

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ
ΜΟΡΙΑΚΗ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΑ
ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΚΙΑΣΗΣ
ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ
ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΘΗΛΥΚΩΝ ΔΕΝΔΡΩΝ
ΦΙΣΤΙΚΙΑΣ (*Pistacia vera* L.)**



ΧΡΙΣΤΙΝΑ Α. ΚΟΡΓΙΟΠΟΥΛΟΥ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2010

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ
ΜΟΡΙΑΚΗ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΑ
ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΚΙΑΣΗΣ
ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ
ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΘΗΛΥΚΩΝ ΔΕΝΔΡΩΝ
ΦΙΣΤΙΚΙΑΣ (*Pistacia vera* L.)

ΧΡΙΣΤΙΝΑ Α. ΚΟΡΓΙΟΠΟΥΛΟΥ
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ
ΑΘΗΝΑ 2010

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΚΙΑΣΗΣ
ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ
ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΘΗΛΥΚΩΝ ΔΕΝΔΡΩΝ
ΦΙΣΤΙΚΙΑΣ (*Pistacia vera* L.)

ΧΡΙΣΤΙΝΑ Α. ΚΟΡΓΙΟΠΟΥΛΟΥ
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή
Καθ. Γεώργιος Καραμπουρνιώτης (Επιβλέπων)
Επικ. Καθ. Γεώργιος Αϊβαλάκης (Μέλος)
Λέκτορας Γεώργιος Λιακόπουλος (Μέλος)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο εντοπισμός των πιθανών μορφολογικών, ανατομικών, φυσιολογικών και βιοχημικών διαφορών των φύλλων μεταξύ αρσενικών και θηλυκών δέντρων φιστικιάς (*Pistacia vera* L.) και ο βαθμός εγκλιματισμού τους σε συνθήκες φωτός και σκιάς.

Για τις ανάγκες των πειραματικών μετρήσεων επιλέχθηκαν 3 αρσενικά και 3 θηλυκά δέντρα. Οι μετρήσεις πεδίου σε κάθε δέντρο εφαρμόστηκαν σε 2 φύλλα φωτός και 2 φύλλα σκιάς και υπολογίστηκαν οι βασικές μορφολογικές, ανατομικές, φυσιολογικές και βιοχημικές τους παράμετροι. Τέλος, ακολούθησε η επεξεργασία των αποτελεσμάτων και η στατιστική ανάλυση για τη μελέτη όλων των συσχετίσεων μεταξύ των παραμέτρων και την εξαγωγή των συμπερασμάτων.

Τα αποτελέσματα των μορφολογικών παραμέτρων δείχνουν ότι τα φύλλα των θηλυκών δέντρων διαθέτουν ισχυρότερο «σκληρομορφικό» χαρακτήρα έναντι των φύλλων των αρσενικών δέντρων. Όσον αφορά τις ανατομικές παραμέτρους τα θηλυκά δένδρα φαίνεται να επιδεικνύουν υψηλότερη ικανότητα εγκλιματισμού του αγγειακού συστήματος σε διαφορετικές συνθήκες φωτισμού έναντι των αρσενικών. Τα θηλυκά δέντρα εμφανίζουν υψηλότερη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά επιφάνεια, διαπνοή και στοματική αγωγιμότητα από τα αρσενικά. Τέλος από τα αποτελέσματα των βιοχημικών παραμέτρων δεν επαληθεύτηκε η υπόθεση ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών (CNB) καθώς τα θηλυκά είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε φαινολικά έναντι των αρσενικών.

Η σύγκριση των μορφολογικών και φυσιολογικών παραμέτρων με βάση τα διαφορετικά φωτεινά καθεστώτα έδειξε ότι τα φύλλα των θηλυκών δέντρων διαθέτουν περισσότερη πλαστικότητα και ικανότητα εγκλιματισμού έναντι των αρσενικών. Επίσης παρατηρήθηκε ότι τα φύλλα φωτός διαθέτουν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε φαινολικά και ταννίνες έναντι των φύλλων σκιάς. Τέλος η υπόθεση ότι ο λόγος N/TP επηρεάζει τη φωτοσυνθετική ικανότητα δεν επιβεβαιώθηκε.

Λέξεις Κλειδιά: *Pistacia vera*, φύλλα φωτός-σκιάς, CNB υπόθεση, φαινολικά, δίοικα, άζωτο

"THE EFFECT OF SHADING IN PHYSIOLOGICAL AND ANATOMICAL PARAMETERS OF THE FOLIAGE IN MALE AND FEMALE TREES OF *Pistacia vera* L."

ABSTRACT

The main objective of this study was to detect the possible morphological, anatomical, physiological and biochemical differences of the foliage between male and female trees of *Pistacia vera* L. and the extent of acclimation in different light conditions.

We selected three male and three female trees and we measured the photosynthetic rate of two sun leaves and two shade leaves of each tree. On completion of field measurements, leaves were collected and transferred to the laboratory for further analyses.

The results of morphological parameters showed that female leaves showed a more "scleromorphic" character than male leaves. Female trees showed a better acclimation efficiency under the different light regimes, higher photosynthetic capacity, transpiration rates and stomatal conductance than male trees. Biochemical parameters did not confirm the carbon/nutrient hypothesis (CNB) because leaves of female trees had lower concentration of phenolics than the corresponding ones of the male trees.

The correlations between leaf parameters showed that female leaves had greater plasticity and better acclimation in shade. Sun leaves of both sexes had higher levels in phenolics and tannins in light than shade. Finally, the hypothesis that nitrogen to phenolics ratio affects photosynthetic capacity was not confirmed in this study.

Laboratory of Plant Physiology and Morphology, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens

Keywords: *Pistacia vera*, shade leaf, sun leaf, phenolics, CNB hypothesis, dioecy, nitrogen

Στον Οδυσσέα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	9
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	15
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	17
ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΑΜΥΝΑ	19
ΓΕΝΙΚΑ	19
ΑΒΙΟΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ	19
Η ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ	20
Η ΑΜΥΝΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΒΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ	21
ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ	21
Η ΟΜΑΔΑ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ	22
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ	22
ΦΩΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ	23
ΟΙ ΤΑΝΝΙΝΕΣ	25
ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΤΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ	25
Ο λόγος ύπαρξης των δευτερογενών μεταβολιτών (La raison d'etre, Fraenkel 1959)	26
Θεωρία βέλτιστης άμυνας (McKey 1974)	26
Υπόθεση ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών (Bryant et al. 1983)	27
Υπόθεση διαθεσιμότητας πόρων (Coley et al. 1985)	27
Υπόθεση ισορροπίας αύξησης / διαφοροποίησης (Lorio 1988, Tuomi et al. 1990, Herms & Mattson 1992)	28
Υπόθεση ανταγωνισμού της σύνθεσης πρωτεϊνών / φαινολικών (Protein / Phenolics Competition Model, PCM, Koricheva et al. 1998, Jones & Hartley 1999)	31
Σύνοψη των οικολογικών θεωριών σχετικά με τα αμυντικά πρότυπα των φυτών	32
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΦΥΛΩΝ ΣΕ ΔΙΟΙΚΑ ΕΙΔΗ	33
ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΜΥΝΑΣ - ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΕ ΔΙΟΙΚΑ ΕΙΔΗ	34
ΥΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ	37
A. Φυτικό Υλικό	39
B. Δειγματοληψίες	39
Γ. Μορφολογικές και Ανατομικές Παράμετροι	39
Γ.1. Μέτρηση Πάχους Φύλλου	39
Γ.2. Μέτρηση συνολικής επιφάνειας και ξηρού βάρους φύλλου – Υπολογισμός μάζας ανά φυλλική επιφάνεια (LMA)	40
Γ.3. Υπολογισμός Πυκνότητας φύλλου (LD)	40
Γ.4. Μέτρηση Πυκνότητας Στοματίων (Stomatal density)	40
Γ.5. Μέτρηση επιφάνειας αγγείων αγωγού ιστού	40
Γ.6. Υπολογισμός της παραμέτρου Huber value	41
Δ. Φωτοσυνθετικές παράμετροι	41
Δ.1. Μέτρηση Συγκέντρωσης Χλωροφυλλών	41
Δ.2. Μετρήσεις Φωτοσύνθεσης	41
Ε. Βιοχημικές παράμετροι	41
Ε.1. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικού αζώτου ανά επιφάνεια και ανά μάζα	41
Ε.1.1. Προετοιμασία δειγμάτων	42
Ε.1.2. Καύση δειγμάτων	42
Ε.1.3. Στάδιο απόσταξης	42

Ε.1.4. Τιτλοδότηση δειγμάτων.....	43
Ε.1.5. Υπολογισμός περιεχόμενου αζώτου.....	43
Ε.2. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικών φαινολικών	43
Εκχύλιση	43
Αντίδραση	43
Ε.3. Υπολογισμός συγκέντρωσης ταννινών	43
Εκχύλιση.....	44
Προετοιμασία αντιδραστηρίου βουτανόλης	44
Αντίδραση	44
ΣΤ. Στατιστική Ανάλυση	44
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	45
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	47
Α. Μορφολογικές παράμετροι	49
Β. Ανατομικές παράμετροι.....	49
Γ. Φυσιολογικές παράμετροι	52
Δ. Βιοχημικές παράμετροι	53
Ε. ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ	53
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	59
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	65

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Μερικά χρόνια πριν το ενδιαφέρον μου για τον τομέα της έρευνας πάνω στις φυσιολογικές λειτουργίες των φυτών, με οδήγησε στο εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών όπου άσκησα την πρακτική αλλά και την πτυχιακή μου μελέτη. Μέσα σε ένα τόσο ευχάριστο κλίμα και λόγω των εξαιρετικών σχέσεων που είχα με τους καθηγητές και τους συναδέλφους μου ένιωσα την ανάγκη να συνεχίσω τη συνεργασία μου και σε μεταπτυχιακό επίπεδο. Η παρούσα εργασία δε θα είχε ολοκληρωθεί χωρίς την συμπαράσταση αλλά και την τόσο σημαντική βοήθεια των καθηγητών και των συναδέλφων μου τους οποίους νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω θερμά.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή και Διευθυντή του εργαστηρίου κ. Γεώργιο Καραμπουρνιώτη για την εμπιστοσύνη του στο να αναλάβω την παρούσα μελέτη αλλά και για τις πολύτιμες γνώσεις και τη βοήθεια που μου προσέφερε ώστε να ολοκληρωθεί με επιτυχία.

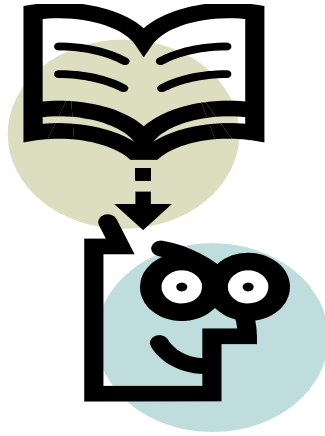
Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Διδάκτορα κ. Δημοσθένη Νικολόπουλο για την πολύτιμη βοήθειά του στη διεξαγωγή των πειραμάτων και την συμπαράστασή του καθ' όλη τη διάρκεια αυτού του μεταπτυχιακού.

Επίσης ευχαριστώ τον Επίκουρο καθηγητή κ. Γεώργιο Αιβαλάκι για την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή και τον Λέκτορα κ. Γεώργιο Λιακόπουλο για τις παρατηρήσεις και την βοήθεια που μου προσέφερε.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην πολύ καλή μου φίλη και συνάδελφο κα. Παναγιώτα Μπρέστα για τις ώρες που αφιέρωσε και την τόσο πολύτιμη βοήθειά της σε όλες τις φάσεις εκπόνησης της μελέτης αλλά και το τόσο ευχάριστο κλίμα που δημιουργούσε στο εργαστήριο.

Ευχαριστώ τις φίλες και συναδέλφους κα. Γεωργία Τοουλάκου και Sally Sumbelle για τις συμβουλές τους καθώς και την κα. Νούλη Σιψά για το ενδιαφέρον και τη στήριξή της.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου για την αγάπη και τη στήριξη όλα αυτά τα χρόνια, τους φίλους μου αλλά και τον Οδυσσέα για την αγάπη του και την συμπαράστασή του.



Ε ΙΣΑΓΩΓΗ

ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΑΜΥΝΑ

ΓΕΝΙΚΑ

Σε όλα τα φυσικά οικοσυστήματα, αλλά και στις καλλιέργειες τα φυτά υποβάλλονται καθημερινά σε περισσότερες της μιας καταπονήσεις. Η ρύθμιση ζωτικών λειτουργιών, όπως της φωτοσύνθεσης, αλλά και η ρύθμιση της ανάπτυξης επιτελείται μέσω αλληλεπιδράσεων περισσότερων του ενός παραγόντων καταπόνησης. Συνεπώς, περιορισμοί στη διάθεση ορισμένων πόρων επηρεάζουν τις αντιδράσεις των φυτών έναντι άλλων παραγόντων καταπόνησης.

Οι περιβαλλοντικές καταπονήσεις δημιούργησαν συνθήκες ισχυρής επιλεκτικής πίεσης, προκαλώντας μοριακές, βιοχημικές, φυσιολογικές και μορφολογικές αντιδράσεις που συνετέλεσαν στην προσαρμογή και την επιβίωση των φυτών στις δυσμενείς συνθήκες.

Φυτά τα οποία διαβιούν σε δυσμενή περιβάλλοντα συνήθως επενδύουν μεγάλο ποσοστό των διαθέσιμων πόρων σε αμυντικές λειτουργίες, ώστε να μπορούν να αντιμετωπίσουν τις καταπονήσεις οι οποίες ασκούνται. Αυτές διακρίνονται σε βιοτικές, οι οποίες προκαλούνται από άλλους οργανισμούς και σε αβιοτικές που προκαλούνται από ένα πλεόνασμα ή μια έλλειψη ενός πόρου στο φυσικό ή χημικό περιβάλλον (Καραμπουρνιώτης, 2003).

ΑΒΙΟΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ

Η έκθεση των φυτών σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες προκαλεί ένα ευρύ φάσμα αντιδράσεων, που μπορεί να αφορούν αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση αλλά και μεταβολές στα βιοχημικά μονοπάτια, στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτικών οργάνων. Οι σημαντικότερες αβιοτικές καταπονήσεις είναι οι εξής: η ξηρασία, η αλατότητα, οι ακραίες θερμοκρασίες, η οξειδωτική, η παρουσία βαρέων μετάλλων αλλά και οι ακραίες τιμές έντασης ακτινοβολίας, που θα μας απασχολήσουν παρακάτω.

Τα φυτά προκειμένου να αντιμετωπίσουν τις αβιοτικές καταπονήσεις, έχουν αναπτύξει ορισμένες στρατηγικές, δηλαδή μηχανισμούς οι οποίοι καθορίζονται γενετικά και δίνουν τη δυνατότητα σε αυτά να επιβιώσουν σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον. Μία στρατηγική είναι η διαφυγή και αφορά κυρίως ετήσια φυτά που ολοκληρώνουν το βιολογικό τους κύκλο μέσα στην ευνοϊκή περίοδο κατά την οποία δεν υφίσταται ο παράγων καταπόνησης. Η ανθεκτικότητα είναι μια άλλη στρατηγική όπου παρουσία του ή των παραγόντων καταπόνησης τα φυτά διατηρούν υψηλή μεταβολική δραστηριότητα, συγκρίσιμη με εκείνη που παρατηρείται στις βέλτιστες συνθήκες και τέλος η αποφυγή με την οποία τα φυτά διαθέτουν μηχανισμούς οι οποίοι αμβλύνουν τις επιπτώσεις της καταπόνησης.

Η επιλογή της επιμέρους στρατηγικής από το κάθε φυτό ώστε να ανταπεξέλθει έναν παράγοντα καταπόνησης, προϋποθέτει τις κατάλληλες τροποποιήσεις σε επίπεδο δομών και λειτουργιών. Στην περίπτωση που οι τροποποιήσεις καθορίζονται γενετικά και εμφανίζονται μέσω της διαδικασίας της επιλογής για ένα διάστημα αρκετών γενεών περιγράφονται με τον όρο προσαρμογή με την οποία προσδίδονται ανταγωνιστικά πλεονεκτήματα στο συγκεκριμένο είδος όταν αυτό αντιμετωπίζει έναν ή περισσότερους παράγοντες καταπόνησης. Στην περίπτωση που οι τροποποιήσεις των μορφολογικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών για την αντιμετώπιση παραγόντων καταπόνησης είναι επίκτητες, τότε αναφερόμαστε σε εγκλιματισμό. Κατά τη διάρκεια του εγκλιματισμού παρατηρούνται μεταβολικές τροποποιήσεις, ώστε η ομοιόσταση σε κυτταρικό επίπεδο να ανταποκρίνεται στις νέες συνθήκες (Καραμπουρνιώτης, 2003).

Η ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που εκπέμπεται από τον ήλιο, αποτελεί πηγή ενέργειας για τους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς. Ωστόσο, κάτω από ορισμένες συνθήκες μπορεί να αποτελέσει σημαντικό παράγοντα καταπόνησης για τα φυτά. Σε αυτό το σημείο καθοριστική σημασία έχουν τόσο η ποσότητα (ως ροή φωτονίων), όσο και η ποιότητα (ως φασματική κατανομή) της ακτινοβολίας που δέχονται τα φυτά.

Η ποσότητα καθορίζει την εισροή ενέργειας προς τα φωτοχημικά κέντρα των οποίων η λειτουργία επηρεάζεται σημαντικά εάν η ενέργεια παρέχεται τόσο σε ανεπαρκή, όσο και σε υπερβολικά επίπεδα. Σημαντικό ρόλο επίσης παίζει και η ποιότητα της ακτινοβολίας διότι το ενεργειακό περιεχόμενο των φωτονίων καθορίζει και το είδος των χημικών αλλαγών οι οποίες μπορούν να συμβούν σε ένα συγκεκριμένο υλικό-στόχο στο οποίο προσπίπτουν αυτά.

Τα επίπεδα ακτινοβολίας κάτω από τα οποία αναπτύσσονται τα φυτά μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την, Μορφολογία, Ανατομία, Βιοχημεία και Φυσιολογία των φύλλων. Εκτός από την ένταση της προσπίπτουσας φωτεινής ακτινοβολίας, σημαντικό ρόλο παίζουν η φωτοπερίοδος, η φασματική κατανομή και η γωνία πρόσπτωσης των ακτίνων. Το φωτεινό περιβάλλον μπορεί να αποτελέσει παράγοντα καταπόνησης στα φυτά, είτε με τη μορφή φωτοπενίας (π.χ. έντονη σκιά), είτε με τη μορφή τοξικότητας (π.χ. υψηλή ένταση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας).

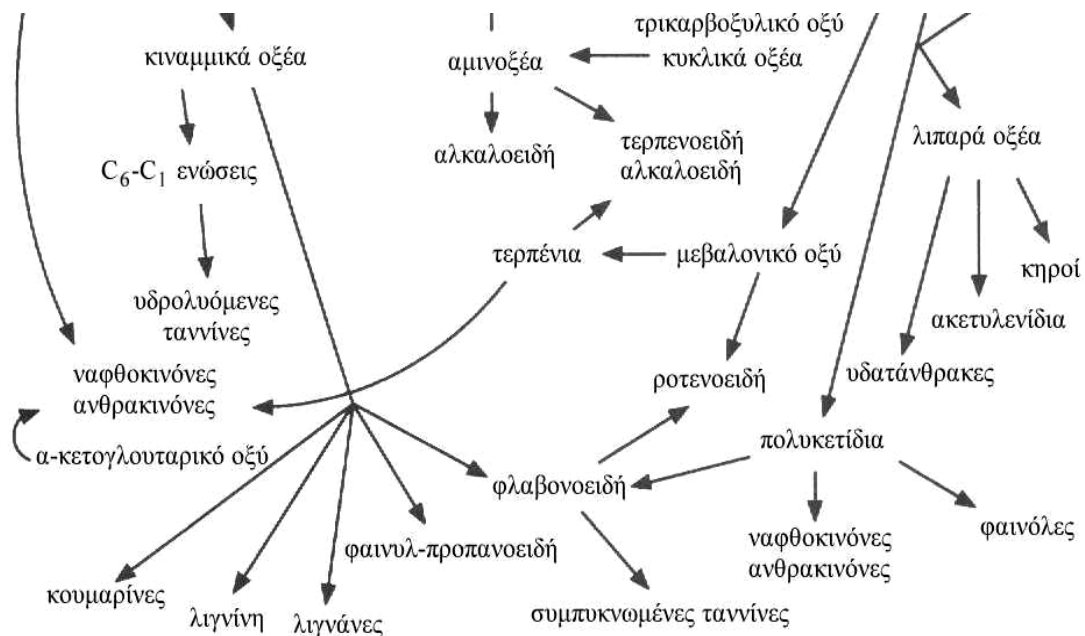
Οι υψηλές εντάσεις φωτισμού αποτελούν παράγοντα καταπόνησης για φυτά τα οποία είναι προσαρμοσμένα σε συνθήκες χαμηλού φωτισμού και χαρακτηρίζονται ως φυτά-σκιάς (σκιόφυτα). Αντιθέτως τα φυτά-φωτός (ηλιόφυτα) καταπονούνται σε συνθήκες σκίασης ενώ αναπτύσσονται ικανοποιητικά σε περιβάλλον με άπλετο φωτισμό (Καραμπουρνιώτης, 2003); Lambers et al. 2008).

Η ΑΜΥΝΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΒΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ

Στα φυσικά οικοσυστήματα, οι φυτικοί οργανισμοί βρίσκονται αντιμέτωποι με ένα περιβάλλον που μπορεί να αποδειχτεί εχθρικό για την ανάπτυξή τους. Οργανισμοί όπως βακτήρια, μύκητες, ιοί, νηματώδεις, ακάρεια, έντομα και φυτοφάγα ζώα αποτελούν μια μόνιμη απειλή για την επιβίωση των φυτών. Δεδομένου ότι τα φυτά αδυνατούν να ανταπεξέλθουν στις αντίξορες συνθήκες του βιοτικού περιβάλλοντος με τη φυγή, αναγκάστηκαν μέσω της εξέλιξης να εφοδιαστούν εκτός από την κατάλληλη δομή, και με ένα τεράστιο βιοχημικό οπλοστάσιο δευτερογενών μεταβολιτών οι οποίοι αποτελούν ασπίδα των φυτικών κυττάρων έναντι των επίδοξων εχθρών (Καραμπουρνιώτης, 2003).

ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ

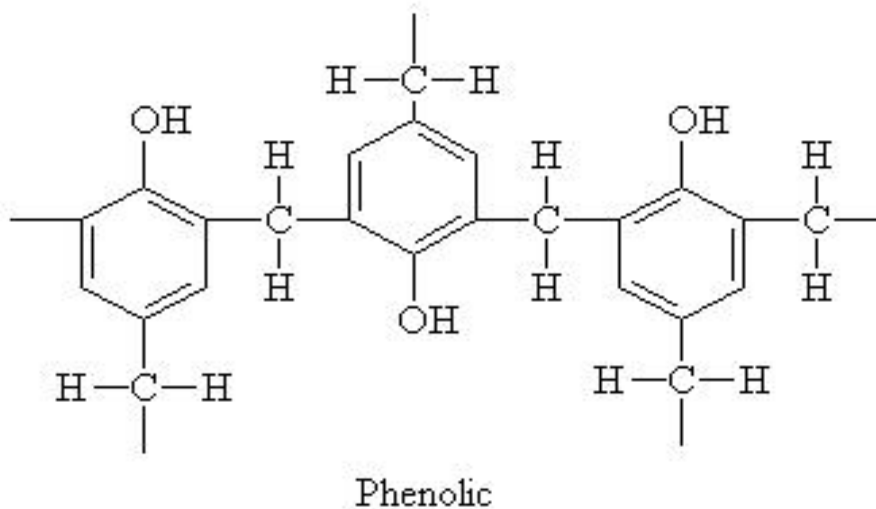
Πρόκειται για ουσίες οι οποίες προέρχονται από ενδιάμεσες ενώσεις του πρωτογενούς μεταβολισμού και συντίθενται μέσω βιοχημικών οδών, οι οποίες στο σύνολό τους συνιστούν το δευτερογενή μεταβολισμό (Εικόνα Α.1). Ενώ ο αριθμός των επί μέρους προϊόντων του δευτερογενούς μεταβολισμού είναι εξαιρετικά υψηλός, οι ενδιάμεσες ουσίες του πρωτογενούς μεταβολισμού από τις οποίες προέρχονται τα προϊόντα αυτά καθώς και οι κύριες βιοσυνθετικοί οδοί, είναι ολιγάριθμες. Με βάση τη βιοσυνθετική οδό μέσω της οποίας παράγονται καθώς και τα χαρακτηριστικά του μορίου τους, οι δευτερογενείς μεταβολίτες κατατάσσονται συνήθως σε τρεις μεγάλες ομάδες: φαινολικές ενώσεις, τερπένια, αζωτούχες ενώσεις (Seigler, 1998).



Εικόνα Α.1. Σύνοψη του δευτερογενούς μεταβολισμού των ανώτερων φυτών (από Seigler, 1998).

Η ΟΜΑΔΑ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

Η ομάδα των φαινολικών ενώσεων περιλαμβάνει μεταβολίτες οι οποίοι χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη μιας τουλάχιστον φαινολικής ομάδας (αρωματικός δακτύλιος υποκατεστημένος με ένα υδροξύλιο) στο μόριό τους (Waterman and Mole, 1994). Οι φαινολικές ενώσεις συντίθενται κυρίως μέσω των βιοσυνθετικών οδών του σικιμικού ή/και του μηλονικού οξέος. Μέσω αντιδράσεων συμπύκνωσης, προσθήκης ή πολυμερισμού του βασικού αρωματικού δακτυλίου, προκύπτει ένας μεγάλος αριθμός παραγώγων (Harborne, 1989; Strack, 1997; Taiz and Zeiger, 1998).



Οι φαινολικές ενώσεις συμμετέχουν σε σημαντικό ποσοστό στη σύνθεση της φυτικής βιομάζας, κάτι το οποίο δικαιολογεί και τον κρίσιμο οικολογικό τους ρόλο. Υπολογίζεται ότι απαρτίζουν το 40% του οργανικού άνθρακα ο οποίος ανακυκλώνεται στη βιόσφαιρα, ενώ η αποδόμησή τους αποτελεί το περιοριστικό βήμα στην ολοκλήρωση του κύκλου του άνθρακα.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ

Οι σημαντικότεροι ρόλοι που έχουν αποδοθεί στις φαινολικές ενώσεις είναι οι εξής:

α. Παίρνουν μέρος σε σημαντικούς αμυντικούς μηχανισμούς των φυτικών ιστών. Σύμφωνα με την επικρατούσα αντίληψη, ένας μεγάλος αριθμός φαινολικών ενώσεων παίζει ενεργό ρόλο στη διαμόρφωση της θεμελιώδους προϋπάρχουσας άμυνας των φυτικών ιστών έναντι παθογόνων και φυτοφάγων οργανισμών. Χαρακτηριστική δράση παρουσιάζουν οι ταννίνες, οι οποίες μειώνουν την τροφική αξία του γεύματος και σε πολλές περιπτώσεις αποτελούν ισχυρά απωθητικά μόρια για τα φυτοφάγα και οι φουρανοκουμαρίνες (Taiz and Zeiger, 1998). Ορισμένα ισοφλαβονοειδή συμπεριφέρονται ως φυτοαλεξίνες, δηλαδή τοξικά μόρια, των οποίων η σύνθεση επάγεται από την παρουσία φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών (Harborne, 1993).

β. Ορισμένα χαμηλού μοριακού βάρους, πολικά φαινολικά συστατικά των φυλλικών επιφανειών, καθώς και φαινολικά τα οποία εκκρίνονται από τις ρίζες παρουσιάζουν αλληλοπαθητική δράση, μπορεί δηλαδή να διοχετεύονται στο έδαφος μετά από έκπλυση και να επηρεάζουν τη βλάστηση των σπερμάτων και την ανάπτυξη γειτονικών φυτών (Harborne, 1993).

γ. Ορισμένες φαινολικές ενώσεις (κυρίως φλαβονοειδή) εμπλέκονται σε αμοιβαία επωφελείς σχέσεις φυτών-μικροοργανισμών, αφού μεσολαβούν ως εξειδικευμένα σήματα για την εγκαθίδρυση των συμβιωτικών σχέσεων στα φυμάτια των ψυχανθών και των μυκορριζών (Fisher and Long, 1992; Koes *et al.*, 1994; Dakora, 1995; Shirley, 1996; Strack, 1997).

δ. Φαινολικές ενώσεις (κυρίως φλαβονοειδή) είναι υπεύθυνες για την προστασία των φυτικών ιστών από τη ζημιογόνο επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας (Caldwell *et al.*, 1983; Tevini, 1994; Bornman, 1999; Rozema, 1999;). Εντοπίζονται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε επιφανειακούς προστατευτικούς ιστούς, όπως η επιδερμίδα και τα εξαρτήματά της.

ε. Ορισμένες χρωστικές (φλαβονοειδή, κυρίως ανθοκυάνες) παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αναπαραγωγής προσδίδοντας στα άνθη τους χαρακτηριστικούς χρωματισμούς, μέσω των οποίων προσελκύνονται οι επικονιαστές. Ορισμένα επίσης φλαβονοειδή συμπεριφέρονται ως εξειδικευμένα σήματα, τα οποία προσανατολίζουν την προβολή του γυρεόκοκκου προς την σπερματική βλάστη. (Koes *et al.*, 1994; Dakora, 1995)

στ. Ορισμένα φαινολικά συστατικά συμμετέχουν επίσης στη σύνθεση της σουβερίνης και της κουτίνης, λιπόφιλα ετερογενή πολυμερή τα οποία προστατεύουν την επιφάνεια των φυτικών οργάνων από τις απώλειες νερού και τις προσβολές από παθογόνα και εχθρούς (Shirley, 1996; Harborne, 1997; Strack, 1997).

Οι φαινολικές ενώσεις συσσωρεύονται υπό την επίδραση όχι μόνο των βιοτικών, αλλά και ορισμένων αβιοτικών καταπονήσεων και ερεθισμάτων (Dixon and Paiva, 1995) Η συσσώρευση των ουσιών αυτών (κυρίως φλαβονοειδών) επάγεται από αυξημένα επίπεδα υπεριώδους ακτινοβολίας καθώς και από έλλειψη ή τοξικά επίπεδα ορισμένων θρεπτικών στοιχείων.

ΦΩΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ

Πρόσφατες υποθέσεις εργασίας θέτουν υπό μερική αμφισβήτηση την επικρατούσα άποψη ότι ο ρόλος των δευτερογενών αυτών μεταβολιτών σχετίζεται κυρίως με την προστασία έναντι φυτοφάγων και προτείνουν ότι ο κύριος ρόλος των ουσιών αυτών σχετίζεται με την προστασία έναντι της φωτοοξειδωσης. Οι

υποθέσεις αυτές στηρίζονται στην αντιοξειδωτική δράση μιας πληθώρας φαινολικών συστατικών, των οποίων μάλιστα η συγκέντρωση αυξάνεται σε συνθήκες που ευνοούν την οξειδωτική καταπόνηση, όπως π.χ. υψηλές εντάσεις φωτεινής ακτινοβολίας, αυξημένες δόσεις UV-B ακτινοβολίας, ή παρουσία άλλων αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης. Η απορροφούμενη από τα φύλλα ηλιακή ενέργεια συνήθως ξεπερνά τα ανώτερα επίπεδα της φωτοσυνθετικής ικανότητας. Ποσοστό από την πλεονάζουσα ενέργεια αποδίδεται ως θερμότητα μέσω του κύκλου των ξανθοφυλλών. Άλλο ποσό της ενέργειας χρησιμοποιείται σε διαδικασίες όπως η φωτοαναπνοή και ο κύκλος νερού-νερού, μειώνοντας τα πλεονάζοντα επίπεδα ενέργειας. Στην περίπτωση που η φωτεινή ενέργεια που απορροφάται ξεπεράσει τα επίπεδα ικανότητας των φωτοσυνθετικών και φωτοπροστατευτικών διαδικασιών, η πλεονάζουσα ενέργεια προκαλεί τον σχηματισμό ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικές βλάβες στους φυτικούς ιστούς. Συγκεκριμένα οι ενεργές μορφές οξυγόνου μπορεί να προκαλέσουν οξειδώσεις και καταστροφές της χημικής δομής λιπιδίων, χρωστικών, πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων που σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να προκαλέσουν ακόμη και ολική καταστροφή των ιστών των φύλλων με αποτέλεσμα τον θάνατο του φυτού. Τα φυτά παράγουν μια ποικιλία από αντιοξειδωτικά μόρια και ένζυμα μέσω των οποίων εξουδετερώνονται τα ROS που έχουν παραχθεί και περιορίζουν τον κίνδυνο φωτοοξειδωσης. Σε αυτά τα μόρια περιλαμβάνονται το ασκορβικό, η γλουταθειόνη, καροτενοειδή, τοκοφερόλες καθώς και ορισμένα ένζυμα, όπως οι υπεροξειδικές δισμουτάσες (Close and McArthur, 2002). Τα αντιοξειδωτικά συστατικά ασκορβικό και γλουταθειόνη φαίνεται να αυξάνουν τα επίπεδά τους κάτω από συνθήκες υψηλού φωτισμού και περιορισμένων θρεπτικών.

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι ορισμένα τουλάχιστον φαινολικά συστατικά παρουσιάζουν ανάλογη αντιοξειδωτική δράση και ως εκ τούτου προστατεύουν τους φυτικούς ιστούς από φωτοοξειδωση. Τέτοιου είδους μόρια είναι τα φλαβονοειδή τα οποία έχουν φωτοπροστατευτικό ρόλο, καθώς απορροφούν ακτινοβολία στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος (Hahlbrock, 1981; Beggs *et al.*, 1985; Lois, 1994). Επίσης οι ταννίνες φαίνεται να συμπεριφέρονται ως ισχυρά αντιοξειδωτικά και μάλιστα παρουσιάζονται πολύ πιο αποτελεσματικές σε σχέση με τα υπόλοιπα φαινολικά. Συμβατή με την υπόθεση αυτή είναι και η διαπίστωση ότι η συγκέντρωση των φαινολικών στα φύλλα αυξάνεται σε φυτά που αναπτύσσονται κάτω από συνθήκες έντονου φωτισμού (συχνά τριπλασιάζεται) ή περιορισμένων θρεπτικών.

ΟΙ TANNINES

Οι ταννίνες αποτελούν πολυμερή δομικών μονάδων φαινολικών ουσιών. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες αποτελούν πολυμερή προανθοκυανιδινών, ενώ οι υδρολυόμενες ταννίνες αποτελούν ετερογενή πολυμερή με χαμηλότερο βαθμό πολυμερισμού τα οποία απαρτίζονται συνήθως από απλά φαινολοξέα συνδεδεμένα με σάκχαρα. Οι ταννίνες πιστεύεται ότι έχουν σημαντικό αμυντικό ρόλο διότι εάν συμπεριληφθούν στην τροφή φυτοφάγων προκαλούν ανασχεση της ανάπτυξης και πιθανόν ακόμη και το θάνατο. (Feeny, 1976; Rhoades et al.,1979; Harborne,1989). Η δράση τους αυτή σχετίζεται με την ιδιότητά τους να αντιδρούν και να κατακρημνίζουν αδιακρίτως πρωτεΐνες. Παράλληλα, οι ταννίνες προσδίδουν στην τροφή αποτρεπτική γεύση, ενώνονται με πρωτεΐνες του ιστού που καταναλώνεται μειώνοντας τη διαθεσιμότητά τους και την θρεπτική αξία του ιστού, ενώ για ορισμένους οργανισμούς είναι απευθείας τοξικές. (Swain, 1977; Harborne, 1993; Shain, 1995). Η συγκέντρωσή τους είναι συνήθως υψηλότερη σε εξωτερικές στοιβάδες κυττάρων φυτικών οργάνων, όπως για παράδειγμα στους ανώριμους καρπούς. Οι ταννίνες βρίσκονται σε πολλά φυτικά είδη, κυρίως όμως συντίθενται εντονότερα στην περίπτωση τραυματισμού του φυτικού ιστού, οπότε καταστρέφονται τα κύτταρα και κατά συνέπεια η υπάρχουσα

ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΤΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ

Η διαθεσιμότητα των θρεπτικών, ιδιαίτερα του αζώτου και του φωσφόρου, επηρεάζει το ρυθμό ανάπτυξης των φυτικών οργανισμών, κατά συνέπεια καθορίζει και την ανταγωνιστική του ικανότητα έναντι των υπόλοιπων φυτικών οργανισμών του ενδιαίτηματος, δηλαδή των ανταγωνιστών. Εντούτοις, ο βαθμός επάρκειας των θρεπτικών στοιχείων επηρεάζει άμεσα και καθοριστικά και την άμυνα των φυτών έναντι των φυτοφάγων (Herms and Mattson, 1992; Haukioja et al.,1998). Ουσιαστικά όλοι αυτοί οι παράγοντες, διαθεσιμότητα θρεπτικών, ανάπτυξη, ανταγωνιστική ικανότητα και άμυνα συνδέονται άρρηκτα μεταξύ τους, όπως συμβαίνει σε κάθε ζωντανό οργανισμό.

Μέχρι στιγμής έχουν αναπτυχθεί αρκετές θεωρίες που περιγράφουν τις σχέσεις αυτές, τις ισορροπίες που τις διέπουν και τις στρατηγικές που αναπτύσσουν τα φυτά σε συγκεκριμένα περιβάλλοντα. Οι κυριότερες θεωρητικές ερμηνείες των προτύπων της άμυνας των φυτών εξετάζουν το θέμα από την οικολογική ή την εξελικτική του σκοπιά, προσπαθώντας παράλληλα να δώσουν απάντηση στην υπάρχουσα ποιοτική και ποσοτική διαφοροποίηση των δευτερογενών μεταβολιτών μεταξύ των φυτικών ειδών. Στη συνέχεια αναφέρονται με συντομία οι κυριότερες θεωρίες για τη φυτική άμυνα, με τη χρονολογική σειρά που αυτές διατυπώθηκαν:

Ο λόγος ύπαρξης των δευτερογενών μεταβολιτών (La raison d'etre, Fraenkel 1959)

Ο Fraenkel το 1959 αποδίδει για πρώτη φορά αμυντικό ρόλο στους δευτερογενείς μεταβολίτες, παρά το γεγονός ότι η επικρατούσα άποψη της εποχής εκείνης τους παρουσίαζε ως υποπροϊόντα του μεταβολισμού, ως τυχαία άχρηστα προϊόντα, είτε ως αποθηκευτικά συστατικά για την αντιμετώπιση δυσμενών συνθηκών.

Συγκεκριμένα ο Fraenkel αναφέρει τα εξής: «Τα φυτά περιέχουν επίσης μια μεγάλη ποικιλία των αποκαλούμενων δευτερογενών φυτικών ενώσεων. Οι ενώσεις αυτές ανήκουν σε ομάδες όπως τα γλυκοζίδια, οι σαπωνίνες, οι ταννίνες, τα αλκαλοειδή, τα αιθέρια έλαια, τα οργανικά οξέα καθώς και σε άλλες που έχουν ήδη περιγραφεί. Ο ρόλος τους όμως στο μεταβολισμό των φυτών δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί. Η κατανομή τους στα διάφορα taxa ποικίλει σημαντικά, γεγονός που υποδηλώνει ότι δεν αποτελούν απαραίτητα μόρια για το βασικό μεταβολισμό των φυτών και αντίστοιχα δεν ανήκουν στα αναγκαία θρεπτικά για την ανάπτυξη των εντόμων. Η επιλογή τροφής από τα έντομα εξαρτάται από την παρουσία ή την απουσία των δευτερογενών μεταβολιτών που ουσιαστικά επάγουν ή αποτρέπουν την πρόσβαση στα πραγματικά απαραίτητα θρεπτικά».

Λαμβάνοντας υπ' όψη τη πολυπλοκότητα της δομής των δευτερογενών μεταβολιτών είναι μάλλον άτοπη η θεώρησή τους ως υποπροϊόντα του μεταβολισμού. Σε καμία περίπτωση δεν μπορούν τα τελικά, άχρηστα προϊόντα να έχουν πιο σύνθετη δομή από τα αρχικά υλικά, αφού στην αντίθετη περίπτωση το μεταβολικό κόστος της σύνθεσης και απέκκρισης θα ήταν απαγορευτικό. Στα χρόνια που ακολούθησαν τα δεδομένα εμπλουτίστηκαν και είχαν ως αποτέλεσμα τη διατύπωση πολυάριθμων υποθέσεων εργασίας, εκ των οποίων οι σημαντικότερες μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

Θεωρία βέλτιστης άμυνας (McKey 1974)

Η θεωρία της βέλτιστης άμυνας (Optimal Defence Theory) δέχεται ότι η επένδυση σε δευτερογενείς μεταβολίτες αποτελεί διαδικασία υψηλού κόστους για το φυτό, καθώς αποσπά πόρους απαραίτητους για την ανάπτυξη. Η φυτοφαγία θεωρείται ως η πρωταρχική πίεση που καθορίζει ποσοτικά την επένδυση σε άμυνα ανάμεσα στα φυτικά είδη, αλλά και ανάμεσα στους ιστούς του ίδιου ατόμου. Η θεωρία αναφέρει ότι η φυτοφαγία, ως επιλεκτική πίεση, ευνοεί φυτά με βραδύτερους αναπτυξιακούς ρυθμούς σε σχέση με τους καταναλωτές και με τη βέλτιστη δυνατή επένδυση σε αμυντικά μέσα, με δεδομένο ότι η ανάπτυξη θυσιάζεται ως ένα βαθμό για χάρη της άμυνας. Έτσι, φυτά που αναπτύσσονται σε παρόμοιες συνθήκες αβιοτικού περιβάλλοντος είναι δυνατόν να παρουσιάσουν διαφορετικούς ρυθμούς ανάπτυξης, ανάλογα με την πίεση της φυτοφαγίας που

αντιμετωπίζουν. Όργανα και ιστοί που αντικαθίστανται εύκολα ή που δεν είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση των ατόμων θα πρέπει να εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα αμυντικών μεταβολιτών.

Γενικότερα, τα πρότυπα επένδυσης της άμυνας των φυτών θα αντικατοπτρίζουν τη συχνότητα και την ένταση της θήρευσης που αντιμετωπίσαν οι διάφοροι πληθυσμοί στο παρελθόν (Herms & Mattson 1992).

Υπόθεση ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών (Bryant et al. 1983)

Η υπόθεση ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών (Carbon / Nutrient Balance Theory, CNB) συσχετίζει τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών ή του φωτός στο περιβάλλον, με τον τύπο χημικής άμυνας που διαθέτουν τα φυτά, προτείνοντας ταυτόχρονα τη διάκριση των αμυντικών μεταβολιτών σε αυτούς που έχουν ως βάση τον άνθρακα και σε αυτούς που έχουν ως βάση το άζωτο.

Η υπόθεση της ισορροπίας άνθρακα/θρεπτικών (C/N) στηρίζεται στο ότι η μέτρια ανεπάρκεια θρεπτικών περιορίζει την ανάπτυξη περισσότερο από ότι τη φωτοσύνθεση. Κατά συνέπεια, τα φυτά που αντιμετωπίζουν καταστάσεις μειωμένης διαθεσιμότητας θρεπτικών έχουν περίσσεια φωτοσυνθετικού προϊόντος το οποίο στις δεδομένες συνθήκες δεν μπορεί να επενδυθεί σε αναπτυξιακές διαδικασίες. Επομένως το φωτοσυνθετικό αυτό πλεόνασμα με τη μορφή π.χ. υδατανθράκων συσσωρεύεται και συνεπώς ο λόγος C/N στη βιομάζα αυξάνεται. Οι υδατάνθρακες αυτοί διοχετεύονται στην παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών που έχουν ως βάση τον άνθρακα (τερπένια, φαινολικά και άλλες ουσίες που το μόριό τους περιέχει μόνο C,O,H), οι οποίοι συνιστούν μέρος του αμυντικού δυναμικού των φυτών. Αντιθέτως, αυξημένη πρόσληψη θρεπτικών σε πλούσια εδάφη, μειώνει το λόγο C/N καθώς η ανάπτυξη, με τη χρήση των αφομοιοθέντων θρεπτικών, αποκτά προτεραιότητα έναντι του δευτερογενούς μεταβολισμού.

Η ένταση της φωτεινής ακτινοβολίας μπορεί επίσης να επηρεάσει την ισορροπία του λόγου C/N της φυτικής βιομάζας και συνεπώς και τον δευτερογενή μεταβολισμό. Η σκίαση μειώνει τον λόγο C/N των φυτικών οργάνων περιορίζοντας την αφομοίωση του άνθρακα περισσότερο από την λήψη θρεπτικών. Οι συγκεντρώσεις των δευτερογενών μεταβολιτών που έχουν ως βάση τον άνθρακα μειώνονται καθώς ο περιορισμένος διαθέσιμος άνθρακας διατίθεται για την ανάπτυξη. Η σκίαση φαίνεται να αυξάνει τις συγκεντρώσεις των δευτερογενών μεταβολιτών που έχουν ως βάση το άζωτο και να μειώνει τις συγκεντρώσεις των δευτερογενών μεταβολιτών που έχουν ως βάση τον άνθρακα.

Υπόθεση διαθεσιμότητας πόρων (Coley et al. 1985)

Η υπόθεση της διαθεσιμότητας των πόρων αποτελείται από δύο σκέλη: την υπόθεση των ρυθμών ανάπτυξης (Growth Rate hypothesis) και την υπόθεση των

περιβαλλοντικών περιορισμών (Environmental Constraints hypothesis). Συγκεκριμένα, η υπόθεση της διαθεσιμότητας των πόρων προβλέπει ότι το ευνοϊκότερο επίπεδο άμυνας θα μεταβάλλεται με το ρυθμό ανάπτυξης του φυτού. Η ποσότητα των διαθέσιμων πόρων για την ανάπτυξη (νερο, θρεπτικά και φως), αλληλεπιδρά με την φυτοφαγία. Καθώς ο δυναμικός ρυθμός ανάπτυξης του φυτού μειώνεται, το επίπεδο βέλτιστης άμυνας αυξάνεται. Θεωρώντας την πίεση της φυτοφαγίας σταθερή, επιχειρεί προβλέψεις διακρίνοντας τα φυτά σε βραδυαυξή και ταχυαυξή και τον τύπο άμυνας τους σε δυσκίνητη και ευκίνητη.

Η υπόθεση των περιβαλλοντικών περιορισμών δέχεται ότι ο καθοριστικός παράγοντας στην έκφραση και εξέλιξη της χημικής άμυνας των φυτών είναι η διαθεσιμότητα των περιβαλλοντικών πόρων. Η άποψη ότι η ποιότητα των ενδαιτημάτων καθορίζει την έκφραση των γενετικώς ελεγχόμενων προτύπων άμυνας βασίζεται στην παραδοχή ότι η παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών με βάση τον άνθρακα έχει μικρό ή μηδαμινό κόστος, γιατί αξιοποιεί την περίσσεια των πόρων και δεν τους αποσπά από τα μονοπάτια του πρωτογενούς μεταβολισμού. Η θεωρία των περιβαλλοντικών περιορισμών προβλέπει λοιπόν ότι ο κατευθυντήριος παράγοντας για την ανάπτυξη των αμυντικών μέσων είναι η διαθεσιμότητα των περιβαλλοντικών πόρων και ότι η ανάπτυξη δεν θυσιάζεται σε καμία περίπτωση για χάρη της άμυνας, αφού η άμυνα δεν έχει κόστος. Συνεπώς, φυτά αναπτυσσόμενα σε όμοιες εξωγενείς συνθήκες θα διέθεταν παρόμοιους ρυθμούς ανάπτυξης ακόμα κι όταν αντιμετώπιζαν διαφορετική πίεση φυτοφαγίας.

Υπόθεση ισορροπίας αύξησης / διαφοροποίησης (Lorio 1988, Tuomi et al. 1990, Herms & Mattson 1992)

Η υπόθεση της ισορροπίας ανάπτυξης/διαφοροποίησης (Growth / Differentiation balance theory, GDB) στηρίζεται στις ίδιες αρχές με την υπόθεση ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών, επιχειρεί όμως κάποιες γενικεύσεις καθώς εντάσσει τη δομική και τη χημική άμυνα στις διαδικασίες διαφοροποίησης. Επομένως, ανάγει τον ανταγωνισμό άμυνας- ανάπτυξης σε ανταγωνισμό διαφοροποίησης- ανάπτυξης. Κεντρική θέση στη θεωρία κατέχει το δίλημμα των φυτών: πρέπει να αναπτυχθούν αρκετά γρήγορα ώστε να είναι ικανοί ανταγωνιστές σε σχέση με τα γειτονικά φυτά, αλλά παράλληλα να αναπτύξουν και να διατηρήσουν τους απαιτούμενους αμυντικούς μηχανισμούς ώστε να επιβιώνουν παρουσία καταναλωτών και παθογόνων. Η διαφοροποίηση αναφέρεται στις χημικές αλλαγές που συμβαίνουν στα κύτταρα και τις επακόλουθες μορφολογικές αλλαγές που οδηγούν σε ποιοτικές διαφορές μεταξύ των κυττάρων και στην εξειδίκευσή τους. Πολλές συνιστώσες της διαφοροποίησης όπως η παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών και δομικών χαρακτήρων που περιορίζουν τη θήρευση, αποσπούν

ενέργεια και θρεπτικά στοιχεία από την παραγωγή αφομοιωτικής επιφάνειας, άρα δρουν ως ανταγωνιστές της ανάπτυξης.

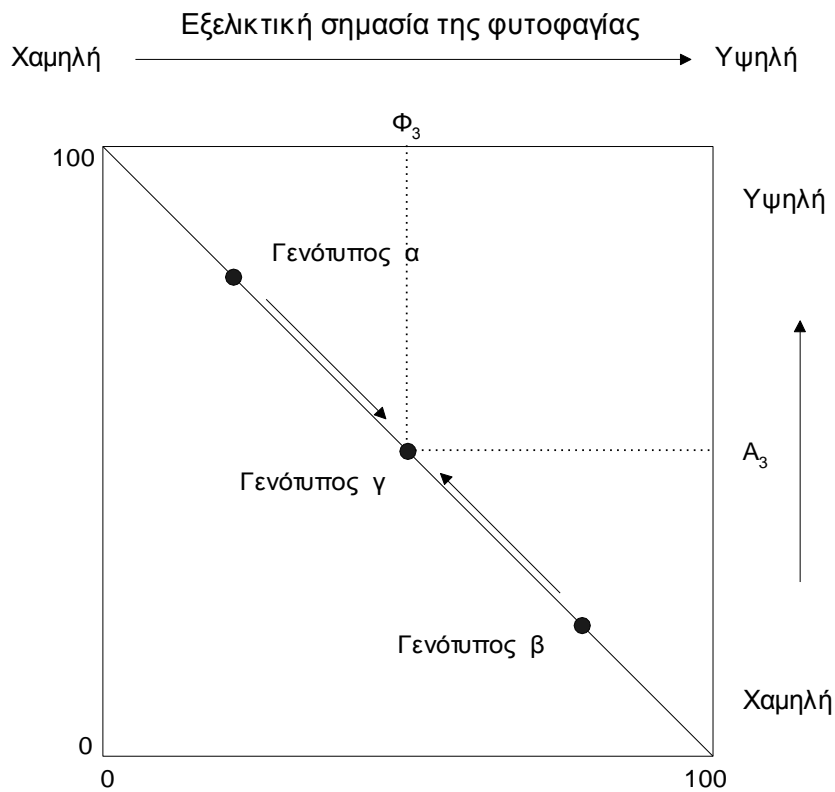
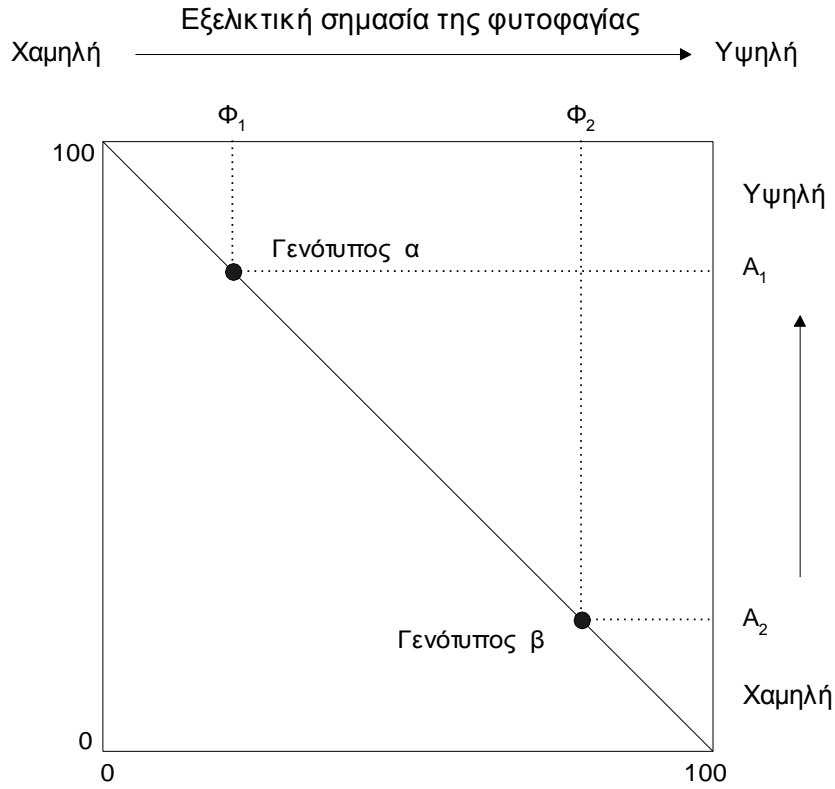
Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, η θεωρία GDB υποστηρίζει ότι οποιοσδήποτε περιβαλλοντικός παράγοντας παρεμποδίζει την ανάπτυξη περισσότερο από ότι τη φωτοσύνθεση, αυξάνει τις πηγές που είναι διαθέσιμες για το δευτερογενή μεταβολισμό. Επομένως, σε ότι αφορά τα θρεπτικά στοιχεία, οι προβλέψεις της θεωρίας αυτής συμπίπτουν με τις αντίστοιχες της θεωρίας CNB. Η γενικευμένη όμως θεώρηση της GDB για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη, της επιτρέπει να προβλέψει επιπλέον τις επιπτώσεις της χαμηλής θερμοκρασίας ή της ήπιας υδατικής καταπόνησης στο δευτερογενή μεταβολισμό. Γενικότερα, η θεωρία GDB υποστηρίζει ότι τα περιβάλλοντα που είναι πλούσια σε πόρους (φωτεινή ακτινοβολία, θρεπτικά, νερό) ευνοούν τα φυτά με αναπτυξιακές προτεραιότητες ταχείας ανάπτυξης με ανεπαρκές αμυντικό δυναμικό. Αντιστοίχως, τα φτωχά περιβάλλοντα εποίκίζονται από είδη που δίνουν προτεραιότητα στη διαφοροποίηση, είναι βραδείας ανάπτυξης και έχουν καλά οργανωμένους αμυντικούς μηχανισμούς.

Αν και οι δυο διαδικασίες (ανάπτυξη και διαφοροποίηση προς αμυντικούς μηχανισμούς) είναι υψίστης σημασίας για την επιβίωση του φυτού, δεν είναι δυνατόν να συμβαίνουν ταυτόχρονα χωρίς η μία να ανταγωνίζεται την άλλη, λόγω των περιορισμών που θέτει ο μεταβολισμός. Η θεωρία αυτή αντιμετωπίζει το όλο θέμα από το κυτταρικό επίπεδο (ταχέως διαιρούμενα κύτταρα συνήθως διαθέτουν μικρές συγκεντρώσεις δευτερογενών μεταβολιτών) έως το επίπεδο των ειδών (ταχυαυξή είδη χαρακτηρίζονται από χαμηλές συγκεντρώσεις δευτερογενών μεταβολιτών). Οι προβλέψεις της θεωρίας αποδίδονται στην Εικόνα 1.

Πρόκειται για ένα θεωρητικό μοντέλο της εξέλιξης των προτύπων κατανομής των πόρων στα φυτά, το οποίο βασίζεται στους οικολογικούς και φυσιολογικούς περιορισμούς που προκύπτουν από τις αντίρροπες δυνάμεις ανάπτυξης - άμυνας και εμπεριέχει τις επιπτώσεις της επιλεκτικής πίεσης από τους φυτοφάγους οργανισμούς και τους ανταγωνιστές. Η διαθεσιμότητα των περιβαλλοντικών πόρων μετριάζει το εξελικτικό αποτέλεσμα.

Τα φωτοσυνθετικά προϊόντα των φυτών καταναλώνονται για τις τρέχουσες ανάγκες (ανάπτυξη, συντήρηση, άμυνα) ή αποθηκεύονται. Τα ποσοστά των προϊόντων της φωτοσύνθεσης που καταναλώνονται στον πρωτογενή μεταβολισμό (άξονας ψ) είναι συμπληρωματικά του ποσοστού που κατανέμεται στο δευτερογενή μεταβολισμό (άξονας χ) και το άθροισμά τους ισούται με το ολικό φωτοσυνθετικό προϊόν. Κάθε φυτό έχει ένα μοναδικό συνδυασμό (χ_i, ψ_i) και ο μέσος όρος των σημείων όλων των φυτών ενός πληθυσμού αντιπροσωπεύεται από

% Ποσοστό φωτοσυνθετικών προϊόντων που κατανέμεται στον πρωτογενή μεταβολισμό (αύξηση)



% Ποσοστό φωτοσυνθετικού προϊόντος που κατανέμεται στο δευτερογενή μεταβολισμό (άμυνα)

Εξελικτική σημασία του ανταγωνισμού

ένα σημείο σε ένα σύστημα συντεταγμένων (x, ψ). Επεκτείνοντας το μοντέλο από φυσιολογικό σε οικολογικό - εξελικτικό θεωρούμε ότι στους άξονες x και ψ , εκφράζεται και η ένταση της φυτοφαγίας και του ανταγωνισμού, αντίστοιχα (Εικόνα 1). Όσο η διαθεσιμότητα των πόρων αυξάνει, η σημασία του ανταγωνισμού σε σχέση με τη σημασία της φυτοφαγίας αυξάνει.

Όπως φαίνεται στο παραπάνω σχήμα ο γενότυπος α αναπτύσσεται σε ένα περιβάλλον όπου η σημασία του ανταγωνισμού είναι μεγαλύτερη από της φυτοφαγίας ($A_1 > \Phi_1$). Ο γενότυπος β αναπτύσσεται σε ένα περιβάλλον όπου η σημασία της φυτοφαγίας είναι σημαντικότερη από του ανταγωνισμού ($\Phi_2 > A_2$). Σε ένα περιβάλλον όπου η πίεση της φυτοφαγίας και του ανταγωνισμού είναι ισότιμες ($\Phi_3 = A_3$) και οι δύο γενότυποι (α, β) θα υποστούν κατευθύνουσα επιλογή συγκλίνοντας προς ένα γενότυπο γ , ο οποίος θα πλεονεκτεί στις υπάρχουσες συνθήκες επιλογής.

Οι φυσιολογικοί περιορισμοί αποκαθιστούν μια δυναμική ισορροπία μεταξύ του υψηλού ρυθμού αύξησης και των διαδικασιών διαφοροποίησης, που περιορίζουν τη φυτοφαγία. Ο συνδυασμός των γενοτύπων που επιβιώνει σε ένα πληθυσμό, καθορίζεται από τις εξελικτικές πιέσεις του ανταγωνισμού και της φυτοφαγίας, η σημασία των οποίων εξαρτάται κάθε φορά από το εκάστοτε περιβάλλον. Για κάθε τύπο ενδιαιτήματος, για κάθε δεδομένη χρονική στιγμή, θα ευνοείται ένα συγκεκριμένο πρότυπο κατανομής του άνθρακα που δεσμεύτηκε κατά την φωτοσύνθεση (χ_i, ψ_i).

Υπόθεση ανταγωνισμού της σύνθεσης πρωτεϊνών / φαινολικών (Protein / Phenolics Competition Model, PCM, Koricheva et al. 1998, Jones & Hartley 1999)

Το μοντέλο ανταγωνισμού σύνθεσης πρωτεϊνών / φαινολικών (Protein / Phenolics Competition Model, PCM) περιλαμβάνει προβλέψεις που αφορούν στην επένδυση σε ολικά φαινολικά των φύλλων των ανώτερων φυτών κατά την πορεία της ανάπτυξής τους και σε σχέση με τις βιοτικές και αβιοτικές συνθήκες του περιβάλλοντος. Θέτει το δίλημμα ανάπτυξης / διαφοροποίησης που αναπτύχθηκε από την προηγούμενη υπόθεση στη βιοχημική του βάση, εστιάζοντας στον ανταγωνισμό των βιοσυνθετικών διεργασιών παραγωγής πρωτεϊνών και φαινολικών ενώσεων για το κοινό πρόδρομο μόριο φαινυλαλανίνη (PHE). Το πρώτο βήμα στο βιοσυνθετικό μονοπάτι παραγωγής φαινολικών στα ανώτερα φυτά είναι η απαμίνωση της φαινυλαλανίνης προς ϵ - κιναμικό οξύ από το ένζυμο αμμωνιο-λυάση της φαινυλαλανίνης (PAL). Εναλλακτικά, η φαινυλαλανίνη μπορεί να αξιοποιηθεί για την παραγωγή άλλων αμινοξέων και κατ' επέκταση πολυπεπτιδίων. Όταν οι απαιτήσεις για πρωτεϊνοσύνθεση είναι υψηλές, η παραγωγή φαινολικών αναμένεται να περιορίζεται.

Οι απαιτήσεις για πρωτεΐνες στα φύλλα αφορούν στις διεργασίες ανάπτυξης, στις διεργασίες κατανομής του άνθρακα και στις διεργασίες ομοιόστασης. Αντίστοιχα, οι απαιτήσεις για φαινολικά αφορούν στις ανάγκες για ενίσχυση της δομής και χημική προστασία των φύλλων έναντι των βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων.

Οι απαιτήσεις για φαινολικά μεταβάλλονται κατά τα διαδοχικά στάδια ανάπτυξης του φύλλου. Υψηλές είναι οι απαιτήσεις για φαινολικά με φωτοπροστατευτικό ρόλο πριν την έκπτυξη των νεαρών φύλλων, όταν η φωτοσυνθετική συσκευή είναι ανώριμη. Φαινολικά με αμυντικό ρόλο έναντι των φυτοφάγων είναι απαραίτητα νωρίς κατά την έναρξη της αναπτυξιακής διεργασίας, λόγω της υψηλής αξίας των ιστών αλλά και της απουσίας αμυντικών μέσων κατά το στάδιο αυτό. Τέλος, φαινολικά με δομικό ρόλο φαίνεται πως απαιτούνται κυρίως κατά την πορεία της σκληροποίησης του ελάσματος. Διαφορετικές είναι και οι απαιτήσεις για φαινολικά μεταξύ των ειδών με διαφορετική στρατηγική επιβίωσης. Τα βραδυαυξή είδη αναμένεται να παρουσιάζουν σημαντικότερη επένδυση σε αμυντικούς μεταβολίτες σε σχέση με τα ταχυαυξή. Η διαθεσιμότητα των περιβαλλοντικών πόρων (φώς, νερό και θρεπτικά) φαίνεται πως επίσης έχει ρόλο στη ρύθμιση της παραγωγής φαινολικών.

Σύνοψη των οικολογικών θεωριών σχετικά με τα αμυντικά πρότυπα των φυτών

Στο πλαίσιο της ερμηνευτικής προσέγγισης του αμυντικού προτύπου των φυτών διατυπώθηκε μια πληθώρα θεωριών (Herms & Mattson 1992, Hartley & Jones 1997). Η υπόθεση της Βέλτιστης Άμυνας (OD, McKey 1979), που αποτελεί μια από τις αρχικές ερμηνευτικές θεωρίες, προτείνει ότι η επένδυση του φυτού σε αμυντικά μέσα είναι ιδιαίτερα δαπανηρή και πραγματοποιείται σε βάρος της ανάπτυξης. Η κύρια επιλεκτική δύναμη που διαμορφώνει τα πρότυπα του δευτερογενούς μεταβολισμού θεωρείται πως είναι η φυτοφαγία. Έτσι, το ποσοστό της αμυντικής επένδυσης των ιστών θα είναι κατευθείαν ανάλογο με το κόστος της αναπλήρωσής τους σε περίπτωση απώλειας. Υψηλή αμυντική επένδυση αναμένεται σε ιστούς ή όργανα, πολύτιμα ή /και ευάλωτα. Το υψηλό περιεχόμενο σε αμυντικούς μεταβολίτες σε νεαρά φύλλα για παράδειγμα θα μπορούσε να αιτιολογηθεί με βάση τα παραπάνω χαρακτηριστικά.

Σύμφωνα με τη θεωρία ισορροπίας ανάπτυξης – διαφοροποίησης (GDB, Lorio 1986, Herms & Mattson 1992), το αμυντικό πρότυπο των φυτών φαίνεται πως αντικατοπτρίζει μια δυναμική ισορροπία μεταξύ της κυρίαρχης τάσης να αναπτυχθούν, ώστε να διεκδικούν αποτελεσματικά τους περιβαλλοντικούς πόρους παρουσία ανταγωνιστών, αλλά ταυτόχρονα και της ανάγκης να προασπίζουν σε ικανοποιητικό βαθμό τις υπάρχουσες δομές (κατ' επέκταση λειτουργίες), ώστε οι

απώλειες που ενδεχομένως θα επιφέρουν τα φυτοφάγα ή και τα παθογόνα να μην κλονίσουν ανεπανόρθωτα την επιβίωσή τους.

Ενώ η υπόθεση ισορροπίας ανάπτυξης – διαφοροποίησης (GDB) προσεγγίζει το θέμα του αμυντικού προτύπου των φυτών στο επίπεδο του ανταγωνισμού μεταξύ ανάπτυξης και άμυνας, δηλαδή «μακροσκοπικά», το μοντέλο ανταγωνισμού για παραγωγή πρωτεϊνών – φαινολικών (PCM, Haukioja et al. 1998, Jones & Hartley 1999) το τοποθετεί στη βιοχημική του βάση, παρέχοντας το πλαίσιο για ειδικότερες και ακριβέστερες προβλέψεις, με αναφορά στις επιμέρους διακριτές ομάδες δευτερογενών μεταβολιτών. Όπως προαναφέρθηκε, η κατανομή του πλεονάζοντος φωτοσυνθετικού προϊόντος στα μονοπάτια του δευτερογενούς μεταβολισμού είναι άνιση. Η απόκριση συνεπώς των επιμέρους ομάδων στη μεταβολή της διαθεσιμότητας των πόρων αναμένεται να μην είναι πανομοιότυπη.

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΦΥΛΩΝ ΣΕ ΔΙΟΙΚΑ ΕΙΔΗ

Ο όρος αναφέρεται σε φυτικούς οργανισμούς οι οποίοι φέρουν μόνο αρσενικά ή μόνο θηλυκά άνθη σε ξεχωριστά άτομα. Τα δίοικα είδη αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό ποσοστό φυτικών ειδών των χερσαίων οικοσυστημάτων. Όλα τα είδη του γένους *Pistacia*, *Phoenix*, το ακτινίδιο, η κάνναβη, η συκιά, η ο λωτός, η παπάγια και πολλά άλλα ανήκουν σε αυτή την κατηγορία. Στους φυσικούς πληθυσμούς η αναλογία των φύλων ανέρχεται συνήθως σε 1:1 αλλά μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τις υπάρχουσες συνθήκες άρδευσης, θρεπτικών, έντασης φωτός, θερμοκρασίας, συγκέντρωσης CO₂ αλλά και της ύπαρξης παραγόντων καταπόνησης (Ποντικής, 1996).

Εκτός των φαινοτυπικών διαφορών, τα διαφορετικά φύλα του ίδιου είδους παρουσιάζουν και διαφορές α) στη διάρκεια ζωής (τα θηλυκά εμφανίζουν συντομότερη διάρκεια), β) σε μορφολογικά χαρακτηριστικά, γ) σε φυσιολογικές και βιοχημικές παραμέτρους και δ) στην κατανομή των διαθέσιμων πόρων. Τα δεδομένα δείχνουν ότι, τα θηλυκά άτομα αντιμετωπίζουν υψηλότερο αναπαραγωγικό κόστος έναντι των αρσενικών, συνεπώς επενδύουν ένα σημαντικό ποσοστό θρεπτικών και ενέργειας στην διαδικασία αναπαραγωγής εις βάρος της βλαστητικής ανάπτυξης (Correia and Barradas 2000). Οι διαφορές που προαναφέρθηκαν φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην ικανότητα εγκλιματισμού σε περιοχές που επικρατούν συνθήκες καταπόνησης, με αποτέλεσμα να διαταράσσεται η αναλογία αρσενικών και θηλυκών ατόμων. Έχει διαπιστωθεί ότι σε συνθήκες καταπόνησης προκαλούνται διαφορετικές αντιδράσεις σε φυσιολογικό, οικολογικό και βιοχημικό επίπεδο και μάλιστα τα αρσενικά άτομα εμφανίζονται περισσότερο ανθεκτικά. Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης π.χ. παρατηρούνται σημαντικές διαφορές όσον αφορά στη συσσώρευση ξηρής μάζας,

στη φωτοσυνθετική ταχύτητα, στο ρυθμό διαπνοής και στην αποτελεσματικότητα χρήσης νερού. Τα αρσενικά άτομα εμφανίζουν υψηλότερη αποτελεσματικότητα χρήσης νερού και αντοχή σε ξηρασία έναντι των θηλυκών. Οι διαφορές αυτές διαμορφώνουν και διαφορετική προσαρμοστική ικανότητα, με τα αρσενικά άτομα να αναπτύσσονται καλύτερα σε ξηρά και άγονα περιβάλλοντα υψηλού υψομέτρου, ενώ τα θηλυκά προτιμούν ένα πιο υγρό, γόνιμο και πεδινό περιβάλλον.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, στα δίοικα φυτά παρατηρούνται ουσιώδεις διαφορές ως προς τις απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία, μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων. Τα αρσενικά καταναλώνουν θρεπτικά συστατικά και ενέργεια ώστε να φέρουν σε πέρας την αναπαραγωγική διαδικασία μόνο για τη σύντομη περίοδο της άνθησης, σε αντίθεση με τα θηλυκά άτομα των οποίων οι ανάγκες παρατείνονται για πολύ μεγαλύτερη περίοδο από την άνθηση έως και την ωρίμανση των καρπών. Διαφορές στα φύλλα έχουν αναφερθεί κατά την βλαστητική ανάπτυξη, επιβίωση, αναπαραγωγή, λειτουργία και δομή των ριζών, φωτοσύνθεση αλλά και στα πρότυπα άμυνας και θήρευσης. Πείραμα στο *Juniperus oxycedrus macrocarpa* (Massei G. et al. 2005) έδειξε ότι τα αρσενικά άτομα παρουσιάζουν ταχύτερη ανάπτυξη αλλά υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών και άλλων δευτερογενών μεταβολιτών.

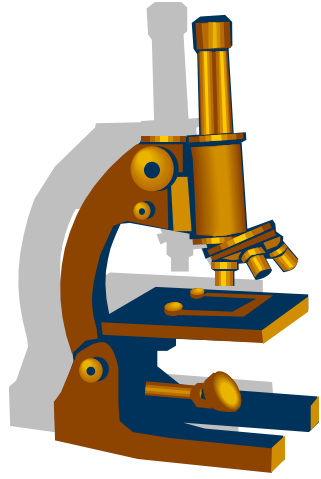
ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΜΥΝΑΣ - ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΕ ΔΙΟΙΚΑ ΕΙΔΗ

Έχει διαπιστωθεί ότι στα δίοικα είδη οι διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων σε μορφολογικό, φυσιολογικό και βιοχημικό επίπεδο έχουν σημαντικές επιπτώσεις και στην επένδυση σε αμυντικούς μηχανισμούς, με αποτέλεσμα τα αρσενικά φυτά να απειλούνται περισσότερο από τα φυτοφάγα ζώα σε σχέση με τα θηλυκά (Herms and Mattson, 1992). Αυτό συμβαίνει διότι, όπως προαναφέρθηκε, στα θηλυκά το αναπαραγωγικό κόστος είναι υψηλότερο καθώς η ενέργεια που απαιτείται για την παραγωγή ανθέων και καρπών είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή των αρσενικών τα οποία παράγουν μόνο άνθη. Το χαρακτηριστικό αυτό διαμορφώνει φύλλωμα με χαμηλότερη θρεπτική αξία για τα φυτοφάγα στα θηλυκά άτομα, σε αντίθεση με τα αρσενικά τα οποία κατά κανόνα διαθέτουν περισσότερα και μεγαλύτερα φύλλα, λιγότερους κλάδους και άνθη, με αποτέλεσμα να προτιμούνται από τους θηρευτές (Cornelissen and Stiling 2005). Αυτή η μορφή θήρευσης που βασίζεται στο φύλο του φυτού μπορεί να εξηγηθεί από την υπόθεση ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών (Carbon / Nutrient Balance Theory, CNB).

Η μεταφορά των θρεπτικών στα αναπαραγωγικά όργανα λόγω των σημαντικών αναγκών, αυξάνει τον λόγο C/N στα φύλλα. Η επίδραση είναι ισχυρότερη στα θηλυκά φυτά επειδή η ωρίμανση των καρπών απαιτεί αναλογικά υψηλότερη

επένδυση σε θρεπτικά απ' ότι απαιτεί η ωρίμανση στα αρσενικά φυτά. Συνεπώς τα θηλυκά προβλέπεται να αναπτύσσονται πιο αργά, να έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις δευτερογενών μεταβολιτών που έχουν ως βάση τον άνθρακα και να είναι περισσότερο ανθεκτικά στους φυτοφάγους οργανισμούς από τα αρσενικά που ανήκουν στο ίδιο είδος. Για τα αρσενικά αναφέρεται γενικότερα ότι αναπτύσσονται ταχύτερα, βιώνουν εντονότερη φυτοφαγία και διαθέτουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις δευτερογενών μεταβολιτών ή λιγότερο ανθεκτικό φύλλωμα (Cornelissen and Stiling, 2005).

Από μελέτες που έγιναν στο δίοικο είδος *Acer negundo* (Hultine et.al 2008) , με βάση την υπόθεση διαθεσιμότητας των πόρων, εξετάστηκαν οι διαφορές στην ανάπτυξη, άμυνα και θήρευση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων. Τα αρσενικά είχαν πράγματι σημαντικά ταχύτερη ανάπτυξη έναντι των θηλυκών. Τα επίπεδα άμυνας των φύλλων, υπολογίστηκαν μετρώντας παραμέτρους όπως η σύσταση σε άζωτο και νερό, η σκληρότητα του φύλλου και η συγκέντρωση σε ολικά φαινολικά και ταννίνες. Τα φύλλα των θηλυκών ήταν πιο σκληρά και προστατεύονταν πολύ καλύτερα από των αρσενικών τα οποία αντιμετώπιζαν περισσότερο τον κίνδυνο της κατανάλωσης από φυτοφάγα.



Υ ΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ

A. Φυτικό Υλικό

Για το πείραμα επιλέχθηκαν αρσενικά και θηλυκά δέντρα φυστικής *Pistacia vera*. Η φυστική είναι δέντρο φυλλοβόλο, δίοικο, πρωτανδρικό, μακρόβιο, βραδείας ανάπτυξης και ύψους 6-9 μέτρων. Τα αρσενικά δέντρα με κριτήριο την περίοδο εμφάνισης ανθέων κατατάσσονται σε τρεις τύπους, τους Α, Β, Γ. Στα αρσενικά δέντρα τύπου Α, ένα μεγάλο ποσοστό των ανθέων τους ανθίζουν πολύ νωρίτερα από τα άνθη των θηλυκών δέντρων, με επακόλουθο να χάνεται μεγάλη ποσότητα γύρης. Στα τύπου Β, μέρος των ανθέων τους ανθίζουν πρωϊμότερα, μέρος δε αυτών μαζί με τα άνθη των θηλυκών ενώ στα τύπου Γ μέρος των ανθέων ανθίζουν μαζί με τα άνθη των θηλυκών δέντρων, μέρος δε μετά την άνθησή τους. Σε περιοχές όπου η άνθηση των θηλυκών δέντρων δεν καλύπτεται από εκείνη του τύπου Γ, ενδείκνυται ο τύπος Δ που ανθίζει οψιμότερα. Τα φύλλα είναι σύνθετα, με περιττό αριθμό φυλλαρίων και φέρονται κατ' εναλλαγή. Στα θηλυκά δέντρα το χρώμα των φύλλων είναι ανοιχτοπράσινο και το σχήμα σχεδόν στρογγυλό. Στα αρσενικά δέντρα το σχήμα των φύλλων είναι ωειδές και το χρώμα ανοιχτοπράσινο για τους τύπους Γ και Δ και βαθυπράσινο για τους τύπους Α και Β (Ποντίκης, 1996).

B. Δειγματοληψίες

Το πείραμα διεξήχθη στο δεντροκομείο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου στις αρχές Ιουνίου του 2009. Για τις ανάγκες των πειραματικών μετρήσεων επιλέχθηκαν 3 αρσενικά δέντρα του τύπου Γ και 3 θηλυκά δέντρα. Τα θηλυκά δένδρα παρουσίαζαν περιορισμένη καρποφορία. Οι μετρήσεις πεδίου σε κάθε δέντρο εφαρμόστηκαν σε 2 φύλλα φωτός και 2 φύλλα σιάς κατά τις πρωινές ώρες μεταξύ 8.00-11.00 π.μ. Αμέσως μετά την ολοκλήρωσή τους, ακολούθησε η δειγματοληψία των φύλλων και η μεταφορά τους στο εργαστήριο μέσα σε φορητό ψυγείο για τις περαιτέρω εργαστηριακές μετρήσεις.

Γ. Μορφολογικές και Ανατομικές Παράμετροι

Γ.1. Μέτρηση Πάχους Φύλλου

Για τη μέτρηση του πάχους των φύλλων πραγματοποιήθηκαν εγκάρσιες τομές σε νωπά φύλλα οι οποίες παρατηρήθηκαν στο Οπτικό Μικροσκόπιο (Zeiss AxioLab (Carl Zeiss, Jena, Germany)) και μετρήθηκε το πάχος τους με τη βοήθεια βαθμονομημένου προσοφθάλμιου φακού. Το πάχος του φύλλου εκφράστηκε σε μm.

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

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

Γ.3. Υπολογισμός Πυκνότητας φύλλου (LD)

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

Γ.4. Μέτρηση Πυκνότητας Στοματίων (Stomatal density)

Για τη μέτρηση της πυκνότητας των στοματίων παρατηρήθηκε η αποαξονική επιφάνεια νωπών δειγμάτων φύλλων στο Μικροσκόπιο φθορισμού με προσπίπτον υπεριώδες φως (μέγιστη ενέργεια στα 365nm) χωρίς υγρό παρατήρησης. Ως επαγωγέας φθορισμού χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 1% 2-αμινόαιθυλεστέρα του διφαινολικού βορικού οξέος (NOE) (Karabourniotis et al. 2001). Υπό τις συνθήκες αυτές το στρώμα των επιεφυμενιδικών κηρών των καταφρακτικών κυττάρων φθορίζει έντονα μπλε φως ενώ αυτό των επιδερμικών κυττάρων εκπέμπει συγκριτικά ασθενέστερο φθορισμό με αποτέλεσμα να καθίσταται ευχερής η μέτρηση του αριθμού των στοματίων και να είναι διακριτός ο στοματικός πόρος. Καταγράφηκαν φωτογραφίες σε κάμερα SSCD 38P/45 (SONY Corporation, Japan) και αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή. Με τη βοήθεια του προγράμματος επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus, μετρήθηκε το διάμετρος άνοιγμα του στοματικού πόρου και εκφράστηκε σε μm . Η πυκνότητα των στοματίων εκφράστηκε σε στομάτια mm^{-2} .

Γ.5. Μέτρηση επιφάνειας αγγείων αγωγού ιστού

Εγκάρσιες νωπές τομές μίσχου φύλλου, στις οποίες προηγήθηκε χρώση με Phloroglucinol (20% HCl), παρατηρήθηκαν στο Οπτικό Μικροσκόπιο (Zeiss AxioLab (Carl Zeiss, Jena, Germany)) και ελήφθησαν φωτογραφίες των κεντρικών και δευτερευουσών (μεσαιού μεγέθους) ηθμαγγειωδών δεσμίδων. Με τη βοήθεια του προγράμματος επεξεργασίας ψηφιακής εικόνας Image Pro-Plus, μετρήθηκε η επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού η οποία εκφράστηκε σε mm^2 .

Γ.6. Υπολογισμός της παραμέτρου *Huber value*

Το *Huber value* υπολογίστηκε ως ο λόγος της συνολικής επιφάνειας των αγγείων του αγωγού ιστού προς το αντίστοιχο ξηρό βάρος του φύλλου και εκφράστηκε σε mm^2g^{-1} .

Δ. Φωτοσυνθετικές παράμετροι

Δ.1. Μέτρηση Συγκέντρωσης Χλωροφυλλών

Από φύλλα ίδιας ηλικίας λαμβάνονταν δίσκοι διαμέτρου 0,85cm. Στη συνέχεια οι δίσκοι αφού τεμαχίστηκαν σε τεμάχια μεγέθους περίπου 1mm^2 τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες και προστέθηκαν 0,1gr CaCO_3 και 6ml DMSO και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 65°C για 40 min. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10min στα 2972 g. Παραλήφθηκε το υπερκείμενο και μετρήθηκε η απορρόφηση του στα 665nm, 649 nm και 720nm σε φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV 160.

Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων έγινε σύμφωνα με τις εξισώσεις (Lichtenthaler et al.):

$$\text{Chla} = 12,47 A_{665} - 3,62 A_{649}$$

$$\text{Chlb} = 25,06 A_{649} - 6,5 A_{665}$$

Οι τελικές τιμές των συγκεντρώσεων των χλωροφυλλών εκφράστηκαν σε mg Chl cm^{-2} επιφάνειας φύλλου.

Δ.2. Μετρήσεις Φωτοσύνθεσης

Η διεξαγωγή των μετρήσεων φωτοσύνθεσης έγινε τις πρώτες ηλιόλουστες μέρες του Ιουνίου του 2009 κατά τις πρωινές ώρες $8^{00} - 11^{00}$. Χρησιμοποιήθηκε το φορητό όργανο μέτρησης φωτοσύνθεσης LI-6400 (Li-COR, Lincoln, NE, USA). Ο φωτισμός του φύλλου στο θάλαμο του οργάνου πραγματοποιείται από πηγή LED.

Το όργανο LI-6400 διαθέτει αυτόματο σύστημα μέτρησης και καταγραφής και άλλων παραμέτρων όπως η ταχύτητα διαπνοής (T) και η στοματική αγωγιμότητα (g_s).

Ε. Βιοχημικές παράμετροι

Ε.1. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικού αζώτου ανά επιφάνεια και ανά μάζα

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.

E.1.1. Προετοιμασία δειγμάτων

Τα δείγματα αφυδατώθηκαν σε κλίβανο στους 70°C για 48 ώρες, και στην συνέχεια λειοτριβήθηκαν και ομογενοποιήθηκαν. Διατηρήθηκαν σε ξηραντήρα μέχρι την στιγμή που χρησιμοποιήθηκαν.

E.1.2. Καύση δειγμάτων

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

E.1.3. 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 H₃BO₃ 2% w/w και 3 σταγόνες δείκτη Conway παρασκευαζόμενου με ανάμιξη 12 ml δ/τος A (ως 25 ml αιθυλικής αλκοόλης 95% και 40 mg ερυθρού του μεθυλίου και μηχανική ανάδευση με ελαφρά θέρμανση κατά την οποία τα αντιδραστήρια πρέπει να διαλυθούν πλήρως), 24 ml δ/τος B (ως 25 ml απεσταγμένου νερού και 10 mg πράσινου της βρωμοκρεσόλης και ανάδευση) και 12 ml 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.

E.1.4. Τιτλοδότηση δειγμάτων

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

E.1.5. Υπολογισμός περιεχόμενου αζώτου

Για την αναγωγή των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε σειρά πρότυπων διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης αζώτου (10–100 mg l⁻¹, 6 σημεία, r² 0,9972). Σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη αναφοράς, 1 ml HCl N/28 αντιστοιχούσε σε 0,52 mg αζώτου.

E.2. Υπολογισμός συγκέντρωσης συνολικών φαινολικών

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

Εκχύλιση

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

Αντίδραση

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

Η ομογενοποίηση των δειγμάτων έγινε με αναδευτήρα Vortex. Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 2 h. Η απορρόφηση για κάθε δείγμα μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 160) στα 760nm. Φτιάχτηκε καμπύλη αναφοράς για διαφορετικές συγκεντρώσεις ταννικού οξέος (Sigma Co). Η συγκέντρωση συνολικών φαινολικών εκφράστηκε σε mg ισοδύναμου ταννικού οξέος ανά g ξηρής ουσίας.

E.3. Υπολογισμός συγκέντρωσης ταννινών

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

Εκχύλιση

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

Προετοιμασία αντιδραστηρίου βουτανόλης

Σε ογκομετρικό σωλήνα 1lt προστέθηκαν 50ml συμπυκνωμένου υδροχλωρικού οξέος (HCl) και 0,7 g FeSO₄·6-7H₂O και συμπληρώθηκε ο όγκος 1lt με βουτανόλη.

Αντίδραση

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

Η ομογενοποίηση των δειγμάτων έγινε με αναδευτήρα Vortex. Στη συνέχεια σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 95°C για 40 min - 1 h. Μετά την επώαση τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν και ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης. Η απορρόφηση για κάθε δείγμα μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 160) στα 550nm.

Στ. Στατιστική Ανάλυση

Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων των μεταχειρίσεων εντοπίστηκαν με ανάλυση διασποράς (ANOVA) και πολλαπλές συγκρίσεις μέσω του κριτηρίου Tukey-Kramer (Jmp 7.0, SAS Institute Inc, Cary, NC) όπου ίσχυαν οι προϋποθέσεις της κανονικότητας και της ομοιότητας των διασπορών των μέσων.

Η ανάλυση παλινδρόμησης πραγματοποιήθηκε για όλα τα πιθανά ζεύγη, μεταξύ του συνόλου των παραμέτρων οι οποίες μελετήθηκαν σε επίπεδο φύλου (αρσενικά και θηλυκά δέντρα). Από το πλήθος των αρχικών αναλύσεων (Microsoft Excel), επιλέχθηκαν αυτές οι οποίες παρουσίαζαν $r^2 > 0,7$ (Πίνακας 1 -Αποτελέσματα).

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν ο εντοπισμός των πιθανών μορφολογικών, ανατομικών, φυσιολογικών και βιοχημικών διαφορών των φύλλων μεταξύ αρσενικών και θηλυκών δέντρων φιστικιάς και ο βαθμός εγκλιματισμού τους σε συνθήκες φωτός και σκιάς.

Τέθηκε επίσης το ερώτημα εάν τα αρσενικά και θηλυκά άτομα παρουσιάζουν διαφορές στην ισορροπία μεταξύ ανάπτυξης και άμυνας των φύλλων τους, όπως αυτή εκφράζεται με το λόγο αζώτου-φαινολικών (N/Phe). Σύμφωνα με προηγούμενα πειράματα της ερευνητικής μας ομάδας ο λόγος αυτός παρουσιάζει γραμμική συσχέτιση με το μέγιστο ρυθμό φωτοσύνθεσης.

Τέλος η παρούσα εργασία απετέλεσε ένα μέσο επαλήθευσης της υπόθεσης ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών (Carbon / Nutrient Balance Theory, CNB).



A ΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Για να διερευνήσουμε τον αρχικό σκοπό του πειράματος κρίθηκε αναγκαία η καταγραφή των σημαντικότερων παραμέτρων σε μορφολογικό, φυσιολογικό, ανατομικό και βιοχημικό επίπεδο. Παράλληλα έγινε σύγκριση των επιπέδων των παραμέτρων μεταξύ φύλλων αρσενικών και θηλυκών δέντρων φωτός και σκιάς, καθώς και η διερεύνηση των πιθανών συσχετίσεων μεταξύ των παραμέτρων αυτών. Με βάση τον πειραματικό αυτό σχεδιασμό θα ήταν εφικτός ο εντοπισμός των διαφορών μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων *Pistacia vera* αλλά και των διαφορών εγκλιματισμού σε συνθήκες διαφορετικού φωτεινού περιβάλλοντος.

A. Μορφολογικές παράμετροι

Οι μορφολογικές παράμετροι οι οποίες υπολογίστηκαν είναι:

- η συνολική επιφάνεια του φύλλου (TLS)
- η μάζα ανά φυλλική επιφάνεια (LMA)
- το ξηρό βάρος του φύλλου (DW)
- το πάχος του φύλλου (LT)
- η πυκνότητα του φύλλου (LD)

Στην Εικόνα 1 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των μορφολογικών παραμέτρων των φύλλων σε θηλυκά και αρσενικά δέντρα σε συνθήκες φωτός και σκιάς. Είναι εμφανές ότι τα φύλλα φωτός των θηλυκών δέντρων διαθέτουν στατιστικά υψηλότερες τιμές των TLS, LMA, DW, LT και LD έναντι των αρσενικών (Εικ.1a-e).

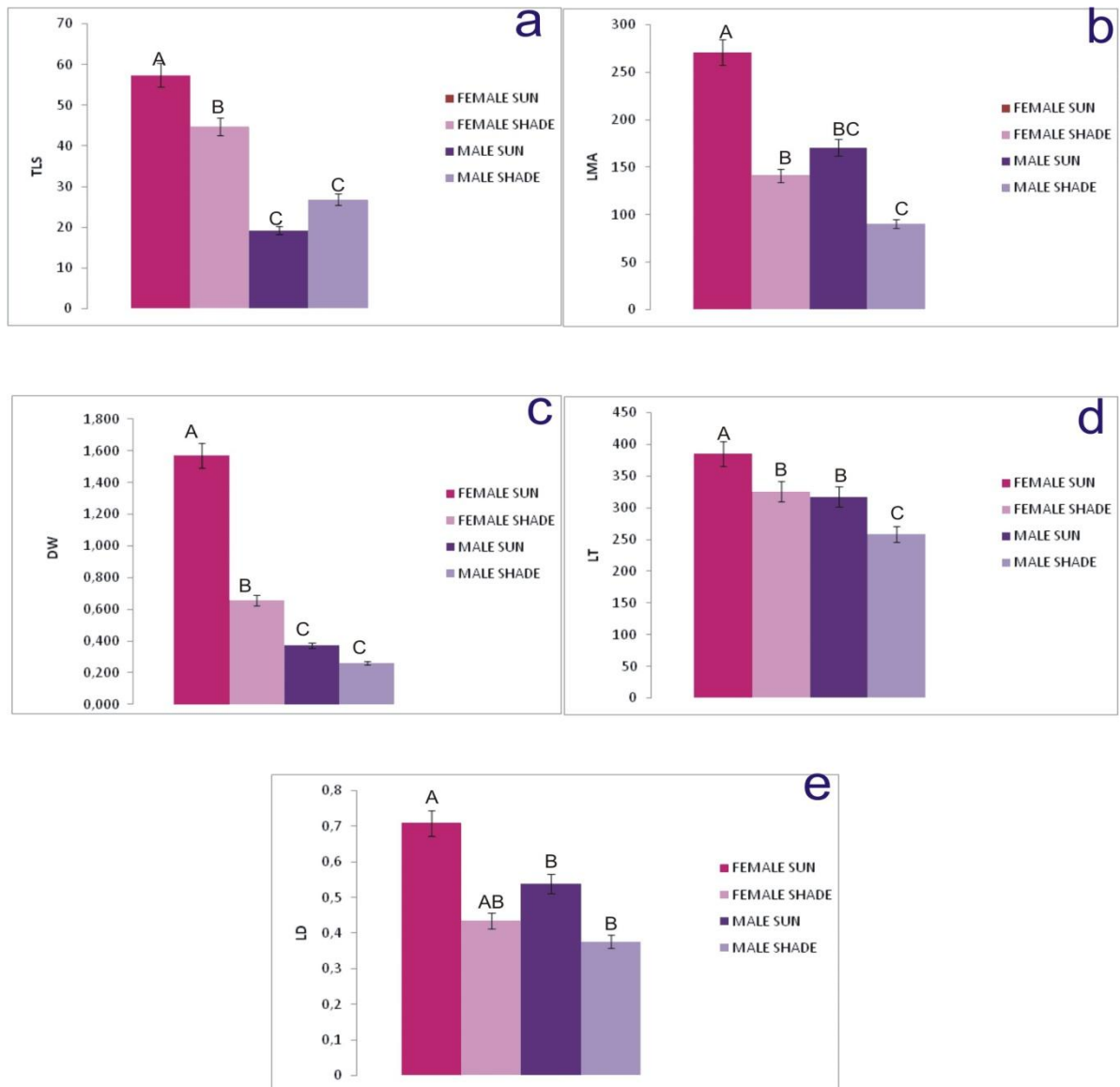
Οι διαφορές των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φύλλων στο φως και τη σκιά είναι σημαντικές και υποδεικνύουν το βαθμό εγκλιματισμού των φύλλων στις διαφορετικές συνθήκες φωτεινού περιβάλλοντος.

B. Ανατομικές παράμετροι

Οι ανατομικές παράμετροι οι οποίες υπολογίστηκαν είναι:

- η επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού των φύλλων (TCA)
- η πυκνότητα των στοματίων (STOM. D.)
- το Huber value ($H=TCA/DW$)

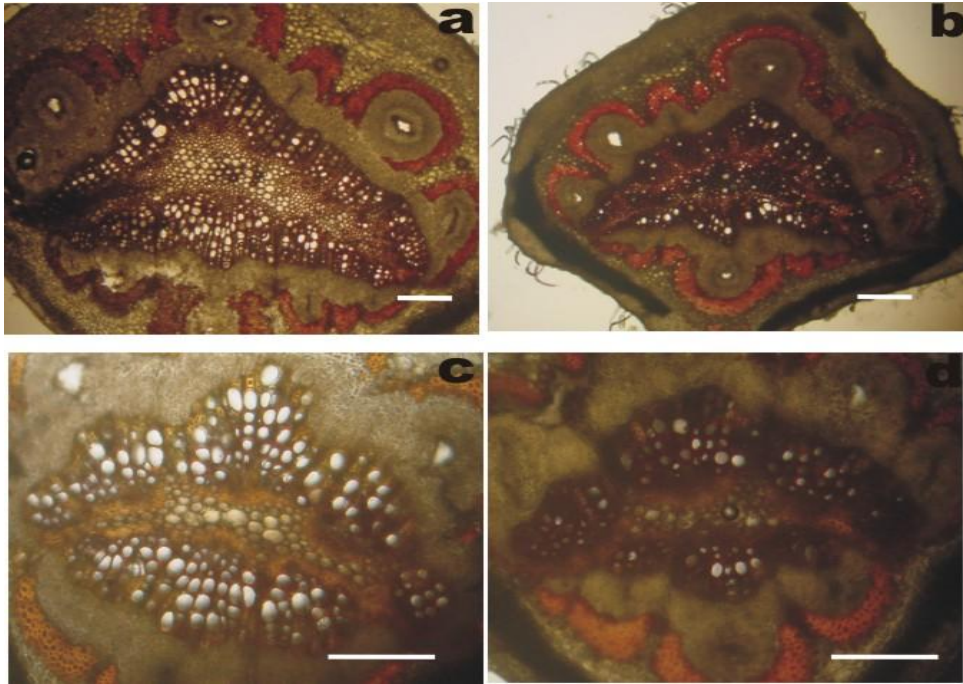
Στην Εικόνα 3 παρουσιάζονται οι βασικές ανατομικές παράμετροι των φύλλων. Η επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού (Εικ.3a) των μίσχων των φύλλων των θηλυκών δέντρων είναι πολύ μεγαλύτερη έναντι αυτής των αρσενικών (βλ. επίσης Εικ 2). Η παράμετρος αυτή στους μίσχους των φύλλων των θηλυκών δένδρων μειώνεται σημαντικά σε συνθήκες σκίασης, αντίθετα με τα φύλλα των αρσενικών δένδρων τα οποία δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ φωτός και σκιάς. Παρατηρήσεις στο μικροσκόπιο φθορισμού έδειξαν ότι τα φύλλα των αρσενικών δέντρων εμφανίζουν μεγαλύτερη πυκνότητα στοματίων έναντι των φύλλων των θηλυκών δέντρων. Τα φύλλα τόσο των θηλυκών όσο και των αρσενικών δέντρων



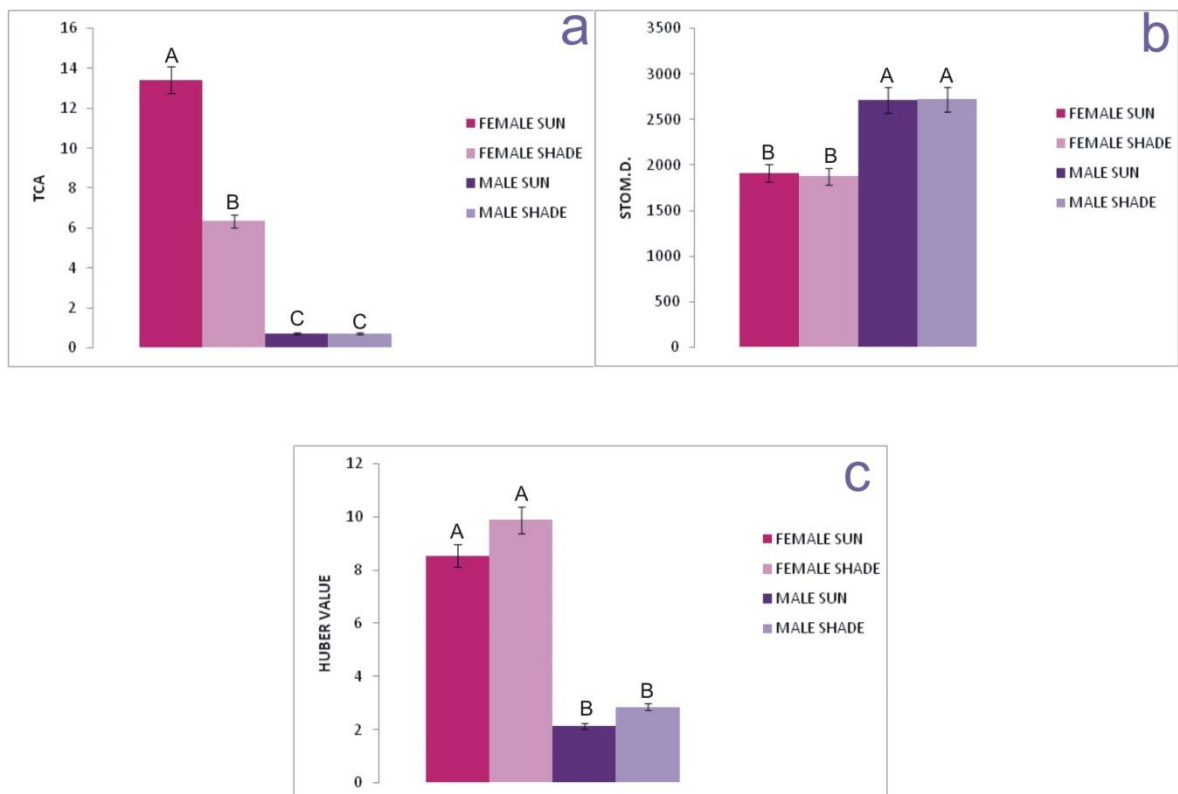
Εικόνα 1. Σύγκριση των μορφολογικών παραμέτρων TLS, LMA, DW, LT και LD μεταξύ φύλλων θηλυκών και αρσενικών δέντρων ανεπτυγμένων σε συνθήκες φωτός και σκιάς. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι. Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P \leq 0.05$).

δεν εμφανίζουν διαφορές στη πυκνότητα των στοματίων μεταξύ φωτός και σκιάς (Εικ.3b).

Στην Εικόνα 3.c παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της παραμέτρου Huber (Huber Value), η οποία ορίζεται ως ο λόγος της συνολικής επιφάνειας των αγγείων του αγωγού ιστού προς το αντίστοιχο ξηρό βάρος του φύλλου. Η παράμετρος αυτή παρουσιάζεται σημαντικά υψηλότερη στους μίσχους των φύλλων των θηλυκών δέντρων έναντι αυτής των αρσενικών. Τα φύλλα τόσο των θηλυκών όσο και των αρσενικών δέντρων δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη παράμετρο Huber μεταξύ φωτός και σκιάς (Εικ.3c).



Εικόνα 2. Τομές των μίσχων των φύλλων θηλυκών και αρσενικών δέντρων σε συνθήκες φωτισμού και σκίασης. Χρώση με Phloroglucinol (20% HCl). α) θηλυκό φωτός, β) θηλυκό σκιάς, γ) αρσενικό φωτός, δ) αρσενικό σκιάς. Bar = 250 μm (a, b), 100 μm (c, d).



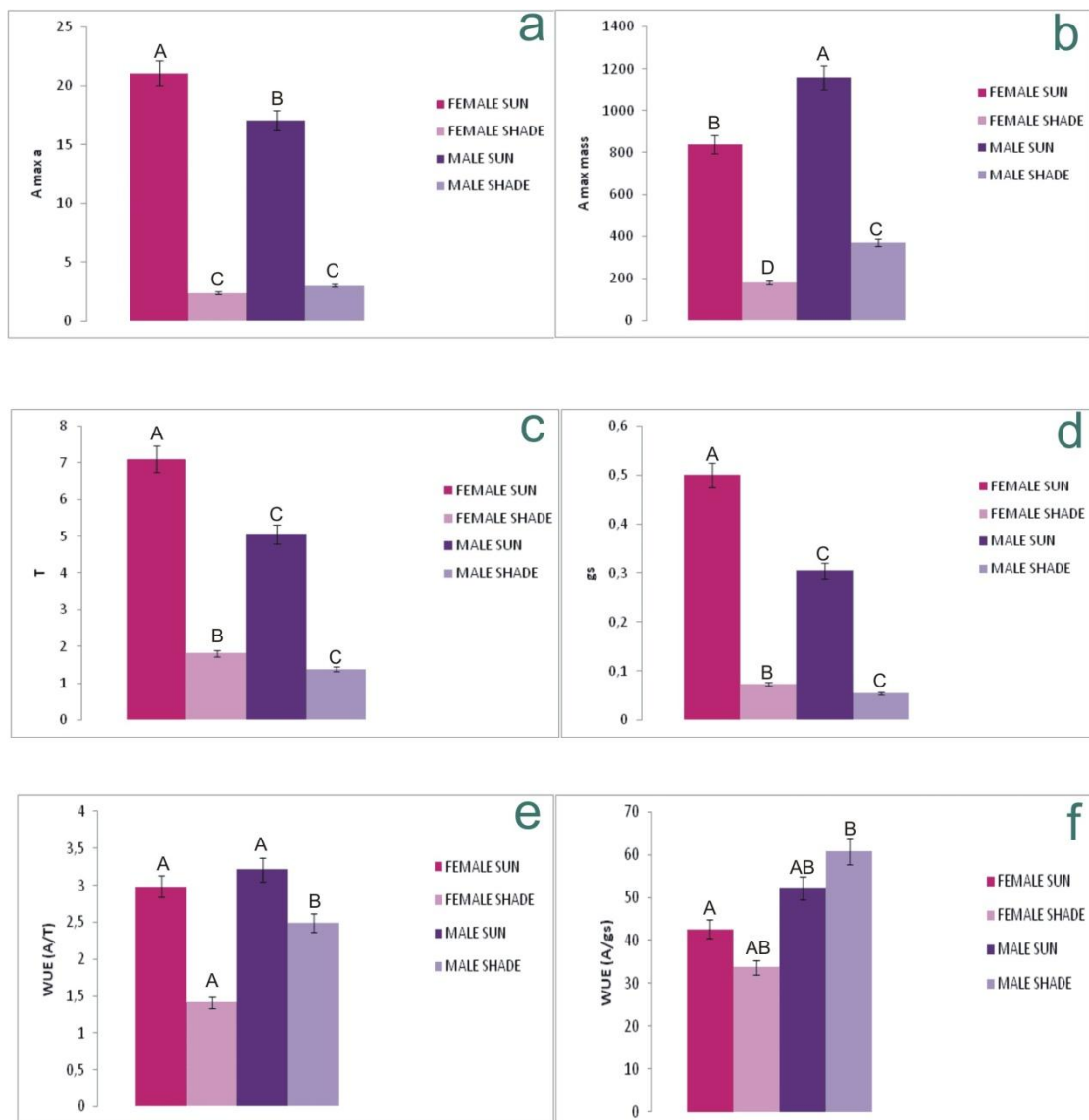
Εικόνα 3. Σύγκριση των ανατομικών παραμέτρων TCA, STOM.D. και HUBER VALUE μεταξύ φύλλων θηλυκών και αρσενικών δέντρων ανεπτυγμένων σε συνθήκες φωτός και σκιάς. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι. Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P \leq 0.05$).

Γ. Φυσιολογικές παράμετροι

Οι φυσιολογικές παράμετροι οι οποίες υπολογίστηκαν είναι:

- η μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά επιφάνεια ($A_{\max,a}$)
- η μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά μάζα ($A_{\max,m} = A_{\max,a} \text{ LMA}^{-1}$)
- η διαπνοή (T)
- η στοματική αγωγιμότητα (g_s)
- η αποτελεσματικότητα χρήσης νερού ($WUE(A/T)$, $WUE(A/g_s)$)

Στην Εικόνα 4 παρουσιάζονται οι φωτοσυνθετικές παράμετροι. Όπως αναμένεται, τόσο τα φύλλα των θηλυκών όσο και των αρσενικών δέντρων, σε συνθήκες άπλετου φωτισμού παρουσιάζουν υψηλότερη φωτοσυνθετική ικανότητα (a, b), διαπνοή (c), στοματική αγωγιμότητα (d) και αποτελεσματικότητα χρήσης



Εικόνα 4. Σύγκριση των φυσιολογικών παραμέτρων $A_{\max,a}$, $A_{\max,m}$, T , g_s , $WUE(A/T)$ και $WUE(A/g_s)$ μεταξύ φύλλων θηλυκών και αρσενικών δέντρων ανεπτυγμένων σε συνθήκες φως και σιάς. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι. Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P \leq 0.05$).

νερού (e , f) έναντι αυτών σε συνθήκες σκίασης.

Τα φύλλα φωτός των θηλυκών δέντρων παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερη A_{max} , g_s και T σε σχέση με τα αντίστοιχα φύλλα των αρσενικών δέντρων.

Η αποτελεσματικότητα χρήσης νερού $WUE(A/T)$ εμφανίζεται ελαφρώς αυξημένη στα φύλλα φωτός των αρσενικών δέντρων ενώ η $WUE(A/g_s)$ φαίνεται να αποκτά υψηλές τιμές, στατιστικά σημαντικές, στα φύλλα σκιάς των αρσενικών δέντρων.

Δ. Βιοχημικές παράμετροι

Οι βιοχημικές παράμετροι οι οποίες προσδιορίστηκαν είναι:

- Το συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά επιφάνεια (N_a) και ανά μάζα (N_m)
- Το συνολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών ανά επιφάνεια (Ph_a) και ανά μάζα (Ph_m)
- Η συνολική συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά επιφάνεια ($Chl_{(a+b)_a}$) και ανά μάζα ($Chl_{(a+b)_m}$).
- Η συνολική συγκέντρωση ταννινών (Tan)

Το περιεχόμενο άζωτο ανά επιφάνεια (Εικ. 5a) είναι πολύ υψηλότερο στα φύλλα φωτός έναντι των φύλλων σκιάς και ιδιαίτερα στα θηλυκά δέντρα και το περιεχόμενο άζωτο ανά μάζα (Εικ. 5b) είναι υψηλότερο στα φύλλα σκιάς και ειδικότερα στα φύλλα σκιάς των αρσενικών και θηλυκών δέντρων.

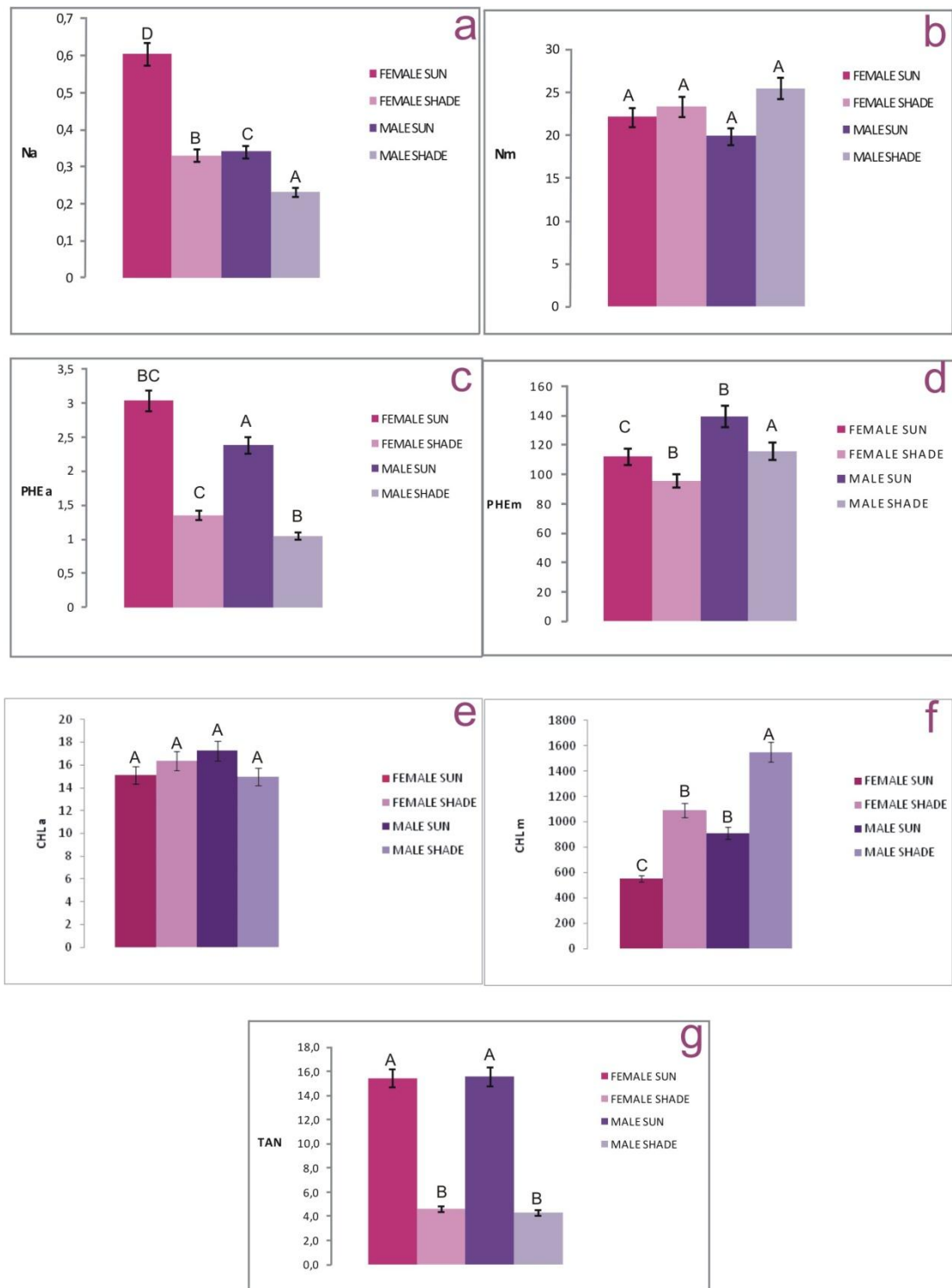
Τα φύλλα φωτός των θηλυκών δέντρων διαθέτουν υψηλότερες συγκεντρώσεις PHE_a έναντι των αρσενικών (Εικ. 5c) και οι συγκεντρώσεις είναι πολύ μεγαλύτερες στο φως σε σχέση με τη σκιά. Η συγκέντρωση PHE_m είναι υψηλότερη στα φύλλα φωτός των αρσενικών δέντρων (Εικ. 5d). Δεν παρουσιάζονται διαφορές ως προς τη συγκέντρωση ταννινών (Εικ. 5g) μεταξύ αρσενικών και θηλυκών δέντρων αλλά οι συγκεντρώσεις ταννινών στα φύλλα φωτός είναι υψηλότερες έναντι των φύλλων σκιάς.

Η συνολική συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά επιφάνεια (Εικ. 5e) δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών χειρισμών, ενώ η συνολική συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά μάζα είναι πολύ υψηλότερη στα φύλλα σκιάς και κυρίως στα αρσενικά δέντρα.

Ε. ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

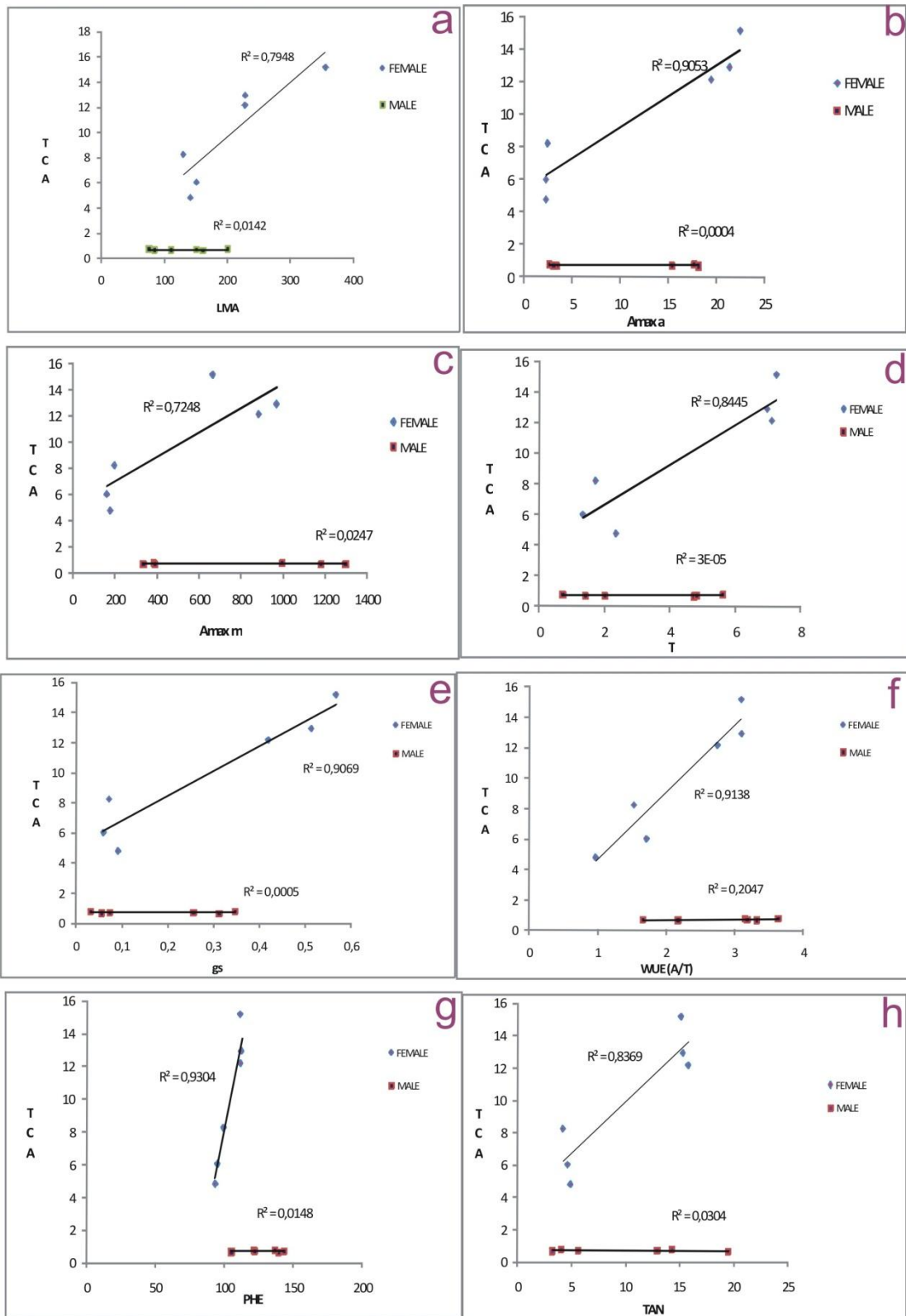
Οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις ανά ζεύγος παραμέτρων για τα θηλυκά και αρσενικά δέντρα *Pistacia vera*, παρουσιάζονται στις Εικόνες 6 και 7 και στον Πίνακα 1 οι σημαντικότεροι συντελεστές συσχέτισης.

Είναι εμφανές ότι η επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού των φύλλων (TCA) έδωσε τις περισσότερες σημαντικές συσχετίσεις με τις υπόλοιπες



Εικόνα 5. Σύγκριση των βιοχημικών παραμέτρων Na, Nm, PHEa, PHEm, CHLa, CHLm και TAN μεταξύ φύλλων θηλικών και αρσενικών δέντρων ανεπτυγμένων σε συνθήκες φωτός και σκιάς. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι. Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P \leq 0.05$).

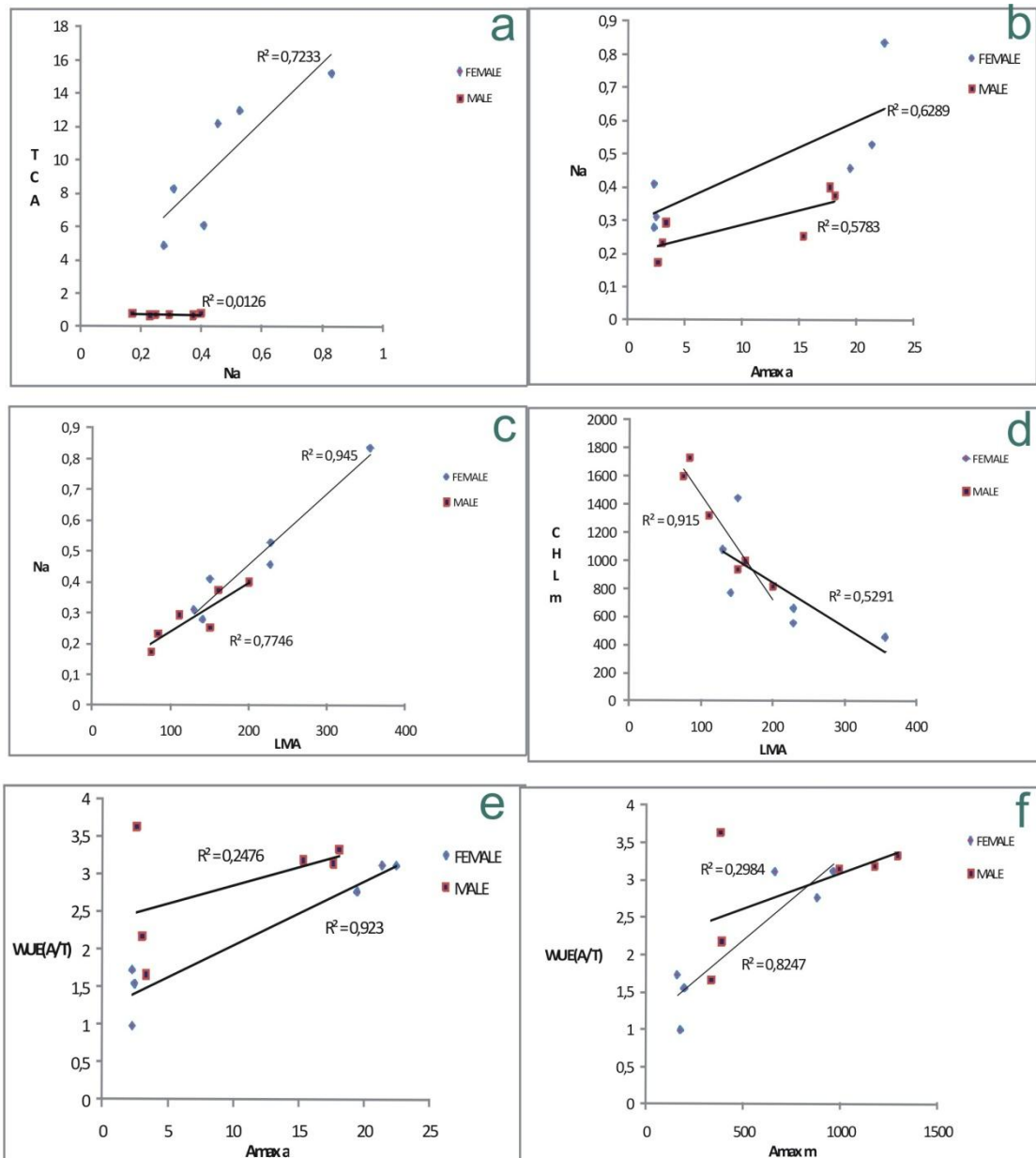
παραμέτρους. Τα φύλλα των θηλικών δέντρων κατά τον εγκλιματισμό τους σε συνθήκες σκίασης μεταβάλλουν την επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού τους γραμμικά σε σχέση με τις υπόλοιπες σημαντικές παραμέτρους που



ΕΙΚΟΝΑ 6. Συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων στα φύλλα αρσενικών και θηλυκών δένδρων. Σε κάθε περίπτωση οι τιμές προέρχονται από τα αντίστοιχα φύλλα (αρσενικών ή θηλυκών δένδρων) και από τα δύο φωτεινά καθεστώτα (σκιά-φως).

παρουσιάζονται στην εικόνα 6. Οι συσχετίσεις αυτές δεν παρατηρούνται στα φύλλα των αρσενικών δέντρων.

Παρατηρείται επίσης θετική συσχέτιση του συνολικού περιεχομένου αζώτου ανά επιφάνεια (Na) με το TCA (Εικ.7a), την μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα ανά επιφάνεια (Amax a, Εικ.7b), και τη μάζα ανά φυλλική επιφάνεια (LMA, Εικ. 7c), με τις υψηλότερες συσχετίσεις να παρουσιάζονται στα φύλλα των θηλυκών δέντρων.



ΕΙΚΟΝΑ 7. Συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων στα φύλλα αρσενικών και θηλυκών δένδρων. Σε κάθε περίπτωση οι τιμές προέρχονται από τα αντίστοιχα φύλλα (αρσενικών ή θηλυκών δένδρων) και από τα δύο φωτεινά καθεστώτα (σκιά-φως)

Από τις εικόνες 7 e,f παρατηρείται θετική συσχέτιση της φωτοσυνθετικής ικανότητας ανά επιφάνεια (A_{max} a) και ανά μάζα (A_{max} m) με την αποτελεσματικότητα χρήσης νερού η οποία εκφράζεται ως λόγος της μέγιστης φωτοσυνθετικής ικανότητας προς την ταχύτητα διαπνοής WUE (A/T). Σε αυτή την περίπτωση υψηλότερες συσχετίσεις παρατηρούνται στα φύλλα των θηλυκών δέντρων.

Πίνακας 1. Ανάλυση παλινδρόμησης μεταξύ των παραμέτρων των φύλλων αρσενικών και θηλυκών ατόμων *P.vera*. Δίδεται ο συντελεστής συσχέτισης r και η σημαντικότητα: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

FEMALE/MALE

	LMA	Amax a	Amax m	T	TCA	TAN				
LMA		0,869(*)	0,93(**)		0,839(*)	0,974(**)	0,891(*)		0,86(*)	
T		0,99(**)	0,972(**)	0,951(**)	0,907(*)					
gs		0,993(**)	0,99(**)	0,914(*)	0,925(**)	0,979(**)	0,984(**)	0,952(**)	0,971(**)	0,94(**)
TCA		0,951(**)		0,851(*)		0,918(**)				
WUE (A/T)		0,96(**)		0,908(*)		0,916(*)		0,955(**)	0,939(**)	
N m	-0,941(**)	-0,906(*)	-0,933(**)		-0,88(**)		-0,966(**)		-0,908(*)	-0,876(*)
CHL a		0,847(*)								
CHL m		-0,956(**)		-0,923(**)		-0,852(*)	-0,862(*)	-0,961(**)		-0,874(*)
PHE		0,972(**)	0,874(*)	0,953(**)	0,879(*)	0,957(**)	0,854(*)	0,964(**)		
TAN		0,99(**)	0,961(**)	0,966(**)	0,955(**)	0,994(**)	0,901(*)	0,915(*)		
N/PH+TAN			-0,833(*)		-0,834(*)	-0,846(*)				



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία επιχειρήσαμε να εξετάσουμε τις διαφορές που παρουσιάζονται μεταξύ αρσενικών και θηλυκών δέντρων *Pistacia vera* συγκρίνοντας τις μορφολογικές, ανατομικές, φυσιολογικές και βιοχημικές παραμέτρους των φύλλων τους. Παράλληλα συγκρίναμε τις ίδιες παραμέτρους σε συνθήκες διαφορετικού φωτεινού περιβάλλοντος, ώστε να εντοπίσουμε τις διαφορές εγκλιματισμού του κάθε φύλου στο διαφορετικό φωτεινό καθεστώς.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι παρατηρούνται σημαντικές διαφορές σε μορφολογικές παραμέτρους των φύλλων μεταξύ αρσενικών και θηλυκών δέντρων καθώς και σημαντικές διαφορές μεταξύ φωτός και σκιάς. Είναι εμφανές ότι τα φύλλα των θηλυκών δέντρων παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές των μορφολογικών παραμέτρων TLS, LMA, DW, LT και LD έναντι των φύλλων των αρσενικών. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι τα φύλλα των θηλυκών δέντρων διαθέτουν ισχυρότερο «σκληρομορφικό» χαρακτήρα έναντι των φύλλων των αρσενικών δέντρων.

Τα αποτελέσματα των ανατομικών παραμέτρων έδειξαν σημαντικές διαφορές ως προς τα ανατομικά χαρακτηριστικά του αγγειακού συστήματος, την επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού των μίσχων των φύλλων (επιφάνεια και διάμετρος των αγγείων) μεταξύ αρσενικών και θηλυκών δέντρων. Οι διαφορές αυτές συνιστούν το σημαντικότερο εύρημα της παρούσας μελέτης διότι είναι τόσο μεγάλες ώστε θα μπορούσαν να αποδοθούν σε δένδρα διαφορετικού είδους. Τα αρσενικά επίσης δένδρα παρουσιάζουν υψηλότερη πυκνότητα στοματίων έναντι των θηλυκών.

Σύμφωνα με τους Brodribb et al.(2007) οι υδραυλικές ιδιότητες του αγωγού ιστού των φύλλων παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας. Με άλλα λόγια οι δομικές ιδιότητες του αγγειακού συστήματος των φύλλων συνδέουν τη μεταφορά νερού με τη φωτοσυνθετική αφομοίωση του CO₂. Πράγματι, παρουσιάζεται θετική συσχέτιση μεταξύ Amax και TCA, μόνον όμως στα θηλυκά δένδρα. Η παράμετρος TCA συσχετίζεται επίσης και με άλλες παραμέτρους, μόνον όμως στα θηλυκά δένδρα, τα οποία φαίνεται να επιδεικνύουν υψηλότερη ικανότητα εγκλιματισμού του αγγειακού συστήματος σε διαφορετικές συνθήκες φωτισμού έναντι των αρσενικών.

Σύμφωνα με μια παρόμοια μελέτη για τις διαφορές μεταξύ αρσενικών και θηλυκών δέντρων στο *Pistacia lentiscus* (Correia and Barradas,2000), κάτω από φυσιολογικές συνθήκες τα θηλυκά δέντρα παρουσιάζουν παρόμοια ή υψηλότερη φωτοσυνθετική ικανότητα σε σχέση με τα αρσενικά δέντρα, αλλά κάτω από συνθήκες καταπόνησης η φωτοσυνθετική τους ικανότητα μειώνεται πολύ περισσότερο έναντι αυτής των αρσενικών. Τα αποτελέσματα των φυσιολογικών παραμέτρων δείχνουν ότι τα θηλυκά παρουσιάζουν πράγματι υψηλότερη

φωτοσυνθετική ικανότητα ανά επιφάνεια, διαπνοή και στοματική αγωγιμότητα από τα αρσενικά. Παρόμοιες μελέτες έδειξαν ότι τα δύο φύλα στα δίοικα είδη διαφέρουν και ως προς τις υδατικές σχέσεις. Τα θηλυκά είδη εμφανίζεται να έχουν υψηλή στοματική αγωγιμότητα αλλά χαμηλότερη αποτελεσματικότητα χρήσης νερού λόγω του υψηλού αναπαραγωγικού κόστους σε αντίθεση με τα αρσενικά. Τα θηλυκά δέντρα όμως που δεν έφεραν καρπούς δεν είχαν διαφορές από τα αρσενικά στην WUE, (Leigh and Nicotra, 2003) και επομένως το μεταβολικό φορτίο φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά τις φυσιολογικές παραμέτρους.

Από τα αποτελέσματα των βιοχημικών παραμέτρων παρατηρούμε ότι το συνολικό περιεχόμενο αζώτου ανά επιφάνεια δεν παρουσιάζει πολύ σημαντικές διαφορές μεταξύ αρσενικών και θηλυκών δέντρων (Εικ. 5a) αντιθέτως το περιεχόμενο αζώτου ανά μάζα είναι πολύ μεγαλύτερο στα φύλλα σκιάς και ειδικά στα αρσενικά δέντρα (Εικ. 5b). Σύμφωνα με τον Hikosaka (2004) το περιεχόμενο άζωτο στο φύλλο επηρεάζει σημαντικά τη φωτοσυνθετική ικανότητα. Το άζωτο διαχωρίζεται σε μεταβολικά και δομικά στοιχεία μέσα στο φύλλο. Τα μεταβολικά διαχωρίζονται σε φωτοσυνθετικά (σύμπλοκα χλωροφυλλών-πρωτεϊνών στα συστήματα φωτοσυλλογής και ένζυμα του κύκλου Calvin) και σε μη φωτοσυνθετικά. Σε πολλές έρευνες έχει βρεθεί ότι το περιεχόμενο σε άζωτο είναι αυξημένο στα φύλλα φωτός καθώς απαιτούνται περισσότερες φωτοσυνθετικές πρωτεΐνες απαραίτητες για τη μεταφορά ηλεκτρονίων για τη φωτοσύνθεση σε πλήρη φωτισμό. Το γεγονός όμως αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας καθώς τα φύλλα σκιάς εμφανίζουν πολύ υψηλότερο περιεχόμενο αζώτου ανά μάζα. Η περίπτωση αυτή μπορεί να ερμηνευτεί λόγω των μεγαλύτερων αναγκών σε πρωτεΐνες που συμμετέχουν στα σύμπλοκα των φωτοσυλλεκτικών μηχανισμών των φύλλων σκιάς (Yasumura et al. 2006).

Σύμφωνα με τους Herms και Mattson, η υπόθεση ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών (Carbon / Nutrient Balance Theory, CNB) μπορεί να εξηγήσει τα πρότυπα της φυτοφαγίας που βασίζονται στο φύλλο του φυτού στα δίοικα είδη όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή. Στα θηλυκά φυτά λόγω του υψηλού αναπαραγωγικού κόστους αυξάνεται ο λόγος C/N στα φύλλα με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε φαινολικά και να είναι πιο ανθεκτικά στη θήρευση σε σχέση με τα αρσενικά. Τα αποτελέσματα ωστόσο της παρούσας μελέτης δεν έρχονται σε συμφωνία με την υπόθεση αυτή καθώς τα θηλυκά δέντρα παρουσιάζουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε φαινολικά σε σχέση με τα αρσενικά. Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται στο ότι την περίοδο των μετρήσεων τα θηλυκά δέντρα δεν έφεραν καρπούς και επομένως είχαν χαμηλό μεταβολικό φορτίο. Δεν υπάρχουν αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία όσον αφορά στα επίπεδα φαινολικών στα φύλλα της φιστικιάς. Ωστόσο τα αποτελέσματα της

παρούσας μελέτης στα φύλλα φωτός συμβαδίζουν με εκείνα προηγούμενων μελετών στις οποίες προσδιορίστηκε η συγκέντρωση φαινολικών στο είδος *Pistacia lentiscus* (Lebreton et al 1997; Glyphis and Puttick 1989).

Οι σημαντικές διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των μορφολογικών παραμέτρων όσον αφορά τις συνθήκες φωτός και σκίασης ήταν αναμενόμενα. Ένας μηχανισμός με τον οποίο τα φύλλα φωτός επιτυγχάνουν τη μέγιστη φωτοσυνθετική ικανότητα είναι η αύξηση του πάχους του ελάσματος, μηχανισμός οποίος εξασφαλίζει χώρο για περισσότερους χλωροπλάστες (Lambers et al. 2008). Εξάλλου οι υψηλότερες εντάσεις φωτισμού επιτρέπουν τη διείσδυση της φωτεινής ακτινοβολίας σε κατώτερες στοιβάδες φωτοσυνθετικών κυττάρων του μεσοφύλλου. Τα φύλλα φωτός σε σχέση με τα σκιάς διαθέτουν υψηλότερη δραστηριότητα ενζύμων του κύκλου Calvin ανά μονάδα επιφάνειας και μεγαλύτερο αριθμό χλωροπλαστών. Τα χαρακτηριστικά αυτά ευθύνονται για την υψηλότερη φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων φωτός έναντι των φύλλων σκιάς, γεγονός που επιβεβαιώθηκε και από τη σύγκριση των φυσιολογικών παραμέτρων ($A_{max a}$, $A_{max m}$, T , g_s , $WUE(A/T)$) στην παρούσα μελέτη. Πράγματι, τα φύλλα φωτός διαθέτουν μεγαλύτερο πάχος, ξηρό βάρος και πυκνότητα φύλλου έναντι των φύλλων σκιάς. Το φαινόμενο είναι περισσότερο έντονο στα φύλλα των θηλυκών δέντρων, γεγονός που υποδηλώνει ότι διαθέτουν περισσότερη πλαστικότητα και ικανότητα εγκλιματισμού σε διαφορετικά φωτεινά καθεστώτα έναντι των αντίστοιχων αρσενικών.

Παράλληλα και από τις συσχετίσεις (Εικ.6) παρατηρείται ότι τα φύλλα των θηλυκών δέντρων έχουν την ικανότητα να μεταβάλλουν την επιφάνεια των αγγείων του αγωγού ιστού τους όταν βρίσκονται σε συνθήκες σκίασης και εγκλιματίζονται καλύτερα από τα αρσενικά δέντρα, στα οποία δεν παρατηρήθηκαν συσχετίσεις. Συνεπώς, όλες τις περιπτώσεις των συσχετίσεων του TCA με τις υπόλοιπες παραμέτρους τα αρσενικά δε φαίνεται να ανταποκρίνονται.

Οι χλωροπλάστες των φύλλων σκιάς παρουσιάζουν αυξημένες ικανότητες αξιοποίησης χαμηλών εντάσεων φωτεινής ακτινοβολίας, μέσω της εκμετάλλευσης των λιγοστών φωτονίων του περιβάλλοντος. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της αύξησης του μεγέθους και της αλλαγής της σύστασης σε χρωστικές των αντεννών φωτοσυλλογής. Έτσι, αυξάνεται η συμμετοχή της χλωροφύλλης b και των καροτενοειδών με αποτέλεσμα τα φύλλα σκιάς να εμφανίζουν χαμηλούς λόγους $Chl a/b$. Η υψηλή συγκέντρωση χλωροφυλλών ανά μάζα στα φύλλα σκιάς, μεγιστοποιεί την απορρόφηση των περιορισμένων φωτονίων σε συνθήκες χαμηλής ακτινοβολίας (Lambers et al, 2008).

Είναι γνωστό ότι τα φύλλα που αναπτύσσονται σε συνθήκες άπλετου φωτισμού εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών ουσιών έναντι φύλλων που αναπτύσσονται σε συνθήκες σκίασης (Mole et al.1988) . Όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή, τα φυτά για να προστατευτούν από τους κινδύνους της υπεριώδους ακτινοβολίας ενεργοποιούν την παραγωγή φαινολικών ουσιών τα οποία έχουν την ικανότητα να την απορροφούν και να παίζουν φωτοπροστατευτικό ρόλο για τα φυτά.

Από τα αποτελέσματα, είναι εμφανές ότι τα φύλλα φωτός διαθέτουν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε φαινολικά και ταννίνες και στα δύο φύλα της *Pistacia vera*. Αντιθέτως, στα φύλλα σκιάς οι συγκεντρώσεις φαινολικών και ταννινών είναι πολύ πιο χαμηλές.

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες της ερευνητικής μας ομάδας, η μεταβολική ρύθμιση της σύνθεσης και συγκέντρωσης φαινολικών συμβαίνει σε συνεργασία με τις διαδικασίες του πρωτογενούς μεταβολισμού και κυρίως της φωτοσύνθεσης, και σε ανταπόκριση με τη λειτουργία των στοματίων. Η φωτοσυνθετική δραστηριότητα δεν καθορίζεται μόνο από την συγκέντρωση αζώτου αλλά και από τον λόγο του αζώτου προς τα φαινολικά (N/TP). Από τα αποτελέσματα δεν επιβεβαιώθηκε η υπόθεση ότι ο λόγος N/TP επηρεάζει τη φωτοσυνθετική ικανότητα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Baraza E., Gómez J.M., Hodar J.A., and Zamora R. 2004. Herbivory has a greater impact in shade than in sun: response of *Quercus Pyrenaica* seedlings to multifactorial environmental variation. *Canadian Journal of Botany*, 82: 357-364.

Beggs, C.J., Stoltzer-Jehle, A. and Wellman, E. 1985. Isoflavonoid formation as an indicator of UV stress in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves: The significance of photo-repair in assessing potential damage by increased solar UV-B radiation. *Plant Physiology* 79: 630-634.

Bornman, J.F. 1999. Localisation and functional significance of flavonoids and related compounds. In: Stratospheric Ozone Depletion: The Effects of Enhanced UV-B Radiation on Terrestrial Ecosystems, Rozema J. (ed.), pp. 59-69, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands

Brodribb, T. J. Feild T. S. and Jordan G. J. 2007. Leaf Maximum Photosynthetic Rate and Venation Are Linked by Hydraulics. *Plant Physiology* 144:1890-1898.

Bryant, J.P., Chapin III, F.S. and Klein R.D. 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* 40: 357-368.

Caldwell, M., Robberrecht, R. and Flint, S.D. 1983. Internal filters: prospects of UV acclimation in higher plants. *Physiologia Plantarum* 58: 445-450.

Coley, P.D., Bryant, J.P., and Chapin III, F.S. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defence. *Science*, 230: 895-899.

Cornelissen, T. and Stiling, P. 2005. Sex-biased herbivory: a meta-analysis of the effects of gender on plant-herbivore interactions. Dept of Biology. *Oikos* 111: 488-500.

Correia, O. and Barradas, M.C.D. 2000. Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia Lentiscus* L. *Plant Ecology* 149: 131-142.

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

Dakora, F.D. 1995. Plant flavonoids: Biological molecules for useful exploitation. *Australian Journal of Plant Physiology*. 22: 87-99.

Dixon, R.A., Paiva, N.L. and Bhattacharyya, M.K. 1995. Engineering disease resistance in plants: An overview. In: *Molecular Methods in Plant Pathology*, Singh R.P. and Singh U.S. (eds.), pp. 249-270, CRC Press, Boca Raton.

Dormann C. F. and Skarpe C. 2002. Flowering, Growth and Defence in the Two Sexes: Consequences of Herbivore Exclusion for *Salix Polarix*. Functional Ecology, Vol. 16, No. 5 , pp. 649-656

Dudt J.F. and Shure D.J. 1994. The influence of light and nutrients on foliar phenolics and insect herbivory. Ecology, 75, pp. 86-98.

Feeny, P.. 1976. Plant apparency and chemical defence. Recent Adv. Phytochem.,10: 1-40.

Fisher, R.F. and Long, S.R. 1992. Rhizobium-plant signal exchange. Nature 357: 655-660.

Fraenkel, G.S. 1959. The raison d' etre of secondary plant substances. Science 129: 1466-1470.

Glyphis JP., Puttick GM. 1989. Phenolics, nutrition and insect herbivory in some garrigue and maquis plant species. Oecologia 78: 259-263.

Gratani, L., Covone, F., Larcher, W. 2006. Leaf plasticity in response to light of three evergreen species of the Mediterranean maquis. Trees - Structure and Function 20 (5), pp. 549-558.

Guangxiu L., Wei Z., Tuo Xuelin C., Yongshan L. and Lizhe A. 2007. Gender-specific carbon discrimination and stomatal density in the dioecious tree of *Hippophate rhamnoides*. South African Journal of Botany 75: 268-275.

Hahlbrock, K. 1981. Flavonoids. In: Biochemistry of Plants, Stumpf P.K. and Conn E.E. (eds.), Vol. 7, pp. 425-456, Academic Press, New York.

Harborne, J.B. 1989. General procedures and measurement of total phenolics. In: Methods in Plant Biochemistry, Harborne J.B. (ed.), Vol. 1, pp. 1-28, Academic Press, London.

Harborne, J.B. 1993. Introduction to Ecological Biochemistry, 4th ed., Academic Press, New York.

Herms, D.A. and Mattson, W.J. 1992. The dilemma of plants: To grow or defend. The Quarterly Review of Biology 67: 283- 335.

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

Hultine, K.R., Bush, S.E., West, A.G., Burtch, K.G., Pataki, D.E., Ehleringer, J.R. 2008. Gender-specific patterns of aboveground allocation, canopy conductance and water use in a dominant riparian tree species: *Acer negundo*. Tree Physiology 28 (9), pp. 1383-1394.

Jing San W. and Coley Phyllis D. 1990. Dioecy and Herbivory: The Effect of Growth Rate on Plant Defense in *Acer Negundo*. JStor. Oikos, Vol. 58, No. 3, pp. 369-377.

Jones, C.G. and Hartley S.E. 1999. A protein competition model of phenolic allocation. *JStor. Oikos* 86: 27-44.

Koes, R.E., Quattrocchio, F. and Mol, J.N.M. 1994. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: Function and evolution. *Bioessays* 16: 123-132.

Lambers H., Chapin III F.S., Pons T.L. 2008. Plant physiological ecology. Second edition

Lebreton P., Nader S., Barbero., Gallet C., Hubert B. 1997. Sur la structuration biochimique des formations vegetales secondaires mediterraneennes. *Rev, Ecol. (Terre Vie)* 52: 221-238.

Leigh A. and Nicotra A.B. 2003. Sexual dimorphism in reproductive allocation and water use efficiency in *Maireana pyramidata* (Chenopodiaceae), a dioecious, semi-arid shrub. *Australian Journal of Botany*, 51: 509-514.

Lois, R. 1994. Accumulation of UV-absorbing flavonoids induced by UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana* L. I. Mechanisms of UV-resistance in *Arabidopsis*. *Planta* 194: 498-503.

Loomis, W.E 1953. Growth and differentiation-an introduction and summary. In: Loomis W.E. *Growth and Differentiation in Plants*. Iowa State College Press, Ames. 1-17.

Lorio, P.L.,Jr. 1986. Growth-differentiation balance: a basis for understanding southern pine beetle-tree interactions. *For.Ecol. Manage.*, 14: 259-273.

Koes, R.E., Quattrocchio, F. and Mol, J.N.M. 1994. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: Function and evolution. *Bioessays* 16: 123-132.

Krischik V.A. and Denno R. F. 1990. Patterns of growth, reproduction, defense, and herbivory in the dioecious shrub *Baccharis halimifolia*. *Oecologia* 83:182-1907

Massei G., Watkins R., and Hartley S.E. 2005. Sex-related growth and secondary compounds in *Juniperus oxycedrus macrocarpa*. *Acta Oecologica* 29 (2), pp.135-140

Matsuyama S. and Sakimoto M. 2008. Allocation to Reproduction and Relative Reproductive Costs in Two Species of Dioecious Anacardiaceae with Contrasting Phenology. *Annals of Botany* 101(9):1391-1400.

McKey, D. 1979. The distribution of secondary compounds within plants. pp.56-133

Mole S., Ross J.A.M., Waterman P.G. 1988. Light-induced variation in phenolic levels in foliage of rain-forest plants. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 14, No 1.

Oláh, R., Masarovičová, E., Samaj, J., Ovečka, M., Bobák, M., Krištín, J., and Egedová, V. 1997. Anatomical and morphological parameters of leaves and leaf petioles of *Actinidia deliciosa*. *Biologia Plantarum* 39 (2), pp. 271-280

Rhoades, D.F. and Cates, R.G. 1976. Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. *Recent Adv. Phytochem.*, 10:168-213.

Rozema, J., Staij, J.v.d., Björn, L.-O. and Baker, N.d. 1999. Depletion of stratospheric ozone and solar UV-B radiation: Evolution of land plants, UV-screens and functions of polyphenolics. In: *Stratospheric Ozone Depletion: The Effects of Enhanced UV-B Radiation on Terrestrial Ecosystems*, Rozema J. (ed.), pp. 3-19, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.

Seigler, D.S. 1998. *Plant Secondary Metabolism*. Kluwer Academic Publishers.

Shain, L. 1995. Stem defence against pathogens. In: *Plant stems: Physiology and functional morphology*, Cartuer B.L. (ed). Academic Press N.Y.

Shirley, B.W. 1996. Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends in Plant Science* 1: 377-382.

Strack, D. 1997. Phenolic metabolism. In: *Plant Biochemistry*, P.M. Dey and J.B. Harborne (eds.), pp. 387-416, Academic Press, London.

Swain, T., 1977. Secondary compounds as protective agents. *Annual Review of Plant Physiology* 28: 479-501.

Taiz, L. and Zeiger, E. 1998. Plant defenses: Surface protectants and secondary metabolites. In: *Plant Physiology* 2nd ed., pp. 347-376, Sinauer Associates, Inc.

Terashima I., Hanba Y.T., Tazoe Y., Vyas P., and Yano S. 2006. Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO₂ diffusion. Vol.57, No.2, pp.343-354.

Tevini, M. 1994. UV-B effects on terrestrial plants and aquatic organisms. *Progress in Botany* 55: 174-190.

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

Xu, X., Yang, F., Yin, C.-Y., Li, C.-Y. 2007. Research advances in sex-specific responses of dioecious plants to environmental stresses. *Chinese Journal of Applied Ecology* 18 (11), pp. 2626-2631

Yasumura Y., Hikosaka K., Hirose T. 2006. Seasonal changes in photosynthesis, nitrogen content and nitrogen partitioning in *Lindera umbellata* leaves grown in high or low irradiance. *Tree Physiology* 26, 1315-1323.

Yin, C. and Li, C. 2007. Gender differences of dioecious plants related sex ratio: Recent advances and future prospects. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* 13 (3), pp. 419-425.

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

Λεβίζου Ε. 2000. Αλληλεπιδράσεις της αυξημένης υπεριώδους-B (UV-B) ακτινοβολίας με τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους και τον τεχνητό τραυματισμό στην ανάπτυξη και τη φυσιολογία των Μεσογειακών φυτών *Phlomis fruticosa* L. και *Ceratonia siliqua* L. Διδακτορική διατριβή. Πανεπιστήμιο Πατρών.

Ποντίκης Κ.Α. 1997. Γενική Δενδροκομία. Αθήνα. Εκδόσεις Σταμούλης Α.

Ποντίκης Κ.Α. 1996. Ειδική Δενδροκομία. Αθήνα. Εκδόσεις Σταμούλης Α.