

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας
Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών

Φωτοσυνθετικά Χαρακτηριστικά των Φύλλων
των Φυτών *Prunus amygdalus* (ετεροβαρές)
και *Ligustrum japonicum* (ομοβαρές)
κατά τη Διάρκεια της Ανάπτυξής τους



4



8



Πτυχιακή Εργασία του Φοιτητή
Κορνήλιου Ανδριανού Βέκκου
Αθήνα 2005

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ

**ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ
Prunus amygdalus (ΕΤΕΡΟΒΑΡΕΣ) ΚΑΙ *Ligustrum japonicum*
(ΟΜΟΒΑΡΕΣ) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟΥΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΦΟΙΤΗΤΗ
ΚΟΡΝΗΛΙΟΥ-ΑΝΔΡΙΑΝΟΥ ΒΕΚΚΟΥ

ΑΘΗΝΑ 2005

Στον Πατέρα μου που μ'έμαθε να δουλεύω

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	ix
I. Εισαγωγή	11
I.1. Γενικά χαρακτηριστικά της φωτοσύνθεσης.....	13
I.1.1. Σύνθεση οργανικών ενώσεων αξιοποιώντας την ενέργεια της ακτινοβολίας.....	13
I.1.2. Ενέργεια και υλικά των αντιδράσεων.....	13
I.2. Η φυσιολογία της φωτοσύνθεσης.....	15
I.2.1. Η οργάνωση των χλωροπλαστών.....	15
I.2.2. Φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης	16
I.2.3. Σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης.....	19
I.3. Ο μηχανισμός της ανταλλαγής των αερίων. Είσοδος CO ₂ και διαπνοή	21
I.4. Τα ανατομικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων αναφορικά με τη φωτοσυνθετική λειτουργία.....	23
I.4.1. Φωτοσύνθεση σε ομοβαρή και ετεροβαρή φύλλα.....	25
I.5. Η ανάπτυξη του φύλλου	27
I.5.1. Η οντογένεση του χλωροπλάστη.....	27
I.5.2. Μεταβολές της δομής και λειτουργίας των φύλλων αναφορικά με τη φωτοσυνθετική λειτουργία	27
I.5.2.1. Η μετάβαση του φύλλου από καταναλωτή σε παραγωγό.....	28
I.6. Επίδραση της ανόργανης θρέψης στην απόδοση των φυτών	30
I.6.1. Σχέση αζώτου και φωτοσύνθεσης.....	30
I.6.2. Σχέση αζώτου και φωτοσύνθεσης κατά την ανάπτυξη των φύλλων	31
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	33
II. Υλικά και Μέθοδοι.....	35
II.1. Φυτικό Υλικό.....	37
II.2. Δειγματοληψίες.....	37
II.3. Μορφολογικές παράμετροι	37
II.3.1. Μέτρηση Πάχους Φύλλου και Ειδικής Φυλλικής Επιφάνειας	37
II.3.2. Μέτρηση Ποσοστού Διαφανών Περιοχών του Ελάσματος.....	38
II.3.3. Μετρήσεις Φωτοσύνθεσης και Συναφών Παραμέτρων	39
II.4. Βιοχημικές παράμετροι	39
II.4.1. Μέτρηση συγκέντρωσης χλωροφυλλών	39
II.4.2. Μέτρηση συγκέντρωσης αζώτου	39
II.4.2.1. Προετοιμασία δειγμάτων	39
II.4.2.2. Καύση δειγμάτων.....	40
II.4.2.3. Στάδιο απόσταξης	40
II.4.2.4. Τιτλοδότηση δειγμάτων	40
II.4.2.5. Υπολογισμός περιεχόμενου αζώτου.....	41
II.4.2.6. Πιστοποίηση μεθόδου	41
III. Αποτελέσματα	43
III.1. Μορφολογικές παράμετροι	45
III.2. Φωτοσυνθετικές παράμετροι	48
III.3. Η σχέση συγκέντρωσης αζώτου των φύλλων και φωτοσυνθετικής λειτουργίας	53
III.4. Η επίδραση βασικών ανατομικών παραμέτρων στη φωτοσυνθετική λειτουργία και την αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου	56
IV. Συζήτηση.....	59
IV.1. Το πρότυπο έκπτυξης του ελάσματος.....	61
IV.2. Το διαφορετικό πρότυπο διαμόρφωσης του SLA κατά τη διάρκεια έκπτυξης των φύλλων	61
IV.3. Το διαφορετικό πρότυπο διαμόρφωσης των φωτοσυνθετικών χαρακτηριστικών κατά τη διάρκεια έκπτυξης των φύλλων	62
IV.4. Το διαφορετικό πρότυπο διαμόρφωσης της συγκέντρωσης αζώτου και της αποδοτικότητας χρήσης αζώτου κατά τη διάρκεια έκπτυξης των φύλλων	64
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	65
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	67

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ξεκινώντας την παρούσα εργασία δεν μπορούσα να φανταστώ πόσο ενδιαφέρον είναι το αντικείμενο της φυσιολογίας φυτών, αλλά και το πόσο απαιτητικός όσο και απολαυστικός είναι ο τομέας της έρευνας. Τελειώνοντας λοιπόν την εργασία αυτή και κάνοντας έναν απολογισμό των δυο τελευταίων ετών, διαπιστώνω με μεγάλη μου ευχαρίστηση ότι απέσπασα μεγάλο κέρδος όσον αφορά τόσο στις γνώσεις όσο και στην επαφή με τον ερευνητικό τομέα. Ως εκ τούτου θεωρώ υποχρέωσή μου να αναφέρω τους ανθρώπους που με βοήθησαν, ως ελάχιστη ένδειξη ευγνωμοσύνης.

Αρχικά οφείλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, τον πατέρα μου Γιώργο, την μητέρα μου, Ιωσηφίνα και τον αδερφό μου, Αντώνη για την ψυχική κυρίως δύναμη, αλλά φυσικά και την οικονομική βοήθεια που μου παρείχαν όλα αυτά τα χρόνια. Ήταν πάντα δίπλα μου σε κάθε βήμα της πενταετούς προσπάθειάς μου η οποία επισφραγίζεται με αυτήν την εργασία, και μου έδωσαν την απαραίτητη ώθηση καθώς και πολύ δύναμη για την ολοκλήρωση των σπουδών μου. Θα είναι πάντα το σημαντικότερο κομμάτι της ζωής μου. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τη γιαγιά μου Ελευθερία για τις ευχές της και την αγάπη της.

Τις θερμές μου ευχαριστίες θα ήθελα να δώσω στον επιβλέποντά μου, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεώργιο Καραμπουρνιώτη, ο οποίος στο πρόσωπο μου αναγνώρισε τις δυνατότητες ώστε να πραγματοποιηθεί αυτή η εργασία. Τον ευχαριστώ λοιπόν για την ανάθεση, την επίβλεψη και την διόρθωση της πτυχιακής μου μελέτης καθώς και για την προσωπική και φιλική σχέση που επέτρεψε να καλλιεργηθεί μεταξύ μας.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Δημήτριο Μπουράνη για τις πολύτιμες συμβουλές που μου παρείχε κατά την διάρκεια της παραμονής μου στον ερευνητικό του χώρο, καθώς επίσης και για την διόρθωση της πτυχιακής μου μελέτης αλλά και για την πάντα φιλική του διάθεση απέναντι μου.

Επίσης ευχαριστώ τον Λέκτορα κ. Γεώργιο Αιβαλάκι για την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή, την διόρθωση της πτυχιακής μελέτης αλλά κυρίως για τις εύστοχες συμβουλές και παρατηρήσεις που μου παρείχε.

Η παρούσα εργασία δεν θα είχε πραγματοποιηθεί με την δεδομένη επιτυχία χωρίς την καθοδήγηση των μελών του εργαστηρίου. Στο σημείο αυτό ευχαριστώ την υποψήφια Διδάκτορα κ. Σωτηρία Σταυριανάκου, τον Διδάκτορα κ. Γεώργιο Λιακόπουλο και την Διδάκτορα κ. Βάλλυ Λιάκουρα. Οι γνώσεις τους και η καλή τους διάθεση με βοήθησαν να ξεπεράσω τους σκοπέλους των προβλημάτων που

αντιμετώπισα κατά την εκπόνηση της εργασίας μου. Τους ευχαριστώ λοιπόν θερμά για την καθοδήγηση αλλά κυρίως για την φιλία που αναπτύχθηκε μεταξύ μας.

Τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου οφείλω να δώσω στην συνάδελφο Ευαγγελία Ρέστα για την ψυχολογική αλλά και ουσιαστική βοήθεια που μου έδωσε, μην λαμβάνοντας υπόψη την απώλεια του κοινού προσωπικού μας χρόνου. Αφιερώνοντας τον ελεύθερο της χρόνο αποκλειστικά και μόνο στην δική μου προσπάθεια, λειτούργησε ως συναισθηματικό στήριγμα και όχι μόνο. Έτσι αποτέλεσε την βάση για την επιτυχημένη ολοκλήρωση της πτυχιακής μου.

Η περίοδος της εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας συνέπεσε με την παρουσία στο εργαστήριο των συναδέλφων Ευάγγελου Καρβώνη και Ασπασίας Κλουβάτου. Εκτός από την βοήθεια στην εκπόνηση των πειραμάτων, οφείλω να αναφέρω πως περισσότερο σημαντικοί για μένα ήταν οι φιλικοί δεσμοί οι οποίοι αναπτύχθηκαν μεταξύ μας.

Εκφράζω εξίσου τις ευχαριστίες μου στους φίλους και συναδέλφους Χρήστο Παπαδά, Γεωργία Τοουλάκου, Βασιλική Σταυρουλάκη, Βάσω Λουρίδα, Βασίλη Πρωτονοτάριο, Βασίλη Σιγιάνη και Κωνσταντίνο Δελή για την βοήθεια τους αλλά και για το πραγματικά πολύ ευχάριστο κλίμα που καλλιέργησαν μέσα στο εργαστήριο. Όπως επίσης ευχαριστώ θερμά τον Διδάκτορα και επιστημονικό μέλος του εργαστηρίου κ. Δημοσθένη Νικολόπουλο και την κ. Νούλη Σιψά για την αγάπη τους και το ενδιαφέρον τους.

Τέλος ευχαριστώ τους πιο κοντινούς μου φίλους Χρήστο Καρέτσο και Γιάννη Κοράκη για την συμπαράσταση τους, την υπομονή και την αγάπη τους.

I. Εισαγωγή

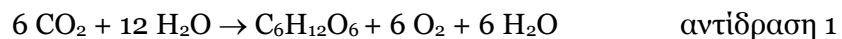
1.1. Γενικά χαρακτηριστικά της φωτοσύνθεσης

1.1.1. Σύνθεση οργανικών ενώσεων αξιοποιώντας την ενέργεια της ακτινοβολίας

Ως αυτότροφοι οργανισμοί τα φυτά έχουν την ικανότητα να συνθέτουν οργανικές ενώσεις με υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο από πρόδρομα ανόργανα συστατικά (Αϊβαλάκης, κ.α., 2003). Η ενέργεια που απαιτείται για την ολοκλήρωση αυτής της διαδικασίας παρέχεται, με την μορφή φωτονίων, από την ηλιακή ακτινοβολία και απορροφάται από τα μόρια των χλωροφυλλών (Hall and Rao, 1999).

Κατά προσέγγιση, μόλις το 5% του συνόλου της ηλιακής ακτινοβολίας που προσπίπτει στην επιφάνεια της γης χρησιμοποιείται για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου. Αυτό συμβαίνει διότι, η φωτοσύνθεση αξιοποιεί μόνο το τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που εντοπίζεται στην περιοχή του ορατού, δηλαδή τα μήκη κύματος μεταξύ 400 και 700 nm. Το τμήμα αυτό της ακτινοβολίας ονομάζεται φωτοσυνθετικά ενεργός ακτινοβολία – (Photosynthetically Active Radiation, PAR) (Taiz and Zeiger, 1998).

Το κύριο χημικό μονοπάτι της φωτοσύνθεσης αποτελείται από τον μετασχηματισμό του διοξειδίου του άνθρακα σε υδατάνθρακες, με ταυτόχρονη διάσπαση του νερού και έκλυση μοριακού οξυγόνου ως παραπροϊόντος, είναι σαφές ότι οι υδατάνθρακες που σχηματίζονται περιέχουν υψηλότερα ποσά ενέργειας από τα αρχικά σώματα (Lawlor, 2001). Η βασική αντίδραση (αντίδραση 1) είναι ισχυρά ενδεργονική αφού απαιτεί 2840 kJ για κάθε mole εξόζης που σχηματίζεται.



Η σημασία της φωτοσυνθετικής διαδικασίας φαίνεται από το γεγονός ότι, καλύπτει τις ενεργειακές ανάγκες σύνθεσης και συντήρησης όχι μόνο των φωτοαυτότροφων οργανισμών – παραγωγών, αλλά έμμεσα και τις ανάγκες των ετερότροφων οργανισμών – καταναλωτών (Δροσόπουλος, 1998). Τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε ως δομικές μονάδες σε διάφορες αναβολικές αντιδράσεις είτε να παράσχουν μέρος της περιεχόμενης ενέργειας τους για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του κυττάρου κατά την αναπνευστική λειτουργία, στην οποία ελευθερώνονται ως προϊόντα τα αρχικά υποστρώματα της φωτοσύνθεσης (Hall and Rao, 1999).

1.1.2. Ενέργεια και υλικά των αντιδράσεων

Το μονοπάτι της φωτοσύνθεσης διακρίνεται σε δυο φάσεις, με κάθε φάση από αυτές να έχει την δική της ακολουθία αντιδράσεων. Η πρώτη φάση (φωτεινή φάση)

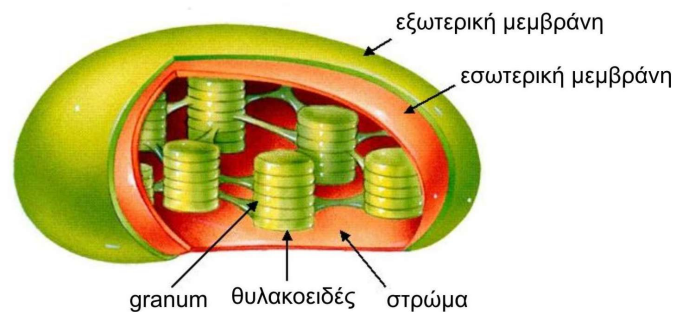
περιλαμβάνει τις λεγόμενες φωτεινές αντιδράσεις αφού για την πραγματοποίησή της είναι απαραίτητη η παρουσία φωτισμού. Σε αυτές η ενέργεια ακτινοβολίας απορροφάται και μετατρέπεται σε ενέργεια αποθηκευμένη στους δεσμούς του ATP. Επίσης μόρια νερού φωτολύονται παρέχοντας πρωτόνια και ηλεκτρόνια, που δεσμεύονται από το συνένζυμο NADP⁺ παράγοντας NADPH (Starr and Taggart, 1998). Η δεύτερη φάση (σκοτεινή φάση) περιλαμβάνει καθαρά βιοχημικές αντιδράσεις, τις λεγόμενες σκοτεινές αντιδράσεις, η πραγματοποίηση των οποίων δεν εξαρτάται άμεσα από την ύπαρξη φωτισμού (Taiz and Zeiger, 1998). Σε αυτή την φάση το ATP προσφέρει ενέργεια για τη σύνθεση τριοζών από άτομα άνθρακα, υδρογόνου και οξυγόνου (Δροσόπουλος, 1998). Το NADPH καταναλώνει σε αντιδράσεις αναγωγής προσφέροντας πρωτόνια και ηλεκτρόνια, ενώ το διοξείδιο του άνθρακα που διαχέεται μέσα στο φύλλο προσφέρει άνθρακα και οξυγόνο (Starr and Taggart, 1998). Οι αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης πραγματοποιούνται σε εξειδικευμένα κυτταρικά οργανίδια, που απαντούν περιμετρικά στα κύτταρα του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος και ονομάζονται χλωροπλάστες.

Παράλληλα με τις παραπάνω βιοχημικές αντιδράσεις, τα φύλλα διαθέτουν ένα σύνολο από φυσιολογικούς μηχανισμούς και συγκεκριμένα μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά, ώστε η όλη διαδικασία να πραγματοποιείται με την μέγιστη απόδοση σε επίπεδο οργάνου (Αϊβαλάκης, κ.α., 2003).

1.2. Η φυσιολογία της φωτοσύνθεσης

1.2.1. Η οργάνωση των χλωροπλαστών

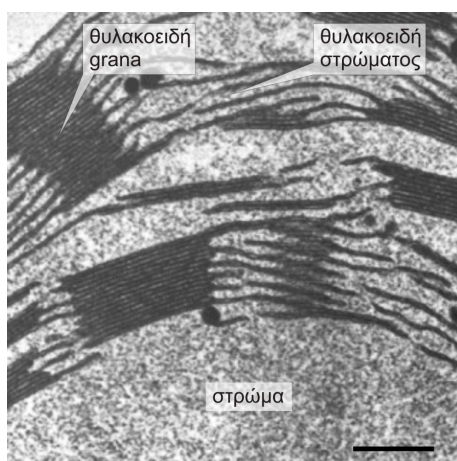
Η διεξαγωγή των φωτοσυνθετικών αντιδράσεων καθίσταται δυνατή λόγω της ιδιαίτερης οργάνωσης των φωτοσυνθετικών χρωστικών και των πρωτεϊνικών παραγόντων σε ένα ενιαίο λειτουργικό σύνολο. Τόσο οι φωτεινές όσο και οι σκοτεινές αντιδράσεις πραγματοποιούνται σε συγκεκριμένες περιοχές οι οποίες οργανώνονται στους χλωροπλάστες. Οι χλωροπλάστες αποτελούνται από ένα συμπαγές σύστημα δύο ομάδων μεμβρανών (εικόνα 1). Η πρώτη ομάδα αποτελείται από μια διπλή εξωτερική μεμβράνη που ονομάζεται φάκελος και περιβάλλει όλο το οργανίδιο. Εντός αυτής υπάρχει ένα άμορφο ζελατινώδες υλικό, το στρώμα, και το δεύτερο σύστημα μεμβρανών το οποίο μέσω χαρακτηριστικών πτυχώσεων και αναδιπλώσεων σχηματίζει σάκους που ονομάζονται θυλακοειδή (Δροσόπουλος, 1998). Τα θυλακοειδή είναι υπεύθυνα για την δέσμευση της ηλιακής ακτινοβολίας (συνεπώς για την πραγματοποίηση των φωτεινών αντιδράσεων) ενώ οι σκοτεινές αντιδράσεις πραγματοποιούνται στο στρώμα.



Εικόνα 1. Τρισδιάστατη απεικόνιση χλωροπλάστη. Διακρίνεται το σύστημα των διπλών μεμβρανών και των μεμβρανικών διατάξεων των θυλακοειδών του στρώματος και των grana.

Τα θυλακοειδή οργανώνονται σε περιοχές χαμηλής πυκνότητας (θυλακοειδή του στρώματος) και περιοχές υψηλής πυκνότητας (θυλακοειδή των grana) (εικόνα 2). Τα θυλακοειδή του στρώματος και τα θυλακοειδή των grana οργανώνονται σε ένα κοινό δίκτυο τριών διαστάσεων. Στις μεμβράνες των θυλακοειδών εντοπίζονται τα σύμπλοκα των χρωστικών οι οποίες είναι υπεύθυνες για την απορρόφηση και τη αξιοποίηση της φωτεινής ενέργειας. Τα σύμπλοκα αυτά περιέχουν χλωροφύλλες a και b και καροτενοειδή και ονομάζονται αντένες φωτοσυλλογής (Δροσόπουλος, 1998). Στις μεμβράνες εντοπίζονται επίσης τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα όπου πραγματοποιούνται οι φωτοχημικές αντιδράσεις της φωτεινής φάσης και ονομάζονται φωτοσυστήματα (διακρινόμενα σε φωτοσύστημα II (PS II) και φωτοσύστημα I (PS I)). Η αλυσίδα των φωτοχημικών αντιδράσεων και της ροής

ηλεκτρονίων αποτελεί το πρώτο βήμα για τη μετατροπή της φωτεινής ενέργειας σε χημική. Τέλος στις μεμβράνες των θυλακοειδών εντοπίζονται το ενδιάμεσο πρωτεϊνικό σύμπλοκο του κυτοχρώματος b_6f το οποίο παρεμβάλλεται στη ροή ηλεκτρονίων μεταξύ του PS II και PS I και το σύμπλοκο της συνθάσης του ATP (εικόνα 3). Το σύστημα των μεμβρανών των θυλακοειδών περικλείει μια ενιαία περιοχή υδατικής φάσης που ονομάζεται κοιλότητα(lumen) (Mustardy and Garab, 2003) και η οποία παίζει βασικό ρόλο στην πραγματοποίηση των φωτεινών αντιδράσεων (Δροσόπουλος, 1998).



Εικόνα 2. Η διάταξη των θυλακοειδών των grana και του στρώματος σε εγκάρσια τομή χλωροπλάστη όπως φαίνεται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης. Κλίμακα 0.2 μm .

1.2.2. Φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης

Στις φωτοχημικές αντιδράσεις, φωτόνια κατάλληλου μήκους κύματος μπορούν να προκαλέσουν μεταπτώσεις ηλεκτρονίων των μορίων των φωτοσυνθετικών χρωστικών. Στην περίπτωση αυτή τα ηλεκτρόνια μετακινούνται σε στάθμη υψηλότερου ενεργειακού περιεχομένου, το μόριο της χρωστικής βρίσκεται πλέον σε διεγερμένη κατάσταση ενώ η διαφορά ενέργειας μεταξύ των δυο ενεργειακών σταθμών αντικατοπτρίζει την ενέργεια του συγκεκριμένου quantum που απορροφήθηκε. Η αλληλεπίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη, είναι ένα αντιστρεπτό φαινόμενο. Τα μόρια που βρίσκονται σε διεγερμένη κατάσταση είναι ασταθή και παρουσιάζουν την τάση να επανέλθουν ταχέως στην αρχική τους κατάσταση αποδίδοντας την επιπλέον ενέργεια που απορροφήθηκε. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται αποδιέγερση των μορίων και μπορεί να πραγματοποιηθεί με τους εξής τρόπους: **α.** με εκπομπή ενέργειας με την μορφή θερμότητας, **β.** με εκπομπή ενέργειας με τη μορφή ακτινοβολίας (φωσφορισμός) και **γ.** με μεταφορά της ενέργειας διέγερσης σε γειτονικά μόρια. Ο τρίτος τρόπος είναι

και αυτός που συμβάλει στην παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (Δροσόπουλος, 1998).

Η αλυσίδα μεταφοράς της ενέργειας διέγερσης μέσω των φωτοσυνθετικών χρωστικών καταλήγει στη διέγερση μιας ειδικής μορφής χλωροφύλλης *a* (Chl*a*) ενώ η περαιτέρω ροή ηλεκτρονίων προκαλεί φωτοοξειδωση της Chl*a* (διαχωρισμός φορτίου). Η διαδικασία αυτή παράγει ένα ισχυρό οξειδωτικό σώμα το οποίο έχει τη δυνατότητα να αποσπά ηλεκτρόνια από το νερό (Δροσόπουλος, 1998). Ταυτόχρονα παράγονται πρωτόνια και μοριακό οξυγόνο. Τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται στο NADP⁺ το οποίο ανάγεται προς NADPH. Η μεταφορά των ηλεκτρονίων πραγματοποιείται μέσω διαδοχικών οξειδώσεων και αναγωγών ενδιάμεσων φορέων, δηλαδή μέσω της λεγόμενης φωτοσυνθετικής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (Αϊβαλάκης, κ.α., 2003).

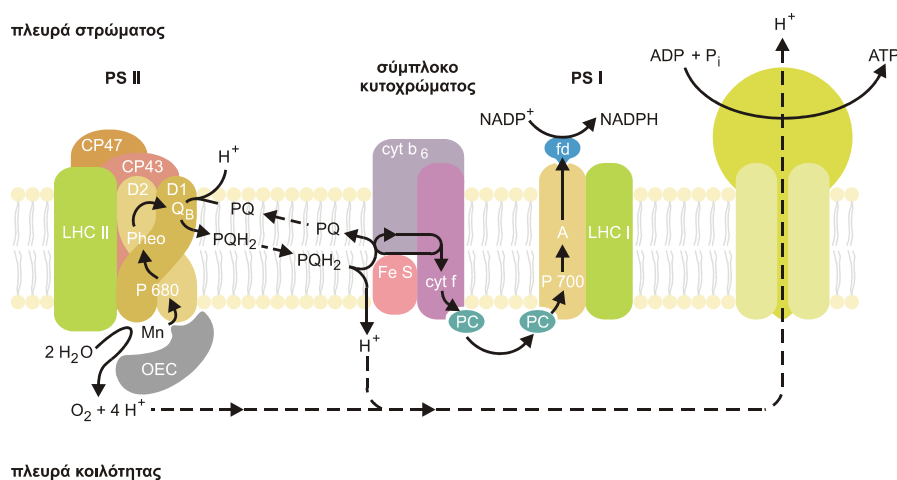
Για την ολοκλήρωση των φωτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης λειτουργούν και συνεργάζονται τα δυο φωτοσυστήματα, το PSI και PSII (Lawlor, 2001).

Κάθε φωτοσύστημα διαθέτει ένα φωτοχημικό κέντρο αντίδρασης, δηλαδή ένα διαμεμβρανικό σύμπλοκο πρωτεϊνών στο οποίο εδράζεται ένα μόριο Chl*a* ειδικής μορφής και στο οποίο συμβαίνει ο διαχωρισμός φορτίου. Τα κέντρα αντίδρασης των PSI και PSII ονομάζονται P700 και P680 αντίστοιχα, από τα μέγιστα απορρόφησης τα οποία παρουσιάζουν. Κάθε κέντρο αντίδρασης διαθέτει τη δική του αντένα φωτοσυλλογής (Δροσόπουλος, 1998). Οι χρωστικές στον φωτοσυλλεκτικό μηχανισμό είναι κατάλληλα διευθετημένες, ώστε η απορρόφηση ενός φωτονίου από ένα μόριο χρωστικής να μεταφέρει την διέγερση αναγκαστικά προς το κέντρο αντίδρασης (Lawlor, 2001).

Όταν λοιπόν ένα φωτόνιο απορροφάται από τον φωτοσυλλεκτικό μηχανισμό του PSII, το μόριο Chl*a* του ενεργού κέντρου διεγείρεται και προκαλείται διαχωρισμός φορτίου με αποτέλεσμα ένα ηλεκτρόνιο να μεταφέρεται σε ένα διπλανό μόριο (Δροσόπουλος, 1998). Το ηλεκτρόνιο αυτό αναπληρώνεται μέσω της φωτόλυσης του νερού, επομένως το νερό αποτελεί τον πρωταρχικό δότη ηλεκτρονίων στην όλη διαδικασία (Αϊβαλάκης, 2003).

Τα ηλεκτρόνια από το PSII μεταφέρονται μέσω αλληπάλληλων οξειδώσεων και αναγωγών των ενδιάμεσων φορέων προς το ενεργό κέντρο του PSI. Στο PSI η απορρόφηση ενός φωτονίου από τις βοηθητικές χρωστικές του φωτοσυλλεκτικού μηχανισμού του προκαλεί διέγερση και διαχωρισμό φορτίου στο ενεργό κέντρο. Ένα ηλεκτρόνιο αποσπάται από το μόριο του P700 το οποίο μέσω μιας αλυσίδας ενδιάμεσων φορέων ανάγει τον τελικό αποδέκτη, δηλαδή το NADP. Στην περίπτωση όμως του PSI το ηλεκτρόνιο που αποσπάστηκε, προσλαμβάνεται μέσω των

ενδιάμεσων φορέων από το PSII. Συνεπώς η συνολική διαδικασία περιλαμβάνει σύνδεση των δυο φωτοσυστημάτων εν σειρά και ροή ηλεκτρονίων από το νερό προς το NADP^+ (Αϊβαλακίς, 2003).



Εικόνα 3. Σχηματική διάταξη των πολυενζυμικών συμπλόκων των φωτοσυστημάτων και των ενδιάμεσων φορέων οι οποίοι συμμετέχουν στη φωτοσυνθετική ροή ηλεκτρονίων και την αναγωγή του NADP και τη φωσφορυλίωση του ADP , κατά μήκος των μεμβρανών των θυλακοειδών.

Στα ενεργά κέντρα των δυο φωτοσυστημάτων, η μεταφορά ηλεκτρονίου γίνεται με επιπλέον ενέργεια στο σύστημα με την μορφή φωτεινής ακτινοβολίας. Έτσι γίνεται δυνατή η αναγωγή του NADPH και η σύνθεση του ATP (εικόνα 3). Η απορρόφηση φωτονίων από τα φωτοχημικά κέντρα αντίδρασης και η επακόλουθη αναγωγή του NADP^+ προς NADPH έχει δυο σημαντικές επιπτώσεις. Κατ' αρχάς μόρια νερού διασπώνται, με συνέπεια να απελευθερώνονται πρωτόνια μέσα στην κοιλότητα του θυλακοειδούς και μοριακό οξυγόνο το οποίο διαφεύγει ως παραπροϊόν ενώ η ροή των ηλεκτρονίων προκαλεί διαφορά του pH μεταξύ της κοιλότητας του θυλακοειδούς και του στρώματος. Αυτή η διαφορά του pH που δημιουργείται ανάμεσα στα δυο διαμερίσματα του χλωροπλάστη αντιπροσωπεύει ελεύθερη ενέργεια η οποία μπορεί να αξιοποιηθεί για την σύνθεση ATP (Δροσόπουλος, 1998). Η σύνθεση του ATP πραγματοποιείται λόγω μιας αντίστροφης – αυθόρμητης εκροής πρωτονίων από την κοιλότητα του θυλακοειδούς προς το στρώμα η οποία τείνει να εξισορροπήσει την διαφορά pH που έχει δημιουργηθεί. Η ροή αυτή των πρωτονίων παρέχει την απαραίτητη ενέργεια για την φωσφορυλίωση του ADP προς ATP (εικόνα 3). Τέλος το ATP που παράγεται, όπως και το NADPH , είναι πλέον διαθέσιμα για την σύνθεση των υδατανθράκων κατά τις σκοτεινές αντιδράσεις (Anderson and Barber, 1996).

1.2.3. Σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης

Τα πλούσια σε ενέργεια προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων, ATP και NADPH μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πολυάριθμες βιοχημικές αντιδράσεις σύνθεσης και μεταφοράς, η προώθηση των οποίων απαιτεί τη δαπάνη ενέργειας. Ένα σημαντικό μέρος της ενέργειας των ATP και NADPH καταναλώνεται για τη δέσμευση του CO₂ της ατμόσφαιρας και την αναγωγή του μέχρι το επίπεδο των υδατανθράκων (φωτοσυνθετική αφομοίωση του CO₂). Αυτό σημαίνει ότι, η ενέργεια που παράγεται στις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης καταναλώνεται για τη δημιουργία του ανθρακικού σκελετού των φυτικών οργανισμών, δηλαδή την παραγωγή βιομάζας (Αιβαλάκης, κ.α., 2003). Έως σήμερα είναι γνωστές τρεις κύριες βιοχημικές παραλλαγές του φωτοσυνθετικού μεταβολισμού του άνθρακα (Hall and Rao, 1999).

α. Η C₃ φωτοσύνθεση της οποίας η ονομασία υποδηλώνει ότι το πρώτο προϊόν της δέσμευσης του CO₂ είναι μία ένωση με τρία άτομα άνθρακα (3-φωσφογλυκερικό οξύ, 3PGA).

β. Η C₄ φωτοσύνθεση στην οποία το πρώτο προϊόν της δέσμευσης του CO₂ είναι μία ένωση με τέσσερα άτομα άνθρακα (οξαλοξικό οξύ), και

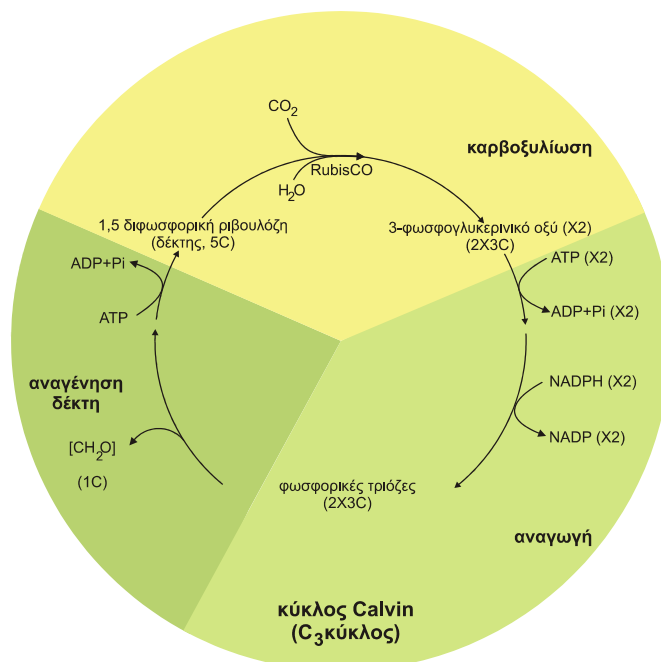
γ. Ο μεταβολισμός οξέων τύπου Crassulaceae (CAM) η ονομασία του οποίου οφείλεται στο γεγονός ότι ο τρόπος αυτός δέσμευσης παρατηρήθηκε αρχικά σε παχύφυτα, μέλη της οικογένειας Crassulaceae (Αιβαλάκης, κ.α., 2003).

Στη C₃ φωτοσυνθετική οδό το CO₂ δεσμεύεται και στη συνέχεια ανάγεται έως το επίπεδο του υδατάνθρακα μέσω μιας κυκλικής διαδικασίας, η οποία ονομάζεται αναγωγικός κύκλος των φωσφοπεντοζών (RPPC) ή κύκλος του Calvin (εικόνα 4). Το CO₂ μετατρέπεται σε φωσφορυλιωμένα (ενεργοποιημένα) σάκχαρα ενώ ταυτόχρονα ο δέκτης του CO₂ (η 1,5-διφωσφορική ριβουλόζη, μια πεντόζη) αναγεννάται. Ο κύκλος αυτός λειτουργεί σε όλους τους φωτοσυνθετικούς ευκαρυωτικούς οργανισμούς καθώς και σε ορισμένους προκαρυωτικούς. Η όλη πορεία περιλαμβάνει επί μέρους αντιδράσεις οι οποίες καταλύονται από υδατοδιαλυτά ένζυμα που εντοπίζονται στο στρώμα των χλωροπλαστών (Δροσόπουλος, 1998). Ο κύκλος Calvin δεν περιλαμβάνει φωτοχημικές αντιδράσεις, ωστόσο η λειτουργία του εξαρτάται άμεσα από τον εφοδιασμό σε ATP και NADPH (τα προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων) καθώς και σε CO₂. Ο κύκλος περιλαμβάνει τρία επί μέρους στάδια: καρβοξυλίωση, αναγωγή και αναγέννηση του δέκτη (εικόνα 4).

Στο αρχικό και καθοριστικό στάδιο του κύκλου το CO₂ ενσωματώνεται με τη μορφή μιας καρβοξυλομάδας στο μόριο-δέκτη, την 1,5-διφωσφορική ριβουλόζη και παράγονται, ως το πρώτο προϊόν, δύο μόρια 3-φωσφογλυκερικού οξέος. Την αντίδραση καταλύει το ένζυμο καρβοξυλάση-οξυγενάση της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης (Rubisco). Στο δεύτερο στάδιο το 3PGA ανάγεται προς φωσφορικές

Εισαγωγή

τριόζες (3-φωσφορική γλυκεριναλδεύδη ή φωσφορική διϋδροξυακετόνη) με κατανάλωση ATP και NADPH. Με την ολοκλήρωση του σταδίου αυτού το CO₂ έχει πλέον αναχθεί στο επίπεδο του υδατάνθρακα με κέρδος μια υδατανθρακική μονάδα, ενώ για κάθε έξι περιστροφές του κύκλου το καθαρό προϊόν είναι ένα μόριο εξόζης.



Εικόνα 4. Ο κύκλος του Calvin συνίσταται από τρία στάδια με τελική κατάληξη την αφομοίωση και αναγωγή ενός μορίου CO₂ και την αναγέννηση του αρχικού υποστρώματος.

Στο τρίτο στάδιο επιτελούνται μια σειρά από αντιδράσεις, οι οποίες είναι απαραίτητες για την αναγέννηση του μορίου-δέκτη. Στο στάδιο αυτό καταναλώνεται ενέργεια με τη μορφή ATP. Με τη συμπλήρωση και του τρίτου σταδίου ο κύκλος Calvin έχει ολοκληρωθεί και η 1,5-διφωσφορική ριβουλόζη είναι διαθέσιμη εκ νέου ως υπόστρωμα της Rubisco (Taiz and Zeiger, 1998).

1.3. Ο μηχανισμός της ανταλλαγής των αερίων. Είσοδος CO₂ και διαπνοή

Η επιδερμίδα των υπέργειων οργάνων των φυτών και κυρίως των φύλλων, διαθέτει μικρούς πόρους οι οποίοι περικλείονται από εξειδικευμένα κύτταρα, τα επονομαζόμενα καταφρακτικά κύτταρα. Ο πόρος και τα καταφρακτικά κύτταρα τα οποία το περιβάλλον συνιστούν το στόμα. Η φυσιολογική σημασία των στομάτων είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς με το ενεργό άνοιγμα και κλείσιμο τους ελέγχεται η ανταλλαγή των αερίων CO₂ και O₂ μεταξύ του φυτού και του εναέριου περιβάλλοντος (Δροσόπουλος, 1998). Μέσω αυτής της διαδικασίας παρέχονται τα αναγκαία υποστρώματα για τις λειτουργίες της φωτοσύνθεσης και της αναπνοής.

Κατά το άνοιγμα των στομάτων λαμβάνει χώρα έξοδος υδρατμών από το εσωτερικό των φύλλων προς την ατμόσφαιρα. Η ελεγχόμενη αυτή απώλεια προκαλεί αναπλήρωση του νερού των φύλλων μέσω απορρόφησης νερού από το ριζικό σύστημα και μεταφορά του στα υπέργεια όργανα. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται διαπνοή. Συνεπώς η λειτουργία των στομάτων συνεισφέρει στον έλεγχο της θερμοκρασίας του ελάσματος του φύλλου, στην διατήρηση του διαπνευστικού ρεύματος και στη ρύθμιση της υδατικής κατάστασης του φυτού (Farquhar and Sharkey, 1982).

Όταν τα στόματα παραμένουν ανοιχτά, η παροχή CO₂ για την πραγματοποίηση της φωτοσύνθεσης είναι απρόσκοπτη, αλλά ταυτόχρονα παρατηρούνται έντονες απώλειες νερού με κίνδυνο αφυδάτωσης. Αντίθετα όταν τα στόματα παραμένουν κλειστά παρατηρείται διαφύλαξη των αποθεμάτων νερού, αλλά αδυναμία αφομοίωσης CO₂ (Αϊβαλάκης, 2003).

Η κατάσταση των στομάτων περιγράφεται κατά κύριο λόγο από ένα μέγεθος το οποίο είναι γνωστό ως αγωγιμότητα των στομάτων. Αυτό ουσιαστικά εκφράζει την αντίσταση των στομάτων στη διάχυση των υδρατμών κατά την διαδικασία της διαπνοής. Όταν τα στόματα είναι ανοικτά η αγωγιμότητα των στομάτων αυξάνεται ενώ αντίθετα το κλείσιμο των στομάτων προκαλεί μείωση του παραπάνω μεγέθους. Οι αλλαγές στην αγωγιμότητα των στομάτων είναι σημαντικές, καθώς ελέγχουν τις απώλειες του νερού αλλά ταυτόχρονα ρυθμίζουν και την παροχή του CO₂ που είναι διαθέσιμο για τη φωτοσύνθεση (Taiz and Zeiger, 1998).

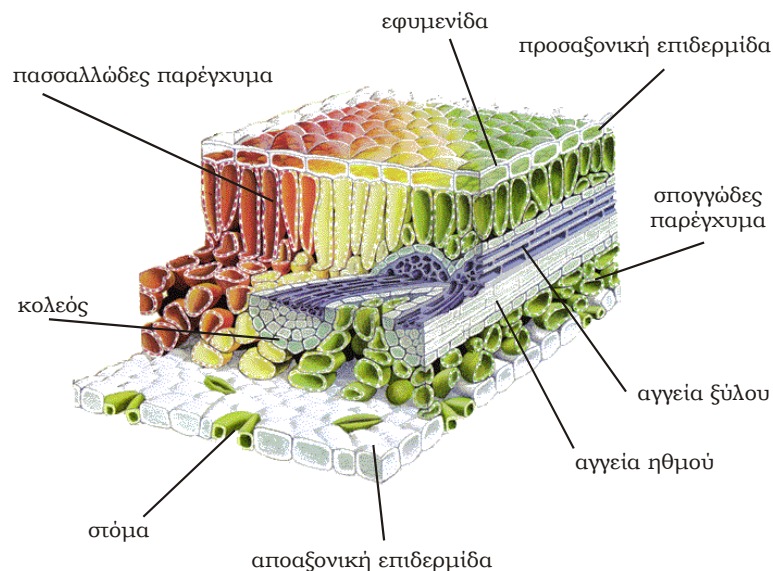
Η επιφάνεια όλων των εναέριων οργάνων καλύπτεται από ένα υδρόφοβο στρώμα που ονομάζεται εφυμενίδα. Η εφυμενίδα έχει ως κύριο ρόλο την αποτροπή της ανεξέλεγκτης απώλειας νερού από τα φυτά και ως εκ τούτου παρουσιάζει ισχυρή αντίσταση στη διάχυση των υδρατμών και συνακόλουθα και του CO₂. Ως εκ τούτου η ανταλλαγή των αερίων διαμέσου της επιδερμίδας επιτυγχάνεται σχεδόν

αποκλειστικά μέσω των στοματικών πόρων. Προκειμένου το CO₂ να εισέλθει στο εσωτερικό του φύλλου συναντά αντίσταση τόσο από το οριακό στρώμα του αέρα που περιβάλλει το φύλλο (στις συνήθεις συνθήκες της ατμόσφαιρας θεωρείται αμελητέα), όσο και από τα στόματα. Το φυτό προκειμένου να ελαττώσει τις απώλειες του νερού χωρίς παράλληλα να περιορίσει την φωτοσύνθεση, ρυθμίζει την ανταλλαγή των αερίων με το άνοιγμα και κλείσιμο των στομάτων σύμφωνα με τα ερεθίσματα που παίρνει από το περιβάλλον (όπως θερμοκρασία, συγκέντρωση CO₂ και ακτινοβολία). Πιο συγκεκριμένα, κατά την διάρκεια της νύχτας, δεδομένου ότι δεν υφίσταται ανάγκη παροχής CO₂ για τη φωτοσύνθεση, το άνοιγμα των στοματικών πόρων είναι μικρό ώστε να αποφεύγονται οι απώλειες νερού. Αντίστοιχα σε συνθήκες πλήρους ηλιοφάνειας και με δεδομένη επάρκεια νερού, τα στόματα παραμένουν ανοιχτά γιατί οι απώλειες του νερού αντισταθμίζονται από το κέρδος του φυτού σε φωτοσυνθετικά προϊόντα. Σε περίπτωση που δεν υπάρχει επαρκής τροφοδοσία του φυτού με νερό, τα στόματα κλείνουν, διότι η τροφοδοσία σε νερό δεν επαρκεί να καλύψει τις διαπνευστικές απώλειες (Taiz and Zeiger, 1998).

Ι.4. Τα ανατομικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων αναφορικά με τη φωτοσυνθετική λειτουργία

Τα φύλλα αντιπροσωπεύουν τα όργανα του φυτού τα οποία παρουσιάζουν υψηλή ειδικευση στην απορρόφηση της ενέργειας ακτινοβολίας (Terashima and Hikosaca, 1995). Πρόκειται για ελασματοειδείς κατασκευές, των οποίων η διάταξη και τοποθέτηση στο χώρο στοχεύει στην όσο το δυνατό αποτελεσματικότερη αξιοποίηση των πρώτων υλών της φωτοσύνθεσης, της φωτεινής ακτινοβολίας και του διοξειδίου του άνθρακα της ατμόσφαιρας. Ο στόχος αυτός επιτυγχάνεται με την ανάπτυξη μιας τεράστιας επιφάνειας εκτεθειμένης στις ακτίνες του ηλίου. Η αρχιτεκτονική κατασκευή των φύλλων στοχεύει αφενός μεν στην όσο το δυνατόν αποτελεσματικότερη απορρόφηση φωτεινής ακτινοβολίας και αφετέρου στην ευχερέστερη διάχυση του διοξειδίου του άνθρακα προς τα φωτοσυνθετικά κύτταρα. Για το λόγο αυτό τα περισσότερα φύλλα είναι λεπτά ώστε όλα τα φωτοσυνθετικά κύτταρα να δέχονται ικανή ένταση φωτεινής ακτινοβολίας και να έχουν ευχερή πρόσβαση στο διοξείδιο του άνθρακα της ατμόσφαιρας (Αϊβαλάκης, κ.α., 2003).

Η ανατομική παρατήρηση ενός φύλλου αποκαλύπτει ότι το όργανο αυτό συγκροτείται από εξειδικευμένους ιστούς με αυστηρά καταμερισμένους ρόλους. Η εξωτερική επιφάνεια του φύλλου καλύπτεται από την εφυμενίδα και την επιδερμίδα. Η περιοχή μεταξύ της προσαξονικής και της αποαξονικής επιδερμίδας αποτελεί την περιοχή του μεσοφύλλου και περιλαμβάνει τα φωτοσυνθετικά κύτταρα τα οποία περιέχουν τους χλωροπλάστες και τις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες (Taiz and Zeiger, 1998) (εικόνα 5).



Εικόνα 5. Σχηματική αναπαράσταση της τρισδιάστατης δομής ενός τυπικού φύλλου δικότυλου C3 φυτού. Διακρίνονται οι κυριότεροι ιστοί.

Τα επιδερμικά κύτταρα σε ορισμένες περιπτώσεις λειτουργούν σαν κυρτοί φακοί και μπορούν να εστιάσουν την φωτεινή ακτινοβολία σε τέτοιο βαθμό ώστε το ποσό της ενέργειας ακτινοβολίας που φτάνει στους χλωροπλάστες να είναι μεγαλύτερο από αυτό του περιβάλλοντος (Vogelmann, 1993).

Η περιοχή του φύλλου που παρεμβάλλεται μεταξύ των επιδερμίδων, δηλαδή το μεσόφυλλο, αποτελείται από τα κύτταρα του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος, τις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες και τους στηρικτικούς ιστούς. Τα κύτταρα του φωτοσυνθετικού παρεγχύματος διαθέτουν πολυάριθμους χλωροπλάστες και άφθονους μεσοκυττάριους χώρους, ώστε να διευκολύνεται η ανταλλαγή των αερίων (Taiz and Zeiger, 1998). Στα τυπικά φύλλα των δικότυλων το μεσόφυλλο απαρτίζεται από δυο τύπους φωτοσυνθετικού παρεγχύματος, το δρυφρακτοειδές ή πασσαλώδες παρέγχυμα και το σπογγώδες παρέγχυμα (Taiz and Zeiger, 1998).

Τα πασσαλώδη κύτταρα παρουσιάζουν τη μορφή δοκών ή πασσάλων κάθετα προσανατολισμένων στην επιφάνεια του φύλλου. Διατάσσονται σε μια ή περισσότερες επάλληλές στοιβάδες προς την πλευρά της προσαξονικής επιφάνειας (Αϊβαλάκις, κ.α., 2003). Το σπογγώδες παρέγχυμα αποτελείται από ακανόνιστα κύτταρα με μεγάλους μεσοκυττάριους χώρους, οι οποίοι καταλαμβάνονται από αέρα (Taiz and Zeiger, 1998). Οι εναλλαγές αυτές αέρας και υγρής φάσης είναι υπεύθυνες για φαινόμενα ανάκλασης και διάθλασης, που έχουν ως αποτέλεσμα την τυχαιοποίηση της πορείας του φωτός. Το φαινόμενο αυτό καλείται σκέδαση του φωτός και είναι μέγιστης σημασίας για τη μεγιστοποίηση της απορρόφησης της ακτινοβολίας, αφού λόγω των πολλαπλών ανακλάσεων αυξάνεται το μήκος της διαδρομής των φωτονίων μέσα στο φύλλο, και επομένως αυξάνεται η πιθανότητα απορρόφησης (Richter and Fukshansky, 1996).

Οι ηθμαγγειώδεις αγωγοί δεσμίδες διασχίζουν το μεσόφυλλο και γίνονται αντιληπτές με τη μορφή των νευρώσεων. Στο έλασμα καταφθάνουν οι τελικές απολήξεις του συστήματος μεταφοράς που ξεκινά από τη ρίζα και διασχίζει όλο το βλαστό και το μίσχο. Η μεταφορά νερού και θρεπτικών συστατικών επιτελείται μέσω των αγγείων του ξύλου τα οποία εντοπίζονται στην πλευρά της δεσμίδας που βρίσκεται προς την προσαξονική επιφάνεια του φύλλου, ενώ η εξαγωγή των φωτοσυνθετικών προϊόντων γίνεται μέσω των στοιχείων του ηθμού τα οποία εντοπίζονται στη πλευρά της δεσμίδας που βρίσκεται προς την αποαξονική επιφάνεια (Αϊβαλάκις, κ.α., 2003).

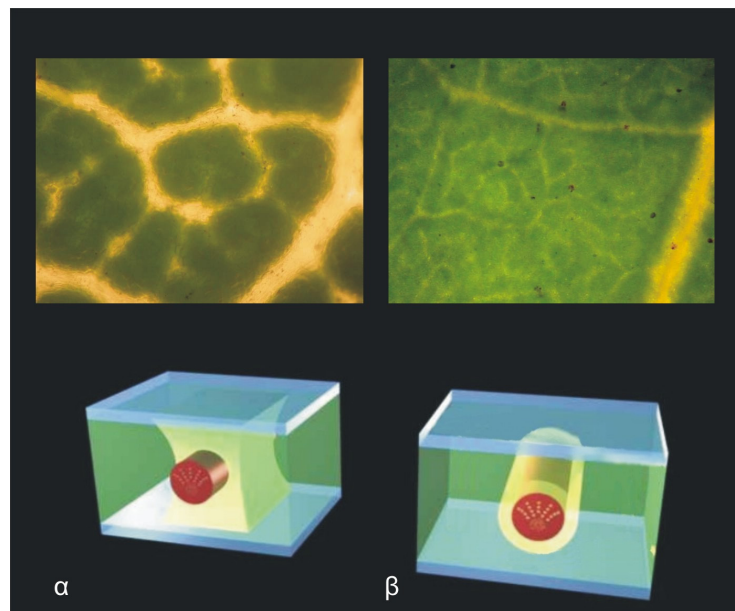
Οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες συνήθως προστατεύονται από σκληροχυματικές ίνες και περιβάλλονται από παρεγχυματικά κύτταρα του λεγόμενου δεσμικού κολεού. Οι σκληροχυματικές ίνες προσφέρουν μηχανική στήριξη και προστασία έναντι προσβολών παθογόνων και εντόμων. Η μηχανική θωράκιση φαίνεται ότι είναι

επιβεβλημένη αν ληφθεί υπόψη ότι οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες είναι εξαιρετικά πλούσιες σε θρεπτικά συστατικά και σάκχαρα, επομένως αποτελούν στόχο για τους βιοτικούς εχθρούς. Τα κύτταρα του δεσμικού κολεού βοηθούν κυρίως στη τροφοδότηση του ηθμού με σάκχαρα (Αιβαλάκης, κ.α., 2003).

Στα φύλλα πολυάριθμων φυτικών ειδών, κυρίως ξηροφύτων και δενδρωδών φυτικών ειδών, ο δεσμικός κολεός σχηματίζει προεκτάσεις που συγκροτούνται από κύτταρα παρεγχύματος, κολεγχύματος ή σκληρεγχύματος οι οποίες εφάπτονται των δύο επιδερμίδων του φύλλου. Οι προεκτάσεις αυτές προσφέρουν μηχανική στήριξη, προμηθεύουν με νερό τα επιδερμικά κύτταρα αλλά και μεταφέρουν φωτεινή ακτινοβολία στα κατώτερα στρώματα του μεσοφύλλου (Karabourniotis et al., 2000; Νικολοπούλου et al., 2002).

1.4.1. Φωτοσύνθεση σε ομοβαρή και ετεροβαρή φύλλα

Το σκληρέγχυμα του μεσοφύλλου απαντάται εκτός των άλλων και με την μορφή των προεκτάσεων των σκληρεγχυματικών κολεών. Σε αυτήν την περίπτωση οι σκληρεγχυματικές προεκτάσεις, δεν διαθέτουν μεσοκυττάρια χώρους και δημιουργούν κατά κάποιο τρόπο “στεγανά” διαμερίσματα στο φύλλο. Τα φύλλα του τύπου αυτού χαρακτηρίζονται ως “ετεροβαρή”, ενώ τα φύλλα που δεν διαθέτουν σκληρεγχυματικές προεκτάσεις χαρακτηρίζονται ως “ομοβαρή” (εικόνα 6). Η ύπαρξη



Εικόνα 6. Μικροφωτογραφία με διερχόμενο φως άθικτου φύλλου (πάνω) και σχηματική αναπαράσταση της διάταξης των ηθμαγγειωδών δεσμίδων και των δεσμικών κολεών σε ετεροβαρή (α) και ομοβαρή (β) φύλλα.

των συμπαγών αυτών εγκάρσιων φραγμάτων φαίνεται ότι επηρεάζει την διάχυση του CO₂, την ομοιογενή λειτουργία της φωτοσύνθεσης και το άνοιγμα των στομάτων (Terashima, 1992).

Στα ετεροβαρή φύλλα παρατηρείται σημαντικός εμπλουτισμός σε φωτεινή ακτινοβολία σε περιοχές του μεσοφύλλου οι οποίες βρίσκονται σε μεγάλη απόσταση από τις δύο επιφάνειες. Ο εμπλουτισμός αυτός είναι τόσο ποσοτικός, όσο και ποιοτικός, από την άποψη ότι η ακτινοβολία η οποία διαφεύγει από τις προεκτάσεις των σκληρογυματικών κολεών είναι εμπλουτισμένη σε φασματικές περιοχές αποδοτικότερες για την φωτοσύνθεση. Η κατανομή και η πυκνότητα των διαφανών περιοχών είναι σημαντική καθώς καθορίζει τη φωτοσυνθετική απόδοση των φύλλων (Nikolopoulos et al., 2002).

1.5. Η ανάπτυξη του φύλλου

1.5.1. Η οντογένεση του χλωροπλάστη

Η οντογένεση των χλωροπλαστών περιλαμβάνει την οργάνωση των θυλακοειδών και τη βιοσύνθεση των χρωστικών και των πρωτεϊνικών παραγόντων που συγκροτούν την λειτουργική φωτοσυνθετική συσκευή. Κατά την ανάπτυξη των φυτών, στα μεριστωματικά κύτταρα υπάρχουν μόνο προπλάστίδια, τα οποία στη συνέχεια διαφοροποιούνται ανάλογα με την διαφοροποίηση του κυττάρου που τα περιέχει. Έτσι τα προπλάστίδια που απαντούν σε φωτοσυνθετικό ιστό, διαφοροποιούνται σε χλωροπλάστες. Τα προπλάστίδια διαιρούνται καθώς το νεαρό έμβρυο αναπτύσσεται και εξελίσσονται σε χλωροπλάστες μετά την ανάπτυξη των φύλλων και των βλαστών και την έκθεση τους στο ηλιακό φως, η οποία αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για τη βιοσύνθεση των ειδικών φωτοσυνθετικών χρωστικών, των χλωροφυλλών και των καροτενοειδών (Δροσόπουλος, 1998).

Αμέσως μετά το ξεδίπλωμα του φύλλου οι μεμβράνες των θυλακοειδών είναι ολιγάριθμες, παράλληλα διατεταγμένες ενώ τα grana αποτελούνται από μικρό αριθμό θυλακοειδών (Kutík, 1998). Στο στρώμα εμφανίζονται πολυάριθμα ριβοσώματα και αμυλόκοκκοι μικρών διαστάσεων. Κατά το τέλος της περιόδου έκπτυξης του ελάσματος τα θυλακοειδή είναι ιδιαίτερα ανεπτυγμένα, με μεγάλων διαστάσεων grana τα οποία ενώνονται μέσω πολυάριθμων θυλακοειδών του στρώματος, ενώ οι αμυλόκοκκοι λαμβάνουν τις μέγιστες διαστάσεις τους (Kutík, 1998).

1.5.2. Μεταβολές της δομής και λειτουργίας των φύλλων αναφορικά με τη φωτοσυνθετική λειτουργία

Η κατανομή των στομάτων στην επιφάνεια των φύλλων δεν είναι τυχαία όπως φαίνεται με μια πρώτη προσέγγιση. Κατ' αρχήν τα ζεύγη των καταφρακτικών κυττάρων δεν έρχονται σε επαφή μεταξύ τους διότι μεσολαβεί τουλάχιστον ένα επιδερμικό κύτταρο (Sachs, 1991). Η διαφοροποίηση των στομάτων διαρκεί έως ότου το φύλλο να φτάσει το 10–50% του τελικού του μεγέθους. Ο αριθμός και η συχνότητα των στομάτων για ένα φύλλο αυξάνει, κατά την διάρκεια της περιόδου αυτής, ενώ στη συνέχεια προοδευτικά μειώνεται ανεξάρτητα από το γεγονός ότι τα επιδερμικά κύτταρα συνεχίζουν να εκτείνονται (Ticha, 1982).

Η οντογένεση των στομάτων πραγματοποιείται με την διαδοχική συμμετοχή τριών πρόδρομων κυττάρων. Το πρώτο ονομάζεται μεριστομοειδές μητρικό κύτταρο, το δεύτερο μεριστομοειδές κύτταρο και το τρίτο μητρικό καταφρακτικό κύτταρο (Zhao and Sack, 1999). Όσον αφορά στη χωροταξική κατανομή, τα μεριστομοειδή αλλά και τα ώριμα στόματα δημιουργούνται σε θέσεις οι οποίες βρίσκονται πάνω

από τα σημεία επαφής των κυττάρων του μεσοφύλλου, γεγονός που υποδηλώνει ότι η θέση που θα καταλάβουν τα στόματα στην επιδερμίδα είναι σε άμεση σχέση με τη διάταξη των κυττάρων του μεσοφύλλου ήδη από τα πολύ πρώιμα στάδια της οντογένεσης (Serna and Fenoll, 2000b). Ορισμένοι παράγοντες του περιβάλλοντος επηρεάζουν την οντογένεση των στομάτων. Σε πολλά φυτά ο αριθμός των στομάτων ανά μονάδα επιφάνειας, η κατανομή τους και το μέγεθος τους επηρεάζεται όχι μόνο από το αναπτυξιακό στάδιο του φύλλου αλλά και από την ακτινοβολία, την υγρασία, τη θερμοκρασία, τη διαθεσιμότητα του νερού και των θρεπτικών στοιχείων καθώς και τη συγκέντρωση του CO₂ (Ticha, 1982; Berger and Altmann, 2001; Beerling et al., 1998). Για παράδειγμα φυτά τα οποία αναπτύσσονται σε ξηρά εδάφη και χαμηλή ατμοσφαιρική υγρασία παρουσιάζουν μικρότερο αριθμό στομάτων σε σχέση με φυτά που αναπτύσσονται σε υγρά εδάφη και υψηλή σχετική υγρασία. Τα φυτά επίσης που αναπτύσσονται σε πλήρες ηλιακό φως διαθέτουν περισσότερα στόματα ανά επιφάνεια σε σχέση με αυτά που αναπτύσσονται σε σκιά (Willmer, 1983). Οι υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ στην ατμόσφαιρα επιφέρουν μείωση του αριθμού των στομάτων των νεαρών φύλλων. Είναι ενδιαφέρον ότι η μετάδοση του σήματος για την μείωση του αριθμού των στομάτων στα νεώτερα φύλλα προέρχεται από τα ώριμα γιατί έχει φανεί ότι τα πολύ νεαρά φύλλα δεν μπορούν να αντιληφθούν άμεσα την αλλαγή της συγκέντρωσης του CO₂ στην ατμόσφαιρα (Lake et al., 2001).

Το SLA αποτελεί μία ευρέως χρησιμοποιούμενη παράμετρο, η ελάττωση των τιμών της οποίας υποδηλώνει την επένδυση σε αμυντικές δομές ή/και συσσώρευση αμυντικών μεταβολιτών της προϋπάρχουσας άμυνας (Lambers and Poorter 1992). Κατά το στάδιο έκπτυξης των φύλλων τόσο η ανάπτυξη της επιφάνειας προβολής, όσο και το πάχος του ελάσματος ακολουθούν τυπική σιγμοειδή καμπύλη αύξησης (Gratani and Ghia, 2002; Gratani and Bombelli, 2000). Συνήθως οι τιμές της ειδικής φυλλικής επιφάνειας εμφανίζουν σταδιακή μείωση λόγω της εναπόθεσης ξηρής ουσίας και ανάλογα της αύξησης του πάχους του ελάσματος (Gratani and Ghia, 2002; Gratani and Bombelli, 2000; Tardieu et al 1999). Οι τιμές της παραμέτρου σταθεροποιούνται με την πλήρη έκπτυξη του ελάσματος.

1.5.2.1. Η μετάβαση του φύλλου από καταναλωτή σε παραγωγό

Ο ρόλος κάθε φύλλου κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής του υφίσταται μια βαθμιαία αλλαγή από την κατάσταση του καταναλωτή σε αυτήν του παραγωγού, όσον αφορά στα φωτοσυνθετικά προϊόντα. Ως σημεία παραγωγής θεωρούνται τυπικά τα ανεπτυγμένα φύλλα ενώ τα αναπτυσσόμενα φύλλα θεωρούνται ως καταναλωτές, δηλαδή όργανα τα οποία εισάγουν υψηλότερες ποσότητες φωτοσυνθετικών προϊόντων από αυτές που εξάγουν. Καθώς τόσο η εισαγωγή όσο και η εξαγωγή

φωτοσυνθετικών προϊόντων πραγματοποιείται μέσω των αγγείων του ηθμού, η μετάβαση ενός φύλλου από σημείο κατανάλωσης σε σημείο παραγωγής, αφορά εκτός από την ανάπτυξη μιας λειτουργικής και ποσοτικά ικανής φωτοσυνθετικής δραστηριότητας, την αλλαγή της κατεύθυνσης ροής των φωτοσυνθετικών προϊόντων του ρεύματος του ηθμού. Σε ορισμένα δικοτυλήδονα φυτά η αλλαγή αυτή φαίνεται ότι λαμβάνει χώρα όταν το φύλλο έχει ολοκληρώσει το 30–60% της πλήρους έκπτυξης του (Turgeon 1989). Ωστόσο θεωρείται βέβαιο ότι μεσολαβεί μια παρατεταμένη μεταβατική περίοδος, κατά την οποία μέσα στον ηθμό παρατηρείται κίνηση φωτοσυνθετικών προϊόντων και προς τις δυο κατευθύνσεις, δηλαδή υπάρχουν ταυτόχρονα ομάδες ηθμοσωλήνων που εισάγουν και ομάδες ηθμοσωλήνων που εξάγουν φωτοσυνθετικά προϊόντα (Turgeon 1989).

Η μετάβαση ενός φύλλου, από την κατάσταση του καταναλωτή σε αυτήν του παραγωγού, σχετίζεται με χαρακτηριστικές αλλαγές στην ανατομία του φύλλου καθώς επίσης και με αλλαγή στη δραστηριότητα συγκεκριμένων ενζύμων. Επίσης μπορεί να οφείλεται και σε μια ραγδαία μείωση του αριθμού των πλασμοδεσμών που συνδέουν ανεξάρτητα κύτταρα του φύλλου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την συμπλασμική απομόνωση του ηθμού.

Ο μηχανισμός με τον οποίο ρυθμίζεται η εισαγωγή και εξαγωγή των φωτοσυνθετικών προϊόντων κατά την διάρκεια ανάπτυξης των φύλλων δεν έχει ακόμα διευκρινισθεί.

1.6. Επίδραση της ανόργανης θρέψης στην απόδοση των φυτών

Μεταξύ των παραγόντων που καθορίζουν την ανάπτυξη και παραγωγικότητα των φυτών, κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζει η ανόργανη διατροφή. Η επαρκής τροφοδοσία των φυτών με θρεπτικά στοιχεία δεν αφορά μόνο το στάδιο της ταχείας αύξησης αλλά το σύνολο του βιολογικού κύκλου ενός φυτού. Κάθε θρεπτικό στοιχείο απαιτείται εντός του φυτικού σώματος σε τιμές συγκέντρωσης υψηλότερες μιας οριακής τιμής. Όταν οι τιμές συγκέντρωσης ενός θρεπτικού στοιχείου είναι κάτω από το όριο αυτό, ο ρυθμός μειώνεται καθώς η τροφοδοσία του συγκεκριμένου στοιχείου είναι πλέον περιοριστική για την αύξηση (Δροσόπουλος, 1998). Τιμές συγκέντρωσης ενός θρεπτικού στοιχείου μεταξύ των ορίων ανεπάρκειας και τοξικότητας είναι αυτές που καθορίζουν την βέλτιστη αποδοτικότητα του φυτού. Ορισμένα θρεπτικά στοιχεία απαιτούνται για την ομαλή ανάπτυξη και λειτουργία των φυτών επειδή συμμετέχουν στη δομή κρίσιμων ενζυμικών μηχανισμών ή άλλων δομών. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν κυρίως τα ιχνοστοιχεία. Από την άλλη πλευρά τα μακροστοιχεία, εκτός των άλλων λειτουργικών ρόλων είναι απαραίτητα καθώς λαμβάνουν μέρος ως υποστρώματα του μεταβολισμού και συνιστούν το μεγαλύτερο μέρος της βιομάζας των φυτών.

1.6.1. Σχέση αζώτου και φωτοσύνθεσης

Το άζωτο αποτελεί το τέταρτο σε σειρά σύστασης της ξηρής ουσίας των φυτών στοιχείο (μετά τον άνθρακα, το οξυγόνο και το υδρογόνο). Είναι ουσιώδες συστατικό των πρωτεϊνών, των νουκλεϊνικών οξέων, ορισμένων ορμονών, της χλωροφύλλης και πολλών άλλων σημαντικών παραγόντων του πρωτογενούς και δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών (Δροσόπουλος, 1998). Στα οικοσυστήματα το άζωτο κατανέμεται μεταξύ του αέρα, του εδάφους και της βιομάζας. Παρά το γεγονός ότι η ατμόσφαιρα αποτελείται κατά 80% από άζωτο, τα περισσότερα φυτά δεν μπορούν να χρησιμοποιήσουν απ' ευθείας το αέριο N₂. Αντίθετα το άζωτο απορροφάται από τις ρίζες και μάλιστα με μορφή νιτρικών κυρίως, αλλά και αμμωνιακών ιόντων (Αϊβαλάκης, 2003).

Σε ευνοϊκές συνθήκες θρέψης, παρατηρούνται θετικές συσχετίσεις μεταξύ των περιεχόμενων στα φύλλα ανόργανων συστατικών και του ρυθμού φωτοσύνθεσης. Κατά κανόνα οι συσχετίσεις αυτές μπορούν έμμεσα να καταδείξουν τα όρια επάρκειας ενός στοιχείου, όπως του αζώτου (Natr, 1975). Έχει βρεθεί ότι στα φωτοσυνθετικά κύτταρα το 75% περίπου του οργανικού αζώτου εντοπίζεται στους χλωροπλάστες, συμμετέχοντας κυρίως στη δομή των πρωτεϊνών (Spencer and Possingham, 1960). Πράγματι, έχει βρεθεί ότι οι μεταβολές στη συγκέντρωση αζώτου

των ιστών σχετίζονται με το πρωτεϊνικό τους περιεχόμενο (McGuire and Melillo, 1995).

Σε περίπτωση εκτεταμένης έλλειψης αζώτου, η απόδοση της φωτοσύνθεσης πέφτει σε πολύ χαμηλά επίπεδα, ενώ ένα μεγάλο ποσοστό της ηλιακής ενέργειας που δεν χρησιμοποιείται για φωτοσύνθεση, αποσβένεται με την μορφή θερμότητας μέσω των φωτοπροστατευτικών μηχανισμών της φωτοσυνθετικής συσκευής (Demming and Winter, 1988; Demming-Adams et al., 1994). Παρόλα αυτά, η φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μονάδα χλωροφύλλης μπορεί ακόμα και να αυξηθεί σε συνθήκες έλλειψης αζώτου (Khamis et al., 1990).

Η συγκέντρωση αζώτου που παρατηρείται σε κάθε φύλλο υπό ισόρροπες εδαφοκλιματικές συνθήκες εξαρτάται από τη στρατηγική που ακολουθεί το συγκεκριμένο φυτικό είδος. Η στρατηγική περιγράφεται κυρίως από το μέσο χρόνο ζωής των φύλλων η οποία με τη σειρά της σχετίζεται με την αποδοτικότητα χρήσης του αζώτου για παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (Westoby et al. 2002). Όταν ο μέσος χρόνος ζωής ενός φύλλου είναι μικρός (φυλλοβόλα είδη και αείφυλλα είδη με μέσο χρόνο ζωής φύλλου χαμηλότερο των 18 μηνών) η συγκέντρωση του αζώτου ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου είναι συνήθως υψηλή ενώ αντίθετα όταν ο μέσος χρόνος ζωής ενός φύλλου είναι μεγάλος (αείφυλλα είδη με μέσο χρόνο ζωής φύλλου υψηλότερο των 18 μηνών) η συγκέντρωση του αζώτου ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου είναι συγκριτικά χαμηλότερη (Escudero and Medavilla, 2003). Για την αποδοτική χρήση της επένδυσης των αποθεμάτων αζώτου ανά φύλλο αναφορικά με την παραγωγή οργανικού άνθρακα, στα φυτικά είδη όπου παρατηρείται μικρός μέσος χρόνος ζωής φύλλου, οι καθαροί φωτοσυνθετικοί ρυθμοί προβλέπεται να είναι συγκριτικά υψηλότεροι (Kikuzawa, 1991).

1.6.2. Σχέση αζώτου και φωτοσύνθεσης κατά την ανάπτυξη των φύλλων

Η μελέτη της σχέσης αζώτου και φωτοσύνθεσης έχει ιδιαίτερη σημασία για τα φύλλα καθώς οι ποσότητες του αζώτου οι οποίες επενδύονται στη δόμηση της φωτοσυνθετικής μηχανής (κυρίως υπό μορφή πρωτεϊνών) είναι υψηλές. Στα νεαρά στάδια ανάπτυξης των φύλλων, οι συγκεντρώσεις του αζώτου τόσο ανά μονάδα φυλλικής μάζας όσο και ανά επιφάνεια είναι ιδιαίτερα υψηλές (Osaki and Shinano 2001; Osaki et al. 2001). Κατά την πορεία ανάπτυξης των φύλλων έως και το στάδιο της πλήρους έκπτυξης, σε ένα αριθμό ποωδών φυτών, η συγκέντρωση του αζώτου ανά επιφάνεια ελάσσεται μειώνεται εκθετικά (Osaki and Shinano 2001). Γενικά παρατηρείται μια θετική συσχέτιση μεταξύ περιεχόμενου αζώτου και φωτοσυνθετικής ικανότητας των φύλλων στον κορεσμό. Ωστόσο, κατά την ανάπτυξη των φύλλων και στα νεαρά αναπτυξιακά στάδια, οι υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου δεν συνεπάγονται υψηλούς φωτοσυνθετικούς ρυθμούς (Osaki and Shinano 2001),

πιθανότατα επειδή το φύλλο δεν έχει αναπτύξει το πλήρες δυναμικό των μηχανισμών οι οποίοι σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική λειτουργία, όπως για παράδειγμα η διαπνευστική λειτουργία. Έτσι, παρατηρείται μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ φωτοσυνθετικής ικανότητας και συγκέντρωσης αζώτου, κατά τη διάρκεια έκπτυξης του ελάσματος (Osaki and Shinano 2001).

Είναι γνωστό ότι η φωτοσύνθεση και ο μεταβολισμός του άνθρακα επηρεάζουν τα ποσά του αζώτου τα οποία επενδύονται σε δεδομένο φύλλο. Υπάρχουν αναφορές σύμφωνα με τις οποίες η συγκέντρωση του αζώτου, είτε εξωγενούς προέλευσης είτε μέσω επαναδιανομής από παλαιότερα όργανα, συσχετίζεται με το ρυθμό παραγωγής φωτοσυνθετικών προϊόντων (Dreccer et al. 2000, Osaki and Shinano 2001). Για τους ίδιους λόγους, τα ποσά αζώτου σε δεδομένο φύλλο διαμορφώνονται και από την ένταση της ακτινοβολίας η οποία επικρατεί κατά τη διάρκεια της έκπτυξης του (Dreccer et al. 2000).

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Από προηγούμενες εργασίες της ομάδας μας έχει αποσαφηνιστεί ο οπτικός ρόλος των προεκτάσεων των δεσμικών κολεών των ηθμαγγειωδών δεσμίδων των φύλλων. Σύμφωνα με τα ευρήματα, οι δομές αυτές, οι οποίες χαρακτηρίζουν τα ετεροβαρή φύλλα, προσφέρουν πλεονέκτημα όσον αφορά στον εμπλουτισμό με φως των εσωτερικών στρωμάτων του χλωρεγχύματος. Χωρίς τις δομές αυτές, τα κύτταρα των εσωτερικών στρωμάτων θα βρίσκονταν σε συνθήκες μειωμένης έντασης φωτεινής ακτινοβολίας και ενδεχομένως η φωτοσυνθετική τους λειτουργία θα διεξαγόταν σε ρυθμούς μικρότερους του κορεσμού, ιδιαίτερα σε φύλλα με μεγάλο πάχος ελάσματος.

Με βάση τα παραπάνω, στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση των παραγόντων εκείνων οι οποίοι συμμετέχουν στην διαμόρφωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας. Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκαν δύο φυτικά είδη, ένα ομοβαρές και ένα ετεροβαρές και μελετήθηκαν συγκριτικά όσον αφορά σε κρίσιμες ανατομικές, βιοχημικές και φυσιολογικές παραμέτρους κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους. Μελετήθηκε το αναπτυξιακό πρότυπο, η φωτοσυνθετική λειτουργία στον κορεσμό και η αποδοτικότητα της φωτοσύνθεσης σε αναφορά με διάφορους πόρους του περιβάλλοντος όπως η επένδυση σε άνθρακα και άζωτο των φύλλων, η χρήση νερού και η εκμετάλλευση της φωτεινής ακτινοβολίας.

II. Υλικά και Μέθοδοι

II.1. Φυτικό Υλικό

Ως πειραματόφυτα επιλέχθηκαν δυο είδη φυτών το λιγούστρο (*Ligustrum japonicum*) το οποίο διαθέτει ομοβαρή φύλλα, και η αμυγδαλιά (*Prunus amygdalus*) η οποία διαθέτει ετεροβαρή φύλλα. Το λιγούστρο είναι πολυετής εύρωστος θάμνος ή δενδρύλλιο, αειθαλές, με ύψος που φτάνει τα 3 μέτρα και διάμετρο βλαστού έως ένα μέτρο. Διαθέτει μεγάλα, λαμπερά, σκουροπράσινα φύλλα. Παράγει λευκά, αρωματικά άνθη, σε φοβοειδείς ταξιανθίες.

Η αμυγδαλιά είναι το φυλλοβόλο δένδρο με μεγάλο ετήσιο κύκλο βλαστήσεως. Είναι σκληρό και ανθεκτικό δένδρο με υπερπρώϊμη ανθοφορία που αντέχει στα ασβεστώδη εδάφη και την ξηρασία. Μπορεί να φτάσει τα δώδεκα μέτρα ύψος. Φύλλα πράσινα, γυαλιστερά, οδοντωτά, αδενοφόρα χωρίς τριχίδια. Έχουν μακρύ μίσχο με δυο παράφυλλα στην βάση τους.

II.2. Δειγματοληψίες

Για τις ανάγκες των πειραματικών μετρήσεων επιλέχθηκαν πέντε υγιή και ομοιόμορφα φυτά από κάθε είδος. Σε κάθε φυτό σημάνθηκαν για δειγματοληψία και μετρήσεις *in planta* τέσσερις κλάδοι. Ωστόσο, ο αριθμός των συλλεγόμενων φύλλων ανά κόμβο και επανάληψη εξαρτιόταν από το μέγεθος των φύλλων ώστε κάθε φορά να συλλέγεται ξηρό βάρος δείγματος ικανό για αναλύσεις. Έτσι, ενδεικτικά για τον πρώτο κόμβο σε κάθε δείγμα συλλέχθηκαν κατά μέσο όρο 20–40 φύλλα, ενώ για τα πλήρως εκπτυγμένα φύλλα 2–4 φύλλα ανά δείγμα. Για το λιγούστρο συλλέχθηκαν δείγματα από τους κόμβους 1, 2, 3, 4, 5 και 7 (πλήρως εκπτυγμένα φύλλα) ενώ για την αμυγδαλιά από τους κόμβους 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 και 11 (πλήρως εκπτυγμένα φύλλα) μετρώντας από την κορυφή του βλαστού. Τα φύλλα που συλλέχθηκαν ήταν από κλάδους με νότιο προσανατολισμό.

Η δειγματοληψία για το λιγούστρο διεξήχθη στον περιβάλλοντα χώρο, ενώ για την αμυγδαλιά στο δενδροκομείο του Γ.Π.Α. Οι δειγματοληψίες έλαβαν χώρα στο διάστημα 6–19 Μαΐου ενώ οι εργαστηριακές αναλύσεις ολοκληρώθηκαν στις 7 Νοεμβρίου 2003.

II.3. Μορφολογικές παράμετροι

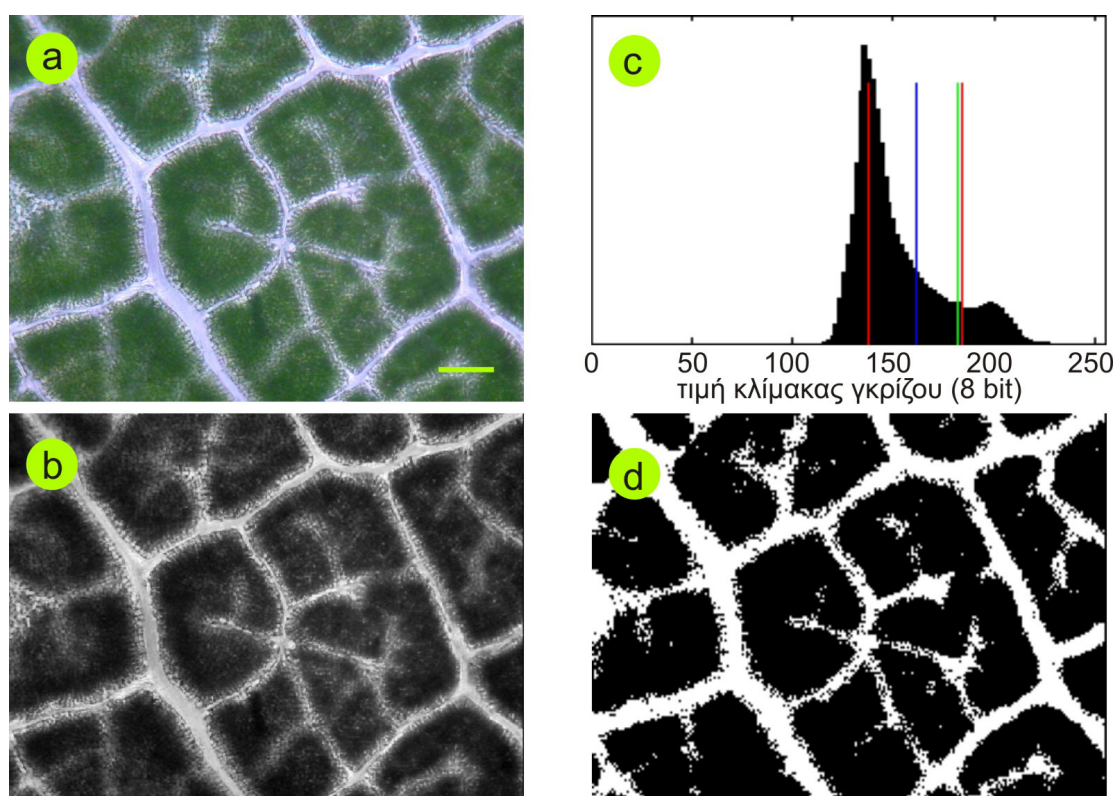
II.3.1. Μέτρηση Πάχους Φύλλου και Ειδικής Φυλλικής Επιφάνειας

Για τη μέτρηση του πάχους των φύλλων έγιναν τμήσεις με το χέρι σε νωπά φύλλα και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο (Zeiss Axiolab (Carl Zeiss, Jena, Germany)). Για τη μέτρηση της ειδικής φυλλικής επιφάνειας (SLA) τα φύλλα φωτογραφήθηκαν

νωπά ώστε να μετρηθεί η επιφάνεια του ελάσματος και στη συνέχεια μετά από αφυδάτωση στους 70° C για 48 ώρες και παραμονή σε ξηραντήρα για 24 ώρες μετρήθηκε το ξηρό βάρος.

Π.3.2. Μέτρηση Ποσοστού Διαφανών Περιοχών του Ελάσματος

Για την μέτρηση του ποσοστού των διαφανών περιοχών ελήφθησαν φωτογραφίες του ελάσματος άθικτων φύλλων. Για το σκοπό αυτό, δίσκοι φύλλων τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρο πλάκα και φωτίστηκαν από την αποαξονική επιφάνεια. Οι μικροφωτογραφίες καταγράφηκαν σε ψηφιακή φωτογραφική μηχανή τύπου CyberShot DSC-S75 (SONY Corporation, Japan) και αποθηκεύτηκαν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή σε ψηφιακή μορφή. Η διάκριση των διαφανών περιοχών που



Εικόνα 7. Ενδεικτική αλληλουχία ανάλυσης εικόνας για τον υπολογισμό του ποσοστού των διαφανών περιοχών του φύλλου **a.** Αρχική μικροφωτογραφία φύλλου αμπελιού με διελαύνον φως **b.** Η ίδια μικροφωτογραφία μετά από τη μετατροπή της σε εικόνα γκριζας κλίμακας 256 αποχρώσεων **c.** Το ιστογράμμο συχνοτήτων των τιμών έντασης των εικονοστοιχείων. Στο διάγραμμα με κόκκινη γραμμή επισημαίνονται τα δύο μέγιστα (το πρώτο αντιστοιχεί στα εικονοστοιχεία που συνιστούν τις περιοχές του μεσοφύλλου οι οποίες αποτελούνται από χλωροφυλλούχο παρέγχυμα ενώ το δεύτερο στα εικονοστοιχεία που συνιστούν τις διαφανείς περιοχές). Με πράσινη γραμμή επισημαίνεται το ελάχιστο του ιστογράμματος ενώ με μπλε γραμμή ο αριθμητικός μέσος των δύο μεγίστων ο οποίος επιλέγεται ως τιμή διαχωρισμού. **d.** Η τελική δυαδική εικόνα μετά την επεξεργασία. Το ποσοστό των διαφανών περιοχών επί του συνόλου της φυλλικής επιφάνειας στη συγκεκριμένη εικόνα είναι 28% .Κλίμακα 100 μm .

αντιστοιχούν στους κολεούς των ηθμαγγειωδών δεσμίδων του φύλλου από τα χλωροφυλλούχα διαμερίσματα του ελάσματος έγινε με τη βοήθεια προγράμματος ψηφιακής ανάλυσης εικόνας το οποίο αναπτύχθηκε σε περιβάλλον MatLab 60088 (Mathworks Inc, USA), (Nikolopoulos *et al*, 2002). Σύμφωνα με την παραπάνω μεθοδολογία, οι ψηφιακές μικροφωτογραφίες (εικόνα 7a) μετατρέπονται σε μορφή γκριζας κλίμακας βάθους 8-bit (εικόνα 7b) και εξάγεται το ιστόγραμμα των συχνοτήτων των εντάσεων των εικονοστοιχείων (εικόνα 7c). Ακολούθως εφαρμόζεται αλγόριθμος ο οποίος έχει ως εξεγόμενο την τιμή της έντασης για κάθε ένα από τα δύο μέγιστα του ιστογράμματος (εικόνα 7c). Ως σημείο διαχωρισμού των εντάσεων των εικονοστοιχείων για τη μετατροπή της εικόνας σε δυαδική μορφή (εικόνα 7d) επιλέγεται ο αριθμητικός μέσος των δύο μεγίστων (εικόνα 7c). Τέλος μετράται το ποσοστό των διαφανών περιοχών ως προς τη συνολική επιφάνεια της εικόνας (εικόνα 7).

II.3.3. Μετρήσεις Φωτοσύνθεσης και Συναφών Παραμέτρων

Οι μετρήσεις της φωτοσύνθεσης διεξήχθησαν στο διάστημα 14–21 Μαΐου κατά τις πρωινές ώρες 08⁰⁰–12⁰⁰ ηλιόλουστων ημερών με φυσικό φωτισμό έντασης 1500 μmol φωτονίων m⁻² s⁻¹, θερμοκρασία αέρα 30⁰ C, σχετική υγρασία αέρα 30% και ατμοσφαιρική συγκέντρωση διοξειδίου 380 ppm. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το φορητό όργανο μέτρησης φωτοσύνθεσης LI-6400 (Li-COR, Lincoln, NE, USA).

II.4. Βιοχημικές παράμετροι

II.4.1. Μέτρηση συγκέντρωσης χλωροφυλλών

Για τη μέτρηση των χλωροφυλλών χρησιμοποιήθηκε φορητό όργανο μέτρησης (SPAD 502, Minolta Co. Japan) και οι μετρήσεις παρουσιάζονται σε τιμές της κλίμακας SPAD.

II.4.2. Μέτρηση συγκέντρωσης αζώτου

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

II.4.2.1. Προετοιμασία δειγμάτων

Τα δείγματα αφυδατώθηκαν σε κλίβανο στους 70⁰C για 48 ώρες, και στην συνέχεια λειοτριβήθηκαν και ομογενοποιήθηκαν. Διατηρήθηκαν σε ξηραντήρα μέχρι την στιγμή που χρησιμοποιήθηκαν.

II.4.2.2. Καύση δειγμάτων

Η ξηρά ουσία κάθε δείγματος ζυγίστηκε, τοποθετήθηκε σε φιάλη microkjeldahl και προστέθηκε 1 ml πυκνού H_2SO_4 και επαρκής ποσότητα καταλύτη (παρασκευαζόμενο με λειοτριβήση και ομογενοποίηση 1gr $CuSO_4$, 8 gr K_2SO_4 και 1gr SeO_2). Με την χρήση Vortex εξασφαλίστηκε η ομογενοποίηση και ολική διαβροχή του δείγματος. Στην συνέχεια η φιάλη τοποθετήθηκε σε θερμαντικό στοιχείο Tecator Block Digestor 2006 (Diversified Equipment Company, Lorton, VA, USA) στους $410^{\circ}C$ για περίπου 20–30 min μέχρι το περιεχόμενο να γίνει τελείως διαυγές και με χρώμα πράσινο του μήλου. Κατά την διάρκεια της καύσης πραγματοποιείται οξείδωση της οργανικής ουσίας με αποτέλεσμα το άζωτο (εκτός αυτού που βρίσκεται υπό μορφή νιτρικών ιόντων) να μετατρέπεται ποσοτικά σε αμμωνία και αυτή σε θειικό αμμώνιο. Κρίνεται σκόπιμη κατά τη διάρκεια της καύσης η ανάδευση των φιαλών microkjeldahl ανά 10 λεπτά περίπου.

II.4.2.3. Στάδιο απόσταξης

Το προϊόν της καύσης μεταφέρθηκε σε κυλινδρική φιάλη Kjeldahl. Για την ποσοτική μεταφορά του προϊόντος έγιναν πλύσεις κάθε φιάλης microkjeldahl με 10 ml απεσταγμένου νερού. Ακολούθως προστέθηκαν 10 ml $NaOH$ 40% w/v. Στη συνέχεια η φιάλη Kjeldahl τοποθετήθηκε στην κατάλληλη θέση σε αποστακτήρα Tecator Kjeltec System 1002 Distilling Unit (Diversified Equipment Company). Στην θέση συλλογής του αποστάγματος της συσκευής τοποθετήθηκε γυάλινη κωνική φιάλη των 100 ml που περιείχε 20 ml H_3BO_3 2% w/w και 3 σταγόνες δείκτη Conway (παρασκευαζόμενου με ανάμιξη 12 ml δ/τος Α (ως 25 ml αιθυλικής αλκοόλης 95% και 40 mg ερυθρού του μεθυλίου και μηχανική ανάδευση με ελαφρά θέρμανση κατά την οποία τα αντιδραστήρια πρέπει να διαλυθούν πλήρως), 24 ml δ/τος Β (ως 25 ml απεσταγμένου νερού και 10 mg πράσινου της βρωμοκρεσόλης και ανάδευση) και 12 ml αλκοόλης 95%. Τελικός όγκος δείκτη 48 ml).

Ακολούθησε απόσταξη κατά την οποία το θειικό αμμώνιο σε αλκαλικό περιβάλλον διασπάται και παράγεται αμμωνία η οποία διαβιβάζεται στην κωνική με το διάλυμα βορικού οξέος. Η απόσταξη συνεχίστηκε έως συνολικού όγκου 40 ml του διαλύματος απόσταξης.

II.4.2.4. Τίτλοδότηση δειγμάτων

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

Π.4.2.5. Υπολογισμός περιεχόμενου αζώτου

Για την αναγωγή των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε σειρά πρότυπων διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης αζώτου ($10\text{--}100\text{ mg l}^{-1}$, 6 σημεία, $r^2\ 0,9972$). Σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη αναφοράς, 1 ml HCl N/28 αντιστοιχούσε σε 0,52 mg αζώτου.

Π.4.2.6. Πιστοποίηση μεθόδου

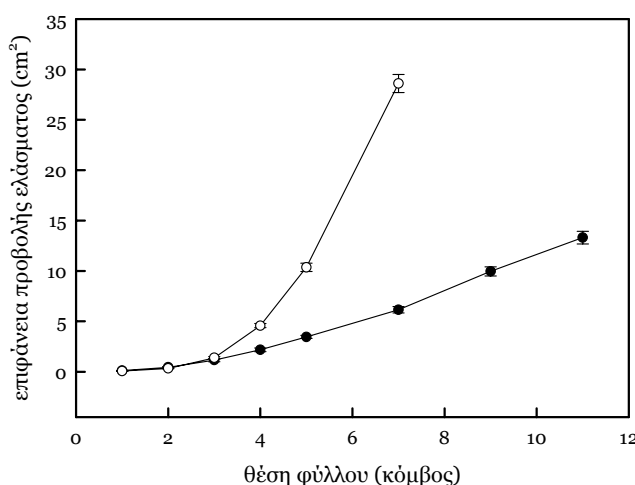
Για την πιστοποίηση της αξιοπιστίας της μεθόδου σε δείγματα χαμηλού βάρους (έως 5 mg ξ.ο.), πραγματοποιήθηκαν σειρές μετρήσεων πρότυπου δείγματος φυτικού υλικού (συγκέντρωσης $0,025\text{ mg N mg}^{-1}\ \xi.ο.$) σε τιμές ξ.ο. 5–100 mg. Η απόκλιση τριών επαναλήψεων του μικρότερου δείγματος (5 mg ξ.ο.) από την αναμενόμενη τιμή ήταν μικρότερη του 4%.

III. Αποτελέσματα

III.1. Μορφολογικές παράμετροι

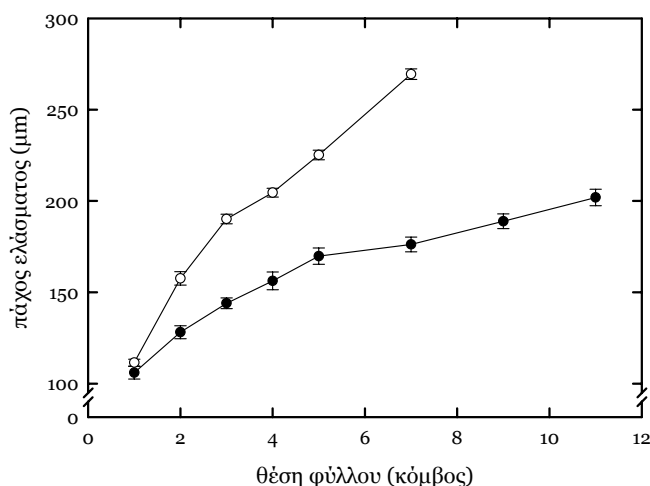
Στην εικόνα 8 παρουσιάζεται η μέση επιφάνεια προβολής του ελάσματος για τα δύο είδη. Πρέπει να σημειωθεί ότι τόσο στην περίπτωση της αμυγδαλιάς όσο και, σε μεγαλύτερο βαθμό, σε αυτή του λιγούστρου η έκπτυξη του ελάσματος δεν είχε ολοκληρωθεί την περίοδο της δειγματοληψίας. Ωστόσο, η περίοδος της δειγματοληψίας καθορίστηκε με βάση το ανώτατο χρονικό όριο της ύπαρξης των πολύ νεαρών αναπτυξιακών σταδίων. Σε κάθε περίπτωση, τα φύλλα των μεγαλύτερων κόμβων των μετρήσεων ήταν αυτά του ωριμότερου αναπτυξιακού σταδίου που ήταν διαθέσιμο τη συγκεκριμένη χρονική στιγμή για κάθε φυτικό είδος.

Το πρότυπο της έκπτυξης του ελάσματος των φύλλων ήταν το αναμενόμενο και για τα δύο είδη. Ωστόσο στην περίπτωση του λιγούστρου η έκπτυξη του ελάσματος είναι ταχύτερη έναντι αυτής της αμυγδαλιάς με την καμπύλη αύξησης να παρουσιάζει εκθετική μορφή συναρτήσεως του χρόνου. Επιπρόσθετα το φύλλο του λιγούστρου αναπτύσσει πολύ μεγαλύτερη επιφάνεια προβολής του ελάσματος συγκριτικά με το φύλλο της αμυγδαλιάς (εικόνα 8).

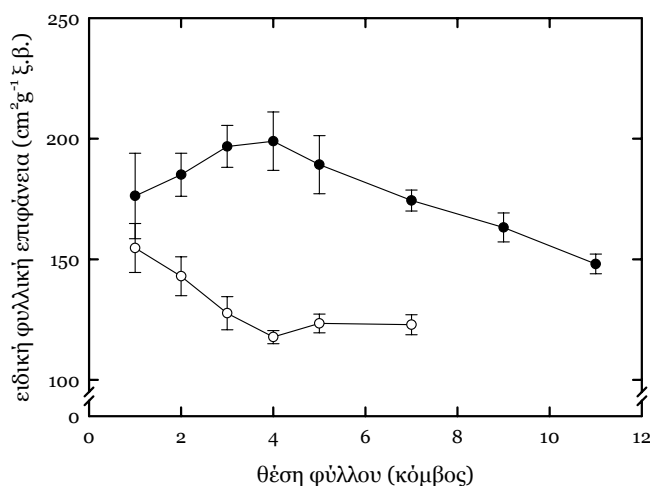


Εικόνα 8. Η μέση επιφάνεια προβολής του ελάσματος σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

Το πάχος του ελάσματος διαμορφώθηκε με ανάλογο τρόπο και στα δύο είδη κατά την πορεία της έκπτυξης του ελάσματος. Στην εικόνα 9 φαίνεται η αύξηση του πάχους στα διάφορα αναπτυξιακά στάδια. Επισημαίνουμε ότι το έλασμα του φύλλου του λιγούστρου είναι αρκετά παχύτερο αυτού της αμυγδαλιάς.



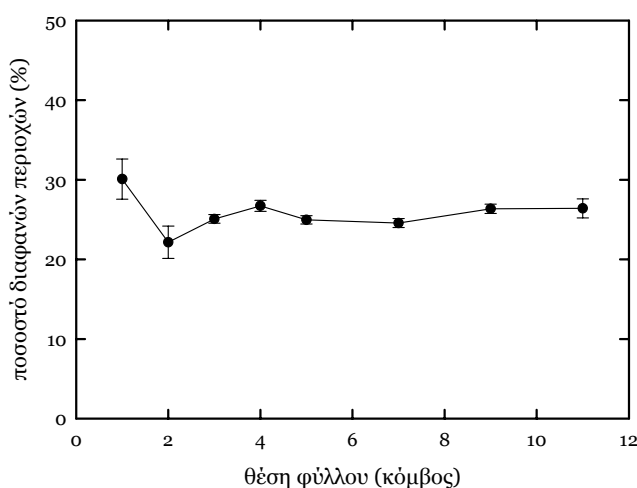
Εικόνα 9. Το πάχος του ελάσματος σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 12 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).



Εικόνα 10. Η ειδική φυλλική επιφάνεια (SLA) σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

Η πορεία διαμόρφωσης της παραμέτρου SLA στη διάρκεια ανάπτυξης των φύλλων των δύο ειδών παρουσιάζεται στην εικόνα 10. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι στα δύο αυτά είδη το έλασμα αναπτύσσεται με διαφορετικό τρόπο. Στο λιγούστρο παρατηρούμε μια σταδιακή πτώση (γεγονός που σχετίζεται με την αύξηση της σκληροφυλλίας) στις τιμές της παραμέτρου SLA από τα πολύ νεαρά αναπτυξιακά στάδια, ενώ οι τιμές σταθεροποιούνται από το στάδιο του 4^{ου} κόμβου και εξής (εικόνα 10). Αντίθετα στην περίπτωση της αμυγδαλιάς, οι τιμές του δείκτη SLA παρουσιάζουν αύξηση από το στάδιο του 1^{ου} έως και αυτό του 4^{ου} κόμβου και

σταδιακή μείωση από το στάδιο του 4^{ου} κόμβου και μέχρι το τέλος της έκπτυξης. Το γεγονός αυτό φανερώνει ότι στο φύλλο της αμυγδαλιάς οι σχετικοί ρυθμοί της αύξησης της επιφάνειας προβολής και της επένδυσης σε ξηρή μάζα ανά επιφάνεια του ελάσματος δεν είναι σταθεροί κατά την πορεία της έκπτυξης του φύλλου. Έτσι, από τον 1^ο έως και τον 4^ο κόμβο παρατηρείται αυξημένος ρυθμός έκπτυξης του ελάσματος αναφορικά με τον ρυθμό εναπόθεσης ξηρής μάζας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του δείκτη SLA. Το αντίθετο συμβαίνει μετά το στάδιο του 4^{ου} κόμβου.

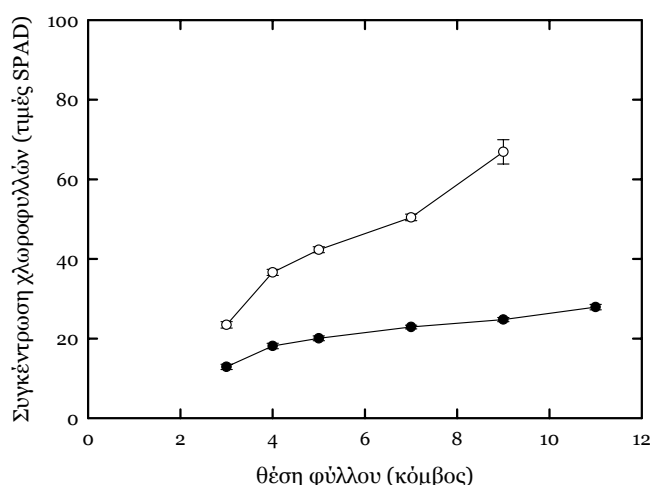


Εικόνα 11. Το ποσοστό των διαφανών περιοχών του ελάσματος σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων του είδους *Prunus amygdalus*. Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

Μια σημαντική παράμετρος που χαρακτηρίζει τα ετεροβαρή φύλλα, το ποσοστό κάλυψης του ελάσματος από τις προεκτάσεις των δεσμικών κολεών παρουσιάζεται στην εικόνα 11. Οι περιοχές αυτές δεν περιλαμβάνουν φωτοσυνθετικά κύτταρα και ως εκ τούτου εμφανίζονται διαφανείς και με υψηλό βαθμό περατότητας στην ακτινοβολία. Για το λιγούστρο δεν υπάρχουν ανάλογα δεδομένα, αφού διαθέτει ομοβαρή φύλλα. Στην εικόνα 11 παρατηρούμε ότι μετά το στάδιο του 1^{ου} κόμβου παρατηρείται μια σχετική μείωση της τιμής του ποσοστού ενώ ακολούθως παραμένει σε σχετικά σταθερά επίπεδα.

III.2. Φωτοσυνθετικές παράμετροι

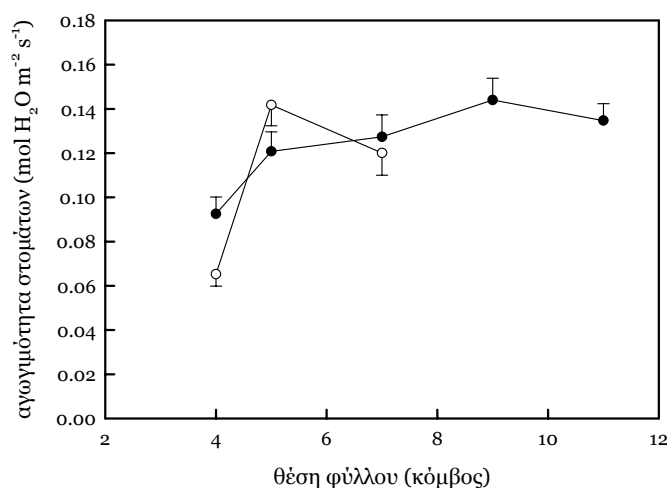
Στην εικόνα 12 παρουσιάζονται οι μεταβολές της συγκέντρωσης χλωροφυλλών στο έλασμα κατά τη διάρκεια έκπτυξης των φύλλων. Παρατηρούμε ότι τόσο στην αμυγδαλιά όσο και στο λιγούστρο οι τιμές της συγκέντρωσης χλωροφυλλών αυξάνονται σταδιακά, φτάνοντας, ωστόσο, στην περίπτωση του λιγούστρου σε πολύ υψηλότερες τιμές (περίπου 300% υψηλότερες) συγκριτικά με την περίπτωση της αμυγδαλιάς.



Εικόνα 12. Η συγκέντρωση χλωροφυλλών του ελάσματος σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

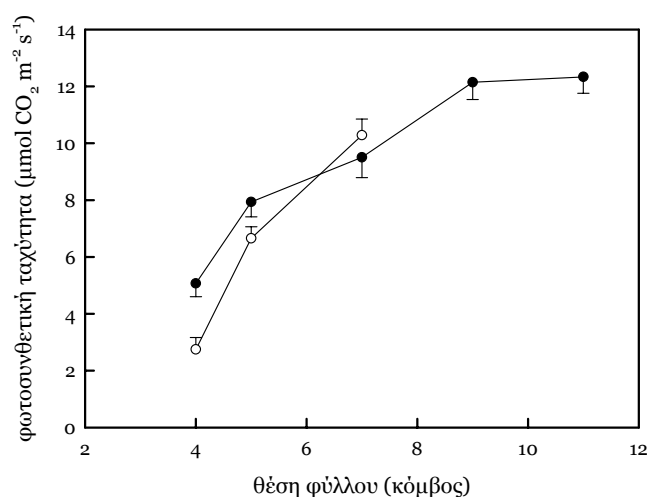
Στην εικόνα 13 παρουσιάζονται οι μεταβολές της αγωγιμότητας των στομάτων στο νερό κατά την διάρκεια έκπτυξης των φύλλων των δύο φυτικών ειδών. Στην αμυγδαλιά παρατηρούμε μια σταδιακή αύξηση των τιμών της παραμέτρου μέχρι και το στάδιο του 9^{ου} κόμβου. Στην περίπτωση του λιγούστρου παρατηρείται μεγάλη αύξηση των τιμών της αγωγιμότητας στομάτων μεταξύ του σταδίου του 4^{ου} και 5^{ου} κόμβου και μια σχετική μείωση των τιμών της αγωγιμότητας στο στάδιο του 7^{ου} κόμβου.

Η τρέχουσα φωτοσυνθετική ταχύτητα εμφανίζεται ιδιαίτερα χαμηλή στα νεαρά αναπτυξιακά στάδια των φύλλων και των δύο φυτικών ειδών. Κατά τη διάρκεια της έκπτυξης του ελάσματος, οι τιμές της φωτοσυνθετικής ταχύτητας αυξάνονται φτάνοντας σε φυσιολογικές τιμές στα στάδια του 9^{ου} και 7^{ου} κόμβου για τα φύλλα της αμυγδαλιάς και του λιγούστρου αντίστοιχα (εικόνα 14). Σε κάθε αναπτυξιακό στάδιο, η φωτοσυνθετική ταχύτητα εμφανίζει παρόμοιες τιμές μεταξύ

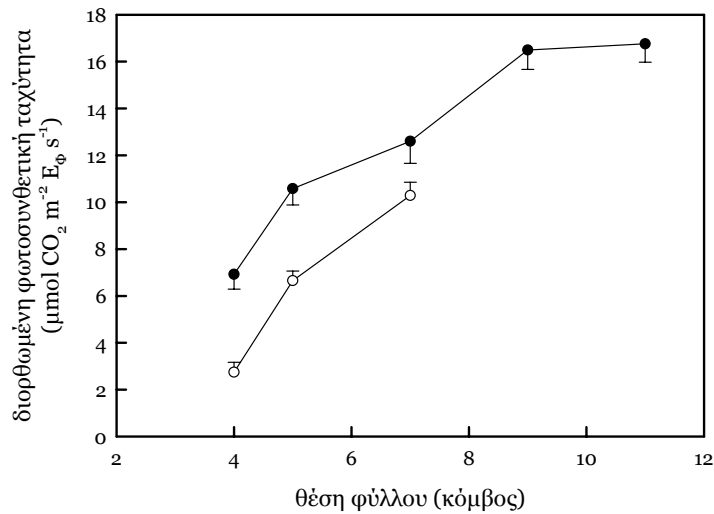


Εικόνα 13. Η αγωγιμότητα των στομάτων στη διάχυση του νερού σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

των δύο φυτικών ειδών. Ωστόσο αν εξετάσουμε την διορθωμένη με βάση την φωτοσυνθετικά ενεργό φυλλική επιφάνεια (Ε_φ, Εικόνα 15, βλ. επίσης Νικολοπουλος *et al*, 2002) φωτοσύνθεση, παρατηρούμε, λόγω του γεγονότος ότι τα φύλλα της αμυγδαλιάς είναι ετεροβαρή, μια αύξηση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας, ανά αναπτυξιακό στάδιο, στα φύλλα της αμυγδαλιάς συγκριτικά με το λιγούστρο κατά περίπου 65%.

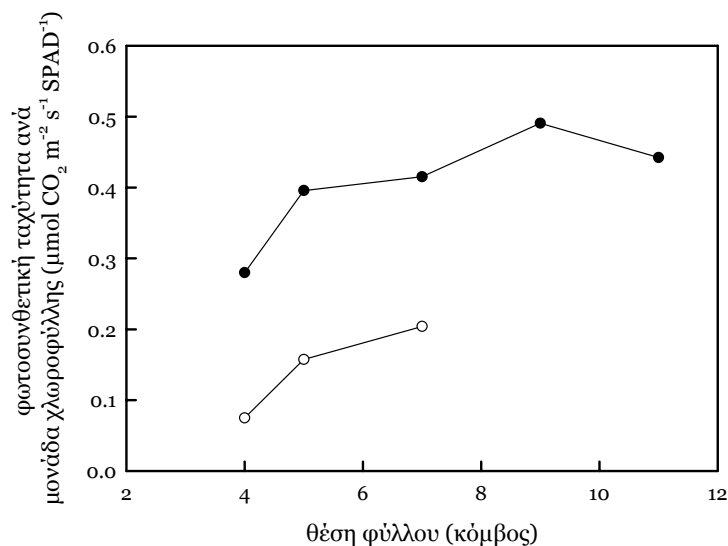


Εικόνα 14. Η τρέχουσα φωτοσυνθετική ταχύτητα υπό εννοϊκές συνθήκες σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).



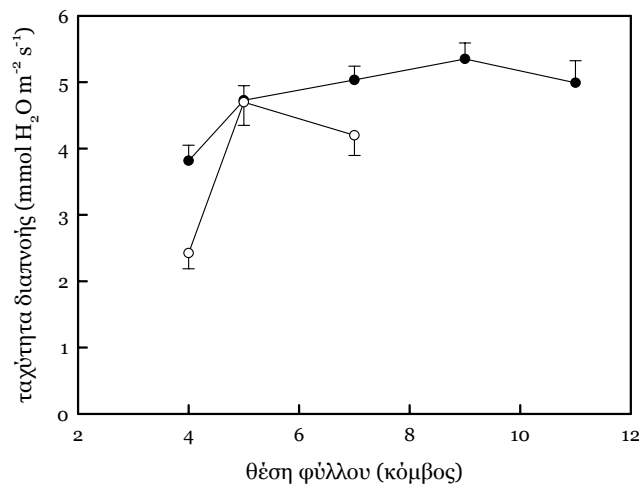
Εικόνα 15. Η διορθωμένη (με βάση την φωτοσυνθετικά ενεργό επιφάνεια, E_{ϕ}) τρέχουσα φωτοσυνθετική ταχύτητα υπό ενοϊκές συνθήκες σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

Στην εικόνα 16 παρουσιάζεται η φωτοσυνθετική ταχύτητα προς το περιεχόμενο σε χλωροφύλλη για τα δύο είδη. Παρατηρείται ότι για κάθε αναπτυξιακό στάδιο, η παράμετρος αυτή, η οποία εκφράζει ουσιαστικά την αποδοτικότητα της φωτοσυνθετικής συσκευής ως προς το ποσό που έχει επενδυθεί σε φωτοσυνθετικές χρωστικές, είναι πολύ υψηλότερη για τα φύλλα της αμυγδαλιάς συγκριτικά με αυτά του λιγούστρου.



Εικόνα 16. Η τρέχουσα φωτοσυνθετική ταχύτητα ανά μονάδα χλωροφύλλης των φύλλων υπό ενοϊκές συνθήκες σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

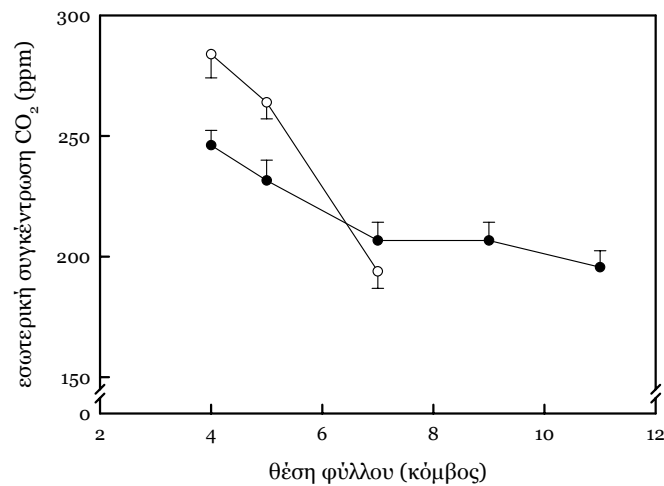
Η ταχύτητα διαπνοής των φύλλων των δύο ειδών (εικόνα 17) παρουσιάζει ανάλογη εικόνα με αυτή της αγωγιμότητας των στομάτων (εικόνα 13). Συγκριτικά με τις διαφορές στις τιμές της αγωγιμότητας των στομάτων, μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι η ταχύτητα διαπνοής είναι εντονότερη στα φύλλα της αμυγδαλιάς συγκριτικά με αυτή του λιγούστρου για όλα τα αναπτυξιακά στάδια.



Εικόνα 17. Η ταχύτητα διαπνοής σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

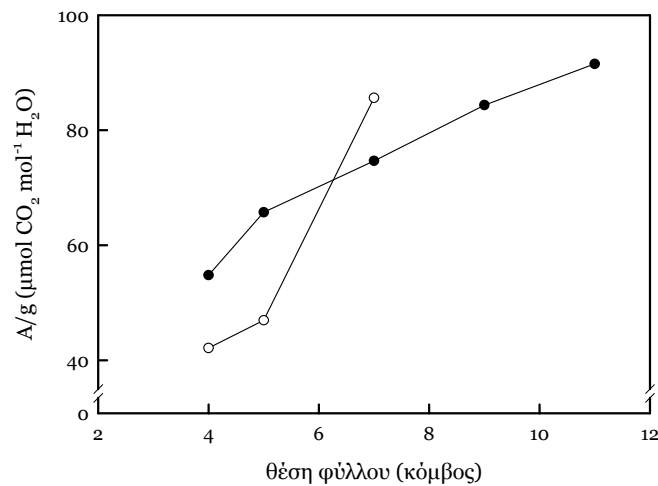
Στην εικόνα 18 παρουσιάζεται η πορεία της συγκέντρωσης του CO₂ στον υποστομάτιο χώρο κατά τη διάρκεια έκπτυξης των φύλλων των δύο φυτικών ειδών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η τιμή της παραμέτρου μειώνεται και στα δύο είδη με την πορεία της ωρίμανσης των φύλλων. Στα φύλλα του λιγούστρου η συγκέντρωση του CO₂ είναι υψηλότερη στα πολύ νεαρά αναπτυξιακά στάδια γεγονός που κατά πάσα πιθανότητα οφείλεται στους χαμηλούς φωτοσυνθετικούς ρυθμούς που επικρατούν (βλ. εικόνα 18). Τελικά η τιμή της συγκέντρωσης CO₂ στον υποστομάτιο χώρο διαμορφώνεται σε παρόμοια επίπεδα και για τα δύο είδη.

Στην εικόνα 19 παρουσιάζεται η παράμετρος της αποδοτικότητας χρήσης νερού για τα φύλλα των δύο φυτικών ειδών. Η παράμετρος αυτή εκφράζει τη φωτοσυνθετική ταχύτητα (ως ποσότητα CO₂) ως προς την ποσότητα του νερού που διαπνέεται για την ίδια επιφάνεια φύλλου και κατά τον ίδιο χρόνο. Παρατηρούμε ότι οι τιμές της παραμέτρου αυξάνουν δραματικά και στα δύο φυτικά είδη κατά την



Εικόνα 18. Η συγκέντρωση CO₂ στον υποστομάτιο θάλαμο στα διάφορα στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (± τυπικό σφάλμα του μέσου).

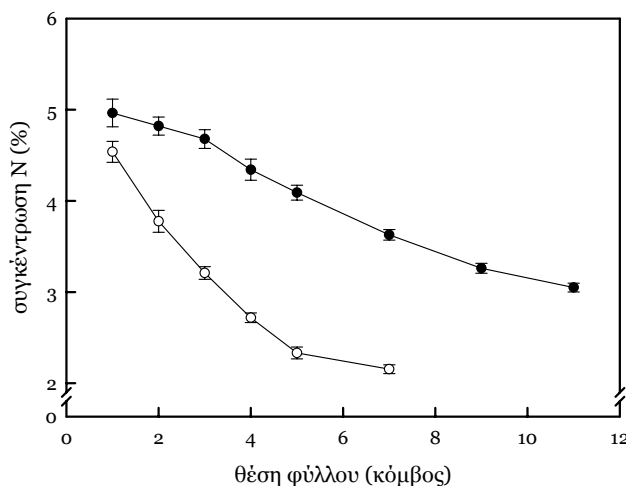
πορεία ανάπτυξης των φύλλων. Το γεγονός αυτό σχετίζεται με την έναρξη της φωτοσυνθετικής λειτουργίας. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι στα στάδια του 11^{ου} και 7^{ου} κόμβου για τα φύλλα της αμυγδαλιάς και του λιγούστρου αντίστοιχα, οι τιμές της παραμέτρου έχουν πάρει τη μέγιστη τιμή τους για κάθε είδος (εικόνα 18).



Εικόνα 19. Η αποδοτικότητα χρήσης του νερού για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις.

III.3. Η σχέση συγκέντρωσης αζώτου των φύλλων και φωτοσυνθετικής λειτουργίας

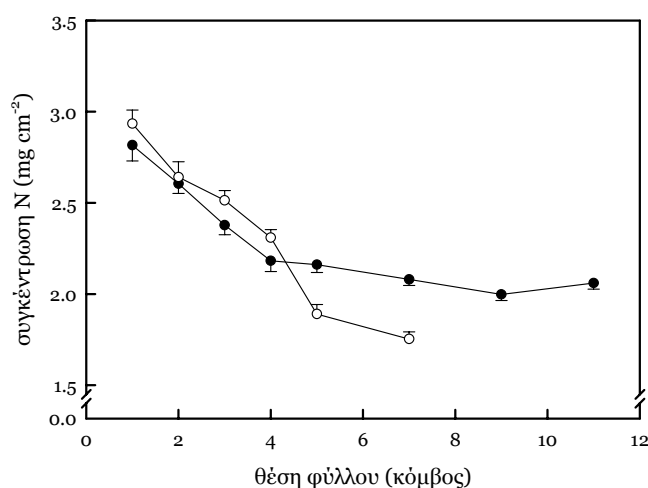
Η θρεπτική κατάσταση των φύλλων αναφορικά με το άζωτο αποτελεί μια σημαντική παράμετρο η οποία επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την φωτοσυνθετική τους απόδοση. Το περιεχόμενο σε άζωτο των φυτικών ιστών εκφράζεται συνήθως με βάση την ξηρή μάζα. Στην εικόνα 20 παρουσιάζεται η παραπάνω παράμετρος για τα φύλλα των δύο ειδών. Είναι αξιοσημείωτο ότι οι υψηλότερες συγκεντρώσεις εμφανίζονται στα νεαρά αναπτυξιακά στάδια, είναι δε παρόμοιες μεταξύ των δύο ειδών. Ωστόσο κατά τη διάρκεια ανάπτυξης των φύλλων, δημιουργείται μεγάλη διαφορά στις τιμές της παραμέτρου μεταξύ των δύο ειδών. Από τα αποτελέσματα γίνεται φανερό πως στα φύλλα του λιγούστρου, η επένδυση σε άζωτο αντιπροσωπεύει ένα πολύ μικρότερο μέρος της συνολικής βιομάζας.



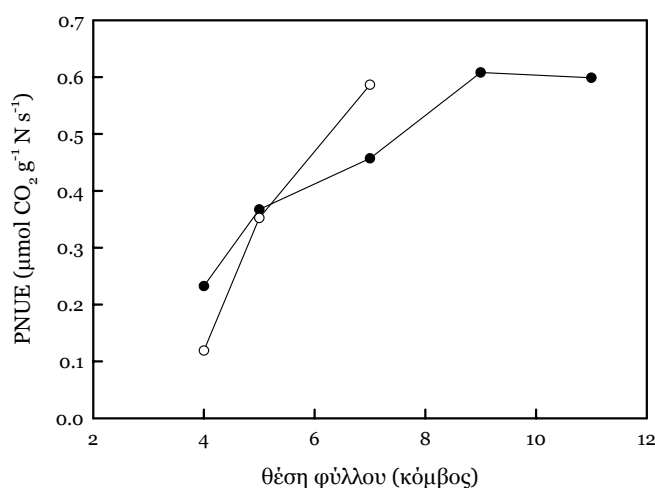
Εικόνα 20. Η συγκέντρωση αζώτου (ανά μονάδα ξηρής μάζας) σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

Η κατάσταση εμφανίζεται διαφορετική αν το περιεχόμενο σε άζωτο στα φύλλα των δύο ειδών εκφραστεί ως προς την επιφάνεια του ελάσματος (εικόνα 21). Παρόλον ότι και στην περίπτωση αυτή οι υψηλότερες συγκεντρώσεις εμφανίζονται στα νεαρά αναπτυξιακά στάδια, οι διαφορές στις τιμές της παραμέτρου αυτής στα ανεπτυγμένα φύλλα δεν εμφανίζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ειδών. Κατά συνέπεια και τα δύο φυτικά είδη επενδύουν παρόμοια ποσά αζώτου αν αυτά εκφραστούν με βάση την επιφάνεια των φύλλων. Το γεγονός αυτό έχει μεγάλη φυσιολογική σημασία καθώς η φυλλική επιφάνεια εμφανίζεται ως μια περισσότερο λειτουργική βάση αναφοράς για παραμέτρους που σχετίζονται με τη φωτοσύνθεση και τη διαπνοή.

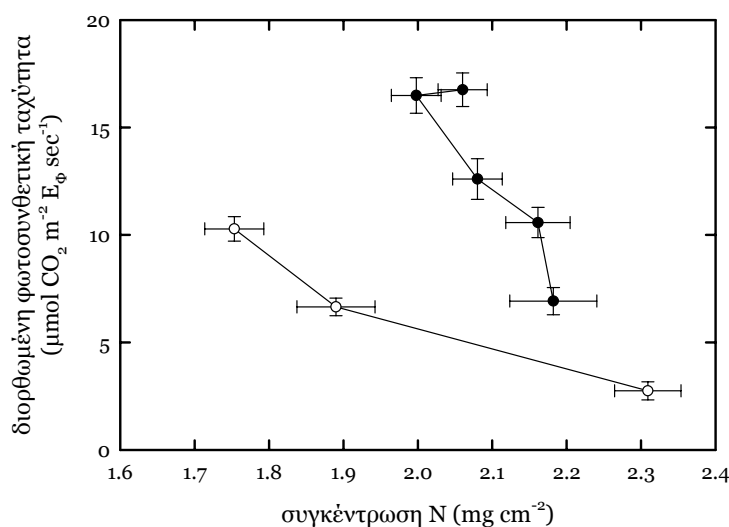
Η παραπάνω διαπίστωση επιβεβαιώνεται με την εξέταση της παραμέτρου του βαθμού αποδοτικότητας των αποθεμάτων των φύλλων σε άζωτο ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (εικόνα 22). Η παράμετρος αυτή προκύπτει αν εκφράσουμε τη φωτοσυνθετική ταχύτητα ως προς τη συγκέντρωση αζώτου ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Σύμφωνα με την παράμετρο αυτή, δεν παρατηρούνται έντονες διαφορές μεταξύ των δύο φυτικών ειδών όσον αφορά στην απόδοση με την οποία αξιοποιείται το άζωτο που έχει επενδυθεί στο φύλλο για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου. Η διαπίστωση αυτή ισχύει για όλα τα αναπτυξιακά στάδια



Εικόνα 21. Η συγκέντρωση αζώτου (ανά μονάδα επιφάνειας του ελάσματος) σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).



Εικόνα 22. Η αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου ως προς την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου (Photosynthetic Nitrogen Use Efficiency) σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις.

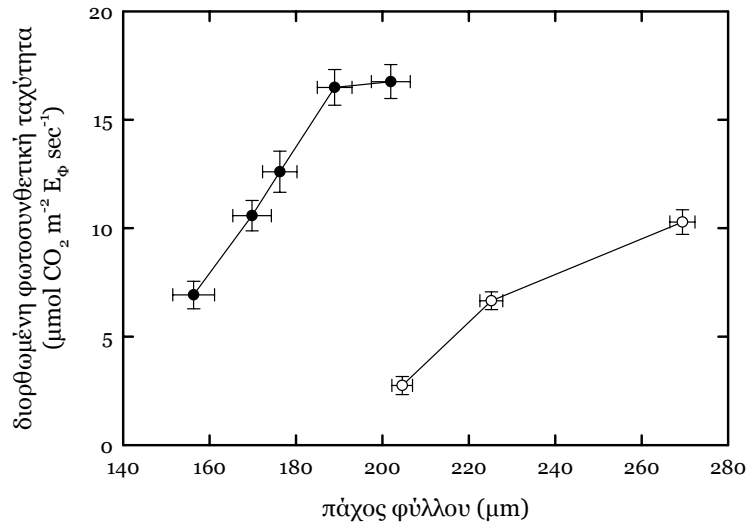


Εικόνα 23. Η σχέση μεταξύ συγκέντρωσης αζώτου και διορθωμένης (με βάση την φωτοσυνθετικά ενεργό επιφάνεια, E_{ϕ}) τρέχουσας φωτοσυνθετικής ταχύτητας υπό ευνοϊκές συνθήκες των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

των φύλλων. Ωστόσο τα ανεπτυγμένα φύλλα της αμυγδαλιάς εμφανίζουν ελαφρώς υψηλότερες τιμές (εικόνα 22).

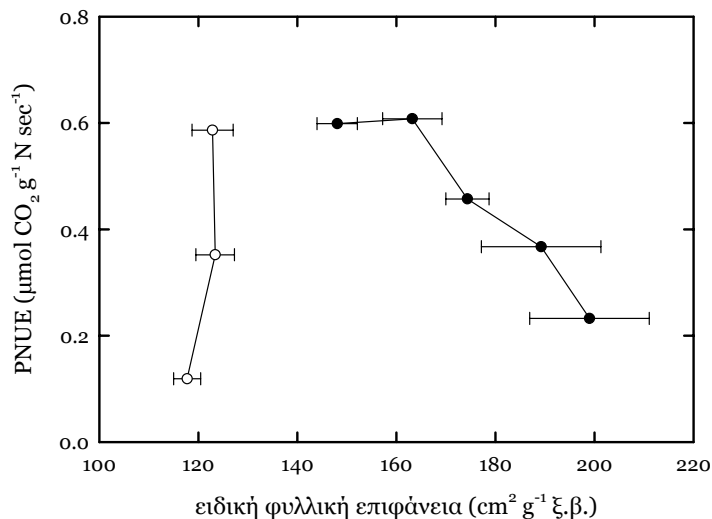
Η σχέση μεταξύ συγκέντρωσης αζώτου των φύλλων (εκφρασμένης ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου) και διορθωμένης (με βάση την φωτοσυνθετικά ενεργό επιφάνεια, E_{ϕ}) τρέχουσας φωτοσυνθετικής ταχύτητας δίδει διαφορετικές τάσεις μεταξύ των δύο ειδών (εικόνα 23). Γενικά, για ίδιες συγκεντρώσεις αζώτου, η τρέχουσα φωτοσυνθετική ταχύτητα των φύλλων της αμυγδαλιάς παρουσιάζεται υψηλότερη εκείνης των φύλλων του λιγούστρου, παρά το μικρότερο πάχος τους. Οι διαφορές αυτές εμφανίζονται υψηλότερες όσο μειώνεται η συγκέντρωση των φύλλων σε άζωτο (όσο δηλ. αυξάνεται η ηλικία τους).

III.4. Η επίδραση βασικών ανατομικών παραμέτρων στη φωτοσυνθετική λειτουργία και την αποδοτικότητα χρήσης των αποθεμάτων αζώτου



Εικόνα 24. Η επίδραση του πάχους του ελάσματος στη διορθωμένη (με βάση την φωτοσυνθετικά ενεργό επιφάνεια, E_{ϕ}) τρέχουσα φωτοσυνθετική ταχύτητα υπό εννοϊκές συνθήκες των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

Η διορθωμένη (με βάση την φωτοσυνθετικά ενεργό επιφάνεια, E_{ϕ}) τρέχουσα φωτοσυνθετική ταχύτητα και των δύο φυτικών ειδών αυξάνεται αυξανόμενου του



Εικόνα 25. Η επίδραση της ειδικής φυλλικής επιφάνειας στην αποδοτικότητα χρήσης αποθεμάτων αζώτου των φύλλων των ειδών *Prunus amygdalus* (●) και *Ligustrum japonicum* (○). Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους από 20 επαναλήψεις (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου).

πάχους των φύλλων (εικόνα 24). Ωστόσο η αύξηση αυτή εμφανίζεται εντονότερη στα αναπτυσσόμενα φύλλα της αμυγδαλιάς. Η εντονότερη αύξηση εκφράζεται μέσω της διαφοράς κλίσης μεταξύ των αντίστοιχων καμπυλών.

Διαφορές παρατηρούνται μεταξύ των δύο ειδών και όσον αφορά στις συσχετίσεις μεταξύ SLA και PNUE (εικόνα 25). Ενώ στο λιγούστρο δεν παρατηρείται εμφανής συσχέτιση, στην αμυγδαλιά παρατηρείται μείωση των τιμών της PNUE αυξανόμενου του SLA.

IV. Συζήτηση

IV.1. Το πρότυπο έκπτυξης του ελάσματος

Το πρότυπο έκπτυξης του ελάσματος των φύλλων ήταν το αναμενόμενο και για τα δύο είδη φυτών. Η καμπύλη αύξησης παρουσιάζει εκθετική μορφή συναρτήσεως του χρόνου. Ωστόσο η έκπτυξη του ελάσματος του λιγούστρου ήταν σαφώς ταχύτερη έναντι αυτής της αμυγδαλιάς, παρά το γεγονός ότι το φύλλο του λιγούστρου παρουσιάζει μεγαλύτερο πάχος και μεγαλύτερη επιφάνεια προβολής έναντι των φύλλων της αμυγδαλιάς. Η υστέρηση που παρουσιάζει το φύλλο της αμυγδαλιάς αναφορικά με τις παραμέτρους αυτές πιθανόν οφείλεται στην πολυπλοκότερη κατασκευή του, λόγω της ύπαρξης των προεκτάσεων των κολεών των ηθμαγγειωδών δεσμίδων.

IV.2. Το διαφορετικό πρότυπο διαμόρφωσης του SLA κατά τη διάρκεια έκπτυξης των φύλλων

Η παράμετρος SLA είναι εξαιρετικά σημαντική, διότι σχετίζεται άμεσα με το ρυθμό ανάπτυξης των φύλλων, αλλά και με άλλες παραμέτρους, όπως τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα και το περιεχόμενο σε άζωτο ή σε άλλα θρεπτικά συστατικά των φύλλων (Gulias et al 2003; Kornelissen et al 1997; Meziane and Shipley 2001; Reich et al 1997; Reich et al 1998; Lambers and Poorter 1992; Niinemets and Kull 2003; Poorter and Evans 1998; Wright et al 2001). Τα αποτελέσματα έδειξαν μια σταδιακή μείωση του δείκτη SLA στην περίπτωση των φύλλων του λιγούστρου. Η μείωση αυτή αντικατοπτρίζει την σταδιακή εναπόθεση ξηρής ουσίας ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Ωστόσο, στην αμυγδαλιά η πορεία διαμόρφωσης του δείκτη SLA κατά τη διάρκεια έκπτυξης των φύλλων ακολούθησε διαφορετικό πρότυπο. Αρχικά παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση η οποία ακολουθήθηκε από σταδιακή μείωση των τιμών του SLA. Ανάλογες παρατηρήσεις πραγματοποίησαν και οι Gratani και Ghia (2002) για τα ετεροβαρή φύλλα του *Arbutus unedo* και οι Miyazawa et al (2003) για τα ετεροβαρή φύλλα του *Quercus glauca*. Το πρώτο στάδιο φανερώσει υψηλούς ρυθμούς έκπτυξης του ελάσματος αναφορικά με τον, κατά αναλογία, χαμηλότερο ρυθμό εναπόθεσης ξηρής ουσίας ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου. Ενδεχομένως η συμπεριφορά αυτή να σχετίζεται με την ανάγκη για όσο το δυνατόν μεγαλύτερη φωτοσυνθετικά ενεργή επιφάνεια στο φυτό της αμυγδαλιάς. Οι υψηλότερες απαιτήσεις για φωτοσυνθετικό έργο κατά το στάδιο αυτό ενδεχομένως να σχετίζεται τόσο με το μικρότερο χρόνο ζωής των φύλλων (έτσι ώστε να μεγιστοποιηθεί η παραγωγικότητά τους σε συντομότερο χρονικό διάστημα) όσο και με τις απαιτήσεις για παροχή φωτοσυνθετικών προϊόντων προς τους αναπτυσσόμενους καρπούς. Η παρατηρούμενη άνοδος του δείκτη SLA κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης των

φύλλων πιθανόν επίσης να σχετίζεται με την αυξημένη παρουσία των ογκωδών παρεγχυματικών κυττάρων των προεκτάσεων του κολεού της δέσμης. Αλλωστε η επιφάνεια που καταλαμβάνουν οι προεκτάσεις του κολεού εμφανίζεται ελαφρώς υψηλότερη στα νεαρά φύλλα έναντι αυτής των εκπτυγμένων. Αντίθετα η πορεία διαμόρφωσης του δείκτη SLA στο λιγούστρο ακολούθησε το τυπικό πρότυπο της εξ' αρχής μείωσης των τιμών του δείκτη SLA το οποίο έχει παρατηρηθεί και σε άλλα αείφυλλα φυτικά είδη.

Το ποσοστό της επιφάνειας του ελάσματος που καταλαμβάνουν οι διαφανείς περιοχές (δηλ. οι προεκτάσεις των κολεών της δέσμης) στα ετεροβαρή φύλλα της αμυγδαλιάς είναι ελαφρώς αυξημένο στα πολύ νεαρά φύλλα έναντι αυτού των πλήρως εκπτυγμένων. Το φαινόμενο του αυξημένου ποσοστού των διαφανών περιοχών του ελάσματος στα πολύ νεαρά αναπτυξιακά στάδια έχει παρατηρηθεί ιδιαίτερα έντονα στο αμπέλι (Κλουβάτου, 2003).

IV.3. Το διαφορετικό πρότυπο διαμόρφωσης των φωτοσυνθετικών χαρακτηριστικών κατά τη διάρκεια έκπτυξης των φύλλων

Τα πρότυπα διαμόρφωσης της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας αφορούν τη σταδιακή μετάβαση των φύλλων και των δύο ειδών από σημεία κατανάλωσης σε πηγές, με τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα να αυξάνεται σταδιακά τείνοντας προς ένα όριο. Ανάλογα πειραματικά αποτελέσματα έχουν δημοσιευτεί και από άλλους ερευνητές (Ticha 1982; Gratani and Gia 2002;). Ανάλογα πρότυπα ακολουθεί και η αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών χλωροφυλλών κατά τη διάρκεια ανάπτυξης των φύλλων.

Το πρώτο αποτέλεσμα που αξίζει σχολιασμού είναι η ύπαρξη, ως πειραματικού υλικού, ενός ετεροβαρούς φύλλου με σχετικά χαμηλό πάχος ελάσματος και ενός ομοβαρούς το οποίο διαθέτει κατά πολύ μεγαλύτερο πάχος φύλλου. Σύμφωνα με τους Nikolopoulos et al (2002), η ύπαρξη ετεροβαρών χαρακτηριστικών συμβάλλει στην φωτοσυνθετική απόδοση των φύλλων. Αυτό κυρίως επιτυγχάνεται μέσω της ικανότητας των φύλλων αυτών να φωτοσυνθέτουν με ικανοποιητικό ρυθμό ανά μονάδα όγκου χλωροφυλλούχου παρεγχύματος παρά το γεγονός ότι διαθέτουν έλασμα με αυξημένο πάχος. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο πλεονέκτημα των ετεροβαρών φύλλων όπου η ιδιαίτερη δομή του φύλλου συμβάλλει στον ποσοτικό και ποιοτικό εμπλουτισμό των εσωτερικών στρωμάτων του χλωροφυλλούχου παρεγχύματος με φωτεινή ακτινοβολία.. Στη συγκεκριμένη όμως περίπτωση, τα πλήρως εκπτυγμένα ομοβαρή φύλλα που επιλέχθηκαν διαθέτουν παχύτερο έλασμα από τα πλήρως εκπτυγμένα ετεροβαρή. Οι διαφορές στη φωτοσυνθετική

δραστηριότητα είναι εμφανείς κυρίως κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων, όπου οι διαφορές στο πάχος του ελάσματος των δύο φυτικών ειδών είναι μικρές. Με την πάροδο του χρόνου τα φύλλα του λιγούστρου αποκτούν σημαντικά μεγαλύτερο πάχος έναντι αυτών της αμυγδαλιάς και οι διαφορές στη φωτοσυνθετική δραστηριότητα αμβλύνονται. Αυτό ενδεχομένως οφείλεται στην προσθήκη περισσότερων στοιβάδων φωτοσυνθετικού παρεγχύματος στα φύλλα του λιγούστρου. Βεβαίως και άλλοι παράγοντες μπορεί να ευθύνονται για την παρατηρούμενη διαφορά στη φωτοσυνθετική δραστηριότητα, όπως η ικανότητα μεταφοράς θρεπτικών συστατικών και ενέργειας, η αγωγιμότητα των στοματίων, κ.ά. Παρόλο όμως ότι το πλήρως εκπτυγμένο φύλλο του λιγούστρου διαθέτει κατά πολύ αυξημένο πάχος ελάσματος συγκριτικά με εκείνο της αμυγδαλιάς, εντούτοις συνεχίζει να υστερεί σε φωτοσυνθετική δραστηριότητα, πιθανότατα λόγω ανεπαρκούς φωτισμού των μεσαίων στρωμάτων φωτοσυνθετικού παρεγχύματος.

Επιπρόσθετα, το φύλλο της αμυγδαλιάς διαθέτει περίπου το 1/3 της ποσότητας χλωροφύλλης ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου συγκριτικά με το λιγούστρο. Η συγκέντρωση χλωροφύλλης σχετίζεται μεταξύ άλλων και με τις ανάγκες φωτοσύνθεσης ενός συγκεκριμένου φύλλου. Χαρακτηριστική είναι η εξάρτηση της συγκέντρωσης χλωροφύλλης με το φωτεινό περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται ένα συγκεκριμένο φύλλο (Καραμπουρνιώτης 2003). Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η παράμετρος F_v/F_m (η οποία εκφράζει την απόδοση του φωτοσυστήματος II) παρουσιάζει διαφοροποιήσεις κατά τη διάρκεια έκπτυξης του ελάσματος. Μάλιστα στα αρχικά στάδια ανάπτυξης του φύλλου οι τιμές της παραμέτρου παρουσιάζονται χαμηλότερες στις περιοχές μεταξύ των Η/Θ δεσμίδων έναντι αυτών των περιοχών που βρίσκονται σε επαφή με τις Η/Θ δεσμίδες. Η εικόνα αυτή ανατρέπεται με την πλήρη έκπτυξη του ελάσματος (Walter et al 2004). Δεν είναι γνωστό εάν τα φύλλα που εξετάστηκαν στη μελέτη αυτή ήταν ομοβαρή ή ετεροβαρή, ωστόσο οι διαφορές που παρατηρήθηκαν μπορεί εν μέρει να οφείλονται και στον οπτικό ρόλο των προεκτάσεων των κολεών της δέσμης.

IV.4. Το διαφορετικό πρότυπο διαμόρφωσης της συγκέντρωσης αζώτου και της αποδοτικότητας χρήσης αζώτου κατά τη διάρκεια έκπτυξης των φύλλων

Αναφορικά με το άζωτο, τα φύλλα και των δύο φυτικών ειδών παρουσιάζουν υψηλές τιμές κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης και στη συνέχεια η συγκέντρωση του αζώτου μειώνεται μέχρι να λάβει σταθερές τιμές. Η μεταβολή αυτή πιθανόν εκφράζει και την σταδιακή μετάβαση των φύλλων από σημεία μεταβολικής κατανάλωσης σε πηγές (Marschner 1995). Και σε αυτή την παράμετρο παρουσιάζονται διαφορές μεταξύ των φύλλων των δύο φυτικών ειδών. Παρά το αυξημένο πάχος ελάσματος στο φύλλο του λιγούστρου, η ποσότητα του αζώτου που έχει επενδυθεί ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου είναι περίπου ίση συγκριτικά με το φύλλο της αμυγδαλιάς. Επιπρόσθετα, η αποδοτικότητα με την οποία τα δύο φυτά χρησιμοποιούν το άζωτο είναι περίπου η ίδια με το φύλλο της αμυγδαλιάς να εμφανίζει ελαφρώς υψηλότερες τιμές.

Φαίνεται ότι τα δύο φυτικά είδη επιλέγουν διαφορετικές στρατηγικές όσον αφορά στην επένδυση του αζώτου αλλά και του οργανικού άνθρακα προς την κατεύθυνση της κατασκευής των φύλλων με τελικό σκοπό την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου.

Στη σχέση μεταξύ διαφανών περιοχών και πάχους ελάσματος στα ετεροβαρή φύλλα (Nikolopoulos et al., 2002), μπορούμε να εισαγάγουμε επιπλέον παράγοντες όπως είναι η αποδοτικότητα του αζώτου για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου αλλά και η επένδυση σε οργανικό άνθρακα που εκφράζεται από την παράμετρο του SLA και επομένως εκφράζει το κατασκευαστικό κόστος του φύλλου. Η τελευταία παράμετρος αποκτά ιδιαίτερη αξία αν συνδυαστεί με τον μέσο χρόνο ζωής του φύλλου διότι με τον τρόπο αυτό μπορεί να εξεταστεί η λογιστική σχέση μεταξύ κατασκευαστικού κόστους και παραγόμενου φωτοσυνθετικού έργου καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του φύλλου. Το θετικό ισοζύγιο μεταξύ των δύο αυτών παραμέτρων αποτελεί και το στρατηγικό σκοπό κάθε φυτικού είδους (Westoby et al., 2002; Escudero and Mediavilla, 2003). Στα ετεροβαρή φύλλα της αμυγδαλιάς διαφαίνεται αρνητική συσχέτιση μεταξύ του SLA και της PNUE, ενώ το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρείται στα ομοβαρή φύλλα του λιγούστρου.

Συνοψίζοντας, τα δύο φυτικά είδη που επιλέχθηκαν για τη μελέτη αυτή, παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς τη στρατηγική της ανάπτυξης των φύλλων τους. Πιστεύουμε ότι θα πρέπει να πραγματοποιηθούν περαιτέρω πειράματα στο εγγύς μέλλον προκειμένου να διερευνηθεί εάν οι παρατηρούμενες διαφορές οφείλονται και σε ποιο βαθμό στις διαφορές της αρχιτεκτονικής του ελάσματος μεταξύ ομοβαρών και ετεροβαρών φύλλων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με τις ανατομικές παραμέτρους, τα δύο φυτικά είδη εμφανίζουν διαφορετικό κατασκευαστικό πρότυπο. Το φύλλο της αμυγδαλιάς εμφανίζει πολύ μικρότερο κατασκευαστικό κόστος, συγκριτικά με το λιγούστρο. Όπως είναι τεκμηριωμένο βιβλιογραφικά, το παραπάνω αποτέλεσμα συσχετίζεται με τον αναμενόμενο χρόνο ζωής των φύλλων κάθε φυτικού είδους. Επιπλέον, η πορεία επαπόθεσης ξηρής μάζας εμφανίζει διαφορές μεταξύ των δύο φυτικών ειδών γεγονός το οποίο ενδέχεται να σχετίζεται με την κατασκευή των προεκτάσεων των δεσμικών κολεών στο φύλλο της αμυγδαλιάς.

Όσον αφορά στη φωτοσύνθεση, τα δύο είδη εμφανίζουν διαφορετική στρατηγική. Το φύλλο της αμυγδαλιάς εμφανίζει υψηλότερους φωτοσυνθετικούς ρυθμούς γεγονός το οποίο είναι περισσότερο εμφανές αν η φωτοσύνθεση εκφραστεί ανά ενεργό φωτοσυνθετική επιφάνεια. Το παραπάνω γεγονός είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτο αν ληφθεί υπ' όψη το ότι το φύλλο της αμυγδαλιάς είναι λεπτότερο και με μικρότερη συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά μονάδα επιφάνειας.

Τα δύο είδη εμφανίζουν μικρές διαφορές όσον αφορά στην αποδοτικότητα χρήσης νερού και αζώτου για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου. Από τα αποτελέσματα όμως φαίνεται πως τα ετεροβαρή φύλλα εκμεταλεύονται στο έπακρο την φωτεινή ακτινοβολία για την παραγωγή φωτοσυνθετικού έργου. Αντίθετα στο φύλλο του λιγούστρου, είναι πιθανό πως, λόγω φωτοπενίας, τα εσωτερικά χλωροφυλλούχα στρώματα φωτοσυνθέτουν σε ρυθμούς πολύ κάτω του κορεσμού.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alt C, Tzel HS and Kage H. 2000. Optimal Nitrogen Content and Photosynthesis in Cauliflower (*Brassica oleracea* L. *botrytis*). Scaling up from a Leaf to the Whole Plant. *Annals of Botany*, 85:779-787.
- Andersson B and Barber J. 1996. Mechanisms of photodamage and protein degradation during photoinhibition of photosystem II. *In*: N.R. Baker (ed) Photosynthesis and the environment, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp 101-121.
- Anten NPR, Miyazawa K, Hikosaka K, Nagashima H, Hirose T. 1998. Leaf nitrogen distribution in relation to leaf age and photon flux density in dominant and subordinate plants in dense stands of a dicotyledonous herb. *Oecologia*, 113:314-324.
- Bauer GA, Berntson GM and Bazzaz FA. 1999. Regenerating temperate forests under elevated CO₂ and nitrogen deposition: comparing biochemical and stomatal limitation of photosynthesis. *Functional Ecology*, 13:439-459.
- Beerling DJ, McElwain JC, Osborne CP. 1998. Stomatal responses of the 'living fossil' *Ginkgo biloba* L. to changes in atmospheric CO₂ concentrations. *Journal of Experimental Botany*, 49:1603-1607.
- Berger D, Altmann T. 2000. A subtilisin-like serine protease involved in the regulation of stomatal density and distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Genes and Development*, 14:1119-1131.
- Cousins AB and Bloom AJ. 2003. Influence of elevated CO₂ and nitrogen nutrition on photosynthesis and nitrate photo-assimilation in maize (*Zea mays* L.). *Plant, Cell and Environment*, 26:1525-1530.
- Dreccer MF and Rabbinge R. 2000. Dynamics of Vertical Leaf Nitrogen Distribution in a Vegetative Wheat Canopy Impact on Canopy Photosynthesis. *Annals of Botany*, 86:821-831.
- Escudero A and Mediavilla S. 2003. Decline in photosynthetic nitrogen use efficiency with leaf age and nitrogen resorption as determinants of leaf life span. *Journal of Ecology*, 91:880-889.
- Farage PK, McKee IF and Long SP. 1998. Does a Low Nitrogen Supply Necessarily Lead to Acclimation of Photosynthesis to Elevated CO₂?. *Plant Physiology*, 118:573-580.
- Garnier E, Salager JL, Laurent G and Soniel L. 1999. Relationships between photosynthesis, nitrogen and leaf structure in 14 grass species and their dependence on the basis of expression. *New Phytologist*, 143:119-129.
- Gratani L and Bombelli A. 1999. Leaf anatomy, inclination, and gas exchange relationships in evergreen sclerophyllous and drought semideciduous shrub species. *Photosynthetica*, 37:573-585.
- Gratani L and Bombelli A. 2000. Correlation between leaf age and other traits in three Mediterranean maquis shrub species: *Quercus ilex*, *Phillyrea latifolia* and *Cistus incanus*. *Environmental and Experimental Botany*, 43:141-153.
- Gratani L and Ghia E. 2002. Changes in morphological and physiological traits during leaf expansion of *Arbutus unedo*. *Environmental and Experimental Botany* 48:51-60.
- Gratani L, Pesoli P and Crescente MF. 1998. Relationship between photosynthetic activity and chlorophyll content in an isolated *Quercus ilex* L. tree during the year. *Photosynthetica*, 35:445-451.
- Hall DO and Rao KK. 1999. Photosynthesis. Cambridge: Cambridge University Press
- Hikosaka K. 2003. A Model of Dynamics of Leaves and Nitrogen in a Plant Canopy: An Integration of Canopy Photosynthesis, Leaf Life Span, and Nitrogen Use Efficiency. *The American Naturalist*, 162:149-164.
- Hirose T and Bazzaz FA. 1998. Trade-of Between Light- and Nitrogen-use Efficiency in Canopy Photosynthesis. *Annals of Botany*, 82:195-202.

- Kagan ML, Sachs T. 1991. Development of immature stomata: evidence of epigenetic selection of a spacing pattern. *Developmental Biology*, 146:100-105.
- Karabourniotis G, Bornman JF and Nikolopoulos D. 2000. A possible optical role of the bundle sheath extensions of the heterobaric leaves of *Vitis vinifera* and *Quercus coccifera*. *Plant, Cell and Environment*, 23:423-430.
- Kutík J, 1998. The development of chloroplast structure during leaf ontogeny. *Photosynthetica*, 35:481-505.
- Lawlor DW. 2001. Photosynthesis. Oxford: Bios Scientific Publishers.
- Lloyd J. 2003. The CO₂ dependence of photosynthesis, plant growth responses to elevated CO₂ concentrations and their interaction with soil nutrient status, II. Temperate and boreal forest productivity and the combined effects of increasing CO₂ concentrations and increased nitrogen deposition at a global scale. *Journal of Ecology*, 91:880-889.
- Makino A, Nakano H and Mae T. 1994. Responses of Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase, Cytochrome f, and Sucrose Synthesis Enzymes in Rice Leaves to Leaf Nitrogen and Their Relationships to Photosynthesis. *Plant Physiology*, 105:173-179.
- Mustardy L and Garab G. 2003. Granum revisited. A three-dimensional model- where things fall into place. *Trends in Plant Science*, 8:117-122.
- Nakaji T, Fukami M, Dokiya Y, Izuta T. 2001. Effects of high nitrogen load on growth, photosynthesis and nutrient status of *Cryptomeria japonica* and *Pinus densiflora* seedlings. *Trees*, 15:453-461.
- Nikolopoulos D, Liakopoulos G, Drossopoulos I and Karabourniotis G. 2002. The relationship between anatomy and photosynthetic performance of heterobaric leaves. *Plant Physiology*, 129:235-243.
- Osaki M and Shinano T. 2001. Plant growth based on interrelation between carbon and nitrogen translocation from leaves. *Photosynthetica*, 39:197-203.
- Osaki M, Shinano T, Kaneda T, Yamada S, Nakamura T and Tadano T. 2001. Ontogenetic changes of photosynthesis and respiration in relation to nitrogen nutrient in individual leaves of field crops. *Photosynthetica*, 39:205-213.
- Ouki K, Ikosaka H, Agamatsu N, Iroshi H, Shii I and Adaki T. 2002. Photosynthesis-nitrogen relationships in species at different altitudes on Mount Kinabalu, Malaysia. *Ecological Research*, 17:305-313.
- Pankovicâ D, Sakaci Z. 2000. Effects of Nitrogen Nutrition on Photosynthesis in Cd-treated Sun flower Plants. *Annals of Botany*, 86:841-847.
- Peterson GA and CMEAL participants. 1999. Reconciling the apparent difference between mass- and area-based expressions of the photosynthesis-nitrogen relationship. *Oecologia*, 118:144-150.
- Pyankov V, Kondratchuk A and Shipley B. 1999. Leaf structure and specific leaf mass: the alpine desert plants of the eastern Pamirs Tadjikistan. *New Phytologist*, 143:131-142.
- Roderick ML, Berry SL and Noble IR. 2000. A framework for understanding the relationship between environment and vegetation based on the surface area to volume ratio of leaves. *Functional Ecology*, 14:423-437.
- Schoettle AW and Smith WK. 1998. Interrelationships among light, photosynthesis and nitrogen in the crown of mature *Pinus contorta* ssp. *Latifolia*. *Tree Physiology*, 19:13-22.
- Serna L and Fenoll C. 2000. Stomatal development and patterning in *Arabidopsis* leaves. *Physiologia Plantarum*, 109:351-358.
- Serna L and Fenoll C. 2000. Stomatal development in *Arabidopsis*: how to make a functional pattern. *Trends in Plant Science*, 5:458-460.
- Starr C and Taggart R. 1998. Energy- Acquiring Pathways. In: Biology. The unity and diversity of life 8th ed. Wadsworth Publishing Company, pp. 114-115.

- Taiz L and Zeiger E. 1991. Photosynthesis: Carbon Metabolism. *In: Plant Physiology* 1st ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, pp. 219-248.
- Takeuchi Y, Kubiske ME, Isebrands JG, Pregtizer KS, Hendrey G and Karnosky DF. 2001. Photosynthesis, light and nitrogen relationships in a young deciduous forest canopy under open-air CO₂ enrichment. *Plant, Cell and Environment*, 24:1257-1268.
- Tardieu F, Granier C and Muller B. 1999. Modelling leaf expansion in a fluctuating environment: are changes in specific leaf area a consequence of changes in expansion rate? *New phytologist*, 143:33-43.
- Terashima I and Hikosaka K. 1995. Comparative ecophysiology of leaf and canopy photosynthesis. *Plant, Cell and Environment*, 18:1111-1128.
- Terashima I. 1992. Anatomy of nonuniform leaf photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 31:195-212.
- Thornley JHM. 1998. Dynamic Model of Leaf Photosynthesis with Acclimation to Light and Nitrogen. *Annals of Botany* 81:421-430.
- Turgeon R. 1989. The sink-source transition in leaves. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40:119-138.
- Vogelmann TC. 1993. Plant tissue optics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44:231-251.
- Wang Q and Chen J. 2003. Variation in photosynthetic characteristics and leaf area contributes to *Spathiphyllum* cultivar differences in biomass production. *Photosynthetica*, 41:443-447.
- Warren CR, Dreyer E and Adams MA. 2003. Photosynthesis-Rubisco relationships in foliage of *Pinus sylvestris* in response to nitrogen supply and the proposed role of Rubisco and amino acids as nitrogen stores. *Trees*, 17:359-366.
- WarrenA CR, Adams MA and Chen Z. 2000. Is photosynthesis related to concentrations of nitrogen and Rubisco in leaves of Australian native plants? *Australian Journal of Plant Physiology*, 27:407-416.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA & Wright IJ. 2002. Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33:125-159.
- Wright IJ, Reich PB and Westoby M. 2003. Least-Cost Input Mixtures of Water and Nitrogen for Photosynthesis. *The American Naturalist*, 161:98-111.
- Zhao L and Sack FD. 1999. Ultrastructure of stomatal development in *Arabidopsis* (Brassicaceae) leaves. *American Journal of Botany*, 86:929-939.
- Αϊβαλάκης Γ, Καραμπουρνιώτης Γ και Φασσέας Κ. 2003. Σημειώσεις Γενικής Βοτανικής. Αθήνα: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Δροσόπουλος Ι. 1998. Φυσιολογία Φυτών. Αθήνα: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Κλουβάτου Α. 2003. Μεταβολές των Φωτοσυνθετικών Χαρακτηριστικών των Φύλλων Τριών Ποικιλιών της Αμπέλου κατά τη Διάρκεια της Ανάπτυξής τους. Πτυχιακή Εργασία. Αθήνα, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

