουδέτερων μορίων (Reid, 2010). Τονίζεται ότι στα φυτά, το 75-95% του νερού κινείται δια μέσου των κυτταρικών μεμβρανών περνώντας μέσα από ειδικά κανάλια νερού, τις ακουαπορίνες. Τα κανάλια αυτά μπορούν επίσης να παίξουν έναν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία μεταφοράς του βορίου μέσω των μεμβρανών.

Ύστερα από την «φόρτωση» στα αγγεία του ξύλου, το βόριο μεταφέρεται μέσω του αγγειακού συστήματος στους βλαστούς, με τη βοήθεια του διαπνευστικού ρεύματος. Ωστόσο, το βόριο μπορεί να μεταφερθεί και μέσω του ηθμού τόσο στους ανθικούς όσο και

Κεφάλαιο 1ο: Εισαγωγή

στους βλαστικούς ιστούς, σε ορισμένα μόνο φυτικά είδη. Ο σχηματισμός *cis*-διολών, όπως συμπλόκων Β με πολυόλες (Β-πολυόλη), προτάθηκε αρχικά ως λόγος για τον οποίο το βόριο μεταφέρεται μέσω του ηθμού σε μερικά φυτά και αργότερα η αιτιολογία αυτή παγιώθηκε ως ο μηχανισμός κινητικότητας του βορίου στα φυτά. Έτσι, οι Brown και Shelp (1997), ανάλογα με την κινητικότητα του βορίου μέσω του ηθμού, χώρισαν τα φυτά σε δύο μεγάλες κατηγορίες.

Η πρώτη περίπτωση αφορά φυτικά είδη πλούσια σε σορβιτόλη (π.χ. *Eriobotrya deflexa*, *Prunus elysifolia*, *Pyrus* spp., *Malus* spp. και διάφορα άλλα είδη της οικογένειας Rosaceae) στα οποία το βόριο κινείται ελεύθερα μέσω του ηθμού. Στη δεύτερη ομάδα ανήκουν είδη στα οποία η σορβιτόλη ή άλλο αλκοολικό σάκχαρο δεν είναι το κύριο μεταφερόμενο φωτοσυνθετικό προϊόν και στα οποία η κίνηση του βορίου στον ηθμό είναι περιορισμένη. Οι Hu *et al.* (1996) υποστήριξαν ότι ο κύριος παράγοντας στον οποίο οφείλεται η μεταφορά του βορίου μέσω του ηθμού στα φυτά είναι η σύνθεση αλκοολικών σακχάρων και η μετέπειτα μεταφορά συμπλόκων βορίου με διάφορες πολυόλες, όπως με τημανιτόλη, τη σορβιτόλη και τη φρουκτόζη. Οι Brown *et al.* (1999) τονίζουν επίσης ότι αυτή η κινητικότητα του βορίου στον ηθμό είναι ιδιαίτερα συνδεδεμένη με την σύνθεση της σορβιτόλης. Στην περίπτωση της αυξημένης παραγωγής συνθάσης της σορβιτόλης, η μεταφορά αυξάνεται σημαντικά. Πρόσφατες μελέτες πάνω στον μεταβολισμό φυτών που έχουν αντοχή στην τοξικότητα βορίου έδειξαν ότι, τα επίπεδα της γλυκόζης είναι αυξημένα στα φύλλα που έχουν μεγάλες συγκεντρώσεις βορίου σε σύγκριση με εκείνα που έχουν μικρότερες συγκεντρώσεις βορίου (Roessner *et al.*, 2006). Στα είδη που το βόριο είναι ευκίνητο, παρατηρείται μεταφορά και συσσώρευσή του στα άνθη, στους καρπούς και στους βλαστούς (Brown και Hu, 1996). Από την άλλη μεριά, στα φυτά τα οποία δεν έχουν την ικανότητα μεταφοράς του βορίου συμπλοκοποιημένου με πολυόλες, στα είδη δηλαδή που το κύριο μεταφερόμενο φωτοσυνθετικό προϊόν είναι η σακχαρόζη, το βόριο θεωρείται δυσκίνητο ή ελαφρώς κινούμενο. Έτσι, η διανομή του στο υπέργειο μέρος των φυτών ακολουθεί κυρίως το ρεύμα της διαπνοής και κατά συνέπεια το βόριο έχει την τάση να συσσωρεύεται στα φύλλα και κυρίως στην περιφέρεια του ελάσματός τους, και όχι στα άνθη, τους βλαστούς και τους καρπούς.

Επίσης, η συγκέντρωση του βορίου σε φύλλα διαφορετικής ηλικίας του ίδιου είδους παρέχει σημαντικές ενδείξεις για την κινητικότητα του στοιχείου. Η εμφάνιση υψηλών συγκεντρώσεων βορίου σε παλιά ή ώριμα φύλλα σε σύγκριση με νεαρά είναι μια ένδειξη

της μη κινητικότητας του στοιχείου. Αντίθετα, η εμφάνιση υψηλότερων συγκεντρώσεων βορίου σε νεαρά φύλλα είναι μια ένδειξη κινητικότητας αυτού. Συγκεντρώσεις βορίου στα φρούτα ή στα ακραία μεριστώματα οι οποίες είναι ίσες ή υπερβαίνουν τις συγκεντρώσεις του βορίου στα φύλλα, αποτελούν επίσης ένδειξη ότι το βόριο κινείται μέσω του ηθμού (van Goor και van Lune, 1980).

Συμπερασματικά, το Β μεταφέρεται συμπλοκοποιημένο με πολυόλες σε είδη στα οποία αυτές είναι τα κύρια μεταφερόμενα φωτοσυνθετικά προϊόντα. Ακόμη, φαίνεται ότι περιβαλλοντικοί και φαινολογικοί παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή και διανομή των πολυολών επηρεάζουν και την κινητικότητα του Β εντός του φυτικού σώματος (Brown και Shelp, 1997).

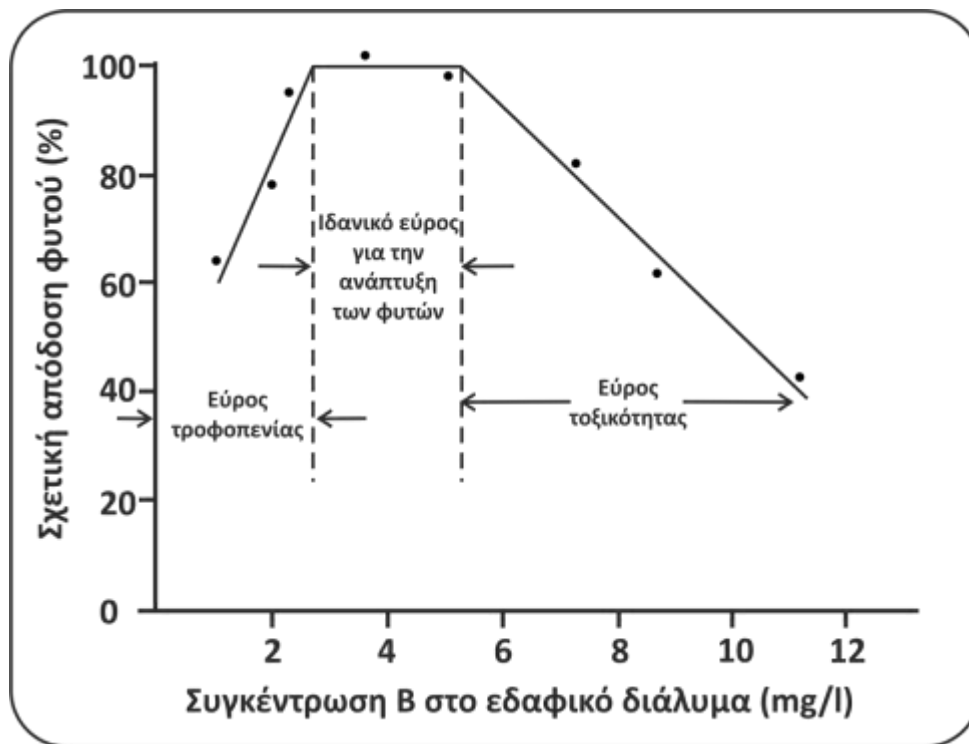
2.6 Συνθήκες έλλειψης και τοξικότητας βορίου στα φυτά

Το βόριο έχει μεγάλη σημασία για τα φυτά, ωστόσο οι απαιτούμενες ποσότητες για αυτά είναι πολύ μικρές και το εύρος μεταξύ τροφopenίας και τοξικότητας είναι πολύ στενό. Τονίζεται ότι υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των φυτικών ειδών όσον αφορά την αντοχή τους στο βόριο. Στα ευαίσθητα είδη περιλαμβάνονται τα εσπεριδοειδή, τα πυρηνόκαρπα, τα ακρόδρυα, το αβοκάντο, η μουσμουλιά, το φασόλι, το σταφύλι, το γκρέιπφρουτ και το σιτάρι, στα μετρίως ανθεκτικά, το κριθάρι, το λάχανο, το σέλινο, το καλαμπόκι και το γογγύλι, και στα ανθεκτικά περιλαμβάνονται τα τεύτλα, το βαμβάκι, το σόργο, η βρώμη, τα ζαχαρότευτλα και η τομάτα (Πίν. 2). Γενικά, η τοξικότητα βορίου (λόγω περίσσειας βορίου) είναι λιγότερο συχνή από την έλλειψή του. Η ωφέλιμη-επαρκής ποσότητα βορίου στο εδαφικό διάλυμα για τα φυτά κυμαίνεται από 0,5 έως 2,0 mg/L (Εικ. 1). Εδάφη που περιέχουν βόριο λιγότερο από 0,5 mg/L (συγκέντρωση στο εδαφικό διάλυμα) είναι φτωχά και τα συμπτώματα της έλλειψης του βορίου είναι συνήθως εμφανή σε πολλά φυτικά είδη. Αντίθετα, εδάφη με περιεκτικότητα σε βόριο πάνω από 2,0 mg/L (συγκέντρωση στο εδαφικό διάλυμα) χαρακτηρίζονται ως ρυπασμένα με βόριο και παρατηρείται μείωση της παραγωγής και δημιουργία ελαττωματικών-κακής ποιότητας προϊόντων (Taiz και Zeiger, 1991). Η έλλειψη βορίου περιορίζει σημαντικά την παραγωγή αρκετών κτηνοτροφικών, λαχανοκομικών και δενδροκομικών ειδών.

Κεφάλαιο 1ο: Εισαγωγή

Πίνακας 2: Σχετική ανθεκτικότητα διαφόρων φυτικών ειδών υπό συνθήκες υπερεπάγκειας βορίου (Ayers και Westcot, 1976).

Ανθεκτικά είδη (έως 4 mgB/L)	Ημιανθεκτικά είδη (έως 2 mgB/L)	Ευαίσθητα είδη (έως 1 mg/L)
Σπαράγγι (<i>Asparagus officinalis</i>)	Ηλιόσπορος (<i>Helianthus annuus</i>)	Πεκάν (<i>Carva illinoensis</i>)
Χουρμαδιά (<i>Phoenix dactylifera</i>)	Πατάτα (<i>Solanum tuberosum</i>)	Καρυδιά (<i>Juglans regia</i>)
Ζαχαρότευτλα (<i>Beta vulgaris</i>)	Βαμβάκι (<i>Gossypium spp.</i>)	Φασόλι (<i>Phaseolus vulgaris</i>)
Σέσκουλο (<i>Beta vulgaris</i>)	Ρεπάνι (<i>Raphanus sativus</i>)	Δαμασκηλιά (<i>Prunus domestica</i>)
Μηδική (<i>Medicago sativa</i>)	Ελιά (<i>Olea europaea</i>)	Αχλαδιά (<i>Pyrus communis</i>)
Κουκιά (<i>Vicia faba</i>)	Κριθάρι (<i>Hordeum vulgare</i>)	Μηλιά (<i>Malus sylvestris</i>)
Κρεμμύδι (<i>Allium sepa</i>)	Σιτάρι (<i>Triticum aestivum</i>)	Αμπέλι (<i>Vitis vinifera</i>)
Γογγύλι (<i>Brassica napra</i>)	Καλαμπόκι (<i>Zeamays</i>)	Συκιά (<i>Ficus carica</i>)
Λάχανο (<i>Brassica oleracea</i>)	Βρώμη (<i>Avena sativa</i>)	Λωτός (αμερικάνικος) (<i>Diospyros virginiana</i>)
Μαρούλι (<i>Lactusa sativa</i>)		Κερασιά (<i>Prunus avium</i>)
Καρότο (<i>Daucus carota</i>)		Ροδακινιά (<i>Prunus persica</i>)
		Βερικοκιά (<i>Prunus armeniaca</i>)
		Πορτοκαλιά (<i>Citrus sinensis</i>)
		Αβοκάντο (<i>Persea americana</i>)
		Γκρέιπφρουτ (<i>Citrus paradisi</i>)
		Λεμονιά (<i>Citrus limon</i>)



Εικόνα 1: Μεταβολή της απόδοσης (%) φυτών σε σχέση με τη συγκέντρωση βορίου στο εδαφικό διάλυμα (mg/L).

2.6.1 Η έλλειψη βορίου

Κάτω από συνθήκες έλλειψης βορίου, η αύξηση, σε μήκος και πλάτος, των φύλλων καθώς και η επιμήκυνση των ριζών περιορίζονται σημαντικά. Σε πολλές χώρες, η έλλειψη βορίου στο έδαφος είναι συνήθης και προκαλεί έντονη ανεπάρκεια στα φυτά. Σύμφωνα με τον Keceç (2008), τα συμπτώματα της έλλειψης βορίου στα φυτά περιλαμβάνουν: διακοπή της αύξησης της ρίζας και του υπέργειου τμήματος των φυτών, νέκρωση των βλαστικών και αναπαραγωγικών μεριστωμάτων των οφθαλμών καθώς και αυτών των πρωτογενών ριζικών τριχιδίων, νέκρωση του μίσχου των φύλλων, σχίσσιμο και νέκρωση του του φλοιού βλαστών και καρπών, καθυστέρηση των ενζυμικών αντιδράσεων, μείωση της βλαστικότητας της γύρης, ακόμη και θάνατο των φυτών. Επίσης, όταν υπάρχει τροφοπενία βορίου παρουσιάζεται αναστολή και άλλων λειτουργιών, όπως είναι η κυριαρχία της κορυφής και η ανάπτυξη των ανθέων, των καρπών και των σπόρων αυτών. Με αυτούς τους τρόπους, η έλλειψη βορίου δεν προκαλεί μόνο μείωση στην απόδοση της καλλιέργειας αλλά επίσης μειώνει και την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων. Σύμφωνα με τους Stavrianakou *et*

al. (2006), εκτός από την αναστολή της φυτικής αύξησης, η έλλειψη βορίου προκαλεί μια αξιοσημείωτη αύξηση της σχετικής συγκέντρωσης ενδογενών φαινολικών ουσιών στα φύλλα και στις ρίζες του είδους *Dittrichia viscosa* (οικ. Asteraceae).

2.6.2 Η τοξικότητα βορίου

Η τοξικότητα του βορίου είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα που περιορίζει σημαντικά την απόδοση των καλλιεργειών. Εντοπίζεται κυρίως σε αλκαλικά και αλατούχα εδάφη, που σε συνδυασμό με χαμηλές βροχοπτώσεις και περιορισμένες εκπλύσεις δημιουργούν σοβαρά προβλήματα στις διάφορες καλλιέργειες. Η περίσσεια-υπερεπάρκεια βορίου μειώνει σημαντικά την απόδοση των καλλιεργούμενων ειδών και μπορεί να περιορίσει την ανάπτυξη των φυτών σε εδάφη άνυδρα και ημίξηρικά σε όλο τον κόσμο. Το έδαφος είναι η κύρια πηγή ιχνοστοιχείων για τα φυτά. Ωστόσο, υπάρχουν και ορισμένες εξαιρέσεις στις οποίες τοξικές συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων, όπως του Β, μπορούν να προκύψουν έμμεσα, ως συνέπεια της υπερβολικής λίπανσης ή/και των υψηλών επιπέδων Β στο νερό της άρδευσης, προερχόμενου είτε από πηγάδια και γεωτρήσεις είτε από βιολογικό καθαρισμό αστικών ή βιομηχανικών αποχετευτικών λυμάτων (Kubata, 1980; Nable *et al.*, 1997).

Ανάμεσα σε μια μεγάλη ποικιλία φυτικών ειδών, το τυπικό και ορατό σύμπτωμα της τοξικότητας Β είναι το κάψιμο των φύλλων το οποίο εντοπίζεται ύστερα από την εμφάνιση χλωρωτικών και νεκρωτικών κηλίδων στην περιφέρεια και στην κορυφή του ελάσματος των παλαιότερων φύλλων (Bennett, 1993; Bergmann, 1992; Eaton, 1944). Αυτά τα συμπτώματα αντικατοπτρίζουν την κατανομή του Β στα περισσότερα είδη, όπου το Β συσσωρεύεται στο τέλος του ρεύματος διαπνοής. Οι χλωρωτικές και νεκρωτικές κηλίδες έχουν σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις Β σε σύγκριση με τους γύρω ιστούς του φύλλου (Oertli και Roth, 1969).

Σε αντίθεση με την προηγούμενη γενική θεώρηση, το κάψιμο των φύλλων δεν είναι το ορατό και χαρακτηριστικό σύμπτωμα της τοξικότητας του Β σε όλα τα φυτικά είδη. Σε είδη στα οποία το Β κινείται μέσω του ηθμού (π.χ. οικογένεια Rosaceae) και συσσωρεύεται εσωτερικά των αναπτυσσόμενων οργάνων και όχι απαραίτητα στο τέλος του ρεύματος της διαπνοής, τα συμπτώματα της τοξικότητας είναι αλλοιώσεις των καρπών (κολλώδεις εκκρίσεις και εσωτερική νέκρωση των ιστών), νέκρωση του φλοιού η οποία εμφανίζεται λόγω καταστροφής των καμβιακών ιστών και εμφάνιση καφέ νεκρωτικών περιοχών κατά

μήκος βλαστών και μίσχων (Crandall *et al.*, 1981; Dye *et al.*, 1983; Hansen, 1974). Αυτός, λοιπόν, ο τελευταίος τύπος συμπτωμάτων της τοξικότητας βορίου παρατηρείται σε πολλά καρποφόρα δέντρα λόγω της μεγάλης κινητικότητας του βορίου στον ηθμό τους (Brown και Hu, 1996). Η κινητικότητα αυτή παρουσιάζεται ως αποτέλεσμα της χρησιμοποίησης των πολυολών (σύνθετων σακχάρων), μεταβολιτών, δηλαδή, όπως της σορβιτόλης η οποία έχει ιδιαίτερη ικανότητα να ενώνεται με το βόριο. Τέτοιοι μεταβολίτες σχηματίζονται στους φωτοσυνθετικούς ιστούς και μεταφέρονται στα ενεργά κέντρα κατανάλωσης, όπως είναι οι αναπτυσσόμενες βλαστικές κορυφές, τα άνθη και οι καρποί. Ως αποτέλεσμα αυτής της κινητικότητας, το βόριο συσσωρεύεται στις κορυφές και τα συμπτώματα της τοξικότητας εμφανίζονται στις μεριστωματικές περιοχές και στους καρπούς και όχι στα παλαιότερα-ωριμότερα φύλλα. Σύμφωνα με τους Brown και Hu (1998), καρποφόρα δέντρα όπως η μηλιά [*Malus domestica* (Borkh.) Borkh.], η αμυγδαλιά [*Prunus amygdalus* (Mill.) D.A. Webbe], η βερικοκκιά (*Prunus armeniaca* L.), η κερασιά [*Prunus avium* (L.) L.], η άμπελος (*Vitis vinifera* L. κ.α.), η ιαπωνική μουσμουλιά [*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.], η ελιά (*Olea europaea* L.), η ροδακινιά [*Prunus persica* (L.) Batsch], η αχλαδιά (*Pyrus spp.*), η δαμασκηνιά (*Prunus spp.*) και η ροδιά (*Punica granatum* L.) εμφανίζουν τα προαναφερόμενα χαρακτηριστικά συμπτώματα τοξικότητας βορίου, όπως επίσης και μαρασμό της κορυφής των βλαστών (Kwong και Ryan, 2008).

2.7 Μεταβολικές αντιδράσεις των φυτών υπό συνθήκες αβιοτικής καταπόνησής τους

Επειδή η αβιοτική καταπόνηση είναι εξ' ορισμού μια καταπόνηση η οποία προκαλείται από οποιονδήποτε άλλο παράγοντα εκτός από την άμεση αλληλεπίδραση του φυτού με κάποιον άλλο οργανισμό, η λίστα με τα αίτια είναι μεγάλη. Τα πιο συχνά αναφερόμενα αίτια είναι η έλλειψη νερού, η αλατότητα, οι ακραίες θερμοκρασίες και η περίσσεια φωτός. Επιπλέον, τα βαρέα μέταλλα, διάφορες ξένες ενώσεις για τα φυτά, η υπεριώδης ακτινοβολία, το όζον, η υποξία, οι τροφοπενίες και οι τοξικότητες ανόργανων στοιχείων, συμπεριλαμβανομένου του Β, περιλαμβάνονται τακτικά στα παραπάνω αίτια (ApeI και Hirt, 2004; Mittler, 2006; Møller *et al.*, 2007). Ωστόσο, λόγω αυτής της ποικιλομορφίας των αιτιών που προκαλούν μια αβιοτική καταπόνηση, οι μηχανισμοί τοξικότητας και κατά συνέπεια τα φυτικά σήματα και οι μεταβολικές αποκρίσεις

Κεφάλαιο 1ο: Εισαγωγή

διαφέρουν μεταξύ των διαφόρων καταπονήσεων. Εν τούτοις, τα φυτά ανταποκρίνονται σε όλες αυτές τις καταπονήσεις με την αυξημένη παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) οι οποίες παράγονται από τον κυτταρικό μεταβολισμό. Οι αβιοτικές καταπονήσεις αυξάνουν τον ρυθμό παραγωγής των ROS και αυτό μαζί με την μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των κυττάρων οδηγεί σε σημαντική συσσώρευση των ROS.

Στους φωτοσυνθετικούς ιστούς, ο χλωροπλάστης είναι η κύρια πηγή παραγωγής ROS, έχοντας την ικανότητα να παράγει υψηλές ποσότητες (α) ριζών του υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) και (β) υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), ειδικά κατά την διάρκεια μείωσης του ρυθμού φωτοσύνθεσης (Takahashi και Murata, 2008). Στους μη φωτοσυνθετικούς ιστούς, τα μιτοχόνδρια είναι η κύρια πηγή παραγωγής ROS αλλά η συμβολή τους θεωρείται μικρή σε σχέση με αυτή των χλωροπλαστών (Navrot *et al.*, 2007). Η τρίτη ενδοκυτταρική πηγή ROS είναι τα περοξισώματα. Αυτά περιέχουν αρκετές οξειδάσες οι οποίες παράγουν υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και ρίζες του υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) ως παραπροϊόντα των αντιδράσεων τις οποίες καταλύουν. Η φωτοαναγωγική οξειδάση του γλυκολικού εντοπίζεται στα περοξισώματα και η λειτουργία της είναι ιδιαίτερα σημαντική σε περίπτωση που οι αβιοτικές καταπονήσεις προκαλούν κλείσιμο των στοματίων. Ως αποτέλεσμα του κλεισίματος των στοματίων είναι η μείωση της ανταλλαγής των αερίων, πράγμα που οδηγεί σε μείωση της διαθεσιμότητας διοξειδίου του άνθρακα για την 1,5-διφωσφορική ριβουλόζη Rubisco και ακολουθείται από αύξηση της φωτοαναπνοής και της παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) (Foyer και Noctor, 2009).

Εκτός από τις παραπάνω μεταβολικές πηγές παραγωγής ROS, υπό την παρουσία οξειδοαναγωγικών δραστικών μετάλλων μπορεί να παραχθούν ρίζες υδροξυλίου ($\cdot OH$) είτε από το H_2O_2 , σύμφωνα με την αντίδραση Fenton, είτε από H_2O_2 και $O_2^{\cdot-}$, σύμφωνα με την αντίδραση Haber–Weiss. Η ισχυρή δραστικότητα των ριζών υδροξυλίου ($\cdot OH$) έχει σαν αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη κινητικότητά τους μέσα στο κύτταρο κάτι το οποίο προκαλεί εκτεταμένες οξειδωτικές βλάβες (Jaspers και Kangasjarvi, 2010).

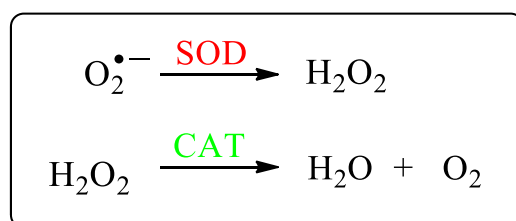
Συμπερασματικά, οι ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) είναι ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες που προκαλούν οξειδωτική βλάβη σε βιομόρια, όπως είναι τα λιπίδια και οι πρωτεΐνες, και η συσσώρευσή τους οδηγεί στην καταστροφή των κυτταροπλασματικών μεμβρανών και τελικά στον κυτταρικό θάνατο (Molassiotis *et al.*, 2006). Κλείνοντας, τονίζεται ότι η υπεροξείδωση των λιπιδίων συχνά ακολουθείται από αύξηση της

συγκέντρωσης του βιοδείκτη της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA, malondialdehyde) που είναι προϊόν αποσύνθεσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των μεμβρανών (Mittler, 2002).

2.7.1 Ενζυμικά και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά συστήματα

Στα φυτά, οι καταπονήσεις που προκαλούνται από την συσσώρευση των ενεργών μορφών οξυγόνου αντισταθμίζονται από δύο διαφορετικές διαδικασίες: α) την πρόληψη ή την αποφυγή σχηματισμού των ROS και β) την ενεργή δέσμευση των ROS από δύο είδη αντιοξειδωτικών συστημάτων μικρού μοριακού βάρους (Keunen *et al.*, 2013). Το πρώτο, είναι το ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα το οποίο περιλαμβάνει διάφορα ένζυμα, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (superoxide dismutase, SOD), η καταλάση (catalase, CAT), η αναγωγάση της γλουταθιόνης (glutathione reductase, GR) και η υπεροξειδάση του ασκορβικού οξέος (ascorbate peroxidase, APX). Το δεύτερο, είναι το μη ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα το οποίο περιλαμβάνει το ασκορβικό οξύ (ASA), την γλουταθιόνη (GSH) και την α -τοκοφερόλη (Nagesh *et al.*, 2012) καθώς και άλλα βιομόρια, όπως την προλίνη και ορισμένους υδατάνθρακες.

Ως κύριο μόριο που διασπά ενζυμικά τις ενεργές μορφές οξυγόνου, η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) καταλύει την αυτοξειδοαναγωγή της ρίζας του υπεροξειδίου σε υπεροξειδίο του υδρογόνου και οξυγόνο (Εικ. 2). Ωστόσο, το υπεροξειδίο του υδρογόνου είναι επίσης τοξικό για τα κύτταρα και γι' αυτό πρέπει να διασπασθεί περαιτέρω, είτε με την βοήθεια της καταλάσης είτε με την υπεροξειδάση ή και με τα δύο μαζί, σε νερό και οξυγόνο (Zhu *et al.*, 2004; Sairam *et al.*, 2005). Στον κύκλο γλουταθιόνης-ασκορβικού οξέος, η υπεροξειδάση του ασκορβικού οξέος (APX) μειώνει την συγκέντρωση του υπεροξειδίου χρησιμοποιώντας το ασκορβικό οξύ ως δότη ηλεκτρονίων (Soylemezoglu *et al.*, 2009).



Εικόνα 2: Διάσπαση της ρίζας του υπεροξειδίου και του υπεροξειδίου του υδρογόνου από την υπεροξειδική δισμουτάση και την καταλάση, αντίστοιχα.

2.7.2 Ο ρόλος των διαλυτών σακχάρων

Εκτός από τα ευρέως γνωστά αντιοξειδωτικά συστήματα, τα διαλυτά σάκχαρα φαίνεται να έχουν διπλό ρόλο σε σχέση με τις ενεργές μορφές οξυγόνου. Μπορούν είτε να συμμετέχουν στις μεταβολικές διεργασίες παραγωγής ROS, είτε να διοχετεύουν την παραγόμενη μεταβολική ενέργεια (φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο, NADPH), όπως στο μεταβολικό μονοπάτι της οξείδωσης των φωσφοροπεντοζών, και έτσι να συμβάλλουν στην δέσμευση των ROS (Couée *et al.*, 2006; Bolouri-Moghaddam *et al.*, 2010). Ωστόσο, άσχετα από τη γενική θεώρηση ότι τα σάκχαρα έχουν αντιοξειδωτικό ρόλο, γίνεται ολοένα και πιο σαφές ότι τα σάκχαρα, ειδικά εκείνα τα οποία αλληλεπιδρούν με τις μεμβράνες, μπορούν να δράσουν και ως δεσμευτές των ROS (Van den Ende και Valluru 2009; Peshev και Van den Ende, 2013). Συγκεκριμένα, οι δισακχαρίτες (σακχαρόζη και τρεχαλόζη), η ομάδα των ολιγοσακχαριτών της ραφινόζης και οι φρουκτάνες (τα οποία αναφέρονται και ως σάκχαρα) είναι οι τρεις κύριοι τύποι διαλυτών υδατανθράκων οι οποίοι εμπλέκονται ουσιαστικά στις μεταβολικές διεργασίες που διέπουν τις καταπονήσεις των φυτών. Εξ' ορισμού, οι διαλυτοί υδατάνθρακες σχηματίζονται ως απόκριση στην ωσμωτική καταπόνηση και λειτουργούν ωσμορυθμιστικά, συμβάλλοντας στην σταθεροποίηση των κυτταρικών μεμβρανών και στην διατήρηση της σπαργής των φυτικών κυττάρων (Peshev και Van den Ende, 2013). Τόσο τα απλά σάκχαρα όσο και οι πολυσακχαρίτες έχουν την ικανότητα να προστατεύουν τις κυτταρικές μεμβράνες, κάτι το οποίο αποτελεί βασική προϋπόθεση για την επιβίωση των φυτών που βρίσκονται σε συνθήκες καταπόνησης.

Οι Suzuki και Dandekar (2014) αναφέρουν πως τα κύρια μεταφερόμενα σάκχαρα στη μουςμουλιά, και γενικότερα στα καρποφόρα δέντρα της οικογένειας Rosaceae, είναι η σακχαρόζη και η σορβιτόλη. Μερικοί ρόλοι της σορβιτόλης, πέραν του ότι αποτελεί βασική πηγή άνθρακα, είναι και ότι προσδίδει αντοχή σε αβιοτικές καταπονήσεις, όπως στην αλατότητα, στην ξηρασία και στις χαμηλές θερμοκρασίες.

2.7.3 Ο ρόλος της προλίνης

Κάτω από συνθήκες καταπόνησης τα φυτά δεν παράγουν μόνο αντιοξειδωτικές ενώσεις αλλά επίσης συσσωρεύουν συμβατές διαλυτές ουσίες, όπως είναι η προλίνη. Η προλίνη είναι ένα πρωτεϊνικό αμινοξύ, με εξαιρετικά σταθερή διαμόρφωση στο χώρο, που

είναι απαραίτητο στον πρωτογενή μεταβολισμό. Από την πρώτη δημοσίευση συσσώρευσης προλίνης σε φυτικούς ιστούς, σε πειράματα έλλειψης νερού σε σίκαλη, μέχρι σήμερα, πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η συγκέντρωσή της στα ανώτερα φυτά αυξάνεται κάτω από διάφορες περιβαλλοντικές καταπονήσεις. Γενικά, η συσσώρευση προλίνης στους φυτικούς ιστούς έχει παρατηρηθεί κάτω από συνθήκες ξηρασίας, αλατότητας, υψηλού φωτισμού, υπεριώδους ακτινοβολίας (UV), βαρέων μετάλλων και λοιπών οξειδωτικών καταπονήσεων, αλλά και ως απόκριση σε διάφορες βιοτικές καταπονήσεις (Szabados και Savouire, 2009).

Για πολύ καιρό, η προλίνη εθεωρείτο ως μια αδρανής ωσμωρυθμιστική διαλυτή ένωση η οποία προστάτευε τις υποκυτταρικές δομές και τα μακρομόρια, κάτω από συνθήκες υψηλής ωσμωτικής πίεσης (Csonka και Hanson, 1991). Ωστόσο, η συσσώρευση προλίνης μπορεί να επηρεάσει την αντοχή των φυτών σε διάφορες καταπονήσεις με πολλαπλούς τρόπους. Η προλίνη φαίνεται να λειτουργεί ως μοριακός συνοδός, ικανός να προστατεύει την ακεραιότητα των πρωτεϊνών και να ενισχύει τις δραστηριότητες διαφόρων ενζύμων.

Πολλές μελέτες αποδίδουν στην προλίνη αντιοξειδωτικό ρόλο, αναφέροντας την ικανότητά της να δεσμεύει ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) και να λειτουργεί ως εκκαθαριστής διαφόρων ενεργών ριζών οξυγόνου. Η επέμβαση με προλίνη μπορεί να μειώσει τα επίπεδα των ROS σε μύκητες και ζύμες, αποτρέποντας έτσι τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Επιπλέον, μπορεί να μειώσει την υπεροξειδωση των λιπιδίων σε κύτταρα διαφόρων φυκών τα οποία εκτίθενται σε βαρέα μέταλλα. Επίσης, μπορεί να μειώσει την τοξικότητα υδραργύρου στο ρύζι. Τέλος, οι καταστροφικές επιδράσεις των ριζών οξυγόνου και υδροξυλίου στο φωτοσύνστημα II (PSII) περιορίζονται από την συσσώρευση προλίνης στις μεμβράνες των θυλακοειδών (Szabados και Savouire, 2010).

2.8 Σκοπός της εργασίας

Αν και η ευαισθησία των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου είναι γνωστή και μάλιστα μεγάλη (Brown και Hu 1998; Yau και Ryan, 2008), δεν υπάρχουν αναλυτικές μελέτες που να παρουσιάζουν τις επιδράσεις του βορίου σε επιμέρους φυσιολογικά, ανατομικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά αυτών των

Κεφάλαιο 1ο: Εισαγωγή

φυτών. Με βάση αυτά τα δεδομένα, σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η συμπεριφορά των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν διάφορες παράμετροι, σχετιζόμενες με την ανόργανη θρέψη και την ανατομία των φυτών καθώς και με την πιθανή οξειδωτική καταπόνησή τους και τον μεταβολισμό των υδατανθράκων τους.

Πείραμα Α:

«Μελέτη της επίδρασης διαφόρων επιπέδων βορίου, χορηγούμενων υδροπονικά, στην πρόσληψη, τις συγκεντρώσεις και την κατανομή του βορίου και άλλων ανόργανων στοιχείων σε φυτά ιαπωνικής μουσμουλιάς, καθώς και στις συγκεντρώσεις των διαλυτών υδατανθράκων, του αμύλου και της προλίνης στα φύλλα ή/και στις ρίζες τους».

2.1 Υλικά και Μέθοδοι

2.1.1 Προετοιμασία του πειράματος

Ως φυτικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν 25 μονοστέλεχα, ομοιόμορφης ανάπτυξης (διάμετρος βλαστού, ύψος και φυλλική επιφάνεια), σπορόφυτα ιαπωνικής μουσμουλιάς (*Eriobotrya japonica*), ηλικίας 6 μηνών. Αρχικά, τα φυτά αναπτύχθηκαν σε μικρούς δίσκους σποράς που πειείχαν μίγμα τύρφης:περλίτη αναλογίας 2:1 (v/v). Τρεις εβδομάδες πριν ξεκινήσουν οι επεμβάσεις με βόριο, τα φυτά μεταφυτεύθηκαν σε μαύρες πλαστικές σακούλες χωρητικότητας 2L που περιείχαν αδρανές υπόστρωμα άμμου:περλίτη σε αναλογία 1:2 (v/v).

Κατά την μεταφύτευση, οι ρίζες των φυτών ξεπλύθηκαν με άφθονο νερό βρύσης και στη συνέχεια με απεσταγμένο νερό έτσι ώστε να είναι απαλλαγμένες από τυχόν υπολείμματα του αρχικού υποστρώματος. Σε κάθε σακούλα τοποθετήθηκε ένα φυτό. Μέχρι την έναρξη του πειράματος, τα φυτά ποτίζονταν, δύο-τρεις φορές την εβδομάδα με νερό βρύσης. Από την έναρξη μέχρι και το πέρας του πειράματος, τα φυτά ποτίζονταν τρεις φορές την εβδομάδα με θρεπτικό διάλυμα Hoagland (Πίν. 3) (Hoagland και Arnon, 1950), που ήταν πλήρες ως προς τα μακροστοιχεία και τα ιχνοστοιχεία, αλλά διέφερε στην συγκέντρωση του βορίου (25, 50, 100, 200 ή 400 μM B). Μάρτυρα του πειράματος αποτέλεσε η επέμβαση των 25 μM B, η οποία αποτελεί τη βασική-προτεινόμενη συγκέντρωση του χρησιμοποιούμενου διαλύματος Hoagland. Κάθε δεκαπέντε μέρες τα φυτά αρδεύονταν με απιονισμένο νερού, αντί του προαναφερόμενου θρεπτικού διαλύματος, με σκοπό να ξεπλυθεί η ρίζα τους από πιθανή συσσώρευση αλάτων.

Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 25 φυτά, 5 επαναλήψεις για κάθε επέμβαση βορίου (25, 50, 100, 200 ή 400 μM B). Εξήντα εννέα ημέρες ύστερα από την έναρξη των επεμβάσεων με

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

βόριο και περίπου 10-13 ημέρες ύστερα από την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων της τοξικότητας βορίου (καφέτιασμα-μαύρισμα του φλοιού του βλαστού και μαρασμός των φύλλων της κορυφής), τα φυτά συγκομίστηκαν και χωρίστηκαν σε φύλλα, βλαστούς και ρίζες. Κάθε φυτικό μέρος ζυγίστηκε (νωπό βάρος), πλύθηκε αρχικά με νερό βρύσης και ύστερα με απεσταγμένο νερό. Ακολούθως, ξηράνθηκε στους 75 °C για 72 ώρες, ζυγίστηκε για την καταγραφή του ξηρού βάρους του δείγματος και τέλος αλέστηκε σε λεπτή σκόνη. Ειδικά για την ανάλυση των διαλυτών σακχάρων και αμύλου, δείγματα φύλλων από κάθε επέμβαση (από το μέσο περίπου του βλαστού) τοποθετήθηκαν αρχικά στην κατάψυξη και ύστερα σε ειδικό μηχάνημα για κρυοξήρανση (freezdrying) για 3 ημέρες. Κατόπιν έγινε τρίψιμο των δειγμάτων σε μύλο άλεσης και τοποθέτηση της παραγόμενης σκόνης στην κατάψυξη μέχρι να γίνουν οι σχετικές αναλύσεις.

Πίνακας 3: Χημική σύσταση υδροπονικού θρεπτικού διαλύματος που χορηγήθηκε στα φυτά του μάρτυρα (25 μM B). (Hoagland και Arnon, 1950). Το ίδιο θρεπτικό διάλυμα χορηγήθηκε και στα φυτά των λοιπών επεμβάσεων, με εξαίρεση τη συγκέντρωση του βορίου που διαφοροποιήθηκε κατά περίπτωση (50, 100, 200 ή 400 μM B).

Θρεπτικά στοιχεία	Τελική συγκέντρωση του στοιχείου	
Μακροστοιχεία	μM	ppm
N	16000	224
K	6000	235
Ca	4000	160
P	2000	62
S	1000	32
Mg	1000	24
Ιχνοστοιχεία	μM	ppm
Cl	50	1,77
B	25	0,27
Mn	2,0	0,11
Zn	2,0	0,131
Cu	0,5	0,032
Mo	0,5	0,05
Fe	10	1,12

2.1.2 Εργαστηριακές αναλύσεις

2.1.2.1 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του βορίου

Σε κάψες πορσελάνης ζυγίστηκαν 0,5 g αλεσμένου ξηρού φυτικού ιστού. Ακολούθησε η καύση των δειγμάτων σε ειδικό φούρνο στους 500 °C για 5 ώρες. Ο προσδιορισμός της

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

συγκέντρωσης του βορίου έγινε με τη μέθοδο Azomethine-H (Wolf, 1971). Σύμφωνα με αυτή, η διαλυτοποίηση της τέφρας έγινε σε 10 ml διάλυμα HCl 0,1N. Ακολούθησε διήθηση σε πλαστικά μπουκαλάκια με τη βοήθεια χάρτινου χωνιού. Σε πλαστικούς σωλήνες τοποθετήθηκαν 2 ml διηθήματος. Στη συνέχεια προστέθηκαν 4 ml ρυθμιστικού διαλύματος οξικού αμμωνίου (pH= 5,1) και 4 ml διαλύματος αζωμεθίνης. Το διάλυμα της αζωμεθίνης παρασκευάστηκε με διάλυση 0,45 g αζωμεθίνης (Azomethine-H) και 1 g ασκορβικού οξέος σε 100 ml νερού. Οι πλαστικοί σωλήνες ανακινούνταν και ύστερα από 40 λεπτά καταγράφονταν η απορρόφηση του κίτρινου συμπλόκου, που δημιουργεί η αζωμεθίνη με το βορικό οξύ, σε φασματοφωτόμετρο (420 nm).

Οι συγκεντρώσεις του βορίου στα επιμέρους φυτικά τμήματα προσδιορίστηκαν με βάση την απορρόφηση που καταγράφηκε, την καμπύλη αναφοράς και τον συντελεστή αραιώσης του αρχικού δείγματος και εκφράστηκαν σε $\mu\text{g/g}$ ξηρού βάρους (dry weight, d.w.) (ppm). Η καμπύλη αναφοράς προέκυψε από τις παρακάτω γνωστές συγκεντρώσεις βορίου: 0, 1, 2, 4, 6, 8 και 10 ppm.

2.1.2.2 Προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των υπόλοιπων ανόργανων χημικών στοιχείων (P, K, Ca, Mg, Mn, Zn, Fe και Na)

Ζυγίστηκαν 0,5 g αλεσμένου ξηρού φυτικού ιστού σε κάψες πορσελάνης. Τοποθετήθηκαν μέσα στον κλίβανο ξήρασης στους 550 °C για 5,5 ώρες. Στη συνέχεια έγινε προσθήκη 3 ml 6N HCl σε κάθε κάψα. Για την καλύτερη διαλυτοποίηση των θρεπτικών στοιχείων, οι κάψες μπήκαν σε αμμόλουτρο για 10 λεπτά (ήπια θέρμανση). Ακολούθησε διήθηση σε ογκομετρικές φιάλες των 50 ml με τη βοήθεια χάρτινου χωνιού. Οι ογκομετρικές φιάλες συμπληρώθηκαν μέχρι την χαραγή τους με απιονισμένο νερό και το διάλυμά τους εισήχθη σε αριθμημένα πλαστικά μπουκαλάκια. Οι συγκεντρώσεις των Ca, Mg, Mn, Fe και Zn προσδιορίστηκαν σε συσκευή ατομικής απορρόφησης, ενώ αυτές των K και Na με φλογοφωτόμετρο. Η αρχική αραιώση ήταν επαρκής για τον προσδιορισμό των ιχνοστοιχείων, ενώ απαιτήθηκε επιπλέον αραιώση για τα μακροστοιχεία.

Από το τελικό διάλυμα των 50 ml που παρασκευάστηκε παραπάνω ελήφθησαν 0,75 ml (φύλλα) και 0,40 ml (βλαστοί, ρίζες) για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του φωσφόρου με τη μέθοδο του φωσφορο-βαναδο-μολυβδαινικού αμμωνίου. Η μέθοδος αυτή είναι χρωματομετρική και η απορρόφηση του κίτρινου χρώματος, που αναπτύσσεται

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

στα διαλύματα, μετράται σε φασματοφωτόμετρο στα 470 nm (το δείγμα τοποθετούνταν πάντα σε γυάλινη κυψελίδα).

Οι συγκεντρώσεις των μακροστοιχείων εκφράστηκαν σε mg/100mg ξηρού βάρους (% ξ.β., % d.w.), ενώ των ιχνοστοιχείων σε µg/g ξηρού βάρους (ppm).

2.1.2.3 Υπολογισμός των ποσοτήτων του βορίου και των λοιπών ανόργανων στοιχείων στα φύλλα, τους βλαστούς και τις ρίζες

Πολλαπλασιάζοντας τα ξηρά βάρη των επιμέρους φυτικών οργάνων (φύλλων, βλαστών και ριζών) κάθε φυτού με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις των ανόργανων στοιχείων, εκφρασμένες επί ξηρού βάρους, υπολογίστηκαν οι ποσότητες των στοιχείων σε φύλλα, βλαστούς και ρίζες, αντίστοιχα. Επιπλέον, για κάθε στοιχείο, υπολογίστηκε σε επίπεδο φυτού, η συνολική του ποσότητα, αθροίζοντας τις επιμέρους ποσότητές του στα φύλλα, το βλαστό και τη ρίζα.

Αναφορικά με τις συγκεντρώσεις των ανόργανων στοιχείων στους φυτικούς ιστούς καθώς και τις ποσότητές τους σε επίπεδο φυτού, ορισμένα δεδομένα παρουσιάστηκαν στην πτυχιακή μου μελέτη (Τσιάντας, 2012). Ωστόσο, στα πλαίσια της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης έγιναν επιπλέον αναλύσεις (π.χ. Fe, Ca, Zn, Mg, Mn) για να διερευνηθεί συνολικά πως το βόριο επηρεάζει την απορρόφηση όλων των άλλων ανόργανων στοιχείων. Σημειώνεται επίσης ότι ο σκοπός της παρούσας μελέτης διαφέρει σαφώς από αυτόν της πτυχιακής μου εργασίας, που αφορούσε στην διερεύνηση της πιθανής θετικής-ανακουφιστικής δράσης του σαλικυλικού οξέος (Sal), της πουτρεσκίνης (Put) και του ασκορβικού οξέος (Asc) σε φυτά ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου. Στα πλαίσια αυτά και για την αποφυγή της εκτεταμένης επανάληψης όλων των σχετικών δεδομένων και προκειμένου, όμως, να εξυπηρετηθεί ο σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας, κρίθηκε καλό για όλα τα στοιχεία, με εξαίρεση το βόριο, να παρουσιαστούν μόνο οι ποσότητές τους, και όχι οι συγκεντρώσεις τους, στα διάφορα φυτικά μέρη και στο φυτό συνολικά.

2.1.2.4 Προσδιορισμός συγκέντρωσης προλίνης

Ζυγίστηκαν 100 mg κατεψυγμένου ιστού φύλλων ή 350 mg κατεψυγμένου ιστού ρίζας. Έγινε εκχύλιση σε γουδί με προσθήκη 4ml αιθανόλης 70 %. Ακολούθησε

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

φυγοκέντρωση στις 4000 στροφές για 10 λεπτά. Ακολούθως, ελήφθη 1ml εκχυλίσματος από κάθε δείγμα, έγινε προσθήκη 2ml διαλύματος νυνιδρίνης και τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 95 °C για 25 λεπτά. Αμέσως μετά το πέρας της θέρμανσης, τα παρασκευάσματα τοποθετήθηκαν σε παγόλουτρο και έγινε μέτρηση της απορρόφησης σε φωτόμετρο στα 520 nm. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της προλίνης στα δείγματα έγινε με βάση την εξίσωση που προέκυψε από το διάγραμμα της απορρόφησης (στα 520 nm) διαλυμάτων προλίνης γνωστών συγκεντρώσεων (καμπύλη αναφοράς): 0,005, 0,01, 0,02, 0,04, 0,08 και 0,16 mM προλίνης (L-proline).

2.1.2.5 Εκχύλιση και ανάλυση διαλυτών σακχάρων και αμύλου

Η εκχύλιση και ανάλυση των διαλυτών σακχάρων έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται από τους Roussos *et al.* (2010). Από κάθε δείγμα ζυγίστηκαν περίπου 30 mg ξηρού βάρους και η εκχύλιση έγινε δύο φορές με 2ml νερό καθαρότητας HPLC σε φούρνο μικρο κυμάτων στα 400W για 2 λεπτά. Ύστερα τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και τα διαλυτά σάκχαρα μετρήθηκαν στο υπερκείμενο αφού προηγουμένως καθαρίστηκαν με χρήση φίλτρου διαμέτρου 0,2 μm. Το υπόλειμμα πλύθηκε δυο φορές με διάλυμα αιθανόλης 80 % (v/v) και μια φορά με καθαρή αιθανόλη και ύστερα ξηράθηκε στους 70 °C για να γίνει η ανάλυση αμύλου.

2.1.2.5.1 Ανάλυση διαλυτών σακχάρων

Για την ανάλυση των σακχάρων, με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC), χρησιμοποιήθηκε μια ισοκρατική αντλία τύπου Waters 510 με ρυθμό ροής νερού 0,6 ml/min. Ο διαχωρισμός των σακχάρων έγινε με χρήση στήλης ανταλλαγής κατιόντων, Hamilton HC-75, μορφής ασβεστίου (Ca^{+2}) (Hamilton, Bonaduz, Switzerland) εξισορροπημένης στους 80 °C. Πέντε διαλυτά σάκχαρα ανιχνεύθηκαν στα φύλλα της μουσμουλιάς: (α) η σακχαρόζη, (β) η γλυκόζη, (γ) η φρουκτόζη και τα αλκοολικά σάκχαρα (δ) μαννιτόλη και (ε) σορβιτόλη. Τα ολικά σάκχαρα για κάθε δείγμα υπολογίστηκαν αθροίζοντας τις συγκεντρώσεις των προαναφερόμενων σακχάρων. Επίσης, υπολογίστηκαν τα μετακινούμενα σάκχαρα (σακχαρόζη, σορβιτόλη και μαννιτόλη) και τα μη μετακινούμενα σάκχαρα (γλυκόζη και φρουκτόζη), αθροίζοντας τις επιμέρους

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

συγκεντρώσεις τους. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε επί τοις εκατό (%) περιεκτικότητα σακχάρων ανά μονάδα ξηρού βάρους ιστού (w/w).

2.1.2.5.2 Ανάλυση αμύλου

Η ανάλυση του αμύλου πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ενζυματική μέθοδο (Venmos, 1999). Το στερεό υπόλειμμα μετά την απομάκρυνση των διαλυτών σακχάρων αφήνεται σε σωλήνα φυγοκέντρησης για την ανάλυση αμύλου. Στο ξηρό υπόστρωμα προστίθενται 1 ml NaOH 0,5 M για ζελατινοποίηση του αμύλου, 0,55 ml οξικού οξέος για εξουδετέρωση και τελικά το άμυλο μετατρέπεται σε γλυκόζη με προσθήκη 1 ml διαλύματος αμυλογλυκοσιδάσης (Sigma Chemical Inc., St. Louis, MO, U.S.A.), διαλυμένης σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος (pH 4,5). Για υποβοήθηση της αντίδρασης τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 55 °C για μια ώρα. Ύστερα έγινε προσθήκη 0,2 ml NaOH 1 N για εξουδετέρωση. Ορισμένη ποσότητα (0,5 ml) από το προηγούμενο διάλυμα που περιέχει το εκχυλισμένο διάλυμα γλυκόζης μεταφέρεται σε δοκιμαστικό σωλήνα και γίνεται προσθήκη 2 ml αντιδραστηρίου γλυκόζης οξειδάσης-υπεροξειδάσης (GOD-POD), (GOD/PAP; Biosis, Athens, Greece). Ακολουθεί ανακίνηση και τα δείγματα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 37 °C για 15 λεπτά. Η απορρόφηση του παραγόμενου κόκκινου χρώματος μετράται στα 510 nm με τη χρήση φωτόμετρου (Helios γ, Unicam, UK). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε % περιεκτικότητα αμύλου ανά μονάδα ξηρού βάρους ιστού (w/w).

2.1.3 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SPSS-21.0.1 (SPSS, INC., Chicago, U.S.A.). Για τη σύγκριση των μέσων όρων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Duncan (Duncan's multiple range test), για επίπεδο πιθανότητας 5 % ($P \leq 0,05$). Επίσης, πραγματοποιήθηκε έλεγχος της πιθανής γραμμικής συσχέτισης όλων των δεδομένων μεταξύ τους, βάσει της δοκιμής του *Pearson* για το σύνολο των φυτών ($n=25$). Σε πίνακες παρουσιάζονται οι τιμές του συντελεστή γραμμικής συσχέτισης (r) για ορισμένα ζεύγη παραμέτρων, που κρίθηκε ότι έχουν ενδιαφέρον.

2.2 Αποτελέσματα

2.2.1 Συγκεντρώσεις βορίου στα φύλλα, στο βλαστό και στη ρίζα

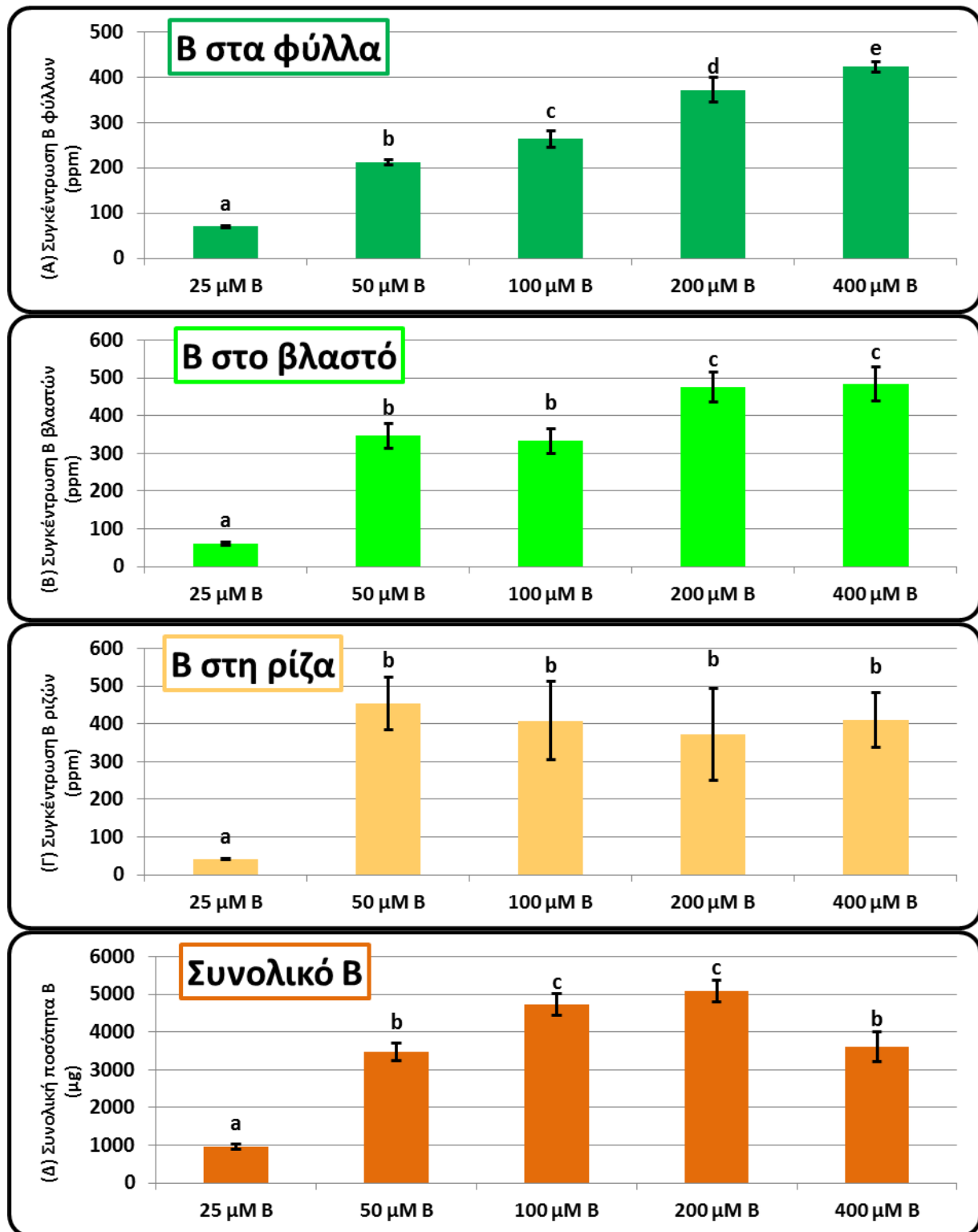
Η συγκέντρωση του Β στα φύλλα των φυτών (Εικ. 3Α) επηρεάστηκε σημαντικά από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα. Η μέση συγκέντρωση του Β στα φύλλα του μάρτυρα (25 μM Β) ήταν περίπου 70 ppm, ενώ στις επεμβάσεις 50, 100, 200 και 400 μM Β η συγκέντρωσή του ακολούθησε ανοδική πορεία με αντίστοιχες τιμές 212 ppm, 264 ppm, 372 ppm και 423 ppm.

Η συγκέντρωση του βορίου του θρεπτικού διαλύματος άσκησε σημαντική επίδραση στη συγκέντρωση του βορίου στο βλαστό των φυτών (Εικ. 3Β). Σε σχέση με την επέμβαση 25 μM Β, παρατηρήθηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις βορίου στους βλαστούς σε όλες τις άλλες επεμβάσεις (50-400 μM Β). Η μέση συγκέντρωση βορίου στους βλαστούς των φυτών του μάρτυρα ήταν περίπου 61 ppm, στις επεμβάσεις 50 και 100 μM Β ήταν περίπου στα 340 ppm και στις επεμβάσεις 200 και 400 μM Β ήταν περίπου στα 480 ppm.

Αναφορικά με τη συγκέντρωση βορίου των ριζών (Εικ. 3Γ), αυτή επηρεάστηκε σημαντικά από τη συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα, όχι όμως τόσο όσο στα φύλλα. Στις ρίζες παρατηρήθηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις βορίου στις επεμβάσεις 50-400 μM Β, συγκριτικά με το μάρτυρα (25 μM Β). Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων 50, 100, 200 και 400 μM Β δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

2.2.2 Συνολική ποσότητα βορίου που απορροφήθηκε από τα φυτά

Η συνολική ποσότητα βορίου ανά φυτό (μg Β/φυτό) επηρεάστηκε σημαντικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος (Εικ. 3Δ). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες Β απορροφήθηκαν από τα φυτά στις επεμβάσεις 100 και 200 μM Β απ' ό τι στην πλέον τοξική επέμβαση των 400 μM Β.



Εικόνα 3: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25-400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του B (ppm) στα φύλλα (A), στο βλαστό (B) και στη ρίζα (Γ) φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς καθώς και στην συνολική ποσότητα του B (μg) (Δ) ανά φυτό. Η στατιστική ανάλυση έγινε με την μέθοδο Duncan. (Μέσος όρος \pm S.E., $n=5$). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

2.2.3 Συνολικές ποσότητες λοιπών θρεπτικών στοιχείων (K, P, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn και Na) που απορροφήθηκαν από τα φυτά

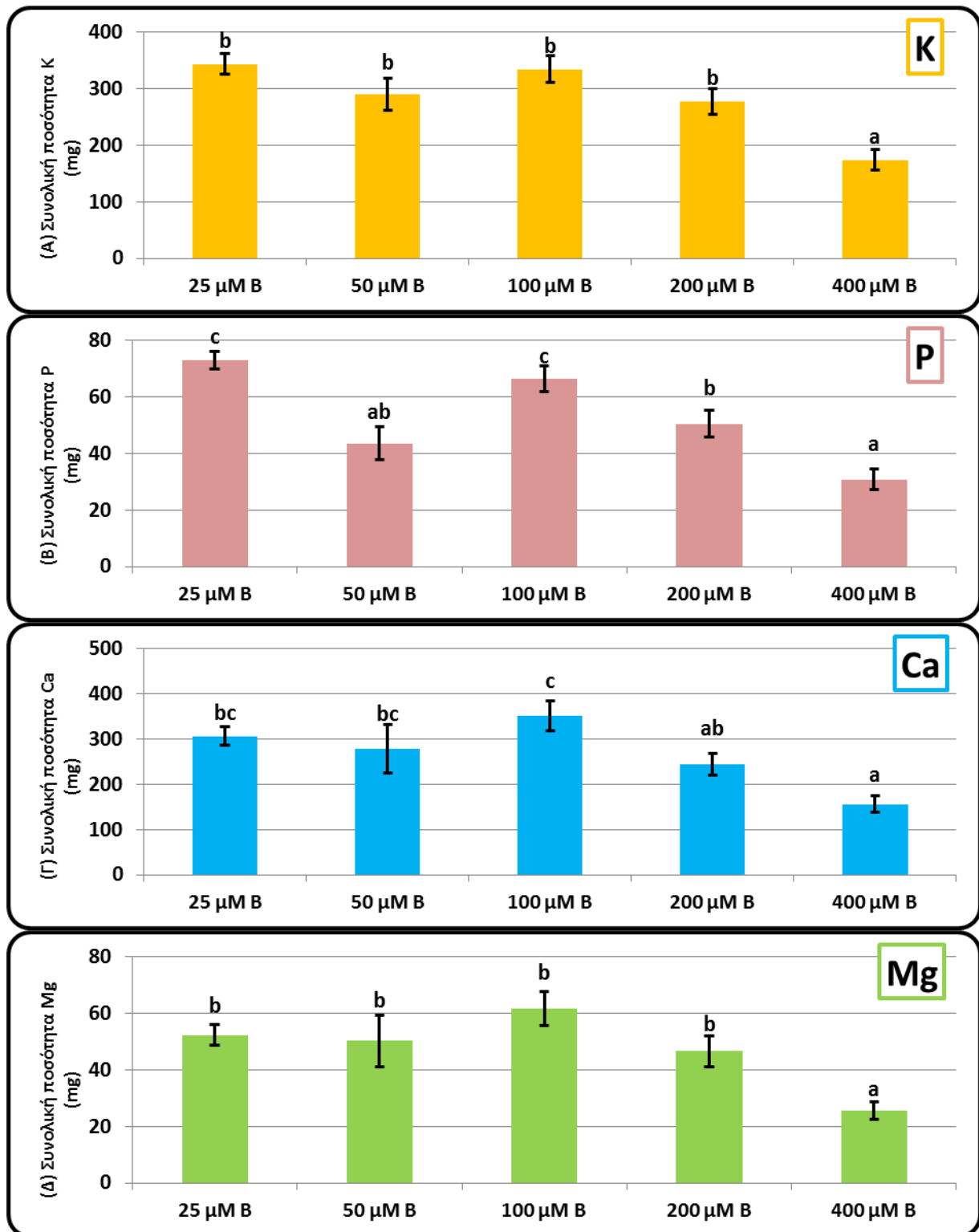
Το βόριο του θρεπτικού διαλύματος επηρέασε σημαντικά την συνολική ποσότητα του καλίου ανά φυτό (Εικ. 4Α). Συγκεκριμένα, η μέση ποσότητα καλίου που απορρόφησαν τα φυτά των επεμβάσεων 25, 50, 100 και 200 μM B ήταν σημαντικά αυξημένη σε σχέση με εκείνη της επέμβασης 400 μM B.

Αξιόλογα σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν σε ό,τι αφορά τη συνολική ποσότητα φωσφόρου ανά φυτό (Εικ. 4Β). Η μέση συνολική ποσότητα φωσφόρου ανά φυτό στις επεμβάσεις 25 και 100 μM B ήταν σημαντικά αυξημένη (70 και 62 μg , αντίστοιχα) σε σχέση με εκείνη των επεμβάσεων 200 και 400 μM B (50 και 30 μg , αντίστοιχα). Επίσης, σημαντικά αυξημένη ήταν και η συνολική ποσότητα φωσφόρου στην επέμβαση 200 μM B (50 μg) σε σχέση με εκείνη της επέμβασης 400 μM B (30 μg).

Αναφορικά με την συνολική ποσότητα ασβεστίου ανά φυτό, παρατηρήθηκαν επίσης σημαντικές διακυμάνσεις λόγω της μεταβολής της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (Εικ. 4Γ). Συγκεκριμένα, η μέση συνολική ποσότητα του ασβεστίου ανά φυτό στις επεμβάσεις 25, 50 και 100 μM B ήταν σημαντικά αυξημένη (306, 275 και 350 mg Ca, αντίστοιχα) σε σχέση με εκείνη της επέμβασης 400 μM B (155 μg). Αντίστοιχα ήταν τα αποτελέσματα που αφορούσαν την συνολική ποσότητα του μαγνησίου που απορροφήθηκε από τα φυτά (Εικ. 4Δ). Τα φυτά του μάρτυρα μαζί με αυτά των επεμβάσεων 50, 100 και 200 μM B περιείχαν σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες μαγνησίου (περίπου 55 mg) σε σχέση με τα φυτά της επέμβασης 400 μM B (26 mg).

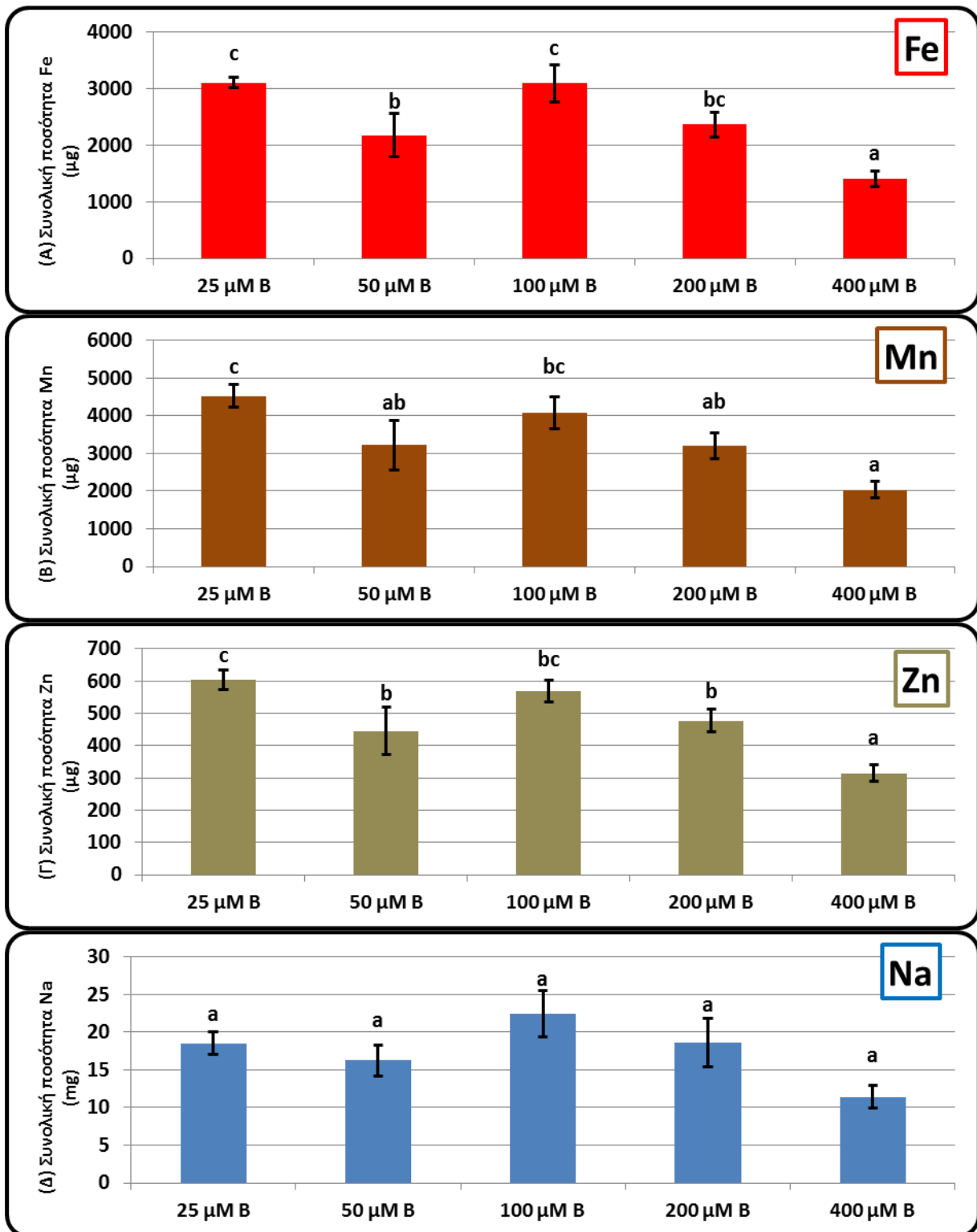
Το βόριο του διαλύματος επηρέασε σημαντικά και μάλιστα αρνητικά τις συνολικές ποσότητες σιδήρου, μαγγανίου και ψευδαργύρου που απορροφήθηκαν από τα φυτά (Εικ.5Α, 5Β, 5Γ). Οι ποσότητες αυτές στα φυτά του μάρτυρα (25 μM B) ήταν περίπου 3000 μg για τον Fe, 4500 μg για το Mn και 602 μg για τον Zn ενώ στα φυτά της επέμβασης 400 μM B μειώθηκαν σημαντικά στα 1400, 2000 και 314 μg , αντίστοιχα. Τέλος, η επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου του θρεπτικού διαλύματος στη συνολική ποσότητα νατρίου που απορροφήθηκε από τα φυτά ήταν στατιστικά μη σημαντική (Εικ.5Δ).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 4: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25-400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στη συνολική ποσότητα του καλίου (A), του φωσφόρου (B), του ασβεστίου (Γ) και του μαγνησίου (Δ) ανά φυτό ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με την μέθοδο Duncan. (Μέσος όρος \pm S.E., $n=5$). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 5: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25-400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στη συνολική ποσότητα του σιδήρου (A), του μαγγανίου (B), του ψευδαργύρου (Γ) και του νατρίου (Δ) ανά φυτό ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με την μέθοδο Duncan. (Μέσος όρος ± S.E., n=5). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

2.2.4 Περιεκτικότητα διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα

Η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα επηρέασε σημαντικά την % περιεκτικότητα των φύλλων σε σακχαρόζη (Εικ. 6Α). Στα φυτά του μάρτυρα (25 μM B) και της επέμβασης 50 μM B, η μέση % περιεκτικότητα σακχαρόζης ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ($\approx 3\%$) από εκείνη των επεμβάσεων 100, 200 και 400 μM B ($\approx 1,1\%$). Μάλιστα, σημαντικά μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση της σακχαρόζης στα φύλλα των φυτών της επέμβασης 100 μM B ($\approx 1,8\%$) σε σχέση με εκείνη των επεμβάσεων 200 και 400 μM B ($\approx 1,1\%$). Γενικά, παρατηρήθηκε μια σταδιακή μείωση της σακχαρόζης στα φύλλα, καθώς αυξανόταν η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα.

Σε αντίθεση με όσα αναφέρθηκαν παραπάνω για τη σακχαρόζη, οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης (Εικ. 6B) και της φρουκτόζης (Εικ. 6Γ) επηρεάστηκαν θετικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος. Στα φύλλα του μάρτυρα (25 μM B) καθώς και των επεμβάσεων 50 και 100 μM B η μέση % περιεκτικότητα γλυκόζης ήταν 0,19 %, ενώ στην επέμβαση 200 μM B αυξήθηκε στο 0,38%. Επίσης, σημαντική ήταν η διαφορά στην % περιεκτικότητα των φύλλων σε γλυκόζη μεταξύ των επεμβάσεων 25 και 400 μM B. Στην επέμβαση του μάρτυρα (25 μM B) ήταν 0,16 %, ενώ στην επέμβαση της υπερεπάρκειας βορίου (400 μM B) ήταν 0,32 % (Εικ. 6B). Η επίδραση του B στις συγκεντρώσεις της φρουκτόζης ήταν εντονότερη σε σχέση με τη γλυκόζη. Συγκεκριμένα, στα φύλλα του μάρτυρα (25 μM B) η μέση % περιεκτικότητα φρουκτόζης ήταν 0,12 %, ενώ στις επεμβάσεις 100, 200 και 400 μM B η περιεκτικότητα αυξήθηκε σημαντικά (περίπου στο 0,5 %) (Εικ. 6Γ).

Αναφορικά με την περιεκτικότητα των φύλλων σε μαννιτόλη (Εικ. 7Α), αυτή επηρεάστηκε σημαντικά από τη συγκέντρωση βορίου στο θρεπτικό διάλυμα μόνο στην επέμβαση 100 μM B. Συγκεκριμένα, η μέση % περιεκτικότητα μαννιτόλης στα φυτά της επέμβασης 25 μM B ήταν περίπου 0,31 %, ενώ στην επέμβαση 100 μM B ήταν 0,62 %. Από την άλλη μεριά, η μέση % περιεκτικότητα των φύλλων σε σορβιτόλη (Εικ. 7B) δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος. Όσον αφορά την % περιεκτικότητα στα φύλλα των ολικών σακχάρων (Εικ. 7Γ), ούτε αυτή επηρεάστηκε σημαντικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος.

Η % περιεκτικότητα των μετακινούμενων σακχάρων (σακχαρόζη, μαννιτόλη, σορβιτόλη) στα φύλλα επηρεάστηκε σημαντικά από το βόριο του διαλύματος. Μάλιστα, μεγαλύτερες τιμές μετακινούμενων σακχάρων παρατηρήθηκαν στα φύλλα του μάρτυρα

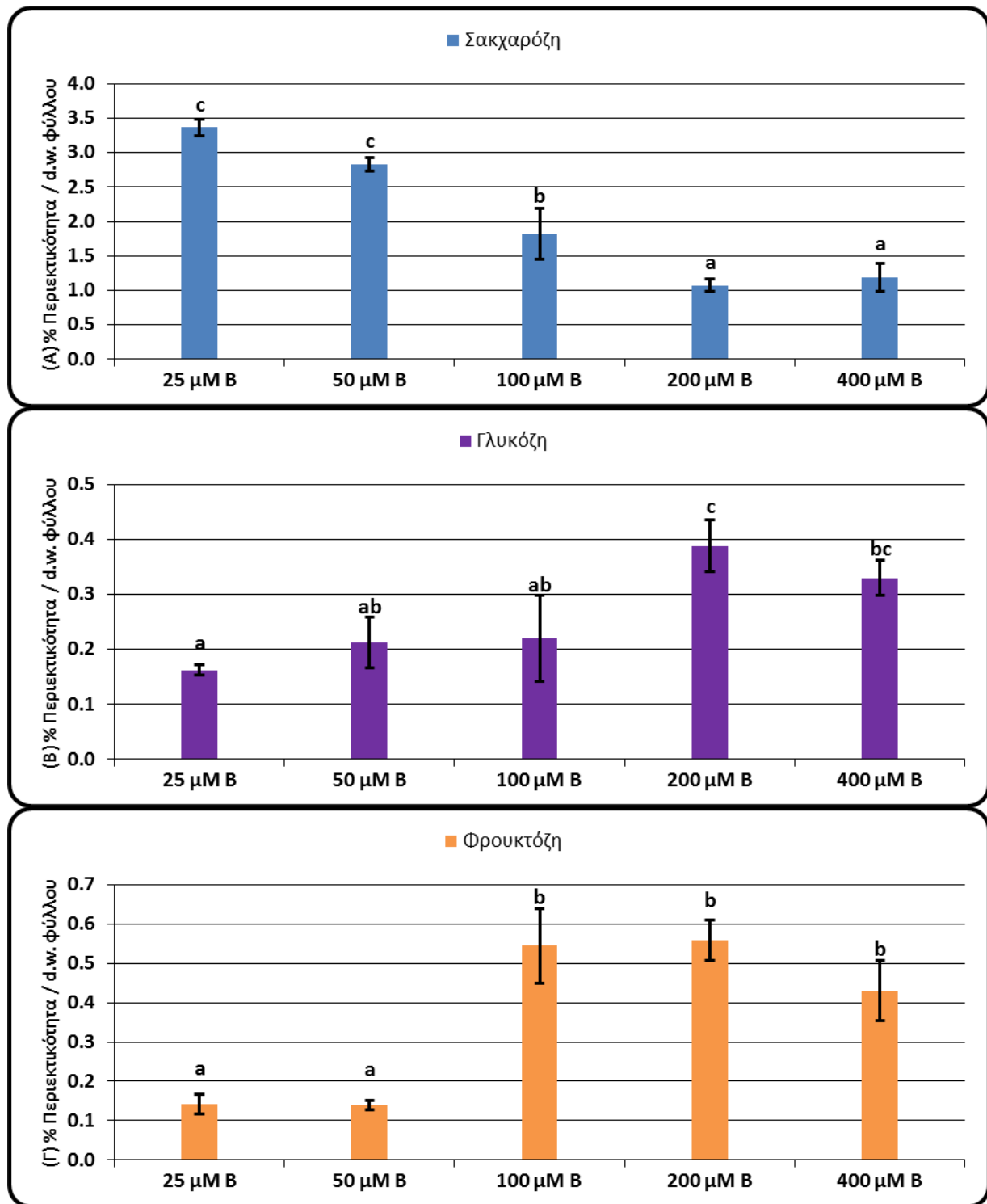
Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

(25 μM B) σε σχέση με αυτά της επέμβασης 400 μM B (Εικ. 8Α). Επιπλέον, η μέση % περιεκτικότητα των μη μετακινούμενων σακχάρων (γλυκόζη, φρουκτόζη) των φύλλων επηρεάστηκε σημαντικά από τη συγκέντρωση βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (Εικ. 8Β). Συγκεκριμένα, μικρότερη περιεκτικότητα ($\approx 0,3$ %) είχαν τα φύλλα των επεμβάσεων 25 και 50 μM B, ενώ σημαντικά μεγαλύτερη είχαν αυτά των επεμβάσεων 100, 200 και 400 μM B ($\approx 0,83$ %). Τέλος, ο λόγος μετακινούμενων / μη μετακινούμενων σακχάρων επηρεάστηκε επίσης σημαντικά από τη συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (Εικ. 8Γ). Στις επεμβάσεις 25 και 50 μM B ο λόγος ήταν σημαντικά μεγαλύτερος (≈ 28) απ' ό τι στις επεμβάσεις 100, 200 και 400 μM B, πού ήταν ίσος με περίπου 8.

Η συγκέντρωση του βορίου του θρεπτικού διαλύματος επηρέασε σημαντικά τον λόγο μετακινούμενων / ολικών σακχάρων των φύλλων (Εικ. 9Α). Ο λόγος αυτός στα φυτά των επεμβάσεων 25 και 50 μM B ήταν περίπου 0,96, ενώ στις επεμβάσεις 100, 200 και 400 μM B μειώθηκε σημαντικά στο 0,88. Ακριβώς αντίθετη τάση παρουσίασε ο λόγος μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων (Εικ. 9Β). Στις επεμβάσεις 25 και 50 μM B ήταν περίπου 0,03, ενώ στις επεμβάσεις 100, 200 και 400 μM B ο λόγος αυξήθηκε σημαντικά στο 0,10.

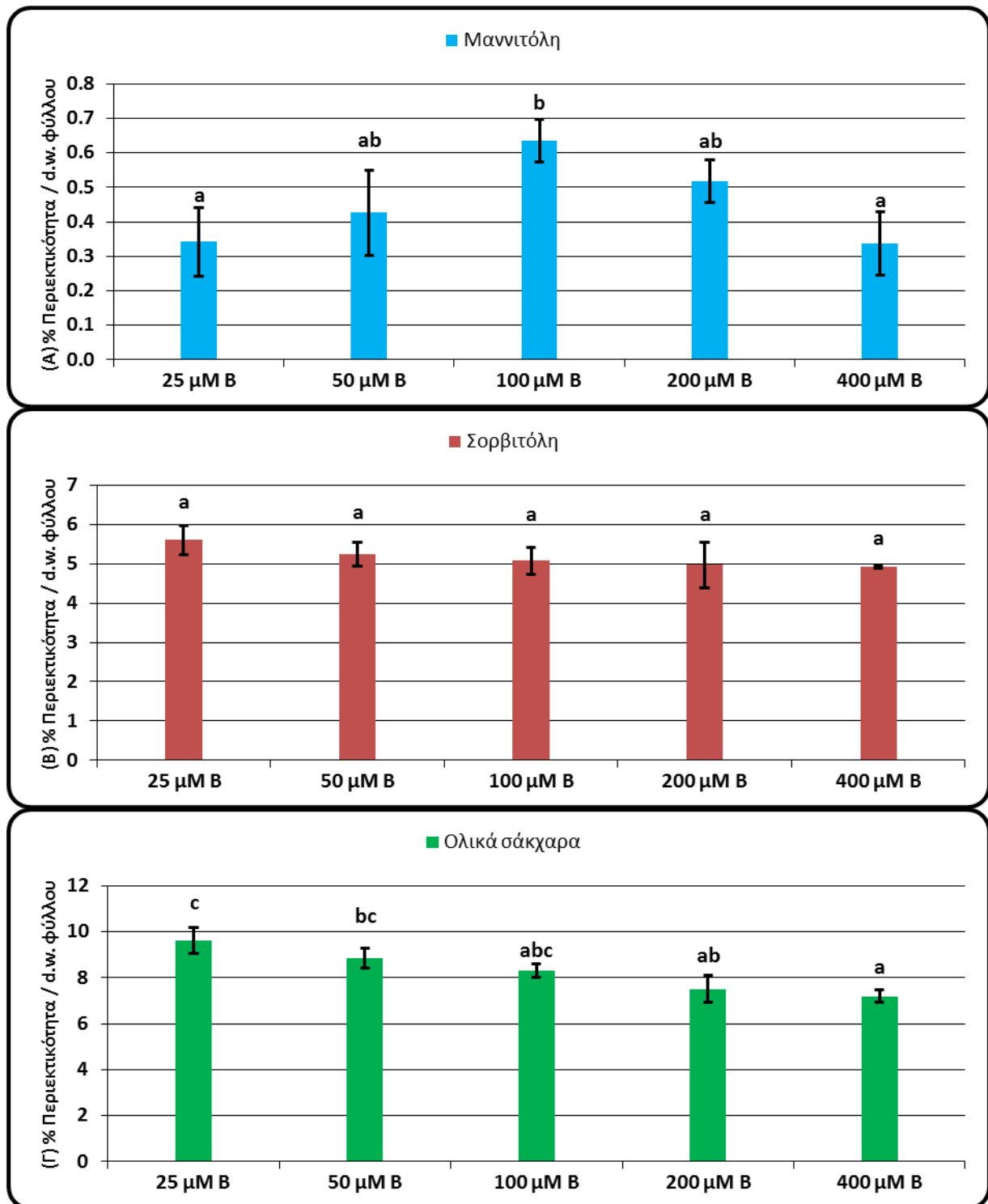
Όσον αφορά την % περιεκτικότητα αμύλου των φύλλων (Εικ. 10), αυτή επηρεάστηκε σημαντικά από την συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα, αλλά μόνο στην επέμβαση 100 μM B. Συγκεκριμένα, τα φυτά του μάρτυρα (25 μM B) καθώς και των επεμβάσεων 50, 200 και 400 μM B είχαν μέση περιεκτικότητα αμύλου 0,18 %, ενώ τα φυτά της επέμβασης 100 μM B είχαν σημαντικά αυξημένη περιεκτικότητα αμύλου (0,23 %).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



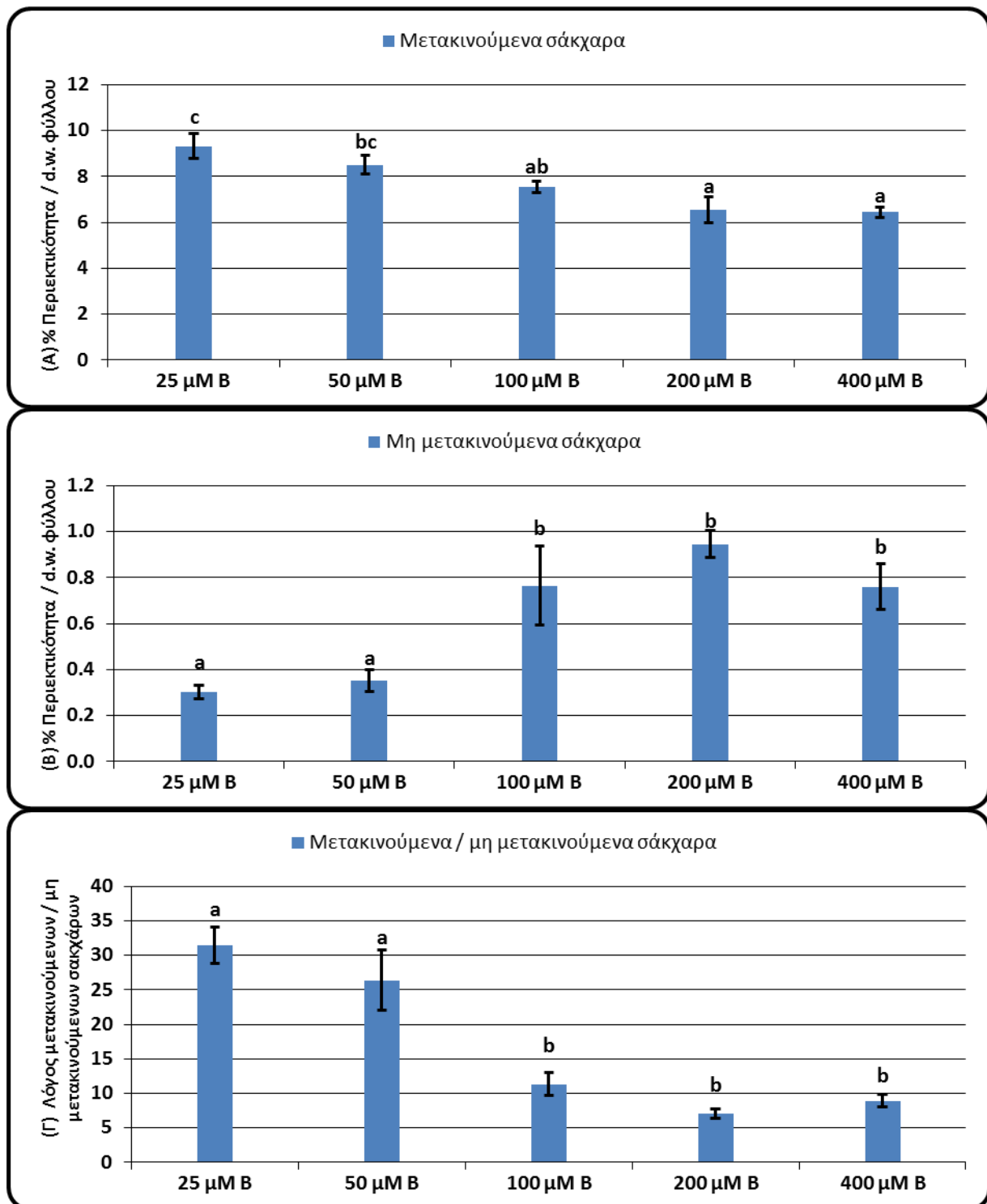
Εικόνα 6: Επίδραση της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στην % περιεκτικότητα των φύλλων της ιαπωνικής μουσμουλιάς (επί ξηρού βάρους, d.w.) σε σακχαρόζη (A), γλυκόζη (B) και φρουκτόζη (Γ). Η στατιστική ανάλυση έγινε με την μέθοδο Duncan. (Μέσος όρος ± S.E., n=5). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



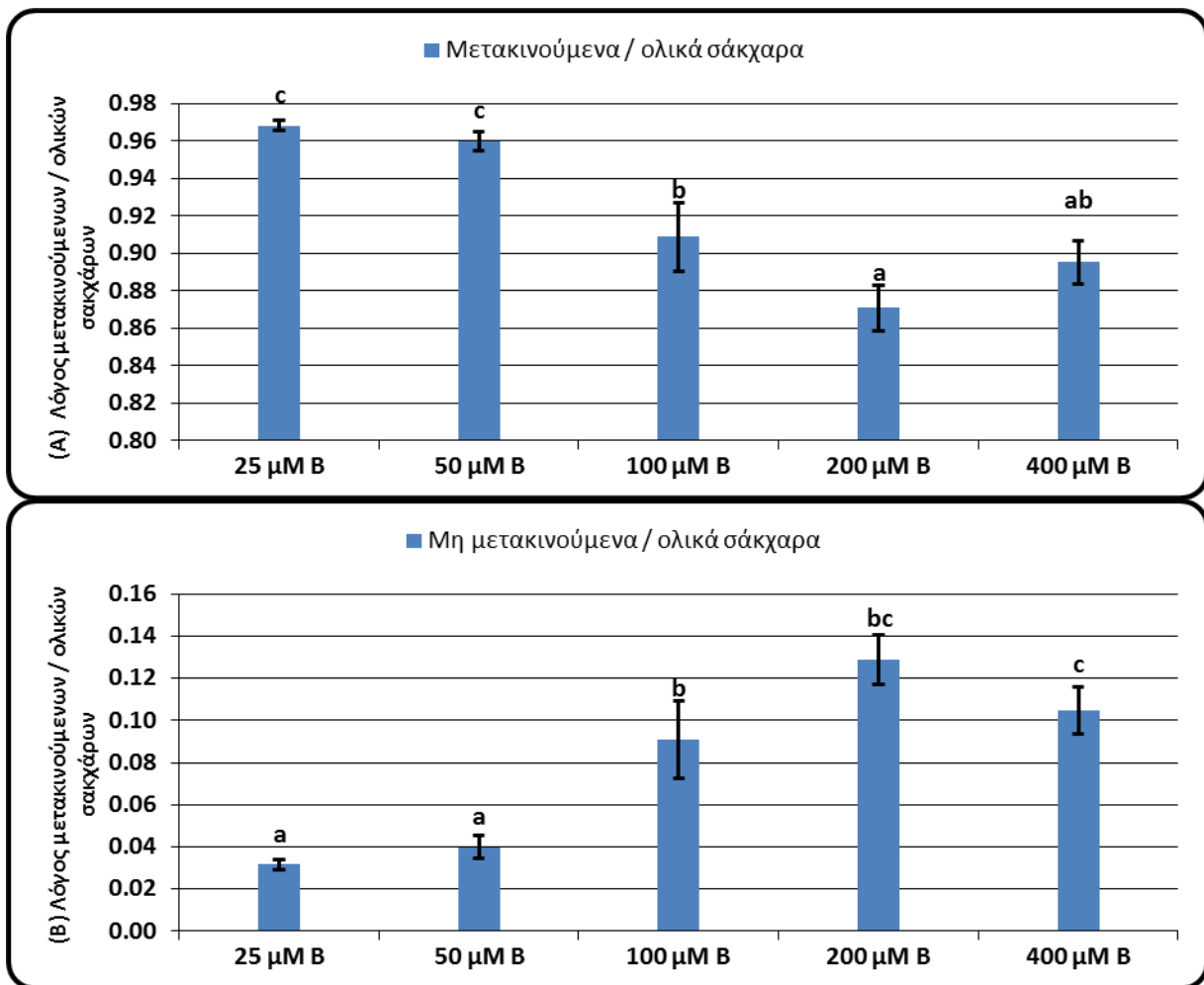
Εικόνα 7. Επίδραση της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στην % περιεκτικότητα των φύλλων της ιαπωνικής μουσμουλιάς (επί ξηρού βάρους, d.w.) σε μαννιτόλη (A), σορβιτόλη (B) και ολικά σάκχαρα (Γ). Η στατιστική ανάλυση έγινε με την μέθοδο Duncan. (Μέσος όρος \pm S.E., n=5). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



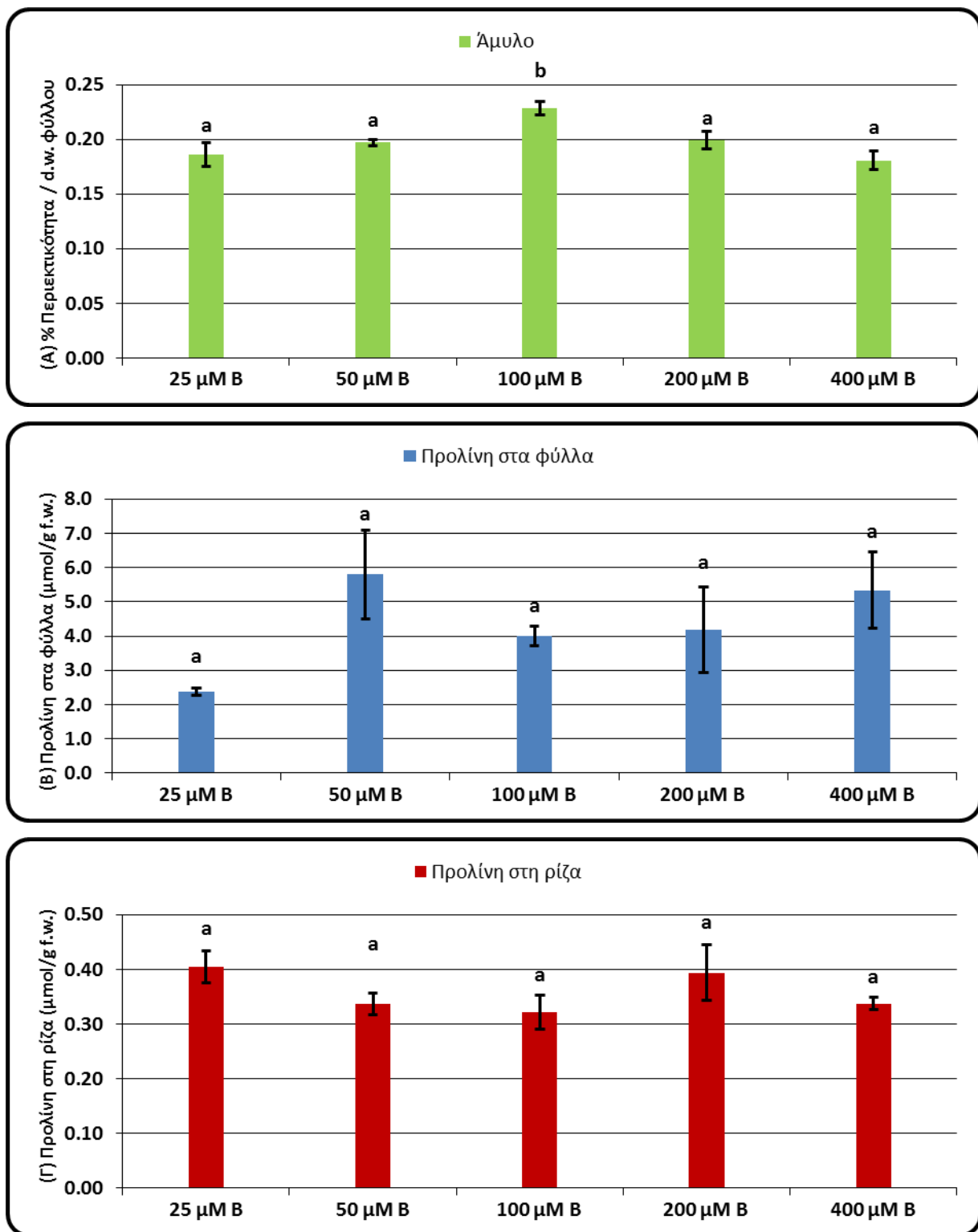
Εικόνα 8: Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στη συνολική συγκέντρωση των μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη, σορβιτόλη) (A) και μη μετακινούμενων σακχάρων (γλυκόζη, φρουκτόζη) (B) καθώς και στον λόγο τους (μετακινούμενα/μη μετακινούμενα σάκχαρα) (Γ) στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με την μέθοδο Duncan. (Μέσος όρος \pm S.E., $n=5$). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 9: Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στους λόγους μετακινούμενων / ολικών σακχάρων (A) και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων (B) που καταγράφηκαν στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με την μέθοδο *Duncan*. (Μέσος όρος \pm S.E., $n=5$). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 10: Επίδραση της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στη συγκέντρωση του αμύλου στα φύλλα (επί ξηρού βάρους, d.w.) (A) και της προλίνης (επί νωπού βάρους, f.w.) στα φύλλα (B) και τη ρίζα (C) της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με την μέθοδο Duncan. (Μέσος όρος \pm S.E., $n=5$). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P < 0,05$).

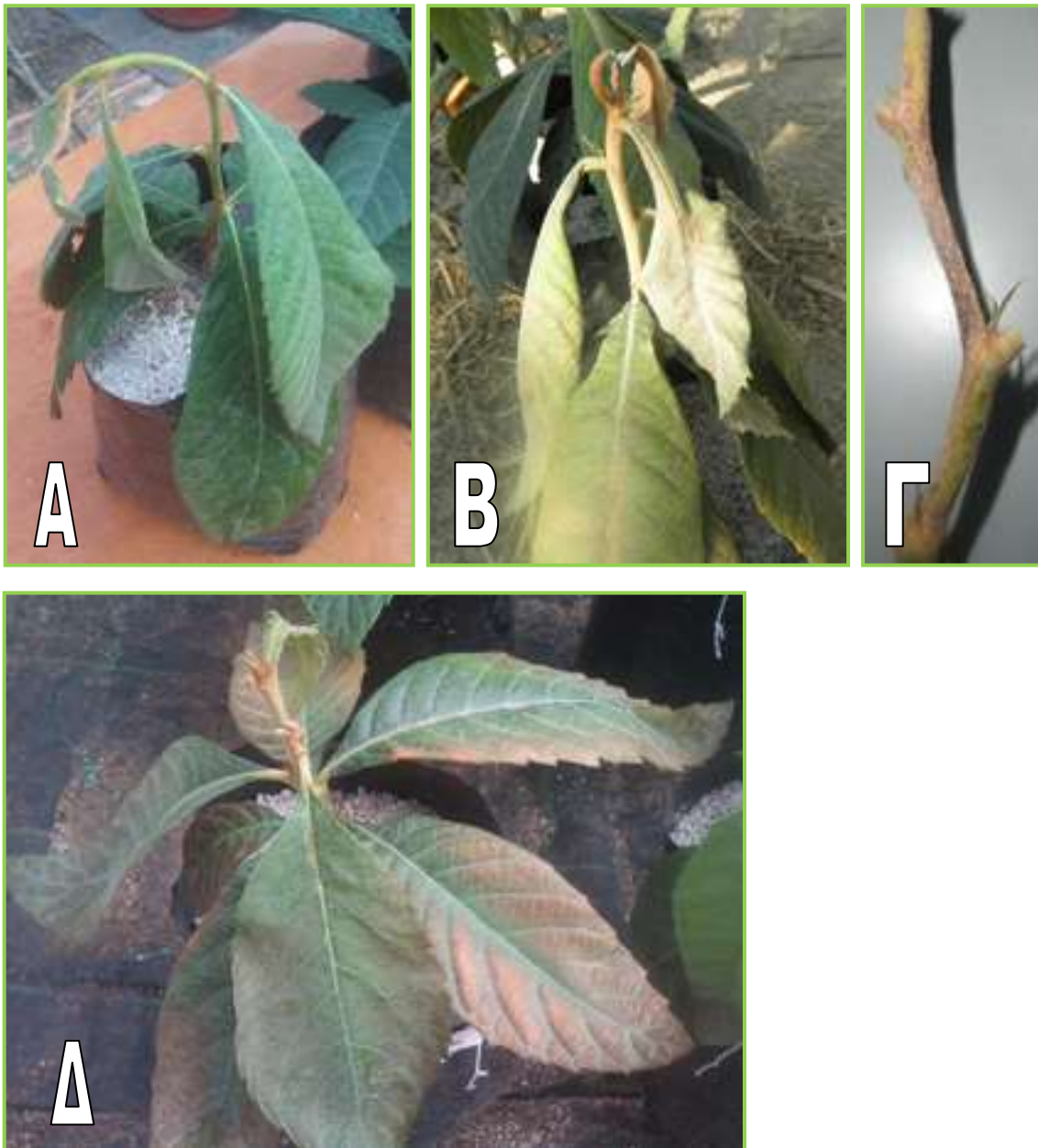
2.2.5 Περιεκτικότητα προλίνης σε φύλλα και ρίζες

Η μεταβολή της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση της προλίνης ούτε στα φύλλα (Εικ. 10B) αλλά ούτε και στις ρίζες (Εικ. 10Γ) των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς.

2.2.6 Συμπτωματολογία των φυτών

Τα πρώτα συμπτώματα τοξικότητας του Β άρχισαν να φαίνονται στην επέμβαση με τα 400 μM Β την 57^η ημέρα του πειράματος. Σταδιακά εμφανίστηκαν και στις επεμβάσεις που περιείχαν ≥ 50 μM Β. Συγκεκριμένα, ο χρόνος εμφάνισης των συμπτωμάτων τοξικότητας Β διέφερε μεταξύ των επεμβάσεων (νωρίτερα > αργότερα): 400 μM Β > 200 μM Β, 100 μM Β > 50 μM Β.

Την 68^η ημέρα έγινε καταγραφή της συμπτωματολογίας για κάθε φυτό. Η φυσιολογική κατάσταση της κορυφής των βλαστών (Εικ. 11A, Γ) επηρεάστηκε αρνητικά (εμφάνιση ξήρανσης και ιώδους-καφέ μεταχρωματισμού της κορυφής) σε όλες τις επεμβάσεις που το θρεπτικό διάλυμα περιείχε πάνω από 25 μM Β. Επίσης, η κατάσταση των φύλλων παρέκλινε του φυσιολογικού με εμφάνιση ξήρανσης της περιφέρειάς τους ή/και μάρανσης του υπόλοιπου ελάσματός τους σε όλες τις επεμβάσεις πλην του μάρτυρα (25 μM Β) (Εικ. 11B). Τέλος, εκτεταμένη ξήρανση παρατηρήθηκε στην περιφέρεια του ελάσματος των φύλλων στις επεμβάσεις 50- 400 μM Β (Εικ. 11Δ).



Εικόνα 11: Συμπτώματα της τοξικότητας βορίου (B) σε σπορόφυτα ιαπωνικής μουσμουλιάς. (A): Μάρανση των φύλλων, (B): Ξήρανση της κορυφής του βλαστού, (Γ): Σκούρος μεταχρωματισμός, χρώματος ιώδους-καφέ, της κορυφής του βλαστού και (Δ): Ξήρανση του ελάσματος των φύλλων.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

2.2.7 Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) των δεδομένων

2.2.7.1 Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα και των συγκεντρώσεων του βορίου στα φύλλα, στο βλαστό και στη ρίζα των φυτών

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση γραμμικής συσχέτισης της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα και των συγκεντρώσεων του ίδιου στοιχείου στα φύλλα, στο βλαστό και στη ρίζα των φυτών. Όπως φαίνεται από τα δεδομένα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 4, η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα συσχετίστηκε γραμμικά θετικά με τη συγκέντρωση βορίου στα φύλλα ($r = 0,853$) και στο βλαστό ($r = 0,678$). Αντίθετα, ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης μεταξύ του βορίου του θρεπτικού διαλύματος και της συγκέντρωσής του στη ρίζα των φυτών δεν ήταν σημαντικός (Πίν. 4).

	Φύλλα	Βλαστός	Ρίζα
Συγκέντρωση Β στο θρεπτικό διάλυμα (μM)	0,853***	0,678***	0,272 ^{n.s.}

2.2.7.2 Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα και των συνολικών ποσοτήτων Β, Κ, Ρ, Ca, Mg, Zn, Mn, Fe και Na ανά φυτό

Η συσχέτιση που έγινε μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα και της συνολικής ποσότητας του καλίου (K), του φωσφόρου (P), του ασβεστίου (Ca), του μαγνησίου (Mg), του νατρίου (Na), του ψευδαργύρου (Zn), του μαγγανίου (Mn) και του σιδήρου (Fe) ανά φυτό απέδειξε την ύπαρξη αρνητικών αλληλοεπιδράσεων (Πίνακες 5, 6). Συγκεκριμένα, ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης για το K ήταν ($r = -0,744$), για τον P ($r = -0,654$), για το Ca ($r = -0,668$), για το Mg ($r = -0,658$), για το Na ($r = -0,421$), για τον Zn ($r = -0,688$), για το Mn ($r = -0,670$) και για τον Fe ήταν ($r = -0,673$). Το γεγονός αυτό δείχνει ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα επηρέασε αρνητικά την πρόσληψη όλων αυτών των στοιχείων, πλην του Β. Αντίθετα, η γραμμική συσχέτιση μεταξύ του βορίου του διαλύματος και της συνολικής ποσότητας του βορίου ανά φυτό ήταν μη στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 5: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και της συνολικής ποσότητας K, P, Ca, Mg, Na (mg) και B (μg) ανά φυτό ιαπωνικής μουσμουλιάς.
($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	K	P	Ca	Mg	Na	B
Συγκέντρωση B στο θρεπτικό διάλυμα (μM)	-0,744***	-0,654***	-0,668**	-0,658***	-0,421*	0,343 ^{n.s.}

Πίνακας 6: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και της συνολικής ποσότητας (μg) Zn, Mn και Fe ανά φυτό ιαπωνικής μουσμουλιάς.
($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Zn	Mn	Fe
Συγκέντρωση B στο θρεπτικό διάλυμα (μM)	-0,688***	-0,670***	-0,673***

2.2.7.3 Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και της περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα

Παρακάτω (Πιν. 7-9) παρουσιάζονται οι συντελεστές που προέκυψαν από την ανάλυση γραμμικής συσχέτισης μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα και της % περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα των φυτών. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 7, η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα συσχετίστηκε σημαντικά αρνητικά μόνο με την περιεκτικότητα της σακχαρόζης ($r = -0,733$). Αντίθετα, η γλυκόζη και η φρουκτόζη συσχετίστηκαν σημαντικά θετικά ($r = 0,494$ και $r = 0,446$, αντίστοιχα) με το βόριο του θρεπτικού διαλύματος. Δεν συνέβη όμως το ίδιο σε ό,τι αφορά τη μαννιτόλη και τη σορβιτόλη (συντελεστές γραμμικής συσχέτισης μη σημαντικοί).

Επίσης, σημαντικά αρνητική συσχέτιση παρουσιάστηκε μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα και της % περιεκτικότητας των ολικών καθώς και των μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη, σορβιτόλη) σακχάρων, με αντίστοιχους συντελεστές $r = -0,630$ και $r = -0,680$ (Πίν. 8). Αντίθετα, θετική ήταν η συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα και της % περιεκτικότητας των μη μετακινούμενων (γλυκόζη, φρουκτόζη) σακχάρων ($r = 0,510$).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 9, οι λόγοι μετακινούμενων / μη μετακινούμενων ($r = -0,659$) και μετακινούμενων / ολικών ($r = -0,605$) σακχάρων συσχετίστηκαν σημαντικά με το βόριο του θρεπτικού διαλύματος και μάλιστα αρνητικά. Αντίθετα, στον λόγο μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων παρουσιάστηκε θετική γραμμική συσχέτιση ($r = 0,609$).

Τέλος, ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης μεταξύ της % περιεκτικότητας αμύλου των φύλλων και της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα δεν ήταν σημαντικός (Πίν. 8).

Πίνακας 7: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα και της % περιεκτικότητας σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης και σορβιτόλης στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.
($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Σακχαρόζη	Γλυκόζη	Φρουκτόζη	Μαννιτόλη	Σορβιτόλη
Συγκέντρωση Β στο θρεπτικό διάλυμα (μM)	- 0,733***	0,494*	0,446*	0,124 ^{n.s.}	- 0,243 ^{n.s.}

Πίνακας 8: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα και της % περιεκτικότητας ολικών, μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη και σορβιτόλη), μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων και αμύλου στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. ($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Ολικά σάκχαρα	Μετακινούμενα σάκχαρα	Μη μετακινούμενα σάκχαρα	Άμυλο
Συγκέντρωση Β στο θρεπτικό διάλυμα (μM)	- 0,630***	- 0,680***	0,510**	-0,273 ^{n.s.}

Πίνακας 9: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα και των λόγων μετακινούμενων / μη μετακινούμενων, μετακινούμενων / ολικών και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.
($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Μετακινούμενα / μη μετακινούμενα	Μετακινούμενα / ολικά	Μη μετακινούμενα / ολικά
Συγκέντρωση Β στο θρεπτικό διάλυμα (μM)	- 0,659***	- 0,605***	0,609***

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

2.2.7.4 Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στα φύλλα και της περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα

Η συγκέντρωση του βορίου στα φύλλα των φυτών συσχετίστηκε αρνητικά με την % περιεκτικότητά τους σε σακχαρόζη και σορβιτόλη ($r = -0,857$ και $r = -0,413$, αντίστοιχα), θετικά με την % περιεκτικότητά τους σε γλυκόζη και φρουκτόζη ($r = 0,499$ και $r = 0,618$, αντίστοιχα), ενώ δεν συσχετίστηκε σημαντικά με την % περιεκτικότητά τους σε μαννιτόλη (Πίν. 10).

Επιπλέον, η συγκέντρωση του βορίου στα φύλλα και η % περιεκτικότητα των ολικών σακχάρων συσχετίστηκαν αρνητικά ($r = -0,761$). Το ίδιο συνέβη και με την % περιεκτικότητα των μετακινούμενων σακχάρων (σακχαρόζης, μαννιτόλης, σορβιτόλης), όπου ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης ήταν $r = -0,826$ (Πίν. 11). Η συσχέτιση μεταξύ του βορίου στα φύλλα και της % περιεκτικότητάς τους σε μη μετακινούμενα σάκχαρα (γλυκόζη, φρουκτόζη) ήταν θετική (ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης ήταν $r = 0,632$). Τέλος, ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης μεταξύ της % περιεκτικότητας των φύλλων σε άμυλο και της συγκέντρωσής τους σε βόριο ήταν στατιστικά μη σημαντικός (Πίν. 12).

Η συγκέντρωση του βορίου στα φύλλα συσχετίστηκε αρνητικά με τους λόγους μετακινούμενων / μη μετακινούμενων και μετακινούμενων / ολικών σακχάρων ($r = -0,810$ και $r = -0,750$, αντίστοιχα) και θετικά με τον λόγο μη μετακινούμενα / ολικά ($r = 0,752$) (Πίν. 12).

Πίνακας 10: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στα φύλλα και της % περιεκτικότητας σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης και σορβιτόλης στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.

($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Σακχαρόζη	Γλυκόζη	Φρουκτόζη	Μαννιτόλη	Σορβιτόλη
Συγκέντρωση Β στα φύλλα (ppm)	-0,857***	0,499*	0,618***	0,129 ^{n.s.}	-0,413*

Πίνακας 11: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στα φύλλα και της % περιεκτικότητας ολικών, μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη και σορβιτόλη), μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων και αμύλου στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. ($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Ολικά σάκχαρα	Μετακινούμενα σάκχαρα	Μη μετακινούμενα σάκχαρα	Άμυλο
Συγκέντρωση Β στα φύλλα (ppm)	-0,761***	-0,826***	0,632***	-0,034 ^{n.s.}

Πίνακας 12: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στα φύλλα και των λόγων μετακινούμενων / μη μετακινούμενων, μετακινούμενων / ολικών και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. ($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Μετακινούμενα / μη μετακινούμενα	Μετακινούμενα / ολικά	Μη μετακινούμενα / ολικά
Συγκέντρωση Β στα φύλλα (ppm)	- 0,810***	- 0,750***	0,752***

2.2.7.5 Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στους βλαστούς και της περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα

Οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης (r) που παρουσιάζονται στους Πίνακες 13, 14 και 15, αναφέρονται στις συσχετίσεις μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου των βλαστών και των συγκεντρώσεων των διαλυτών σακχάρων και του αμύλου στα φύλλα των φυτών. Άξιο αναφοράς είναι το γεγονός ότι, ενώ η συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα με την % περιεκτικότητα σορβιτόλης στα φύλλα ήταν μη σημαντική (Πίν. 7), η συσχέτιση της συγκέντρωσης του βορίου στους βλαστούς με την % περιεκτικότητα σορβιτόλης στα φύλλα ήταν αρνητική ($r = - 0,408$) (Πίν. 13). Επιπλέον, τονίζεται ότι η αντίστοιχη συσχέτιση με την συγκέντρωση του βορίου στα φύλλα ήταν επίσης αρνητική ($r = - 0,413$) (Πίν. 10). Επίσης, αρνητική συσχέτιση παρουσιάστηκε μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στους βλαστούς και της % περιεκτικότητας των φύλλων σε σακχαρόζη, με συντελεστή $r = - 0,694$, ενώ θετική συσχέτιση εντοπίστηκε στις περιεκτικότητες γλυκόζης και φρουκτόζης των φύλλων με το βόριο των βλαστών, με συντελεστές γραμμικής συσχέτισης $r = 0,436$ και $r = 0,500$, αντίστοιχα (Πίν. 13). Τέλος, η συσχέτιση μεταξύ του βορίου των βλαστών και της % περιεκτικότητας μαννιτόλης στα φύλλα ήταν μη σημαντική (Πίν. 13).

Όσον αφορά την % περιεκτικότητα των ολικών σακχάρων ($r = - 0,658$) καθώς επίσης και την % περιεκτικότητα των μετακινούμενων σακχάρων ($r = - 0,709$) στα φύλλα των φυτών, εμφανίστηκαν σημαντικά αρνητικές συσχετίσεις με τη συγκέντρωση του βορίου στους βλαστούς (Πίν. 14). Από την άλλη μεριά, το βόριο των βλαστών συσχετίστηκε θετικά με την % περιεκτικότητα των μη μετακινούμενων σακχάρων στα φύλλα ($r = 0,524$). Τέλος, η

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στους βλαστούς και της % περιεκτικότητας αμύλου των φύλλων δεν ήταν σημαντική (Πίν. 14).

Σημαντικά αρνητικές συσχετίσεις (Πίν. 15) παρουσιάστηκαν μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στους βλαστούς και των λόγων μετακινούμενων / μη μετακινούμενων ($r = -0,716$) και μετακινούμενων / ολικών σακχάρων ($r = -0,636$), ενώ θετική συσχέτιση ($r = 0,637$) υπήρξε με τον λόγο μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων.

Πίνακας 13: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στους βλαστούς και της % περιεκτικότητας σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης και σορβιτόλης στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. ($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Σακχαρόζη	Γλυκόζη	Φρουκτόζη	Μαννιτόλη	Σορβιτόλη
Συγκέντρωση Β στους βλαστούς (ppm)	-0,694***	0,436*	0,500*	0,115 ^{n.s.}	-0,408*

Πίνακας 14: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στους βλαστούς και της % περιεκτικότητας ολικών, μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη και σορβιτόλη), μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων και αμύλου στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. ($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Ολικά σάκχαρα	Μετακινούμενα σάκχαρα	Μη μετακινούμενα σάκχαρα	Άμυλο
Συγκέντρωση Β στους βλαστούς (ppm)	-0,658***	-0,709***	0,524***	-0,064 ^{n.s.}

Πίνακας 15: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στους βλαστούς και των λόγων μετακινούμενων / μη μετακινούμενων, μετακινούμενων / ολικών και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. ($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Μετακινούμενα / μη μετακινούμενα	Μετακινούμενα / ολικά	Μη μετακινούμενα / ολικά
Συγκέντρωση Β στους βλαστούς (ppm)	-0,716***	-0,636***	0,637***

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

2.2.7.6 Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στις ρίζες και της περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα

Οι Πίνακες 16 μέχρι και 18 αναφέρονται στη συσχέτιση της συγκέντρωσης του βορίου των ριζών με την % περιεκτικότητα διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φύλλα. Θετική συσχέτιση παρουσιάστηκε με την % περιεκτικότητα της γλυκόζης ($r = 0,507$), αρνητική συσχέτιση με την % περιεκτικότητα της σακχαρόζης ($r = -0,411$), ενώ μη σημαντική ήταν η συσχέτιση με την % περιεκτικότητα φρουκτόζης, μαννιτόλης και σορβιτόλης (Πιν. 16). Υπενθυμίζεται ότι ισχυρά θετικοί ήταν οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης που αναφέρθηκαν παραπάνω μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα στα φύλλα ή στους βλαστούς και της % περιεκτικότητας των φύλλων σε φρουκτόζη (Πίν. 7 και 10, αντίστοιχα).

Σημαντικά θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στις ρίζες και της % περιεκτικότητας των φύλλων σε μη μετακινούμενα σάκχαρα, με συντελεστή γραμμικής συσχέτισης $r = 0,449$. Η % περιεκτικότητα των ολικών και των μετακινούμενων σακχάρων στα φύλλα δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την συγκέντρωση του βορίου των ριζών (Πίν. 17). Τέλος, όπως και στις προηγούμενες αντίστοιχες περιπτώσεις συσχέτισης του αμύλου των φύλλων με το βόριο των φύλλων και των βλαστών, η συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στις ρίζες και της % περιεκτικότητας των φύλλων σε άμυλο δεν ήταν σημαντική (Πίν. 17).

Αρνητική συσχέτιση ($r = -0,405$) παρατηρήθηκε μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στις ρίζες και του λόγου μετακινούμενων / μη μετακινούμενων σακχάρων, ενώ μη σημαντικές ήταν οι συσχετίσεις με τους λόγους μετακινούμενων / ολικών και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων (Πίν. 18).

	Σακχαρόζη	Γλυκόζη	Φρουκτόζη	Μαννιτόλη	Σορβιτόλη
Συγκέντρωση Β στις ρίζες(ppm)	-0,411*	0,507*	0,351 ^{n.s.}	0,014 ^{n.s.}	-0,147 ^{n.s.}

Πίνακας 16: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στις ρίζες και της % περιεκτικότητας σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης και σορβιτόλης στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.
($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

Πίνακας 17: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στις ρίζες και της % περιεκτικότητας ολικών, μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη και σορβιτόλη), μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων και αμύλου στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. ($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Ολικά σάκχαρα	Μετακινούμενα σάκχαρα	Μη μετακινούμενα σάκχαρα	Άμυλο
Συγκέντρωση Β στις ρίζες (ppm)	- 0,119 ^{n.s.}	- 0,208 ^{n.s.}	0,449*	0,137 ^{n.s.}

Πίνακας 18: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στις ρίζες και των λόγων μετακινούμενων / μη μετακινούμενων, μετακινούμενων / ολικών και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. ($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Μετακινούμενα / μη μετακινούμενα	Μετακινούμενα / ολικά	Μη μετακινούμενα / ολικά
Συγκέντρωση Β στις ρίζες (ppm)	- 0,405*	- 0,360 ^{n.s.}	0,363 ^{n.s.}

2.2.7.7 Γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα, στα φύλλα, τη ρίζα ή το βλαστό και της συγκέντρωσης της προλίνης στα φύλλα ή στη ρίζα

Σύμφωνα με τα δεδομένα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 19, οι συγκεντρώσεις του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα, στα φύλλα ή στους βλαστούς της ιαπωνικής μουσμουλιάς δεν συσχετίστηκαν γραμμικά με τις συγκεντρώσεις της προλίνης στις ρίζες των φυτών. Επίσης, η συγκέντρωση της προλίνης στα φύλλα δεν συσχετίστηκε γραμμικά με τη συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα ή με τις συγκεντρώσεις του βορίου στα φύλλα ή στη ρίζα των φυτών. Ωστόσο, σημαντικά θετική ($r = 0,497$) ήταν η συσχέτιση μεταξύ της προλίνης των φύλλων και του βορίου των βλαστών (Πίν. 19).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

Πίνακας 19: Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα, στα φύλλα, στο βλαστό ή στη ρίζα και της συγκέντρωσης της προλίνης στα φύλλα ή στη ρίζα φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς.

($n=25$, *** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; n.s.: μη σημαντική συσχέτιση).

	Προλίνη στα φύλλα	Προλίνη στη ρίζα
Συγκέντρωση Β στο θρεπτικό διάλυμα (μM)	0,269 ^{n.s.}	-0,090 ^{n.s.}
Συγκέντρωση Β στα φύλλα (ppm)	0,348 ^{n.s.}	-0,253 ^{n.s.}
Συγκέντρωση Β στο βλαστό (ppm)	0,497*	-0,201 ^{n.s.}
Συγκέντρωση Β στη ρίζα (ppm)	0,360 ^{n.s.}	-0,029 ^{n.s.}

Πείραμα Β:

«Απόκριση φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου: (α) πρόσληψη, συγκεντρώσεις και κατανομή του βορίου και ορισμένων άλλων ανόργανων στοιχείων εντός των φυτών, (β) συγκεντρώσεις διαλυτών υδατανθράκων, αμύλου, μαλονικής διαλδεΰδης, προλίνης και υπεροξειδίου του υδρογόνου στα φύλλα, στους βλαστούς ή/και στις ρίζες, και (γ) ανατομική και μορφομετρική μελέτη φύλλων και βλαστών».

2.3 Υλικά και Μέθοδοι

2.3.1 Προετοιμασία του πειράματος

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε υαλόφρακτο θερμοκήπιο που βρίσκεται στο Δενδροκομείο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Ως φυτικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν δεκαέξι μονοστέλεχα δενδρύλλια-σπορόφυτα ιαπωνικής μουσμουλιάς, ηλικίας ενάμιση έτους. Τα φυτά αυτά αναπτύχθηκαν σε αδρανές υπόστρωμα χαλαζιακής άμμου και περλίτη, σε αναλογία 1:2 (v/v), σε μαύρες πλαστικές σακούλες χωρητικότητας 2L. Μέχρι την έναρξη του πειράματος, τα φυτά ποτίζονταν δύο-τρεις φορές την εβδομάδα με νερό βρύσης. Ύστερα, τα φυτά ποτίζονταν τρεις φορές την εβδομάδα με θρεπτικό διάλυμα Hoagland (Πίν. 3; Hoagland και Arnon, 1950), που ήταν πλήρες ως προς τα μακροστοιχεία και τα ιχνοστοιχεία, αλλά διέφερε στην συγκέντρωση του βορίου (25 ή 400 μM B). Η επέμβαση του μάρτυρα ήταν το διάλυμα που περιείχε 25 μM B, ενώ η επέμβαση των 400 μM B αντιστοιχούσε στην επέμβαση της υπερεπάρκειας του βορίου. Ανά επέμβαση βορίου χρησιμοποιήθηκαν 8 φυτά. Κάθε δεκαπέντε μέρες τα φυτά αρδεύονταν με απιονισμένο νερό, αντί του θρεπτικού διαλύματος, με σκοπό να ξεπλυθεί η ρίζα τους από πιθανή συσσώρευση αλάτων.

Στο τέλος του πειράματος, 147 ημέρες από την έναρξη των επεμβάσεων του βορίου, τα φυτά συγκομίστηκαν και τεμαχίστηκαν στα εξής μέρη: ρίζα, βλαστό κορυφής (φλοιό και ξύλο), βλαστό βάσης (φλοιό και ξύλο), φύλλα βάσης και φύλλα κορυφής. Τα προαναφερόμενα φυτικά τμήματα ζυγίστηκαν (νωπό βάρος), πλύθηκαν καλά με νερό βρύσης και στη συνέχεια με απεσταγμένο νερό και τοποθετήθηκαν σε ειδικό κλίβανο

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

ξηρανσης, για 72 ώρες στους 70 °C. Ύστερα, τα δείγματα ζυγίστηκαν ξανά (ξηρό βάρος) και αλέστηκαν σε ειδικό εργαστηριακό μύλο άλεσης.

Σημειώνεται ότι το πέρας του πειράματος καθορίστηκε και αποφασίστηκε βάσει της σταθερής μείωσης της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας των φύλλων της κορυφής, σε συνδυασμό με την έναρξη εμφάνισης των πρώτων συμπτωμάτων υπερεπάρκειας βορίου στο φλοιό των βλαστών (Γερογιάννης, 2014).

2.3.2 Εργαστηριακές αναλύσεις

2.3.2.1 Προσδιορισμός των συγκεντρώσεων ανόργανων θρεπτικών στοιχείων

Σε όλα τα επιμέρους φυτικά μέρη (φύλλα κορυφής, φύλλα βάσης, φλοιός κορυφής, ξύλο κορυφής, ξύλο βάσης, ρίζα) προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις του βορίου (B), του καλίου (K), του φωσφόρου (P) και του νατρίου (Na).

Για την μέτρηση της συγκέντρωσης βορίου, 0,5 g από κάθε δείγμα αποτεφρώθηκαν σε ειδικό κλίβανο στους 500 °C για 5 ώρες. Η τέφρα διαλυτοποιήθηκε σε διάλυμα 10 ml HCl 0,1N και η συγκέντρωση του βορίου υπολογίστηκε χρωματομετρικά (420 nm) με την μέθοδο της Azomethine-H. Οι συγκεντρώσεις του βορίου στους διάφορους φυτικούς ιστούς προσδιορίστηκαν με βάση την απορρόφηση που καταγράφηκε, την καμπύλη αναφοράς και τον συντελεστή αραιώσης του αρχικού δείγματος και εκφράστηκαν σε $\mu\text{g/g}$ ξηρού βάρους (ppm). Η καμπύλη αναφοράς προέκυψε από τις παρακάτω συγκεντρώσεις βορίου: 0, 1, 2, 4, 6, 8 και 10 ppm (Wolf, 1971).

Για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων K, P και Na, άλλα 0,5 g από κάθε δείγμα αποτεφρώθηκαν στους 500 °C για 5,5 ώρες, διαλυτοποιήθηκαν σε διάλυμα 3 ml HCl 6N και αραιώθηκαν με απιονισμένο νερό μέχρι τα 50 ml. Ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων καλίου και νατρίου έγινε σε φλογοφωτόμετρο. Επίσης, από το προαναφερόμενο διάλυμα των 50 ml ελήφθησαν 0,9 ml (φύλλα κορυφής και βάσης), 0,6 ml (φλοιός κορυφής και βάσης), 0,4 ml (ξύλο κορυφής και ρίζα) ή 0,5 ml (ξύλο βάσης) για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του φωσφόρου με τη μέθοδο του φωσφορο-βαναδο-μολυβδαινικού αμμωνίου. Η μέθοδος αυτή είναι χρωματομετρική και η απορρόφηση του κίτρινου χρώματος που αναπτύσσεται στα διαλύματα μετράται σε φασματοφωτόμετρο στα 470 nm.

Οι συγκεντρώσεις του P, του K και του Na εκφράστηκαν σε $\text{mg}/100 \text{ mg}$ ξηρού βάρους (dry weight, d.w.) (% ξ.β.), ενώ του B σε $\mu\text{g/g}$ ξηρού βάρους (ppm).

2.3.2.2 Υπολογισμός των ποσοτήτων του βορίου και των λοιπών ανόργανων στοιχείων στα διάφορα φυτικά μέρη

Πολλαπλασιάζοντας τα ξηρά βάρη των επιμέρους φυτικών οργάνων κάθε φυτού με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις των ανόργανων στοιχείων, εκφρασμένες επί ξηρού βάρους, υπολογίστηκαν οι ποσότητες των στοιχείων σε φύλλα, βλαστούς, ρίζες καθώς και συνολικά ανά φυτό. Επίσης, υπολογίστηκε η % περιεκτικότητα κάθε στοιχείου στα φύλλα, στο βλαστό και στη ρίζα των φυτών.

2.3.2.3 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) και της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA, malondialdehyde)

Η ομογενοποίηση των φυτικών ιστών (0,5 g φύλλων, 0,5 g ρίζας ή 1g φλοιού) έγινε με 10 ml 0,1 % τριχλωροοξικό οξύ (TCA) στους 4 °C. Ακολούθησε φυγοκέντρηση για 15 λεπτά στις 4000 στροφές. Το υπερκείμενο χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA) καθώς και για την συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂).

Η υπεροξειδωση των μεμβρανών μετρήθηκε ως περιεχόμενο μαλονικής διαλδεΐδης (MDA) η οποία είναι προϊόν της αντίδρασης με 0,5 % θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) σε 20 % TCA (w/v). Η συγκέντρωση της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA) υπολογίστηκε από την διαφορά των απορροφήσεων στα 532 και στα 600 nm, χρησιμοποιώντας τον συντελεστή 155 mmol⁻¹cm⁻¹ (Heath και Packer, 1968).

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) μετρήθηκε φωτομετρικά, ύστερα από την αντίδραση με διάλυμα ιωδιούχου καλίου (KI). Η αντίδραση πρόσμιξης περιείχε 0,5 ml 0,1 % (TCA), 1 ml από το υπερκείμενο του δείγματος, 0,5 ml 0,1M ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου (pH 7) και 1 ml διαλύματος KI 1M (w/v). Το χρώμα της αντίδρασης αναπτύχθηκε σε σκοτάδι για 45 λεπτά και η μέτρηση της απορρόφησης έγινε στα 390 nm. Η συγκέντρωση του H₂O₂ υπολογίστηκε με χρήση καμπύλης αναφοράς με οκτώ γνωστές συγκεντρώσεις H₂O₂ (0, 25, 50, 100, 200, 400, 800 και 1000 μmol). Σημειώνεται ότι η ανάλυση των ριζών κατέστη αδύνατη λόγω εμφάνισης μη μετρήσιμου χρώματος. Για το λόγο αυτό παρουσιάζονται αποτελέσματα μόνο από τα φύλλα και το φλοιό των βλαστών.

2.3.2.4 Προσδιορισμός συγκέντρωσης προλίνης

Ζυγίστηκαν 100 mg κατεψυγμένου ιστού φύλλων ή 350 mg κατεψυγμένου ιστού ρίζας ή 250 mg κατεψυγμένου ιστού φλοιού. Έγινε εκχύλιση σε γουδί με προσθήκη 4 ml αιθανόλης 70 %. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 4000 στροφές για 10 λεπτά. Ακολούθως, ελήφθη 1 ml εκχυλίσματος από κάθε δείγμα, έγινε προσθήκη 2 ml διαλύματος νυνιδρίνης και τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 95 °C για 25 λεπτά. Αμέσως μετά το πέρας της θέρμανσης, τα παρασκευάσματα τοποθετήθηκαν σε παγόλουτρο και έγινε μέτρηση της απορρόφησης σε φωτόμετρο στα 520 nm. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της προλίνης στα δείγματα έγινε με βάση την εξίσωση που προέκυψε από το διάγραμμα της απορρόφησης (στα 520 nm) διαλυμάτων προλίνης γνωστών συγκεντρώσεων (καμπύλη αναφοράς): 0,005, 0,01, 0,02, 0,04, 0,08 και 0,16 mM προλίνης (L-proline).

2.3.2.5 Εκχύλιση και ανάλυση διαλυτών σακχάρων και αμύλου

Η εκχύλιση και ανάλυση των διαλυτών σακχάρων έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται από τους Roussos *et al.* (2010). Από κάθε δείγμα ζυγίστηκαν περίπου 30 mg ξηρού βάρους και η εκχύλιση έγινε δύο φορές με 2 ml νερό καθαρότητας HPLC σε φούρνο μικροκυμάτων στα 400 W για 2 λεπτά. Ύστερα τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και τα διαλυτά σάκχαρα μετρήθηκαν στο υπερκείμενο αφού προηγουμένως καθαρίστηκαν με χρήση φίλτρου διαμέτρου 0,2 μm. Το υπόλειμμα πλύθηκε δυο φορές με διάλυμα αιθανόλης 80 % (v/v) και μια φορά με καθαρή αιθανόλη και ύστερα ξηράθηκε στους 70 °C για να γίνει η ανάλυση αμύλου.

2.3.2.5.1 Ανάλυση διαλυτών σακχάρων

Για την ανάλυση των σακχάρων, με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC), χρησιμοποιήθηκε μια ισοκρατική αντλία τύπου Waters 510 με ρυθμό ροής νερού 0,6 ml/min. Ο διαχωρισμός των σακχάρων έγινε με χρήση στήλης ανταλλαγής κατιόντων, Hamilton HC-75, μορφής ασβεστίου (Ca⁺²) (Hamilton, Bonaduz, Switzerland) εξισορροπημένης στους 80 °C. Πέντε διαλυτά σάκχαρα ανιχνεύθηκαν στα φύλλα και στο φλοιό της μουσμουλιάς: (α) η σακχαρόζη, (β) η γλυκόζη, (γ) η φρουκτόζη και τα αλκοολικά σάκχαρα (δ) μαννιτόλη και (ε) σορβιτόλη. Τα ολικά σάκχαρα για κάθε δείγμα

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

υπολογίστηκαν αθροίζοντας τις συγκεντρώσεις των προαναφερόμενων σακχάρων. Επίσης, υπολογίστηκαν τα μετακινούμενα σάκχαρα (σακχαρόζη, σορβιτόλη και μαννιτόλη) και τα μη μετακινούμενα σάκχαρα (γλυκόζη και φρουκτόζη), αθροίζοντας τις επιμέρους συγκεντρώσεις τους. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε επί τοις εκατό (%) περιεκτικότητα σακχάρων ανά μονάδα ξηρού βάρους ιστού (w/w).

2.3.2.5.2 Ανάλυση αμύλου

Η ανάλυση του αμύλου πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ενζυματική μέθοδο (Venmos, 1999). Το στερεό υπόλειμμα μετά την απομάκρυνση των διαλυτών σακχάρων αφήνεται σε σωλήνα φυγοκέντρησης για την ανάλυση αμύλου. Στο ξηρό υπόστρωμα προστίθενται 1 ml NaOH 0,5M για ζελατινοποίηση του αμύλου, 0,55ml οξικού οξέος για εξουδετέρωση και τελικά το άμυλο μετατρέπεται σε γλυκόζη με προσθήκη 1 ml διαλύματος αμυλογλυκοσιδάσης (Sigma Chemical Inc., St. Louis, MO, U.S.A.), διαλυμένης σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος (pH 4,5). Για υποβοήθηση της αντίδρασης τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 55 °C για μια ώρα. Ύστερα έγινε προσθήκη 0,2 ml NaOH 1N για εξουδετέρωση. Ορισμένη ποσότητα (0,5 ml) από το προηγούμενο διάλυμα που περιέχει το εκχυλισμένο διάλυμα γλυκόζης μεταφέρεται σε δοκιμαστικό σωλήνα και γίνεται προσθήκη 2 ml αντιδραστηρίου γλυκόζης οξειδάσης-υπεροξειδάσης (GOD-POD), (GOD/PAP; Biosis, Athens, Greece). Ακολουθεί ανακίνηση και τα δείγματα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 37 °C για 15 λεπτά. Η απορρόφηση του παραγόμενου κόκκινου χρώματος μετράται στα 510 nm με τη χρήση φωτόμετρου (Helios γ, Unicam, UK). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε % περιεκτικότητα αμύλου ανά μονάδα ξηρού βάρους ιστού (w/w).

2.3.2.6 Ανατομική μελέτη των φύλλων και των βλαστών

2.3.2.6.1 Στερέωση φυτικών ιστών

Ελήφθησαν δείγματα φύλλων και βλαστών από τα φυτά του μάρτυρα (25 μM Β) και της επέμβασης (400 μM Β) για ανατομική εξέταση σε μικροσκόπιο φθορισμού. Μέχρι την εξέτασή τους στο μικροσκόπιο διατηρήθηκαν σε ειδικό μονιμοποιητικό διάλυμα FAA. Το διάλυμα παρασκευάστηκε με τη διάλυση 50 ml φορμόλης (40 %) και 50 ml οξικού οξέος σε 900 ml αιθανόλης (70 %). Οι τομές των δειγμάτων έγιναν σε κρουστάτη (ψυκτικός μικροτόμος, Leica CM1850). Σημειώνεται ότι, τα δείγματα ελήφθησαν από τρίτο-

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

συμπληρωματικό πείραμα, που διεξήχθη για το σκοπό αυτό, το οποίο πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με όσα αναφέρονται στα υλικά και μεθόδους του δευτέρου πειράματος (Πείραμα Β).

2.3.2.6.2 Μικροσκοπία - Μορφομετρικές μετρήσεις

Τα παρασκευάσματα εξετάστηκαν σε οπτικό μικροσκόπιο Olympus BX 40, εξοπλισμένο με σύστημα επιφθορισμού, ενώ οι φωτογραφίες των δειγμάτων πάρθηκαν μέσω ενσωματωμένης ψηφιακής φωτογράφισης και βιντεοσκόπησης (DP71 Olympus 12.5Mp, και Sony, CCD colour camera SSC-DC 38P/45). Μέσω του προγράμματος Cell[^]A πραγματοποιήθηκαν μορφομετρικές μετρήσεις των ιστών (πάχος φύλλου και βλαστού, πάχος άνω και κάτω επιδερμίδας, πάχος πασσαλώδους και σπογγώδους παρεγχύματος).

2.3.2.7 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Το πείραμα περιελάμβανε 2 επεμβάσεις (25 μ M Β, 400 μ M Β) με έξι επαναλήψεις ανά επέμβαση (n=6). Για τη σύγκριση των μέσων όρων των δύο επεμβάσεων χρησιμοποιήθηκε η δοκιμή *Student's t-test* για επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,05$. Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS (21.0.1 for Windows).

2.4 Αποτελέσματα

2.4.1 Συγκεντρώσεις και ποσότητες θρεπτικών στοιχείων

2.4.1.1 Βόριο (B)

Οι συγκεντρώσεις του βορίου (ppm) στα φύλλα κορυφής, στο φλοιό κορυφής, στο ξύλο κορυφής (Εικ. 12Α), στα φύλλα βάσης, στο φλοιό βάσης, στο ξύλο βάσης (Εικ. 12Β) και στη ρίζα (Εικ. 12Γ) των φυτών επηρεάστηκαν σημαντικά από τη συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα. Συγκεκριμένα, σε όλους τους παραπάνω ιστούς καταγράφηκαν σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις βορίου στην επέμβαση 400 μ M Β σε σχέση με την επέμβαση 25 μ M Β (Εικ. 12).

Στατιστικά σημαντικά επηρεάστηκαν και οι ποσότητες του βορίου (μ g) που περιέχονταν στα φύλλα (Εικ. 13Α), στο βλαστό (Εικ. 13Β), στη ρίζα (Εικ. 13Γ) και συνολικά στο φυτό (Εικ. 13Δ). Η μεγαλύτερη μέση ποσότητα βορίου παρουσιάστηκε στα φύλλα

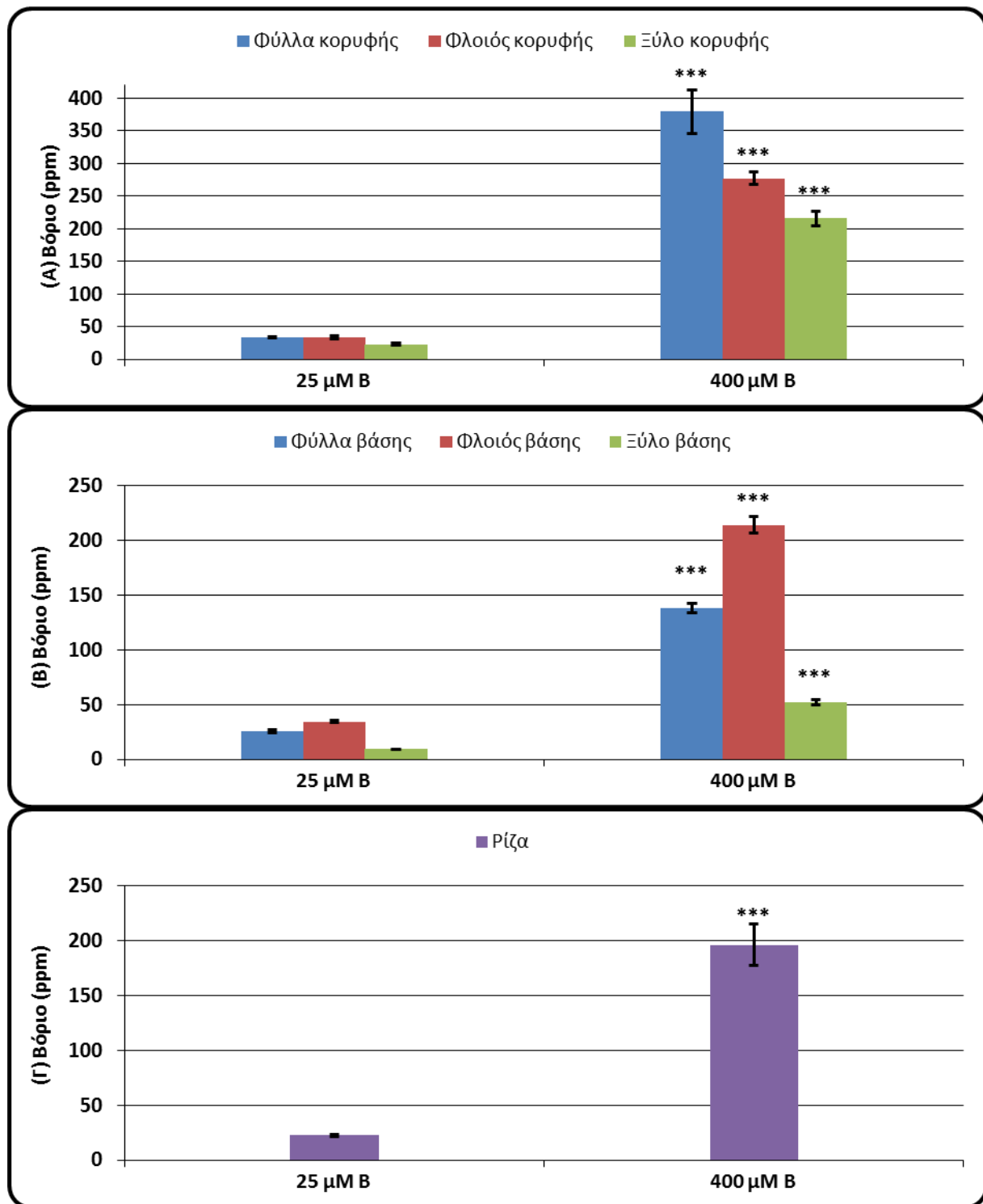
Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

(περίπου 20.000 μg), ύστερα στον βλαστό (περίπου 5.500 μg) και η πιο μικρή στη ρίζα (περίπου 2.500 μg). Η συνολική ποσότητα βορίου ανά φυτό στην επέμβαση 400 μM B ήταν γύρω στα 27.000 μg ενώ στα φυτά του μάρτυρα (25 μM B) περίπου 3.000 μg (Εικ. 13Δ).

Η % κατανομή του συνολικού βορίου των φυτών στα επιμέρους φυτικά τους τμήματα (φύλλα, βλαστός, ρίζα) διαφοροποιήθηκε σημαντικά από την συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα αλλά μόνο σε ότι αφορά το βλαστό (Εικ. 14). Στις περιπτώσεις των φύλλων (Εικ. 14) και της ρίζας (Εικ. 14) δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο επεμβάσεων (25 μM B, 400 μM B).

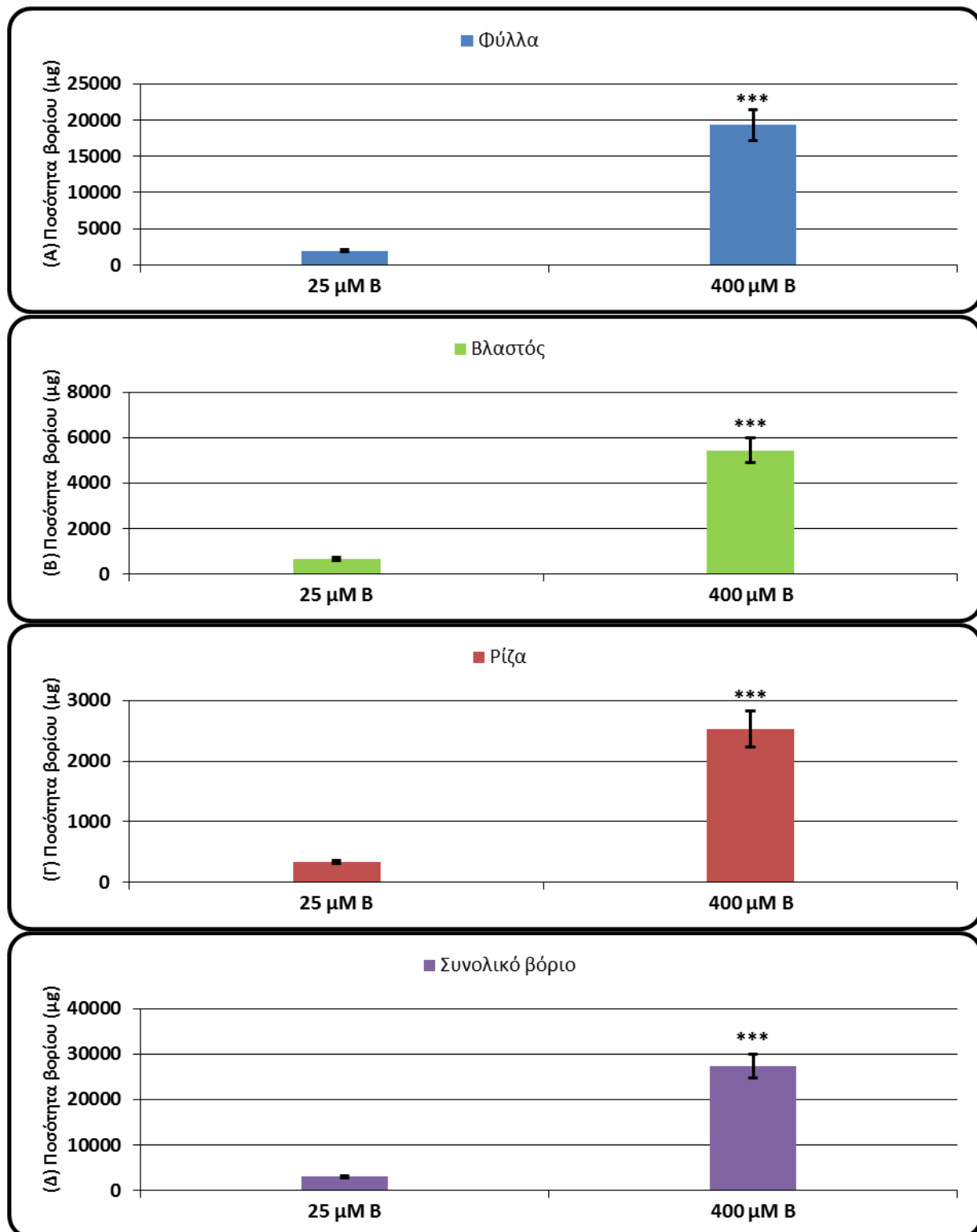
Κατά την σύγκριση των διαφόρων φυτικών ιστών ως προς την περιεκτικότητά τους σε βόριο (ppm), στην περίπτωση του μάρτυρα (25 μM B) (Εικ. 15Α) παρατηρήθηκαν τα παρακάτω: (α) την μικρότερη συγκέντρωση βορίου (≈ 10 ppm) είχε το ξύλο της βάσης, (β) μεγαλύτερες συγκεντρώσεις προσδιορίστηκαν στη ρίζα, στο ξύλο της κορυφής και στα φύλλα της βάσης (με μέση συγκέντρωση περίπου 25 ppm), και (γ) οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βρέθηκαν στα φύλλα της κορυφής, στο φλοιό της κορυφής και στο φλοιό της βάσης (≈ 35 ppm). Ωστόσο, στην περίπτωση της υπερεπάρκειας βορίου (400 μM B) παρουσιάστηκαν κάποιες διαφορές συγκριτικά με όσα αναφέρθηκαν παραπάνω για το μάρτυρα (Εικ. 4B). Συγκεκριμένα, την μικρότερη συγκέντρωση βορίου (≈ 50 ppm) είχε το ξύλο της βάσης, ύστερα ακολούθησαν τα φύλλα της βάσης (≈ 140 ppm), μετά η ρίζα, ο φλοιός βάσης και το ξύλο κορυφής (≈ 200 ppm), κατόπιν ο φλοιός της κορυφής (≈ 300 ppm) και τέλος τα φύλλα της κορυφής, που περιείχαν το περισσότερο βόριο (≈ 400 ppm) (Εικ. 15B).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



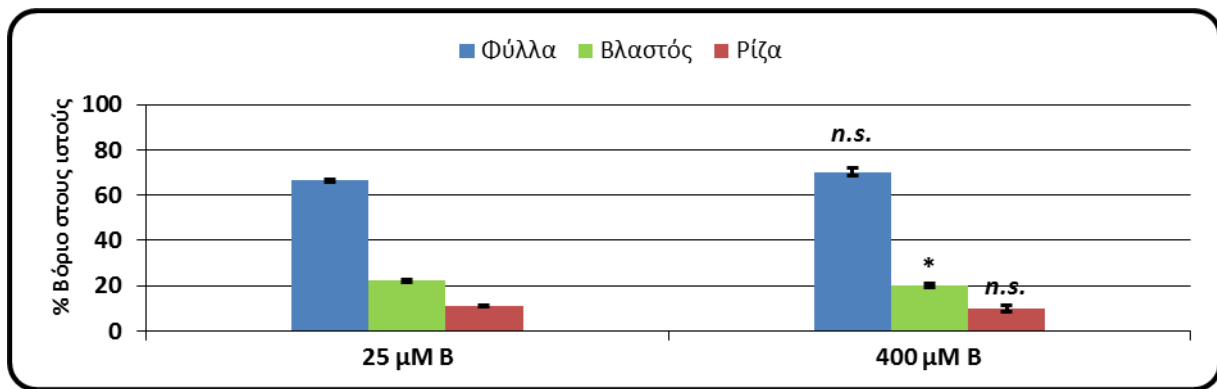
Εικόνα 12: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του B (ppm) στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της κορυφής των βλαστών (A), στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της βάσης των βλαστών (B) και στη ρίζα (Γ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με *t*-test (*n*=6). *n.s.*= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

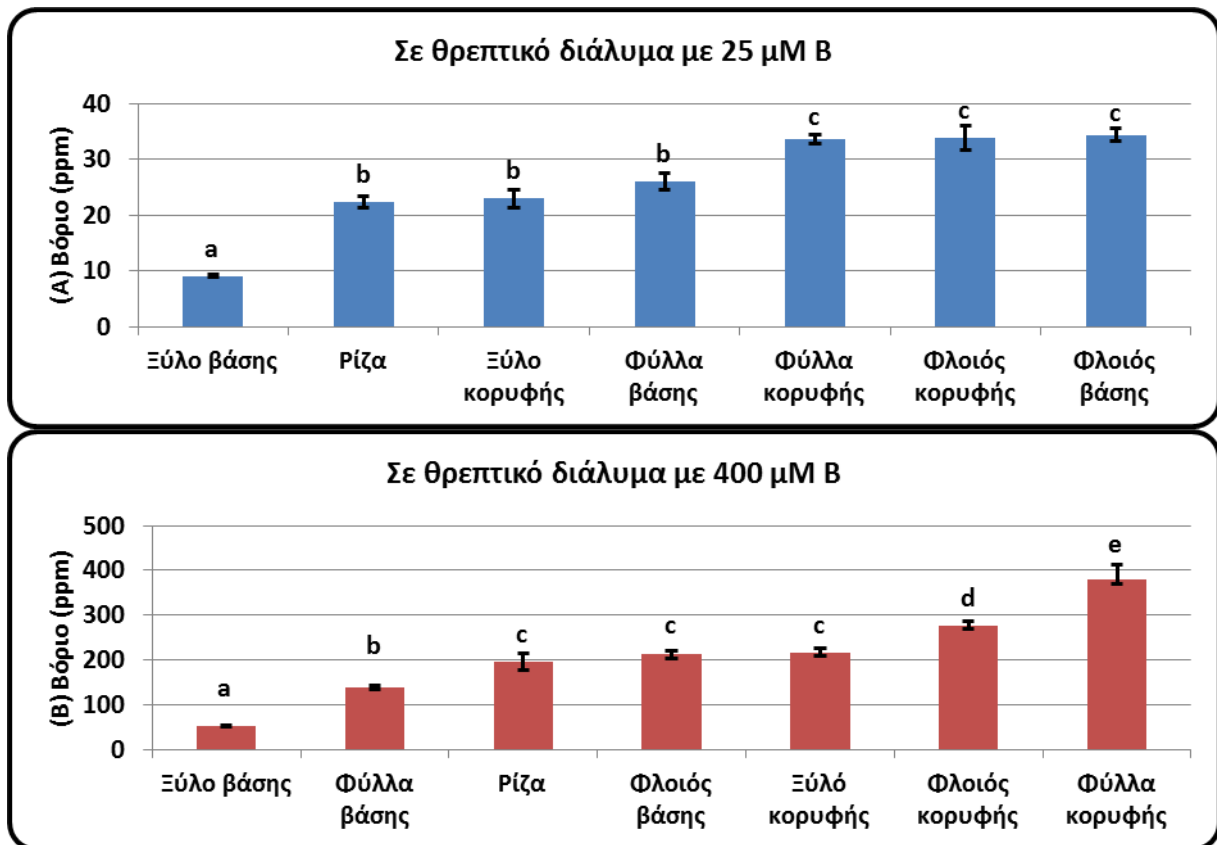


Εικόνα 13: Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μΜ) στο θρεπτικό διάλυμα στις ποσότητες του Β (μg) στα φύλλα (Α), στον βλαστό (Β), στη ρίζα (Γ) και συνολικά στο φυτό (Δ) της ιαπωνικής μουσουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test (n=6). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας 0,010. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 14: Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στην κατανομή (%) του συνολικού Β των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς στα φύλλα, στον βλαστό και στη ρίζα τους. Η στατιστική ανάλυση έγινε με *t*-test ($n=6$). *n.s.*= δεν υπάρχουν στατιστικές σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.



Εικόνα 15: Συγκεντρώσεις Β (ppm) στους διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με συγκέντρωση σε Β 25 μM (A) ή 400 μM (B). (Μέσος όρος \pm S.E., $n=6$). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

2.4.1.2 Κάλιο (Κ)

Η συγκέντρωση του βορίου του θρεπτικού διαλύματος δεν επηρέασε σημαντικά την συγκέντρωση του καλίου (%) στα φύλλα κορυφής, στο φλοιό κορυφής και στο ξύλο κορυφής (Εικ. 16Α). Επίσης, οι συγκεντρώσεις του καλίου (%) στα φύλλα βάσης δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος, σε αντίθεση με αυτές στο φλοιό βάσης και στο ξύλο βάσης που επηρεάστηκαν σημαντικά. Συγκεκριμένα, στα φυτά του μάρτυρα (25 μM Β) οι συγκεντρώσεις καλίου στο φλοιό της βάσης και στο ξύλο της βάσης ήταν 2,3 % και 0,47 %, αντίστοιχα, ενώ στα φυτά της επέμβασης 400 μM Β οι συγκεντρώσεις καλίου των ίδιων ιστών ήταν 2,5 % και 0,49 %, αντίστοιχα (Εικ.1 6Β). Τέλος, οι συγκεντρώσεις του καλίου στη ρίζα δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τις επεμβάσεις του βορίου (Εικ. 16Γ).

Οι ποσότητες του καλίου (mg) που περιέχονταν στα φύλλα και στον βλαστό δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος (Εικ. 17Α, 17Β). Αντίθετα, η ποσότητα του καλίου στη ρίζα μειώθηκε σημαντικά στην επέμβαση της υπερεπάρκειας του βορίου (400 μM) (Εικ. 17Γ). Συγκεκριμένα, η μέση ποσότητα καλίου της ρίζας (Εικ. 17Γ) των φυτών του μάρτυρα (25 μM Β) ήταν περίπου 20 mg, ενώ των φυτών της επέμβασης 400 μM Β ήταν περίπου 14 mg. Τέλος, δεν επηρεάστηκε σημαντικά η συνολική ποσότητα καλίου (Εικ. 17Δ) των φυτών από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα.

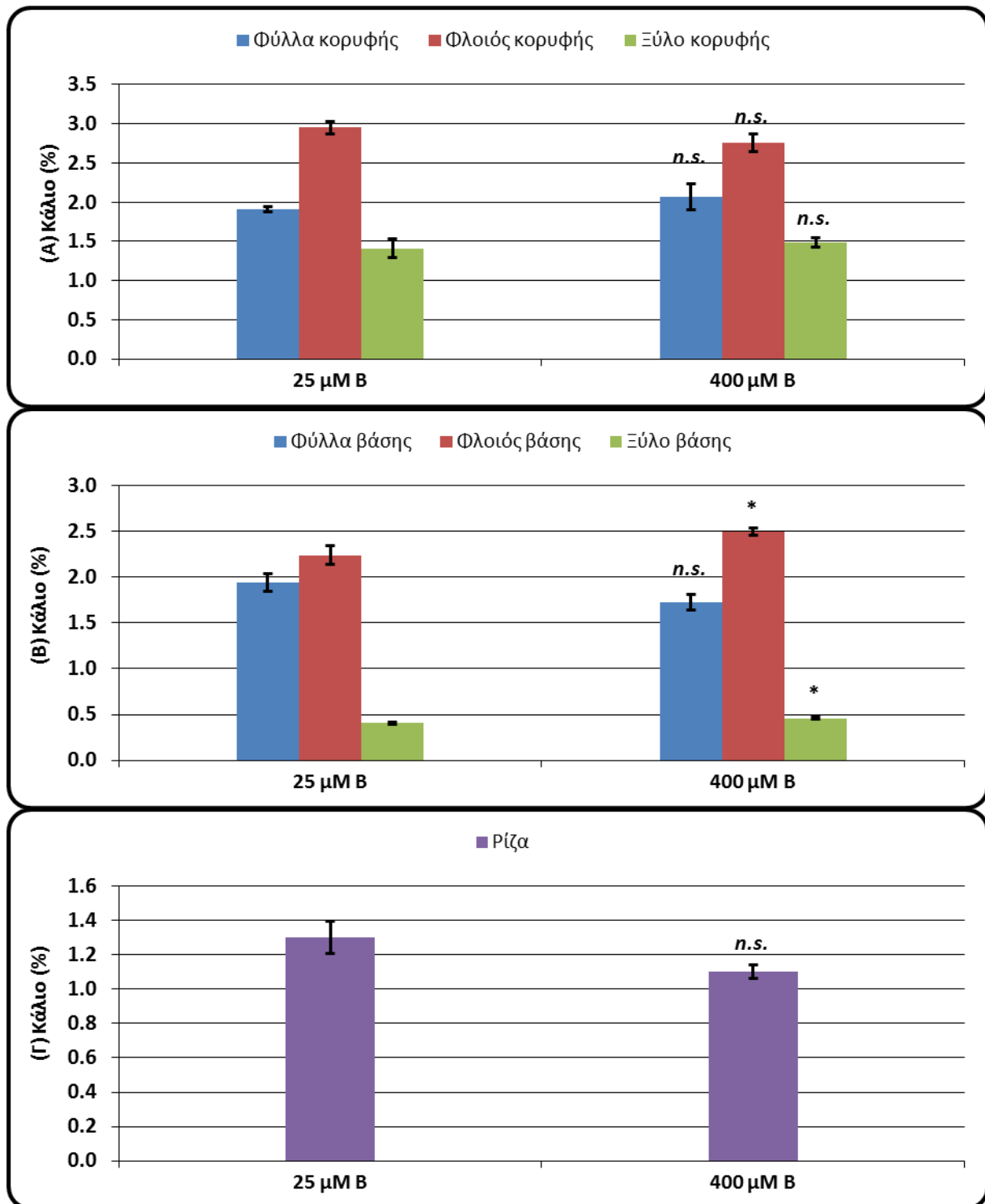
Όσον αφορά την επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου του θρεπτικού διαλύματος στην % κατανομή του συνολικού καλίου των φυτών στα επιμέρους φυτικά τους τμήματα (βλαστός, φύλλα, ρίζα), παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μόνο σε ό,τι αφορά το βλαστό και τη ρίζα (Εικ. 18). Συγκεκριμένα, η % κατανομή ολικού καλίου στο βλαστό και στη ρίζα των φυτών του μάρτυρα (25 μM Β) ήταν 24 % και 10 %, αντίστοιχα, ενώ στα φυτά της περίπτωσης 400 μM Β ήταν 28 % και 7,8 %, αντίστοιχα (Εικ. 18).

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, οι συγκεντρώσεις καλίου (%) στην περίπτωση του μάρτυρα (25 μM Β) διαφοροποιήθηκαν σημαντικά μεταξύ των διαφόρων φυτικών ιστών (Εικ. 19Α). Την μικρότερη συγκέντρωση καλίου ($\approx 0,4$ %) είχε το ξύλο της βάσης. Ύστερα, ακολούθησαν η ρίζα και το ξύλο της κορυφής, με μέση συγκέντρωση $\approx 1,5$ % Κ. Κατόπιν, ακολούθησαν τα φύλλα της κορυφής και τα φύλλα της βάσης (≈ 2 % Κ) καθώς και ο φλοιός βάσης ($\approx 2,2$ % Κ). Η μεγαλύτερη συγκέντρωση καλίου καταγράφηκε στο φλοιό

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

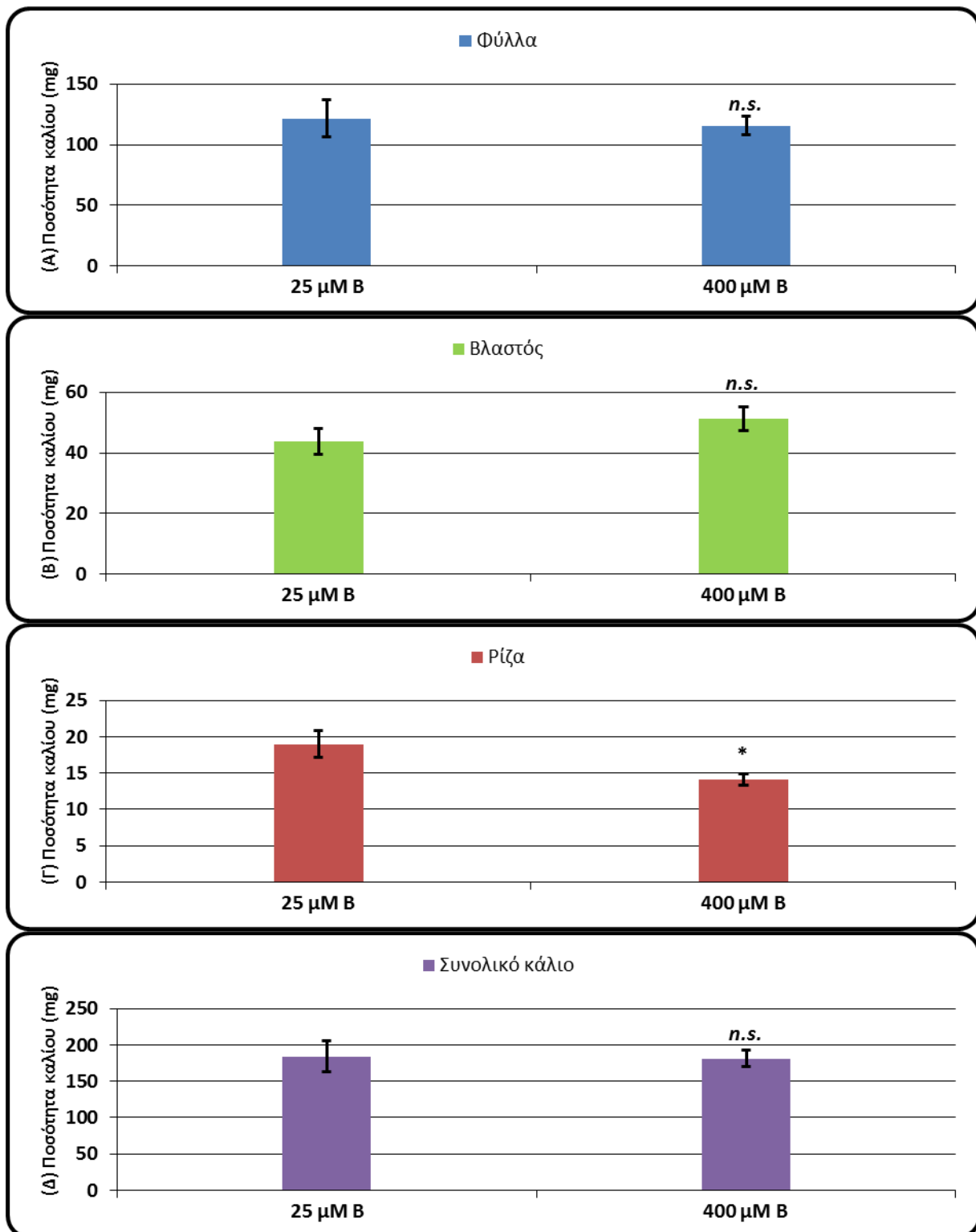
κορυφής ($\approx 3\%$ K). Περίπου την ίδια πορεία με τα φυτά του μάρτυρα ακολούθησαν και τα φυτά της επέμβασης 400 μM B (Εικ. 19B). Την μικρότερη συγκέντρωση είχε το ξύλο βάσης ($\approx 0,4\%$ K), ύστερα η ρίζα ($\approx 1,1\%$ K), μετά το ξύλο κορυφής και τα φύλλα βάσης ($\approx 1,5\%$ K), κατόπιν τα φύλλα κορυφής ($\approx 2\%$ K), ο φλοιός βάσης ($\approx 2,5\%$ K) και τέλος ο φλοιός κορυφής, που είχε την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε κάλιο ($\approx 2,7\%$).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



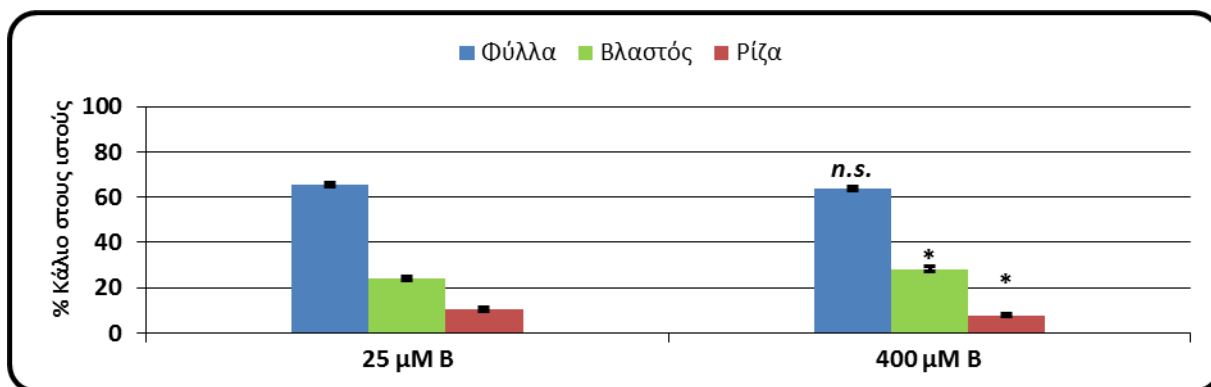
Εικόνα 16: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του K (%) στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της κορυφής των βλαστών (A), στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της βάσης των βλαστών (B) και στη ρίζα (Γ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test (n=6). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικές σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

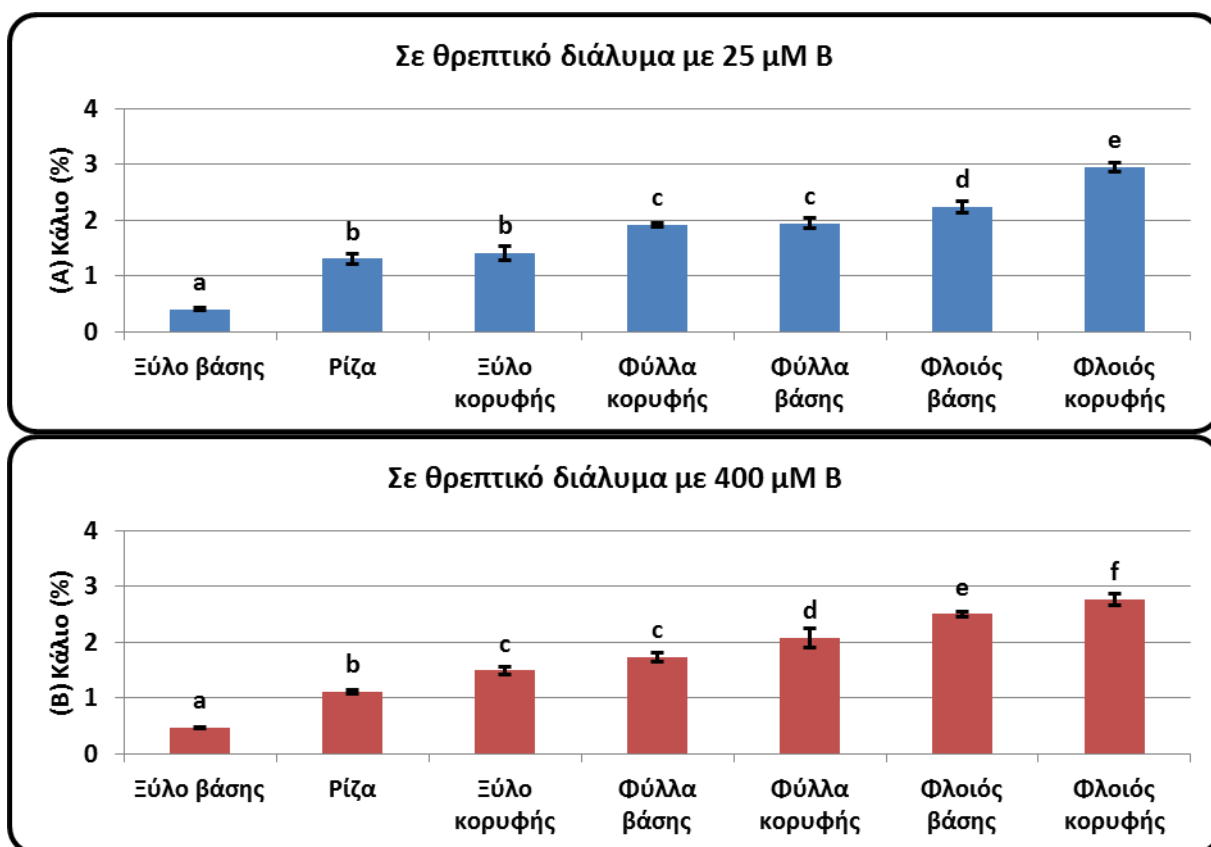


Εικόνα 17: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις ποσότητες του K (mg) στα φύλλα (Α), στον βλαστό (Β), στη ρίζα (Γ) και συνολικά στο φυτό (Δ) της ιαπωνικής μουσουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test ($n=6$). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας 0,010. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 18: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στην κατανομή (%) του συνολικού K των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς στα φύλλα, στον βλαστό και στη ρίζα τους. Η στατιστική ανάλυση έγινε με *t*-test ($n=6$). *n.s.*= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.



Εικόνα 19: Συγκεντρώσεις K (%) στους διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με συγκέντρωση σε B 25 μM (A) ή 400 μM (B). (Μέσος όρος \pm S.E., $n=6$). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

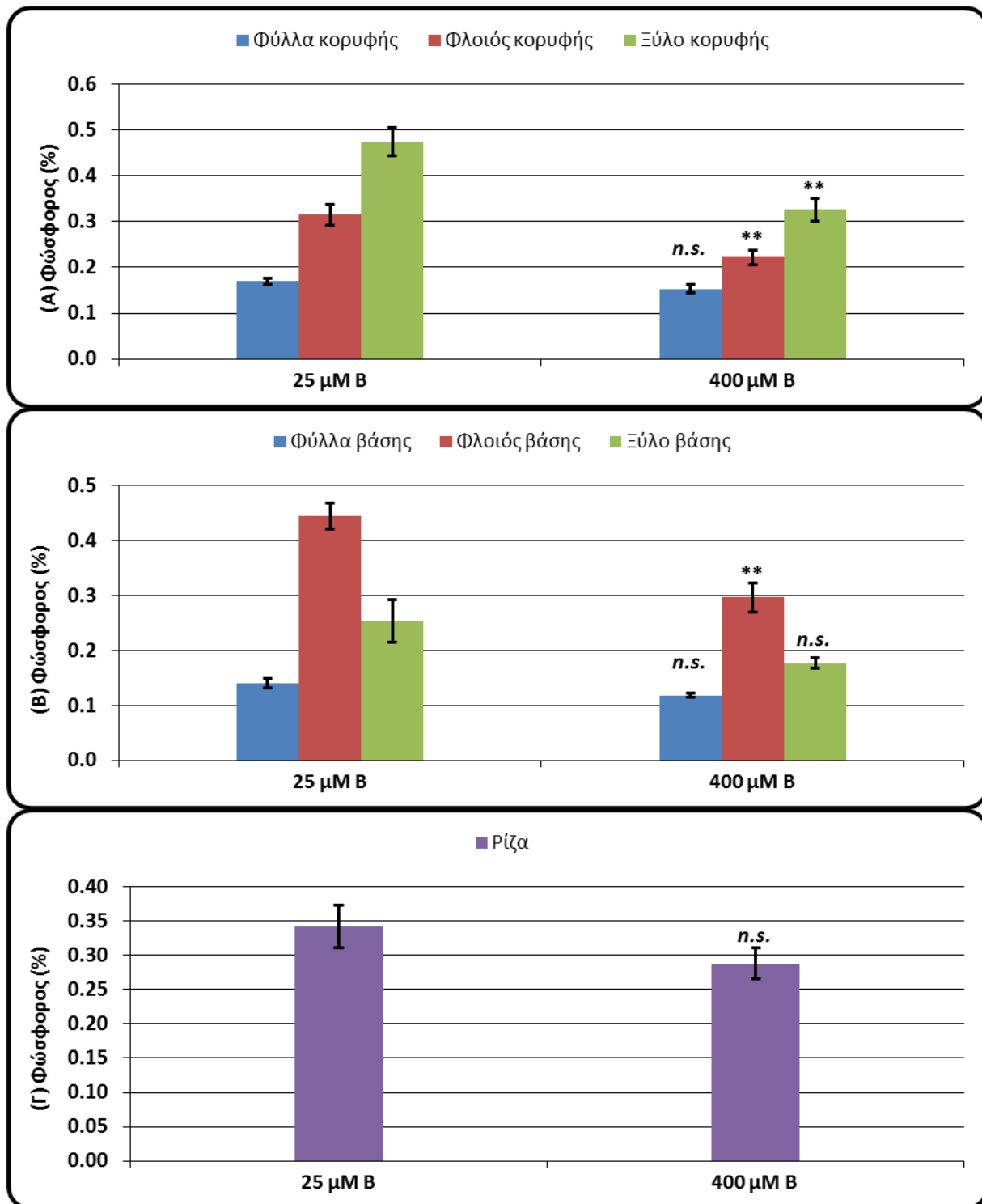
2.4.1.3 Φώσφορος (P)

Η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του φωσφόρου (%) στα φύλλα κορυφής (Εικ. 20Α), στα φύλλα βάσης, στο ξύλο βάσης (Εικ. 20Β) και στη ρίζα (Εικ. 20Γ). Αντίθετα, στο φλοιό κορυφής, στο ξύλο κορυφής (Εικ. 20Α) και στο φλοιό βάσης (Εικ. 20Β) μειώθηκαν σημαντικά με την αύξηση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα. Συγκεκριμένα, στα φυτά του μάρτυρα (25 μM B) οι συγκεντρώσεις φωσφόρου (%) στο φλοιό κορυφής, στο ξύλο κορυφής και στο φλοιό βάσης ήταν περίπου 0,3 %, 0,48 % και 0,43 %, αντίστοιχα, ενώ στα φυτά της επέμβασης 400 μM B οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις καλίου ήταν 0,21 %, 0,31 % και 0,3 %.

Οι ποσότητες του φωσφόρου (mg) που υπήρχαν στα φύλλα και στο βλαστό (Εικ. 21Α, 21Β) καθώς και η συνολική ποσότητά του ανά φυτό (Εικ. 21Δ) δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος, σε αντίθεση με αυτές της ρίζας (Εικ. 21Γ) που επηρεάστηκαν. Συγκεκριμένα, η μέση ποσότητα φωσφόρου στις ρίζες των φυτών του μάρτυρα (25 μM B) ήταν περίπου 5,7 mg ενώ στα φυτά που αρδεύονταν με 400 μM B ήταν περίπου 3,8 mg. Όσον αφορά την % κατανομή του ολικού φωσφόρου των φυτών στα φύλλα, στο βλαστό και στη ρίζα (Εικ. 22) δεν καταγράφηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των δύο επεμβάσεων με βόριο.

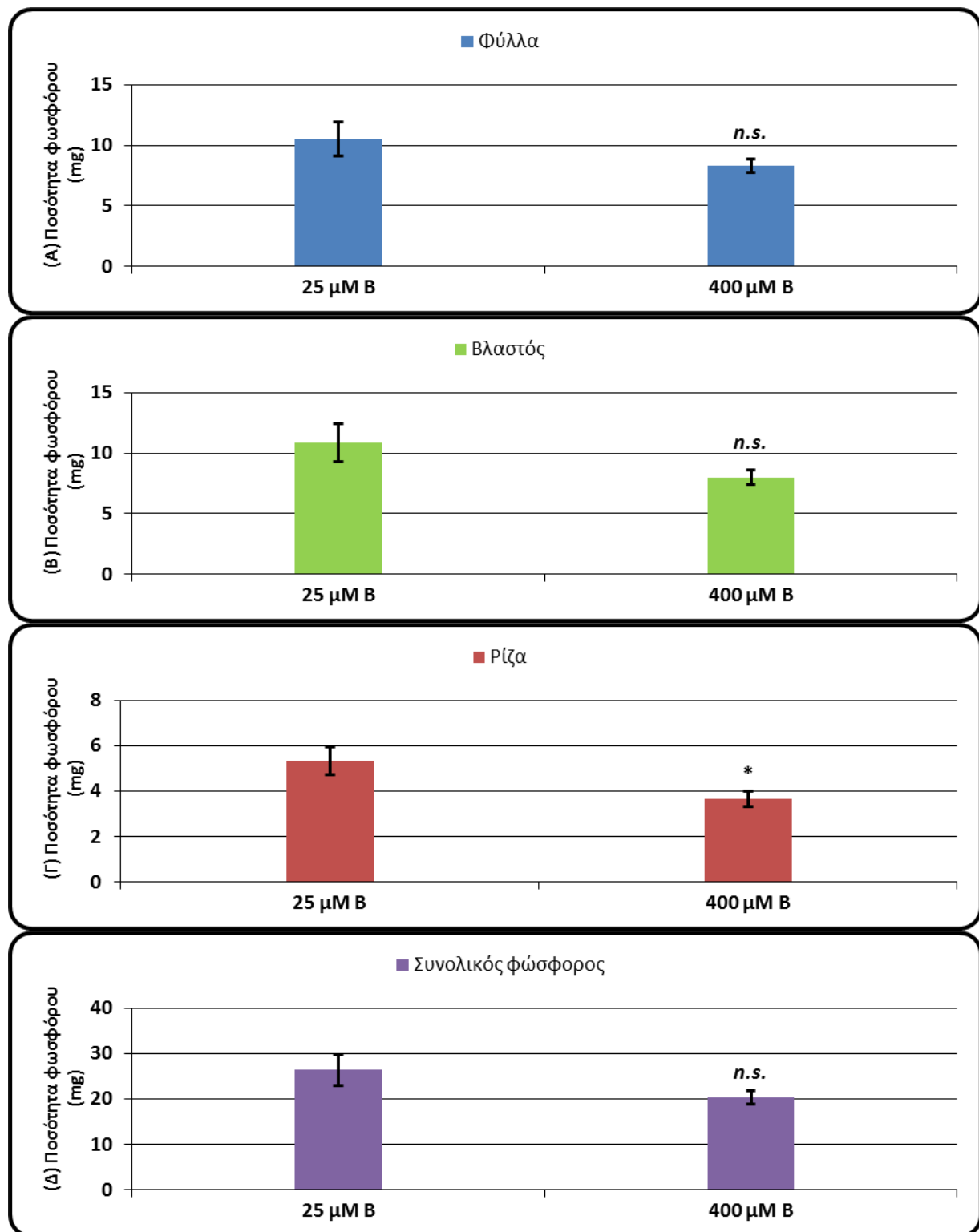
Κατά τη σύγκριση των διαφόρων φυτικών ιστών μεταξύ τους ως προς τις συγκεντρώσεις τους σε φώσφορο (%) στην επέμβαση 25 μM B (Εικ. 23Α) παρατηρήθηκαν τα παρακάτω. Την μικρότερη συγκέντρωση φωσφόρου ($\approx 0,16$ %) είχαν τα φύλλα βάσης και κορυφής. Λίγο μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φωσφόρου βρέθηκαν στο ξύλο βάσης και στο φλοιό κορυφής. Ακόμα μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φωσφόρου είχαν ο φλοιός κορυφής και η ρίζα ($\approx 0,35$ % P). Τέλος, οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φωσφόρου προσδιορίστηκαν στο φλοιό βάσης και στο ξύλο κορυφής ($\approx 0,48$ % P). Η σειρά κατάταξης των φυτικών ιστών, βάσει των συγκεντρώσεων τους σε φώσφορο, στα φυτά της επέμβασης 400 μM B (Εικ. 23Β) ήταν ανάλογη με αυτή που περιγράφηκε παραπάνω για τα φυτά του μάρτυρα (25 μM B). Την μικρότερη συγκέντρωση φωσφόρου ($\approx 0,15$ %) είχαν τα φύλλα βάσης και κορυφής, ακολούθως τα φύλλα κορυφής και το ξύλο βάσης ($\approx 0,18$ % P), ο φλοιός κορυφής ($\approx 0,21$ % P), η ρίζα ($\approx 0,29$ % P) και τέλος, οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φωσφόρου βρέθηκαν στο φλοιό βάσης και στο ξύλο κορυφής ($\approx 0,31$ %).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



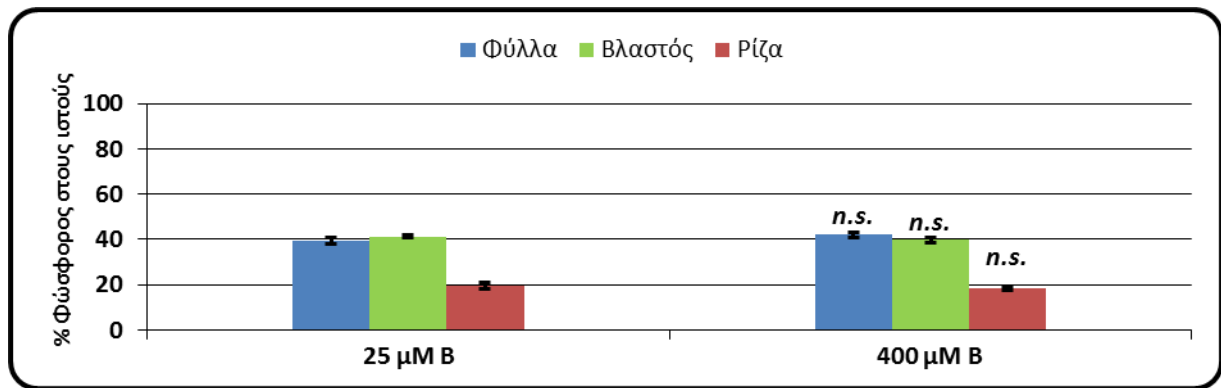
Εικόνα 20: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του P (%) στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της κορυφής των βλαστών (A), στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της βάσης των βλαστών (B) και στη ρίζα (Γ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με *t*-test (*n*=6). *n.s.*= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

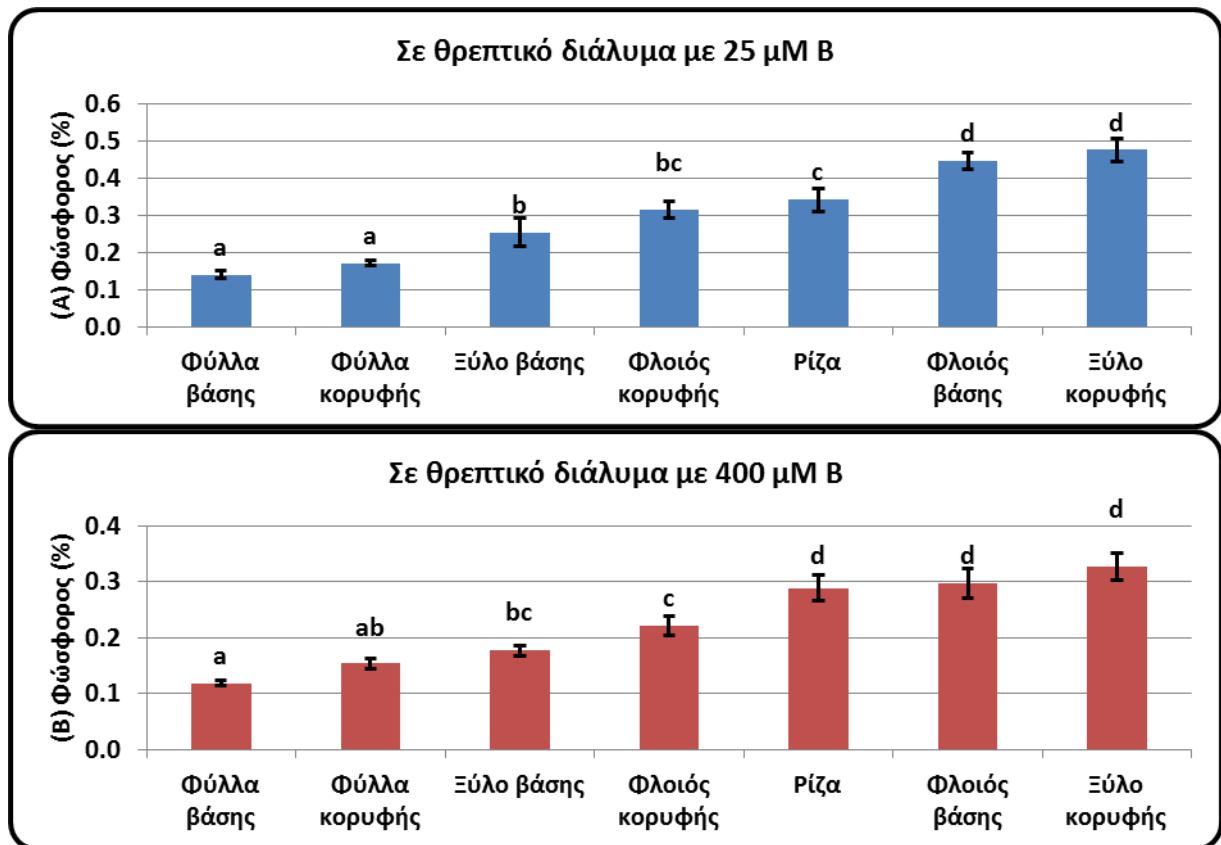


Εικόνα 21: Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις ποσότητες του Ρ (mg) στα φύλλα (Α), στον βλαστό (Β), στη ρίζα (Γ) και συνολικά στο φυτό (Δ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με *t*-test ($n=6$). *n.s.*= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας 0,010. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 22: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στην κατανομή (%) του συνολικού P των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς στα φύλλα, στον βλαστό και στη ρίζα τους. Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test (n=6). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.



Εικόνα 23: Συγκεντρώσεις Κ (%) στους διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με συγκέντρωση σε B 25 μM (A) ή 400 μM (B). (Μέσος όρος \pm S.E., n=6). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).

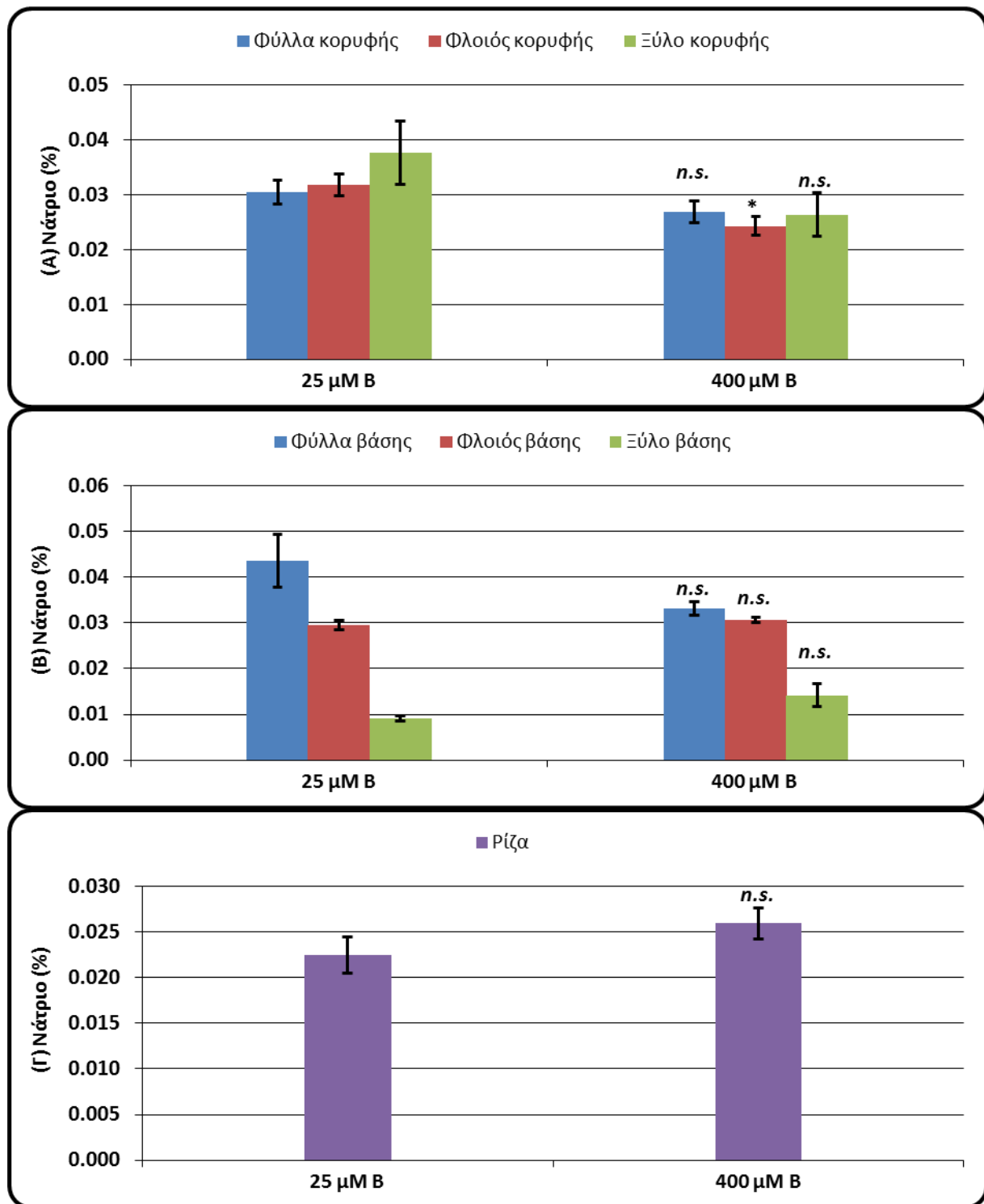
2.4.1.4 Νάτριο (Na)

Η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση (%) νατρίου στα φύλλα κορυφής, στο ξύλο κορυφής (Εικ. 24Α), στα φύλλα βάσης, στο φλοιό βάσης, στο ξύλο βάσης (Εικ. 24Β) και στη ρίζα (Εικ. 24Γ). Αντίθετα, η συγκέντρωση του νατρίου στο φλοιό κορυφής (Εικ. 24Α) επηρεάστηκε σημαντικά από τη συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα. Συγκεκριμένα, στα φυτά του μάρτυρα (25 μM B) η συγκέντρωση του νατρίου στο φλοιό κορυφής ήταν περίπου 0,03 %, ενώ στα φυτά της επέμβασης 400 μM B μειώθηκε σημαντικά ($\approx 0,025$ %).

Όσον αφορά τις ποσότητες του νατρίου (mg) που περιέχονταν στα φύλλα (Εικ. 25Α), στον βλαστό (Εικ. 25Β) και στη ρίζα (Εικ. 25Γ) καθώς και συνολικά στο φυτό (Εικ. 25Δ), αυτές δεν επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος. Επίσης, η συγκέντρωση του βορίου του διαλύματος δεν επηρέασε σημαντικά την % κατανομή του συνολικού νατρίου των φυτών που περιέχονταν στα φύλλα, στο βλαστό και στη ρίζα (Εικ. 25).

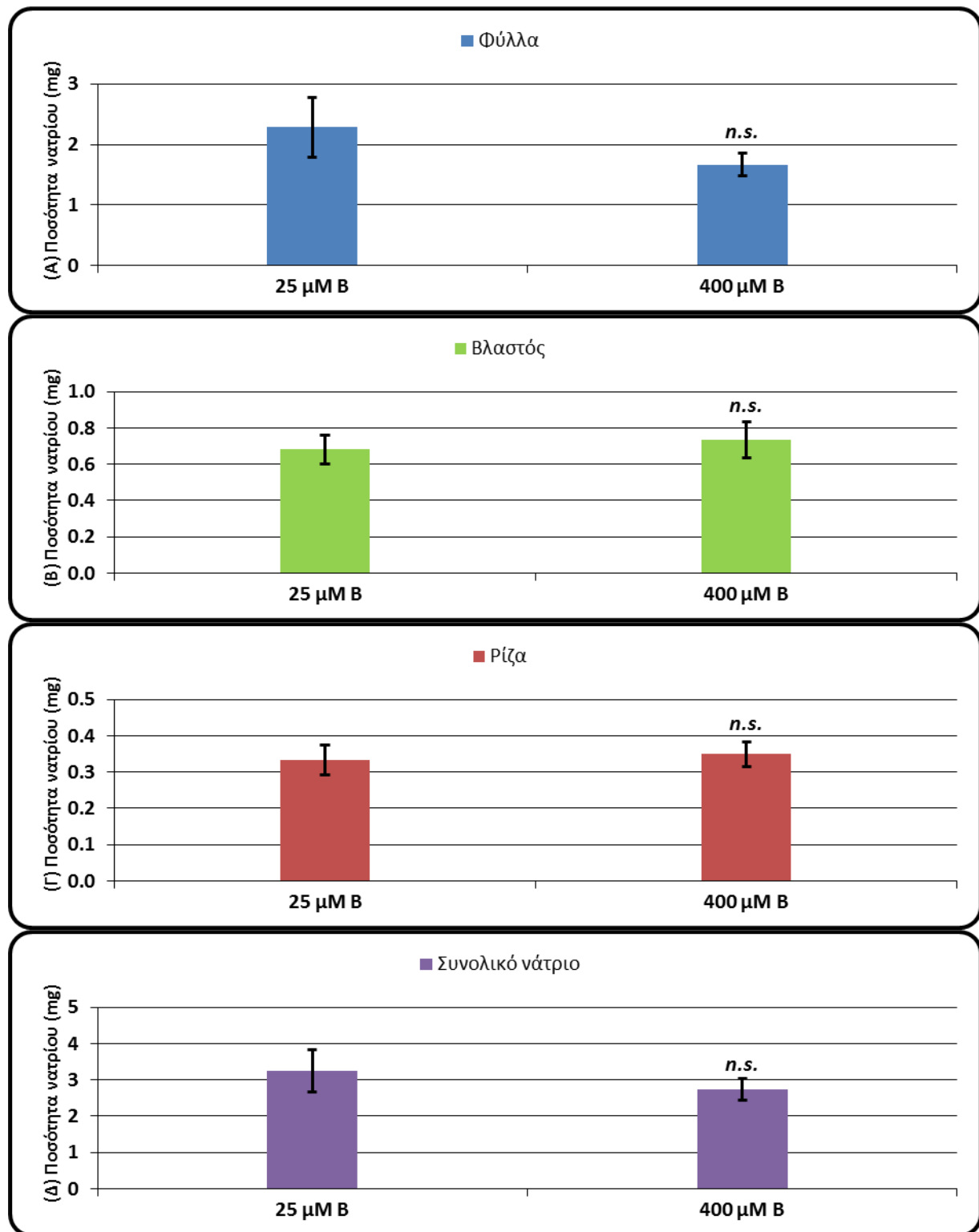
Κατά την σύγκριση των διαφόρων φυτικών ιστών με βάση τις συγκεντρώσεις του νατρίου που προσδιορίστηκαν εντός αυτών, οι μικρότερες συγκεντρώσεις νατρίου βρέθηκαν στο ξύλο της βάσης των βλαστών και οι μεγαλύτερες στα φύλλα της βάσης των βλαστών, ανεξάρτητα από την επέμβαση βορίου (25 ή 400 μM B) (Εικ. 26).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



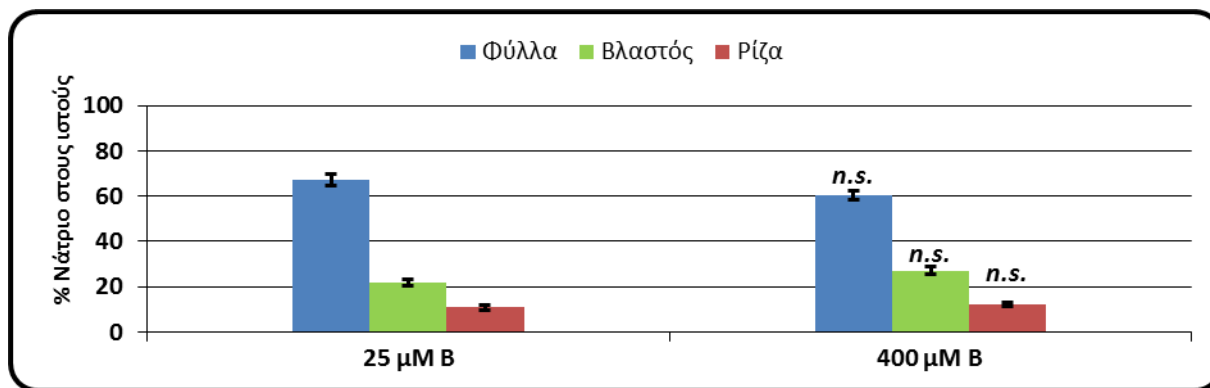
Εικόνα 24: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του Na (%) στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της κορυφής των βλαστών (A), στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της βάσης των βλαστών (B) και στη ρίζα (Γ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με *t*-test (*n*=6). *n.s.*= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

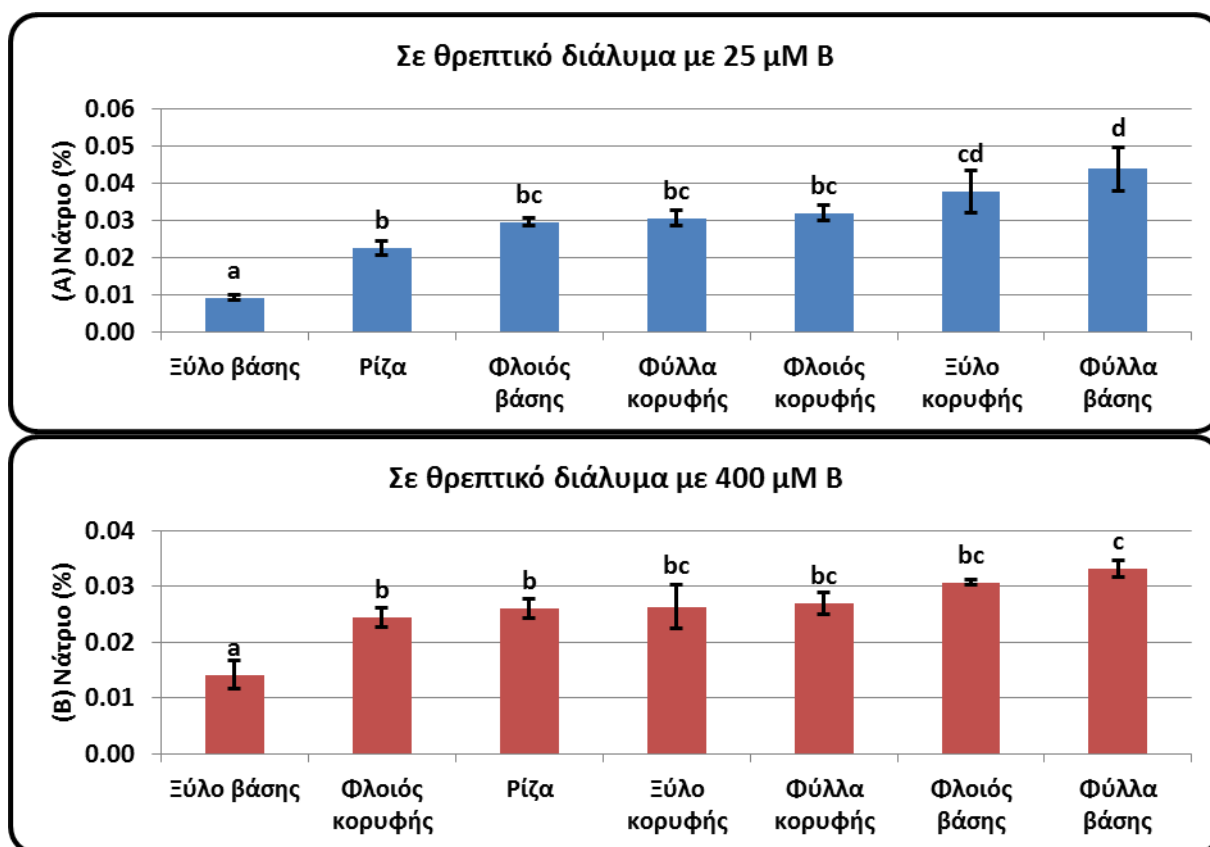


Εικόνα 25: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις ποσότητες του Na (mg) στα φύλλα (A), στον βλαστό (B), στη ρίζα (Γ) και συνολικά στο φυτό (Δ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test ($n=6$). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 26: Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στην κατανομή (%) του συνολικού Na των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς στα φύλλα, στον βλαστό και στη ρίζα τους. Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test (n=6). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας P≤0,050. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας P≤0,010. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας P≤0,001.

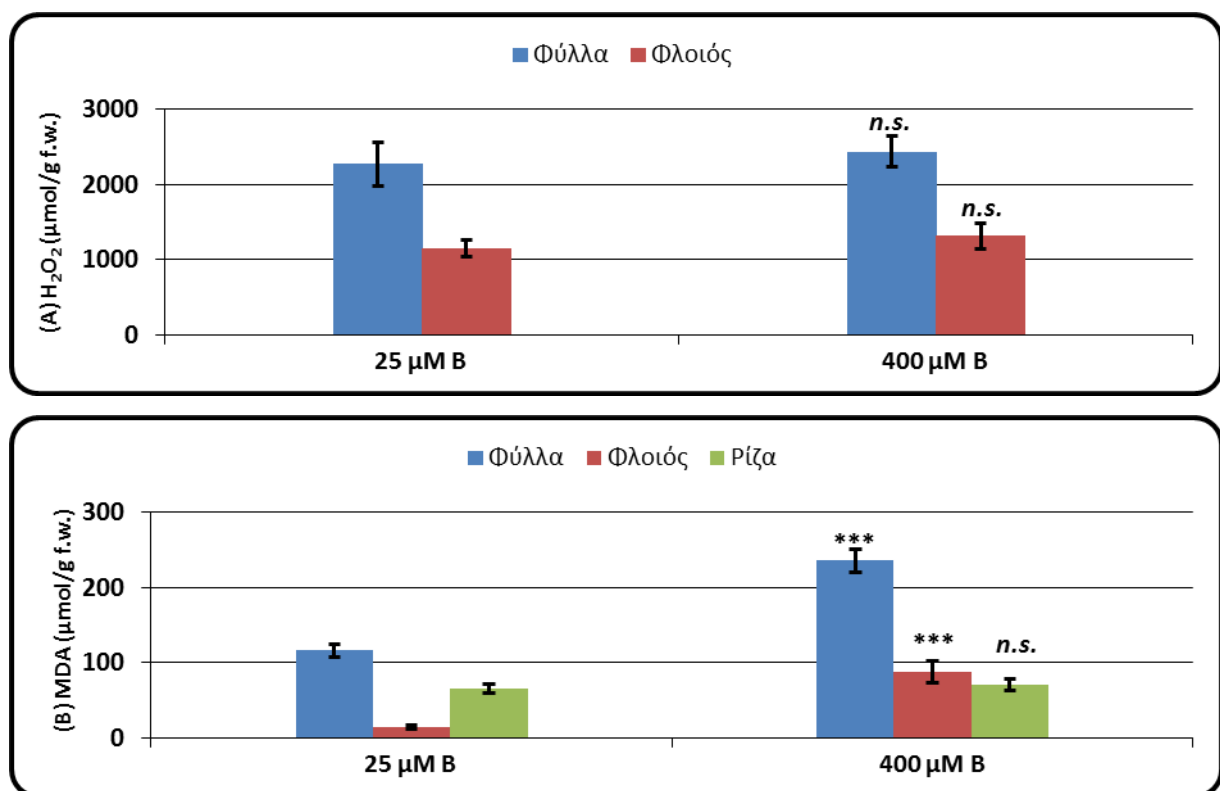


Εικόνα 27: Συγκεντρώσεις Na (%) στους διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με συγκέντρωση σε Β 25 μM (A) ή 400 μM (B). (Μέσος όρος ± S.E., n=6). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (P≤0,05).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

2.4.2 MDA και H₂O₂

Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) στα φύλλα και στο φλοιό της κορυφής του βλαστού (Εικ. 28Α) δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μΜ Β). Από την άλλη μεριά, η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα επηρέασε στατιστικά σημαντικά την συγκέντρωση της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA) (Εικ. 28Β) τόσο στα φύλλα όσο και στο φλοιό κορυφής του βλαστού. Η μέση συγκέντρωση της MDA (μmol/gf.w.) στα φύλλα και στο φλοιό των βλαστών του μάρτυρα (25 μΜ Β) ήταν σημαντικά μικρότερη (116 και 15 μmol/g f.w., αντίστοιχα) σε σύγκριση με τις τιμές που βρέθηκαν στα φυτά της επέμβασης 400 μΜ Β (236 και 88 μmol/gf.w., αντίστοιχα). Τέλος, στη ρίζα δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο επεμβάσεων βορίου (25, 400 μΜ Β) σε ό,τι αφορά τις συγκεντρώσεις της μαλονικής διαλδεΐδης (Εικ. 28Β).



Εικόνα 28: Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μΜ) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) (Α) και της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA) (Β) στα φύλλα και στο φλοιό των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με *t*-test (*n*=6). *n.s.*= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας *P*≤0,050. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας *P*≤0,010. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας *P*≤0,001.

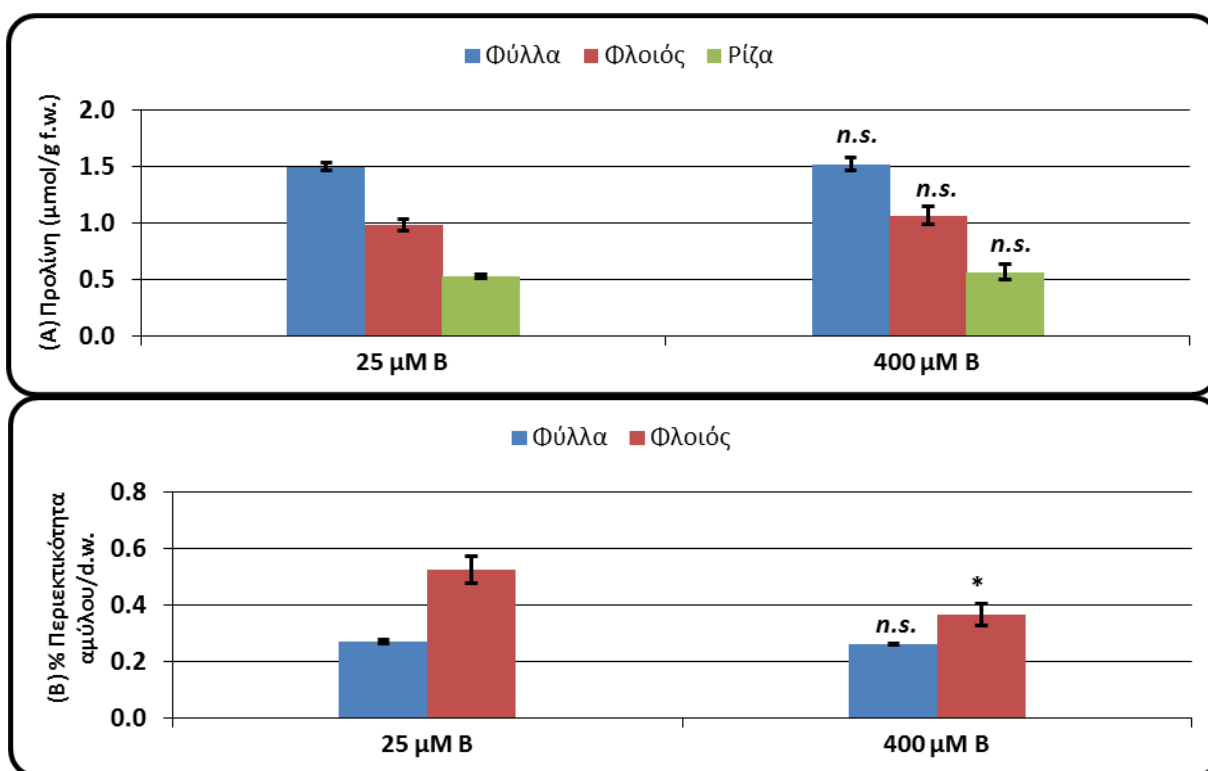
Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

2.4.3 Προλίνη

Η συγκέντρωση της προλίνης ($\mu\text{mol/g f.w.}$) στα φύλλα και στο φλοιό της κορυφής των βλαστών καθώς και στη ρίζα των φυτών (Εικ. 29A) δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα.

2.4.4 Άμυλο

Η συγκέντρωση του αμύλου στο φλοιό της κορυφής των βλαστών επηρεάστηκε σημαντικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος (Εικ. 29B). Συγκεκριμένα, η μέση % περιεκτικότητα αμύλου στο φλοιό των βλαστών του μάρτυρα ($25 \mu\text{M B}$) ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ($\approx 0,52\%$) σε σύγκριση με το φλοιό των βλαστών της επέμβασης $400 \mu\text{M B}$ των οποίων οι τιμές ήταν περίπου $0,36\%$. Αντίθετα, η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα δεν επηρέασε σημαντικά την % περιεκτικότητα των φύλλων σε άμυλο (Εικ. 29B).



Εικόνα 29: Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή $400 \mu\text{M}$) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις της προλίνης (A) και του αμύλου (B) σε διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με t -test ($n=6$). $n.s.$ = δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

2.4.5 Διαλυτά σάκχαρα

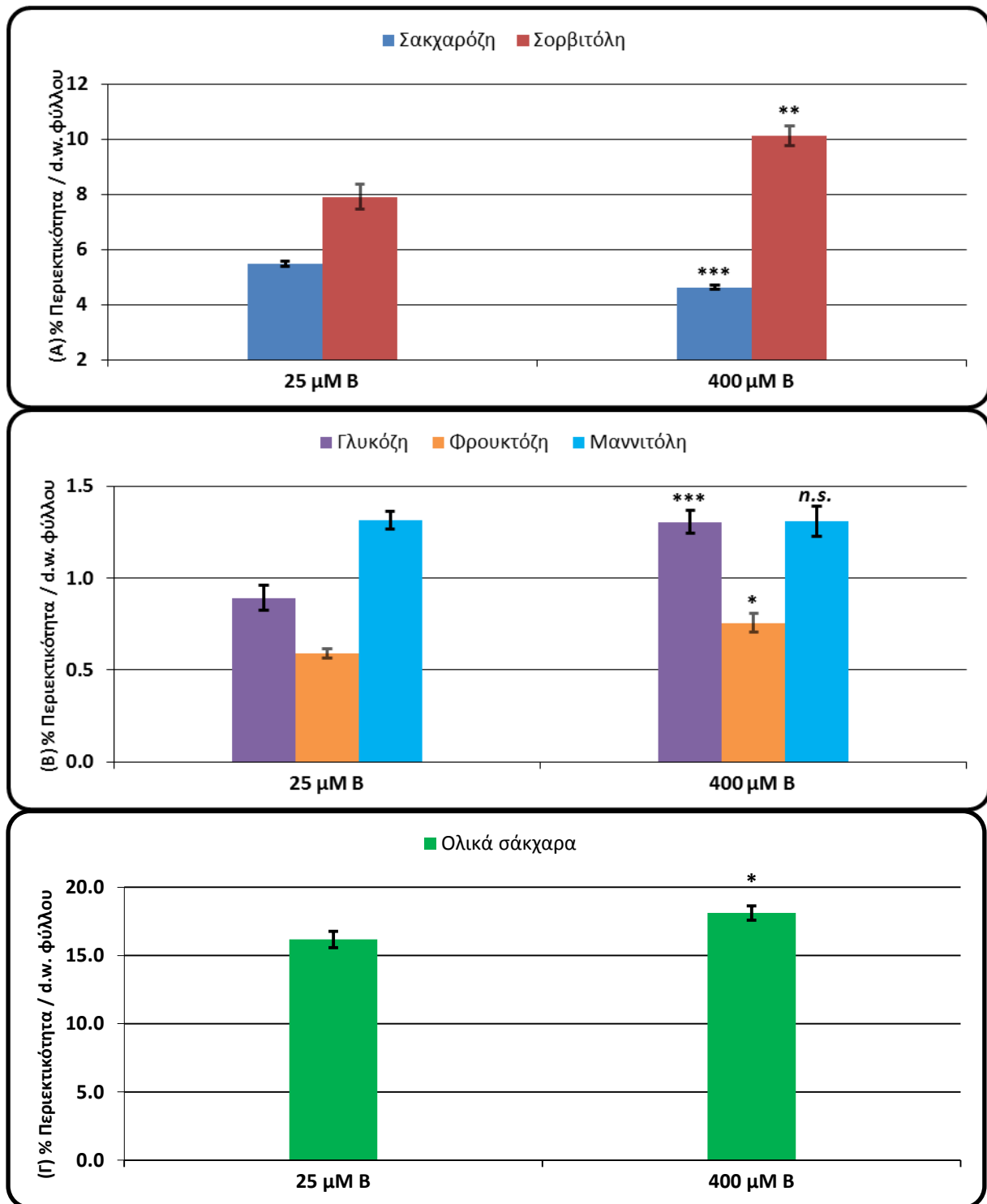
2.4.5.1 Περιεκτικότητα διαλυτών σακχάρων στα φύλλα

Το βόριο του θρεπτικού διαλύματος επηρέασε σημαντικά τα διαλυτά σάκχαρα και εντέλει τον μεταβολισμό των υδατανθράκων των φυτών. Η μέση συγκέντρωση της σακχαρόζης, της σορβιτόλης (Εικ. 30Α), της γλυκόζης, της φρουκτόζης και της μαννιτόλης (Εικ. 30Β) καθώς και των ολικών σακχάρων (Εικ. 30Γ) στα φύλλα των φυτών του μάρτυρα (25 μΜ Β) ήταν 5,4 %, 4,6 %, 0,89 %, 0,58 %, 1,3 % και 16,1 %, αντίστοιχα. Όμως, στην περίπτωση των φυτών της επέμβασης 400 μΜ Β η σακχαρόζη μειώθηκε σημαντικά (1,3 %), η σορβιτόλη, η γλυκόζη, η φρουκτόζη και τα ολικά σάκχαρα αυξήθηκαν σημαντικά (10,1 %, 1,3 %, 0,75 %, 18,1 %, αντίστοιχα), ενώ η μαννιτόλη παρέμεινε στατιστικά στα ίδια επίπεδα με αυτά του μάρτυρα.

Ενώ η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα δεν επηρέασε σημαντικά τα μετακινούμενα σάκχαρα (Εικ. 31Α), δηλ. αθροιστικά τις συγκεντρώσεις της σακχαρόζης, της σορβιτόλης και της μαννιτόλης, παρατηρήθηκαν σημαντικά αυξημένες τιμές της συγκέντρωσης των μη μετακινούμενων σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) στην περίπτωση της επέμβασης των 400 μΜ Β (Εικ. 31Α).

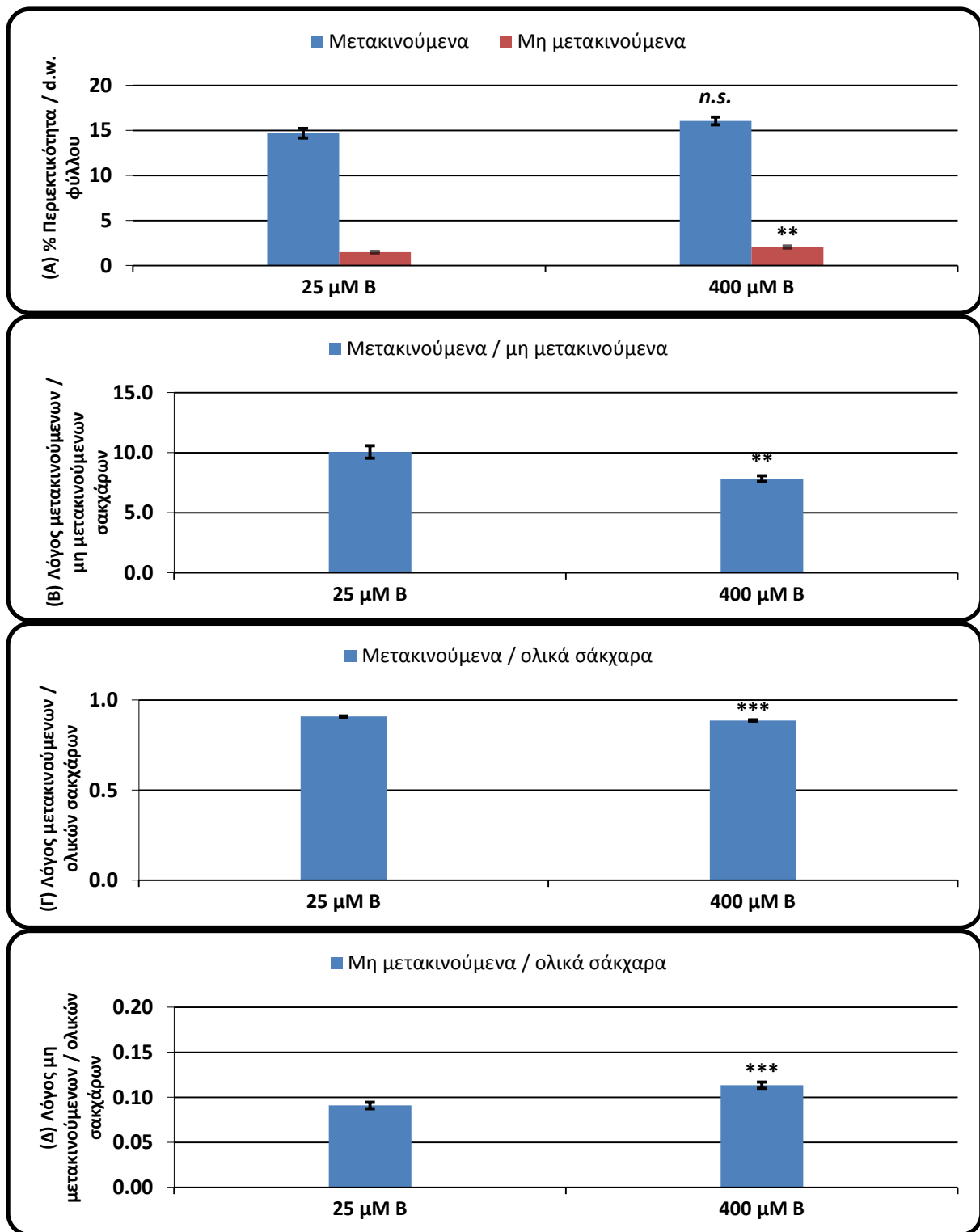
Σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν και στους λόγους μετακινούμενα/μη μετακινούμενα σάκχαρα (Εικ. 31Β), μετακινούμενα/ολικά σάκχαρα (Εικ. 31Γ) και μη μετακινούμενα/ολικά σάκχαρα (Εικ. 21Γ). Στα φυτά του μάρτυρα (25 μΜ Β) οι τιμές των παραπάνω λόγων κατά αντιστοιχία ήταν 10 %, 0,9 % και 0,09 %, ενώ στα φυτά της επέμβασης 400 μΜ Β, στις πρώτες δύο περιπτώσεις (μετακινούμενα/μη μετακινούμενα και μετακινούμενα/ολικά) υπήρξε σημαντική μείωση των λόγων στο 7,8 % και 0,8 %, αντίστοιχα, ενώ στην τρίτη περίπτωση (μη μετακινούμενα/ολικά) παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του λόγου στο 0,1 %.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 30: Επίδραση της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στην % περιεκτικότητα (επί ξηρού βάρους - d.w. ιστού) των φύλλων της ιαπωνικής μουσμουλιάς σε σακχαρόζη και σορβιτόλη (Α), γλυκόζη, φρουκτόζη και μαννιτόλη (Β) και ολικά σάκχαρα (Γ). Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test (n=6). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



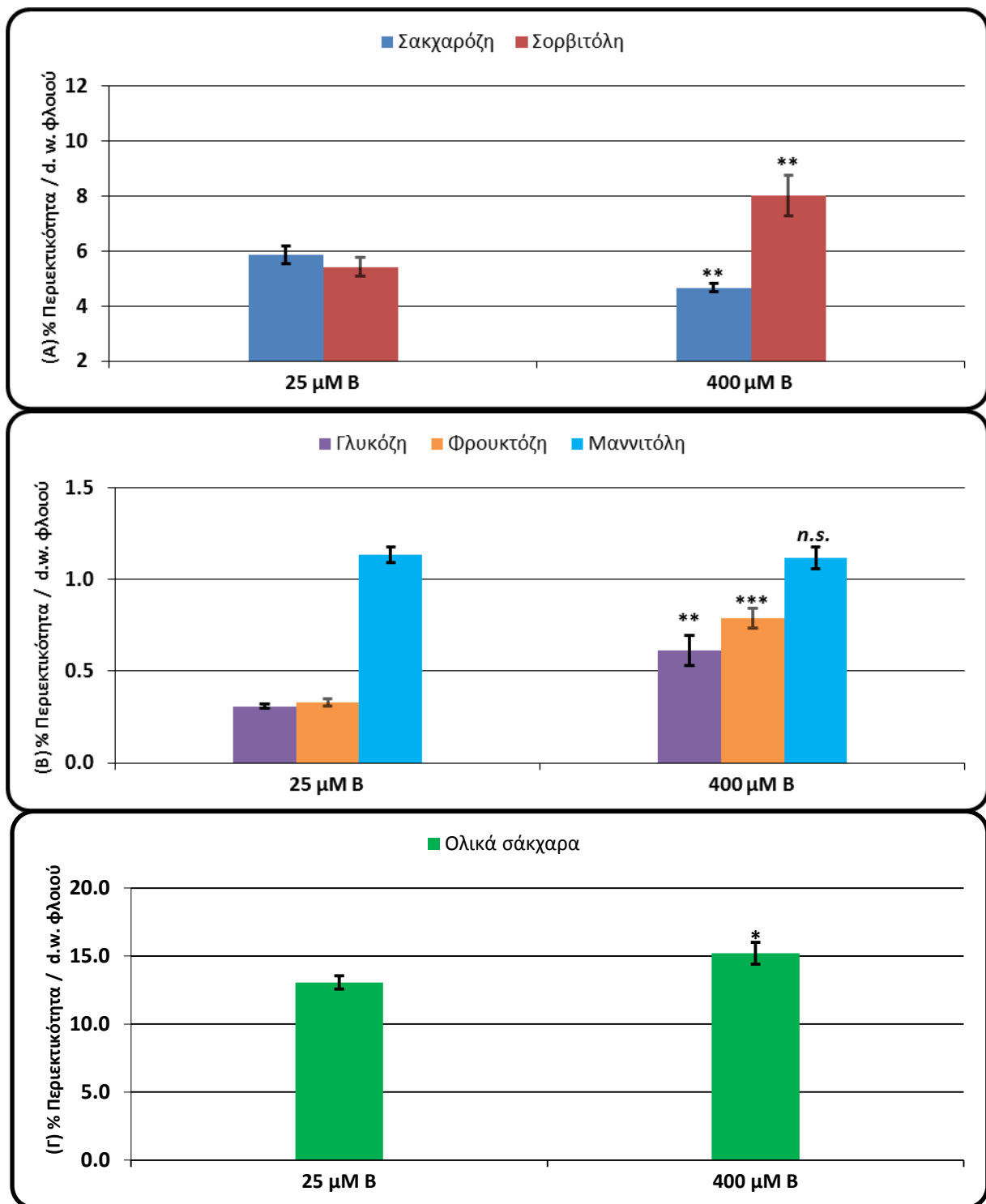
Εικόνα 31: Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στα μετακινούμενα και μη μετακινούμενα σάκχαρα (A) καθώς και στους λόγους μετακινούμενων/μη μετακινούμενων σακχάρων (B), μετακινούμενων/ολικών σακχάρων (Γ) και μη μετακινούμενων/ολικών σακχάρων (Δ) στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test (n=6). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

2.4.5.2 Περιεκτικότητα διαλυτών σακχάρων στο φλοιό του βλαστού

Το βόριο του θρεπτικού διαλύματος επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση σχεδόν όλων των διαλυτών σακχάρων στο φλοιό της κορυφής του βλαστού. Συγκεκριμένα, η μέση % περιεκτικότητα της σακχαρόζης (Εικ. 32Α), της σορβιτόλης (Εικ. 32Α), της γλυκόζης (Εικ. 32Β), της φρουκτόζης (Εικ. 32Β) και της μαννιτόλης (Εικ. 32Β) καθώς και των ολικών σακχάρων (Εικ. 32Γ) στο φλοιό των βλαστών του μάρτυρα (25 μM Β) ήταν περίπου 5,8 %, 5,4 %, 0,3 %, 0,3 %, 1,1 % και 13 %, αντίστοιχα. Στην περίπτωση των φυτών της επέμβασης 400 μM Β, η σακχαρόζη μειώθηκε σημαντικά (4,6 %), ενώ οι συγκεντρώσεις της σορβιτόλης (8 %), της γλυκόζης (0,6 %), της φρουκτόζης (0,7 %) καθώς και των ολικών σακχάρων (15,2 %) αυξήθηκαν σημαντικά. Ωστόσο, τα επίπεδα της μαννιτόλης δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο επεμβάσεων βορίου (25 μM Β, 400 μM Β) (Εικ. 32Β). Τέλος, η % περιεκτικότητα του φλοιού σε μετακινούμενα σάκχαρα (σακχαρόζη, σορβιτόλη, μαννιτόλη) (Εικ. 33Α) δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το βόριο του διαλύματος, σε αντίθεση με τα μη μετακινούμενα (γλυκόζη και φρουκτόζη) τα οποία αυξήθηκαν σημαντικά παρουσία 400 μM Β στο θρεπτικό διάλυμα (Εικ. 33Α).

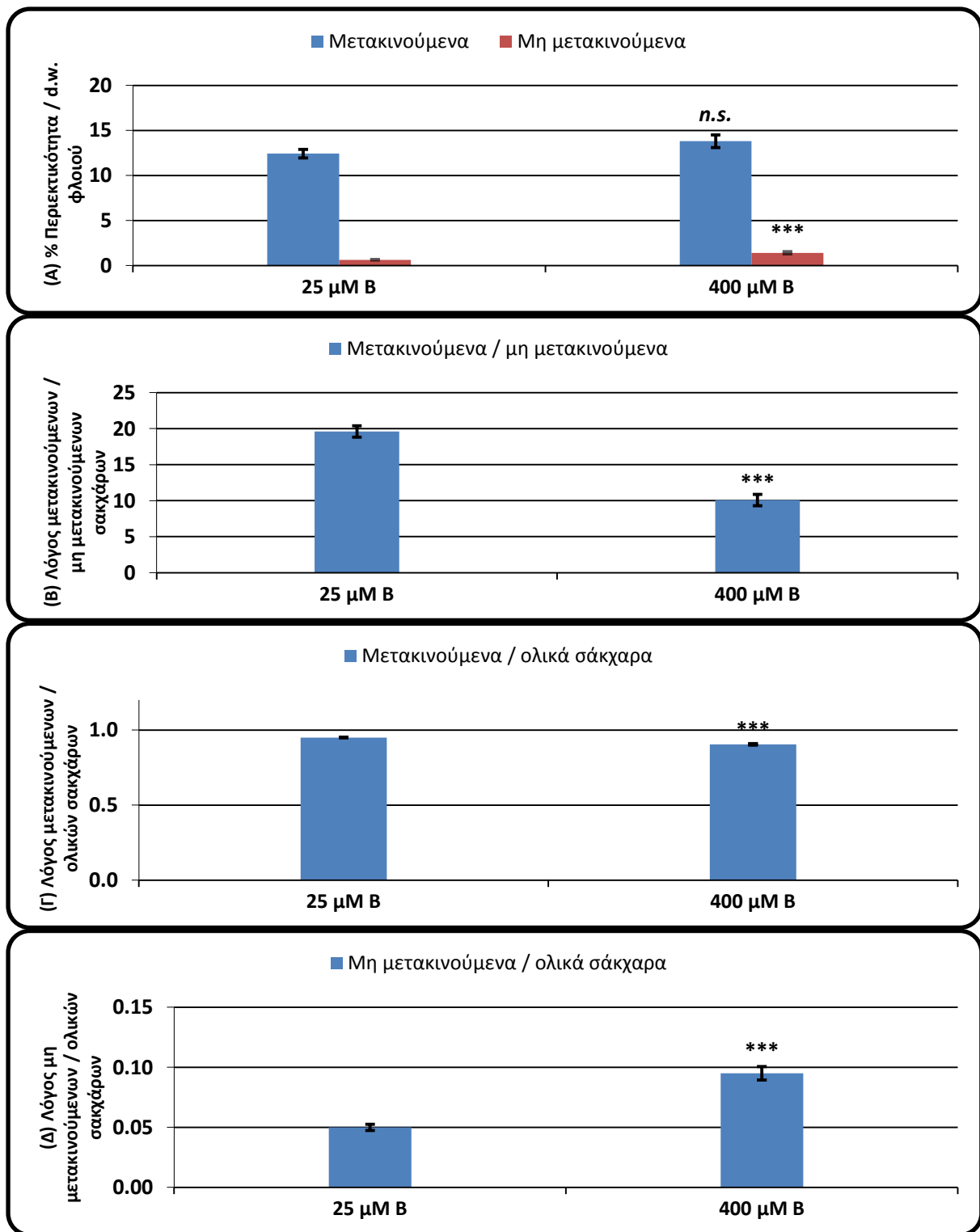
Σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν και στους λόγους μετακινούμενα/μη μετακινούμενα σάκχαρα (Εικ. 33Β), μετακινούμενα/ολικά σάκχαρα (Εικ. 33Γ) και μη μετακινούμενα/ολικά σάκχαρα (Εικ. 33Δ). Στα φυτά του μάρτυρα (25 μM Β) οι τιμές των παραπάνω λόγων κατά αντιστοιχία ήταν περίπου 19,6 %, 0,95 % και 0,05 %, ενώ στα φυτά της επέμβασης 400 μM Β, στις πρώτες δύο περιπτώσεις (μετακινούμενα/μη μετακινούμενα και μετακινούμενα/ολικά) παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των λόγων σε 10 % και 0,9 %, αντίστοιχα, ενώ στην τρίτη περίπτωση (μη μετακινούμενα/ολικά) καταγράφηκε σημαντική αύξηση του λόγου σε 0,09 % (Εικ. 33Δ).

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 32: Επίδραση της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στην % περιεκτικότητα (επί ξηρού βάρους, d.w. ιστού) σακχαρόζης και σορβιτόλης (A), γλυκόζης, φρουκτόζης και μαννιτόλης (B) και ολικών σακχάρων (Γ) στο φλοιό των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με *t*-test (*n*=6). *n.s.*= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 33: Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στα μετακινούμενα και μη μετακινούμενα σάκχαρα (A) καθώς και στους λόγους μετακινούμενων/μη μετακινούμενων σακχάρων (B), μετακινούμενων/ολικών σακχάρων (Γ) και μη μετακινούμενων/ολικών σακχάρων (Δ) στο φλοιό των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test (n=6). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

2.4.5.3 Κατανομή διαλυτών σακχάρων σε φύλλα και φλοιό

Όσον αφορά την κατανομή των σακχάρων στα φύλλα και στο φλοιό της κορυφής των βλαστών, τα αποτελέσματα ακολούθησαν την ίδια πορεία τόσο στα φύλλα όσο και στον φλοιό. Στα φύλλα (Εικ. 34Α), τα φυτά του μάρτυρα (25 μM Β) παρουσίασαν την παρακάτω κατανομή σακχάρων (αναφέρονται πρώτα τα σάκχαρα με τις μικρότερες συγκεντρώσεις). Την μικρότερη περιεκτικότητα είχαν η φρουκτόζη και η γλυκόζη (περίπου 0,6 %), ακολούθησαν η γλυκόζη και η μαννιτόλη, με μέση περιεκτικότητα 1,1 %, μετά η σακχαρόζη με 5,4 % και τέλος, την μεγαλύτερη περιεκτικότητα την είχε η σορβιτόλη με (7,9 %). Στην επέμβαση 400 μM Β (Εικ. 34Β), την μικρότερη περιεκτικότητα είχε η φρουκτόζη (0,7 %), ύστερα η γλυκόζη και η μαννιτόλη (περίπου 1,3 %), μετά η σακχαρόζη (4,9 %) και τέλος, την μεγαλύτερη περιεκτικότητα είχε πάλι η σορβιτόλη (10 %). Στον φλοιό, τα φυτά του μάρτυρα (25 μM Β) (Εικ. 34Γ) παρουσίασαν την παρακάτω κατανομή σακχάρων (αναφέρονται πρώτα τα σάκχαρα με τις μικρότερες συγκεντρώσεις). Την μικρότερη περιεκτικότητα είχαν η γλυκόζη και η φρουκτόζη (\approx 0,33 %), ύστερα η μαννιτόλη (\approx 1,3 %) και τέλος η σακχαρόζη και η σορβιτόλη (\approx 5,5 %). Στα φυτά της επέμβασης 400 μM Β (Εικ. 34Δ) η κατανομή των σακχάρων στο φλοιό ήταν περίπου η ίδια με το μάρτυρα. Την μικρότερη περιεκτικότητα είχαν η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η μαννιτόλη (περίπου 0,8 %), ύστερα η σακχαρόζη (\approx 4,3 %) και τέλος, οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καταγράφηκαν για τη σορβιτόλη (7,5 %).

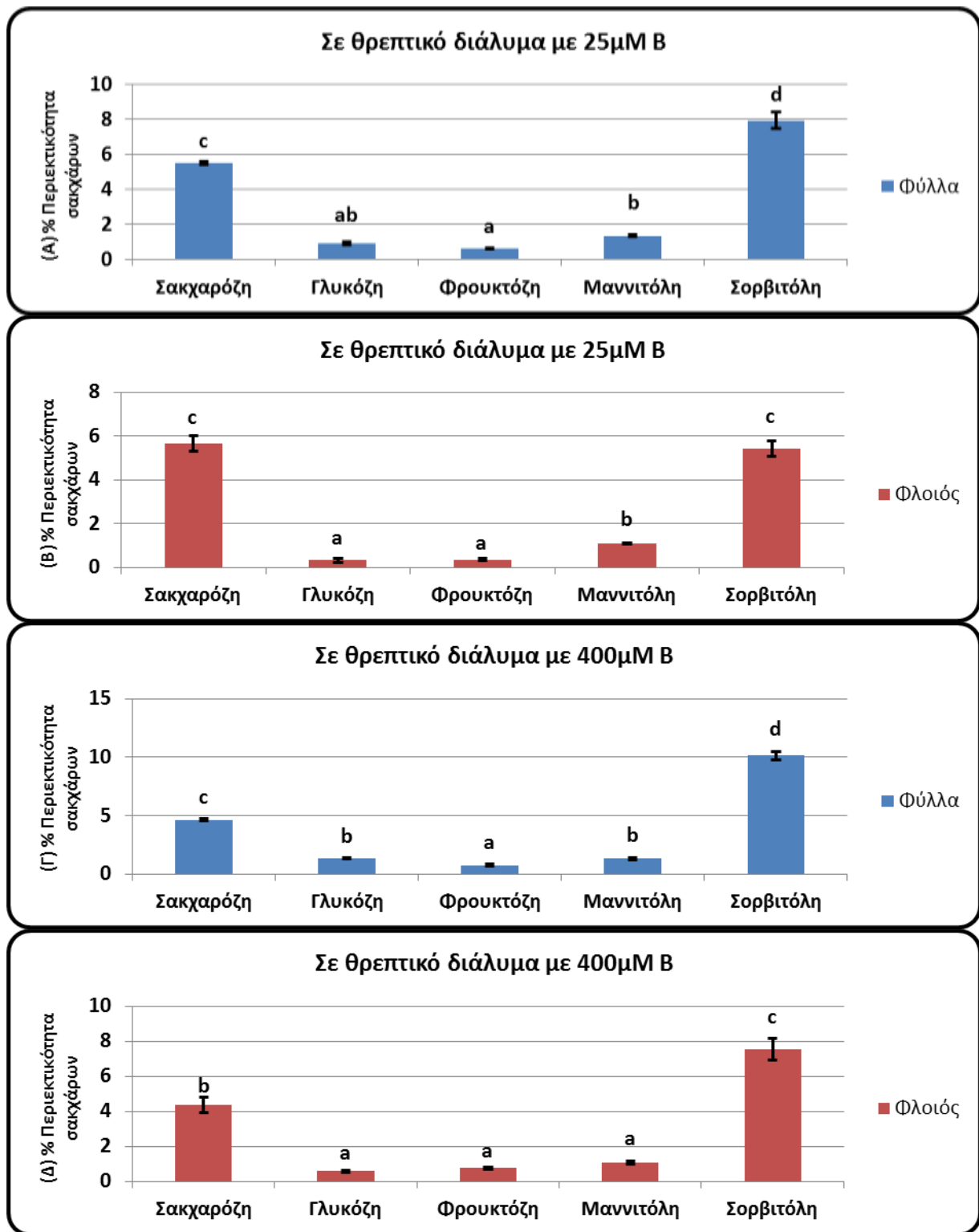
2.4.5.4 Σύγκριση περιεκτικότητας διαλυτών σακχάρων στα φύλλα και στο φλοιό

Ενδιαφέρον παρουσίασαν τα αποτελέσματα της σύγκρισης της % περιεκτικότητας των σακχάρων μεταξύ φύλλων και φλοιού τόσο στα φυτά του μάρτυρα (25 μM Β) όσο και στα φυτά της επέμβασης 400 μM Β. Στα φυτά του μάρτυρα (Εικ. 35Α), η σακχαρόζη δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές μεταξύ φύλλων και φλοιού, ενώ τα υπόλοιπα επιμέρους σάκχαρα καθώς επίσης τα ολικά μετακινούμενα και μη μετακινούμενα σάκχαρα παρουσίασαν σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα, οι περιεκτικότητες γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης, σορβιτόλης, ολικών σακχάρων, μετακινούμενων και μη μετακινούμενων σακχάρων ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στα φύλλα σε σχέση με το φλοιό. Στην περίπτωση της υπερεπάρκειας βορίου (400 μM Β) (Εικ. 35Β), τα πράγματα δεν ήταν ακριβώς ίδια. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις της σακχαρόζης, της φρουκτόζης και της

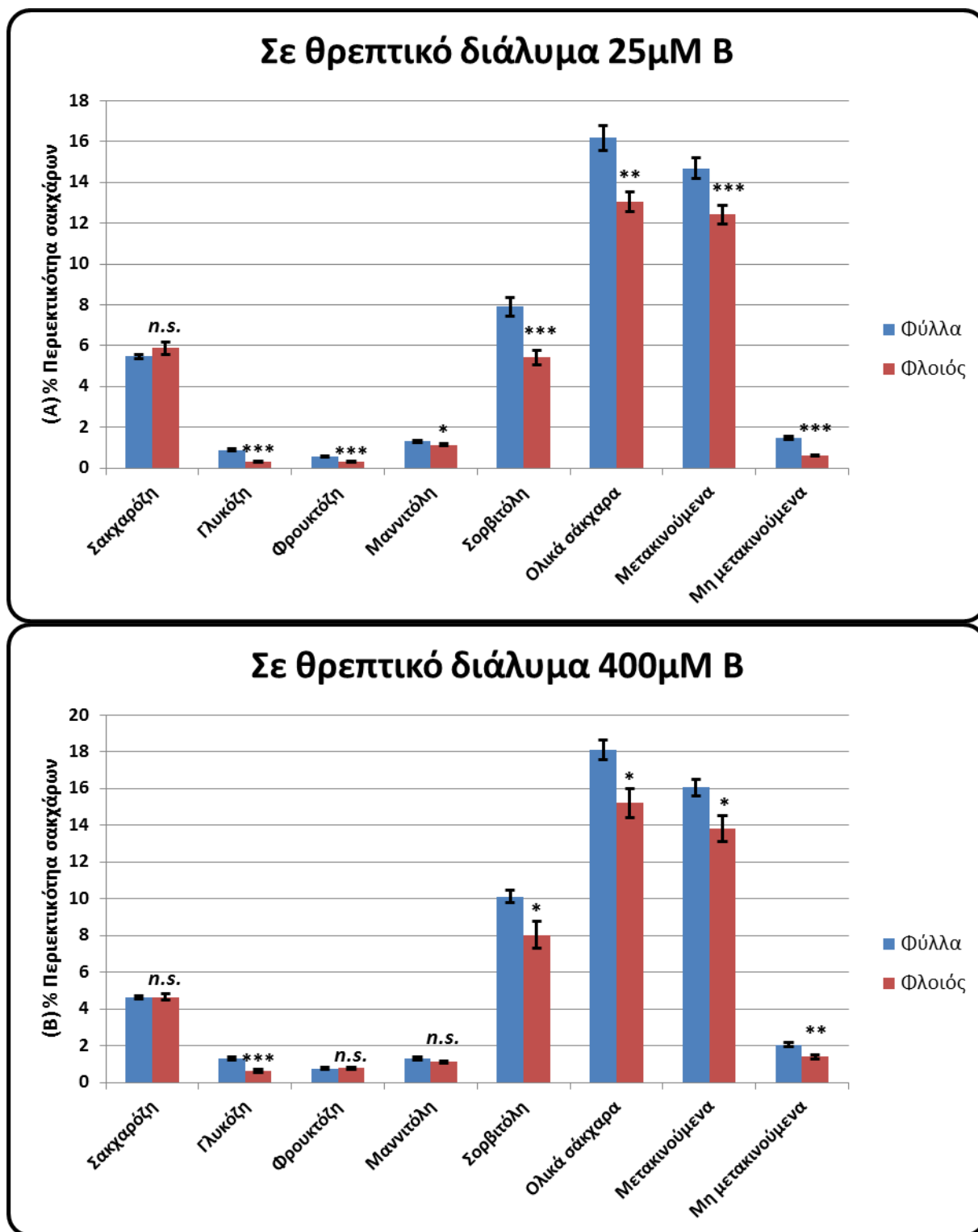
Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

μαννιτόλης δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ φύλλων και φλοιού, σε αντίθεση με τις περιεκτικότητες της γλυκόζης, της σορβιτόλης, των ολικών σακχάρων, των μετακινούμενων και των μη μετακινούμενων σακχάρων που ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στα φύλλα.

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος



Εικόνα 34: Συγκεντρώσεις (% ξηρού βάρους ιστού) σακχάρων στα φύλλα (Α, Γ) και στο φλοιό (Β, Δ) της κορυφής των βλαστών φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με 25 μM Β (Α, Β) ή 400 μM Β (Γ, Δ). (Μέσος όρος ± S.E., n=6). Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0,05$).



Εικόνα 35: Περιεκτικότητα (% ξηρού βάρους ιστού) σακχάρων στα φύλλα και το φλοιό των βλαστών φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με 25 μM B (A) ή 400 μM B (B). Η στατιστική ανάλυση έγινε με t-test (n=6). n.s.= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

2.4.6 Συμπτωματολογία των φυτών

Τα πρώτα συμπτώματα παρατηρήθηκαν σε ορισμένα φυτά της επέμβασης 400 μM βορίου την 141η ημέρα του πειράματος. Παρατηρήθηκε εκτεταμένος αποχρωματισμός και κιτρίνισμα του φλοιού στο μεσαίο ως ανώτερο μέρος των βλαστών. Τις επόμενες μέρες και καθώς συνεχιζόταν η χορήγηση του ίδιου θρεπτικού διαλύματος (400 μM B), το χρώμα στην ίδια περιοχή του φλοιού έγινε σταδιακά, πορτοκαλί-καφέ. Μάλιστα, την 147η ημέρα τα συμπτώματα της τοξικότητας βορίου ήταν εμφανή στους βλαστούς όλων των φυτών της περίπτωσης 400 μM B. Οι περιοχές των συμπτωμάτων στο φλοιό επεκτάθηκαν και παρατηρήθηκαν ιώδεις-μαύρες αλλοιώσεις με καφέ περιφέρεια (Εικ. 36B). Επιπρόσθετα, ο φλοιός στις περιοχές αυτές παρουσίασε ακανόνιστες σχισμές, οι οποίες ήταν εντονότερες στην περιοχή των κόμβων (Εικ. 36Γ). Τέλος, η αυξανόμενη κορυφή των βλαστών των φυτών της επέμβασης 400 μM B παρουσίασε λέπτυνση και σε μερικά από αυτά παρατηρήθηκε μάρανση.



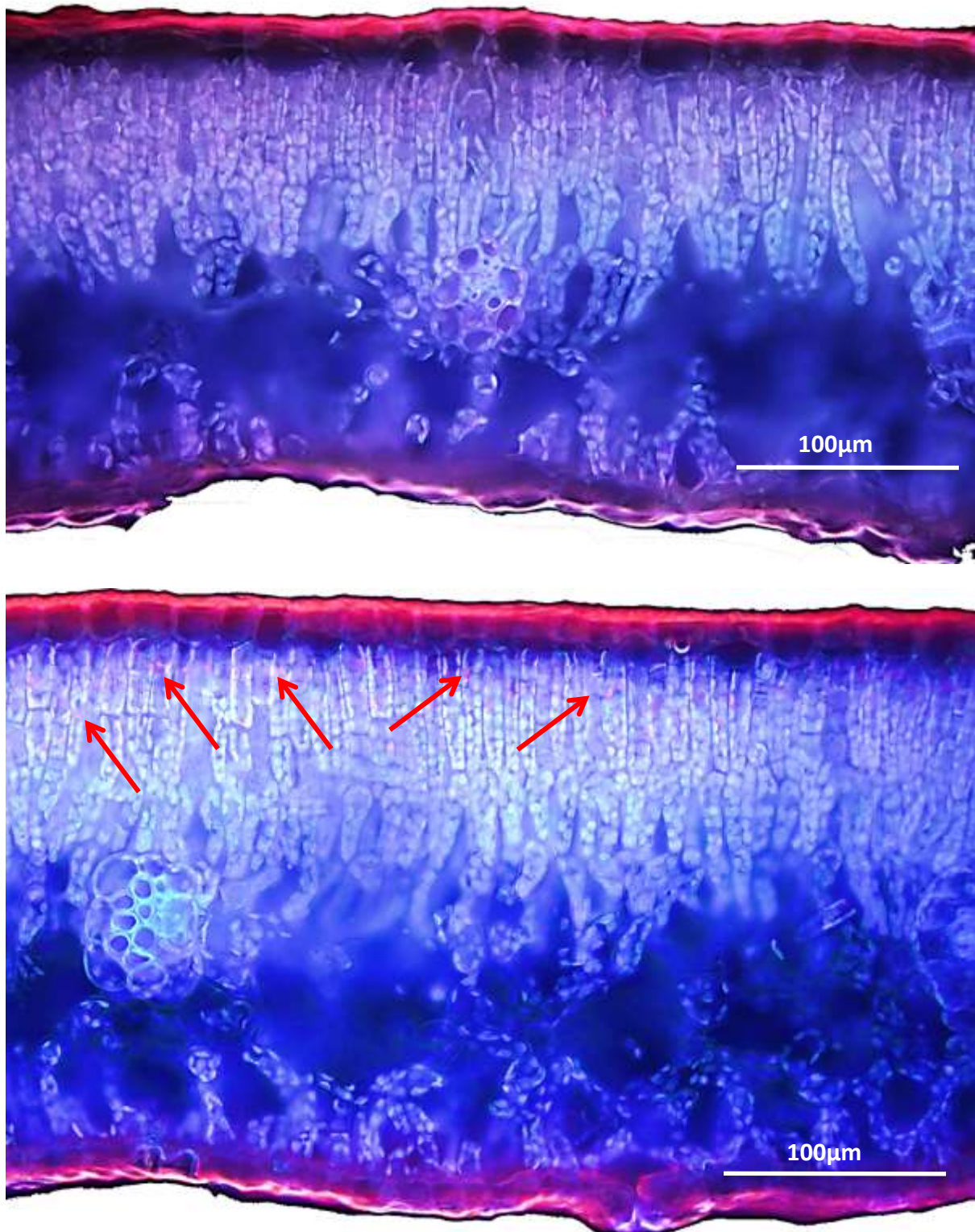
Εικόνα 36: Σύγκριση βλαστών μάρτυρα (25 μM B) φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς με βλαστούς που παρουσιάζουν συμπτώματα τοξικότητας B (400 μM B): A) βλαστός μάρτυρα (απουσία συμπτωμάτων), B) μεταχρωματισμός φλοιού (400 μM B), Γ) μεταχρωματισμός και σχισμές στο φλοιό (400 μM B).

2.4.7 Ανατομική και μορφομετρική μελέτη των φύλλων και του βλαστού

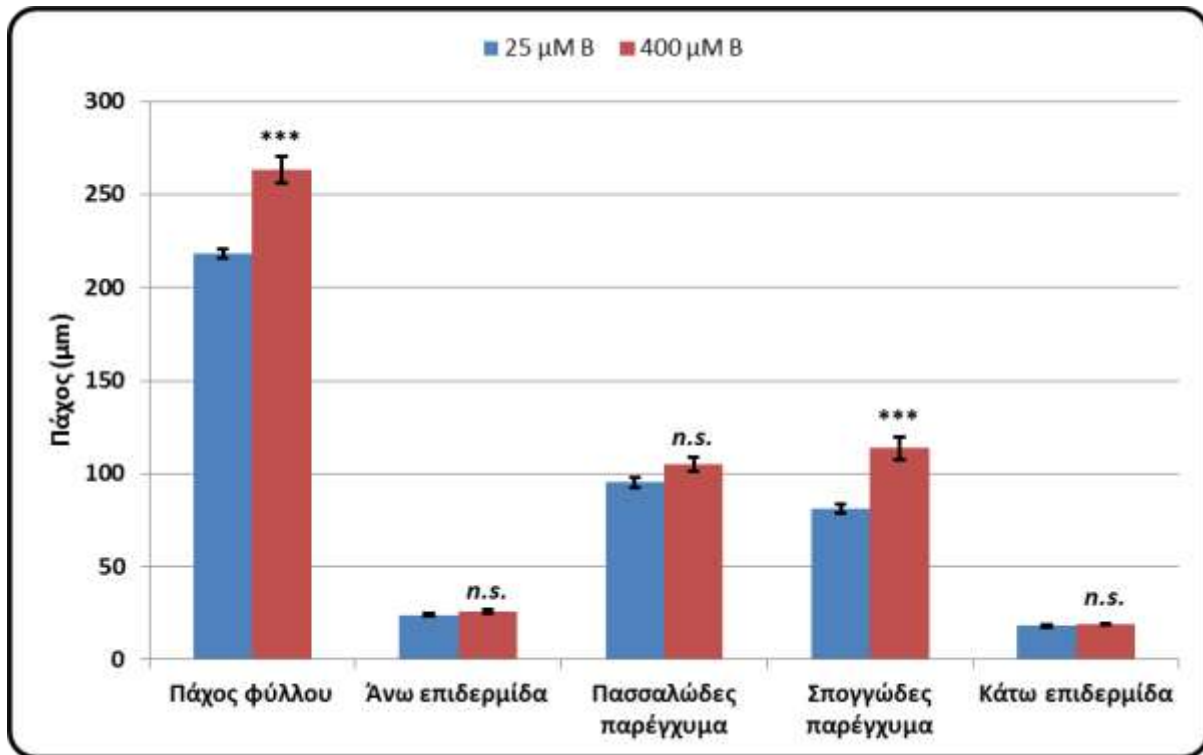
2.4.7.1 Φύλλα

Τα φύλλα της μουσμουλιάς έχουν εσωτερική ανατομική διάταξη των ιστών, όπως αυτή των τυπικών δικοτυλήδων φυτών. Έχουν μεγάλα επιδερμικά κύτταρα στην άνω επιδερμίδα και μικρότερα στην κάτω. Μάλιστα, τα άνω επιδερμικά κύτταρα καλύπτονται εξωτερικά από παχιά εφυμενίδα. Το πασσαλώδες παρεγχύμα αποτελείται από δύο – τρεις στρώσεις επίμηκων κυττάρων που περιφερειακά περιέχουν πολλούς χλωροπλάστες. Μεταξύ του πασσαλώδους παρεγχύματος και της κάτω επιδερμίδας, υπάρχει το σπογγώδες παρεγχύμα, που είναι μικρότερου πάχους από το πασσαλώδες και φέρει μεγάλους μεσοκυττάρους χώρους. Στο εσωτερικό του ελάσματος παρατηρούνται επίσης ηθμαγγειώδεις δεσμίδες (Εικ. 37). Τέλος, αξίζει να αναφερθεί η παρουσία ορισμένων μικρών κόκκινων στιγμάτων (όπως εμφανίζονται στις μικρογραφίες που ελήφθησαν σε μικροσκόπιο φθορισμού, Εικ. 37), κυρίως στην πρώτη, ανώτερη σειρά κυττάρων του πασσαλώδους παρεγχύματος, τα οποία πιθανό να πρόκειται για ελαιοσταγονίδια. Μάλιστα, η παρουσία τους ήταν εμφανέστερη, αυξημένος αριθμός και μέγεθος, στην επέμβαση 400 μM B (υπερεπάρκεια βορίου), συγκριτικά με την επέμβαση 25 μM B (μάρτυρας).

Σύμφωνα με τα δεδομένα της μορφομετρικής ανάλυσης, η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα επηρέασε σημαντικά το πάχος των φύλλων και το πάχος του σπογγώδους παρεγχύματός τους, ενώ το πάχος της άνω και κάτω επιδερμίδας καθώς και του πασσαλώδους παρεγχύματός τους δεν επηρεάστηκαν σημαντικά (Εικ. 38). Συγκεκριμένα, στα φυτά του μάρτυρα (25 μM B) το πάχος του φύλλου και του σπογγώδους παρεγχύματος ήταν 218 μm και 81 μm , αντίστοιχα, ενώ στα φυτά της επέμβασης 400 μM B οι τιμές των παραπάνω παραμέτρων ήταν σημαντικά αυξημένες (263 μm και 113 μm , αντίστοιχα).



Εικόνα 37: Εγκάρσιες τομές φύλλων ιαπωνικής μουσουλιάς. Πάνω: μάρτυρας (25 μM B). Κάτω: επέμβαση υπερεπάρκειας βορίου (400 μM B). Η παρατήρηση έγινε σε οπτικό μικροσκόπιο φθορισμού. Εμφανής είναι η διαφορά στο πάχος του ελάσματος μεταξύ του μάρτυρα (πάνω) και της επέμβασης της υπερεπάρκειας βορίου (κάτω, μεγαλύτερο πάχος φύλλου). Τα κόκκινα βέλη στην επέμβαση 400 μM B δείχνουν τα χαρακτηριστικά ελαιοσταγονίδια (κόκκινα στίγματα) που παρατηρήθηκαν σε μεγαλύτερο αριθμό (πυκνότητα) και σε μεγαλύτερο μέγεθος στα κύτταρα του πασσαλώδους παρεγχύματος της επέμβασης 400 μM B, σε σχέση με την επέμβαση των 25 μM B.



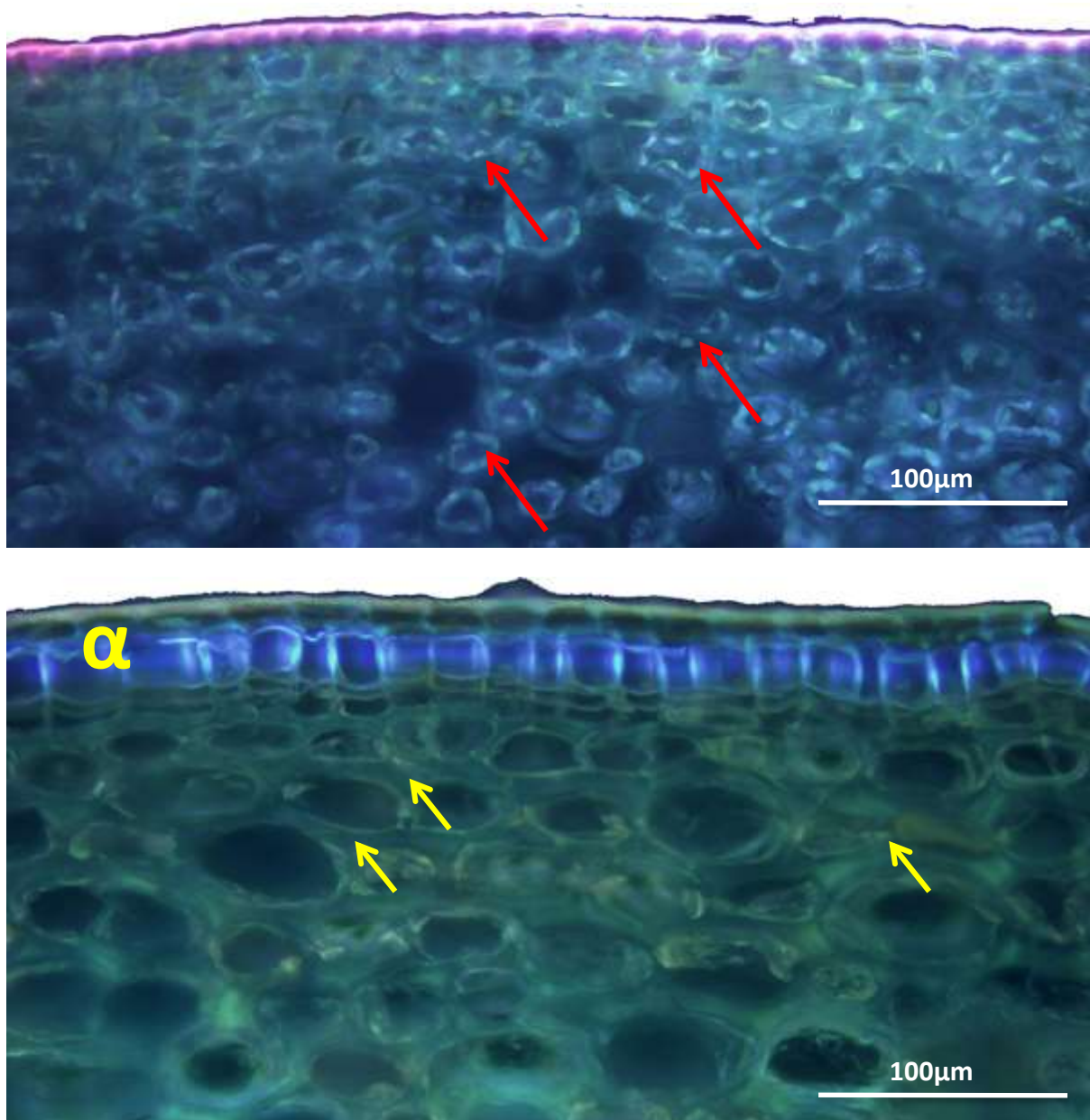
Εικόνα 38: Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στο συνολικό πάχος (μm) αλλά και στα πάχη (μm) των επιμέρους ιστών του ελάσματος των φύλλων της ιαπωνικής μουσουλιάς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με *t*-test (*n*=6). *n.s.*= δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. * = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,050$. ** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,010$. *** = στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο πιθανότητας $P \leq 0,001$.

2.4.7.2 Φλοιός

Στην Εικόνα 39 παρουσιάζονται εγκάρσιες τομές από το φλοιό των βλαστών του μάρτυρα (25 μM B) και της επέμβασης της υπερεπάρκειας βορίου (400 μM B). Στην μικροφωτογραφία του μάρτυρα (Εικ. 39 πάνω) διακρίνονται η εφυμενίδα, που φθορίζει έντονα, τα επιδερμικά κύτταρα, μια – δύο στρώσεις κολλεγχυματικών κυττάρων που ακολουθούνται από πολλές στρώσεις κυττάρων του θεμελιώδους παρεγχύματος. Τα κύτταρα του θεμελιώδους παρεγχύματος χαρακτηρίζονται από την παρουσία πολλών χλωροπλαστών (κόκκινα βέλη) που διατάσσονται περιφερειακά του κυτοπλάσματός τους. Αντίθετα, στην επέμβαση 400 μM B παρατηρήθηκε επιτάχυνση της δευτερογενούς αύξησης του βλαστού (Εικ. 39 κάτω). Συγκεκριμένα, διακρίνεται η εφυμενίδα, που φθορίζει λιγότερο από αυτή του μάρτυρα, τα επιδερμικά κύτταρα, που έχουν παρόμοιο μέγεθος με αυτά του μάρτυρα, και μια στρώση από ιδιαίτερα ευδιάκριτα κύτταρα φελλού με πολύ

Κεφάλαιο 2ο: Πειραματικό μέρος

παχιά κυτταρικά τοιχώματα. Ακολούθως διακρίνονται μια – δύο στρώσεις κυττάρων φελλοκαμβίου και πολλές στρώσεις κολλεγχυματικών κυττάρων. Τα κολλεγχυματικά κύτταρα είναι ιδιαίτερα μεγάλα, έχουν πολύ παχιά κυτταρικά τοιχώματα (κίτρινα βέλη) και ελάχιστους χλωροπλάστες (Εικ. 39).



Εικόνα 39: Εγκάρσιες τομές φλοιού βλαστών ιαπωνικής μουσμουλιάς. Πάνω: μάρτυρας (25 μM B). Κάτω: επέμβαση υπερέπαρκειας βορίου (400 μM B). Η παρατήρηση έγινε σε οπτικό μικροσκόπιο φθορισμού. Τα κόκκινα βέλη, στην περίπτωση του μάρτυρα (πάνω), δείχνουν τους πολυάριθμους χλωροπλάστες των κυττάρων του θεμελιώδους παρεγχύματος. Στην περίπτωση 400 μM B (κάτω) παρατηρείται επιτάχυνση της δευτερογενούς αύξησης του βλαστού με έντονη παρουσία κυττάρων φελλού (α) καθώς και πολυάριθμων κολλεγχυματικών κυττάρων με παχιά κυτταρικά τοιχώματα (κίτρινα βέλη) και ελάχιστους χλωροπλάστες.

3.1 Συζήτηση

3.1.1 Οι συγκεντρώσεις του βορίου στους φυτικούς ιστούς και τα συμπτώματα της υπερεπάρκειάς του

Τα αποτελέσματα τόσο του Α όσο και του Β πειράματος ήταν παρόμοια όσον αφορά την επίδραση της συγκέντρωσης βορίου του θρεπτικού διαλύματος στην εμφάνιση των συμπτωμάτων της υπερεπάρκειάς του στα φυτά. Τα φυτά της επέμβασης 400 μM Β εμφάνισαν έντονα συμπτώματα τοξικότητας βορίου. Συγκεκριμένα, στο Α πείραμα, ορατά συμπτώματα (Εικ. 11) εμφανίστηκαν στα φύλλα κορυφής (μαρασμός και μερική ξήρανση) και στο πάνω τμήμα των βλαστών (μαύρισμα, ξήρανση και νέκρωση της κορυφής). Στο πείραμα Β παρατηρήθηκαν χαρακτηριστικές σχισμές στο φλοιό του μέσου έως ανώτερου τμήματος των βλαστών, τη στιγμή που τα αντίστοιχα φύλλα φαινόταν καθόλα φυσιολογικά (Εικ. 36). Άξιο αναφοράς είναι το γεγονός ότι ήπια συμπτώματα ήταν ορατά ακόμη και στα φυτά που ποτίζονταν με 50 μM Β (πείραμα Α). Τα προαναφερόμενα συμπτώματα στην ιαπωνική μουσμουλιά είναι τυπικά για φυτά που χαρακτηρίζονται από υψηλή κινητικότητα βορίου στον ηθμό, όπως είναι η ελιά, η ροδακινιά, η βερικοκιά, η μηλιά και η αχλαδιά (Brown και Hu, 1998). Τα συμπτώματα τοξικότητας βορίου που συνήθως καταγράφονται σε αυτά τα είδη είναι το κάψιμο των βλαστών, η έκκριση κόμμεος στους οφθαλμούς και στις μασχάλες των φύλλων, η ανάπτυξη καφέ φελλώδων περιοχών κατά μήκος των βλαστών και των μίσχων και το σχίσσιμο του φλοιού στους βλαστούς (Chatzissavidis και Therios, 2011). Τέλος, δεδομένου ότι: α) τα συμπτώματα τοξικότητας βορίου αναπτύσσονται αποκλειστικά στα ακραία τμήματα των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς και β) τα δέντρα της ιαπωνικής μουσμουλιάς καρποφορούν από επάκριους ανθοφόρους οφθαλμούς, δεν υπάρχει αμφιβολία ότι οι επιπτώσεις της τοξικότητας βορίου στην παραγωγή καρπών μουσμουλιάς αναμένονται να είναι πολύ δραματικές.

Από την κατάταξη των διαφόρων φυτικών ειδών σε ομάδες, ανάλογα με την ευαισθησία τους στο πολύ βόριο (Πίν. 2; Ayers και Westcot, 1976), και το γεγονός ότι συμπτώματα τοξικότητας βορίου εμφανίστηκαν, σε μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό, στα φυτά των επεμβάσεων 50-400 μM Β, προκύπτει ξεκάθαρα ότι τα φυτά της ιαπωνικής μουσμουλιάς είναι ευαίσθητα έως πολύ ευαίσθητα στην υπερεπάρκεια βορίου. Μάλιστα, από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προκύπτει ως κατώτατο όριο ευαισθησίας η συγκέντρωση των 50 μM Β (περίπου 0,54 mg/l Β) στο θρεπτικό ή στο εδαφικό διάλυμα.

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

Στα εσπεριδοειδή, η αύξηση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα είχε σαν αποτέλεσμα μια αντίστοιχη γραμμική αύξηση των συγκεντρώσεων βορίου σε όλα τα φυτικά μέρη καθώς επίσης και στη συνολική απορρόφηση βορίου από τα φυτά (Papadakis *et al.*, 2003). Σε αντίστοιχο πείραμα (Nagesh *et al.*, 2012) ανάπτυξης σποροφύτων φασολιών κάτω από συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου, βρέθηκε επίσης ότι η συγκέντρωση βορίου των φύλλων αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση του βορίου που χορηγούνταν εξωγενώς μέσω του θρεπτικού διαλύματος. Επίσης, οι Inal *et al.* (2009) αναφέρουν πως η εφαρμογή 20 mg B/kg αύξησε σημαντικά τη συγκέντρωση βορίου (από 9 σε 561 mg/kg) στους βλαστούς φυτών κριθαριού. Επιπλέον, η συγκέντρωση βορίου σε φυτικούς ιστούς τομάτας αυξήθηκε με την αύξηση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (Kaya *et al.*, 2011). Ομοίως, πολλοί άλλοι ερευνητές βρήκαν ότι υπάρχει μια στενή σχέση μεταξύ της εφαρμοζόμενης ποσότητας βορίου στις ρίζες και στις συγκεντρώσεις του ίδιου στοιχείου σε διάφορους φυτικούς ιστούς (Sotiropoulos *et al.*, 1999; Tariq και Mott, 2006; Chatzissavidis και Therios, 2010; Sheng *et al.*, 2010). Σε συμφωνία με τα παραπάνω ευρήματα άλλων ερευνητών, τα αποτελέσματα τόσο του Α όσο και του Β πειράματος έδειξαν θετική επίδραση της συγκέντρωσης βορίου του θρεπτικού διαλύματος στη συγκέντρωση του βορίου στους διάφορους φυτικούς ιστούς. Συγκεκριμένα, στο Α πείραμα παρατηρήθηκε γραμμική αύξηση της συγκέντρωσης του Β στα φύλλα ($r=0,853$), σε σχέση με την αύξηση της συγκέντρωσής του στο θρεπτικό διάλυμα (Πίν. 4). Ομοίως, θετική συσχέτιση υπήρξε στους βλαστούς ($r = 0,678$), ενώ στις ρίζες ο αντίστοιχος συντελεστής γραμμικής συσχέτισης ήταν μη σημαντικός (Πίν. 4). Σημειώνεται, ωστόσο, ότι ακόμη και στο Α πείραμα η συγκέντρωση του βορίου στις ρίζες ήταν σημαντικά αυξημένη, σε σχέση με το μάρτυρα (25 μM B), σε όλες τις περιπτώσεις που το θρεπτικό διάλυμα περιείχε 50-400 μM B, χωρίς όμως να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων 50-400 μM B (Εικ. 3). Ομοίως, στο Β πείραμα παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων του βορίου σε όλα τα φυτικά μέρη με την αύξηση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα από τα 25 στα 400 μM (Εικ. 12). Στο ίδιο πείραμα (B) παρατήθηκε επίσης έντονη συσσώρευση του βορίου στους ιστούς της κορυφής των βλαστών (φύλλα, φλοιός, ξύλο). Αναλυτικότερα, σύμφωνα με όσα αναφέρονται στην Εικόνα 15A, στην επέμβαση 25 μM B οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βορίου παρατηρήθηκαν στα φύλλα και στο φλοιό κορυφής καθώς και στον φλοιό βάσης. Ωστόσο, στα φυτά της επέμβασης 400 μM B (Εικ. 15B) τα φύλλα της κορυφής είχαν σημαντικά

μεγαλύτερη συγκέντρωση βορίου από τον φλοιό κορυφής. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν την κίνηση του βορίου εντός του ηθμού και την συσσώρευσή του στα νεαρότερα-κορυφαία φυτικά τμήματα, κάτι που σχετίζεται άμεσα με τον τρόπο εμφάνισης των συμπτωμάτων της τοξικότητας του βορίου. Υπενθυμίζεται ότι τέτοια συμπτώματα παρατηρήθηκαν αποκλειστικά στο μέσο έως ανώτερο τμήμα των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Επίσης, σύμφωνα με όσα αναφέρονται από τους Papadakis *et al.* (2014) και Γερογιάννη (2014), οι μετρήσεις του ρυθμού φωτοσύνθεσης των φυτών του Β πειράματος έδειξαν σημαντική υστέρηση της φωτοσυνθετικής ικανότητας των φύλλων κορυφής, αλλά όχι και αυτών της βάσης, στην επέμβαση της υπερεπάρκειας του βορίου (400 μM B).

3.1.2 Η επίδραση του βορίου στην απορρόφηση των ανόργανων στοιχείων

Στο Α πείραμα, με βάση τις απόλυτες ποσότητες (mg ή μg) ανά φυτό μουσμουλιάς όλων των θρεπτικών στοιχείων που μελετήθηκαν, βρέθηκε ότι τα φυτά του μάρτυρα (25 μM B) περιείχαν περισσότερο κάλιο και ασβέστιο από ότι φώσφορο και μαγνήσιο, περισσότερο μαγνήσιο από ότι μαγγάνιο και σίδηρο και περισσότερο σίδηρο από ότι βόριο και ψευδάργυρο (Εικ. 4, 5). Ομοίως, στο Β πείραμα τα φυτά της αντίστοιχης επέμβασης των 25 μM B (μάρτυρας) περιείχαν περισσότερο κάλιο από ότι φώσφορο και πολύ περισσότερο φώσφορο από βόριο (Εικ. 13, 17, 21). Αυτά τα αποτελέσματα αποκαλύπτουν τις ποσοτικές απαιτήσεις των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς σε ανόργανα θρεπτικά στοιχεία (K, Ca > P, Mg > Mn, Fe > B, Zn).

Και στα δύο πειράματα, η ποσότητα του βορίου ανά φυτό (μg) ιαπωνικής μουσμουλιάς ήταν σημαντικά αυξημένη στην επέμβαση 400 μM B συγκριτικά με την επέμβαση 25 μM B (μάρτυρας) (Εικ. 3, 13). Ωστόσο, το γεγονός ότι η συνολική ποσότητα βορίου ανά φυτό στις επεμβάσεις 100-200 μM B ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των φυτών της επέμβασης 400 μM B (δηλ. της πλέον τοξικής επέμβασης) (πείραμα Α, Εικ. 3Δ), πιθανόν εξηγείται από ορισμένες αρνητικές επιδράσεις του βορίου στη φυσιολογία των φυτών. Οι πολύ υψηλές συγκεντρώσεις βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (>100 μM B) επιδρούν αρνητικά στην απορρόφηση βορίου, πιθανόν λόγω των αρνητικών επιπτώσεων της υπερεπάρκειας βορίου στη φυσιολογική λειτουργία και αύξηση των βλαστών (π.χ. μείωση του ρυθμού διαπνοής) ή/και στην αύξηση και τη δραστηριότητα των ριζών (μειωμένη ικανότητα απορρόφησης βορίου και άλλων θρεπτικών). Πράγματι, από μετρήσεις διαφόρων φυσιολογικών παραμέτρων στα φύλλα, κορυφής και βάσης, των

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

φυτών του Β πειράματος προέκυψε σημαντική μείωση των ρυθμών φωτοσύνθεσης (φύλλα κορυφής) και διαπνοής (φύλλα κορυφής και βάσης) υπό συνθήκες υπερεπάρκειας του βορίου (400 μM Β) (Paradakis *et al.*, 2014; Γερογιάννης, 2014). Επιπλέον, η υπερεπάρκεια του Β δεν επηρέασε σημαντικά τις παραμέτρους της αύξησης των φυτών, εκτός από την διάμετρο της κορυφής του βλαστού και το νωπό βάρος των ριζών, που και τα δύο υπέστησαν σημαντική μείωση (Γερογιάννης, 2014). Αναφορικά με το Α πείραμα, σημαντικά αρνητικές συσχετίσεις παρατηρήθηκαν μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα και (α) του βάρους των φύλλων, των ριζών και των βλαστών, (β) του συνολικού βάρους των φυτών, (γ) του αριθμού των φύλλων ανά φυτό, και (δ) του πάχους της κορυφής και του μέσου των βλαστών (Παπαδάκης κ.α., 2013; Τσιάντας, 2013). Σε αντιστοιχία με όσα παρατηρήθηκαν σχετικά με την συνολική πρόσληψη του βορίου από τα φυτά του Α πειράματος, η συνολική ποσότητα καλίου, φωσφόρου, μαγνησίου, ασβεστίου, σιδήρου, μαγγανίου και ψευδαργύρου ανά φυτό, ήταν επίσης σημαντικά μειωμένη στα φυτά της επέμβασης 400 μM Β σε σχέση με τον μάρτυρα (Εικ. 4, 5). Αναφορικά με την συνολική ποσότητα νατρίου ανά φυτό, δεν βρέθηκε κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφόρων επεμβάσεων με βόριο (Εικ. 5). Επιπρόσθετα, η απορρόφηση όλων των άλλων ανόργανων στοιχείων που μελετήθηκαν, μη εξαιρουμένου του νατρίου, παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με την συγκέντρωση βορίου στο θρεπτικό διάλυμα, με συντελεστές γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ **-0,421** για το Na και **-0,744** για το K (Πίν. 5). Οι αντίστοιχοι συντελεστές συσχέτισης (r) για τον P, Ca, Mg, Zn, Fe και Mn ήταν **-0,654**, **-0,668**, **-0,658**, **-0,688**, **-0,673** και **-0,670** (Πίν. 5, 6). Επομένως, η συγκέντρωση βορίου στο θρεπτικό διάλυμα συσχετίστηκε αρνητικά με την απορρόφηση του K, P, Ca, Mg, Zn, Mn, Fe και Na από τα φυτά της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Η μεγαλύτερη αρνητική τιμή συντελεστή γραμμικής συσχέτισης βρέθηκε στο K, ενώ η μικρότερη στο Na. Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα του Α πειράματος, στο Β πείραμα δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ μάρτυρα (25 μM Β) και της επέμβασης 400 μM Β σχετικά με τις συνολικές ποσότητες των P, K, Na που περιέχονταν στα φυτά. Πιθανότατα, αυτό εξηγείται από το μεγαλύτερο μέγεθος και την ηλικία των φυτών του Β πειράματος καθώς και από το ότι τα φυτά συγκομίστηκαν με την εμφάνιση των πρώτων ορατών συμπτωμάτων της τοξικότητας του Β στην επέμβαση 400 μM Β και όχι μετά από παρέλευση χρόνου και την εμφάνιση συμπτωμάτων ακόμα και στα φυτά της επέμβασης 50 μM Β, όπως έγινε στο Α πείραμα.

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

Η μεταβολή του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα δεν επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις των υπόλοιπων ανόργανων στοιχείων στα περισσότερα φυτικά μέρη δύο γενοτύπων εσπεριδοειδών (Paradakis *et al.*, 2003). Επιπλέον, καμία από τις εφαρμοζόμενες συγκεντρώσεις βορίου (0,25-5,00 ppm) δεν επηρέασε σημαντικά την συνολική ποσότητα K, P, Ca, Mg, Zn, Mn και Fe και κατά συνέπεια την απορρόφηση όλων αυτών των στοιχείων από φυτά εσπεριδοειδών. Από την άλλη μεριά, πολλές άλλες εργασίες δεν δείχνουν σταθερές επιπτώσεις του βορίου του θρεπτικού διαλύματος στις συγκεντρώσεις των ανόργανων στοιχείων στα διάφορα φυτικά μέρη διαφορετικών φυτικών ειδών (Shelp 1988; Gunes *et al.*, 1999; Sotiropoulos *et al.*, 1999; Chatzissavidis και Therios, 2010; Paparnakis *et al.*, 2013). Στα ραπανάκια, βρέθηκε ότι η υπερβολική δόση βορίου όχι μόνο επηρεάζει τις συγκεντρώσεις των διαφόρων στοιχείων, αλλά επίσης επηρεάζει την ισορροπία μεταξύ των κατιόντων ή τον λόγο κατιόντων προς βόριο (Tariq και Mott, 2006). Ωστόσο, οι Kaya *et al.* (2011) αναφέρουν πως η συγκέντρωση Ca και K στα φύλλα φυτών τομάτας (ηλικίας 5 μηνών) μειώθηκε με την αύξηση του βορίου του θρεπτικού διαλύματος. Μάλιστα, οι συγκεντρώσεις Ca και K στις ρίζες των φυτών που αναπτύχθηκαν κάτω από συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου ήταν σημαντικά μικρότερες από εκείνες των φυτών του μάρτυρα (Kaya *et al.*, 2011). Στην παρούσα εργασία, από τη μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης του βορίου του θρεπτικού διαλύματος (25 ή 400 μM B) στις συγκεντρώσεις και τις ποσότητες του καλίου, του φωσφόρου και του νατρίου στα φύλλα (βάσης και κορυφής), τους βλαστούς (φλοιός βάσης, κορυφής και ξύλο βάσης, κορυφής) και τις ρίζες προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα. Αναφορικά με το κάλιο, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της ποσότητάς (mg) του στις ρίζες (Εικ. 17Γ), ενώ αύξηση της συγκέντρωσής του (ppm) στο βλαστό (φλοιός και ξύλο) βάσης των φυτών της επέμβασης 400 μM B σε σχέση με τα φυτά του μάρτυρα (Εικ. 16B). Οι Tariq και Mott (2006) στα αποτελέσματά τους, σε ανάλογο πείραμα στο ραπανάκι, αναφέρουν ότι η αύξηση των επιπέδων βορίου στο θρεπτικό διάλυμα είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης του καλίου στο υπέργειο μέρος και στις ρίζες. Επίσης, οι Paparnakis *et al.* (2013) αναφέρουν αύξηση της συγκέντρωσης του καλίου σε φυτά μηλιάς στα οποία εφαρμόζονταν μεγάλες ποσότητες βορίου. Η αύξηση του καλίου, ως αποτέλεσμα των υψηλά εφαρμοζόμενων επιπέδων βορίου, φαίνεται να διαψεύδει την ύπαρξη ανταγωνισμού μεταξύ B-K όπως ανέφεραν οι Chatzissavidis *et al.* (2007), οι οποίοι βρήκαν ότι η αύξηση των επιπέδων βορίου στο θρεπτικό διάλυμα οδηγεί σε μείωση της

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

συγκέντρωσης καλίου σε φύλλα ελιάς. Στην προσπάθεια εξήγησης του παραπάνω φαινομένου οι Tariq και Mott (2006) υποστηρίζουν πως οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην αλληλεπίδραση βορίου-καλίου ερμηνεύονται από το γεγονός ότι η προσθήκη επιπλέον βορίου στο θρεπτικό διάλυμα ενισχύει την απορρόφηση καλίου από τα φυτά, επειδή το βόριο μειώνει την συγκέντρωση του ασβεστίου, λόγω ανταγωνισμού. Συγκεκριμένα, θεωρούν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του καλίου είναι μια έμμεση επίπτωση της υπερεπάρκειας βορίου, ενώ η μείωση της συγκέντρωσης του ασβεστίου στις επεμβάσεις με τα υψηλά επίπεδα βορίου φαίνεται να είναι το άμεσο αποτέλεσμα του βορίου. Οι Reeve και Shive (1944) αναφέρουν ότι το βόριο έχει μια στενή και άμεση σχέση με το ασβέστιο και μια έμμεση σχέση με το κάλιο όσον αφορά την απορρόφηση και τις διαδικασίες αφομοίωσης των δύο αυτών κατιόντων από τα φυτά. Τα ίδια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Kumar *et al.* (1981).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αύξηση του βορίου του θρεπτικού διαλύματος, από τα 25 στα 400 μM , μείωσε σημαντικά τις συγκεντρώσεις φωσφόρου (Εικ. 20) στο φλοιό κορυφής, στο ξύλο κορυφής καθώς και στο φλοιό βάσης. Επίσης, σημαντικά μειώθηκε η ποσότητα φωσφόρου των ριζών στην περίπτωση της επέμβασης 400 μM B, ενώ η συνολική ποσότητα φωσφόρου που απορροφήθηκε ανά φυτό δεν επηρεάστηκε σημαντικά. Στην περίπτωση του φωσφόρου, η μεγαλύτερη % περιεκτικότητά του και στις δύο επεμβάσεις βρέθηκε να είναι στο ξύλο κορυφής.

Στο νάτριο παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συγκέντρωσής του μόνο στον φλοιό κορυφής της επέμβασης 400 μM B σε σχέση με εκείνη του μάρτυρα (Εικ. 24). Οι ποσότητες των επιμέρους φυτικών μερών (φύλλα, βλαστός, ρίζα) καθώς και της συνολικής ποσότητας νατρίου που απορροφήθηκε ανά φυτό δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα.

Τα διαφορετικά αυτά αποτελέσματα μεταξύ των εργασιών πάνω στο θέμα αυτό, δηλ. της επίδρασης του βορίου στην πρόσληψη των διαφόρων στοιχείων καθώς και στις συγκεντρώσεις τους στους φυτικούς ιστούς, μπορεί να αντανακλούν σε διαφορετική κινητικότητα των θρεπτικών στοιχείων στα διάφορα είδη ή/και σε μεταβαλλόμενες απαιτήσεις των διαφόρων καλλιεργειών για θρεπτικά στοιχεία καθ' όλη την περίοδο ανάπτυξής τους (Shelp, 1988). Οι ειδικές επιδράσεις του βορίου στη συμπεριφορά των θρεπτικών στοιχείων είναι ακόμη ένα ανοικτό ζήτημα μεταξύ όσων ασχολούνται με την θρέψη των φυτών, πιθανώς λόγω της έλλειψης γνώσεων για το ρόλο του βορίου στις

βιοχημικές λειτουργίες των φυτών και της πολύπλοκης χημείας του στο έδαφος (Tariq και Mott, 2006).

3.1.3 Συγκεντρώσεις προλίνης, υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) και μαλονικής διαλδεΐδης (MDA)

Η συγκέντρωση της προλίνης στα φύλλα και στη ρίζα των φυτών του Α πειράματος δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τις υψηλές συγκεντρώσεις του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (Εικ. 10B, 10Γ). Ωστόσο, παρατηρήθηκε σημαντικά θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο βλαστό και της συγκέντρωσης της προλίνης στα φύλλα ($r=0,497$) (Πίν. 19). Ως γνωστό, ένα από τα εργοστάσια παραγωγής προλίνης είναι οι χλωροπλάστες και τα μιτοχόνδρια στα φύλλα (Szabados και Savouge, 2009). Η παραγωγή αυξημένων ποσοτήτων προλίνης είναι δυνατό, μέχρι ενός βαθμού, να υποβοηθήσει τους φυτικούς ιστούς στην αντιμετώπιση διαφόρων καταστάσεων καταπόνησης. Όπως αναφέρουν οι Xiong και Zhu (2002), διαλυτές ουσίες, όπως είναι η προλίνη, έχουν την ικανότητα να αποτοξινώνουν ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS), μέσω σχηματισμού σταθερών συμπλόκων με αυτές και κατά συνέπεια να αναστέλλουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών. Σε προηγούμενες μελέτες της επίδρασης της υπερεπάρκειας βορίου στη συσσώρευση προλίνης στα φυτά αναφέρονται διαφορετικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα, έχει αναφερθεί ότι η υψηλή συγκέντρωση βορίου στο θρεπτικό διάλυμα δεν επηρέασε σημαντικά την συγκέντρωση προλίνης σε ανθεκτικές και ευαίσθητες στο βόριο ποικιλίες κριθαριού (Karabal *et al.*, 2003). Σε υποκείμενα αμπέλου παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της προλίνης στα φυτά με την υπερεπάρκεια βορίου σε σχέση με εκείνη των φυτών του μάρτυρα (Soylemezoglu *et al.*, 2009). Επίσης, υψηλές συγκεντρώσεις βορίου (3,5 mg/l και 6,5 mg/l) προκάλεσαν αύξηση της συγκέντρωσης της προλίνης σε φύλλα τομάτας (Kaya *et al.*, 2011). Από την άλλη μεριά, μείωση της προλίνης ως αποτέλεσμα της υπερεπάρκειας βορίου έχει αναφερθεί στη μανταρινιά (Paradakis *et al.*, 2004), τη μηλιά (Mollasiotis *et al.*, 2006) και το κριθάρι (Inal *et al.*, 2009). Στην παρούσα εργασία, προφανώς ο βλαστός των φυτών στις μεγάλες επεμβάσεις με βόριο (200, 400 μM B) καταπονήθηκε περισσότερο απ' ό,τι τα φύλλα, μιας και μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βορίου βρέθηκαν στους βλαστούς από τα φύλλα (Εικ. 3A, 3B) αλλά και εντονότερα ήταν τα συμπτώματα στους βλαστούς σε σχέση με τα φύλλα (Α πείραμα). Γι' αυτό και παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

βορίου στο βλαστό και της συγκέντρωσης της προλίνης των φύλλων. Πιθανόν, με αυτό τον τρόπο τα φυτά προσπάθησαν να αμυνθούν στις παραγόμενες ενεργές μορφές οξυγόνου των βλαστών παράγοντας προλίνη στα φύλλα ή/και να προειδοποιήσουν τα φύλλα για την επερχόμενη καταπόνηση. Με άλλα λόγια, δεδομένης της προγενέστερης και εντονότερης καταπόνησης των βλαστών, πιθανόν να διαβιβάστηκε σήμα στα φύλλα για να παράξουν περισσότερη προλίνη. Όμως, αν και υπήρχε αυτή η τάση, τα φύλλα τελικά δεν μπόρεσαν να ανταποκριθούν επαρκώς σε αυτό το ερέθισμα μιας και δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα απόλυτα επίπεδα προλίνης των φύλλων μεταξύ των διαφόρων επεμβάσεων του βορίου (25-400 μM B) (Εικ. 10B, 10Γ). Δεδομένου ότι και στο B πείραμα δεν υπήρξαν διαφορές μεταξύ των δύο επεμβάσεων βορίου (25 και 400 μM) αναφορικά με τα επίπεδα της προλίνης στα φύλλα, στο φλοιό και τη ρίζα (Εικ. 29A), συμπεραίνεται ότι η προλίνη δεν φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση της υπερεπάρκειας του βορίου στην ιαπωνική μουσμουλιά.

Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) στα φύλλα και στο φλοιό (Εικ. 28A) των φυτών του B πειράματος δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από την συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα. Αντίθετα, η συγκέντρωση της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA) (Εικ. 28B) στα φύλλα και στο φλοιό στο ίδιο πείραμα ήταν σημαντικά αυξημένα στην περίπτωση της επέμβασης υπερεπάρκειας βορίου (400 μM B). Αντίστοιχα αποτελέσματα βρήκαν και οι Soyomezoglu *et al.* (2009) σε πείραμα μελέτης της υπερεπάρκειας βορίου σε δύο υποκείμενα αμπέλου. Στα φυτά με την υπερεπάρκεια βορίου παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της μαλονικής διαλδεΐδης σε σχέση με τα φυτά του μάρτυρα, ενώ αντίθετα η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου δεν επηρεάστηκε σημαντικά (Soyomezoglu *et al.*, 2009). Η συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα συσχετίστηκε θετικά με τη συγκέντρωση της μαλονικής διαλδεΐδης στα φύλλα φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς του A πειράματος (Τσιάντας, 2013; Παπαδάκης κ.α., 2013). Επιπλέον, η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και της μαλονικής διαλδεΐδης παρουσίασαν σημαντική αύξηση με την αύξηση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα σε φύλλα σπανακιού (Gunes *et al.*, 2007), κριθαριού (Inal *et al.*, 2009) και φασολιών (Nagesh *et al.*, 2012). Τα επίπεδα της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA) συχνά χρησιμοποιούνται ως δείκτης για την εκτίμηση της οξειδωτικής καταπόνησης στα φυτά. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της καταστροφής των φυτικών ιστών από ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS). Οι ελεύθερες ρίζες

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

δημιουργούν υπεροξειδωση των λιπιδίων και εν τέλει καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών. Η μαλονική διαλδεΐδη (MDA) είναι ένα από τα τελικά προϊόντα της υπεροξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα κύτταρα. Αύξηση των ενεργών ριζών οξυγόνου προκαλεί υπερπαραγωγή της μαλονικής διαλδεΐδης. Πράγματι, η υπερπαραγωγή της MDA στα φύλλα των φυτών της επέμβασης 400 μM B υποδηλώνει καταστροφές στις κυτταρικές μεμβράνες φύλλων και βλαστών, πιθανώς λόγω της ήπιας οξειδωτικής καταπόνησης που προκαλείται από την υπερεπάρκεια βορίου. Προφανώς, στο B πείραμα η καταπόνηση που προκλήθηκε από την υπερεπάρκεια βορίου δεν ήταν ισχυρή αφού και η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου δεν επηρεάστηκε σημαντικά στην επέμβαση 400 μM B. Επίσης, η συγκέντρωση της χλωροφύλλης στα φύλλα δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το βόριο του θρεπτικού διαλύματος (Paradakis *et al.*, 2014). Εάν τα φυτά συγκομίζονταν αργότερα, και όχι μόλις μια εβδομάδα μετά την εμφάνιση των πρώτων ορατών συμπτωμάτων τοξικότητας βορίου, η καταπόνηση θα μπορούσε να ήταν ισχυρότερη. Ωστόσο, στην περίπτωση αυτή θα αναμενόταν μείωση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης και αύξηση της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Με άλλα λόγια, η αύξηση της συγκέντρωσης της μαλονικής διαλδεΐδης στα φύλλα και οι σταθερές συγκεντρώσεις του υπεροξειδίου του υδρογόνου είναι δεδομένα τα οποία ξεκάθαρα αποδεικνύουν ότι η καταπόνηση ήταν σε αρχικό στάδιο και ως εκ τούτου, κάποια ενζυμικά ή/και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά συστήματα βοήθησαν τα φύλλα από τις καταστροφικές επιπτώσεις της υπερεπάρκειας βορίου. Αξίζει να αναφερθεί ότι σε παρόμοιο πείραμα με σπορόφυτα ιαπωνικής μουσμουλιάς ο διαφυλλικός ψεκασμός με ασκορβικό οξύ σε φυτά που ποτίζονταν με 400 μM B μείωσε σημαντικά την ποσότητα της MDA στα φύλλα. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης της MDA στα φυτά της επέμβασης 400 μM B + ασκορβικό οξύ σε σχέση με τα φυτά της επέμβασης 400 μM B (Παπαδάκης κ.α., 2013; Τσιάντας, 2013). Η παραπάνω εξήγηση των αποτελεσμάτων είναι σύμφωνη με όσα υποστηρίζουν οι Nagesh *et al.* (2012) οι οποίοι μελέτησαν τις επιπτώσεις της υπερεπάρκειας βορίου στις φωτοσυνθετικές παραμέτρους και στα αντιοξειδωτικά συστήματα φύλλων φασολιάς. Αναφέρουν ότι η υπερεπάρκεια βορίου μειώνει την φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων λόγω της συσσώρευσης ενεργών μορφών οξυγόνου και της αύξησης της υπεροξειδωσης των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών. Ως εκ τούτου, υπό συνθήκες ήπιας-μέτριας υπερεπάρκειας βορίου θα μπορούσε να ανταποκριθεί με επιτυχία το σύστημα ανίχνευσης και δέσμευσης των ενεργών μορφών

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

οξυγόνου του φυτού (αντιοξειδωτική προστασία), αλλά σε περιπτώσεις έντονης υπερεπάρκειας (πολύ τοξικές συνθήκες) βορίου το σύστημα μάλλον δεν μπορεί να ανταποκριθεί με αποτέλεσμα την έντονη οξειδωτική καταπόνηση των ιστών.

3.1.4 Πορεία διαλυτών σακχάρων και αμύλου στα φυτά

3.1.4.1 Σε περιβάλλον με φυσιολογικά επίπεδα βορίου (25 μM B)

Το βόριο έχει την ικανότητα να σχηματίζει σταθερά σύμπλοκα με οργανικές ουσίες που περιέχουν στο μόριο τους δύο (διόλες) ή περισσότερα (πολυόλες) υδροξύλια, αρκεί αυτά να έχουν διάταξη *cis*-διολών (Raven, 1980; Bergmann, 1992; Marschner, 1995; Cakmak και Romheld, 1997). Σύμφωνα με τους Cakmak και Romheld (1997), εξαιτίας αυτής και μόνο της ικανότητάς του το βόριο επηρεάζει πλήθος φυσιολογικών και βιοχημικών λειτουργιών του φυτού. Σ' αυτές τις ενώσεις περιλαμβάνονται η μαννιτόλη, η σορβιτόλη, η γλυκερόλη, η κατεχόλη, η ραμνογαλακτουράνη II, η ριβόζη, η απιόζη, διάφορα γλυκολιπίδια και γλυκοπρωτεΐνες, φαινόλες, όπως το καφεϊκό οξύ, αλλά και νουκλεοτίδια, όπως το νικοτινάμιδο-αδένινο δινουκλεοτίδιο (NAD) (Power και Woods, 1997). Σε αντίθεση με τα παραπάνω, ενώσεις όπως η φρουκτόζη, η γλυκόζη, η γαλακτόζη και η σακχαρόζη δεν έχουν *cis* διάταξη των υδροξυλικών τους ομάδων και κατά συνέπεια δεν σχηματίζουν σταθερά σύμπλοκα με το βόριο (Marschner, 1995). Τα σύμπλοκα του βορίου με τη σορβιτόλη είναι πιο σταθερά σε σχέση μ' αυτά της μαννιτόλης, ενώ τα σταθερότερα σύμπλοκα σχηματίζονται με τη ριβόζη και την απιόζη (Power και Woods, 1997). Οι Hu *et al.* (1997) προσπάθησαν και απομόνωσαν κάποια διαλυτά σύμπλοκα του βορίου με πολυόλες. Βρήκαν ότι στο σέλινο το βόριο σχηματίζει σύμπλοκα με τη μαννιτόλη: μαννιτόλη-B-μαννιτόλη, ενώ το κυριότερο σύμπλοκό του στη ροδακινιά ήταν σορβιτόλη-B-σορβιτόλη. Η πορεία, λοιπόν, των διαλυτών σακχάρων τόσο στο A όσο και στο B πείραμα παρουσίασε ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Σε κανονικές συνθήκες ανάπτυξης (φυσιολογικά επίπεδα βορίου στο θρεπτικό διάλυμα – 25 μM B) η κατανομή των διαλυτών σακχάρων στα φύλλα και των δύο πειραμάτων ήταν ανάλογη με μόνη διαφορά στις συγκεντρώσεις τους. Στο A πείραμα (φυτά ηλικίας 6 μηνών) τα δύο επικρατέστερα σάκχαρα στα φύλλα ήταν η σακχαρόζη και η σορβιτόλη (Εικ. 6A, 7B). Την μεγαλύτερη συγκέντρωση είχε η σορβιτόλη (5,6 %) και την μικρότερη η σακχαρόζη (3,3 %). Ακολούθως, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, ανιχνεύθηκαν η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η μαννιτόλη, με συγκεντρώσεις της τάξεως από

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

0,15 έως 0,30 % (Εικ. 6, 7). Στο Β πείραμα (φυτά ηλικίας 1,5 έτους) τα δύο επικρατέστερα σάκχαρα στα φύλλα ήταν η σακχαρόζη και η σορβιτόλη, με την σορβιτόλη να έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση (7,9 %) σε σχέση με την σακχαρόζη (5,5 %), όπως δηλαδή και στο Α πείραμα. Επίσης, ακολούθησαν, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η μαννιτόλη, με μέση συγκέντρωση 0,8 % (Εικ. 30). Με μια πρώτη ματιά στα αποτελέσματα των δύο πειραμάτων προκύπτουν δύο σημαντικά συμπεράσματα: α) τα κύρια σάκχαρα στα φύλλα της μουσμουλιάς είναι η σακχαρόζη και η σορβιτόλη (χαρακτηριστικό της οικογένειας Rosaceae) και β) η σύνθεση των σακχάρων φαίνεται να επηρεάζεται από την ηλικία των φυτών ή/και την ηλικία των φύλλων, αφού στο πείραμα Β καταγράφηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις σακχάρων από ότι στο πείραμα Α. Υπενθυμίζεται ότι στο Β πείραμα χρησιμοποιήθηκαν φυτά μεγαλύτερης ηλικίας και επίσης ελήφθησαν ωριμότερα φύλλα σε σχέση με το Α πείραμα.

Στα φυτά του Β πειράματος μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις των διαλυτών σακχάρων και στο φλοιό, η κατανομή των οποίων υπήρξε ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις εντοπίστηκαν η σακχαρόζη και η σορβιτόλη (μέση συγκέντρωση 5,5 %) (Εικ. 32), χωρίς να έχουν κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, αμέσως μετά ακολούθησε η μαννιτόλη (1,1 %) και ύστερα η γλυκόζη με την φρουκτόζη (μέση συγκέντρωση 0,32 %). Σύμφωνα με βιοχημικές αναλύσεις εκχυλισμάτων φλοιού και διάφορες μελέτες ανίχνευσης και προσδιορισμού βιομορίων στα δέντρα της οικογένειας Rosaceae (Zimmerman και Ziegler, 1975), η σορβιτόλη αποτελεί ένα από τα κύρια σάκχαρα που μεταφέρονται στο φλοιό. Σημαντικό επίσης είναι το αποτέλεσμα ότι οι συγκεντρώσεις της μαννιτόλης στο φλοιό της ιαπωνικής μουσμουλιάς ήταν σημαντικά αυξημένες σε σχέση με αυτές της γλυκόζης και της φρουκτόζης (Εικ. 32B). Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν επίσης την ευκινησία του βορίου εντός των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς, μέσω του ηθμού. Πράγματι, η μουσμουλιά ανήκει στην κατηγορία των φυτών που το βόριο κινείται με μεγάλη ευκολία μέσω του ηθμού από όργανο σε όργανο (Bantog *et al.*, 1999), προφανώς λόγω συμπλοκοποίησης του βορίου με τη σορβιτόλη και τη μαννιτόλη.

Στο πείραμα Β και κατά τη σύγκριση των συγκεντρώσεων των σακχάρων μεταξύ φύλλων και φλοιού προκύπτει πως οι συγκεντρώσεις γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης, σορβιτόλης, ολικών σακχάρων, μετακινούμενων σακχάρων (σακχαρόζη, μαννιτόλη, σορβιτόλη) και μη μετακινούμενων σακχάρων (γλυκόζη, φρουκτόζη) ήταν σημαντικά

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

μικρότερες στο φλοιό σε σχέση με τα φύλλα. Ωστόσο, δεν υπήρξε σημαντική διαφορά μεταξύ φύλλων και φλοιού σε ό,τι αφορά τη συγκέντρωση της σακχαρόζης. Όπως αναφέρεται από τους Reidel *et al.* (2009), τα επίπεδα σακχαρόζης και σορβιτόλης στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων του μεσοφύλλου της μηλιάς ήταν σημαντικά υψηλότερα από αυτά που μετρήθηκαν στα εκχυλίσματα ολόκληρων των φύλλων, γεγονός το οποίο υποδηλώνει πως η μεταφορά των σακχάρων στο φλοιό είναι μικρότερη. Παρ' όλα αυτά, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των Nadwodnik και Lohaus (2008), οι συγκεντρώσεις της σορβιτόλης και της σακχαρόζης στη ροδακινιά (φυτό που ανήκει στην ίδια οικογένεια με την ιαπωνική μουσμουλιά) ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στα εκχυλίσματα φλοιών απ' ό,τι στο κυτταρόπλασμα του μεσοφύλλου στο οποίο δεν εντοπίζεται διάχυση μέσω πλασμοδεσμών. Επίσης, οι ίδιοι ερευνητές σε είδη του γένους *Plantago spp.* και στο σέλινο βρήκαν πως η συγκέντρωση της σακχαρόζης και των υπόλοιπων σακχάρων ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στο χυμό του φλοιού απ' ό,τι στα κύτταρα του μεσοφύλλου, γεγονός που πιθανόν υποδεικνύει την ύπαρξη ενός εξειδικευμένου μηχανισμού μεταφοράς των σακχάρων με αποπλαστική κίνηση. Τέλος, οι Moing *et al.* (1997) βρήκαν ότι στη ροδακινιά και τα δύο σάκχαρα (σορβιτόλη, σακχαρόζη) εντοπίζονται στο φλοιό, με την σακχαρόζη να έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση από τη σορβιτόλη.

3.1.4.2 Σε περιβάλλον με αυξημένα επίπεδα βορίου

Η ανάπτυξη των φυτών σε περιβάλλον με αυξημένες συγκεντρώσεις βορίου τόσο στο Α όσο και στο Β πείραμα οδήγησε σε αλλαγές στο μεταβολισμό των διαλυτών σακχάρων. Συγκεκριμένα, στο Α πείραμα παρατηρήθηκαν οι παρακάτω σημαντικές διαφορές στα φύλλα των φυτών που ποτίζονταν με αυξημένες συγκεντρώσεις βορίου (50, 100, 200 ή 400 μM Β) σε σχέση με το μάρτυρα (25 μM Β): α) μείωση της συγκέντρωσης της σακχαρόζης, β) αύξηση των συγκεντρώσεων της γλυκόζης, της φρουκτόζης και του αθροίσματος των μη μετακινούμενων σακχάρων (γλυκόζη και φρουκτόζη), και γ) μείωση της συγκέντρωσης των ολικών σακχάρων και του αθροίσματος των μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη, σορβιτόλη) σακχάρων. Όσον αφορά τους συντελεστές γραμμικής συσχέτισης, η μαννιτόλη και η σορβιτόλη δεν συσχετίστηκαν σημαντικά με το βόριο του θρεπτικού διαλύματος. Ωστόσο, ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στα φύλλα και της % περιεκτικότητας της σορβιτόλης στα φύλλα ήταν $r = -0,413$ (Πιν. 10), δηλ. υπήρξε σημαντικά αρνητική συσχέτιση. Το ίδιο συνέβη και κατά τη γραμμική συσχέτιση

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

μεταξύ της συγκέντρωσης του βορίου στο βλαστό με την % περιεκτικότητα σορβιτόλης των φύλλων ($r = -0,408$) (Πίν. 13). Τα αποτελέσματα συμφωνούν με όσα έχουν αναφέρει οι Han *et al.* (2009). Συγκεκριμένα, βρήκαν ότι στην περίπτωση της υπερεπάρκειας βορίου τα φυτά παράγουν μεγαλύτερες ποσότητες γλυκόζης και φρουκτόζης, τη στιγμή που οι ποσότητες της σακχαρόζης, του αμύλου και ολικών υδατανθράκων μειώνονται. Επίσης, σε μελέτη υπερεπάρκειας βορίου σε εσπεριδοειδή βρέθηκε ότι τα φυτά που ποτίζονταν με πολύ βόριο (2,5 mg/l) παρουσίασαν μειωμένη ποσότητα υδατανθράκων σε σχέση με τα φυτά του μάρτυρα.

Αναφορικά με την μείωση της σακχαρόζης (δισακχαρίτης αποτελούμενος από γλυκόζη και φρουκτόζη) και την παράλληλη αύξηση γλυκόζης και της φρουκτόζης στα φύλλα, η πιθανότερη και μάλλον επικρατέστερη εξήγηση είναι η διατάραξη της λειτουργίας της φωτοσύνθεσης. Πράγματι, όπως αναφέρουν οι Papadakis *et al.* (2004), φυτά εσπεριδοειδών που αναπτύχθηκαν κάτω από υψηλές συγκεντρώσεις βορίου (2,5 mg/l) εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές φωτοσυνθετικού ρυθμού, στοματικής αγωγιμότητας και λόγου φωτοσυνθετικού ρυθμού/εσωτερική συγκέντρωση CO₂. Επίσης, σε φύλλα εσπεριδοειδών και στην περίπτωση υπερεπάρκειας βορίου παρατηρήθηκε μείωση του ρυθμού φωτοσύνθεσης, της στοματικής αγωγιμότητας, της δραστηριότητας του ενζύμου Rubisco και αύξηση της εσωτερικής συγκέντρωσης CO₂, καθώς και της δραστηριότητας του ενζύμου ιμπερτάση (Han *et al.*, 2009). Παρόμοια αποτελέσματα (μείωση ρυθμών φωτοσύνθεσης και διαπνοής) παρατηρήθηκαν και στα φυτά της ιαπωνικής μουσμουλιάς του Β πειράματος (Γερογιάννης, 2014, Papadakis *et al.*, 2014). Διάφορες άλλες μελέτες έδειξαν ότι η μείωση του φωτοσυνθετικού ρυθμού των φύλλων σε φυτά τα οποία αναπτύσσονταν σε υψηλές συγκεντρώσεις βορίου οφείλονταν σε παράγοντες που είχαν να κάνουν ή όχι με την λειτουργία των στοματίων. Συγκεκριμένα, η υπερεπάρκεια βορίου προκάλεσε σημαντική μείωση του ρυθμού φωτοσύνθεσης στα ακτινίδια χωρίς καμία σημαντική διαφορά στην στοματική αγωγιμότητα (Sotiropoulos *et al.*, 2002). Κάποιοι πιθανοί παράγοντες που προκαλούν μείωση στο ρυθμό φωτοσύνθεσης και δεν αφορούν στη λειτουργία των στοματίων είναι: α) η μείωση της απόδοσης της καρβοξυλίωσης, β) η μείωση των συγκεντρώσεων των χλωροφυλλών, γ) οξειδωτικές καταστροφές στους χλωροπλάστες και δ) η μείωση της φωτοχημικής ικανότητας του φωτοσυστήματος II. Πράγματι, όπως αναφέρουν οι Papadakis *et al.* (2014), η απόδοση της καρβοξυλίωσης σε φυτά μουσμουλιάς που ποτίζονταν με υψηλή συγκέντρωση βορίου (400 μM Β) ήταν σαφώς

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

μικρότερη από εκείνη των φυτών της επέμβασης με 25 μM B, αφού η υπερβολική δόση βορίου μείωσε σημαντικά τον ρυθμό φωτοσύνθεσης των φύλλων χωρίς να επηρεάσει την εσωτερική συγκέντρωση CO_2 των κυττάρων. Με βάση τα παραπάνω και δεδομένου ότι η σακχαρόζη αποτελεί το κύριο προϊόν της φωτοσύνθεσης γίνεται φανερό πως η μείωση της συγκέντρωσής της ήταν μάλλον αναμενόμενη, αφού το υπερβολικό βόριο μάλλον προκάλεσε έμμεσο μπλοκάρισμα της φωτοσύνθεσης μέσω της οξειδωτικής καταπόνησης των χλωροπλαστών. Σε αυτό το σημείο κρίνεται απαραίτητο να τονιστούν η αύξηση της μαλονικής διαλδεΐδης (βλ. 3.1.3) καθώς και οι ανατομικές αλλοιώσεις (μείωση του αριθμού των χλωροπλαστών) που παρατηρήθηκαν κατά τις ανατομικές μελέτες στα αντίστοιχα φύλλα (βλ. 3.1.5). Τέλος, αφού η σακχαρόζη ήταν το μόνο από τα μετακινούμενα σάκχαρα το οποίο επηρεάστηκε αρνητικά από τη συγκέντρωση του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα, αναμενόμενο ήταν να επηρεαστούν αρνητικά τα ολικά και θετικά τα μη μετακινούμενα σάκχαρα. Εφόσον, λοιπόν, τα φυτά δεν μπορούσαν να παράξουν σακχαρόζη, έπρεπε με κάποιο τρόπο να καλύψουν τις ενεργειακές τους ανάγκες με καταβολισμό υδατανθράκων.

Ως γνωστόν, η σακχαρόζη αποτελείται από γλυκόζη και φρουκτόζη, σάκχαρα των οποίων οι συγκεντρώσεις βρέθηκαν σημαντικά αυξημένες στις επεμβάσεις με υψηλά επίπεδα βορίου. Το εύρημα αυτό σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα των Han *et al.* (2009), που βρήκαν αυξημένη δραστηριότητα του ενζύμου ιμπερτάση σε φυτά που αναπτύσσονταν με υψηλά επίπεδα βορίου, πιθανώς να δικαιολογεί τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης και φρουκτόζης στα φυτά που αναπτύσσονταν σε υψηλές συγκεντρώσεις βορίου. Ομοίως, ίσως δικαιολογείται και η αυξημένη συγκέντρωση αμύλου στα φύλλα της επέμβασης 100 μM B (Εικ. 10Α, πείραμα Α). Το άμυλο είναι ένας πολυσακχαρίτης αποτελούμενος από πολλά μόρια γλυκόζης. Οι Cave *et al.* (1981) αναφέρουν ότι σε συνθήκες καταπόνησης τα φυτά συσσωρεύουν άμυλο στα φύλλα. Το γεγονός ότι τα φυτά της επέμβασης 100 μM B είχαν την μεγαλύτερη συγκέντρωση αμύλου σε σχέση με όλες τις μεγαλύτερες επεμβάσεις βορίου, πιθανώς να εξηγείται από την ικανότητα των φυτών αυτών να ανταπεξέρχονται στην καταπόνηση βορίου, η οποία ήταν βεβαίως ηπιότερη σε σχέση με τις επεμβάσεις 200-400 μM B. Με άλλα λόγια, στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (200 και 400 μM B) τα φυτά είχαν υποστεί αρκετά εκτεταμένες βλάβες με αποτέλεσμα η όποια αντίδρασή τους για επιβίωση να ήταν «χλιαρή». Το γεγονός αυτό, δηλαδή της γενικευμένης αδράνειας των φυτών του Α

Κεφάλαιο 3ο: Συζήτηση και Συμπεράσματα

πειράματος στις επεμβάσεις 200-400 μM B υποστηρίζεται από τη σημαντική μείωση της πρόσληψης όλων των ανόργανων στοιχείων από τη ρίζα, συμπεριλαμβανομένου του βορίου (βλ. 3.1.1, 3.1.2).

Όσον αφορά το B πείραμα, οι αλλαγές στις συγκεντρώσεις της σακχαρόζης, της γλυκόζης, της φρουκτόζης και των μη μετακινούμενων σακχάρων (γλυκόζη και φρουκτόζη) στα φύλλα ήταν ανάλογες του A πειράματος. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση της σακχαρόζης και αύξηση της γλυκόζης, της φρουκτόζης και των μη μετακινούμενων σακχάρων (Εικ. 30). Ωστόσο, στο B πείραμα παρατηρήθηκαν δύο ουσιαστικές διαφορές από το πείραμα A. Στα φύλλα των φυτών της επέμβασης 400 μM B του B πειράματος η συγκέντρωση της σορβιτόλης αυξήθηκε σημαντικά σε σχέση με το μάρτυρα, ενώ αυτή των μετακινούμενων σακχάρων και του αμύλου δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την επέμβαση του βορίου (Εικ. 29B, Εικ. 31B). Επίσης, τα παραπάνω αποτελέσματα στο B πείραμα εντοπίστηκαν και στο φλοιό των φυτών αυτών, με μόνη διαφορά ότι το άμυλο του φλοιού στην περίπτωση της επέμβασης 400 μM B μειώθηκε σημαντικά. Όπως αναφέρουν οι Suzuki και Dandekar (2014), η σακχαρόζη και η σορβιτόλη λειτουργούν ως μοριακά σήματα στα όργανα παραγωγής (φύλλα) των δέντρων της οικογένειας Rosaceae. Τα δέντρα αυτά έχουν μηχανισμούς για να διατηρούν την σορβιτόλη ως το κύριο μεταφερόμενο σάκχαρο, γεγονός που δείχνει πως το σάκχαρο αυτό παίζει έναν σημαντικό ρόλο στην στρατηγική επιβίωσής τους (Suzuki και Dandekar, 2014). Μάλιστα, στα δέντρα της οικογένειας Rosaceae η οσμωτική ρύθμιση των κυττάρων κατά την διάρκεια της έλλειψης νερού γίνεται κυρίως με την συσσώρευση σορβιτόλης (Bianco *et al.*, 2000). Επίσης, η σορβιτόλη ή άλλες πολυόλες μπορεί να λειτουργήσουν ως διαλυτές ουσίες για την οσμωτική ρύθμιση σε είδη *Plantago spp.* (Gorham *et al.* 1981; Briens και Larher 1983), στο *Hedera helix L.* (Moore *et al.* 1997) καθώς και σε είδη της οικογένειας Oleaceae (Gucci *et al.*, 1997; Guicherd *et al.*, 1997; Peltier *et al.*, 1997). Σημαντικός είναι και ο ρόλος των πολυολών να παρεμποδίζουν την συσσώρευση ενεργών ριζών οξυγόνου (Brown και Hu, 1996; Escobar-Gutiérrez και Gaudillère, 1996), οι οποίες στο παρόν πείραμα ήταν ο λόγος καταστροφής των κυτταρικών μεμβρανών (αυξημένες τιμές μαλονικής διαλδεΐδης). Με άλλα λόγια, η σημαντική αύξηση της σορβιτόλης στην επέμβαση 400 μM B πιθανόν να λειτούργησε ως «αντιοξειδωτικό», δηλ. να συνέβαλε στην καλύτερη λειτουργία του αντιοξειδωτικού μηχανισμού ενάντια στην καταπόνηση βορίου. Το γεγονός αυτό δεν παρουσιάστηκε στο A πείραμα, πιθανόν λόγω της μικρής ηλικίας των φυτών και κατά συνέπεια της μεγαλύτερης ευαισθησίας τους στην

υπερεπάρκεια βορίου σε συνδυασμό με την περιορισμένη ικανότητά τους να παράγουν σάκχαρα, μιας και οι συγκεντρώσεις όλων των σακχάρων ήταν σαφώς μικρότερες στα φύλλα του Α πειράματος σε σχέση με το Β. Τέλος, είναι πιθανό η σύνθεση σακχαρόζης στα φύλλα να επηρεαστεί από την συσσώρευση σορβιτόλης στα είδη της οικογένειας Rosaceae. Πιθανόν, η παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου κάτω από συνθήκες καταπόνησης βορίου να οδήγησαν σε υπερέκφραση του γονιδίου που είναι υπεύθυνο για την παραγωγή της σορβιτόλης με αποτέλεσμα η συγκέντρωση της σορβιτόλης τόσο στα φύλλα όσο και στο φλοιό να είναι αυξημένη. Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώνεται εν μέρει και από τους Bianco *et al.* (2000). Επίσης, η μείωση της περιεκτικότητας αμύλου στο φλοιό των φυτών της επέμβασης 400 μM Β αποτελεί σημαντικό εύρημα. Πιθανόν τα φυτά λόγω της σημαντικής μείωσης της σακχαρόζης να χρησιμοποίησαν τις πηγές αποθήκευσης φωτοσυνθετικών προϊόντων, όπως είναι το άμυλο, του φλοιού. Ωστόσο, για μεγαλύτερη ακρίβεια στη μελέτη της καταπόνησης της υπερεπάρκειας βορίου θα ήταν σημαντικό να γίνουν περαιτέρω έρευνες που θα συμπεριλάμβαναν και αναλύσεις φωτοσυνθετικών ενζύμων ή/και γονιδίων.

3.1.5 Μορφολογικές και ανατομικές αλλοιώσεις φύλλων και βλαστών

Τα αυξημένα επίπεδα βορίου στο θρεπτικό διάλυμα επηρέασαν σημαντικά τη δομή και την ανατομία των φύλλων και των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς. Συγκεκριμένα, στην επέμβαση υπερεπάρκειας βορίου (400 μM Β) το πάχος του σπογγώδους παρεγχύματος και το συνολικό πάχος του φύλλου αυξήθηκαν σημαντικά σε σχέση με εκείνα του μάρτυρα. Αναφορικά με το βλαστό παρατηρήθηκε επιτάχυνση της δευτερογενούς αύξησης του βλαστού με δημιουργία φελλού και έντονη ανάπτυξη κολλεγχυματικού ιστού. Ο Cetin (2009) σε πειράματα που έκανε σε μηδική (*Medicago sativa*) βρήκε πως η αύξηση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα είχε σαν αποτέλεσμα διαφόρων τύπων αλλοιώσεις στη δομή και τη μορφολογία των κυττάρων. Επίσης, ο αριθμός των στοματίων και των κυττάρων της επιδερμίδας ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου αυξήθηκαν, ενώ η δομή των κυττάρων των στοματίων και της επιδερμίδας αλλοιώθηκε με χαρακτηριστικά έλλειψης σπαργής (Cetin, 2009). Δηλαδή, με την αύξηση της ποσότητας του βορίου στα φυτά παρουσιάστηκε μια περισσότερο ξηρομορφική δομή στα φύλλα. Δεδομένου ότι υπάρχει μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της

έντασης της ξηρομορφικής δομής των φύλλων και της διαπνοής των φυτών (αφού τα στομάτια ήταν περισσότερα) φαίνεται πως οι ανατομικές-μορφολογικές αυτές αλλαγές αποτελούν έναν μηχανισμό προσαρμογής των φυτών που καλλιεργούνται σε εδάφη με υψηλές ποσότητες βορίου (Cetin, 2009). Από την άλλη μεριά, η υπερεπάρκεια βορίου δεν επηρέασε την αποθήκευση νερού στους ιστούς των φύλλων του είδους *Guzmania lingulata* γεγονός το οποίο δείχνει ότι η νέκρωση των φύλλων πιθανόν δεν σχετιζόταν με την έλλειψη νερού (Κυο και Υeh, 2006). Οι επιδράσεις της υπερεπάρκειας βορίου στη δομή των φύλλων είναι παρόμοιες σε πολλά φυτικά είδη και περιορίζονται στα κύτταρα του μεσοφύλλου (Paradakis *et al.*, 2004). Το ίδιο παρατηρήθηκε και στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς, όπου υπό συνθήκες υπερεπάρκειας του βορίου καταγράφηκε αύξηση του πάχους των φύλλων λόγω επαύξησης του πάχους του σπογγώδους παρεγχύματός τους (Εικ. 37). Επίσης, τα άφθονα μικρά κόκκινα στίγματα που παρουσιάστηκαν στην πρώτη σειρά κυττάρων του πασσαλώδους παρεγχύματος (Εικ. 37) πιθανόν να είναι ελαιοσταγονίδια. Από τεχνικής πλευράς, ο έντονος κόκκινος φθορισμός τους οφείλεται στο ότι καθώς κόβεται η τομή συμπαρασύρεται η χλωροφύλλη και απορροφάται από τα ελαιοσταγονίδια. Γενικότερα, τα ελαιοσταγονίδια στοιχίζονται συνήθως σε σειρά, κατά κύριο λόγο στις ανώτερες σειρές του πασσαλώδους παρεγχύματος, και έχουν παρατηρηθεί σε αρκετά αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Ένας από τους ρόλους που τους αποδίδεται είναι η προστασία των κυττάρων έναντι διαφόρων καταπονήσεων. Ένας τέτοιος ρόλος δεν μπορεί να αποκλειστεί στην περίπτωση της ιαπωνικής μουσμουλιάς δεδομένου ότι υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου ο αριθμός και το μέγεθος των ελαιοσταγονιδίων αυξήθηκαν σημαντικά έναντι του μάρτυρα. Επιπλέον, η επιτάχυνση της δευτερογενούς αύξησης του βλαστού της ιαπωνικής μουσμουλιάς, ως αποτέλεσμα της υπερεπάρκειας του βορίου, πιθανόν να είναι ένας έμμεσος μηχανισμός «αποτοξίνωσης» της υπερβολικής ποσότητας βορίου στα φυτά. Το γεγονός αυτό συνδέεται άμεσα με την εμπλοκή του βορίου στη δημιουργία των κυτταρικών τοιχωμάτων, μέσω της συμπλοκοποίησής του με τη ραμνογαλακτουρονάνη II. Η ραμνογαλακτουρονάνη II (RG-II) είναι ένα χαμηλού μοριακού βάρους δομικό πολυμερές του πηκτινικού κλάσματος, το οποίο εντοπίζεται στο κυτταρικό τοίχωμα των αναπτυσσόμενων φυτικών κυττάρων (O'Neill *et al.*, 1991; O'Neill *et al.*, 1996). Είναι η πρώτη ένωση που περιέχει βόριο, η οποία κάτω από σταθερές φυσικές συνθήκες παρέχει σταθερότητα στη δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων (Chatzissavidis και Therios, 2011). Συγκεκριμένα, η δημιουργία εκτεταμένου κολεγχυματικού-μη φωτοσυνθετικού

ιστού (κύτταρα με ελάχιστους χλωροπλάστες και πολύ παχιά κυτταρικά τοιχώματα), όπως και στρώματος φελλωδών κυττάρων με επίσης παχιά τοιχώματα, αμέσως κάτω από τα επιδερμικά κύτταρα του βλαστού, ενισχύει ιδιαίτερα την παραπάνω άποψη. Με αυτούς τους τρόπους τα φυτά της ιαπωνικής μουσμουλιάς αντέδρασαν στις υπερβολικές συγκεντρώσεις του βορίου εντός των ιστών του φλοιού του βλαστού τους, ενσωματώνοντας και δεσμεύοντας σε αυτούς αρκετό βόριο με σκοπό να περιορίσουν ή, τουλάχιστον, να καθυστερήσουν τις τοξικές του επιδράσεις στα πλέον ενεργά φωτοσυνθετικά κύτταρα του θεμελιώδους παρεγχύματος. Με βάση τα παραπάνω, κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση και εκτενέστερη μελέτη της επίδρασης του βορίου στα μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά των ιστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς με σκοπό την καλύτερη κατανόηση της διαχείρισης μεγάλων συγκεντρώσεων βορίου από τα φυτά αυτής αλλά και γενικότερα από άλλα είδη της οικογένειας Rosaceae.

3.2 Συμπεράσματα

Από τα πειράματα και τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης εξάγονται, μεταξύ άλλων, τα παρακάτω ενδιαφέροντα συμπεράσματα:

- ❖ Η ιαπωνική μουσμουλιά είναι ευαίσθητη έως πολύ ευαίσθητη καλλιέργεια στην υπερεπάρκεια βορίου, αφού ακόμη και η συγκέντρωση των 50 μM B (περίπου 0,54 ppm B) στο θρεπτικό διάλυμα προκάλεσε την εμφάνιση συμπτωμάτων τοξικότητας βορίου.
- ❖ Το βόριο στα φυτά της ιαπωνικής μουσμουλιάς είναι ευκίνητο στοιχείο. Ως τέτοιο, έχει την τάση να συσσωρεύεται στο φλοιό του βλαστού καθώς και στα νεότερα φύλλα των φυτών.
- ❖ Τα συμπτώματα της υπερεπάρκειας βορίου εμφανίζονται αρχικά στο μέσο έως ανώτερο τμήμα των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς, πλήττοντας νωρίτερα και εντονότερα το φλοιό και εν συνεχεία τα φύλλα.
- ❖ Υπό συνθήκες παρατεταμένης και μόνο έκθεσης των φυτών σε συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου παρατηρείται σημαντική μείωση της πρόσληψης των υπόλοιπων ανόργανων θρεπτικών στοιχείων.

- ❖ Υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές μαλονικής διαλδεΰδης στους φυτικούς ιστούς, στοιχείο που καταμαρτυρεί την ύπαρξη βλαβών στις κυτταρικές μεμβράνες, πιθανόν λόγω οξειδωτικής καταπόνησής τους.
- ❖ Τα κύρια σάκχαρα στα φύλλα και στο φλοιό των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς είναι η σακχαρόζη και η σορβιτόλη, ενώ κατά πολύ μικρότερες είναι οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης, της φρουκτόζης και της μαννιτόλης.
- ❖ Υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου παρατηρείται σημαντική διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων τόσο στα φύλλα όσο και στο φλοιό των βλαστών φυτών. Συγκεκριμένα, μειώνονται οι συγκεντρώσεις της σακχαρόζης και αυξάνονται αυτές της σορβιτόλης, της γλυκόζης και της φρουκτόζης.
- ❖ Η προλίνη δεν φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς έναντι των τοξικών επιδράσεων της υπερεπάρκειας του βορίου. Ωστόσο, ένας τέτοιος-αντιοξειδωτικός ρόλος δεν μπορεί να αποκλειστεί για την περίπτωση της σορβιτόλης.
- ❖ Από την ανατομική μελέτη των φύλλων προέκυψε πως η υπερεπάρκεια του βορίου οδηγεί σε αύξηση του πάχους του ελάσματός τους, κυρίως λόγω της αύξησης του πάχους του σπογγώδους παρεγχύματός τους. Παράλληλα, αυξάνεται ο αριθμός και το μέγεθος των ελαιοσταγονιδίων.
- ❖ Από την ανατομική μελέτη των βλαστών προέκυψε πως η υπερεπάρκεια του βορίου επιταχύνει τη δευτερογενή αύξησή τους. Δεδομένου ότι ο φλοιός αποτελεί το βασικότερο κέντρο συσσώρευσης βορίου σε επίπεδο φυτού συζητείται η άποψη της ύπαρξης ενός μηχανισμού προσαρμογής των φυτών στο πολύ βόριο, μέσω της δέσμευσης-ακινητοποίησης μεγάλων ποσοτήτων του στα τοιχώματα των κυττάρων των νεοσχηματιζόμενων-μη φωτοσυνθετικά ενεργών ιστών του φλοιού.

A. Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Abdulnour J.E., Donnelly D.J., Barthakur N.N.** (2000). The effect of boron on calcium uptake and growth in micropropagated potato plantlets. *Potato Res* 43(3):287–295.
- Adcock D., McNeill A. M., McDonald G. K., and Armstrong R. D.** (2007). Subsoil constraints to crop production on neutral and alkaline soils in south-eastern Australia: a review of current knowledge and management strategies. *Animal Production Science*, 47(11), 1245-1261.
- Adriano D. C.** (1986). Trace Elements in the Terrestrial Environment. pp 73–105. Springer-Verlag, New York.
- Allison L. E.** (1964). Salinity in relation to irrigation. *Advances in Agronomy*, 16, 139-180.
- Apel K., and Hirt H.** (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- Aucejo A., Ferrer, J., Gabaldón C., Marzal P., and Seco A.** (1997). Diagnosis of boron, fluorine, lead, nickel and zinc toxicity in citrus plantations in Villarreal, Spain. *Water, Air, and Soil Pollution*, 94(3-4), 349-360.
- Ayers R.S. and Westcot D.W.** (1976). Water Quality for Irrigation Irrigation and Drainage. *Paper 29 Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, Italy* (1976).
- Bantog-Abnasan N., Shiratake K., and Yamaki S.** (1999). Changes in sugar content and sorbitol-and sucrose-related enzyme activities during development of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl. cv. Mogi) fruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science (Japan)*.
- Barth R. C., Severson R. C., and Weiler G.** (1987). Boron. *In Reclaiming Mine Soils and Overburden in the Western US: Analytical Parameters and Procedures*. Eds. R D Williams and G E Schuman. pp 135–153. *Soil Conservation Soc. Am., Ankey, IA, USA*.
- Bennett W.F.** (1993). Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants. *APS Press, St Paul, MN, USA*.
- Bergmann W.** (1992). Colour atlas: nutritional disorders of plants. *Gustav Fischer, New York*.
- Bianco Lo, Rieger., and Sung S. J. S.** (2000). Effect of drought on sorbitol and sucrose metabolism in sinks and sources of peach. *Physiologia Plantarum*, 108(1), 71-78.
- Biggar J. W., and Fireman M.** (1960). Boron adsorption and release by soils. *Soil Science Society of America Journal*, 24(2), 115-120.

- Blevins D.G., Lukaszewski K.M.** (1998). Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. **49**, 481-500.
- Bolouri-Moghaddam M. R., Le Roy K., Xiang L., Rolland F., and Van den Ende W.** (2010). Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. *FEBS journal*, **277**(9), 2022-2037.
- Brady N. C., and Weil R. R.** (1996). *The nature and properties of soils* (No. Ed. 11). Prentice-Hall Inc.
- Briens M., & Larher F.** (1983). Sorbitol accumulation in Plantaginaceae; further evidence for a function in stress tolerance. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, **110**(5), 447-458.
- Brown P. H. and Hu H.** (1996). Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. *Annals of Botany*. **77**, 497-505.
- Brown P.H. and Shelp B.J.** (1997). Boron mobility in plants. *Plant and Soil*. **193**, 85-101.
- Brown P. H., and Hu H.** (1996). Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. *Annals of Botany*, **77**(5), 497-506.
- Brown P. H., and Hu H.** (1998). Phloem boron mobility in diverse plant species. *Botanica acta*, **111**(4), 331-335.
- Brown P. H., Bellaloui N., Wimmer M. A., Bassil E. S., Ruiz J., Hu H., and Römheld V.** (2002). Boron in plant biology. *Plant biology*, **4**(2), 205-223.
- Brown P. H., Hu H., and Roberts W. G.** (1999). Occurrence of sugar alcohols determines boron toxicity symptoms of ornamental species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **124**(4), 347-352.
- Cakmak I., and Römheld V.** (1997). Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. *Plant and Soil*, **193**(1-2), 71-83.
- Cakmak I., Kurz H., and Marschner H.** (1995). Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. *Physiologia Plantarum*, **95**(1), 11-18.
- Camacho-Cristobal J. J., Maldonado J. M., Gonzalez-Fontes A.** (2005). Boron deficiency increases putrescine levels in tobacco plants. *Journal of Plant Physiology*. **162**, 921-928.
- Camacho-Cristóbal J. J., Rexach J., and González-Fontes A.** (2008). Boron in plants: deficiency and toxicity. *Journal of Integrative Plant Biology*, **50**(10), 1247-1255.
- Cave G., Tolley L. C., and Strain B. R.** (1981). Effect of carbon dioxide enrichment on chlorophyll content, starch content and starch grain structure in *Trifolium subterraneum* leaves. *Physiologia Plantarum*, **51**(2), 171-174.

- Çetin E.** (2009). Effects of Boron Stress on the Anatomical Structure of *Medicago sativa* L. *IUFS Journal of Biology*, 68(1), 27-35.
- Chatzissavvidis C. A., Therios I. N., and Antonopoulou C.** (2007). Effect of nitrogen source on olives growing in soils with high boron content. *Animal Production Science*, 47(12), 1491-1497.
- Chatzissavvidis C., and Therios I.** (2010). Response of four olive (*Olea europaea* L.) cultivars to six B concentrations: Growth performance, nutrient status and gas exchange parameters. *Scientia horticultrae*, 127(1), 29-38.
- Chatzissavvidis C. A., Therios I. N.** (2011). Boron in higher plants. In: Boron: Compounds, Production and Application. Gary L. Perkins, pp. 147-176. *Nova Science Publishers, Inc.*
- Chatzissavvidis C. A., Therios I. N., and Antonopoulou C.** (2004). Seasonal variation of nutrient concentration in two olive (*Olea europaea* L.) cultivars irrigated with high boron water. *Journal of horticultural science & biotechnology*, 79(5), 683-688.
- Cibes H. R., Hernandez E., and Childers N. F.** (1955). Boron toxicity induced in a New Jersey peach orchard. Part I. In *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci* (Vol. 66, pp. 13-20).
- Cotton FA, Wilkinson G.** (1988). Advanced inorganic chemistry, 5th edn. *Wiley, New York.*
- Couée I., Sulmon C., Gouesbet G., and El Amrani A.** (2006). Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 57(3), 449-459.
- Cox F. R.** (1987). Micronutrient soil tests: Correlation and calibration. *Soil testing: sampling, correlation, calibration, and interpretation*, (soil testing samp), 97-117.
- Crandall P. C., Chamberlain J. D. and Garth J. K. L.** (1981). Toxicity symptoms and tissue levels associated with excess boron in pear trees. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 12: 1047-1057.
- Crane J. H. and Caldeira M.L.** (2009). Loquat Growing in the Florida Home Landscape. University of Florida, IFAS extension (<http://edis.ifas.ufl.edu/mg050>).
- Csonka L. N., and Hanson A. D.** (1991). Prokaryotic osmoregulation: genetics and physiology. *Annual Reviews in Microbiology*, 45(1), 569-606.
- Dannel F., Pfeffer H., and Römheld V.** (2002). Update on Boron in Higher Plants-Uptake, Primary Translocation and Compartmentation. *Plant Biology*, 4(2), 193-204.
- Dordas C., Brown P.H.** (2000). Permeability of boric acid across lipid bilayers and factors affecting it. *Journal of Membrane Biology*. 175, 95-105.

Dordas C., Chrispeels M. J. and Brown P.H. (2000). Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiology*. **124**, 1349-1362.

Dye M. H, Buchanan L, Dorofaeff F. D. and Beecroft F. G. (1983) Dieback of apricot trees following soil application of boron. *New Zealand J. Exp. Agric.* **11**, 331–342.

Eary L. E., Mattigod S. V., Rai D., and Ainsworth C. C. (1990). Geochemical factors controlling the mobilization of inorganic constituents from fossil fuel combustion residues: I. Review of the major elements. *Journal of environmental quality*, **19**(2), 188-201.

Eaton F. M. (1944). Deficiency, toxicity, and accumulation of boron in plants. *J. agric. Res*, **69**(6), 237-279.

Elseewi A. A., Straughan I. R., and Page A. L. (1980). Sequential cropping of fly ash-amended soils: effects on soil chemical properties and yield and elemental composition of plants. *Science of the Total Environment*, **15**(3), 247-259.

Escobar Gutierrez A. J., and Gaudillere J. P. (1996). Distribution, métabolisme et rôle du sorbitol chez les plantes supérieures. Synthèse. *Agronomie*, **16**(5), 281-298.

Evans C. M., and Sparks D. L. (1983). On the chemistry and mineralogy of boron in pure and in mixed systems: A review 1. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, **14**(9), 827-846.

Fleischer A., O'Neill M. A., and Ehwald, R. (1999). The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II. *Plant Physiology*, **121**(3), 829-838.

Fleischer A., Titel C., and Ehwald, R. (1998). The Boron Requirement and Cell Wall Properties of Growing and Stationary Suspension-Cultured *Chenopodium album* L. Cells. *Plant Physiology*, **117**(4), 1401-1410.

Foyer C. H., and Noctor G. (2009). Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxidants & redox signaling*, **11**(4), 861-905.

Goldbach H. E., Wimmer M. (2007). Boron in plants and animals: Is there a role beyond cell-wall structure? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. **170**, 39-48.

Goldbach H.E., Yu Q., Wingender R., Schulz M., Wimmer M., Findekle P., Baluska F. (2001). Rapid response reactions of roots to boron deprivation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. **164**, 173-181.

Goldberg S. (1993). Chemistry and mineralogy of boron in soils. In *Boron and Its Role in Crop Production*. Ed. U C Gupta. pp 344. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

- González-Fontes A., Rexach J., Navarro-Gochicoa M. T., Herrera-Rodríguez M. B., Beato V. M., Maldonado J. M., and Camacho-Cristóbal J. J.** (2008). Is boron involved solely in structural roles in vascular plants?. *Plant signaling & behavior*, 3(1), 24-26.
- Gorham J., Hughes L. L., and Wyn Jones R. G.** (1981). Low-molecular-weight carbohydrates in some salt-stressed plants. *Physiologia plantarum*, 53(1), 27-33.
- Gucci R., Lombardini L., and Tattini M.** (1997). Analysis of leaf water relations in leaves of two olive (*Olea europaea*) cultivars differing in tolerance to salinity. *Tree physiology*, 17(1), 13-21.
- Guicherd P., Peltier J. P., Gout E., Bligny R., and Marigo G.** (1997). Osmotic adjustment in *Fraxinus excelsior* L.: malate and mannitol accumulation in leaves under drought conditions. *Trees*, 11(3), 155-161.
- Güneş A., Alpaslan M., Çikili Y., and Özcan H.** (1999). Effect of zinc on the alleviation of boron toxicity in tomato. *Journal of plant nutrition*, 22(7), 1061-1068.
- Gunes A., Inal A., Bagci E. G., and Pilbeam D. J.** (2007). Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. *Plant and soil*, 290(1-2), 103-114.
- Gupta U. C.** (1980). Boron nutrition of crops. *Advances in agronomy*, 31, 273-307.
- Gupta U. C.** (1993). *Boron and its role in crop production*. CRC press.
- Han S., Tang N., Jiang H. X., Yang L. T., Li Y., and Chen L. S.** (2009). CO₂ assimilation, photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus leaves in response to boron stress. *Plant science*, 176(1), 143-153.
- Hansen P.** (1974). The effect of boron upon leaf development and growth of the apple cultivar 'Cox's Orange Pippin'. *J. Hort. Sci.* 49, 211–216.
- Hansen C. J.** (1945, January). Boron content of olive leaves. In *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* (Vol. 46, pp. 78-80). 701 North Saint Asaph Street, Alexandria, VA 22314-1998: Amer Soc Horticultural Science.
- Hoagland D.R., and D.S. Arnon.** (1950). The water culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Stat. Circ.* 374.
- Holleman A. F., and Wiberg E.** (2001). *Inorganic Chemistry*, Academic Press. Berlin/New York.
- Hu H., Brown P. H., and Labavitch J. M.** (1996). Species variability in boron requirement is correlated with cell wall pectin. *Journal of Experimental Botany*, 47(2), 227-232.

Inal A., Pilbeam D. J., and Gunes A. (2009). Silicon increases tolerance to boron toxicity and reduces oxidative damage in barley. *Journal of plant nutrition*, 32(1), 112-128.

James W. D., Graham C. C., Glascock M. D. and Hanna A. G. (1982). Water-leachable B from coal ashes. *Environmental Science & Technology*. **16**, 195–199.

Jaspers P., and Kangasjärvi J. (2010). Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiologia Plantarum*, 138(4), 405-413.

Jyothi M. N., Sharadamma N., & Devaraj, V. R. (2012). Changes in antioxidant and photosynthetic properties system of French bean (*Phaseolus vulgaris*) to boron toxicity. *Journal of Agricultural & Biological Science*, 7(11).

Kaneko S., Ishii, T. and Matsunaga T. (1996). A boron-rhamnogalacturonan II complex from bamboo shoot cell walls. *Phytochem.*, 44:243-248.

Karabal E., Yücel M., and Öktem H. A. (2003). Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Science*, 164(6), 925-933.

Kaya C., Tuna A. L., Guneri M., and Ashraf M. (2011). Mitigation effects of silicon on tomato plants bearing fruit grown at high boron levels. *Journal of Plant Nutrition*, 34(13), 1985-1994.

Kekeç G. (2008). Effect of Boron pollution on some crops germination, determination of modifications in genetic structure by using RAPD method and reducing this effect by using growth hormones. *Fatih University, Istanbul*.

Keren R. and Bingham F. T. (1985). Boron in water, soils, and plants. *Advances in Soil Sciences*. **1**, 230–276.

Keunen E., Peshev D., Vangronsveld J., Van den Ende W., and Cuypers A. (2013). Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant, cell & environment*, 36(7), 1242-1255.

Koba K, Matsuoka A, Osada K. and Huang YS. (2007). Effect of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) extracts on LDL oxidation. *Food Chem* **104**:308–316.

Kobayashi M. Matoh T. Azuma J. (1996). Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiology*. **110**, 1017-1020.

Kubata J. (1980). Regional distribution of trace element problems in North America. *In Applied Soil Trace Elements*. Ed. B. Davies. pp 443–466. John Wiley, London.

Kukier U. and Sumner M. E. (1996). Boron availability to plants from coal combustion by-products. *Water, Air, and Soil Pollution*. **87**, 93–110.

- Kukier U., Sumner M. E. and Miller W. P.** (1994). Boron released from fly ash and its uptake by corn. *Journal of Environmental Quality*. **23**, 596–603.
- Kumar S., Arora B.R., and Hundal H.S.** (1981). Potassium-boron synergism in the nutrition of rice (*Oryza sativa L.*). *Journal of Indian Society of Soil Science* 29:563-564.
- Kuo C. Y., and Yeh D. M.** (2006). Effects of boric acid concentration and shading on growth, leaf physiology, and anatomy of *Guzmania*. *HortScience*, 41(3), 618-621.
- Liu D, Jiang W, Zhang L, Li L.** (2000). Effects of boron ions on root growth and cell division of broad bean (*Vicia faba L.*). *Israel J Plant Sci* 48: 47–51.
- Loomis W. D., and Durst R. W.** (1992). Chemistry and biology of boron. *BioFactors (Oxford, England)*, 3(4), 229.
- Lou Y, Yang Y, Xu J.** (2001). Effect of boron fertilization on B uptake and utilization by oil seed rape (*Brassica napus L.*) under different soil moisture regimes. *J Appl Ecol* 12(3): 478–480.
- Marschner H.** (1995). Functions of mineral nutrients: macronutrients. *Mineral nutrition of higher plants*, 2, 379-396.
- Mezuman U., and Keren R.** (1981). Boron adsorption by soils using a phenomenological adsorption equation. *Soil Science Society of America Journal*, 45(4), 722-726.
- Mittler R.** (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405–410.
- Mittler R.** (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in plant science*, 11(1), 15-19.
- Moing A., Carbonne F., Zipperlin B., Svanella L., and Gaudillère J. P.** (1997). Phloem loading in peach: Symplastic or apoplastic?. *Physiologia Plantarum*, 101(3), 489-496.
- Molassiotis A., Sotiropoulos T., Tanou G., Diamantidis G., Therios I.** (2006). Boron induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM9 (*Malus domestica Borkh.*). *Environmental and Experimental Botany*. **56**, 54–62.
- Møller I. M., Jensen P. E., and Hansson A.** (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 58, 459-481.
- Moore B. D., Palmquist D. E., and Seemann J. R.** (1997). Influence of plant growth at high CO₂ concentrations on leaf content of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and intracellular distribution of soluble carbohydrates in tobacco, snapdragon, and parsley. *Plant Physiology*, 115(1), 241-248.

- Morton J.** (1987). Loquat. p. 103–108. In: *Fruits of warm climates*.
- Mortvedt J. J.** (1991). Micronutrients in agriculture. *The Soil Science Society of America book series (USA)*. no. 4. 760.
- Nable R. O.** (1988). Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat cultivars: a preliminary examination of the resistance mechanism. *Plant and Soil*. **112**, 45–57.
- Nable R. O., Bañuelos G. S., and Paul J. G.** (1997). Boron toxicity. *Plant and Soil*, **193**(1-2), 181-198.
- Nadwodnik J., and Lohaus G.** (2008). Subcellular concentrations of sugar alcohols and sugars in relation to phloem translocation in *Plantago major*, *Plantago maritima*, *Prunus persica*, and *Apium graveolens*. *Planta*, **227**(5), 1079-1089.
- Navrot N., Rouhier N., Gelhaye E., and Jacquot J. P.** (2007). Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Physiologia Plantarum*, **129**(1), 185-195.
- Nicholaichuk W., Leyshon A. J., Jame Y. W., and Campbell C. A.** (1988). Boron and salinity survey of irrigation projects and the boron adsorption characteristics of some Saskatchewan soils. *Canadian journal of soil science*, **68**(1), 77-90.
- O'Neill M.A., Darvill A.G. and Albersheim P.** (1991). In *Methods of Plant Biochemistry*. Vol. 2. Ed. P.M. Dey. Academic Press, London, pp 415–441.
- Oertli J. J., and Roth J. A.** (1969). Boron nutrition of sugar beet, cotton, and soybean. *Agron. J.* **61**, 191–95.
- O'Neill M.A. Ishii T. Albersheim P. Darvill A.G.** (2004). Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Annual Review of Plant Biology*. **55**, 109-139.
- O'Neill M. A., Eberhard S., Albersheim P., and Darvill A. G.** (2001). Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth. *Science*, **294**(5543), 846-849.
- O'Neill M. A., Warrenfeltz D., Kates K., Pellerin, P., Doco T., Darvill A. G., and Albersheim P.** (1996). Rhamnogalacturonan-II, a Pectic Polysaccharide in the Walls of Growing Plant Cell, Forms a Dimer That Is Covalently Cross-linked by a Borate Ester in vitro conditions for the formation and hydrolysis of the dimer. *Journal of Biological chemistry*, **271**(37), 22923-22930.
- Papadakis I., Gerogiannis O., Tsiantas P., Vemmos S., Psychoyou M.** (2014). Photosynthetic Activity and Concentrations of Chlorophylls, Carotenoids, Hydrogen Peroxide and

Malondialdehyde in Loquat Plants Growing under Excess Boron Conditions. *Summaries at IV International Symposium on Loquat 12-15 May 2014*.

Papadakis I.E., Dimassi K.N., Bosabalidis A.M., Therios I.N., Patakas A., Giannakoula A. (2004). Effects of B excess on some physiological and anatomical parameters of 'Navelina' orange plants grafted on two rootstocks. *Environmental and Experimental Botany*. **51**, 247-257.

Papadakis I.E., Dimassi K.N., Therios I.N. (2003). Response of two citrus genotypes to sin boron concentrations: concentration and absorption, and nutrient use efficiency. *Australian Journal of Agricultural Research*. **54**, 571-580.

Paparnakis A., Chatzissavvidis C., and Antoniadis V. (2013). How apple responds to boron excess in acidic and limed soil. *Journal of soil science and plant nutrition*, **13**(4), 787-796.

Pareek S., Benkeblia N., Janick J., Cao S., and Yahia E. M. (2014). Postharvest physiology and technology of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. *Journal of the science of food and agriculture*, **94**(8), 1495-1504.

Parr A. J., and Loughman B. C. (1983). Boron and membrane function in plants. *Metals and micronutrients: uptake and utilization by plants/edited by DA Robb and WS Pierpoint* 87-107.

Peltier J. P., Marigo D., and Marigo G. (1997). Involvement of malate and mannitol in the diurnal regulation of the water status in members of Oleaceae. *Trees*, **12**(1), 27-34.

Peshev D. and Van den Ende W. (2013). Sugars as antioxidants in plants. In *Crop Improvement under Adverse Conditions* (eds N. Tuteja & S.S. Gill), pp. 285–308. *Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany*.

Piha M. J. Vallack H. W., Michael N. and Reeler B. M. (1995). A low impact approach to vegetation establishment on mine and coal ash wastes in semi-arid regions. II. Lagooned pulverized fuel ash in Zimbabwe. *Journal of Applied Ecology* **32**, 382–390.

Power P.P., and Woods W.G. (1997). The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant and Soil*. **193**, 1-13.

Raven J. A. (1980). Short-and long-distance transport of boric acid in plants. *New phytologist*, **84**(2), 231-249.

Reeve E. and Shive J.W. (1944). Potassium-boron and calcium-boron relationships in plant nutrition. *Soil Science* **57**:1-14.

Reid R. (2010). Can we really increase yields by making crop plants tolerant to boron toxicity?. *Plant Science*, **178**(1), 9-11.

- Reid R. J., Hayes J. E., Post A., Stangoulis J. C. R., and Graham R. D.** (2004). A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant, Cell & Environment*, 27(11), 1405-1414.
- Reidel E. J., Rennie E. A., Amiard V., Cheng L., and Turgeon R.** (2009). Phloem loading strategies in three plant species that transport sugar alcohols. *Plant physiology*, 149(3), 1601-1608.
- Reisenauer H. M., Walsh L. M., and Hoefl R. G.** (1973). Testing soils for sulphur, boron, molybdenum, and chlorine. *Soil testing and plant analysis*, 173-200.
- Roessner U, Patterson JH, Forbes MG, Fincher GB, Langridge P, Bacic A.** (2006) An investigation of Boron toxicity in barley using metabolomics: Environmental stress and adaptation to stress. *Plant Physiol* 142:1087–1101.
- Roussos P. A., Denaxa N. K., Damvakaris T., Stournaras V., and Argyrokastritis I.** (2010). Effect of alleviating products with different mode of action on physiology and yield of olive under drought. *Scientia horticulturae*, 125(4), 700-711.
- Ryan, J., Miyamoto, S., and Stroehlein, J. L.** (1977). Relation of solute and sorbed boron to the boron hazard in irrigation water. *Plant and Soil*, 47(1), 253-256.
- Sairam R.K., Srivastava G.C., Agarwal S., Meena R.C.** (2005). Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biol. Plant* 49, 85–91.
- Shelp B. J.** (1988). Boron Mobility and Nutrition in Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Annals of botany*, 61(1), 83-91.
- Shelp B.J., Marentes E., Kitheka A.M. and Vivekanandan P.** (1995). Boron mobility in plants. *Physiol. Plant.*, 94:356–361.
- Sheng O., Zhou G., Wei Q., Peng S., and Deng X.** (2010). Effects of excess boron on growth, gas exchange, and boron status of four orange scion–rootstock combinations. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 173(3), 469-476.
- Sommer A. L., and Lipman C. B.** (1926). Evidence on the indispensable nature of zinc and boron for higher green plants. *Plant physiology*, 1(3), 231.
- Sotiropoulos T. E., Therios I. N., and Dimassi K. N.** (1999). Calcium application as a means to improve tolerance of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* L.) to boron toxicity. *Scientia horticulturae*, 81(4), 443-449.
- Sotiropoulos T. E., Therios I. N., Dimassi K. N., Bosabalidis A., & Kofidis G.** (2002). Nutritional status, growth, CO₂ assimilation, and leaf anatomical responses in two kiwifruit species under boron toxicity. *Journal of plant nutrition*, 25(6), 1249-1261.

- Sotiropoulos T. E., Therios I. N., and Dimassi K. N.** (2006). Seasonal accumulation and distribution of nutrient elements in fruit of kiwifruit vines affected by boron toxicity. *Animal Production Science*, 46(12), 1639-1644.
- Soylemezoglu G., Demir K., Inal A., and Gunes A.** (2009). Effect of silicon on antioxidant and stomatal response of two grapevine (*Vitis vinifera* L.) rootstocks grown in boron toxic, saline and boron toxic-saline soil. *Scientia horticulturae*, 123(2), 240-246.
- Stangoulis J.C.R., Reid R.J., Brown P.H. and Graham R.D.** (2001). Kinetic analysis of boron transport in *Chara*. *Planta* **213**, 142–146.
- Stavrianakou S, Liakopoulos G, Karabourniotis G.** (2006). Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). *Environ Exp Bot* 56:293–300.
- Suzuki Y., & Dandekar A. M.** (2014). Sucrose induces expression of the sorbitol-6-phosphate dehydrogenase gene in source leaves of loquat. *Physiologia plantarum*, 150(3), 355-362.
- Szabados L., and Savoure A.** (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, 15(2), 89-97.
- Taiz L. and Zeiger E.** (1991). *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Takahashi S., and Murata N.** (2008). How do environmental stresses accelerate photoinhibition?. *Trends in plant science*, 13(4), 178-182.
- Tanaka M, Fujiwara T.** (2007) Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*. **456**, 671–677.
- Tanaka, M., Wallace, I. S., Takano, J., Roberts, D. M., and Fujiwara, T.** (2008). NIP6; 1 is a boric acid channel for preferential transport of boron to growing shoot tissues in Arabidopsis. *The Plant Cell Online*, 20(10), 2860-2875.
- Tanji K. K.** (1990). *Agricultural salinity assessment and management*. American Society of Civil Engineers, New York.
- Tariq M., and Mott C. J. B.** (2006). Effect of applied boron on the accumulation of cations and their ratios to boron in radish (*Raphanus sativus* L.). *Soil Environ*, 25(1), 40-47.
- Tariq M., and Mott C. J. B.** (2007). Effect of Boron on the behavior of nutrients in soil-plant systems-A review. *Asian J. Plant Sci*, 6(1), 195-202.
- Therios I.** (1996). *Inorganic Nutrition and Fertilizers*. Dedoussis Publications, Thessaloniki Greece, pp. 392 (In Greek).
- Tisdale S. L., Nelson W. L., Beaton J. D., and Havlin J. L.** (1993). Soil and fertilizer nitrogen. *Soil fertility and fertilizers*, 4, 112-183.

- Van den Ende W., and Valluru R.** (2009). Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging?. *Journal of Experimental Botany*, 60(1), 9-18.
- van Goor B. J. and van Lune P.** (1980). Redistribution of potassium, boron, iron, magnesium and calcium in apple trees determined by an indirect method. *Plant Physiology*. **48**, 21–26.
- Vemmos S. N.** (1999). Carbohydrate content of inflorescent buds of defruited and fruiting pistachio (*Pistacia vera* L) branches in relation to biennial bearing. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology (United Kingdom)*.
- Vengosh A., Heumann K. G., Juraski S. and Kasher R.** (1994). Boron isotope application for tracing sources of contamination in groundwater. *Environmental Science & Technology*. **28**, 1968–1974.
- Warrington K.** (1923). The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Ann. Bot.* 37, 629–672.
- Watson M. C., Banuelos G. S., O'Leary J. W., and Riley J. J.** (1994). Trace element composition of Atriplex grown with saline drainage water. *Agriculture, ecosystems & environment*, 48(2), 157-162.
- Welch R.M.** (1995). Micronutrient nutrition of plants. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 14:49–82.
- Wiklander L.** (1958). The soil Boron. In: *Encyclopedia of plant physiology*, Ruhland W. (ed.) vol. IV, pp. 160-162.
- Wolf B.** (1971). The determination of boron in soil extracts, plant materials, composts, manures, water and nutrient solutions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2: 363-374.
- Wong J. W. C., Jiang R. F. and Su D. C.** (1996). Boron availability in ash-sludge mixture and its uptake by corn seedling (*Zea mays* L.). *Soil Science*. 161, 182–187.
- Woods, W.G.** (1996). A review of possible boron speciation relating to its essentiality. *J. Tr. Elem. Exp. Med.*, 9:153-163.
- Xiong L., and Zhu J. K.** (2002). Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant, Cell & Environment*, 25(2), 131-139.
- Yau S. K., and Ryan J.** (2008). Boron toxicity tolerance in crops: a viable alternative to soil amelioration. *Crop Science*, 48(3), 854-865.
- Zhu Z., Wei G., Li J., Qian Q., Yu J.** (2004). Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Sci.* 167, 527–533.

Zimmermann M. H., and Ziegler H. (1975). List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates. In *Encyclopedia of Plant Physiology*.V1. Transport in Plants I. Phloem Transport. Eds. M. H. Zimmermann and J. A. Milburn. pp 480–503. Springer-Verlag, New York.

Β. Ελληνική Βιβλιογραφία

Γερογιάννης Ο. (2014). Επίδραση της τοξικότητας του βορίου στην αύξηση και τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς, υπό συνθήκες υδροπονίας. *Πτυχιακή Μελέτη, Εργαστήριο Δενδροκομίας, Τμήμα Ε.Φ.Π., ΓΠΑ.*

Δροσόπουλος, Ι. (1992). Στοιχεία ανόργανης διατροφής των φυτών. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

Δροσόπουλος, Ι. (1998). Φυσιολογία φυτών. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

Παπαδάκης Ι. (2002). Φυσιολογική και ανατομική μελέτη της τοξικότητας του βορίου στα εσπεριδοειδή. Μεταπτυχιακή διατριβή, Θεσσαλονίκη.

Παπαδάκης Ι., Τσιάντας Π. και Ψυχογιού Μ. (2013). Μελέτη της επίδρασης του βορίου και της διαφυλλικής εφαρμογής σαλικυλικού οξέος, πουτρεσκίνης και ασκορβικού οξέος σε σπορόφυτα ιαπωνικής μουσμουλιάς. Περίληψεις 26^{ου} Πανελληνίου Επιστημονικού Συνεδρίου της Ελληνικής Εταιρίας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών, 15-18 Οκτωβρίου 2013, Καλαμάτα, σελ 145.

Ποντίκης Κ.Α. (2003). *Ειδική Δενδροκομία, Μηλοειδή, Τόμος Α*, Εκδόσεις Α. Σταμούλη Α.Ε, Αθήνα, σελ. 193-198.

Τσιάντας Π. (2013). Μελέτη της επίδρασης του βορίου και της διαφυλλικής εφαρμογής Σαλικυλικού οξέος, Πουτρεσκίνης και Ασκορβικού οξέος σε σπορόφυτα ιαπωνικής μουσμουλιάς. *Πτυχιακή Μελέτη, Εργαστήριο Δενδροκομίας, Τμήμα Ε.Φ.Π., ΓΠΑ.*

A. Ευρετήριο εικόνων

Εικόνα	Περιγραφή	Σελ.
Εικόνα 1.	Μεταβολή της απόδοσης (%) φυτών σε σχέση με τη συγκέντρωση βορίου στο εδαφικό διάλυμα (mg/L).	21
Εικόνα 2.	Διάσπαση της ρίζας του υπεροξειδίου και του υπεροξειδίου του υδρογόνου από την υπεροξειδική δισμουτάση και την καταλάση, αντίστοιχα.	25
Εικόνα 3.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25-400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του B (ppm) στα φύλλα (A), στο βλαστό (B) και στη ρίζα (Γ) φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς καθώς και στην συνολική ποσότητα του B (μg) (Δ) ανά φυτό.	36
Εικόνα 4.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25-400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στη συνολική ποσότητα του καλίου (A), του φωσφόρου (B), του ασβεστίου (Γ) και του μαγνησίου (Δ) ανά φυτό ιαπωνικής μουσμουλιάς.	38
Εικόνα 5.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25-400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στη συνολική ποσότητα του σιδήρου (A), του μαγγανίου (B), του ψευδαργύρου (Γ) και του νατρίου (Δ) ανά φυτό ιαπωνικής μουσμουλιάς.	39
Εικόνα 6.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στην % περιεκτικότητα των φύλλων της ιαπωνικής μουσμουλιάς (επί ξηρού βάρους, d.w.) σε σακχαρόζη (A), γλυκόζη (B) και φρουκτόζη (Γ).	42
Εικόνα 7.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στην % περιεκτικότητα των φύλλων της ιαπωνικής μουσμουλιάς (επί ξηρού βάρους, d.w.) σε μαννιτόλη (A), σορβιτόλη (B) και ολικά σάκχαρα (Γ).	43
Εικόνα 8.	Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στη συνολική συγκέντρωση των μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη, σορβιτόλη) (A) και μη μετακινούμενων σακχάρων (γλυκόζη, φρουκτόζη) (B) καθώς και στον λόγο τους (μετακινούμενα/μη μετακινούμενα σάκχαρα) (Γ) στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	44
Εικόνα 9.	Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στους λόγους μετακινούμενων / ολικών σακχάρων (A) και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων (B) που καταγράφηκαν στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	45
Εικόνα 10.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα (25-400 μM) στη συγκέντρωση του αμύλου στα φύλλα (επί ξηρού βάρους, d.w.) (A) και της προλίνης (επί νωπού βάρους, f.w.) στα φύλλα (B)	46

και τη ρίζα (Γ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς.

Εικόνα 11.	Συμπτώματα της τοξικότητας βορίου (B) σε σπορόφυτα ιαπωνικής μουσμουλιάς. (Α): Μάρανση των φύλλων, (Β): Ξήρανση της κορυφής του βλαστού, (Γ): Σκούρος μεταχρωματισμός, χρώματος ιώδους-καφέ, της κορυφής του βλαστού και (Δ): Ξήρανση του ελάσματος των φύλλων.	48
Εικόνα 12.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του B (ppm) στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της κορυφής των βλαστών (Α), στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της βάσης βάσης των βλαστών (Β) και στη ρίζα (Γ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	65
Εικόνα 13.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις ποσότητες του B (μg) στα φύλλα (Α), στον βλαστό (Β), στη ρίζα (Γ) και συνολικά στο φυτό (Δ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	66
Εικόνα 14.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στην κατανομή (%) του συνολικού B των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς στα φύλλα, στον βλαστό και στη ρίζα τους.	67
Εικόνα 15.	Συγκεντρώσεις B (ppm) στους διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με συγκέντρωση σε B 25 μM (Α) ή 400 μM (Β).	67
Εικόνα 16.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του K (%) στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της κορυφής των βλαστών (Α), στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της βάσης βάσης των βλαστών (Β) και στη ρίζα (Γ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	70
Εικόνα 17.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις ποσότητες του K (mg) στα φύλλα (Α), στον βλαστό (Β), στη ρίζα (Γ) και συνολικά στο φυτό (Δ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	71
Εικόνα 18.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στην κατανομή (%) του συνολικού K των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς στα φύλλα, στον βλαστό και στη ρίζα τους.	72
Εικόνα 19.	Συγκεντρώσεις K (%) στους διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με συγκέντρωση σε B 25 μM (Α) ή 400 μM (Β).	72
Εικόνα 20.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του P (%) στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της κορυφής των βλαστών (Α), στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της βάσης βάσης των βλαστών (Β) και στη ρίζα (Γ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	74
Εικόνα 21.	Επίδραση της συγκέντρωσης του B (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις ποσότητες του P (mg) στα φύλλα (Α), στον βλαστό (Β), στη ρίζα (Γ) και συνολικά στο φυτό (Δ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	75

Εικόνα 22.	Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στην κατανομή (%) του συνολικού Ρ των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς στα φύλλα, στον βλαστό και στη ρίζα τους.	76
Εικόνα 23.	Συγκεντρώσεις Κ (%) στους διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με συγκέντρωση σε Β 25 μM (Α) ή 400 μM (Β).	76
Εικόνα 24.	Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του Να (%) στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της κορυφής των βλαστών (Α), στα φύλλα, στον φλοιό και στο ξύλο της βάσης βάσης των βλαστών (Β) και στη ρίζα (Γ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	78
Εικόνα 25.	Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις ποσότητες του Να (mg) στα φύλλα (Α), στον βλαστό (Β), στη ρίζα (Γ) και συνολικά στο φυτό (Δ) της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	79
Εικόνα 26.	Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στην κατανομή (%) του συνολικού Να των φυτών της ιαπωνικής μουσμουλιάς στα φύλλα, στον βλαστό και στη ρίζα τους.	80
Εικόνα 27.	Συγκεντρώσεις Να (%) στους διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με συγκέντρωση σε Β 25 μM (Α) ή 400 μM (Β).	80
Εικόνα 28.	Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) (Α) και της μαλονικής διαλδεΐδης (MDA) (Β) στα φύλλα και στο φλοιό των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	81
Εικόνα 29.	Επίδραση της συγκέντρωσης του Β (25 ή 400 μM) στο θρεπτικό διάλυμα στις συγκεντρώσεις της προλίνης (Α) και του αμύλου (Β) σε διάφορους ιστούς φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς.	82
Εικόνα 30.	Επίδραση της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στην % περιεκτικότητα (επί ξηρού βάρους - d.w. ιστού) των φύλλων της ιαπωνικής μουσμουλιάς σε σακχαρόζη και σορβιτόλη (Α), γλυκόζη, φρουκτόζη και μαννιτόλη (Β) και ολικά σάκχαρα (Γ).	84
Εικόνα 31.	Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στα μετακινούμενα και μη μετακινούμενα σάκχαρα (Α) καθώς και στους λόγους μετακινούμενων/μη μετακινούμενων σακχάρων (Β), μετακινούμενων/ολικών σακχάρων (Γ) και μη μετακινούμενων/ολικών σακχάρων (Δ) στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	85
Εικόνα 32.	Επίδραση της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στην % περιεκτικότητα (επί ξηρού βάρους, d.w. ιστού) σακχαρόζης και σορβιτόλης (Α), γλυκόζης, φρουκτόζης και μαννιτόλης (Β) και ολικών σακχάρων (Γ) στο φλοιό των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	87

- Εικόνα 33.** Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στα μετακινούμενα και μη μετακινούμενα σάκχαρα (Α) καθώς και στους λόγους μετακινούμενων/μη μετακινούμενων σακχάρων (Β), μετακινούμενων/ολικών σακχάρων (Γ) και μη μετακινούμενων/ολικών σακχάρων (Δ) στο φλοιό των βλαστών της ιαπωνικής μουσμουλιάς. 88
- Εικόνα 34.** Συγκεντρώσεις (% ξηρού βάρους ιστού) σακχάρων στα φύλλα (Α, Γ) και στο φλοιό (Β, Δ) της κορυφής των βλαστών φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με 25 μM Β (Α, Β) ή 400 μM Β (Γ, Δ). 91
- Εικόνα 35.** Περιεκτικότητα (% ξηρού βάρους ιστού) σακχάρων στα φύλλα και το φλοιό των βλαστών φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με 25 μM Β (Α) ή 400 μM Β (Β). 92
- Εικόνα 36.** Σύγκριση βλαστών μάρτυρα (25 μM Β) φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς με βλαστούς που παρουσιάζουν συμπτώματα τοξικότητας Β (400 μM Β): Α) βλαστός μάρτυρα (απουσία συμπτωμάτων), Β) μεταχρωματισμός φλοιού (400 μM Β), Γ) μεταχρωματισμός και σχισμές στο φλοιό (400 μM Β). 93
- Εικόνα 37.** Εγκάρσιες τομές φύλλων ιαπωνικής μουσμουλιάς. Πάνω: μάρτυρας (25 μM Β). Κάτω: επέμβαση υπερεπάρκειας βορίου (400 μM Β). Η παρατήρηση έγινε σε οπτικό μικροσκόπιο φθορισμού. Εμφανής είναι η διαφορά στο πάχος του ελάσματος μεταξύ του μάρτυρα (πάνω) και της επέμβασης της υπερεπάρκειας βορίου (κάτω, μεγαλύτερο πάχος φύλλου). Τα κόκκινα βέλη στην επέμβαση 400 μM Β δείχνουν τα χαρακτηριστικά ελαιοσταγονίδια (κόκκινα στίγματα) που παρατηρήθηκαν σε μεγαλύτερο αριθμό (πυκνότητα) και σε μεγαλύτερο μέγεθος στα κύτταρα του πασσαλώδους παρεγχύματος της επέμβασης 400 μM Β, σε σχέση με την επέμβαση των 25 μM Β. 95
- Εικόνα 38.** Επίδραση της συγκέντρωσης του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (25 ή 400 μM) στο συνολικό πάχος (μm) αλλά και στα πάχη (μm) των επιμέρους ιστών του ελάσματος των φύλλων της ιαπωνικής μουσμουλιάς. 96
- Εικόνα 39.** Εγκάρσιες τομές φλοιού βλαστών ιαπωνικής μουσμουλιάς. Πάνω: μάρτυρας (25 μM Β). Κάτω: επέμβαση υπερεπάρκειας βορίου (400 μM Β). Η παρατήρηση έγινε σε οπτικό μικροσκόπιο φθορισμού. Τα κόκκινα βέλη, στην περίπτωση του μάρτυρα (πάνω), δείχνουν τους πολυάριθμους χλωροπλάστες των κυττάρων του θεμελιώδους παρεγχύματος. Στην περίπτωση 400 μM Β (κάτω) παρατηρείται επιτάχυνση της δευτερογενούς αύξησης του βλαστού με έντονη παρουσία κυττάρων φελλού (α) καθώς και πολυάριθμων κολλεγχυματικών κυττάρων με παχιά κυτταρικά τοιχώματα (κίτρινα βέλη) και ελάχιστους χλωροπλάστες. 98

B. Ευρετήριο πινάκων

Πίνακας	Περιγραφή	Σελ.
Πίνακας 1.	Κύρια λιπάσματα που περιέχουν βόριο	6
Πίνακας 2.	Σχετική ανθεκτικότητα διαφόρων φυτικών ειδών υπό συνθήκες υπερεπάρκειας βορίου	20
Πίνακας 3.	Χημική σύσταση υδροπονικού θρεπτικού διαλύματος που χορηγήθηκε στα φυτά του μάρτυρα (25 μM B). Το ίδιο θρεπτικό διάλυμα χορηγήθηκε και στα φυτά των λοιπών επεμβάσεων, με εξαίρεση τη συγκέντρωση του βορίου που διαφοροποιήθηκε κατά περίπτωση (50, 100, 200 ή 400 μM B).	30
Πίνακας 4.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και της συγκέντρωσης B (ppm) στα φύλλα, στο βλαστό και στη ρίζα των φυτών.	49
Πίνακας 5.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και της συνολικής ποσότητας K, P, Ca, Mg, Na (mg) και B (μg) ανά φυτό ιαπωνικής μουσμουλιάς.	50
Πίνακας 6.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και της συνολικής ποσότητας (μg) Zn, Mn και Fe ανά φυτό ιαπωνικής μουσμουλιάς.	50
Πίνακας 7.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και της % περιεκτικότητας σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης και σορβιτόλης στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	51
Πίνακας 8.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και της % περιεκτικότητας ολικών, μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη και σορβιτόλη), μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων και αμύλου στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	51
Πίνακας 9.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στο θρεπτικό διάλυμα και των λόγων μετακινούμενων / μη μετακινούμενων, μετακινούμενων / ολικών και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	51
Πίνακας 10.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στα φύλλα και της % περιεκτικότητας σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης και σορβιτόλης στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	52
Πίνακας 11.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του B στα φύλλα και της % περιεκτικότητας ολικών, μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη και σορβιτόλη), μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων και αμύλου στα φύλλα της ιαπωνικής	52

μουσμουλιάς.

Πίνακας 12.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στα φύλλα και των λόγων μετακινούμενων / μη μετακινούμενων, μετακινούμενων / ολικών και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	53
Πίνακας 13.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στους βλαστούς και της % περιεκτικότητας σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης και σορβιτόλης στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	54
Πίνακας 14.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στους βλαστούς και της % περιεκτικότητας ολικών, μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη και σορβιτόλη), μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων και αμύλου στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	54
Πίνακας 15.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στους βλαστούς και των λόγων μετακινούμενων / μη μετακινούμενων, μετακινούμενων / ολικών και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	54
Πίνακας 16.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στις ρίζες και της % περιεκτικότητας σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης, μαννιτόλης και σορβιτόλης στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	55
Πίνακας 17.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στις ρίζες και της % περιεκτικότητας ολικών, μετακινούμενων (σακχαρόζη, μαννιτόλη και σορβιτόλη), μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων και αμύλου στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	56
Πίνακας 18.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στις ρίζες και των λόγων μετακινούμενων / μη μετακινούμενων, μετακινούμενων / ολικών και μη μετακινούμενων / ολικών σακχάρων στα φύλλα της ιαπωνικής μουσμουλιάς.	56
Πίνακας 19.	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του Β στο θρεπτικό διάλυμα, στα φύλλα, στο βλαστό ή στη ρίζα και της συγκέντρωσης της προλίνης στα φύλλα ή στη ρίζα φυτών ιαπωνικής μουσμουλιάς.	57