

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΓΚΛΙΜΑΤΙΣΜΟΥ
ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Solanum melongena*
ΣΤΗ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΒΟΡΙΟΥ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ
ΒΑΡΒΑΡΑΣ Κ. ΨΑΡΟΥΔΗ

ΑΘΗΝΑ 2006

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΓΚΛΙΜΑΤΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ
Solanum melongena
ΣΤΗ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΒΟΡΙΟΥ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ
ΒΑΡΒΑΡΑΣ Κ. ΨΑΡΟΥΔΗ

ΑΘΗΝΑ 2006

Στην

Περιεχόμενα

Περιεχόμενα	v
Πρόλογος	ix
Εισαγωγή	11
I. Η Ανόργανη Διατροφή των Φυτών	11
I.1. Τα Απαραίτητα Θρεπτικά Στοιχεία	12
I.2. Επάρκεια και Ανεπάρκεια Θρεπτικών Στοιχείων	13
I.2.i. Οι Αντιδράσεις των Φυτών για την Αντιμετώπιση της Έλλειψης Θρεπτικών Στοιχείων.	14
I.2.ii Επιπτώσεις της Έλλειψης Θρεπτικών Στοιχείων στην Ανάπτυξη και τον Πρωτογενή Μεταβολισμό των Ανωτέρων Φυτών	17
I.3. Τροφοπενίες Θρεπτικών Στοιχείων	17
II. Η Φυσιολογία της Διατροφής των Φυτών με Βόριο	18
II.1. Ο Ρόλος του Βορίου στην Ανάπτυξη και Διαφοροποίηση των Ανωτέρων Φυτών	19
II.1.i. Το Βόριο Συμμετέχει στη Δομή και Λειτουργία των Κυτταρικών Τοιχωμάτων	20
II.1.ii. Το Βόριο Αποτελεί Παράγοντα Σταθερότητας και Λειτουργικότητας της Κυτοπλασματικής Μembrάνης.....	21
II.2. Απορρόφηση του Βορίου από το Έδαφος	23
II.3. Κατανομή του Βορίου σε Κυτταρικό Επίπεδο και Επίπεδο Φυτού	24
II.4. Κινητικότητα του Βορίου στο Φυτικό Σώμα.....	26
II.4.i. Είδη Φυτών με Περιορισμένη Κινητικότητα Βορίου	27
II.4. ii. Είδη Φυτών με Σημαντική Κινητικότητα Βορίου.....	27
III. Η Παραγωγή και Διακίνηση Φωτοσυνθετικών Προϊόντων στο Φυτικό Σώμα.....	29
III.1. Βιοσύνθεση Υδατανθράκων	30
III.2. Διακινήσιμες Μορφές Υδατανθράκων.....	32
III.3. Φόρτωση, Διανομή και Αποφόρτωση Διακινήσιμων Υδατανθράκων από τα Σημεία Βιοσύνθεσης στα Σημεία Μεταβολικής Κατανάλωσης	32
IV. Η Σχέση Μεταξύ Υδατανθράκων και Βορίου στα Φυτά.....	36
IV.1. Η Θρεπτική Κατάσταση του Βορίου Επηρεάζει τη Βιοσύνθεση και Διακίνηση των Φωτοσυνθετικών Προϊόντων	36
IV.2. Η Παραγωγή και Διακίνηση Υδατανθράκων Σχετίζεται με την Διαχείριση των Αποθεμάτων Βορίου του Φυτού με Σκοπό την Βέλτιστη Ανάπτυξή του	38
Σκοπός της Εργασίας	41

Περιεχόμενα

Υλικά και Μέθοδοι	43
I. Φυτικό Υλικό και Περιγραφή των Συνθηκών Καλλιέργειας.....	43
I.1. Προετοιμασία Φυτικού Υλικού και Υποστρώματος Καλλιέργειας.....	43
I.2. Περιγραφή του Συστήματος Πειραματικής Υδροπονικής Καλλιέργειας	43
I.3. Συνθήκες Υδροπονικής Καλλιέργειας	45
II. Πειραματική Δομή	46
II.1. Χρονοδιάγραμμα Πειράματος	46
II.2. Κατηγορίες Δειγμάτων, Δειγματοληπτικοί Χειρισμοί και Μετρήσεις....	46
III. Τρόπος Διενέργειας Μετρήσεων	46
III.1. Μορφολογικές.....	46
III.2. Συλλογή του Ανιόντος και Κυτταρικού Χυμού και του Χυμού του Ηθμού.....	47
III.3. Συγκέντρωση Βορίου	47
III.3.i. Προετοιμασία Δειγμάτων για Μέτρηση Μέσω της Χρωματικής Αντίδρασης Αζωμεθίνης.....	47
III.3.ii. Μέτρηση Συγκέντρωσης Βορίου Μέσω Χρωματικής Αντίδρασης Αζωμεθίνης	48
III.3.iii. Προετοιμασία Δειγμάτων για Μέτρηση μέσω HPLC.....	48
III.3.iv. Χρωματογραφική Ανάλυση.....	48
IV. Φωτοσυνθετικές Παράμετροι	50
V. Ανάλυση Υδατανθράκων στα Φύλλα και το Εξίδρωμα του Χυμού του Ηθμού.....	51
Αποτελέσματα.....	53
I. Αναπτυξιακές Παράμετροι	53
I. 1. Συσσώρευση Ξηρής Βιομάζας.....	53
I.2. Φυλλική Επιφάνεια.....	53
I.3. Ειδική Φυλλική Μάζα	55
I.4. Περιεχόμενο Νερό	55
II. Συγκέντρωση Βορίου στους Φυτικούς Ιστούς, το Εξίδρωμα του Χυμού του Ηθμού και τον Ανιόντα Χυμό	57
II.1. Συγκέντρωση Βορίου στον Ανιόντα Χυμό.....	57
II.2. Συγκέντρωση Ολικού Βορίου στα Φύλλα.....	57
II.3. Συγκέντρωση Βορίου στον Κυτταρικό Χυμό των Φύλλων	58
II.4. Συγκέντρωση Αδιάλυτου Βορίου.....	60
II.5. Συγκέντρωση Βορίου στο Εξίδρωμα του Χυμού του Ηθμού	61
III. Φωτοσυνθετικές Παράμετροι	61
III.1. Συγκέντρωση Χλωροφυλλών	61
III.2. Παράμετρος F_v / F_m	63

III.3. Φωτοσυνθετική Δραστηριότητα Φύλλων	64
IV. Παράμετροι Παραγωγής και Διακίνησης Φωτοσυνθετικών Προϊόντων	64
IV.1. Συγκέντρωση Σακχαρόζης στους Φυτικούς Ιστούς και στο Εξίδρωμα του Χυμού του Ηθμού.....	64
IV.2. Εκτίμηση των Αποθεμάτων Αμύλου στους Φυτικούς Ιστούς.....	65
Συζήτηση	67
I. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου σε Αναπτυξιακά και Μορφολογικά Χαρακτηριστικά των Φυτών.....	67
II. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου σε Παραμέτρους της Φωτοσυνθετικής Λειτουργίας και της Παραγωγής και Διακίνησης Υδατανθράκων	67
III. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στη Συγκέντρωση του Στοιχείου στα Φυτά.....	68
IV. Ενδείξεις Υπέρ της Επαναδιανομής Βορίου στο Φυτό <i>Solanum melongena</i>	70
Παράρτημα Α: Βιβλιογραφία.....	73
Παράρτημα Β: Περίληψη	83
Appendix C: Abstract	84

Πρόλογος

Το απρόβλεπτο και οι ποικίλες αντιδράσεις των φυτικών οργανισμών ήταν αυτό που με ώθησε να εκπονήσω την πτυχιακή μου μελέτη στο Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεώργιου Καραμπουρνιώτη. Θα ήθελα λοιπόν να του εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ για την ανάθεση, επίβλεψη και την διόρθωση της πτυχιακής μου μελέτης, καθώς και για την αμέριστη βοήθεια του και την φιλική του στάση.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Δημήτριο Μπουράνη για την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή και για την διόρθωση της πτυχιακής μου μελέτης.

Ευχαριστώ τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Γεώργιο Αϊβαλάκη για την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή, για την διόρθωση της πτυχιακής μου μελέτη καθώς και για την βοήθεια που μου παρείχε όταν αυτή χρειάστηκε.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διδάκτορα Γεώργιο Λιακόπουλο και την υποψήφια Διδάκτορα Σωτηρία – Βασιλική Σταυριανάκου για την καθοριστική τους συμβολή, απεριόριστη βοήθεια και την φιλική τους διάθεση κατά την παραμονή μου στο εργαστήριο. Ακόμα θέλω να τους εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου για τις πολύτιμες γνώσεις και εμπειρίες που μου παρείχαν.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Διδάκτορα και επιστημονικό μέλος του εργαστηρίου Δημοσθένη Νικολόπουλο για την βοήθεια του και την πάντα χιουμοριστική του διάθεση.

Ευχαριστώ όλα τα μέλη του εργαστηρίου για τη βοήθεια τους καθώς και για το ευχάριστο κλίμα που ο καθένας από την πλευρά του καλλιέργησε. Θα ήθελα ιδιαίτερα να ευχαριστήσω τους προπτυχιακούς φοιτητές Μανόλη Κοντουδάκη και Χρήστο Παπαχρήστο και τις μεταπτυχιακές φοιτήτριες Ασπασία Κλουβάτου και Γεωργία Τοουλάκου για την βοήθεια τους.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου για την κατανόηση, την ηθική συμπαράσταση και την πάντα χαρούμενη τους διάθεση.

Κλείνοντας θέλω να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου για την αστείρευτη αγάπη την ψυχολογική και οικονομική υποστήριξη που μου προσέφεραν απλόχερα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής μου.

Εισαγωγή

I. Η Ανόργανη Διατροφή των Φυτών

Τα πράσινα φυτά κατατάσσονται στους αυτότροφους οργανισμούς βάσει της ικανότητας τους να δεσμεύουν την ηλιακή ενέργεια και να τη χρησιμοποιούν για την παραγωγή υδατανθράκων από CO₂ και H₂O. Με τον τρόπο αυτό η ηλιακή ενέργεια μετατρέπεται σε ενέργεια χημικών δεσμών, μια διεργασία γνωστή ως φωτοσύνθεση (Δροσόπουλος, 1998). Μέσω της φωτοσύνθεσης τα φυτά εξασφαλίζουν την ενέργεια που χρειάζονται για την σύνθεση των δομικών και λειτουργικών μορίων που συνιστούν τη βιομάζα τους με πρώτες ύλες αποκλειστικά ανόργανα θρεπτικά στοιχεία.

Τα βασικά ανόργανα στοιχεία για τη δόμηση της φυτικής βιομάζας δηλαδή ο άνθρακας, το οξυγόνο και το νερό προσλαμβάνονται, από το διοξείδιο του άνθρακα, το οξυγόνο της ατμόσφαιρας και το εδαφικό νερό. Εκτός όμως των παραπάνω, τα φυτά χρειάζονται και πλήθος άλλων ανόργανων στοιχείων όπως το άζωτο, το κάλιο, ο φώσφορος κ.α για την ανάπτυξη τους. Η εξασφάλιση αυτών των στοιχείων, εκτός ορισμένων εξαιρέσεων, γίνεται μέσω της απορρόφησης τους από το ριζικό σύστημα (Μανέτας, 2005).

Ο εδαφικός όγκος που περιβάλλει τη ρίζα αποτελείται από εδαφικούς κόκκους και ενδιάμεσους ελεύθερους χώρους, τους εδαφικούς πόρους, οι οποίοι καταλαμβάνονται από αέρα και νερό. Μπορεί να θεωρηθεί ως ένα ετερογενές υλικό αποτελούμενο από συστατικά που βρίσκονται σε στερεή, υγρή ή αέρια φάση. Η στερεή φάση του εδάφους αποτελείται από ανόργανα σωματίδια, τα οποία λειτουργούν ως δεξαμενή θρεπτικών συστατικών, όπως καλίου, ασβεστίου, μαγνησίου και σιδήρου, αλλά και οργανικά υπολείμματα τα οποία αποδίδουν με την αποδόμηση τους στοιχεία όπως φώσφορο, άζωτο και θείο. Η υγρή φάση του εδάφους είναι ένα διάλυμα διαφόρων ιόντων ενώ σε αυτή βρίσκονται διαλυμένα και αέρια όπως διοξείδιο του άνθρακα και οξυγόνο. Η ρίζα προσλαμβάνει τα ανόργανα συστατικά με τη μορφή ιόντων από την υγρή φάση του εδάφους (Γκανή – Σπυροπούλου, 2003α).

Η μεγάλη εδαφική επιφάνεια που καλύπτουν οι ρίζες και η ικανότητα τους να απορροφούν από το εδαφικό διάλυμα ανόργανα ιόντα σε χαμηλές συγκεντρώσεις συντελούν στην αποτελεσματική κάλυψη των θρεπτικών αναγκών των φυτικών οργανισμών. Μετά την απορρόφηση τους από τις ρίζες, τα ανόργανα στοιχεία μεταφέρονται σε ποικίλα μέρη του φυτού όπου χρησιμοποιούνται σε σημαντικές βιολογικές διεργασίες (Taiz and Zeiger, 1998).

Εισαγωγή

Ο κλάδος της φυσιολογίας φυτών ο οποίος μελετά τις διαδικασίες μέσω των οποίων τα φυτά απορροφούν, αφομοιώνουν και αξιοποιούν ανόργανα ιόντα ονομάζεται ανόργανη διατροφή των φυτών (plant mineral nutrition) (Taiz and Zeiger, 1998).

Τα χημικά στοιχεία που έχουν βρεθεί στους φυτικούς οργανισμούς είναι πάνω από εξήντα. Από τα στοιχεία αυτά ορισμένα χαρακτηρίζονται ως απαραίτητα, κάποια απαιτούνται από ορισμένες μόνο ομάδες φυτών (όπως το πυρίτιο στα αγρωστώδη ή το νάτριο στα αλόφυτα) ενώ κάποια άλλα ασκούν ευνοϊκή επίδραση στην ανάπτυξη ορισμένων φυτικών ειδών, χωρίς ωστόσο η παρουσία τους να είναι απαραίτητη για την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου των τελευταίων. Ανόργανα στοιχεία των δύο τελευταίων κατηγοριών αναφέρονται ως ευεργετικά (Γκανή – Σπυροπούλου, 2003a). Σημειώνεται ότι από τα εξήντα αυτά στοιχεία μόνο τα τριάντα είναι παρόντα σε όλα τα φυτικά είδη και δεκαεφτά από αυτά θεωρούνται απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία για τα φυτά (Τσέκος, 2003). Σύμφωνα με τους Mengel και Kirkby (1987) η ταξινόμηση των θρεπτικών στοιχείων μπορεί να γίνει σύμφωνα με το βιοχημικά τους ρόλο και τη φυσιολογική τους λειτουργία σε τέσσερις κατηγορίες:

-
- i) στοιχεία που σχηματίζουν τα οργανικά συστατικά του φυτού (N, S)*
 - ii) στοιχεία που είναι σημαντικά στην αποταμίευση ενέργειας ή στη δομική ολοκλήρωση (P, B, Si)*
 - iii) στοιχεία που απαντώνται αποκλειστικά σε ιοντική μορφή (K, Na, Mg, Ca, Mn, Cl)*
 - iv) και στοιχεία που συμμετέχουν στη μεταφορά ηλεκτρονίων (Fe, Cu, Zn, Mo, Ni) (Taiz and Zeiger, 1998).*
-

1.1. Τα Απαραίτητα Θρεπτικά Στοιχεία

Ως απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία θεωρούνται αυτά που είναι αναγκαία και αναντικατάστατα για την ανάπτυξη του φυτικού οργανισμού. Για να χαρακτηριστεί ένα θρεπτικό στοιχείο ως απαραίτητο θα πρέπει να εμφανίζει τα παρακάτω κριτήρια που θέσπισαν ο Arnon και Stout (1939):

-
- i) η έλλειψη του δεν πρέπει να εμποδίζει την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου του φυτού,*
 - ii) να είναι αδύνατη η αντικατάστασή του από κάποιο άλλο με παρόμοιες ιδιότητες*
 - iii) να συμμετέχει άμεσα στο μεταβολισμό του φυτού, για παράδειγμα ως συστατικό ενός κρίσιμου μεταβολικού παράγοντα (ενός ενζύμου), ή να*

είναι απαραίτητο σε κάποιο μεταβολικό στάδιο (σε μια ενζυμική αντίδραση).

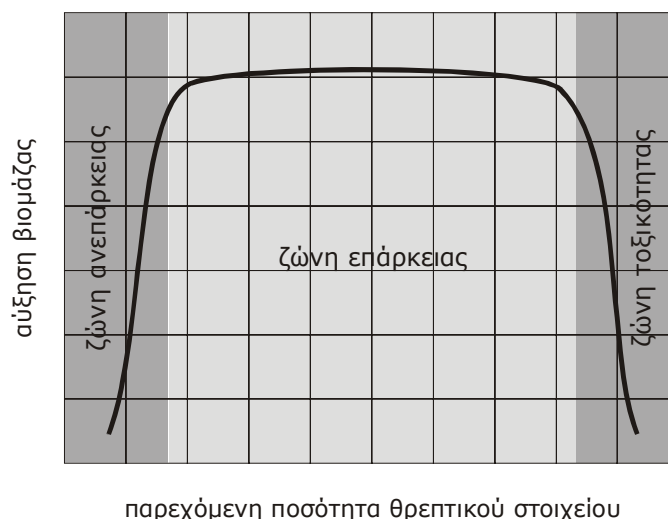
Τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία διακρίνονται σε μακροστοιχεία (C, H, O, N, K, Ca, P, Mg, S) τα οποία απαιτούνται από το φυτό σε σχετικά μεγάλες ποσότητες και σε μικροστοιχεία ή ιχνοστοιχεία (Mn, Cu, Zn, Mo, Cl, B, Ni) τα οποία απαιτούνται σε πολύ μικρές ποσότητες. Ο σίδηρος από πλευράς απαιτήσεων κατανέμεται, μεταξύ μακροστοιχείων και ιχνοστοιχείων (Hopkins, 1999).

Τα μακροστοιχεία συμμετέχουν ως δομικά συστατικά του κυττάρου και παίρνουν μέρος στη διαχείριση της ενέργειας και σε ενζυμικές αντιδράσεις. Ο άνθρακας, το οξυγόνο και το υδρογόνο αποτελούν το 94% της ξηρής ουσίας των φυτών και αποτελούν τα κύρια δομικά στοιχεία των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και των λιπών. Ακόμα παρέχουν τη απαιτούμενη για την αύξηση μεταβολική ενέργεια, μέσω της οξειδωτικής διάσπασης των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και των λιπών κατά τη διάρκεια της αναπνοής. Ο άνθρακας, το υδρογόνο, το οξυγόνο, το άζωτο, ο φώσφορος και το θείο αποτελούν τα κύρια δομικά στοιχεία των πρωτεϊνών του πρωτοπλάσματος των κυττάρων. Τα υπόλοιπα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία λειτουργούν ως παράγοντες σταθεροποίησης του πρωτοπλάσματος και των οργανιδίων του κυττάρου, ως παράγοντες ενεργοποίησης των κυττάρων και ως παράγοντες με καθαρά καταλυτικό ρόλο (Δροσόπουλος, 1992).

1.2. Επάρκεια και Ανεπάρκεια Θρεπτικών Στοιχείων

Η επάρκεια των θρεπτικών στοιχείων αποτελεί παράγοντα ζωτικής σημασίας για την ομαλή ανάπτυξη και ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου των φυτικών οργανισμών. Ωστόσο είναι σπάνιο ένα φυτό, είτε σε συνθήκες καλλιέργειας είτε στο φυσικό του περιβάλλον, να μην αντιμετωπίσει ένα περιστατικό έλλειψης ενός θρεπτικού στοιχείου κατά τη διάρκεια του βιολογικού του κύκλου.

Η αύξηση των φυτών (ως παραγωγή ξηρής βιομάζας) σε συνάρτηση με την παροχή θρεπτικών στοιχείων (εικόνα 1) παρουσιάζει τρεις χαρακτηριστικές περιοχές. Στην πρώτη ο ρυθμός ανάπτυξης αυξάνεται με την αύξηση της παροχής θρεπτικού στοιχείου. Στην δεύτερη, ο ρυθμός ανάπτυξης προσεγγίζει ένα μέγιστο όριο και παραμένει ανεπηρέαστος από την παροχή επιπλέον θρεπτικού στοιχείου. Τέλος, στην τρίτη περιοχή, με την αύξηση της παροχής θρεπτικού ο ρυθμός ανάπτυξης μειώνεται (Marschner, 1995).



Εικόνα 1. Τα όρια ανεπάρκειας, επάρκειας και τοξικότητας ενός θρεπτικού στοιχείου σε σχέση με τη συσσώρευση βιομάζας του φυτού. Στις περιοχές ανεπάρκειας και τοξικότητας, η ομοιόσταση δεν μπορεί να διατηρηθεί και το φυτό υφίσταται καταπόνηση.

Η ελλειψή τροφοδοσία ενός ή περισσότερων θρεπτικών στοιχείων προκαλεί διαταραχή σε μία ή περισσότερες λειτουργίες των ανώτερων φυτών και επομένως αντιμετωπίζεται ως παράγοντας καταπόνησης. Η ανεπάρκεια ενός θρεπτικού στοιχείου μπορεί να οφείλεται στη μειωμένη περιεκτικότητα του στοιχείου στο έδαφος, αλλά μπορεί να ενισχύεται ή και να προκαλείται ακόμα από άλλους παράγοντες όπως η μη αφομοιώσιμη μορφή του στοιχείου, οι ακραίες εδαφοκλιματικές συνθήκες (ακραίες τιμές pH, υπερβολική ή ελλειψή υγρασία) (Shuman, 1994; Pearson and Rengel, 1997; Marschner, 1995). Ένας έμμεσος παράγοντας που καθορίζει σε ορισμένες περιπτώσεις τη διαθεσιμότητα ενός θρεπτικού στοιχείου είναι οι συνεργιστικές οι ανταγωνιστικές σχέσεις που αναπτύσσονται μεταξύ των στοιχείων, αφού η σχετική διαθεσιμότητα ενός στοιχείου μπορεί να επηρεάσει την διαθεσιμότητα ενός άλλου (Shuman, 1994; Δροσόπουλος, 1992).

1.2.ι. Οι Αντιδράσεις των Φυτών για την Αντιμετώπιση της Έλλειψης Θρεπτικών Στοιχείων.

Τα φυτά υπό συνθήκες έλλειψης ενός θρεπτικού στοιχείου αντιδρούν με την ενεργοποίηση μηχανισμών με σκοπό την απορρόφηση επαρκών ποσοτήτων του στοιχείου, παρά την μειωμένη διαθεσιμότητα του από το εδαφικό διάλυμα. Εάν η ρύθμιση αυτή είναι αναποτελεσματική τα φυτά οδηγούνται στην τροποποίηση των φυσιολογικών τους λειτουργιών ώστε να καταστεί δυνατή η διατήρηση της ομοιόστασης τους και να συνεχίσουν να λειτουργούν αποδοτικά κάτω από το νέο καθεστώς θρέψης. Οι ρυθμίσεις αυτές μπορεί να είναι αποτέλεσμα της επίδρασης γενετικής προσαρμογής, είτε φαινοτυπικού επίκτητου εγκλιματισμού.

Οι αντιδράσεις των φυτών για την αντιμετώπιση της έλλειψης θρεπτικών στοιχείων περιλαμβάνουν:

α. Ενίσχυση της λειτουργίας των μηχανισμών πρόσληψης των στοιχείων καθώς και τροποποίηση του περιβάλλοντος της ριζόσφαιρας,

Υπό συνθήκες έλλειψης ενός απαραίτητου θρεπτικού στοιχείου ο ρυθμός της άντλησης των θρεπτικών στοιχείων από το ριζικό σύστημα αυξάνει, ωστόσο η ρύθμιση αυτή μπορεί να επιφέρει πτώση στο ρυθμό απορρόφησης άλλων θρεπτικών στοιχείων (Aerts and Chapin III, 2000). Η ικανότητα πρόσληψης μπορεί να ενισχυθεί με αύξηση των θέσεων δέσμευσης (μέσω *de novo* σύνθεσης μεταφορέων) ή / και της αύξησης της δραστηριότητας των υπάρχοντων θέσεων δέσμευσης (μέσω αλλοστερικών τροποποιήσεων των πρωτεϊνικών μεταφορέων) (Duncan, 1994; Aerts and Chapin III, 2000). Επίσης επάγεται η ανάπτυξη πλάγιων ριζών και πολυάριθμων ριζικών τριχιδίων (Shuman, 1994; Pearson and Rengel, 1997).

Η ανάπτυξη μυκορριζικών σχέσεων αυξάνει σημαντικά την ικανότητα άντλησης ορισμένων στοιχείων (Le Bot *et al.*, 1994; Aerts and Chapin III, 2000). Μέσω της απέκκρισης όξινων ανθρακικών ιόντων, ιόντων υδρογόνου (ιόντα αντιστάθμισης των αντλιών αντιμεταφοράς κατιόντων / πρωτονίων) ή οργανικών οξέων (Shuman, 1994), μία διεργασία η οποία απαιτεί πρόσθετη δαπάνη ενέργειας και κατά συνέπεια προϋποθέτει επαρκή αερισμό του εδάφους και τροφοδοσία με σάκχαρα (Larcher, 1995; Pearson and Rengel, 1997), είναι δυνατή η βελτίωση της ιονανταλλακτικής ικανότητας της ρίζας. Τα οργανικά οξέα, ορισμένα φαινολικά συστατικά αλλά και τα φυτομεταλλοφόρα (παράγοντες συμπλοκοποίησης μετάλλων), δρουν επίσης ως παράγοντες χηλιοποίησης, τροποποιώντας το οξειδωτικό περιβάλλον της ριζόσφαιρας ή σε ορισμένες περιπτώσεις διαμορφώνοντας κατάλληλες συνθήκες για την ανάπτυξη ευεργετικής εδαφικής μικροχλωρίδας (Larcher, 1995; Le Bot *et al.*, 1994; Marschner, 1995; Pearson and Rengel, 1997).

β. Αλλαγή στο πρότυπο χρησιμοποίησης των διαθέσιμων ποσοτήτων θρεπτικών στοιχείων.

Οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί των φυτών περιλαμβάνουν αποδέσμευση από ή / και μειωμένη εναπόθεση στο χυμοτόπιο του στοιχείου που βρίσκεται σε έλλειψη. Η δυνατότητα ρύθμισης περιορίζεται σε ορισμένα μόνο θρεπτικά στοιχεία που αποθηκεύονται στο κυτταρόπλασμα ή στο χυμοτόπιο και σε θρεπτικά στοιχεία τα οποία συμμετέχουν σε μόρια που ρυθμίζουν την οσμωτική ισορροπία των κυττάρων ή σε προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού με

Εισαγωγή

αμυντικό κυρίως προσανατολισμό (Aerts and Chapin III, 2000). Σε επίπεδο πρωτογενούς μεταβολισμού, οι δυνατότητες της τροποποίησης του προτύπου χρήσης των θρεπτικών στοιχείων είναι εξαιρετικά περιορισμένες αφού δεν υπάρχουν εναλλακτικές οδοί χρήσης των μακροστοιχείων. Για παράδειγμα η σχέση αζώτου προς φώσφορο εμφανίζει μία εντυπωσιακή σταθερότητα σε όλα τα φυτά της χέρσου και κυμαίνεται μεταξύ 8 - 10/1. Για τα ιχνοστοιχεία, οι μεταβολικοί ελιγμοί είναι ακόμα πιο περιορισμένοι αφού οι εξειδικευμένοι ρόλοι (για παράδειγμα ως συνενζυμικοί παράγοντες) τους οποίους επιτελούν δεν αφήνουν πολλά περιθώρια.

γ. Κινητοποίηση αποθεμάτων από ώριμα όργανα.

Σε συνθήκες ανεπάρκειας θρεπτικών στοιχείων τα φυτά επανακινητοποιούν ορισμένες κατηγορίες θρεπτικών στοιχείων από τα παλαιότερα όργανα αποδίδοντας τα στα αναπτυσσόμενα, μια ορμονικά ελεγχόμενη διαδικασία. Συνεπώς τα συμπτώματα από την έλλειψη υψηλής κινητικότητας θρεπτικών στοιχείων εμφανίζονται πρώτα στα ώριμα όργανα ενώ το αντίθετο συμβαίνει για τα στοιχεία χαμηλής κινητικότητας (Taiz and Zeiger, 1998). Έτσι εξοικονομούνται πόροι και δίδεται προτεραιότητα στην ανάπτυξη νεαρών οργάνων και ιδίως των αναπαραγωγικών. Σε πολλές περιπτώσεις παρατηρείται αποκοπή ώριμων οργάνων με στόχο την περαιτέρω εξασφάλιση ποσοτήτων θρεπτικών στοιχείων προς τα αναπτυσσόμενα όργανα.

δ. Αλλαγή στο πρότυπο ανάπτυξης με μείωση του ρυθμού αύξησης ή τροποποίηση του λόγου υπέργειο προς υπόγειο μέρος.

Με τον τρόπο αυτό δίδεται προτεραιότητα στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος με στόχο την εκμετάλλευση νέων εδαφικών όγκων (Le Bot et al., 1994; Smirnof, 1995). Υπάρχουν ωστόσο περιπτώσεις όπου η ενίσχυση της απορρόφησης των θρεπτικών στοιχείων επιτυγχάνεται με κατάλληλες τροποποιήσεις της αρχιτεκτονικής του ριζικού συστήματος και κρίσιμων παραμέτρων όπως του ειδικού μήκους ρίζας. Πέραν αυτού σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων παρατηρείται περιορισμός της ανάπτυξης λόγω παρεμπόδισης των κυτταρικών διαιρέσεων και της επιμήκυνσης. Το γεγονός αυτό αποτελεί από μόνο του μια άμεση στρατηγική αντιμετώπισης της έλλειψης, δεδομένου ότι η μικρότερη φυτική βιομάζα η οποία προκύπτει έχει μικρότερες απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία (Aerts and Chapin III, 2000).

ε. Εκτροπή της ροής οργανικού άνθρακα του πρωτογενούς μεταβολισμού προς άλλες μεταβολικές οδούς και τον δευτερογενή μεταβολισμό.

Σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων, όπως για παράδειγμα του αζώτου, παρατηρείται αποσυντονισμός των επιμέρους λειτουργιών των φυτικών κυττάρων. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα φυτά αντιδρούν με την εκτροπή του μεταβολισμού προς εναλλακτικές κατευθύνσεις, ώστε αφενός να καταναλωθεί η πλεονάζουσα ενέργεια και αφετέρου να περιοριστούν οι ανάγκες ως προς το ελλείπον θρεπτικό στοιχείο (Chapin III, 1991; Hamilton *et al.*, 2001). Συχνά αυτό οφείλεται στην υπερπαραγωγή οργανικού άνθρακα λόγω μείωσης του ρυθμού αύξησης.

I.2.ii Επιπτώσεις της Έλλειψης Θρεπτικών Στοιχείων στην Ανάπτυξη και τον Πρωτογενή Μεταβολισμό των Ανωτέρων Φυτών

Η έλλειψη ενός ή περισσότερων θρεπτικών στοιχείων έχει ως αποτέλεσμα να παρατηρούνται άμεσες δυσμενείς επιδράσεις σε κομβικά μεταβολικά σημεία, αλλά και έμμεσες μεταβολικές παρενέργειες. Οι άμεσες επιδράσεις εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τους φυσιολογικούς ρόλους τους οποίους επιτελεί το στοιχείο που βρίσκεται σε ανεπαρκή επίπεδα (Aerts and Chapin III, 2000).

Η φωτοσυνθετική λειτουργία επηρεάζεται άμεσα και έμμεσα από την έλλειψη θρεπτικών στοιχείων. Το άζωτο (Aerts and Chapin III, 2000) το μαγνήσιο και το μαγγάνιο (Longnecker, 1994) εμπλέκονται άμεσα στην φωτοσύνθεση, ενώ άλλα, όπως το κάλιο και ο φώσφορος, (Pieters, *et al.*, 2001) επηρεάζουν τη διαδικασία έμμεσα μέσω της καταστολής της ανάπτυξης ή της διαταραχής στη διανομή των φωτοσυνθετικών προϊόντων (Logan *et al.*, 1999; Roitsch, 1999; Cakmak *et al.*, 1994). Η αναγωγική δύναμη που προέρχεται από τη φωτοσύνθεση μπορεί να διοχετευτεί για την αναγωγή τόσο του διοξειδίου του άνθρακα όσο και του ανόργανου αζώτου. Η διαθεσιμότητα αζώτου επηρεάζει τη βιοσύνθεση των υδατανθράκων και των αμινοξέων, και δεν είναι δύσκολο να προβλεφθεί ότι η τροφοπενία αζώτου θα προκαλέσει συσσώρευση υδατανθράκων στα φυτικά κύτταρα.

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν ορισμένες έμμεσες μεταβολικές παρενέργειες οι οποίες οφείλονται είτε σε συσσώρευση μεταβολιτών και ενέργειας είτε στη συσσώρευση ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) οι οποίες επιφέρουν οξειδωτική καταπόνηση (Logan *et al.*, 1999; Polle *et al.*, 1992 ; Cakmak *et al.*, 1995).

I.3. Τροφοπενίες Θρεπτικών Στοιχείων

Ως τροφοπενίες ορίζονται οι παθολογικές καταστάσεις στις οποίες οδηγούνται τα φυτά, εάν οι συγκεντρώσεις των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων στα κύτταρα είναι χαμηλότερες των απαιτούμενων. Η χαμηλή συγκέντρωση μπορεί να οφείλεται είτε στη χαμηλή διαθεσιμότητα από το

Εισαγωγή

εδαφικό περιβάλλον, είτε στην αδυναμία απορρόφησης από τα φυτά. Οι τροφοπενίες συνοδεύονται από την εμφάνιση χαρακτηριστικών συμπτωμάτων στα φυτικά όργανα, τα οποία αναιρούνται με τη διόρθωση της συγκέντρωσης των θρεπτικών στοιχείων που υπολείπονται (Δροσόπουλος, 1992).

Τα συμπτώματα των τροφοπενιών στα φυτά αποτελούν συνήθως έκφραση μιας μεταβολικής διαταραχής. Οι διαταραχές αυτές σχετίζονται με τους ρόλους που παίζουν τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία στο φυτικό μεταβολισμό (Taiz and Zeiger, 1998). Σε ορισμένες περιπτώσεις, τα συμπτώματα της έλλειψης αντανakλούν καθαρά το λειτουργικό ρόλο του συγκεκριμένου στοιχείου. Σε άλλες περιπτώσεις, η συσχέτιση μεταξύ των συμπτωμάτων της έλλειψης και του λειτουργικού ρόλου του στοιχείου μπορεί να μην είναι τόσο προφανής. Επιπλέον, τα συμπτώματα από την έλλειψη ενός στοιχείου δεν είναι σταθερά μεταξύ διαφορετικών φυτικών ειδών. Ωστόσο, για κάθε στοιχείο μπορούν να γίνουν κάποιες γενικεύσεις όσον αφορά τα συμπτώματα της έλλειψης (Horkins, 1999).

II. Η Φυσιολογία της Διατροφής των Φυτών με Βόριο

Το βόριο αποτελεί απαραίτητο θρεπτικό στοιχείο για την ανάπτυξη όλων των ανώτερων φυτικών οργανισμών. Οι απαιτήσεις των φυτών σε βόριο σε μοριακή βάση είναι υψηλότερες από κάθε άλλο μικροστοιχείο (Δροσόπουλος, 1992). Ο ακριβής φυσιολογικός ρόλος του στοιχείου στα φυτά δεν έχει πλήρως αποσαφηνισθεί, γεγονός το οποίο αποτελεί παράδοξο, δεδομένης της αμεσότητας και της έντασης των συμπτωμάτων από την έλλειψη του στοιχείου καθώς και της συχνότητας εμφάνισης της τροφοπενίας βορίου σε παγκόσμια κλίμακα. Οι δυσμενέστερες επιπτώσεις της έλλειψης βορίου εμφανίζονται στα στάδια της έντονης βλαστητικής αύξησης και της ανάπτυξης των αναπαραγωγικών οργάνων (Blevins and Lukaszewski, 1998; Goldberg, 1993; Gupta, 1993).

Τα συμπτώματα της έλλειψης υποδηλώνουν ότι το βόριο παίζει ουσιώδη ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης των κυττάρων και την υποστήριξη των αναπτυξιακών και αναπαραγωγικών διεργασιών σε όλους τους ανώτερους φυτικούς οργανισμούς. Ωστόσο μέχρι σήμερα δεν έχει αναφερθεί κανένα ζωτικό για τον μεταβολισμό βιομόριο στη δομή του οποίου να συμμετέχει το στοιχείο αυτό. Το βόριο δεν αποτελεί ενζυμικό παράγοντα ούτε συμμετέχει άμεσα ή έμμεσα στις ενζυμικές αντιδράσεις αλλά ούτε λαμβάνει μέρος στη διαχείριση της ενέργειας των κυττάρων (Teasdale and Richards, 1990; Marschner, 1995).

II.1. Ο Ρόλος του Βορίου στην Ανάπτυξη και Διαφοροποίηση των Ανωτέρων Φυτών

Πολλές επιπτώσεις της έλλειψης βορίου σχετίζονται με τον δομικό του ρόλο ή προκύπτουν από την απώλεια της κυτταρικής ομοιόστασης. Παρόλο που έως σήμερα δεν έχει διαπιστωθεί κάποια άμεση συμμετοχή του βορίου στον πρωτογενή μεταβολισμό, πιστεύεται πως ορισμένα ένζυμα όπως η ουρεάση (Thellier *et al.*, 1979) και η φωσφορογλυκομουτάση (Shepherd, 1951) μπορούν να αλληλεπιδράσουν με το βορικό οξύ. Επίσης έχει προταθεί ότι το βόριο ενδέχεται να αποτελεί ρυθμιστικό παράγοντα για ορισμένα μεταλλοένζυμα (Blevins and Lukaszewski, 1994; Dembitsky *et al.*, 2002). Ωστόσο, η ικανότητα του βορίου να αλληλεπιδρά με ορισμένα ένζυμα *in vitro* δεν συνεπάγεται και ανάλογη δράση *in vivo* (Blevins and Lukaszewski, 1998; Dembitsky *et al.*, 2002).

Ο ρόλος του βορίου στο μεταβολισμό των φυτών παραμένει υπό διερεύνηση. Ο Dugger (1984) εστιάζοντας στη φύση των πρωτογενών συμπτωμάτων των φυτών στην έλλειψη βορίου υπέθεσε ότι το βόριο μπορεί να εμπλέκεται σε πολυάριθμα μεταβολικά μονοπάτια και μπορεί να εμπλέκεται στη ρύθμιση μεταβολικών διεργασιών κατά τρόπο ανάλογο με αυτόν των φυτικών ορμονών.

Η έλλειψη βορίου προκαλεί παρεμπόδιση της επιμήκυνσης των κυττάρων σε αναπτυσσόμενους ιστούς (Hu and Brown, 1994). Η αντίδραση αυτή μπορεί να ερμηνεύσει την παρεμπόδιση της αύξησης των μεριστωματικών ιστών, που παρατηρείται υπό συνθήκες τροφοπενίας βορίου (Dugger, 1983; Marschner, 1995). Σε περιπτώσεις πλήρους έλλειψης του στοιχείου, μπορεί να παρατηρηθεί ολική νέκρωση του κορυφαίου μεριστώματος. Τα φύλλα δεν εκπτύσσονται πλήρως, λαμβάνουν ακανόνιστα τελικά σχήματα (Pilbeam and Kirkby, 1983; Hu and Brown, 1994; Huang *et al.*, 1996), αποκτούν αρχικά σκούρο πράσινο χρώμα, ακολούθως αναπτύσσουν καστανούς χρωματισμούς και σε ακραίες συνθήκες έλλειψης εμφανίζουν χλωρώσεις και απορρίπτονται (Dell and Huang, 1997; Marschner, 1995). Η τροφοπενία βορίου επιδρά και επί της κυτταρικής διαίρεσης όπως έχει διαπιστωθεί σε ακρορίζια ηλίανθου (Moore and Hirsch, 1983). Οι αναπτυξιακές αυτές δυσλειτουργίες πιστεύεται πως είναι συνέπεια του δομικού ρόλου του βορίου στα κυτταρικά τοιχώματα και πιθανότατα και στις κυτοπλασματικές μεμβράνες (Dell and Huang, 1997 και σχετική βιβλιογραφία). Τη διαπίστωση αυτή ενισχύει και το γεγονός ότι οι απαιτήσεις των ώριμων οργάνων σε βόριο για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης είναι συγκριτικά πολύ μικρότερες αυτών των αναπτυσσόμενων οργάνων. Σύμφωνα με τους Brown and Hu (1997), η έλλειψη του βορίου στα ώριμα όργανα του

Εισαγωγή

Prunus salicina, παρόλο που έχει ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση των διαλυτών αποθεμάτων του στοιχείου, δεν συνοδεύεται από την εμφάνιση συμπτωμάτων ή διαταραχή φυσιολογικών λειτουργιών ενώ το αντίθετο συμβαίνει όταν το βόριο απουσιάζει από τα αναπτυσσόμενα όργανα.

II.1.i. Το Βόριο Συμμετέχει στη Δομή και Λειτουργία των Κυτταρικών Τοιχωμάτων

Το ποσοστό του βορίου που εντοπίζεται στο κυτταρικό τοίχωμα είναι σημαντικό (Hu and Brown, 1994) ενώ σε περιπτώσεις ανεπαρκούς τροφοδοσίας μπορεί να φτάσει το 95-98% του συνολικού κυτταρικού βορίου (Loomis and Durst, 1992; Matoh *et al.*, 1993; Hu and Brown, 1994; O'Neil *et al.*, 2001). Ωστόσο τα παραπάνω ποσοστά εξαρτώνται από το είδος του φυτού και τις συνολικές απαιτήσεις του σε βόριο (Hu *et al.*, 1996; Matoh *et al.*, 1996).

Οι αλλοιώσεις της λεπτής δομής και των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του κυτταρικού τοιχώματος και του μεσοτοιχίου είναι ένα από τα χαρακτηριστικότερα συμπτώματα της τροφопενίας βορίου (Hu and Brown, 1994; Loomis and Durst, 1992). Τα κυτταρικά τοιχώματα στις συνθήκες αυτές εμφανίζονται διογκωμένα (Matoh *et al.*, 1992; Hu and Brown, 1994; Matoh *et al.*, 2000), ακανόνιστα (Hu and Brown, 1994) και με περισσότερο αδρή υφή (Matoh *et al.*, 1992). Οι αλλοιώσεις στη λεπτή δομή συνοδεύονται από βραχυπρόθεσμες (Findelee *et al.*, 1997) αλλά και μακροπρόθεσμες (Hu and Brown, 1994) αλλαγές στα μηχανικά χαρακτηριστικά των κυτταρικών τοιχωμάτων, όπως στην ελαστικότητα (Findelee *et al.*, 1997), τη διάμετρο των πόρων (Fleischer *et al.*, 1999) αλλά και την υδραυλική αγωγιμότητα των κυττάρων (Findelee *et al.*, 1997). Τα συμπτώματα αυτά κάνουν την εμφάνισή τους μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα από τη διακοπή της τροφοδοσίας με βόριο (Hirsch and Torrey, 1980). Η ένταση των συμπτωμάτων υποδηλώνει ότι οι επιπτώσεις από την έλλειψη βορίου στα φυτά στη δομή και λειτουργία των κυτταρικών τοιχωμάτων είναι άμεσες και δεν σχετίζονται με κάποιο μεταβολικό μηχανισμό (Hu and Brown, 1994). Ο λειτουργικός ρόλος του βορίου στην επιμήκυνση των κυττάρων πιστεύεται ότι σχετίζεται με τα χαρακτηριστικά ελαστικότητας του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος, με τον έλεγχο που ασκεί στην εναπόθεση του δευτερογενούς κυτταρικού τοιχώματος (Matoh, 2000; Dell and Huang, 1997) και την διαμόρφωση του τελικού μεγέθους και σχήματος των κυττάρων (Dell and Huang, 1997).

Κατά τη μελέτη 14 ειδών με διαφορετικές απαιτήσεις σε βόριο διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ συγκέντρωσης βορίου στα φύλλα και των συγκεντρώσεων ουρονικού οξέως, ραμνόζης, γαλακτόζης καθώς και πηκτίνης

στα κυτταρικά τοιχώματα (Hu *et al.*, 1996). Ωστόσο η έλλειψη βορίου δεν επηρέασε το ποσό του ουρονικού οξέως των κυτταρικών τοιχωμάτων, γεγονός που υποδηλώνει ότι η έλλειψη βορίου δεν είχε καμία επίδραση στο μεταβολισμό της πηκτίνης. Κάτω από συνθήκες έλλειψης η ποσότητα του διαλυτού βορίου μειώθηκε δραματικά ενώ το ποσοστό του αδιάλυτου κυτταρικού βορίου αυξήθηκε αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν είτε α. ότι είδη με κυτταρικά τοιχώματα με υψηλή περιεκτικότητα σε πηκτίνη απαιτούν μεγαλύτερα ποσά βορίου για την κατασκευή των κυτταρικών τοιχωμάτων τους, είτε β. ότι η πηκτίνη στα κυτταρικά τοιχώματα δημιουργεί ένα αδιάλυτο σύμπλοκο με το βόριο, και κατά συνέπεια μειώνεται η διαθεσιμότητά της για άλλες πιθανές μεταβολικές διαδικασίες που απαιτούν βόριο (Hu *et al.*, 1996).

Ορισμένα πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι το βόριο συμμετέχει στη δημιουργία διαδεσμών μεταξύ των δομικών στοιχείων του κυτταρικού τοιχώματος τα οποία διαθέτουν δομή *cis*-διόλης (Loomis and Durst, 1992; Cakmak and Römheld, 1997). Οι διαδεσμοί συμβάλλουν στη διατήρηση της μηχανικής αντοχής και της ελαστικότητας των κυτταρικών τοιχωμάτων κατά τη διάρκεια της κυτταρικής επιμήκυνσης, ώστε να επιτρέπεται η προοδευτική αύξηση των διαστάσεων των κυττάρων χωρίς την ανάγκη συνεχούς διάσπασης και αναδημιουργίας ομοιοπολικών δεσμών (Teasdale and Richards, 1990). Η δημιουργία των διαδεσμών πραγματοποιείται μέσω διεστέρων του βορικού οξέος με τις ομάδες υδροξυλίου των δομικών μονάδων των πολυσακχαριτών των κυτταρικών τοιχωμάτων (κυτταρίνη, ημικυτταρινικά και πηκτινικά πολυμερή). Τα ισχυρότερα σύμπλοκα δημιουργούνται με φουρανόζες διαμόρφωσης *cis*-διόλης όπως η ριβόζη και η απιόζη. Η απιόζη αποτελεί δομικό μόριο των συστατικών των κυτταρικών τοιχωμάτων σε μια σειρά μονοκότυλων και δικότυλων φυτών και αποτελεί το κύριο συστατικό για την δημιουργία των πλάγιων διακλαδώσεων στα κυτταρικά τοιχώματα (Loomis and Durst, 1992). Πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι μεταλλαγμένα φυτά *Arabidopsis thaliana* τα οποία εμφανίζουν τροποποιήσεις στα πηκτινικά πολυμερή, τέτοιες ώστε να παρεμποδίζεται ο σχηματισμός των διαδεσμών με το βορικό οξύ έχουν εύθραυστα φύλλα, χαρακτηριστικό σύμπτωμα έλλειψης βορίου (O'Neill *et al.*, 2001).

II.1.ii. Το Βόριο Αποτελεί Παράγοντα Σταθερότητας και Λειτουργικότητας της Κυτοπλασματικής Μembrάνης.

Μια σειρά συμπτωμάτων της τροφопενίας του στοιχείου υποδηλώνουν ότι ενδεχομένως το βόριο να λαμβάνει μέρος και σε άλλες κυτταρικές δομές οι οποίες δεν έχουν ακόμα διερευνηθεί. Επιπρόσθετα, νεώτερα δεδομένα

Εισαγωγή

υποστηρίζουν το ζωτικό ρόλο του στοιχείου αυτού σε ζωικούς οργανισμούς των οποίων τα κύτταρα στερούνται κυτταρικού τοιχώματος (Brown *et al.*, 2002). Συσσωρευμένα πειραματικά δεδομένα υποδηλώνουν πως η ακεραιότητα και η λειτουργικότητά των μεμβρανών εξαρτάται άμεσα από την παρουσία του βορίου (Hirsch and Torrey, 1980; Cakmak and Römheld, 1997; Pfeffer *et al.*, 1998). Η έλλειψη βορίου αυξάνει την περατότητα της μεμβράνης και προκαλεί απώλεια της διαμερισματοποίησης, αφού παρατηρείται διαρροή ιόντων καλίου, σακχάρων, αμινοξέων και φαινολικών συστατικών (Cakmak *et al.*, 1995). Ωστόσο, η παραπάνω επίδραση δεν είναι καθολική και προϋποθέτει την επικράτηση κατάλληλων συνθηκών περιβάλλοντος ώστε να συνδυαστεί με υψηλούς ρυθμούς αύξησης (Pfeffer *et al.*, 1998). Η έλλειψη βορίου διαταράσσει επίσης την εκλεκτικότητα των μεμβρανών. Σύμφωνα με παλαιότερες υποθέσεις, η παραπάνω διαταραχή σχετίζεται με την παρατηρούμενη αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών (Cakmak *et al.*, 1995). Ωστόσο, νεώτερα δεδομένα υποστηρίζουν ότι δεν υφίσταται άμεση σχέση μεταξύ φαινολικών συστατικών και ομοιοστάσης των κυτοπλασματικών μεμβρανών (Pfeffer *et al.*, 1998). Σύμφωνα με τους παραπάνω ερευνητές, η διαταραχή της ακεραιότητας της μεμβράνης σχετίζεται ενδεχομένως με μια αδιευκρίνιστη ακόμα άμεση δράση του βορίου στις μεμβρανικές αντλίες και τα ένζυμα που σχετίζονται με τη διατήρηση του αναγωγικού δυναμικού του αποπλαστικού χώρου (Barr and Crane, 1991; Ferrol *et al.*, 1993; Lawrence *et al.*, 1995) ή με έναν δομικό ρόλο του βορίου στα μεμβρανικά συστατικά, ανάλογο εκείνου του κυτταρικού τοιχώματος.

Το βόριο παίζει ρόλο στην ομαλή ροή ηλεκτρονίων κατά τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην κυτοπλασματική μεμβράνη (Ferrol and Donaire, 1992; Cseh and Fodor, 1997). Σε συνθήκες έλλειψης βορίου παρατηρείται πτώση της δραστηριότητας της οξειδάσης του NADH της κυτοπλασματικής μεμβράνης ενώ η επαναδιανομή του στοιχείου προκαλεί ταχύτατη ενεργοποίηση του ενζύμου (Barr and Crane, 1991; Findelee *et al.*, 1997). Η έλλειψη του βορίου διαταράσσει την ικανότητα πρόσληψης και μεταφοράς ιόντων η οποία αποκαθίσταται ταχέως όταν προστεθεί βόριο. Αυτό πιθανόν να οφείλεται σε διαταραχές στη λειτουργία των μεμβρανικών αντλιών πρωτονίων και σε αδυναμία ανάπτυξης διαφοράς ηλεκτροχημικού δυναμικού μεταξύ των πλευρών της μεμβράνης (Robertson and Loughman, 1974; Pollard *et al.*, 1977; Goldbach, 1984; Cakmak and Römheld, 1997). Από την άλλη πλευρά, η ραγδαία αποκατάσταση της δράσης των μεμβρανικών αντλιών πρωτονίων όταν επαναχορηγείται βόριο υποδηλώνει

πιθανή άμεση συμμετοχή του βορίου ως συνενζυμικού παράγοντα (Cakmak and Römheld, 1997).

Σύμφωνα με τους Cakmak *et al.* (1995) ο ρόλος του βορίου στη σταθεροποίηση της δομής των μεμβρανών ενδεχομένως να επιτυγχάνεται με τη δημιουργία συμπλόκων του βορικού οξέος με μεμβρανικά συστατικά, μέσω δεσμών υδρογόνου ή εστερικών δεσμών οι οποίοι συμβάλλουν στην απόκτηση της απαιτούμενης διαμόρφωσης, γεωμετρικής τοποθέτησης και αγκύρωσης των μεμβρανικών πρωτεϊνών (Cakmak *et al.*, 1995). Ορισμένα μεμβρανικά ένζυμα ή ένζυμα του κυτταρικού τοιχώματος, τα οποία λόγω θέσης θεωρούνται ανενεργά, υπό συνθήκες τροφοπενίας βορίου ενδέχεται να ελευθερώνονται στον αποπλαστικό χώρο και να ασκούν ενζυμική δράση (Blevins and Lukaszewski, 1998). Σε αυτά περιλαμβάνονται η ριβονουκλεάση, η αφυδρογονάση της 6-φώσφορο-γλυκόζης, η αμμώνιο-λυάση της φαινυλαλανίνης, η β-γλυκοζιδάση και οι πολυφαινολοξειδάσες. Η ενεργοποίηση των ενζύμων αυτών υπό τροφοπενία βορίου επιδρά σημαντικά στον κυτταρικό μεταβολισμό και στην δεξαμενή των φαινολικών συστατικών. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται στα δίκότυλα αλλά όχι στα μονοκότυλα φυτά, επομένως τίθεται το ερώτημα αν οι αποπλαστικές πρωτεΐνες των μονοκότυλων έχουν διαφορετικό πρότυπο γλυκοζυλίωσης ή αν η παρουσία τους στις μεμβράνες και τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών αυτών είναι περιορισμένη (Shkol'nik, 1984; Blevins and Lukaszewski, 1998).

II.2. Απορρόφηση του Βορίου από το Έδαφος

Η μεταφορά του βορίου από το εδαφικό διάλυμα στις ρίζες των φυτών, γίνεται μέσω μαζικής ροής και διάχυσης. Η μαζική ροή αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό μεταφοράς βορίου στην περιοχή απορρόφησης (Dannel *et al.*, 2002). Το βορικό οξύ (H_3BO_3), σε φυσιολογικές τιμές pH συμπεριφέρεται ως ασθενές μονοπρωτικό οξύ. Ως εκ τούτου, η κύρια μορφή διαλυτού βορίου στο έδαφος καθώς και η κύρια μορφή πρόσληψης από τις ρίζες των φυτών είναι αυτή του αδιάστατου βορίου (Raven, 1980; Hu and Brown, 1997; Power and Woods, 1997). Με τη μορφή αυτή διαπερνά τις πλασματικές μεμβράνες με σχετικά υψηλούς ρυθμούς αν και ο βαθμός περατότητας εξαρτάται από τη λιπιδιακή σύνθεση της μεμβράνης (Hu and Brown, 1997; Stangoulis *et al.* 2001). Στις περισσότερες περιπτώσεις τα κύτταρα των ριζών απορροφούν βορικό οξύ μέσω παθητικής διαμεμβρανικής μεταφοράς. Ωστόσο πλήθος πρόσφατων πειραματικών δεδομένων υποστηρίζουν την ύπαρξη ενός ενεργού μηχανισμού μεταφοράς βορικού οξέος (Dannel *et al.*, 2002).

Εισαγωγή

Η διακίνηση του βορίου από τα κύτταρα των ριζών προς το υπέργειο μέρος προϋποθέτει την φόρτωση του στα αγγεία του ξύλου. Υπό συνθήκες επάρκειας του στοιχείου στο εδαφικό διάλυμα, η συγκέντρωση του στον ανιόντα χυμό είναι συνήθως χαμηλότερη αυτής των κυττάρων της ρίζας (Dannel *et al.*, 1997; Shelp *et al.*, 1998; Dannel *et al.*, 1999; Dannel *et al.*, 2000) χωρίς την ύπαρξη έντονων διακυμάνσεων (Dannel *et al.*, 1998), υποδηλώνοντας την εξάρτηση της διαδικασίας από μηχανισμούς μαζικής ροής και διάχυσης στην κατά ακτίνα κίνηση. Υπό συνθήκες ανεπάρκειας του στοιχείου στο εξωτερικό μέσο, η συγκέντρωση του στοιχείου είναι υψηλότερη στα αγγεία του ξύλου συγκριτικά με αυτή του εξωτερικού μέσου (Dannel *et al.*, 1997; Shelp *et al.*, 1998) καθώς και αυτήν των κυττάρων της ρίζας (Dannel *et al.*, 2002). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την ενεργοποίηση ενός μηχανισμού ανάπτυξης υψηλών συγκεντρώσεων στα σημεία φόρτωσης των αγγείων του ξύλου (Dannel *et al.*, 2002; Takano *et al.*, 2002). Έχει βρεθεί ότι απαραίτητη προϋπόθεση για την ενεργοποίηση ενός τέτοιου μηχανισμού είναι ο εγκλιματισμός των φυτών σε συνθήκες χαμηλής εξωτερικής διαθεσιμότητας βορίου ενώ η επαναφορά σε καθεστώς υψηλών συγκεντρώσεων αναστέλλει τη λειτουργία του (Pfeffer *et al.*, 1999). Η ύπαρξη ομαλού διαπνευστικού ρεύματος συμβάλλει στη διακίνηση του βορίου από το υπόγειο στο υπέργειο μέρος αλλά η τελική κατανομή του στο φυτικό σώμα επηρεάζεται έντονα από τη δυνατότητα επαναδιανομής του μέσω των αγγείων του ηθμού (Brown and Shelp, 1997). Τέλος η απορρόφηση του βορίου από τις ρίζες επηρεάζεται από ορισμένα χαρακτηριστικά του βορικού οξέος όπως η τάση του να σχηματίζει σύμπλοκα τόσο στα κυτταρικά τοιχώματα όσο και στο κυτόπλασμα με κατάλληλους υποκατάστατες (Hu *et al.*, 1996).

II.3. Κατανομή του Βορίου σε Κυτταρικό Επίπεδο και Επίπεδο Φυτού

Με βάση τη διαλυτότητα του στο νερό το κυτταρικό βόριο μπορεί να διακριθεί σε δύο κλάσματα, το αδιάλυτο και το διαλυτό κλάσμα (Pfeffer *et al.*, 1997; Dannel *et al.*, 1998). Το αδιάλυτο κλάσμα αντιπροσωπεύει το βόριο που απαντάται ενωμένο με τα πηκτινικά πολυμερή των κυτταρικών τοιχωμάτων και μπορεί να χαρακτηριστεί ως μη ανταλλάξιμο. Το μεγαλύτερο ποσοστό του βορίου των κυττάρων αντιπροσωπεύεται από αυτό το κλάσμα το οποίο δεν μπορεί να παραληφθεί με υδατική εκχύλιση, γεγονός το οποίο υποδηλώνει τη δημιουργία ισχυρών συμπλόκων του βορικού οξέος με τα αντίστοιχα μόρια (Brown and Hu, 1994). Το διαλυτό κλάσμα του βορίου αντιπροσωπεύει κυρίως το βόριο του κυτταρικού χυμού και δευτερευόντως αυτό του αποπλαστικού χώρου (Dannel *et al.*, 2000; Matoh, 1997). Το κλάσμα αυτό μπορεί δυνητικά να συμμετέχει σε φυσιολογικές διεργασίες σε επίπεδο τόσο κυττάρου όσο και

ολόκληρου φυτού (Dannel *et al.*, 1998). Το διαλυτό βόριο δεν βρίσκεται περιορισμένο σε ένα μόνο κυτταρικό διαμέρισμα ούτε υπάρχουν στοιχεία που αποκλείουν την ύπαρξη του σε κάποιο κυτταρικό διαμέρισμα. Σύμφωνα με τα χημικά χαρακτηριστικά του βορικού οξέος (σχετικά μεγάλη περατότητα των μεμβρανών, αντιδράσεις με πολυόλες, έλλειψη αδιάλυτων αλάτων) αλλά και με τα πειραματικά αποτελέσματα, θεωρείται βέβαιο ότι το βόριο είναι παρόν τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στο χυμοτόπιο. Υπό συνθήκες επάρκειας, ένα σημαντικό ποσοστό (26–68% του συνολικού βορίου) εντοπίζεται στον πρωτοπλάστη, κατανεμημένο κυρίως στο κυτόπλασμα (Thellier *et al.*, 1979; Hu and Brown, 1994; Pfeffer *et al.*, 2001) με τη μορφή συμπλόκων με μόρια χαμηλού μοριακού βάρους (Cakmak and Römheld, 1997) ή στο χυμοτόπιο (Thellier *et al.*, 1979; Martini and Thellier, 1993; Pariot *et al.*, 1994; Pfeffer *et al.*, 2001).

Η κατανομή του βορίου μεταξύ πρωτοπλάστη και κυτταρικού τοιχώματος επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως το είδος του ιστού και το φυτικό είδος. Έτσι, τα υδρόφυτα εμφανίζουν μικρότερο ποσοστό του συνολικού βορίου εντοπισμένο στα κυτταρικά τοιχώματα συγκριτικά με τα μεσόφυτα και αντίστοιχα τα μονοκότυλα εν συγκρίσει με τα δικότυλα (Dannel *et al.*, 2002). Όπως συνάγεται από μία σειρά πειραματικών δεδομένων, η έλλειψη βορίου έχει ως αποτέλεσμα τη δραματική αύξηση του ποσοστού του βορίου το οποίο εντοπίζεται στα κυτταρικά τοιχώματα (έως και 60-90%) συγκριτικά με το διαλυτό κυτταρικό βόριο (Loomis and Durst, 1992; Matoh *et al.*, 1993; Hu and Brown, 1994; Dannel *et al.*, 2002). Έτσι, υπό συνθήκες μειωμένης διαθεσιμότητας, το διαλυτό κλάσμα μειώνεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα (Hu and Brown, 1994; Pfeffer *et al.*, 2001).

Σε επίπεδο φυτού, η κατανομή του βορίου επηρεάζεται σημαντικά από τη δυνατότητα επαναδιανομής του στοιχείου εντός του φυτικού σώματος. Η συγκέντρωση του βορίου στο υπέργειο μέρος, στην πλειονότητα των φυτικών ειδών, αυξάνεται με την ηλικία των ιστών με αποτέλεσμα παλαιότερα όργανα να εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις συγκριτικά με τα νεώτερα (Brown and Shelp, 1997). Ωστόσο, σε φυτικά είδη όπου το βόριο μπορεί να επανακινητοποιηθεί η κατάσταση αυτή ανατρέπεται. Σε καθεστώς επάρκειας του στοιχείου, οι συγκεντρώσεις στη ρίζα είναι συνήθως μικρότερες αυτών του υπέργειου μέρους αλλά η σχέση αυτή αλλάζει δραματικά σε συνθήκες μειωμένης εξωτερικής τροφοδοσίας του στοιχείου (Stavrianakou *et al.*, 2000a). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στην πλεονεκτική θέση των ιστών της ρίζας όσον αφορά την κάλυψη των αναγκών τους σε βόριο συγκριτικά με το υπέργειο μέρος. Ιδιαίτερα πλούσιοι σε βόριο είναι οι ιστοί των αναπαραγωγικών

οργάνων. Ακόμα και σε φυτικά είδη με μικρές απαιτήσεις σε βόριο, οι ανάγκες αυξάνονται δραματικά κατά την περίοδο έκπτυξης των αναπαραγωγικών οργάνων (Loomis and Durst, 1992; Brown *et al.*, 2002).

II.4. Κινητικότητα του Βορίου στο Φυτικό Σώμα

Τα διάφορα φυτικά είδη παρουσιάζουν έντονες διαφορές όσον αφορά την ικανότητα τους να επαναδιανέμουν μέρος του βορίου μεταξύ των επιμέρους ιστών και οργάνων τους, γεγονός το οποίο διαφοροποιεί το βόριο από όλα τα υπόλοιπα θρεπτικά στοιχεία. Τα φυτά μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες με βάση την κινητικότητα του βορίου. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν φυτικά είδη στα οποία η κινητικότητα του βορίου στον ηθμό εμφανίζεται πολύ περιορισμένη ενώ στη δεύτερη κατηγορία φυτά τα οποία παρουσιάζουν αυξημένη δυνατότητα επανεκκίνησης βορίου (Brown and Shelp, 1997).

Η μετακίνηση των θρεπτικών στοιχείων σε μεγάλες αποστάσεις εντός του φυτικού σώματος γίνεται μέσω του αγγειακού συστήματος δηλαδή μέσω των αγγείων του ξύλου και του ηθμού. Η κίνηση στα αγγεία του ξύλου γίνεται ανοδικά από τις ρίζες προς τους βλαστούς και ρυθμίζεται από το διαπνευστικό ρεύμα. Είναι συνεπώς προφανές ότι το βόριο μέσω του διαπνευστικού ρεύματος κατευθύνεται σε σημεία με έντονη διαπνοή. Ωστόσο οι μεγαλύτερες απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία δεν αφορούν πάντα περιοχές του φυτού με έντονη διαπνοή. Σε αντιδιαστολή, η μετακίνηση σε μεγάλες αποστάσεις μέσω των αγγείων του ηθμού γίνεται και προς στις δυο κατευθύνσεις. Η κίνηση στον ηθμό κατευθύνεται από τα σημεία παραγωγής προς τα σημεία μεταβολικής κατανάλωσης, δεν εξαρτάται από τη λειτουργία της διαπνοής και τροφοδοτεί το μεγαλύτερο ποσοστό των θρεπτικών στοιχείων καθώς και των φωτοσυνθετικών προϊόντων σε περιοχές με έντονη ανάπτυξη και κατά συνέπεια υψηλές απαιτήσεις όπως νεαρά φύλλα, καρπούς και σπέρματα (Brown and Shelp, 1997).

Δευτερογενής αναδιανομή ανόργανων θρεπτικών στοιχείων μπορεί να λάβει χώρα μέσω διακίνησης στον ηθμό. Κατά τη διαδικασία αυτή τα φυτά αναδιανέμουν μέρος θρεπτικών στοιχείων σε μεταγενέστερο στάδιο εκείνου της πρωτογενούς διανομής, προς άλλα μέρη του φυτού κατευθυνόμενα από τις απαιτήσεις. Το φαινόμενο της αναδιανομής αφορά ανόργανα θρεπτικά στοιχεία αλλά και οργανικές ενώσεις όπως αμινοξέα και υδατάνθρακες και συχνά σχετίζεται με την γήρανση των φύλλων ή / και την ανάπτυξη των αναπαραγωγικών οργάνων (Marschner, 1995).

II.4.i. Είδη Φυτών με Περιορισμένη Κινητικότητα Βορίου

Το βόριο στα περισσότερα φυτικά είδη εμφανίζεται ως δυσκίνητο ή μετρίως ευκίνητο. Η κατανομή του στοιχείου μεταξύ των φυτικών οργάνων στα φυτά αυτά συνηγορεί υπέρ της περιορισμένης κινητικότητας (Brown and Shelp, 1997; Bellaloui *et al.*, 1999). Τα συμπτώματα τροφопενίας βορίου στους βλαστούς εμφανίζονται συχνότερα σε μεριστωματικές περιοχές όπως οι ακραίοι οφθαλμοί και τα νεαρά φύλλα, ενώ τα συμπτώματα τοξικότητας εμφανίζονται αρχικά στα ακραία τμήματα των ώριμων φύλλων. Σε ορισμένα καρποφόρα δέντρα παρατηρείται ελλιπής κάλυψη των αναγκών σε βόριο με αποτέλεσμα μειωμένη καρπόδεση ακόμα και όταν δεν παρατηρούνται συμπτώματα τροφопενίας βορίου στα φύλλα. Στα φυτικά είδη με περιορισμένη κινητικότητα βορίου η συγκέντρωση του στοιχείου στα φύλλα αλλά και στα αγγεία του ξύλου είναι μεγαλύτερη από ότι στο χυμό του ηθμού (Brown and Shelp, 1997). Στα φυτά με περιορισμένες δυνατότητες επαναδιανομής του στοιχείου, το βόριο μετακινείται μέσω του διαπνευστικού ρεύματος και συσσωρεύεται στην περιφέρεια του ελάσματος των φύλλων και στις απολήξεις των βλαστών. Σε επίπεδο φύλλου παρατηρείται μια απότομη αύξηση της συγκέντρωσης κατά μήκος της διαδρομής από το μίσχο προς τα ακραία τμήματα του ελάσματος. Αυτό συμβαίνει διότι το βόριο το οποίο καταλήγει στις απολήξεις του διαπνευστικού ρεύματος, συνδέεται πιθανώς μη αντιστρεπτά με συστατικά του αποπλαστικού χώρου, κυρίως πηκτινικά πολυμερή (Brown and Shelp, 1997). Με βάση τα δεδομένα αυτά έχει προταθεί ότι η επικράτηση τοπικά υψηλών συγκεντρώσεων βορίου στους ακραίους ιστούς αποτέλεσε την εξελικτική ώθηση για την ανάπτυξη εξάρτησης των αναπτυξιακών διεργασιών των ανώτερων φυτών από το βόριο (Lovatt, 1985). Παρότι τα στοιχεία αυτά συνηγορούν υπέρ της κατάταξης του βορίου μεταξύ των δυσκίνητων στοιχείων, δεν αποκλείουν την πιθανότητα το στοιχείο να επανεκκινείται μέσω του ηθμού.

II.4. ii. Είδη Φυτών με Σημαντική Κινητικότητα Βορίου

Στα είδη στα οποία το βόριο εμφανίζει σημαντική κινητικότητα, έχει διαπιστωθεί ότι οι συγκεντρώσεις του στοιχείου στο χυμό του ηθμού είναι κατά πολύ υψηλότερες αυτών των φυτών της προηγούμενης κατηγορίας. Η μέσω του ηθμού επαναδιανομή του βορίου, συχνά συμβάλλει στην κάλυψη των αναγκών των αναπτυσσόμενων ιστών και οργάνων οι οποίες δεν μπορούν να ικανοποιηθούν μέσω της τροφοδοσίας από το διαπνευστικό ρεύμα (Brown and Shelp, 1997). Στοιχεία υπέρ της δυνατότητας επαναδιανομής βορίου σε ορισμένα φυτικά είδη έδωσαν μελέτες με ανιχνευτή το σταθερό ισότοπο ^{10}B . Σε ορισμένα είδη καρποφόρων δέντρων (*Prunus*, *Malus*, *Pyrus*), η διαφυλλική

Εισαγωγή

λίπανση με βόριο κατά το φθινόπωρο είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης βορίου στα φύλλα στα οποία έγινε η εφαρμογή, αλλά αργά το φθινόπωρο και το χειμώνα παρατηρήθηκε μετακίνηση βορίου στον ηθμό. Ως αποτέλεσμα, την άνοιξη, μέρος του βορίου αυτού ανιχνεύθηκε στα νεαρά φύλλα αλλά και στα άνθη με συνέπεια την αύξηση του ποσοστού καρπόδεσης (Brown and Shelp, 1997). Πέραν των καρποφόρων δένδρων, μεταφορά βορίου έχει αναφερθεί στα είδη *Raphanus sativus*, *Brassica oleracea* και *Brassica napus*, *Lupinus albus* και *Apium graveolens* (Shelp et al., 1998; Brown et al., 2002).

Εάν στα είδη αυτά το βόριο διακινείται μόνο μέσω των αγγείων του ξύλου, η περιεκτικότητα των ιστών θα έπρεπε να εμφανίζεται πάντα υψηλότερη στα παλαιότερα όργανα. Αυτό όμως έρχεται σε αντίθεση με τα πειραματικά δεδομένα τα οποία προέρχονται από τα παραπάνω φυτικά είδη. Διαπιστώθηκε περαιτέρω ότι για τα συγκεκριμένα είδη, η μεταφορά των θρεπτικών μέσω του ηθμού αποτελεί την κύρια πηγή βορίου των αναπτυσσόμενων οργάνων και ότι είναι ποσοτικά σημαντικότερη από αυτήν που μεταφέρεται μέσω του ξύλου. Σύμφωνα με ορισμένα πειραματικά δεδομένα, παρόλο που η συγκέντρωση βορίου στον ηθμό είναι χαμηλότερη από αυτήν στα φύλλα παραγωγούς, είναι όμοια με αυτή των νεαρών ιστών. Το γεγονός ότι η παραπάνω δυνατότητα επανεκκίνησης του βορίου απαιτεί μεταφορά μέσω του ηθμού έρχεται σε αντίθεση με τη θεώρηση του βορίου ως δυσκίνητου θρεπτικού στοιχείου.

Η δυνατότητα επαναδιανομής βορίου επηρεάζει την τοπολογία των συμπτωμάτων της έλλειψης ή της τοξικότητας του στοιχείου καθώς και τις προσεγγίσεις για τη διάγνωση και διόρθωση των προβλημάτων διατροφής των φυτών με βόριο. Η ικανότητα επαναδιανομής βορίου έχει γενετικό υπόβαθρο, έχει τα ίδια χαρακτηριστικά σε όλα τα φυτά και έχει άμεσο αντίκτυπο στην ανθεκτικότητα ορισμένων φυτικών ειδών ή ακόμα και ποικιλιών στην έλλειψη.

Δεδομένου ότι το βόριο υπό τη μορφή του βορικού οξέως εμφανίζει υψηλό συντελεστή περατότητας διαμέσου των κυτοπλασματικών μεμβρανών, η κίνησή του μέσω των στοιχείων του ηθμού στα περισσότερα φυτικά είδη δεν μπορεί να λάβει χώρα, αφού μπορεί να συμβούν κατ' ακτίνα διαρροές κατά μήκος της διαδρομής (Brown and Shelp, 1997). Πρόσφατα έγινε σαφές ότι η ευχερής και ταχεία διακίνηση του βορίου στον ηθμό σχετίζεται με την δημιουργία συμπλόκων του στοιχείου με πολυόλες (Brown and Shelp, 1997; Hu et al., 1997; Bellaloui et al., 1999; Brown et al., 1999). Στα φυτά στα οποία έχει διαπιστωθεί σημαντική κινητικότητα βορίου στον ηθμό ένα τουλάχιστον από τα διακινούμενα φωτοσυνθετικά προϊόντα είναι σακχαροαλκόολη (Brown and Shelp, 1997; Lehto et al., 2000; Brown et al., 1999a; Brown et al., 1999b;

Brown and Hu, 1996). Μετά την απομόνωση και το χαρακτηρισμό διαλυτών συμπλόκων σορβιτόλης-βορικού οξέος-σορβιτόλης από το νέκταρ ανθέων ροδακινιάς και μαννιτόλης-βορικού οξέος-μαννιτόλης από το χυμό του ηθμού του σέλινου (Hu *et al.*, 1997; Penn *et al.*, 1997), έγινε σαφές ότι το βόριο διακινείται μέσω του ηθμού ως σύμπλοκο με τις ενώσεις αυτές. Υπό τη μορφή αυτή το βορικό οξύ δεν μπορεί να διαρρεύσει από τις κυτοπλασματικές μεμβράνες των στοιχείων του ηθμού (Brown and Shelp, 1997; Dannel *et al.*, 2002). Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώθηκε περαιτέρω με πειράματα στα οποία χρησιμοποιήθηκαν γενετικά τροποποιημένα φυτά καπνού ώστε να παράγουν σημαντικά ποσά σορβιτόλης. Στα φυτά αυτά διαπιστώθηκε η δυνατότητα επαναδιανομής του βορίου προς τους νεαρούς ιστούς και η αυξημένη ανθεκτικότητά τους στην έλλειψη βορίου, σε αντίθεση με τα φυτά αγρίου τύπου (Bellaloui *et al.*, 1999; Brown *et al.*, 1999a)

Παρόλο που η έξοδος του βορίου από τα ώριμα φύλλα προς τον ηθμό υπό μορφή συμπλόκων με σακχαροαλκόολες αποτελεί τον κύριο μηχανισμό επαναδιανομής του στοιχείου, ορισμένα πειραματικά δεδομένα δεν αποκλείουν την ύπαρξη εναλλακτικών μηχανισμών διακίνησης (Stangoulis *et al.*, 2001).

III. Η Παραγωγή και Διακίνηση Φωτοσυνθετικών Προϊόντων στο Φυτικό Σώμα

Η φωτοσύνθεση περιλαμβάνει μια πολύπλοκη αλληλουχία βιοχημικών αντιδράσεων οι οποίες καταλήγουν στη παραγωγή υδατανθράκων από πρώτη ύλη το διοξείδιο του άνθρακα. Οι αντιδράσεις αυτές χωρίζονται σε δύο στάδια, σε αυτό των φωτεινών και αυτό των σκοτεινών αντιδράσεων. Οι αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης εκτελούνται στους χλωροπλάστες, και συγκεκριμένα οι φωτεινές αντιδράσεις στα θυλακοειδή ενώ οι σκοτεινές στο στρώμα των χλωροπλάστων (Δροσόπουλος, 1998).

Κατά το στάδιο των φωτεινών αντιδράσεων, η ηλιακή ενέργεια δεσμεύεται μέσω των φωτοσυνθετικών χρωστικών οι οποίες είναι οργανωμένες σε δύο διακριτές λειτουργικές μονάδες που ονομάζονται φωτοσυστήματα και λειτουργούν εν σειρά. Η δεσμευμένη ηλιακή ενέργεια χρησιμοποιείται για τη μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ δοτών και δεκτών ηλεκτρονίων. Ο τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων είναι το NADP^+ , το οποίο ανάγεται σε NADPH . Η φωτεινή ενέργεια χρησιμοποιείται επίσης στην παραγωγή μίας κινητήριας δύναμης υπό τη μορφή διαφοράς συγκέντρωσης πρωτονίων μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης των θυλακοειδών των grana. Μέσω της επαναφοράς των πρωτονίων στο στρώμα απελευθερώνεται ενέργεια η οποία χρησιμοποιείται για την φωσφορυλίωση του ADP προς ATP. Μέρος των πρωτονίων αυτών

Εισαγωγή

παράγεται από την οξειδωση του νερού, κατά την οποία απελευθερώνεται μοριακό οξυγόνο (Taiz and Zeiger, 1998).

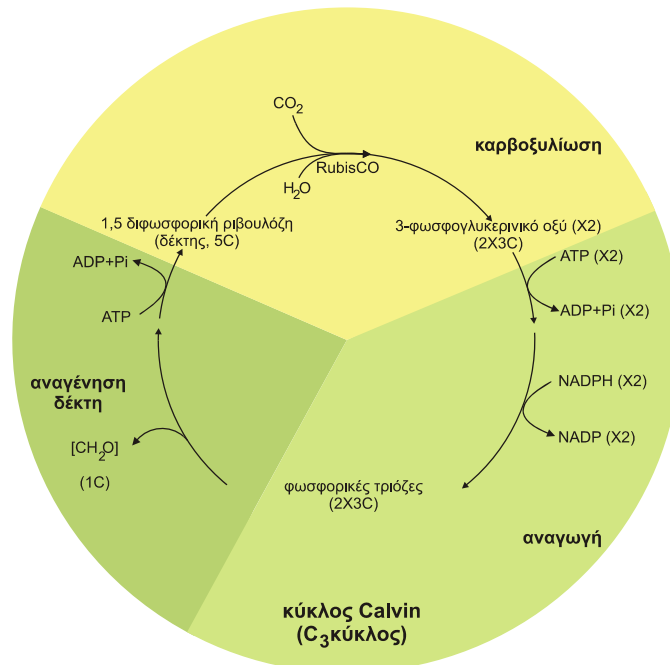
Κατά το στάδιο των σκοτεινών αντιδράσεων, λαμβάνει χώρα η αφομοίωση του διοξειδίου του άνθρακα σε υδατάνθρακες, μια διαδικασία η οποία είναι γνωστή ως φωτοσυνθετικός κύκλος αναγωγής του άνθρακα, ή κύκλος Calvin. Για την λειτουργία του κύκλου χρησιμοποιείται η ενέργεια που παρέχεται από τα NADPH και ATP που παρήχθησαν κατά τις φωτεινές αντιδράσεις.

Στα ανώτερα φυτά η μεταφορά του νερού, των ανόργανων στοιχείων, καθώς και των φωτοσυνθετικών προϊόντων πραγματοποιείται μέσω των δύο αγωγών συστημάτων του φυτού, των αγωγών στοιχείων του ηθμού και των αγωγών στοιχείων του ξύλου. Μέσω του ξύλου μεταφέρονται τα ανόργανα στοιχεία και το νερό που απορροφώνται από το ριζικό σύστημα του φυτού στα υπέργεια όργανα. Η κινητήρια δύναμη της ανοδικής κίνησης του διαλύματος μέσα στα αγγεία του ξύλου είναι κυρίως η διαφορά δυναμικού νερού που στις περισσότερες περιπτώσεις δημιουργείται από τη διαπνοή. Ο ηθμός αποτελεί κυρίως την οδό διακίνησης των φωτοσυνθετικών προϊόντων από τα σημεία παραγωγής ή αποθήκευσης (πηγές) προς τα σημεία μεταβολικής κατανάλωσης (αποδέκτες) (Larcher Walter, 1995). Η κατεύθυνση της μεταφοράς των συστατικών τα οποία διακινούνται μέσω του ηθμού καθορίζεται από τους αποδέκτες. Ένα όργανο, συνηθέστερα φύλλο, μπορεί να αποτελέσει είτε πηγή είτε αποδέκτη αναλόγως του αναπτυξιακού του σταδίου. Επίσης μέσω του ηθμού κινούνται συστατικά τα οποία προέρχονται από τον ανιόντα χυμό μέσω απευθείας μεταφοράς διαμέσου των παρακείμενων παρεγχυματικών κυττάρων (οριζόντια μεταφορά) ή από επαναδιανομή. Τα τελευταία είναι ανόργανα ή οργανικά μόρια υπό καθεστώς ανακύκλωσης λόγω γήρανσης ή αλλαγής στη χρήση συγκεκριμένων αποθεμάτων και προέρχονται κυρίως από ώριμα όργανα (Γκανή – Σπυροπούλου, 2003β).

III.1. Βιοσύνθεση Υδατανθράκων

Η βασική οδός βιοσύνθεσης των υδατανθράκων συνοψίζεται στον κύκλο του Calvin (εικόνα 2). Η πορεία ξεκινάει με την δέσμευση του CO₂ από την 1,5-διφωσφοροριβουλόζη (RuBP) και παράγονται δύο μόρια 3-φωσφορογλυκερινικού οξέως (3-PGA), με την μεσολάβηση του ενζύμου καρβοξυλάση-οξυγεννάση της 1,5-διφωσφοροριβουλόζης (Rubisco). Η Rubisco αποτελεί περίπου το 50% του συνόλου των διαλυτών πρωτεϊνών των φύλλων και εντοπίζεται στο στρώμα των χλωροπλαστών σε συγκέντρωση 500 φορές υψηλότερη από αυτή του CO₂. Στη συνέχεια το 3-PGA ανάγεται σε 3-φωσφορογλυκεριναλδεύδη (G-3P) με δύο διαδοχικές αντιδράσεις που απαιτούν

κατανάλωση ATP και NADPH. Η τριόζη G-3P μετασχηματίζεται σε εξόζη με μια αντίστροφη της γλυκολυτικής πορείας όπως φαίνεται στην εικόνα 2. Η αναγέννηση της RuBP, επιτυγχάνεται μέσω μιας σειράς αντιδράσεων μετασχηματισμού σακχάρων στην οποία κύριο ρόλο παίζουν τα ένζυμα τρανσκετολάση και αλδολάση. Οι υπόλοιπες αντιδράσεις του κύκλου αφορούν ισομερισμούς σακχάρων και υδρολύσεις φωσφορικών δεσμών σε διφωσφορικά σάκχαρα. Σημαντικό βήμα στην αναπαραγωγή της RuBP είναι η φωσφορυλίωση της 5-φωσφορικής ριβουλόζης (Ru-5-P) με τη μεσολάβηση του ενζύμου κινάση της Ru-5-P. Σημειώνεται ότι μέσω των ενδιάμεσων προϊόντων του κύκλου του Calvin, όταν η γενική πορεία του μεταβολισμού το απαιτεί, μπορούν να παραχθούν και άλλες οργανικές ενώσεις (αμινοξέα, αρωματικές ενώσεις, λίπη κ.α) (Γαβαλάς, 2003).



Εικόνα 2. Ο κύκλος του Calvin συνίσταται από τρία στάδια με τελική κατάληξη την αφομοίωση και αναγωγή ενός μορίου CO_2 και την αναγέννηση του αρχικού υποστρώματος.

Μέσω της 6-φωσφορογλυκόζης που παράγεται στο κυτόπλασμα, επιτελείται η σύνθεση τόσο της σακχαρόζης όσο και του αμύλου. Γίνεται αντιληπτό ότι η βιοσύνθεση της σακχαρόζης και του αμύλου αποτελούν δύο ανταγωνιστικά μονοπάτια, και συνεπώς συνθήκες που ευνοούν το ένα μονοπάτι παρεμποδίζουν το άλλο (Taiz and Zeiger, 1998). Το άμυλο είναι η κύρια μορφή αποταμιευτικού υδατάνθρακα για τα φυτά. Η βιοσύνθεση του γίνεται στους χλωροπλάστες. Η σακχαρόζη αποτελεί για τα περισσότερα φυτά την κύρια μορφή υδατάνθρακα μεταφοράς, μεταφέρεται στους ιστούς για άμεση μεταβολική χρήση ή για αποθήκευση (Δροσόπουλος, 1998).

III.2. Διακινήσιμες Μορφές Υδατανθράκων

Σε ένα μικρό αριθμό φυτικών ειδών, πέραν της σακχαρόζης, απαντώνται στον ηθμό και άλλοι τύποι διακινήσιμων σακχάρων οι οποίοι ανήκουν σε δύο ομάδες: στις σακχαροαλκόολες (κυρίως μαννιτόλη και σορβιτόλη) και στις ραφινόζες (ραφινόζη, σταχυόζη και βερμπασκόζη) (Zamski and Schnaffer, 1996).

Μέλη της οικογένειας Oleaceae, όπως η ελιά εξάγουν στον ηθμό μορφές υδατανθράκων, όπως σακχαρόζη, μαννιτόλη και μέλη της οικογένειας των ολιγοσακχαριτών της ραφινόζης (Zimmerman and Ziegler, 1975; Flora and Madore, 1993). Στη μηλιά καθώς και στα είδη του γένους *Prunus* οι κύριοι διακινήσιμοι υδατάνθρακες είναι η σορβιτόλη (σε ποσοστό 70% των διακινήσιμων υδατανθράκων) και η σακχαρόζη (Hansen, 1970; Chong and Taper, 1971; Brown and Shelp, 1997).

III.3. Φόρτωση, Διανομή και Αποφόρτωση Διακινήσιμων Υδατανθράκων από τα Σημεία Βιοσύνθεσης στα Σημεία Μεταβολικής Κατανάλωσης

Τα παραγόμενα στους φωτοσυνθετικούς ιστούς προϊόντα προορίζονται κατά κανόνα, για διανομή προς αποδέκτες οι οποίοι χαρακτηρίζονται από έλλειψη μεταβολικής αυτονομίας (Roitsch, 1999), όπως τα αναπτυσσόμενα φύλλα (στα πρώτα στάδια ανάπτυξης) και οι μη φωτοσυνθετικοί ιστοί (άνθη, καρποί, ριζικό σύστημα κ.λπ.). Η διανομή εξαρτάται τόσο από την παραγωγικότητα των φωτοσυνθετικών ιστών όσο και από τη ζήτηση των αποδεκτών σε φωτοσυνθετικά προϊόντα (Larcher Walter, 1995). Η διακίνηση των φωτοσυνθετικών προϊόντων από τις πηγές προς τους αποδέκτες γίνεται διαμέσω του ηθμού. Προκειμένου να κινηθούν εντός του δικτύου των αγωγών ιστών του ηθμού, τα φωτοσυνθετικά προϊόντα (κυρίως σάκχαρα) πρέπει να ακολουθήσουν μια πορεία από τα κύτταρα του μεσοφύλλου έως τα ηθμώδη στοιχεία. Η κίνηση περιλαμβάνει ομάδες εξειδικευμένων κυττάρων όπως αυτά του δεσμικού κολεού, του ηθμώδους παρεγχύματος καθώς και μια σημαντική λειτουργικά ομάδα κυττάρων, τα συνοδά κύτταρα. Τα τελευταία αποτελούν το όριο πέραν του οποίου τα σάκχαρα εισέρχονται πλέον στα ηθμώδη στοιχεία. Τα συνοδά κύτταρα και τα ηθμώδη στοιχεία οργανώνονται σε ανατομικές και λειτουργικές ομάδες ανά ζεύγη τα οποία ονομάζονται συμπλέγματα. Το σύμπλεγμα συνοδού κυττάρου και ηθμώδους στοιχείου είναι επιφορτισμένο με τη συλλογή και συσσώρευση των σακχάρων που συνιστούν μαζί με άλλα συστατικά το χυμό του ηθμού. Η διαδικασία που οδηγεί στη συσσώρευση σακχάρων στο σύμπλεγμα συνοδά κύτταρα - ηθμώδη στοιχεία από τα κύτταρα

του μεσόφυλλου ονομάζεται φόρτωση του ηθμού (Γκανή – Σπυροπούλου, 2003α).

Η διακίνηση των φωτοσυνθετικών προϊόντων από τους χλωροπλάστες του μεσόφυλλου προς τα συνοδά κύτταρα περιλαμβάνει τα εξής διακριτά βήματα:

- 1. Για τα περισσότερα φυτά που διακινούν σακχαρόζη, η φωσφορική τριόζη που παράγεται κατά την διάρκεια της φωτοσύνθεσης πρέπει πρώτα να μεταφερθεί από το χλωροπλάστη στο κυτόπλασμα όπου μετατρέπεται σε σακχαρόζη.*
- 2. Η σακχαρόζη μετακινείται συμπλαστικά από τα κύτταρα του μεσόφυλλου προς τα παρεγχυματικά κύτταρα των μικρότερης τάξης ηθμαγγειωδών δεσμίδων του φύλλου.*
- 3. Η σακχαρόζη μεταφέρεται στα συνοδά κύτταρα. Συνήθως με τον όρο φόρτωση του ηθμού αναφερόμαστε σε αυτό ακριβώς το βήμα μεταφοράς.*
- 4. Τέλος η σακχαρόζη μεταφέρεται, μέσω διάχυσης, προς τα ηθμώδη στοιχεία.*

Από τη στιγμή που η σακχαρόζη εισέλθει μέσα στα ηθμώδη στοιχεία, διακινείται μαζί με τα άλλα συστατικά εντός των ηθμοσωλήνων προς τους αποδέκτες. Η φόρτωση των σακχάρων στον ηθμό απαιτεί την κατανάλωση μεταβολικής ενέργειας (Taiz and Zeiger, 1991).

Παρατηρούνται δύο τουλάχιστον στρατηγικές φόρτωσης του ηθμού. Η μια αναφέρεται στη μεταφορά των φωτοσυνθετικών προϊόντων μέσω του αποπλάστη και στη συνέχεια στην ενεργή πρόσληψη τους από τα συνοδά κύτταρα (van Bel, 1993; Grusak *et al.*, 1996; Lalondale *et al.*, 1999). Η δεύτερη στρατηγική λαμβάνει χώρα μέσω συμπλαστικής κίνησης, όπου τα φωτοσυνθετικά προϊόντα κινούνται μέσω των πλασμοδεσμών οι οποίοι συνδέουν γειτονικά κύτταρα, από το μεσόφυλλο που γίνεται η φωτοσύνθεση μέχρι τα συνοδά κύτταρα (Turgeon, 1996; Turgeon, 2000).

Αρκετές μελέτες έχουν διεξαχθεί όσον αφορά την συχνότητα εμφάνισης των πλασμοδεσμών στις μικρότερης τάξης ηθμαγγειώδεις δεσμίδες ως πιθανή ένδειξη της ύπαρξης ή όχι συμπλαστικής φόρτωσης. Ο Gamalei κατέταξε τα φυτά σε τρεις κατηγορίες σύμφωνα με τη συχνότητα εμφάνισης των πλασμοδεσμών μέσω των οποίων τα συνοδά κύτταρα τις μικρής τάξης ηθμαγγειωδών δεσμίδων επικοινωνούν με τα παρακείμενα κύτταρα (Gamalei, 1989; Gamalei 1991). Έχει παρατηρηθεί πως ο συμπλαστικός τρόπος φόρτωσης χαρακτηρίζεται από την παρουσία σακχαροαλκοολών ή / και ολιγοσακχαριτών της ομάδας της ραφινόζης, ταυτόχρονα με τη σακχαρόζη, ως διακινούμενων

Εισαγωγή

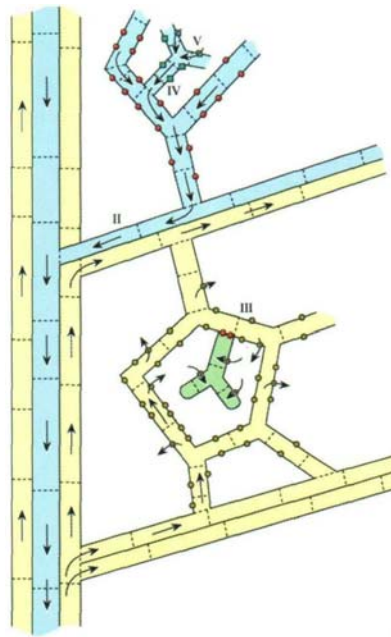
υδατανθράκων (Flora and Madore, 1996). Ο συμπλαστικός τρόπος φόρτωσης συνάγει με την παρουσία των ολιγοσακχαριτών στη σύσταση του χυμού του ηθμού καθώς η συσσώρευση των σακχάρων αυτών πραγματοποιείται με τη μεταφορά εξοζών μέσω πλασμοδεσμών και τη βιοσύνθεση των τελικών διακινήσιμων μορφών στα συνοδά κύτταρα. Η αντιστροφή της πορείας κίνησης των ολιγοσακχαριτών πιστεύεται ότι αποτρέπεται λόγω του φαινομένου του μοριακού αποκλεισμού των πλασμοδεσμών (Flora and Madore 1993; Flora and Madore 1996; Turgeon, 1996). Ωστόσο δεν έχει έως σήμερα διατυπωθεί ένας μηχανισμός για τη συσσώρευση των σακχαροαλκοολών στα συνοδά κύτταρα (Turgeon, 1996).

Η αποφόρτωση του ηθμού περιλαμβάνει την εκροή διαλυμένων ουσιών από τους ηθμοσωλήνες, τη μεταφορά τους από τα παρεγχυματικά κύτταρα και τον μεταβολισμό ή την αποθήκευσή τους στα κύτταρα των αποδέκτων. (Μανέτας 2005). Ο κύριος μηχανισμός αποφόρτωσης του ηθμού είναι συμπλαστικός και η διακίνηση των φωτοσυνθετικών προϊόντων γίνεται μέσω των πλασμοδεσμών προς στα κύτταρα του αποδέκτη. Σε ορισμένες περιπτώσεις η αποφόρτωση του ηθμού περιλαμβάνει και ένα αποπλαστικό βήμα (Taiz and Zeiger, 1991). Επειδή οι αποδέκτες είναι ιστοί με σημαντικές ανατομικές αποκλίσεις (φύλλα, ρίζες, σπέρματα κ.λπ.) ο μηχανισμός αποφόρτωσης δεν ακολουθεί κάποιο συγκεκριμένο πρότυπο. Η παρουσία πλασμοδεσμών μεταξύ των ηθμωδών στοιχείων και των κυττάρων του αποδέκτη καθώς και η μη διαταραχή της διαδικασίας αποφόρτωσης κάτω από συνθήκες ανοξίας ή παρουσία του παρεμποδιστή PCMB5 (ο οποίος δρα επί των πρωτεϊνικών μεταφορέων κατά την αποπλαστική μεταφορά) υποδηλώνουν ότι κατά την αποφόρτωση ακολουθείται η συμπλαστική οδός (Γκανή - Σπυροπούλου, 2003α). Η μεταφορά των προϊόντων στον αποδέκτη απαιτεί τη δαπάνη μεταβολικής ενέργειας (Taiz and Zeiger, 1991).

Η διακίνηση στον ηθμό οφείλεται στις διαφορές υδροστατικής πίεσης που αναπτύσσονται μεταξύ των περιοχών της φόρτωσης του ηθμού από την πηγή και της αποφόρτωσης από τον αποδέκτη (Münch, 1930; Offler *et al.*, 2000). Οι διαβαθμίσεις της υδροστατικής πίεσης δημιουργούνται από τα οσμωτικώς ενεργά συστατικά τα οποία εντοπίζονται στον χυμό του ηθμού (Offler *et al.*, 2000).

Η κατανομή των φωτοσυνθετικών προϊόντων μεταξύ των διαφόρων αποδέκτων παίζει σημαντικό ρόλο στην ομαλή ανάπτυξη των φυτών και καθορίζεται, εκτός από την απόσταση και τον βαθμό επικοινωνίας πηγής - αποδέκτη, και από άλλους παράγοντες. Ένας από τους παράγοντες αυτούς είναι η ισχύς του αποδέκτη η οποία εξαρτάται από τον αριθμό των κυττάρων του

καθώς και την μεταβολική του δραστηριότητα. Η μεταβίβαση του ερεθίσματος της ισχύος του αποδέκτη μεταβιβάζεται στην πηγή μέσω παραμέτρων όπως η πίεση σπαργής, οι ορμόνες και το pH. (Γκανή – Σπυροπούλου, 2003β). Επίσης, τα σάκχαρα πέρα από τη χρήση τους ως υποστρώματα για την ανάπτυξη των ετεροτροφικών ιστών λειτουργούν και ως σημαντικά ενδιάμεσα μοριακά ερεθίσματα που συντονίζουν τις ανταλλαγές μεταξύ των πηγών και των αποδεκτών (Rolland *et al.*, 2002).



Εικόνα 3 Σχηματική αναπαράσταση της μετάβασης από την κατάσταση του μεταβολικού αποδέκτη στην κατάσταση της πηγής σε αναπτυσσόμενο φύλλο του φυτού *N. Benthamiana*.

Στα δικότυλα φυτά η μετάβαση του φύλλου από την κατάσταση του αποδέκτη στην κατάσταση της πηγής εντοπίζεται περίπου στο ήμισυ της πλήρους έκπτυξης. Τα αναπτυσσόμενα φύλλα συνεχίζουν να εισάγουν φωτοσυνθετικά προϊόντα από τα φύλλα-πηγές για ένα χρονικό διάστημα, και αφού έχουν ξεκινήσει ήδη να εξάγουν. Αυτό είναι αποτέλεσμα της βασιπέταλης ωρίμανσης του φύλλου σύμφωνα με την οποία το άκρο του ελάσματος είναι ώριμο να εξάγει ενώ ταυτόχρονα η αναπτυσσόμενη περιοχή στη βάση του φύλλου συνεχίζει να εισάγει φωτοσυνθετικά προϊόντα. Από τα διαθέσιμα στοιχεία φαίνεται ότι η εισαγωγή φωτοσυνθετικών προϊόντων στα αναπτυσσόμενα φύλλα τερματίζεται πρωταρχικά, αν όχι αποκλειστικά, από την διακοπή της ικανότητας αποφόρτωσης του ηθμού, διαδικασία η οποία όπως και

Εισαγωγή

η απόκτηση της ικανότητας φόρτωσης προς εξαγωγή από τους ίδιους ιστούς, είναι μη αναστρέψιμη (Turgeon R., 1989).

Ένα πρόσφατα διατυπωμένο μοντέλο για το μηχανισμό μετάβασης από την κατάσταση του μεταβολικού αποδεκτη στην κατάσταση της πηγής παρουσιάζεται στην εικόνα 3 (Roberts *et al.*, 1997). Στην κορυφή του διαγράμματος απεικονίζεται η περιοχή εξαγωγής (πηγή, γαλάζιο) του φύλλου και χαμηλότερα η περιοχή εισαγωγής (αποδέκτης, κίτρινο). Η συμπλαστική φόρτωση του ηθμού συμβαίνει στις τρίτης τάξης ηθμαγγειώδεις δεσμίδες (κίτρινοι κύκλοι). Στο τμήμα που το φύλλο είναι αποδέκτης, οι μικρής τάξης ηθμαγγειώδεις δεσμίδες δεν είναι ώριμες (ή μη λειτουργικές, πράσινη περιοχή) και εισάγουν φωτοσυνθετικά προϊόντα κατευθείαν από το μεσόφυλλο τα οποία μετακινούνται από κύτταρο σε κύτταρο. Στο τμήμα που το φύλλο είναι πηγή, η μικρής τάξης ηθμαγγειώδεις δεσμίδες είναι πλέον ώριμες. Η θέση σε λειτουργία των μεταφορέων σακχαρόζης (πράσινα τετράγωνα) σηματοδοτεί την έναρξη της φόρτωσης της σακχαρόζης μέσω της αποπλαστικής οδού. Στο τμήμα όπου το φύλλο είναι πηγή, η τρίτης τάξης ηθμαγγειώδεις δεσμίδες λειτουργούν κατά κύριο λόγο για εξαγωγή, το οποίο επιτυγχάνεται με σταδιακή αδρανοποίηση των πλασμοδεσμών (κόκκινοι κύκλοι) που τις συνδέουν με το μεσόφυλλο κατά τη διάρκεια της φάσης που η περιοχή εισάγει φωτοσυνθετικά προϊόντα. Στις πρώτης τάξης ηθμαγγειώδεις δεσμίδες, πιθανά όπως και στις δεύτερης και τρίτης τάξης, η διακίνηση στον ηθμό είναι αμφίδρομη (αλλά σε διαφορετικούς ηθμοσωλήνες) καθώς το διαχωριστικό όριο της μετάβασης κινείται βασιπέταλα διαδοχικά στις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες διαφορετικών τάξεων.

IV. Η Σχέση Μεταξύ Υδατανθράκων και Βορίου στα Φυτά

IV.1. Η Θρεπτική Κατάσταση του Βορίου Επηρεάζει τη Βιοσύνθεση και Διακίνηση των Φωτοσυνθετικών Προϊόντων

Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν στοιχεία για το αν το βόριο διαδραματίζει άμεσο ρόλο στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης (Dugger, 1983; Shelp, 1993). Ωστόσο έχουν παρατηρηθεί έμμεσες επιδράσεις της έλλειψης βορίου στη φωτοσύνθεση, όπως π.χ. μέσω της μείωσης της φωτοσυνθετικά ενεργής επιφάνειας λόγω μειωμένου ρυθμού έκπτυξης των φύλλων. Μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας μπορεί να παρατηρηθεί λόγω μείωσης του αριθμού των στοματίων, μείωσης των διαστάσεων του στοματικού πόρου και πτώση της συγκέντρωσης φωτοσυνθετικών χρωστικών ή διαλυτών πρωτεϊνών (Sharma and Ramchandra, 1990; Liakopoulos *et al.*, 2005; Dell and Huang, 1997). Σε ακραίες συνθήκες τροφοπενίας παρατηρείται μείωση της ικανότητας

φωτοσυνθετικής μεταφοράς ηλεκτρονίων και διαταραχή μεταφοράς ενέργειας από το φωτοσύστημα II προς το φωτοσύστημα I, γεγονός το οποίο σχετίζεται με δομικές και λειτουργικές διαταραχές στις μεμβράνες των θυλακοειδών των χλωροπλαστών (Cakmak *et al.*, 1995; Blevins and Lukaszewski, 1998; El-Shintinawy, 1999). Στον ηλίανθο σε συνθήκες τροφοπενίας βορίου έχουν διαπιστωθεί αλλοιώσεις στα δομικά λιπίδια των μεμβρανών των χλωροπλαστών, οι οποίες θεωρούνται υπεύθυνες για τη διαρροή συστατικών από τις μεμβράνες και έχουν ως τελικό αποτέλεσμα τη μειωμένη φωτοχημική απόδοση του φωτοσυστήματος II (Kastori *et al.*, 1995; El-Shintinawy, 1999; Brown *et al.*, 2002). Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι ο περιορισμός των φωτοσυλλεκτικών συμπλόκων, η μειωμένη απόδοση της φωτοσυνθετικής ροής ηλεκτρονίων (Goldbach *et al.*, 1991; El-Shintinawy, 1999) και η αυξημένη ευαισθησία έναντι της φωτοπαρεμπόδισης των τροφοπενιακών φυτών (Dell and Huang, 1997) ενδεχομένως οφείλονται στα μειωμένα επίπεδα των αντίστοιχων πρωτεϊνών. Ωστόσο, σε άλλες περιπτώσεις, ο φωτοσυνθετικός ρυθμός μπορεί να εμφανίσει αύξηση σε φύλλα τα οποία βρίσκονται υπό καθεστώς τροφοπενίας λόγω αύξησης του πάχους του ελάσματος (Liakopoulos *et al.*, 2005; Stavrianakou *et al.*, 2006b).

Οι παραπάνω διαταραχές ευνοούν το σχηματισμό ελευθέρων μορφών οξυγόνου (ROS) οι οποίες, στην περίπτωση που οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί αδυνατούν να ανταποκριθούν, μπορούν να προκαλέσουν ανεπανόρθωτες οξειδωτικές βλάβες στις μεμβράνες και τις χρωστικές των χλωροπλαστών. Σε προχωρημένη τροφοπενιακή κατάσταση μπορούν να οδηγήσουν σε χλώρωση (Cakmak and Römheld, 1997). Τα συμπτώματα παρουσιάζονται εντονότερα σε υψηλές εντάσεις φωτισμού για δύο κυρίως λόγους (Cakmak *et al.*, 1995; Marschner, 1995; Robertson and Loughman, 1974): Αφενός ευνοείται η φωτοπαρεμπόδιση και επομένως η παραγωγή ROS (Cakmak and Römheld, 1997) και αφετέρου αυξάνεται η παραγωγή πολυσακχαριτών των κυτταρικών τοιχωμάτων, ολιγοσακχαριτών και φαινολικών συστατικών τα οποία δεσμεύουν βόριο και επομένως αυξάνονται οι απαιτήσεις για το στοιχείο (Cakmak and Römheld, 1997).

Η τροφοπενία βορίου προκαλεί αναπτυξιακές αλλοιώσεις στη δομή των στοιχείων μεταφοράς (Dell and Huang, 1997). Ωστόσο, στην ελιά, διαπιστώθηκε ότι ακόμα και σε ακραίες συνθήκες τροφοπενίας, η δομή των στοιχείων μεταφοράς καθώς και η ικανότητα διακίνησης φωτοσυνθετικών προϊόντων δεν επηρεάζεται (Liakopoulos *et al.*, 2005). Σύμφωνα με τους Brown *et al.* (2002), η ικανότητα του βορίου να σχηματίζει σύμπλοκα με *cis* - διόλες μπορεί να σχετίζεται με μια πιθανή εμπλοκή του βορίου στη διανομή σακχάρων.

Εισαγωγή

Παρόλα αυτά, η ικανότητα σχηματισμού συμπλόκων βορικού οξέος – σακχάρων δεν αφορά το σύνολο των διακινούμενων φωτοσυνθετικών προϊόντων ούτε είναι καθολικής διάδοσης στο σύνολο των φυτικών ειδών. Σύμφωνα με τα μέχρι τώρα δεδομένα, ο φυσιολογικός ρόλος του σχηματισμού των παραπάνω συμπλόκων είναι μάλλον η επαναδιανομή βορίου παρά η διακίνηση φωτοσυνθετικών προϊόντων. Ωστόσο, η τροφопενία βορίου ενδέχεται να επηρεάζει την ισχύ των αποδεκτών και συνεπώς τη ζήτηση φωτοσυνθετικών προϊόντων λόγω παρεμπόδισης της ανάπτυξης των μεριστωματικών ιστών. Σε μια τέτοια περίπτωση, η διακίνηση των φωτοσυνθετικών προϊόντων ενδέχεται να μειωθεί.

IV.2. Η Παραγωγή και Διακίνηση Υδατανθράκων Σχετίζεται με την Διαχείριση των Αποθεμάτων Βορίου του Φυτού με Σκοπό την Βέλτιστη Ανάπτυξή του

Η δυνατότητα επαναδιανομής βορίου θεωρείται ως ένας μηχανισμός ανακύκλωσης του στοιχείου μεταξύ διαφορετικών τμημάτων του φυτικού σώματος ο οποίος συμβάλλει στην αποδοτικότερη διαχείριση των αποθεμάτων. Ο μηχανισμός αυτός λειτουργεί στην περίπτωση επάρκειας του στοιχείου από το εξωτερικό μέσο. Ωστόσο επαναδιανομή βορίου παρατηρείται και υπό καθεστώς ανεπάρκειας (Shelp *et al.*, 1996; Liakoroulos *et al.*, 2005). Στην τελευταία περίπτωση, το φαινόμενο αποκτά ιδιαίτερη φυσιολογική σημασία δεδομένου ότι το βόριο που προέρχεται από επαναδιανομή μπορεί πλέον να αποτελεί μια σημαντική πηγή του στοιχείου για ένα αναπτυσσόμενο όργανο. Σημαντικό χαρακτηριστικό της διαδικασίας είναι ότι τόσο η διακίνηση σακχάρων (συμπεριλαμβανομένων των σακχαροαλκοολών) όσο και αυτή του βορίου που προέρχεται από επαναδιανομή (η οποία υπό συνθήκες έλλειψης από το εξωτερικό μέσο καθίσταται απαραίτητη για την ανάπτυξη) πραγματοποιούνται μέσω μιας κοινής οδού, του ηθμού, και συνεπώς η διακίνηση τους υπόκειται στους ίδιους ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Υπό τις παραπάνω συνθήκες, η τροφοδοσία βορίου μέσω επαναδιανομής θα συνεχίζεται ενδεχομένως για χρονικό διάστημα το οποίο αντιστοιχεί στην περίοδο κατά την οποία ο αποδέκτης παραμένει μεταβολικά ετερότροφος, (περίοδος η οποία χαρακτηρίζεται από καθαρή εισαγωγή φωτοσυνθετικών προϊόντων) (Turgeon R., 1989) ή για χρονικό διάστημα κατά το οποίο επαρκούν τα συσσωρευμένα αποθέματα βορίου του φυτού.

Έως σήμερα δεν έχει δωθεί απάντηση στο ερώτημα εάν ο μηχανισμός επαναδιανομής βορίου τροποποιείται ως αποτέλεσμα της θρεπτικής κατάστασης των φυτών ή εάν το φαινόμενο είναι ανελαστικό. Η πιθανή ικανότητα ρύθμισης

του μηχανισμού επαναδιανομής του στοιχείου, αποτελεί χαρακτηριστικό εγκλιματισμού με σκοπό την βέλτιστη διαχείριση των διαθέσιμων πόρων. Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι υπό συνθήκες τροφοπενίας βορίου στην ελιά, η συγκέντρωση της μαννιτόλης τόσο στο μεσόφυλλο όσο και στο χυμό του ηθμού αυξάνεται (Liakourou *et al.*, 2005). Το γεγονός αυτό ενδέχεται να σχετίζεται με τη διατήρηση ενός ρεύματος επαναδιανομής του στοιχείου ή ακόμα και με την ενίσχυση του μηχανισμού επαναδιανομής του βορίου από τις πηγές προς τους αποδέκτες, χωρίς ωστόσο να υπάρχουν έως σήμερα περαιτέρω πειραματικά δεδομένα. Επιπρόσθετα έχει αναφερθεί ότι η συγκέντρωση της μαννιτόλης σε μίσχους φύλλων τα οποία είχαν δεχθεί διαφυλλική λίπανση με βόριο αυξήθηκε ενώ αυτή της γλυκόζης μειώθηκε. Ταυτόχρονα παρατηρήθηκε έντονη επαναδιανομή βορίου από τα φύλλα αυτά προς τα αναπτυσσόμενα αναπαραγωγικά όργανα (Perica *et al.*, 2001).

Σκοπός της Εργασίας

Με βάση τα έως τώρα γνωστά, το βόριο ασκεί πολύπλευρη επίδραση στη φυσιολογία των ανώτερων φυτών. Τον σημαντικότερο μηχανισμό εγκλιματισμού των φυτών στην έλλειψη του βορίου αποτελεί η δυνατότητα διαχείρισης των αποθεμάτων βορίου των ώριμων οργάνων μέσω της επαναδιανομής του στοιχείου στον ηθμό. Ο παραπάνω μηχανισμός έχει σημαντική συμβολή στην αντιμετώπιση περιστατικών έλλειψης του στοιχείου από το εδαφικό περιβάλλον. Από την άλλη πλευρά σημαντική επίσης συμβολή θα πρέπει να έχει και η δυνατότητα συσσώρευσης βορίου στα σημεία πρωτογενούς απορρόφησης μέσω του ριζικού συστήματος. Επομένως, τα ανώτερα φυτά διαθέτουν ένα ικανό οπλοστάσιο διατήρησης της ομοιόστασης και αντιμετώπισης των δυσμενών επιπτώσεων της έλλειψης βορίου από το εξωτερικό περιβάλλον. Η μελέτη των μηχανισμών αυτών συνήθως προϋποθέτει την καλλιέργεια φυτών σε περιβάλλον έλλειψης βορίου. Ωστόσο, οι πειραματικοί χειρισμοί οι οποίοι οδηγούν σε σοβαρές τροφopenιακές καταστάσεις αποτελούν συνήθως εμπόδιο στην μελέτη των μηχανισμών εγκλιματισμού, διότι παρουσιάζονται δευτερογενείς επιδράσεις και φυσιολογικές βλάβες, οι οποίες δυσχεραίνουν την μελέτη των παραμέτρων θρέψης. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκαν οι φυσιολογικές παράμετροι που συμβάλλουν στον εγκλιματισμό του φυτού της μελιτζάνας (*Solanum melongena*) στην έλλειψη βορίου. Η μελέτη των παραπάνω παραμέτρων πραγματοποιήθηκε σε καθεστώς μερικής έλλειψης του στοιχείου έτσι ώστε αυτή να μην είναι απαγορευτική για την ομαλή ανάπτυξη των φυτών. Μελετήθηκε η κατανομή του βορίου σε επίπεδο φυτού, η φωτοσύνθεση και παραγωγή διακινήσιμου οργανικού άνθρακα, καθώς και η πιθανή διακίνηση βορίου μέσω του ηθμού.

Υλικά και Μέθοδοι

I. Φυτικό Υλικό και Περιγραφή των Συνθηκών Καλλιέργειας

I.1. Προετοιμασία Φυτικού Υλικού και Υποστρώματος Καλλιέργειας

Το πειραματόφυτο της παρούσας μελέτης απετέλεσε η μελιτζάνα (*Solanum melongena* L. cv. Tsakoniki). Σπέρματα του φυτού τοποθετήθηκαν σε πλαστικά τρυβλία επιστρωμένα με δύο φύλλα διηθητικού χαρτιού και διαβρέχτηκαν με απιονισμένο νερό. Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό μέρος και θερμοκρασία 24 °C για 7 ημέρες. Ακολούθως επιλέχθηκαν σπέρματα με βάση την ομοιομορφία της ανάπτυξης και το μήκος του ριζιδίου (0,2-0,5 cm) και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες των 72 σπερμάτων. Τα σπέρματα τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δοχεία όγκου 2 l (τέσσερις σπόροι / δοχείο) με χαλαζιακή άμμο (0,8-1,6 mm). Η φύτευση έγινε σε βάθος 1,0-1,5 cm. Η άμμος προετοιμάστηκε με εξαντλητικό πλύσιμο με νερό βρύσης, και στη συνέχεια με απιονισμένο νερό 1:1 (v/v). Ακολούθως η άμμος καθαρίστηκε με διάλυμα 5% HCl (w/v) / 1% οξαλικό οξύ (w/v) σε αναλογία επίσης 1:1 (v/v). Τελικά η άμμος ξεπλύθηκε από τα υπολείμματα των οξέων με απιονισμένο νερό έως το pH του διαλύματος να αποκτήσει τιμή 4.5 ή ανώτερη. Η παραπάνω κατεργασία θεωρείται ότι απομακρύνει τα ανόργανα άλατα και τα ένυδρα οξειδία σιδήρου και αργιλίου και έχει χρησιμοποιηθεί για την πειραματική μελέτη τροφοπενιών ανόργανων στοιχείων συμπεριλαμβανομένου και του βορίου (Hewitt, 1952). Κάθε ομάδα φυτών καλλιεργήθηκε σε θρεπτικό διάλυμα με διαφορετική συγκέντρωση βορικού οξέος. Χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 100,0 (φυτά μάρτυρες, B+) και 4,62 μM (φυτά B-). Η δεύτερη συγκέντρωση αντιπροσωπεύει τη μεταχείριση με ανεπαρκή τροφοδοσία με βόριο από το μέσο καλλιέργειας.

I.2. Περιγραφή του Συστήματος Πειραματικής Υδροπονικής Καλλιέργειας

Το σύστημα πειραματικής υδροπονικής καλλιέργειας εγκαταστάθηκε σε κλειστό θάλαμο ανάπτυξης ελεγχόμενων συνθηκών. Η επιφάνεια ανάπτυξης είχε διαστάσεις 2 × 2,3 m. Ο θάλαμος ανάπτυξης διέθετε σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας του αέρα, φωτοπεριόδου και έντασης φωτισμού. Η διαμόρφωση των κλιματικών συνθηκών εξασφαλίστηκε με ομοιόμορφη κυκλοφορία αέρα από το εξωτερικό περιβάλλον. Ο θάλαμος διέθετε πίνακα ελέγχου με δυνατότητα προγραμματισμού 24 βημάτων ανά εικοσιτετράωρο. Ο φωτισμός παρείχετο από 12 λαμπτήρες αλογόνου τύπου

HQI-E/P 400 W/Daylight (OSRAM, GmbH, Munich, Germany). Η μέση ένταση ακτινοβολίας (PAR) στο ύψος των φυτών ήταν $330 \mu\text{mole quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ όπως μετρήθηκε με ραδιόμετρο LI-188B (Li-COR, Lincoln, NE, USA).

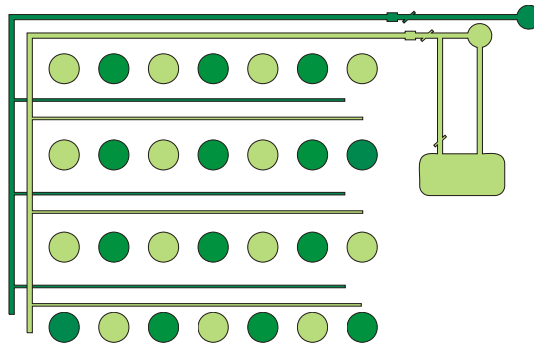
Το σύστημα πειραματικής υδροπονικής καλλιέργειας αποτελείτο από δύο ανεξάρτητα κυκλώματα διανομής θρεπτικού διαλύματος κλειστού τύπου χωρίς ανακύκλωση. Για την φύλαξη των θρεπτικών διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά δοχεία όγκου 100 l. Για την τροφοδοσία κάθε κυκλώματος χρησιμοποιήθηκε αντλία τύπου DAB JET 81 M-P (DAB Pumps S.p.A., Mestrino, Italy) με δοχείο πίεσης όγκου 24 l. Η αντλία είχε μανομετρικό ύψος 102 m και παροχή $0,06\text{-}37,00 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. Λόγω των μικρών απαιτήσεων παροχής και με σκοπό την αποφυγή επαναλαμβανόμενων εκκινήσεων κατά τη διάρκεια της άρδευσης καθώς και της τακτικής ανακίνησης των θρεπτικών διαλυμάτων, χρησιμοποιήθηκε δευτερεύον κύκλωμα επαναφοράς στο δοχείο φύλαξης. Η πίεση στο κύκλωμα ρυθμιζόταν με βάνα στο σωλήνα του κυρίως κυκλώματος. Η πυκνότητα και ο χρόνος των αρδεύσεων ρυθμιζόταν αυτόματα από προγραμματιστή άρδευσης τύπου Junior 6M (Irritrol Systems, Riverside, CA, USA).

Το κύκλωμα διανομής αποτελείτο από ένα κεντρικό κορμό με βάνα και φίλτρο σίτας και κεντρικές σωληνώσεις $\varnothing 25$ που έφεραν σε καθορισμένα σημεία αυτορυθμιζόμενους σταλάκτες τύπου TORO (The Toro Company, Bloomington, MN, USA) παροχής 4 l h^{-1} και πίεση λειτουργίας 1,5-4 atm. Οι σταλάκτες στην έξοδο τους έφεραν διακλάδωση τεσσάρων σημείων με σωληνάκια κατανομής του θρεπτικού διαλύματος. Η διάταξη περιελάμβανε έναν σταλάκτη με τέσσερα σωληνάκια ανά δοχείο ανάπτυξης. Για την απορροή των δοχείων χρησιμοποιήθηκε σωλήνας ορθογώνιας διατομής με κατάλληλα ανοίγματα. Το εκρέον θρεπτικό διάλυμα οδηγείτο στην αποχέτευση. Όλα τα μέρη του συστήματος άρδευσης, συμπεριλαμβανομένων των δοχείων φύλαξης του θρεπτικού διαλύματος και των δοχείων ανάπτυξης των φυτών ήταν πλαστικά (για την αποφυγή επιρύπανσης του θρεπτικού διαλύματος με βόριο) και σκούρου χρώματος (για την αποφυγή ανάπτυξης φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών).

Για την αξιολόγηση της ομοιομορφίας μεταξύ των σταλακτών του συστήματος έγιναν δόκιμες άρδευσης με δοκιμαστικά δοχεία και μετρήθηκε ο όγκος του θρεπτικού διαλύματος που συγκεντρωνόταν σε κάθε δοχείο. Η τυπική απόκλιση των τιμών του όγκου του θρεπτικού διαλύματος ήταν λιγότερο από το 9% του μέσου όρου. Η τιμή του pH του εκρέοντος θρεπτικού διαλύματος ήταν περίπου 5,5-6,3.

1.3. Συνθήκες Υδροπονικής Καλλιέργειας

Τα φυτά τοποθετήθηκαν στο θάλαμο σύμφωνα με την διάταξη της εικόνας 1. Οι κλιματικές συνθήκες (θερμοκρασία σχετική υγρασία και φωτοπερίοδος) επιλέχθηκαν με βάση ανάλογα πειράματα (Claussen, 1986). Η θερμοκρασία στο θάλαμο ανάπτυξης ήταν 25 °C κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου και 20 °C κατά τη σκοτοπερίοδο. Η διάρκεια της φωτοπεριόδου ήταν 16 h και η σχετική υγρασία στο θάλαμο ανάπτυξης 52%/70% (ημέρα / νύχτα). Στην έναρξη ή τη λήξη της φωτοπεριόδου οι λαμπτήρες θέτονταν σε λειτουργία ή εκτός λειτουργίας προοδευτικά ώστε η μετάβαση από τη σκοτοπερίοδο προς τη φωτοπερίοδο με πλήρη ένταση ακτινοβολίας ή το αντίστροφο να διαρκεί 1 h.



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση του συστήματος πειραματικής υδροπονίας. Στο διάγραμμα παριστάνεται η διάταξη των φυτών στον θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών και το πειραματικό σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε. ● φυτά B+, ● φυτά B-.

Τα φυτά αρδεύονταν με θρεπτικό διάλυμα Hoagland No 2 υποτετραπλάσιας συγκέντρωσης για τις δύο πρώτες εβδομάδες της καλλιέργειας, κατόπιν με Hoagland No 2 ημίσειας συγκέντρωσης έως τη λήξη του πειράματος. Η σύσταση του θρεπτικού διαλύματος Hoagland No 2 ημίσειας συγκέντρωσης ήταν (σε μM), KNO_3 3000, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 2000, MgSO_4 1000, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 500, FeNaEDTA 50, και MnCl_2 4,60, ZnSO_4 0,43, CuSO_4 0,16, Na_2MoO_4 0,06. Η συγκέντρωση του βορικού οξέος στο θρεπτικό διάλυμα ήταν 100 μM και 4,62 μM ανάλογα με την μεταχείριση. Η παρασκευή του θρεπτικού διαλύματος γινόταν κάθε 3 ή 4 μέρες με αρραίωση μητρικών διαλυμάτων σε απιονισμένο νερό. Το pH του διαλύματος ρυθμιζόταν στην τιμή 6,5 με KOH . Κατά την διάρκεια της παρασκευής των θρεπτικών διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά πλαστικά σκεύη για την αποφυγή επιρύπανσης με βόριο. Σύμφωνα με χημικές αναλύσεις, η συγκέντρωση του βορικού οξέος στα θρεπτικά διαλύματα κατά τη διάρκεια του πειράματος μετρήθηκε ως $95,8 \pm 1,2 \mu\text{M}$ και $7,4 \pm 0,2 \mu\text{M}$ για τις μεταχειρίσεις B+ και B- αντίστοιχα. Η συχνότητα των αρδεύσεων ήταν 15 αρδεύσεις ανά εικοσιτετράωρο, σε διαστήματα ανά 1 h στη φωτοπερίοδο και ανά 3 h στη σκοτοπερίοδο ενώ η διάρκεια κάθε άρδευσης ήταν 1 min.

II. Πειραματική Δομή

II.1. Χρονοδιάγραμμα Πειράματος

Το πείραμα ξεκίνησε στις 13/10/2005, και διήρκεσε 38 ημέρες. Η πρώτη δειγματοληψία έγινε την 25η ημέρα. Η τελική δειγματοληψία διεξήχθη την 38η ημέρα.

II.2. Κατηγορίες Δειγμάτων, Δειγματοληπτικοί Χειρισμοί και Μετρήσεις

Στο πείραμα αυτό διακρίθηκαν τρεις κατηγορίες δειγμάτων φύλλων ανάλογα με το στάδιο ωριμότητας σε ώριμα (φύλλα που είχαν ολοκληρώσει την έκπτυξή τους πριν την έναρξη των πειραματικών χειρισμών), σε νεαρά φύλλα (φύλλα που βρίσκονταν σε διαφορετικά στάδια έκπτυξης κατά την έναρξη των πειραματικών χειρισμών) και σε αναπτυσσόμενα (φύλλα τα οποία δεν είχαν ολοκληρώσει την έκπτυξή τους) στο τέλος του πειράματος. Σε κάθε περίπτωση, τα δείγματα προέρχονταν από φυτά και των δύο πειραματικών χειρισμών βορίου (B+ και B-).

Στη λήξη του πειράματος πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των αναπτυξιακών (νωπό και ξηρό βάρος φύλλων και ριζών) και μορφολογικών χαρακτηριστικών (μέση και συνολική επιφάνεια φύλλων). Επίσης πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις συγκέντρωσης βορίου στα φύλλα. Το βόριο μετρήθηκε ως διαλυτό κλάσμα και ολικό βόριο ενώ πραγματοποιήθηκαν και επιμέρους μετρήσεις του ολικού βορίου. Στον ανιόντα χυμό μετρήθηκε η συγκέντρωση βορίου ενώ στο χυμό του ηθμού και στον κυτταρικό χυμό μετρήθηκε η συγκέντρωση βορίου καθώς και η συγκέντρωση της σακχαρόζης. Τα δείγματα των φύλλων για τις αναλύσεις της σακχαρόζης ελήφθησαν εντός της φωτοπεριόδου.

III. Τρόπος Διενέργειας Μετρήσεων

III.1. Μορφολογικές

Η φυλλική επιφάνεια και ο αριθμός των φύλλων μετρήθηκαν με ανάλυση εικόνας από ψηφιακές φωτογραφίες των φύλλων. Για τη μέτρηση του ξηρού βάρους των ιστών και τον προσδιορισμό των παραμέτρων του περιεχόμενου νερού και της ειδικής φυλλικής μάζας, οι ιστοί ξηράθηκαν στους 90 °C για 30 min και στη συνέχεια παρέμειναν στους 50 °C για 72 h.

III.2. Συλλογή του Ανιόντος και Κυτταρικού Χυμού και του Χυμού του Ηθμού

Για τη συλλογή του ανιόντος χυμού αποκόπηκε το υπέργειο μέρος του φυτού με ξυράφι και συλλέχθηκαν έως 400 μl ανιόντος χυμού μετά την απόρριψη των πρώτων 20-30 μl. Το pH του ανιόντος χυμού ήταν 5,9. Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους 4 °C.

Για την συλλογή του χυμού του ηθμού χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των King and Zeevaart (1974) όπως τροποποιήθηκε από τις Flora and Madore (1993). Για κάθε δείγμα συλλέχθηκε ένα φύλλο. Η κοπή των φύλλων έγινε με ξυράφι εντός του διαλύματος συλλογής. Το διάλυμα συλλογής περιείχε 20 mM Na₂EDTA ρυθμισμένο σε pH 7,0 με διάλυμα KOH. Για την παρασκευή του διαλύματος εξίδρωσης χρησιμοποιήθηκε νερό Merck Ultrapure. Στη συνέχεια τα φύλλα τοποθετήθηκαν σε ατομικά δοχεία με τους μίσχους εντός του διαλύματος συλλογής (2 ml). Τα φύλλα παρέμειναν υπό συνθήκες χαμηλού φωτισμού. Η συλλογή του χυμού ξεκίνησε στις 18:00 και ολοκληρώθηκε 6 ώρες αργότερα. Ανά διαστήματα 30 min προστίθετο στα δείγματα που το απαιτούσαν νερό (0.4 ml) για την αναπλήρωση των απωλειών λόγω εξατμισοδιαπνοής. Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής τα δείγματα ογκομετρήθηκαν και αποθηκεύτηκαν στους -20 °C.

Για τη συλλογή του κυτταρικού χυμού φύλλων ορισμένη ποσότητα νωπού ιστού πιέστηκε μέσω κατάλληλου εργαλείου και συλλέχθηκαν 400-1000 μl χυμού. Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -20 °C.

III.3. Συγκέντρωση Βορίου

III.3.i. Προετοιμασία Δειγμάτων για Μέτρηση Μέσω της Χρωματικής Αντίδρασης Αζωμεθίνης

Η συγκέντρωση του βορίου με τη μέθοδο της αζωμεθίνης προσδιορίστηκε σε δείγματα των θρεπτικών διαλυμάτων και δείγματα άθικτων φύλλων.

Τα δείγματα (50 ml) των θρεπτικών διαλυμάτων συλλέχθηκαν από τα δοχεία φύλαξης. Τα δείγματα των φύλλων τοποθετήθηκαν για ξήρανση στους 90 °C για 30 min και στη συνέχεια παρέμειναν στους 50 °C για 72 h. Ακολούθως η ξηρή ουσία (20–90 mg) τοποθετήθηκε σε πορσελάνινες κάψες (εξευγενισμένες με πλύσεις διαλύματος HCl 0.6 N και απιονισμένου νερού) και ακολούθησε ξηρή καύση σε θερμοκρασία 500 °C (ανύψωση της θερμοκρασίας με ρυθμό 4,2 °C min⁻¹ και παραμονή στην παραπάνω θερμοκρασία για 6 h). Μετά την ψύξη σε

θερμοκρασία περιβάλλοντος η τέφρα εκχυλίστηκε με 0,5 ml διαλύματος HCl 6 N και το εκχύλισμα αραιώθηκε με νερό σε τελικό όγκο 5 ml.

Για την παρασκευή των διαλυμάτων καθώς και τις εκχυλίσεις χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό.

III.3.ii. Μέτρηση Συγκέντρωσης Βορίου Μέσω Χρωματικής Αντίδρασης Αζωμεθίνης

Για την μέτρηση της συγκέντρωσης βορίου ακολουθήθηκε η μέθοδος της χρωματικής αντίδρασης με αζωμεθίνη (Banuelos *et al.* 1992) με τροποποίηση ώστε να μειωθεί το κατώτατο όριο μέτρησης στο επίπεδο των 0,02 ppm B ώστε να καθίσταται δυνατή η μέτρηση μικρών δειγμάτων.

Όγκος 2 ml από το εκχύλισμα της τέφρας ρυθμίστηκε με 1 ml ρυθμιστικού διαλύματος AcNH₄ / AcOH / Na₂EDTA, pH 5,7 και αντέδρασε με 1 ml διαλύματος αζωμεθίνης (0,45 g / 100 ml ασκορβικού οξέος 1%). Μετά από 30 min μετρήθηκε η απορρόφηση σε μήκος κύματος 420 nm σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης τύπου Shimadzu UV-Vis 160A (Shimadzu Co., Tokyo, Japan).

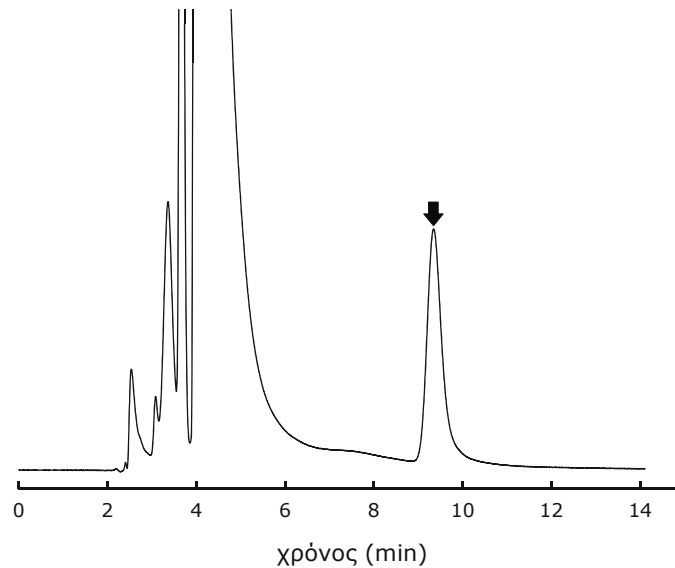
Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης βορίου κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς (0,01–1,0 ppm B, 10 σημεία, R² 0.998). Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν σε διάλυμα 0,6 N HCl. Σε όλα τα στάδια χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά σκεύη για την αποφυγή επιρύπανσης με βόριο.

III.3.iii. Προετοιμασία Δειγμάτων για Μέτρηση μέσω HPLC

Για το χρωματογραφικό προσδιορισμό του βορικού οξέος χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Matoh *et al.* (1997) όπως τροποποιήθηκε από τους Stavrianakou *et al.* (2006a). Η συγκέντρωση του βορίου με χρωματογραφία υψηλής απόδοσης προσδιορίστηκε σε δείγματα του χυμού του ηθμού, του κυτταρικού και του ανιόντος χυμού. Για την προετοιμασία των δειγμάτων, όγκος 100-1000 μl δείγματος αραιώθηκε έως τα 1000 μl με νερό και αντέδρασε με 50 μl αντιδραστήριου CA (150 mg χρωμοτροπικού οξέος, 186 mg EDTA-2Na / 5 ml H₂O) και 50 μl αντιδραστήριου TBA (1,61 g βρωμιούχο τετραβουτυλαμμώνιο / 5 ml ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 1 M, pH 4,8). Το μίγμα παρέμεινε για 10 min και ακολούθως διηθήθηκε με φίλτρο μεμβράνης 0,2 μm Chromafil CA-20/25 (Macherey-Nagel, Düren, Germany).

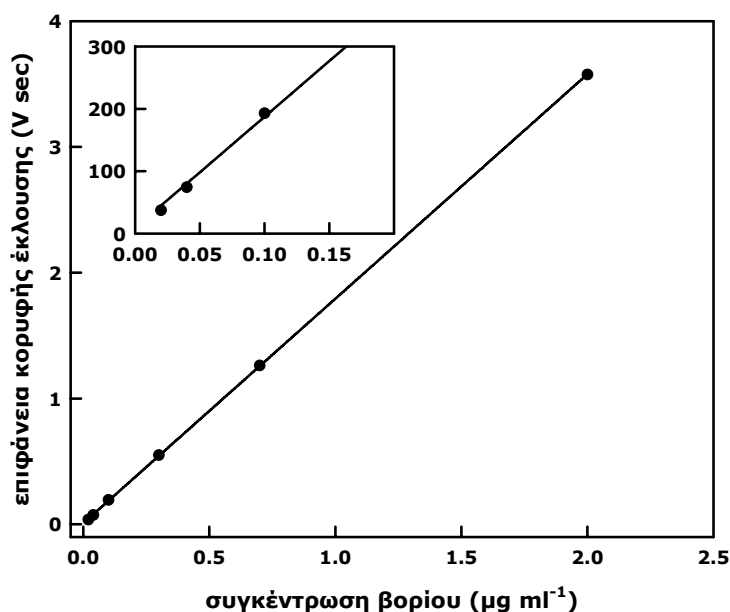
III.3.iv. Χρωματογραφική Ανάλυση

Σύμφωνα με τη μέθοδο, το βόριο ως βορικό οξύ αναλύεται χρωματογραφικά και ανιχνεύεται στα 350 nm ως σύμπλοκο με το χρωμοτροπικό οξύ (εικόνα 2).



Εικόνα 2. Χρωματογράφημα του μίγματος αντίδρασης μετά τη δημιουργία συμπλόκου βορικού οξέος – χρωμοτροπικού οξέος. Η κορυφή έκλουσης που σημειώνεται με το βέλος αντιστοιχεί στο παραπάνω σύμπλοκο.

Η χρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε στήλη ανάστροφης φάσης APEX ODS 5 μm , 250 \times 4.6 mm (Jones Chromatography Limited, Mid Glamorgan, UK) συνδεδεμένη σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης τύπου Jasco LG980-02 / PU980 / UV970 (Jasco Corporation, Tokyo, Japan). Όγκος 20 μl του μίγματος αντίδρασης διαχωρίστηκε με κινητή φάση η οποία προετοιμάστηκε ως ακολούθως: 3,5 g βρωμιούχου τετραβουτυλαμμωνίου και 33 ml 1 M HCl σε 550 ml MeOH και ακολούθως αραιώση στα 1000 ml με H_2O . Ο ρυθμός ροής της κινητής φάσης ήταν 1 ml min^{-1} και η ανίχνευση έγινε στα 350 nm. Η παραπάνω μέθοδος έδωσε κατώτατο όριο μέτρησης ως 0,02 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (εικόνα 3). Για την επίτευξη του ορίου αυτού η διαδικασία απαλλάχτηκε των προσμίξεων με τη χρήση εξευγενισμένων σκευών και νερού Ultrapure (Merck KGaA, Darmstadt, Germany, μέγιστη [B] < 0.2 $\mu\text{g ml}^{-1}$) για την προετοιμασία όλων των αντιδραστηρίων. Λόγω της ανίχνευσης του συμπλόκου βορικού οξέος – χρωμοτροπικού οξέος στα 350 nm, η μέθοδος είναι κατάλληλη για τη μέτρηση ιχνοποσοτήτων βορικού οξέος ενώ πλεονεκτεί και όσον αφορά στον ελάχιστο όγκο δείγματος, έως και 100 μl , ο οποίος απαιτείται για τη διεξαγωγή της.



Εικόνα 3. Καμπύλη αναφοράς για τη μέθοδο χρωματογραφικού προσδιορισμού βορικού οξέος μέσω δημιουργίας συμπλόκου με χρωμοτροπικό οξύ. Η συγκέντρωση βορικού οξέος στο διάγραμμα αναφέρεται στην αρχική συγκέντρωση στο δείγμα με την οποία συμμετέχει με όγκο 1000 μl στο τελικό μίγμα αντίδρασης (1100 μl). Για την καμπύλη αναφοράς, $[B (\mu\text{g ml}^{-1})] = [\text{Επιφάνεια κορυφής έκλουσης (V} \cdot \text{sec)} - 0,088539] 0,5605$, $R^2 = 0.9999$. Στο ένθετο διάγραμμα φαίνεται σε μεγέθυνση η περιοχή συγκεντρώσεων από 0,00 έως 0,20 μg B ml⁻¹.

IV. Φωτοσυνθετικές Παράμετροι

Η μέτρηση της συγκέντρωσης χλωροφυλλών πραγματοποιήθηκε με φορητό όργανο μέτρησης χλωροφύλλης (SPAD 502, Minolta Co. Ltd., Japan). Η παράμετρος του μεταβλητού προς το μέγιστο φθορισμό χλωροφύλλης του φωτοσυστήματος II *in vivo* μετρήθηκε με φθορισμόμετρο χλωροφύλλης (Fim 1500, ADC, Hoddesdon, U.K.) σε φύλλα προσαρμοσμένα στο σκοτάδι για 30 min. Η ένταση της ακτινοβολίας διέγερσης ρυθμίστηκε στα 900 μmol quanta m⁻² s⁻¹. Οι μετρήσεις της εξάρτησης του φωτοσυνθετικού ρυθμού από την ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας μετρήθηκαν με φορητό όργανο μέτρησης φωτοσύνθεσης με τη βοήθεια τεχνητής πηγής φωτισμού (LCPro+, ADC, Hoddesdon, U.K.). Για τη λήψη των καμπυλών φωτός, τα φύλλα παρέμειναν απουσία φωτός για 5 min και στη συνέχεια για 5 min σε κάθε επιλεγμένη τιμή έντασης ακτινοβολίας έως τα 2000 μmol quanta m⁻² s⁻¹.

V. Ανάλυση Υδατανθράκων στα Φύλλα και το Εξιδρώμα του Χυμού του Ηθμού

Η ανάλυση των σακχάρων πραγματοποιήθηκε σε δείγματα εξιδρώματος του ηθμού και υδατικά εκχυλίσματα φύλλων τα οποία είχαν αποθηκευτεί στους -80 °C. Για την ανάλυση, ορισμένος όγκος δείγματος, απιονίσθηκε σε ιονανταλλακτικές στήλες Chromafix PS-H και PS-OH (400 mg) (Macherey-Nagel, Düren, Germany) και διηθήθηκε από φίλτρο μεμβράνης Chromafil RC-20/25 (Macherey-Nagel). Ο διαχωρισμός έγινε σε αναλυτική στήλη Nucleosil Carbohydrate 10 μm ($250 \times 4 \text{ mm}$; Macherey Magel). Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε μίγμα ακετονιτριλίου : νερού : φωσφορικού οξέος 85 % (85:14:1 v/v). Ο ρυθμός ροής της κινητής φάσης ήταν 2 ml min^{-1} (27 °C). Τα σάκχαρα αναλύθηκαν μέσω ανιχνευτή δείκτου διάθλασης RI930 (Jasco Corporation). Οι κορυφές έκλουσης αναγνωρίστηκαν με σύγκριση με πρότυπες ουσίες με βάση το χρόνο συγκράτησης. Η συγκέντρωση των εκλουόμενων συστατικών μετρήθηκε μέσω του εμβαδού των κορυφών έκλουσης και με τη βοήθεια καμπυλών αναφοράς που κατασκευάστηκαν με εκτέλεση αναλύσεων προτύπων διαλυμάτων ($0.1-0.4 \text{ mg ml}^{-1}$; 4 σημεία; $R^2 0.99$).

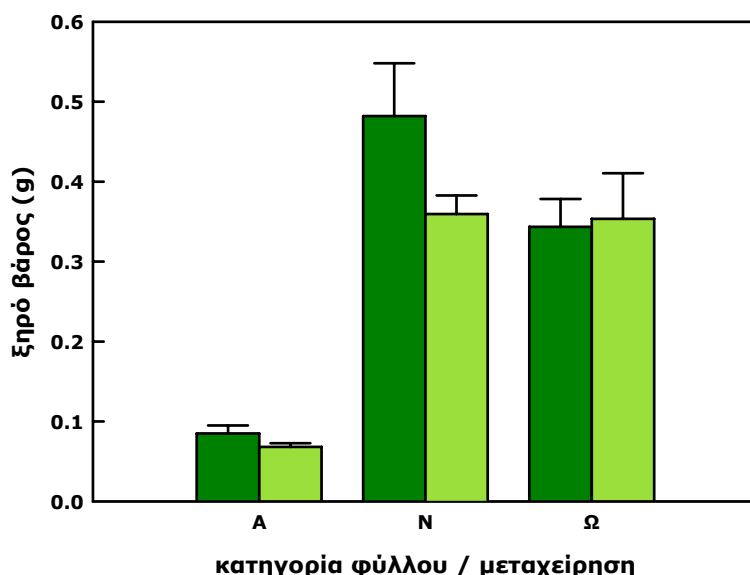
Το περιεχόμενο άμυλο των φύλλων εκτιμήθηκε μέσω αποτυπωμάτων. Τα δείγματα προέρχονταν από φύλλα τα οποία συλλέχθηκαν εντός της φωτοπεριόδου και φυλάχθηκαν στους -20 °C. Για την παρασκευή των αποτυπωμάτων ελήφθησαν δίσκοι φύλλων και αποχρωματίστηκαν σε ζέουσα αιθανόλη για 2-5 min. Μετά από ξέπλυμα με νερό, οι δίσκοι εμβαπτίστηκαν για 30 sec σε διάλυμα ιωδιούχου καλίου / ιωδίου. Ακολούθως ξεπλύθηκαν και παρατηρήθηκαν.

Αποτελέσματα

I. Αναπτυξιακές Παράμετροι

I. 1. Συσσώρευση Ξηρής Βιομάζας

Η ξηρή βιομάζα ανά όργανο παρουσίασε αναμενόμενες διαφορές μεταξύ φύλλων των τριών ηλικιακών κατηγοριών. Συγκεκριμένα, Τα κατώτατα (ώριμα) φύλλα έδειξαν μικρότερη ξηρή βιομάζα συγκριτικά με τα νεαρά φύλλα. Τα αναπτυσσόμενα φύλλα είχαν συγκριτικά χαμηλές τιμές ξηρής βιομάζας. Η μεταχείριση B- είχε ως αποτέλεσμα την αισθητή μείωση της ξηρής βιομάζας των νεαρών φύλλων. Μεταξύ των υπολοίπων ηλικιακών κατηγοριών δεν παρατηρήθηκαν διαφορές (εικόνα 1).



Εικόνα 1. Ξηρό βάρος ανά όργανο για τα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

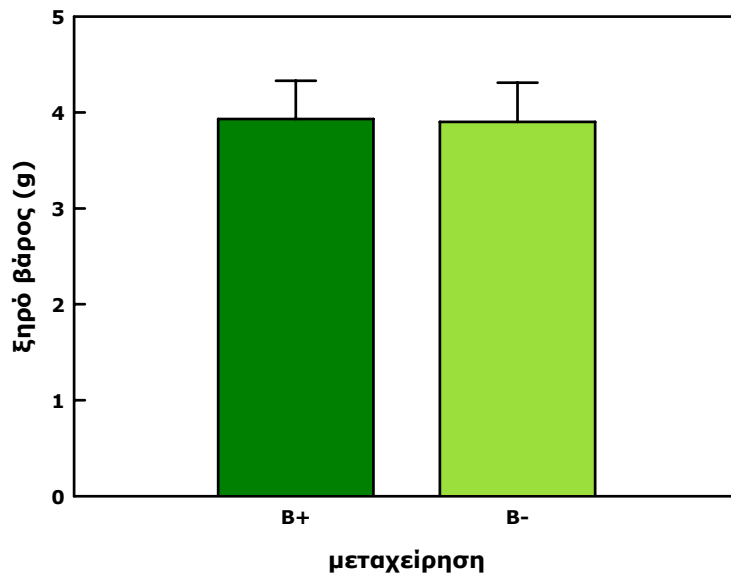
Στην εικόνα 2 παρουσιάζεται η συνολική υπέργεια ξηρή βιομάζα ανά φυτό. Η παράμετρος αυτή δεν επηρεάστηκε από το βαθμό διαθεσιμότητας βορίου από το θρεπτικό υπόστρωμα.

I.2. Φυλλική Επιφάνεια

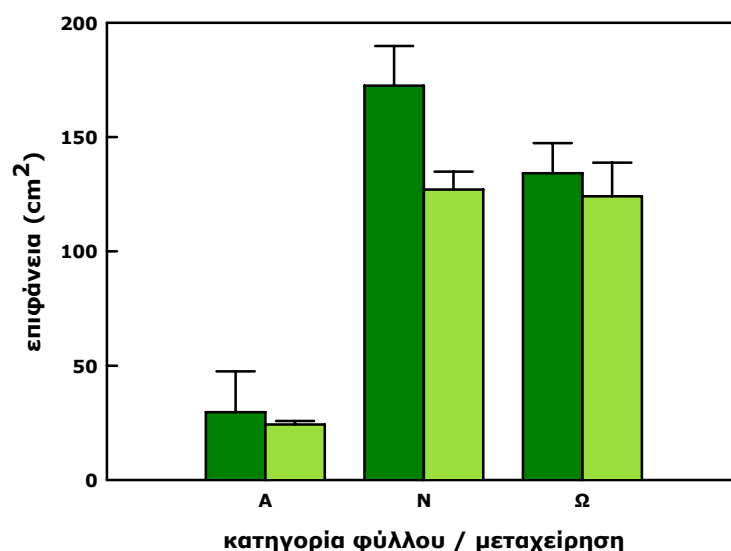
Κατά ανάλογο τρόπο με την παράμετρο της ξηρής βιομάζας ανά φύλλο (εικόνα 1), η επιφάνεια των φύλλων των τριών ηλικιακών κατηγοριών εμφάνισε

Αποτελέσματα

διαφορές οι οποίες δικαιολογούνται από το αναπτυξιακό τους στάδιο (εικόνα 2). Από την άλλη πλευρά, η ελλειμματική σε βόριο μεταχείριση προκάλεσε σημαντική μείωση της επιφάνειας των νεαρών πλήρως εκπτυγμένων φύλλων. Στις υπόλοιπες δύο ηλικιακές κατηγορίες η μεταχείριση B- δεν επηρέασε την παράμετρο της φυλλικής επιφάνειας (εικόνα 2).

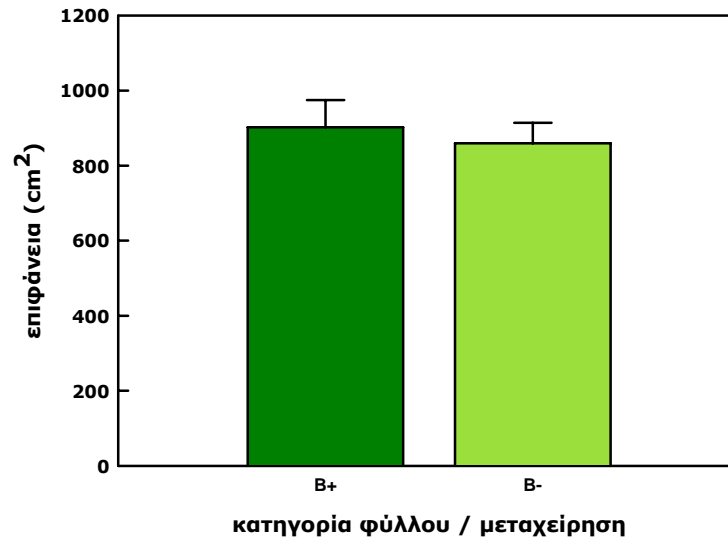


Εικόνα 2. Ξηρό βάρος του υπέργειου μέρους των φυτών για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.



Εικόνα 3. Επιφάνεια ανά όργανο για τα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

Η μη επίδραση της έλλειψης βορίου του υποστρώματος ανάπτυξης στις αναπτυξιακές παραμέτρους σε επίπεδο φυτού, επιβεβαιώνεται και στην παράμετρο της συνολικής φυλλικής επιφάνειας ανά φυτό (εικόνα 4). Παρόλο που η έλλειψη βορίου προκάλεσε αισθητή μείωση της επιφάνειας των νεαρών φύλλων, η συνολική φυλλική επιφάνεια δεν επηρεάστηκε, πιθανώς λόγω μικρού αριθμού νεαρών φύλλων ανά φυτό ή διαφορετικού πλήθους νεαρών φύλλων στα φυτά των δύο μεταχειρίσεων.



Εικόνα 4. Συνολική φυλλική επιφάνεια ανά φυτό για κάθε μεταχείριση βορίου. Οι τιμές είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

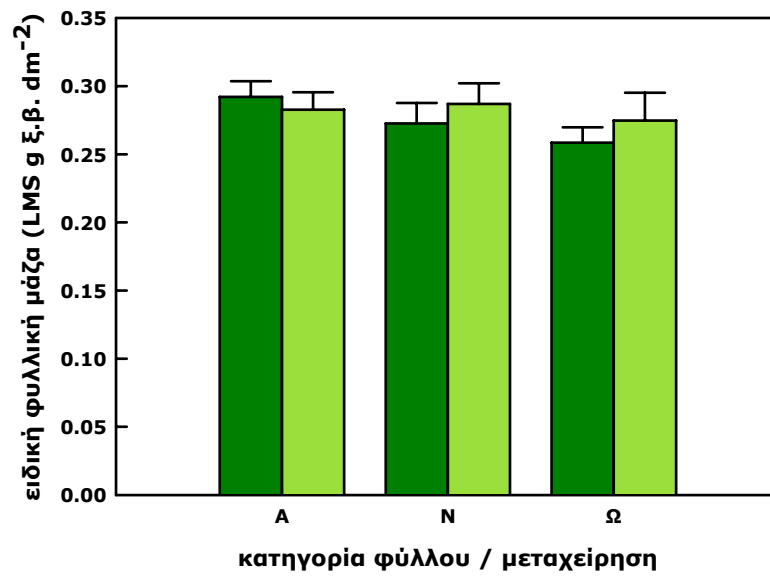
1.3. Ειδική Φυλλική Μάζα

Η έλλειψη βορίου στο υπόστρωμα καλλιέργειας δεν προκάλεσε αισθητές αλλαγές στην παράμετρο της ειδικής φυλλικής μάζας. Μικρή αύξηση των τιμών της παραμέτρου στα φυτά της ελλειμματικής σε βόριο μεταχείρισης παρατηρήθηκαν στα ώριμα και νεαρά φύλλα (εικόνα 5).

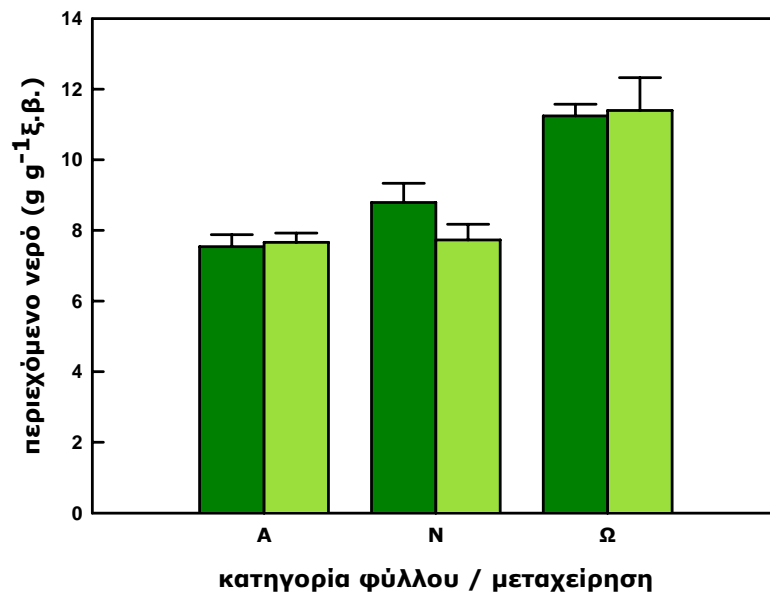
1.4. Περιεχόμενο Νερό

Μεταξύ των ηλικιακών κατηγοριών, τα ώριμα φύλλα εμφανίστηκαν περισσότερο υδαρή συγκριτικά με τα νεαρά και αναπτυσσόμενα φύλλα. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στο διαφορετικό κατασκευαστικό πρότυπο των φύλλων αυτών συγκριτικά με τα ανώτερα φύλλα ή σε μικρότερες απώλειες νερού λόγω χαμηλότερης έντασης της διαπνοής, ενδεχομένως λόγω χαμηλότερης θέσης των φύλλων αυτών στο βλαστό.

Αποτελέσματα



Εικόνα 5. Ειδική φυλλική μάζα για τα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

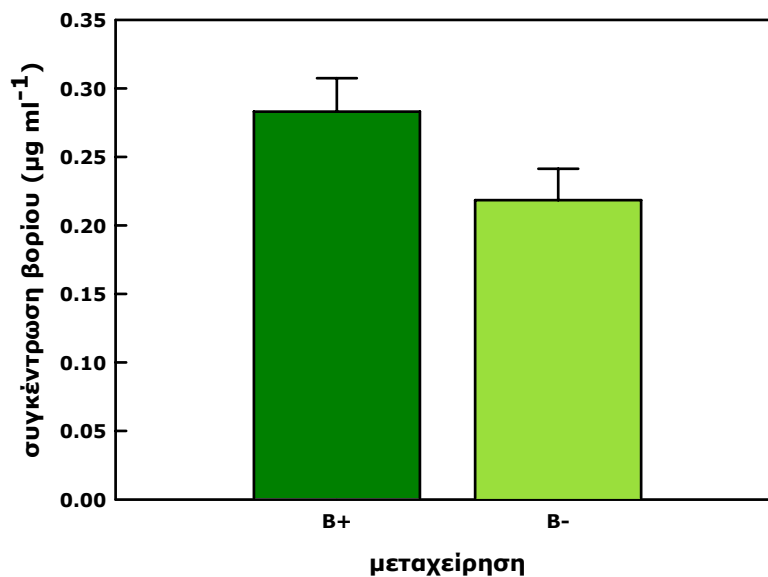


Εικόνα 6. Περιεχόμενο νερό στα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

II. Συγκέντρωση Βορίου στους Φυτικούς Ιστούς, το Εξίδρωμα του Χυμού του Ηθμού και τον Ανιόντα Χυμό

II.1. Συγκέντρωση Βορίου στον Ανιόντα Χυμό

Στην ελλειμματική μεταχείριση βορίου η συγκέντρωση του βορίου στον ανιόντα χυμό εμφανίστηκε χαμηλότερη (εικόνα 7). Είναι αξιοσημείωτο ότι ενώ στη B+ μεταχείριση η συγκέντρωση βορίου στον ανιόντα χυμό ήταν περίπου το ένα τρίτο της συγκεντρώσεως του στο θρεπτικό διάλυμα γεγονός το οποίο ενδεχομένως σχετίζεται με φαινόμενα αποκλεισμού ή απορρόφησης ποσοστού του βορίου κατά μήκος της διαδρομής έως τα αγγεία του ξύλου, η συγκέντρωση του ανιόντος χυμού των φυτών της μεταχείρισης B- μετρήθηκε τετραπλάσια έναντι της συγκεντρώσεως του βορίου στο θρεπτικό διάλυμα (βλ. μετρήσεις συγκέντρωσης βορίου στα θρεπτικά διαλύματα, Υλικά και Μέθοδοι). Το γεγονός αυτό ενδεχομένως υποδηλώνει τη λειτουργία μηχανισμού ανάπτυξης υψηλών συγκεντρώσεων στα σημεία απορρόφησης ή φόρτωσης του ανιόντος χυμού.



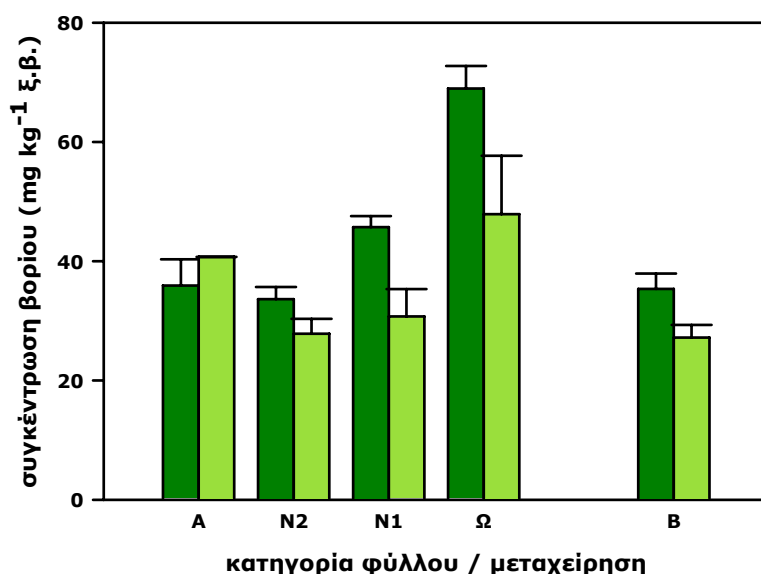
Εικόνα 7. Συγκέντρωση βορίου στον ανιόντα χυμό για τα φυτά των δύο μεταχειρίσεων βορίου. Οι τιμές είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

II.2. Συγκέντρωση Ολικού Βορίου στα Φύλλα

Η μεταχείριση στην οποία η τροφοδοσία του βορίου ήταν ελλειμματική προκάλεσε μείωση στην ολική συγκέντρωση βορίου στα νεαρά και ώριμα φύλλα καθώς και στο βλαστό, όπως μετρήθηκε την 25η ημέρα από την έναρξη του πειράματος (εικόνα 8). Αντίθετα, η συγκέντρωση βορίου των αναπτυσσόμενων φύλλων δεν είχε διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων (εικόνα 8). Αισθητή ήταν επίσης η μείωση της συγκέντρωσης βορίου στους ιστούς των ώριμων φύλλων

Αποτελέσματα

την 38η ημέρα από την έναρξη του πειράματος (τελική δειγματοληψία) στη μεταχείριση B- συγκριτικά με το μάρτυρα ενώ μικρότερες διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των νεαρών φύλλων (εικόνα 9). Όπως και στην ενδιάμεση δειγματοληψία, και κατά την λήξη του πειράματος η μεταχείριση δεν προκάλεσε μείωση της συγκέντρωσης βορίου των αναπτυσσόμενων φύλλων (εικόνα 9).

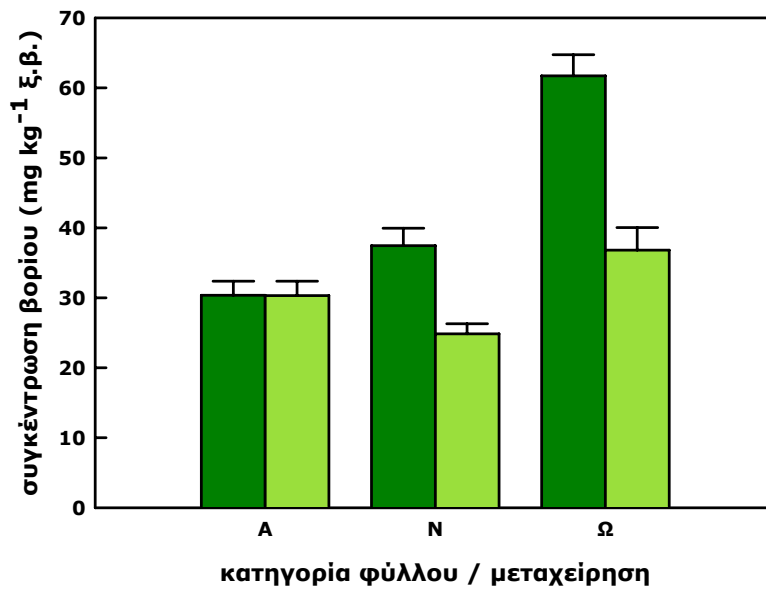


Εικόνα 8. Συγκέντρωση ολικού βορίου στα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N1, N2: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) και στο βλαστό (B) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-) 25 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος. Οι τιμές είναι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

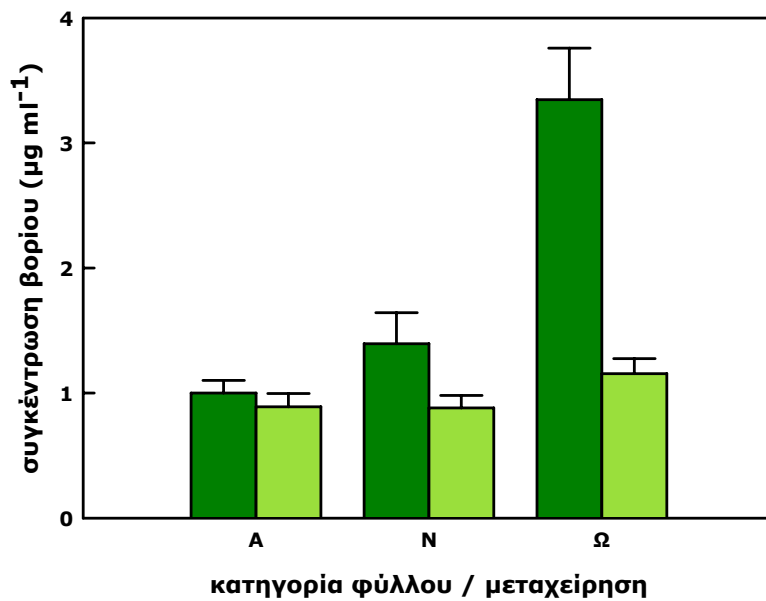
II.3. Συγκέντρωση Βορίου στον Κυτταρικό Χυμό των Φύλλων

Το κυτταρικό βόριο ταυτίζεται με το διαλυτό κλάσμα και αντιπροσωπεύει το κλάσμα του βορίου το οποίο είναι διαθέσιμο για συμμετοχή σε μεταβολικές διεργασίες. Ταυτόχρονα είναι το κλάσμα εκείνο του βορίου το οποίο μπορεί να επανεκκινηθεί με σκοπό την επαναδιανομή σε άλλα μέρη του φυτού.

Η μεταξύ των δειγμάτων υψηλότερη συγκέντρωση κυτταρικού βορίου μετρήθηκε στα ώριμα φύλλα της μεταχείρισης B+. Για όλα τα ηλικιακά στάδια, η μεταχείριση B+ εμφάνισε υψηλότερες τιμές κυτταρικού βορίου συγκριτικά με την μεταχείριση B- (εικόνα 10). Η επίδραση της έλλειψης βορίου ήταν αξιοσημείωτη όσον αφορά την εξεταζόμενη παράμετρο στα ώριμα φύλλα (εικόνα 10). Όσον αφορά στα νεαρά φύλλα, η επίδραση της έλλειψης βορίου ήταν λιγότερο έντονη ενώ στα αναπτυσσόμενα φύλλα η επίδραση ήταν αμελητέα (εικόνα 10).



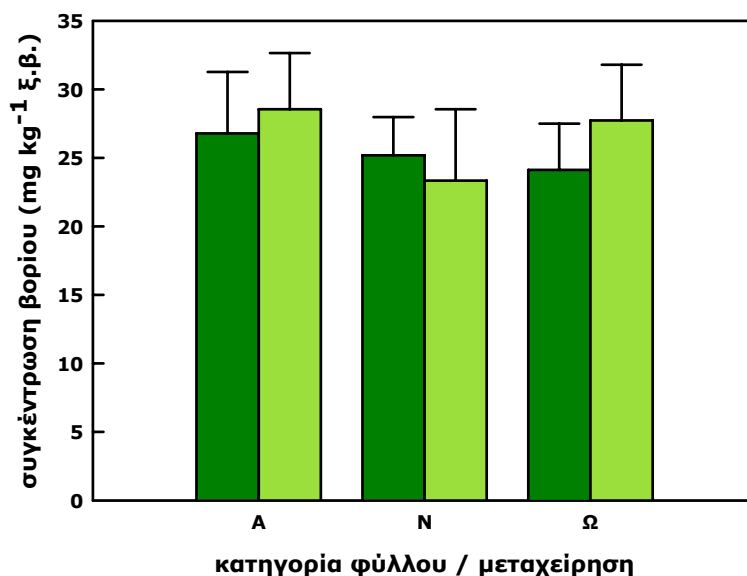
Εικόνα 9. Συγκέντρωση ολικού βορίου στα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-) 38 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος. Οι τιμές είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.



Εικόνα 10. Συγκέντρωση βορίου στο κυτταρικό χυμό των φύλλων των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 6 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

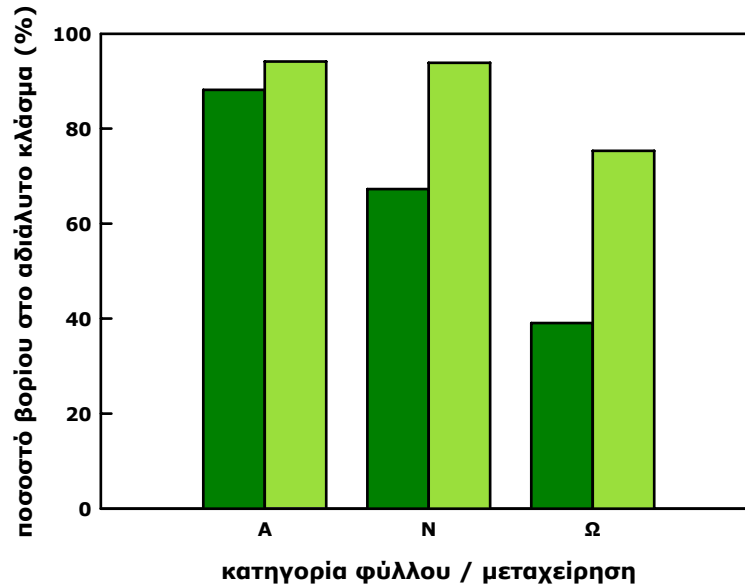
II.4. Συγκέντρωση Αδιάλυτου Βορίου

Το βόριο των κυτταρικών τοιχωμάτων αντιπροσωπεύει το αδιάλυτο κλάσμα και αφορά στο κλάσμα του βορίου το οποίο δεν είναι ανταλλάξιμο και συνεπώς δεν μπορεί να συμμετάσχει σε μεταβολικές διεργασίες και σε φαινόμενα επαναδιανομής. Τόσο μεταξύ των ηλικιακών κατηγοριών, όσο και μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στη συγκέντρωση του αδιάλυτου κλάσματος (εικόνα 11).



Εικόνα 11. Συγκέντρωση αδιάλυτου βορίου των φύλλων των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές προέκυψαν από την αφαίρεση του διαλυτού βορίου από το ολικό και είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

Όπως φαίνεται στην εικόνα 12, τα ώριμα φύλλα και των δύο μεταχειρίσεων εμφανίζουν συγκριτικά με τις υπόλοιπες ηλικιακές κατηγορίες φύλλων χαμηλότερο ποσοστό κατανομής του βορίου στο αδιάλυτο κλάσμα. Είναι αξιοσημείωτο ότι στη μεταχείριση B+, το ποσοστό του αδιάλυτου κλάσματος μειώνεται με την ηλικία. Το γεγονός αυτό σχετίζεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του διαλυτού βορίου στα κύτταρα με την αύξηση του ηλικιακού σταδίου των φύλλων. Ο περιορισμός της εξωτερικής διαθεσιμότητας βορίου προκάλεσε αξιοσημείωτη αύξηση του ποσοστού του βορίου το οποίο κατανέμεται στο αδιάλυτο κλάσμα, προφανώς λόγω μείωσης του διαλυτού κλάσματος. Η αύξηση αυτή ήταν υψηλότερη αυξανόμενου του ηλικιακού σταδίου γεγονός το οποίο υποδηλώνει συσσωρευτική επίδραση της μεταχείρισης (εικόνα 12).



Εικόνα 12. Ποσοστό της κατανομής του ολικού βορίου του φύλλου στο αδιάλυτο κλάσμα στα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-).

II.5. Συγκέντρωση Βορίου στο Εξίδρωμα του Χυμού του Ηθμού

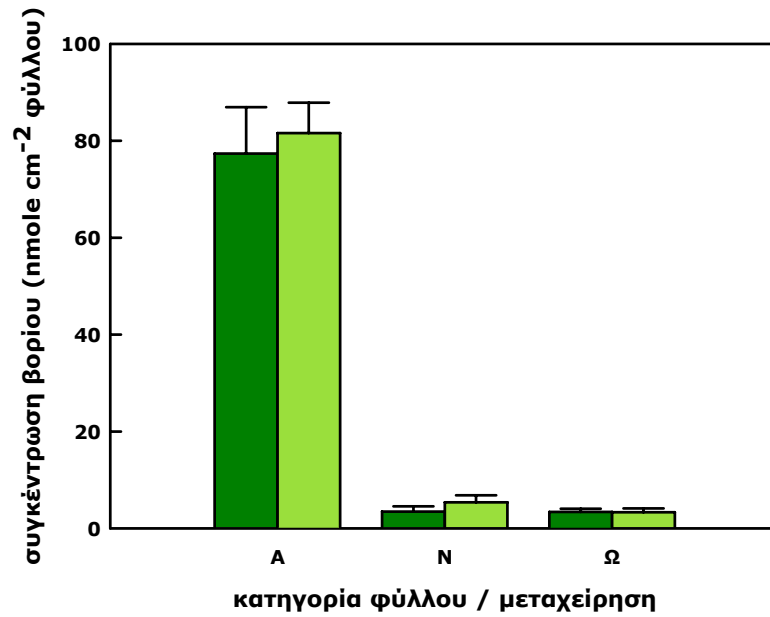
Τα αναπτυσσόμενα φύλλα εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερη συγκέντρωση βορίου στο εξίδρωμα του χυμού του ηθμού σε σχέση με τις άλλες δύο κατηγορίες φύλλων. Μεταξύ νεαρών και ώριμων φύλλων δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές. Επίσης, η μεταχείριση B- δεν είχε επίδραση στη συγκέντρωση του βορίου στον ηθμό σε καμία ηλικιακή κατηγορία (εικόνα 13). Ωστόσο, μπορεί να επισημανθεί ότι σημαντική επαναδιανομή βορίου παρατηρήθηκε τόσο σε καθεστώς επάρκειας όσο και σε καθεστώς έλλειψης του βορίου από το εξωτερικό μέσο.

III. Φωτοσυνθετικές Παράμετροι

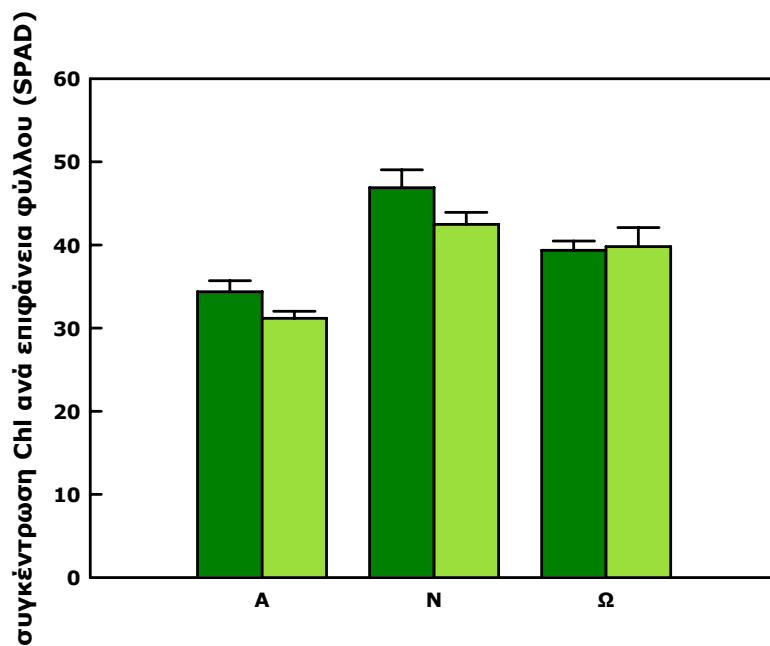
III.1. Συγκέντρωση Χλωροφυλλών

Η συγκέντρωση των χλωροφυλλών εμφανίστηκε χαμηλότερη στα αναπτυσσόμενα συγκριτικά με τα νεαρά και ώριμα φύλλα, γεγονός το οποίο είναι αναμενόμενο (εικόνα 14). Ο περιορισμός της τροφοδοσίας με βόριο προκάλεσε μικρή μείωση της συγκέντρωσης χλωροφυλλών στα νεαρά και αναπτυσσόμενα φύλλα (εικόνα 14).

Αποτελέσματα



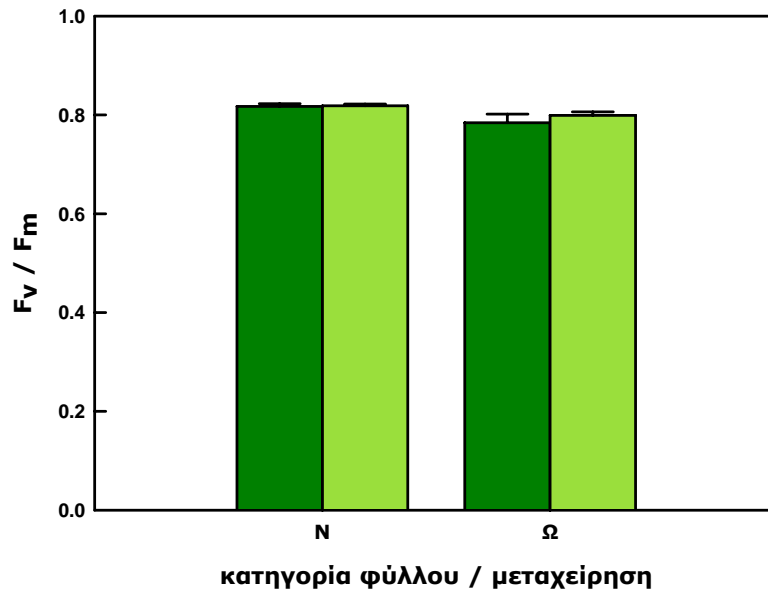
Εικόνα 13. Συγκέντρωση βορίου στο εξίδρωμα του χυμού του ηθμού των φύλλων των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.



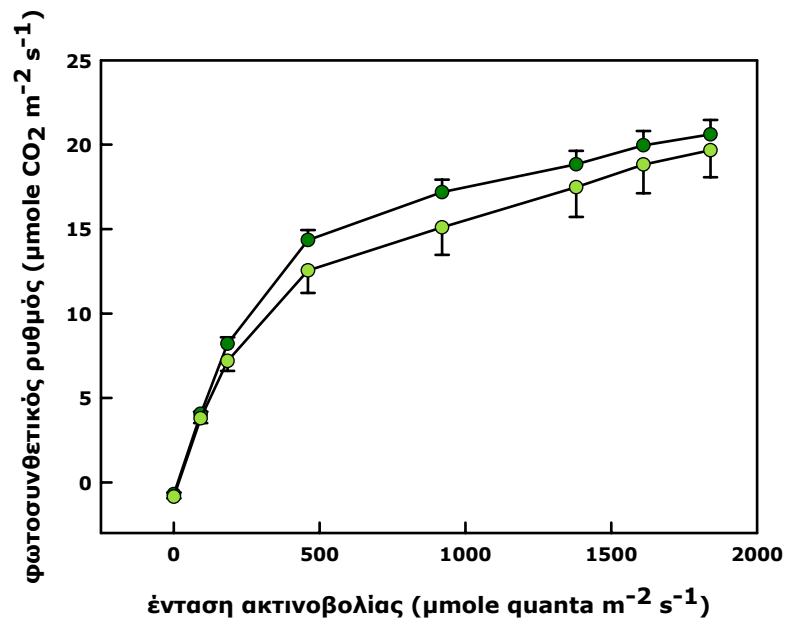
Εικόνα 14. Συγκέντρωση χλωροφυλλών στα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 10 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

III.2. Παράμετρος F_v / F_m

Στην εικόνα 15 παρουσιάζεται ο λόγος του μεταβλητού προς το μέγιστο φθορισμό χλωροφύλλης Η παράμετρος αυτή δεν επηρεάστηκε από το βαθμό



Εικόνα 15. Ο λόγος του μεταβλητού προς το μέγιστο φθορισμό χλωροφύλλης του φωτοσυστήματος II στα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 7 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.



Εικόνα 16. Καμπύλες εξάρτησης του φωτοσυνθετικού ρυθμού από την ένταση προσπίπτουσας ακτινοβολίας σε νεαρά φύλλα για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 9 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

Αποτελέσματα

διαθεσιμότητας βορίου από το θρεπτικό υπόστρωμα γεγονός το οποίο υποδηλώνει τη μη επίδραση της περιορισμένης έλλειψης βορίου στη λειτουργικότητα των κέντρων αντίδρασης του φωτοσυστήματος II. Ας σημειωθεί ότι οι τιμές οι οποίες καταγράφηκαν είναι ενδεικτικές υγιών φυτών.

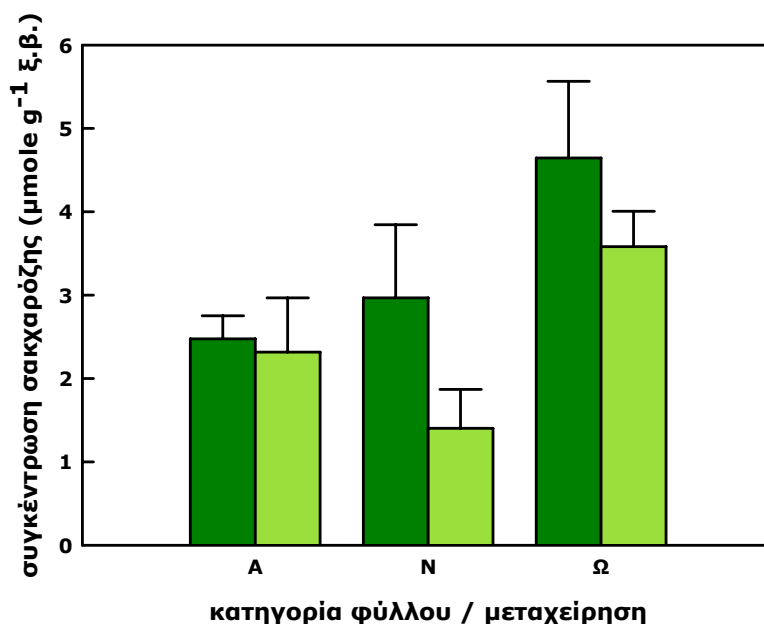
III.3. Φωτοσυνθετική Δραστηριότητα Φύλλων

Η έλλειψη βορίου προκάλεσε μικρή μείωση στην φωτοσυνθετική ταχύτητα, ιδιαίτερα σε υψηλές εντάσεις ακτινοβολίας (εικόνα 16). Το σημείο αντιστάθμισης του φωτός, η αποδοτικότητα της φωτοσυνθετικής συσκευής ανά προσπίπτον φωτόνιο και η περιοχή φωτοκορεσμού δεν έδειξαν να επηρεάζονται από την έλλειψη βορίου στο υπόστρωμα ανάπτυξης.

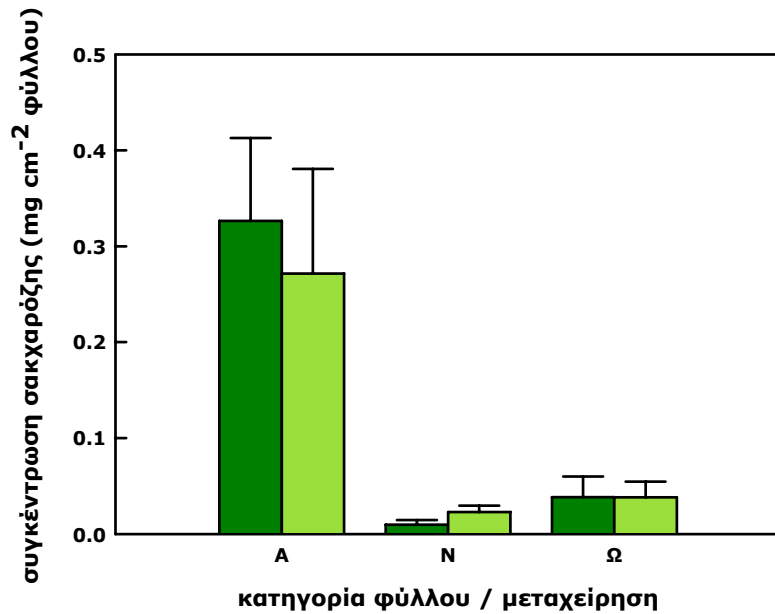
IV. Παράμετροι Παραγωγής και Διακίνησης Φωτοσυνθετικών Προϊόντων

IV.1. Συγκέντρωση Σακχαρόζης στους Φυτικούς Ιστούς και στο Εξίδρωμα του Χυμού του Ηθμού

Υπό συνθήκες επάρκειας βορίου, η συγκέντρωση σακχαρόζης στα κύτταρα των φύλλων παρουσιάστηκε αυξανόμενη από τα αναπτυσσόμενα προς τα ώριμα

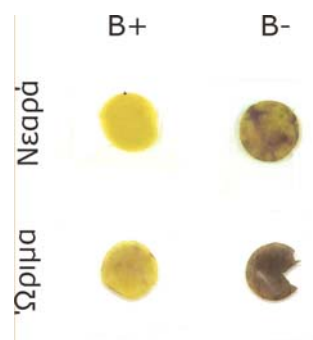


Εικόνα 17. Συγκέντρωση σακχαρόζης στα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών (Α: αναπτυσσόμενα, Ν: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο Β+, ανοικτό Β-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 4 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.



Εικόνα 18. Συγκέντρωση σακχαρόζης στο εξίδρωμα του χυμού του ηθμού των φύλλων των τριών ηλικιακών κατηγοριών (A: αναπτυσσόμενα, N: νεαρά πλήρως εκπτυγμένα, Ω: ώριμα) για κάθε μεταχείριση βορίου (σκούρο B+, ανοικτό B-). Οι τιμές είναι μέσοι όροι 5 επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου.

φύλλα (εικόνα 17). Το γεγονός αυτό ενδεχομένως σχετίζεται με το ισοζύγιο παραγωγής / κατανάλωσης οργανικού άνθρακα. Η έλλειψη βορίου είχε ως αποτέλεσμα την αισθητή μείωση της συγκέντρωσης σακχαρόζης στα νεαρά αλλά και στα ώριμα φύλλα. Παρά την παραπάνω μείωση, η συγκέντρωση σακχαρόζης στο χυμό του ηθμού των φύλλων δεν επηρεάστηκε από τη διαθεσιμότητα βορίου (εικόνα 18). Η παράμετρος αυτή εμφάνισε υψηλές τιμές για τα αναπτυσσόμενα φύλλα συγκριτικά με τις υπόλοιπες δύο ηλικιακές κατηγορίες.



Εικόνα 19. Αποτυπώματα περιεχόμενου αμύλου σε δίσκους φύλλων μετά από αποχρωματισμό σε ζέουσα αιθανόλη και χρώση με διάλυμα ιωδίου για ώριμα και νεαρά φύλλα των δύο μεταχειρίσεων βορίου.

IV.2. Εκτίμηση των Αποθεμάτων Αμύλου στους Φυτικούς Ιστούς

Σύμφωνα με τα αποτυπώματα αμύλου, τα νεαρά και ώριμα φύλλα της ελλειμματικής μεταχείρισης βορίου παρουσίασαν σαφώς υψηλότερα αποθέματα αμύλου στους ιστούς τους (εικόνα 19). Επιπλέον, σε κάθε μεταχείριση, η συσσώρευση αμύλου εμφανίστηκε υψηλότερη στα ώριμα συγκριτικά με τα νεαρά φύλλα.

Συζήτηση

I. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου σε Αναπτυξιακά και Μορφολογικά Χαρακτηριστικά των Φυτών

Σύμφωνα με την υπόθεση εργασίας, η συγκέντρωση της ελλειματικής σε βόριο μεταχείρισης επιλέχθηκε κατάλληλα ώστε να μην επιβληθεί κατάσταση τροφopenίας στα φυτά. Αυτό διότι κατά την μελέτη της φυσιολογίας των μηχανισμών εγκλιματισμού των φυτών είναι επιθυμητή η έλλειψη δευτερογενών επιδράσεων λόγω τροφopenίας. Ανάλογα πειράματα με τη διαμόρφωση ήπιων συνθηκών έλλειψης βορίου έχουν εφαρμοστεί για την καλλιέργεια φυτών ηλίανθου (Dannel *et al.*, 1998) και μπρόκολου (Marentes *et al.*, 1997). Σύμφωνα με τα παραπάνω, η συγκέντρωση βορίου της ελλειμματικής μεταχείρισης δεν είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ορατών συμπτωμάτων τροφopenίας του στοιχείου στα αντίστοιχα φυτά. Ομοίως, τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης μεταξύ των φυτών των δύο μεταχειρίσεων ήταν όμοια με επιμέρους εξαιρέσεις στη συσσώρευση ξηρής βιομάζας ανά φύλλο και τη φυλλική επιφάνεια των νεαρών φύλλων. Έχει παρατηρηθεί ότι, κάτω από συνθήκες μειωμένης διαθεσιμότητας βορίου, οι νεαροί ιστοί αδυνατούν να εκπτυχθούν πλήρως (Hu and Brown 1994; Blevins and Lukaszewski 1998). Ταυτόχρονα, η έκπτυξη των νεαρών φύλλων τα οποία μελετήθηκαν στη συγκεκριμένη περίπτωση εντοπίζεται στην περίοδο ταχείας αύξησης σε επίπεδο φυτού η οποία σχετίζεται με αυξημένες ανάγκες στο συγκεκριμένο στοιχείο (Blevins and Lukaszewski 1998).

II. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου σε Παραμέτρους της Φωτοσυνθετικής Λειτουργίας και της Παραγωγής και Διακίνησης Υδατανθράκων

Όπως αναμενόταν, η ήπια έλλειψη βορίου της μεταχείρισης B- δεν επηρέασε μια σειρά παραμέτρων οι οποίες σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική λειτουργία. Σύμφωνα με τους Dell and Huang (1997), οι επιδράσεις της έλλειψης βορίου στη φωτοσυνθετική λειτουργία είναι έμμεσες και είναι αποτέλεσμα δευτερογενών επιδράσεων σε καταστάσεις έντονης τροφopenίας των φυτών. Ακόμα και σε συνθήκες έντονης τροφopenίας, σε ορισμένες τουλάχιστον περιπτώσεις η φωτοσυνθετική λειτουργία παραμένει σχετικά ανεπηρέαστη (Liakopoulos *et al.*, 2005; Stavrianakou *et al.*, 2006) και η παραγωγή και διακίνηση φωτοσυνθετικών προϊόντων δεν διαταράσσεται (Liakopoulos *et al.*, 2005). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, η συγκέντρωση

Συζήτηση

σακχαρόζης στα νεαρά φύλλα μειώθηκε στα φυτά B- συγκριτικά με το μάρτυρα. Το αποτέλεσμα αυτό ενδεχομένως να σχετίζεται με την παρατηρούμενη αύξηση της συγκέντρωσης σακχαρόζης στον ηθμό, γεγονός το οποίο υποδηλώνει αύξηση του ρυθμού εξαγωγής σακχαρόζης. Επίσης ενδέχεται κάτω από συνθήκες έλλειψης βορίου να διεγείρεται η διαδικασία αποθήκευσης υδατανθράκων στα φύλλα - πηγές υπό μορφή αμύλου, γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται από τις σχετικές παρατηρήσεις.

III. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στη Συγκέντρωση του Στοιχείου στα Φυτά

Η καλλιέργεια των φυτών σε θρεπτικά διαλύματα διαφορετικής συγκέντρωσης σε βόριο είχε ως αποτέλεσμα τη διαμόρφωση διαφορετικών συγκεντρώσεων βορίου στον ανιόντα χυμό. Ωστόσο, ενώ η συγκέντρωση βορίου του θρεπτικού διαλύματος μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων διέφερε κατά περίπου 20 φορές, η αντίστοιχη συγκέντρωση στον ανιόντα χυμό διαμορφώθηκε σε συγκρίσιμα επίπεδα μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων. Όσον αφορά στη μεταχείριση B+, η συγκέντρωση του ανιόντος χυμού ήταν μικρότερη αυτής του εξωτερικού διαλύματος. Το φαινόμενο αυτό έχει αναφερθεί ως αποτέλεσμα μηχανισμών προστασίας έναντι των συγκεντρώσεων βορίου στο μέσο καλλιέργειας οι οποίες είναι υψηλότερες των δυνητικών αναγκών των φυτών (Hayes and Reid, 2004), και μπορεί να παρατηρηθεί ακόμα και αν η συγκέντρωση βορίου του εξωτερικού μέσου δεν βρίσκεται σε υπερβολικά επίπεδα (Stavrianakou *et al.*, 2006a). Η μείωση των συγκεντρώσεων βορίου έναντι του εξωτερικού μέσου οφείλονται είτε στην παρουσία πρωτεϊνικών φορέων οι οποίοι λειτουργούν υπέρ της ενεργής εξόδου βορικού οξέος από τα κύτταρα της ρίζας (Hayes and Reid, 2004), είτε σε μηχανισμούς αποκλεισμού ή απορρόφησης βορίου από ιστούς παρακείμενους στη διαδρομή από τα κύτταρα του φλοιού της ρίζας έως και τα αγγεία του ξύλου (Hu and Brown, 1994; Dannel *et al.*, 1997; Dannel *et al.*, 1998; Shelp *et al.*, 1998 Dannel *et al.*, 2002). Από την άλλη πλευρά, η συγκέντρωση βορίου στον ανιόντα χυμό των B-φυτών μετρήθηκε περίπου τέσσερις φορές υψηλότερη αυτής του εξωτερικού διαλύματος. Το φαινόμενο της ανάπτυξης υψηλών συγκεντρώσεων βορικού οξέος στα σημεία πρωτογενούς απορρόφησης ή φόρτωσης των θρεπτικών στοιχείων στα αγγεία του ξύλου έχει αναφερθεί σε πολυάριθμα φυτικά είδη (Dannel *et al.*, 1997; Pfeffer *et al.*, 2001; Dannel *et al.*, 2002; Stavrianakou *et al.*, 2006a). Οφείλεται πιθανότατα στην ύπαρξη πρωτεϊνικών φορέων στα σημεία απορρόφησης ή φόρτωσης των αγγείων του ξύλου (Takano *et al.*, 2002) οι οποίοι λειτουργούν με δαπάνη μεταβολικής ενέργειας, αναπτύσσοντας

υψηλές συγκεντρώσεις του στοιχείου αντίθετα με τη διαβάθμιση μεταξύ εσωτερικού περιβάλλοντος και εξωτερικού μέσου (Dannel *et al.*, 2002). Η ύπαρξη τέτοιων μηχανισμών εγκλιματισμού θεωρείται ότι συμβάλλει σημαντικά στην επιβίωση των φυτών σε συνθήκες μειωμένης διαθεσιμότητας βορίου (Noguchi *et al.*, 2000; Takano *et al.*, 2001).

Δεδομένης της απορρόφησης βορίου από το ριζικό σύστημα των φυτών B- σε επίπεδα συγκρίσιμα με αυτά των φυτών B+, οι συγκεντρώσεις οι οποίες τελικά διαμορφώθηκαν στα υπέργεια όργανα δεν αναμένεται να διαφέρουν σημαντικά. Πράγματι, η συγκέντρωση βορίου στα φύλλα δεν διαμορφώθηκε σε τροφοπενιακά επίπεδα καθώς σε κάθε περίπτωση οι τιμές των φύλλων των φυτών B- ήταν πάνω από το 50% αυτών των αντίστοιχων της μεταχείρισης B+. Οι μεγαλύτερες διαφορές στη συγκέντρωση βορίου μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων παρουσιάστηκαν στα ώριμα φύλλα. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως να σχετίζεται με τη διαρκή συσσώρευση βορίου στα φύλλα αυτά μέσω του διαπνευστικού ρεύματος, φαινόμενο το οποίο αναμένεται να μεγιστοποιεί τις διαφορές όσο αυξάνεται η ηλικία του οργάνου (Brown and Shelp, 1997). Το ενδεχόμενο αυτό ενισχύεται περαιτέρω από το πρότυπο κατανομής του στοιχείου στα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών των φυτών B+, τόσο κατά την πρώτη όσο και κατά την τελική δειγματοληψία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι συγκεντρώσεις ολικού βορίου βαίνουν αυξανόμενες με το ηλικιακό στάδιο, γεγονός το οποίο ερμηνεύεται τόσο ως αποτέλεσμα της συσσώρευσης του στοιχείου μέσω πρωτογενούς διανομής του στις απολήξεις του διαπνευστικού ρεύματος όσο και σε αδυναμία επαναδιανομής του μέσω του ηθμού (Brown and Shelp, 1997). Εξετάζοντας την κλιμάκωση των συγκεντρώσεων του διαλυτού βορίου στα φύλλα των τριών ηλικιακών κατηγοριών, γίνεται φανερό ότι η συσσώρευση του στοιχείου στον κυτταρικό χυμό των ώριμων φύλλων της μεταχείρισης B+ είναι αποτέλεσμα της αδυναμίας επαναδιανομής προς άλλα μέρη του φυτού. Εάν υπήρχε εκτεταμένη δυνατότητα επαναδιανομής του στοιχείου, τα αποθέματα των ώριμων οργάνων θα μπορούσαν να διατηρούνται σε υψηλά επίπεδα μόνο εάν το βόριο είχε ακινητοποιηθεί στο αδιάλυτο κλάσμα, συμμετέχοντας στα πηκτινικά πολυμερή του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος. Ωστόσο, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, το απόλυτο ποσό του βορίου το οποίο κατανέμεται στο αδιάλυτο κλάσμα δεν παρουσίασε διαφορές τόσο μεταξύ των ηλικιακών κατηγοριών όσο και μεταξύ των μεταχειρίσεων. Συνεπώς, οι διαφορές στη συγκέντρωση βορίου μεταξύ των ηλικιακών κατηγοριών αντιπροσωπεύονται από το διαλυτό κλάσμα του στοιχείου, γεγονός το οποίο δεν συνάγει με το μοντέλο των φυτών που επαναδιανέμουν σημαντικά ποσά του στοιχείου (Brown and Shelp, 1997). Από

Συζήτηση

το πρότυπο κατανομής του στοιχείου ως αδιάλυτο κλάσμα, συνάγεται ότι οι απαιτήσεις των κυτταρικών τοιχωμάτων σε βόριο έχουν καλυφθεί σε όλες τις περιπτώσεις και πιθανότατα μέσω της τροφοδοσίας του στοιχείου μέσω του διαπνευστικού ρεύματος. Είναι επίσης πιθανό ότι οι ανάγκες των κυτταρικών τοιχωμάτων σε βόριο ικανοποιούνται σε πολύ πρώιμο αναπτυξιακό στάδιο καθώς δεν σημειώθηκαν διαφορές στη συγκέντρωση βορίου των κυτταρικών τοιχωμάτων μεταξύ φύλλων των διαφόρων ηλικιακών κατηγοριών. Λόγω του περιορισμού των διαλυτών αποθεμάτων του στοιχείου στα κύτταρα των φύλλων B-, το ποσοστό του βορίου το οποίο εντοπίζεται στα κυτταρικά τοιχώματα αυξήθηκε αξιοσημείωτα, ένα αποτέλεσμα το οποίο είναι επαρκώς τεκμηριωμένο (Hu and Brown, 1994). Η επάρκεια του βορίου στο αδιάλυτο κλάσμα ερμηνεύει με τη σειρά του την απουσία συμπτωμάτων και την ανεμπόδιση ανάπτυξη των φυτών της μεταχείρισης B-. Το συμπέρασμα αυτό είναι σύμφωνο με την υπόθεση των Brown and Hu (1997) κατά την οποία το βόριο παίζει κυρίως δομικό ρόλο κατά τη διαμόρφωση των κυτταρικών δομών των αναπτυσσόμενων ιστών.

IV. Ενδείξεις Υπέρ της Επαναδιανομής Βορίου στο Φυτό *Solanum melongena*

Παρότι όπως αναφέρθηκε, ορισμένα δεδομένα συνηγορούν υπέρ της αδυναμίας τις ενδείξεις κατά της δυνατότητας επαναδιανομής βορίου στη μελιτζάνα, ορισμένες από τις φυσιολογικές παραμέτρους οι οποίες εξετάστηκαν παρέχουν ενδείξεις υπέρ της δυνατότητας περιορισμένης επαναδιανομής του βορίου στο φυτό αυτό. Κατά πρώτον, η συγκέντρωση βορίου στα αναπτυσσόμενα φύλλα, τόσο του ολικού όσο και των ποσοστών του τα οποία κατανέμονται σε διαλυτό και αδιάλυτο κλάσμα, εμφανίστηκαν συγκρίσιμες μεταξύ των μεταχειρίσεων και σίγουρα όχι υψηλότερες υπέρ της μεταχείρισης B+. Ανάλογα χαρακτηριστικά παρουσιάζονται μόνο σε φυτά με σημαντική ικανότητα επαναδιανομής του στοιχείου (Brown and Shelp, 1997; Liakopoulos *et al.*, 2005). Ωστόσο, εάν η μεταχείριση B- ήταν μηδενική σε περιεκτικότητα βορίου, θα μπορούσε να εξαχθεί ένα πιο σαφές αποτέλεσμα προς αυτή την κατεύθυνση διότι υπό τις συνθήκες αυτές το βόριο των αναπτυσσόμενων φύλλων προέρχεται αποκλειστικά και μόνο από επαναδιανομή (Liakopoulos *et al.*, 2005). Η ισχυρότερη, ωστόσο, ένδειξη υπέρ της επαναδιανομής προέρχεται από τις συγκεντρώσεις βορίου οι οποίες μετρήθηκαν στο εξίδρωμα του χυμού του ηθμού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι συγκεντρώσεις του βορίου στον ηθμό είναι ικανές να τροφοδοτήσουν τα αναπτυσσόμενα όργανα του φυτού εάν συγκριθούν με αυτές που μετρώνται στην ελιά, φυτό με σημαντική ικανότητα

επαναδιανομής του στοιχείου (Perica *et al.*, 2001; Liakopoulos *et al.*, 2005). Σύμφωνα με τα έως τώρα γνωστά, βασική προϋπόθεση για την επαναδιανομή βορίου μέσω του ηθμού αποτελεί η διακίνηση φωτοσυνθετικών προϊόντων με τη μορφή σακχαροαλκοολών. Επιπρόσθετα, στα είδη αυτά η φόρτωση των υδατανθράκων στα στοιχεία του ηθμού είναι συνήθως συμπλαστική (Flora and Madore, 1996). Στην παρούσα εργασία δεν κατέστη δυνατό να διευκρινιστεί η παρουσία ή απουσία σακχαροαλκοολών στο εξίδρωμα του χυμού του ηθμού αλλά ούτε και στο μεσόφυλλο. Δεδομένης επίσης της έλλειψης βιβλιογραφικών δεδομένων σχετικά με την ταυτότητα των διακινούμενων υδατανθράκων στο φυτό της μελιτζάνας, δεν είναι επί του παρόντος γνωστό εάν διακινούνται ή όχι σακχαροαλκόολες στο φυτό αυτό. Τα φυτικά είδη τα οποία διακινούν φωτοσυνθετικά προϊόντα και με τη μορφή σακχαροαλκοολών ανήκουν στην πλειονότητά τους στις οικογένειες Rosaceae, Oleaceae, Pinaceae και Apiaceae (Zimmermann and Ziegler, 1975; Brown and Shelp, 1997). Σύμφωνα με τους Roessner-Tunalı *et al.* (2003), στο φυτό της τομάτας ανιχνεύονται μικρές ποσότητες σορβιτόλης, ενώ οι Ohta *et al.* (2005) αναφέρουν την ύπαρξη δεϋδρογενάσης της σορβιτόλης στο ίδιο φυτό. Ωστόσο, σύμφωνα με τις υπάρχουσες αναφορές σχετικά με τη διακίνηση υδατανθράκων σε φυτά της οικογένειας Solanaceae, στο φυτό της πατάτας η φόρτωση των φωτοσυνθετικών προϊόντων γίνεται αποπλαστικά (Zuther *et al.*, 2004). Επί του παρόντος δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα ώστε να εξεταστεί εάν η διακίνηση υδατανθράκων στο φυτό της μελιτζάνας εξασφαλίζει ή όχι τη δυνατότητα επαναδιανομής βορίου μέσω του ηθμού. Πέραν των παραπάνω, η διανομή βορίου μέσω του ηθμού στο φυτό αυτό θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα ενός διαφορετικού μηχανισμού φόρτωσης βορίου στον ηθμό (Stangoulis *et al.*, 2001) ή αποτέλεσμα απευθείας μεταφοράς του στοιχείου από τα αγγεία του ξύλου προς τα στοιχεία του ηθμού (Shelp *et al.*, 1998).

Παράρτημα Α: Βιβλιογραφία

- Aerts R. and Chapin III F.S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: A Re-evaluation of processes and patterns. *In: Advances in Ecological Research*, Vol 30, San Diego: Academic Press.
- Arnon D.I. and Stout P.R. 1939. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology*, 14: 371-375.
- Banuelos G.S., Cardon G., Pflaum T. and Akohoue S. 1992. Comparison of dry ashing and wet acid digestion on the determination of boron in plant tissue. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 23: 2383-2397.
- Barr R. and Crane F.L. 1991. Boron stimulates NADH oxidase activity of cultured carrot cells. *In: Current topics in Plant Biochemistry and Physiology*, Vol. 10, Randall D.D., Blevins D.G. and Miles C.D. (eds), Columbia: Univ. Mo. Press.
- Bellaloui N., Brown P.H. and Dandekar A.M. 1999. Manipulation of in vivo sorbitol production alters boron uptake and transport in tobacco. *Plant Physiology*, 119: 735-741.
- Blevins D.G. and Lukaszewski K.M. 1994. Proposed physiological functions in plants pertinent to animal and human metabolism. *Environmental Health Perspectives*, 102: 31-33.
- Blevins D.G. and Lukaszewski K.M. 1998. Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 481-500.
- Brown P.H. and Hu H. 1994. Boron uptake by sunflower, squash and cultured tobacco cells. *Physiologia Plantarum*, 91: 435-441.
- 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 Hu H. 1997. Does boron play only a structural role in the growing tissues of higher plants? *Plant and Soil*, 196: 211-215.
- Brown P.H. and Shelp B.J. 1997. Boron mobility in plants. *Plant and Soil*, 193: 85-101.
- Brown P.H., Bellaloui N., Hu H. and Dandekar A. 1999a. Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem boron transport and increases tolerance of tobacco to boron deficiency. *Plant Physiology*, 119: 17-20.
- Brown P.H., Bellaloui N., Wimmer M.A., Bassil E.S., Ruiz J., Hu H., Pfeffer H., Dannel F. and Römheld, V. 2002. Boron in plant biology. *Plant Biology*, 4: 205-223.
- Brown P.H., Hu H. and Roberts W.G. 1999b. Occurrence of sugar alcohols determines boron toxicity symptoms of ornamental species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124: 347-352.
- Cakmak I. and Römheld V. 1997. Boron deficiency – induced impairments of cellular functions in plants. *Plant and Soil*, 193: 71-83.
- Cakmak I., Hengeler C. and Marschner H. 1994. Changes in phloem export of sucrose in leaves in response to phosphorus, potassium and magnesium deficiency in bean plants. *Journal of Experimental Botany*, 45: 1251-1257.

Παράρτημα Α: Βιβλιογραφία

- 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: 11–18.
- Chapin III F.S. 1991. Effects of multiple environmental stresses on nutrient availability and use. *In: Responses of Plants to Multiple Stresses*, Mooney H.A., Winner W.E. and Pell E.J. (eds). San Diego: Academic Press.
- Chong C. and Taper C.D. 1971. Daily variation of sorbitol and related carbohydrates in *Malus* leaves. *Canadian Journal of Botany*, 49: 173-177.
- Claussen W. 1986. Influence of fruit load and environmental factors on nitrate reductase activity and on concentration of nitrate and carbohydrates in leaves of eggplant (*Solanum melongena*). *Physiologia Plantarum*, 67: 73-80.
- Cseh E. and Fodor F. 1997. Role of boron in the plasmalemma turbo reductase activity. *In: Boron in Soils and Plants*, Bell R.W. and Rerkasem B. (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publisher.
- Dannel F., Pfeffer H. and Römheld V. 1997. Effect of pH and boron concentration in the nutrient solution on translocation of boron in the xylem of sunflower. *In: Boron in Soils and Plants*, Bell R.W. and Rerkasem B. (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Dannel F., Pfeffer H. and Römheld V. 1998. Compartmentation of boron in roots and leaves of sunflower as affected by boron supply. *Journal of Plant Physiology*, 153: 615–622
- Dannel F., Pfeffer H. and Römheld V. 1999. Distribution within the plant or compartmentation does not contribute substantially to the detoxification of excess boron in sunflower. *Australian Journal of Plant Physiology*, 26: 95–99.
- Dannel F., Pfeffer H. and Römheld V. 2000. Characterization of root boron pools, boron uptake and boron translocation in sunflower using the stable isotopes ¹⁰B and ¹¹B. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27: 397–405.
- Dannel F., Pfeffer H. and Römheld V. 2002. Update on boron in higher plants – Uptake, primary translocation and compartmentation. *Plant Biology*, 4: 193–204.
- Delgado A., Benlloch M. and Fernandez–Escobar R. 1994. Mobilization of boron in olive trees during flowering and fruit development. *HortScience*, 29: 616–618.
- Dell B. and Huang L. 1997. Physiological response of plants to low boron. *Plant and Soil*, 193: 103–120.
- Dembitsky V.M., Smoum R., Al–Quntar A.A., Abu Ali H., Pergament I. and Srebnik M. 2002. Natural occurrence of boron – containing compounds in plants, algae and microorganisms. *Plant Science*, 163: 931–942.
- Dillon V.M., Overton J., Grayer RJ and Harborne J.B. 1997. Differences in phytoalexin response among rice cultivars of different resistance to blast. *Phytochemistry*, 44: 599–603.
- Dugger W.M. 1983. Boron in plant metabolism. *In: Encyclopedia of Plant Physiology*, Läuchli A. and Bielecki R.L. (eds), New Series, Volume 15A. Inorganic Plant Nutrition. Berlin: Springer – Verlag.

- Duncan R.R. 1994. Genetic manipulation. *In: Plant- Environment Interactions*, Wilkinson R.E. (ed), New York: Marcel Dekker.
- El-Shintinawy F. 1999. Structural and functional damage caused by boron deficiency in sunflower leaves. *Photosynthetica*, 36: 565-573.
- Ferrol N. and Donaire J.P. 1992. Effect of boron on plasma membrane proton extrusion and redox activity in sunflower cells. *Plant Science*, 86: 41-47.
- Ferrol N., Belver A., Roldan M., Rodriquez-Rosales M.P. and Donaire J.P. 1993. Effects of boron on proton transport and membrane properties of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cell microsomes. *Plant Physiology*, 103: 763-769.
- Findekle P., Wimmer M. and Goldbach H.E. 1997. Early effects of boron deficiency on physical cell wall parameters, hydraulic conductivity and plasmalemma - bound reductase activities in young *C. pepo* and *V. faba* roots. *In: Boron in Soils and Plants*, Bell R.W. and Rerkasem B. (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- 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 rhamno-galacturonan II. *Plant Physiology*, 121: 829-838.
- Flora L.L. and Madore M.A. 1993. Stachyose and mannitol transport in olive (*Olea europaea* L.). *Planta*, 189: 484-490.
- Flora L.L. and Madore M.A. 1996. Significance of minor-vein anatomy to carbohydrate transport. *Planta*, 198: 171-178.
- Gamalei 1989 Y.N. Structure and function of leaf minor veins in trees and herbs. A taxonomic review. *Trees* 3: 96-110.
- Gamalei Y.V. 1991. Phloem loading and its development related to plant evolution from trees to herbs. *Trees*, 5: 50-64.
- Goldbach H.E, Blaser-Grill J, Lindemann N., Porzelt M., Hormann C., Lupp B. and Gessner B. 1991. Influence of boron on net proton release and its relation to other metabolic process. *In: Current topics in Plant Biochemistry and Physiology*, Vol. 10, Randall D.D., Blevis D.G., and Miles C.D. (eds), Columbia: Univ. Mo. Press.
- Goldbach H.E. 1984. Influence of boron nutrition on boron nutrition on net uptake and efflux of ³²P and ¹⁴C-glucose in *Helianthus annuus* roots and cell cultures of *Daucus carota*. *Journal of Plant Physiology*, 118: 431-438.
- Goldberg S. 1993. Chemistry and mineralogy of boron in soils. *In: Boron and its role in crop production*, Gupta U.C. (ed), Boca Raton: CRC Press.
- Grusak M.A., Beebe D.U. and Turgeon R.1996. Phloem loading. *In: Photoassimilate distribution in plants and crops. Source - sink relationships*, p.220-227. Zamski E. and Schaffer A.A. (eds) Marcel Dekker, New York, New York, USA.
- Gupta U.C. 1993. Introduction. *In: Boron and its role in crop production*, Gupta U.C. (ed), Boca Raton: CRC Press,
- Hamilton J.G., Zangerl A.R., DeLucia E.H. and Berenbaum M.R. 2001. The carbon - nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecology Letters*, 4: 86-95 126.

Παράρτημα Α: Βιβλιογραφία

- Hansen P. 1970. ¹⁴C-studiew on apple trees. V. Translocation of labelled compounds from leaves to fruit and their conversion within the fruit. *Physiologia Plantarum*, 23: 564-573.
- Hayes J.E., Reid R.J. 2004. Boron tolerance in barley is mediated by efflux of boron from the roots. *Plant Physiology*, 136: 3376-3382.
- Hewitt E.J. 1952. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops, East Malling, Maidstone, Ken.
- Hirsch A.M. and Torrey J.G. 1980. Ultrastructural changes in sunflower root cells in relation to boron deficiency and added auxin. *Canadian Journal of Botany*, 58: 856-866.
- Hopkins, W.G. (1999). Introduction to Plant Physiology, 2nd Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Hu H. and Brown P.H. 1994. Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin. Evidence for a structural role of boron in the cell wall. *Plant Physiology*, 105: 681-689.
- Hu H and Brown PH. 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil*, 193: 49-58.
- 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: 227-232.
- Hu H., Penn S.G., Lebrilla C.B. and Brown P.H. 1997. Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. *Plant Physiology*, 113: 649-655.
- Huang L., Ye Z. and Bell R.W. 1996. The importance of sampling immature leaves for the diagnosis of boron deficiency in oilseed rape (*Brassica napus* cv. Eureka). *Plant and Soil*, 183: 187-198.
- Hu H., Penn S.G., Lebrilla C.B. and Brown P.H. 1997. Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. *Plant Physiology*, 113: 649-655.
- Kastori R., Plesnicar M., Pankovic D. and Sakac Z. 1995. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence and soluble carbohydrates in sunflower leaves as affected by boron deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 18: 1751-1763.
- King R.W. and Zeevaart J.A.D. 1974. Enhancement of phloem exudation from cut petioles by chelating agents. *Plant Physiology*, 53: 96-103.
- Kobayashi M., Kawaguchi S., Takasaki M., Miyagawa I., Takabe K. and Matoh T. 1997. A borate - rhamnogalacturonan II complex in germinating pollen tubes of lily (*Lilium longiflorum*). In: Plant Nutrition - For sustainable food production and environment, Ando T. et al. (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Lalondale S., Boles E., Hellmann H., Barker L., Patrick J. and Frommer W. 1999. The dual function of sugar carriers: transport and sugar sensing. *The Plant Cell*, 11: 707-726.
- Lambers H., Chappin III F.S. and Pons T.L. 1998. Plant physiological ecology. New York: Springer - Verlag.
- Larcher W. 1995. Physiological plant ecology. New York: Springer - Verlag.

- Lawrence K., Bhalla P. and Misra. P.C. 1995. Changes in (NADP)H – dependent redox activities in plasmalemma – enriched vesicles isolated from boron – and zinc – deficient chick pea roots. *Journal of Plant Physiology*, 146: 652–657.
- Le Bot J., Pilbeam D.J. and Kirkby E.A. 1994. Plant mineral nutrition in crop production. *In: Mechanisms of Plant Growth and Improved Productivity: Modern Approaches*, Basra A.S. (ed), New York: Marcel Dekker.
- Lehto T., Kallio E. and Aphalo P.J. 2000. Boron mobility in two coniferous species. *Annals of Botany*, 86: 547–550.
- Liakopoulos G., Stavrianiakou S., Filippou M., Fasseas C., Tsadilas C., Drossopoulos I., Karabourniotis C. 2005. Boron remobilization at low boron supply in olive (*Olea europaea*) in relation to leaf and phloem mannitol concentrations. *Tree Physiology*, 25: 157-165.
- Logan B.A., Demming–Adams B., Rosenstiel T.N. and Adams III W.W. 1999. Effect of nitrogen limitation on foliar antioxidants in relation to other metabolic characteristics. *Planta*, 209: 213–220.
- Longnecker N. 1994. Nutrient deficiencies and vegetative growth. *In: Mechanisms of Plant Growth and Improved Productivity: Modern Approaches*, Basra A.S. (ed), New York: Marcel Dekker.
- Loomis W.D. and Durst R.W. 1992. Chemistry and biology of boron. *Biofactors*, 3: 229–239.
- Lovatt C.J. 1985. Evolution of xylem resulted in a requirement for boron in the apical meristems of vascular plants. *New Phytologist*, 99:509-522.
- Marentes E., Shelp B.J., Vanderpool R.A. and Spiers G.A. 1997. Retranslocation of boron in broccoli and lupin during early reproductive growth. *Physiologia Plantarum*, 100: 389–399.
- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants, London: Academic Press.
- Martini F. and Thellier M. 1993. Boron distribution in parenchyma cells of clover leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 31: 777–786.
- Matoh T., Ishigaki K., Ohno K. and Azuma J. 1993. Isolation and characterization of a boron – polysaccharide complex from radish roots. *Plant Cell Physiology*, 34: 639–642.
- Matoh T., Ishigaki K–I., Mizutani M., Matsunaga W. and Takabe K. 1992. Boron nutrition of cultured tobacco BY–2 cells. I. Requirement for an intracellular localization of boron and selection of cells that tolerate low levels of boron. *Plant Cell Physiology*, 33: 1135–1141.
- Matoh T., Kawaguchi S. and Kobayashi M. 1996. Ubiquity of a borate – rhamnogalacturonan II complex in the cell walls of higher plants. *Plant Cell Physiology*, 37: 636–640.
- Matoh T., Takasaki M., Kobayashi M. and Takabe K. 2000. Boron nutrition of cultured tobacco BY–2 cells. III. Characterization of the boron – rhamnogalacturonan II complex in cells acclimated to low levels of boron. *Plant Cell Physiology*, 41: 363–366.

Παράρτημα Α: Βιβλιογραφία

- Matoh T. 1997. Boron in plant cell walls. *Plant and Soil*, 193: 59–70.
- Moore H.M. and Hirsch A.M. 1983. Effects of boron on mitosis and incorporation of tritiated thymidine into nuclei of sunflower root tips. *American Journal of Botany*, 70: 165–172.
- Münch E., 1930 Die Stoffbewegungen in der Pflanze. Gustav Fischer, Jena, Germany.
- Noguchi K., Dannel F., Pfeffer H., Romheld V., Hayashi H. and Fujiwara T. 2000. Defect in root-shoot translocation of boron in *Arabidopsis thaliana* mutant bor 1-1. *Journal of Plant Physiology*, 156: 751-755.
- O'Neill MA, Eberhard S, Albersheim P and Darvill AG. 2001. Requirement of borate cross – linking of cell wall rhamnogalacturonan II for *Arabidopsis* growth. *Science*, 294: 846–849.
- Offler E.C., Thorpe R.M. and Patrick W.J. 2000. Assimilate transport and partitioning. Intergration of structure, physiology and molecular biology. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27: 473-47.
- Ohta K., Kanahama K., Kanayama Y. 2005. Enhanced expression of a novel dioxygenase during the early developmental stage of tomato fruit. *Journal of Plant Physiology*, 162 : 697-702.
- Pariot C., Martini F., Thellier M. and Ripoll C. 1994. Quantitative imaging of the distribution of boron in the hypocotyl sections of flax seedlings, using neutron capture radiography. *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, 12: 61–85.
- Pearson J.N. and Rengel Z. 1997. Mechanisms of plant resistance to nutrient deficiency stress. *In: Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants*, Basra A.S. and Basra R.K. (eds), Amsterdam: Harwood Academic Publishers.
- Penn S.G., Hu H., Brown P.H. and Lebrilla C.B. 1997. Direct analysis of sugar alcohol borate complexes in plant extracts, by matrix assisted laser desorption fourier transform mass spectrometry (MALDI-FTMS). *Analytical Chemistry*, 69: 2471–2477.
- Perica S., Bellaloui N., Greve C., Hu H. and Brown P.H. 2001. Boron transport and soluble carbohydrate concentrations in olive. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126: 291-296.
- Pfeffer H., Dannel F. and Römheld V. 1997. Compartmentation of boron in roots and its translocation to the shoot of sunflower as affected by short term changes in boron supply. *In: Boron in Soils and Plants*, Bell R.W. and Rerkasem B. (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Pfeffer H., Dannel F. and Römheld V. 1998. Are there connections between phenol metabolism, ascorbate metabolism and membrane integrity in leaves of boron – deficient sunflower plants? *Physiologia Plantarum*, 104: 479–485.
- Pfeffer H., Dannel F. and Römheld V. 1999. Are there two mechanisms for boron uptake in sunflower? *Journal of Plant Physiology*, 155: 34–40.
- Pfeffer H., Dannel F. and Römheld V. 2001. Boron compartmentation in roots of sunflower plants of different boron status: A study using the stable isotopes ^{10}B and ^{11}B adopting two independent approaches. *Physiologia Plantarum*, 113: 346–351.

- Pieters A.J., Paul M.J. and Lawlor D.W. 2001. Low sink demand limits photosynthesis under Pi deficiency. *Journal of Experimental Botany*, 52: 1083–1091.
- Pilbeam D.J. and Kirkby E.A. 1983. The physiological role of boron in plants. *Journal of Plant Nutrition*, 6: 563–582.
- Pollard A.S, Parr A.J. and Loughman B.C. 1977. Boron in relation to membrane function in higher plants. *Journal of Experimental Botany*, 28: 831–841.
- Polle A., Chakrabarti K., Chakrabarti S., Seifert F., Schramel P. and Rennenberg H. 1992. Antioxidants and manganese deficiency in needles of norway spruce (*Picea abies* L.) trees. *Plant Physiology*, 99: 1084–1089.
- Power P.P., Woods W.G. 1997. The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant and soil*, 193 (1-2): 1-13.
- Raven J.A. 1980. Short – and long – distance transport of boric acid in plants. *New Phytologist*, 84: 231–249.
- Roberts A.G., Cruz S.S., Roberts I.M., Prior D.A.M., Turgeon R. and Oparka K.J. 1997. Phloem Unloading in Sink Leaves of *Nicotiana benthamiana*: Comparison of a Fluorescent Solute with a Fluorescent Virus. *The Plant Cell*, 9: 1381-1396.
- Robertson G.A. and Longman B.C. 1974. Reversible effects of boron on the absorption and incorporation of phosphate in *Vicia faba* L. *New Phytologist*, 73: 291–298.
- Roessner-Tunali U., Hegemann B., Lytovchenko A., Carrari F., Bruedigam C., Granot D., Fernie A.R. 2003. Metabolic profiling of transgenic tomato plants overexpressing hexokinase reveals that the influence of hexose phosphorylation diminishes during fruit development. *Plant Physiology*, 133 : 84-99.
- Roitsch T. 1999. Source – sink regulation by sugar and stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 2: 198–20.
- Rolland F., Moore B. and Sheen J. 2002. Sugar Sensing and Signaling in Plants. *The Plant Cell*, S185–S205.
- Sharma P.N. and Ramchandra T. 1990. Water relations and photosynthesis in mustard plants subjected to boron deficiency. *Indian J. Plant Physiology*, 33: 150-154.
- Shelp B.J. 1993. Physiology and biochemistry of boron in plants. *In: Boron and its role in crop production*. Gupta E. C. (ed) pp. 53-85 CRC press. Boca Raton. FL, USA.
- Shelp B.J., Kithika A.M., Vanderpool R.A., Van Cauwenberghe O.R. and Spiers G.A. 1998. Xylem – to – phloem transfer of boron in broccoli and lupin during early reproductive growth. *Physiologia Plantarum*, 104: 533–540.
- Shepherd C.J. 1951. The enzymes of carbohydrate metabolism in *Neurospora*. *Biochemical Journal*, 48: 483–486.
- Shkol'nik M.Y. 1984. Trace elements in plants, New York: Elsevier.
- Shuman L.M. 1994. Mineral nutrition. *In: Plant- Environment Interactions*, Wilkinson R.E. (ed), New York: Marcel Dekker.
- Smirnoff N. 1995. Metabolic flexibility in relation to the environment. *In: Environment and Plant Metabolism*, Smirnoff N. (ed), Oxford Bios.
- Stangoulis J.C.R., Reid RJ, Brown P.H. and Graham R.D. 2001. Kinetic analysis of boron transport in *Chara*. *Planta*, 213: 142–146.

Παράρτημα Α: Βιβλιογραφία

- Stavrianiakou S., Liakopoulos G., and Karabourniotis G. 2006b. Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). *Environmental and experimental botany*, In press.
- Stavrianiakou S., Liakopoulos G., Karvonis E., Resta E. and Karabourniotis G. 2006a. Low boron acclimation induces uptake of boric acid against a concentration gradient in root cells of *Olea europaea*. *Functional Plant Biology*, 33: 189-193.
- Taiz L. and Zeiger E. 1991. *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Taiz L. and Zeiger E. 1998. *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Teasdale R.D. and Richards DK. 1990. Boron deficiency in cultured pine cells. *Plant Physiology*, 93: 1071-1077.
- Takano J., Noguchi K., Yasumori M., Kobayashi M., Gajdos Z., Miwa K., Hayashi H., Yoneyama T. and Fujiwara T. 2002. Arabidopsis boron transporter for xylem loading. *Nature*, 420: 337-340.
- Takano J., Yamagami M., Noguchi K., Hayashi H. and Fujiwara T. 2001. Preferential translocation of boron to young leaves in Arabidopsis thaliana regulated by the BOR1 gene. *Soil Science and Plant Nutrition*, 47: 345-357.
- Turgeon R. 1989. The sink-source transition in leaves. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40: 119-138.
- Turgeon R. 1996. Phloem loading and plasmodesmata. *Trends in Plant Science*, 1: 418-423.
- Turgeon R. 2000. Plasmodesmata and solute exchange into the phloem. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27: 521-529.
- Thellier M., Duval Y. and Demarty M. 1979. Borate exchange of Lemna minor as studied with the help of the enriched stable isotopes of an (n, α) nuclear reaction. *Plant Physiology*, 63: 283-288.
- van Bel A.J.E. 1993. Strategies of phloem loading. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44: 253-281.
- Zamski E. and Schnaffer A.A. 1996. Photoassimilates, Distribution Plants and Crops. New York: Decker.
- Zimmerman M.H. and Ziegler H. 1975 List of sugars and sugar alcohols in sieve - tube exudates. In: Encyclopedia of plant physiology, N.S., vol. 1: Transport in plants, pp. 482-503, Zimmerman M.H. and Milburn J.A. (eds) Springer - Verlag, Heidelberg.
- Zuther E., Kwart M., Willmitzer L., Heyer A.G. Expression of a yeast-derived invertase in companion cells results in long-distance transport of a trisaccharide in an aroplastic loader and influences sucrose transport. *Planta*, 218 : 759-766.
- Γαβαλάς Α.Ν. 2003. Φωτοσύνθεση ΙΙ: Βιοχημικές αντιδράσεις. Από: Φυσιολογία φυτών από το μόριο στο περιβάλλον. Ρουμπελάκη-Αγγελάκη Α. Κ.. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Γκάνη - Σπυροπούλου Κ. 2003α. Πρόσληψη και μεταφορά ιόντων. Από: Φυσιολογία φυτών από το μόριο στο περιβάλλον. Ρουμπελάκη-Αγγελάκη Α. Κ. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.

Παράρτημα Α: Βιβλιογραφία

- Γκανή - Σπυροπούλου Κ. 2003β. Μεταφορά βιομορίων. Από: Φυσιολογία φυτών από το μόριο στο περιβάλλον. Ρουμπελάκη-Αγγελάκη Α. Κ. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Δροσόπουλος Ι. 1992. Στοιχεία ανόργανης διατροφής των φυτών. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.
- Δροσόπουλος Ι. 1998. Φυσιολογία φυτών. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.
- Μανέτας Ι. 2005. Φυσιολογία φυτών. Εκδόσεις Ιών.
- Τσέκος Ι. 2003. Φυσιολογία φυτών. Εκδόσεις Αδελφών Κυριακίδη.

Παράρτημα Β: Περίληψη

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η επίδραση της μειωμένης διαθεσιμότητας βορίου στο θρεπτικό διάλυμα, στις αναπτυξιακές και φυσιολογικές παραμέτρους του φυτού της μελιτζάνας (*Solanum melongena* L.). Για το σκοπό αυτό φυτά μελιτζάνας αναπτύχθηκαν σε υδροπονική καλλιέργεια σε στερεό υπόστρωμα, με επαρκή (100 μM , B+) και με ανεπαρκή (4,62 μM , B-) επίπεδα βορίου. Από μετρήσεις της συγκέντρωσης βορίου στον ανιόντα χυμό προέκυψε η πιθανή ύπαρξη μηχανισμών αποκλεισμού (για τη μεταχείριση B+) ή ανάπτυξης υψηλών συγκεντρώσεων βορίου (για τη μεταχείριση B-), οι οποίοι εδράζουν στους ιστούς της ρίζας. Ο μηχανισμός ανάπτυξης υψηλών συγκεντρώσεων ενδεχομένως να επάγεται μετά από εγκλιματισμό των φυτών σε θρεπτικό διάλυμα με ανεπαρκή συγκέντρωση βορίου. Η μέτρια ανεπάρκεια βορίου στο θρεπτικό διάλυμα σε συνδυασμό με την παρατηρούμενη ανάπτυξη υψηλών συγκεντρώσεων στον ανιόντα χυμό, είχαν ως αποτέλεσμα την απουσία επιβολής τροφοπενίας αλλά και τον μη περιορισμό της ανάπτυξης των φυτών. Ωστόσο η μεταχείριση B- είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση των επιπέδων βορίου στους ιστούς των φύλλων, είτε ως διαλυτό είτε ως συνολικό βόριο συγκριτικά με τη μεταχείριση B+. Το ποσοστό του βορίου το οποίο εντοπίστηκε στα κυτταρικά τοιχώματα αυξήθηκε σημαντικά στα φύλλα των φυτών B-. Η μελέτη της κινητικότητας του βορίου στο φυτικό σώμα, μέσω της μέτρησης των επιπέδων βορίου στο χυμό του ηθμού και της συγκέντρωσης βορίου στα αναπτυσσόμενα φύλλα, έδειξε ότι το φυτό της μελιτζάνας διαθέτει σημαντική ικανότητα διανομής του στοιχείου μέσω του ηθμού. Ωστόσο, το πρότυπο κατανομής του στοιχείου σε επίπεδο φυτού δεν συνάγει με αυτό του οποίου διαθέτει την ικανότητα επαναδιανομής του στοιχείου μέσω του ηθμού. Τα παραπάνω αντικρουόμενα αποτελέσματα σε συνδυασμό με την έλλειψη περαιτέρω δεδομένων σχετικά με τον τρόπο φόρτωσης των φωτοσυνθετικών προϊόντων στον ηθμό και το είδος των διακινούμενων υδατανθράκων στο φυτό της μελιτζάνας, θέτουν την αναγκαιότητα για μελλοντικά πειράματα σχετικά με τη διερεύνηση της ύπαρξης ή όχι μηχανισμού επαναδιανομής βορίου στο φυτό αυτό.

Appendix C: Abstract

The present study was undertaken in order to explore the effects of inadequate boron supply in growth and physiology of eggplant (*Solanum melongena* L.). For this, eggplants were grown semi-hydroponically using either adequate (100 μM , B+) or inadequate (4.62 μM , B-) boron concentrations in the nutrient solution. Judging from the levels of boron concentration in the xylem sap, it is possible that a mechanism for boron exclusion (observed in B+ plants) or a mechanism for the development of boron concentrations higher than those of the external medium (observed in B- plants) operates in the sites of boron uptake by the root system. Moreover, it is possible that the boron concentrating mechanism is induced upon acclimation of plants in low-boron medium. The non-extreme shortage of boron of the B- nutrient solution combined with the development of relatively high concentrations of boron in the xylem sap of B- plants, resulted in the absence of boron deficiency in the corresponding plants which showed no signs of growth restriction compared to B+ plants. However, B- treatment resulted in significant reduction of boron concentrations in leaf tissues, either examined as the total or the soluble fraction. Consequently, percent of boron located in the insoluble fraction was significantly increased in leaves of B- plants. The measurement of boron concentrations in the phloem sap and the tissues of actively growing leaves, showed that a notable ability for boron mobility through the phloem may exist in this plant. However, the pattern of boron distribution on a whole plant level does not coincide to that typically observed in boron-remobilizing plants. The above contrasting results as well as the lack of information in the literature concerning the phloem loading strategy and the identity of phloem-mobile carbohydrates in eggplant merit further research in order to elucidate the potential existence of a mechanism for boron retranslocation in this plant species.

