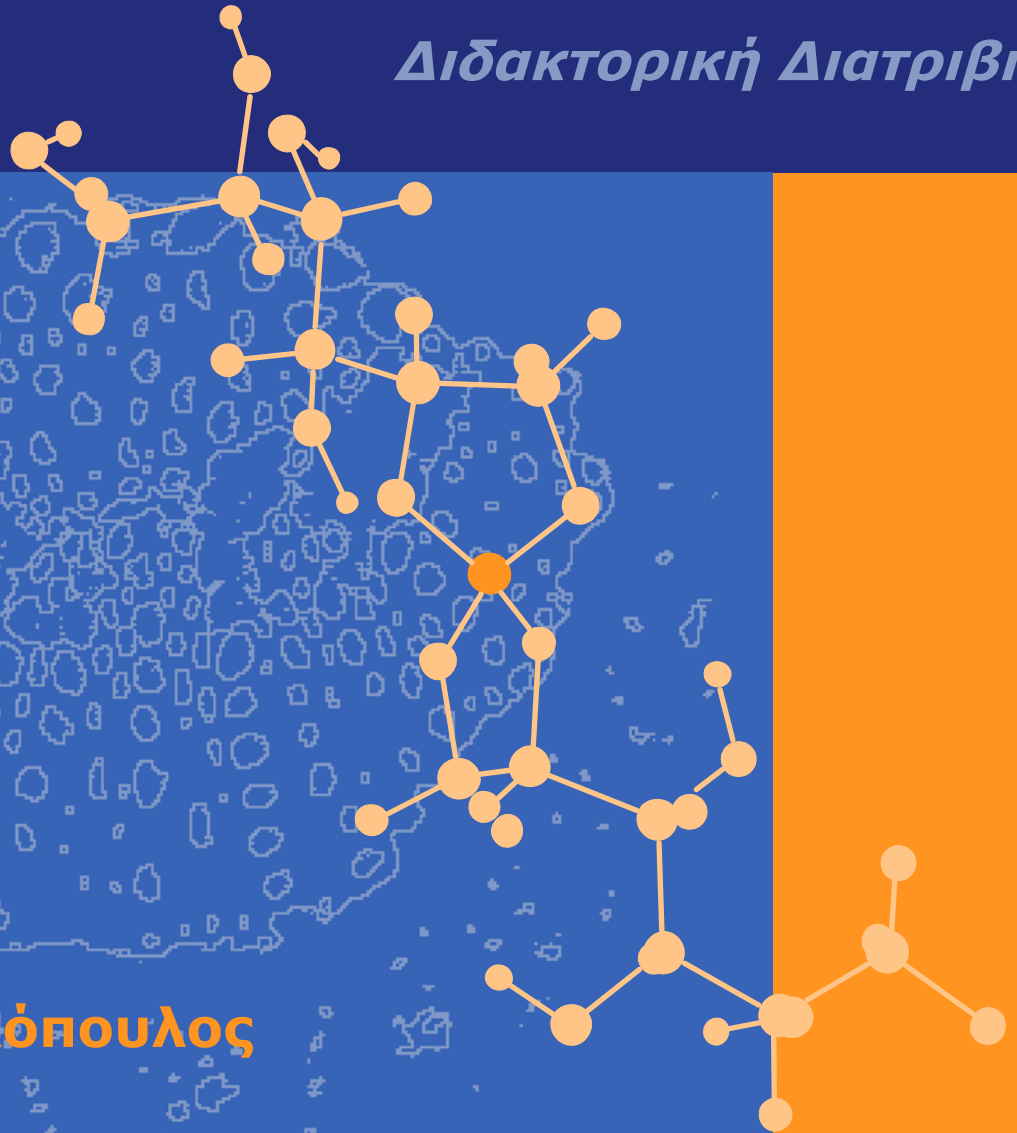


Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας
Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών

**Ανατομικές και Φυσιολογικές Μεταβολές
στα Φύλλα της Ελιάς (*Olea europaea* L.)
υπό Συνθήκες Τροφοπενίας Βορίου**

Διδακτορική Διατριβή



Γεώργιος Λιακόπουλος

Αθήνα 2003

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ
ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ (*OLEA EUROPAEA* L.)
ΥΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΤΡΟΦΟΠΕΝΙΑΣ ΒΟΡΙΟΥ

ANATOMICAL AND PHYSIOLOGICAL CHANGES
IN OLIVE (*OLEA EUROPAEA* L.) LEAVES
UNDER BORON DEFICIENT CONDITIONS

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΔΙΑΚΟΠΟΥΛΟΣ
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Επιβλέπων

Γεώργιος Καραμπουρνιώτης – Αναπληρωτής Καθηγητής

Μέλη

Ιωάννης Δροσόπουλος – Καθηγητής

Κωνσταντίνος Χολέβας – Καθηγητής

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Ιωάννης Δροσόπουλος – Καθηγητής

Παναγιώτης Κατινάκης – Καθηγητής

Μόσχος Πολυσιού – Καθηγητής

Γεώργιος Καραμπουρνιώτης – Αναπληρωτής Καθηγητής

Κωνσταντίνος Φασσέας – Αναπληρωτής Καθηγητής

Σταύρος Βέμμος – Επίκουρος Καθηγητής

Δημήτριος Μπουράνης – Επίκουρος Καθηγητής

“Η έγκριση της παρούσης διδακτορικής διατριβής υπό του
Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει
αποδοχήν των γνώμεων του συγγραφέως”

[Νόμος 5343/1932, άρθρο 202]

**Η εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής
υποστηρίχθηκε οικονομικά
από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών**

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Ι Δ Ρ Υ Μ Α
Κ Ρ Α Τ Ι Κ Ω Ν
Υ Π Ο Τ Ρ Ο Φ Ι Ω Ν

IKY

Η ελιά είναι το αιώνιο σύμβολο της συμφιλίωσης, της άμιλλας και της ειρήνης. Συνυφασμένη με την ιστορία και την παράδοση των μεσογειακών λαών ασκεί στο ψυχοσκόπιό τους βαθύτατη επίδραση. Θεωρώ τιμή, το γεγονός ότι στην διδακτορική μου διατριβή ασχολήθηκα με το φυτό της ελιάς. Στην προσπάθεια αυτή συνέβαλλαν δάσκαλοι, συνάδελφοι και φίλοι τους οποίους αισθάνομαι ότι πρέπει να αναφέρω.

Η εργασία με τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεώργιο Καραμπουρνιώτη, ο οποίος επέβλεψε την παρούσα διδακτορική διατριβή, απέτελεσε μια ευτυχή συγκυρία η οποία στην πορεία εξελίχθηκε σε μια πλούσια μετάγχιση γνώσεων και ιδεών, όχι μόνο με επιστημονική αλλά και με ηθική συνιστώσα. Τον ευχαριστώ για την καθοδήγησή του, το χρόνο που αφιέρωσε καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε όταν έπρεπε να προχωρήσω ανεξάρτητα. Η διδασκαλία του είναι για μένα ανεκτίμητη παρακαταθήκη για την επιστημονική μου εξέλιξη.

Η μεσολάβηση του Καθηγητή κ. Ιωάννη Δροσόπουλου συνέβαλε στην παραπάνω συνεργασία. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερα για το ενδιαφέρον του αυτό, καθώς και για την συμβολή του στη διαμόρφωση του θέματος της διατριβής. Η συμμετοχή του όμως δεν περιορίστηκε στα παραπάνω, αφού σε πολλές χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια της εργασίας ασχολήθηκε ενεργά με την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, παρά το ασφυκτικά πειστικό καθημερινό του πρόγραμμα.

Καθοριστική ήταν η συμβολή του Καθηγητή κ. Κωνσταντίνου Χολέβα ο οποίος με την πείρα και τις γνώσεις του συνεισέφερε στον ουσιαστικό σχεδιασμό της πειραματικής εργασίας. Ιδιαίτερα τον ευχαριστώ για την πρόθυμη ανταπόκριση και αμεσότητά του κατά την κρίση του τελικού κειμένου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Παναγιώτη Κατινάκη για την συμμετοχή του στην εξεταστική επιτροπή καθώς και για την ανάγνωση της διατριβής, παρά το απαιτητικό από πλευράς χρόνου, επιστημονικό και διοικητικό του έργο.

Τον Καθηγητή κ. Μόσχο Πολυσιού ευχαριστώ για τη συμμετοχή του στην εξεταστική επιτροπή και τη μελέτη του παρόντος κειμένου. Ιδιαίτερα χρήσιμες ήταν οι υποδείξεις του πάνω σε θέματα αναλυτικής χημείας, τις οποίες πρόθυμα προσέφερε σε διάφορες στιγμές της εργαστηριακής πορείας μου.

Η καθοδήγηση του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κωνσταντίνου Φασσέα κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων μικροσκοπίας ήταν πολύτιμη. Τον ευχαριστώ για τη συμμετοχή του στην εξεταστική επιτροπή και πολύ περισσότερο, για την αμεσότητα της συνεργασίας, τη φιλική του διάθεση και το χρόνο που αφιέρωσε, τμήμα του δικού του παραγωγικού χρόνου, ώστε να μην είναι η εργασία μου επιφανειακή και αποσπασματική.

Με τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Δημήτριο Μπουράνη ξεκίνησα την ερευνητική μου πορεία στο Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών στα πλαίσια της πρακτικής εξάσκησης και της πτυχιακής μου εργασίας. Για το λόγο αυτό, είναι ιδιαίτερη χαρά για μένα η συμμετοχή του στην εξεταστική επιτροπή. Από το σημείο αυτό θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για αυτά που μου διδάξε στα πρώτα μου βήματα.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Σταύρο Βέμμο για τη σημαντική του βοήθεια και φιλοξενία στο Εργαστήριο Δενδροκομίας κατά τη διεξαγωγή μέρους των χρωματογραφικών αναλύσεων. Επίσης, για το ενδιαφέρον του για την παρούσα εργασία και για τη συμμετοχή του στην εξεταστική επιτροπή.

Η συνεργασία με τον κ. Χρίστο Τσαντήλα, Τακτικό Ερευνητή του Ινστιτούτου Χαρτογράφησης και Ταξινόμησης Εδαφών του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. Λάρισας, ήταν πολύτιμη για τη διεξαγωγή του πειράματος στο πεδίο. Η όρεξη και η αγάπη του για την έρευνα στη γεωπονία ήταν για εμένα μια διδακτική και ευχάριστη εμπειρία.

Μια σειρά προκαταρκτικών πειραμάτων αφορούσαν σε πειράματα μικροανάλυσης ακτίνων Χ μέσω ΗΜΣ και πραγματοποιήθηκε στον Τομέα Βιολογίας Φυτών του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Πατρών με τη συμβολή του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεωργίου Ψαρά, τον οποίο και ευχαριστώ για τη βοήθειά του.

Την Επίκουρο Καθηγήτρια κ. Ελένη Σκαλτσά του Τομέα Φαρμακογνώσεως και Χημείας Φυτικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών και τον Αναπληρωτή Καθηγητή του Εργαστηρίου Μηχανικής Τροφίμων, Επεξεργασίας και Συντήρησης Γ. Προϊόντων του Γ.Π.Α. κ. Παναγιώτη Ρόδη, για την χορήγηση προτύπων φαινολικών συστατικών.

Από την πρώτη στιγμή της παρουσίας μου στο εργαστήριο, ο Επίκουρος Καθηγητής κ. Σπυρίδων Κιντζιος και οι Λέκτορες κ. Χριστίνα Κιτοάκη και Γεώργιος Αϊβαλάκης με τις πράξεις τους και τις υποδείξεις τους αλλά πάνω από όλα με τη φιλική τους προσέγγιση, με έκαναν να νιώσω ευπρόσδεκτος. Τους ευχαριστώ θερμά για τις προτροπές τους να ολοκληρώσω γρήγορα την παρούσα διατριβή.

Η ολοκλήρωση της διδακτορικής διατριβής είναι ένας σημαντικός σταθμός σε μια διαδρομή, η οποία ξεκινάει από τη βασική εκπαίδευση. Η περίοδος αυτή σημαδεύτηκε από την πνευματική καλλιέργεια και την γνώση που μου εμφύσησαν αξιόλογοι Δάσκαλοι οι οποίοι είναι πολύ δύσκολο να αναφερθούν ονομαστικά στο σύνολό τους. Ας μου επιτραπεί όμως μια εξαίρεση – χωρίς όμως αυτή να μειώνει την αξία των υπολοίπων – η αναφορά στον φροντιστηριακό καθηγητή φυσικής μέσης

εκπαίδευσης κ. Γεώργιο Παπαδερό, για την αμέριστη στήριξη που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας των εισαγωγικών εξετάσεων, αλλά και για την μετέπειτα φιλία και ενδιαφέρον.

Τον κ. Γεώργιο Κωστελένο, θα ήθελα να ευχαριστήσω, όχι μόνο για την χορήγηση των άριστων φυτών τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για το πείραμα του θαλάμου ανάπτυξης αλλά και για την φιλοξενία και τον ενθουσιασμό του. Ορισμένα προκαταρκτικά πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο φυτώριο του Δήμου Αθηναίων με τη βοήθεια του γεωπόνου Δρ. Δημητρίου Κυριακάκη. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για τη βοήθεια και προθυμία του. Τον κ. Δημήτριο Ιατρού, της εταιρίας Ρ.Η.Σ. Αρδευτικά Α.Ε.Τ.Ε., θα ήθελα να ευχαριστήσω για την προμήθεια του εξοπλισμού υδροπονίας, τον επαγγελματισμό του και τις απαντήσεις του σε πολλές απορίες μου σε αυτό το δύσκολο κομμάτι της πειραματικής προετοιμασίας.

Τον κ. Σταύρο Πίπλα, Ε.Τ.Ε.Π. του εργαστηρίου, τον ευχαριστώ για την σημαντική συμβολή του στη λειτουργία του εργαστηρίου. Κυρίως για τη φιλική σχέση και την ευχάριστη παρέα όλα αυτά τα χρόνια. Την κ. Ανδριάντα Σιμά, Ε.Τ.Ε.Π. του εργαστηρίου, για τον άψογο επαγγελματισμό της και την προθυμία της. Πολύ περισσότερο όμως για τη συνεισφορά της στο ευχάριστο κλίμα του εργαστηρίου. Τον κ. Ιωάννη Ψαροκωστόπουλο, Ε.Τ.Ε.Π. του Εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, όχι μόνο για τη βοήθειά του στην προετοιμασία των δειγμάτων για το ΗΜΣ αλλά και για το ευχάριστο μειδιάμα του και τη φιλική ατμόσφαιρα που καλλιέργησε.

Στο εργαστήριο είχα την τύχη να γνωρίσω συναδέλφους με τους οποίους αναπτύχθηκε γρήγορα μια βαθιά φιλία. Μαζί ζήσαμε τις επιτυχίες αλλά και τις αποτυχίες που συνεπάγεται η επιστημονική έρευνα. Οι αμέτρητες ώρες της εργαστηριακής ζωής δεν θα μπορούσαν να είναι τόσο ευχάριστες χωρίς αυτούς.

Θέλω να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Σωτηρία Σταυριανάκου για τη ζεστή φιλία και τον καθαρό χαρακτήρα της. Η βοήθειά της τόσο κατά την προετοιμασία του πειραματικού μέρους όσο και τις άλλες εργαστηριακές δραστηριότητες ήταν πολύτιμη. Ελπίζω η καθημερινή επαφή και η εργασία μαζί της να συνεχιστεί για πολλά ακόμα χρόνια.

Την Δρ. Βάλλυ Λιάκουρα για την ουσιαστική συμπαράσταση και βοήθεια, την ανθρώπινη επαφή και την συνεχή προτροπή της να ολοκληρώσω την παρούσα διατριβή, ώστε να ασχοληθώ με μεγαλύτερη όρεξη με τις ιδέες για νέα πειράματα που τελούν υπό πιεστική αναμονή κατά τη διάρκεια της συγγραφής του κειμένου αυτού.

Τον Δρ. Δήμο Νικολόπουλο για την ικανότητά του να μοιράζει απλόχερα το φίλτρο της καλής διάθεσης, για τη φιλία του αλλά και τις συνεχείς επιστημονικές του οι οποίες με βοηθούσαν να διακρίνω τα σημαντικά από τα ασήμαντα.

Τον υποψήφιο διδάκτορα Κώστα Δελή για την ορμητική προθυμία του για βοήθεια αλλά και το αστείρευτο χιούμορ του. Τον υποψήφιο διδάκτορα Μανώλη Φιλίππου για τις ευχάριστες στιγμές που περάσαμε στο εργαστήριο, αλλά και για την βοήθειά του στην προετοιμασία των δειγμάτων για το ΗΜΔ. Εύχομαι να ολοκληρωθεί γρήγορα η συγγραφή της διατριβής του και να αξιοποιηθεί όπως της αξίζει. Το γεωπόνο και αναλυτή Η/Υ Χρήστο Παπαδά για την κεφάλι παρέα και τα χαλαρωτικά διαλείμματα που επιφύλασσε η επίσκεψή του στο εργαστήριο, καθώς και τη συμβολή του ώστε ο ψηφιακός μας κόσμος να είναι αποδοτικός, ασφαλής και ευχάριστος. Την Δρ. Στέλλα Χωριανοπούλου για το ωραίο κλίμα που καλλιέργησε και τα ενθαρρυντικά της σχόλια. Τους μεταπτυχιακούς φοιτητές Γεωργία Κοτζιά και Παναγιώτη Νάση για τη βοήθειά τους στην προετοιμασία του συστήματος υδροπονίας αλλά και για την ζεστή τους διάθεση. Τους φοιτητές του εργαστηρίου οι οποίοι με το κέφι και τη φρεσκάδα τους συνέβαλαν στην διευκόλυνση αυτής της προσπάθειας. Τους φίλους μου που αυτά τα τέσσερα χρόνια στήριζαν έμμεσα αυτήν την προσπάθεια ακόμα και αν είχαμε αρκετούς μήνες να συναντηθούμε.

Η εργασία αυτή απαιτήσε πολλές θυσίες, όχι μόνο προσωπικές. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τη γεωπόνο Βασιλική Σταυρούλακη για την υπομονή, την ενθάρρυνση και την πίστη της σε μένα. Μεγάλο μέρος του χρόνου που απαιτήθηκε για την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας έλειψε από τον κοινό μας χρόνο. Ωστόσο το διάστημα της παραμονής της στο εργαστήριο, κατά την εκπόνηση της μεταπτυχιακής της εργασίας, ήταν από τα πιο όμορφα των σπουδών μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου γιατί στην δική της άοκνη προσπάθεια, πίστη και κουράγιο, οφείλεται ένα μεγάλο μέρος της αίσιας κατάληξης αυτής της διαδρομής. Την μητέρα μου και τον όμορφο κήπο της από όπου και προέρχεται το πρώτο ενδιαφέρον μου για τον θαυμαστό κόσμο των φυτών.

Εισαγωγή	15
I. Γενικές Αρχές της Ανόργανης Διατροφής των Ανωτέρων Φυτών	17
I.1. Γενικά	17
I.2. Τα Απαραίτητα Θρεπτικά Στοιχεία και οι Χημικές Μορφές Πρόσληψης.....	17
I.3. Παράγοντες που Καθορίζουν την Συγκέντρωση των Θρεπτικών Στοιχείων στο Έδαφος	18
I.4. Τα Ανώτερα Φυτά Απορροφούν Θρεπτικά Στοιχεία από το Έδαφος Μέσω Εξειδικευμένων Μηχανισμών Πρόσληψης.....	19
I.4.1. Η Πρόσληψη των Θρεπτικών Στοιχείων και του Νερού από το Ριζικό Σύστημα των Ανωτέρων Φυτών	19
I.4.1.1. Είσοδος και Κίνηση Νερού και Θρεπτικών Στοιχείων στην Περιοχή του Αποπλάστη	19
I.4.1.2. Είσοδος Νερού και Θρεπτικών Στοιχείων στα Κύτταρα του Ριζικού Συστήματος – Συμπλαστική Κίνηση	20
I.4.2. Κίνηση του Νερού και των Θρεπτικών Στοιχείων Εντός των Ιστών της Ρίζας και Φόρτωσή τους στα Αγγεία του Ξύλου	21
I.5. Η Διακίνηση και η Κατανομή των Θρεπτικών Στοιχείων Μέσα στο Φυτικό Σώμα	23
I.5.1. Η Συμβολή των Αγγείων του Ξύλου στην Μετακίνηση και Κατανομή των Θρεπτικών Στοιχείων.....	23
I.5.2. Τα Χαρακτηριστικά και η Σημασία της Μετακίνησης Θρεπτικών Στοιχείων Μέσω του Ηθμού	24
I.6. Φυσιολογική Σημασία των Θρεπτικών Στοιχείων	25
I.7. Η Έλλειψη Θρεπτικών Στοιχείων στα Ανώτερα Φυτά Επιφέρει Συνολική Μεταβολική Δυσλειτουργία.....	25
I.7.1. Τα Φυτά Αντλαμβάνονται το Εκκρίσιμο Καθεστώς Θρέψης και Αντιδρούν Προς την Κατεύθυνση της Διατήρησης της Ομοιόστασης και της Βέλτιστης Απόδοσης.....	27
I.7.2. Οι Αντιδράσεις των Φυτών για την Αντιμετώπιση της Έλλειψης Θρεπτικών Στοιχείων	27
I.7.3. Επιπτώσεις της Έλλειψης Θρεπτικών Στοιχείων στην Ανάπτυξη και τον Πρωτογενή Μεταβολισμό των Ανωτέρων Φυτών	29
I.7.4. Σχέση Μεταξύ Θρέψης και Δευτερογενούς Μεταβολισμού των Ανωτέρων Φυτών	30
I.7.4.1. Γενικά Χαρακτηριστικά του Δευτερογενούς Μεταβολισμού.....	30
I.7.4.2. Κατηγορίες Δευτερογενών Μεταβολιτών.....	30
I.7.4.3. Ο Δευτερογενής Μεταβολισμός των Αρωματικών Ενώσεων.....	32
I.7.4.4. Η δυναμική του Μεταβολισμού των Αρωματικών Δευτερογενών Μεταβολιτών	33
I.7.4.5. Ο Ρόλος των Αρωματικών Δευτερογενών Μεταβολιτών στη Φυσιολογία και Οικολογία των Ανωτέρων Φυτών	36
I.7.4.5.1. Τα Φαινολικά Συστατικά ως Δομικοί και Λειτουργικοί Παράγοντες στα Φυτά.....	36
I.7.4.5.2. Τα Φαινολικά Συστατικά ως Χημικοί Παράγοντες στις Αλληλεπιδράσεις των Φυτών με το Αβιοτικό και Βιοτικό Περιβάλλον.....	38
I.7.4.6. Οι Επιπτώσεις της Έλλειψης των Θρεπτικών Στοιχείων στο Δευτερογενή Μεταβολισμό	39
II. Ο Ρόλος του Βορίου στη Διατροφή των Ανωτέρων Φυτών	43
II.1. Χημικά Χαρακτηριστικά του Βορίου	43
II.2. Το Βόριο του Εδάφους.....	44
II.3. Κατανομή του Βορίου στο Κύτταρο	45
II.4. Πρόσληψη του Βορίου από το Ριζικό Σύστημα των Ανωτέρων Φυτών.....	46
II.4.1. Παθητική διαμεμβρανική μεταφορά βορίου.....	46
II.4.2. Ενεργός μεταφορά βορίου	48
II.5. Διακίνηση, Κατανομή και Αναδιανομή του Βορίου στα Φυτά.....	49
II.5.1. Η Ικανότητα Αναδιανομής του Βορίου Μέσω του Ηθμού Εξαρτάται Από το Είδος του Φυτού	49
II.5.2. Η Ικανότητα Αναδιανομής του Βορίου Σχετίζεται με την Παρουσία Σακχαροαλκοολών στον Ηθμό	51
II.5.3. Η Δυνατότητα Διακίνησης του Βορίου στον Ηθμό Σχετίζεται με τις Απαιτήσεις των Φυτών σε Βόριο	52
II.6. Ο Ρόλος του Βορίου στην Ανάπτυξη και Διαφοροποίηση των Ανωτέρων Φυτών	53
II.7. Το Βόριο Αποτελεί Δομικό και Λειτουργικό Παράγοντα του Κυτταρικού Τοιχώματος και της Κυτταροπλασματικής Μembrάνης	53
II.7.1. Το Βόριο Συμμετέχει στην Δομή και Λειτουργία των Κυτταρικών Τοιχωμάτων.....	53
II.7.2. Το Βόριο Αποτελεί Παράγοντα Σταθερότητας και Λειτουργικότητας της Κυτταροπλασματικής Μembrάνης	58
II.8. Ο Ρόλος του Βορίου στον Πρωτογενή Μεταβολισμό.....	59
II.8.1. Ο Ρόλος του Βορίου στην Φωτοσυνθετική Λειτουργία και την Διανομή Σακχάρων	60
II.8.2. Ο Ρόλος του Βορίου στον Μεταβολισμό των Ορμονών.....	60
II.8.3. Ο Ρόλος του Βορίου στον Μεταβολισμό του Ασκορβικού Οξέος και στον Μηχανισμό Αντιοξειδωτικής Προστασίας του Κυττάρου	61
II.8.4. Ο Ρόλος του Βορίου στην Συμβιωτική Αφομοίωση Αζώτου	61
II.9. Ο Ρόλος του Βορίου στην Αναπαραγωγή των Φυτών	61
II.10. Η Επίδραση του Βορίου στον Δευτερογενή Μεταβολισμό των Αρωματικών Ενώσεων.....	62
III. Το Φυτό της Ελιάς	65

III.1. Η Σημασία της Καλλιέργειας της Ελιάς – Οικολογία.....	65
III.2. Βοτανικοί Χαρακτήρες, Μορφολογικά και Φυσιολογικά Χαρακτηριστικά της Ελιάς.....	66
III.3. Χαρακτηριστικά της Ανόργανης Διατροφής της Ελιάς.....	71
III.3.1. Ο Ρόλος του Βορίου στην Διατροφή της Ελιάς.....	71
III.3.2. Η Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στην Ελιά.....	72
Σκοπός της Εργασίας.....	74
I. Θεματολογία.....	76
I.1. Υπόθεση Εργασίας και Ερωτήματα.....	76
I.2. Πειραματική Προσέγγιση.....	76
Υλικά και Μέθοδοι.....	78
I. Φυτικό Υλικό και Περιγραφή των Συνθηκών Καλλιέργειας.....	80
I.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών.....	80
I.1.1. Προετοιμασία του Φυτικού Υλικού και του Υποστρώματος Καλλιέργειας.....	80
I.1.2. Περιγραφή του Συστήματος Πειραματικής Υδροπονικής Καλλιέργειας.....	80
I.1.3. Συνθήκες Υδροπονικής Καλλιέργειας.....	82
I.2. Πείραμα πεδίου.....	82
I.2.1. Επιλογή του Φυτικού Υλικού.....	82
II. Πειραματική Πορεία.....	84
II.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών.....	84
II.1.1. Χρονοδιάγραμμα Πειράματος.....	84
II.1.2. Δειγματοληπτικοί Χειρισμοί, Μετρήσεις και Κατηγορίες Δειγμάτων.....	84
II.1.2.1. Δειγματοληψίες και Μετρήσεις Πριν και Κατά τη Διάρκεια του Πειράματος.....	84
II.1.2.2. Δειγματοληψίες και Μετρήσεις Μετά τη Λήξη του Πειράματος.....	85
II.2. Πείραμα πεδίου.....	85
II.2.1. Χρονοδιάγραμμα Πειράματος.....	85
II.2.2. Δειγματοληπτικοί Χειρισμοί, Μετρήσεις και Κατηγορίες Δειγμάτων.....	85
III. Τρόπος Διενέργειας Μετρήσεων.....	87
III.1. Μορφολογικές και Ανατομικές Παράμετροι.....	87
III.1.1. Μορφολογικές Παράμετροι και Χαρακτηριστικά Ανάπτυξης.....	87
III.1.2. Ανατομικές Παρατηρήσεις.....	87
III.1.2.1. Οπτική Μικροσκοπία και Μικροσκοπία Επιφθορισμού.....	87
III.1.2.2. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης.....	87
III.2. Συγκέντρωση Βορίου στα Φυτικά Όργανα και σε Δείγματα του Θρεπτικού Διαλύματος.....	87
III.2.1. Προετοιμασία Δειγμάτων.....	87
III.2.2. Φωτομετρική Μέτρηση Συγκέντρωσης Βορίου.....	88
III.3. Παράμετροι Φωτοσυνθετικής Λειτουργίας.....	88
III.3.1. Αριθμός Στομάτων.....	88
III.3.2. Συγκέντρωση Χλωροφυλλών.....	88
III.3.3. Παράμετρος F_v / F_m	88
III.3.4. Φωτοσυνθετική Ικανότητα.....	89
III.4. Αναλύσεις Σακχάρων στους Φυτικούς Ιστούς και το Χυμό του Ηθμού.....	89
III.4.1. Προετοιμασία Δειγμάτων.....	89
III.4.2. Χρωματογραφική Ανάλυση.....	89
III.5. Αναλύσεις Φαινολικών Συστατικών στους Φυτικούς Ιστούς.....	90
III.5.1. Προετοιμασία Δειγμάτων.....	90
III.5.2. Χρωματογραφική Ανάλυση.....	90
Αποτελέσματα.....	92
I. Συγκέντρωση Βορίου στους Φυτικούς Ιστούς.....	94
I.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών.....	94
I.2. Πείραμα Πεδίου.....	96
II. Παράμετροι Ανάπτυξης, Μορφολογικά και Ανατομικά Χαρακτηριστικά των Φύλλων.....	97
II.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών.....	97
II.1.1. Αναπτυξιακές Παράμετροι της Νέας Βλάστησης.....	97
II.1.1.1. Αναπτυξιακές Παράμετροι της Νέας Βλάστησης 4 Εβδομάδες Μετά την Έναρξη του Πειράματος.....	97
II.1.1.2. Αναπτυξιακές Παράμετροι της Νέας Βλάστησης Κατά τη Λήξη του Πειράματος.....	98
II.1.2. Αναπτυξιακές Παράμετροι και Ανατομικά Χαρακτηριστικά των Φύλλων.....	99
II.2. Πείραμα Πεδίου.....	103
II.2.1. Αναπτυξιακές Παράμετροι και Ανατομικά Χαρακτηριστικά των Φύλλων.....	103
III. Παράμετροι Φωτοσυνθετικής Λειτουργίας.....	108
III.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών.....	108

III.2. Πείραμα Πεδίου.....	110
IV. Σύσταση Διαλυτών Σακχάρων των Φύλλων και του Χυμού του Ηθμού.....	111
IV.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών.....	111
IV.1.1. Σύσταση Διαλυτών Σακχάρων των Φύλλων.....	111
IV.2. Πείραμα Πεδίου.....	113
IV.2.1. Σύσταση Διαλυτών Σακχάρων των Φύλλων.....	113
IV.2.1. Σύσταση Διαλυτών Σακχάρων του Χυμού του Ηθμού.....	115
V. Σύσταση Φαινολικών Συστατικών των Φύλλων και του Τριχώματος.....	118
V.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών.....	118
V.1.1. Σύσταση Φαινολικών Συστατικών των Φύλλων.....	118
V.1.2. Σύσταση Φαινολικών Συστατικών του Τριχώματος.....	124
V.2. Πείραμα Πεδίου.....	124
Συζήτηση.....	132
I. Συγκέντρωση Βορίου στους Φυτικούς Ιστούς.....	134
I.1. Το Βόριο Επανεκκινείται σε Μεγαλύτερο Βαθμό από τα Ωριμα προς τα Νεαρά Όργανα υπό Συνθήκες Έλλειψης του Στοιχείου.....	134
I.2. Η Τοπολογία των Συμπτωμάτων Τροφοπενίας Διαφέρει Ανάλογα με το Περιβάλλον Ανάπτυξης.....	136
II. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στα Μορφολογικά και Ανατομικά Χαρακτηριστικά των Φύλλων.....	138
II.1. Η Έλλειψη Βορίου Επάγει την Έκφραση Μορφολογικών και Ανατομικών Χαρακτήρων που Σχετίζονται με τη Σκληροφυλλία Αλλά και Αλλοιώσεις στον Ηθμό.....	138
II.2. Η Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στα Μορφολογικά και Ανατομικά Χαρακτηριστικά των Φύλλων Εξαρτάται από την Παράλληλη Δράση Άλλων Παραγόντων Καταπόνησης.....	140
III. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στη Φωτοσυνθετική Λειτουργία και την Παραγωγή και Διακίνηση Υδατανθράκων.....	142
III.1. Η Έλλειψη Βορίου δεν Επηρεάζει τη Φωτοσυνθετική Ικανότητα των Φύλλων.....	142
III.2. Η Έλλειψη Βορίου Προκαλεί Συσσώρευση Υδατανθράκων στα Φύλλα.....	143
III.3. Υπό Συνθήκες Τροφοπενίας Βορίου δεν Επηρεάζεται η Ικανότητα Διακίνησης των Υδατανθράκων.....	143
IV. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στη Σύσταση των Φαινολικών Συστατικών των Φύλλων.....	145
IV.1. Η Συσσώρευση Φαινολικών Συστατικών Αποτελεί Εναλλακτική Οδό Διοχέτευσης των Σκελετών Άνθρακα σε Συμφωνία με την Υπόθεση Ισορροπίας Άνθρακα – Θρεπτικών Στοιχείων.....	145
Παράρτημα Α: Βιβλιογραφία.....	149
Παράρτημα Β: Συντομογραφίες.....	169
Παράρτημα Γ: Περίληψη.....	173
Appendix D: Abstract.....	177

στη μνήμη του πατέρα μου

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

*'But the images of men's wits and knowledges remain in books,
exempted from the wrong of time, and capable of perpetual
renovation'*

Advancement of Learning, 1602

Sir Francis Bacon

I. Γενικές Αρχές της Ανόργανης Διατροφής των Ανωτέρων Φυτών

I.1. Γενικά

Τα ανώτερα φυτά, ως αυτότροφοι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, έχουν την ικανότητα να συνθέτουν το σύνολο των δομικών και λειτουργικών οργανικών μοριών τα οποία συνιστούν τη βιομάζα τους χρησιμοποιώντας αποκλειστικά ανόργανα συστατικά^{331,144}.

Το σύνολο των φυσιολογικών μηχανισμών με τους οποίους τα φυτά προσλαμβάνουν από το περιβάλλον τους, διακινούν, κατανέμουν και αξιοποιούν τα ανόργανα συστατικά, αποτελεί το αντικείμενο μελέτης της ανόργανης διατροφής των ανωτέρων φυτών.

Η ικανότητα των φυτικών οργανισμών να προσλαμβάνουν και να αξιοποιούν τα ανόργανα συστατικά με τη βοήθεια της ενέργειας του ήλιου δεν συμβάλλει μόνο στην επιτυχή διεξαγωγή και ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου, αλλά και στην ανάκτηση των ανόργανων στοιχείων από το αβιοτικό περιβάλλον προς όφελος όλων των υπόλοιπων ετερότροφων οργανισμών – καταναλωτών.

Ο άνθρακας όλων των οργανικών ενώσεων των φυτών προέρχεται από την φωτοσυνθετική αφομοίωση του, το οξυγόνο από αντιδράσεις οργανικών ενώσεων με μόρια νερού, από την απευθείας αφομοίωση μοριακού οξυγόνου μέσω οξειδωτικών ενζύμων, από την φωτοσυνθετική αφομοίωση του CO₂ και από την φωτοαναπνοή ενώ το υδρογόνο από αντιδράσεις οργανικών ενώσεων με μόρια νερού και από την φωτόλυση του ύδατος³³¹. Τα υπόλοιπα στοιχεία που περιέχονται στους φυτικούς οργανισμούς προέρχονται κυρίως από το έδαφος. Τα φυτά προσλαμβάνουν τα στοιχεία αυτά, τα οποία περιέχονται στο εδαφικό διάλυμα υπό διάφορες χημικές μορφές, μέσω του ριζικού συστήματος. Στο παρόν κείμενο, κατά συνθήκη, ο όρος ανόργανο (θρεπτικό) στοιχείο χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια και υποδηλώνει κάθε χημικό είδος, σε στοιχειακή ή μη μορφή με την οποία τα ανόργανα στοιχεία απαντώνται στο έδαφος ή στους φυτικούς

οργανισμούς.

Η κατανόηση των διεργασιών της ανόργανης διατροφής των φυτών αποτελεί θεμελιώδη στόχο της επιστήμης της γεωπονίας από την εποχή που άνθρωπος ανέπτυξε την γεωργία. Η επιστημονική πρόοδος στον τομέα αυτό συνέβαλλε, και σίγουρα θα συμβάλλει αποφασιστικά και στο άμεσο μέλλον, τόσο στην επίτευξη και διατήρηση υψηλών αποδόσεων των καλλιεργούμενων φυτών όσο και στην παροχή υψηλής ποιότητας γεωργικών προϊόντων. Τα επιτεύγματα αυτά, αν αξιοποιηθούν υπό το πρίσμα μιας συνεχούς μέριμνας για ορθολογιστική διαχείριση των πόρων και προστασία του φυσικού περιβάλλοντος, θεωρείται βέβαιο ότι θα οδηγήσουν στην αντιμετώπιση του παγκόσμιου προβλήματος της διαθεσιμότητας τροφής.

I.2. Τα Απαραίτητα Θρεπτικά Στοιχεία και οι Χημικές Μορφές Πρόσληψης

Παρά το γεγονός ότι στην ξηρή ουσία των φυτών είναι δυνατόν να ανιχνευτούν έως και 60 διαφορετικά στοιχεία⁵¹, μόνο ένας περιορισμένος αριθμός από αυτά ικανοποιεί τα κριτήρια με βάση τα οποία ένα στοιχείο χαρακτηρίζεται ως απαραίτητο³⁷⁷. Μετά από συστηματικές μελέτες της θρέψης των φυτών καταρτίστηκε ο κατάλογος των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων, ο οποίος περιλαμβάνει 14 στοιχεία. Τα στοιχεία αυτά παραδοσιακά διακρίνονται, ανάλογα με τις ποσότητες στις οποίες είναι απαραίτητα για τα φυτά, σε έξι μακροστοιχεία και οκτώ μικροστοιχεία, ενώ εννέα ακόμη στοιχεία ασκούν ευεργετική επίδραση ή θεωρούνται απαραίτητα σε περιορισμένο αριθμό φυτικών ειδών (Πίνακας I.1).

Συνήθως τα θρεπτικά στοιχεία προσλαμβάνονται μέσω του ριζικού συστήματος των φυτών από το εδαφικό διάλυμα με τη μορφή διαλυμένων ιόντων.

Πίνακας I.1. Απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία των ανωτέρων φυτών³⁷⁷.

κατηγορία	θρεπτικά στοιχεία
μακροστοιχεία	N, P, S, K, Mg, Ca
μικροστοιχεία	Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, Cl, Ni
ευεργετικά στοιχεία	Na, Si, Co, V, Se, Ga, Al, J, Ti

Πίνακας 1.2. Οι χημικές μορφές υπό τις οποίες τα φυτά παραλαμβάνουν τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία για τιμές pH 6–7 του εδαφικού διαλύματος^{377,161}. Με κυανό χρώμα σημειώνονται οι κύριες μορφές πρόσληψης. Ας σημειωθεί ότι με εξαίρεση το βόριο¹⁴⁸ και το πυρίτιο³⁷⁶, όλα τα υπόλοιπα θρεπτικά στοιχεία παραλαμβάνονται σε ιοντική μορφή.

θρεπτικό στοιχείο	μορφή απορρόφησης
N	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺
P	H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻
S	SO ₄ ²⁻ , SO ₃ ²⁻ , SO ₂ [*]
K	K ⁺
Mg	Mg ²⁺
Ca	Ca ²⁺
Fe	Fe ²⁺ , Fe ³⁺ , χηλικός Fe [†]
Mn	Mn ²⁺
Zn	Zn ²⁺
Cu	Cu ²⁺
B	H ₃ BO ₃ , B(OH) ₄ ⁻
Mo	MoO ₄ ²⁻
Cl	Cl ⁻
Si	H ₄ SiO ₄
Ni	Ni ²⁺

[*] Το SO₂ μπορεί να απορροφηθεί από την ατμόσφαιρα μέσω των εναέριων οργάνων των φυτών.

[†] Ο τρισθενής σίδηρος (Fe³⁺) ανάγεται σε διθενή (Fe²⁺) πριν τη απορρόφηση του από τις ρίζες. Στην περίπτωση των χηλικών μορφών σιδήρου, η απορρόφηση του ιόντος προϋποθέτει τον προηγούμενο διαχωρισμό του από τον παράγοντα χηλιοποίησης²¹¹.

Ανεξάρτητα από την ορυκτολογική σύσταση του εδάφους και την περιεκτικότητα του εδαφικού διαλύματος σε ιόντα, η ικανότητα πρόσληψης των θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά περιορίζεται μόνο σε συγκεκριμένες χημικές μορφές (Πίνακας 1.2).

1.3. Παράγοντες που Καθορίζουν την Συγκέντρωση των Θρεπτικών Στοιχείων στο Έδαφος

Η διαθεσιμότητα ενός θρεπτικού στοιχείου, διαμορφώνεται από την συγκέντρωσή του στο εδαφικό διάλυμα, σε συνδυασμό με την ικανότητα πρόσληψης αυτού από τη ρίζα⁴⁶. Το εδαφικό διάλυμα αποτελεί ένα αραιό διάλυμα θρεπτικών στοιχείων με μεταβλητή συγκέντρωση λόγω αυξομειώσεων της περιεκτικότητας του εδάφους σε νερό. Από το σύνολο των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους μόνο ένα

ποσοστό της τάξης του 0,2% είναι διαλυμένο στο εδαφικό διάλυμα. Το 98% των θρεπτικών στοιχείων περιλαμβάνεται στη στερεή φάση του εδάφους υπό μορφή ορυκτών συστατικών και αποδομούμενης οργανικής ύλης από την οποία καθίστανται διαθέσιμα με πολύ αργούς ρυθμούς. Τέλος, ένα ποσοστό περίπου 2% των θρεπτικών στοιχείων βρίσκεται προσροφημένο υπό ιοντική μορφή στην εδαφική μήτρα. Η κατανομή των θρεπτικών στοιχείων μεταξύ των τριών φάσεων του εδάφους καθώς επίσης και οι παράγοντες που καθορίζουν τον ρυθμό μετακίνησης των στοιχείων από την μια φάση στην άλλη, καθορίζουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων στο θρεπτικό διάλυμα²⁴⁹. Οι παράγοντες που καθορίζουν τη συγκέντρωση του εδαφικού διαλύματος είναι:

α. η χημική σύσταση των πρωτογενών ορυκτών του εδάφους επειδή καθορίζει το είδος των εν δυνάμει διαθέσιμων ανόργανων στοιχείων

β. ο ρυθμός αποδόμησης των ορυκτών συστατικών του εδάφους

γ. τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της στερεής φάσης του εδάφους

δ. οι κλιματικές συνθήκες (θερμοκρασία, υγρασία και αερισμός του εδάφους)

ε. βιοτικοί παράγοντες (δραστηριότητα της μικροχλωρίδας του εδάφους και εγκαθίδρυση συμβιωτικών σχέσεων)

Όσον αφορά στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της στερεής φάσης του εδάφους, είναι απαραίτητο να επισημανθούν τα εξής: ο αριθμός και το είδος των θέσεων δέσμευσης των ιόντων στην εδαφική μήτρα καθορίζει την ιονανταλλακτική ικανότητα του εδάφους. Οι θέσεις δέσμευσης δημιουργούνται από την άργιλο, τα κολλοειδή και την οργανική ουσία του εδάφους³⁷⁶.

Λόγω του αντιστρεπτού χαρακτήρα της δέσμευσης, το κλάσμα των προσροφημένων ιόντων αντιπροσωπεύει την κυριότερη δεξαμενή μέσω της οποίας το θρεπτικό διάλυμα τροφοδοτείται άμεσα με στοιχεία¹⁸³. Συνεπώς, η ιονανταλλακτική ικανότητα

του εδάφους σχετίζεται με την αναπλήρωση των ιόντων του εδαφικού διαλύματος τα οποία απομακρύνονται συνεχώς λόγω της απορρόφησής τους από τις ρίζες των φυτών ή της έκπλυσής τους προς βαθύτερα στρώματα εδάφους⁴⁶.

Η πλειονότητα των θέσεων δέσμευσης στην εδαφική άργιλο αλλά και τα εδαφικά κolloειδή φέρει αρνητικά φορτία. Κατά συνέπεια, ευνοείται η συγκράτηση των κατιονικών και η άπωση των ανιονικών χημικών μορφών των θρεπτικών στοιχείων, οι οποίες τελικά εκπλένονται ταχέως προς βαθύτερα στρώματα εδάφους και απομακρύνονται από την περιοχή της ριζόσφαιρας³⁷⁷.

Η οργανική ουσία του εδάφους συμβάλει στη δημιουργία παραγόντων χηλιοποίησης (χημικών οξέων) των διοθενών και τριοθενών κατιόντων³⁷⁶, οι οποίοι αποτρέπουν το σχηματισμό αδιάλυτων ένυδρων οξειδίων στις συνήθεις τιμές εδαφικού pH²⁹⁴.

Η τιμή του pH του εδαφικού διαλύματος καθορίζει το είδος των χημικών αντιδράσεων που θα λάβουν χώρα μεταξύ των επιμέρους συστατικών αλλά και τα χημικά είδη τα οποία είναι διαθέσιμα στα φυτά^{47,376,51,185,319}. Το pH του εδάφους επηρεάζει επίσης τη βιολογική δραστηριότητα της μικροχλωρίδας του εδάφους⁵¹ αλλά και την ικανότητα της ρίζας να απορροφήσει ιόντα.

1.4. Τα Ανώτερα Φυτά Απορροφούν

Θρεπτικά Στοιχεία από το Έδαφος Μέσω

Εξειδικευμένων Μηχανισμών

Πρόσληψης

Οι μηχανισμοί πρόσληψης των ιόντων παρουσιάζουν εξειδίκευση²¹¹. Ως αποτέλεσμα, η σύσταση σε ανόργανα στοιχεία του εσωτερικού των ριζών εμφανίζεται διαφοροποιημένη έναντι αυτής του εξωτερικού εδαφικού διαλύματος^{294,331}.

Οι υψηλής εξειδίκευσης μηχανισμοί πρόσληψης των θρεπτικών στοιχείων επιτρέπουν την συσσώρευση στοιχείων στους ιστούς της ρίζας σε συγκεντρώσεις οι οποίες υπερβαίνουν κατά πολύ αυτές του εξωτερικού εδαφικού διαλύματος. Εάν δεν

υπήρχε δυνατότητα συσσώρευσης και η πρόσληψη των θρεπτικών στοιχείων στηριζόταν αποκλειστικά σε μηχανισμούς διάχυσης, τα φυτά θα αδυνατούσαν να ικανοποιήσουν τις θρεπτικές τους ανάγκες^{117,319}.

1.4.1. Η Πρόσληψη των Θρεπτικών

Στοιχείων και του Νερού από το Ριζικό

Σύστημα των Ανωτέρων Φυτών

Η είσοδος και κίνηση των ιόντων και του νερού από το εξωτερικό διάλυμα προς τα κύτταρα της ρίζας ακολουθεί δύο εναλλακτικές οδούς, είτε την αποπλαστική είτε τη συμπλαστική. Ο αποπλάστης αποτελείται από την υδατική φάση που εντοπίζεται στον χώρο μεταξύ των κυττάρων και την υδατική φάση που είναι προσροφημένη στα κυτταρικά τοιχώματα λόγω της ύπαρξης των πόρων του πλέγματος των πολυμερών^{41,377}. Ως συμπλάστης ορίζεται η συνέχεια του κυτταροπλάσματος γειτονικών κυττάρων, τα οποία ενώνονται με πλασμοδεσμούς³⁷⁶.

Κάθε ιόν ή μόριο νερού το οποίο βρίσκεται στο εδαφικό διάλυμα έχει τη δυνατότητα να ακολουθήσει τις παραπάνω δύο εναλλακτικές διαδρομές. Από ένα σημείο και μετά, είσοδος στον συμπλάστη αποτελεί την απαραίτητη προϋπόθεση για την αξιοποίηση και μεταφορά των θρεπτικών στοιχείων προς τα υπέργεια όργανα.

1.4.1.1 Είσοδος και Κίνηση Νερού και

Θρεπτικών Στοιχείων στην Περιοχή του

Αποπλάστη

Η κίνηση του νερού και των ιόντων διαμέσου της αποπλαστικής οδού θεωρείται παθητική και αποδίδεται στους μηχανισμούς της διάχυσης και μαζικής ροής²¹¹.

Φυσικοχημικά ο αποπλάστης διαφοροποιείται σε δύο κλάσματα. Το πρώτο κλάσμα που ονομάζεται ελεύθερος χώρος Donnan, χαρακτηρίζεται από την παρουσία αρνητικά φορτισμένων καρβοξυλικών ομάδων των πολυγαλακτουρονικών οξέων του μεσοτοιχίου³⁷⁷. Στον χώρο αυτό τα ιόντα

δεσμεύονται ή απωθούνται αναλόγως του φορτίου τους²¹¹ ενώ η αντιστρεπτή δέσμευσή τους περιγράφεται από τις ισορροπίες Donnan³⁷⁷. Η επιλεκτική δέσμευση των κατιόντων στις αρνητικά φορτισμένες ομάδες του αποπλαστικού αυτού κλάσματος συμβάλλει στη δημιουργία μιας δεξαμενής υψηλής συγκέντρωσης, από την οποία και μέσω της κυτταροπλασματικής μεμβράνης αντλούνται θρεπτικά στοιχεία, ώστε να καλυφθούν οι ανάγκες των κυττάρων. Το δεύτερο κλάσμα του αποπλαστικού χώρου δεν φέρει φορτισμένες ομάδες και συνεπώς η είσοδος και η κίνηση του νερού και των ιόντων σε αυτό θεωρείται ελεύθερη. Το κλάσμα αυτό ονομάζεται ελεύθερος χώρος νερού²¹¹.

Η κίνηση του εδαφικού διαλύματος διαμέσου του αποπλαστικού χώρου καθορίζεται τόσο από ανατομικά χαρακτηριστικά των κυττάρων (όπως οι εναποθέσεις σουβερίνης και η δευτερογενής πάχυνση του κυτταρικού τοιχώματος) όσο και από τις συνθήκες που επικρατούν στην ενότητα έδαφος – φυτό – ατμόσφαιρα (όπως η ένταση της διαπνοής)³²⁷.

Η ταχύτερη είσοδος και διάχυση του νερού στη ρίζα έναντι αυτής των ιόντων⁴¹ προκαλεί συσσώρευση ιόντων στην περιοχή του αποπλάστη, η οποία ευνοεί την ταχύτερη διακίνησή τους μέσω διάχυσης ή και ενεργού μεταφοράς²¹¹.

1.4.1.2. Είσοδος Νερού και Θρεπτικών Στοιχείων στα Κύτταρα του Ριζικού Συστήματος – Συμπλαστική Κίνηση

Η κίνηση των ιόντων διαμέσου του συμπλάστη δεν είναι απαραίτητο να περιλαμβάνει και κίνηση αυτών διαμέσου των χυμοτοπιών, διαδικασία που δεν συμβάλλει, άλλωστε, σημαντικά στη διακίνηση των ιόντων³⁷⁶. Προϋπόθεση για την πραγματοποίηση αυτής της κίνησης είναι η είσοδος του νερού και των ιόντων στο εσωτερικό των κυττάρων διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης.

Η κυτταροπλασματική μεμβράνη, λόγω της στοιβάδας των φωσφορολιπιδίων, αποτελεί εμπόδιο στην διέλευση των φορτισμένων και ενυδατωμένων ιόντων από και προς το εξωτερικό μέσο³⁷⁷. Η διέλευση των ιόντων διαμέσου της μεμβράνης γίνεται

δυνατή με τη βοήθεια μεμβρανικών πρωτεϊνών που εμφανίζουν εξειδίκευση όσον αφορά στο είδος του μορίου που μεταφέρεται. Οι πρωτεϊνικοί αυτοί παράγοντες μεταφοράς θεωρούνται υπεύθυνοι για το φαινόμενο της συσσώρευσης των στοιχείων στο ριζικό σύστημα των ανωτέρων φυτών. Η ικανότητα των φυτών να εγκλιματίζονται στις επικρατούσες συνθήκες του εδαφικού περιβάλλοντος οφείλεται, μεταξύ άλλων, και στην ικανότητα ελέγχου των μηχανισμών αυτών.

Η κίνηση των ιόντων διαμέσου των πρωτεϊνικών αυτών παραγόντων μπορεί να είναι είτε παθητική (αυθόρμητη, λόγω της ευνοϊκής διαβάθμισης του ηλεκτροχημικού δυναμικού^{211,336}, είτε ενεργητική (μέσω δαπάνης μεταβολικής ενέργειας, αντίθετα προς τη διαβάθμιση του ηλεκτροχημικού δυναμικού^{364,277}.

Η παθητική μεταφορά συχνά πραγματοποιείται μέσω πρωτεϊνών μεταφοράς που διακρίνονται σε πρωτεΐνες διευκολυνόμενης μεταφοράς, συμμεταφορείς, αντιμεταφορείς και κανάλια ιόντων²¹¹. Οι πρωτεΐνες διευκολυνόμενης μεταφοράς καταλύουν την μεταφορά ιόντων κατά μήκος της διαβάθμισης ηλεκτροχημικού δυναμικού. Για δεδομένες συνθήκες ηλεκτροχημικού δυναμικού οι πρωτεΐνες αυτές λειτουργούν προς μια κατεύθυνση μεταφέροντας ένα ιόν κάθε φορά. Τα κανάλια ιόντων λειτουργούν με ανάλογο τρόπο με τη διαφορά ότι παρέχουν έναν πόρο μέσω του οποίου η κίνηση των ιόντων γίνεται μαζικά και συνεπώς ταχύτερα⁶. Οι συμμεταφορείς, εκμεταλλευόμενοι την διαβάθμιση του ηλεκτροχημικού δυναμικού, μεταφέρουν ταυτόχρονα κατιόντα ή ανιόντα με παράλληλη μεταφορά πρωτονίων. Οι αντιμεταφορείς λειτουργούν κατά ανάλογο τρόπο με την ταυτόχρονη μεταφορά ιόντων προς αντίθετες κατευθύνσεις, ώστε να διατηρείται η ηλεκτροχημική ισορροπία²⁰⁵.

Στην δεύτερη κατηγορία ανήκουν πρωτεΐνες που χρησιμοποιούν άμεσα μεταβολική ενέργεια και αναφέρονται γενικά ως αντλίες όπως οι αντλίες πρωτονίων και οι ABC – μεταφορείς³³⁶. Οι αντλίες πρωτονίων μεταφέρουν πρωτόνια αντίθετα στην φορά του ηλεκτροχημικού δυναμικού και για τον λόγο αυτό η λειτουργία τους είναι συζευγμένη με την υδρόλυση του ATP²¹¹. Ο ρόλος των αντλιών

πρωτονίων είναι θεμελιώδης και η δράση τους κυριαρχεί μεταξύ των μεμβρανικών ενζύμων διότι συμβάλουν καθοριστικά στη διατήρηση της ομοιόστασης. Μέσω της διαβάθμισης του δυναμικού πρωτονίων πραγματοποιείται, μεταξύ άλλων και η μετακίνηση ιόντων από και προς το κυτταρόπλασμα με την βοήθεια των συμμεταφορέων και των αντιμεταφορέων ιόντων^{6,243}.

Από την άλλη πλευρά, το νερό εισέρχεται στο εσωτερικό των κυττάρων είτε μέσω της διπλής στοιβάδας των φωσφορολιπιδίων είτε μέσω εξειδικευμένων καναλιών μεταφοράς που ονομάζονται υδροπορίνες. Οι υδροπορίνες προσφέρουν μια χαμηλής αντίστασης δίοδο μαζικής μεταφοράς νερού από και προς τα κύτταρα²²¹. Η κατεύθυνση της κίνησης καθορίζεται από τη διαφορά δυναμικού του νερού μεταξύ εσωτερικού και εξωτερικού περιβάλλοντος.

1.4.2. Κίνηση του Νερού και των Θεραπευτικών Στοιχείων Εντός των Ιστών της Ρίζας και Φόρτωσή τους στα Αγγεία του Ξύλου

Η κίνηση του νερού και των ιόντων από το εξωτερικό διάλυμα προς τα αγγεία του ξύλου αποτελεί μια σύνθετη διαδικασία η οποία εξαρτάται, μεταξύ άλλων, από τα ανατομικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των ιστών, από τις εδαφικές και κλιματολογικές συνθήκες και από το είδος του κάθε ιόντος. Παρόλο που οι οδοί μεταφοράς του νερού και των ιόντων είναι κοινές (δηλαδή είτε μέσω του συμπλάστη είτε μέσω του αποπλάστη), οι μηχανισμοί μέσω των οποίων επιτελείται η μεταφορά, καθώς και η άσκηση ελέγχου παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις.

Το νερό έχει τη δυνατότητα να ακολουθεί τρεις εναλλακτικές οδούς κίνησης (Εικόνα 1.1), την αποπλαστική κίνηση, την συμπλαστική κίνηση διαμέσου των πλασμοδεσμών και τη διακυτταρική κίνηση διαμέσου των υδροπορινών των μεμβρανών^{327,221}. Από την άλλη πλευρά, τα ιόντα μπορούν να κινηθούν αποπλαστικά ή συμπλαστικά (Εικόνα 1.1).

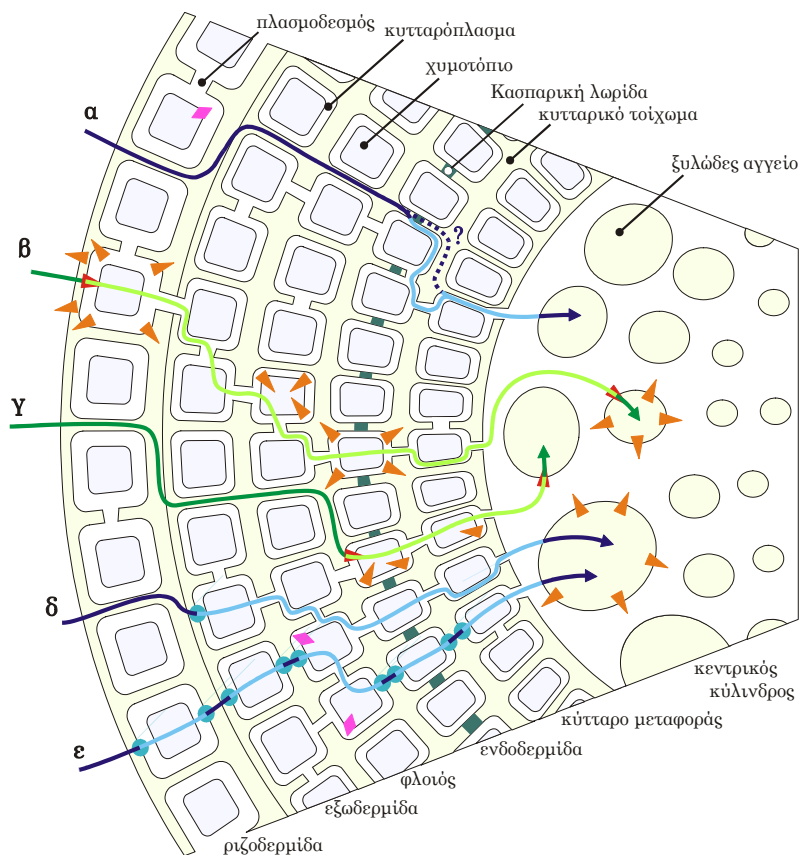
Σύμφωνα με την θεωρία συνάφειας – τάσης³²⁷, η

κινητήρια δύναμη για την αποπλαστική κίνηση του νερού (το οποίο συμπαρασύρει και τα ιόντα) είναι η ανάπτυξη αρνητικής υδροστατικής πίεσης (τάσης) στα ξυλώδη αγγεία της ρίζας η οποία οφείλεται στη δημιουργία του διαπνευστικού ρεύματος (μηχανισμός μαζικής ροής). Σε συνθήκες οι οποίες δεν ευνοούν τη διαπνοή, ο μηχανισμός μαζικής ροής δεν λειτουργεί και η τροφοδοσία σε θεραπευτικά στοιχεία περιορίζεται σε μηχανισμούς απλής διάχυσης ενώ η τροφοδοσία σε νερό στις διαφορές δυναμικού³²⁷.

Κατά την κατ' ακτίνα κίνηση από το φλοιό της ρίζας και μέχρι την ενδοδερμίδα η μεταφορά του νερού διαφοροποιείται έναντι αυτής των ιόντων. Στην περίπτωση του νερού η κίνηση μέχρι την ενδοδερμίδα γίνεται κυρίως αποπλαστικά, ακολουθώντας την οδό της μικρότερης αντίστασης. Η κίνηση αυτή εξασφαλίζει μεγαλύτερες ταχύτητες ροής προς τον κεντρικό κύλινδρο³⁷⁶. Από την άλλη πλευρά, η κίνηση των ιόντων διαμέσου του φλοιώδους παρεγχύματος γίνεται τόσο σε συμπλαστική όσο και σε αποπλαστική, μέσω διαχύσεως, πορεία³⁷⁶.

Ανεξάρτητα του δρόμου που ακολουθείται από το νερό και τα ιόντα κατά την πορεία τους μέσα στο φλοιώδες παρέγχυμα της ρίζας προς τον κεντρικό κύλινδρο και τα αγγεία του ξύλου, η παρεμβολή ορισμένων αποπλαστικών φραγών, σημαντικότερη από τις οποίες είναι η Κασπαρική λωρίδα, απαιτεί τη συμπλαστική διέλευση τόσο του νερού, όσο και των διαφόρων ιόντων³⁷⁶ (Εικόνα 1.1). Η ύπαρξη της Κασπαρικής λωρίδας οφείλεται σε εναποθέσεις σουβερίνης στα αντικλινή και στα κατ' ακτίνα κυτταρικά τοιχώματα των κυττάρων της ενδοδερμίδας. Άλλες φορές, η ριζοδερμίδα, όπως και η ύπαρξη εξωδερμίδας σε ορισμένα φυτικά είδη, αποτελούν τα πρώτα σημεία αντίστασης στην αποπλαστική κίνηση, λόγω εναποθέσεων σουβερίνης¹⁴⁵.

Πρόσφατα πειραματικά δεδομένα που αφορούν κυρίως σε νεαρές ρίζες έχουν αμφισβητήσει το ρόλο της ενδοδερμίδας ως απόλυτου φράγματος στην αποπλαστική κίνηση νερού^{145,211}. Υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι η διαμόρφωση των αποπλαστικών φραγών που περιορίζουν την κίνηση του νερού και των ιόντων εξαρτάται από το είδος του φυτού και το εδαφικό καθεστώς που επικρατεί



Εικόνα 1.1. Μοντέλο της κατ' ακτίνα συμπλαστικής και αποπλαστικής κίνησης νερού και ιόντων προς τα ξυλώδη αγγεία της ρίζας. **α.** Η αποπλαστική κίνηση νερού μπορεί να συνεχιστεί απρόσκοπτα τουλάχιστον μέχρι την Κασπαρική λωρίδα όπου όπως πιστεύεται το νερό εισέρχεται αναγκαστικά στον συμπλάστη. Η δυνατότητα κίνησης του νερού διαμέσου του αποπλάστη της ενδοδερμίδας αποτελεί αντικείμενο έρευνας. **β.** Η ενεργός απορρόφηση ιόντων από τα κύτταρα της ριζοδερμίδας αποτελεί τον αποτελεσματικότερο μηχανισμό απορρόφησης από εξαιρετικά αραιά εδαφικά διαλύματα. Στη συνέχεια τα ιόντα κινούνται συμπλαστικά μέσω των πλασμοδεσμών και φορτώνονται στα ξυλώδη αγγεία μέσω αντλιών αντιμεταφοράς ή συμμεταφοράς. **γ.** Τα ιόντα μπορούν να κινηθούν αποπλαστικά μέχρι την ενδοδερμίδα όπου υποχρεωτικά πρέπει να συνεχίσουν μέσω της συμπλαστικής οδού μετά την ενεργό απορρόφησή τους από τα κύτταρα του φλοιού. **δ.** Το νερό μπορεί να κινηθεί συμπλαστικά μέσω πλασμοδεσμών ή **ε.** διακυτταρικά μέσω υδροπορινών. Η κίνηση αυτή του νερού θεωρείται ταχύτερη έναντι αυτής μέσω πλασμοδεσμών. Σε κάθε περίπτωση μπορεί λάβει χώρα ανταλλαγή νερού και ιόντων μεταξύ του κυτταροπλάσματος και του χυμοτόπιου. Η ενεργός μεταφορά ιόντων προς το κυτταρόπλασμα, το χυμοτόπιο και τα ξυλώδη αγγεία προωθείται από την διαμόρφωση μιας διαβάθμισης ηλεκτροχημικού δυναμικού με την δράση αντλιών πρωτονίων. ♦: αμφίδρομη επικοινωνία; ●: υδροπορίνη; — / - -: αποπλαστική / συμπλαστική κίνηση νερού; - / - -: αποπλαστική / συμπλαστική κίνηση ιόντων; ▶: ενεργός μεταφορά ιόντων; ►: ενεργός μεταφορά πρωτονίων; [■]: συμπλάστης; [□]: αποπλάστης (²¹¹ με προσαρμογή).

κατά την ανάπτυξη της ρίζας¹⁴⁵.

Η φόρτωση των ιόντων στα αγγεία του ξύλου αποτελεί διαδικασία ενεργού μεταφοράς και επιτελείται με την βοήθεια κυττάρων μεταφοράς του ξυλώδους παρεγχύματος (Εικόνα 1.1). Η δημιουργία

διαβάθμισης pH μεταξύ των αγγείων (χαμηλότερο pH) και των κυττάρων του ξυλώδους παρεγχύματος (υψηλότερο pH) με τη λειτουργία αντλιών πρωτονίων ευνοεί την μεταφορά κατιόντων προς τα αγγεία με επιστροφή πρωτονίων μέσω

αντιμεταφορέων ιόντων. Η μεταφορά ανιόντων μπορεί να πραγματοποιείται μέσω καναλιών ιόντων που εκμεταλλεύονται την διαβάθμιση του ηλεκτρικού δυναμικού που έχει δημιουργηθεί με τη λειτουργία των αντλιών πρωτονίων ή την ταυτόχρονη μέσω συμμεταφορέων ιόντων με την ταυτόχρονη μεταφορά πρωτονίων και ανιόντων²¹¹.

1.5. Η Διακίνηση και η Κατανομή των

Θρεπτικών Στοιχείων Μέσα στο Φυτικό

Σώμα

Η διακίνηση των θρεπτικών στοιχείων στο φυτικό σώμα πραγματοποιείται μέσω του αγγειακού συστήματος. Η κίνηση έχει κατεύθυνση από το υπόγειο προς το υπέργειο μέρος και οφείλεται κυρίως σε μηχανισμούς μαζικής ροής, επομένως ο κύριος όγκος των θρεπτικών στοιχείων παραλαμβάνεται και μεταφέρεται όταν οι συνθήκες ευνοούν την διαπνοή²²⁷.

1.5.1. Η Συμβολή των Αγγείων του

Ξύλου στην Μετακίνηση και Κατανομή

των Θρεπτικών Στοιχείων

Η σύσταση του χυμού των αγγείων του ξύλου σε ανόργανα άλατα και οργανικά συστατικά εξαρτάται από το είδος και το στάδιο ανάπτυξης του φυτού αλλά και από εδαφοκλιματικούς παράγοντες οι οποίοι καθορίζουν την ταχύτητα της διαπνοής. Ο μεταβολισμός του αζώτου και των υδατανθράκων καθώς και τα επίπεδα ορισμένων φυτορμονών (κυρίως του ABA) καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τη σύσταση του ανιόντος χυμού²¹¹.

Κατά την μετακίνηση του ανιόντος χυμού προς τις απολήξεις του διαπνευστικού ρεύματος, η σύστασή του σε ιόντα και οργανικά μόρια μεταβάλλεται λόγω πλευρικών μετακινήσεων από τα αγγεία του ξύλου προς τα γειτονικά κύτταρα και αντίστροφα. Έτσι, κατά μήκος της διαδρομής ορισμένα ιόντα μπορεί να προσροφώνται από τα κυτταρικά τοιχώματα των αγγείων ή να απορροφώνται από τα γειτονικά κύτταρα ενώ άλλα

ιόντα ή και οργανικά συστατικά μπορεί να εκκρίνονται από τα γειτονικά κύτταρα προς τον ανιόντα χυμό^{41,211}.

Η απορρόφηση των ιόντων από τα κύτταρα που γειτνιάζουν με τα ξυλώδη αγγεία παρουσιάζει εκλεκτικότητα και σχετίζεται αφενός μεν με φαινόμενα ιονανταλλαγής μεταξύ του χυμού και των κυτταρικών τοιχωμάτων των αγγείων και των παρακείμενων κυττάρων, αφετέρου δε με ενεργό απορρόφηση από τα κύτταρα του ξυλώδους παρεγχύματος. Συγκράτηση ιόντων από τον αποπλάστη των αγγείων και των γειτονικών κυτταρικών τοιχωμάτων παρατηρείται στην περίπτωση του ασβεστίου, του σιδήρου και του ψευδαργύρου και μπορεί να αποτελεί παράγοντα εμφάνισης τροφοπενιών για τα στοιχεία αυτά³⁷⁶ ή παράγοντα ανθεκτικότητας έναντι τοξικών συγκεντρώσεων ιόντων στο εδαφικό διάλυμα, όπως στην περίπτωση του νατρίου και του μολυβδενίου. Η απορρόφηση ιόντων από τα κύτταρα του ξυλώδους παρεγχύματος πραγματοποιείται με τη λειτουργία αντλιών αντιμεταφοράς κατιόντων / πρωτονίων ενώ πιθανή είναι η ύπαρξη αντλιών συμμεταφοράς ανιόντων / πρωτονίων²¹¹.

Η μετανάστευση ιόντων από τα αγγεία του ξύλου προς αυτά του ηθμού κατά τη μεταφορά τους είναι δυνατόν να προκαλέσει μεταβολές στην σύσταση του ανιόντος χυμού. Η μετακίνηση αυτή πραγματοποιείται από εξειδικευμένα κύτταρα μεταφοράς του ξυλώδους παρεγχύματος και είναι ιδιαίτερης σημασίας για την κατανομή, αναδιανομή και ανακύκλωση των θρεπτικών στοιχείων στο φυτικό σώμα. Ο μηχανισμός αυτός συμβάλει στη ρύθμιση της σχετικής κατανομής των θρεπτικών στοιχείων στο φυτό ανάλογα τις συνθήκες που επικρατούν στο εσωτερικό και εξωτερικό περιβάλλον. Σε περιπτώσεις μειωμένης τροφοδοσίας από το εξωτερικό εδαφικό διάλυμα, ευνοείται η απελευθέρωση θρεπτικών στοιχείων από τους παρακείμενους ιστούς προς τον ανιόντα χυμό²¹¹.

Τα φαινόμενα οριζόντιας μεταφοράς ιόντων από τα αγγεία του ξύλου προς τα γειτονικά τους κύτταρα είναι δυνατόν να προκαλέσουν μια σταδιακή καθ' ύψος αποφόρτωση του ανιόντος χυμού, ωστόσο ο κύριος όγκος των θρεπτικών στοιχείων οδηγείται στα

φύλλα με μικρές συνήθως απώλειες κατά τη διαδρομή. Η διαδικασία αποφόρτωσης του ανιόντος χυμού στην περιοχή των τελικών απολήξεων του διαπνευστικού ρεύματος σχετίζεται με ορισμένες κατασκευαστικές λεπτομέρειες των αγγείων όπως με την διάμετρό τους, αλλά και με τη δυνατότητα απορρόφησης νερού και ιόντων από τα παρακείμενα κύτταρα. Θα πρέπει να ληφθεί υπ' όψη ότι κατά μήκος της διαδρομής, το νερό εγκαταλείπει τα αγγεία ευκολότερα από ότι τα ιόντα. Το φαινόμενο αυτό ευνοείται ιδιαίτερα στα μικρότερης διαμέτρου αγγεία τα οποία διαθέτουν υψηλό λόγο εσωτερικής επιφάνειας προς όγκο του διακινήσιμου χυμού, με αποτέλεσμα αυτά να εμφανίζουν υψηλότερη συγκέντρωση ιόντων⁴¹.

Το παραπάνω πρότυπο αποφόρτωσης του χυμού των αγγείων του ξύλου μπορεί να ανατραπεί σε περιπτώσεις κινητοποίησης αποθεμάτων των θρεπτικών στοιχείων. Τέτοιου είδους κινητοποίηση μπορεί να παρατηρηθεί σε συγκεκριμένα στάδια ανάπτυξης ή υπό συνθήκες έλλειψης ενός θρεπτικού στοιχείου.

1.5.2. Τα Χαρακτηριστικά και η Σημασία της Μετακίνησης Θρεπτικών Στοιχείων Μέσω του Ηθμού

Η φόρτωση των στοιχείων του ηθμού με ανόργανα θρεπτικά στοιχεία, εκτός των φωτοσυνθετικών προϊόντων και του νερού, παίζει ένα σημαντικό ρόλο στη διακίνηση των ανόργανων θρεπτικών στοιχείων στο φυτικό σώμα για δύο κυρίως λόγους.

α. τα θρεπτικά στοιχεία μπορούν να διακινήθουν αντίθετα προς την φορά του ανιόντος χυμού και συνεπώς μπορούν να αναδιανεμηθούν ακόμη και σε σημεία όπου η παροχή μέσω των αγγείων του ξύλου είναι περιορισμένη

β. η διακίνηση μέσω του ηθμού καθορίζεται από κριτήρια διαφορετικά από αυτά του ανιόντος χυμού, κυρίως από τη ροή φωτοσυνθετικών προϊόντων μεταξύ σημείων παραγωγής και κατανάλωσης και όχι από την

ροή του διαπνευστικού ρεύματος

Η συμβολή του ηθμού στην διακίνηση των θρεπτικών στοιχείων είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο που δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί επαρκώς συγκριτικά με άλλες πτυχές της ανόργανης διατροφής. Το γεγονός αυτό σχετίζεται κυρίως με το πλήθος των παραγόντων που επιδρούν, όπως το είδος και η θρεπτική κατάσταση του φυτού, το είδος του στοιχείου, οι εδαφοκλιματικές συνθήκες και το στάδιο ανάπτυξης. Η διακίνηση των θρεπτικών στοιχείων μέσω των αγγείων του ηθμού, προσφέρει τη δυνατότητα οριζόντιας μεταφοράς από τα αγγεία του ξύλου, αλλά και τη δυνατότητα ανακύκλωσης ή επανακινητοποίησης των θρεπτικών στοιχείων.

Η δυνατότητα μεταφοράς των θρεπτικών στοιχείων μέσω του ηθμού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διαφορά κινητικότητας που παρουσιάζουν τα στοιχεία. Η τελευταία σχετίζεται και με το πρότυπο κατανομής των αποθεμάτων των θρεπτικών στοιχείων στο έλασμα των φύλλων. Ορισμένα ιόντα, των οποίων η κινητικότητα στον ηθμό είναι περιορισμένη, όπως το βόριο (ενότητα II.5) και το ασβέστιο, συσσωρεύονται σε περιφερειακούς ιστούς των φύλλων²¹¹. Στον Πίνακα I.3 παρουσιάζεται μια γενικευμένη ταξινόμηση των θρεπτικών στοιχείων όσον αφορά στην κινητικότητά τους στον ηθμό. Η ταχύτητα της διακίνησης εξαρτάται από την φωτοσυνθετική δραστηριότητα η οποία εν πολλοίς καθορίζει και την ταχύτητα του ρεύματος του ηθμού. Επίσης εξαρτάται από την ένταση της διαπνοής και την υδατική κατάσταση του φυτού. Για τους παραπάνω λόγους το φαινόμενο είναι δυνατόν να παρουσιάσει ημερήσιο ρυθμό³⁷⁶.

Πίνακας I.3. Η διάκριση των θρεπτικών στοιχείων ως προς την κινητικότητά τους στα αγγεία του ηθμού²¹¹.

υψηλή κινητικότητα	μέτρια κινητικότητα	χαμηλή κινητικότητα
K	Fe	Ca
Mg	Zn	Mn
P	Cu	
S	B	
N	Mo	
Cl		

Τα κύρια σημεία φόρτωσης του ηθμού με θρεπτικά στοιχεία αποτελούν ο βλαστός και τα φύλλα ενώ η διακίνηση των ανόργανων θρεπτικών στοιχείων συντονίζεται με την διαθεσιμότητα φωτοσυνθετικών προϊόντων και μεταβολικής ενέργειας. Η μεταφορά των ιόντων από τον ανιόντα χυμό προς τον χυμό του ηθμού γίνεται αντίθετα με την κλιμάκωση των συγκεντρώσεών τους στους δύο αυτούς ιστούς μεταφοράς, γεγονός που υποδηλώνει ενεργό μεταφορά με την μεσολάβηση κυττάρων μεταφοράς.

1.6. Φυσιολογική Σημασία των

Θρεπτικών Στοιχείων

Στον Πίνακα 1.4 παρουσιάζεται η ομαδοποίηση των θρεπτικών στοιχείων με βάση τους φυσιολογικούς ρόλους τους οποίους επιτελούν.

1.7. Η Έλλειψη Θρεπτικών Στοιχείων στα

Ανώτερα Φυτά Επιφέρει Συνολική

Μεταβολική Δυσλειτουργία

Η επαρκής τροφοδοσία των φυτών με θρεπτικά στοιχεία αποτελεί τον καθοριστικό παράγοντα για την ομαλή αύξηση και ανάπτυξη των κυττάρων ενός φυτικού οργανισμού. Ωστόσο, οι περιπτώσεις στις οποίες τα φυτά, τόσο σε συνθήκες καλλιέργειας όσο και σε συνθήκες φυσικού περιβάλλοντος, δεν αντιμετωπίζουν έστω ένα περιστατικό έλλειψης θρεπτικών στοιχείων κατά τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου είναι ελάχιστες.

Η ελλιπής τροφοδοσία ενός ή περισσότερων θρεπτικών στοιχείων προκαλεί διαταραχή σε μια ή περισσότερες λειτουργίες των ανωτέρων φυτών και επομένως αντιμετωπίζεται ως παράγοντας καταπόνησης. Η ανεπάρκεια ενός θρεπτικού στοιχείου μπορεί να σχετίζεται με μειωμένη περιεκτικότητα του στοιχείου στο έδαφος αλλά μπορεί να προκαλείται ή να ενισχύεται και από άλλους παράγοντες όπως μη αφομοιώσιμη μορφή του

στοιχείου, ακραίες εδαφοκλιματικές συνθήκες όπως υπερβολική ή ελλιπή υγρασία, ανεπαρκής αερισμός και ακραίες τιμές του εδαφικού pH^{319,249,211} (ενότητα 1.3). Από την άλλη πλευρά, οι επιπτώσεις της έλλειψης ενός στοιχείου μπορεί να σχετίζονται με τον γονότυπο και το στάδιο ανάπτυξης του συγκεκριμένου φυτικού οργανισμού. Ένας έμμεσος παράγοντας που καθορίζει σε ορισμένες περιπτώσεις τη διαθεσιμότητα ενός στοιχείου είναι οι συνεργιστικές ή ανταγωνιστικές σχέσεις που αναπτύσσονται μεταξύ των στοιχείων, αφού η σχετική διαθεσιμότητα ενός στοιχείου μπορεί να επηρεάσει την διαθεσιμότητα ενός άλλου^{319,376}. Ο όρος τροφопενία χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις επιπτώσεις της έλλειψης των θρεπτικών στοιχείων στα φυτά. Η έλλειψη ενός θρεπτικού στοιχείου έχει άμεσο αντίκτυπο σε μια ή περισσότερες ζωτικές λειτουργίες των φυτών. Στις περισσότερες περιπτώσεις το πρώτο σύμπτωμα της έλλειψης ενός θρεπτικού στοιχείου είναι ο μειωμένος ρυθμός ανάπτυξης των φυτών. Οι δυσλειτουργίες σε μεταβολικό επίπεδο έχουν ως αποτέλεσμα στην ανάπτυξη συμπτωμάτων νοσηρής κατάστασης τα οποία στις περισσότερες περιπτώσεις χαρακτηρίζουν το συγκεκριμένο στοιχείο που βρίσκεται σε ανεπάρκεια. Τα παραπάνω συμπτώματα εντείνονται σε συνθήκες έντονης και παρατεταμένης έλλειψης.

Οι διαταραχές μπορεί να έχουν ως αφετηρία την αδυναμία σύνθεσης των συστατικών εκείνων στα οποία συμμετέχει το στοιχείο που βρίσκεται σε έλλειψη, τη δυσλειτουργία ενζυμικών συστημάτων ή την απώλεια της λειτουργικότητας των μεμβρανών και συνεπώς τη διαταραχή της διαμερισματοποίησης του κυττάρου και την απώλεια της ομοιόστασης³³¹.

Η νοσηρή κατάσταση που περιγράφεται με τον όρο τροφопενία αντιπροσωπεύει συνήθως προχωρημένα στάδια της έλλειψης ενός ή περισσότερων θρεπτικών στοιχείων. Συνήθως τα φυτά αντιδρούν άμεσα όταν η τροφοδοσία ενός θρεπτικού στοιχείου μειωθεί αισθητά και προσαρμόζουν

Πίνακας 1.4. Οι κυριότεροι φυσιολογικοί ρόλοι των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων^{211,376,331}. Τα στοιχεία που βρίσκονται σε γκριζό πλαίσιο είναι απαραίτητα σε ορισμένα μόνο φυτικά είδη.

θρεπτικό στοιχείο	φυσιολογική λειτουργία
ομάδα I	
N	Ως συστατικό των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων, το άζωτο παίζει βασικό ρόλο στην ανάπτυξη και αναπαραγωγή των φυτών. Το άζωτο συμμετέχει επίσης στην δομή των αμιδίων, αρκετών συνενζύμων, πολυαμινών, μεμβρανικών συστατικών και μορίων με αμυντικό ρόλο, όπως τα αλκαλοειδή και τα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα.
S	Συστατικό των αμινοξέων κυστεΐνης και μεθειονίνης. Συστατικό του λιποϊκού οξέος, του συνενζύμου A, της γλουταθειόνης (βασικό συστατικό της αντιοξειδωτικής θωράκισης των κυττάρων), της πυροφωσφορικής θειαμίνης (βιταμίνη B ₁) και της βιοτίνης (βιταμίνη H). Οι φυτοχελατίνες, τα θειολιπίδια των μεμβρανών αλλά και ορισμένα αμυντικά μόρια όπως τα γλυκοσινολίδια περιέχουν θείο.
ομάδα II	
P	Με την δημιουργία φωσφορικών δεσμών ενεργοποιούνται τα περισσότερα μόρια που συμμετέχουν στον μεταβολισμό καθώς και αρκετά ένζυμα. Στο ATP η ενέργεια δεσμεύεται υπό μορφή πυροφωσφορικών δεσμών. Ο φώσφορος συμμετέχει επίσης στη δομή των νουκλεϊκών οξέων, πολλών συνενζύμων, φωσφολιπιδίων και του φυτικού οξέος. Τα ιόντων φωσφόρου σε ορισμένα διαμερίσματα του κυττάρου ρυθμίζουν βασικά κομβικά σημεία του μεταβολισμού.
B	Σχετίζεται με την δομή και την λειτουργική ακεραιότητα των κυτταρικών τοιχωμάτων και των μεμβρανών. Παίζει βασικό ρόλο στην επιμήκυνση των κυττάρων, στον μεταβολισμό και την διακίνηση σακχάρων, στον μεταβολισμό του νδολυλοξικού οξέος και των νουκλεϊκών οξέων.
Si	Εναποτίθεται ως άμορφο οξείδιο του πυριτίου σε επιδερμικά κύτταρα κυρίως των αγρωστωδών φυτών. Συμβάλει στην μηχανική σταθερότητα και ελαστικότητα των κυτταρικών τοιχωμάτων.
ομάδα III	
K	Βασικός συνενζυμικός παράγοντας και το αφθονότερο ιόν στα φυτά. Είναι εξαιρετικά ευκίνητο μέσα στο φυτό και αποτελεί τον βασικότερο παράγοντα ρύθμισης του ηλεκτροχημικού δυναμικού και της οσμωτικής ισορροπίας των κυττάρων. Αποτελεί βασικό παράγοντα για την διαμόρφωση σπαργής η οποία με τη σειρά της παίζει ρόλο στην μηχανική σταθερότητα του φυτικού σώματος καθώς και στην επιμήκυνση των αναπτυσσομένων κυττάρων. Οι κινήσεις σπαργής ορισμένων οργάνων και οι κινήσεις των καταφρακτικών κυττάρων οφείλονται στην μετακίνηση ιόντων καλίου. Το κάλιο παίζει ρόλο στην φόρτωση των αγγείων του ηθμού με φωτοσυνθετικά προϊόντα.
Na	Εμπλέκεται στην αναγέννηση του PEP σε ορισμένα φυτικά είδη με μεταβολισμό C ₄ και CAM.
Mg	Υποκαθιστά το κάλιο σε ορισμένες λειτουργίες. Ασκει ευνοϊκή επίδραση σε ορισμένα φυτικά είδη. Απαιτείται από ορισμένα ένζυμα μεταφοράς φωσφορικών και καρβοξυ – ομάδων όπως μεμβρανικών ATPαίων, της RuBisCo και της PEP – καρβοξυλάσης. Αποτελεί συστατικό του πορφυρινικού δακτυλίου της χλωροφύλλης. Παίρνει μέρος στην ομοίωση του pH και την κυτταρική ισορροπία ανιόντων – κατιόντων. Αποτελεί παράγοντα συνένωσης των ριβοσωμικών υπομονάδων. Συμμετέχει στην φόρτωση των αγγείων του ηθμού με σάκχαρα.
Ca	Δομικό συστατικό της μέσης πλάκας των κυτταρικών τοιχωμάτων και της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Συμμετέχει στην δημιουργία της πυρηνικής ατράκτου. Απαιτείται ως συνενζυμικός παράγοντας σε αντιδράσεις υδρόλυσης φωσφολιπιδίων και του ATP. Αποτελεί ενδογενές χημικό σήμα στη ρύθμιση μεταβολικών διεργασιών.
Mn	Δραστηριοποίηση βασικών ενζύμων όπως αφυδρογονάσες, αποκαρβοξυλάσες, κινάσες, οξειδάσες και η υπεροξειδική δισμουτάση (MnSOD). Εμπλέκεται στην φωτόλυση του νερού.
Cl	Απαιτείται για την λειτουργία του συστήματος φωτόλυσης του νερού. Ενεργοποιεί την αντλία πρωτονίων του τονοπλάστη. Εμπλέκεται στην συμμεταφορά ιόντων καλίου κατά τις κινήσεις σπαργής των καταφρακτικών κυττάρων αλλά και σε άλλες περιπτώσεις οσμωρύθμισης.
Co	Το κοβάλτιο συμμετέχει στον συνενζυμικό παράγοντα κοβαλαμίνη (βιταμίνη B ₁₂) ο οποίος απαντάται στα ένζυμα συνθέτωση της μεθειονίνης, ριβονουκλεοτιδική ρεδουκτάση και μουτάση του μεθυλομαλονυλ-CoA των βακτηρίων του γένους Rhizobium. Συνεπώς το κοβάλτιο θεωρείται απαραίτητο για την συμβιωτική αφομοίωση αζώτου.
ομάδα IV	
Fe	Θεμελιώδες συστατικό της προσθετικής ομάδας των κυτοχρωμάτων αλλά και μη αιμικών πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην φωτοσύνθεση, τη συμβιωτική αφομοίωση αζώτου και την αναπνοή, όπως η φερροδοξίνη και η δισμουτάση του H ₂ O ₂ (FeSOD).
Cu	Συστατικό της οξειδάσης του ασκορβικού οξέος, της τυροσινάσης, της οξειδάσης της διαμίνης, της κυτοχρωμικής οξειδάσης, υπεροξειδασών, φαινολοξειδασών, της δισμουτάσης του H ₂ O ₂ (CuZnSOD) και της πλαστοκυανίνης. Εμπλέκεται στην λιγνινοποίηση των κυτταρικών τοιχωμάτων.
Zn	Συστατικό της αλκοολικής αφυδρογονάσης, της αφυδρογονάσης του γλουταμινικού, της καρβοξυπεπτιδάσης, της δισμουτάσης του H ₂ O ₂ (CuZnSOD) και της καρβονικής ανυδράσης.
Mo	Συστατικό της νιτρογενάσης, της ρεδουκτάσης των νιτρικών και της ρεδουκτάσης της ζιανθίνης.
Ni	Συστατικό της ουρεάσης. Συστατικό των αφυδρογονασών στα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια.

ανάλογα τις μεταβολικές λειτουργίες τους έτσι ώστε να αντιμετωπίσουν ή να αντισταθμίσουν την έλλειψη (Εικόνα I.2).

1.7.1. Τα Φυτά Αντιλαμβάνονται το Εκάστοτε Καθεστώς Θρέψης και Αντιδρούν Προς την Κατεύθυνση της Διατήρησης της Ομοιόστασης και της Βέλτιστης Απόδοσης

Η ανάπτυξη των φυτών διαμορφώνεται με βάση το γενετικό τους υπόβαθρο σε συνδυασμό με το πλέγμα των βιοτικών και αβιοτικών παραμέτρων που επικρατούν στο περιβάλλον. Ο περιορισμός στη διαθεσιμότητα ενός φυσικού πόρου συντελεί στην εμφάνιση καταπόνησης η οποία οδηγεί σε πτώση της παραγωγικότητας ή σε ακραίες περιπτώσεις στο θάνατο ενός φυτού³⁷⁹.

Τα φυτά αντιδρούν σε κάθε παράμετρο του περιβάλλοντος και ειδικότερα σε κάθε αλλαγή που καθιστά αυτές τις παραμέτρους δυσμενείς για την επιβίωση και ανάπτυξη τους¹⁵⁶. Η αντίδραση περιλαμβάνει δύο κύρια στάδια έως την εμφάνιση της απάντησης³⁷⁹ και υλοποιείται μέσω μιας σειράς μηχανισμών που περιλαμβάνουν δέκτες αντίληψης και παράγοντες μεταγωγής σήματος, ρυθμιστές μεταγραφής, γονίδια – στόχους με τελικό αποτέλεσμα τη σύνθεση πρωτεϊνών οι οποίες υλοποιούν την αντίδραση σε μεταβολικό – φυσιολογικό επίπεδο²⁴⁶.

Τους πληρέστερα χαρακτηρισμένους δέκτες ερεθισμάτων αποτελούν πρωτεΐνες που εδράζουν είτε στην κυτταροπλασματική μεμβράνη είτε σε μεμβράνες κυτταρικών οργανιδίων είτε στο κυτταρόπλασμα. Διαμεμβρανικές πρωτεΐνες – δέκτες, όπως οι RLKs (Receptor Like protein Kinases) απαρτίζονται συνήθως από μια εξωκυτταρική περιοχή που αναγνωρίζει το ερέθισμα (συνήθως ένα συγκεκριμένο μόριο – στόχο), ένα διαμεμβρανικό τμήμα και μια κυτταροπλασματική περιοχή που φέρει ένα ενεργό κέντρο κινάσης πρωτεϊνών. Όταν η RLK δεσμεύσει το μόριο στόχο, μπορεί να εμφανίσει δράση κινάσης, μέσω της οποίας ενεργοποιούνται ένζυμα – κλειδιά και στη συνέχεια πυροδοτούνται οι

μηχανισμοί μεταγωγής σήματος^{36,368}.

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

Τα φυτά αντιδρούν υπό συνθήκες έλλειψης ενός στοιχείου με την ενεργοποίηση μηχανισμών, ώστε να αντλούν επαρκείς ποσότητες του στοιχείου, παρά την περιορισμένη διαθεσιμότητα του στοιχείου στο εδαφικό διάλυμα. Εάν η ρύθμιση αυτή δεν έχει τα επιθυμητά αποτελέσματα, τα φυτά τροποποιούν τις φυσιολογικές τους λειτουργίες ώστε να ρυθμίσουν την ομοιόστασή τους και να συνεχίσουν να λειτουργούν αποδοτικά κάτω από το νέο θρεπτικό καθεστώς. Οι ρυθμίσεις αυτές μπορεί να αποτελούν τα προϊόντα είτε γενετικής προσαρμογής, είτε φαινοτυπικού επίκτητου εγκλιματισμού (Εικόνα I.2). Οι αντιδράσεις αυτές περιλαμβάνουν:

α. ενίσχυση της λειτουργίας των μηχανισμών πρόσληψης καθώς και τροποποίηση του περιβάλλοντος της ριζόσφαιρας

Σε συνθήκες έλλειψης ενός απαραίτητου θρεπτικού στοιχείου τα φυτά αυξάνουν τους ρυθμούς άντλησης του στοιχείου μέσω του ριζικού συστήματος, ωστόσο η ρύθμιση αυτή σε πολλές περιπτώσεις οδηγεί σε πτώση του ρυθμού απορρόφησης άλλων θρεπτικών στοιχείων². Η ικανότητα απορρόφησης μπορεί να βελτιωθεί σε κυτταρικό επίπεδο με αύξηση των θέσεων δέσμευσης (μέσω *de novo* σύνθεσης μεταφορέων) ή / και της δραστηριότητας των υπαρχόντων θέσεων δέσμευσης (μέσω αλλοστερικών τροποποιήσεων των πρωτεϊνικών μεταφορέων)^{31,182}. Σε επίπεδο οργάνου, επάγεται η ανάπτυξη πλάγιων ριζών καθώς και πολυάριθμων ριζικών τριχιδίων^{319,249}.

Η ανάπτυξη επίσης μυκορριζικών σχέσεων βελτιώνει σημαντικά την ικανότητα άντλησης ορισμένων τουλάχιστον στοιχείων^{185,2}. Η απέκκριση όξινων ανθρακικών ιόντων, ιόντων υδρογόνου (ιόντα αντιστάθμισης των αντλιών αντιμεταφοράς κατιόντων / πρωτονίων, βλ. **ενότητα I.4.1.2**) ή οργανικών οξέων³¹⁹, με σκοπό τη βελτίωση της

ιονανταλλακτικής ικανότητας της ρίζας απαιτεί πρόσθετη δαπάνη ενέργειας και επομένως επαρκή αερισμό του εδάφους και τροφοδοσία με σάκχαρα^{183,249}. Τα οργανικά οξέα, ορισμένα φαινολικά συστατικά αλλά και τα φυτομεταλλοφόρα (παράγοντες συμπλοκοποίησης μετάλλων), δρουν επίσης ως παράγοντες χηλιοποίησης, τροποποιούν το οξειδωτικό περιβάλλον της ριζόσφαιρας ή σε ορισμένες περιπτώσεις διαμορφώνουν πρόσφορες συνθήκες για την ανάπτυξη της κατάλληλης εδαφικής μικροχλωρίδας^{183,185,211,249}.

β. αλλαγή στο πρότυπο χρησιμοποίησης των διαθέσιμων ποσοτήτων θρεπτικών στοιχείων

Σε πολλές περιπτώσεις ανεπάρκειας θρεπτικών στοιχείων παρατηρείται αλλαγή του προτύπου κατανομής των απορροφούμενων θρεπτικών στοιχείων. Οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν αποδέσμευση από ή / και μειωμένη εναπόθεση στο χυμοτόπιο, του στοιχείου που βρίσκεται σε έλλειψη. Τέτοιου είδους μηχανισμοί εγκλιματισμού σε συνθήκες έλλειψης παρατηρούνται στην περίπτωση του φωσφόρου του οποίου η συγκέντρωση στο κυτταρόπλασμα ρυθμίζεται μέσω των χυμοτοπικών αποθεμάτων³⁴². Ωστόσο, η δυνατότητα ρύθμισης περιορίζεται σε ορισμένα μόνο θρεπτικά στοιχεία που αποθηκεύονται στο κυτταρόπλασμα ή το χυμοτόπιο και σε θρεπτικά στοιχεία τα οποία συμμετέχουν σε μόρια που ρυθμίζουν την οσμωτική ισορροπία των κυττάρων ή σε προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού με αμυντικό κυρίως προσανατολισμό¹⁸² (ενότητα I.7.4.2).

Σε επίπεδο πρωτογενούς μεταβολισμού τα περιθώρια τροποποίησης του προτύπου χρήσης των διαφόρων θρεπτικών στοιχείων είναι εξαιρετικά περιορισμένα, αφού δεν υπάρχει δυνατότητα για εναλλακτικές οδούς χρήσης των μακροστοιχείων. Για παράδειγμα, η σχέση αζώτου προς φώσφορο παρουσιάζει εντυπωσιακή σταθερότητα σε όλα τα φυτά της χέρσου και κυμαίνεται μεταξύ 8 και 10:1 (N:P). Όσον αφορά στα ιχνοστοιχεία, οι εξειδικευμένοι ρόλοι τους οποίους επιτελούν (για παράδειγμα ως συνενζυμικοί παράγοντες), δεν αφήνουν πολλά περιθώρια μεταβολικών ελιγμών.

γ. κινητοποίηση αποθεμάτων από ώριμα όργανα

Σε συνθήκες ανεπάρκειας θρεπτικών στοιχείων τα φυτά αντιδρούν με ορμονικά ελεγχόμενη επανακινητοποίηση των στοιχείων αυτών από τα ώριμα όργανα προς τα αναπτυσσόμενα. Για το λόγο αυτό, το πρότυπο της εμφάνισης των συμπτωμάτων σχετίζεται με την κινητικότητα του ελλείποντος στοιχείου. Για τα υψηλής κινητικότητας στοιχεία τα συμπτώματα εμφανίζονται αρχικά στα ώριμα όργανα ενώ το αντίθετο συμβαίνει για τα χαμηλής κινητικότητας στοιχεία³³¹ (ενότητα I.5.2). Είναι ευνόητο ότι το φαινόμενο σχετίζεται με την προτεραιότητα που δίνεται στα νεαρά όργανα, ιδιαίτερα τα αναπαραγωγικά, όσον αφορά στην εξοικονόμηση πόρων με σκοπό αυτά να φέρουν σε πέρας το ρόλο τους. Αντίθετα, σε πολλές περιπτώσεις παρατηρείται πρόωρη αποκοπή ώριμων οργάνων ώστε να περιοριστούν οι περαιτέρω απώλειες θρεπτικών στοιχείων.

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

Υπό συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων, παρατηρείται ανάσχεση της ανάπτυξης η οποία οφείλεται σε παρεμπόδιση των διαιρέσεων και της επιμήκυνσης των κυττάρων¹¹⁷. Το σύμπτωμα αυτό αποτελεί ταυτόχρονα και την άμεση στρατηγική αντιμετώπισης της έλλειψης, αφού περιορίζονται και οι απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία¹⁸³. Η ελλιπής τροφοδοσία με ορισμένα θρεπτικά στοιχεία τροποποιεί το λόγο υπέργειου προς υπόγειο μέρος προς την κατεύθυνση του δεύτερου. Με τον τρόπο αυτό δίδεται προτεραιότητα στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος με στόχο την εκμετάλλευση νέων εδαφικών όγκων^{185,321}. Υπάρχουν ωστόσο και περιπτώσεις στις οποίες η ενίσχυση της απορρόφησης των θρεπτικών στοιχείων πραγματοποιείται με κατάλληλες τροποποιήσεις της αρχιτεκτονικής του ριζικού συστήματος και κρίσιμων παραμέτρων όπως του ειδικού μήκους ρίζας².

ε. εκτροπή του πρωτογενούς μεταβολισμού

προς άλλες μεταβολικές οδούς και τον δευτερογενή μεταβολισμό

Σε πολλές περιπτώσεις, η έλλειψη ενός θρεπτικού στοιχείου όπως για παράδειγμα του αζώτου, προκαλεί αποσυντονισμό των επιμέρους λειτουργιών των φυτικών κυττάρων. Ο συντονισμός των λειτουργιών επέρχεται σε πολλές περιπτώσεις με την εκτροπή βιοσυνθετικών οδών προς εναλλακτικές κατευθύνσεις, ώστε αφενός μεν να καταναλωθεί η παραγόμενη ενέργεια, αφετέρου δε να περιοριστούν οι ανάγκες ως προς το ελλείπον στοιχείο^{47,125}.

Για παράδειγμα, η περιορισμένη τροφοδοσία των φυτών με άζωτο επιφέρει παρεμπόδιση μιας σειράς βασικών βιοσυνθετικών οδών στις οποίες εμπλέκεται το στοιχείο αυτό, με ενδεχόμενη παράλληλη επαγωγή της σύνθεσης δευτερογενών μεταβολιτών ο σκελετός των οποίων έχει ως βάση τον άνθρακα^{106,47,33} (βλ. επίσης ενότητες I.7.2 και I.7.4.4).

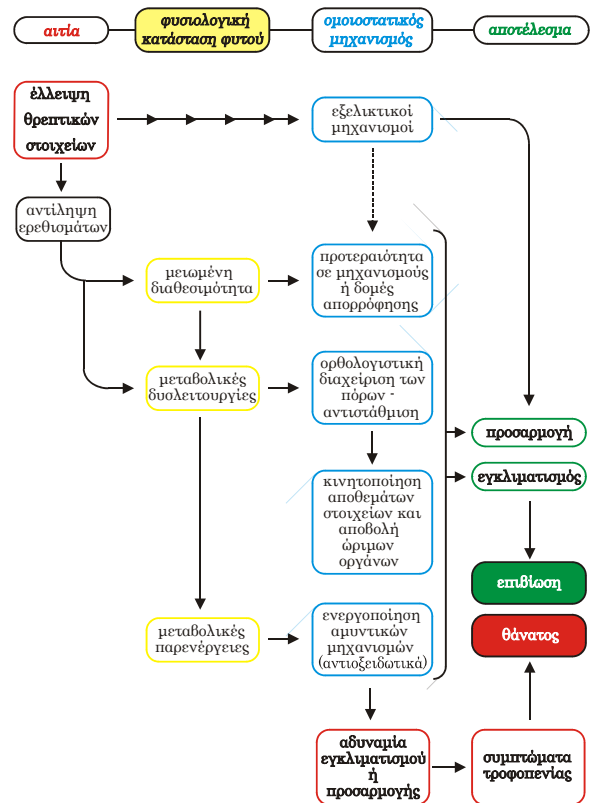
1.7.3. Επιπτώσεις της Έλλειψης

Θρεπτικών Στοιχείων στην Ανάπτυξη και τον Πρωτογενή Μεταβολισμό των Ανωτέρων Φυτών

Η έλλειψη ενός ή περισσότερων θρεπτικών στοιχείων έχει ως αποτέλεσμα να παρατηρούνται άμεσες δυσμενείς επιδράσεις σε κομβικά μεταβολικά σημεία, αλλά και έμμεσες μεταβολικές παρενέργειες. Οι άμεσες επιδράσεις εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τους φυσιολογικούς ρόλους τους οποίους επιτελεί το στοιχείο που βρίσκεται σε ανεπαρκή επίπεδα¹⁸².

Η έλλειψη θρεπτικών στοιχείων επηρεάζει ποικιλοτρόπως τη φωτοσυνθετική λειτουργία. Ορισμένα θρεπτικά στοιχεία εμπλέκονται άμεσα στη φωτοσυνθετική διαδικασία, όπως το άζωτο¹⁸², το μαγνήσιο και το μαγγάνιο²⁰⁰, ενώ άλλα επηρεάζουν τη φωτοσύνθεση έμμεσα μέσω της καταστολής της ανάπτυξης ή της διαταραχής στη διανομή των φωτοσυνθετικών προϊόντων^{199,288,38}, όπως το κάλιο²⁰⁰ και ο φώσφορος²⁶⁰.

Η αναγωγική δύναμη που προέρχεται από τη φωτοσύνθεση μπορεί να διοχετευτεί για την αναγωγή



Εικόνα 1.2. Το δίκτυο των αντιδράσεων των φυτών με σκοπό την αντιμετώπιση της έλλειψης των θρεπτικών στοιχείων προκαλεί αυξανόμενης βαρύτητας φυσιολογικές μεταβολές στα φυτά. Η ανάπτυξη των μεταβολών αυτών κινητοποιεί ομοιοστατικούς μηχανισμούς. Η επιτυχία των μηχανισμών αυτών εξαρτάται εκτός των άλλων και από τη διάρκεια και την ένταση της έλλειψης. Η τελική έκβαση μπορεί να είναι η προσαρμογή (φυτικά είδη με χαμηλούς ρυθμούς ανάπτυξης που διαβιούν σε ολιγοτροφικά περιβάλλοντα), ο εγκλιματισμός ή ο θάνατος ως συνέπεια της αδυναμίας ενός φυτού να προσαρμοστεί ή να εγκλιματιστεί.

τόσο του διοξειδίου του άνθρακα όσο και του ανόργανου αζώτου. Τόσο η βιοσύνθεση των υδατανθράκων όσο και των αμινοξέων επηρεάζεται από την διαθεσιμότητα του αζώτου, αλλά δεν είναι δύσκολο να προβλεφθεί ότι η τροφопενία αζώτου θα προκαλέσει συσσώρευση υδατανθράκων στα φυτικά κύτταρα.

Ενδιαφέρον στο σημείο αυτό παρουσιάζουν ορισμένες μεταβολικές παρενέργειες οι οποίες είτε οφείλονται σε συσσώρευση μεταβολιτών και ενέργειας που δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν περαιτέρω, είτε στη συσσώρευση ενεργών μορφών οξυγόνου οι οποίες επιφέρουν οξειδωτική καταπόνηση^{199,264,39}. Έτσι, η ανάσχεση της ανάπτυξης ιστών και οργάνων που αποτελούν εν δυνάμει σημεία κατανάλωσης των προϊόντων της μεταβολικής δραστηριότητας, επιφέρει δραματική ελάττωση της ζήτησης για φωτοσυνθετικά προϊόντα τα οποία συσσωρεύονται με τελικό αποτέλεσμα την καταστολή της φωτοσυνθετικής λειτουργίας λόγω οπισθόδρομης παρεμπόδισης^{199,288}.

1.7.4. Σχέση Μεταξύ Θρέψης και Δευτερογενούς Μεταβολισμού των Ανωτέρων Φυτών

1.7.4.1. Γενικά Χαρακτηριστικά του Δευτερογενούς Μεταβολισμού

Τα φυτά συνθέτουν μια πολυπληθή ομάδα ενώσεων με ετερόκλητη μοριακή δομή, τα προϊόντα του λεγόμενου δευτερογενούς μεταβολισμού, οι οποίες εμπλέκονται σε μια σειρά φυσιολογικών λειτουργιών. Η παραδοσιακή διάκριση του μεταβολισμού σε πρωτογενή και δευτερογενή οφείλεται στο γεγονός ότι οι δευτερογενείς μεταβολίτες δεν εμπλέκονται άμεσα σε ζωτικές διαδικασίες που σχετίζονται με την ανάπτυξη και τη διαχείριση ενέργειας των φυτικών κυττάρων. Εκτός αυτού, κατά το παρελθόν δεν είχαν διασαφηνιστεί οι ρόλοι τους οποίους επιτελούν και υπήρχε ως εκ τούτου η αντίληψη ότι οι ενώσεις αυτές αποτελούν περιττά υποπροϊόντα του πρωτογενούς μεταβολισμού³⁶. Ένα βασικό χαρακτηριστικό των δευτερογενών μεταβολιτών είναι το γεγονός ότι συμμετέχουν σε εξειδικευμένες λειτουργίες, συσσωρεύονται κατά περίπτωση σε κύτταρα και ιστούς, οι μοριακές δομές τους παραλλάσσουν ευρέως μεταξύ των φυτικών ειδών και η παρουσία τους συνήθως συνδέεται με τη μορφολογική και φυσιολογική εξειδίκευση των κυττάρων¹³³. Από την

άλλη πλευρά, ο πρωτογενής μεταβολισμός παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη ομοιογένεια, αφού οι ολιγάριθμοι πρωτογενείς μεταβολίτες δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ των κυττάρων ενός φυτού ή μεταξύ διαφορετικών φυτικών ειδών. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες προέρχονται από βιοσυνθετικές πορείες οι οποίες αποτελούν προέκταση του πρωτογενούς μεταβολισμού και εμπλέκονται σε μια σειρά από οικοφυσιολογικούς ρόλους που περιλαμβάνουν την άμυνα των φυτών έναντι παθογόνων και φυτοφάγων, την αντιμετώπιση αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης, την αναπαραγωγή μέσω προσέλκυσης επικονιαστών αλλά και τη διασπορά των σπερμάτων και την αλληλοπάθεια^{36,227}.

1.7.4.2. Κατηγορίες Δευτερογενών Μεταβολιτών

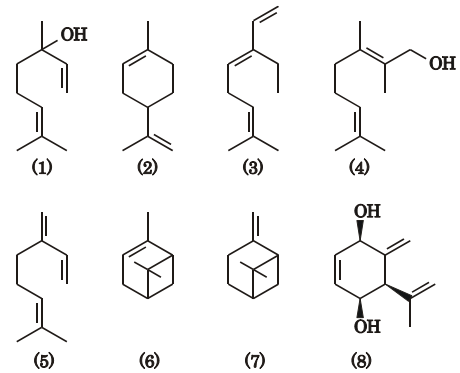
Οι δευτερογενείς μεταβολίτες κατατάσσονται σε τρεις μεγάλες ομάδες, τα τερπενοειδή, τις αζωτούχες ενώσεις, τα φαινολικά συστατικά και λοιπές κατηγορίες όπως λιπαρά οξέα και ακετυλενίδια. Η κατάταξη γίνεται με βάση τη βιοσυνθετική προέλευση του βασικού ανθρακικού σκελετού και την ιδιαίτερη δομή κάθε μορίου³⁶.

a. τερπένια

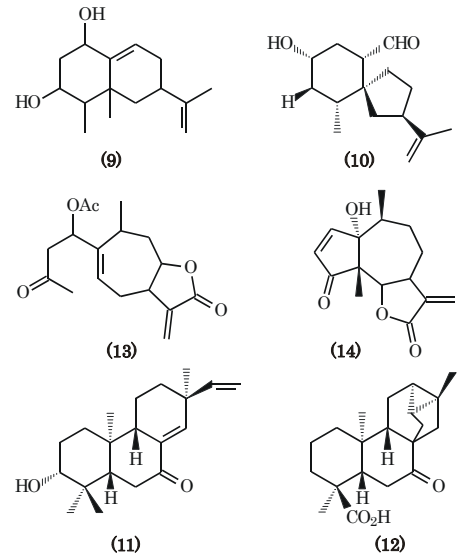
Τα τερπένια συνιστούν την πολυπληθέστερη κατηγορία δευτερογενών μεταβολιτών με περίπου 25000 μέλη. Ο βασικός ανθρακικός σκελετός όλων των τερπενοειδών προέρχεται από πολυμερισμό ενός βασικού μορίου πέντε ατόμων άνθρακα που ονομάζεται διφώσφορο-ισοπεντάνιο (IPP). Το IPP παράγεται μέσω της βιοσυνθετικής οδού του μεβαλονικού οξέος ενώ εναλλακτικά μπορεί να προέλθει από ενδιάμεσα προϊόντα της γλυκόλυσης ή από το 3-φωσφορογλυκερινικό οξύ μέσω μιας παράλληλης οδού του κύκλου Calvin¹⁹⁵. Από τον πολυμερισμό μονάδων IPP προκύπτουν σκελετοί τερπενοειδών με μέγεθος πολλαπλάσιο των πέντε ατόμων άνθρακα. Η δυνατότητα επίσης πολλών διαφορετικών συνδυασμών προσθήκης των βασικών μονομερών αλλά και η ενζυμική τροποποίηση του βασικού ανθρακικού σκελετού δίνει γένεση σε

πολυάριθμα τελικά προϊόντα³⁶.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ορισμένα τερπένια θεωρούνται, λόγω του ζωτικού ρόλου τον οποίο επιτελούν, ως πρωτογενείς μεταβολίτες, όπως ορισμένες φυτορμόνες (αμπισικό οξύ (C₁₅) και γιββερελλίνες(C₂₀))³³¹, συστατικά των μεμβρανών (στερόλες (C₃₀))³⁰² και φωτοσυνθετικές και φωτοπροστατευτικές χρωστικές (φυτόλη στο μόριο της χλωροφύλλης και καροτενοειδή (C₄₀))³³¹. Ωστόσο στην πλειονότητά τους τα τερπενοειδή αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες, η σύνθεση μάλιστα των οποίων συνδέεται στενά με τη διαφοροποίηση. Μίγματα τερπενοειδών (όπως η λιναλούλη (1) και το λιμονένιο(2)) ή άλλων ουσιών συσσωρεύονται συνήθως σε κύτταρα με υψηλή εξειδίκευση όπως αδενώδεις τρίχες ή αδένες, με τη μορφή αιθερίων ελαίων. Οι δομές αυτές, είτε επιτελούν καθαρά αμυντικούς ρόλους, αφού τα προϊόντα τους παρουσιάζουν τοξική ή απωθητική δράση έναντι παθογόνων και φυτοφάγων^{331,158}, είτε συμβάλλουν στην προσέλκυση των επικονιαστών ή των φυτοφάγων^{302,258}. Ορισμένα τερπένια όπως το (*E*)-β-οκιμένιο (3) παίζουν ρόλο στην επαγόμενη άμυνα των φυτικών ιστών έναντι εντόμων, αφού προσελκύουν αρπακτικά είδη και συνεπώς συμβάλλουν στην καταπολέμηση των φυτοφάγων⁷². Ορισμένα μονοτερπένια, συστατικά αιθερίων ελαίων δρουν ως φερομόνες εντόμων όπως η γερανιόλη (4), το μυρκένιο (5), το λιμονένιο (2) και το α- (6) και β-πινένιο (7)²⁵⁸. Υπάρχουν ενδείξεις ότι ορισμένα πτητικά συστατικά, μεταξύ αυτών και τερπένια, διαδραματίζουν ρόλο σημάτων συναγερμού, αφού ελευθερώνονται από τραυματισμένους φυτικούς ιστούς και επάγουν αμυντικούς μηχανισμούς σε γειτονικά, μη τραυματισμένα φυτά²⁵⁸. Επίσης, ορισμένα μονοτερπένια ασκούν αλληλοπαθητική δράση^{3,155} όπως η πικουερόλη Α (8) του φυτού *Piqueria trinervia* η οποία σε συγκεντρώσεις 50–200 ppm παρεμποδίζει την ανάπτυξη ανταγωνιστικών φυτών³⁰². Άλλα συμμετέχουν στην επαγόμενη άμυνα έναντι παθογόνων και δρουν ως φυτοαλεξίνες όπως τα σεσκιτερπένια καποιδιόλη (9)³⁴³ και λουβιμίνη (10) και διτερπένια όπως οι ορυζαλεξίνες Α (13) και C²⁴ και το τραχυλοβαν-19-οϊκό οξύ (14) του

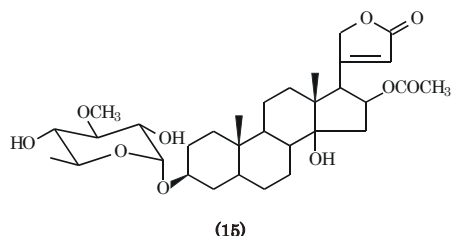


ηλιανθου³⁰². Οι σεσκιτερπενικές λακτόνες (C₁₅) περιλαμβάνουν μόρια όπως η ξανθινίνη (11) η οποία είναι ανταγωνιστής της αυξίνης και η παρνεθίνη (12) η οποία παρουσιάζει αλληλοπαθητική δράση. Άλλες σεσκιτερπενικές λακτόνες όπως η στριγκόλη και τα



ευδεσμανολίδια παρθενίνη και διϋδροπαρθενολίδιο προωθούν τη βλάστηση σπερμάτων παρασιτικών φυτών³⁰². Από τα τριτερπένια, ορισμένα στεροειδή παρουσιάζουν ανάλογη δράση με εκείνη των ορμονών έκδυσης των εντόμων, οι σαπωνίνες δρουν ως τασενεργοί παράγοντες προκαλώντας αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, ενώ τα καρδιολίδια (C₂₃) αποτελούν ισχυρά τοξικές ουσίες οι οποίες επηρεάζουν τη λειτουργία των αντλιών Na / K των καρδιακών μυών. Τα τελευταία συσσωρεύονται σε

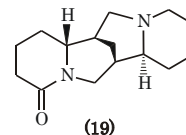
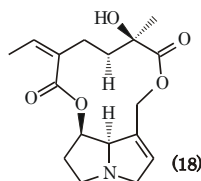
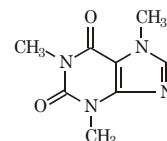
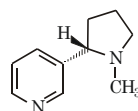
επιδερμικά κύτταρα, ηθμικά στοιχεία, χυμοτόπια ή καρπούς, όπως η ολεανδρίνη (15) της πικροδάφνης (*Nerium oleander*).



β. αζωτούχες ενώσεις

Η κατηγορία των αζωτούχων ουσιών περιλαμβάνει δευτερογενείς μεταβολίτες με μεγάλη ετερογένεια όσον αφορά στη βιοσυνθετική προέλευση, τη δομή και τη βιολογική δράση. Περιλαμβάνει μη πρωτεϊνικά αμινοξέα, κυανογόνα γλυκοσίδια, θειογλυκοζίτες, αμυντικές πρωτεΐνες, μπεταλαΐνες και αλκαλοειδή³⁷⁹. Σε συνθήκες απώλειας της διαμερισματοποίησης των κυττάρων, όπως στην περίπτωση των τραυματισμών, τα κυανογόνα γλυκοσίδια και οι θειογλυκοζίτες διασπώνται υπό την επίδραση υδρολυτικών ενζύμων και παράγουν εξαιρετικά τοξικά προϊόντα όπως το υδροκυάνιο. Τα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα δρουν αμυντικά έναντι φυτοφάγων καθώς διαταράσσουν τη βιοσύνθεση των πρωτεϊνικών αμινοξέων ή ενσωματώνονται αντί αυτών σε πρωτεΐνες. Ορισμένες αμυντικές πρωτεΐνες παρεμποδίζουν την πέψη της φυτικής τροφής δράντας ως παρεμποδιστές των πρωτεασών του εντέρου των φυτοφάγων³³¹. Η συστεμίνη (η μοναδική πρωτεϊνική φυτορμόνη που έχει παρατηρηθεί έως σήμερα) παράγεται σε τραυματισμένους ιστούς και μεταφέρεται διασυστηματικά επάγοντας τη βιοσύνθεση σημάτων συναγερμού, όπως του γιασμονικού οξέος²⁴⁸.

Η σημαντικότερη κλάση αζωτούχων δευτερογενών μεταβολιτών τόσο από πλευράς πλήθους δομών όσο και από πλευράς βιολογικής σημασίας είναι τα αλκαλοειδή. Πρόκειται για προϊόντα με βασικό χαρακτήρα λόγω της ύπαρξης ενός ή περισσότερων ατόμων αζώτου στον ετεροκυκλικό ανθρακικό δακτύλιο^{302,36}. Τα περισσότερα αλκαλοειδή προέρχονται από αμινοξέα



(συνήθως τρυπτοφάνη, τυροσίνη, φαινυλαανίνη, λυσίνη ή αργινίνη).

Τα αλκαλοειδή συμβάλλουν στη συγκρότηση της θεμελιώδους άμυνας πολλών φυτικών ειδών. Ορισμένα αλκαλοειδή είναι ιδιαίτερα τοξικά για τα φυτοφάγα. Η νικοτίνη (16) και η καφεΐνη (17) θεωρούνται ισχυρά εντομοκτόνα³⁶ ή ασκούν αλληλοπαθητική δράση^{3,155} ενώ ορισμένα αλκαλοειδή όπως η σενεσιονίνη (18) από το φυτό *Senesio jacobaea* και η λουπανίνη (19) από το φυτό *Lupinus polyphyllus* αποτελούν ιδιαίτερα τοξικά συστατικά για τα φυτοφάγα ζώα και τον άνθρωπο^{36,331}.

1.7.4.3. Ο Δευτερογενής Μεταβολισμός των Αρωματικών Ενώσεων

Οι περισσότερες αρωματικές ενώσεις των φυτών προέρχονται από τη βιοσυνθετική οδό του σικιμικού οξέος (C₆-C₁) η οποία ολοκληρώνεται σε τρία κύρια στάδια. Στο πρώτο πραγματοποιείται η συμπύκνωση της 4-φώσφοροερυθρόζης με το φωσφοροενολοπυροσταφυλικό οξύ, στο δεύτερο λαμβάνει χώρα η κυκλοποίηση του σκελετού προς εξαμελή δακτύλιο και στο τρίτο προκύπτει το τελικό προϊόν μετά από αφυδάτωση και αναγωγή^{139,360} (Εικόνα 1.3). Στη συνέχεια, η προσθήκη μιας πλάγιας αλυσίδας τριών ατόμων άνθρακα παράγει το χωριστικό οξύ (C₆-C₂-C₁) το οποίο αποτελεί το κομβικό σημείο έναρξης βιοσυνθετικών οδών παραγωγής ενός πλήθους δευτερογενών αρωματικών μεταβολιτών^{302,139}. Τα σημαντικότερα προϊόντα της βιοσυνθετικής οδού του σικιμικού οξέος αποτελούν τα αρωματικά αμινοξέα,

όπως η φαινυλαλανίνη και οι αρωματικοί δευτερογενείς μεταβολίτες (μόρια με ένα ή περισσότερους εξαμελείς αρωματικούς δακτυλίους οι οποίοι φέρουν ένα τουλάχιστον υδροξύλιο ως υποκαταστάτη ενωμένο σε άνθρακα του δακτυλίου). Η απαμίνωση της φαινυλαλανίνης σηματοδοτεί την είσοδο της μεταβολικής ακολουθίας στην οδό των φαινυλοπροπανοειδών (C_6-C_3) με την παραγωγή του σινναμικού οξέος (Εικόνα I.3). Η αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο αμμωνιο-λυάση της φαινυλαλανίνης (PAL)⁶⁴. Το σινναμικό οξύ αποτελεί πρόδρομο μόριο για σύνθεση φαινυλοπροπανοειδών με σπουδαιότερο το p-κουμαρικό οξύ, κουμαρινών, βενζοϊκών οξέων (C_6-C_1) και φαινολικών αλκοολών ($C_6-C_3-C_1$)^{75,78}. Τα φαινολικά οξέα συνήθως δεν συσσωρεύονται σε μεγάλες ποσότητες σε ελεύθερη μορφή αλλά ενώνονται με ελεύθερα ολιγομερή σάκχαρα, πολυμερή των κυτταρικών τοιχωμάτων ή οργανικά οξέα⁷⁵. Το γαλλικό οξύ αποτελεί δομικό μόριο των γαλλοτανινών ($Glu-[C_6-C_1]_n$), ενώ οι φαινολικές αλκοόλες ($C_6-C_3-C_1$), κυρίως η κομφερυλική αλκοόλη, αποτελούν τις δομικές μονάδες του πολυμερούς της λιγνίνης ($[C_6-C_1(-C_1)]_n$)³⁰² (Εικόνα I.3). Το p-κουμαρικό οξύ (εναλλακτικά το σινναμικό οξύ) μπορεί να συνδυαστεί με μονάδες μαλόνυλ-CoA, οι οποίες παράγονται μέσω της βιοσυνθετικής οδού του μαλονικού οξέος, με αποτέλεσμα τη σύνθεση μιας πλάγιας αλυσίδας πολυκετόνης η οποία υφίσταται κυκλοποίηση μέσω αλδολικής συμπύκνωσης ή συμπύκνωσης Claisen³⁰². Η πρώτη αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο συνθετάση του σιλβενίου με παραγωγή της ομώνυμης κατηγορίας μορίων ($C_6-C_3-C_6$). Η δεύτερη αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο συνθετάση της χαλκόνης (CHS) και προκύπτει η χαλκόνη που αντιπροσωπεύει το βασικό σκελετό των φλαβονοειδών ($C_6-C_3-C_6$). Από τη βασική αυτή δομή προκύπτουν ακολούθως όλες οι συναφείς ενώσεις συμπεριλαμβανομένων και των ανθοκυανιδινών¹⁴². Η χαλκόνη μπορεί να μετατραπεί σε ναριγγενίνη (φλαβανόνη) μέσω της

ισομεράσης της χαλκόνης ενώ σε ορισμένα φυτά παράγονται αουρόνες ($C_6-C_4-C_6$), ισοφλαβονοειδή ($C_6-C_3-C_6$) (κυρίως σε φυτά της οικογένειας FABACEAE) και ροτενοειδή ($C_6-C_4-C_6$), πετεροκαρπάνες ($C_6-C_3-C_6$), κουμεισάνες ($C_6-C_3-C_6$) και ισοφλαβάνες ($C_6-C_3-C_6$)⁷⁵. Οι φλαβανόνες ($C_6-C_3-C_6$) αποτελούν σημαντική τάξη φλαβονοειδών και πρόδρομα μόρια για τις υπόλοιπες τάξεις μορίων όπως φλαβόνες, οι φλαβονόλες και οι διϋδροφλαβονόλες (όλα $C_6-C_3-C_6$) ο πολυμερισμός των οποίων παράγει τις συμπυκνωμένες τανίνες ($[C_6-C_3-C_6]_n$)^{75,302} (Εικόνα I.3).

1.7.4.4. Η δυναμική του Μεταβολισμού των Αρωματικών Δευτερογενών Μεταβολιτών

Η ρύθμιση της δραστηριότητας των ενζύμων της οδού των φαινυλοπροπανοειδών αφενός σχετίζεται με ενδογενείς παράγοντες όπως το αναπτυξιακό στάδιο, το είδος του ιστού, τα επίπεδα ορμονών, κ.ά., και αφετέρου επηρεάζεται από ερεθίσματα του περιβάλλοντος τα οποία σχετίζονται με βιοτικούς ή αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης όπως η υπερϊώδης ακτινοβολία και οι προσβολές από παθογόνα⁷⁸.

Φαινολικά συστατικά εντοπίζονται πρακτικά σε όλους τους ιστούς αλλά η επιμέρους σύστασή τους καθώς και η δραστηριότητα των σχετικών ενζύμων παραλλάσσει. Έτσι τα φλαβονοειδή εντοπίζονται κυρίως σε επιφανειακούς ιστούς όπως οι επιδερμικοί και η παρουσία τους σχετίζεται με την προστασία από την υπερϊώδη ακτινοβολία^{146,163,289}. Σε υποκυτταρικό επίπεδο τα ένζυμα βιοσύνθεσης των φαινολικών συστατικών εντοπίζονται κυρίως στο κυτταρόπλασμα ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι δεν βρίσκονται διαλυτά στο κυτταροπλασματικό μέσο αλλά οργανωμένα στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Τα φαινολικά συστατικά συσσωρεύονται κυρίως στο χυμοτόπιο ως γλυκοζυλιωμένα παράγωγα ή στα

Εικόνα I.3. Σύνοψη των κυριότερων οδών βιοσύνθεσης των αρωματικών δευτερογενών μεταβολιτών στα ανώτερα φυτά (³⁰² με προσαρμογή).

κυτταρικά τοιχώματα ως συστατικά της λιγνίνης¹⁴⁶.

Επειδή η ομαλή πορεία της μεταβολικής οδού των φαινυλοπροπανοειδών εξαρτάται από την επαρκή τροφοδοσία με υποστρώματα μέσω της οδού του σικιμικού οξέος, η ρύθμιση της βιοσύνθεσης των αρωματικών δευτερογενών μεταβολιτών προϋποθέτει το συντονισμό των επιμέρους μεταβολικών ακολουθιών³⁶⁰. Πράγματι, η ρύθμιση της δραστηριότητας των ενζύμων της βιοσυνθετικής οδού του σικιμικού οξέος είναι συντονισμένη με αυτή της PAL. Η ρύθμιση της έκφρασης ενζύμων όπως της συνθετάσης του DAHP στηρίζεται στην ύπαρξη ισομορφών με διαφορετικό πρότυπο έκφρασης³⁶⁰.

Η έκφραση ορισμένων ισομορφών των ενζύμων της οδού του σικιμικού οξέος είναι ιδιαίτερα έντονη σε μη πράσινους ιστούς, ιδιαίτερα στα άνθη και τη ρίζα³⁶⁰. Οι υψηλές εντάσεις φωτεινής ακτινοβολίας, η παρουσία διεγερτών και οι τραυματισμοί επάγουν επίσης την δραστηριότητα σε μεταγραφικό επίπεδο των ενζύμων της οδού του σικιμικού οξέος^{360,139,137}.

Η PAL (EC 4.3.1.5) αποτελεί ένα από τα καθολικής διάδοσης ένζυμο – κλειδί του μεταβολισμού των δευτερογενών αρωματικών μεταβολιτών. Το ένζυμο εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα και πιθανόν και σε ορισμένα υποκυτταρικά οργανίδια^{296,146}. Πρόκειται για τετραμερές με μοριακό βάρος από 240 – 330 kD ανάλογα με την πηγή. Η δράση της χαρακτηρίζεται από υψηλή στερεοειδίκευση⁶⁴.

Ανάλογα με το φυτικό είδος έχει διαπιστωθεί η παρουσία ενός ή περισσότερων ισοενζύμων της PAL των οποίων η βιοσύνθεση ρυθμίζεται από αντίστοιχα γονίδια ως απόκριση σε ποικίλα περιβαλλοντικά ερεθίσματα^{64,74}. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η δραστηριότητα εξαρτάται επίσης από μετα-μεταγραφικούς μηχανισμούς¹⁶⁰ σε συνδυασμό με μηχανισμούς αποενεργοποίησης^{335,160} και αποδόμησης του ενζύμου¹⁶⁰. Η *de novo* σύνθεση της PAL (επίσης και των ενζύμων CHS και CHI) επάγεται από αυξημένα επίπεδα όζοντος^{244,9}, βαρέων μετάλλων²⁹⁶, τραυματισμούς¹⁶⁰ καθώς και από ποικίλους διεγέρτες οι οποίοι είτε παράγονται από παθογόνα είτε αποτελούν προϊόντα αποδόμησης του κυτταρικού τοιχώματος του ξενιστή^{78,160}.

Επίσης η PAL ανήκει στην κατηγορία των φωτοεπαγόμενων ενζύμων^{335,160,273}. Στην φωτοενεργοποίηση του ενζύμου εμπλέκονται ορισμένοι φωτοδέκτες όπως το φυτόχρωμα και οι φωτοδέκτες υπεριώδους ακτινοβολίας^{160,300,273,197,280,22}.

Η συνθετάση της χαλκόνης (CHS, EC 2.3.1.74) αποτελεί επίσης ένα κομβικό ένζυμο το οποίο εντοπίζεται κυρίως σε επιδερμικούς ιστούς, και παρουσιάζει υψηλή ομολογία με τη συνθετάση του στυλβενίου. Το μοριακό του βάρος είναι 42 kD και δεν απαιτεί συνενζυμικούς παράγοντες.

1.7.4.5. Ο Ρόλος των Αρωματικών

Δευτερογενών Μεταβολιτών στη

Φυσιολογία και Οικολογία των

Ανώτερων Φυτών

1.7.4.5.1. Τα Φαινολικά Συστατικά ως

Δομικοί και Λειτουργικοί Παράγοντες

στα Φυτά

Οι ρόλοι των φαινολικών συστατικών στο φυτό συνοψίζονται στα παρακάτω:

α. δομικός ρόλος

Η λιγνίνη, ένα μη απόλυτα καθορισμένης δομής άμορφο πολυμερές, αποτελεί το αφθονότερο φαινολικό συστατικό στα ανώτερα φυτά και δεύτερο σε διάδοση πολυμερές μόριο στη βιόσφαιρα, μετά την κυτταρίνη³⁶³. Η λιγνινοποίηση αποτελεί αναπτυξιακά ελεγχόμενη διαδικασία που συμβάλει στην ενίσχυση των κυτταρικών τοιχωμάτων των ξυλοποιημένων φυτικών ιστών όπως είναι το σκληρόνυχμα, οι τραχεΐδες και τα αγγεία του ξύλου όπου η περιεκτικότητά της μπορεί να φτάσει το 30–40%³⁵⁷. Τα μονομερή της λιγνίνης απαρτίζονται από φαινολικές αλκοόλες όπως η κονιφερυλαλκόλη, η σιναφυλαλκόλη και η p-κουμαροϋλαλκόλη (Εικόνα 1.3). Οι δομικές μονάδες ενσωματώνονται στην μήτρα του πολυμερούς με τη δράση

υπεροξειδασών οι οποίες εντοπίζονται στα κυτταρικά τοιχώματα^{302,363}.

Ορισμένα φαινολικά οξέα, κυρίως το p-κουμαρικό και φερουλικό οξύ, απαντούν ως συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων ενωμένα με αιθερικούς ή εστερικούς δεσμούς στις αλυσίδες των πολυσακχαριτών, και συγκεκριμένα με ημικυτταρινικά πολυμερή στα μέλη της οικογένειας Poaceae και με πηκτινικά συστατικά στα δικότυλα^{180,357}. Ο φυσιολογικός ρόλος της παρουσίας των φαινολικών οξέων στα κυτταρικά συστατικά φαίνεται πως περιλαμβάνει εκτός των άλλων την αποτροπή ενζυμικής υδρόλυσης των ημικυτταρινών και την μηχανική ενίσχυση των κυτταρικών τοιχωμάτων ενώ ενδέχεται να αποτελούν θέσεις έναρξης εναπόθεσης λιγνίνης ή δευτερογενούς πάχυνσης των κυτταρικών τοιχωμάτων³⁵⁷.

Μια άλλη κατηγορία υλικών στη δομή των οποίων συμμετέχουν φαινολικά συστατικά είναι η κουτίνη, η σουβερίνη^{176,357,75} και οι επεφυμενιδικοί κηροί^{177,166,191}. Η κουτίνη αποτελεί το κύριο δομικό συστατικό της εφυμενίδας η οποία καλύπτει τις εξωτερικές επιφάνειες όλων των εναέριων φυτικών οργάνων¹⁷⁶. Η σουβερίνη εναποτίθεται στα κυτταρικά τοιχώματα των αποφελωμένων ιστών μετά τη δευτερογενή πάχυνση των κυτταρικών τοιχωμάτων, όπως επίσης και στην εξωδερμίδα και την ενδοδερμίδα της ρίζας όπου συμβάλλει στην δημιουργία της Κασπαρικής λωρίδας³⁵⁷. Στη σύσταση των εφυμενιδικών κηρών συμμετέχουν εκτός των άλλων τερπένια, φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή, συνήθως ενωμένα ομοιοπολικά με άλλα εφυμενιδικά υλικά^{175,282,159,177}. Τα φαινολικά συστατικά της εφυμενίδας μπορούν να παραληφθούν με αλκαλική υδρόλυση^{191,282}. Μελέτες των φυλλικών επιφανειών με τη βοήθεια μικροσκοπίας φθορισμού¹⁶⁶ σε συνδυασμό με χημικές αναλύσεις¹⁹¹ έδειξαν ότι οι εφυμενιδικές εναποθέσεις μεταξύ επιδερμικών και καταφρακτικών κυτάρων διαφέρουν όσον αφορά στη σύσταση των φαινολικών συστατικών. Έχει αναφερθεί ότι ορισμένα συστατικά του στρώματος των εφυμενιδικών κηρών μπορεί να μεσολαβούν ως σήματα αναγνώρισης των φυτικών

επιφανειών από τα παθογόνα²²⁵.

β. Λειτουργικός ρόλος

Εκτός από τις γνωστές κατηγορίες ρυθμιστών αύξησης, ορισμένοι δευτερογενείς μεταβολίτες, μεταξύ αυτών και φαινολικές ενώσεις, επιδρούν άμεσα ή έμμεσα στην αύξηση ή τη διαφοροποίηση των φυτικών ιστών.

Έχει αναφερθεί ότι το σινναμικό και p-κουμαρικό οξύ μπορεί να δρουν ως ρυθμιστές αύξησης¹²⁸. Ορισμένα φλαβονοειδή με μονο- ή διϋδροξυλιωμένο B-δακτύλιο εμπλέκονται στο μεταβολισμό και την μεταφορά της αυξίνης. Οι Lynn et al.²⁰³ αναφέρουν ότι ένα επιμερές ζεύγος του β-D-γλυκοζιτη της δεϋδρο-δι-κονυφερύλ-αλκοόλης προωθεί την κυτταροδιαίρεση και δρα ως υποκατάστατο της κυτοκινίνης σε κύτταρα του φυτού *Nicotiana tabacum*²⁰³. Οι κουμαρίνες μπορούν να δράσουν ως ρυθμιστές της ανάπτυξης του γυρεοσωλήνα, των αντιδράσεων των στομάτων ή της αποκοπής των πετάλων των ανθέων. Ορισμένοι γλυκοζίτες του γαλλικού οξέος εμπλέκονται στη ρύθμιση κινήσεων σπαργής όπως στα φυλλίδια του είδους *Mimosa pudica*²⁹⁸.

Το σαλικυλικό οξύ (Εικόνα I.3) εμπλέκεται σε πλήθος φυσιολογικών λειτουργιών. Το μόριο αυτό επάγει την άνθηση σε έναν αριθμό φυτικών ειδών, αποτελεί το ενδογενές σήμα που προκαλεί την έναρξη του φαινομένου της θερμογένεσης στα ανθικά μέρη ειδών της οικογένειας Araceae²⁷¹, αλλά και διασυστηματικό σήμα συναγερμού σε περιπτώσεις προσβολών από παθογόνα^{271,241,18,301,75}.

Τέλος, μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στη φυσιολογία της αναπαραγωγής αποτελεί η διασαφήνιση του μηχανισμού προώθησης της βλάστησης των γυρεοκόκκων από ορισμένα εξειδικευμένα φλαβονοειδή. Έχει αναφερθεί^{356,231} ότι σε ορισμένα είδη η παρουσία φλαβονολών με μη υποκατεστημένα υδροξύλια στις θέσεις 3, 5 και 7, όπως η κεμπερόλη, αποτελεί την απαραίτητη προϋπόθεση για τη βλάστηση του γυρεόκοκκου και την επιμήκυνση του γυρεοσωλήνα.

1.7.4.5.2. Τα Φαινολικά Συστατικά ως

Χημικοί Παράγοντες στις

Αλληλεπιδράσεις των Φυτών με το

Αβιοτικό και Βιοτικό Περιβάλλον

Τα φαινολικά συστατικά επιτελούν ένα σύνολο από λειτουργίες οι οποίες βοηθούν τα φυτά να αποφύγουν ή να αντιμετωπίσουν τις δυσμενείς επιδράσεις διαφόρων περιβαλλοντικών παραγόντων^{315,324}.

α. προστασία από υπεριώδη και ορατή ακτινοβολία

Στο χυμοτόπιο²¹³, το κυτταρόπλασμα²⁰⁸ και τα κυτταρικά τοιχώματα^{210,162} των επιδερμικών κυττάρων, αλλά και στο στρώμα της εφυμενίδας^{191,130,367} καθώς και σε αυτό του τριχώματος^{45,130,366,162} περιέχονται φαινολικά συστατικά (κυρίως φλαβονοειδή) τα μόρια των οποίων απορροφούν στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος, αλλά όχι και στην ορατή.

Ως εκ τούτου, ο επιδερμικός ιστός συμπεριφέρεται ως ένα εξειδικευμένο οπτικό φίλτρο, περατό στην ορατή περιοχή, το οποίο όμως συγκρατεί επιλεκτικά την υπεριώδη ακτινοβολία^{190,164,163,320,194,130}. Ανάλογο προστατευτικό ρόλο (έναντι κυρίως υψηλών εντάσεων ορατής ακτινοβολίας) παίζουν οι ανθοκυανίνες οι οποίες συσσωρεύονται στα χυμοτόπια των επιδερμικών κυττάρων αναπτυσσόμενων οργάνων^{234,114,232,328,93,115}.

β. αναπαραγωγή

Η εμπλοκή των φλαβονοειδών στην αναπαραγωγική διαδικασία δεν αφορά μόνο στην γονιμότητα των γυρεοκόκκων^{356,231} αλλά και στην διασπορά των σπερμάτων καθώς και στην επικονίαση των εντομόφιλων ειδών. Ορισμένα φλαβονοειδή (κυρίως ανθοκυανίνες), τα οποία εντοπίζονται στο χυμοτόπιο σε διαλυτή μορφή¹³⁰ ή οργανωμένα σε χυμοτοπικά έγκλειστα, διαμορφώνουν τους χρωματισμούς πολλών φυτικών επιφανειών, κυρίως πετάλων²⁰⁹ ελκύνοντας έτσι τους φορείς γύρης και καρπών. Εκτός όμως από τις ανθοκυανίνες, οι οποίες είναι αντλήσιμες από

τον ανθρώπινο οφθαλμό, ορισμένα φλαβονοειδή (συνήθως άγλυκα ή γλυκοζυλιωμένα παράγωγα φλαβονών και φλαβονολών) δεν απορροφούν στην ορατή περιοχή αλλά σε μήκη κύματος της υπεριώδους ακτινοβολίας και συμμετέχουν σε διαμορφώσεις (οδηγοί νέκταρος) οι οποίες γίνονται αντληπτές από τα έντομα – επικονιαστές³⁰².

γ. προστασία από βιοτικούς εχθρούς

Τα φυτά προκειμένου να αντιμετωπίσουν το αντίξοο βιοτικό περιβάλλον με το οποίο έρχονται συνεχώς σε επαφή έχουν αναπτύξει μηχανισμούς άμυνας, στους οποίους τα φαινολικά διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο. Τα φαινολικά συστατικά, ως αμυντικοί μεταβολίτες, συμμετέχουν τόσο σε μηχανισμούς προϋπάρχουσας άμυνας (με τη μορφή ταννινών³⁰²), προανθοκυανιδινών¹³⁰, κουμαρινών, φλαβονοειδών^{130,73,116} κ.ά.), όσο και σε μηχανισμούς επαγομένης άμυνας (με τη μορφή κυρίως φυτοαλεξινών, όπως π.χ. φλαβονοειδών^{361,365,88} όπως η σακουρανετίνη (26)⁷³ και η γενιστίνη (27)¹³⁰, σιλβενίων, κουμαρινών^{130,73,116,75}, κ.ά.). Στους μηχανισμούς επαγομένης άμυνας περιλαμβάνεται και η εναπόθεση λιγνίνης ή / και σουβερίνης στην περιοχή του τραύματος ή της προσβολής^{363,75}.

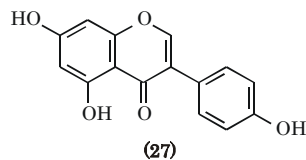
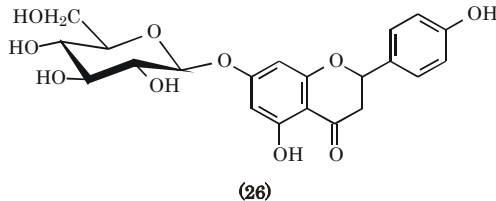
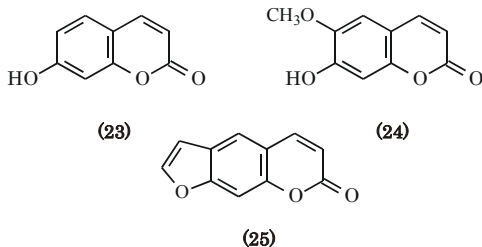
δ. αλληλοπάθεια

Ο όρος αλληλοπάθεια θα μπορούσε να οριστεί ως η επίδραση (θετική ή αρνητική) ενός φυτού σε κάποιο άλλο (συμπεριλαμβανομένων και των μικροοργανισμών), μέσω της απελευθέρωσης χημικών ενώσεων στο περιβάλλον²²⁷. Οι ενώσεις αυτές εκπνέονται από τις φυλλικές επιφάνειες με το νερό της βροχής, εκκρίνονται από τις ρίζες ή ελευθερώνονται από νεκρά φυτικά μέρη που αποσυντίθενται στο έδαφος¹⁵³.

Πλήθος αναφορών εμπλέκουν τις φαινολικές ενώσεις στο φαινόμενο της αλληλοπάθειας. Οι αναφορές περιλαμβάνουν απλές φαινόλες, φαινολικά οξέα όπως το σινναμικό, p-υδροξυβενζοϊκό, βανιλλικό, σαλικυλικό, φερουλικό και συριγγικό οξύ (Εικόνα I.3), φλαβονοειδή, φουρανοκουμαρίνες, όπως το ψωραλένιο (25), κινόνες όπως η γιουγκλόνη (22), η ουμπελλιφερόνη (23) και η σκοπολετίνη (24) και ταννίνες^{153,302}.

ε. συμβιωτικές σχέσεις

Ορισμένα φλαβονοειδή παίζουν το ρόλο των εξειδικευμένων σημάτων στην εγκαθίδρυση των συμβιωτικών σχέσεων⁹⁶. Οι ουσίες αυτές (π.χ. η χρυσοερίολη (20, σελ. 68) και η λουτεολίνη¹³² οι οποίες εντοπίζονται στην επιφάνεια των σπερμάτων του ψυχανθούς *Medicago sativa*) επάγουν τα γονίδια *nod* των αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων. Άλλες φαινολικές ενώσεις διαδραματίζουν ανάλογο ρόλο στη συμβιωτική σχέση των μυκορριζών.



1.7.4.6. Οι Επιπτώσεις της Έλλειψης των Θρεπτικών Στοιχείων στο Δευτερογενή Μεταβολισμό

Σε αντίθεση με τον πρωτογενή, ο δευτερογενής μεταβολισμός χαρακτηρίζεται από σημαντική παραλλακτικότητα μεταξύ των ειδών. Εκτός αυτού, παρουσιάζει σημαντική ικανότητα ευελιξίας και πλαστικότητας εντός του ίδιου φυτικού είδους

ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον^{321,284,107}. Παράγοντες του περιβάλλοντος όπως οι βιοτικές καταπονήσεις, η ακτινοβολία, η υγρασία και τα θρεπτικά στοιχεία του εδάφους επηρεάζουν το είδος και τη συγκέντρωση των δευτερογενών μεταβολιτών⁴⁸, πάντα εντός του πλαισίου που διαμορφώνει το είδος του ιστού, η εποχή και το αναπτυξιακό στάδιο¹⁰⁷.

Η ανόργανη διατροφή επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό το δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών. Ωστόσο οι σχετικές αναφορές στη βιβλιογραφία είναι περιορισμένες και αποσπασματικές και αφορούν κυρίως σε πειραματικούς χειρισμούς με μακροστοιχεία², με αποτέλεσμα να μην έχει διαμορφωθεί έως σήμερα μια ολοκληρωμένη εικόνα των μηχανισμών μέσω των οποίων η θρεπτική κατάσταση επηρεάζει τον δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών.

Τα θεωρητικά πρότυπα που έχουν αναπτυχθεί για την πρόβλεψη και την ερμηνεία των παραμέτρων που αφορούν στην παραγωγή των δευτερογενών μεταβολιτών ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των φυτών με το περιβάλλον τους συνομίζονται στα παρακάτω.

α. Θεωρία της ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών στοιχείων

Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, το είδος και η ποσότητα των μεταβολιτών που συνθέτει ένα φυτό εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα των πόρων, και συγκεκριμένα από την φωτεινή ακτινοβολία (η οποία είναι καθοριστική για τη φωτοσυνθετική παραγωγή οργανικού άνθρακα) και τη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών (τα οποία καθορίζουν κυρίως την ανάπτυξη), μεταξύ των οποίων κυρίαρχο ρόλο παίζει το άζωτο. Αν το στοιχείο αυτό βρίσκεται σε έλλειψη, η σύνθεση των μεταβολιτών που περιέχουν άζωτο στο μόριό τους περιορίζεται ενώ ο οργανικός άνθρακας κατανέμεται σε δευτερογενείς μεταβολίτες, τα μόρια των οποίων κατασκευάζονται με βάση αποκλειστικά τον άνθρακα^{35,125}.

Σύμφωνα με την παραπάνω θεωρία η σύνθεση ενός αμυντικού δευτερογενούς μεταβολίτη εξαρτάται τόσο από τη στοιχειακή του σύσταση, όσο και από τη διαθεσιμότητα των στοιχείων από τα οποία

κατασκευάζεται. Τα μόρια των δευτερογενών μεταβολιτών διακρίνονται σε αυτά που έχουν ως βάση αποκλειστικά τον άνθρακα (φαινολικά συστατικά και τερπένια) και σε αυτά που περιλαμβάνουν και άζωτο (κυρίως αλκαλοειδή και κυανογόνα γλυκοσιδία). Ωστόσο, τα δεδομένα δείχνουν ότι η διαθεσιμότητα των επιμέρους στοιχείων δεν αποτελεί ασφαλές κριτήριο για την πρόβλεψη του είδους των μορίων που θα βιουσυντεθούν¹²⁵. Ένα άλλο αδύνατο σημείο της θεωρίας αυτής εντοπίζεται στο γεγονός ότι σε έναν αναπτυσσόμενο φυτικό ιστό, η παράμετρος της άμυνας συνυπάρχει με αυτήν της ανάπτυξης και δεν αποτελεί εναλλακτικό μηχανισμό καταμερισμού των πόρων όπως εικάζεται από την παραπάνω θεωρία. Τέλος, είναι πλέον γνωστό ότι εκτός από τη σχετική διαθεσιμότητα των πόρων, στη διαμόρφωση του δευτερογενούς μεταβολισμού και κατ' επέκταση των αμυντικών μηχανισμών, μια σειρά ακόμη παράγοντες ασκούν σημαντική επίδραση, όπως οι προσβολές από παθογόνα και φυτοφάγα και η θωράκιση του φυτού έναντι αβιοτικών καταπονήσεων όπως η υπερϊώδης ακτινοβολία, η έλλειψη νερού, οι ακραίες θερμοκρασίες, η υψηλή συγκέντρωση ρυπαντών καθώς επίσης και η ύπαρξη ανταγωνιστικών και συμβιωτικών σχέσεων με άλλα φυτικά είδη. Η αντίδραση των φυτών στους παραπάνω παράγοντες επηρεάζει άμεσα ή έμμεσα τη διαθεσιμότητα των πόρων^{125,379}.

β. θεωρία ισορροπίας ανάπτυξης / διαφοροποίησης

Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, οι πόροι οι οποίοι είναι κάθε στιγμή διαθέσιμοι στα φυτά κατανέμονται εναλλακτικά μόνο σε έναν από τους δύο δυνατούς δρόμους με πρώτο αυτόν της ανάπτυξης και δεύτερο αυτόν της επένδυσης σε αμυντικούς μηχανισμούς, στους οποίους κυρίαρχο ρόλο παίζουν οι δευτερογενείς μεταβολίτες¹³⁸. Ακρογωνιαίο λίθο της θεωρίας αυτής αποτελεί η άποψη ότι ο καταμερισμός πόρων προς την πλευρά της διαφοροποίησης (στην οποία συμπεριλαμβάνεται και η ανάπτυξη δομών και μορίων με αμυντικό προσανατολισμό) πραγματοποιείται μόνο αν έχουν καλυφθεί οι ανάγκες για ανάπτυξη¹³⁸. Η επιλογή ανάμεσα στις δύο εναλλακτικές οδούς, της ταχείας ανάπτυξης (η οποία

προσδίδει πλεονεκτήματα όσον αφορά στον ανταγωνισμό με τα γειτονικά φυτά) ή της έντονης ανάπτυξης αμυντικών δομών (η οποία προσδίδει μεγαλύτερη ικανότητα για την αντιμετώπιση βιοτικών ή αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης), καθορίζεται τόσο από ενδογενή, όσο και από περιβαλλοντικά ερεθίσματα. Προφανώς η επιλογή της δεύτερης στρατηγικής απαιτεί καταμερισμό άφθονων ενεργειακών και θρεπτικών πόρων προς την κατεύθυνση της άμυνας και εις βάρος της ανάπτυξης. Συνήθως η ύπαρξη ανεπαρκούς τροφοδοσίας ή τροφοπενιακής κατάστασης για ένα ή περισσότερα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία ευνοεί την ανάπτυξη αμυντικών μηχανισμών και την κατανομή ενεργειακών πόρων προς την σύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών σε υψηλές συγκεντρώσεις. Προφανώς στις συνθήκες αυτές η ανάπτυξη περιορίζεται εκ προοιμίου καθώς η έλλειψη των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων δεν επιτρέπει την δημιουργία νέων ιστών και οργάνων. Από την άλλη πλευρά οι διαθέσιμοι (περιορισμένοι) πόροι κατευθύνονται σε αμυντικούς μηχανισμούς³³⁰.

Η θεωρία ισορροπίας ανάπτυξης / διαφοροποίησης, όπως και η θεωρία της ισορροπίας άνθρακα / θρεπτικών στοιχείων, θεωρούν την επένδυση σε αμυντικούς μηχανισμούς μια προαιρετική, κατά κάποιον τρόπο, διαδικασία η οποία πάντα υπολείπεται της ανάπτυξης¹²⁵ και προωθείται μόνο στην περίπτωση που η τελευταία παρεμποδίζεται από την έλλειψη θρεπτικών στοιχείων. Ωστόσο, η προσέγγιση αυτή αδυνατεί να ερμηνεύσει περιπτώσεις στις οποίες ο καταμερισμός των πόρων προωθείται ταυτόχρονα και προς τους δύο δρόμους²⁸¹.

γ. θεωρία της βέλτιστης άμυνας

Η παραπάνω θεωρία βασίζεται στην υπόθεση ότι η παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών σχετίζεται με τη συνύπαρξη και συνεξέλιξη των φυτικών ειδών με τους βιοτικούς εχθρούς τους. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, το δυνητικό κέρδος που μπορεί να έχει για το φυτό η ύπαρξη των ουσιών αυτών σε συνδυασμό με το κόστος για την παραγωγή τους παρέχει ασφαλή πρόβλεψη για ενδεχόμενη συσσώρευση αμυντικών μεταβολιτών^{223,224}. Σε αντίθεση με τις δύο

προηγούμενες θεωρίες οι οποίες εικάζουν ότι ο καταμερισμός του οργανικού άνθρακα στους φυτικούς ιστούς εξαρτάται από την διαθεσιμότητα σε θρεπτικά στοιχεία, η θεωρία της βέλτιστης άμυνας λαμβάνει υπ' όψη τα προσαρμοστικά πλεονεκτήματα τα οποία αποκτώνται από την ύπαρξη ισχυρών αμυντικών μηχανισμών, συνεπώς διαθέτει εξελικτική βάση¹²⁵.

Ανεξάρτητα από το θεωρητικό πλαίσιο το οποίο ερμηνεύει περισσότερο ή λιγότερο ικανοποιητικά την αλληλεπίδραση του δευτερογενούς μεταβολισμού με τις περιβαλλοντικές συνθήκες, είναι πολύ καλά τεκμηριωμένο το γεγονός ότι η έλλειψη θρεπτικών στοιχείων σε πολλές περιπτώσεις ενισχύει την παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών στους φυτικούς ιστούς^{106,50,154,49}. Ωστόσο, σε αρκετές περιπτώσεις η έλλειψη ενός θρεπτικού στοιχείου μπορεί να οδηγήσει ακόμα και σε περιορισμό της παραγωγής ορισμένων κατηγοριών δευτερογενών μεταβολιτών, γεγονός που σχετίζεται με την αδυναμία σύνθεσης του συγκεκριμένου μορίου λόγω έλλειψης δομικών μονάδων. Μια τέτοια περίπτωση είναι η μείωση της βιοσύνθεσης κυανογόνων γλυκοσιδίων και θειογλυκοζιτών κάτω από συνθήκες έλλειψης αζώτου και θείου αντίστοιχα.

Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται στη συγκέντρωση αλκαλοειδών αναφορικά με την παροχή αζώτου, αν και τα αποτελέσματα σε αυτή την περίπτωση είναι περισσότερο αντιφατικά¹⁰⁶. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως οφείλεται σε διαφορετικές πειραματικές προσεγγίσεις. Από την άλλη πλευρά, η έλλειψη καλίου αυξάνει την περιεκτικότητα σε αλκαλοειδή¹⁰⁶.

Ο μεταβολισμός των τερπενίων δεν φαίνεται να παρουσιάζει ενιαία συμπεριφορά υπό συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων^{106,134}. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η βασική λίπανση αύξησε την συγκέντρωση αιθερίων ελαίων και καρδινολιδίων¹⁵⁴ ενώ σε άλλες περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκε επίδραση¹⁰⁶. Σαφέστερες τάσεις εκδηλώνονται υπό συνθήκες έλλειψης φωσφόρου, κάτω από τις οποίες παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης των τερπενίων.

Τα περισσότερα ευκρινή αποτελέσματα όσον αφορά στην επίδραση της θρέψης στο δευτερογενή

μεταβολισμό αφορούν στην κατηγορία των φαινολικών συστατικών^{106,134,75}. Οι τροφοπενίες αζώτου, φωσφόρου, καλίου, θείου, και σιδήρου^{34,35,75,362,49,67} αλλά και η τοξικότητα αζώτου²⁹⁵ ενισχύουν σε σημαντικό βαθμό την βιοσύνθεση φαινολικών ενώσεων. Αντίθετα η τροφοπενία Μn προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών³⁰. Η επίδραση της θρέψης βορίου είναι ιδιαίτερα σημαντική (βλ. ενότητα II.10). Μια σύνοψη της επίδρασης της λίπανσης στη συγκέντρωση διαφορετικών κλάσεων φαινολικών συστατικών έγινε από τον Gershenzon¹⁰⁶ και παρουσιάζεται εμπλουτισμένη στον Πίνακα I.5.

Πίνακας I.5. Η επίδραση της έλλειψης θρεπτικών στοιχείων στα επίπεδα ορισμένων κλάσεων φαινολικών ενώσεων^{106,335,30,49}.

κλάση ενώσεων	επίδραση έλλειψης											
	N			P			K			S		
	▲	—	▼	▲	—	▼	▲	—	▼	▲	—	▼
<i>σε επίπεδο αγρού</i>												
παρ/γα καφεϊκού	4	1	0	2	2	0	2	1	0	2	0	0
κουμαρίνες	1	1	0				1	0	0	0	1	0
ανθοκυανίνες	9	1	2	9	0	0	8	0	2			
φλαβονοειδή	4	1	2	0	2	1	1	1	1	1	0	0
ισοφλαβόνες	1	0	0	1	0	0				1	0	0
τανίνες	1	1	0	0	2	0	1	0	1	0	0	1
ολικά φαινολικά	1	0	1	1	0	0						
<i>σε κυτταρο- ή ιστοκαλλιέργεια</i>												
ανθοκυανίνες	1	0	0									
πολυφαινόλες	2	0	0	1	0	0						
ολικά φαινολικά	2	0	0	1	0	0						

† Η κατεύθυνση υποδηλώνει αύξηση (▲), απουσία επίδρασης (—) ή μείωση (▼) των επιπέδων των φαινολικών συστατικών. Οι αριθμοί υποδηλώνουν το πλήθος των περιπτώσεων όπου παρατηρήθηκε η αντίστοιχη επίδραση.

Η μελέτη συστημάτων σε κυτταροκαλλιέργεια έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη για τη διερεύνηση των πιθανών επιδράσεων¹⁰⁶. Τα συστήματα αυτά ανταποκρίνονται ταχέως στις επικρατούσες συνθήκες θρέψης ενώ η αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών σε αυτά μπορεί να αποδοθεί είτε σε *de novo* σύνθεση μορίων, είτε σε πύκνωση της ήδη υπάρχουσας δεξαμενής λόγω των μειωμένων ανάπτυξης ή ενσωμάτωσης φαινολικών συστατικών στα πολυμερή των κυτταρικών τοιχωμάτων. Η έλλειψη θρεπτικών στοιχείων προκαλεί αύξηση της

δραστικότητας ενζύμων – κλειδιών του μεταβολισμού των φαινολικών όπως η αμμόνιο-λύαση της φαινυλαλανίνης ή η συνθετάση της χαλκόνης⁷⁵. Υπό συνθήκες τροφοπενίας αζώτου η απαμίνωση της φαινυλαλανίνης θα μπορούσε κάλλιστα να εξοικονομήσει άζωτο σε ικανή ποσότητα προκειμένου να υποστηριχθούν οι αυξητικές λειτουργίες των κυττάρων⁶⁸. Από την άλλη πλευρά, η συνεχής απομάκρυνση της φαινυλαλανίνης λόγω της δράσης της PAL μπορεί να συντηρεί τη λειτουργία της βιοσυνθετικής οδού του σικιμικού η οποία τροφοδοτεί με πρόδρομα μόρια τη βιοσυνθετική οδό των αρωματικών δευτερογενών μεταβολιτών^{360,68}.

Η συσσώρευση φαινολικών συστατικών, και πιθανόν και άλλων κατηγοριών δευτερογενών μεταβολιτών, συνεισφέρει στον εγκλιματισμό των φυτών σε δυσμενείς συνθήκες οι οποίες μπορεί να οφείλονται σε περισσότερους του ενός παράγοντες καταπόνησης. Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρείται το φαινόμενο της διασταυρούμενης ανθεκτικότητας κατά το οποίο οι μηχανισμοί εγκλιματισμού (για παράδειγμα η συσσώρευση δευτερογενών μεταβολιτών) που επάγονται λόγω επίδρασης ενός παράγοντα καταπόνησης, προσδίδουν ανθεκτικότητα έναντι και άλλων δυσμενών παραγόντων³⁷⁹. Αυτό συμβαίνει επειδή η ενεργοποίηση ενός μηχανισμού εγκλιματισμού μπορεί να έχει πολλαπλές φυσιολογικές επιπτώσεις και ως εκ τούτου να καθορίζει την έκβαση της αντίδρασης του φυτού στην εμφάνιση ενός επακόλουθου παράγοντα καταπόνησης. Οι (οικο)φυσιολογικές συνιστώσες της συσσώρευσης δευτερογενών μεταβολιτών λόγω έλλειψης θρεπτικών στοιχείων συνοψίζονται στα παρακάτω.

α. έλεγχος του ρυθμού ανάπτυξης

Ορισμένα φαινολικά συστατικά προκαλούν καταστο-

λή των αυξητικών διαδικασιών λόγω αλληλεπίδρασης τους με την οξειδάση του ΙΑΑ ή παρεμπόδιση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης του ATP στα μιτοχόνδρια²⁰³. Η καταστολή της αύξησης αποτελεί μια στρατηγική αντιμετώπισης της έλλειψης θρεπτικών στοιχείων (βλ. **ενότητα 1.7.2**).

β. αποθήκευση οργανικού άνθρακα

Πολλές φορές η έλλειψη θρεπτικών στοιχείων περιορίζει την ανάπτυξη σε μεγαλύτερο βαθμό από την φωτοσύνθεση (βλ. **ενότητες 1.7.2 και 1.7.3**). Η υπερπαραγωγή μορίων όπως τα φαινολικά συστατικά μπορεί να αποτελεί μια εναλλακτική οδό διοχέτευσης των πλεοναζόντων σκελετών άνθρακα (βλ. **ενότητα 1.7.2**).

γ. αλληλοπαθητική δράση

Πολλά φαινολικά συστατικά παρουσιάζουν αλληλοπαθητική δράση^{3,155} (βλ. **ενότητα 1.7.4.5.2**). Υπό συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων, η επίδειξη ισχυρής αλληλοπαθητικής δράσης από ένα συγκεκριμένο φυτικό είδος προς τα γειτονικά φυτά μπορεί να συμβάλει σε μεγάλο βαθμό στον ανταγωνισμό για την εκμετάλλευση των περιορισμένων θρεπτικών αποθεμάτων.

δ. ενίσχυση της άμυνας έναντι παθογόνων και φυτοφάγων

Ο αμυντικός ρόλος των φαινολικών συστατικών τεκμηριώνεται από πλήθος αναφορών (βλ. **ενότητα 1.7.4.5.2**). Η αμυντική θωράκιση των φυτικών ιστών υπό συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων μπορεί να θεωρηθεί ως προσαρμοστικό πλεονέκτημα για την αποφυγή ζημιών και απώλειας σε ιστούς και όργανα, η αναπλήρωση των οποίων έχει σημαντικά μεγαλύτερο κόστος υπό τις παραπάνω συνθήκες από ότι σε συνθήκες θρεπτικής επάρκειας.

II. Ο Ρόλος του Βορίου στη Διατροφή των Ανωτέρων Φυτών

Το βόριο διεκδικεί, και όχι άδικα, τον τίτλο του πιο αινιγματικού από όλα τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία στη διατροφή των ανώτερων φυτών. Για αρκετές δεκαετίες μετά τον χαρακτηρισμό του, το 1923, ως απαραίτητου θρεπτικού στοιχείου των ανώτερων φυτών από τον Warington³⁵⁹, οι ερευνητές αναζητούν για το βόριο έναν ή περισσότερους (άγνωστους) φυσιολογικούς ρόλους. Η αδυναμία της αποσαφήνισης του βιολογικού ρόλου του βορίου έρχεται σε δραματική αντίθεση με την αμεσότητα και την ένταση των συμπτωμάτων που έχει ως αποτέλεσμα η έλλειψή του από το θρεπτικό μέσο καθώς και με τη συχνότητα εμφάνισης της τροφопενίας βορίου στις καλλιέργειες σε παγκόσμια κλίμακα^{12,112,119}.

Μεταξύ των μικροθρεπτικών στοιχείων, το βόριο κατέχει σημαντική θέση όσον αφορά στην επίδρασή του στην γεωργική παραγωγή. Αυτό γίνεται σαφές από το γεγονός ότι οι εντονότερες ανάγκες – και κατά συνέπεια οι δυσμενέστερες επιπτώσεις από την έλλειψη βορίου – κατά τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου των φυτών εντοπίζονται στο στάδιο της ανάπτυξης των αναπαραγωγικών οργάνων (βλ. **ενότητα II.9**) τα οποία συνιστούν παγκοσμίως το 80% του γεωργικού προϊόντος²⁵.

Τα συμπτώματα της έλλειψης υποδεικνύουν ότι το στοιχείο αυτό παίζει ουσιώδη ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης των κυττάρων και την υποστήριξη των αναπτυξιακών και αναπαραγωγικών διεργασιών σε όλες τις κατηγορίες των ανώτερων φυτικών οργανισμών. Ωστόσο μέχρι σήμερα δεν έχει αναφερθεί κανένα ζωτικό για το μεταβολισμό βιομόριο στη δομή του οποίου να συμμετέχει το βόριο. Επίσης το βόριο δεν λαμβάνει μέρος στη διαχείριση ενέργειας των κυττάρων και τέλος δεν αποτελεί συνενζυμικό παράγοντα για κανένα γνωστό ενζυμικό σύστημα^{339,211}. Η δυσκολία εξαγωγής συμπερασμάτων σχετικά με το φυσιολογικό ρόλο του βορίου σχετίζεται και με τα χαρακτηριστικά του ίδιου του στοιχείου τα οποία καθιστούν δυσχερείς τις πειραματικές προσεγγίσεις. Για παράδειγμα το βόριο

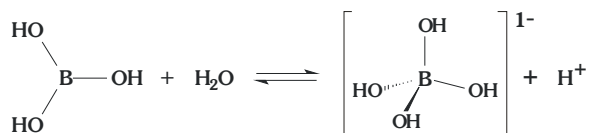
δεν διαθέτει ραδιενεργό ισότοπο με χρόνο ημίσειας ζωής κατάλληλο για πειράματα ραδιοσημάνσης. Επίσης, οι χημικοί δεσμοί του βορικού οξέος με τα υπόλοιπα μόρια του κυττάρου έχουν τέτοια χαρακτηριστικά ώστε να καθίσταται δύσκολη η μελέτη των βιοχημικών αλληλεπιδράσεων του στοιχείου σε συνθήκες *in vivo*.

Η τελευταία δεκαετία μπορεί να χαρακτηριστεί ερευνητικά ως η δεκαετία του βορίου. Δεκάδες εργασίες αφορούν στη διευκρίνιση κάποιας πτυχής της φυσιολογικής λειτουργίας του βορίου στα φυτά, κυρίως στη συμμετοχή του στην δομική και λειτουργική σταθερότητα των κυτταρικών τοιχωμάτων και των πλασματικών μεμβρανών αλλά και την ικανότητα του βορικού οξέος να δημιουργεί σταθερά σύμπλοκα με διαλυτές πολυόλες, ιδιότητα που εξηγεί σε μεγάλο βαθμό τη λειτουργία του βορίου σε επίπεδο ολόκληρου φυτού. Πολλές από αυτές τις εργασίες στηρίζουν το πειραματικό τους μέρος στη χρήση των πλέον σύγχρονων και εξαιρετικά ευαίσθητων αναλυτικών τεχνικών. Αυτό εν μέρει εξηγεί τη δυσχέρεια της διευκρίνισης του φυσιολογικού ρόλου του βορίου στο παρελθόν.

II.1. Χημικά Χαρακτηριστικά του Βορίου

Το βόριο ανήκει στα μεταλλοειδή και καταλαμβάνει την πέμπτη θέση στον περιοδικό πίνακα με ατομικό βάρος 10,81. Η ηλεκτρονιακή του δομή είναι $2s^2 2p$. Λόγω υψηλού δυναμικού ιονισμού το βόριο δεν απαντάται σαν κατιόν B^{3+} αλλά σχηματίζει σύμπλοκα με την δημιουργία τριών ομοιοπολικών δεσμών. Τα μόρια που προκύπτουν είναι επίπεδα με γωνίες δεσμών 120° . Το βορικό οξύ (Εικόνα II.1) σε υδατικά διαλύματα συμπεριφέρεται ως ασθενές μονοβασικό οξύ κατά Lewis (pK_a 9,24) με την πρόσληψη ενός ιόντος υδροξυλίου και τον σχηματισμό ενός τετραεδρικού ανιόντος¹¹². Η αντίδραση ευνοείται σε τιμές pH άνω του 7. Στο κυτταρόπλασμα (pH 7,5) η μορφή του αδιάστατου βορικού οξέος είναι η επικρατέστερη (98%) ενώ ένα μικρό ποσοστό (2%) απαντάται με τη μορφή του βορικού ανιόντος²⁵.

Το βορικό οξύ και το βορικό ανιόν σχηματίζουν σύμπλοκα μέσω διεστερικών δεσμών με μονοαλκοόλες



Εικόνα II.1. Ο συντελεστής διάστασης του βορικού οξέος είναι $pK_a = 9,24$ (pH 7,0). Η ισορροπία της αντίδρασης μετατοπίζεται προς τα δεξιά με την αύξηση του pH του μέσου ώστε σε pH 8,4 το ποσοστό του βορικού ανιόντος να είναι 17,9% έναντι 0,9% σε pH 7,0^{1,12}.

ή ενώσεις που έχουν δύο ομάδες υδροξυλίου σε θέση *cis* (Εικόνα II.2). Η αντίδραση σχηματισμού τέτοιου είδους συμπλόκων είναι αυθόρμητη με ταχεία κινητική ενώ η χημική τους ισορροπία εξαρτάται από την τιμή του pH²⁵. Η πληθώρα των μεταβολιτών που διαθέτουν την παραπάνω δομή^{37,12} αναδεικνύει το βόριο σε ένα ενδεχόμενο δομικό ή λειτουργικό παράγοντα σε πολυάριθμες κυτταρικές δομές και μεταβολικές – φυσιολογικές διεργασίες τόσο σε επίπεδο κυττάρου όσο και σε επίπεδο οργανισμού. Οι κατηγορίες των συστατικών αυτών καθώς και ο κύριος φυσιολογικός τους ρόλος παρουσιάζονται στον Πίνακα II.1.

Πίνακας II.1. Κατηγορίες των κυτταρικών συστατικών των ανώτερων φυτών που διαθέτουν κατάλληλη δομή ώστε να σχηματίζουν διεστερικά σύμπλοκα με το βορικό οξύ^{201,12,25,71}.

κατηγορία	φυσιολογικός ρόλος
ολιγοσακχαρίτες	διανομή φωτοσυνθετικών προϊόντων, διαχείριση σκελετών άνθρακα και ενέργειας
οργανικά οξέα	ενεργειακός μεταβολισμός
RG-II	οργάνωση κυτταρικού τοιχώματος
NAD	διαχείριση ενέργειας
αμινοξέα	δόμηση πρωτεϊνών, μεταβολισμός αζώτου
φαινολικά	δόμηση κυτταρικού τοιχώματος, λιγνινοποίηση, άμυνα
γλυκοπρωτεΐνες	κυτταρική επικοινωνία, ενζυμική δράση
γλυκολιπίδια	δομή κυτταρικών μεμβρανών

II.2. Το βόριο του Εδάφους

Το βόριο στα περισσότερα εδάφη απαντάται σε συγκεντρώσεις της τάξης των 10 mg kg⁻¹ ή χαμηλότερες. Εδάφη με περιεκτικότητα χαμηλότερη

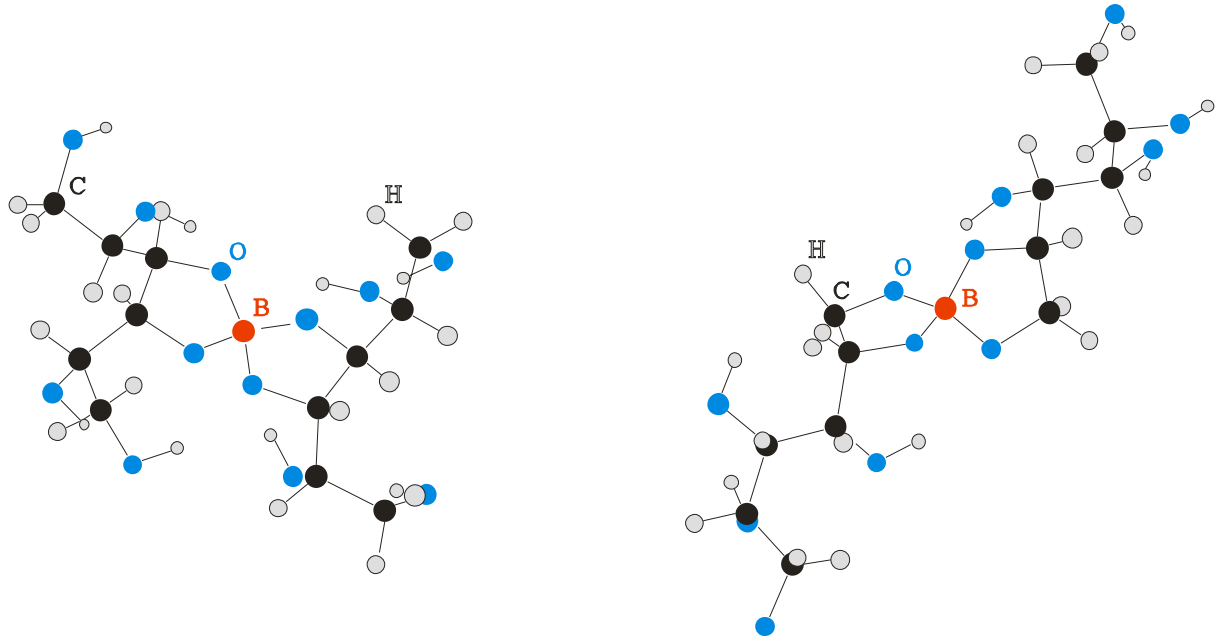
των 10 mg kg⁻¹ χαρακτηρίζονται ως φτωχά σε βόριο, ενώ αυτά με περιεκτικότητα 10 – 100 mg kg⁻¹ ως πλούσια σε βόριο και σχετίζονται με πρόσφατη ηφαιστειακή δραστηριότητα²⁶⁵. Το βόριο βρίσκεται στο έδαφος υπό πέντε μορφές.

- α. ως συστατικό των πρωτογενών ορυκτών*
- β. ως συστατικό των δευτερογενών ορυκτών*
- γ. προσροφημένο στην άργιλο, στην οργανική ουσία και σε ένυδρα οξείδια*
- δ. ως διαλυτό βόριο στο εδαφικό διάλυμα*
- ε. ως αφομοιωμένο από την βιομάζα. Συνήθως το διαλυτό βόριο το οποίο είναι και διαθέσιμο στα φυτά αποτελεί το 10% του συνολικού εδαφικού βορίου²⁶⁵*

Το διαλυτό βόριο απαντά στο έδαφος κυρίως με τη μορφή βορικού οξέος [B(OH)₃]. Σε τιμές pH άνω του 7 απαντάται ως τετραεδρικό ανιόν [B(OH)₄]⁻. Η δημιουργία πολυμερών μορφών βορίου δεν ευνοείται σε συνήθεις συγκεντρώσεις βορίου στο έδαφος, παρά μόνο εάν αυτές αποκτήσουν υψηλές τιμές²¹¹. Η μορφή των ορυκτών που περιέχουν βόριο είναι τέτοια (εξαιρετικά δυσδιάλυτα ή ευδιάλυτα) που δεν επιτρέπει ελεγχόμενη διαθεσιμότητα του βορίου στο έδαφος¹¹³ όπως για παράδειγμα στην περίπτωση του καλίου³⁷⁶.

Η διαθεσιμότητα του βορίου εξαρτάται από το pH του εδαφικού διαλύματος, την υφή του εδάφους, την εδαφική υγρασία και τη θερμοκρασία¹¹³. Η υδατική καταπόνηση και η υψηλή ατμοσφαιρική υγρασία επηρεάζουν έμμεσα την απορρόφηση βορίου λόγω της αρνητικής τους επίδρασης στη διαπνοή. Έμμεσες αρνητικές επιδράσεις ασκούνται επίσης από τα υψηλά επίπεδα αζώτου στο έδαφος και από τις υψηλές εντάσεις φωτεινής ακτινοβολίας, λόγω των υψηλών ρυθμών παραγωγής βιομάζας που παρατηρούνται και επομένως στην διαμόρφωση αυξημένων αναγκών σε βόριο¹²².

Υψηλές τιμές pH του εδαφικού διαλύματος δυσχεραίνουν τη διάθεση του βορίου στα φυτά πιθανόν λόγω σχηματισμού του ανιόντος B(OH)₄⁻ και της προσρόφησής του από τα ορυκτά συστατικά του εδάφους^{113,211}. Ωστόσο, οι τιμές του εδαφικού



Εικόνα II.2. Μοριακά μοντέλα της τριοδιάστατης διαμόρφωσης του 3,4 3,4 (αριστερά) και 1,2 1,2 διεστέρα μαννιτόλης βορικού οξέος¹⁵⁰.

διαλύματος δεν φαίνεται να αποτελούν τον κρίσιμο παράγοντα που περιορίζει τη διαθεσιμότητα βορίου σε επίπεδα ικανά να προκαλέσουν τροφопενία του στοιχείου. Θεωρείται βέβαιο ότι το υποβαθμισμένο εδαφικό περιβάλλον που διαμορφώνεται σε συνθήκες ακραίων τιμών pH του εδαφικού διαλύματος, αποτελεί τον σημαντικότερο παράγοντα ο οποίος επιφέρει χαμηλή παραγωγικότητα στις καλλιέργειες.

Η διαθεσιμότητα του βορίου ελέγχεται κυρίως μέσω της προσρόφησης του σε διάφορα ορυκτά, (κυρίως οξειδία του αργιλίου και σιδήρου) και από την περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ουσία^{113,120-122}. Το βόριο μπορεί επίσης να προσροφηθεί από το ανθρακικό ασβέστιο. Ωστόσο οι ενδείξεις που συνηγορούν στο ότι μια τέτοια προσρόφηση μπορεί να θεωρηθεί υπεύθυνη για πρόκληση τροφопενίας βορίου είναι περιορισμένες. Η προσθήκη ασβέστου σε εδάφη με οριακά επίπεδα βορίου είναι δυνατό να προκαλέσει τροφопενία βορίου. Υπεύθυνη για την απομάκρυνση των διαλυτών αποθεμάτων βορίου θεωρείται η κατακρήμνιση υδροξειδίου του αργιλίου (η οποία είναι επακόλουθο της ασβέστωσης) και όχι η άνοδος

της τιμής του pH³¹⁵.

Η περιεκτικότητα του βορίου εξαρτάται από την υφή του εδάφους. Σε χονδρόκοκκα εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία οι διαλυτές μορφές του στοιχείου εκπλένονται εύκολα σε βαθύτερα στρώματα¹¹³.

II.3. Κατανομή του Βορίου στο Κύτταρο

Σύμφωνα με τους Dannel et al.⁵⁹, το κυτταρικό βόριο μπορεί να διακριθεί σε δύο κλάσματα με βάση τη διαλυτότητά του στο νερό. Το κλάσμα του βορίου που παραλαμβάνεται άμεσα σε διαλυτή μορφή χαρακτηρίζεται ως ελεύθερο και αντιπροσωπεύει κυρίως το διαλυτό βόριο του κυτταρικού χυμού και δευτερευόντως αυτό του αποπλαστικού χώρου. Το δεύτερο κλάσμα μπορεί να χαρακτηριστεί ως δεσμευμένο και αντιπροσωπεύει το βόριο που απαντάται ενωμένο με τα ηφκτικικά πολυμερή του κυτταρικού τοιχώματος^{62,214}.

Παρόλο που η παραπάνω διάκριση βασίζεται στη μέθοδο απομόνωσης, φαίνεται πως διαθέτει και λειτουργική σημασία, αφού το δεσμευμένο κλάσμα

αφορά στον ρόλο του βορίου στο κυτταρικό τοίχωμα (βλ. **ενότητα II.7.1**), ενώ το ελεύθερο ενδέχεται να σχετίζεται με πιθανές φυσιολογικές λειτουργίες⁵⁹.

Η σχετική κατανομή του βορίου στο κυτταρικό τοίχωμα, τον αποπλαστικό χώρο, το κυτταρόπλασμα και το χυμοτόπιο εξαρτάται από το είδος του ιστού, το γονότυπο και από την εξωτερική τροφοδοσία με βόριο. Τα υδρόφυτα εμφανίζουν μικρότερο ποσοστό του συνολικού βορίου εντοπισμένο στα κυτταρικά τοιχώματα έναντι των μεσοφύτων και αντίστοιχα τα μονοκότυλα έναντι των δικοτύλων⁶².

Υπό συνθήκες μειωμένης τροφοδοσίας βορίου το ποσοστό του δεσμευμένου στο κυτταρικό τοίχωμα βορίου κυμαίνεται από 60 έως 90%^{62,147,201,216}, ποσοστό που μειώνεται όταν αυξάνεται η διαθεσιμότητά του από το εξωτερικό μέσο. Το ελεύθερο βόριο που εντοπίζεται στον αποπλαστικό χώρο μειώνεται δραματικά σε συνθήκες ανεπάρκειας του στοιχείου²⁵⁶. Αντίθετα με παλαιότερες αναφορές (βλ. **217,174,214,212,245,326**), είναι πλέον γνωστό ότι ένα σημαντικό ποσοστό (26–68% του συνολικού βορίου) εντοπίζεται στον πρωτοπλάστη, κατανεμημένο κυρίως στο κυτταρόπλασμα^{147,341,256} με τη μορφή συμπλόκων με μόρια χαμηλού μοριακού βάρους³⁷ (βλ. **ενότητα II.1**) ή στο χυμοτόπιο^{256,212,341,245}.

II.4. Πρόσληψη του Βορίου από το Ριζικό Σύστημα των Ανωτέρων Φυτών

Τα πρόσφατα πειραματικά δεδομένα δίνουν μια πληρέστερη εικόνα του πολύπλοκου φαινομένου της απορρόφησης βορίου από το ριζικό σύστημα. Θεωρείται πλέον βέβαιο ότι παράλληλα με το μηχανισμό απορρόφησης του στοιχείου με παθητική μεταφορά (που μέχρι πρόσφατα θεωρείτο ο αποκλειστικός μηχανισμός απορρόφησης) λειτουργούν και μηχανισμοί ενεργού μεταφοράς μέσω εξειδικευμένων μεμβρανικών μεταφορέων^{62,332}.

II.4.1. Παθητική Διαμεμβρανική Μεταφορά Βορίου

Το γεγονός ότι σε φυσιολογικές τιμές του pH το βόριο απαντά και απορροφάται από τα κύτταρα ως

αδιάστατο μόριο καθιστά το στοιχείο αυτό ως μοναδική περίπτωση μεταξύ των υπολοίπων μικροθρεπτικών στοιχείων. Τα μη ιονιομένα μόρια χαρακτηρίζονται από υψηλές τιμές περατότητας διαμέσου των κυτταροπλασματικών μεμβρανών²⁷⁷ και η συμπεριφορά αυτή θα πρέπει να ισχύει και στην περίπτωση του βορίου οξέος. Πράγματι, φυσικοχημικές μελέτες υποστηρίζουν ότι οι μεμβράνες των φυτικών κυττάρων είναι περατές από το βορικό οξύ και κατά συνέπεια η απορρόφησή του από τη ρίζα μπορεί κατά κύριο λόγο να θεωρηθεί ως μια παθητική διαδικασία. Η θεωρητική τιμή του συντελεστή περατότητας του βορίου οξέος διαμέσου βιολογικών μεμβρανών (περίπου 10^{-6} cm s⁻¹), θεωρείται ικανοποιητική για να υποστηρίξει την μέσω παθητικής μεταφοράς παρατηρούμενη ροή βορίου οξέος διαμέσου βιολογικών μεμβρανών¹⁴⁸. Στην περίπτωση της παθητικής μεταφοράς, ο ρυθμός πρόσληψης αναμένεται να εξαρτάται από τη συγκέντρωση του εδαφικού διαλύματος σε βορικό οξύ και την ένταση της διαπνοής¹⁴⁸. Ωστόσο η επαρκής τιμή του συντελεστή περατότητας που προαναφέρθηκε, δεν αποκλείει την ύπαρξη και μηχανισμού ενεργού μεταφοράς.

Πράγματι, αρκετά πειραματικά δεδομένα οδήγησαν προς την υπόθεση ότι η παθητική μεταφορά δεν αποτελεί το μοναδικό μηχανισμό απορρόφησης βορίου από τη ρίζα. Τόσο σε εργαστηριακές συνθήκες, όσο και σε συνθήκες αγρού παρατηρούνται αποκλίσεις στο ρυθμό πρόσληψης βορίου από είδος σε είδος^{148,278}. Για παράδειγμα, η πρόσληψη βορίου μιας ανθεκτικής στην τοξικότητα βορίου ποικιλίας μπορεί να είναι μέχρι και έξι φορές υψηλότερη έναντι αυτής μιας ευαίσθητης ποικιλίας του ίδιου φυτικού είδους. Επιπλέον, ο λόγος του ρυθμού διαπνοής προς το ρυθμό απορρόφησης βορίου δεν παρουσιάζεται σταθερός. Τέλος η συγκέντρωση βορίου στον ανιόντα χυμό δεν εξαρτάται μόνο από την συγκέντρωση βορίου στην ρίζα²⁷². Οι μηχανισμοί που έχουν προταθεί για να εξηγήσουν τα αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με την πρόσληψη βορίου στα φυτά συνοψίζονται ως εξής:

α. έκκριση παραγόντων συμπλοκοποίησης στη ριζόσφαιρα

Η έκκριση από τις ρίζες προς την ριζόσφαιρα παραγόντων που σχηματίζουν σύμπλοκα με το βόριο θα μπορούσε να αποτελεί ένα μηχανισμό ελέγχου της απορρόφησης του στοιχείου από το εξωτερικό περιβάλλον αφού τα σύμπλοκα αυτά χαρακτηρίζονται από χαμηλή τιμή του συντελεστή περατότητας διαμέσου των μεμβρανών. Σχετικά πειράματα ωστόσο, δεν επιβεβαίωσαν την ύπαρξη τέτοιου μηχανισμού¹⁴⁸.

β. παραγωγή παραγόντων συμπλοκοποίησης στο κυτταρικό περιβάλλον

Μια σημαντική ιδιότητα του βορικού οξέος είναι η ικανότητά του να σχηματίζει σύμπλοκα με μόρια δομής *cis* – διόλης (βλ. ενότητα II.1). Στο σέλινο, για παράδειγμα, το σύνολο του βορίου στον κυτταρικό χυμό βρίσκεται δεσμευμένο με τη μορφή συμπλόκου με μαλτόζη²⁷². Λόγω της παραπάνω συμπεριφοράς, επιτυγχάνεται η επικράτηση χαμηλών συγκεντρώσεων ελεύθερου βορικού οξέος στον κυτταρικό χυμό και ως εκ τούτου η παθητική μεταφορά του στοιχείου ενισχύεται, αφού συντηρείται η διαφορά συγκεντρώσεων βορικού οξέος μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η κατά πολύ υψηλότερη από την εξωτερική συγκέντρωση βορίου στο εσωτερικό του ιστού, δεν αποτελεί ικανή ένδειξη για ενεργό μεταφορά βορίου¹⁴⁸.

γ. η ιδιαίτερη δομή των τοιχωμάτων και των μεμβρανών των κυττάρων της ρίζας στα επιμέρους είδη

Στα περισσότερα δικότυλα φυτά το υψηλότερο ποσοστό του κυτταρικού βορίου εντοπίζεται ακινητοποιημένο στα κυτταρικά τοιχώματα με τη μορφή συμπλόκων με τα πηκτινικά πολυμερή¹⁴⁷ (βλ. ενότητα II.7.1). Εάν οι θέσεις συμπλοκοποίησης δεν κορεστούν, το ποσοστό του βορίου που κατανέμεται στον πρωτοπλάστη περιορίζεται σημαντικά⁶². Κατά συνέπεια, η σύσταση των κυτταρικών τοιχωμάτων σε πηκτινικά πολυμερή επηρεάζει την κατανομή του βορίου στο κύτταρο και επομένως το μέγεθος του κλάσματος του ελεύθερου βορίου στο κυτταροπλασμα^{149,218}.

Οι παρατηρούμενες διαφορές στην πρόσληψη βορίου

μεταξύ διαφορετικών φυτικών ειδών ή ποικιλιών μπορούν να αποδοθούν εν μέρει και στη διαφορετική σύσταση και λεπτή δομή των μεμβρανών των κυττάρων της ρίζας διαφορετικών ειδών. Το ποσοστό των στερολών καθώς και ο τύπος και το μήκος των αλειφατικών αλυσίδων των φωσφορολιπιδίων επηρεάζουν την περατότητα των μεμβρανών σε αφόρτιστα μόρια χαμηλού MB όπως το βορικό οξύ^{76,25,62}. Οι διαφορές αυτές μπορούν να ερμηνεύσουν τη συμπεριφορά των διαφορετικών ειδών ή ποικιλιών τόσο έναντι ανεπαρκών όσο και τοξικών συγκεντρώσεων του στοιχείου στο έδαφος⁶².

δ. ύπαρξη μεμβρανικών πρωτεϊνών – πόρων για την διακίνηση αφορτιστων μορίων χαμηλού MB όπως το βορικό οξύ

Τα πρόσφατα πειραματικά δεδομένα συνηγορούν υπέρ της ύπαρξης ενός μηχανισμού διευκολυνόμενης πρόσληψης βορίου μέσω καναλιών μεταφοράς^{25,77,62}. Παρόμοιοι μεμβρανικοί πόροι συμβάλλουν στη μεταφορά νερού και άλλων χαμηλού MB μη φορτισμένων μορίων όπως της ουρίας. Οι πρωτεΐνες αυτές μπορεί να ανήκουν στην ομάδα των υδροπορινών ή καναλιών μεταφοράς του τύπου MIP (Major Intrinsic Proteins). Σύμφωνα με τους Dordas et al.⁷⁷, η έκφραση της PIP1 (μιας υδροπορίνης που εντοπίζεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη) σε ζωικά οκύτταρα προκάλεσε αύξηση της περατότητας του βορικού οξέος διαμέσου της μεμβράνης κατά 30%. Η παρατηρούμενη αύξηση στην πρόσληψη εξαλείφθηκε όταν εφαρμόστηκε HgCl₂⁷⁷ υποδεικνύοντας ότι αυτή οφείλεται στην λειτουργία καναλιών μεταφοράς^{25,77}. Παρόμοια παρεμπόδιση της πρόσληψης βορικού οξέος παρατηρήθηκε στην περίπτωση κυττάρων ριζών των ειδών *Cucurbita pepo* και *Arabidopsis thaliana* μετά από εφαρμογή HgCl₂, υποδεικνύοντας ότι τα κανάλια αυτά συμβάλουν στην πρόσληψη βορίου και σε φυτικούς ιστούς^{76,77}.

Παρόλο που τα παραπάνω φαινόμενα μπορούν να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό την πρόσληψη βορίου από τις ρίζες διαφορετικών φυτών, η λειτουργία τους προϋποθέτει την ύπαρξη ευνοϊκής συγκέντρωσης βορικού οξέος στο εξωτερικό μέσο. Στην αντίθεση περίπτωση, μόνο ένας μηχανισμός ενεργού

μεταφοράς μπορεί να ερμηνεύσει την ικανότητα πρόσληψης του στοιχείου από τα φυτά^{25,332}.

II.4.2. Ενεργός μεταφορά βορίου

Η ύπαρξη ενός μηχανισμού ενεργού μεταφοράς βορικού οξέος υποστηρίχθηκε τα τελευταία χρόνια από μια σειρά πειραματικών δεδομένων^{25,62}:

α. το βόριο συσσωρεύεται στο κυτταρικό μέσο ή / και στο ανιόντα χυμό σε συγκεντρώσεις κατά πολύ υψηλότερες αυτής του περιβάλλοντος διαλύματος

Υπό συνθήκες χαμηλής εξωτερικής συγκέντρωσης βορίου (1 mM) έχει παρατηρηθεί συσσώρευση του στοιχείου σε 22–πλάσια συγκέντρωση στον κυτταρικό και τον ανιόντα χυμό^{58,233,61}. Η παρατήρηση αυτή αποτελεί ισχυρή ένδειξη για τη λειτουργία μηχανισμού ενεργού μεταφοράς, ωστόσο θα μπορούσε να ερμηνευτεί ικανοποιητικά λόγω της ικανότητας του βορίου να σχηματίζει σύμπλοκα με κυτταρικά συστατικά²⁵. Η αύξηση της απορρόφησης βορίου λόγω της ύπαρξης κυτταρικών συστατικών που δημιουργούν σύμπλοκα με το βόριο έχει πράγματι διαπιστωθεί σε διαγονιδιακά φυτά καπνού τα οποία συσσωρεύουν σορβιτόλη⁶, μια σακχαροαλκοόλη που φυσιολογικά δεν απαντά σε αυτό το φυτικό είδος. Η συσσώρευση σορβιτόλης είχε ως συνέπεια την αυξημένη απορρόφηση βορικού οξέος από το ριζικό σύστημα των φυτών αυτών.

β. η ικανότητα ορισμένων φυτών να συσσωρεύουν βόριο αντίθετα στη διαβάθμιση της συγκέντρωσης του αίρεται με τη χρήση μεταβολικών παρεμποδιστών

Πρόσφατα αναφέρθηκε ότι η εφαρμογή 2,4–δινιτροφαινόλης, ενός μεταβολικού παρεμποδιστή, καθώς και η επικράτηση χαμηλών θερμοκρασιών στη ριζόσφαιρα, προκαλούν μείωση της ικανότητας απορρόφησης βορίου στο φυτό *Helianthus annuus*²⁵⁵.

γ. η ικανότητα ορισμένων φυτών να συσσωρεύουν βόριο αντίθετα στη διαβάθμιση της συγκέντρωσης είναι προϊόν εγκλιματισμού σε μέσο με χαμηλή

συγκέντρωση βορίου

Πρόσφατα πειραματικά δεδομένα^{253,58,59,255,61,63,256} υποστηρίζουν την ύπαρξη ενός μηχανισμού συσσώρευσης βορίου στα κύτταρα ο οποίος επάγεται μετά από παραμονή των φυτών σε θρεπτικό μέσο με χαμηλή συγκέντρωση βορίου (1 mM). Ο μηχανισμός αυτός δεν εμφανίζεται σε φυτά που έχουν αναπτυχθεί σε καθεστώς επάρκειας βορίου⁶².

Η συμπεριφορά αυτή υποδηλώνει την ενεργοποίηση ενός παράγοντα μεταφοράς με υψηλή συγγένεια ως προς το μόριο-στόχο⁶². Η ικανότητα αυτή εγκλιματισμού όπως και σε άλλες περιπτώσεις καταπόνησης ή έλλειψης θρεπτικών στοιχείων καθορίζεται γενετικά. Σύμφωνα με τους Pfeffer et al.²⁵⁵, η λειτουργία του μηχανισμού αυτού καταστέλλεται μετά από 24 ώρες σε περιβάλλον με υψηλή συγκέντρωση βορίου (100 mM). Ο τρόπος ενεργοποίησης και απενεργοποίησης του μηχανισμού ανάπτυξης υψηλών συγκεντρώσεων ενδέχεται να υλοποιείται μέσω *de novo* σύνθεσης εξειδικευμένων πρωτεϊνικών παραγόντων.

δ. η πρόσληψη βορίου υπό καθεστώς χαμηλής εξωτερικής συγκέντρωσης παρουσιάζει χαρακτηριστικά ενζυμικής κινητικής και επομένως ενεργού μεταφοράς

Σύμφωνα με τους Dannel et al.⁶¹, η καμπύλη της κινητικής της πρόσληψης βορίου, φυτών τα οποία αναπτύσσονται σε περιβάλλον χαμηλής διαθεσιμότητας βορίου, παρουσιάζει δύο διαφορετικά πρότυπα. Το πρώτο λειτουργεί συνεχώς, εμφανίζει γραμμική κινητική και δεν επηρεάζεται από την παρουσία μεταβολικών παρεμποδιστών. Τα χαρακτηριστικά αυτά πιστεύεται ότι αντιπροσωπεύουν την παθητική πρόσληψη βορικού οξέος διαμέσου της λιπιδιακής στοιβάδας ή μέσω καναλιών μεταφοράς. Το δεύτερο πρότυπο κινητικής πιστεύεται ότι αντιπροσωπεύει μηχανισμούς πρόσληψης των οποίων η λειτουργία επάγεται από καθεστώς χαμηλής εξωτερικής διαθεσιμότητας βορίου και καταστέλλεται από μεταβολικούς αναστολείς όπως η 2,4–δινιτροφαινόλη αλλά και από την επικράτηση χαμηλών θερμοκρασιών. Το πρότυπο αυτό παρουσιάζει κινητική η οποία χαρακτηρίζεται

από τάση κορεσμού και εμφανίζει χαρακτηριστικά Michaelis–Menten με K_m ίση με 15 μM και V_{\max} ίση με περίπου 31 $\text{nmol g}_{\text{ρίζας}} \text{fw}^{-1} \text{h}^{-1}$ ²⁵⁶. Σε ανάλογα πειράματα στο φύκος *Chara corallina* οι Stangoulis et al.³²⁶, υπολόγισαν την τιμή της K_m ίση με 2 μM και αυτή της V_{\max} ίση με περίπου 135 $\text{pmol g}_{\text{ρίζας}} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Πρόσφατα, οι Takano et al.³³² ανέφεραν για πρώτη φορά την ύπαρξη του BOR1, ενός πρωτεϊνικού μεταφορέα που εδράζει στην κυτταροπλασματική μεμβράνη κυττάρων του περικυκλίου της ρίζας του φυτού *Arabidopsis thaliana*. Ο μεταφορέας αυτός είναι υπεύθυνος για την ανάπτυξη υψηλών συγκεντρώσεων βορίου στα αγγεία του ξύλου και προστατεύει τα φυτά από την τροφопενία βορίου, υπό συνθήκες χαμηλής εξωτερικής διαθεσιμότητας του στοιχείου. Βρέθηκε ότι η μεταλλαγή *bor1-1* του φυτού *A. thaliana* είναι ελλειψής στον παραπάνω μεταφορέα³³². Ο μεταφορέας αυτός ενδέχεται να λειτουργεί εκμεταλλευόμενος τη διαβάθμιση του μεμβρανικού δυναμικού. Εναλλακτικά θα μπορούσε να λειτουργεί με αντιμεταφορά πρωτονίων ή, σε αναλογία με πρωτεϊνικούς μεταφορείς ανιόντων ζωικών κυττάρων (με τους οποίους η BOR1 εμφανίζει υψηλή ομολογία), μέσω αντιμεταφοράς ιόντων χλωρίου¹⁰⁰.

Τα αποτελέσματα παρέχουν βάσιμες ενδείξεις ότι στους φυτικούς ιστούς, εκτός από το σημείο φόρτωσης των αγγείων του ξύλου, ένας ανάλογος μηχανισμός πρόσληψης βορίου ο οποίος λειτουργεί με δαπάνη μεταβολικής ενέργειας και επάγεται από χαμηλά επίπεδα διαθέσιμου βορίου, είναι υπεύθυνος για την ανάπτυξη υψηλών συγκεντρώσεων βορίου στο φλοιό της ρίζας. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι οι σχετικές μελέτες περιορίζονται στα φυτά *Arabidopsis thaliana* και *Helianthus annuus*, ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις ότι ανάλογος μηχανισμός λειτουργεί και στα φυτά *Lupinus albus* και *Pisum sativum*. Αντίθετα υπάρχουν ενδείξεις ότι στα φυτά *Triticum aestivum* και *Lens culinaris* δεν λειτουργεί ανάλογος μηχανισμός, γεγονός που ενδεχομένως δικαιολογείται από τις μειωμένες απαιτήσεις για βόριο των δύο αυτών φυτικών ειδών οι οποίες πιθανόν να καλύπτονται αποκλειστικά και μόνο από την λειτουργία της παθητικής μεταφοράς⁶².

II.5. Διακίνηση, Κατανομή και Αναδιανομή του Βορίου στα Φυτά

Η διακίνηση βορίου από τα κύτταρα του ριζικού συστήματος προς το υπέργειο μέρος προϋποθέτει την μετακίνησή του στα αγγεία του ξύλου. Ανάλογα με την εξωτερική συγκέντρωση βορίου, η κατ' ακτίνα κίνηση μέχρι τον κεντρικό κύλινδρο επιτελείται μέσω μαζικής ροής (υπό συνθήκες επάρκειας)⁶² ή μέσω μηχανισμού ανάπτυξης υψηλών συγκεντρώσεων (υπό καθεστώς έλλειψης βορίου στο εξωτερικό μέσο) ο οποίος λειτουργεί με δαπάνη μεταβολικής ενέργειας³³².

Υπό συνθήκες επάρκειας βορίου στο έδαφος η συγκέντρωση του στοιχείου στον ανιόντα χυμό είναι συνήθως χαμηλότερη αυτής των κυττάρων της ρίζας^{60,61,308,58} και δεν παρουσιάζει έντονες διακυμάνσεις⁵⁹. Το αντίθετο φαινόμενο παρατηρείται υπό συνθήκες μειωμένης διαθεσιμότητας βορίου στο εξωτερικό μέσο. Η συγκέντρωση του βορίου στα αγγεία του ξύλου εμφανίζεται αυξημένη συγκριτικά με αυτή τόσο του εξωτερικού μέσου^{58,308} όσο και των κυττάρων της ρίζας⁶², γεγονός που υποδηλώνει τη λειτουργία ενός μηχανισμού ανάπτυξης υψηλών συγκεντρώσεων στα σημεία φόρτωσης των αγγείων του ξύλου^{62,332}.

Η διακίνηση του βορίου από το υπόγειο προς το υπέργειο μέρος εξαρτάται από την ύπαρξη ομαλού διαπνευστικού ρεύματος, αλλά η τελική κατανομή του στο φυτικό σώμα επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη δυνατότητα επανεκκίνησης μέσω των αγγείων του ηθμού²⁸.

II.5.1. Η Ικανότητα Αναδιανομής του Βορίου Μέσω του Ηθμού Εξαρτάται Από το Είδος του Φυτού

Είναι πλέον γνωστό ότι τα φυτικά είδη εμφανίζουν δραματικές διαφορές όσον αφορά στην κινητικότητα του βορίου μεταξύ των επιμέρους ιστών και οργάνων τους. Από την άποψη αυτή, το βόριο αποτελεί μοναδική περίπτωση μεταξύ των θρεπτικών στοιχείων.

Τα φυτά μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες με βάση την κινητικότητα την οποία παρουσιάζει το βόριο. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν φυτά στα οποία η κινητικότητα του βορίου στον ηθμό εμφανίζεται πολύ περιορισμένη ενώ στη δεύτερη κατηγορία φυτά τα οποία παρουσιάζουν αυξημένη δυνατότητα επανεκκίνησης βορίου²⁵. Τα πειραματικά δεδομένα που διαφοροποιούν τις δύο αυτές κατηγορίες φυτών συνοψίζονται παρακάτω.

α. κατανομή του βορίου μεταξύ οργάνων διαφορετικής ηλικίας καθώς και μεταξύ οργάνων που διαφέρουν στο ρυθμό διαπνοής

Σε ορισμένα φυτά υπό συνθήκες επάρκειας βορίου στο μέσο καλλιέργειας η συγκέντρωση βορίου αυξάνεται από τα νεαρά προς τα ώριμα όργανα^{312,313}. Ωστόσο, στα φυτά αυτά οι παραπάνω διαφορές εξομαλύνονται ή ανατρέπονται όταν η εξωτερική τροφοδοσία με βόριο είναι ανεπαρκής^{207,313}. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται σε ορισμένα είδη φυτών όπως τα *Raphanus sativus*³¹², *Brassica napus*³¹⁰ και *Brassica oleracea*^{311,306}, στα οποία η συγκέντρωση του βορίου παρουσιάζεται υψηλότερη στα νεώτερα συγκριτικά με τα ώριμα όργανα όταν το στοιχείο βρίσκεται σε έλλειψη.

Είναι γεγονός ότι η τροφοδοσία των αναπτυσσόμενων οργάνων πραγματοποιείται κυρίως μέσω των αγγείων του ηθμού παρά του ξύλου²⁴⁷. Συνεπώς, η μόνη εξήγηση που μπορεί να δοθεί για την παραπάνω κατανομή του στοιχείου είναι ότι στα φυτά αυτά το βόριο δεν διακινείται μόνο μέσω των αγγείων του ξύλου αλλά και μέσω αυτών του ηθμού. Στην περίπτωση της αποκλειστικής διακίνησης του βορίου μέσω των αγγείων του ξύλου, η περιεκτικότητα των ιστών σε βόριο θα έπρεπε να είναι πάντα υψηλότερη στα παλαιότερα όργανα²⁵. Δεδομένα σχετικά με την κατανομή του βορίου μεταξύ ώριμων φύλλων και ανθέων ή καρπών υποδηλώνουν επίσης την ευκινησία του στοιχείου αυτού στον ηθμό^{56,82,83}.

Μελέτες με ισότοπα (¹⁰B) έδειξαν ότι μετά από εδαφική ή διαφυλλική λίπανση βορίου κατά το σχηματισμό ανθικών οργάνων, τόσο το προϋπάρχον όσο και το απορροφημένο βόριο επαναδιανέμονται μέσω άμεσης ή έμμεσης μεταφοράς από το ξύλο στον ηθμό, ώστε να ικανοποιηθούν οι ανάγκες των

αναπαραγωγικών οργάνων²⁰⁷. Ανάλογοι πειραματικοί χειρισμοί έδειξαν ότι τα αποθέματα βορίου των αναπαραγωγικών οργάνων προέρχονται τόσο από άμεσα απορροφούμενο όσο και από επανακινητοποιημένο βόριο από τα παλαιότερα όργανα του φυτού. Η τροφοδοσία των αναπτυσσόμενων οργάνων στα φυτά *Lupinus albus* και *Brassica oleracea* var. *italica* ικανοποιείται από την τρέχουσα απορρόφηση βορίου με απευθείας μετακίνηση από τα αγγεία του ξύλου σε αυτά του ηθμού³⁰⁸. Ο μηχανισμός αυτός τροφοδοσίας βορίου των αναπτυσσόμενων οργάνων φαίνεται ότι λειτουργεί και στο φυτό *Arabidopsis thaliana*. Στο φυτό αυτό θεωρείται πιθανή η εμπλοκή ενός πρωτεϊνικού παράγοντα μεταφοράς ο οποίος ευθύνεται για τη διασύνδεση ξύλου – ηθμού³³³.

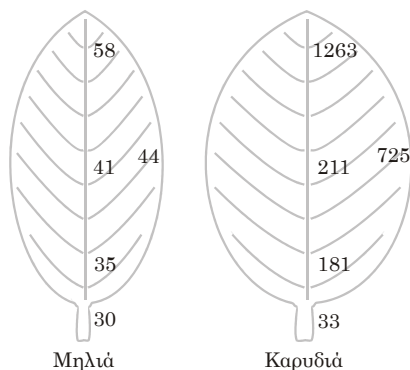
Σε ορισμένα είδη παρατηρείται υψηλή συγκέντρωση βορίου σε όργανα όπως οι καρποί και τα σπέρματα, τα οποία δεν διαπνέουν έντονα, γεγονός που αποτελεί ένδειξη για σημαντική κινητικότητα του βορίου στον ηθμό²⁸.

β. η κατανομή του βορίου σε δεδομένο φύλλο με κατεύθυνση προς τα σημεία εξάτμισης του νερού μέσω της διαπνοής

Σε ορισμένα φυτά η κατανομή του βορίου στα φύλλα σχετίζεται με τις απολήξεις του διαπνευστικού ρεύματος με συνέπεια να παρατηρείται υπερβολική συγκέντρωση βορίου στην περιφέρεια συγκριτικά με τη βάση των φύλλων²³⁷. Αντίθετα, σε άλλα φυτά η κατανομή του βορίου στο έλασμα είναι σχετικά ομοιόμορφη (Εικόνα II.3).

γ. η τοπολογία εμφάνισης των συμπτωμάτων τροφοπενίας ή τοξικότητας

Τα τυπικά συμπτώματα τροφοπενίας και τοξικότητας βορίου εμφανίζονται στα νεαρά και ώριμα όργανα αντίστοιχα^{237,238,309}. Σε νεαρά φυτά των ειδών *Cucurbita* sp. και *Lycopersicon esculentum*, τα συμπτώματα της τροφοπενίας βορίου εμφανίζονται ταχύτατα στα αναπτυσσόμενα όργανα αμέσως μετά την απομάκρυνση του βορίου από το θρεπτικό μέσο^{147,236}. Η συμπεριφορά αυτή δικαιολογεί και τον χαρακτηρισμό του βορίου ως δυσκίνητου θρεπτικού στοιχείου²⁵. Ωστόσο, τα παραπάνω τυπικά



Εικόνα Π.3. Συγκέντρωση βορίου (mg kg^{-1} ξ.β.) σε διαφορετικά σημεία του ελάσματος και στο μίσχο φύλλου μηλιάς και καρυδιάς που αναπτύχθηκαν κάτω από τις ίδιες εδαφοκλιματικές συνθήκες. Η καρυδιά αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα φυτού με χαμηλή κινητικότητα βορίου ενώ αντίθετα στη μηλιά παρατηρείται σημαντική επανεκκίνηση βορίου²⁸.

συμπτώματα τροφopenίας ή τοξικότητας βορίου δεν παρατηρούνται σε είδη των γενών *Prunus*, *Pyrus* και *Malus* καθώς και σε ένα αριθμό άλλων φυτικών ειδών^{28,31}.

δ. η συγκέντρωση του βορίου στον ηθμό και η συσχέτιση της με την περιεκτικότητα σε βόριο των αναπτυσσομένων οργάνων

Σύμφωνα με τον Shelp^{305, 306}, η συγκέντρωση του βορίου στο χυμό του ηθμού φυτών όπως τα *Brassica oleracea* var. *italica* και *Lupinus albus* τα οποία αναπτύσσονται σε επάρκεια βορίου, κυμαίνεται σε τιμές από 0,3–0,4 mM. Παρόλο ότι η τιμή αυτή είναι μια τάξη μεγέθους μικρότερη από την αντίστοιχη της συγκέντρωσης του βορίου στον ανιόντα χυμό, φαίνεται ότι η συγκέντρωση του βορίου στον ηθμό σχετίζεται ικανοποιητικά με τη συγκέντρωση του βορίου στα αναπτυσσόμενα όργανα. Επομένως η τροφοδοσία μέσω του ηθμού μπορεί να θεωρείται επαρκής στα είδη αυτά²⁸. Πράγματι, σε είδη στα οποία το βόριο διακινείται μέσω του ηθμού³⁰⁵, η τροφοδοσία των νεαρών και αναπτυσσομένων οργάνων τους με βόριο μέσω της οδού αυτής είναι συγκρίσιμη με αυτή στοιχείων όπως το άζωτο, ο φώσφορος και το κάλιο, στοιχεία τα οποία παραδοσιακά θεωρούνται ως ευκίνητα στον ηθμό (βλ.

ενότητα I.5.2).

ε. το πρότυπο αναδιανομής εξωγενώς χορηγούμενου βορίου με τη χρήση του σταθερού ισότοπου ¹⁰B

Σε φυτικά είδη στα οποία το βόριο παρουσιάζεται ως δυσκίνητο, η εξωγενής χορήγηση βορίου έχει ως αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό οργάνων στα οποία έγινε ο χειρισμός (συνήθως φύλλα που έχουν δεχθεί διαφυλλική λίπανση) αλλά όχι οργάνων τα οποία βρίσκονται σε άλλο σημείο του φυτού²⁶. Ωστόσο είναι γνωστό ότι σε πολλά είδη των γενών *Prunus*, *Pyrus* και *Malus*, οι φθινοπωρινοί ψεκασμοί με βόριο βελτιώνουν την θρεπτική κατάσταση των αναπαραγωγικών οργάνων που αναπτύσσονται την επόμενη άνοιξη²⁸.

Άμεσες αποδείξεις της κινητικότητας του βορίου στον ηθμό προέρχονται από πειράματα στα οποία χρησιμοποιείται το ισότοπο ¹⁰B σε συνδυασμό με σύγχρονες τεχνικές φασματομετρίας μάζας^{26,32,126,127,257}. Τα πειράματα αυτά υποδεικνύουν ότι, η διακίνηση του ισότοπου είναι ταχύτατη. Σύμφωνα με τους Picchioni et al.²⁵⁷, η διακίνηση συγκεκριμένων ποσοτήτων απορροφημένου βορίου από τα φύλλα προς άλλα όργανα του φυτού ολοκληρώνεται σε ποσοστό 50% μέσα σε διάστημα 6 ωρών. Οι Brown and Hu²⁶ διαπίστωσαν ότι η αναδιανομή εξωγενώς χορηγούμενου ¹⁰B από τα ψεκασμένα φύλλα προς άλλα όργανα των ειδών *Malus sylvestris*, *Prunus amygdalus* και *Prunus persica* ολοκληρώθηκε σε διάστημα έως 15 ημερών, αλλά δεν παρατηρήθηκε αντίστοιχη αναδιανομή σε φυτά των ειδών *Ficus carica*, *Pistacia vera* και *Corylis avelana*.

II.5.2. Η Ικανότητα Αναδιανομής του

Βορίου Σχετίζεται με την Παρουσία

Σακχαροαλκοολών στον Ηθμό

Η ύπαρξη σημαντικών διαφορών ως προς την ικανότητα διακίνησης βορίου στον ηθμό μεταξύ φυτικών ειδών μπορεί να αποδοθεί σε διαφορές στη σύσταση του χυμού του ηθμού και συγκεκριμένα στη συμμετοχή ή μη σακχαροαλκοολών^{31,26,8,29}. Η ευχερής και ταχεία μετακίνηση του βορίου στον ηθμό

σχετίζεται με τη δημιουργία συμπλόκων του στοιχείου με πολυόλες^{28,150,8,29}. Αναλύσεις του χυμού των νεκταρίων και του ηθμού των φυτών *Prunus persica* και *Apium graveolens* με τη βοήθεια ευαίσθητων τεχνικών φασματομετρίας μάζας²⁵⁰ έδειξαν την παρουσία συμπλόκων του βορίου με τις σακχαροαλκοόλες μαννιτόλη, σορβιτόλη και φρουκτόζη ενώ δεν ανιχνεύθηκε βόριο σε ελεύθερη μορφή¹⁵⁰.

Η ύπαρξη των συμπλόκων αυτών σχετίζεται άμεσα με τη δυνατότητα διακίνησης του βορίου στον ηθμό (και συνεπώς με τη δυνατότητα αναδιανομής του σε όργανα τα οποία δεν έχουν άλλη οδό τροφοδοσίας εκτός του ηθμού). Πράγματι, σε όλα τα φυτά στα οποία έχει διαπιστωθεί σημαντική κινητικότητα βορίου στον ηθμό ένα τουλάχιστον από τα κύρια διακινούμενα φωτοσυνθετικά προϊόντα είναι κάποια σακχαροαλκοόλη^{28,188,29,31,26}. Ανάλογα συμπεράσματα εξάγονται για τα φυτικά είδη στα οποία το βόριο εμφανίζεται ως δυσκίνητο θρεπτικό στοιχείο. Πρόκειται για φυτά στα οποία τα διακινούμενα φωτοσυνθετικά προϊόντα δεν περιλαμβάνουν σακχαροαλκοόλες²⁸.

Η άμεση πειραματική απόδειξη της ύπαρξης μηχανισμού διακίνησης βορίου στον ηθμό υπό μορφή συμπλόκων με σακχαροαλκοόλες δόθηκε με τη χρήση διαγονιδιακών φυτών καπνού τα οποία, σε αντίθεση με τα φυτά αγρίου τύπου, είχαν την ικανότητα να συνθέτουν σορβιτόλη^{8,29}. Η ύπαρξη σορβιτόλης είχε ως συνέπεια την αύξηση της ικανότητας διακίνησης βορίου^{8,29} και την συνακόλουθη αύξηση της ανθεκτικότητας σε καθεστώς περιορισμένης διαθεσιμότητας βορίου των διαγονιδιακών φυτών συγκριτικά με τα φυτά αγρίου τύπου ακόμα και αν η χορήγηση βορίου γινόταν αποκλειστικά μέσω των ώριμων φύλλων²⁹.

Είναι προφανές ότι ο διαχωρισμός των φυτών σε δύο ομάδες με βάση τη κινητικότητα του βορίου δεν είναι πάντοτε ευχερής, αφού παρατηρούνται πολυάριθμες ενδιάμεσες περιπτώσεις διακίνησης βορίου, οι οποίες μπορούν να αποδοθούν στη διακίνηση περιορισμένων ποσοτήτων σακχαροαλκοολών στον ηθμό. Για παράδειγμα, η περιορισμένη διακίνηση βορίου στα κωνοφόρα είδη *Pinus sylvestris* και *Picea abies* στα οποία το κύριο

διακινήσιμο σάκχαρο είναι η σακχαρόζη, μπορεί να σχετίζεται με την ύπαρξη μικρών ποσοτήτων μαννιτόλης και πινιτόλης στη σύσταση του χυμού του ηθμού¹⁸⁸.

Παρόλο που η έξοδος του βορίου από τα ώριμα φύλλα προς στον ηθμό υπό μορφή συμπλόκων με σακχαροαλκοόλες αποτελεί πέραν πάσης αμφιβολίας τον κύριο μηχανισμό επαναδιανομής των αποθεμάτων του στοιχείου προς τα αναπτυσσόμενα όργανα, ορισμένα πειραματικά δεδομένα δεν αποκλείουν και την ύπαρξη εναλλακτικών μηχανισμών διακίνησης του βορίου³²⁵.

II.5.3. Η Δυνατότητα Διακίνησης του Βορίου στον Ηθμό Σχετίζεται με τις Απαιτήσεις των Φυτών σε Βόριο

Η διαφορετική ικανότητα εγκλιματισμού μεταξύ ποικιλιών διαφόρων φυτών στην έλλειψη ή ανεπαρκή διαθεσιμότητα εδαφικού βορίου μπορεί να αποδοθεί στη διαφορετική ικανότητα αναδιανομής βορίου μέσω του ηθμού^{28,29}. Η ικανότητα αναδιανομής ενός θρεπτικού στοιχείου αποτελεί μια κρίσιμη φυσιολογική παράμετρο η οποία επιτρέπει τη βελτιστοποίηση της χρήσης των αποθεμάτων του σε επιμέρους όργανα και ιστούς. Η ικανότητα αναδιανομής βορίου μέσω του ηθμού βοηθά την κάλυψη των αναγκών των αναπτυσσόμενων οργάνων, καθιστώντας την μερικώς ή πλήρως ανεξάρτητη της διαπνευστικής λειτουργίας. Γι' αυτό το λόγο οι τιμές οριακής συγκέντρωσης βορίου στα φύλλα ειδών τα οποία παρουσιάζουν ικανότητα αναδιανομής του στοιχείου μέσω του ηθμού είναι εμφανώς χαμηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές ειδών στα οποία το βόριο παρουσιάζεται ως δυσκίνητο (Πίνακας Π.2). Από την άλλη πλευρά, δυσχέρειες στην αναδιανομή του βορίου στα επιμέρους όργανα και ιστούς έχουν ως συνέπεια αφενός μεν την αδυναμία απόδοσης των αποθεμάτων στους αναπτυσσόμενους ιστούς υπό συνθήκες χαμηλής τροφοδοσίας και αφετέρου τη συσσώρευση βορίου στα παλαιότερα όργανα η οποία μπορεί να πάρει υψηλές τιμές.

Πίνακας II.2. Τα όρια επάρκειας στην περιεκτικότητα βορίου ορισμένων καλλιεργούμενων δένδρων²⁸⁶.

φυτικό είδος	περιοχή συγκεντρώσεων (mg kg ⁻¹)	
	οριακή	επάρκεια
<i>είδη χωρίς ικανότητα διακίνησης βορίου</i>		
<i>Pistacia vera</i>		120–250
<i>Ficus carica</i>		55–145
<i>Vitis vinifera</i>	26–34	35–70
<i>Coffea arabica</i>	25–39	40–100
<i>Corylus avellana</i>	25–30	31–75
<i>Citrus spp.</i>	21–30	31–100
<i>Juglans regia</i>	20–35	35–300
<i>είδη με σημαντική ικανότητα διακίνησης βορίου</i>		
<i>Prunus avium</i>	16–19	20–60
<i>Malus domestica</i>	15–20	21–40
<i>Prunus armeniaca</i>	15–19	20–60
<i>Prunus persica</i>	15–19	20–60
<i>Olea europaea</i>	14–18	19–150
<i>Prunus amygdalus</i>	12–24	25–65
<i>Musa spp.</i>	10–19	20–80
<i>Pyrus communis</i>	10–19	20–40

II.6. Ο Ρόλος του Βορίου στην Ανάπτυξη και Διαφοροποίηση των Ανωτέρων Φυτών

Η έλλειψη βορίου προκαλεί παρεμπόδιση της επιμήκυνσης των αναπτυσσόμενων κυττάρων^{147,70}, η οποία γίνεται ορατή μόλις μετά από τρεις ημέρες από τη μεταφορά των κυττάρων σε μέσο ελεύθερο βορίου¹⁴⁷. Η επίδραση αυτή παρουσιάζεται εντονότερη στα κύτταρα του ριζικού συστήματος^{80,211,307} και μπορεί να παρατηρηθεί μόλις μετά από μερικές ώρες από την απομάκρυνση του βορίου από το θρεπτικό διάλυμα^{140,80,70}. Οι διαταραχές αυτές μπορούν να ερμηνεύσουν την παρεμπόδιση της αύξησης των μεριστωματικών ιστών, που αποτελεί ένα από τα πιο χαρακτηριστικά συμπτώματα της τροφοπενίας βορίου^{80,211}. Η ανάπτυξη των κορυφαίων μεριστωματικών ιστών του υπέργειου τμήματος εξαρτάται από την ομαλή τροφοδοσία σε βόριο. Σε περιπτώσεις πλήρους έλλειψης του στοιχείου παρατηρείται ακόμα και ολική νέκρωση του κορυφαίου μεριστώματος. Τα φύλλα δεν αναπτύσσονται ομαλά και αδυνατούν να εκπτυχθούν πλήρως^{262,147,152}. Τα φύλλα αποκτούν αρχικά σκούρο πράσινο χρώμα, ακολούθως

αναπτύσσουν καστανούς χρωματισμούς και σε ακραίες συνθήκες έλλειψης εμφανίζουν χλωρώσεις και απορρίπτονται^{70,211}.

Εκτός από την παρεμπόδιση της επιμήκυνσης των αναπτυσσόμενων κυττάρων, η τροφοπενία βορίου επιδρά και επί της κυτταρικής διαίρεσης, κάτι που έχει διαπιστωθεί σε ακρορίζια ηλιανθού²²⁸. Πιστεύεται ότι η επίδραση αυτή δεν είναι πρωτογενής, αφού έπεται αυτής της παρεμπόδισης της επιμήκυνσης⁷⁰. Επίσης έχει αναφερθεί ότι η έλλειψη βορίου προκαλεί αλλαγές στη συγκρότηση του κυτταροσκελετού μέσω αύξησης των επιπέδων των δομικών πρωτεϊνών ακτίνης και σωληνίνης³⁷².

Οι αναφορές σχετικά με τον πιθανό ρόλο του βορίου στην ανάπτυξη του αγγειακού συστήματος είναι πολύ περιορισμένες⁷⁰. Ο Lewis¹⁸⁹ προτείνει ότι το βόριο σε συνδυασμό με την αυξίνη, ενδέχεται να εμπλέκεται στην λιγνινοποίηση και την διαφοροποίηση των αγγείων του ξύλου, αλλά σε γενικές γραμμές οι αναφορές στη βιβλιογραφία είναι αντικρουόμενες σχετικά με τον πιθανό ρόλο του βορίου στην διαδικασία διαφοροποίησης των αγωγών ιστών⁷⁰. Ωστόσο υπάρχουν αναφορές σύμφωνα με τις οποίες η τροφοπενία βορίου προκαλεί ανωμαλίες στην ανάπτυξη των αγγείων του ξύλου και του ηθμού⁷⁰. Οποσδήποτε, απαιτούνται περισσότερα πειραματικά δεδομένα για να διασαφηνιστεί ο πιθανός ρόλος του βορίου στη διαδικασία ανάπτυξης των αγωγών ιστών.

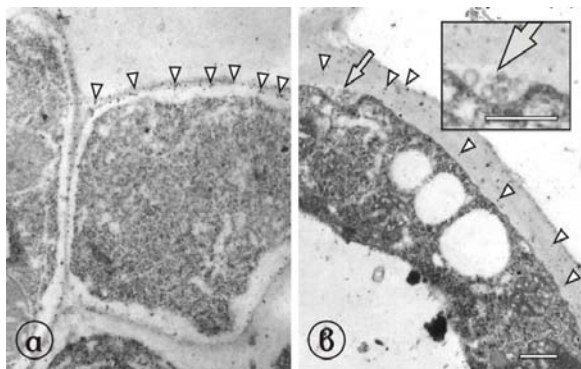
II.7. Το Βόριο Αποτελεί Δομικό και Λειτουργικό Παράγοντα του Κυτταρικού Τοιχώματος και της Κυτταροπλασματικής Μembrάνης

II.7.1. Το Βόριο Συμμετέχει στην Δομή και Λειτουργία των Κυτταρικών Τοιχωμάτων

Η στενή σχέση του βορίου με τα πολυμερή των κυτταρικών τοιχωμάτων είναι γνωστή εδώ και πολλές δεκαετίες²⁵. Το ποσοστό του βορίου που εντοπίζεται

στο κυτταρικό τοίχωμα είναι σημαντικό¹⁴⁷ και σε περιπτώσεις ανεπαρκούς τροφοδοσίας μπορεί να φτάσει μέχρι και το 95–98% του συνολικού κυτταρικού βορίου^{147,201,216}. Η ποσότητα του βορίου που εντοπίζεται στα κυτταρικά τοιχώματα εξαρτάται από το είδος του φυτού και τις συνολικές απαιτήσεις σε βόριο^{149,218}.

Ένα από τα χαρακτηριστικότερα συμπτώματα της τροφοπενίας βορίου σε υποκυτταρικό επίπεδο αφορά σε αλλοιώσεις της λεπτής δομής και των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του κυτταρικού τοιχώματος και του μεσοτοιχίου^{147,201}. Στις συνθήκες αυτές, τα κυτταρικά τοιχώματα εμφανίζονται διογκωμένα^{217,219,147}, ακανόνιστα¹⁴⁷ και με περισσότερο αδρή υφή²¹⁷ (Εικόνα II.4). Οι αλλοιώσεις στη λεπτή δομή συνοδεύονται και από βραχυπρόθεσμες⁹⁴ αλλά και μακροπρόθεσμες¹⁴⁷ αλλαγές στα μηχανικά χαρακτηριστικά των κυτταρικών τοιχωμάτων, όπως στην ελαστικότητα⁹⁴ και διάμετρο των πόρων⁹⁷ αλλά και στην υδραυλική αγωγιμότητα των κυττάρων⁹⁴. Τα συμπτώματα αυτά κάνουν την εμφάνισή τους μέσα σε σύντομο χρονικό



Εικόνα II.4. Ανοσολογικός εντοπισμός RG-II στο κυτταρικό τοίχωμα κυττάρων σειράς BY-2 του φυτού *Nicotiana tabacum*. **α.** κύτταρα σε μέσο με κανονική συγκέντρωση βορίου (1 mg B l⁻¹) και **β.** επιλεγμένα κύτταρα της ίδιας σειράς που έχουν την ικανότητα να διαιρούνται με τον ίδιο ρυθμό σε μέσο με μικρή συγκέντρωση βορίου (0,01 mg B l⁻¹). Με τις κεφαλές βελών σημειώνονται τα σωματίδια του κολλοειδούς χρυσού που υποδηλώνουν την παρουσία ομάδων RG-II. Στην ένθεση παρουσιάζεται λεπτομέρεια της εικόνας β. όπου διακρίνονται μεμβρανικά κυστιδία

(βέλος). Κλίμακα 250 nm²¹⁹.

διάστημα από τη διακοπή της τροφοδοσίας με βόριο¹⁴⁰.

Οι παραπάνω εντυπωσιακά ταχείες αντιδράσεις των φυτικών κυττάρων υποδηλώνουν ότι οι επιπτώσεις από την έλλειψη βορίου στην δομή και λειτουργία των κυτταρικών τοιχωμάτων είναι άμεσες και δεν σχετίζονται με κάποιο μεταβολικό μηχανισμό¹⁴⁷. Ο λειτουργικός ρόλος του βορίου στην επιμήκυνση των κυττάρων (Εικόνα II.4) πιστεύεται ότι σχετίζεται με τα χαρακτηριστικά ελαστικότητας του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος και στον έλεγχο που ασκεί στην εναπόθεση του δευτερογενούς κυτταρικού τοιχώματος^{219,70} και την διαμόρφωση του τελικού μεγέθους και σχήματος των κυττάρων⁷⁰.

Τα συμπτώματα της έλλειψης σε αναπτυσσόμενους φυτικούς ιστούς μπορούν να ερμηνευτούν αν θεωρηθεί ότι το βόριο συμμετέχει στην οργάνωση των πολυμερών συστατικών των αναπτυσσόμενων κυτταρικών τοιχωμάτων, διαμορφώνοντας με τον τρόπο αυτό τα μηχανικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά τους. Η διαπίστωση αυτή στηρίζεται στα αποτελέσματα των Brown και Hu²⁷ σύμφωνα με τα οποία η έλλειψη (λόγω επανεκκίνησης προς τους αναπτυσσόμενους ιστούς) του βορίου στα ώριμα όργανα τους είδους *Prunus salicina* δεν συνοδεύεται από ανάπτυξη συμπτωμάτων ή διαταραχή φυσιολογικών λειτουργιών ενώ το αντίθετο συμβαίνει όταν το βόριο απουσιάζει από τα αναπτυσσόμενα όργανα²⁷. Ωστόσο η εμπλοκή του βορίου στη συγκρότηση των κυτταρικών τοιχωμάτων αδυνατεί να εξηγήσει το σύνολο των πειραματικών δεδομένων σχετικά με τις επιπτώσεις της έλλειψης βορίου στα φυτά. Επιπρόσθετα, νεότερα δεδομένα υποστηρίζουν το ζωτικό ρόλο του στοιχείου αυτού σε ζωικούς οργανισμούς των οποίων βέβαια τα κύτταρα στερούνται κυτταρικού τοιχώματος ενώ μπορεί να χαρακτηριστεί και ως ευνοϊκός διατροφικός παράγοντας για τον άνθρωπο²⁵.

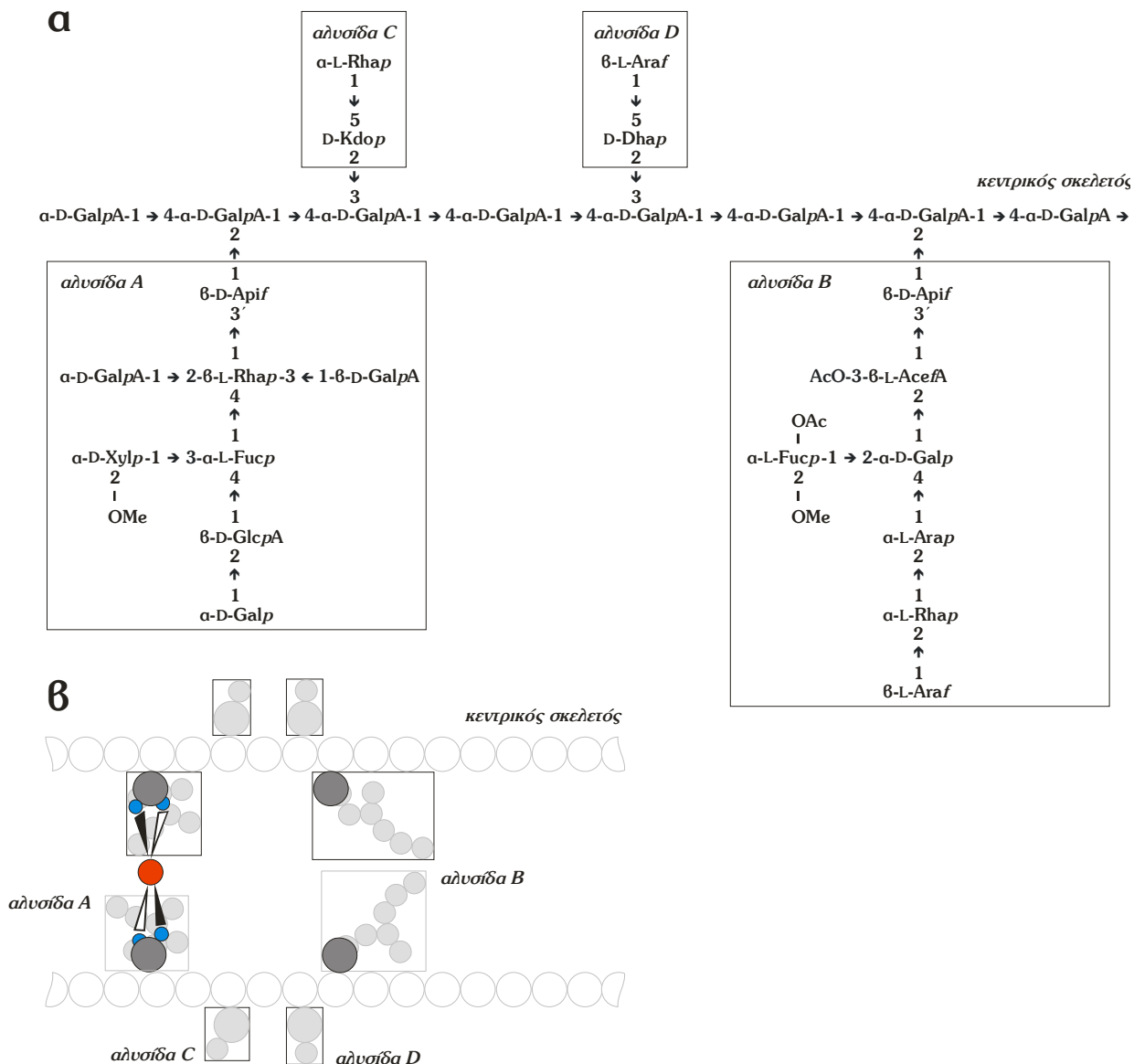
Πρόσφατα δεδομένα έδειξαν ότι το βόριο συμμετέχει στη δημιουργία πλάγιων διακλαδώσεων μεταξύ των δομικών στοιχείων του κυτταρικού

τοιχώματος²⁰¹. Οι πλάγιες διακλαδώσεις συμβάλλουν στη διατήρηση της μηχανικής αντοχής και της ελαστικότητας των κυτταρικών τοιχωμάτων κατά τη διάρκεια της κυτταρικής επιμήκυνσης, χαρακτηριστικό που επιτρέπει την προοδευτική αύξηση των διαστάσεων των κυττάρων χωρίς την ανάγκη της συνεχούς διάσπασης και αναδημιουργίας ομοιοπολικών δεσμών³³⁸. Η δημιουργία των πλάγιων διακλαδώσεων πραγματοποιείται μέσω διεστέρων του βορικού οξέος με τις ομάδες υδροξυλίου των δομικών μονάδων των πολυσακχαριτών των κυτταρικών τοιχωμάτων (κυτταρίνη, ημικυτταρινικά και πηκτινικά πολυμερή). Τα πιο ισχυρά σύμπλοκα δημιουργούνται με φουρανόζες διαμόρφωσης *cis*-διόλης όπως η ριβόζη και η απιόζη. Η απιόζη αποτελεί δομικό μόριο των συστατικών των κυτταρικών τοιχωμάτων σε μια σειρά μονοκότυλων και δικότυλων φυτών και αποτελεί το κύριο συστατικό για την δημιουργία των πλάγιων διακλαδώσεων στα κυτταρικά τοιχώματα²⁰¹. Απόδειξη για την ύπαρξη αυτών των συμπλόκων ήρθε από τους Matoh et al.²¹⁶ οι οποίοι πρώτοι απομόνωσαν ένα σύμπλοκο ραμνογαλακτουρονάνης – βορικού οξέος με μοριακό βάρος 7,5 kDa από τις ρίζες του φυτού *Raphanus sativus*. Η διερεύνηση της σχέσης βορίου – πηκτινής σε έναν αριθμό ειδών έδωσε πολύ ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ βορίου, του ουρονικού κλάσματος και των πηκτινικών συστατικών στα κυτταρικά τοιχώματα¹⁴⁹. Η πρώτη προσπάθεια απομόνωσης και δομικού χαρακτηρισμού ενός συμπλόκου βορίου – πηκτινικών συστατικών έγινε από τους Kobayashi et al.¹⁷² οι οποίοι ανέφεραν ότι δύο μονάδες ραμνογαλακτουρονάνης II (RG-II) σχηματίζουν σύμπλοκο με ένα μόριο βορικού οξέος στα κυτταρικά τοιχώματα ενώ οι ίδιοι ερευνητές αργότερα πραγματοποίησαν την *in vitro* ανακατασκευή του συμπλόκου χρησιμοποιώντας απομονωμένα μονομερή RG-II¹⁷¹. Στη συνέχεια, ο ανοσολογικός εντοπισμός του RG-II (και κατ' επέκταση του συμπλόκου B-RG-II) έδωσε πληροφορίες για τον εντοπισμό του RG-II και των σημείων σύνδεσης με το βορικό οξύ. Οι εικόνες από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξαν ότι το βορικό οξύ αποτελεί τον παράγοντα οργάνωσης των εκκρινόμενων υλικών κατασκευής του δευτερογενούς

κυτταρικού τοιχώματος^{334,220} (Εικόνα II.4). Επίσης πειράματα με *in vitro* καλλιέργεια κυττάρων σε μέσο ελλιπές σε βόριο έδειξαν ότι η χορήγηση βορικού οξέος προκαλεί ταχύτατη (εντός 10 λεπτών) μείωση των διαστάσεων των πόρων του κυτταρικού τοιχώματος με ταυτόχρονη δέσμευση του βορικού οξέος στο κυτταρικό τοίχωμα και τη δημιουργία του διμερούς συμπλόκου dRG-II-B⁹⁷. Η έλλειψη βορίου προκαλεί μεταβολή στο ποσοστό των ομάδων RG-II της πηκτινής που σχηματίζουν σύμπλοκο με το βορικό οξύ ως διμερή ως προς τις μονομερείς μονάδες RG-II²¹⁹. Ισχυρή ένδειξη η οποία επιβεβαίωσε τον ρόλο των πλάγιων διακλαδώσεων στη δομική σταθερότητα του κυτταρικού τοιχώματος αποτελεί η διαπίστωση ότι φυτά *Arabidopsis thaliana* των μεταλλαγμένων γονότυπων *mur 1-1* και *mur 1-2* παρουσιάζουν φαινότυπους τυπικούς φυτών που πάσχουν από έλλειψη βορίου²³⁹. Τα μεταλλαγμένα φυτά χαρακτηρίζονται από πλήρη έλλειψη L-φουκόζης η οποία στο πολυμερές της RG-II (Εικόνα II.5) έχει αντικατασταθεί από μονάδες L-γαλακτόζης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, η δημιουργία πλάγιων διακλαδώσεων των αλυσίδων RG-II στα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών *mur-1* να περιορίζεται στο 50% αυτών των φυτών άγριου τύπου. Τα παραπάνω φαινοτυπικά χαρακτηριστικά, αναιρούνται με χορήγηση συμπληρωματικής ποσότητας βορίου ή εξωγενούς L-φουκόζης²³⁹. Θα πρέπει να τονιστεί στο σημείο αυτό ότι η έλλειψη βορίου δεν επηρεάζει την παραγωγή πολυσακχαριτών στα κυτταρικά τοιχώματα²¹⁹ αλλά ούτε την παραγωγή των μονάδων RG-II²¹⁹ (Εικόνα II.6).

Η δημιουργία συμπλόκων βορίου – πολυσακχαριτών σχετίζεται με την δέσμευση ιόντων ασβεστίου και μαγνησίου στο κυτταρικό τοίχωμα. Έχει διαπιστωθεί ότι υπό τροφопενία βορίου, το κυτταρικό τοίχωμα περιέχει χαμηλότερες ποσότητες ασβεστίου^{369,370,219}, ενώ η μεταφορά ριζών του φυτού *Vicia faba* σε μέσο ελεύθερο βορίου έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της απελευθέρωσης ιόντων ασβεστίου στον αποπλαστικό χώρο⁹⁴. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων αυτών έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η δημιουργία συμπλόκων μεταξύ του βορίου και των πολυμερών της πηκτινής ή των πλάγιων μονάδων των γλυκοπρωτεϊνών του

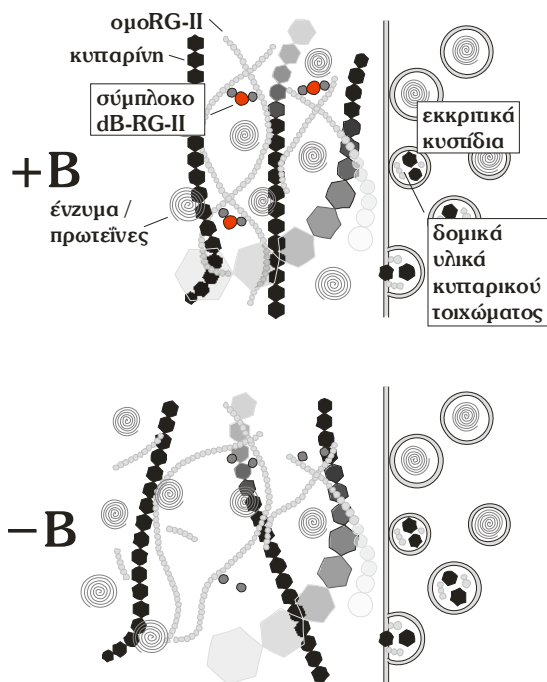
κυτταρικού τοιχώματος, δημιουργεί θέσεις οποία ανταγωνίζονται μεταξύ τους για τις θέσεις χηλιοποίησης για ιόντα ασβεστίου και μαγνησίου τα



Εικόνα 11.5. Μερική δομή της ραμνογαλακτουρονάνης-ΙΙ. **α.** Ο κεντρικός σκελετός της RG-ΙΙ αποτελείται από μονάδες α -D-γαλακτοσυλο-πυρανοσυλ-ουρονικού οξέος (GalpA) στο οποίο ενώνονται τέσσερις πλάγιες αλυσίδες ολιγοσακχαριτών (A-D). Η A-αλυσίδα ενώνεται στον κεντρικό σκελετό με μια μονάδα β -D-απιουσυλ-φουρανοζιτή (Arif). Οι ομάδες Arif της A-αλυσίδας συμμετέχουν ανά δύο στο σχηματισμό του συμπλόκου RG-ΙΙ-B-RG-ΙΙ (**β**) Λαμβάνοντας υπ' όψη ότι οι γλυκοφουρανόζες δημιουργούν τα σταθερότερα διεστερικά σύμπλοκα με το βορικό οξύ στην συγκεκριμένη δομή η απόζη αποτελεί τον μόνο γλυκοφουρανοζιτή με ελεύθερες γειτονικές υδροξύλομάδες με *cis*-διαμόρφωση^{239,240}. Άλλες συντιμήσεις: AcefA, 3-C-καβροξυ-5-δεοξυ-L-ξυλοφουρανοζιτής; Araf, αραβινο-φουρανοζιτής; Arap, αραβινο-πυρανοζιτής; Dhap, 3-δεοξυ-D-λυξο-επιτυλο-πυρανοσυλ-αρικό οξύ; Fucp, φουκο-πυρανοζιτής; Galp, γαλακτο-πυρανοζιτής; GlcpA, γλυκο-πυρανοσυλ-ουρονικό οξύ; Kdor, 3-δεοξυ-D-μαννο-οκτυλο-πυρανοσυλονικό οξύ; 2-O-MeFucp, 2-O-μεθυλο-

φουκο-πυρανοζίνης; 2-*O*-MeXylp, 2-*O*-μεθυλο-ξυλο-πυρανοζίνης; Rhaρ, ραμνο-πυρανοζίνης; OAc, *O*-ακετύλιο.

δέσμευσης^{33b}. Μελέτες στα κυτταρικά τοιχώματα του φυτού *Raphanus sativus* έδειξαν ότι, σε συνθήκες ανεπάρκειας ασβεστίου, η *in vitro* σταθερότητα του συμπλόκου RG-II-B μειώνεται¹⁷³. Η κρίσιμη συγκέντρωση βορικού οξέος για την υποστήριξη της ανάπτυξης των κυτάρων του *Pinus radiata*



Εικόνα II.6. Σχηματική αναπαράσταση της συμμετοχής του βορίου στη διαμόρφωση της δομής και της λειτουργίας των κυτταρικών τοιχωμάτων. Υπό συνθήκες παρουσίας βορίου (+B), ο σχηματισμός διεστερικών δεσμών μεταξύ του βορικού οξέος (κόκκινοι κύκλοι) και των αλυσίδων της RG-II σταθεροποιεί τη δομή του κυτταρικού τοιχώματος και περιορίζει τη διάμετρο των πόρων και επομένως τη διέλευση μακρομορίων όπως οι πρωτεΐνες. Στις συνθήκες αυτές, η μεταφορά πρόδρομων δομικών συστατικών προς τα σημεία εναπόθεσης γίνεται απρόσκοπτα. Τα χαρακτηριστικά αυτά συμβάλλουν στην φυσιολογική ανάπτυξη του κυτταρικού τοιχώματος και την κυτταρική αύξηση. Υπό συνθήκες απουσίας βορίου (-B) η δημιουργία του πλέγματος των αλυσίδων κυτταρίνης και RG-II διαταράσσεται ενώ η αύξηση του μεγέθους των πόρων ευνοεί την απώλεια των πρόδρομων δομικών συστατικών και των αποπλαστικών πρωτεϊνικών μορίων²⁵.

αυξάνεται δραματικά όταν μειώνεται η συγκέντρωση ασβεστίου με παράλληλη αύξηση της συγκέντρωσης μαγνησίου^{33b}. Το μαγνήσιο ενδέχεται να δρα ανταγωνιστικά για την ίδια θέση δέσμευσης στις αλυσίδες των πολυμερών των κυτταρικών τοιχωμάτων. Σύμφωνα με τα παραπάνω, θεωρείται πιθανό ότι τα ιόντα ασβεστίου υποβοηθούν²¹⁵ ή σταθεροποιούν¹⁷³ το σχηματισμό του διμερούς dRG-II-B, ωστόσο δεν μπορούν να υποκαταστήσουν το βόριο στο σχηματισμό του²⁴⁰.

Η διάδοση του συμπλόκου dRG-II-B στα κυτταρικά τοιχώματα των ανωτέρων φυτών φαίνεται ότι είναι καθολική^{218,220}. Υπάρχουν ωστόσο ενδείξεις ότι το βόριο συμμετέχει και στη δημιουργία συμπλόκων με πρωτεΐνες των κυτταρικών τοιχωμάτων οι οποίες είναι πλούσιες σε προλίνη ή υδροξυπρολίνη ή γλυκοπρωτεΐνες οι οποίες περιέχουν φουκόζη¹⁶. Και στην περίπτωση αυτή το βόριο παίζει καθοριστικό ρόλο στη σταθεροποίηση των πρωτεϊνών αυτών στο κυτταρικό τοίχωμα¹².

II.7.2. Το Βόριο Αποτελεί Παράγοντα Σταθερότητας και Λειτουργικότητας της Κυτταροπλασματικής Μembrάνης

Παρόλο που οι ποσότητες του βορίου που εντοπίζονται στις κυτταροπλασματικές μεμβράνες είναι κατά πολύ χαμηλότερες εκείνων των κυτταρικών τοιχωμάτων¹², η παρουσία του βορίου στις μεμβράνες θεωρείται απαραίτητη για τη διατήρηση της ακεραιότητας και της λειτουργικότητάς τους^{140,37,254}. Η πρόσληψη ορισμένων ιόντων μέσω της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των κυτάρων της ρίζας παρεμποδίζεται σημαντικά σε θρεπτικά διαλύματα ελεύθερα βορίου ενώ αποκαθίσταται ταχέως όταν προστεθεί βόριο^{37,285,108,263,284}. Η μείωση της ικανότητας πρόσληψης ιόντων σχετίζεται ενδεχομένως με διαταραχές στη λειτουργία των μεμβρανικών αντλιών πρωτονίων και σε αδυναμία ανάπτυξης διαφοράς ηλεκτροχημικού δυναμικού μεταξύ των πλευρών της μεμβράνης (βλ. ενότητα I.4.1.2). Πράγματι, η απουσία βορίου στο μέσο προκαλεί απώλεια της δραστηριότητας μεμβρανικών ATPασών^{10,111,91,235}.

Υπάρχουν ενδείξεις σύμφωνα με τις οποίες η επίδραση αυτή του βορίου δεν είναι άμεση αλλά έμμεση, μέσω της δράσης της αυξίνης¹¹¹. Σύμφωνα με τους Goldbach et al.¹¹¹, η σταθεροποίηση της δομής της μεμβράνης από το βόριο δημιουργεί τις κατάλληλες προϋποθέσεις για την πρόσδεση των μορίων αυξίνης σε πιθανούς πρωτεϊνικούς υποδοχείς. Θα πρέπει επίσης να τονιστεί ότι η έλλειψη βορίου έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της περατότητας της μεμβράνης και την απώλεια της διαμερισματοποίησης, αφού παρατηρείται διαρροή ιόντων καλίου, σακχάρων, αμινοξέων και φαινολικών συστατικών³⁹. Ωστόσο, η παραπάνω επίδραση δεν είναι καθολική και προϋποθέτει την επικράτηση ευνοϊκών συνθηκών περιβάλλοντος ώστε η έλλειψη βορίου να συνδυαστεί με υψηλούς ρυθμούς αύξησης²⁵⁴.

Η διαρροή ιόντων από τις μεμβράνες υπό συνθήκες τροφопενίας βορίου πιθανό να σχετίζεται και με την αύξηση της κυτταροπλασματικής συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών (βλ. **ενότητα II.10**).

Ωστόσο, σύμφωνα με τους Pfeffer et al.²⁵⁴, η διαταραχή της ακεραιότητας της μεμβράνης σχετίζεται ενδεχομένως με μια αδιευκρίνιστη ακόμα άμεση δράση του βορίου στις μεμβρανικές αντλίες και τα ένζυμα που σχετίζονται με τη διατήρηση του αναγωγικού δυναμικού του αποπλαστικού χώρου^{7,90,184} ή με έναν δομικό ρόλο του βορίου στα μεμβρανικά συστατικά, ανάλογο εκείνου του κυτταρικού τοιχώματος²⁵⁴.

Οι Cakmak et al.³⁹ προτείνουν ότι το βόριο σταθεροποιεί την δομή των μεμβρανών με την δημιουργία συμπλόκων με μεμβρανικά συστατικά, είτε μέσω δεσμών υδρογόνου είτε μέσω εστερικών δεσμών. Οι δεσμοί αυτοί συμβάλουν στην απόκτηση της απαιτούμενης διαμόρφωσης, γεωμετρικής τοποθέτησης και αγκίστρωσης των πρωτεϊνών στις μεμβράνες³⁹. Αξίζει να σημειωθεί ότι στις μεμβράνες ζωικών κυττάρων απαντώνται περιοχές με ιδιαίτερα δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά αναφερόμενες ως μεμβρανικές νησίδες, οι οποίες είναι πλούσιες σε γλυκολιπίδια και γλυκοπρωτεΐνες²⁵. Στις μεμβρανικές νησίδες διαμορφώνονται πολυάριθμες θέσεις δέσμευσης βορίου που δικαιο-

λογούν και την απαίτηση για το στοιχείο αυτό. Συνεπώς χρήζει εξέτασης η πιθανή συμμετοχή του βορίου στη δομική οργάνωση μεμβρανικών περιοχών ανάλογης δομής σε φυτικά κύτταρα. Ωστόσο, έως σήμερα δεν έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη και η λειτουργική σημασία ενδεχόμενου συμπλόκου βορίου – πρωτεϊνών σε φυτικούς ιστούς. Από την άλλη πλευρά, η ραγδαία αποκατάσταση της δράσης των μεμβρανικών αντλιών πρωτονίων όταν επαναχορηγείται βόριο υποδηλώνει πιθανή άμεση συμμετοχή του βορίου ως συνενζυμικού παράγοντα³⁷. Το βόριο παίζει ρόλο στην ομαλή ροή ηλεκτρονίων κατά τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην κυτταροπλασματική μεμβράνη^{91,57}. Σε συνθήκες έλλειψης βορίου παρατηρείται πτώση της δραστηριότητας της οξειδάσης του NADH της κυτταροπλασματικής μεμβράνης ενώ επανατροφοδοσία με βόριο προκαλεί ταχύτατη ενεργοποίηση του ενζύμου^{7,94}.

Σε συνθήκες τροφопενίας βορίου ορισμένα ένζυμα που θεωρούνται απενεργοποιημένα μέσω της δέσμευσής τους στην μεμβράνη ή στο κυτταρικό τοίχωμα, ελευθερώνονται στον αποπλάστη και ασκούν ενζυμική δράση¹². Σε αυτά περιλαμβάνονται η ριβονουκλεάση, η αφυδρογονάση της 6-φώσφορο-γλυκόζης, η αμώνιο-λύαση της φαινυλαλανίνης, η β-γλυκοζιδάση και οι πολυφαινολοξειδάσες. Η ενεργοποίηση των ενζύμων αυτών υπό τροφопενία βορίου επιδρά σημαντικά στον κυτταρικό μεταβολισμό και στην δεξαμενή των φαινολικών συστατικών (βλ. **ενότητες I.4.4.4 και II.8.1**). Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται στα δικότυλα αλλά όχι στα μονοκότυλα φυτά, επομένως τίθεται το ερώτημα αν οι αποπλαστικές πρωτεΐνες των μονοκότυλων έχουν διαφορετικό πρότυπο γλυκοζυλίωσης ή αν η δέσμευσή τους στις μεμβράνες και τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών αυτών είναι περιορισμένη^{37,316}.

II.8. Ο Ρόλος του Βορίου στον

Πρωτογενή Μεταβολισμό

Μέχρι σήμερα δεν έχει διατυπωθεί κάποια άμεση συμμετοχή του βορίου στον πρωτογενή μεταβολισμό. Ωστόσο πολλές συνέπειες της έλλειψης βορίου

σχετίζονται με τον δομικό του ρόλο ή προκύπτουν από την απώλεια της κυτταρικής ομοιόστασης. Ορισμένα ένζυμα μπορούν να αλληλεπιδράσουν με το βορικό οξύ όπως η ουρεάση³⁷³ και η φωσφορογλυκομουτάση³¹⁴. Επίσης έχει προταθεί ότι το βόριο ενδέχεται να αποτελεί ρυθμιστικό παράγοντα για ορισμένα μεταλλοένζυμα^{11,71}. Ωστόσο, η ικανότητα του βορίου να αλληλεπιδρά με ορισμένα ένζυμα *in vitro* δεν συνεπάγεται και ανάλογη δράση *in vivo*⁷¹.

II.8.1. Ο Ρόλος του Βορίου στην

Φωτοσυνθετική Λειτουργία και την

Διανομή Σακχάρων

Μέχρι σήμερα δεν έχει διαπιστωθεί άμεση εμπλοκή του βορίου στη φωτοσύνθεση¹². Τα αποτελέσματα της έλλειψης βορίου στη φωτοσυνθετική λειτουργία αφορούν έμμεσες επιδράσεις οι οποίες αποδίδονται στους μειωμένους ρυθμούς αύξησης των φύλλων και επομένως σε μείωση της επιφάνειάς τους. Σε συνθήκες τροφопενίας βορίου τα φύλλα διαθέτουν χαμηλότερη πυκνότητα στομάτων με μειωμένες διαστάσεις στοματικού πόρου και μειωμένη συγκέντρωση σε χλωροφύλλες έναντι των φύλλων φυτών που αναπτύσσονται σε συνθήκες επάρκειας^{211,70}. Η μειωμένη επομένως αγωγιμότητα των στομάτων και η επιφάνεια των φύλλων είναι δυνατό να προκαλέσουν μείωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας⁷⁰. Λαμβάνοντας υπ' όψη ότι η τροφопенία βορίου προκαλεί δομικές και λειτουργικές διαταραχές στις μεμβράνες^{39,12}, η έλλειψη του στοιχείου θα μπορούσε να προκαλέσει δυσλειτουργίες στη φωτοσυνθετική ροή των ηλεκτρονίων στις μεμβράνες των θυλακοειδών των χλωροπλαστών⁸⁴. Πράγματι, στον ηλιανθο σε συνθήκες τροφопенίας βορίου έχουν διαπιστωθεί αλλοιώσεις στα δομικά λιπίδια των μεμβρανών των χλωροπλαστών, οι οποίες θεωρούνται υπεύθυνες για τη διαρροή συστατικών από τις μεμβράνες και τη μειωμένη φωτοχημική απόδοση του φωτοσυστήματος II^{84,167,25}. Επίσης υπάρχουν ενδείξεις ότι το μειωμένο μέγεθος των πρωτεϊνικών συμπλόκων των φωτοσυνθετικών μηχανισμών, η

μειωμένη απόδοση της φωτοσυνθετικής ροής ηλεκτρονίων^{84,109} και η αυξημένη ευαισθησία έναντι της φωτοπαρεμπόδισης τροφопенιακών φυτών⁷⁰ ενδεχομένως οφείλονται στα μειωμένα επίπεδα πρωτεϊνών.

Οι διαταραχές αυτές ευνοούν το σχηματισμό ελεύθερων μορφών οξυγόνου (ROS) οι οποίες, στην περίπτωση που οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί αδυνατούν να ανταποκριθούν, μπορούν να προκαλέσουν ανεπανόρθωτες οξειδωτικές βλάβες στις μεμβράνες και τις χρωστικές των χλωροπλαστών. Οι διαταραχές αυτές σε προχωρημένη τροφопенιακή κατάσταση οδηγούν σε χλώρωση³⁷. Τα συμπτώματα γίνονται εντονότερα, όπως αναμένεται, σε υψηλές εντάσεις φωτισμού για δύο κυρίως λόγους^{39,211,284}.

α. οι υψηλές εντάσεις φωτισμού ευνοούν τη φωτοπαρεμπόδιση και επομένως την παραγωγή ROS³⁷

β. σε υψηλές εντάσεις φωτισμού αυξάνεται η παραγωγή πολυσακχαριτών των κυτταρικών τοιχωμάτων, ολιγοσακχαριτών και φαινολικών συστατικών τα οποία δεσμεύουν βόριο και επομένως αυξάνονται οι απαιτήσεις για το στοιχείο³⁷

Η ικανότητα του βορίου να σχηματίζει σύμπλοκα με σάκχαρα οδήγησε στη διατύπωση υποθέσεων σχετικά με την πιθανή εμπλοκή του στοιχείου αυτού στο μεταβολισμό των υδατανθράκων και τη διανομή των φωτοσυνθετικών προϊόντων μεταξύ των φυτικών οργάνων²⁵. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η έλλειψη βορίου επηρεάζει τη διανομή οργανικού άνθρακα⁸⁰. Ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις ότι οι επιδράσεις αυτές είναι έμμεσες και όχι άμεσες, αφού η δημιουργία συμπλόκων του βορίου με πολυόλες σχετίζεται κατά κύριο λόγο με τη διανομή του βορίου (βλ. **ενότητα II.5.2**) και όχι των φωτοσυνθετικών προϊόντων.

II.8.2. Ο Ρόλος του Βορίου στον

Μεταβολισμό των Ορμονών

Υπάρχουν ενδείξεις ότι η έλλειψη βορίου προκαλεί διαταραχές στο μεταβολισμό της αυξίνης. Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι οι διαταραχές

οφείλονται στην παρεμπόδιση της οξειδάσης της αυξίνης από φαινολικά συστατικά^{269,262,316} των οποίων η συγκέντρωση αυξάνεται στις συνθήκες αυτές (βλ. ενότητα II.10).

II.8.3. Ο Ρόλος του Βορίου στον

Μεταβολισμό του Ασκορβικού Οξέος και στον Μηχανισμό Αντιοξειδωτικής

Προστασίας του Κυττάρου

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η έλλειψη βορίου ελαττώνει την αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών μηχανισμών των κυττάρων και επομένως η αύξηση των επιπέδων των ROS προκαλεί οξειδωτικές βλάβες^{25,37,202,102,254,198}. Είναι πλέον τεκμηριωμένο ότι σε καθεστώς τροφопενίας βορίου μειώνονται δραστικά τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος και της γλουταθειόνης ως αποτέλεσμα της μειωμένης δραστηριότητας της υπεροξειδάσης του ασκορβικού οξέος και της αναγωγής της γλουταθειόνης αντίστοιχα^{198,202,37}. Θα πρέπει να τονιστεί στο σημείο αυτό ότι ορισμένα από τα συμπτώματα της τροφопενίας βορίου, όπως η παρεμπόδιση ανάπτυξης της ρίζας, αίρονται με τη χορήγηση, εξωγενώς, ασκορβικού οξέος^{202,254}.

II.8.4. Ο Ρόλος του Βορίου στην

Συμβιωτική Αφομοίωση Αζώτου

Το βόριο μπορεί να θεωρηθεί ως απαραίτητος παράγοντας για την εγκαθίδρυση και αποδοτική λειτουργία της συμβιωτικής σχέσης των ψυχανθών με τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια. Η έλλειψη βορίου προκαλεί αλλοιώσεις στα κυτταρικά τοιχώματα αλλά και στην περιβακτηριδιακή μεμβράνη των φυματίων^{14,17,254,37}. Οι βλάβες που δημιουργούνται προκαλούν διαταραχές στην ομαλή εξέλιξη και λειτουργία της συμβιωτικής σχέσης με αποτέλεσμα τη δημιουργία φυματίων μειωμένου βάρους και μεγέθους¹⁷. Εκτός αυτού, παρατηρείται αύξηση των επιπέδων ROS και πτώση της συγκέντρωσης του ασκορβικού οξέος³⁷ με συνέπεια να παρατηρείται και απώλεια της δραστηριότητας της νιτρογενάσης^{14,42}.

Επιπρόσθετα, η τροφопενία βορίου επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την αλληλουχία των αλληλεπιδράσεων κατά τη διάρκεια των πρώτων σταδίων της εγκαθίδρυσης της συμβιωτικής σχέσης. Παρατηρείται μειωμένη έκφραση των γονιδίων *nod* των αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων καθώς και περιορισμένη προσκόλληση των βακτηρίων, μειωμένη ελίκωση των ριζικών τριχιδίων και μειωμένη αποίκηση των φυματίων²⁷⁴.

II.9. Ο Ρόλος του Βορίου στην

Αναπαραγωγή των Φυτών

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι ανάγκες σε βόριο κατά τη βλαστητική ανάπτυξη των φυτών εμφανίζουν σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των διαφορετικών ειδών. Ωστόσο, ανεξάρτητα από το φυτικό είδος, οι ανάγκες αυτές συνήθως αυξάνονται δραματικά με την είσοδο του οργανισμού στην αναπαραγωγική φάση^{201,25}. Το φαινόμενο αυτό παρουσιάζεται ιδιαίτερα έντονο στα αγρωστώδη των οποίων οι απαιτήσεις κατά την αναπαραγωγική φάση εμφανίζονται συγκρίσιμες με αυτές των δικοτύλων^{151,279}.

Οι επιπτώσεις από την έλλειψη βορίου κατά την ανάπτυξη των αναπαραγωγικών οργάνων είναι συνήθως περισσότερο εμφανείς αν συγκριθούν με αυτές κατά την ανάπτυξη των βλαστητικών οργάνων^{70,25}. Στα τυπικά συμπτώματα περιλαμβάνονται αποβολή, ατελής ανάπτυξη των ταξιανθιών και καθυστέρηση ή επιμήκυνση της περιόδου άνθησης⁷⁰. Η υψηλότερη ευαισθησία των αναπαραγωγικών οργάνων στην έλλειψη βορίου μπορεί να αποδοθεί στους εξής λόγους:

α. η ανάπτυξη των αναπαραγωγικών οργάνων συνήθως λαμβάνει χώρα με ταχείς ρυθμούς με αποτέλεσμα οι απαιτήσεις να μην καλύπτονται επαρκώς από την τροφοδοσία με βόριο μέσω του ριζικού συστήματος

β. ορισμένες αναπαραγωγικές δομές όπως οι γυρεόσακκοι ή ο ύπερος δεν χαρακτηρίζονται από πλούσια ανάπτυξη του αγωγού συστήματος

γ. η αναπαραγωγική διαδικασία απαιτεί την παραγωγή ενός υψηλού αριθμού εξειδικευμένων κυττάρων, πολλά από τα οποία διαθέτουν έντονα ανεπτυγμένα κυτταρικά τοιχώματα και συνεπώς εμφανίζουν αυξημένες απαιτήσεις σε βόριο

Η τροφοπενία βορίου προκαλεί συνήθως στεριότητα γυρεοκόκκων αλλά και προβλήματα γονιμότητας στον ύπερο⁷⁰. Στο στάδι παρατηρείται μειωμένη γονιμότητα των γυρεοκόκκων και μειωμένο μήκος ανθέρων εάν κατά το στάδιο της μείωσης η τροφοδοσία με βόριο διακοπεί για 3 ημέρες. Πιθανώς η διακοπή της τροφοδοσίας με βόριο στο στάδιο αυτό προκαλεί παρεμπόδιση της επιμήκυνσης των κυττάρων του αναπτυσσόμενου ανθήρα και διαταραχή της τροφοδοσίας των γυρεοκόκκων με σάκχαρα¹⁵¹. Η τροφοπενία βορίου έχει συνήθως ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη κενών ή παραμορφωμένων γυρεοκόκκων, φτωχών σε θρεπτικά αποθέματα⁷⁰.

Η έλλειψη βορίου επηρεάζει επίσης τη βλάστηση των γυρεοκόκκων και την γονιμοποίηση. Μελέτες *in vitro* έδειξαν ότι η βλάστηση των γυρεοκόκκων ορισμένων ειδών παρεμποδίζεται όταν στο μέσο επώασης απουσιάζει το βορικό οξύ, φαινόμενο που ενδεχομένως σχετίζεται με την εμπλοκή του βορίου στην εναπόθεση των πολυσακχαριτών στα τοιχώματα του ταχέως αναπτυσσόμενου γυρεοσωλήνα^{299,355,170}.

Η διαδικασία της δημιουργίας της προβολής του γυρεοκόκκου απαιτεί την συνεχή συγχώνευση κυστιδίων για τον σχηματισμό του πλασμολέμματος και την απέκκριση υλικών για τον σχηματισμό του κυτταρικού τοιχώματος. Θεωρείται πιθανό ότι ο ρόλος του βορικού οξέος εστιάζεται στην οργάνωση των πρωτεϊνικών συμπλόκων και πολυσακχαριτών που συγκροτούν την κυτταροπλασματική μεμβράνη και το κυτταρικό τοίχωμα¹⁵⁷. Το σύμπλοκο B-RG-II, το οποίο θεωρείται απαραίτητος δομικός παράγοντας που συμμετέχει στην οργάνωση του δευτερογενούς κυτταρικού τοιχώματος (ενότητα II.7.1), έχει εντοπιστεί στο κυτταρικό τοίχωμα βλαστανόντων γυρεοκόκκων του φυτού *Lilium longiflorum*¹⁷⁰. Οι γυρεοκόκκοι πολλών ειδών περιέχουν γλυκοπρωτεΐνες τα υδατανθρακικά τμήματα των οποίων περιλαμβάνουν μαννόζη και

φουκόζη, σάκχαρα τα οποία δημιουργούν σταθερά σύμπλοκα με το βορικό οξύ (βλ. ενότητα II.1).

Οι Robbertse et al.²⁵³ παρατήρησαν ότι κατά μήκος του στύλου του υπέρου διαμορφώνεται μια διαβάθμιση συγκέντρωσης βορίου ενώ η προβολή του γυρεοκόκκου κινείται προς την κατεύθυνση της αυξημένης συγκέντρωσης βορικού οξέος. Θεωρείται επομένως πιθανό ότι το βορικό οξύ αποτελεί χημειοτακτικό παράγοντα ο οποίος αναγνωρίζεται από την προβολή του γυρεοκόκκου¹⁰⁴.

Τέλος, η έλλειψη βορίου προκαλεί μειωμένη καρπόδεση, μειωμένο βάρος καρπών, καρπόπτωση, παραμορφώσεις και ρήξη των ιστών των αναπτυσσόμενων καρπών και μειωμένη ικανότητα βλάστησης των σπερμάτων⁷⁰.

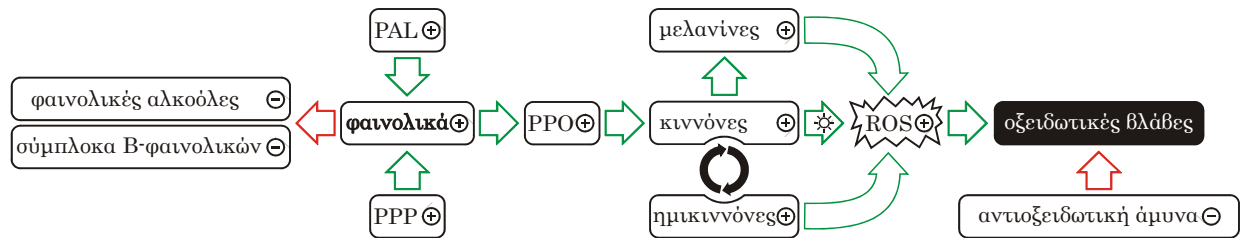
Οι αυξημένες λοιπόν απαιτήσεις όλων των φυτών σε βόριο κατά την αναπαραγωγική διαδικασία δικαιολογούνται από το γεγονός ότι η συμβολή του βορίου στην επιτυχή ολοκλήρωση του σταδίου αυτού είναι ζωτικής σημασίας και με καθολική διάδοση στους φυτικούς οργανισμούς¹².

II.10. Η Επίδραση του Βορίου στον

Δευτερογενή Μεταβολισμό των

Αρωματικών Ενώσεων

Κατά κανόνα η ανεπαρκής διαθεσιμότητα ή η τροφοπενία βορίου οδηγεί σε συσσώρευση φαινολικών συστατικών στους φυτικούς ιστούς. Το γεγονός πιθανότατα οφείλεται είτε στην επαγωγή της σύνθεσης των ουσιών αυτών, είτε στην περιορισμένη κατανάλωση των συστατικών εκείνων τα οποία αποτελούν τα πρόδρομα δομικά συστατικά της βιοσύνθεσης της λιγνίνης^{262,37}. Η αμμώνιο – λυάση της φαινυλαλανίνης (PAL), ένζυμο – κλειδί της βιοσύνθεσης των φαινολικών ουσιών, αποτελεί το συνδετικό κρίκο μεταξύ του πρωτογενούς μεταβολισμού (βιοσυνθετική οδός σικιμικού) και του δευτερογενούς (βιοσυνθετική οδός φαινυλοπροπανοειδών)³⁰². Η καταλυτική έκφραση του ενζύμου επιδέχεται ρύθμιση τόσο σε μεταγραφικό³³¹, όσο και σε μετα – μεταγραφικό επίπεδο^{160,316} από ένα πλήθος παραγόντων (βλ. ενότητα I.7.4.4). Σε συνθήκες τροφοπενίας βορίου η δραστηριότητα της



Εικόνα II.7. Η τροφοπενία βορίου επηρεάζει το μέγεθος της δεξαμενής των φαινολικών συστατικών αυξάνοντας τη ροή οργανικού άνθρακα προς την κατεύθυνση αυτή, μέσω της ενίσχυσης της βιοσυνθετικής οδού των φωσφοροπεντοζών (PPP) και της δραστηριότητας της PAL. Λόγω έλλειψης βορίου μειώνεται ο σχηματισμός συμπλόκων των φαινολικών με το στοιχείο αυτό ενώ ταυτόχρονα αυξάνεται η διαρροή τους από το χυμοτόπιο και τον πρωτοπλάστη. Οι συνθήκες αυτές μειώνουν τη διάθεση των φαινολικών ως δομικών συστατικών της λιγνίνης και ευνοούν την οξειδωσή τους από τις φαινολοξειδάσες (PPO) – των οποίων η δραστηριότητα επίσης αυξάνεται λόγω τροφοπενίας βορίου. Η δημιουργία των οξειδωμένων παραγώγων (κινόνες και ημικινόνες) συμβάλει στη δημιουργία ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) οι οποίες λόγω της αναποτελεσματικότητας των αντιοξειδωτικών μηχανισμών, προκαλούν οξειδωτικές βλάβες στα κύτταρα. Με κόκκινα βέλη παριστάνονται οι διεργασίες που καταστέλλονται ενώ με πράσινα αυτές που ενισχύονται υπό συνθήκες τροφοπενίας βορίου (³⁷ με προσαρμογή).

PAL, στα δικότυλα κυρίως φυτά³¹⁶ επάγεται και συνεπώς οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή φαινολικών^{37,291,290,102} (Εικόνα II.7).

Σύμφωνα με τους^{59,61}, υπό συνθήκες επαρκούς τροφοδοσίας βορίου διαμορφώνεται στο κυτταρόπλασμα μια τιμή συγκέντρωσης διαλυτού βορίου ικανή για τη δημιουργία συμπλόκων με μόρια διαμόρφωσης *cis*-διόλης³⁷. Μεταξύ των μορίων αυτών περιλαμβάνονται και φαινολικά συστατικά όπως το καφεϊκό οξύ και συναφείς ενώσεις. Λόγω της δημιουργίας των συμπλόκων αυτών καθώς και της διαμερισματοποίησης του κυττάρου, αποτρέπεται η αυθόρμητη οξειδωσή των φαινολικών του κυτταροπλάσματος και του χυμοτοπίου από τις φαινολοξειδάσες και επιτρέπει την διάθεσή τους ως υποστρώματα για την σύνθεση φαινολικών αλκοολών, προδρόμων της λιγνίνης²⁶². Όταν η διαθεσιμότητα σε βόριο περιορίζεται, το κλάσμα του βορίου των κυτταρικών τοιχωμάτων μπορεί να φτάσει έως και το 96% του συνολικού κυτταρικού βορίου^{147,217}. Αυτό έχει ως συνέπεια το αντίστοιχο ποσοστό του κυτταροπλασματικού βορίου να περιορίζεται αισθητά¹⁴⁷ (βλ. ενότητα II.3). Ως εκ τούτου, τα συστατικά του κυτοπλάσματος που αποτελούν τους εν δυνάμει παράγοντες συμπλοκοποίησης να παραμένουν σε ελεύθερη κατάσταση³⁷ (Εικόνα II.7).

Υπό συνθήκες έλλειψης βορίου, οι αυξημένοι

ρυθμοί σύνθεσης φαινολικών συστατικών συνδυάζονται με την αδυναμία σχηματισμού των συμπλόκων βορίου – φαινολικών με αποτέλεσμα τη συσσώρευση των μορίων αυτών στο κυτταρόπλασμα σε ελεύθερη μορφή (βλ. ενότητα II.10). Οι φαινολοξειδάσες, ένζυμα που εντοπίζονται στα πλαστίδια³⁵³ και τα κυτταρικά τοιχώματα³⁷⁴ και καταλύουν την οξειδωσή των φαινολικών ενώσεων προς κινόνες, εμφανίζουν αυξημένη δραστηριότητα υπό συνθήκες τροφοπενίας βορίου, ιδιαίτερα σε φυτά με υψηλές απαιτήσεις σε βόριο^{37,316,290,317} (Εικόνα II.7). Η τροφοπενία βορίου προκαλεί επίσης απώλεια της διαμερισματοποίησης του κυττάρου εξαιτίας της διαταραχής της λειτουργίας των πλασματικών μεμβρανών (βλ. ενότητα II.7.2). Υπό τις συνθήκες αυτές παρατηρείται διαρροή ουσιών και ευνοείται η οξειδωσή των φαινολικών συστατικών από τις φαινολοξειδάσες με συνέπεια την συσσώρευση οξειδωμένων μορφών των φαινολικών συστατικών, κινονών και των προϊόντων συμπύκνωσής τους, των μελανινών³⁷ (Εικόνα II.7). Οι κινόνες συμπυκνώνονται αυθόρμητα προς μελανίνες, χρωστικές στις οποίες οφείλεται ο καστανός μεταχρωματισμός των τραυματισμένων ιστών.

Η οξειδωσή των φαινολικών συστατικών προς κινόνες συνοδεύεται από την παραγωγή ROS^{37,290,317}. Για το λόγο αυτό, σε ορισμένες

περιπτώσεις τροφοπενίας βορίου, η εκτεταμένη οξείδωση των φαινολικών συστατικών και η παράλληλη εξασθένηση των μηχανισμών αντιοξειδωτικής προστασίας, εάν συνδυαστούν με υψηλές

εντάσεις ακτινοβολίας^{39,211}, προκαλούν οξειδωτικές βλάβες με τελική συνέπεια την νέκρωση των κυττάρων³⁷ (Εικόνα II.7).

III. Το Φυτό της Ελιάς

“Θάλλει δέ εις τήν χώραν αὐτήν ἡ γλαυκή παιδοτρόφος ἐλαία, φύτεμα γηγενές μή φυτευθέν διά τῶν χειρῶν, ἀντικείμενον φόβου τῶν πολεμίων ὄπλων, τό ὁποῖον οὐδέποτε ἕως τώρα ἤκουσα νά ἐβλάστησεν εἰς τήν Ἀσίαν, οὐδ’ εἰς τήν μεγάλην Δωρικὴν Νήσον τοῦ Πέλοπος· τό δένδρον τοῦτο οὐδέεις ἄρχων, οὔτε γέρον, οὔτε νέος, θά καταστρέψει, διότι ὁ πάντοτε βλέπων ὀφθαλμός τοῦ Μορίου Διός καί ἡ γλαυκῶπις Ἀθηνᾶ προστατεύουν αὐτό”
Σοφοκλή, Οιδίπους επί Κολωνώ

Η ελιά θεωρείται από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα ο κυριότερος εκπρόσωπος της μεσογειακής βλάστησης δίνοντας το στίγμα της στο τοπίο, ανάμεσα σε πουρνάρια, δάφνες και κουμαριές. Η καταγωγή της ελιάς χάνεται στους θρύλους και στις παραδόσεις των λαών της Μεσογείου. Το δένδρο της ελιάς είναι στενά συνυφασμένο με τις θρησκείες, τον πολιτισμό, την ιστορία αλλά και με την οικονομία και την ευημερία των μεσογειακών λαών. Πολλοί ιστορικοί συγγραφείς θεωρούν ως πιθανότερο τόπο καταγωγής της ελιάς την περιοχή της Συρίας και της Μικράς Ασίας. Ωστόσο αγριελιές απαντούν σε όλα τα παράλια της Μεσογείου από την Αφρική μέχρι την Ισπανία. Η ελιά από την Αίγυπτο, όπου καλλιεργήθηκε συστηματικά από τους Σημιτικούς λαούς, διαδόθηκε στην Κύπρο και σε άλλα μέρη της Βόρειας Αφρικής. Από τη Συρία διαδόθηκε στην νησιωτική Ελλάδα ενώ από τους Φωκαείς στην Ηπειρωτική Ελλάδα, την Ιταλία και μετέπειτα στην Ισπανία. Οι Ισπανοί έποικοι διέδωσαν την ελιά στο Νέο Κόσμο και οι Ιταλοί μετανάστες στην Αυστραλία.

Στην Ελλάδα η ελιά καλλιεργείται από τους προϊστορικούς χρόνους, όπως αποδεικνύεται από τα ευρήματα ανασκαφών στις Μυκήνες, στη Θήρα, και στην Κνωσό (Εικόνα III.1). Σύμφωνα με τα αρχαία κείμενα, η Δήλος, η Εύβοια, η Σάμος και η Λέσβος ήταν τόποι καλλιέργειας, ενώ τα Ιόνια νησιά αναφέρονται ως περιοχές καλλιέργειας από τους ομηρικούς χρόνους.



Εικόνα III.1. Ταύρος και ελιά. Τοιχογραφία από το ανάκτορο της Κνωσού.

Στην αρχαία Ελλάδα η ελιά θεωρείτο ιερό δένδρο. Ο Αριστοτέλης αναφέρει ότι όποιος έκοβε ήμερη ελιά τιμωρείτο με θάνατο. Οι νόμοι του Σόλωνα καθόριζαν την απόσταση φύτευσης της ελιάς και απαγόρευαν το ξερίζωμα περισσότερων από δύο δένδρων ανά έτος για κάθε ιδιοκτήτη³⁰⁰.

III.1. Η Σημασία της Καλλιέργειας της Ελιάς – Οικολογία

Η καλλιέργεια της ελιάς καλύπτει παγκοσμίως έκταση μεγαλύτερη από οκτώ εκατ. εκτάρια³⁰¹. Στην Ελλάδα καλλιεργούνται 7,5 εκατ. στρέμματα σύμφωνα με στοιχεία για το έτος 1998³⁰². Οι κλιματικές ζώνες καλλιέργειας και οι κύριες περιοχές καλλιέργειας παρουσιάζονται στην Εικόνα III.2.



Εικόνα III.2. Κλιματικές ζώνες κατάλληλες για την καλλιέργεια της ελιάς (γραμμοσκιασμένες ζώνες) και κύριες περιοχές καλλιέργειας (κουκίδες)³⁰⁰.

Οι παράμετροι που οριοθετούν τις περιοχές αποδοτικής καλλιέργειας της ελιάς είναι κυρίως η θερμοκρασία, η βροχόπτωση, η σχετική υγρασία, η μηχανική σύσταση και οι χημικές ιδιότητες του εδάφους. Επίσης παράγοντες όπως οι μέθοδοι καλλιέργειας, οι οικονομικές συνιστώσες και οι διατροφικές συνήθειες και παραδόσεις καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τη διάδοση της καλλιέργειας. Το μεσογειακό οικοσύστημα συγκεντρώνει όλους εκείνους του παράγοντες οι οποίοι διαμορφώνουν τις καλύτερες προϋποθέσεις για την επιτυχημένη καλλιέργεια η οποία εκτείνεται και σε υψόμετρα έως 1000 μέτρα με την επιλογή κατάλληλων ποικιλιών.

Το ελαιόλαδο κατέχει μία ξεχωριστή θέση ανάμεσα στα βρώσιμα έλαια γιατί είναι ιδιαίτερα ωφέλιμο στην ανθρώπινη υγεία, παρουσιάζει φυσική σταθερότητα απέναντι στην αυτοοξειδωση και επιπλέον εμφανίζει ξεχωριστή γεύση³⁹². Η ποιότητα του ελαιολάδου εξαρτάται από ένα μεγάλο αριθμό παραμέτρων όπως η καλλιεργούμενη ποικιλία, οι εδαφοκλιματικές συνθήκες καλλιέργειας, ο βαθμός ωρίμανσης του καρπού, η διαδικασία σύνθλιψης του καρπού για την εξαγωγή του ελαιολάδου, και τέλος η διάρκεια και ο τρόπος αποθήκευσης τόσο του καρπού όσο και του ελαιολάδου^{229,43,266}.

Στη σύσταση του ελαιολάδου περιλαμβάνονται λιπαρά οξέα με κυρίαρχο το ολεϊκό οξύ, φαινολικές αλκοόλες με κυρίαρχες την τυροσόλη, και την υδροξυτυροσόλη, απλά φαινολικά οξέα, πολυφαινόλες όπως φλαβονοειδή, χρωστικές όπως οι χλωροφύλλες, οι φαιοφυτίνες και ορισμένα καροτενοειδή, στερόλες οι οποίες είτε είναι ελεύθερες είτε εστεροποιημένες με τα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου, τοκοφερόλες και σεκοϊριδοειδή^{292,323,23,19}. Η σταθερότητα του ελαιολάδου έναντι της αυτοοξειδωσης οφείλεται κυρίως στην παρουσία των τοκοφερολών και των φαινολικών συστατικών αλλά και στη δομή των λιπιδίων του³⁴⁶.

Τα αντιοξειδωτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου σχετίζονται με την αντιμετώπιση οξειδωτικών βλαβών ορισμένων κυτταρικών συστατικών, οι οποίες μπορεί να ευθύνονται για την εμφάνιση παθήσεων όπως η αρτηριοσκληρόνωση³⁵⁴ και ορισμένες μορφές καρκίνου^{323,261}. Πράγματι, η συχνότητα εμφάνισης των παθήσεων αυτών είναι

σημαντικά χαμηλότερη στους Μεσογειακούς λαούς, γεγονός αποδίδεται στην αυξημένη παρουσία αντιοξειδωτικών συστατικών στον οργανισμό, προερχόμενες από την κατανάλωση ελαιολάδου αλλά και λαχανικών³⁵⁴.

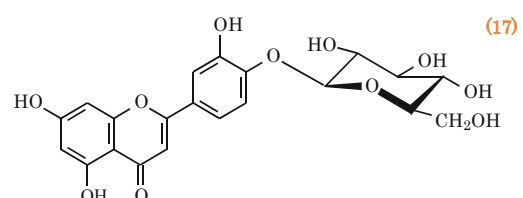
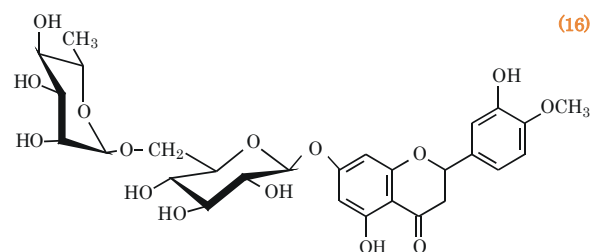
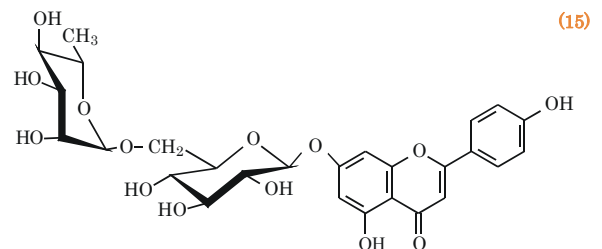
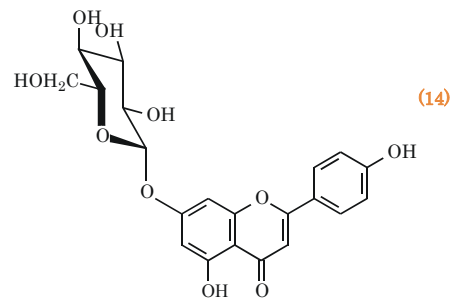
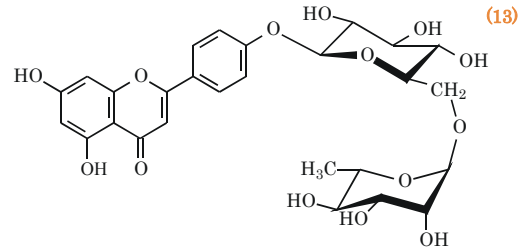
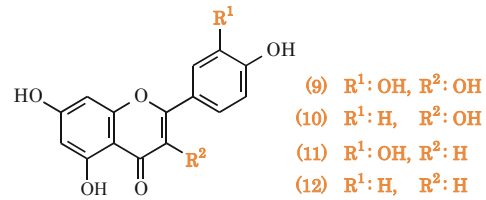
III.2. Βοτανικοί Χαρακτήρες, Μορφολογικά και Φυσιολογικά Χαρακτηριστικά της Ελιάς

Η ελιά (*Olea europaea* L.) είναι αειθαλές καρποφόρο δένδρο, σπερματόφυτο, αγγειόσπερμο, δικότυλο, συμπέταλο, της οικογένειας Oleaceae. Το γένος *Olea* περιλαμβάνει τριάντα είδη από τα οποία μόνο το είδος *O. europaea* παρουσιάζει οικονομικό ενδιαφέρον. Το είδος απαντάται ως ήμερη ελιά (*O. europaea* var. *sativa*) και ως αγριελιά (*O. europaea* var. *oleaster*). Το ριζικό σύστημα είναι επιπόλαιο και φτάνει σε βάθος από 15–20 cm και μέχρι 60–70 cm ενώ σε λίγες περιπτώσεις μπορεί να φτάσει σε βάθος μέχρι 100–120 cm. Ο φλοιός των νεαρών βλαστών είναι λείος και έχει χρώμα σταχτί – πράσινο ενώ ο κορμός είναι κυλινδρικός με ανώμαλη επιφάνεια. Οι κλάδοι εμφανίζουν προοδευτικά ρυτιδώσεις και ο φλοιός φελοποιείται ενώ αποκτάει σκούρο σταχτί χρώμα και αποκολλάται κατά τμήματα. Οι βλαστοί διακρίνονται σε ξυλοφόρους, ανθοφόρους και μικτούς ανάλογα με το είδος των οφθαλμών που φέρουν ενώ διακρίνονται σε πρώιμους και όψιμους ανάλογα με την εποχή έκπτυξης. Επίσης διακρίνονται λαίμαργοι βλαστοί που φέρουν μόνο ξυλοφόρους οφθαλμούς. Το ξύλο του κορμού και των κλάδων είναι κίτρινου χρώματος το οποίο προοδευτικά και προς το κέντρο αποκτά κόκκινη απόχρωση. Η εντεριόνη είναι περιορισμένη. Τα φύλλα της ελιάς είναι βραχύμυχα, επιμήκη, λογχοειδή, λειόχειλα με βαθύ πράσινο χρώμα στην προσαξονική και ασημί στην αποαξονική επιφάνεια³⁸⁰ λόγω της ύπαρξης πολυκύτταρων τριχών διατεταγμένων σε 6–8 στρώματα. Οι τρίχες της προσαξονικής επιφάνειας είναι κατά πολύ λιγότερες και διατάσσονται σε ένα αραιό στρώμα¹⁶². Η διάταξη των φύλλων είναι κατ' εναλλαγή σε δύο κάθετες σειρές³⁸⁰. Η ανατομική οργάνωση των φύλλων είναι η χαρακτηριστική των αειφυλλων

οκληρόφυλλων της μεσογειακής χλωρίδας, με πυκνά διατεταγμένα και μικρού μεγέθους κύτταρα, περιορισμένους μεσοκυττάριους χώρους και εκτεταμένη εσωτερική ελεύθερη επιφάνεια. Η επιδερμίδα είναι μονόστρωμη και καλύπτεται από ισχυρή εφυμενίδα ενώ το πασσαλώδες παρέγχυμα αναπτύσσεται σε 4–5 στρώσεις κυττάρων. Ανάλογο πάχος διαθέτει και η περιοχή του σπογγώδους παρεγχύματος. Στο μεσόφυλλο είναι χαρακτηριστική η παρουσία πολυάριθμων ιδιοβλαστικών σκληρεΐδων μεγάλου μήκους και με παχιά κυτταρικά τοιχώματα. Οι σκληρεΐδες προσδίδουν μηχανική αντοχή ενώ λειτουργούν ως οπτικές ίνες μεταφέροντας φως στα εσωτερικά στρώματα του χλωροφυλλούχου παρεγχύματος¹⁶⁵.

Η σύσταση (σε $\mu\text{mol g}^{-1}$ v.β.) των διαλυτών σακχάρων στο μεσόφυλλο των ώριμων φύλλων της ελιάς περιλαμβάνει γλυκόζη (120–160), μαννιτόλη (60–140), φρουκτόζη + *myo*-ινοσιτόλη (16–19), γαλακτινόλη (9,5), σακχαρόζη (7,6–9,7) και γαλακτόζη (2,1–7,2) ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις (2,0–7,5 συνολικά) έχουν ανιχνευθεί τα σάκχαρα της ομάδας της ραφινόζης βερμπασκοζή, σταχυόζη και ραφινόζη^{98,44}. Προηγούμενες μελέτες⁷⁹ έχουν επισημάνει την υψηλή περιεκτικότητα σε μαννιτόλη των φύλλων, αλλά και τις έντονες εποχιακές διακυμάνσεις στην περιεκτικότητα με μέγιστες τιμές κατά την χειμερινή και εαρινή περίοδο (80–90 $\mu\text{mol g}^{-1}$ v.β.) και ελάχιστες κατά την καλοκαιρινή περίοδο (40–60 $\mu\text{mol g}^{-1}$ v.β.).

Τα κύρια διακινούμενα σάκχαρα, υπολογισμένα ως ποσοστά του συνολικού ραδιενεργού άνθρακα που διακινήθηκε στο ουδέτερο κλάσμα του χυμού του ηθμού μετά από αφομοίωση ραδιενεργού διοξειδίου του άνθρακα, είναι σταχυόζη (40%), σακχαρόζη (30%), μαννιτόλη (10%) και ραφινόζη (5%)⁹⁸. Πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η ελιά ανήκει στην κατηγορία των φυτών που ακολουθούν την συμπλαστική οδό φόρτωσης σακχάρων στα συνoda (ενδιάμεσα) κύτταρα από τα κύτταρα του δεσμικού κολεού. Το συμπέρασμα αυτό προκύπτει από πειράματα παρεμπόδισης των παραγόντων ενδεχόμενης αποπλαστικής φόρτωσης. Σύμφωνα με τους Flora and Madore⁹⁸, η σύσταση του



χυμού του ηθμού δεν επηρεάζεται από την παρεμπόδιση της λειτουργίας των συμμεταφορέων σακχαρόζης από p-χλωροϋδραργυρο-φαινυλ-σουλφονικό οξύ. Εκτός αυτών, η συμπλαστική φόρτωση των αγγείων του ηθμού των δευτερευόντων ηθμαγγειωδών δεσμιδών φαίνεται ότι ακολουθείται όχι μόνο από την σακχαρόζη και τα σάκχαρα της ομάδας της ραφινόζης αλλά και από τη μαννιτόλη. Σύμφωνα με μελέτες ενσωμάτωσης ραδιενεργού άνθρακα, η σύνθεση των σακχάρων σακχαρόζη, γαλακτινόλη και μαννιτόλη λαμβάνει χώρα στο μεσόφυλλο ενώ αυτή της ραφινόζης και σταχυόζης στα συνοδά (ενδιάμεσα) κύτταρα των ηθμαγγειωδών δεσμιδών⁹⁸.

Η βιοσύνθεση και άμεση φόρτωση των σακχάρων ραφινόζη και σταχυόζη από τα ενδιάμεσα κύτταρα προς τα ηθμώδη στοιχεία παρέχει μια πιθανή εξήγηση για την δυνατότητα ανάπτυξης υψηλών συγκεντρώσεων των σακχάρων αυτών χωρίς τον κίνδυνο διαρροής, λόγω συμπλαστικής συνέχειας, προς την αντίθετη κατεύθυνση (προς τα κύτταρα του δεσμικού κολεού)³⁴⁷⁻³⁵⁰. Όσον αφορά στην μαννιτόλη, δεν έχει ακόμα διατυπωθεί κάποιος πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου θα μπορούσε να επιτυγχάνεται η ανάπτυξη υψηλών συγκεντρώσεων στα ενδιάμεσα κύτταρα⁹⁸.

Η πιθανότητα ύπαρξης της συμπλαστική οδού φόρτωσης στην ελιά ενισχύεται και από την παρουσία πολυάριθμων πλασμοδεσμών τύπου 1³⁴⁹ μεταξύ των κυττάρων του δεσμικού κολεού και των ενδιάμεσων κυττάρων στις δευτερεύουσες ηθμαγγειώδεις δεσμιδές των ώριμων φύλλων⁹⁸.

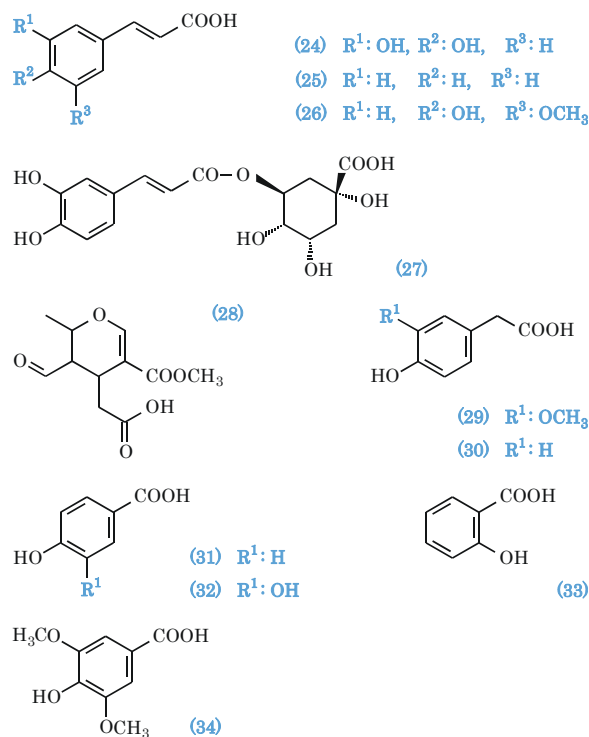
Η ελιά παρουσιάζει το φαινόμενο της μεσημβρινής καταστολής της φωτοσυνθετικής λειτουργίας λόγω της μείωσης της αγωγιμότητας των στομάτων, της πτώσης φωτοχημικής απόδοσης του φωτοσυστήματος II και της πτώσης δραστηριότητας των ενζύμων της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του διοξειδίου του άνθρακα^{183,339,86,270,87}. Το φαινόμενο αυτό χαρακτηρίζει αειφυλλα σκληρόφυλλα δένδρα και θάμνους¹⁸³ της μεσογειακής χλωρίδας, όπως η ελιά^{87,118}, η κουμαριά - *Arbutus unedo*²⁷⁰ και η αριά - *Quercus ilex*⁸⁷. Θεωρείται πιθανό ότι το φαινόμενο της μεσημβρινής καταστολής οφείλεται σε συνδυασμό της επίδρασης των εξωτερικών

συνθηκών^{86,87,339} και ενός ενδογενούς μεταβολικού ρυθμού⁸⁶.

Όπως επομένως αναμένεται, η δεξαμενή των διαλυτών σακχάρων των φύλλων ακολουθεί τις ημερήσιες ταλαντώσεις της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας. Στην χρονική περίοδο κατά την οποία παρατηρείται η μέγιστη φωτοσυνθετική ταχύτητα (έναρξη της φωτεινής περιόδου) η συγκέντρωση της γλυκόζης παρουσιάζει μέγιστο ενώ η συγκέντρωση της μαννιτόλης αυξάνει σταδιακά μέχρι το απόγευμα. Η συγκέντρωση της σακχαρόζης παρουσιάζει τη μέγιστη συγκέντρωση πριν από την περίοδο της πλήρους μεσημβρινής καταστολής¹¹⁸.

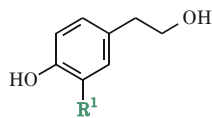
Η ετήσια διακύμανση των σακχάρων στα φύλλα χαρακτηρίζεται από έντονη μείωση των αποθεμάτων διαλυτών σακχάρων και αμύλου κατά τους εαρινούς μήνες. Η μείωση αυτή είναι πιθανότατα αποτέλεσμα της έντονης διακίνησης σακχάρων προς την αναπτυσσόμενη βλάστηση. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και στα αποθησαυριστικά αποθέματα του φλοιού⁷⁹.

Τα φύλλα της ελιάς χαρακτηρίζονται από την

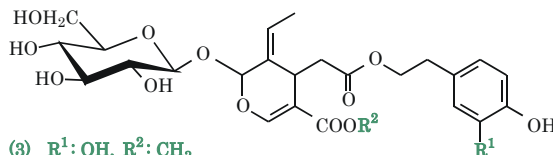


παρουσία απλών φαινολικών οξέων και φαινυλοπροπανοειδών καθώς και άγλυκων αλλά και γλυκοζυλιωμένων παραγώγων φλαβονοειδών. Στον **Πίνακα III.1** συνοψίζονται οι κυριότερες χημικές δομές των φαινολικών συστατικών που έχουν ανιχνευθεί στα φύλλα. Εκτός από το μεσόφυλλο, ιδιαίτερα πλούσιο σε φλαβονοειδή είναι και το στρώμα των τριχών. Τα φλαβονοειδή των τριχών εντοπίζονται κυρίως στα κυτταρικά τοιχώματα¹⁶².

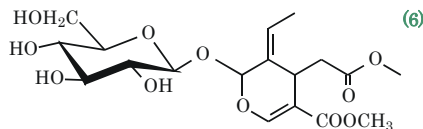
Στα φύλλα ανιχνεύεται και ένας αριθμός φαινολικών σεκοϊριδοειδών με κυριότερο την ολεοροπαΐνη (εστέρας της 2'-(3',4'-διϋδροξυφαινυλο-1)-αθανόλης και της ολεοσιδικής ομάδας). Άλλα σεκοϊριδοειδή με συναφές πρότυπο



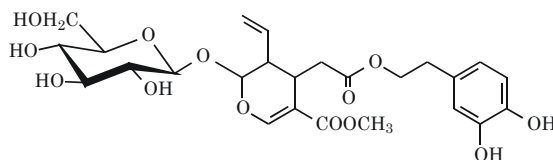
- (1) R¹: H
(2) R¹: OH



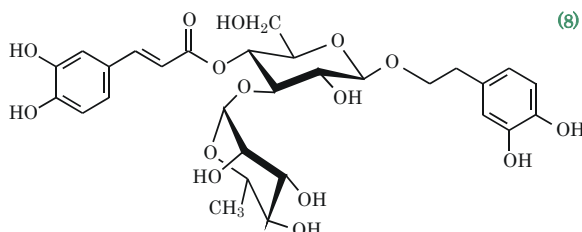
- (3) R¹: OH, R²: CH₃
(4) R¹: OH, R²: H
(5) R¹: H, R²: H



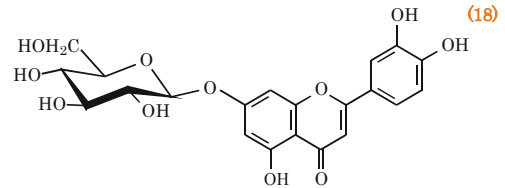
(6)



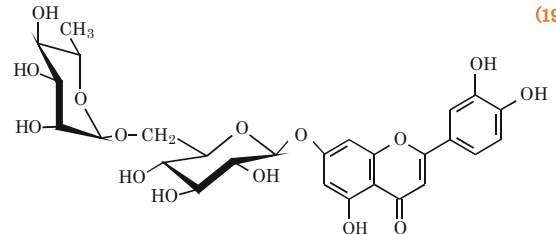
(7)



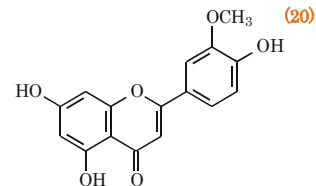
(8)



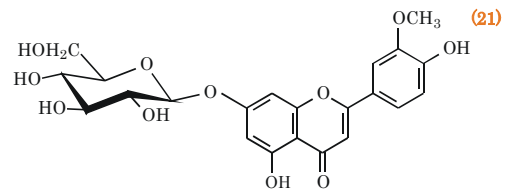
(18)



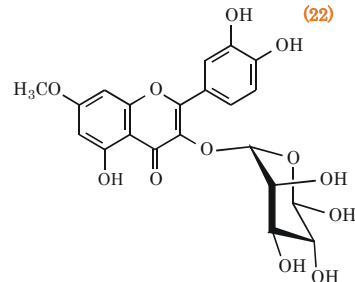
(19)



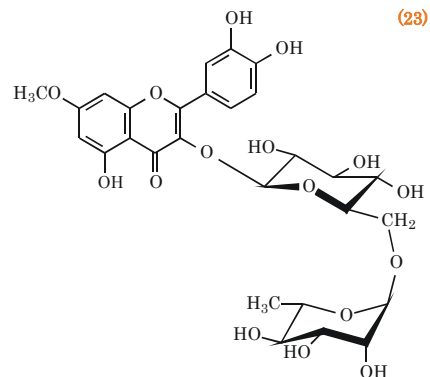
(20)



(21)



(22)



(23)

Πίνακας III.1. Σύνοψη των φαινολικών συστατικών που έχουν ανιχνευθεί στα φύλλα της ελιάς. Τα κοινά ονόματα ορισμένων συστατικών δίνονται σε παρένθεση. Οι αριθμοί σε παρένθεση αντιστοιχούν στις μοριακές δομές των εικόνων.

ένωση	βιβλιογραφική αναφορά
<i>σεκοΐριδοειδή</i>	
δεμεθυλολεοροπαΐνη (4)	268
υδροξυτυροσόλη (2)	187,186
λιγστροσίδιο (5)	66,293,103,186
διμεθυλοσετέρας του ολεοσιδίου (6)	66
ολεοροπαΐνη (3)	92,187,66,293,103,186,297
ολεοροσίδιο (7)	181,297
τυροσόλη (1)	187,186
βερμπασκοσίδιο (8)	293,297
<i>φλαβονοειδή</i>	
απιγενίνη (12)	259,65,135
4'-Ο-ρουτινοζίτης της απιγενίνης (13)	259
7-Ο-γλυκοζίτης της απιγενίνης (απιγετρίνη) (14)	259,65,187,129,297
7-Ο-ρουτινοζίτης της απιγενίνης (ισοροϊφολίνη) (15)	187,129
7-Ο-ρουτινοζίτης της εσπερετίνης (εσπεριδίνη) (16)	92,65
κερκερόλη (10)	65
λουτεολίνη (11)	259,136,135
4'-Ο-γλυκοζίτης της λουτεολίνης (γιουνκείνη) (17)	259,187,135,129
7-Ο-γλυκοζίτης της λουτεολίνης (γλυκολουτεολίνη; λουτεολοσίδιο) (18)	92,259,136,65,187,135,129,297
7-Ο-ρουτινοζίτης της λουτεολίνης (σκολυ(ι)μοσίδιο) (19)	187,129
3'-Ο-μεθυλαιθέρας της λουτεολίνης (χρυσοερίολη) (20)	259
3'-Ο-μεθυλαιθέρας-7-Ο-γλυκοζίτης της λουτεολίνης (21)	259
κερκετίνη (9)	65
3-Ο-ραμνοζίτης της κερκετίνης (κερουτρίνη) (22)	259,136,135
3-Ο-ρουτινοζίτης της κερκετίνης (ρουτίνη) (23)	92,136,65,187,129,129,297
<i>φαινολικά οξέα</i>	
καφεϊκό οξύ (24)	186
χλωρογενικό οξύ (27)	136,135
σινναμικό οξύ (25)	186
ελενολικό οξύ (28)	186
φερουλικό οξύ (26)	191
ομθαλινικό οξύ (29)	186
υδροξυβενζοϊκό οξύ (31)	186
p-κουμαρικό οξύ (30)	191
προτοκατεχουϊκό οξύ (32)	186
σαλικυλικό οξύ (33)	186
συριγγικό οξύ (34)	186

γλυκοζυλίωσης, τυπικό των ειδών της οικογένειας Oleaceae (αναφερόμενες συλλογικά ως ολεοσιδία) είναι η δεμεθουλ-ολεοροπαΐνη, το λιγτροσιδίο, το βερμπασκοσιδίο και το ολεοροσιδίο³²³ (Πίνακας III.1).

III.3. Χαρακτηριστικά της Ανόργανης

Διατροφής της Ελιάς

Η περιεκτικότητα των φύλλων της ελιάς σε ανόργανα θρεπτικά στοιχεία παρουσιάζει ευρείες διακυμάνσεις οι οποίες αντικατοπτρίζουν τη θρεπτική κατάσταση του φυτού (Πίνακας III.2). Η συγκέντρωση των θεωρούμενων ως ευκίνητων θρεπτικών στοιχείων είναι υψηλότερη στα αναπτυσσόμενα φύλλα έναντι εκείνης των ώριμων φύλλων. Η εικόνα αυτή παρατηρείται για τα στοιχεία άζωτο, φώσφορο, κάλιο, ψευδάργυρο καθώς επίσης και για το βόριο (βλ. ενότητα III.3.1). Αντίθετα, για τα στοιχεία ασβέστιο, μαγνήσιο, μαγγάνιο, χαλκό και σίδηρο παρατηρούνται μειωμένες συγκεντρώσεις στα νεαρά εκπυσοόμενα φύλλα συγκριτικά εκείνες των ώριμων φύλλων^{89,375}.

Πίνακας III.2. Η περιεκτικότητα των φύλλων της ελιάς σε ανόργανα θρεπτικά στοιχεία²⁸⁶. Η δειγματοληψία αναφέρεται σε πλήρως εκπτυγμένα φύλλα που φέρονται στη βάση έως το μέσον της τελευταίας βλάστησης (δειγματοληψία Ιανουαρίου).

Θρεπτικό στοιχείο	περιοχή συγκεντρώσεων			
	τροφοπενία	οριακή	επαρκής	τοξικότητα
N (%)	< 1,4			
P (%)				
K (%)	< 0,4	0,4–0,8	> 0,8	
Ca (%)			> 1,0	
Mg (%)			>0,1	
Na (%)				> 0,2
Cl (%)				> 0,5
Cu (mg kg ⁻¹)			> 4	
Zn (mg kg ⁻¹)			10–30	
Mn (mg kg ⁻¹)			> 20	
B (mg kg ⁻¹)	< 14	14–18	19–150	> 185

Το φαινόμενο της παρενυτοφορίας επηρεάζει αισθητά τη συγκέντρωση των μακροστοιχείων στα φύλλα με εξαίρεση εκείνη του ασβεστίου. Οι εποχιακές μεταβολές της περιεκτικότητας των ανόργανων θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα χαρακτηρίζονται από δραματική μείωση των

θρεπτικών αποθεμάτων κατά τους εαρινούς και καλοκαιρινούς μήνες, ιδιαίτερα σε χρονιές μεγάλης καρποφορίας⁸⁹. Το φαινόμενο αυτό πιθανότατα σχετίζεται με τις ιδιαίτερα υψηλές απαιτήσεις για θρεπτικά στοιχεία κατά την αναπαραγωγική περίοδο²⁰. Κατά συνέπεια, η καλή θρεπτική κατάσταση των ελαιοδένδρων ήδη από τα πρώιμα στάδια της διαφοροποίησης των αναπαραγωγικών οργάνων καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την τελική απόδοση του ελαιώνα^{20,21,89}. Η χρήση δεικτών όπως η στοιχειακή σύσταση των πλήρως εκπτυγμένων φύλλων της τρέχουσας βλάστησης³⁸¹ και η κατανομή του αζώτου και φωσφόρου μεταξύ φύλλων και ανθοταξιών επιτρέπει τον προσδιορισμό της θρεπτικής κατάστασης των ελαιοδένδρων²¹.

III.3.1. Ο Ρόλος του Βορίου στην

Διατροφή της Ελιάς

Το συνολικό διαθέσιμο βόριο του εδάφους αντιπροσωπεύεται από το κλάσμα του εδαφικού βορίου που εκχυλίζεται με θερμό νερό και το κλάσμα του στοιχείου που είναι προσροφημένο στην άργιλο ή δεσμευμένο σε ένυδρα οξείδια του αργιλίου, σιδήρου και μαγγανίου³⁴⁵. Το κλάσμα του εκχυλίσμου με θερμό νερό εδαφικού βορίου καθορίζει και την άμεση διαθεσιμότητα του στοιχείου προς τα φυτά. Όσον αφορά στο ελαιοδένδρο, ως κρίσιμη συγκέντρωση του κλάσματος αυτού θεωρούνται τα 0,33 ppm³⁴⁴.

Στην ελιά έχει παρατηρηθεί αυξημένη συγκέντρωση βορίου στα νεαρά φύλλα συγκριτικά με τα ώριμα^{251,89,142} καθώς και κινητοποίηση των αποθεμάτων των φύλλων κατά το στάδιο της ταχείας ανάπτυξης των αναπαραγωγικών οργάνων⁸⁹. Η κινητοποίηση των αποθεμάτων βορίου πιθανότατα προωθείται μέσω της κινητοποίησης των αποθεμάτων μαννιτόλης η οποία παρατηρείται κατά την ίδια χρονική περίοδο⁷⁹. Πρόσφατα πειραματικά δεδομένα επιβεβαιώνουν την υψηλή κινητικότητα του βορίου στην ελιά²⁵¹ και αποδίδουν το φαινόμενο αυτό στην διακίνηση σημαντικών ποσοτήτων μαννιτόλης στον ηθμό^{88,79}.

III.3.2. Η Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στην Ελιά

Η ελιά θεωρείται ως δένδρο με υψηλές απαιτήσεις σε βόριο⁵⁹. Ωστόσο τα όρια επάρκειας βορίου του ελαιοδένδρου (Πίνακας II.2) δεν δικαιολογούν τον χαρακτηρισμό αυτό, εάν ληφθούν υπ' όψη οι ανάγκες σε βόριο των άλλων καλλιεργήσιμων ειδών. Εκτός αυτού, είδη τα οποία παρουσιάζουν υψηλή κινητικότητα του βορίου όπως η ελιά^{12,26}, θεωρούνται ανθεκτικά στην έλλειψη βορίου (Πίνακας II.2). Το παράδοξο αυτό φαινόμενο μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής.

α. η ελιά καλλιεργείται κατά κανόνα σε εδάφη φτωχά σε θρεπτικά στοιχεία στα οποία ο προγραμματισμός της λίπανσης και της διατήρησης της γονιμότητας είναι ατελής ή απουσιάζει εντελώς. Τα περιστατικά εμφάνισης τροφopenίας βορίου στην καλλιέργεια της ελιάς αφορούν σε εδάφη με εκ προοιμίου χαμηλή περιεκτικότητα σε βόριο³²⁹

β. η ελιά μπορεί να θεωρηθεί ως ένα φυτό δείκτης όσον αφορά στην επάρκεια του εδαφικού βορίου³⁵¹ διότι αντιδρά άμεσα εάν τα επίπεδα βορίου υπολείπονται του κρίσιμου ορίου για κανονική ανάπτυξη³⁴⁴. Η ευαισθησία στην έλλειψη βορίου δεν συνεπάγεται κατ' ανάγκη και υψηλές απαιτήσεις στο στοιχείο αυτό

γ. αβιοτικοί παράγοντες καταπόνησης, χαρακτηριστικοί του μεσογειακού περιβάλλοντος, όπως η έντονη ηλιοφάνεια σε συνδυασμό με υψηλές θερμοκρασίες και έλλειψη νερού καθώς και δυσμενείς εδαφικοί παράγοντες όπως η υψηλή περιεκτικότητα σε ανθρακικό ασβέστιο (βλ. ενότητα II.2) έχουν καθοριστική συμβολή στη συχνότητα εμφάνισης και την ένταση των συμπτωμάτων έλλειψης βορίου

Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω, η προγραμματισμένη διαχείριση των θρεπτικών αποθεμάτων αποτελεί την απαραίτητη προϋπόθεση

για την καλή κατάσταση των ελαιοδένδρων και την εξασφάλιση ικανοποιητικών αποδόσεων. Η τροφopenία βορίου αποτελεί την τρίτη σε συχνότητα θρεπτική διαταραχή στην καλλιέργεια της ελιάς μετά αυτή του αζώτου και του καλίου³⁷⁵ και οι επιπτώσεις στην παραγωγή από την έλλειψη του στοιχείου αυτού είναι σημαντικές. Από δεδομένα του Μπενακειού Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου αναφέρεται ότι έως το 1961, οι περιπτώσεις τροφopenίας βορίου αντιπροσώπευαν το 27% του συνόλου των τροφopenιών των καλλιεργούμενων ελαιοδένδρων στην Ελλάδα¹⁴¹.

Τα συμπτώματα τροφopenίας βορίου στην ελιά περιλαμβάνουν μειωμένη ανάπτυξη, νέκρωση ή ατελή έκπτυξη των κορυφαίων οφθαλμών, νέκρωση κλαδίσκων και χαρακτηριστική χλώρωση του ανώτερου τμήματος των φύλλων³⁷⁵. Σε ώριμα φύλλα η χλώρωση διαγράφεται έντονα με σαφή διαχωρισμό του χλωρωτικού τμήματος από το πράσινο τμήμα του ελάσματος χωρίς να μεσολαβούν ενδιάμεσες αποχρώσεις. Σε έντονες περιπτώσεις τροφopenίας βορίου εμφανίζονται ροπαλόμορφα φύλλα τα οποία απορρίπτονται πρόωρα. Το πλέον χαρακτηριστικό σύμπτωμα είναι η διαδοχική έκπτυξη πλάγιων οφθαλμών οι οποίοι παράγουν ατελή βλάστηση που τελικά νεκρώνεται. Η κόμη του δένδρου εμφανίζει παραπλήσια εικόνα εκείνης η οποία οφείλεται σε ορμονική διαταραχή γνωστή ως “σκούπα της μάγισσας – witch’s broom”. Η έναρξη της βλάστησης κατά την Άνοιξη καθυστερεί ενώ περιορίζεται ή διακόπτεται πλήρως ο σχηματισμός των ανθοφόρων οφθαλμών. Σε περίπτωση που παραχθούν άνθη και σημειωθεί καρπόδεση, οι καρποί είναι παραμορφωμένοι (αλλοίωση που αναφέρεται ως “πρόσωπο πιθήκου – monkey face”) και απορρίπτονται κατά την καλοκαιρινή περίοδο³⁷⁵. Επίσης έχει παρατηρηθεί νέκρωση του καμβίου και των ιστών του φλοιού η οποία περιγράφηκε αρχικά από Ιταλούς ερευνητές ως “λεπτονέκρωση – leptonecrosis”. Τα κύρια χαρακτηριστικά της μορφολογικής και φυσιολογικής αυτής διαταραχής είναι η εμφάνιση καστανών μεταχρωματισμών στους κλάδους και το φλοιό, νέκρωση του ηθμού και του ξυλώδους και φλοιώδους ιστού⁵²⁻⁵⁴. Ωστόσο η παραπάνω διαταραχή δεν έχει μελετηθεί τόσο σε

ανατομικό – ιστοχημικό επίπεδο, όσο και σε επίπεδο φυσιολογικής λειτουργίας του ηθμού.

Σε ορισμένες περιπτώσεις τροφopenίας βορίου δεν εμφανίζονται τα χαρακτηριστικά συμπτώματα χλώρωσης στα φύλλα αλλά τα δένδρα αδυνατούν να φέρουν καρπούς¹⁴¹. Η ύπαρξη περιπτώσεων

λανθάνουσας τροφopenίας είναι ίσως υπεύθυνη για πολλά περιστατικά μειωμένων αποδόσεων. Ορισμένες περιπτώσεις τροφopenίας βορίου μπορεί να οφείλονται σε φαινόμενα ανταγωνισμού μεταξύ του βορίου και ενός εκ' των αζώτου, καλίου ή ασβεστίου³⁷⁵.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

I. Θεματολογία

Παρά την επαρκώς τεκμηριωμένη σημασία του βορίου στη διατροφή της ελιάς, ο αριθμός των αναφορών για το ρόλο του στοιχείου αλλά και για τις φυσιολογικές αντιδράσεις του φυτού της ελιάς σε καθεστώς έλλειψης βορίου είναι περιορισμένος.

Το φυτό της ελιάς παρουσιάζει ιδιαίτερο γεωπονικό, οικονομικό αλλά και πολιτισμικό ενδιαφέρον. Από την άλλη πλευρά, τα περιστατικά τροφopenίας βορίου εμφανίζονται με υψηλή συχνότητα στην ελαιοκαλλιέργεια.

I.1. Υπόθεση Εργασίας και Ερωτήματα

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η επίδραση της τροφopenίας βορίου στα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων της ελιάς. Για τη διερεύνηση της υπόθεσης αυτής τέθηκαν τα παρακάτω ερωτήματα:

α. πως η έλλειψη βορίου στο υπόστρωμα ανάπτυξης επηρεάζει τις αναπτυξιακές παραμέτρους της νέας βλάστησης

β. ποιες είναι οι επιπτώσεις της έλλειψης βορίου στα φύλλα της ελιάς σε μορφολογικό και ανατομικό επίπεδο

γ. σε ποιο βαθμό η τροφopenία βορίου επηρεάζει τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων που σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική λειτουργία

δ. δεδομένης της αλληλεπίδρασης ορισμένων σακχάρων με το βόριο, σε ποιο βαθμό η έλλειψή του επηρεάζει την παραγωγή και σύσταση των διαλυτών υδατανθράκων των φύλλων

ε. δεδομένης της επίπτωσης της τροφopenίας βορίου στη νέα βλάστηση, ποιες είναι οι πιθανές επιπτώσεις αυτής στη διανομή των φωτοσυνθετικών προϊόντων

στ. λαμβάνοντας υπ' όψη την έντονη παρουσία φαινολικών συστατικών στα φύλλα της ελιάς καθώς και την τεκμηριωμένη έμμεση επίδραση του βορίου στο μεταβολισμό των ουσιών αυτών, πως η έλλειψη του στοιχείου επιδρά στη ποσοτική και ποιοτική σύσταση της ομάδας αυτής των δευτερογενών μεταβολιτών

I.2. Πειραματική Προσέγγιση

Οι απαντήσεις στις υποθέσεις εργασίας που τέθηκαν δόθηκαν μέσω δύο διαφορετικών πειραματικών προσεγγίσεων:

Η πρώτη αφορούσε σε ελεγχόμενη ανάπτυξη νεαρών φυταρίων ελιάς με τη μέθοδο της υδροπονικής καλλιέργειας. Η πειραματική αυτή προσέγγιση επιτρέπει τον πλήρη έλεγχο των εδαφοκλιματικών συνθηκών οι οποίες επικρατούν κατά τη διάρκεια του πειράματος. Επιτρέπει επίσης πλήρη έλεγχο στις συνθήκες θρέψης και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων βάση των πειραματικών επεμβάσεων χωρίς την επίδραση ανεπιθύμητων παραγόντων των οποίων η δράση διαφεύγει του ελέγχου του ερευνητή. Η δεύτερη πειραματική προσέγγιση αφορούσε σε δειγματοληψίες από φυτά πεδίου τα οποία αναπτύσσονταν σε έδαφος με χαμηλά επίπεδα βορίου. Οι συνθήκες αυτές είχαν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση των χαρακτηριστικών συμπτωμάτων τροφopenίας βορίου. Ο πειραματισμός στο πεδίο επιτρέπει την αξιολόγηση των επιπτώσεων της έλλειψης του στοιχείου υπό ρεαλιστικές συνθήκες.

Ο συνδυασμός των δύο πειραματικών προσεγγίσεων παρέχει πληρέστερη εικόνα για την επίδραση της έλλειψης βορίου και δίνει τη δυνατότητα μιας, κατά το δυνατόν, ολοκληρωμένης αξιολόγησης των αποτελεσμάτων τόσο σε ελεγχόμενες συνθήκες, όσο και σε συνθήκες αγρού.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

'Truth comes out of error more readily than out of confusion'

Novum Organum, 1620

Sir Francis Bacon

I. Φυτικό Υλικό και Περιγραφή των Συνθηκών Καλλιέργειας

I.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών

I.1.1. Προετοιμασία του Φυτικού Υλικού και του Υποστρώματος Καλλιέργειας

Ως φυτικό υλικό επιλέχθηκε η ποικιλία 'Μανάκι' επειδή θεωρείται ευαίσθητη στην έλλειψη βορίου. Παρελήφθησαν 100 υγιή ριζοβολημένα μοσχεύματα ηλικίας ενός έτους (Φυτόριο Ελιάς Γ. Κωστελένος, Πόρος Τροιζινίας) από τα οποία τελικά επιλέχθηκαν 40 φυτά και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες των 20 φυτών (φυτά μάρτυρες (B+) και φυτά για την μεταχείριση απουσία βορίου (B-)). Η επιλογή έγινε με βάση την ομοιομορφία της νέας βλάστησης και τον αριθμό των φύλλων. Τα φυτά είχαν κατά μέσο όρο 50 φύλλα από τα οποία 39 της τρέχουσας βλάστησης, το συνολικό ύψος τους από την επιφάνεια του υποστρώματος ήταν 30 cm και το μήκος της νέας βλάστησης ήταν 25 cm κατά μέσο όρο. Η τυπική απόκλιση μεταξύ των φυτών στις δύο ομάδες ήταν μικρότερη του 20% για το ύψος και μικρότερη του 12% για τον αριθμό των φύλλων.

Τα φυτά παρέμειναν για 48 ώρες κάτω από πλαίσιο λαμπτήρων φθορισμού (PAR 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) με φωτοπερίοδο 14/10 h, θερμοπερίοδο 22/15 °C. Στη συνέχεια αφαιρέθηκε το υπόστρωμα και οι ρίζες ξεπλύθηκαν με νερό βρύσης ώστε να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του υποστρώματος και ακολούθως με αποιονισμένο νερό. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δοχεία όγκου 4 l (ένα φυτό / δοχείο) με χαλαζιακή άμμο (7–15 mesh).

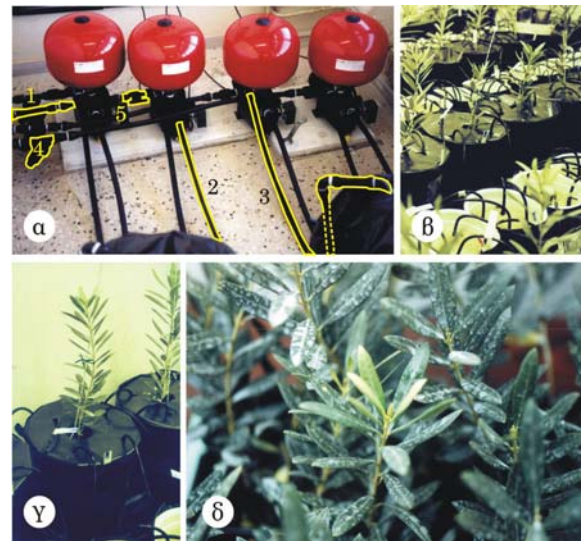
Η άμμος προετοιμάστηκε με εξαντλητικό πλύσιμο με νερό βρύσης, και στη συνέχεια με αποιονισμένο νερό σε αναλογία 1:1 (v/v). Ακολούθως η άμμος καθαρίστηκε με διάλυμα 5% HCl (w/v) / 1% οξαλικό οξύ (w/v) σε αναλογία επίσης 1:1 (v/v). Τελικά η άμμος ξεπλύθηκε από τα υπολείμματα των οξέων με απεσταγμένο νερό έως το pH του διαλύματος να έχει τιμή 5,0 ή ανώτερη. Η παραπάνω κατεργασία

θεωρείται ότι απομακρύνει τα ανόργανα άλατα και τα ένυδρα οξείδια σιδήρου και αργιλίου και έχει χρησιμοποιηθεί για την πειραματική μελέτη τροφοπενιών ανόργανων στοιχείων συμπεριλαμβανομένου και του βορίου^{139A}.

I.1.2. Περιγραφή του Συστήματος

Πειραματικής Υδροπονικής Καλλιέργειας

Το σύστημα πειραματικής υδροπονίας (Εικόνες I.1 και I.2) εγκαταστάθηκε σε κλειστό θάλαμο ανάπτυξης ελεγχόμενων συνθηκών. Η επιφάνεια ανάπτυξης είχε διαστάσεις 2,0 × 2,3 m (Εικόνα I.2). Ο θάλαμος



Εικόνα I.1. α. Άποψη της εγκατάστασης πειραματικής υδροπονίας, 1: κεντρικός κορμός διανομής; 2: σωλήνας άντλησης; 3: κύκλωμα επαναφοράς; 4: φίλτρο σίτας; 5: βάνο. β. Άποψη των πειραματοφύτων στο θάλαμο ανάπτυξης. γ. Άποψη πειραματοφύτου όπου διακρίνονται τα σωληνάκια διανομής του θρεπτικού διαλύματος. δ. τα πειραματοφύτα τη στιγμή της παραλαβής τους.

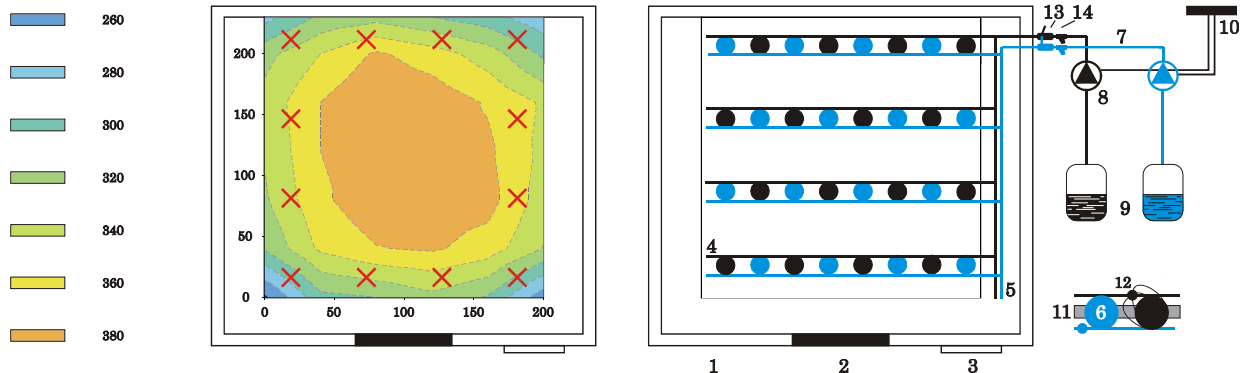
ανάπτυξης διέθετε σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας του αέρα, φωτοπερίοδου και έντασης φωτισμού. Η διαμόρφωση των κλιματικών συνθηκών γινόταν με ομοιόμορφη κυκλοφορία αέρα από το εξωτερικό περιβάλλον. Ο θάλαμος διέθετε πίνακα ελέγχου με δυνατότητα προγραμματισμού 24 βημάτων ανά εικοσιτετράωρο. Ο φωτισμός παρείχετο

από 12 λαμπτήρες υψηλής πίεσης ατμών νατρίου τύπου VIALOX NAV-T 400 4Y (OSRAM, GmbH, Munich, Germany). Η ένταση της ακτινοβολίας (PAR) παρουσιάζεται στην **Εικόνα I.1**. Στο 70% της επιφάνειας η απόκλιση της έντασης του φωτισμού ήταν μικρότερη του 15% ενώ η μέγιστη απόκλιση που μετρήθηκε ήταν 25%. Η ένταση της ακτινοβολίας μετρήθηκε με ραδιόμετρο LI-188B (LI-COR, Lincoln, NE, USA).

Το σύστημα πειραματικής υδροπονικής καλλιέργειας αποτελείται από δύο ανεξάρτητα κυκλώματα διανομής θρεπτικού διαλύματος κλειστού τύπου χωρίς ανακύκλωση. Για την φύλαξη των θρεπτικών διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά δοχεία όγκου 100 l. Για την τροφοδοσία κάθε κυκλώματος χρησιμοποιήθηκε αντλία τύπου DAB JET 81 M-P (DABPumps S.p.A., Mestrino, Italy) με δοχείο πίεσης όγκου 24 l. Η αντλία είχε μανομετρικό ύψους 102 m και παροχή $0,06-37,00 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. Λόγω των μικρών απαιτήσεων παροχής και με σκοπό την αποφυγή επαναλαμβανόμενων εκκινήσεων κατά τη διάρκεια της άρδευσης καθώς και για την τακτική ανακίνηση των θρεπτικών διαλυμάτων,

χρησιμοποιήθηκε δευτερεύον κύκλωμα επαναφοράς στο δοχείο φύλαξης. Η πίεση στο κύκλωμα ρυθμιζόταν με βάνα στο σωλήνα του κυρίως κυκλώματος (**Εικόνα I.1**). Η πυκνότητα και ο χρόνος των αρδεύσεων ρυθμιζόταν αυτόματα από προγραμματιστή άρδευσης τύπου Junior 6M (Irritrol Systems, Riverside, CA, USA).

Το κύκλωμα διανομής αποτελείται από έναν κεντρικό κορμό με βάνα και φίλτρο σίτας και κεντρικές σωληνώσεις $\text{Ø}25$ που έφεραν σε καθορισμένα σημεία αυτορυθμιζόμενους σταλάκτες τύπου TORO (The Toro Company, Bloomington, MN, USA) παροχής 4 l h^{-1} και πίεση λειτουργίας 1,5–4,0 atm. Οι σταλάκτες στην έξοδό τους έφεραν διακλάδωση τεσσάρων σημείων με σωληνάκια κατανομής του θρεπτικού διαλύματος. Η διάταξη ήταν ένας σταλάκτης με τέσσερα σωληνάκια ανά δοχείο ανάπτυξης. Για την απορροή των δοχείων χρησιμοποιήθηκε σωλήνας ορθογώνιας διατομής με κατάλληλα ανοίγματα. Το εκκρέον θρεπτικό διάλυμα οδηγείτο στην αποχέτευση. Όλα τα μέρη του συστήματος άρδευσης, συμπεριλαμβανομένων των δοχείων φύλαξης του θρεπτικού διαλύματος και των



Εικόνα I.2. Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης του συστήματος πειραματικής υδροπονίας. Στο αριστερό διάγραμμα παριστάνεται η διάταξη των λαμπτήρων (x) ενώ οι ισοϋψείς αντιστοιχούν στην ένταση της PAR στο επίπεδο της επιφάνειας εργασίας. Ο οριζόντιος και κάθετος άξονας αντιστοιχούν στις διαστάσεις της επιφάνειας εργασίας (cm) ενώ η χρωματική κλίμακα αντιστοιχεί στην ένταση της PAR ($\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$). Στο δεξιό διάγραμμα παριστάνονται τα μέρη του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών, και το πειραματικό σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε. ●: φυτά μάρτυρες B+; ●: φυτά μεταχείρισης B-; 1: τοίχωμα θαλάμου ανάπτυξης; 2: πόρτα θαλάμου; 3: πίνακας ελέγχου κλιματικών συνθηκών; 4: δευτερεύουσα γραμμή διανομής $\text{Ø}25$; 5: πρωτεύουσα γραμμή διανομής $\text{Ø}25$; 6: δοχεία ανάπτυξης; 7: κεντρικός κορμός διανομής θρεπτικού διαλύματος; 8: αντλία; 9: δοχεία θρεπτικών διαλυμάτων; 10: ηλεκτρικός πίνακας και προγραμματιστής άρδευσης; 11: σωλήνας απορροής; 12: σταλάκτης και σωληνάκια διανομής θρεπτικού διαλύματος; 13: βάνα; 14: φίλτρο σίτας.

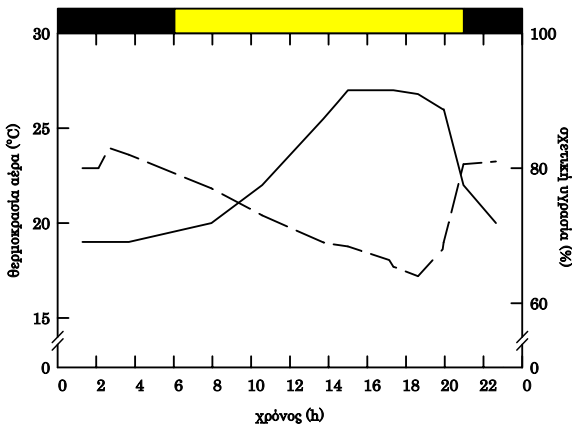
δοχείων ανάπτυξης των φυτών, ήταν πλαστικά (για την αποφυγή επιρύπανσης του θρεπτικού διαλύματος με βόριο) και μαύρου χρώματος (για την αποφυγή ανάπτυξης φυκών).

Για την αξιολόγηση της ομοιομορφίας μεταξύ των σταλακτών του συστήματος έγιναν δοκιμές άρδευσης με δοκιμαστικά δοχεία και μετρήθηκε ο όγκος του θρεπτικού διαλύματος που συγκεντρωνόταν σε κάθε δοχείο. Η τυπική απόκλιση των τιμών του όγκου του θρεπτικού διαλύματος ήταν λιγότερο από 6% του μέσου όρου.

Για την εξασφάλιση ισορροπίας, το υπόστρωμα τοποθετήθηκε στα δοχεία ανάπτυξης και αρδεύονταν κανονικά με το θρεπτικό διάλυμα δύο ημέρες πριν την τοποθέτηση των φυτών. Η τιμή του pH του εκκρέοντος θρεπτικού διαλύματος ήταν περίπου 0,8 μονάδες υψηλότερη από την τιμή pH του θρεπτικού διαλύματος στο δοχείο φύλαξης.

1.1.3. Συνθήκες Υδροπονικής Καλλιέργειας

Τα φυτά τοποθετήθηκαν στον θάλαμο σύμφωνα με την διάταξη της **Εικόνας 1.2**. Οι κλιματικές συνθήκες (θερμοκρασία, σχετική υγρασία και φωτοπερίοδος) επιλέχθηκαν ώστε να αντιστοιχούν στην περίοδο έκπτυξης της νέας βλάστησης (κλιματολογικά στοιχεία στην Αττική κατά τον μήνα Μάιο). Οι τιμές



Εικόνα 1.3. Οι τιμές των κλιματικών παραμέτρων (— θερμοκρασία; - - υγρασία) και της φωτοπερίοδου (οριζόντια ράβδος) κατά τη διάρκεια

του πειράματος.

των κλιματικών παραμέτρων φαίνονται στην **Εικόνα 1.3**. Στην έναρξη ή τη λήξη της φωτοπερίοδου οι λαμπτήρες θέτονταν σε λειτουργία ή εκτός λειτουργίας προοδευτικά ώστε η μετάβαση από τη σκοτοπερίοδο προς τη φωτοπερίοδο με πλήρη ένταση ακτινοβολίας ή το αντίστροφο να διαρκεί περίπου 1 h.

Τα φυτά αρδεύονταν με θρεπτικό διάλυμα Hoagland No 2 ημίσειας συγκέντρωσης^{340α}. Η σύσταση του θρεπτικού διαλύματος ήταν (σε μM), KNO₃ 3000; Ca(NO₃)₂ 2000; MgSO₄ 1000; NH₄H₂PO₄ 500; FeNaEDTA 50; H₃BO₃ 23 (στον μάρτυρα); MnCl₂ 4,60; ZnSO₄ 0,43; CuSO₄ 0,16; Na₂MoO₄ 0,06. Στο θρεπτικό διάλυμα της μεταχείρισης B- είχε παραληφθεί το βορικό οξύ. Η παρασκευή του θρεπτικού διαλύματος γινόταν κάθε 3-4 ημέρες με αραιώση μητρικών διαλυμάτων σε απιονισμένο νερό. Το pH του διαλύματος ρυθμιζόταν στην τιμή 6,5 με KOH. Σε όλα τα στάδια παρασκευής των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά σκεύη για την αποφυγή επιρύπανσης με βόριο. Σύμφωνα με αναλύσεις, η συγκέντρωση σε βόριο των θρεπτικών διαλυμάτων ήταν για το μάρτυρα (B+) 283 μg l⁻¹ ενώ για τη μεταχείριση (B-) ήταν χαμηλότερη του κατώτερου ορίου μέτρησης (10 μg l⁻¹). Η συχνότητα της άρδευσης ήταν 12 αρδεύσεις ανά εικοσιτετράωρο και η διάρκεια κάθε άρδευσης 1 λεπτό. Σύμφωνα με τα παραπάνω και δεδομένης της παροχής των σταλακτών, κάθε φυτό ελάμβανε 67 ml ανά άρδευση ή 800 ml ανά εικοσιτετράωρο. Η ποσότητα αυτή αντιστοιχούσε στην υδατοχωρητικότητα των δοχείων για το συγκεκριμένο υπόστρωμα. Κατά συνέπεια, σύμφωνα με το πρόγραμμα άρδευσης το θρεπτικό διάλυμα στα δοχεία ανανεωνόταν κάθε εικοσιτετράωρο.

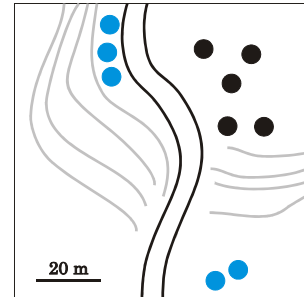
1.2. Πείραμα πεδίου

1.2.1. Επιλογή του Φυτικού Υλικού

Ως πηγή του φυτικού υλικού επιλέχθηκε ελαιώνας στην περιοχή Γόννοι, Ν. Λάρισας. Ο συγκεκριμένος ελαιώνας είχε καλά χαρακτηρισμένο

ιστορικό με συχνά και έντονα περιστατικά τροφopenίας βορίου σύμφωνα με καταγραφή του Ινστιτούτου Χαρτογράφησης και Ταξινόμησης Εδαφών του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. Λάρισας. Τα ελαιόδεντρα ήταν ποικιλίας 'Καλαμών' και ηλικίας 20 ετών. Ο ελαιώνας αποτελείτο από διακριτά τμήματα στα οποία εντοπίστηκαν συγκεκριμένα δένδρα τα οποία ταξινομήθηκαν σε πειραματικές κατηγορίες. Η ταξινόμηση έγινε με βάση την συνολική εικόνα του κάθε δένδρου και την εξέταση των φύλλων όσον αφορά στα ορατά συμπτώματα τροφopenίας βορίου. Επιλέχθηκαν 5 δένδρα ως μάρτυρες (B+) και 5 δένδρα ως ελλειμματικά σε βόριο (B-). Παράλληλα ελήφθησαν δείγματα εδάφους ώστε να γίνουν μετρήσεις για τη συγκέντρωση βορίου και άλλων παραμέτρων. Στην [Εικόνα I.4](#) παρουσιάζεται ένα αδρό διάγραμμα της περιοχής όπου σημειώνονται τα

δένδρα κάθε πειραματικής κατηγορίας.



Εικόνα I.4. Η διάταξη των πειραματοφύτων στο πείραμα πεδίου. ●: φυτά μάρτυρες B+; ●: φυτά κατηγορίας B-.

II. Πειραματική Πορεία

II.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων

Συνθηκών

II.1.1. Χρονοδιάγραμμα Πειράματος

Το πείραμα ξεκίνησε την 9^η Ιανουαρίου 2000, και διήρκεσε 90 ημέρες. Στο Πίνακα II.1 παρουσιάζεται συνοπτικά η πειραματική περίοδος και η χρονική στιγμή των κυριότερων δειγματοληπτικών χειρισμών.

Πίνακας II.1. Χρονοδιάγραμμα πειράματος στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών και χρονικά σημεία λήψης των κυριότερων δειγματοληψιών και μετρήσεων.

χρονος (εβδομάδες) και δειγματοληπτικοί χειρισμοί	0	3	6	9	12
εγκατάσταση φυτών	●				●
τελική συλλογή					●
ανάπτυξη	●	●	●	●	●
F_v/F_m	●	●	●	●	●
συγκέντρωση βορίου	●	●	●	●	●
συγκέντρωση χλωροφυλλών και φωτοσυνθετική ικανότητα	●	●	●	●	●
ανάλυση φαινολικών συστατικών και σακχάρων	●	●	●	●	●
ανατομικές παρατηρήσεις	●	●	●	●	●

II.1.2. Δειγματοληπτικοί Χειρισμοί,

Μετρήσεις και Κατηγορίες Δειγμάτων

Στο πείραμα στον θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών διακρίθηκαν οι εξής κατηγορίες δειγμάτων:

α. Δείγματα φύλλων παλαιάς βλάστησης μάρτυρα (IIaB+). Αφορούσαν σε φύλλα της προϋπάρχουσας βλάστησης (φύλλα πλήρως εκπτυγμένα τη στιγμή της εγκατάστασης των φυτών) που έλαβαν πλήρες θρεπτικό διάλυμα.

β. Δείγματα φύλλων παλαιάς βλάστησης της μεταχείρισης B- (IIaB-). Όπως παραπάνω αλλά από φυτά που ελάμβαναν θρεπτικό διάλυμα από το οποίο είχε παραληφθεί το βόριο.

γ. Δείγματα φύλλων νέας βλάστησης μάρτυρα (NeB+). Αφορούσαν σε φύλλα της νέας

βλάστησης (φύλλα νεαρά, μη πλήρως εκπτυγμένα τη στιγμή της εγκατάστασης των φυτών τα οποία αναπτύχθηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος) που έλαβαν πλήρες θρεπτικό διάλυμα.

δ. Δείγματα φύλλων νέας βλάστησης της μεταχείρισης B- (NeB-). Όπως παραπάνω αλλά από φυτά που ελάμβαναν θρεπτικό διάλυμα από το οποίο είχε παραληφθεί το βόριο.

ε. Δείγματα ριζών των φυτών B+ (RiB+) και B- (RiB-).

στ. Δείγματα τριχώματος από φύλλα των τεσσάρων κατηγοριών (α-δ) σημειούμενα ως TrIIaB+, TrIIaB-, TrNeB+ και TrNeB- αντίστοιχα.

Για τη διενέργεια των βιοχημικών μετρήσεων λαμβάνονταν φύλλα την ίδια ώρα της ημέρας (19⁰⁰) και τοποθετούνταν σε παγόλουτρο έως την παρασκευή των εκχυλισμάτων. Οι μετρήσεις της παραμέτρου F_v / F_m έγιναν *in planta*.

II.1.2.1. Δειγματοληψίες και Μετρήσεις

Πριν και Κατά τη Διάρκεια του

Πειράματος

Πριν την έναρξη του πειράματος ελήφθησαν μετρήσεις για τον προσδιορισμό της ανάπτυξης των φυτών (ύψος, αριθμός φύλλων, τρέχουσα βλάστηση / βλάστηση προηγούμενου έτους και αναπτυσσόμενα φύλλα / πλήρως εκπτυγμένα φύλλα). Οι μετρήσεις αυτές αποσκοπούσαν στην ομαδοποίηση των φυτών, στην μετέπειτα μέτρηση του ρυθμού ανάπτυξης και στην οριοθέτηση της βλάστησης που προϋπήρχε σε διάκριση αυτής που είχε αναπτυχθεί υπό τις συνθήκες του πειράματος. Επίσης ελήφθησαν δείγματα φύλλων για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε βόριο και μετρήθηκε η παράμετρος F_v / F_m .

Κατά τη διάρκεια του πειράματος λαμβάνονταν μετρήσεις που αφορούσαν στον ρυθμό ανάπτυξης της νέας βλάστησης και στην παράμετρο F_v / F_m .

II.1.2.2. Δειγματοληψίες και Μετρήσεις Μετά τη Λήξη του Πειράματος

Στη λήξη του πειράματος ελήφθησαν μετρήσεις που αφορούσαν σε κρίσιμες μορφολογικές και φυσιολογικές παραμέτρους. Συγκεκριμένα ελήφθησαν μετρήσεις των αναπτυξιακών χαρακτηριστικών (μήκος νέας βλάστησης, αριθμός φύλλων, ξηρό βάρος φύλλων, ξηρό βάρος ρίζας και πρότυπο διακλάδωσης της βλάστησης) και μελετήθηκε η μορφολογία (μέση επιφάνεια φύλλων, συνολική επιφάνεια φύλλων, δείκτης ειδικής επιφάνειας φύλλων και πυκνότητα τριχώματος).

Έγιναν ανατομικές παρατηρήσεις στο οπτικό μικροσκόπιο (πάχος φύλλου, εφυμενίδων και επιδερμικών ιστών, πασσαλώδους και σπογγώδους παρεγχύματος, στρώματα πασσαλώδους παρεγχύματος, και ανατομικές παρατηρήσεις των στοιχείων μεταφοράς).

Έγιναν παρατηρήσεις στο μικροσκόπιο φθορισμού όπου μελετήθηκαν τα χαρακτηριστικά φθορισμού των ιστών και των στοιχείων μεταφοράς. Επίσης μετρήθηκε η πυκνότητα τριχών και στομάτων.

Προετοιμάστηκαν δείγματα και έγιναν παρατηρήσεις στο ΗΜΑ, των δευτερευόντων ηθμαγγειωδών δεσμιδίων των φύλλων.

Ελήφθησαν δείγματα φύλλων και ριζών, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση βορίου και έγιναν αναλύσεις των περιεχομένων φαινολικών συστατικών και ελεύθερων σακχάρων. Επίσης έγιναν αναλύσεις των φαινολικών συστατικών των τριχών των φύλλων.

Μετρήθηκε η παράμετρος F_v / F_m , η συγκέντρωση χλωροφυλλών και η φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων.

II.2. Πείραμα πεδίου

II.2.1. Χρονοδιάγραμμα Πειράματος

Στο πείραμα πεδίου διεξήχθη σε δύο δειγματοληπτικές περιόδους, την 24^η Σεπτεμβρίου και 28 Οκτωβρίου 2001.

II.2.2. Δειγματοληπτικοί Χειρισμοί, Μετρήσεις και Κατηγορίες Δειγμάτων

Στο πείραμα πεδίου διακρίθηκαν οι εξής κατηγορίες δειγμάτων:

α. Δείγματα φύλλων προερχόμενα από υγιή δένδρα. Τα δείγματα αυτά (διακρινόμενα ως B12, βλ. ενότητα Αποτελέσματα) θεωρούνται τα φύλλα – μάρτυρες του πειράματος

β. Δείγματα φύλλων από βλάστηση χωρίς συμπτώματα τροφопενίας βορίου που προέρχονταν από δένδρα τα οποία εμφάνιζαν κατά τόπους βλάστηση με συμπτώματα τροφопенίας βορίου. Τα δείγματα αυτά ταξινομήθηκαν ως B9.

γ. Δείγματα φύλλων από βλάστηση με έντονα συμπτώματα τροφопенίας βορίου που προέρχονταν από τα αντίστοιχα δένδρα. Τα δείγματα αυτά ταξινομήθηκαν ως B8.

Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φορητό ψυγείο σε θερμοκρασία $\approx 4^{\circ}\text{C}$ και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο για τη διενέργεια των μετρήσεων. Οι μετρήσεις της παραμέτρου F_v / F_m έγιναν *in planta*. Οι μετρήσεις των υπόλοιπων φυσιολογικών παραμέτρων έγιναν μέσα σε χρόνο 24 h.

Ελήφθησαν μετρήσεις που αφορούσαν σε κρίσιμες μορφολογικές και φυσιολογικές παραμέτρους. Συγκεκριμένα ελήφθησαν μετρήσεις των αναπτυξιακών χαρακτηριστικών (ξηρό βάρος φύλλων) και μελετήθηκε η μορφολογία (μέση επιφάνεια φύλλων, δείκτης ειδικής επιφάνειας φύλλων και πυκνότητα τριχώματος).

Έγιναν ανατομικές παρατηρήσεις στο οπτικό μικροσκόπιο (πάχος φύλλου, εφυμενίδων και επιδερμικών ιστών, πασσαλώδους και σπογγώδους παρεγχύματος, στρώματα πασσαλώδους παρεγχύματος, και ανατομικές παρατηρήσεις των στοιχείων μεταφοράς).

Έγιναν παρατηρήσεις στο μικροσκόπιο φθορισμού όπου μελετήθηκαν τα χαρακτηριστικά φθορισμού των ιστών και των στοιχείων μεταφοράς. Επίσης μετρήθηκε η πυκνότητα τριχών και

στομάτων.

Ελήφθησαν δείγματα φύλλων και ριζών, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση βορίου και έγιναν αναλύσεις των περιεχομένων φαινολικών συστατικών και ελεύθερων σακχάρων. Επίσης έγιναν αναλύσεις

των διακινήσιμων σακχάρων με παραλαβή του χυμού του ηθμού.

Μετρήθηκε η παράμετρος F_v / F_m , η συγκέντρωση χλωροφυλλών και η φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων.

III. Τρόπος Διενέργειας Μετρήσεων

III.1. Μορφολογικές και Ανατομικές

Παράμετροι

III.1.1. Μορφολογικές Παράμετροι και

Χαρακτηριστικά Ανάπτυξης

III.1.2. Ανατομικές Παρατηρήσεις

III.1.2.1. Οπτική Μικροσκοπία και

Μικροσκοπία Επιφθορισμού

Για όλες τις παρατηρήσεις χρησιμοποιήθηκε μικροσκόπιο Zeiss Axiolab (Carl Zeiss, Jena, Germany). Οι μικροφωτογραφίες καταγράφηκαν σε κάμερα CCD τύπου SSC-DC 38P/45 (SONY Corporation, Japan) και αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή.

Τα μικροσκοπικά παρασκευάσματα για το οπτικό μικροσκόπιο αφορούσαν σε νωπές τομές με ξυράφι και παρατηρήθηκαν σε νερό με διελαύνοντα φωτισμό. Κατά περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν οι χρωστικές Sudan IV (για τη χρώση της εφυμενίδας), ερυθρό του ρουθηνίου και κυανό του μεθυλενίου (για τη χρώση των στοιχείων μεταφοράς). Για το μικροσκόπιο επιφθορισμού ετοιμάστηκαν νωπές τομές με ξυράφι οι οποίες παρατηρήθηκαν με προσπίπτον υπεριώδες φως (μέγιστη ενέργεια στα 365 nm; φίλτρο διέγερσης G-365 και φίλτρο φραγμού FT-395). Κατά περίπτωση χρησιμοποιήθηκε ως επαγωγέας φθορισμού η ουσία Naturstoff Reagent A (το αντιδραστήριο NR A (Sigma Chemical Co., St. Lewis, MO, USA) διαλύθηκε αρχικά σε μικρό όγκο μεθανόλης, αραιώθηκε με απιονισμένο νερό σε τελικό διάλυμα 1% (w:v) και διηθήθηκε από χαρτί Watman No 3) για την επαγωγή φθορισμού των φαινολικών συστατικών, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε διάλυμα KOH 10% το οποίο στη συνέχεια ξηπλύθηκε με απιονισμένο νερό για την επαγωγή φθορισμού των φαινολικών συστατικών μέσω βαθυχρωμικής μετατόπισης του εκπεμπόμενου φθορισμού¹⁶⁶.

III.1.2.2. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία

Διέλευσης

Για την προετοιμασία των παρασκευασμάτων για το ΗΜΔ κόπηκαν τμήματα 1–5 mm από το μέσον του ελάσματος και εκατέρωθεν της κεντρικής νεύρωσης ώστε να παρατηρηθούν τελικά δευτερεύουσες ηθμαγγειώδεις δεσμίδες. Τα τμήματα μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα γλουταρικής αλδεϋδης 3% σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών Sørensen 0,1 M, pH 7,2 για 3 h στους 4 °C. Ακολούθησε πλύση με ρυθμιστικό διάλυμα, (3 × 15 min), μεταστερέωση με διάλυμα OsO₄ 0,1% για 18 h, πλύση με ρυθμιστικό διάλυμα (3 × 15 min), αφυδάτωση με ανιούσες συγκεντρώσεις αιθανόλης 30–100% (ανά 15 min, τελικά 3 × 1 h), μετάβαση σε προπυλενοξειδίο για 1 h, μετάβαση σε προπυλενοξειδίο : εποξική ρητίνη (1:1) για 18 h, εποξική ρητίνη (3 × 15 min στους 45 °C), έγκλειση σε εποξική ρητίνη και πολυμερισμός (48–72 h στους 70 °C). Η τμήςση ημίλεπτων τομών για την παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο και υπέρλεπτων τομών για την παρατήρηση στο ΗΜΔ έγιναν με υπερμικροτόμο τύπου Reichert OMU-3. Οι ημίλεπτες τομές χρώσθηκαν με κυανό της τολουιδίνης ενώ οι υπέρλεπτες τομές με οξικό ουρανύλιο και κυτρίκο μόλυβδο αφού συλλέχθηκαν σε πλέγματα χαλκού καλυμμένα με μεμβράνη πυροξυλίνης. Τα δείγματα παρατηρήθηκαν σε ΗΜΔ τύπου Zeiss 9-S TEM.

III.2. Συγκέντρωση Βορίου στα Φυτικά

Όργανα και σε Δείγματα του Θρεπτικού

Διαλύματος

III.2.1. Προετοιμασία Δειγμάτων

Τα δείγματα (50 ml) των θρεπτικών διαλυμάτων συλλέχθηκαν από τα δοχεία φύλαξης και διηθήθηκαν από χαρτί Watman No 3. Τα δείγματα των φύλλων και των ριζών μετά από σύντομη πλύση με απιονισμένο νερό τοποθετήθηκαν για ξήρανση στους 105 °C για 48 h. Ακολούθως καταγράφηκε το ξηρό βάρος και έγινε λειοτριβήση των δειγμάτων. Η ξηρή ουσία (30–50 mg) τοποθετήθηκε σε πορσελάνινες

κάψες (εξευγενισμένες με πλύσεις διαλύματος HCl και απιονισμένου νερού) και ακολούθησε ξηρή καύση σε θερμοκρασία 500 °C (ανύψωση της θερμοκρασίας με ρυθμό ανόδου 4,2 °C min⁻¹ και παραμονή για 6 h στην παραπάνω θερμοκρασία). Μετά την ψύξη σε θερμοκρασία περιβάλλοντος η τέφρα εκχυλίστηκε με 0,5 ml διαλύματος HCl 6 N και το εκχύλισμα αραιώθηκε σε τελικό όγκο 5 ml με απιονισμένο νερό.

III.2.2. Φωτομετρική Μέτρηση

Συγκέντρωσης Βορίου

Για την μέτρηση της συγκέντρωσης βορίου ακολουθήθηκε η μέθοδος της χρωματικής αντίδρασης με αζομεθίνη⁵ με τροποποίηση ώστε να μειωθεί το κατώτατο όριο μέτρησης στο επίπεδο των 0,02 ppm B ώστε να καθίσταται δυνατή η μέτρηση μικρών δειγμάτων.

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

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης βορίου κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς (0,01–0,5 ppm B; 10 σημεία; R² 0.9977). Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν σε διάλυμα 0,6 N HCl. Σε όλα τα στάδια χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά σκεύη για την αποφυγή επιρρύπανσης με βόριο.

III.3. Παράμετροι Φωτοσυνθετικής

Λειτουργίας

III.3.1. Αριθμός Στομάτων

Για τη μέτρηση του αριθμού των στομάτων, αφαιρέθηκαν τμήματα 4 × 4 mm από νωπά δείγματα φύλλων, από τα οποία είχαν αφαιρεθεί οι τρίχες της αποαζονικής επιφάνειας, και συλλέχθηκαν σε αντικειμενοφόρο. Η αποαζονική επιφάνεια παρατηρήθηκε στο μικροσκόπιο φθορισμού με προσπίπτον υπεριώδες φως (μέγιστη ενέργεια στα 365 nm) χωρίς

υγρό παρατήρησης. Υπό τις συνθήκες αυτές το στρώμα των επεφυμενιδικών κηρών των καταφρακτικών κυττάρων αυτοφθορίζει έντονα μπλε φως (≈ 450 nm) ενώ αυτό των επιδερμικών κυττάρων εκπέμπει συγκριτικά ασθενέστερο φθορισμό με αποτέλεσμα να καθίσταται ευχερής η καταμέτρηση των στομάτων και των βάσεων των τριχών¹⁶⁶. Ο αριθμός των στομάτων εκφράστηκε σε στόματα mm⁻².

III.3.2. Συγκέντρωση Χλωροφυλλών

Για την μέτρηση της συγκέντρωσης χλωροφυλλών, νωπά δείγματα φύλλων λειοτριβήθηκαν σε υγρό άζωτο (× 3 έως λεπτής σκόνης) σε φωτισμό ασφαλείας. Ακολούθησε εκχύλιση με 80% ακετόνη με ίχνη CaCO₃ (3 × 5 ml) και φυγοκέντρωση (2570 × g; 15 min). Ακολούθως μετρήθηκε η απορρόφηση του εκχυλίσματος (663 και 646 nm). Η συγκέντρωση των χλωροφυλλών υπολογίστηκε σύμφωνα με τους Lichtenhaler and Wellburn¹⁹⁶.

III.3.3. Παράμετρος F_v / F_m

Για την εκτίμηση της φυσιολογικής κατάστασης της φωτοσυνθετικής συσκευής μετρήθηκε η παράμετρος F_v / F_m. Η παράμετρος αυτή σχετίζεται με τη μη φωτοχημική απόσβεση της ενέργειας διέγερσης (χορηγούμενη μέσω ακτινοβολίας στην περιοχή του κόκκινου φωτός, 650 nm) η οποία μετράται ως εκπεμπόμενος φθορισμός. Η ακτινοβολία διέγερσης χορηγείται αιφνίδια μετά από ορισμένο χρόνο παραμονής των φύλλων στο σκοτάδι. Με τον τρόπο αυτό όλοι οι πρωταρχικοί δέκτες του φωτοσυστήματος II είναι πλήρως οξειδωμένοι. Στη συνέχεια, η απότομη ακτινοβολία, προκαλεί μια αρχική εκπομπή φθορισμού που αντιστοιχεί στο αρχικό φθορισμό (F₀) της φωτοσυνθετικής συσκευής και στη συνέχεια και εφ' όσον η ένταση του διεγείροντας φωτός αντιστοιχεί σε επίπεδα κορεσμού, ο αρχικός φθορισμός ανέρχεται σε ένα μέγιστο επίπεδο (F_m) που συμπίπτει με την πλήρη αναγωγή όλων των αποθεμάτων του πρωταρχικού δέκτη Q_A. Στο σημείο αυτό η φωτοχημική ικανότητα θεωρείται μηδέν. Η διαφορά μεγίστου και αρχικού φθορισμού

ονομάζεται μεταβλητός φθορισμός (F_v). Ο λόγος του μεταβλητού προς το μέγιστο φθορισμό (F_v / F_m) αποτελεί έναν δείκτη της φωτοχημικής ικανότητας των φύλλων. Σύμφωνα με τους Adams et al.¹ η παράμετρος αυτή σχετίζεται γραμμικά με την φωτοχημική ικανότητα του φωτοσυστήματος Π. Χαμηλές τιμές της παραμέτρου αυτής υποδηλώνουν δυσλειτουργίες των φωτοχημικών κέντρων που σχετίζονται με δυσχέρειες στη μεταφορά ενέργειας από την αντένα φωτοσυλλογής προς τα φωτοχημικά κέντρα αντίδρασης. Υπό συνθήκες καταπόνησης, ο προσδιορισμός της παραμέτρου αυτής μπορεί να δώσει μια εκτίμηση των φυσιολογικών βλαβών που σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων³⁷⁹.

Οι μετρήσεις της παραμέτρου F_v / F_m πραγματοποιήθηκαν με φθορισμόμετρο τύπου Fim 1500 (ADC Ltd., UK). Κάθε σειρά μετρήσεων ελαμβάνετο την ίδια ώρα του εικοσιτετραώρου (22⁰⁰) μετά από προσαρμογή των φύλλων στο σκοτάδι για 30 min. Το επίπεδο ακτινοβολήσης ήταν στο 60% του μέγιστου και η διάρκεια 5 sec. Η διαμόρφωση των παραπάνω τιμών καθορίστηκε με προκαταρκτικά πειράματα.

III.3.4. Φωτοσυνθετική Ικανότητα

Η φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων αντιστοιχεί στη μέγιστη φωτοσυνθετική ταχύτητα που διαμορφώνεται όταν αρθούν οι περιοριστικοί παράγοντες που σχετίζονται με τη μερική πίεση CO₂ στο εσωτερικό του φύλλου. Για το λόγο αυτό, η φωτοσυνθετική ικανότητα καταγράφεται ως φωτοσυνθετική έκλυση O₂ υπό ατμόσφαιρα με υψηλή συγκέντρωση CO₂ (5% w/v)^{340,358}. Η συγκέντρωση αυτή διαμορφώνεται με τη βοήθεια διαλύματος Na₂CO₃ / NaHCO₃ σε κατάλληλη αναλογία στο θάλαμο μέτρησης.

Για τις μετρήσεις φωτοσυνθετικής ικανότητας των φύλλων χρησιμοποιήθηκε οξυγονόμετρο αερίου φάσης τύπου Hansatech Oxyrec (Hansatech Instruments King's Lynn, UK). Τα φύλλα ελάμβαναν λευκό φως με ένταση (PAR) ίση με 800 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ στους 25 °C.

III.4. Αναλύσεις Σακχάρων στους

Φυτικούς Ιστούς και το Χυμό του Ηθμού

III.4.1. Προετοιμασία Δειγμάτων

Για τις αναλύσεις των σακχάρων τα φύλλα χωρίστηκαν σε δύο μέρη και απορριβήθηκε η κεντρική νεύρωση. Ακολούθως τα δείγματα (1,5–2,0 g v.β.), λειοτριβήθηκαν με υγρό άζωτο ($\times 3$ έως λεπτής σκόνης) και εκχυλίστηκαν με νερό (10 ml) με τη βοήθεια άμμου εκχύλισης⁴⁴. Μετά από φυγοκέντρωση (2570 \times g; 15 min) το υπερκείμενο αποθηκεύτηκε στους –20 °C.

Για την συλλογή του χυμού του ηθμού χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των King and Zeevaart¹⁶⁹ όπως τροποποιήθηκε από τους Flora and Madore⁹⁸. Κλαδίσκοι μήκους 30 cm παρέμειναν σε απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία 25 °C, σχετική υγρασία 50% και φωτισμό έντασης (PAR) 600 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ για 1 h. Ακολούθως κόπηκαν 8 φύλλα ανά δείγμα. Η κοπή έγινε με ξυράφι εντός του διαλύματος συλλογής. Το διάλυμα συλλογής παρασκευάστηκε ως 20 mM Na₂EDTA ρυθμισμένο σε pH 7,0 με διάλυμα KOH. Στη συνέχεια τα φύλλα τοποθετήθηκαν ανά 8 σε ατομικά δοχεία με τους μίσχους εντός του διαλύματος συλλογής (1,5 ml) με τέτοιο τρόπο ώστε να εκτίθενται στο φως (όπως παραπάνω) με κλίση 45°. Η συλλογή του χυμού ξεκίνησε στις 11⁰⁰ και ολοκληρώθηκε 6 ώρες αργότερα. Στο μισό του χρόνου προστέθηκε σε κάθε δείγμα νερό (1 ml) για την αναπλήρωση των απωλειών λόγω εξατμισοδιαπνοής. Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής τα δείγματα ογκομετρήθηκαν και αποθηκεύτηκαν στους –20 °C.

Για τη χρωματογραφική ανάλυση, ορισμένος όγκος εκχυλίσματος φύλλων αραιώθηκε (1:5–1:15), απιονίστηκε σε ιονανταλλακτικές στήλες Chromafix PS–H και PS–OH (400 mg) (Macherey–Nagel, Düren, Germany) και διηθήθηκε από φίλτρο μεμβράνης Chromafil RC–20/25 (Macherey–Nagel). Τα δείγματα του χυμού του ηθμού προετοιμάστηκαν όπως παραπάνω αλλά χωρίς αραιώση.

III.4.2. Χρωματογραφική Ανάλυση

Για τις χρωματογραφική ανάλυση

χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) εξοπλισμένο με τριαδική αναλογική αντλία χαμηλής πίεσης LG-980-02, αντλία PU-980 και ανιχνευτή δεικτού διάθλασης RI-930 (Jasco Corporation, Tokyo, Japan) ή εναλλακτικά σύστημα HPLC τύπου HP 1050 Series εξοπλισμένο με ανιχνευτή δεικτού διάθλασης HP 1047A και ολοκληρωτή HP 3395 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Ο διαχωρισμός έγινε σε αναλυτική στήλη HC-75 Ca⁺⁺ form (305 × 7,8 mm; Hamilton Bonaduz AG, Switzerland). Η αναλυτική στήλη διατηρήθηκε σε θερμοκρασία 50 ή 85 °C κατά τη διάρκεια της ανάλυσης. Η απαέρωση της κινητής φάσης έγινε με διαβίβαση ηλίου. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε νερό. Ο ρυθμός ροής της κινητής φάσης ήταν 0,4 (50 °C) ή 1,0 ml min⁻¹ (85 °C) και η ανίχνευση έγινε μέσω του δεικτού διάθλασης.

Οι κορυφές έκλουσης αναγνωρίστηκαν με σύγκριση με πρότυπες ουσίες με βάση το χρόνο συγκράτησης και με συγχρωματογράφιση.

Η συγκέντρωση των εκλούμενων συστατικών μετρήθηκε μέσω του εμβαδού ή του ύψους των κορυφών έκλουσης και με τη βοήθεια καμπυλών αναφοράς που κατασκευάστηκαν με εκτέλεση αναλύσεων προτύπων διαλυμάτων (5–400 mg l⁻¹; 5 σημεία; R² 0.97).

III.5. Αναλύσεις Φαινολικών Συστατικών στους Φυτικούς Ιστούς

III.5.1. Προετοιμασία Δειγμάτων

Για τις αναλύσεις των φαινολικών συστατικών τα φύλλα χωρίστηκαν σε δύο μέρη και απορρίφθηκε η κεντρική νεύρωση. Στη συνέχεια αφαιρέθηκε το τρίχωμα της αποξονικής επιφάνειας με κολλητική ταινία (δείγματα αποτριχωμένων φύλλων) ή με ξυράφι (δείγματα τριχώματος).

Ακολουθώντας τα δείγματα των αποτριχωμένων φύλλων (1,5–2,0 g v.β.), λειοτριβήθηκαν με υγρό άζωτο (× 3 έως λεπτής σκόνης) και εκχυλίστηκαν με μεθανόλη 80% (10 ml) με τη βοήθεια άμμου εκχύλισης. Μετά από φυγοκέντρηση (2570 × g; 15 min) το υπερκείμενο συμπυκνώθηκε έως όγκου 2 ml

σε περιστροφικό συμπυκνωτή κενού (30 °C υπό ρεύμα αζώτου). Ακολουθώντας το εκχύλισμα εκχυλίστηκε σε διφασικό σύστημα ακετονιτριλίου : n-εξανίου 4:6 (v:v) για την απομάκρυνση του άπολου κλάσματος και η κατώτερη φάση παραλήφθηκε, συμπυκνώθηκε όπως παραπάνω, επαναδιαλύθηκε σε μεθανόλη 50% (10 ml) και αποθηκεύτηκε στους –20 °C^{ee}.

Τα δείγματα του τριχώματος (6–9 mg v.β.) εκχυλίστηκαν με μεθανόλη 80% (10 ml) με τη βοήθεια άμμου εκχύλισης. Μετά τη φυγοκέντρηση (16000 × g; 15 min) το υπερκείμενο προετοιμάστηκε όπως παραπάνω, επαναδιαλύθηκε σε μεθανόλη 50% (2 ml) και αποθηκεύτηκε στους –20 °C.

Για τη χρωματογραφική ανάλυση, ορισμένος όγκος εκχυλίσματος φύλλων αραιώθηκε (1:5) και διηθήθηκε από φίλτρο μεμβράνης Chromafil RC-20/25 (Macherey–Nagel, Düren, Germany). Για τα δείγματα του τριχώματος, το εκχύλισμα χρησιμοποιήθηκε χωρίς αραιώση μετά από φυγοκέντρηση (16000 × g; 5 min).

III.5.2. Χρωματογραφική Ανάλυση

Για τη χρωματογραφική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το παραπάνω σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) εξοπλισμένο με ανιχνευτή υπεριώδους-ορατού UV-970 και φθορισμομετρικό ανιχνευτή FP-920 (Jasco Corporation). Ο διαχωρισμός έγινε σε αναλυτική στήλη APEX ODS (5 μm; 250 × 4,6 mm) συνδεδεμένη εν σειρά με προστήλη APEX ODS (5 μm; 1 cm × 4,6 mm; Jones Chromatography Limited, Mid Glamorgan, UK). Η εισαγωγή του δείγματος έγινε με βαλβίδα εισαγωγής 7725i (Reodyne, Rohnert Park, California USA) μέσω διαδρομής χωρητικότητας 20 μl. Η αναλυτική στήλη διατηρούταν σε θερμοκρασία 30 °C σε θερμαντικό (7971 column heater; Jones Chromatography Limited) κατά τη διάρκεια της ανάλυσης. Η απαέρωση της κινητής φάσης έγινε με διαβίβαση ηλίου. Τα μίγματα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν για την κινητή φάση ήταν: A: 5% μυρμηγκικό οξύ; B: 50% MeCN σε 5% μυρμηγκικό οξύ; C: 80% MeOH σε 5% μυρμηγκικό οξύ. Χρησιμοποιήθηκε το παρακάτω πρόγραμμα έκλουσης: 95:0:5 (A:B:C), αρχικές

συνθήκες; ισοκρατικά για 5 min; μετάβαση (γραμμικά) προς 86:4:10 σε 10 min; μετάβαση προς 78:9:13 σε 25 min; ισοκρατικά για 10 min; μετάβαση προς 76:7:17 σε 5 min; μετάβαση προς 57:35:8 σε 35 min; μετάβαση προς 33:55:12 σε 20 min; μετάβαση προς 0:0:100 σε 5 min; ισοκρατικά για 10 min. Η επαναφορά στις αρχικές συνθήκες έγινε με μετάβαση σε 5 min και εξισορρόπηση για 10 min. Ο ρυθμός ροής της κινητής φάσης ήταν $1,0 \text{ ml min}^{-1}$ και η ανίχνευση έγινε στα 280 και 365 nm. Τα χρωματογραφήματα καταγράφηκαν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή μέσω του λογισμικού Borwin Chromatographic Software, ver. 1.21.60 (JMBS Development, Fontaine, France).

Οι κορυφές έκλυσης αναγνωρίστηκαν με σύγκριση με πρότυπες ουσίες με βάση το χρόνο συγκράτησης, τα φάσματα απορρόφησης καθώς και με συγχρωματογράφηση. Η καταγραφή των φασμάτων απορρόφησης πραγματοποιήθηκε με παύση ροής χρησιμοποιώντας τον ανιχνευτή. Τα φάσματα απορρόφησης ελήφθησαν στην αιχμή της κορυφής

έκλυσης και κατά περίπτωση σε διαφορετικά σημεία της καμπύλης της κορυφής έκλυσης για την διαπίστωση της καθαρότητας των εκλουόμενων συστατικών.

Κατά περίπτωση ελήφθησαν φάσματα εκπομπής φθορισμού και διέγερσης. Η λήψη των φασμάτων πραγματοποιήθηκε με παύση ροής. Αρχικά καταγράφηκε το φάσμα εκπομπής φθορισμού χρησιμοποιώντας το μέγιστο μήκος κύματος απορρόφησης στο υπεριώδες ως μήκος κύματος διέγερσης. Ακολούθως καταγράφηκε το φάσμα διέγερσης χρησιμοποιώντας ως μήκος κύματος εκπομπής αυτό της μέγιστης εκπομπής φθορισμού.

Η συγκέντρωση των εκλουόμενων συστατικών μετρήθηκε μέσω του εμβαδού των κορυφών έκλυσης και με τη βοήθεια καμπυλών αναφοράς που κατασκευάστηκαν με εκτέλεση αναλύσεων προτύπων διαλυμάτων ($0,1\text{--}1000 \text{ mg l}^{-1}$; 3 σημεία; R^2 0.99). Οι ποσοτικές αναλύσεις εκτελέστηκαν με ανίχνευση στα 280 και 365 nm κατά περίπτωση.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Man, being the servant and interpreter of Nature, can do and understand so much and so much only as he has observed in fact or in thought of the course of nature: beyond this he neither knows anything nor can do anything'

Novum Organum, 1620

Sir Francis Bacon

I. Συγκέντρωση Βορίου στους Φυτικούς Ιστούς

I.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών

Κατά την έναρξη του πειράματος πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης βορίου σε πλήρως εκπτυγμένα φύλλα της τρέχουσας βλάστησης. Κατά τη λήξη του πειράματος τα φύλλα αυτά θεωρήθηκαν ως παλιά (Πα), καθώς προϋπήρχαν και είχαν ολοκληρώσει την ανάπτυξή τους κατά τη χρονική στιγμή της εγκατάστασης του πειράματος. Σύμφωνα με την παραπάνω κατάταξη, τα φύλλα που είχαν αναπτυχθεί κατά τη διάρκεια του πειράματος θεωρήθηκαν ως νέα (Νε).

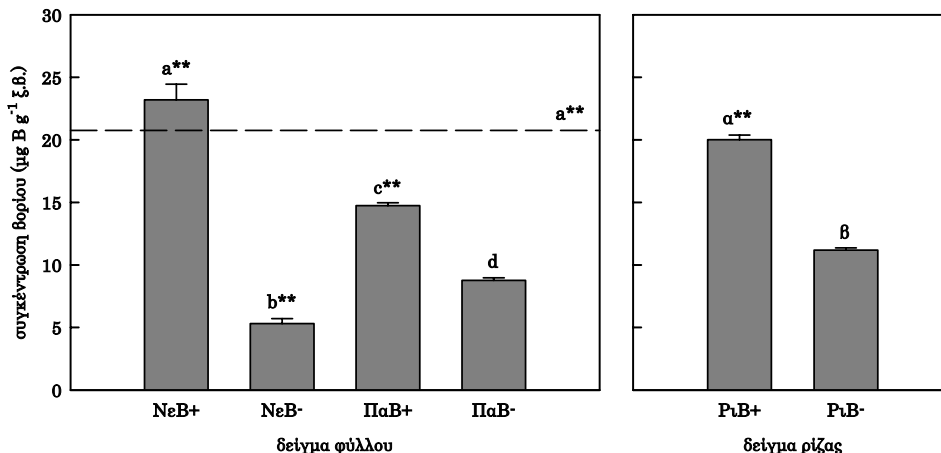
Στην **Εικόνα I.1** παρουσιάζεται η συγκέντρωση βορίου των δύο κατηγοριών φύλλων στην αρχή και το τέλος του πειράματος. Η συγκέντρωση βορίου πλήρως εκπτυγμένων φύλλων στην αρχή του πειράματος ήταν $20,7 \pm 1,1 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. Στη λήξη του πειράματος (ημέρα 90) η συγκέντρωση βορίου μειώθηκε στα φύλλα

(φύλλα Πα) συγκριτικά με την έναρξη του πειράματος, γεγονός που υποδεικνύει ότι το βόριο επανεκκινήθηκε από τα φύλλα αυτά κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η μείωση ήταν μεγαλύτερη στα φύλλα των φυτών της μεταχείρισης B- ($8,8 \pm 0,2 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. έναντι $20,7 \pm 1,1 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β.), αλλά παρατηρήθηκε σε μικρότερο βαθμό και στα φύλλα της μεταχείρισης B+ ($14,8 \pm 0,2 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. έναντι $20,7 \pm 1,1 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β.) (**Εικόνα I.1**).

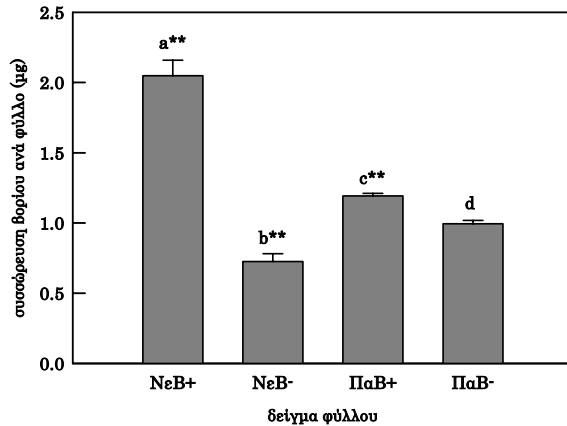
Στα φύλλα (Νε) της μεταχείρισης B+ μετρήθηκε συγκέντρωση $23,2 \pm 1,2 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. ενώ στα αντίστοιχα φύλλα της μεταχείρισης B- η συγκέντρωση βορίου ήταν ιδιαίτερα χαμηλή ($5,3 \pm 0,4 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β.). Η συγκέντρωση των Νε φύλλων της μεταχείρισης B+ ήταν βορίου ελαφρώς υψηλότερη από αυτή των φύλλων κατά την έναρξη του πειράματος (**Εικόνα I.1**).

Η συγκέντρωση βορίου στο ριζικό σύστημα στη λήξη του πειράματος ήταν $20,0 \pm 0,4 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. για τα φυτά B+ και $11,2 \pm 0,2 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. για τα φυτά B- (**Εικόνα I.1**).

Η συσσώρευση βορίου ανά φύλλο (**Εικόνα I.2**) εμφάνισε ανάλογη εικόνα με τη συγκέντρωση. Ωστόσο, η διαφορά στη συσσώρευση μεταξύ φύλλων ΝεB+ και ΝεB- ήταν μικρότερη από την αντίστοιχη



Εικόνα I.1. Συγκέντρωση βορίου στα φύλλα και τις ρίζες των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών κατά τη λήξη του πειράματος (διάρκειας 90 ημέρες). Όλα τα δείγματα αφορούν σε πλήρως εκπτυγμένα φύλλα. Η διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο μέσο όρο της συγκέντρωσης βορίου των φύλλων στην έναρξη του πειράματος. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (**: $P < 0,01$; d.f. 16, φύλλα; d.f. 8, ρίζες).



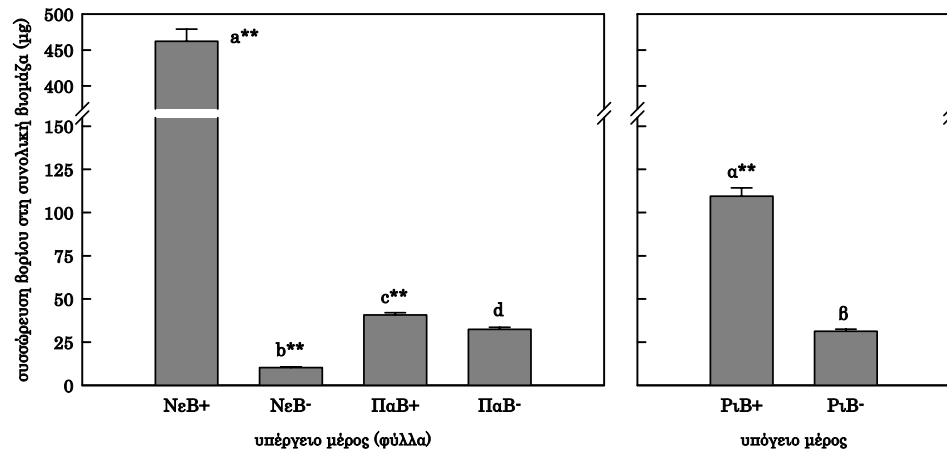
Εικόνα 1.2. Συσσώρευση βορίου στα φύλλα των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Όλα τα δείγματα αφορούν σε πλήρως εκπτυγμένα φύλλα. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (**: $P < 0,01$; d.f. 16).

διαφορά στη συγκέντρωση, ενδεχομένως λόγω της αύξησης της φυλλικής μάζας των φύλλων NeB- συγκριτικά με τα φύλλα NeB+ κατά 59% (Πίνακας II.3). Το ίδιο φαινόμενο παρατηρήθηκε μεταξύ των

δύο μεταχειρίσεων των Πα φύλλων. Στην περίπτωση αυτή η αύξηση της ξηρής βιομάζας των φύλλων ΠαB- ήταν 40% με αποτέλεσμα την συνακόλουθη μείωση της διαφοράς στη συσσώρευση συγκριτικά με τη συγκέντρωση.

Η έκφραση του περιεχομένου βορίου ως συσσώρευση ανά όργανο, παρέχει μια καλύτερη εικόνα για την επανεκκίνηση βορίου από τα όργανα αυτά συγκριτικά με τη συγκέντρωση, διότι η συσσώρευση δεν εξαρτάται από το ξηρό βάρος του οργάνου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα (Εικόνα 1.2), η ποσότητα του βορίου που επανεκκινήθηκε από τα ΠαB- φύλλα ήταν 17% περισσότερο συγκριτικά με το βόριο που επανεκκινήθηκε από τα φύλλα ΠαB+.

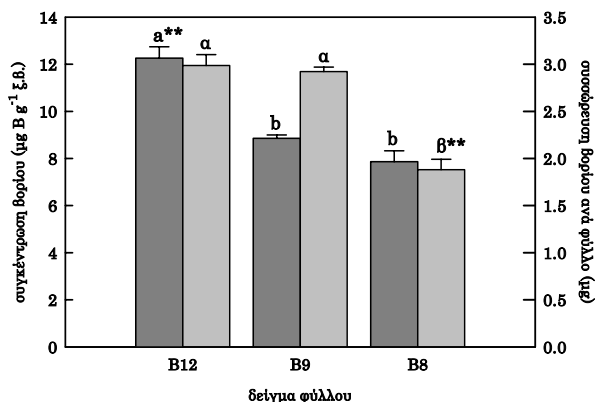
Στην Εικόνα 1.3 παρουσιάζεται η συσσώρευση βορίου ανά φυτικό τμήμα. Οι μετρήσεις αναφέρονται στη συνολική φυλλική μάζα (χωρισμένη σε φύλλα Πα και Ne) και στο υπόγειο μέρος κάθε φυτού. Η δραματική διαφορά στη συσσώρευση βορίου της νέας βλάστησης μεταξύ φυτών B+ και B- οφείλεται στο μέγεθος της βιομάζας των φυτών B+. Στο ριζικό σύστημα, η συσσώρευση ήταν περίπου 4 φορές μεγαλύτερη για τα φυτά B+ συγκριτικά με τα φυτά B- (Εικόνα 1.3).



Εικόνα 1.3. Συσσώρευση βορίου στο υπέργειο (φύλλα ανά κατηγορία) και υπόγειο μέρος των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (**: $P < 0,01$; d.f. 16, υπέργειο; d.f. 8, υπόγειο μέρος).

1.2. Πείραμα Πεδίου

Στο πείραμα του πεδίου επιλέχθηκαν δύο ομάδες φυτών, με βάση την απουσία ή παρουσία ορατών συμπτωμάτων τροφопενίας βορίου (Εικόνα II.4, βλ. επίσης Εικόνα II.7). Από τα υγιή φυτά (B+) επιλέχθηκαν φύλλα της τρέχουσας βλάστησης ως μοναδική κατηγορία δείγματος. Από τα φυτά που εμφάνιζαν συμπτώματα τροφопενίας βορίου (B-) επιλέχθηκαν δύο κατηγορίες φύλλων της τρέχουσας βλάστησης, η πρώτη από υγιείς κλαδίσκους



Εικόνα I.4. Συγκέντρωση (■) και συσσώρευση (▒) βορίου στα φύλλα των φυτών από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Όλα τα δείγματα αφορούν σε πλήρως εκπτυγμένα φύλλα. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (**: $P < 0,01$; d.f. 12).

χωρίς συμπτώματα και η δεύτερη από κλαδίσκους των οποίων τα φύλλα έφεραν έντονα συμπτώματα τροφопενίας βορίου.

Μετά από ανάλυση του περιεχομένου βορίου, βρέθηκε ότι τα φύλλα των υγιών φυτών παρουσίαζαν συγκέντρωση $12,3 \pm 0,5 \mu\text{g B g}^{-1}$ ξ.β. Στα δείγματα φύλλων των φυτών με συμπτώματα τροφопενίας προσδιορίστηκε συγκέντρωση $8,9 \pm 0,1 \mu\text{g B g}^{-1}$ ξ.β. και $7,9 \pm 0,5 \mu\text{g B g}^{-1}$ ξ.β. για τα φύλλα της υγιούς και με συμπτώματα βλάστησης αντίστοιχα (Εικόνα I.4). Με βάση τη συγκέντρωση βορίου, οι τρεις κατηγορίες φύλλων αναφέρονται ως B12, B9 και B8. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα (Εικόνα I.4), η συγκέντρωση βορίου των δύο κατηγοριών φύλλων των προσβεβλημένων φυτών (B9 και B8) δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους παρά τις εμφανείς μακροσκοπικές διαφορές που παρουσιάζουν (βλ. επίσης Εικόνα II.7). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι τα ορατά συμπτώματα δεν είναι πάντα ασφαλές κριτήριο για τη θρεπτική κατάσταση ενός φύλλου.

Η συσσώρευση βορίου ανά φύλλο δεν εμφάνισε ανάλογη εικόνα με τη συγκέντρωση καθώς τα φύλλα B9 είχαν κατά 35% υψηλότερο ξηρό βάρος συγκριτικά τόσο με τα φύλλα B12 όσο και με τα φύλλα B8 (Πίνακας II.4). Έτσι, η συσσώρευση για τα φύλλα B9 εμφανίζεται ίδια με αυτή των φύλλων B12 (Εικόνα II.7). Από την άλλη μεριά, τα φύλλα B8 παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά στη συσσώρευση βορίου συγκριτικά με τις υπόλοιπες δύο κατηγορίες. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη χαμηλή συγκέντρωση βορίου σχετίζεται ενδεχομένως με τα παρατηρούμενα συμπτώματα τροφопενίας.

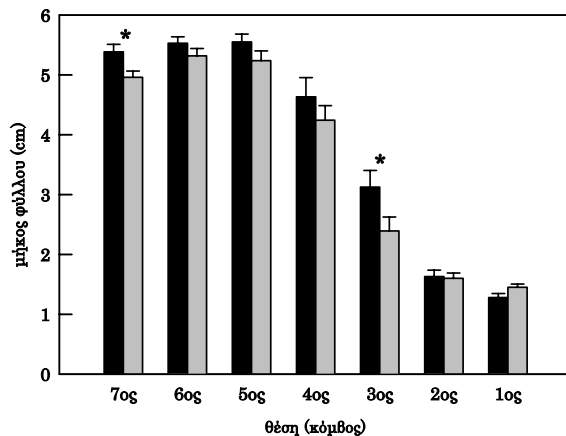
II. Παράμετροι Ανάπτυξης, Μορφολογικά και Ανατομικά Χαρακτηριστικά των Φύλλων

II.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών

II.1.1. Αναπτυξιακές Παράμετροι της Νέας Βλάστησης

II.1.1.1. Αναπτυξιακές Παράμετροι της Νέας Βλάστησης 4 Εβδομάδες Μετά την Έναρξη του Πειράματος

Προκειμένου να διαπιστωθεί η ενδεχόμενη επίδραση της έλλειψης βορίου στην ανάπτυξη των φυτών, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των



Εικόνα II.1. Μέσο μήκος των φύλλων της νέας βλάστησης των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών 30 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος. Η θέση του φύλλου προσδιορίζεται από τον κόμβο, με αρίθμηση από την κορυφή προς την βάση της νέας βλάστησης. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). ■: φύλλα φυτών B+; ▒: φύλλα φυτών B-. Με αστερίσκο σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$; d.f. 38).

αναπτυξιακών παραμέτρων της νέας βλάστησης 30 ημέρες μετά την εγκατάσταση των φυτών. Η καταστολή της επιμήκυνσης των αναπτυσσόμενων οργάνων θεωρείται μια από τις χαρακτηριστικότερες επιδράσεις της έλλειψης βορίου στα φυτά. Για το λόγο αυτό, εκτός από τον αριθμό των φύλλων της νέας βλάστησης, μετρήθηκε το μέσο μήκος των φύλλων τόσο συνολικά (Πίνακας II.1) όσο και ανά κόμβο (Εικόνα II.1), το μήκος της νέας βλάστησης και το μέσο μήκος των μεσογονατίων διαστημάτων (Πίνακας II.1).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η τροφопενία βορίου προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση του μήκους της νέας βλάστησης κατά 16% συγκριτικά με τα φυτά B+ ενώ αντίθετα ο αριθμός των νέων φύλλων δεν έδειξε να επηρεάζεται σημαντικά (Πίνακας II.1). Ανάλογα με τα αποτελέσματα αυτά, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση του μέσου μήκους των μεσογονατίων διαστημάτων κατά 11% (Πίνακας II.1).

Στατιστικά σημαντική διαφορά στο μήκος των φύλλων παρατηρήθηκε στα φύλλα του 7ου και 3ου κόμβου, ωστόσο το μήκος των φύλλων εμφανίστηκε μειωμένο στα φυτά B- σε όλους τους κόμβους από τον 3ο έως και τον 7ο (Εικόνα II.1).

Η θέση ανά κόμβο σχετίζεται με το στάδιο ανάπτυξης των φύλλων. Έτσι, τα φύλλα του 3ου κόμβου βρίσκονται (σύμφωνα με την τάση που εμφανίζεται στην Εικόνα II.1) στην εκθετική φάση αύξησης. Συνεπώς στο αναπτυξιακό αυτό στάδιο είναι πιθανή μια εντονότερη επίπτωση της ελλειψούς τροφοδοσίας με βόριο διότι ο ρυθμός επιμήκυνσης των κυττάρων του φύλλου είναι υψηλότερος και επομένως οι ανάγκες σε βόριο ανάλογα αυξημένες. Πράγματι, στα φύλλα του 3ου κόμβου παρατηρήθηκε όχι μόνο η υψηλότερη ποσοστιαία μείωση στο μήκος του ελάσματος των φύλλων B- ως προς το μήκος των φύλλων B+ (23%) αλλά και η μεγαλύτερη μείωση κατ' απόλυτη τιμή (Εικόνα II.1).

Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν ότι η τροφопενία βορίου δεν επηρέασε σημαντικά τον αριθμό των νέων οργάνων που σχηματίζονται. Η επίδραση της έλλειψης βορίου εστιάζεται κυρίως στον ρυθμό έκπτυξης του ελάσματος και της επιμήκυνσης του βλαστού.

Αποτελέσματα

Πίνακας II.1. Αναπτυξιακές παράμετροι της νέας βλάστησης των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών 30 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος. Οι τιμές αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα).

παράμετρος	B+	B-	διαφορά (%) [†]
μήκος νέας βλάστησης (cm)	5,66 \pm 0,22	4,76 \pm 0,24	-16,0 **
αριθμός φύλλων νέας βλάστησης (ανά φυτό)	6,05 \pm 0,17	5,70 \pm 0,14	-5,8
μέσο μήκος φύλλων νέας βλάστησης (cm)	4,24 \pm 0,10	4,01 \pm 0,10	-3,2
μέσο μήκος μεσογονατίων διαστημάτων (cm)	0,93 \pm 0,02	0,83 \pm 0,03	-11,0 **

[†] Η διαφορά αφορά στη μεταχείριση B- ως προς τον μάρτυρα (B+). Με διπλό αστερισκό σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,01$; d.f. 38).

II.1.1.2. Αναπτυξιακές Παράμετροι της Νέας Βλάστησης Κατά τη Λήξη του Πειράματος

Στον Πίνακα II.2 παρουσιάζονται τα αναπτυξιακά χαρακτηριστικά των φυτών κατά τη λήξη του πειράματος. Στην Εικόνα II.2 παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικές εικόνες των φυτών. Η βλάστηση των φυτών B- επηρεάστηκε δραματικά καθώς το μήκος του κεντρικού στελέχους μειώθηκε κατά 83% ενώ το συνολικό μήκος κατά 97% (Πίνακας II.2 και Εικόνα II.2). Στα φυτά B- δεν εκπύχθηκαν πλάγιοι βλαστοί (Εικόνα II.2). Ο αριθμός των νέων φύλλων αλλά και η φυλλική βιομάζα ήταν σημαντικά μειωμένα στα φυτά B- κατά 94% και 90% αντίστοιχα συγκριτικά με τα φυτά B+.

Η τροφопενία βορίου επηρέασε αισθητά και την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, αφού παρατηρήθηκε μείωση της ξηρής βιομάζας κατά 49% στα φυτά B- συγκριτικά με τα φυτά B+ (Πίνακας II.2). Εκτός από την καταστολή της αύξησης, η

τροφопενία βορίου επηρέασε και την αρχιτεκτονική του ριζικού συστήματος με μείωση του μήκους αλλά και του βαθμού διακλάδωσης των ριζών. Το πάχος των ριζών των φυτών B- αυξήθηκε εμφανώς συγκριτικά με τις ρίζες των φυτών B+ ενώ απέκτησαν καστανό έως φαιό χρωματισμό (Εικόνα II.3).

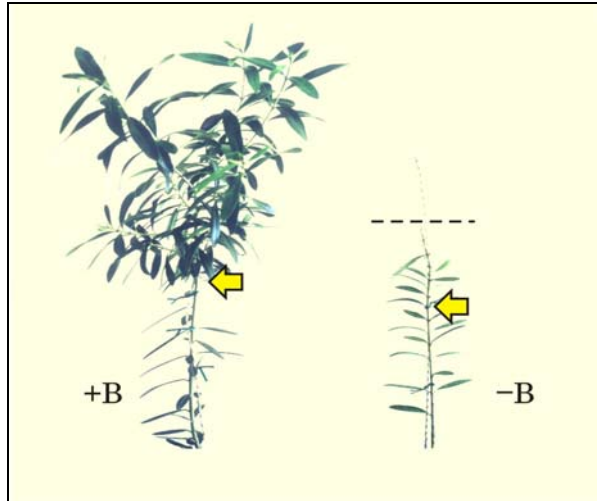
Ως αποτέλεσμα της μικρότερης καταστολής της ανάπτυξης του υπογείου σε σχέση με το υπέργειο μέρος, ο λόγος υπέργειας / υπόγεια βιομάζα επηρεάστηκε έντονα. Στα φυτά της μεταχείρισης B+ η τιμή του λόγου ήταν περίπου 5 φορές μεγαλύτερη από αυτή των φυτών B- (Πίνακας II.2). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι σε συνθήκες τροφопενίας βορίου δίνεται προτεραιότητα στην ανάπτυξη του ριζικού συστήματος

Η μικρότερη παρεμπόδιση της ανάπτυξης του ριζικού συστήματος συγκριτικά με το υπέργειο μέρος στα φυτά B- είναι ενδεχομένως αποτέλεσμα της εγγύτητας του πρώτου με τα θρεπτικά αποθέματα του βορίου που βρίσκονται σε ίχνη ακόμα και σε θρεπτικά μέσα όπως αυτό που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών.

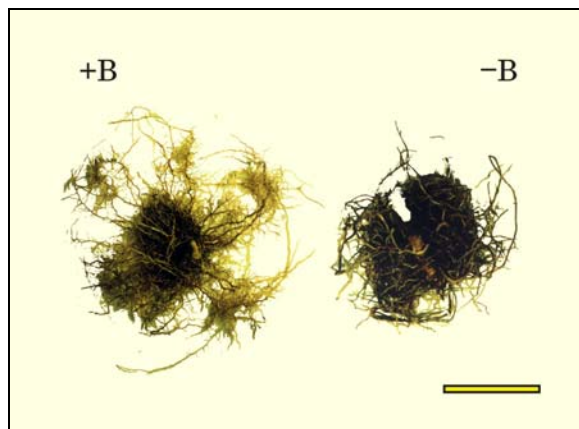
Πίνακας II.2. Αναπτυξιακές παράμετροι της νέας βλάστησης των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι τιμές αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα).

παράμετρος	B+	B-	διαφορά (%) [†]
μήκος νέας βλάστησης, συνολικό (cm)	190,93 \pm 9,59	6,02 \pm 0,42	-97 **
μήκος νέας κεντρικής βλάστησης (cm)	35,75 \pm 2,87	6,02 \pm 0,42	-83 **
μήκος νέας πλάγιας βλάστησης, συνολικό (cm)	155,18 \pm 7,95	-	-
αριθμός πλάγιων κλάδων	13,10 \pm 0,74	-	-
αριθμός νέων φύλλων	225,60 \pm 8,23	14,15 \pm 0,51	-94 **
βιομάζα νέων φύλλων (g ξ.β.)	19,92 \pm 0,73	1,94 \pm 0,07	-90 **
βιομάζα ριζών (g ξ.β.)	5,47 \pm 0,24	2,80 \pm 0,11	-49 **
υπέργεια (φύλλα) / υπόγεια βιομάζα	3,64	0,69	81 **

[†] Η διαφορά αφορά στη μεταχείριση B- ως προς τον μάρτυρα (B+). Με διπλό αστερισκό σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,01$; d.f. 38).



Εικόνα II.2. Αντιπροσωπευτική εικόνα του υπέργειου μέρους των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Με τα βέλη σημειώνεται το σημείο διαχωρισμού φύλλων των δύο ηλικιακών κατηγοριών (φύλλα (Νε) και (Πα)). Η διακεκομμένη οριζόντια γραμμή σημειώνει το ύψος του φυτού B- το οποίο δεν είναι εμφανές λόγω φυλλόπτωσης.



Εικόνα II.3. Αντιπροσωπευτική εικόνα του υπόγειου μέρους των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Η κλιμακα έχει μήκος 5 cm.

II.1.2. Αναπτυξιακές Παράμετροι και Ανατομικά Χαρακτηριστικά των Φύλλων

Τα φύλλα των φυτών B- επηρεάστηκαν δραματικά

από την έλλειψη βορίου (Πίνακας II.3 και Εικόνα II.4). Όσον αφορά στις αναπτυξιακές παραμέτρους, τα φύλλα ΝεB- εμφανίστηκαν μικρότερα σε μέγεθος κατά 25%. Το νωπό βάρος των φύλλων δεν επηρεάστηκε, ωστόσο το ξηρό βάρος εμφανίστηκε σημαντικά αυξημένο στα φύλλα ΝεB- κατά 59%. Ως αποτέλεσμα των παραπάνω επιδράσεων, η ειδική φυλλική μάζα σχεδόν διπλασιάστηκε στα φύλλα ΝεB- (Πίνακας II.3). Το γεγονός αυτό σχετίζεται με τον χαρακτήρα σκληροφυλλίας ο οποίος αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα των φύλλων σε είδη όπως η ελιά. Θα πρέπει να επισημανθεί στο σημείο αυτό ότι τα φύλλα ΝεB+ δεν παρουσίασαν την τυπική μορφολογία των φύλλων που αναπτύσσονται στο πεδίο. Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανότατα στην παντελή απουσία παραγόντων καταπόνησης εντός του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών (υπεριώδης ακτινοβολία, ξηροθερμικές συνθήκες, θρεπτική καταπόνηση). Αντίθετα, τα φύλλα ΝεB-, λόγω της τροφοπενίας βορίου εμφάνισαν έντονο ξηρομορφικό χαρακτήρα.

Μια επιπλέον ένδειξη για την παραπάνω επίδραση αποτελεί τόσο το πάχος των φύλλων όσο και το πάχος των επιμέρους ιστών και δομών που εξειδικεύονται στην προστασία από παράγοντες του περιβάλλοντος που επικρατούν σε ξηροθερμικά οικοσυστήματα όπως το Μεσογειακό. Στα φύλλα ΝεB- το πάχος βρέθηκε σημαντικά αυξημένο κατά 26% συγκριτικά με τα φύλλα ΝεB+ (Πίνακας II.3). Όσον αφορά στους επιμέρους ιστούς ή τμήματα του φύλλου, τόσο το πάχος της προσαξονικής και αποσαξονικής εφυμενίδας όσο και το πάχος του πασσαλώδους και σπογγώδους παρεγχύματος αυξήθηκαν λόγω τροφοπενίας βορίου (Πίνακας II.3). Ειδικότερα το πάχος του πασσαλώδους παρεγχύματος αυξήθηκε κατά 48% στα φύλλα ΝεB- ενώ αυτό του σπογγώδους μόλις κατά 20%. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως να ενισχύει την παραπάνω παρατήρηση δεδομένου ότι στα αειφυλλα σκληρόφυλλα η παρουσία του χαρακτηριστικής οργάνωσης πασσαλώδους παρεγχύματος σχετίζεται με τον εγκλιματισμό σε αντίξοες συνθήκες. Έτσι, στα φύλλα ΝεB-, ο λόγος του πάχους του πασσαλώδους προς το σπογγώδες παρέγχυμα αυξήθηκε κατά 22% συγκριτικά με τα φύλλα ΝεB+ (Πίνακας II.3). Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον το γεγονός

Αποτελέσματα

ότι παρόλο που το πάχος του πασσαλώδους παρεγχύματος αυξήθηκε, ο αριθμός των επάλληλων στρώσεων των κυττάρων του ιστού αυτού παρέμεινε σταθερός (αύξηση μόλις 8% στα φύλλα ΝεΒ- συγκριτικά με τα φύλλα Β+). Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι το πάχος τόσο της προσαξονικής όσο και της αποαξονικής επιδερμίδας παρέμεινε σταθερό.

Μια σημαντική παράμετρος που σχετίζεται με ποικίλα οικοφυσιολογικά χαρακτηριστικά των ώριμων φύλλων της ελιάς είναι η παρουσία του τριχώματος της αποαξονικής επιφάνειας. Η επίδραση της τροφοπενίας βορίου στο τριχώμα ήταν αμελητέα όσον αφορά στην πυκνότητα τριχώματος (μετρούμενη ως μάζα τριχών ανά επιφάνεια) αλλά σημαντική όσον αφορά στην πυκνότητα τριχών (μετρούμενη ως αριθμός τριχών ανά επιφάνεια, Πίνακας II.3).

Στα παλιά φύλλα, η επίδραση της τροφοπενίας βορίου στην ξηρή βιομάζα ήταν παραδόξως επίσης σημαντική, σε σύγκριση με τα νέα φύλλα. Έτσι, η αύξηση του μέσου ξηρού βάρους των ΠαΒ- φύλλων έφτασε το 40% και με δεδομένο ότι η επιφάνεια μειώθηκε μόλις κατά 4%, η αύξηση στην ειδική φυλλική μάζα έφτασε στο 49% (Πίνακας II.3). Το σημαντικό σημείο της παρατήρησης αυτής εντοπίζεται στο γεγονός ότι παρόλο που η συγκεκριμένη κατηγορία φύλλων είχε ήδη ολοκληρώσει την ανάπτυξή της πριν την έναρξη του πειράματος, εντούτοις η έλλειψη βορίου προκάλεσε μεταβολές σε κρίσιμες ανατομικές και μορφολογικές παραμέτρους. Αν συγκρίνουμε τα φύλλα Νε με τα φύλλα Πα, φύλλων Νε ήταν μικρότερη από αυτή των

Πίνακας II.3. Αναπτυξιακά και ανατομικά χαρακτηριστικά των φύλλων των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι τιμές αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα).

παράμετρος	ΝεΒ+	ΝεΒ-	διαφορά (%) [†]
αναπτυξιακές παράμετροι			
νωπό βάρος φύλλου (mg)	310 \pm 6	303 \pm 22	-2
ξηρό βάρος φύλλου (mg)	86,3 \pm 1,6	136,8 \pm 10,1	59 **
προβολή επιφάνειας φύλλου (cm ²)	7,54 \pm 0,29	5,63 \pm 0,36	-25 **
ειδική φυλλική μάζα (mg cm ⁻²)	11,2 \pm 0,6	22,1 \pm 1,0	97 **
ανατομικά χαρακτηριστικά			
πάχος φύλλου (μm)	407 \pm 12	514 \pm 13	26 **
πάχος εφυμενίδας προσαξονικής επιφάνειας (μm)	7,78 \pm 0,49	9,79 \pm 0,41	26 **
πάχος επιδερμίδας προσαξονικής επιφάνειας (μm)	16,7 \pm 0,7	16,4 \pm 0,4	-2
πάχος πασσαλώδους παρεγχύματος (μm)	112 \pm 5	166 \pm 8	48 **
πάχος οπογγώδους παρεγχύματος (μm)	255 \pm 9	306 \pm 8	20 **
πάχος επιδερμίδας αποαξονικής επιφάνειας (μm)	11,8 \pm 0,3	11,5 \pm 0,5	-3
πάχος εφυμενίδας αποαξονικής επιφάνειας (μm)	3,82 \pm 0,42	5,42 \pm 0,42	42 **
στρώματα πασσαλώδους παρεγχύματος	3,01 \pm 0,13	3,25 \pm 0,12	8
πάχος πασσαλώδους / πάχος οπογγώδους παρεγχύματος	0,442 \pm 0,022	0,540 \pm 0,027	22 **
χαρακτηριστικά τριχώματος			
πυκνότητα τριχών (βάσεις mm ⁻²)	89,4 \pm 3,1	112,3 \pm 4,0	26 **
πυκνότητα τριχώματος (mg v.β. cm ⁻²)	0,999 \pm 0,067	1,066 \pm 0,065	7
παράμετρος	ΠαΒ+	ΠαΒ-	διαφορά (%) [†]
αναπτυξιακές παράμετροι			
νωπό βάρος φύλλου (mg)	206 \pm 6	237 \pm 12	15
ξηρό βάρος φύλλου (mg)	80,8 \pm 2,3	113,4 \pm 5,7	40 **
προβολή επιφάνειας φύλλου (cm ²)	4,19 \pm 0,15	4,01 \pm 0,20	-4
ειδική φυλλική μάζα (mg cm ⁻²)	17,9 \pm 0,3	26,6 \pm 0,5	49 **
χαρακτηριστικά τριχώματος			
πυκνότητα τριχώματος (mg v.β. cm ⁻²)	1,443 \pm 0,064	1,398 \pm 0,049	-3

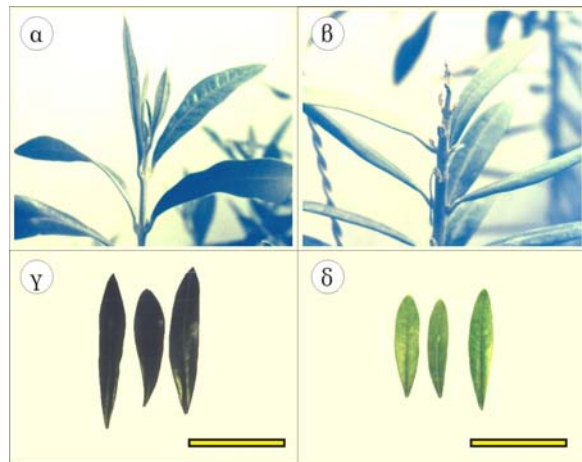
[†] Η διαφορά αφορά στη μεταχείριση Β- ως προς τον μάρτυρα (Β+). Με διπλό αστερισκό σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,01$; d.f. 18).

Πα ανεξαρτήτως της μεταχείρισης (Β+ ή Β-). Το γεγονός αυτό είναι αξιοπρόσεκτο δεδομένου ότι

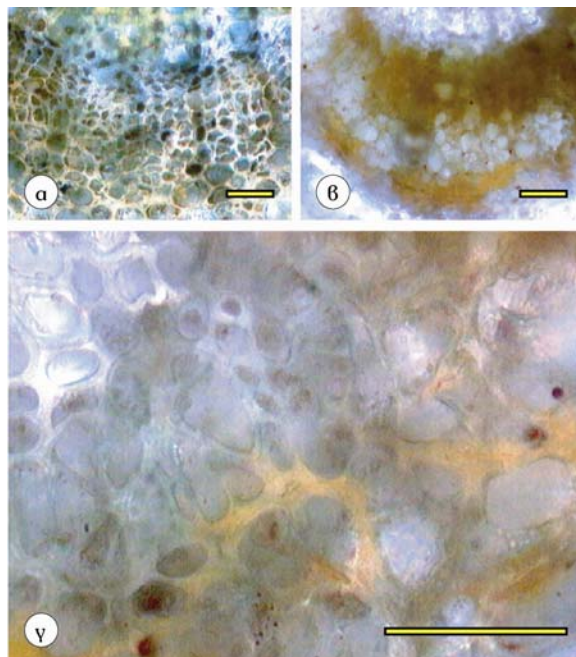
συνήθως παρατηρείται η αντίθετη εικόνα. Έτσι, υπό συνθήκες πεδίου η πυκνότητα τριχώματος των νέων

φύλλων είναι μεγαλύτερη ή τουλάχιστον ίση με αυτή των παλαιών φύλλων.

Τα συμπτώματα τροφοπενίας στη νέα βλάστηση φαίνονται στην **Εικόνα II.4**. Το ακραίο μερίστωμα των φυτών B- εμφάνισε χαρακτηριστική αδυναμία έκπτυξης και τελικά νεκρώθηκε (**Εικόνα II.4.β**). Τα φύλλα ΝεB- εμφάνισαν χλώρωση, ωστόσο μη τυπική

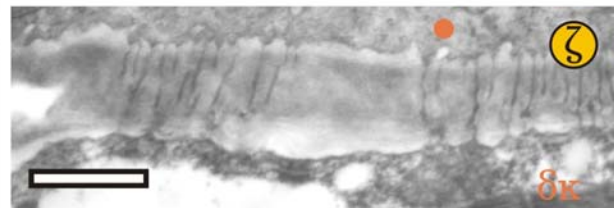
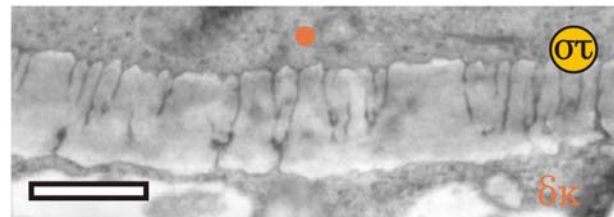
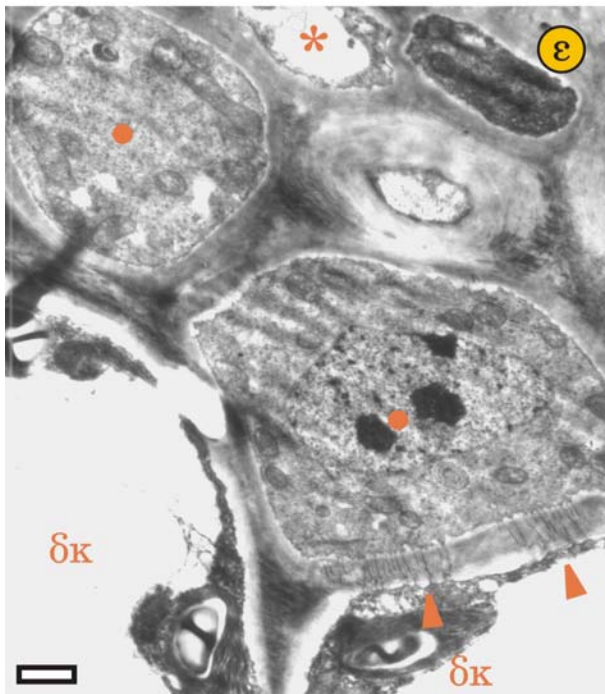
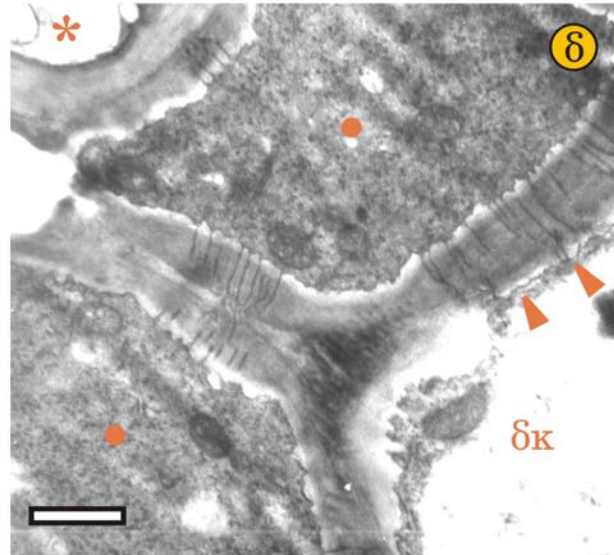
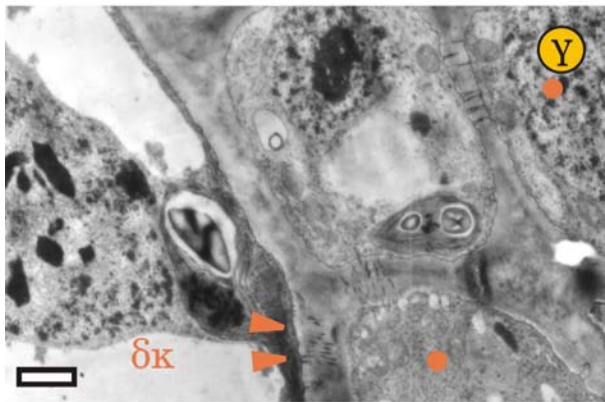
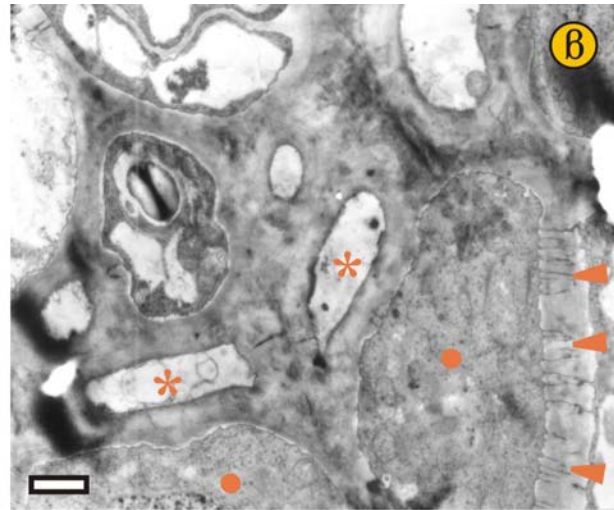
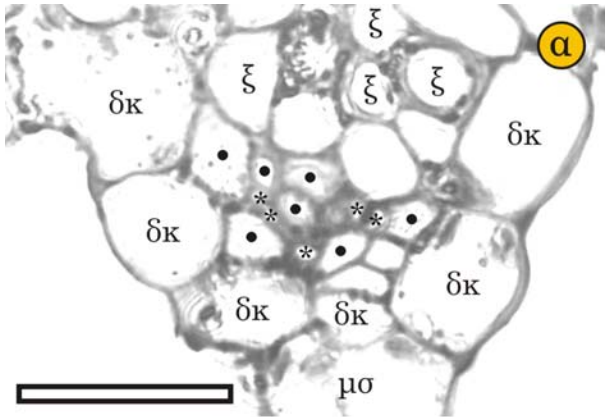


Εικόνα II.4. Αντιπροσωπευτικές εικόνες (**α,β**) της κορυφής και (**γ,δ**) των φύλλων της νέας βλάστησης των φυτών (**α,γ**) B+ και (**β,δ**) B-, από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Η κλιμακα έχει μήκος 5 cm (**γ,δ**).



Εικόνα II.5. Εγκάρσιες τομές νωπών παρασκευασμάτων με διαλεύκον ορατό φως (χωρίς χρώση), της περιοχής του ηθμού της κύριας ηθμαγγειώδους δεσμίδας των φύλλων της νέας βλάστησης των φυτών (**α**) B+ και (**β,γ**) B-, από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Διακρίνεται η παρουσία του ζελατινώδους όψης και πορτοκαλί χρωματισμού υλικού στην περιοχή του ηθμού. Στην εικόνα (**γ**) διακρίνεται η συσσώρευση του υλικού μεταξύ των κυττάρων του ηθμώδους παρεγχύματος. Η κλιμακα έχει μήκος 50 μm.

Εικόνα II.6. Εγκάρσιες τομές της περιοχής του ηθμού δευτερεύουσας ηθμαγγειώδους δεσμίδας των φύλλων της νέας βλάστησης των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών, κατά τη λήξη του πειράματος (90 ημέρες) όπως εμφανίζονται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης. **α.** μικροφωτογραφία με διαλεύκον ορατό φως ημίλεπτης τομής δευτερεύουσας ηθμαγγειώδους δεσμίδας μετά από χρώση με κυανό της τολουιδίνης (δκ: κύτταρο κολεού της ηθμαγγειώδους δεσμίδας, μσ: κύτταρο μεσοφύλλου, ξ: αγγείο ξύλου, ●: ενδιάμεσο κύτταρο, * : ηθμώδες στοιχείο), **β,γ.** μικροφωτογραφίες από ΗΜΔ της περιοχής του ηθμού φύλλων ΝεB+ και **δ,ε.** φύλλων ΝεB-, **στ.** λεπτομέρεια της συμπλαστικής διασύνδεσης μεταξύ κυττάρων του κολεού της ηθμαγγειώδους δεσμίδας και ενδιάμεσων κυττάρων φύλλων ΝεB+ και **ζ.** φύλλων ΝεB-, όπου διακρίνονται πολυάριθμοι πλασμοδεσμοί με χαρακτηριστική αναστόμωση με κατεύθυνση από τα κύτταρα του κολεού προς τα ενδιάμεσα κύτταρα. Η κλιμακα έχει μήκος **α:** 25 μm, **β-ζ:** 0,5 μm.



της τροφοπενίας βορίου (όπως για παράδειγμα αυτής που παρατηρήθηκε στα φύλλα B8 του πειράματος πεδίου, [Εικόνα II.7.γ](#)). Έτσι η χλώρωση ήταν διάχυτη σε όλο το έλασμα και εντονότερη ανάμεσα στις νευρώσεις ([Εικόνα II.4.δ](#)).

Οι ανατομικές παρατηρήσεις σε νωπές τομές φύλλων Νε έδειξαν εκτεταμένες μικροσκοπικές αλλοιώσεις στην περιοχή της ηθμώδους μοίρας. Συγκεκριμένα στην περιοχή αυτή παρατηρήθηκε συσσώρευση ενός ζελατινώδους – άμορφης υφής υλικού με πορτοκαλί χρωματισμό ([Εικόνα II.5.β](#)).

Λόγω της συσσώρευσης του σε μεγάλες ποσότητες ανάμεσα στα κύτταρα του ηθμώδους παρεγχύματος κυρίως στους μεσοκυττάριους χώρους, παρατηρήθηκε αμοιβαία απομάκρυνση των στοιχείων του ηθμού ([Εικόνα II.5.γ](#)). Παρατηρήσεις στο μικροσκόπιο επιφθορισμού με διαφορετικά μήκη κύματος ακτινοβολίας διέγερσης και χρήση διαφορετικών επαγωγών φθορισμού δεν έδωσαν ασφαλείς πληροφορίες για την πιθανή χημική σύσταση του υλικού. Υπάρχουν ενδείξεις πρόκειται για υδατάνθρακες, ωστόσο παραμένει άγνωστη η αιτία του πορτοκαλί χρωματισμού. Για την διευκρίνιση των πιθανών επιπτώσεων της τροφοπενίας βορίου στη λεπτή δομή των στοιχείων μεταφοράς, ετοιμάστηκαν εγκάρσιες τομές από παρασκευάσματα των δευτερογενών ηθμαγγειωδών δεσμίδων των φύλλων Νε και των δύο μεταχειρίσεων και έγινε παρατήρηση με ΗΜΔ στην περιοχή του ηθμού. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (βλ. [Εισαγωγή, ενότητα III.2](#)) η φόρτωση των φωτοσυνθετικών προϊόντων στα ηθμώδη στοιχεία στο φυτό της ελιάς γίνεται μέσω της συμπλασμικής οδού. Έτσι, η ενδεχόμενη αλλοίωση υπό συνθήκες τροφοπενίας βορίου της διασύνδεσης μεταξύ κυττάρων του δεσμικού κολεού και ενδιάμεσων κυττάρων θα μπορούσε ενδεχομένως να σχετίζεται με αδυναμία εξόδου του φωτοσυνθετικά παραγόμενου άνθρακα από τα φύλλα – παραγωγούς. Έτσι, οι παρατηρήσεις εστιάστηκαν στην εξέταση της δομής των κυττάρων αυτών καθώς και της μορφολογίας και η πυκνότητας των πλασμοδεσμών. Στην [Εικόνα II.6](#) παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικές μικροφωτογραφίες της παραπάνω περιοχής και των δύο μεταχειρίσεων. Μετά από εξέταση ικανού αριθμού δειγμάτων προέκυψε το συμπέρασμα ότι η

τροφοπενία βορίου δεν δημιουργεί αλλοιώσεις στην λεπτή δομή των στοιχείων μεταφοράς, των κυτταρικών τοιχωμάτων ή της μορφολογίας και πυκνότητας των πλασμοδεσμών ([Εικόνα II.6](#)).

II.2. Πείραμα Πεδίου

II.2.1. Αναπτυξιακές Παράμετροι και

Ανατομικά Χαρακτηριστικά των Φύλλων

Στον [Πίνακα II.4](#) παρουσιάζεται η σύνοψη των μετρήσεων των αναπτυξιακών και ανατομικών παραμέτρων των φύλλων. Τα φύλλα B12 και B8 εμφανίστηκαν μικρότερα σε διαστάσεις αλλά και με λιγότερη βιομάζα συγκριτικά με τα φύλλα B9. Στα τελευταία, η τιμή της νωπής και ξηρής βιομάζας ήταν κατά 36% υψηλότερη ενώ η επιφάνεια μεγαλύτερη κατά 34%. Η ειδική φυλλική μάζα δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ωστόσο παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης της παραμέτρου όταν η συγκέντρωση βορίου των φύλλων μειωνόταν ([Πίνακας II.4](#)).

Από τα ανατομικά χαρακτηριστικά των φύλλων, η παράμετρος που επηρεάστηκε αισθητά ήταν το πάχος του πασαλώδους παρεγχύματος όπου για τα φύλλα B9 ήταν κατά 14% χαμηλότερο συγκριτικά με τα φύλλα B12, ενώ για τα φύλλα B8 ήταν κατά 6% υψηλότερο. Η διαφορά στο πάχος μεταξύ φύλλων B8 και B9 ήταν στο επίπεδο του 23% ([Πίνακας II.4](#)). Επίσης, για τα φύλλα B9, ο λόγος πάχους πασαλώδους προς σπογγώδες ήταν μειωμένος κατά 14% συγκριτικά με τα φύλλα B12 ενώ ο αντίστοιχος λόγος των φύλλων B8 ήταν κατά 12% υψηλότερος συγκριτικά με τα φύλλα B12 ([Πίνακας II.4](#)).

Η πυκνότητα του τριχώματος στα φύλλα B8 εμφανίστηκε μειωμένη συγκριτικά με αυτή των φύλλων B12 κατά 10%.

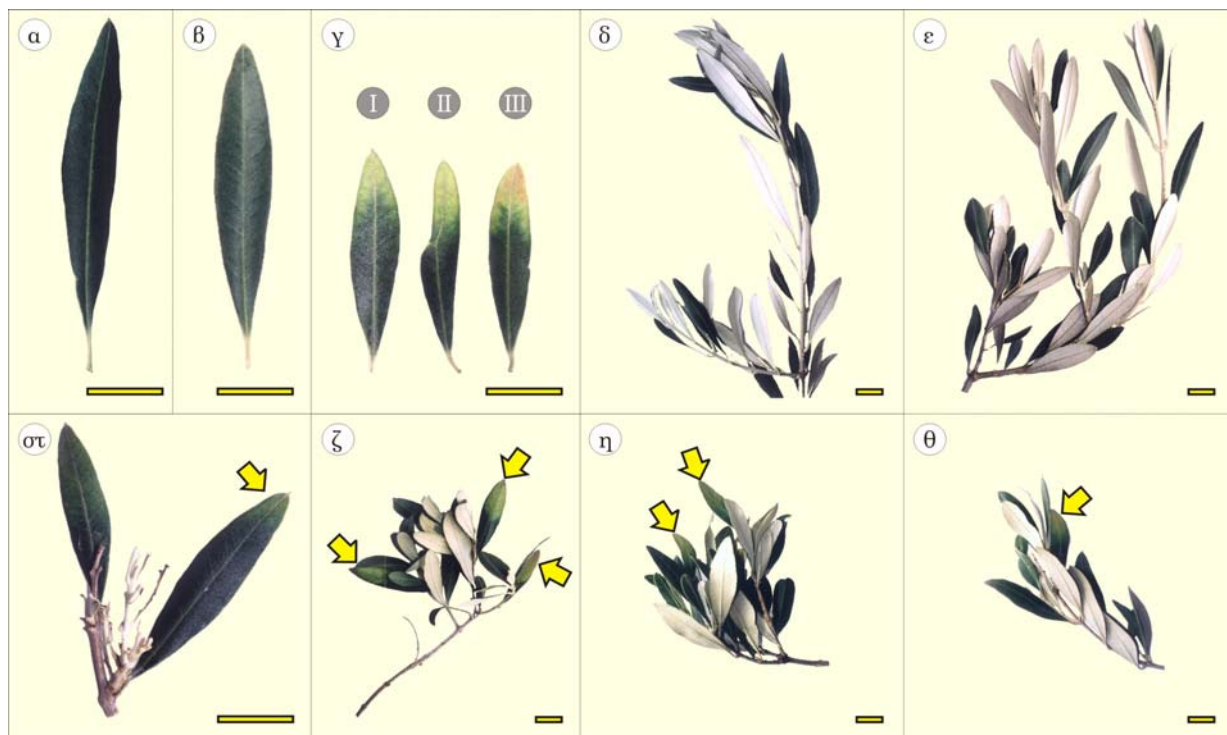
Στην [Εικόνα II.7](#) παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικές εικόνες της βλάστησης. Τα φύλλα B8 παρουσίασαν συμπτώματα τυπικά της τροφοπενίας βορίου. Από την άλλη μεριά, τα φύλλα B9 δεν παρουσίασαν ορατά συμπτώματα τροφοπενίας βορίου. Οι κλαδίσκοι που έφεραν φύλλα με συμπτώματα τροφοπενίας παρουσίαζαν περιορισμένη έκπτυξη

Πίνακας Π -4. Αναπτυξιακά και ανατομικά χαρακτηριστικά των φύλλων των φυτών από το πείραμα πεδίου. Οι τιμές αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου.

	B12	B9	διαφορά (%) [†]	B8	διαφορά (%) [†]
παράμετρος					
αναπτυξιακές παράμετροι					
νοπό βάρος φύλλου (mg)	244 \pm 13	330 \pm 20	36 b	239 \pm 11	-2 a**
ξηρό βάρος φύλλου (mg)	182,3 \pm 10,1	248,0 \pm 14,7	36 b	185,6 \pm 8,7	2 a**
προβολή επιφάνειας φύλλου (cm ²)	5,8 \pm 0,39	7,77 \pm 0,45	34 b	5,64 \pm 0,13	-3 a**
ειδική φυλλική μάζα (mg cm ⁻²)	26,9 \pm 0,8	27,2 \pm 0,8	1 a	28,8 \pm 1,4	7 a
ανατομικά χαρακτηριστικά					
πάχος φύλλου (μ m)	488 \pm 24	477 \pm 12	-2 a	486 \pm 19	0 a
πάχος εφωμενίδας προσζονικής επιφάνειας (μ m)	17,0 \pm 0,7	16,4 \pm 0,9	-3 a	17,3 \pm 0,7	2 a
πάχος επιδερμίδας προσζονικής επιφάνειας (μ m)	15,5 \pm 1,3	16,4 \pm 0,5	6 a	16,2 \pm 1,1	4 a
πάχος πασσαλώδους παρεγχύματος (μ m)	178 \pm 20	153 \pm 4	-14 a**	188 \pm 9	6 b
πάχος σπογγώδους παρεγχύματος (μ m)	244 \pm 15	255 \pm 3	5 a	245 \pm 17	0 a
πάχος επιδερμίδας αποζονικής επιφάνειας (μ m)	13,6 \pm 0,9	13,9 \pm 0,6	2 a	12,2 \pm 0,6	-10 a
πάχος εφωμενίδας αποζονικής επιφάνειας (μ m)	4,83 \pm 0,84	5,42 \pm 1,27	12 a	6,50 \pm 2,46	34 a
σφράγματα πασσαλώδους παρεγχύματος	3,80 \pm 0,39	4,22 \pm 0,63	11 a	3,53 \pm 0,27	-7 a
πάχος πασσαλώδους / πάχος σπογγώδους παρεγχύματος	0,701 \pm 0,053	0,602 \pm 0,021	-14 a*	0,786 \pm 0,075	12 b
χαρακτηριστικά τριχώματος					
πυκνότητα τριχών (βλαύεις mm ⁻²)	38,8 \pm 1,0	37,0 \pm 5,0	-5 a	47,0 \pm 4,3	21 a
πυκνότητα τριχώματος (mg v.β. cm ⁻²)	1,956 \pm 0,206	2,059 \pm 0,110	5 ab	1,762 \pm 0,126	-10 b

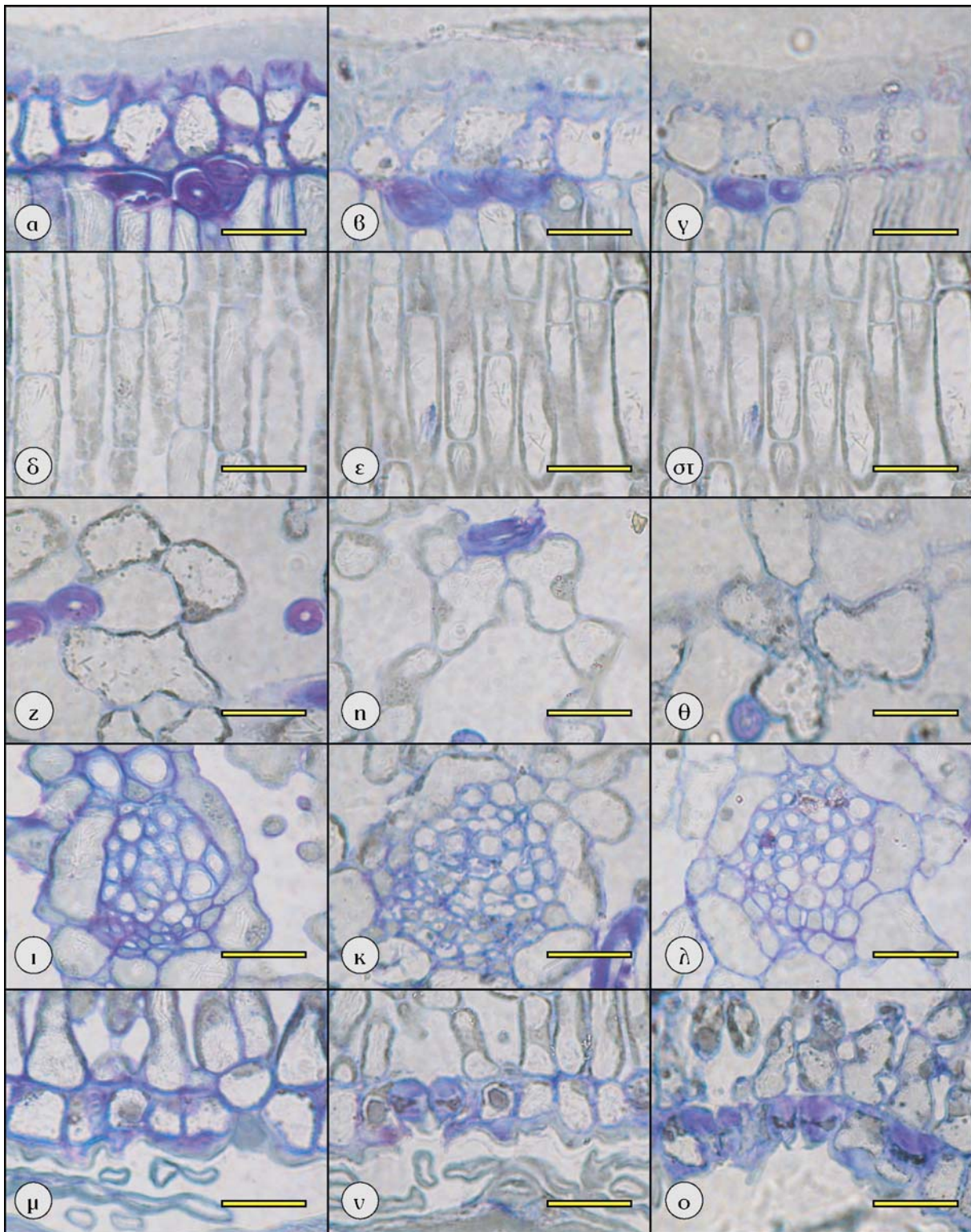
[†] Η διαφορά αφορά στη μεταχείριση B- ως προς τον μάρτυρα (B+). Με διπλό / μονό πατερίσκο σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά (P < 0,01 / < 0,05; d.f. 12).

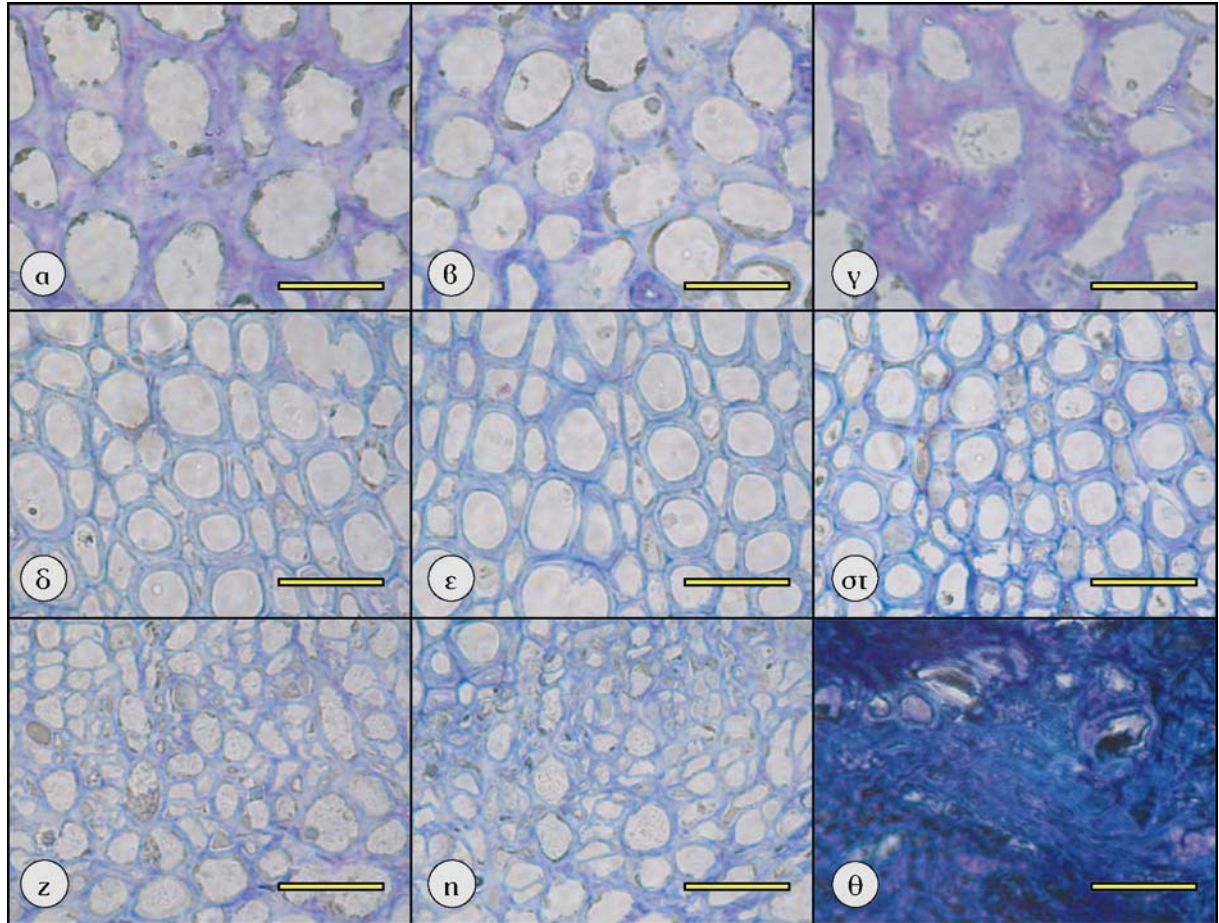
των μεσογονατίων διαστημάτων με αποτέλεσμα η βλάστηση να εμφανίζεται πυκνή και με υψηλό βαθμό αλληλοκάλυψης μεταξύ των φύλλων (Εικόνες Π.7.ζ και η). Σε πολλές περιπτώσεις παρατηρήθηκε νέκρωση του κορυφαιού μεριστώματος (Εικόνα Π.7.στ). Ανάλογα με την περίπτωση των φύλλων, οι κλαδίσκοι των φύλλων B12 και B9 δεν παρουσίασαν κάποια διαφορά στη διάταξη της βλάστησης. Παρατηρήσεις των φύλλων στο μικροσκόπιο μετά από προετοιμασία και τμήση ημιλεπτών τομών χρωμένων με κυανό της τολουϊδίνης δεν έδειξαν κάποια ορατή αλλοίωση των επιδερμικών (Εικόνες Π.8.α-γ και μ-ο) ή χλωροφυλλούχων ιστών (πασσαλώδες και σπογγώδες παρέγχυμα, Εικόνες Π.8.δ-στ και ζ-θ). Επίσης δεν παρατηρήθηκαν αλλοιώσεις στις δευτερογενείς ηθμαγχειώδεις δεσμίδες (Εικόνες Π.8.ι-λ). Στην κεντρική ηθμαγγειώδη δεσμίδα (Εικόνα Π.9) παρατηρήθηκαν αλλοιώσεις στην περιοχή του άνω σκληρογχοματικού κολεού των φύλλων B8 (Εικόνα Π.9.γ). Στην ξυλώδη μοίρα δεν εμφανίστηκαν ανατομικές διαφορές μεταξύ των φύλλων. Στην ηθμώδη μοίρα παρατηρήθηκε μικροσκοπική αλλοίωση ανάλογη με αυτή των φύλλων NeB- του πειράματος του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών (βλ. ενότητα Π.1.2) και εναπόθεση ενός ανάλογης υψής υλικού το οποίο κατανέμεται μεταξύ των κυττάρων του ηθμώδους παρεγχύματος. Το υλικό αυτό δίνει μπλε χρωματισμό μετά από χρώση με κυανό της τολουϊδίνης, γεγονός το οποίο ενδεχομένως να υποδεικνύει ότι στη σύσταση του υλικού συμμετέχουν υδατάνθρακες.



Εικόνα Π.7. Αντιπροσωπευτικές εικόνες (α-γ) φύλλων και (δ-θ) κλαδίσκων των φυτών (α,δ) B12, (β,ε) B9 και (γ,στ-θ) B8 από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Στην εικόνα (γ) διακρίνονται φύλλα με χαρακτηριστικά συμπτώματα τροφопενίας βορίου, I: φύλλο με χλώρωση της κορυφής, II: φύλλο με χαρακτηριστικό ροπαλοειδές σχήμα, III: φύλλο με χλώρωση και ξήρανση στην κορυφή (βλ. επίσης κίτρινα βέλη στις εικόνες (στ-θ)). Στην εικόνα (στ) διακρίνονται αλληπάλληλες εκπυτώσεις των οφθαλμών και ξήρανση αυτών καθώς και του κορυφαιού μεριστώματος. Στις εικόνες (ζ,η) οι κλαδίσκοι παρουσιάζουν χαρακτηριστική εικόνα που προέρχεται από την αδυναμία έκπτυξης της βλάστησης. Η κλίμακα έχει μήκος 2 cm.

Εικόνα Π.8. Αντιπροσωπευτικές μικροφωτογραφίες με διελαύνον ορατό φως ημίλειπτων τομών μετά από χρώση με κυανό της τολουιδίνης (α-γ) προσαξονικής επιδερμίδας, (δ-στ) πασσαλώδους παρεγχύματος, (ζ-θ) σπογγώδους παρεγχύματος, (ι-λ) δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεομιδών και (μ-ο) αποαξονικής επιδερμίδας φύλλων των φυτών (α,δ,ζ,ι,μ) B12, (β,ε,η,κ,ν) B9 και (γ,στ,θ,λ,ο) B8 από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Η κλίμακα έχει μήκος 25 μm.





Εικόνα Π.9. Αντιπροσωπευτικές μικροφωτογραφίες με διελαύνον ορατό φως ημίλεπτων τομών μετά από χρώση με κυανό της τολουϊδίνης (α-γ) άνω σκληρογχοματικού κολεού, (δ-στ) ξυλώδους μοίρας και (ζ-θ) ηθμώδους μοίρας της κεντρικής ηθμαγγειώδους δεσμίδας φύλλων των φυτών (α,δ,ζ) B12, (β,ε,η) B9 και (γ,στ,θ) B8 από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Στην εικόνα (γ) διακρίνεται η παραμόρφωση των κυττάρων. Στην εικόνα (θ) διακρίνεται η παρουσία του ζελατινώδους όψης υλικού μεταξύ των κυττάρων της ηθμώδους μοίρας. Η κλίμακα έχει μήκος 25 μm.

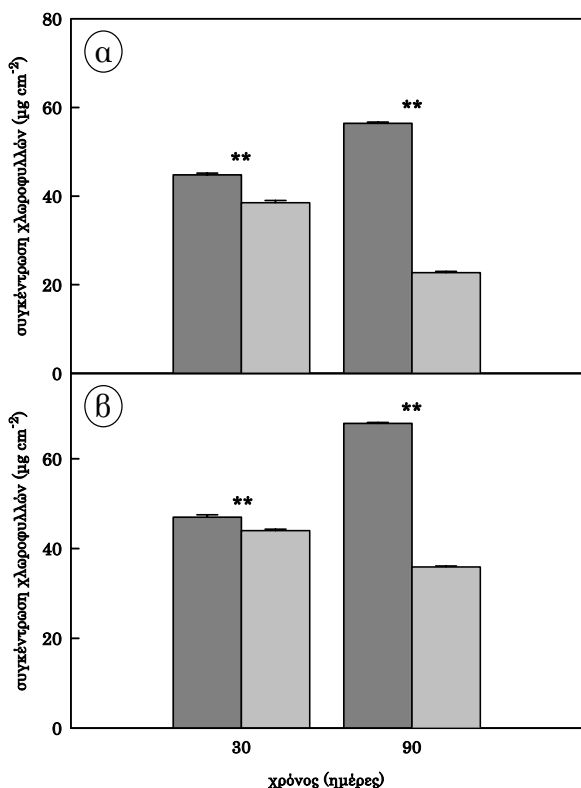
III. Παράμετροι Φωτοσυνθετικής

Λειτουργίας

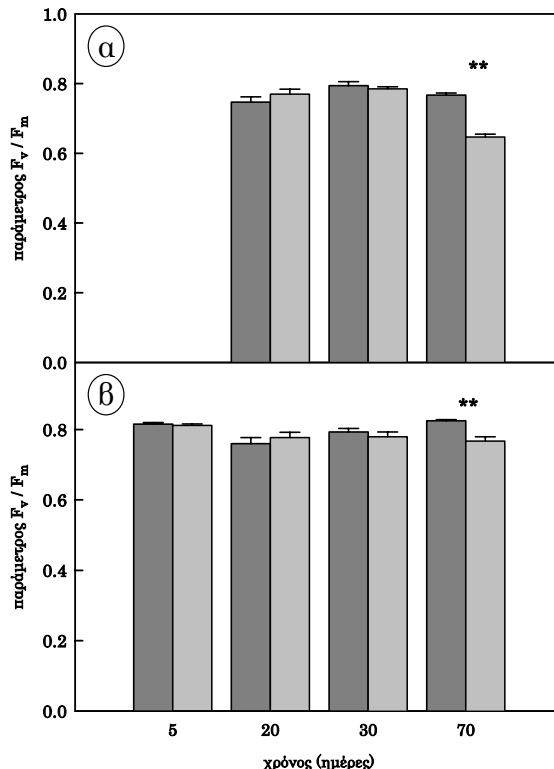
III.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων

Συνθηκών

Στην **Εικόνα III.1** παρουσιάζεται η συγκέντρωση χλωροφυλλών στα φύλλα σε δύο διαφορετικά στάδια του πειράματος (ημέρα 30 και ημέρα 90 – λήξη). Η τροφопενία βορίου προκάλεσε σημαντική μείωση της συγκέντρωσης χλωροφυλλών ακόμα και μόλις 30 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος τόσο στα



Εικόνα III.1. Συγκέντρωση χλωροφυλλών στα φύλλα (α) Ne και (β) Πα, των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών 30 και 90 (λήξη) ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). ■: φύλλα φυτών B+; □: φύλλα φυτών B-. Με διπλό αστερίσκο σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,01$; d.f. 8).



Εικόνα III.2. Παράμετρος F_v / F_m των φύλλων (α) Ne και (β) Πα, των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών 5, 20, 30 και 70 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). ■: φύλλα φυτών B+; □: φύλλα φυτών B-. Με διπλό αστερίσκο σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,01$; d.f. 38).

φύλλα Ne (**Εικόνα III.1.α**) όσο και στα φύλλα Πα (**Εικόνα III.1.β**).

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η συγκέντρωση χλωροφυλλών αυξήθηκε με το χρόνο τόσο στα φύλλα NeB+ (εξέλιξη φυσιολογική δεδομένης της συνεχιζόμενης ανάπτυξης των φύλλων αυτών) όσο και στα φύλλα ΠαB+. Η αύξηση της χλωροφύλλης στα τελευταία οφείλεται πιθανότατα στον εγκλιματισμό στις νέες, ευνοϊκότερες συνθήκες θρέψης, αλλά και στο νέο καθεστώς φωτισμού. Αξιο παρατήρησης είναι επίσης το γεγονός της παρατηρούμενης στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ φύλλων ΠαB+ και ΠαB- ακόμα και μόλις 30 ημέρες μετά την απομάκρυνση του βορίου από το μέσο καλλιέργειας,

παρόλο που τα φύλλα αυτά είχαν ολοκληρώσει την ανάπτυξή τους σε περιβάλλον επάρκειας.

Στην **Εικόνα III.2** παρουσιάζονται οι μετρήσεις της παραμέτρου F_v/F_m σε διαφορετικές χρονικές στιγμές μετά την έναρξη του πειράματος. Στην **Εικόνα III.2.α** φαίνεται ότι η φωτοχημική απόδοση του φωτοσυστήματος II παρέμεινε σε κανονικά επίπεδα ακόμα και μετά την πάροδο 30 ημερών από την επίδραση της έλλειψης βορίου. Ωστόσο, σε χρόνο 70 ημερών από την έναρξη του πειράματος παρατηρήθηκε σημαντική πτώση της φωτοχημικής απόδοσης του φωτοσυστήματος II καθώς η τιμή της παραμέτρου F_v/F_m εμφάνισε στατιστικά σημαντική μείωση (16%, **Εικόνα III.2.α**, **Πίνακας III.1**) στα φύλλα ΝεB- συγκριτικά με το μάρτυρα (ΝεB+).

Ανάλογη επίδραση της έλλειψης βορίου παρατηρήθηκε (σε μικρότερη όμως έκταση, μείωση 6%, **Πίνακας III.1**) και στα φύλλα Πα (**Εικόνα III.2.β**) σε χρονικό διάστημα 70 ημερών μετά την έναρξη του πειράματος.

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η παράμετρος F_v / F_m στην περίπτωση της έλλειψης βορίου δεν αποτελεί έναν ασφαλή και ευαίσθητο δείκτη ανίχνευσης της καταπόνησης αφού η τροφопενία του στοιχείου δεν επηρεάζει την φωτοχημική απόδοση της φωτοσυνθετικής συσκευής παρά μόνο σε περιπτώσεις εκτεταμένης φυσιολογικής βλάβης.

Δεδομένου ότι η φωτοσυνθετική λειτουργία σχετίζεται με την διάχυση του CO₂ εντός της αέριας φάσης του μεσοφύλλου, διαδικασία που σχετίζεται και με την πυκνότητα των στομάτων, κρίθηκε απαραίτητο να μετρηθεί και η παράμετρος αυτή. Οι μετρήσεις έδειξαν ότι η έλλειψη βορίου δεν

επηρεάζει την πυκνότητα των στομάτων (**Πίνακας III.1**).

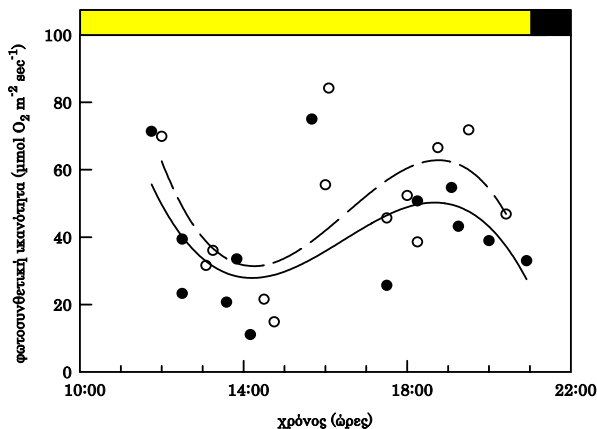
Η μέτρηση της φωτοσυνθετικής ικανότητας των φύλλων Νε μετρήθηκε σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης CO₂ (5% w/v). Στις συνθήκες αυτές, η διάχυση του CO₂ μέσω των στομάτων δεν επηρεάζει τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα. Η τροφопενία βορίου όχι μόνο δεν επηρέασε την φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων αλλά αντίθετα παρατηρήθηκε αύξηση της τάξης του 22% χωρίς ωστόσο στατιστική σημαντικότητα λόγω μεγάλου τυπικού σφάλματος των μετρήσεων. Οι υψηλές τιμές τυπικού σφάλματος σχετίζονται τόσο με τη φύση της μέτρησης της φωτοσυνθετικής ικανότητας όσο και με το γεγονός ότι στην ελιά παρατηρείται το φαινόμενο της μεσημβρινής καταστολής της φωτοσυνθετικής λειτουργίας (βλ. **Εισαγωγή**, **ενότητα III.2**). Για το λόγο αυτό οι μετρήσεις της φωτοσυνθετικής ικανότητας συσχετίστηκαν με την ώρα της ημέρας και προσαρμόστηκαν καμπύλες τρίτου βαθμού για την περιγραφή του φαινομένου στις δύο κατηγορίες φύλλων (**Εικόνα III.3**). Από τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκε ότι η φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων ΝεB- εμφάνισε μια τάση αύξησης συγκριτικά με τα φύλλα ΝεB.

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι το φαινόμενο της μεσημβρινής καταστολής της φωτοσυνθετικής λειτουργίας στο φυτό της ελιάς παρουσιάζει χαρακτηριστικά ενδογενούς ρυθμού, αφού δεν φαίνεται να σχετίζεται ούτε με ενδεχόμενη υδατική καταπόνηση των φυτών (δεδομένου ότι οι εδαφοκλιματικές συνθήκες όσον αφορά την υδατική κατάσταση των φυτών στο πείραμα του θαλάμου

Πίνακας III.1. Παράμετροι που σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική λειτουργία των φύλλων κατά τη λήξη του πειράματος στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών (90 ημέρες, 70 ημέρες για την παράμετρο F_v / F_m). Οι τιμές αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα).

παράμετρος	ΝεB+	ΝεB-	διαφορά (%) [†]
πυκνότητα στομάτων (στόματα mm ⁻²)	435 ± 15	438 ± 11	1
παράμετρος F_v / F_m	0,767 ± 0,006	0,647 ± 0,008	-16 **
φωτοσυνθετική ικανότητα (μmol O ₂ m ⁻² sec ⁻¹)	40,0 ± 5,3	48,9 ± 5,7	22
παράμετρο	ΠαB+	ΠαB-	διαφορά (%) [†]
παράμετρος F_v / F_m	0,825 ± 0,003	0,775 ± 0,012	-6 **

[†] Η διαφορά αφορά στη μεταχείριση B- ως προς τον μάρτυρα (B+). Με διπλό αστερίσκο σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά (P < 0,01; d.f. 18, πυκνότητα στομάτων; d.f. 38, παράμετρος F_v / F_m ; d.f. 24, φωτοσυνθετική ικανότητα).



Εικόνα III.3. Ημερήσιος ρυθμός της φωτοσυνθετικής ικανότητας των φύλλων από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι καμπύλες σχεδιάστηκαν με προσαρμογή εξίσωσης τρίτου βαθμού. (●— NEB+; R^2 0,264; ○— NEB-; R^2 0,349). Η οριζόντια ράβδος αντιπροσωπεύει το μήκος της φωτοπερίοδου στο θάλαμο ανάπτυξης.

ελεγχόμενων συνθηκών ήταν ιδανικές) αλλά ούτε σε κλείσιμο των στομάτων (δεδομένου ότι κατά τις μετρήσεις της φωτοσυνθετικής ικανότητας, η αντίσταση των στομάτων στη διάχυση του CO₂ προς τα κύτταρα του μεσοφύλλου παρακάμπτεται με τη χρήση υψηλής συγκέντρωσης CO₂ στο θάλαμο

Πίνακας III.2. Παράμετροι που σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική λειτουργία των φύλλων από το πείραμα πεδίου. Οι τιμές αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου.

παράμετρος	B12		B9	δ (%) [†]		B8	δ (%) [†]	
πυκνότητα στομάτων (στόματα mm ⁻²)	564 \pm 75	a	670 \pm 87	19	a	574 \pm 77	2	a
συγκέντρωση χλωροφυλλών (μg cm ⁻²)	78,4 \pm 2,5	a**	67,8 \pm 5,6	-13	a*	52,2 \pm 4,0	-33	b
παράμετρος F _v / F _m	0,834 \pm 0,006	a**	0,813 \pm 0,004	-3	b	0,813 \pm 0,005	-2	b
φωτοσυνθετική ικανότητα (μmol O ₂ m ⁻² sec ⁻¹)	31,9 \pm 6,4	a	32,3 \pm 4,6	1	a	28,8 \pm 5,2	-10	a

[†] Η διαφορά αφορά στη μεταχείριση B- ως προς τον μάρτυρα (B+). Με διπλό / μονό αστερίσκο σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά (P < 0,01 / < 0,05; d.f. 12).

μέτρησης (βλ. Υλικά και Μέθοδοι, ενότητα III.3.4).

III.2. Πείραμα Πεδίου

Στον Πίνακα III.2 παρουσιάζονται οι μετρήσεις των φυσιολογικών παραμέτρων που σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική λειτουργία των φυτών του πειράματος πεδίου. Η πυκνότητα στομάτων αυξήθηκε στα φύλλα B9 συγκριτικά με τα φύλλα B12 και B8 χωρίς ωστόσο να είναι στατιστικά σημαντική.

Από την άλλη πλευρά, η έλλειψη βορίου προκάλεσε μείωση της συγκέντρωσης χλωροφυλλών κατά 13% στα φύλλα B9 και κατά 33% στα φύλλα B8 συγκριτικά με τα φύλλα B12. Όπως και στο πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών, η συγκέντρωση χλωροφυλλών φαίνεται πως αποτελεί ευαίσθητο δείκτη της θρεπτικής κατάστασης των φύλλων. Η παράμετρος F_v / F_m εμφάνισε μικρή αλλά στατιστικά σημαντική μείωση, τόσο στα φύλλα B9 όσο και στα B8 συγκριτικά με τα φύλλα B12 (Πίνακας III.2).

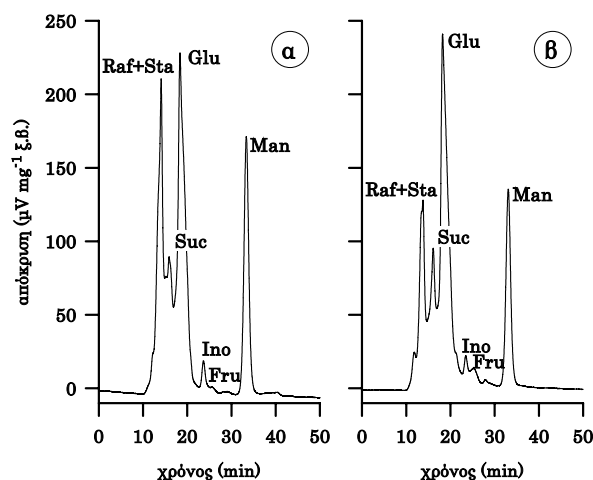
Τα φύλλα B12 εμφάνισαν συγκρίσιμη φωτοσυνθετική ικανότητα με τα φύλλα B9 (Πίνακας III.2) ενώ στα φύλλα B8 αυτή εμφανίστηκε μειωμένη κατά 10%. Ο λόγος για την έλλειψη ευαισθησίας των μετρήσεων, όπως και στην περίπτωση του πειράματος του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών, είναι η μεγάλη διακύμανση των μετρήσεων.

IV. Σύσταση Διαλυτών Σακχάρων των Φύλλων και του Χυμού του Ηθμού

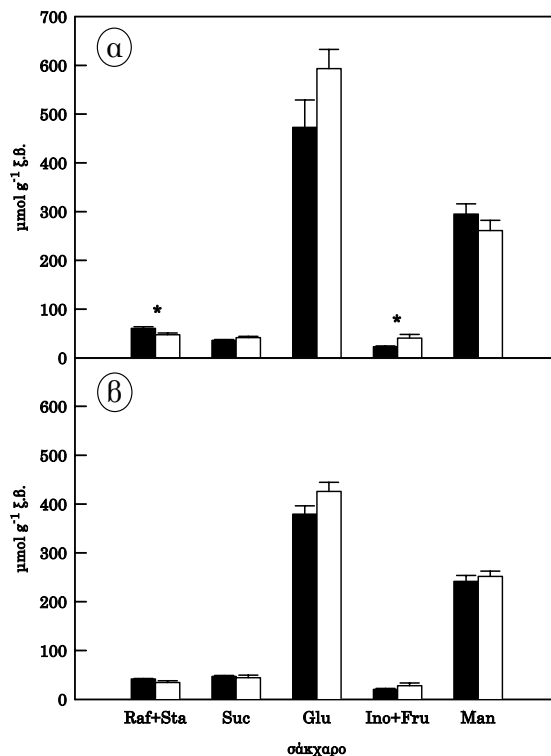
IV.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων Συνθηκών

IV.1.1. Σύσταση Διαλυτών Σακχάρων των Φύλλων

Σύμφωνα με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας, η τροφοπενία βορίου επηρεάζει την παραγωγή και διανομή των φωτοσυνθετικών προϊόντων. Συνήθως, υπό τροφοπενία βορίου, παρατηρείται συσσώρευση φωτοσυνθετικών προϊόντων στα φύλλα ως αποτέλεσμα της μειωμένης ζήτησης από τα σημεία κατανάλωσης. Ένα άλλο σημείο που αξίζει διερεύνησης είναι η συγκέντρωση σε σακχαροαλκοόλες που ως γνωστόν (βλ. [Εισαγωγή, ενότητα II.5.2](#)) εμπλέκονται στη διακίνηση του βορίου. Για τη διερεύνηση των



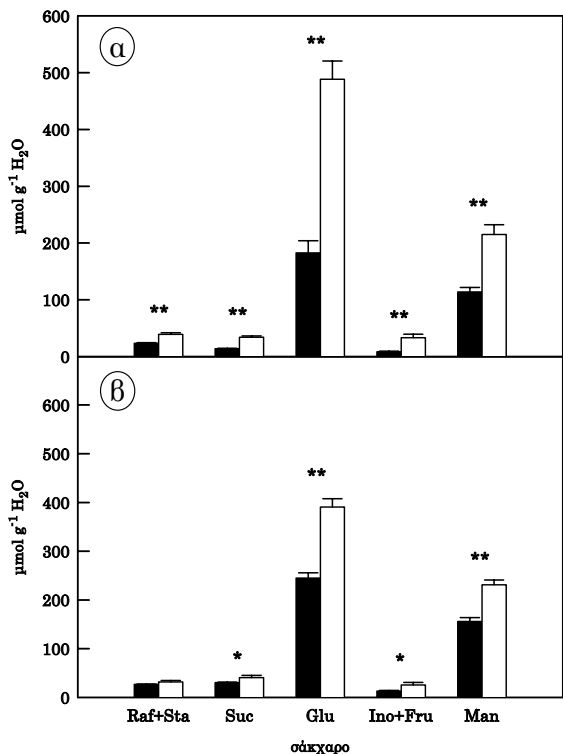
Εικόνα IV.1. Αντιπροσωπευτική χρωματογραφική ανάλυση των διαλυτών σακχάρων των φύλλων της νέας βλάστησης (α) φυτών B+ και (β) φυτών B- από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Η απόκριση του ανιχνευτή έχει διορθωθεί με βάση το ξηρό βάρος των δειγμάτων. Συντομογραφίες: **Raf+Sta**, ραφινόζη + σταχυόζη; **Suc**, σακχαρόζη; **Glu**, γλυκόζη; **Ino**, μυο-ινουσιτόλη, **Fru**, φρουκτόζη; **Man**, μαννιτόλη.



Εικόνα IV.2. Συγκέντρωση διαλυτών σακχάρων εκφρασμένη ανά μονάδα ξηρού βάρους φύλλου στα φύλλα (α) Ne και (β) Πα, των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). ■: φύλλα φυτών B+; □: φύλλα φυτών B-. Με αστερίσκο σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$; d.f. 8). Συντομογραφίες όπως στην εικόνα IV.1. Τα σάκχαρα ραφινόζη και σταχυόζη εκφράζονται ως ισοδύναμο σταχυόζης και τα φρουκτόζη και μυο-ινουσιτόλη ως ισοδύναμο φρουκτόζης.

παραπάνω σημείων πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις των διαλυτών σακχάρων των φύλλων.

Η χρωματογραφική ανάλυση των διαλυτών σακχάρων επιβεβαίωσε τα ευρήματα της βιβλιογραφίας σχετικά με την ποιοτική σύσταση των σακχάρων των φύλλων της ελιάς (βλ. [Εισαγωγή, ενότητα III.2](#)). Στην [Εικόνα IV.1](#) παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικές χρωματογραφικές αναλύσεις του ουδέτερου κλάσματος υδατικού εκχυλίσματος των φύλλων. Προκαταρκτικά πειράματα έδειξαν ότι η χρήση νερού ως εκχυλιστικού μέσου πλεονεκτεί έναντι της κλασικής



Εικόνα IV.3. Συγκέντρωση διαλυτών σακχάρων εκφρασμένη ανά μονάδα βάρους νερού του φύλλου στα φύλλα (α) Ne και (β) Πα, των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). ■: φύλλα φυτών B+; □: φύλλα φυτών B-. Με αστερίσκο σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$; d.f. 8). Συντομογραφίες όπως στην εικόνα IV.1. Τα σάκχαρα ραφινόζη και σταχυόζη εκφράζονται ως ισοδύναμο σταχυόζης και τα φρουκτόζη και μυο-ινουσιτόλη ως ισοδύναμο φρουκτόζης.

μεθόδου εκχύλισης με αλκοόλη διότι απλουστεύει τη διαδικασία προετοιμασίας του δείγματος πριν την ανάλυση, οι δε αναλυτικές παρεμβολές είναι λιγότερες στο τελικό δείγμα⁴⁴.

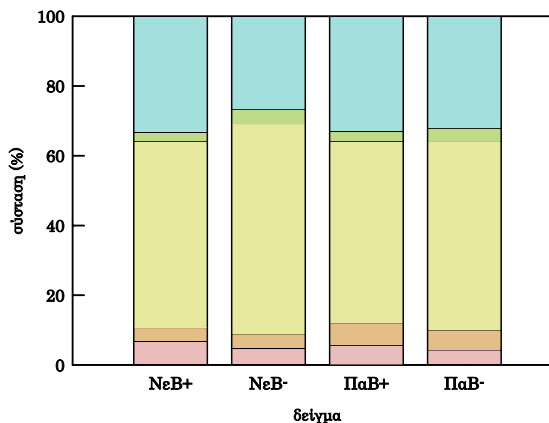
Στην **Εικόνα IV.2** παρουσιάζεται η σύσταση των σακχάρων των φύλλων εκφρασμένη ανά μονάδα ξηρού βάρους των φύλλων ενώ στην **Εικόνα IV.3** ανά μονάδα μάζας του περιεχόμενου νερού των φύλλων. Ο δεύτερος αυτός τρόπος έκφρασης δίνει πληροφορίες για την σύσταση των σακχάρων των φύλλων

προσεγγίζοντας καλύτερα την *in vivo* κατάσταση.

Στα φύλλα NeB+ του πειράματος θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών η σύσταση κατά βάρος των διαλυτών σακχάρων ήταν 44% γλυκόζη, 27% μαννιτόλη, 21% σταχυόζη και ραφινόζη, 6% σακχαρόζη και 2% μυο-ινουσιτόλη και φρουκτόζη.

Στα φύλλα Ne διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση των διαλυτών σακχάρων (κυρίως της γλυκόζης) είναι υψηλότερη αυτής των φύλλων Πα (ως σύνολο $195 \pm 16 \mu\text{g mg}^{-1}$ ξ.β. φύλλων NeB+ έναντι $160 \pm 5 \mu\text{g mg}^{-1}$ ξ.β. φύλλων ΠαB+, βλ. **Εικόνα IV.2**).

Στα φύλλα Ne βρέθηκε ότι η συγκέντρωση των σακχάρων της ομάδας της ραφινόζης είναι χαμηλότερη στα φύλλα B- συγκριτικά με τα B+. Επίσης, η συγκέντρωση των σακχάρων μυο-ινουσιτόλη και φρουκτόζη είναι υψηλότερη στα φύλλα B- συγκριτικά με τα B+ (αύξηση που αποδόθηκε στη φρουκτόζη, βλ. **Εικόνες IV.1.α** και **β**). Η συγκέντρωση της γλυκόζης ήταν αρκετά υψηλότερη στα φύλλα NeB- συγκριτικά με τα φύλλα NeB+ (25%) ωστόσο δεν ήταν στατιστικά σημαντική λόγω υψηλής διακύμανσης των μετρήσεων (**Εικόνα IV.2.α**). Η τροφопενία βορίου δεν επηρέασε τη συγκέντρωση της



Εικόνα IV.4. Γραμμομοριακή σύσταση της δεξαμενής των διαλυτών σακχάρων στα φύλλα των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο της εκατοστιαίας σύστασης. ■: ραφινόζη+σταχυόζη (ως ισοδύναμο σταχυόζης); ■: σακχαρόζη; ■: γλυκόζη; ■: φρουκτόζη+μυο-ινουσιτόλη (ως ισοδύναμο φρουκτόζης); ■: μαννιτόλη.

σακχαρόζης ή της μαννιτόλης. (Εικόνα IV.2.α). Ως σύνολο, η συγκέντρωση των σακχάρων κατά βάρος ήταν $195 \pm 16 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$ ξ.β. για τα φύλλα ΝεΒ+ και $208 \pm 12 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$ ξ.β. για τα φύλλα ΝεΒ-.

Στα φύλλα Πα οι διαφορές στη συγκέντρωση των σακχάρων μεταξύ των μεταχειρίσεων Β+ και Β- ήταν μικρότερες (Εικόνα IV.2.β). Ανάλογα με τα φύλλα Νε, η συγκέντρωση της γλυκόζης ήταν κατά 12% υψηλότερη στα φύλλα ΠαΒ- συγκριτικά με τα φύλλα ΠαΒ+. Ωστόσο και στην περίπτωση αυτή η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Από την έκφραση της συγκέντρωσης σακχάρων ανά μονάδα μάζας περιεχόμενου νερού των φύλλων (Εικόνα IV.3) προκύπτει ότι η τροφοπενία βορίου προκάλεσε αισθητή αύξηση της συγκέντρωσης σακχάρων. Αυτό είναι περισσότερο εμφανές στα νεαρά φύλλα (Εικόνα IV.3.α) και ιδιαίτερα για τα σάκχαρα σακχαρόζη ($34,0 \pm 2,3 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΝεΒ- έναντι $13,8 \pm 0,7 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΝεΒ+, αύξηση κατά 146%), γλυκόζη ($488 \pm 32 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΝεΒ- έναντι $182 \pm 22 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΝεΒ+, αύξηση κατά 168%), *μγo*-ινοσιτόλη + φρουκτόζη ($33,3 \pm 6,2 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΝεΒ- έναντι $8,6 \pm 0,9 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΝεΒ+, αύξηση κατά 289%) και μαννιτόλη ($215 \pm 17 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΝεΒ- έναντι $114 \pm 8 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΝεΒ+, αύξηση κατά 89%). Αντίστοιχα, στα ώριμα φύλλα οι διαφορές δεν ήταν τόσο δραματικές (Εικόνα IV.3.β). Υψηλότερες διαφορές παρουσιάστηκαν στα σάκχαρα γλυκόζη ($391 \pm 17 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΠαΒ- έναντι $245 \pm 11 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΠαΒ+, αύξηση κατά 60%) και μαννιτόλη ($230 \pm 10 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΠαΒ- έναντι $156 \pm 8 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ για τα ΠαΒ+, αύξηση κατά 48%).

Όσον αφορά στην εκατοστιαία γραμμομοριακή σύσταση (Εικόνα IV.4) οι σημαντικότερες διαφορές σημειώθηκαν για τη γλυκόζη (60% στα ΝεΒ- φύλλα έναντι 52–54% στις υπόλοιπες κατηγορίες) και τη μαννιτόλη (27% στα ΝεΒ- φύλλα έναντι 32–33% στις υπόλοιπες κατηγορίες).

IV.2. Πείραμα Πεδίου

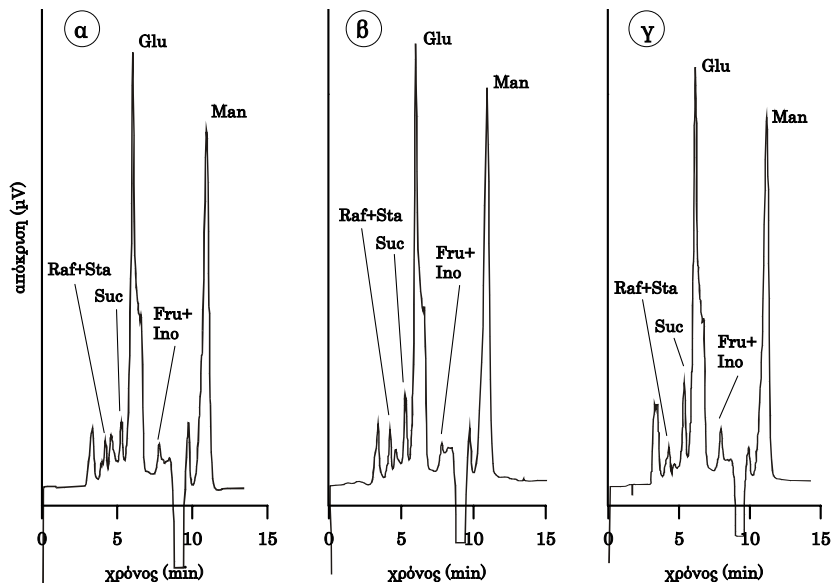
IV.2.1. Σύσταση Διαλυτών Σακχάρων των Φύλλων

Η ανάλυση των διαλυτών σακχάρων των φύλλων του πειράματος πεδίου πραγματοποιήθηκε με την ίδια μέθοδο μετά από ορισμένες βελτιώσεις. Αλλαγές στη ροή της κινητής φάσης καθώς και στη θερμοκρασία ανάλυσης επέφεραν σημαντική βελτίωση των χρόνων συγκράτησης των αναλυόμενων συστατικών (Εικόνα IV.4 σε σύγκριση με την αντίστοιχη Εικόνα IV.1).

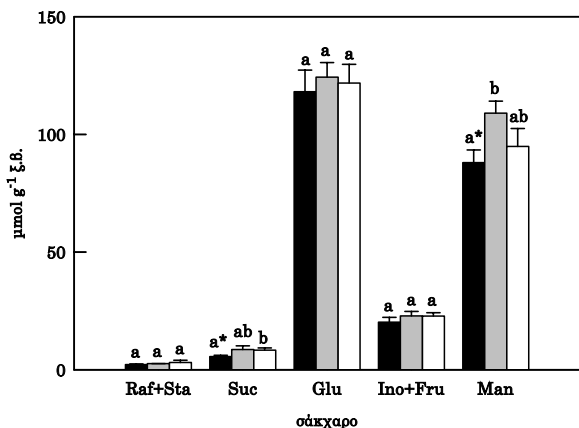
Η ποιοτική σύσταση των διαλυτών σακχάρων των φύλλων ήταν και πάλι αυτή που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία (βλ. Εισαγωγή, ενότητα III.2). Στην Εικόνα IV.4 παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικές χρωματογραφικές αναλύσεις του ουδέτερου κλάσματος του υδατικού εκχυλίσματος των φύλλων.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των χρωματογραφικών αναλύσεων, η σύσταση των διαλυτών σακχάρων των φύλλων Β12 ήταν κατά βάρος 48% γλυκόζη, 36% μαννιτόλη, 3% σταχυόζη και ραφινόζη, 4% σακχαρόζη και 8% *μγo*-ινοσιτόλη και φρουκτόζη.

Η διαφορετική θρεπτική κατάσταση των φύλλων όσον αφορά στη συγκέντρωση βορίου δεν επηρέασε σε σημαντικό βαθμό τη σύσταση των διαλυτών σακχάρων εκφρασμένη ανά μονάδα ξηρού βάρους φύλλων (Εικόνα IV.5). Η συγκέντρωση των σακχάρων της ομάδας της ραφινόζης αυξήθηκε με την μείωση του περιεχομένου σε βόριο από $2,21 \pm 0,27 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ ξ.β. στα φύλλα Β12 σε $2,59 \pm 0,05 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ ξ.β. στα φύλλα Β9 και σε $3,10 \pm 0,93 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ ξ.β. στα φύλλα Β8, μεταβολή που δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Εικόνα IV.5). Η συγκέντρωση της σακχαρόζης ήταν χαμηλότερη στα φύλλα Β12 ($5,62 \pm 0,51 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ ξ.β. έναντι $8,61 \pm 1,53 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ ξ.β. και $8,32 \pm 0,97 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ ξ.β. στα φύλλα Β9 και Β8 αντίστοιχα). Από την άλλη μεριά η συγκέντρωση της γλυκόζης, της *μγo*-



Εικόνα IV.4. Αντιπροσωπευτική χρωματογραφική ανάλυση των διαλυτών σακχάρων των φύλλων φυτών (α) B12, (β) B9 και (γ) B8 από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Η απόκριση του ανιχνευτή έχει διορθωθεί με βάση το ξηρό βάρος των δειγμάτων. Συντομογραφίες όπως στην εικόνα IV.1.

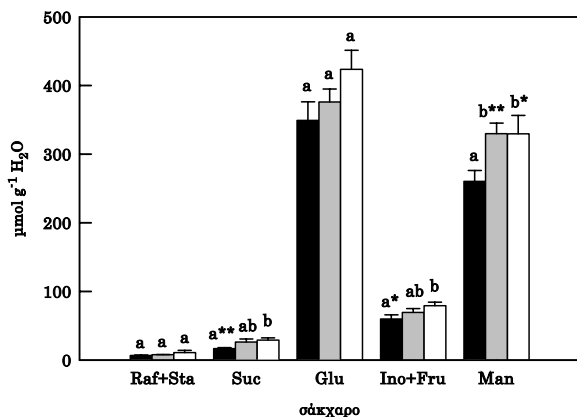


Εικόνα IV.5. Συγκέντρωση διαλυτών σακχάρων εκφρασμένη ανά μονάδα ξηρού βάρους φύλλου στα φύλλα των φυτών από το πείραμα πεδίου. Οι ράβδοι αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). ■: φύλλα φυτών B12; ▒: φύλλα φυτών B9; □: φύλλα φυτών B8. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (*: $P < 0,05$; d.f. 12). Συντομογραφίες όπως στην εικόνα IV.1. Τα σάκχαρα ραφινόζη και σταχυόζη εκφράζονται ως ισοδύναμο σταχυόζης και τα φρουκτόζη και *myo*-ινουσιτόλη ως ισοδύναμο φρουκτόζης.

ινουσιτόλης και φρουκτόζης δεν παρουσίασε διακυμάνσεις. Η μαννιτόλη εμφάνισε τη χαμηλότερη συγκέντρωση στα φύλλα B12 ($88,1 \pm 5,4 \mu\text{mol g}^{-1} \xi.\beta.$) ενώ η υψηλότερη συγκέντρωση εμφανίστηκε στα φύλλα B9 ($109,0 \pm 5,1 \mu\text{mol g}^{-1} \xi.\beta.$, βλ. [Εικόνα IV.5](#)).

Όταν η συγκέντρωση των σακχάρων εκφράστηκε ανά μονάδα μάζας του περιεχομένου νερού των φύλλων ([Εικόνα IV.6](#)), σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν μεταξύ των φύλλων B12 και B8 για τα σάκχαρα σακχαρόζη ($28,9 \pm 3,4 \mu\text{mol g}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ για τα B8 έναντι $16,6 \pm 1,5 \mu\text{mol g}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ για τα B12, αύξηση κατά 74%) και *myo*-ινουσιτόλη + φρουκτόζη ($79,2 \pm 5,0 \mu\text{mol g}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ για τα B8 έναντι $59,8 \pm 6,0 \mu\text{mol g}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ για τα B12, αύξηση κατά 33%). Η πιο αξιοσημείωτη επίδραση της έλλειψης βορίου παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση της μαννιτόλης, η οποία παρουσίασε αύξηση τόσο στα B9 όσο και στα B8 φύλλα συγκριτικά με τα φύλλα B12 ($330 \pm 15 \mu\text{mol g}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ για τα B9 και $330 \pm 27 \mu\text{mol g}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ για τα B8 έναντι $260 \pm 16 \mu\text{mol g}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ για τα B12, αύξηση 27%).

Όπως και με τη συγκέντρωση των σακχάρων, και η γραμμομοριακή σύσταση δεν επηρεάστηκε αξιοσημ-



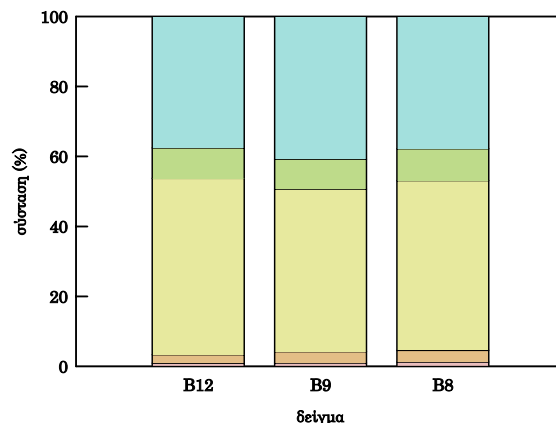
Εικόνα IV.6. Συγκέντρωση διαλυτών σακχάρων εκφρασμένη ανά μονάδα βάρους νερού του φύλλου στα φύλλα των φυτών από το πείραμα πεδίου. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). ■: φύλλα φυτών B12; ▒: φύλλα φυτών B9; □: φύλλα φυτών B8. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (*: $P < 0,05$; d.f. 12). Συντομογραφίες όπως στην εικόνα IV.1. Τα σάκχαρα ραφινόζη και σταχυόζη εκφράζονται ως ισοδύναμο σταχυόζης και τα φρουκτόζη και μγ-ινουσιτόλη ως ισοδύναμο φρουκτόζης.

μείωτα από την διαφορετική θρεπτική κατάσταση των φύλλων (Εικόνα IV.6). Η υψηλότερη διαφορά παρατηρήθηκε στη συμμετοχή της μαννιτόλης η οποία ήταν 41% για τα φύλλα B9 και 38% για τα φύλλα B12 και B8 και στη συμμετοχή της γλυκόζης η οποία ήταν 46% για τα φύλλα B9 και 49–50 για τα φύλλα B12 και B8 (Εικόνα IV.7).

IV.2.1. Σύσταση Διαλυτών Σακχάρων του Χυμού του Ηθμού

Η τροφопενία βορίου επηρεάζει δυσμενώς την έκπτυξη της νέας βλάστησης. Για το λόγο αυτό έχει αναφερθεί ότι υπό συνθήκες έλλειψης του στοιχείου αυτού ενδέχεται να ανατρέπεται το πρότυπο διανομής των φωτοσυνθετικών προϊόντων από τα φύλλα – παραγωγούς προς τα σημεία μεταβολικής κατά-νάλωσης.

Στην ελιά, ως κύρια διακινήσιμα σάκχαρα αναφέρονται ο τετρασακχαρίτης σταχυόζη και ο τρισσακχαρίτης ραφινόζη, η σακχαρόζη και η σακχαροαλκοόλη μαννιτόλη⁹⁸ (βλ. επίσης Εισαγωγή, ενότητα III.2).



Εικόνα IV.7. Γραμμομοριακή σύσταση της δεξαμενής των διαλυτών σακχάρων στα φύλλα των φυτών από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο της εκατοστιαίας σύστασης. ■: ραφινόζη+σταχυόζη (ως ισοδύναμο σταχυόζης); ■: σακχαρόζη; ■: γλυκόζη; ■: φρουκτόζη+μγ-ινουσιτόλη (ως ισοδύναμο φρουκτόζης); ■: μαννιτόλη.

Στο παρόν πείραμα προσδιορίστηκε η σύσταση του χυμού του ηθμού σε σάκχαρα. Για την παραλαβή του χυμού επιλέχθηκε η μέθοδος της διευκολυνόμενης εξιδρώσης μέσω διαλύματος χηλικού καλίου–νατρίου (διάλυμα εξιδρώσης). Η παρουσία του χηλικού παράγοντα συμβάλει στη δέσμευση του ασβεστίου και στην αποτροπή της δημιουργίας καλλόζης η οποία εμφράσει τους ηθμοσωλήνες στην περιοχή της τομής του μίσχου και παρεμποδίζει την εξιδρώση. Με τον τρόπο αυτό καθίσταται δυνατή η απρόσκοπτη συλλογή ποσότητας του χυμού του ηθμού που επαρκεί για την εκτέλεση των χημικών αναλύσεων. Ωστόσο, η υψηλή συγκέντρωση του χηλικού παράγοντα (20 mM) και η προσθήκη ποσότητας KOH για τη ρύθμιση της τιμής του pH δημιουργούν ένα αναλυτικό υπόβαθρο το οποίο δυσχεραίνει την ανάλυση δεδομένου ότι οι ποσότητες των σακχάρων

που παραλαμβάνονται είναι συνήθως συγκριτικά χαμηλές (Εικόνα IV.8).

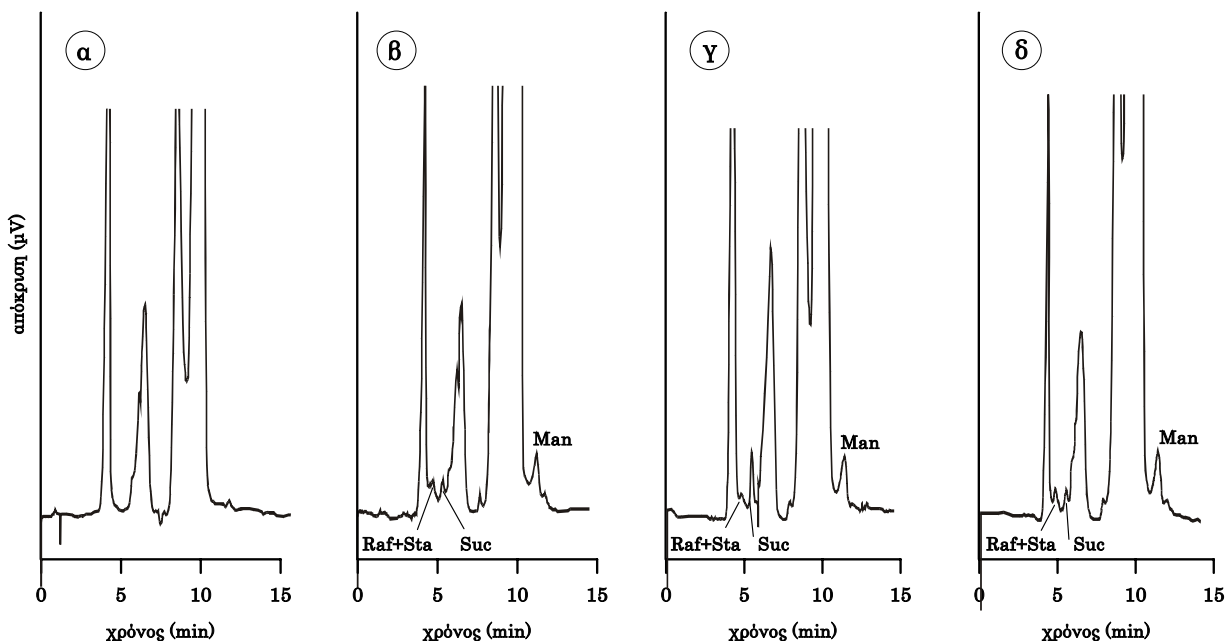
Από την άλλη μεριά, το δείγμα του χυμού παραλαμβάνεται σε έναν κατά πολύ μεγαλύτερο όγκο του διαλύματος εξίδρωσης και κατά συνέπεια δεν είναι δυνατή η αξιόπιστη ποσοτική ανάλυση του δείγματος. Για τους λόγους αυτούς η μέθοδος της διευκολυνόμενης εξίδρωσης θεωρείται ως ημιποσοτική μέθοδος μέτρησης⁵⁵. Ωστόσο είναι η μόνη μέθοδος που μπορεί να εφαρμοστεί σε είδη που δεν διαθέτουν αφίδες ως φυσικούς εχθρούς ή τη δυνατότητα παραλαβής του χυμού απευθείας μέσω εκτομής των αγγείων.

Για την εξασφάλιση όσο το δυνατόν υψηλότερης απόδοσης της μεθόδου, τα φύλλα τοποθετήθηκαν υπό γωνία και δέχονταν ακτινοβολία έντασης (PAR) 600 $\mu\text{mol quantas m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ώστε να συνεχίζεται απρόσκοπτα η φωτοσυνθετική λειτουργία. Σε μια προσπάθεια εκτίμησης της ποσότητας των παραληφθέντων σακχάρων μετρήθηκε τόσο η επιφάνεια των φύλλων

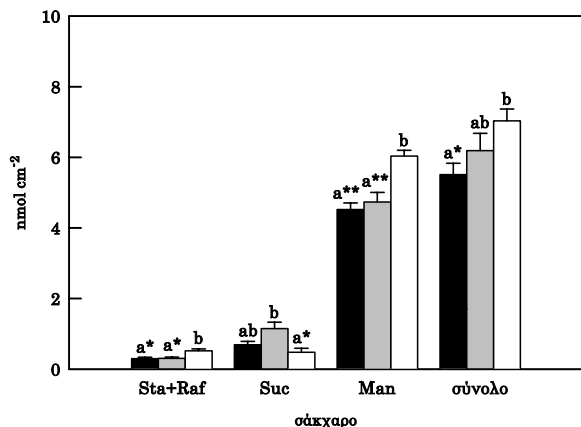
που χρησιμοποιήθηκαν για την εξίδρωση όσο και ο όγκος του διαλύματος εξίδρωσης.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η απόδοση των σακχάρων στο χυμό του ηθμού ήταν $5,51 \pm 0,32 \text{ nmol cm}^{-2}$ επιφάνειας φύλλου για τα φύλλα B12, $6,19 \pm 0,49 \text{ nmol cm}^{-2}$ επιφάνειας φύλλου για τα φύλλα B9 και $7,03 \pm 0,33 \text{ nmol cm}^{-2}$ επιφάνειας φύλλου για τα φύλλα B8 για ένα χρονικό διάστημα 6 ωρών (Εικόνα IV.9).

Όσον αφορά στα επιμέρους σάκχαρα, παρατηρήθηκε μια σημαντική αύξηση (74%) της απόδοσης σε ραφινόζη και σταχυόζη των φύλλων B8 συγκριτικά με τα φύλλα B12 και B9 και μια επίσης σημαντική αύξηση (34%) στη απόδοση σε μαννιτόλη των φύλλων B8 ($6,03 \pm 0,16 \text{ nmol cm}^{-2}$ επιφάνειας φύλλου) συγκριτικά με τα φύλλα B12 ($4,52 \pm 0,19 \text{ nmol cm}^{-2}$ επιφάνειας φύλλου) και B9 ($4,73 \pm 0,27 \text{ nmol cm}^{-2}$ επιφάνειας φύλλου, Εικόνα IV.9). Το γεγονός αυτό έχει ιδιαίτερο αντίκτυπο στη συνολική διακινήσιμη ποσότητα σακχάρων δεδομένης της μεγάλης συμμετοχής της μαννιτόλης στην σύσταση



Εικόνα IV.8. Ενδεικτική χρωματογραφική ανάλυση των σακχάρων του χυμού του ηθμού φυτών (α) διάλυμα εξίδρωσης με 20 mM Na_2EDTA ρυθμισμένο σε pH 7,0 με διάλυμα KOH (χωρίς δείγμα), (β) B12, (γ) B9 και (δ) B8 από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Η απόκριση του ανιχνευτή έχει διορθωθεί με βάση την επιφάνεια προβολής των φύλλων. Συντομογραφίες όπως στην εικόνα IV.1.

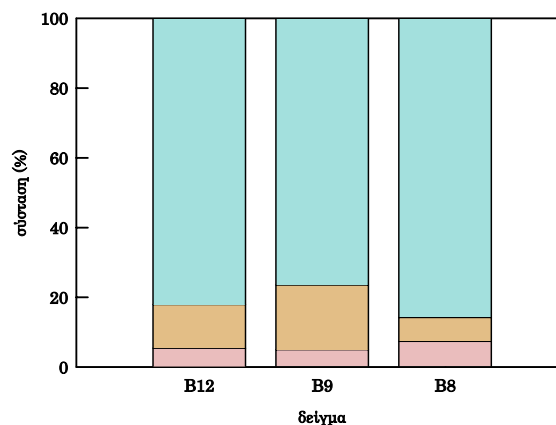


Εικόνα IV.9. Συγκέντρωση (ανά μονάδα φυλλικής επιφάνειας) διαλυτών σακχάρων του χυμού του ηθμού φύλλων των φυτών του πειράματος πεδίου. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). ■: φύλλα φυτών B12; ■: φύλλα φυτών B9; □: φύλλα φυτών B8. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (** / *: $P < 0,05 / 0,01$; d.f. 6). Συντομογραφίες όπως στην εικόνα IV.1. Τα σάκχαρα ραφινόζη και σταχυόζη εκφράζονται ως ισοδύναμο σταχυόζης.

του χυμού του ηθμού. Η απόδοση σε σακχαρόζη εμφανίστηκε αυξημένη στα φύλλα B9 ($1,15 \pm 0,18$ nmol cm⁻² επιφάνειας φύλλου) συγκριτικά με τα φύλλα B12 ($0,69 \pm 0,09$ nmol cm⁻² επιφάνειας φύλλου) και ιδιαίτερα με τα φύλλα B8 ($0,48 \pm 0,11$ nmol cm⁻² επιφάνειας φύλλου). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η μείωση του περιεχομένου βορίου στα φύλλα προκαλεί μια αύξηση της απόδοσης σε σάκχαρα στον χυμό του ηθμού. Η αύξηση αυτή αφορά

ιδιαίτερα στην σακχαροαλκοόλη μαννιτόλη (Εικόνα IV.9).

Στην Εικόνα IV.10 παρουσιάζεται η γραμμομοριακή εκατοστιαία σύσταση των ολιγοσακχαριτών στο χυμό του ηθμού. Η σύσταση σε ολιγοσάκχαρα ήταν για τα φύλλα B12, 82% σε μαννιτόλη, 13% σε σακχαρόζη και 5% σε σταχυόζη και ραφινόζη (ως σταχυόζη). Στα φύλλα B9 η σύσταση ήταν 76% σε μαννιτόλη, 19% σε σακχαρόζη και μόλις 5% σε σταχυόζη και ραφινόζη ενώ στα φύλλα B8, 86% σε μαννιτόλη, 7% σε σακχαρόζη και 7% σε σταχυόζη και ραφινόζη.



Εικόνα IV.10. Γραμμομοριακή σύσταση των σακχάρων του χυμού του ηθμού των φύλλων των φυτών του πειράματος πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο της εκατοστιαίας σύστασης. ■: ραφινόζη+σταχυόζη (ως ισοδύναμο σταχυόζης); ■: σακχαρόζη; ■: μαννιτόλη.

V. Σύσταση Φαινολικών Συστατικών των Φύλλων και του Τριχώματος

Η μελέτη της σύστασης των φαινολικών συστατικών της ελιάς υπό συνθήκες τροφопενίας βορίου κρίθηκε απαραίτητη, δεδομένου του πλήθους των αναφορών στη βιβλιογραφία σχετικά με τη σημαντική επίδραση της τροφопενίας του στοιχείου στο μεταβολισμό των αρωματικών ενώσεων των φυτών (βλ. **Εισαγωγή, ενότητα II.10**) αλλά και σε συνδυασμό με τους σημαντικούς ρόλους τους οποίους επιτελούν οι ουσίες αυτές (βλ. **Εισαγωγή, ενότητα I.7.4.5**).

Στη βιβλιογραφία υπάρχει επίσης ένας μεγάλος αριθμός από αναφορές για τον ρόλο των φαινολικών συστατικών στην φυσιολογία του φυτού της ελιάς. Ένα μέρος από αυτές αφορούν στο ρόλο των φαινολικών συστατικών που εντοπίζονται στο τρίχωμα των φύλλων. Για τους λόγους αυτούς, η σύσταση των φαινολικών συστατικών των φύλλων της ελιάς μελετήθηκε χωριστά για το έλασμα και το τρίχωμα. Η μελέτη των φαινολικών συστατικών του ελάσματος και του τριχώματος πραγματοποιήθηκε για τα δείγματα του πειράματος του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών ενώ για τα δείγματα του πειράματος πεδίου επιλέχθηκε να μελετηθεί μόνο η σύσταση των φαινολικών συστατικών του ελάσματος.

Για την ανάλυση των φαινολικών συστατικών επιλέχθηκε η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης λόγω των πλεονεκτημάτων της στην ταχύτητα, διαχωριστική ικανότητα, ταχύτητα και ευαισθησία στην ποιοτική και ποσοτική ανάλυση. Ως μηχανισμός διαχωρισμού επιλέχθηκε η χρωματογραφία ανάστροφης φάσης με τη χρήση χημικά τροποποιημένου οξειδίου του πυριτίου με μονάδες οκταδεκυλίου ως ακίνητης φάσης και συνδυασμού νερού, ακετονιτριλίου και μεθανόλης ως κινητής φάσης.

Η αναλυτική ικανότητα της μεθόδου αφορά σε διαλυτά φαινολικά συστατικά με μοριακό βάρος από 140 έως περίπου 610 και εύρος πολικότητας που περιλαμβάνει απλά φαινολικά οξέα όπως το γαλλικό και χλωρογενικό οξύ έως και άγλυκες φλαβόνες και φλαβονόλες. Στα όρια αυτά αναλύθηκαν ανάλογα τη φύση του δείγματος περισσότερα από 60 συστατικά

(**Εικόνες V.1, 2, 5, 6, 8 και 9**). Από αυτά, ταυτοποιήθηκαν 13 συστατικά (άλλα οκτώ συστατικά ταυτοποιήθηκαν σε ορισμένες κατηγορίες δειγμάτων σε χαμηλές κατά κανόνα συγκεντρώσεις) με τη βοήθεια των φασματοσκοπικών και χρωματογραφικών δεδομένων. Η χρωματογραφική ανάλυση απέδωσε δύο φαινυλοπροπανοειδή (άλλα επτά αναγνωρίστηκαν σε διάφορες κατηγορίες δειγμάτων), ένα κύριο συστατικό που δεν αναγνωρίστηκε (αλλά ανήκει πιθανότατα στην ομάδα των φαινολικών οξέων), δύο γλυκοζίτες της φλαβονόλης κερκετινης, δύο γλυκοζίτες της φλαβόνης απιγενίνης, τρεις γλυκοζίτες της φλαβόνης λουτεολίνης, τα άγλυκα φλαβονοειδή κερκετινη και λουτεολίνη (επίσης σε άλλα δείγματα η απιγενίνη) και το σεκοϊριδοειδές ολεοροπαΐνη. Για τα δείγματα του ελάσματος των φύλλων τα φαινολικά συστατικά που ταυτοποιήθηκαν συνιστούν σημαντικό ποσοστό των αναλυόμενων συστατικών (**Εικόνες V.1 και 8**). Ειδικότερα τα φλαβονοειδή που ταυτοποιήθηκαν αποτελούν το κύριο μέρος των αναλυόμενων συστατικών για αυτή την τάξη ενώσεων (**Εικόνες V.2 και 9**).

Οι χρωματογραφικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με ανίχνευση στα 280 nm για την λήψη του συνολικής κατατομής της δεξαμενής των φαινολικών συστατικών καθώς και στα 365 nm για καλύτερη εκλεκτικότητα στην ανάλυση των φλαβονοειδών. Σε μήκος κύματος 365 nm πραγματοποιήθηκε και η ποσοτική ανάλυση των συστατικών της τάξης αυτής.

V.1. Πείραμα Θαλάμου Ελεγχόμενων

Συνθηκών

V.1.1. Σύσταση Φαινολικών Συστατικών των Φύλλων

Στο πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών αναλύθηκαν δείγματα από φύλλα Νε και Πα των μεταχειρίσεων B+ και B-. Η περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά των φύλλων ΝεB+ ήταν η ισχνότερη όλων των άλλων κατηγοριών φύλλων (**Εικόνες V.1 και 2**). Όπως έδειξαν οι μετρήσεις της συνολικής επιφάνειας των κορυφών έκλυσης στα

280 nm (Εικόνα V.4.δ), τα φύλλα NeB+ περιείχαν τη χαμηλότερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών ($0,848 \pm 0,043$ ως ισοδύναμο mg καφεϊκού οξέος g^{-1} ξ.β. φύλλου). Αντίθετα τα φύλλα NeB- περιείχαν αξιοσημείωτα υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών ($5,747 \pm 1,034$ mg g^{-1} ξ.β., αύξηση κατά 576%). Οι διαφορές στα φύλλα Πα ήταν λιγότερο δραματική ωστόσο ακολουθούσε την ίδια τάση ($3,803 \pm 0,306$ mg g^{-1} ξ.β. των φύλλων ΠαB- έναντι $1,432 \pm 0,115$ mg g^{-1} ξ.β. των φύλλων ΠαB+, αύξηση κατά 171%, Εικόνα V.4.δ).

Ανάλογη ήταν η εικόνα της επίδρασης της τροφοπενίας βορίου στα φλαβονοειδή (Εικόνα V.2). Η συνολική επιφάνεια των κορυφών έκλουσης στα 365 nm για τα δείγματα των φύλλων Ne+ ήταν $8,18 \pm 0,50$ ως ισοδύναμο mg 7-O-γλυκοζιτη λουτεολίνης g^{-1} ξ.β. φύλλου (Εικόνα V.4.λ). Η παρουσία των φλαβονοειδών στα φύλλα NeB- ήταν κατά 415% αυξημένη ($42,14 \pm 0,64$ mg g^{-1} ξ.β.). Αντίστοιχα για τα φύλλα Πα μετρήθηκαν $12,99 \pm 0,80$ mg g^{-1} ξ.β. (φύλλα ΠαB+) και $20,60 \pm 0,31$ mg g^{-1} ξ.β. (φύλλα ΠαB-, αύξηση κατά 59%, Εικόνα V.4.λ).

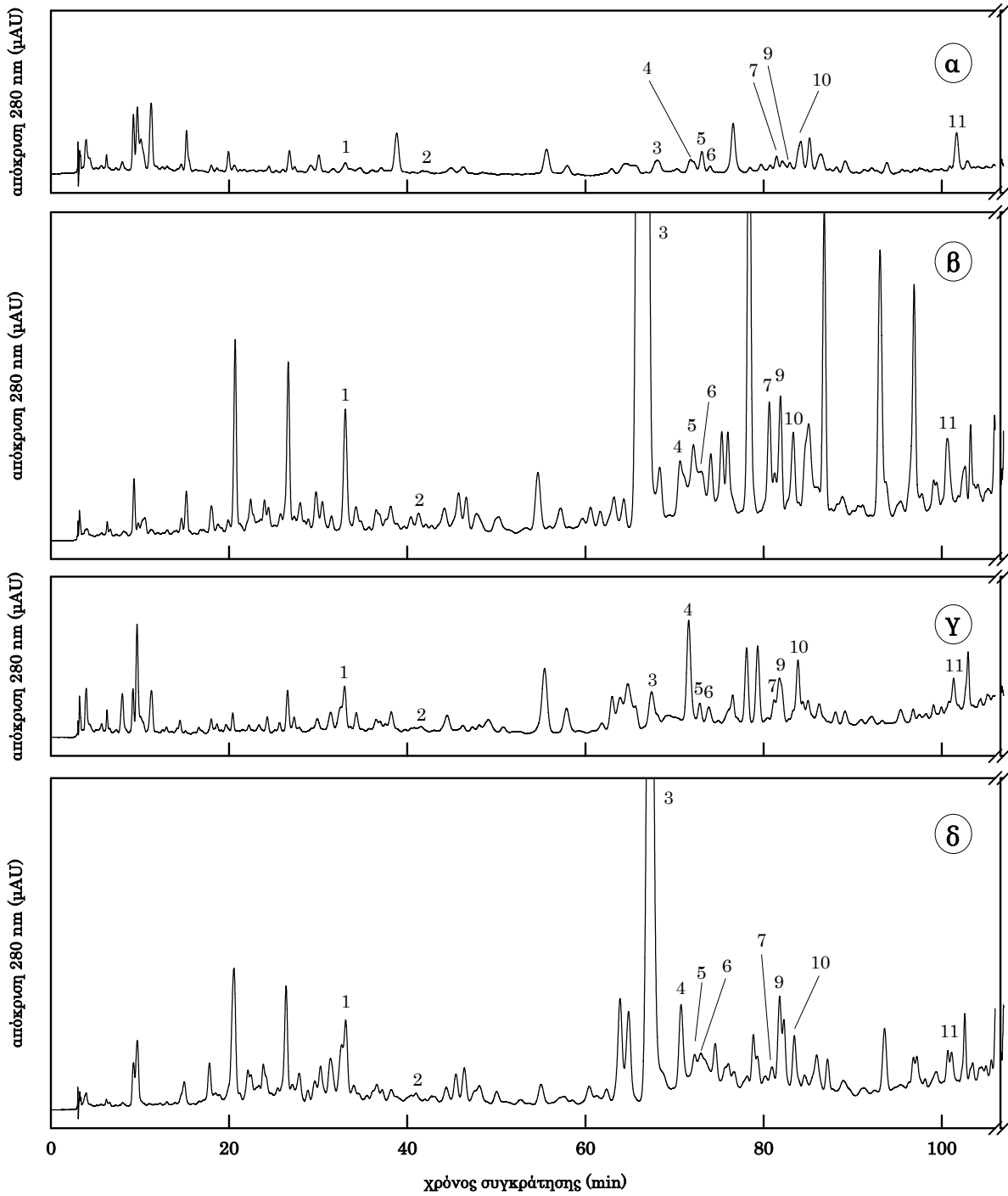
Η εικόνα μεταξύ των επιμέρους ταυτοποιημένων συστατικών διαφοροποιήθηκε ανάλογα με το είδος του μορίου. Η επίδραση της τροφοπενίας βορίου στη συγκέντρωση του p-κουμαρικού οξέος ήταν έντονη προκαλώντας μια αύξηση κατά 190%. Στα φύλλα Πα η μεταβολή ήταν αμελητέα, ωστόσο η συγκέντρωση ήταν σε υψηλότερα επίπεδα έναντι αυτής των φύλλων NeB+ (Εικόνα V.4.α). Η επίδραση της τροφοπενίας βορίου στη συγκέντρωση του φερουλικού οξέος ήταν εμφανής όχι μόνο στα φύλλα Ne αλλά και στα φύλλα Πα. Έτσι η συγκέντρωσή του στα φύλλα NeB- αυξήθηκε κατά 212% συγκριτικά με τα φύλλα NeB+ ενώ στα φύλλα ΠαB- αυξήθηκε κατά 115% συγκριτικά με τα φύλλα ΠαB+. Η συγκέντρωση του συστατικού αυτού εμφανίστηκε παρόμοια μεταξύ φύλλων διαφορετικής ηλικίας που είχαν δεχθεί την

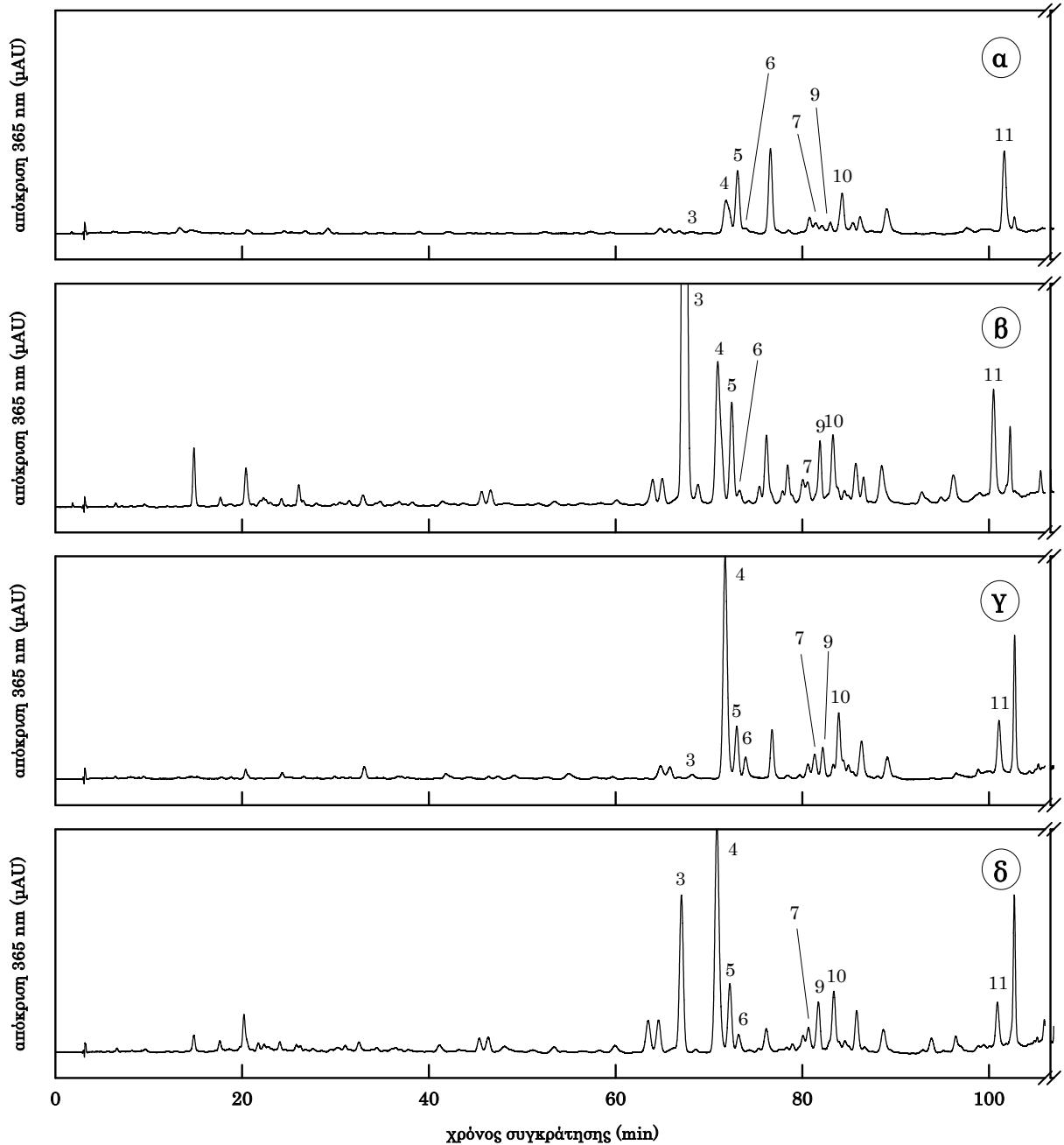
ίδια μεταχείριση (B+ ή B-, Εικόνα V.4.β). Η πιο εντυπωσιακή επίδραση της θρέψης βορίου στα φαινολικά συστατικά παρατηρήθηκε στην κορυφή με χρόνο έκλουσης 67 min (Εικόνες V.1 και 2, κορυφή 3 (A330)). Η συγκέντρωση (εκφρασμένη ως ισοδύναμο καφεϊκού οξέος) του συστατικού A330 αυξήθηκε από τα $0,002 \pm 0,000$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα NeB+ στα $0,852 \pm 0,015$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα NeB- (αύξηση κατά 400 περίπου φορές). Επίσης εντυπωσιακή ήταν η αύξηση του συστατικού αυτού και στα φύλλα Πα κατά 35 περίπου φορές (από $0,003 \pm 0,000$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα ΠαB+ στα $0,111 \pm 0,011$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα ΠαB-, Εικόνα V.4.γ). Το συστατικό αυτό δεν ταυτοποιήθηκε ωστόσο τα φασματοσκοπικά του χαρακτηριστικά το κατατάσσουν στην κατηγορία των φαινυλοπροπανοειδών (Εικόνα V.3). Το φάσμα απορρόφησης του στο υπεριώδες παρουσιάζει σημαντική ομοιότητα με το φάσμα απορρόφησης του καφεϊκού οξέος (ωστόσο η χρωματογραφική του συμπεριφορά αποκλείει να είναι το ίδιο μόριο). Στην Εικόνα V.3 παραθέτονται επίσης και τα φάσματα εκπομπής φθορισμού και διέγερσης του άγνωστου συστατικού.

Σε αντίθεση με τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή δεν παρουσίασαν ομοιόμορφη συμπεριφορά έναντι της τροφοπενίας βορίου (Εικόνες V.2 και 4). Ο 7-O-γλυκοζιτης της λουτεολίνης (Εικόνες V.1, 2 και 4.ε) αποτελεί το κύριο φαινολικό συστατικό των φύλλων με συγκέντρωση της τάξης των 2-4 mg g^{-1} ξ.β. Η τροφοπενία βορίου προκάλεσε την αύξηση της συγκέντρωσης του συστατικού αυτού κατά 185% στα φύλλα NeB- συγκριτικά με τα φύλλα NeB+. Ωστόσο, η συγκέντρωσή του στα φύλλα Πα ήταν κατά πολύ υψηλότερη των φύλλων Ne ανεξαρτήτως χειρισμού ($4,368 \pm 0,279$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα ΠαB+ και $4,293 \pm 0,201$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα ΠαB- έναντι $0,939 \pm 0,066$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα NeB+ και $2,676 \pm 0,459$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα NeB-, Εικόνα V.4.ε). Είναι

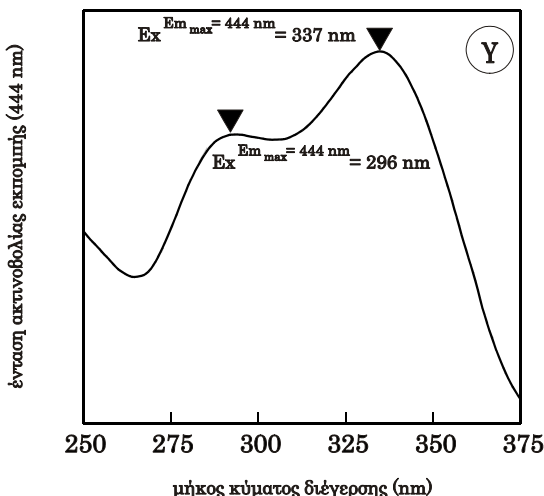
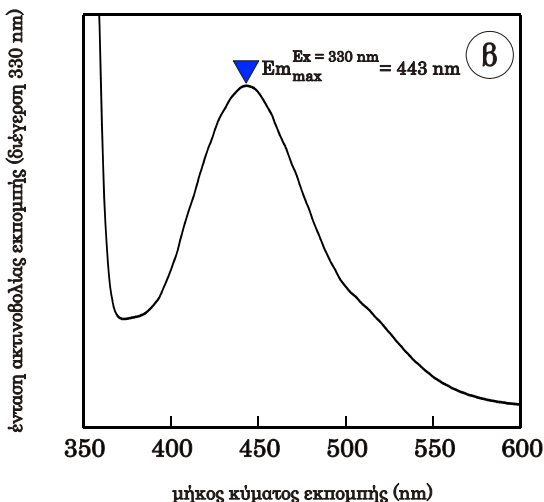
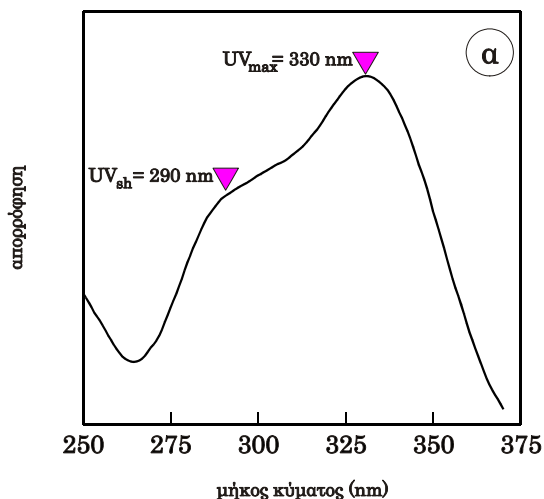
Εικόνα V.1. Ενδεικτικές χρωματογραφικές αναλύσεις των φαινολικών συστατικών των φύλλων (α) NeB+, (β) NeB-, (γ) ΠαB+ και (δ) ΠαB- των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι κορυφές έκλουσης αναγνωρίστηκαν ως εξής: 1, p-κουμαρικό οξύ; 2, φερουλικό οξύ; 3, άγνωστο μόριο (A330); 4, 7-O-γλυκοζιτης λουτεολίνης; 5, 3-O-γλυκοζιτης κερκετινης; 6, 7-O-ρουτινοζιτης λουτεολίνης; 7, 7-O-γλυκοζιτης απιγενίνης; 9, 7-O-ρουτινοζιτης απιγενίνης; 10, 4'-O-γλυκοζιτης λουτεολίνης; 11, λουτεολίνη. Ανίχνευση στα 280 nm. Η απόκριση του ανιχνευτή έχει διορθωθεί με βάση το ξηρό βάρος των δειγμάτων.

Αποτελέσματα





Εικόνα V.2. Ενδεικτικές χρωματογραφικές αναλύσεις των φαινολικών συστατικών των φύλλων (α) ΝεΒ+, (β) ΝεΒ-, (γ) ΠαΒ+ και (δ) ΠαΒ- των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι κορυφές έκλουσης συμβολίζονται όπως στην εικόνα V.1. Η απόκριση του ανιχνευτή έχει διορθωθεί με βάση το ξηρό βάρος των δειγμάτων. Ανίχνευση στα 365 nm.

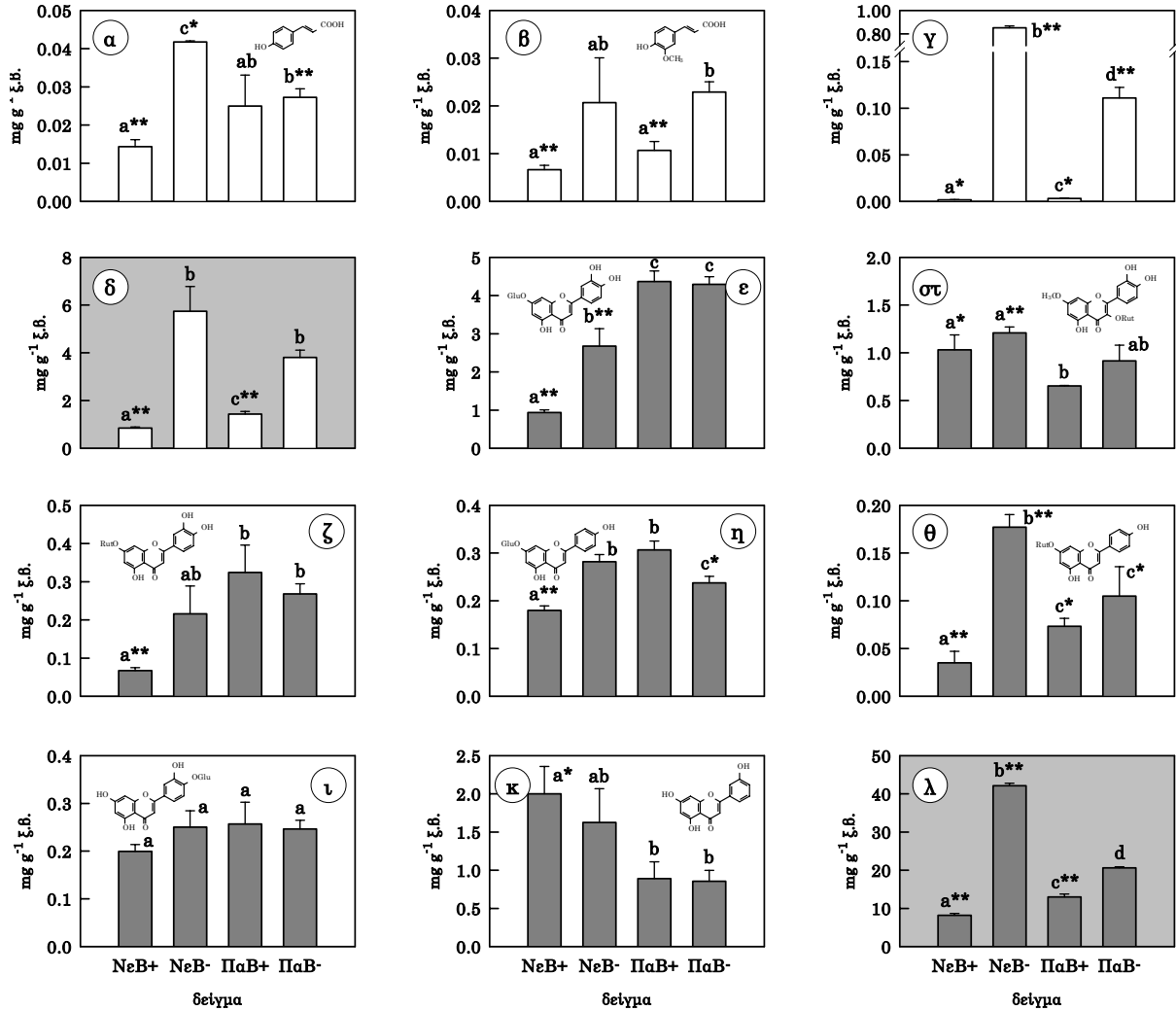


επίσης αξιοσημείωτο το γεγονός ότι ο 7-O-γλυκοζιτης της λουτεολίνης συσσωρεύθηκε σε πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις στα φύλλα Πα ενώ η συγκέντρωσή του δεν επηρεάστηκε από την τροφοπενία βορίου (Εικόνα V.4.ε).

Ανάλογη συμπεριφορά με τον 7-O-γλυκοζιτη της λουτεολίνης έδειξαν και τα φλαβονοειδή 7-O-ρουτινοζιτης της λουτεολίνης (Εικόνα V.4.ζ) και 7-O-γλυκοζιτης της απιγενίνης (Εικόνα V.4.η). Όσον αφορά στο πρώτο, η συγκέντρωσή του στα φύλλα NeB- αυξήθηκε κατά 222% έναντι αυτής των φύλλων NeB+ φτάνοντας σε τιμή $0,216 \pm 0,073$ ως ισοδύναμο mg 7-O-γλυκοζιτη λουτεολίνης g⁻¹ ξ.β. από $0,067 \pm 0,008$ mg g⁻¹ ξ.β. Και στην περίπτωση αυτή η συγκέντρωση στα φύλλα Πα ήταν υψηλότερη (Εικόνα V.7.ζ). Τα φύλλα ΠαB- εμφάνισαν μικρότερη συγκέντρωση του συστατικού αυτού συγκριτικά με τα φύλλα ΠαB+. Στην περίπτωση του 7-O-γλυκοζιτη της απιγενίνης (Εικόνα V.4.η), παρατηρήθηκε μια αύξηση της συγκέντρωσης στα φύλλα NeB- συγκριτικά με τα NeB+ κατά 57% (από $0,180 \pm 0,009$ mg g⁻¹ ξ.β. σε $0,282 \pm 0,015$ mg g⁻¹ ξ.β.). Ομοίως, τα φύλλα Πα εμφάνισαν υψηλότερες συγκεντρώσεις του 7-O-γλυκοζιτη της απιγενίνης συγκριτικά με τα φύλλα Ne ενώ τα φύλλα ΠαB+ εμφάνισαν υψηλότερη συγκέντρωση συγκριτικά με τα φύλλα ΠαB- ($0,307 \pm 0,019$ mg g⁻¹ ξ.β. στα φύλλα ΠαB+ έναντι $0,238 \pm 0,014$ mg g⁻¹ ξ.β. στα φύλλα ΠαB-, Εικόνα V.4.η).

Ο 3-O-ρουτινοζιτης της κερκετίνης (Εικόνες V.2 και 4.στ) αποτελεί ένα από τα κύρια συστατικά των φύλλων, του οποίου η συγκέντρωση βρίσκεται στα επίπεδα του 1 g⁻¹ ξ.β. Η τροφοπενία βορίου δεν επηρέασε αισθητά τη συγκέντρωση του συστατικού αυτού στα φύλλα. Η χαμηλότερη συγκέντρωση ήταν αυτή των φύλλων ΠαB+ ($0,654 \pm 0,006$ mg g⁻¹ ξ.β.) και διέφερε στατιστικά από αυτή των φύλλων NeB+ και NeB- (Εικόνα V.4.στ). Η συμπεριφορά του 7-O-

Εικόνα V.3. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά της κορυφής έκλυσης 3 (A330) που διαχωρίστηκε κατά την χρωματογραφική ανάλυση των φαινολικών συστατικών των φύλλων. Φάσματα (α) απορρόφησης στο υπεριώδες, (β) εκπομπής φθορισμού με μήκος κύματος διέγερσης 330 nm και (γ) διέγερσης για μήκος κύματος εκπομπής 444 nm. Διαλύτης: 25% MeCN σε 5% HCOOH.



Εικόνα V.4. Συγκέντρωση φαινολικών συστατικών των φύλλων των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). (α) p-κουμαρικό οξύ, (β) φερουλικό οξύ, (γ) άγνωστο μόριο (A330) ως ισοδύναμο καφεϊκού οξέος, (δ) συνολική επιφάνεια κορυφών έκλυσης στα 280 nm ως ισοδύναμο καφεϊκού οξέος, (ε) 7-O-γλυκοζίτης λουτεολίνης, (στ) 3-O-γλυκοζίτης κερκετίνης, (ζ) 7-O-ρουτινοζίτης λουτεολίνης ως ισοδύναμο 7-O-γλυκοζίτη λουτεολίνης, (η) 7-O-γλυκοζίτης απιγενίνης, (θ) 7-O-ρουτινοζίτης απιγενίνης, (ι) 4'-O-γλυκοζίτης λουτεολίνης, (κ) λουτεολίνη ως ισοδύναμο απιγενίνης, (λ) συνολική επιφάνεια κορυφών έκλυσης στα 365 nm ως ισοδύναμο 7-O-γλυκοζίτη λουτεολίνης. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (**/ *: $P < 0,05 / 0,01$; d.f. 16).

ρουτινοζίτη της απιγενίνης ήταν ανάλογη των φαινυλοπροπανοειδών p-κουμαρικού και φερουλικού οξέος (Εικόνα V.4). Τα φύλλα NeB+ παρουσίασαν τη χαμηλότερη συγκέντρωση ($0,035 \pm 0,012 \text{ mg g}^{-1}$ ξ.β.) ενώ τα φύλλα NeB- τη υψηλότερη με $0,177 \pm 0,013$

mg g^{-1} ξ.β. (αύξηση κατά 406%). Στα φύλλα Πα, τα οποία παρουσίασαν ενδιάμεσες τιμές συγκέντρωσης, παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση λόγω τροφοπενίας βορίου (Εικόνα V.4.θ).

Η τροφοπενία βορίου αλλά και το αναπτυξιακό

στάδιο των φύλλων δεν επηρέασαν τη συγκέντρωση του 4'-Ο-γλυκοζιτη της λουτεολίνης (Εικόνα V.4.ι) η οποία κυμάνθηκε στα επίπεδα των $0,25 \text{ mg g}^{-1}$ ξ.β.

Η λουτεολίνη καταγράφηκε ως το μόνο άγλυκο φλαβονοειδές που ταυτοποιήθηκε στα δείγματα του ελάσματος των φύλλων. Η επίδραση της τροφopenίας βορίου στη συγκέντρωση της λουτεολίνης δεν ήταν σημαντική (Εικόνα V.4.κ). Ωστόσο, αξιοσημείωτες ήταν οι διαφορές στη συγκέντρωση μεταξύ φύλλων διαφορετικών αναπτυξιακών σταδίων. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των φύλλων Ne ($2,000 \pm 0,359$ ως ισοδύναμο mg g^{-1} ξ.β. για τα NeB+ και $1,627 \pm 0,440 \text{ mg g}^{-1}$ ξ.β. για τα NeB-) και των φύλλων Πα ($0,891 \pm 0,089 \text{ mg g}^{-1}$ ξ.β. για τα ΠαB+ και $0,856 \pm 0,143 \text{ mg g}^{-1}$ ξ.β. για τα ΠαB-).

V.1.2. Σύσταση Φαινολικών Συστατικών του Τριχώματος

Οι χρωματογραφικές αναλύσεις των φαινολικών συστατικών του τριχώματος των φύλλων απέδωσαν ένα σύνολο από 15 περίπου φαινολικά συστατικά, τέσσερα από τα οποία ταυτοποιήθηκαν. Συγκεκριμένα βρέθηκαν τα 3-Ο-ρουτινοζιτης κερκετίνης, 3-Ο-ραμνοζιτης κερκετίνης, 7-Ο-γλυκοζιτης απιγενίνης και κερκετίνη (Εικόνα V.5). Μετά από μια σειρά χρωματογραφικών αναλύσεων που αφορούσαν, εκτός των δειγμάτων των δύο πειραμάτων, δείγματα από έξι διαφορετικές ποικιλίες ελιάς φυτών του πεδίου (τα δεδομένα δεν παρουσιάζονται), φάνηκε ότι τα φλαβονοειδή 3-Ο-ραμνοζιτης κερκετίνης και κερκετίνη δεν περιέχονται σε αξιοσημείωτες ποσότητες στους ιστούς του ελάσματος των φύλλων αλλά εντοπίζονται αποκλειστικά στο στρώμα του τριχώματος. Η κερκετίνη αποτελεί ένα από τα κύρια φαινολικά συστατικά του τριχώματος με συγκεντρώσεις της τάξης των $7-10 \text{ mg g}^{-1}$ v.β. Η συγκέντρωση του 3-Ο-ρουτινοζιτη της κερκετίνης ήταν μειωμένη στο τρίχωμα των φύλλων NeB+ σε

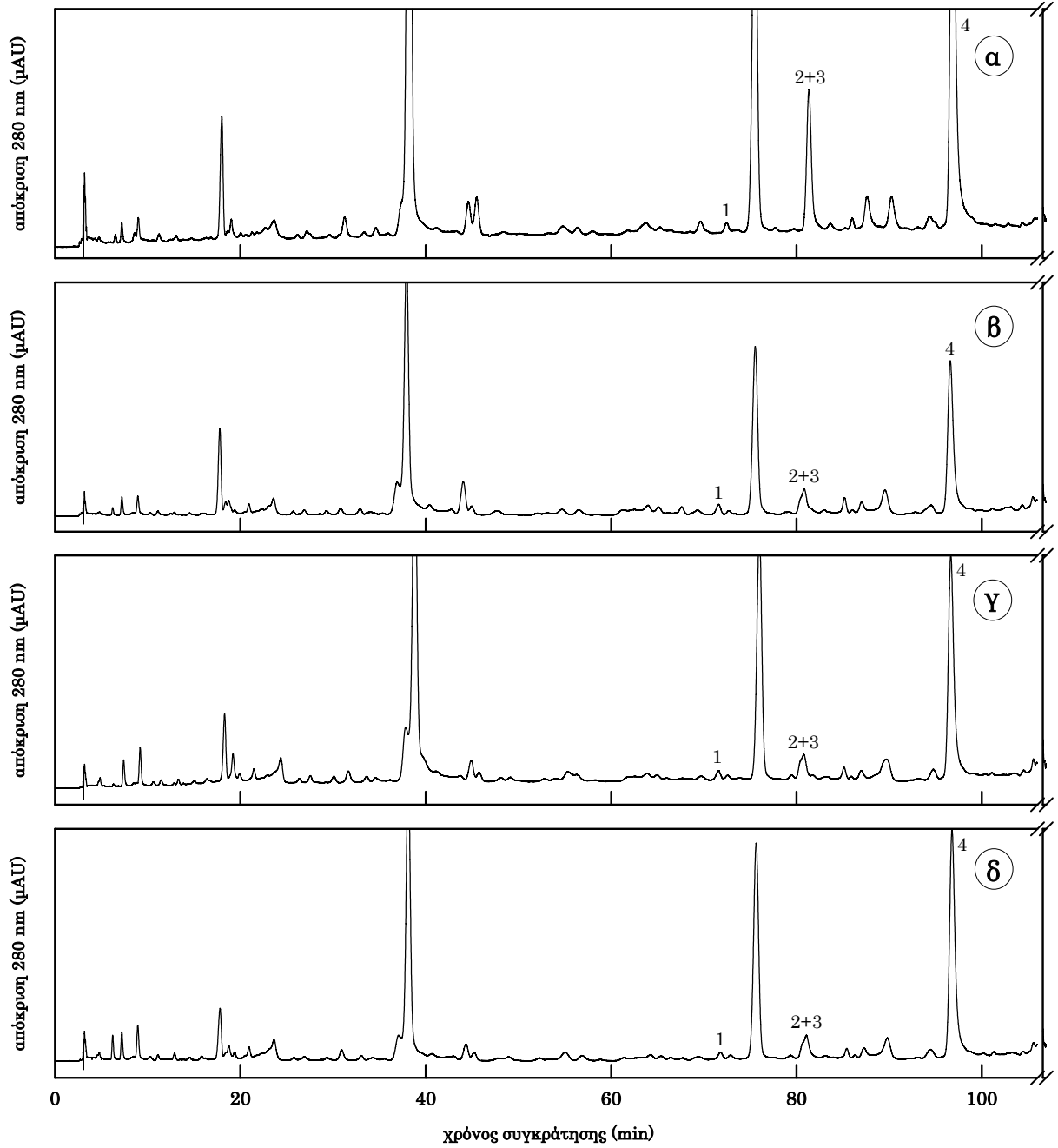
σύγκριση με το τρίχωμα των φύλλων NeB- ($0,120 \pm 0,009 \text{ mg g}^{-1}$ v.β. έναντι $0,159 \pm 0,013 \text{ mg g}^{-1}$ v.β. αντίστοιχα, Εικόνα V.6.α). Η συγκέντρωση του 3-Ο-ρουτινοζιτη της κερκετίνης στο τρίχωμα των φύλλων Πα δεν έδειξε κάποια αξιοσημείωση διαφορά. Αντίθετα, η συγκέντρωση ως σύνολο του 3-Ο-ραμνοζιτη της κερκετίνης και 7-Ο-γλυκοζιτη της απιγενίνης (Εικόνα V.6.β) κυμάνθηκε σε υψηλότερα επίπεδα ($1,713 \pm 0,112 \text{ mg g}^{-1}$ v.β.) στο τρίχωμα των φύλλων NeB+ σε σύγκριση τόσο με το τρίχωμα των φύλλων NeB- ($1,340 \pm 0,213 \text{ mg g}^{-1}$ v.β., μη στατιστικά σημαντική διαφορά), όσο και με το τρίχωμα των φύλλων Πα και των δύο χειρισμών ($1,148 \pm 0,154 \text{ mg g}^{-1}$ v.β. για τα B+ και $1,261 \pm 0,089 \text{ mg g}^{-1}$ v.β. για τα B-). Όμοια με τα δύο προηγούμενα φλαβονοειδή, η συγκέντρωση της κερκετίνης εμφανίστηκε υψηλότερη στο τρίχωμα των φύλλων NeB+ ($9,561 \pm 0,903 \text{ mg g}^{-1}$ v.β.) συγκριτικά με το τρίχωμα των φύλλων NeB- ($6,812 \pm 0,765 \text{ mg g}^{-1}$ v.β.). Το τρίχωμα των φύλλων Πα εμφάνισε χαμηλότερες συγκεντρώσεις και σε αυτό το φλαβονοειδές ($6,454 \pm 1,186 \text{ mg g}^{-1}$ v.β. για τα B+ και $7,893 \pm 0,702 \text{ mg g}^{-1}$ v.β. για τα B-, Εικόνα V.6.γ).

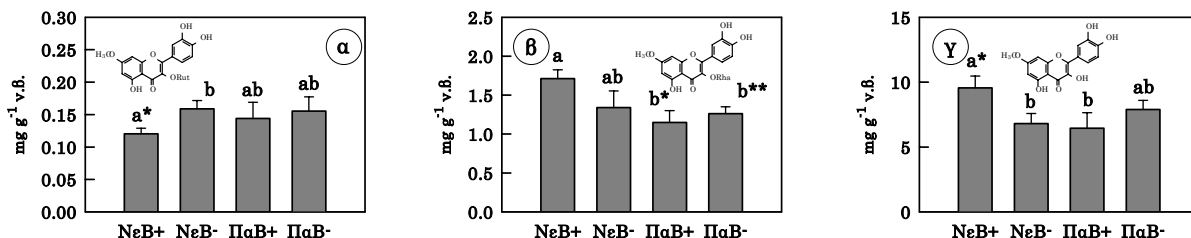
V.2. Πείραμα Πεδίου

Στο πείραμα πεδίου αναλύθηκαν δείγματα από φύλλα B12, B9 και B8. Η χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων των φύλλων (Εικόνες V.7 και 8) απέδωσε ανάλογα φαινολικά συστατικά με τα δείγματα των φύλλων του πειράματος στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών. Επιπλέον, στα δείγματα του πειράματος πεδίου ανιχνεύτηκε σε υψηλές τιμές συγκέντρωσης το σεκοϊοριδοειδές ολεοροπαΐνη (Εικόνα V.7).

Η ποσοτική κατανομή των φαινολικών συστατικών μεταξύ των διαφόρων δειγμάτων των φύλλων δεν φαίνεται να επηρεάστηκε σημαντικά από το περιεχόμενο σε βόριο, όπως συνέβη στα φύλλα του πειράματος στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών (Εικόνες V.7 και 8). Βρέθηκε, ωστόσο, ότι η

Εικόνα V.5. Ενδεικτικές χρωματογραφικές αναλύσεις των φαινολικών συστατικών του τριχώματος των φύλλων (α) NeB+, (β) NeB-, (γ) ΠαB+ και (δ) ΠαB- των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). Οι κορυφές έκλουσης αναγνωρίστηκαν ως εξής: 1, 3-Ο-ρουτινοζιτης κερκετίνης; 2, 3-Ο-ραμνοζιτης κερκετίνης; 3, 7-Ο-γλυκοζιτης απιγενίνης; 4, κερκετίνη. Ανίχνευση στα 280 nm. Η απόκριση του ανιχνευτή έχει διορθωθεί με βάση το ξηρό βάρος των δειγμάτων.





Εικόνα V.6. Συγκέντρωση φαινολικών συστατικών του τριχώματος των φύλλων των φυτών από το πείραμα του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών στο τέλος του πειράματος (90 ημέρες). (α) 3–Ο–ρουτινοζίτης κερκετίνης, (β) 3–Ο–ραμνοζίτης κερκετίνης + 7–Ο–γλυκοζίτης απιγενίνης ως 7–Ο–γλυκοζίτης απιγενίνης, (γ) κερκετίνη. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (** / *: $P < 0,05 / 0,01$; d.f. 16).

συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στα φύλλα B9 ήταν σχετικά μειωμένη έναντι αυτής των φύλλων B12 και B8.

Μετρήσεις της συνολικής επιφάνειας των κορυφών έκλουσης στα 280 nm έδειξαν ότι τα φύλλα B12 περιείχαν $2,887 \pm 0,126$ ως ισοδύναμο mg καφεϊκού οξέος g^{-1} ξ.β. Η παρουσία των φαινολικών συστατικών στα φύλλα B8 ήταν παρόμοια ($2,823 \pm 0,453$ mg g^{-1} ξ.β.) ενώ στα φύλλα B9 βρέθηκε μειωμένη κατά 27% ($2,098 \pm 0,239$ mg g^{-1} ξ.β., [Εικόνα V.9.ε](#)). Αντίστοιχη ήταν και η εικόνα της συνολικής επιφάνειας των κορυφών έκλουσης στα 365 nm. Η συνολική παρουσία των φλαβονοειδών κυμάνθηκε στα $43,96 \pm 3,17$ ως ισοδύναμο mg 7–Ο–γλυκοζίτη της λουτεολίνης g^{-1} ξ.β. για τα φύλλα B12 και $44,34 \pm 4,56$ mg g^{-1} ξ.β. για τα φύλλα B9 ενώ η παρουσία τους ήταν μειωμένη στα $34,69 \pm 1,64$ mg g^{-1} ξ.β. για τα φύλλα B9 ([Εικόνα V.9.μ](#)).

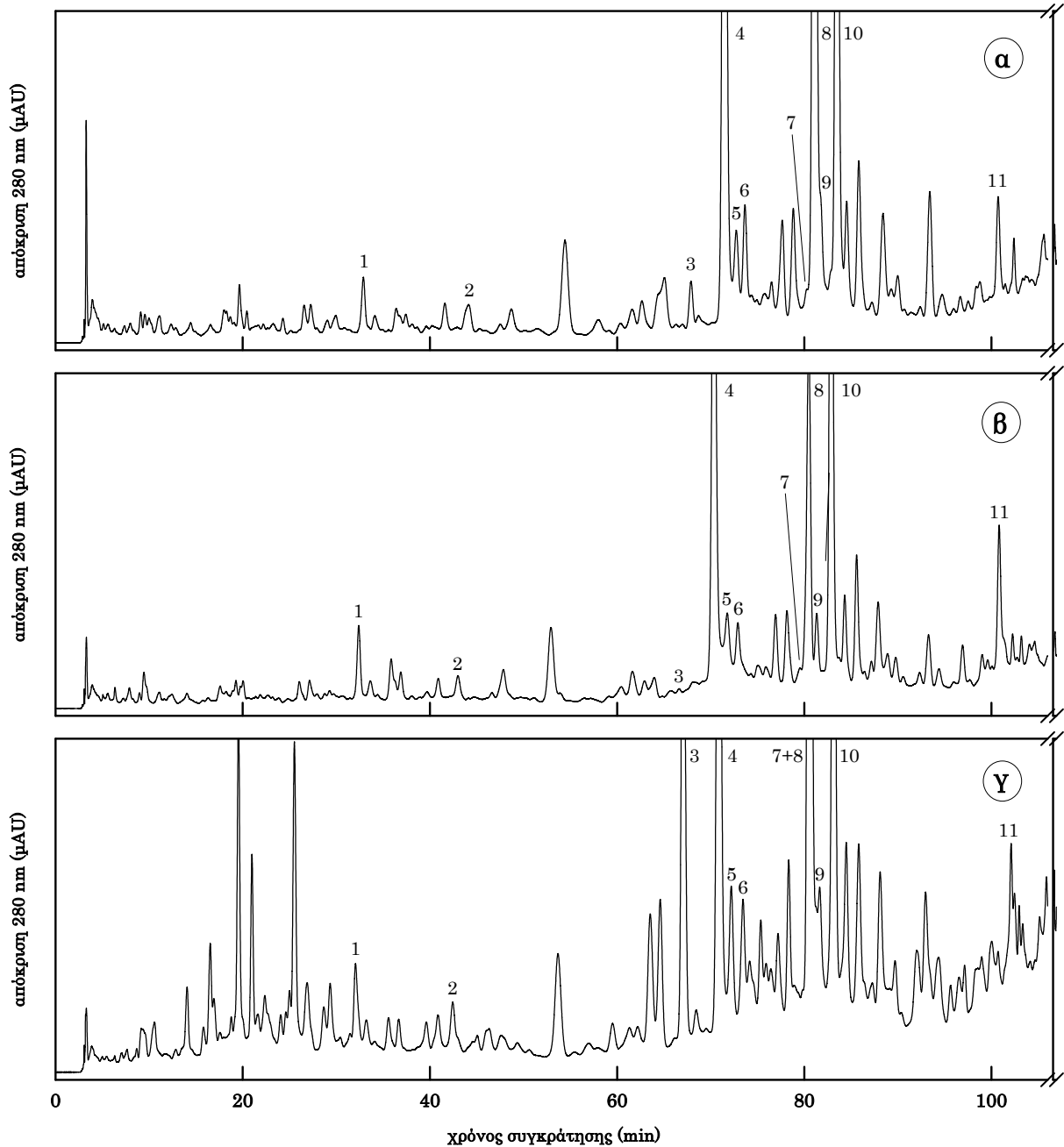
Στα επιμέρους συστατικά η εικόνα διαφοροποιήθηκε μόνο στην περίπτωση του συστατικού A330 και της ολεοροπαΐνης. Συγκεκριμένα το p–κουμαρικό οξύ δεν διαφοροποιήθηκε αισθητά λόγω του διαφορετικού περιεχομένου των φύλλων σε βόριο και εμφάνισε συγκέντρωση $0,0176 \pm 0,0021$ mg g^{-1} ξ.β. για τα φύλλα B12, $0,0137 \pm 0,0045$ mg g^{-1} ξ.β. για τα φύλλα B9 και $0,0214 \pm 0,0041$ mg g^{-1} ξ.β. για τα φύλλα B8 χωρίς να παρατηρηθούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ([Εικόνα V.9.α](#)). Το φερουλικό οξύ παρουσίασε χαμηλή συγκέντρωση στα φύλλα B9 ($0,0325 \pm 0,0036$ mg g^{-1} ξ.β.) ενώ παρόμοιες ήταν οι συγκεντρώσεις για τα φύλλα B12 ($0,0622 \pm 0,0043$

mg g^{-1} ξ.β.) και B8 ($0,0527 \pm 0,0133$ mg g^{-1} ξ.β., [Εικόνα V.9.β](#)).

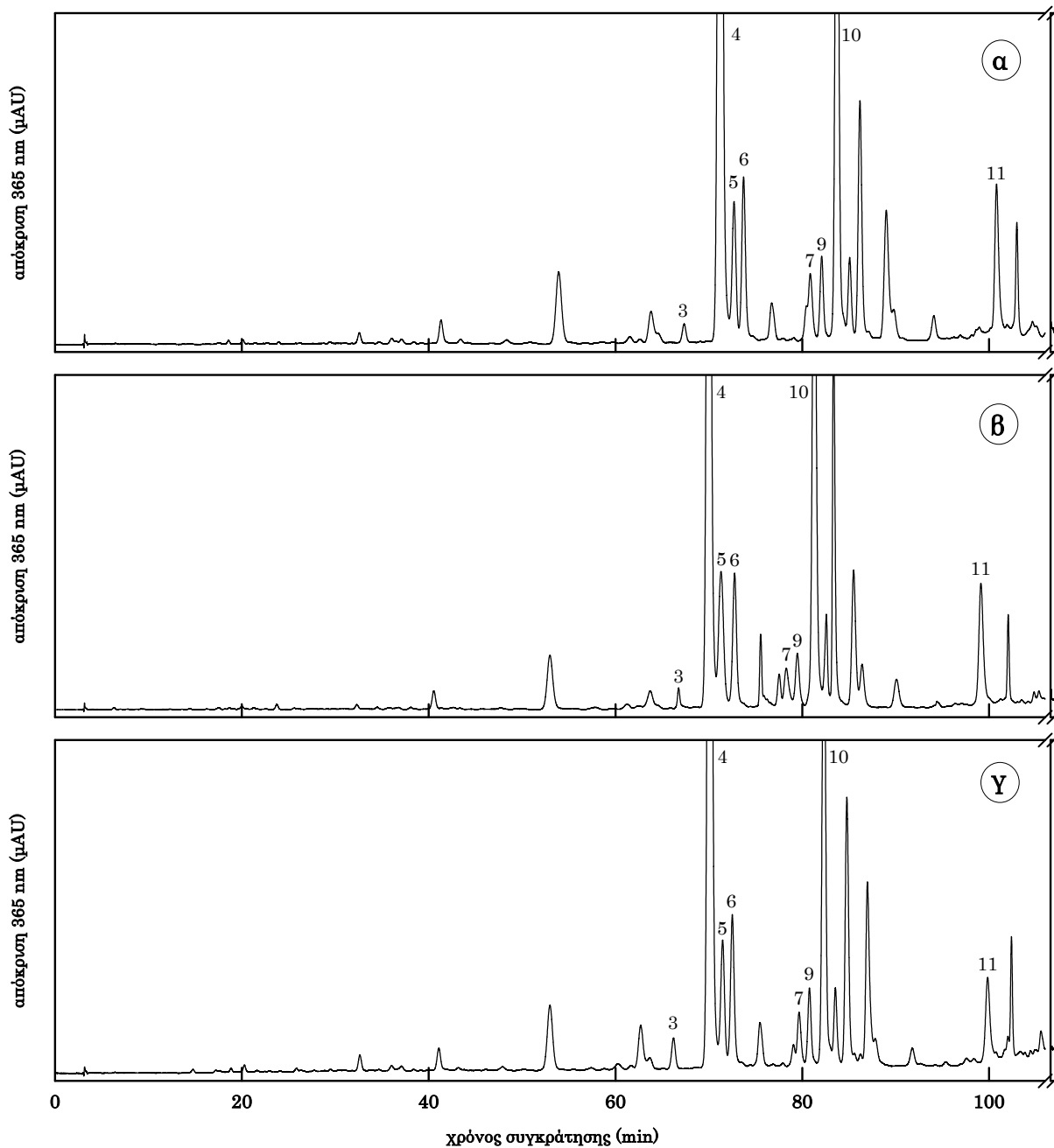
Ανάλογη τάση με την περίπτωση των φύλλων των φυτών του πειράματος στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών εμφάνισε το συστατικό A330 όσον αφορά στην τροφοπενία βορίου. Συγκεκριμένα η συγκέντρωσή του βρέθηκε στα $0,0185 \pm 0,0115$ mg g^{-1} ξ.β. για τα φύλλα B12. Στα φύλλα B9 παρατηρήθηκε μια μείωση κατά 84% αλλά στα φύλλα B8 σημειώθηκε αύξηση κατά 256% συγκριτικά με τα φύλλα B12 φτάνοντας σε συγκέντρωση $0,0659 \pm 0,0439$ mg g^{-1} ξ.β. Ωστόσο οι επιμέρους μετρήσεις εμφάνισαν σημαντική παραλλακτικότητα από φυτό σε φυτό ([Εικόνα V.9.γ](#)).

Η ολεοροπαΐνη παρουσίασε μείωση της συγκέντρωσης με την μείωση του περιεχομένου σε βόριο. Τα φύλλα B12 παρουσίασαν συγκέντρωση $37,21 \pm 2,82$ mg g^{-1} ξ.β. ενώ τα B9 και B8 σημαντικά μικρότερη ($18,46 \pm 6,22$ mg g^{-1} ξ.β. και $22,66 \pm 4,46$ mg g^{-1} ξ.β. αντίστοιχα, [Εικόνα V.9.δ](#)).

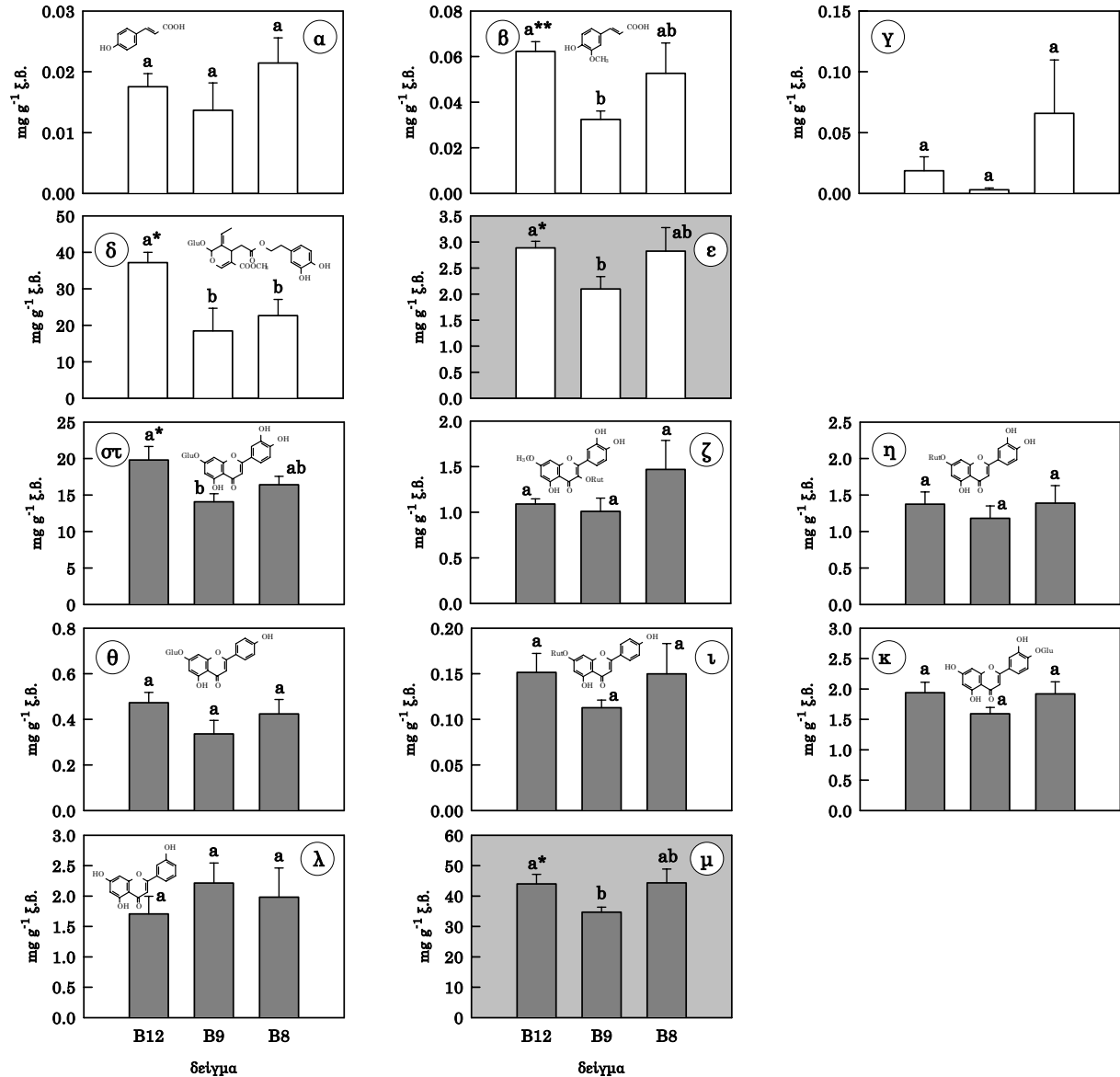
Η επίδραση της τροφοπενίας βορίου στα φλαβονοειδή διαφοροποιήθηκε ανάλογα με το είδος του μορίου. Τα περισσότερα φλαβονοειδή δεν παρουσίασαν αξιοσημείωτες μεταβολές στη συγκέντρωσή τους μεταξύ των διαφόρων δειγμάτων φύλλων ([Εικόνες V.9.η–λ](#)). Στην περίπτωση του 7–Ο–γλυκοζίτη της λουτεολίνης η υψηλότερη τιμή συγκέντρωσης παρατηρήθηκε στα φύλλα B12 ($19,8 \pm 1,9$ mg g^{-1} ξ.β. έναντι $14,1 \pm 1,1$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα B9 και $16,4 \pm 1,1$ mg g^{-1} ξ.β. στα φύλλα B8, [Εικόνα V.9.στ](#)). Αντίθετα, η συγκέντρωση του 3–Ο–



Εικόνα V.7. Ενδεικτικές χρωματογραφικές αναλύσεις των φαινολικών συστατικών των φύλλων (α) B12, (β) B9 και (γ) B8 των φυτών από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Οι κορυφές έκλυσης συμβολίζουν όπως στην εικόνα V.1 και 8, ολεοροπαΐνη. Ανίχνευση στα 280 nm. Η απόκριση του ανιχνευτή έχει διορθωθεί με βάση το ξηρό βάρος των δειγμάτων.



Εικόνα V.8. Ενδεικτικές χρωματογραφικές αναλύσεις των φαινολικών συστατικών των φύλλων (α) B12, (β) B9 και (γ) B8 των φυτών από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. Οι κορυφές έκλυσης συμβολίζονται όπως στην εικόνα V.1. Ανίχνευση στα 365 nm. Η απόκριση του ανιχνευτή έχει διορθωθεί με βάση το ξηρό βάρος των δειγμάτων.



Εικόνα V.9. Συγκέντρωση φαινολικών συστατικών των φύλλων των φυτών από το πείραμα πεδίου. Ως B12, B9 και B8 σημειώνονται οι τρεις κατηγορίες φύλλων όπως ταξινομήθηκαν μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης βορίου. (α) p-κουμαρικό οξύ, (β) φερουλικό οξύ, (γ) άγνωστο μόριο (A330) ως ισοδύναμο καφεϊκού οξέος, (δ) ολεοροπαΐνη, (ε) συνολική επιφάνεια κορυφών έκλουσης στα 280 nm ως ισοδύναμο καφεϊκού οξέος, (ςτ) 7-O-γλυκοζίτης λουτεολίνης, (ζ) 3-O-ρουτινοζίτης κερκετίνης, (η) 7-O-ρουτινοζίτης λουτεολίνης ως ισοδύναμο 7-O-γλυκοζίτη λουτεολίνης, (θ) 7-O-γλυκοζίτης απιγενίνης, (ι) 7-O-ρουτινοζίτης απιγενίνης, (κ) 4'-O-γλυκοζίτης λουτεολίνης, (λ) απιγενίνη, (μ) συνολική επιφάνεια κορυφών έκλουσης στα 365 nm ως ισοδύναμο 7-O-γλυκοζίτη λουτεολίνης. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (± τυπικό σφάλμα). Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (** / *: P < 0,05 / 0,01; d.f. 12).

Αποτελέσματα

ρουτινοζίτη της κερκετίνης (Εικόνα V.9.ζ) ήταν υψηλότερη στα φύλλα B8 ($1,47 \pm 0,32 \text{ mg g}^{-1}$ ξ.β. έναντι $1,09 \pm 0,06 \text{ mg g}^{-1}$ ξ.β. στα φύλλα B9 και $1,01$

$\pm 0,15 \text{ mg g}^{-1}$ ξ.β. στα φύλλα B8) χωρίς ωστόσο οι παρατηρούμενες διαφορές να είναι στατιστικά σημαντικές.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

*'If a man will begin with certainties, he shall end in doubts, but if he
will be content to begin with doubts, he shall end in certainties'*

Advancement of Learning, 1605

Sir Francis Bacon

I. Συγκέντρωση Βορίου στους Φυτικούς Ιστούς

1.1. Το Βόριο Επανεκκινείται σε Μεγαλύτερο Βαθμό από τα Ωριμα προς τα Νεαρά Όργανα υπό Συνθήκες Έλλειψης του Στοιχείου

Κατά την έναρξη του πειράματος στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών, τα πλήρως εκπτυγμένα φύλλα παρουσίασαν συγκέντρωση βορίου $20,7 \pm 1,1 \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. (Εικόνα I.1). Η συγκέντρωση αυτή βρίσκεται εντός των ορίων επάρκειας για το συγκεκριμένο στοιχείο²⁵⁶ (βλ. ενότητα Εισαγωγή, πίνακα III.2). Η καλλιέργεια των φυτών κατά τη διάρκεια του πειράματος είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της συγκέντρωσης βορίου στα φύλλα αυτά (φύλλα Πα κατά τη λήξη του πειράματος, Εικόνα I.1). Η μείωση στη συγκέντρωση παρατηρήθηκε τόσο στα φύλλα Πα των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό μέσο με έλλειψη βορίου όσο και σε αυτά που καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό μέσο πλήρους σύνθεσης (Εικόνα I.1). Επιπλέον, η μείωση παρατηρήθηκε όχι μόνο σε επίπεδο συγκέντρωσης βορίου αλλά και σε επίπεδο συσσώρευσης του στοιχείου ανά όργανο, γεγονός που ασφαλώς υποδεικνύει ότι μέρος του βορίου επανακινητοποιήθηκε από τα ώριμα φύλλα προς άλλα μέρη του φυτού.

Από την άλλη μεριά, τα νεαρά φύλλα της μεταχείρισης B+ (φύλλα NeB+, Εικόνα I.1) είχαν επίσης υψηλότερη συγκέντρωση (φύλλα NeB+, Εικόνα I.1), συγκρίσιμη με τα φύλλα Πα κατά την έναρξη του πειράματος. Τέλος τα νεαρά φύλλα της μεταχείρισης B- (φύλλα NeB-, Εικόνα I.1) εμφάνισαν εξαιρετικά χαμηλή συγκέντρωση, ως αποτέλεσμα του χειρισμού B-.

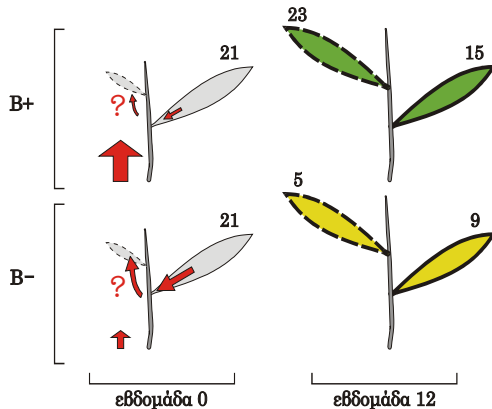
Έχει αναφερθεί ότι στην ελιά, υπό καθεστώς επάρκειας βορίου, η συγκέντρωση του στοιχείου στα νεαρά φύλλα παρουσιάζεται υψηλότερη συγκριτικά με αυτή των ώριμων φύλλων^{251,89,142}. Το φαινόμενο της ανακύκλωσης των θρεπτικών στοιχείων είναι δεδομένο στα φυτά, ώστε τα ώριμα φύλλα να

αποδίδουν μέρος των θρεπτικών αποθεμάτων τους για την κάλυψη των αναγκών των νεαρών αναπτυσσόμενων οργάνων.

Το παραπάνω φαινόμενο, από μόνο του, αποτελεί μια ισχυρή ένδειξη για την δυνατότητα εκτεταμένης επανεκκίνησης βορίου στο φυτό της ελιάς²⁵. Επιπλέον, σε αντίθεση με τα φυτά όπου ο κύριος όγκος των διακινήσιμων φωτοσυνθετικών προϊόντων αντιπροσωπεύεται από τη σακχαρόζη, η κινητικότητα του βορίου είναι σημαντική σε φυτά που διακινούν σημαντικά ποσοστά σακχαροαλκοολών μέσω του ηθμού^{28,26,29,31}. Το φυτό της ελιάς ανήκει στην κατηγορία των φυτών στο χυμό του ηθμού των οποίων ανιχνεύονται αξιόλογες ποσότητες σακχαροαλκοολών, όπως η μαννιτόλη^{95,79}. Η γραμμομοριακή σύσταση του χυμού του ηθμού σε μαννιτόλη κυμαίνεται στα επίπεδα του 27%. Το ποσοστό αυτό προκύπτει από τα δεδομένα των Flora and Madore⁹⁵, αν ληφθεί υπ' όψη ο σχετικός αριθμός των ραδιενεργών ατόμων άνθρακα ανά μόριο διακινούμενων σακχάρων⁹⁵. Τη δυνατότητα επανεκκίνησης των θρεπτικών αποθεμάτων βορίου από τα ώριμα φύλλα προς τα αναπτυσσόμενα αναπαραγωγικά όργανα έχουν αναφέρει οι Delgado et al.⁶⁹ όπως επίσης και οι Perica et al.²⁵². Πρόσφατα, η δυνατότητα επανεκκίνησης βορίου στην ελιά επιβεβαιώθηκε και με τη χρήση του ισότοπου ¹⁰B²⁵¹.

Στο παρόν πείραμα, παρατηρήθηκε ότι η επανεκκίνηση βορίου από τα ώριμα φύλλα της μεταχείρισης B- ήταν εντονότερη συγκριτικά με αυτή των ώριμων φύλλων της μεταχείρισης B+, αφού στα φύλλα ΠαB- παρατηρήθηκε επανεκκίνηση ποσοστού 57% των αποθεμάτων βορίου ενώ στα φύλλα ΠαB+ το αντίστοιχο ποσοστό ήταν μόλις 29% (Εικόνα I.1).

Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η επανεκκίνηση βορίου ενισχύεται υπό καθεστώς έλλειψης βορίου στο μέσο ανάπτυξης. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου δίδεται η δυνατότητα ρύθμισης της έντασης της επανεκκίνησης του στοιχείου δεν είναι γνωστός. Σύμφωνα με όλες τις ενδείξεις, η επανεκκίνηση του βορίου στην ελιά πραγματοποιείται μέσω της δημιουργίας συμπλόκων του ελεύθερου βορικού οξέος με μόρια μαννιτόλης του κυτταρικού χυμού^{69,251}. Η συγκέντρωση της μαννι-



Εικόνα 1.1. Η συγκέντρωση βορίου (σε $\mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β.) στα φύλλα του πειράματος του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών κατά την έναρξη (εβδομάδα 0) και λήξη (εβδομάδα 12) της πειραματικής περιόδου. Τα βέλη υποδηλώνουν επαναδιανομή ή εξωτερική παροχή βορίου. □: πλήρως εκπτυγμένα φύλλα κατά την έναρξη του πειράματος; ▤: αναπτυσσόμενα φύλλα κατά την έναρξη του πειράματος; ■: φύλλα ΠαB+ κατά τη λήξη του πειράματος; ▨: φύλλα ΝεB+ κατά τη λήξη του πειράματος; ▩: φύλλα ΠαB- κατά τη λήξη του πειράματος; ▧: φύλλα ΝεB- κατά τη λήξη του πειράματος

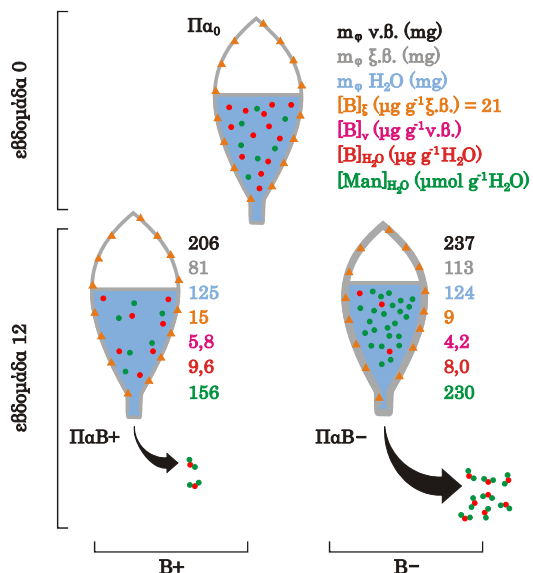
τόλης στα φύλλα της ελιάς είναι αρκετά υψηλή⁷⁹. Πράγματι, στο παρόν πείραμα η συγκέντρωση της μαννιτόλης στα ώριμα φύλλα κυμάνθηκε στα επίπεδα των $250 \mu\text{mol g}^{-1}$ ξ.β. ανεξάρτητα από τη μεταχείριση. Το γεγονός αυτό σημαίνει ότι η γραμμομοριακή αναλογία της μαννιτόλης ως προς το βόριο είναι υψηλότερη του $1000 : 1$, ακόμα και αν δεχθούμε ότι το συνολικό βόριο του φύλλου κατανέμεται στον κυτταρικό χυμό. Σύμφωνα με *in vitro* μελέτες κινητικής, σε γραμμομοριακή αναλογία μαννιτόλης : βορικού οξέος της τάξης του $10 : 1$, το 99% του βορικού οξέος απαντά με τη μορφή συμπλόκου με το παραπάνω σάκχαρο²⁰⁶. Συνεπώς, στην περίπτωση των φύλλων της ελιάς, το βόριο το οποίο δεν είναι δεσμευμένο σε οποιοδήποτε άλλο κυτταρικό συστατικό (όπως πολυμερή των κυτταρικών τοιχωμάτων), θα απαντά υπό μορφή συμπλόκου με τη μαννιτόλη. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η ύπαρξη της μαννιτόλης στα φύλλα αποτελεί τον κρίσιμο παράγοντα για την επαναδιανομή βορίου. Η τελευταία εξαρτάται τελικά από τη δυνατότητα

παραγωγής αλλά και από το ποσό των διακινούμενων φωτοσυνθετικών προϊόντων. Η συμβολή των διακινούμενων σακχαροαλκοολών στην διαδικασία αναδιανομής βορίου έχει αποδειχθεί άμεσα με τη χρήση διαγονιδιακών φυτών καπνού με αυξημένη ικανότητα σύνθεσης σορβιτόλης. Στα φυτά αυτά, λόγω της αυξημένης διακίνησης σορβιτόλης στον ηθμό, η ικανότητα αναδιανομής βορίου προς τα νεαρά όργανα αυξήθηκε δραματικά, όπως και η ανθεκτικότητά τους στην έλλειψη βορίου²⁹. Αντίθετα, στο φυτό *Brassica napus* δεν διαπιστώθηκε αύξηση της ικανότητας αναδιανομής βορίου υπό συνθήκες έλλειψης στο εξωτερικό μέσο, παρά το γεγονός ότι εξετάστηκαν τρεις ποικιλίες με διαφορετικό βαθμό ανθεκτικότητας στην έλλειψη βορίου⁵⁵. Στο φυτό αυτό δεν έχει διαπιστωθεί ύπαρξη συμπλόκων σακχαροαλκοολών – βορίου στον ηθμό. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η ύπαρξη σακχαροαλκοολών στον ηθμό δεν εξασφαλίζει μόνο την ικανότητα διακίνησης βορίου αλλά ενδεχομένως και την ικανότητα ρύθμισης των ποσοτήτων που διακινούνται, ως απόκριση στις συνθήκες θρέψης.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η διαφορά στην επανεκκίνηση βορίου μεταξύ των φύλλων ΠαB+ και ΠαB- στο παρόν πείραμα θα μπορούσε να εξηγηθεί μέσω των αυξομειώσεων της συγκέντρωσης της μαννιτόλης στα κύτταρα. Παρόλο που η συγκέντρωση της μαννιτόλης είναι σε οποιαδήποτε περίπτωση επαρκής για τη συμπλοκοποίηση του συνόλου του κυτταρικού βορίου, μια σημαντική αύξηση στη συγκέντρωσή της θα καθιστούσε τη σακχαροαλκοόλη αυτή ισχυρό ανταγωνιστή άλλων κυτταρικών παραγόντων με τους οποίους σχηματίζει σύμπλοκα το βόριο, όπως πολυσακχαρίτες ή πρωτεΐνες. Με τον τρόπο αυτό θα μπορούσε να αυξηθεί το διαλυτό ως προς το δεσμευμένο βόριο και συνεπώς και το ποσό του βορίου που τελικά μπορεί να επαναδιανεμηθεί.

Η συγκέντρωση της μαννιτόλης στα φύλλα (εκφρασμένη ανά μονάδα ξηρού βάρους) δεν παρουσίασε διαφορές μεταξύ των πειραματικών χειρισμών. Ωστόσο, η συγκέντρωση της μαννιτόλης των φύλλων στην *in vivo* κατάσταση μπορεί να προσεγγιστεί πιο ρεαλιστικά αν εκφραστεί με βάση τη μάζα του διαλύτη, ο οποίος στην περίπτωση αυτή είναι ο κυτταρικός χυμός. Η ποσότητα του

κυτταρικού χυμού μπορεί να εκτιμηθεί από το περιεχόμενο νερό των φύλλων. Η έκφραση αυτή της συγκέντρωσης έχει χρησιμοποιηθεί από τους Tattini et al.³³⁷ για την διερεύνηση της συμπεριφοράς των υδατανθράκων των φύλλων της ελιάς υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας. Αν η μαννιτόλη εκφραστεί ως γραμμομοριακή συγκέντρωση ανά μονάδα μάζας νερού των φύλλων, προκύπτει τιμή συγκέντρωσης 156 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ για τα φύλλα ΠαB+



Εικόνα 1.2. Προτεινόμενο μοντέλο επανεκκίνησης των αποθεμάτων βορίου των ώριμων φύλλων της ελιάς. Στην εικόνα παρουσιάζεται ένα φύλλο κατά την έναρξη του πειράματος (εβδομάδα 0, φύλλο Πα0) και τα αντίστοιχα φύλλα κατά τη λήξη του πειράματος (εβδομάδα 12, φύλλα ΠαB+ και ΠαB-, ανάλογα με το χειρισμό). Σημειώνεται πως τα φύλλα Πα διαθέτουν αρχικά όμοια και επαρκή αποθέματα βορίου καθώς έχουν ολοκληρώσει την ανάπτυξη τους υπό καθεστώς επάρκειας βορίου. Με πορτοκαλί τρίγωνα παριστάνεται το βόριο των κυτταρικών τοιχωμάτων, με κόκκινους κύκλους το διαλυτό βόριο του κυτταρικού χυμού και με πράσινους κύκλους η μαννιτόλη. Οι τιμές του σχήματος αντιστοιχούν στο μέσο νωπό βάρος φύλλου ($m_{\phi} \text{ v.}\beta.$), μέσο ξηρό βάρος φύλλου ($m_{\phi} \text{ }\xi.\beta.$), μέσο περιεχόμενο σε νερό του φύλλου ($m_{\phi} \text{ H}_2\text{O}$), συγκέντρωση βορίου ανά ξηρό βάρος ($[\text{B}]_{\xi}$), συγκέντρωση βορίου ανά νωπό βάρος ($[\text{B}]_{\nu}$), συγκέντρωση βορίου ανά περιεχόμενο νερό ($[\text{B}]_{\text{H}_2\text{O}}$) και συγκέντρωση μαννιτόλης ανά περιεχόμενο νερό ($[\text{Man}]_{\text{H}_2\text{O}}$).

και 230 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ για τα φύλλα ΠαB- (Εικόνα 1.2). Μια τέτοια διαφορά βρίσκεται σε πλήρη συμφωνία με τη διαφορά στο ποσό του βορίου που επανεκκινήθηκε μεταξύ φύλλων ΠαB+ και ΠαB-. Ο λόγος της συγκέντρωσης μαννιτόλης των φύλλων ΠαB- ως προς αυτής των φύλλων ΠαB+ είναι περίπου 1,48 ενώ ο αντίστοιχος λόγος του ποσού του βορίου που επανεκκινήθηκε, περίπου 1,46. Στην Εικόνα 1.2 παρουσιάζεται σχηματικά η παραπάνω υπόθεση σύμφωνα με την οποία η αύξηση της συγκέντρωσης της μαννιτόλης που παρατηρήθηκε στα φύλλα ΠαB- θα μπορούσε να προκαλέσει την έξοδο υψηλότερων ποσοτήτων βορίου από τα αντίστοιχα φύλλα. Στο σημείο αυτό πρέπει να επισημανθεί ότι στα νεαρά φύλλα, η αύξηση της συγκέντρωσης της μαννιτόλης ήταν ακόμη μεγαλύτερη (αύξηση 89% στα φύλλα NeB- έναντι των φύλλων NeB+) ενώ αυξημένη συγκέντρωση μαννιτόλης παρατηρήθηκε και στα φύλλα του πειράματος πεδίου (αύξηση 29% στα φύλλα B9 και B8 έναντι των B12).

Όπως θα συζητηθεί παρακάτω, (βλ. Ενότητα III.1), το αίτιο για την αύξηση της συγκέντρωσης της μαννιτόλης είναι ενδεχομένως η καταστολή της αύξησης η οποία σε συνδυασμό με την απρόσκοπτη λειτουργία της φωτοσύνθεσης προκαλεί συσσώρευση υδατανθράκων στα φύλλα.

1.2. Η Τοπολογία των Συμπτωμάτων Τροφопενίας Διαφέρει Ανάλογα με το Περιβάλλον Ανάπτυξης

Στο πείραμα του πεδίου, τα φύλλα επιλέχθηκαν με βάση τα ορατά συμπτώματα τροφопενίας βορίου και ομαδοποιήθηκαν σε τρεις κατηγορίες. Τα φύλλα – μάρτυρες προέρχονταν από δένδρα τα οποία είχαν καλή εικόνα, κανονική βλάστηση και σχετικά ικανοποιητική καρποφορία ενώ απουσίαζαν συμπτώματα τροφопενίας βορίου ή άλλης καταπόνησης. Τα φύλλα αυτά παρουσίασαν συγκέντρωση βορίου ίση με 12,3 $\mu\text{g g}^{-1} \xi.\beta.$ (φύλλα B12). Η συγκέντρωση αυτή θεωρείται οριακή όσον αφορά στη θρεπτική επάρκεια του στοιχείου. Η δεύτερη ομάδα δένδρων επιλέχθηκε με βάση την παρουσία διακριτών και εκτεταμένων συμπτωμάτων τροφопενίας βορίου στα φύλλα αλλά και στους

καρπούς (μικροκαρπία και καρπόπτωση). Από τα δένδρα αυτά επλέχθησαν οι υπόλοιπες δύο ομάδες φύλλων, με βάση την απουσία ή παρουσία συμπτωμάτων τροφопενίας βορίου (από βλάστηση που παρουσιάζοταν υγιής ή με συμπτώματα αντίστοιχα). Τα φύλλα αυτά παρουσίασαν συγκέντρωση 8,9 και 7,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. (φύλλα B9 και B8 αντίστοιχα). Η ανάλυση του περιεχομένου βορίου έδειξε ότι η διαβάθμιση της συγκέντρωσης του στοιχείου είναι πιθανόν να σχετίζεται με την εμφάνιση των συμπτωμάτων.

Τα συμπτώματα των φύλλων των φυτών του πεδίου ήταν τυπικά της τροφопενίας βορίου (εντοπισμένη χλώρωση στο κορυφαίο τμήμα του φύλλου). Αντίθετα, τα φύλλα NεB- του θαλάμου (παρότι σε αυτά η συγκέντρωση βορίου ήταν κατά πολύ χαμηλότερη έναντι αυτής των φύλλων του πεδίου) εμφάνισαν ομοιογενή χλώρωση σε όλη την επιφάνεια του ελάσματος. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από τον Haas¹²⁴ για φυτά ελιάς τα οποία είχαν αναπτυχθεί υπό συνθήκες πειραματικής υδροπονικής καλλιέργειας για την πρόκληση τροφопενίας βορίου.

Τα τυπικά συμπτώματα εντοπισμένης χλώωσης υπό συνθήκες έλλειψης βορίου, ενδέχεται να προκαλούνται από την ανισοκατανομή του στοιχείου στην επιφάνεια του ελάσματος. Η ανισοκατανομή αυτή μπορεί να οφείλεται είτε στην ανακατανομή του στοιχείου εντός του οργάνου, είτε στην ανομοιόμορφη πρωτογενή εναπόθεση (π.χ. το τμήμα του ελάσματος που βρίσκεται κοντά στη βάση του φύλλου μπορεί να διαθέτει υψηλότερη ικανότητα δέσμευσης του εισερχόμενου βορίου συγκριτικά με το ανώτερο), με αποτέλεσμα το πρώτο να συγκεντρώνει τελικά

υψηλότερες ποσότητες βορίου συγκριτικά με το δεύτερο. Σύμφωνα με τα μέχρι τώρα δεδομένα, η κατανομή του βορίου στο έλασμα εξαρτάται από τη ικανότητα ή μη επανεκκίνησης του στοιχείου εντός του φυτού. Σε είδη όπου το βόριο είναι διακινήσιμο στον ηθμό, η κατανομή παρουσιάζεται ομοιόμορφη ενώ στην αντίθετη περίπτωση το στοιχείο συσσωρεύεται στις πλευρικές και ακραίες περιοχές του ελάσματος²⁵. Ωστόσο, τα παραπάνω αφορούν σε επαρκή τροφοδοσία και όχι στην κατανομή του στοιχείου σε φύλλα τα οποία παρουσιάζουν τροφопενία.

Συνήθως, στις περιπτώσεις τροφопενίας βορίου, η τροφοδοσία του στοιχείου από το εξωτερικό μέσο είναι περιορισμένη. Συνεπώς οι ποσότητες που προέρχονται από επαναδιανομή από άλλα όργανα του φυτού, αναμένεται να αντιπροσωπεύουν υψηλό ποσοστό του συνολικού βορίου ενός τροφопενιακού φύλλου^{28,29,69,251}. Είναι γνωστό πως η περίοδος της ανάπτυξης ενός φύλλου χαρακτηρίζεται από ευρείας κλίμακας τροφοδοσία με φωτοσυνθετικά προϊόντα από τα ώριμα όργανα^{347,179}. Συνεπώς η περίοδος αυτή αναμένεται να συνοδεύεται και από ανάλογη τροφοδοσία σε βόριο μέσω του ηθμού υπό τη μορφή συμπλόκου με μαννιτόλη.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η ομοιόμορφη χλώρωση των φύλλων των φυτών του πειράματος που έλαβε χώρα στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θα μπορούσε να οφείλεται σε διαφορές στο πρότυπο τροφοδοσίας του αναπτυσσόμενου ελάσματος με φωτοσυνθετικά προϊόντα. Περισσότερα πειραματικά δεδομένα απαιτούνται για την διευκρίνιση των παραπάνω διαφορών.

II. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στα

Μορφολογικά και Ανατομικά

Χαρακτηριστικά των Φύλλων

II.1. Η Έλλειψη Βορίου Επάγει την

Έκφραση Μορφολογικών και

Ανατομικών Χαρακτήρων που

Σχετίζονται με τη Σκληροφυλλία Αλλά

και Αλλοιώσεις στον Ηθμό

Η ανάσχεση της ανάπτυξης των φυτικών οργάνων αποτελεί τυπικό μακροσκοπικό σύμπτωμα της τροφопενίας βορίου και οφείλεται στην παρεμπόδιση της επιμήκυνσης των αναπτυσσόμενων κυττάρων^{147,70}. Η ανάσχεση της ανάπτυξης του ριζικού συστήματος μπορεί να παρατηρηθεί μέσα σε χρονικό διάστημα μερικών ωρών^{140,80,70}, ενώ του υπέργειου τμήματος μέσα σε μερικές ημέρες από την απομάκρυνση του βορίου από το εξωτερικό μέσο¹⁴⁷. Από τη μελέτη των παραμέτρων αύξησης των φύλλων του παρόντος πειράματος σε χρόνο 30 ημερών από την έναρξη του, φάνηκε ότι η έλλειψη βορίου στο μέσο ανάπτυξης επηρεάζει τις αυξητικές διαδικασίες των νέων οργάνων. Στο χρονικό αυτό διάστημα η βλάστηση δεν παρουσίαζε ορατές διαφορές μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων, όπως μειωμένο αριθμό εκπτυγμένων φύλλων ή συμπτώματα χλώρωσης. Ωστόσο ορισμένες παράμετροι όπως το μήκος της βλάστησης, το μήκος των μεσογονατίων διαστημάτων και η επιφάνεια των αναπτυσσόμενων φύλλων είχαν επηρεαστεί σημαντικά. Ανάλογα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί στο φυτό *Gossypium hirsutum* μετά από πέντε εβδομάδες καλλιέργειας σε μέσο ελεύθερο βορίου²⁴².

Η σχετικά καθυστερημένη απόκριση των αναπτυξιακών παραμέτρων της νέας υπέργειας βλάστησης μπορεί να αποδοθεί:

α. στη θέση των οργάνων αυτών στο φυτικό σώμα

β. στα προϋπάρχοντα σημαντικά αποθέματα

του στοιχείου στη βιομάζα κατά την έναρξη του πειράματος

γ. στη δυνατότητα επανεκκίνησης του ελλείποντος στοιχείου

Όπως αναφέρθηκε ήδη, η έλλειψη βορίου στα φύλλα των ειδών αυτών θα πρέπει να γίνεται έντονα αισθητή αμέσως μετά τη μετάβαση του φύλλου από καταναλωτή σε παραγωγό (όταν πλέον η τροφοδοσία με βόριο μέσω του ηθμού διακόπτεται). Αναμένεται επομένως υστέρηση στην απόκριση του οργάνου στην έλλειψη βορίου.

Κατά τη λήξη του πειράματος, η διαφορά στην ανάπτυξη της νέας βλάστησης μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων ήταν δραματική. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο καθώς το βόριο είχε αποκλειστεί πλήρως από το μέσο καλλιέργειας των φυτών της μεταχείρισης B- ενώ από την άλλη πλευρά τα φυτά της μεταχείρισης B+ αναπτύχθηκαν σε συνθήκες που ευνοούσαν υψηλούς ρυθμούς αύξησης. Η κατανομή της βιομάζας μεταξύ υπέργειου και υπόγειου μέρους παρουσίασε διαφοροποίηση με την τροφопενία βορίου να προκαλεί την επένδυση υψηλότερου ποσοστού βιομάζας στο υπόγειο μέρος. Προφανώς στις συνθήκες αυτές δίνεται προτεραιότητα στην ανάπτυξη του υπόγειου τμήματος το οποίο είναι υπεύθυνο για την άντληση του ελλείποντος στοιχείου. Παρόλο ότι η ρίζα αναπτύσσεται σε μέσο ελεύθερο βορίου, σχετικά μεγαλύτερα αποθέματα του στοιχείου εντοπίζονται σε αυτήν, κάτι που αντικατοπτρίζει τις θρεπτικές ανάγκες του υπόγειου μέρους. Η συμπεριφορά αυτή υποστηρίζεται από τη διαφορά συγκέντρωσης σε βόριο των ιστών της ρίζας B- (11,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β.) συγκριτικά με τα φύλλα NεB- (5,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β.). Τέλος, δεν μπορεί να αποκλειστεί η μεταφορά ποσοτήτων βορίου από το υπέργειο προς το υπόγειο μέρος του φυτού μέσω της τροφοδοσίας του με φωτοσυνθετικά προϊόντα¹⁶⁸.

Η μακροσκοπική εικόνα των νέων φύλλων διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο πειραματικών χειρισμών, με τα φύλλα NεB+ να εμφανίζονται μεγαλύτερα, σκούρου πράσινου χρώματος και με στιλπνή επιφάνεια σε αντίθεση με τα φύλλα NεB- των οποίων η επιφάνεια ήταν μικρότερη, πρασινοκίτρινου χρώματος με πράσινες νευρώσεις και δερματώδη υφή.

Οι ανατομικές διαφορές μεταξύ των νέων φύλλων

(NeB+ και NeB-) ήταν έντονες, κυρίως όσον αφορά στα χαρακτηριστικά που συνδέονται με προσαρμογές σε ξηροθερμικό περιβάλλον. Οι χαρακτήρες αυτοί εμφανίστηκαν ιδιαίτερα έντονοι στα φύλλα NeB-. Συγκεκριμένα επηρεάστηκαν το πάχος του ελάσματος, η διάταξη και το πάχος του δρυφρακτοειδούς παρεγχύματος, το πάχος της εφυμενίδας και το σχήμα του φύλλου (μειωμένος λόγος επιφάνειας προς όγκο). Στο παρόν πείραμα δεν παρουσιάστηκε διαφορά στο πάχος του επιδερμικού ιστού. Ανάλογο πρότυπο συμμετοχής των επιμέρους ιστών στην αύξηση του πάχους του ελάσματος φύλλων ελιάς έχει αναφερθεί σε συνθήκες υψηλής αλατότητας, στις οποίες το πασσαλώδες παρέγχυμα αυξήθηκε κατά 50% και το σπογγώδες κατά 38% ενώ δεν παρατηρήθηκε αύξηση των κυττάρων της επιδερμίδας¹⁵.

Δεδομένου ότι η αύξηση του πάχους του ελάσματος δεν μπορεί να αποδοθεί σε αύξηση των στρώσεων του παρεγχύματος (οι στρώσεις των κυττάρων του πασαλώδους παρεγχύματος αυξήθηκαν μόλις κατά 8% ενώ το συνολικό πάχος του ιστού κατά 48%), δεν επιβεβαιώνεται στο παρόν πείραμα η αναφερόμενη στη βιβλιογραφία (βλ. [147,70,307,123](#)) αρνητική επίδραση της τροφопενίας βορίου στην επιμήκυνση των κυττάρων. Επιπρόσθετα, στο παρόν πείραμα, ο συνδυασμός της μείωσης της επιφάνειας προβολής των φύλλων NeB- κατά 25% με την αύξηση του πάχους κατά 26% είχε ως αποτέλεσμα τη διατήρηση του όγκου του φύλλου στα ίδια περίπου επίπεδα (307 mm³ στα φύλλα NeB+ έναντι 289 mm³ στα φύλλα NeB-). Δεδομένης της δραματικής ανασχεσης της βλάστησης σε επίπεδο φυτού, η διατήρηση του όγκου των φύλλων σε σταθερά επίπεδα αποτελεί αξιοσημείωτο γεγονός. Σύμφωνα με τα παραπάνω, παρότι η τροφопενία βορίου ασκεί δραματικές επιδράσεις στην αρχιτεκτονική του φύλλου, δεν επηρεάζει αυτές καθ' αυτές τις διαστάσεις υπό την έννοια του όγκου.

Στο στρώμα του τριχώματος, η τροφопενία βορίου προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της πυκνότητας των τριχών (μετρημένη ως βάσεις τριχών ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου) κατά 26%. Το αποτέλεσμα αυτό είναι συνακόλουθο της μείωσης κατά ίδιο ποσοστό (25%) της επιφάνειας προβολής

των αντίστοιχων φύλλων, υποδηλώνοντας ότι ο αριθμός των σχηματιζόμενων τριχών ανά όργανο δεν μεταβάλλεται. Ωστόσο, η πυκνότητα του τριχώματος (μετρημένη ως νωπό βάρος τριχώματος ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου) παρέμεινε σταθερή. Η διαφορετική συμπεριφορά των δύο παραμέτρων υποδηλώνει ενδεχομένως ότι η ανάπτυξη των τριχών και όχι η οντογένεσή τους, επηρεάζεται από εξωγενή ερεθίσματα. Η σταθερότητα της πυκνότητας του τριχώματος των φύλλων της ελιάς έχει παρατηρηθεί και σε πειράματα με αυξημένες δόσεις υπερϊώδους ακτινοβολίας. Στις συνθήκες αυτές αυξήθηκε η απορροφητικότητα του τριχώματος (ως αποτέλεσμα της ύπαρξης αυξημένων επιπέδων φαινολικών συστατικών), αλλά όχι και πάλι η πυκνότητα του τριχώματος¹⁹³. Αντίθετα με την περίπτωση της ελιάς, στο φυτό *Dittrichia viscosa* η πυκνότητα, τόσο των αδενωδών όσο και των μη αδενωδών τριχών, δεν επηρεάστηκε υπό συνθήκες τροφопενίας βορίου παρόλο που η μέση μείωση της επιφάνειας προβολής του ελάσματος ήταν περίπου 78%^{300A}. Η πυκνότητα των στομάτων (μετρημένη ως στόματα ανά μονάδα επιφάνειας φύλλου) δεν επηρεάστηκε από την τροφопενία βορίου. Από τα παραπάνω συνάγεται ότι ο αριθμός των στομάτων που τελικά παρήχθησαν ανά όργανο σε συνθήκες τροφопενίας βορίου ήταν μειωμένος κατά 25% κατά μέσο όρο. Η συμπεριφορά αυτή είναι διαφορετική από αυτή που παρατηρήθηκε στο τριχώμα. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου ρυθμίζεται η διάταξη των στομάτων στα φύλλα ενδέχεται να ρυθμίζει την πυκνότητά τους μέσω της δραστηριότητας των μεριστομοειδών κυττάρων, ενώ είναι άγνωστο αν και με ποιο μηχανισμό τα στόματα αλληλεπιδρούν με άλλα επιδερμικά εξαρτήματα όπως οι τρίχες³⁵².

Ιδιαίτερη διαφοροποίηση παρουσίασε ο δείκτης της ειδικής φυλλικής μάζας (SLM), μια παράμετρος που σχετίζεται με το χαρακτηριστικό της σκληροφυλλίας^{226,275}. Η παράμετρος αυτή παραλλάσσει από είδος σε είδος ανάλογα με την αναπτυξιακή του στρατηγική²⁷⁶ ή το αναπτυξιακό στάδιο του φύλλου¹⁹² αλλά μπορεί να επηρεαστεί εντός ευρύτατων ορίων τιμών από παραμέτρους του περιβάλλοντος, όπως οι καταπονήσεις, η ένταση ακτινοβολίας και το θρεπτικό καθεστώς²²⁶. Οι

Meziane και Shipley²²⁶ αναφέρουν ότι ο δείκτης SLM αυξήθηκε κατά περίπου 25% όταν σε υδροπονική καλλιέργεια χρησιμοποιήθηκε θρεπτικό διάλυμα στο 1/16 της αραιώσης του μάρτυρα. Στο παρόν πείραμα ο δείκτης SLM αυξήθηκε κατά 97% στα φύλλα ΝεΒ- συγκριτικά με το μάρτυρα (ΝεΒ+) αλλά, αξιολογώντας, και αυτός των φύλλων ΠαΒ- κατά 49% συγκριτικά με το μάρτυρα (ΠαΒ+) παρόλο που επρόκειτο για φύλλα τα οποία κατά την έναρξη του πειράματος ήταν πλήρως εκπτυγμένα.

Ανατομικές αλλοιώσεις των φύλλων εντοπίστηκαν στα νέα φύλλα που είχαν αναπτυχθεί σε έλλειψη βορίου. Η πιο αξιολογούμενη παρατήρηση ήταν η συσσώρευση ενός άγνωστης σύστασης υλικού στην περιοχή του ηθμού της κύριας ηθμαγγειώδους δεσμίδας. Μακροσκοπικά η αλλοίωση αυτή διακρίνεται σε εγκάρσιες τομές του φύλλου στην περιοχή του ελάσματος ή του μίσχου, ως καστανή ημικυκλική γραμμή εντοπισμένη στην περιοχή της ηθμώδους μοίρας. Λόγω της παραπάνω εικόνας, η αλλοίωση αυτή έχει χαρακτηριστεί με τον όρο “λεπτονέκρωση – leptonecrosis (ιταλ)”. Οι παλαιότερες εργασίες παρόλο που αναγνώρισαν την έλλειψη βορίου ως το αίτιο της ανατομικής αυτής αλλοίωσης, δεν επεκτάθηκαν σε μελέτες της ανατομίας του ηθμού και παρέμειναν σε μακροσκοπικό επίπεδο⁵²⁻⁵⁴. Οι αναφορές στη βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση της έλλειψης βορίου στην ανάπτυξη και μέτεπειτα λειτουργικότητα των στοιχείων μεταφοράς είναι αποσπασματικές και αντικρουόμενες⁷⁰. Στον παρόν πείραμα, η μελέτη της ανατομίας της ηθμώδους μοίρας σε νωπά παρασκευάσματα αποκάλυψε πως η αλλοίωση δεν σχετίζεται με νέκρωση του ιστού αφού τα κύτταρα παραμένουν ζωντανά. Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και για τα φύλλα των φυτών του πειράματος πεδίου γεγονός που αποκλείει ενδεχόμενη φυσιολογική διαταραχή λόγω της υδροπονικής καλλιέργειας. Η χημική σύσταση του υλικού δεν διαπιστώθηκε με ασφάλεια. Ωστόσο, όπως θα συζητηθεί στη συνέχεια (βλ. **ενότητα III.2**), η μειωμένη ζήτηση για φωτοσυνθετικά προϊόντα σε συνδυασμό με την απρόσκοπτη διεξαγωγή της φωτοσυνθετικής λειτουργίας, ενδέχεται να προκαλεί συσσώρευση σακχάρων στην κεντρική ηθμαγγειώδη δεσμίδα τα οποία, λόγω αδυναμίας διακίνησης,

συσσωρεύεται υπό μορφή άμορφου υλικού στον ηθμό. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να επισημανθεί πως η κεντρική ηθμαγγειώδης δεσμίδα δεν συμμετείχε στις χημικές αναλύσεις των σακχάρων και των φαινολικών συστατικών των φύλλων.

II.2. Η Επίδραση της Έλλειψης Βορίου

στα Μορφολογικά και Ανατομικά

Χαρακτηριστικά των Φύλλων Εξαρτάται

από την Παράλληλη Δράση Άλλων

Παραγόντων Καταπόνησης

Σε αντιδιαστολή με τα φύλλα των φυτών του πειράματος στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών, οι αναπτυξιακές και μορφολογικές παράμετροι των φύλλων των φυτών του πεδίου δεν επηρεάστηκαν από το διαφορετικό περιεχόμενο σε βόριο. Μεμονωμένες διαφορές παρατηρήθηκαν στην επιφάνεια προβολής (αλλά όχι και στην παράμετρο SLM) των φύλλων Β9 συγκριτικά με τα φύλλα Β12 και Β8 (αλλά όχι μεταξύ των φύλλων Β12 και Β8), στο πάχος του πασσαλώδους (αλλά όχι στο πάχος του φύλλου) και στην πυκνότητα τριχώματος των φύλλων Β8.

Το γεγονός ότι τα φύλλα των φυτών του πεδίου δεν ανταποκρίθηκαν σε ανατομικό επίπεδο στην τροφопενία βορίου, ενδεχομένως να σχετίζεται με τη διαφορά στο πλήθος και την ένταση των περιβαλλοντικών παραγόντων καταπόνησης οι οποίοι επιδρούν στα φύλλα των φυτών αυτών συγκριτικά με τα φυτά που αναπτύχθηκαν στο τεχνητό περιβάλλον. Μεταξύ των παραγόντων αυτών είναι η έλλειψη νερού, οι ακραίες θερμοκρασίες, οι υψηλές εντάσεις ορατής ακτινοβολίας, η υπεριώδης ακτινοβολία, και οι περιορισμένες ποσότητες θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος. Ας σημειωθεί ακόμη ότι και η συγκέντρωση βορίου ήταν σε οριακά επίπεδα. Η έκφραση των χαρακτηριστικών εγκλιματισμού εξαρτάται από την ένταση των παραγόντων καταπόνησης. Σε πολλές περιπτώσεις το ίδιο χαρακτηριστικό εγκλιματισμού επάγεται από διαφορετικούς παράγοντες καταπόνησης³⁷⁹ και συνεπώς η επίδρασή του μπορεί να είναι αθροιστική. Από την άλλη πλευρά, ο μοναδικός παράγοντας καταπόνησης που επέδρασε στα φυτά του πειράματος στο θάλαμο ελεγχόμενων

συνθηκών ήταν η έλλειψη βορίου και μόνο στα φυτά της μεταχείρισης B- ενώ τα φυτά - μάρτυρες (B+) δεν δέχθηκαν την επίδραση κάποιου παράγοντα καταπόνησης.

Τα αποτελέσματα των δύο πειραμάτων συνηγορούν στο ότι η επίδραση ενός παράγοντα καταπόνησης είναι περισσότερο εντυπωσιακή αν αυτός εξασκείται σε φυτά τα οποία αναπτύσσονται κάτω από, κατά τα άλλα, ιδανικές συνθήκες από ότι

σε φυτά τα οποία λόγω μη ιδανικών συνθηκών ανάπτυξης έχουν ήδη εκφράσει σημαντικό μέρος ή το μέγιστο του δυναμικού εγκλιματισμού τους. Στην δεύτερη περίπτωση τα περιθώρια αντίδρασης των φυτών στον συγκεκριμένο παράγοντα καταπόνησης είναι περιορισμένα και συνεπώς η σύγκριση με την κατάσταση όπου απουσιάζει ο συγκεκριμένος παράγοντας καταπόνησης παρουσιάζει μικρότερες ή αμελητέες διαφορές.

III. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στη

Φωτοσυνθετική Λειτουργία και την

Παραγωγή και Διακίνηση

Υδατανθράκων

III.1. Η Έλλειψη Βορίου δεν Επηρεάζει τη

Φωτοσυνθετική Ικανότητα των Φύλλων

Στο πείραμα του Θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών η συγκέντρωση χλωροφυλλών εμφανίστηκε ως ένας ιδιαίτερα ευαίσθητος δείκτης των συνθηκών θρέψης. Τόσο στα νέα όσο και στα ώριμα φύλλα, η έλλειψη βορίου προκάλεσε μείωση της συγκέντρωσης χλωροφυλλών. Η υψηλότερη τιμή συγκέντρωσης παρατηρήθηκε στα φύλλα ΠαΒ+ ενώ η χαμηλότερη στα φύλλα ΝεΒ-. Διαφορές μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων παρατηρήθηκαν όχι μόνο κατά τη λήξη του πειράματος αλλά ακόμα και σε χρόνο 30 ημερών από την έναρξή του. Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι το περιεχόμενο σε χλωροφύλλη δεν είναι στατική αλλά δυναμική μεταβλητή η οποία παρουσιάζει διακυμάνσεις ανάλογα με τις συνθήκες θρέψης τόσο σε αναπτυσσόμενα όσο και σε ήδη ανεπτυγμένα φύλλα. Αντίθετα με την παραπάνω παράμετρο, η παράμετρος F_v / F_m δεν επηρεάστηκε από τις συνθήκες θρέψης παρά μόνο μετά την πάροδο 70 ημερών από την έναρξη του πειράματος. Οι Bongji and Loreto¹⁵ αναφέρουν ότι σε συνθήκες καταπόνησης λόγω αλατότητας, η παράμετρος F_v φύλλων ελιάς δεν εμφάνισε αξιόλογη μεταβολή παρά μόνο εάν η συγκέντρωση Cl^- στο μέσο καλλιέργειας ήταν αρκετά υψηλή.

Η φωτοσυνθετική ικανότητα των νέων φύλλων δεν επηρεάστηκε αρνητικά αλλά αντίθετα αυξήθηκε κατά 22%, παρά το γεγονός ότι το περιεχόμενο σε χλωροφύλλες μειώθηκε και η φωτοχημική απόδοση της φωτοσυνθετικής μηχανής παρουσίασε πτώση. Η αύξηση αυτή μπορεί να οφείλεται στην παράλληλη αύξηση του πάχους των φύλλων κατά 26%, του δε πασσαλώδους παρεγχύματος, του οποίου τα κύτταρα είναι κατά το μεγαλύτερο ποσοστό υπεύθυνα για την διεξαγωγή της φωτοσυνθετικής λειτουργίας, κατά

48%.

Ανάλογα αποτελέσματα ελήφθησαν από το πείραμα στο πεδίο. Η διαφορετική συγκέντρωση βορίου επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση χλωροφυλλών ενώ πολύ λιγότερο επηρεάστηκε η παράμετρος F_v / F_m . Επίσης, η έλλειψη βορίου δεν φάνηκε να επηρεάζει τη φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων. Το πάχος των φύλλων των φυτών αυτών ήταν συγκρίσιμο και συνεπώς δεν συνέβαλλε στη μεταβολή της φωτοσυνθετικής ικανότητας. Από τα παραπάνω αποτελέσματα γίνεται φανερό ότι το βόριο δεν επηρεάζει άμεσα τη φωτοσυνθετική λειτουργία των φύλλων της ελιάς. Επιδράσεις της έλλειψης βορίου στη φωτοσυνθετική λειτουργία έχουν αναφερθεί μέσω της μείωσης της συγκέντρωσης χλωροφυλλών^{304,167} και της πτώσης της φωτοχημικής απόδοσης^{109,84} πιθανόν λόγω αλλοιώσεων των μεμβρανών των θυλακοειδών των χλωροπλαστών⁸⁴. Έμμεσες επίσης επιδράσεις της έλλειψης βορίου στη φωτοσυνθετική λειτουργία μπορεί να οφείλονται στην αυξημένη ευαισθησία στη φωτοοξειδωση³⁹, στην ενίσχυση του οξειδωτικού μεταβολισμού των φαινολικών και τη συνακόλουθη ευαισθησία των μεμβρανών στις οξειδωτικές βλάβες, ιδιαίτερα υπό συνθήκες υψηλών εντάσεων ακτινοβολίας^{39,109,99,287,84}. Οι Oosterhuis and Zhao αναφέρουν ότι η φωτοσυνθετική απόδοση φύλλων του φυτού *Gossypium hirsutum* μειώθηκε σημαντικά μετά από πέντε εβδομάδες καλλιέργειας σε μέσο ελεύθερο βορίου, γεγονός που αποδόθηκε στην αυξημένη αντίσταση των στομάτων ή / και σε δυσλειτουργίες των μεμβρανών²⁴². Ας σημειωθεί ότι η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση της φωτοσυνθετικής ικανότητας στην παρούσα μελέτη παρέκαμπε την παράμετρο της αντίστασης στομάτων. Στο φυτό *Helianthus annuus* η φωτοσυνθετική ικανότητα απομονωμένων χλωροπλαστών μειώθηκε υπό συνθήκες τροφopenίας βορίου, επίδραση που αποδόθηκε στην αποδιοργάνωση των μεμβρανών των θυλακοειδών λόγω παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου⁸⁴. Στο ίδιο φυτό, η τροφopenία βορίου είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας των φύλλων¹⁶⁷. Τα παραπάνω αντικρουόμενα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι ενδεχομένως η

επίδραση του βορίου στη φωτοσυνθετική λειτουργία είναι έμμεση και συνεπώς καθορίζεται από ένα μεγάλο εύρος φυσιολογικών παραμέτρων οι οποίες αλληλεπιδρούν με διαφορετικό τρόπο για κάθε φυτικό είδος.

Μια έμμεση επίδραση της τροφοπενίας βορίου στη φωτοσυνθετική λειτουργία μπορεί να αποτελεί η παρεμπόδιση της επιμήκυνσης των κυττάρων η οποία έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή πυκνής νέας βλάστησης με μεγαλύτερο βαθμό αλληλοκάλυψης μεταξύ των φύλλων. Η επίδραση αυτή ήταν ιδιαίτερα εμφανής στα φυτά του πειράματος πεδίου. Μια τέτοια κατάσταση μπορεί να περιορίζει έμμεσα την απόδοση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας μειώνοντας το ποσοστό του ελάσματος των φύλλων το οποίο είναι εκτεθειμένο στο φως ή την ταχύτητα διάχυσης του CO₂ από την ατμόσφαιρα στο εσωτερικό του φύλλου.

III.2. Η Έλλειψη Βορίου Προκαλεί

Συσσώρευση Υδατανθράκων στα Φύλλα

Ως άμεση συνέπεια της διατήρησης της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας σε κανονικά επίπεδα στα φύλλα των φυτών και των δύο πειραμάτων, η δεξαμενή των διαλυτών σακχάρων των φύλλων δεν επηρεάστηκε αρνητικά. Οι Matoh et al.²¹⁹ αναφέρουν ότι η τροφοπενία βορίου δεν επηρεάζει την παραγωγή υδατανθράκων που προορίζονται ως δομικά συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων. Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε συσσώρευση υδατανθράκων σε συνθήκες τροφοπενίας βορίου και στα δύο πειράματα, μόνο όταν η συγκέντρωση εκφράστηκε ανά μονάδα βάρους του περιεχομένου νερού του ιστού. Θα πρέπει επίσης να επισημανθεί ότι ένα σημαντικό ποσοστό των παραχθέντων σακχάρων θα πρέπει να ενσωματώθηκε σε δομές (π.χ. κυτταρικά τοιχώματα) οι οποίες ενισχύθηκαν στις συνθήκες τροφοπενίας, γεγονός που υποδηλώνεται από τη δραματική αύξηση του δείκτη SLM. Οι περισσότερες μελέτες σχετικές με την επίδραση της τροφοπενίας βορίου στην παραγωγή υδατανθράκων αναφέρουν συσσώρευση των τελευταίων στα φύλλα – παραγωγούς, ως αποτέλεσμα της μειωμένης ζήτησης φωτοσυνθετικών προϊόντων από τα σημεία

μεταβολικής κατανάλωσης, λόγω καταστολής της ανάπτυξης^{99,80}. Το φαινόμενο αυτό έχει παρατηρηθεί στα φυτά *Nicotiana tabacum*⁴⁰, *Helianthus annuus*¹⁶⁷ ενώ στο φυτό *Gossypium hirsutum* παρατηρήθηκε αύξηση στη συγκέντρωση αμύλου αλλά όχι σε αυτή των διαλυτών σακχάρων²⁴².

III.3. Υπό Συνθήκες Τροφοπενίας Βορίου Δεν Επηρεάζεται η Ικανότητα Διακίνησης των Υδατανθράκων

Από τα δεδομένα του πειράματος πεδίου φαίνεται ότι η τροφοπενία βορίου δεν επηρέασε την ικανότητα εξαγωγής φωτοσυνθετικών προϊόντων από τα ώριμα φύλλα.

Κατά πρώτον, η δυνατότητα διανομής άνθρακα από τα φύλλα – παραγωγούς εξαρτάται από τη συγκέντρωση των διακινήσιμων σακχάρων στο μεσόφυλλο¹⁷⁸ και συνακόλουθα από τη φωτοσυνθετική λειτουργία²⁶⁷. Στην παρούσα μελέτη, τόσο η φωτοσυνθετική λειτουργία, όσο και η δεξαμενή των σακχάρων των φύλλων δεν επηρεάστηκαν δυσμενώς από την έλλειψη βορίου.

Κατά δεύτερον, η εξαγωγή του άνθρακα από τα φύλλα – παραγωγούς απαιτεί τη φόρτωση των σακχάρων στα αγγεία του ηθμού ώστε να συμπαρασυρθούν από το κατιόν ρεύμα. Σε φυσιολογικό επίπεδο, η παραπάνω διαδικασία αφορά στη μετακίνηση των σακχάρων στο σύμπλεγμα συνοδού κυττάρου – ηθμώδους στοιχείου (ΣΚ–ΗΣ)^{351,348} αφού τα κύτταρα αυτά εμφανίζουν συνήθως πολύ μεγαλύτερες τιμές συγκέντρωσης των σακχάρων συγκριτικά με τα γειτονικά κύτταρα του μεσοφύλλου¹⁰⁵. Η ολοκλήρωση της παραπάνω διαδικασίας επηρεάζεται από ένα πλήθος παραγόντων, ανάλογα με τη στρατηγική που ακολουθεί κάθε φυτικό είδος³⁵¹. Στην ελιά, σύμφωνα με όλες τις ενδείξεις^{98,204,351,101}, η φόρτωση του ηθμού πραγματοποιείται συμπλαστικά από τα κύτταρα του μεσοφύλλου έως και το σύμπλεγμα ΣΚ–ΗΣ. Είναι σχεδόν βέβαιο δε, ότι το τελικό βήμα της μετακίνησης των σακχάρων από τα κύτταρα του δεσμικού κολεού προς το σύμπλεγμα ΣΚ–ΗΣ πραγματοποιείται συμπλαστικά μέσω πολυ-άριθμων πλασμοδεσμών. Στην ελιά τα συνοδά κύτ-

ταρα είναι εξειδικευμένα ως προς τη συμπλαστική φόρτωση και ονομάζονται ενδιάμεσα κύτταρα.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η λεπτή δομή των στοιχείων μεταφοράς και συγκεκριμένα της διασύνδεσης μεταξύ των κυττάρων του δεσμικού κολεού και των ενδιάμεσων κυττάρων διαμορφώνει σε σημαντικό βαθμό και την ικανότητα φόρτωσης του ηθμού^{350,131}. Στο παρόν πείραμα, η τροφοπενία βορίου δεν είχε καμία ορατή επίπτωση στην παραπάνω δομή, τόσο μορφολογική όσο και ποσοτική αφού η συχνότητα των πλασμοδεσμών παρουσιάστηκε συγκρίσιμη μεταξύ των μεταχειρίσεων B+ και B-, εξετάζοντας νεαρά φύλλα (πείραμα θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών).

Επιπρόσθετα, μετά από εξέταση της σύστασης του χυμού του ηθμού των φύλλων των φυτών του πειράματος πεδίου, δεν διαπιστώθηκε μείωση της συγκέντρωσης των διακινούμενων σακχάρων. Τα επίπεδα των διαλυτών σακχάρων και των φαινολικών συστατικών ήταν συγκρίσιμα μεταξύ των φύλλων B12 και B8 γεγονός που υποδηλώνει τη διάθεση του οργανικού άνθρακα προς άλλα μέρη του φυτού. Κατά τη φθινοπωρινή περίοδο έχει παρατηρηθεί αύξηση των αποθεμάτων υδατανθράκων στο φλοιώμα των

βλαστών της ελιάς⁷⁹. Η αύξηση αυτή ενδέχεται να είναι αποτέλεσμα διακίνησης φωτοσυνθετικών προϊόντων από τα φύλλα κατά την ίδια περίοδο η οποία ήταν και η περίοδος δειγματοληψίας του πειράματος πεδίου.

Από την άλλη πλευρά, στα φύλλα του πειράματος στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών παρατηρήθηκε συσσώρευση σακχάρων η οποία ενδέχεται να σχετίζεται με τη μειωμένη ζήτηση οργανικού άνθρακα από τα σημεία κατανάλωσης, δεδομένου ότι στα φυτά αυτά η τροφοπενία βορίου προκάλεσε πλήρη καταστολή της αύξησης. Η παρατήρηση αυτή σε συνδυασμό με τη διάθεση σκελετών άνθρακα προς τη μεταβολική οδό σύνθεσης φαινολικών συστατικών συνηγορούν υπέρ της μειωμένης εξόδου σακχάρων από τα φύλλα – παραγωγούς. Ωστόσο, η τροφοπενία βορίου δεν φαίνεται να επηρεάζει, τουλάχιστον άμεσα, τη δυνατότητα διακίνησης σακχάρων εντός του φυτικού σώματος. Η διανομή σακχάρων φαίνεται να εξαρτάται, πολύ περισσότερο, από την ένταση της ζήτησης του οργανικού άνθρακα για τις διαδικασίες αύξησης. Με αυτή τη θεώρηση, η τροφοπενία βορίου επηρεάζει το βαθμό εξαγωγής σακχάρων αλλά όχι αυτό καθ' αυτό το μηχανισμό διακίνησης.

IV. Επίδραση της Έλλειψης Βορίου στη Σύσταση των Φαινολικών Συστατικών των Φύλλων

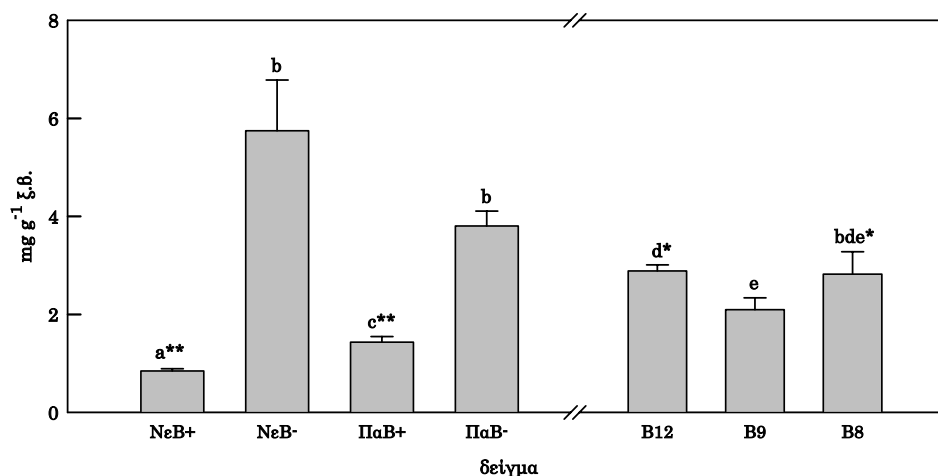
IV.1. Η Συσσώρευση Φαινολικών Συστατικών Αποτελεί Εναλλακτική Οδό Διοχέτευσης των Σκελετών Άνθρακα σε Συμφωνία με την Υπόθεση Ισορροπίας Άνθρακα – Θρεπτικών Στοιχείων

Η μελέτη των αρωματικών δευτερογενών μεταβολιτών είναι το θέμα ενός μεγάλου αριθμού επιστημονικών εργασιών σε ετήσια βάση. Οι λόγοι για το παραπάνω ενδιαφέρον είναι πολλοί, από τη σημασία των ουσιών αυτών στη διατροφή του ανθρώπου έως τους οικοφυσιολογικούς ρόλους τους οποίους επιτελούν οι μεταβολίτες αυτοί.

Η έλλειψη βορίου, ελλείπει άλλων παραγόντων καταπόνησης, προκάλεσε συσσώρευση δευτερογενών μεταβολιτών στα φύλλα. Το φαινόμενο αυτό ήταν, κατά τα αναμενόμενα, εντονότερο στα φύλλων των φυτών από το πείραμα στο θάλαμο ελεγχόμενων

συνθηκών (Εικόνα IV.1), ενώ στα φύλλα των φυτών από το πείραμα του πεδίου δεν παρατηρήθηκε ανάλογη αύξηση στα ολικά φαινολικά (Εικόνα IV.1). Εν τούτοις, σημειώθηκε αύξηση της συγκέντρωσης σε μεμονωμένα φαινολικά συστατικά στα φύλλα των φυτών και των δύο πειραμάτων. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών παρουσίασε υψηλή συσχέτιση ως προς το περιεχόμενο σε βόριο των φύλλων, ανεξάρτητα πειραματικού χειρισμού (Εικόνα IV.3). Από την εικόνα αυτή εξαγεται επίσης το συμπέρασμα ότι οι διαφορές στη συγκέντρωση βορίου μεταξύ των φύλλων του πειράματος πεδίου ήταν περιορισμένες, γεγονός που δικαιολογεί την απουσία έντονων διαφορών στη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών στα φύλλα αυτά.

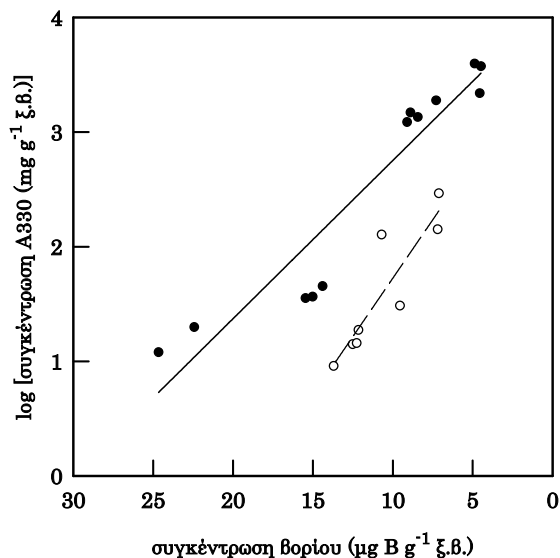
Σύμφωνα με τους Ruiz et al.²⁹⁰, η έλλειψη βορίου στο φυτό *Nicotiana tabacum* προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών συστατικών αλλά και αύξηση της δραστηριότητας της PAL. Η συσσώρευση σε μεγάλες ποσότητες επιμέρους μοριών, συχνά με ασυνήθιστες δομές, επίσης έχει αναφερθεί σε περιπτώσεις τροφοπενιών. Οι Wenzl et al.³⁶² διαπίστωσαν την συσσώρευση ενός νέου δι-εστέρα του υδροξυσιναμουλο-κιννικού οξέος (1,3-δι-O-*trans*-φερουλοϋλοκιννικό οξύ) στις ρίζες των



Εικόνα IV.1. Συγκέντρωση φαινολικών συστατικών (συνολική επιφάνεια κορυφών έκλουσης στα 280 nm, ως ισοδύναμο καφεϊκού οξέος) των φύλλων των φυτών των δύο πειραμάτων. Οι τιμές αφορούν στη συνολική επιφάνεια κορυφών έκλουσης στα 280 nm ως ισοδύναμο καφεϊκού οξέος. Οι ράβδοι αντιστοιχούν στο μέσο όρο (\pm τυπικό σφάλμα). Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι μέσοι όροι που διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους

Συζήτηση

(** / *: $P < 0,05 / 0,01$; d.f. 16, πείραμα θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών; 12, πείραμα πεδίου).



Εικόνα IV.2. Συγκέντρωση, ως ισοδύναμο καφεϊκού οξέος, του φαινολικού συστατικού A330 των φύλλων συναρτήσει της συγκέντρωσης βορίου. (—●: φύλλα φυτών πειράματος θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών, ευθεία παλινδρόμησης $y = -0,138 \cdot x + 4,132$, R^2 0,899; -○: φύλλα φυτών πειράματος πεδίου, ευθεία παλινδρόμησης $y = -0,204 \cdot x + 3,763$, R^2 0,802).

φυτών *Brachiaria ruziziensis* και *B. decumbens*, η σύνθεση του οποίου επάγεται σε ολιγοτροφικές συνθήκες καλλιέργειας.

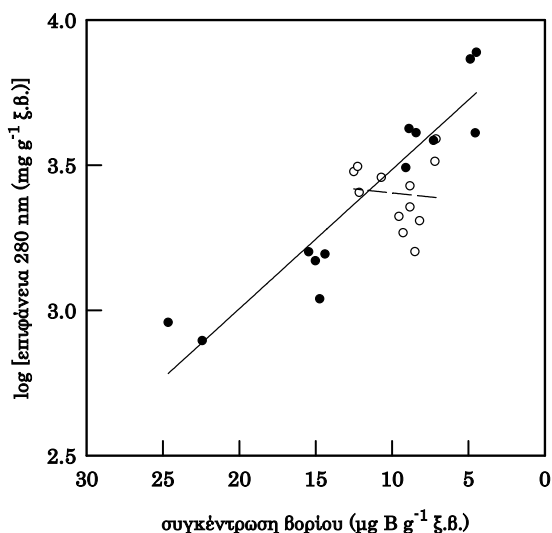
Στα δύο πειράματα της παρούσας εργασίας παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση ενός φαινολικού συστατικού με μέγιστο απορρόφησης στα 330 nm (κορυφή έκλυσης αρ. 3, **Αποτελέσματα, εικόνες V.1 και V.7**) παρουσίασε δραματική αύξηση, ως αποτέλεσμα της έλλειψης βορίου στους ιστούς των φύλλων. Παρόλο που στην παρούσα εργασία δεν κατέστη δυνατόν να ταυτοποιηθεί, τα φασματικά δεδομένα υποδεικνύουν δομή φαινυλοπροπανοειδούς για το μόριο αυτό. Στην **Εικόνα IV.2** παρουσιάζεται η συγκέντρωση του μορίου αυτού σε σχέση με τη συγκέντρωση βορίου των δειγμάτων και από τα δύο πειράματα. Τα δείγματα αφορούν σε όλες τις μεμονωμένες μετρήσεις για κάθε χειρισμό. Η απόκριση της συγκέντρωσης του συστατικού A330 στην έλλειψη βορίου ήταν άμεση, ακόμα και για μικρές διαφορές στη συγκέντρωση του στοιχείου εντός δειγμάτων του ίδιου πειραματικού χειρισμού (στην **Εικόνα IV.2** δεν διακρίνονται οι ομάδες

δειγμάτων του ίδιου πειραματικού χειρισμού).

Η αύξηση της συγκέντρωσης του συστατικού A330 λόγω έλλειψης βορίου ενδέχεται να αφορά εξειδικευμένη απόκριση ως προς τη συγκεκριμένη καταπόνηση. Η τροφοπενία βορίου προκάλεσε συσσώρευση φαινολικών συστατικών στα φύλλα των φυτών του εσωτερικού πειράματος (μετρημένη ως συνολική επιφάνεια κορυφών έκλυσης στα 280 nm, **Εικόνα IV.3**) αλλά όχι στα φύλλα των φυτών του πειράματος πεδίου (**Εικόνα IV.3**). Ωστόσο και στις δύο περιπτώσεις παρατηρήθηκε δραματική αύξηση της συγκέντρωσης του συστατικού αυτού. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι η συσσώρευση του συστατικού A330, τουλάχιστον στη δεύτερη περίπτωση, δεν προκύπτει παθητικά μέσω μιας γενικότερης ενίσχυσης της βιοσύνθεσης φαινολικών συστατικών. Στα φυτά του πειράματος πεδίου (B12 και B8) η επίδραση των διαφόρων εδαφοκλιματικών παραγόντων καταπόνησης ήταν ομοιόμορφη με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν συγκρίσιμες τιμές συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών (**Εικόνα IV.1**). Παρόλα αυτά, η συγκέντρωση του συστατικού A330 αυξήθηκε και στα φυτά αυτά λόγω της έλλειψης βορίου (**Εικόνα IV.2**). Ας σημειωθεί στο σημείο αυτό ότι οι διαφορές στη συγκέντρωση βορίου μεταξύ των φύλλων B12 και B9 δεν ήταν έντονες, ωστόσο οι διαφορές σε ορισμένα τουλάχιστον συμπτώματα δραματικές. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει αφ' ενός μεν την ύπαρξη μιας οριακής συγκέντρωσης βορίου, πέραν της οποίας δρομολογούνται δραματικές αλλαγές σε φυσιολογικό και ανατομικό επίπεδο οι οποίες περιλαμβάνουν και την δραματική αύξηση στην ουσία A330.

Ορισμένα φαινολικά συστατικά έδειξαν να επηρεάζονται με διαφορετικό τρόπο από την έλλειψη βορίου. Έτσι, ενώ στις περισσότερες περιπτώσεις παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των επιμέρους συστατικών, στην περίπτωση του 3-O-γλυκοζίτη της κερκετίνης αλλά και του 4'-O-γλυκοζίτη της λουτεολίνης δεν παρουσιάστηκε μεταβολή ενώ στην περίπτωση της απιγενίνης η έλλειψη βορίου προκάλεσε μείωση της συγκέντρωσης. Η ίδια συμπεριφορά παρατηρήθηκε και στην περίπτωση της κερκετίνης, συστατικού του τριχώματος του τριχώματος (επίσης άγλυκου φλαβονοειδούς). Αξιοσημείωτη είναι επίσης η δραματική μείωση της

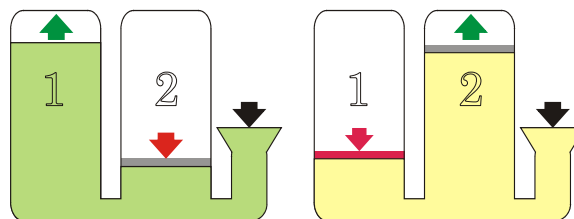
συγκέντρωσης της ολεοροπαΐνης λόγω έλλειψης βορίου. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι παρά την ευρέως τεκμηριωμένη αντίδραση του μεταβολισμού των φαινολικών συστατικών λόγω έλλειψης βορίου, οι επιμέρους χημικές δομές συμπεριφέρονται διαφορετικά, κάτι που ενδεχομένως να σχετίζεται με τους επιμέρους ρόλους των συστατικών ή και την κατανομή τους στους διάφορους ιστούς των φύλλων. Ένας επιπλέον λόγος των παραπάνω διαφοροποιήσεων θα μπορούσε να είναι ο διαφορετικός χρόνος σύνθεσης των επιμέρους μορίων αναφορικά με το στάδιο ανάπτυξης των φύλλων. Οι Muofhe and Dakora²³⁰ αναφέρουν ότι υπό συνθήκες έλλειψης βορίου, η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών στους ιστούς της ρίζας του φυτού *Vigna subterranea* εμφανίστηκε χαμηλότερη συ-



Εικόνα IV.3. Συνολική επιφάνεια κορυφών έκλουσης στα 280 nm ως ισοδύναμο καφεϊκού οξέος συναρτήσει της συγκέντρωσης βορίου. (—●: φύλλα φυτών πειράματος θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών, ευθεία παλινδρόμησης $y = -0,048 \cdot x + 3,964$, R^2 0,882; —○: φύλλα φυτών πειράματος πεδίου, ευθεία παλινδρόμησης $y = 0,006 \cdot x + 3,349$, R^2 0,009).

γκριτικά με αυτή υπό συνθήκες επάρκειας του στοιχείου, αποτέλεσμα που απέδωσαν στη σημαντική πτώση της συγκέντρωσης του φλαβονοειδούς δαντζεΐνη.

Σε γενικές γραμμές, η συσσώρευση δευτερογενών



Εικόνα V.4. Σχηματικό μοντέλο της ρύθμισης της κατανομής οργανικού άνθρακα μεταξύ πρωτογενούς (1) και δευτερογενούς (2) μεταβολισμού υπό συνθήκες απουσίας (■) και παρουσίας (■) καταπόνησης. Στην πρώτη περίπτωση, ο πρωτογενής μεταβολισμός (ανάπτυξη) έχει εκ προοιμίου προτεραιότητα έναντι του δευτερογενούς. Η παρουσία ενός ή περισσότερων παραγόντων καταπόνησης (μεταξύ αυτών και η έλλειψη θρεπτικών στοιχείων) προκαλεί αύξηση στην κατανομή του άνθρακα προς μόρια του δευτερογενούς μεταβολισμού εις βάρος της ανάπτυξης. Τα ποσά του οργανικού άνθρακα που διατίθενται καθορίζονται από την γενετικά καθορισμένη ικανότητα για ανάπτυξη και συσσώρευση μεταβολιτών (χωρητικότητα των δοχείων) σε συνάρτηση με τη λειτουργία της φωτοσύνθεσης (μαύρα βέλη).

μεταβολιτών υπό συνθήκες έλλειψης ενός θρεπτικού στοιχείου έχει βιοσυνθετική αιτιολογία. Σύμφωνα με τους Haukioja et al.¹³⁴, η βιοσύνθεση των δευτερογενών αρωματικών μεταβολιτών ανταγωνίζεται την βιοσύνθεση πρωτεϊνών (συνεπώς και τις αναπτυξιακές διαδικασίες), για ένα κοινό πρόδρομο μόριο, τη φαινυλαλανίνη. Επομένως, οι συνθήκες του περιβάλλοντος ασκούν ρυθμιστικό ρόλο για την τύχη των φωτοσυνθετικά παραγόμενων σκελετών άνθρακα. Υπό συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων (ή άλλων καταπονήσεων που περιορίζουν την ανάπτυξη) αλλά με λειτουργική τη φωτοσύνθεση, τα φυτά διαθέτουν περίσσεια οργανικού άνθρακα ο οποίος διατίθεται για τη βιοσύνθεση αρωματικών δευτερογενών μεταβολιτών (Εικόνα V.4). Με τον τρόπο αυτό, δεν αντιμετωπίζεται μόνο το πρόβλημα της διάθεσης του παραγόμενου άνθρακα αλλά και θωρακίζονται αμυντικά οι φυτικοί ιστοί^{34,35,85}. Ας σημειωθεί ότι η άποψη αυτή δίδει μέχρι στιγμής ικανοποιητική ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ωστόσο δεν αποκλείεται στο άμεσο μέλλον να διατυπωθεί μηχανισμός ο οποίος εμπλέκει, ορισμένα τουλάχιστον συστατικά, με την αντιμετώπιση της έλλειψης βορίου⁷⁵.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1 **Adams WWIII, Demming-Adams B, Winter K and Schreiber U.** 1990. The ratio of variable to maximum chlorophyll fluorescence from photosystem II, measured in leaves at ambient temperature and at 77°K, as an indicator of the photon yield of photosynthesis. *Planta*, **180**: 166–174
- 2 **Aerts R and Chapin III FS.** 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: A Re-evaluation of processes and patterns. *In: Advances in Ecological Research*, Vol 30, San Diego: Academic Press
- 3 **Anaya AL.** 1999. Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. *Critical Reviews in Plant Science*, **18**: 697–739
- 4 **Baldioli M, Servili M, Perretti G and Montedoro GF.** 1996. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, **73**: 1589–1593
- 5 **Banuelos GS, Cardon G, Pflaum T and Akohoue S.** 1992. Comparison of dry ashing and wet acid digestion on the determination of boron in plant tissue. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **23**: 2383–2397
- 6 **Barkla BJ and Pantoja O.** 1996. Physiology of ion transport across the tonoplast of higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **47**: 159–184
- 7 **Barr R and Crane FL.** 1991. Boron stimulates NADH oxidase activity of cultured carrot cells. *In: Current topics in Plant Biochemistry and Physiology*, Vol. 10, DD Randall, DG Blevins and CD Miles (eds), Columbia: Univ. Mo. Press
- 8 **Bellaloui N, Brown PH and Dandekar AM.** 1999. Manipulation of in vivo sorbitol production alters boron uptake and transport in tobacco. *Plant Physiology*, **119**: 735–741
- 9 **Biolley J-P, Kanoun M and Goulas P.** 2002. The response of vacuolar phenolic content of common bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Bergamo) to a chronic ozone exposure: questions and hypotheses. *Functional Plant Biology*, **29**: 1–11
- 10 **Blaser-Grill J, Knoppik D, Amberger A and Goldbach H.** 1989. Influence of boron on the membrane potential in *Elodea densa* and *Helianthus annuus* roots and H⁺ extrusion of suspension cultured *Daucus carota* cells. *Plant Physiology*, **90**: 280–284
- 11 **Blevins DG and Lukaszewski KM.** 1994. Proposed physiological functions in plants pertinent to animal and human metabolism. *Environmental Health Perspectives*, **102**(s7): 31–33
- 12 **Blevins DG and Lukaszewski KM.** 1998. Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **49**: 481–500
- 13 **Bolaños L, Brewin NJ and Bonilla I.** 1996. Effects of boron on Rhizobium – Legume cell – surface interactions and nodule development. *Plant Physiology*, **110**: 1249–1256
- 14 **Bolaños L, Estaben E, De Lorenzo C, Fernandez-Pascual M, De Felipe MR, Garate A and Bonilla I.** 1994. Essentiality of boron for symbiotic dinitrogen fixation in pea (*Pisum sativum*) rhizobium nodules. *Plant Physiology*, **104**: 85–90
- 15 **Bongi G and Loreto F.** 1989. Gas – exchange properties of salt – stressed olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Plant Physiology*, **90**: 1408–1416
- 16 **Bonilla I, Mergold-Villaseñor C, Campos ME, Sánchez N, Pérez H, López I, Castrejón L, Sánchez F, Cassab GI.** 1997. The aberrant cell walls of boron deficient bean root nodules have no covalently bound hydroxyproline/proline rich proteins. *Plant Physiology*, **115**: 1329–1340
- 17 **Bonilla I, Perez H, Cassab G, Lara M and Sanchez F.** 1997. The effect of boron deficiency on development in determinate nodules: Changes in cell wall pectin contents and nodule polypeptide expression. *In: Boron in Soils and Plants*, RW Bell and B Rerkasem (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 18 **Bostock RM, Karban R, Thaler JS, Weyman PD and Gilchrist D.** 2001. Signal interactions in induced resistance to pathogens and insect herbivores. *European Journal of Plant Pathology*, **107**: 103–111
- 19 **Botía JM, Ortuño A, Benavente-García O, Báidez AG, Frías J, Marcos D and Del Río JA.** 2001. Modulation of the biosynthesis of some phenolic compounds in *Olea europaea* L. fruits: Their influence on olive oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 355–358

- 20 Bouranis DL, Kitsaki CK, Chorianopoulou SN, Aivalakis G and Drossopoulos JB. 1999. Nutritional dynamics of olive tree flowers. *Journal of Plant Nutrition*, **22**: 245–257
- 21 Bouranis DL, Zakynthinos G, Kapetanios Ch, Chorianopoulou SN, Kitsaki C and Drossopoulos JB. 2001. Dynamics of nitrogen and phosphorus partition in four olive tree cultivars during bud differentiation. *Journal of Plant Nutrition*, **24**: 1535–1550
- 22 Braun J and Tevini M. 1993. Regulation of UV – protective pigment synthesis in the epidermal layer of rye seedlings (*Secale cereale* L. cv. Kustro). *Photochemistry and Photobiology*, **57**(2): 318–323
- 23 Brenes M, Garcia A, Garcia P, Rios JJ and Garrido A. 1999. Phenolic compounds in Spanish olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 3535–3540
- 24 Brooks CJW and Watson DG. 1985. Phytoalexins. *Natural Product Reports*, **2**: 427–459
- 25 Brown P H, Bellaloui N, Wimmer MA, Bassil ES, Ruiz J, Hu H, Pfeffer H, Dannel F and Römheld, V. 2002. Boron in plant biology. *Plant Biology*, **4**: 205–223
- 26 Brown PH and Hu H. 1996. Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol – rich species. *Annals of Botany*, **77**: 497–505
- 27 Brown PH and Hu H. 1997. Does boron play only a structural role in the growing tissues of higher plants? *Plant and Soil*, **196**: 211–215
- 28 Brown PH and Shelp BJ. 1997. Boron mobility in plants. *Plant and Soil*, **193**: 85–101
- 29 Brown PH, Bellaloui N, Hu H and Dandekar A. 1999. Transgenically enhances sorbitol synthesis facilitates phloem boron transport and increases tolerance of tobacco to boron deficiency. *Plant Physiology*, **119**: 17–20
- 30 Brown PH, Graham RD and Nicholas DJD. 1984. The effects of manganese and nitrate supply on the levels of phenolics and lignin in young wheat plants. *Plant and Soil*, **81**: 437–440
- 31 Brown PH, Hu H and Roberts WG. 1999. Occurrence of sugar alcohols determines boron toxicity symptoms of ornamental species. *Journal of the Americal Society for Horticultural Science*, **124**: 347–352
- 32 Brown PH, Picchioni G, Jenkin M and Hu H. 1992. Use of ICP–MS and ¹⁰B to trace the movement of boron in plants and soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **23**: 2781–2807
- 33 Bryant JP, Chapin III FS and Klein RD. 1983. Carbon / nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *OIKOS*, **40**: 357–368
- 34 Bryant JP, Chapin III FS, Reichardt P and Clausen T. 1987. Responses of winter chemical defense in Alaska paper birch and green alder to manipulation of plant carbon:nutrient balance. *Oecologia*, **72**: 510–514
- 35 Bryant JP, Clausen TP, Reichardt PB, McCarthy MC and Werner RA. 1987. Effects of nitrogen fertilization upon the secondary chemistry and nutritional value of quaking aspen (*Populus tremuloides* Michx.) leaves for the large aspen tortrix (*Choristoneura conflictana* (Walker)). *Oecologia*, **73**: 513–517
- 36 Buchanan BB, Gruissem W and Jones RL. 2000. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Rockville: American Society of Plant Physiologists
- 37 Cakmak I and Römheld V. 1997. Boron deficiency – induced impairments of cellular functions in plants. *Plant and Soil*, **193**: 71–83
- 38 Cakmak I, Hengeler C and Marschner H. 1994. Changes in phloem export of sucrose in leaves in response to phosphorus, potassium and magnesium deficiency in bean plants. *Journal of Experimental Botany*, **45**: 1251–1257
- 39 Cakmak I, Kurz H and Marschner H. 1995. Short – term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. *Physiologia Plantarum*, **95**: 11–18
- 40 Camacho–Cristobal JJ and Gonzalez–Fontes A. 1999. Boron deficiency causes a drastic decrease in nitrate content and nitrate reductase activity, and increases the content of carbohydrates in leaves from tobacco plants. *Planta*, **209**: 528–536
- 41 Canny MJ. 1995. Apoplastic water and solute movement: New rules for an old space. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **46**: 215–236
- 42 Carpena RO, Esteban E, Jose Sarro M, Penalosa J, Garate A, Lucena JJ and Zornoza P. 2000. Boron and calcium distribution in nitrogen – fixing pea plants. *Plant Science*, **151**: 163–170

- 43 **Caruso D, Colombo R, Patelli R, Giavarini F and Galli G.** 2000. Rapid evaluation of phenolic component profile and analysis of oleuropein aglycon in olive oil by atmospheric pressure chemical ionization – mass spectrometry (APCI–MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**: 1182–1185
- 44 **Cataldi TRI, Margiotta G, Iasi L, Di Chio B, Xilogiannis C and Bufo SA.** 2000. Determination of sugar compounds in olive plant extracts by anion – exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Analytical Chemistry*, **72**: 3902–3907
- 45 **Ceccherelli P, Curini M, Marcotullio MC and Menghini A.** 1985. Sesquiterpene acids from *Ditrichia viscosa*. *Phytochemistry*, **24**: 2987–2989
- 46 **Chapin III FS.** 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**: 233–260
- 47 **Chapin III FS.** 1991. Effects of multiple environmental stresses on nutrient availability and use. *In: Responses of Plants to Multiple Stresses*, HA Mooney, WE Winner and EJ Pell (eds). San Diego: Academic Press
- 48 **Chaves N and Escudero JC.** 1999. Variation of flavonoid synthesis induced by ecological factors. *In: Principles and Practices in Plant Ecology: Allelochemical Interactions*. Inderjit, KMM Dakshini and CL Foy (eds), Boca Raton: CRC Press
- 49 **Chishaki N and Horiguchi T.** 1997. Responses of secondary metabolism to nutrient deficiency. *Soil Science and Plant Nutrition*, **43**: 987–991
- 50 **Chou C–H.** 1999. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. *Critical Reviews in Plant Science*, **18**: 609–636
- 51 **Chrispeels MJ and Sadava DE.** 1994. Plants, genes and agriculture. Boston: Jones and Bartlett Publishers
- 52 **Ciferri R, Rui D, Scaramuzzi G, Candussio R and Bonfante S.** 1955. La leptonecrosi da borocarenza dell'olivo. Parte I. *Annali della Sperimentazione di Agraria*, **9**: 1309–1342
- 53 **Ciferri R, Rui D, Scaramuzzi G, Candussio R and Bonfante S.** 1955. La leptonecrosi da borocarenza dell'olivo. Parte II. *Annali della Sperimentazione di Agraria*, **10**: 25–59
- 54 **Ciferri R, Rui D, Scaramuzzi G, Candussio R and Bonfante S.** 1956. La leptonecrosi da borocarenza dell'olivo. Parte III. *Annali della Sperimentazione di Agraria*, **10**: 335–356
- 55 **Close DC, Davies NW and Beadle C.** 2001. Temporal variation of tannins (galloylglucoses), flavonols and anthocyanins in leaves of *Eucalyptus nitens* seedlings: implications for light attenuation and antioxidant activities. *Australian Journal of Plant Physiology*, **28**: 269–278
- 56 **Crandall PC, Chamberlain JD and Garth JKL.** 1981. Toxicity symptoms and tissue levels associated with excess boron in pear. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **12**: 1047–1057
- 57 **Cseh E and Fodor F.** 1997. Role of boron in othe plasmalemma turbo reductase activity. *In: Boron in Soils and Plants*, RW Bell and B Rerkasem (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 58 **Dannel F, Pfeffer H and Römheld V.** 1997. Effect of pH and boron concentration in the nutrient solution on translocation of boron in the xylem of sunflower *In: Boron in Soils and Plants*, RW Bell and B Rerkasem (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 59 **Dannel F, Pfeffer H and Römheld V.** 1998. Compartmentation of boron in roots and leaves of sunflower as affected by boron supply. *Journal of Plant Physiology*, **153**: 615–622
- 60 **Dannel F, Pfeffer H and Römheld V.** 1999. Distribution within the plant or compartmentation does not contribute substantially to the detoxification of excess boron in sunflower. *Australian Journal of Plant Physiology*, **26**: 95–99
- 61 **Dannel F, Pfeffer H and Römheld V.** 2000. Characterization of root boron pools, boron uptake and boron translocation in sunflower using the stable isotopes ¹⁰B and ¹¹B. *Australian Journal of Plant Physiology*, **27**: 397–405
- 62 **Dannel F, Pfeffer H and Römheld V.** 2002. Update on boron in higher plants – Uptake, primary translocation and compartmentation. *Plant Biology*, **4**: 193–204

- 63 **Dannel F, Pfeffer H, Walch-Liu P and Römheld V.** 2001. Characteristics of boron uptake in roots of sunflower by a putative boron transporter. *In: Plant Nutrition – Food security and sustainability of agro – ecosystems.* WJ Horst et al. (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 64 **Davin LB and Lewis NG.** 1992. Phenylpropanoid metabolism: Biosynthesis of monolignols, lignans and neolignans, lignins and suberins. *In: Recent Advances in Phytochemistry, Vol. 26, Phenolic metabolism in plants,* H Stafford and RK Ibrahim (eds), New York: Plenum Press
- 65 **De Laurentis N, Stefanizzi L, Milillo M–A and Tantillo G.** 1998. Flavonoids from leaves of *Olea europaea* L. cultivars. *Annales Pharmaceutiques Francaises, 56:* 268–273
- 66 **De Nino A, Lombardo N, Perri E, Procopio A, Raffaelli A and Sindona G.** 1997. Direct identification of phenolic glucosides from olive leaf extracts by atmospheric pressure ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry, 32:* 533–541
- 67 **Dezaldechamp F, Uhel C and Macheix J–J.** 1995. Enhancement of anthocyanin synthesis and dihydroflavonol reductase (DFR) activity in response to phosphate deprivation in grape cell suspensions. *Phytochemistry, 40:* 1357–1360
- 68 **Del Moral R.** 1972. On the availability of chlorogenic acid concentration. *Oecologia, 9:* 289–300
- 69 **Delgado A, Benlloch M and Fernandez–Escobar R.** 1994. Mobilization of boron in olive trees during flowering and fruit development. *HortScience, 29:* 616–618
- 70 **Dell B and Huang L.** 1997. Physiological response of plants to low boron. *Plant and Soil, 193:* 103–120
- 71 **Dembitsky VM, Smoum R, Al–Quntar AA, Abu Ali H, Pergament I and Srebnik M.** 2002. Natural occurrence of boron – containing compounds in plants, algae and microorganisms. *Plant Science, 163:* 931–942
- 72 **Dicke M, van Beek TA, Posthumus MA, Ben Dom N, Van Bokhoven H and De Groot A.** 1990. Isolation and identification of a volatile kairomone that affects acarine predator – prey interactions. *Journal of Chemical Ecology, 16:* 381–396
- 73 **Dillon VM, Overton J, Grayer RJ and Harborne JB.** 1997. Differences in phytoalexin response among rice cultivars of different resistance to blast. *Phytochemistry, 44:* 599–603
- 74 **Dixon RA, Choudhary AD, Dalkin K, Edwards R, Fahrendorf T, Gowri G, Harrison MJ, Lamb CJ, Loake GJ, Maxwell CA, Orr J and Paiva NL.** 1992. Molecular biology of stress – induced phenylpropanoid and isoflavonoid biosynthesis in alfalfa. *In: Recent Advances in Phytochemistry, Vol. 26, Phenolic metabolism in plants,* H Stafford and RK Ibrahim (eds), New York: Plenum Press
- 75 **Dixon RA and Paiva NL.** 1995. Stress – induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell, 7:* 1085–1097
- 76 **Dordas C and Brown PH.** 2000. Permeability of boric acid across lipid bilayers and factors affecting it. *Journal of Membrane Biology, 175:* 95–105
- 77 **Dordas C, Chrispeels MJ and Brown PH.** 2000. Permeability and channel – mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiology, 124:* 1349–1361
- 78 **Douglas CJ, Ellard M, Hauffe KD, Molitor E, de Sá MM, Reinold S, Subramaniam R and Williams F.** 1992. General phenylpropanoid metabolism: regulation by environmental and developmental signals. *In: Recent Advances in Phytochemistry, Vol. 26, Phenolic metabolism in plants,* H Stafford and RK Ibrahim (eds), New York: Plenum Press
- 79 **Drossopoulos JB and Niavis CA.** 1988. Seasonal changes of the metabolites in the leaves, bark and xylem tissues of olive tree (*Olea europaea* L.). II. Carbohydrates. *Annals of Botany, 62:* 321–327
- 80 **Dugger WM.** 1983. Boron in plant metabolism. *In: Encyclopedia of Plant Physiology, A* Läuchli and RL Bielecki (eds), New Series, Volume 15A. Inorganic Plant Nutrition. Berlin: Springer – Verlag
- 81 **Duncan RR.** 1994. Genetic manipulation. *In: Plant – Environment Interactions,* RE Wilkinson (ed), New York: Marcel Dekker
- 82 **Dye MH, Buchanan L, Dorofaeff FD and Beecroft FG.** 1983. Dieback of apricot trees following soil application of boron. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture, 11:* 33–342

- 83 **Eaton FM.** 1944. Deficiency, toxicity, and accumulation of boron in plants. *Journal of Agricultural Research*, **69**: 237–277
- 84 **El-Shintinawy F.** 1999. Structural and functional damage caused by boron deficiency in sunflower leaves. *Photosynthetica*, **36**: 565–573
- 85 **Estiarte M, Filella I, Serra J and Penuelas J.** 1994. Effects of nutrient and water stress on leaf phenolic content of peppers and susceptibility to generalist herbivore *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Oecologia*, **99**: 387–391
- 86 **Faria T, García-Plazaola JI, Abadía A, Cerasoli S, Pereira JS and Chaves MM.** 1996. Diurnal changes in photoprotective mechanisms in leaves of cork oak (*Quercus suber*) during summer. *Tree Physiology*, **16**: 115–123
- 87 **Faria T, Solvério D, Breia E, Carbal R, Abadía A, Abadía J, Pereira JS and Chaves MM.** 1998. Differences in the response of carbon assimilation to summer stress (water deficits, high light and temperature) in four Mediterranean tree species. *Physiologia Plantarum*, **102**: 419–428
- 88 **Fawe A, Abou-Zaid M, Menzies JG and Belanger RR.** 1998. Silicon – mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology*, **88**: 396–401
- 89 **Fernandez-Escobar R, Moreno R and Garcia-Creus M.** 1999. Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate – bearing cycle. *Scientia Horticulturae*, **82**: 25–45
- 90 **Ferrol N, Belver A, Roldan M, Rodriguez-Rosales MP and Donaire JP.** 1993. Effects of boron on proton transport and membrane properties of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cell microsomes. *Plant Physiology*, **103**: 763–769
- 91 **Ferrol N and Donaire JP.** 1992. Effect of boron on plasma membrane proton extrusion and redox activity in sunflower cells. *Plant Science*, **86**: 41–47
- 92 **Ficarra P, Ficarra R, De Pasquale A, Monforte MT and Calabrò ML.** 1991. HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of *Olea europaea* L. *II Pharmaco*, **46**: 803–815
- 93 **Field TS, Lee DW and Holbrook NM.** 2001. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red – osier dogwood. *Plant Physiology*, **127**: 566–574
- 94 **Findeklee P, Wimmer M and Goldbach HE.** 1997. Early effects of boron deficiency on physical cell wall parameters, hydraulic conductivity and plasmalemma – bound reductase activities in young *C. pepo* and *V. faba* roots. *In: Boron in Soils and Plants*, RW Bell and B Rerkasem (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 95 **Fisher DB and Frame JM.** 1984. A guide to the use of the exuding – stylet technique in phloem physiology. *Planta*, **161**: 385–393
- 96 **Fisher RF and Long SR.** 1992. Rhizobium – plant signal exchange. *Nature*, **387**: 655–660
- 97 **Fleischer A, O'Neill MA and Ehwald R.** 1999. The pore size of non – graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross – linking of the pectic polysaccharide rhamno–galacturonan II. *Plant Physiology*, **121**: 829–838
- 98 **Flora LL and Madore MA.** 1993. Stachyose and mannitol transport in olive (*Olea europaea* L.). *Planta*, **189**: 484–490
- 99 **Foyer CH, Lelandais M, and Kunert KJ.** 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*, **92**: 696–717
- 100 **Frommer WB and von Wirén N.** 2002. Ping – pong with boron. *Nature*, **410**: 282–283
- 101 **Gamalei YV.** 1991. Phloem loading and its development related to plant evolution from trees to herbs. *Trees*, **5**: 50–64
- 102 **Garcia PC, Rivero RM, López-Lefebvre LR, Sánchez E, Ruiz JM and Romero L.** 2001. Response of oxidative metabolism to the application of carbendazim plus boron in tobacco. *Australian Journal of Plant Physiology*, **28**: 801–806
- 103 **Gariboldi P, Jommi G and Verotta L.** 1986. Secoiridoids from *Olea europaea*. *Phytochemistry*, **25**: 865–869
- 104 **Gauch HG and Dugger WM Jr.** 1954. The physiological action of boron in higher plants: A review and interpretation. Agricultural Experimental Station, College Park: University of Madisson
- 105 **Geiger DR and Fondy BR.** 1991. Regulation of carbon allocation and partitioning: Status and research agenda. *In: Recent Advances in Phloem Transport and Assimilate Compartmentation*, JL Bonnemain, S Delrot, WJ Lucas, J Dainty (eds), Nantes: Ouest Editions

- 106 **Gershenzon J.** 1984. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. *In: Phytochemical Adaptations to stress*, BN Timmermann, C Steelink and FA Loewus (eds), New York: Plenum
- 107 **Gershenzon J.** 1994. The cost of plant chemical defense against herbivory: a biochemical perspective. *In: Insect – Plant Interactions*, EA Bernays (ed), Boca Raton: CRC Press
- 108 **Goldbach HE.** 1984. Influence of boron nutrition on boron nutrition on net uptake and efflux of ^{32}P and ^{14}C -glucose in *Helianthus annuus* roots and cell cultures of *Daucus carota*. *Journal of Plant Physiology*, **118**: 431–438
- 109 **Goldbach HE, Blaser–Grill J, Lindemann N, Porzelt M, Hormann C, Lupp B and Gessner B.** 1991. Influence of boron on net proton release and its relation to other metabolic process. *In: Current topics in Plant Biochemistry and Physiology*, Vol. 10, DD Randall, DG Blevis, and CD Miles (eds), Columbia: Univ. Mo. Press
- 111 **Goldbach HE, Hartmann D and Rötzer T.** 1990. Boron is required for the stimulation of the ferricyanide – induced proton release by auxins in suspension – cultured cells of *Daucus carota* and *Lycopersicon esculentum*. *Physiologia Plantarum*, **80**: 114–118
- 112 **Goldberg S.** 1993. Chemistry and mineralogy of boron in soils. *In: Boron and its role in crop production*, UC Gupta (ed), Boca Raton: CRC Press
- 113 **Goldberg S.** 1997. Reactions of boron with soils. *Plant and Soil*, **193**: 35–48
- 114 **Gould KS, Kuhn DN, Lee DW, and Oberbauer SF.** 1995. Why leaves are sometimes red. *Nature*, **378**: 241–242
- 115 **Gould KS, Vogelmann TC, Han T and Clearwater MJ.** 2002. Profiles of photosynthesis within red and green leaves of *Quintinia serrata*. *Physiologia Plantarum*, **116**: 127–133
- 116 **Grayer RJ, Harborne JB, Kimmins EM, Stevenson FC and Wijayagunasekera HNP.** 1994. Phenolics in rice phloem sap as sucking deterrents to the brown plant hopper *Nilaparvata lugens*. *Acta Horticulturae*, **381**: 691–694
- 117 **Grossman A, and Takahashi H.** 2001. Macronutrient utilization by photosynthetic eukaryotes and the fabric of interaction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **52**: 163–210
- 118 **Gucci R, Moing A, Gravano E and Gaudillere JP.** 1998. Partitioning of photosynthetic carbohydrates in leaves of salt – stressed olive plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, **25**: 571–579
- 119 **Gupta UC.** 1993. Introduction. *In: Boron and its role in crop production*, UC Gupta (ed), Boca Raton: CRC Press
- 120 **Gupta UC.** 1993. Chemistry and mineralogy of boron in soils. *In: Boron and its role in crop production*, UC Gupta (ed), Boca Raton: CRC Press
- 121 **Gupta UC.** 1993. Sources of boron. *In: Boron and its role in crop production*, UC Gupta (ed), Boca Raton: CRC Press
- 122 **Gupta UC.** 1993. Factors affecting boron uptake by plants. *In: Boron and its role in crop production*, UC Gupta (ed), Boca Raton: CRC Press
- 123 **Gupta UC.** 1993. Deficiency and toxicity symptoms of boron in plants. *In: Boron and its role in crop production*, UC Gupta (ed), Boca Raton: CRC Press
- 124 **Haas ARC.** 1945. Boron content in almont, olive and walnut trees. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **46**: 69–77
- 125 **Hamilton JG, Zangerl AR, DeLucia EH and Berenbaum MR.** 2001. The carbon – nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecology Letters*, **4**: 86–95
- 126 **Hanson EJ.** 1991. Movement of boron out of tree fruit leaves. *HortScience*, **26**: 271–273
- 127 **Hanson EJ.** 1991. Sour cherry trees respond to foliar boron applications. *HortScience*, **26**: 1142–1145
- 128 **Harborne JB.** 1993. Advances in chemical ecology. *Natural Product Reports*, : 327–348
- 129 **Harborne JB and Green PS.** 1980. A chemotaxonomic survey of flavonoids in leaves of the Oleaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **81**: 155–167
- 130 **Harborne JB and Williams CA.** 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**: 481–504

- 131 **Haritatos E, Mednille R and Turgeon R.** 2000. Minor vein structure and sugar transport in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, **211**: 105–111
- 132 **Hartwig UA, Maxwell CA, Joseph CM and Phillips DA.** 1990. Chryseriol and luteolin released from alfalfa seeds induce nod genes in *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiology*, **92**: 116–122
- 133 **Haslam E.** 1986. Secondary metabolism – Fact or fiction. *Natural Product Reports*, **3**: 323–344
- 134 **Haukioja E, Ossipov V, Koricheva J, Honkanen T, Larsson S and Lempa K.** 1998. Biosynthetic origin of carbon – based secondary compounds: cause of variable responses of woody plants to fertilization? *Chemoecology*, **8**: 133–139
- 135 **Heimler D, Cimato A, Alessandri S, Sani G and Pieroni A.** 1996. Seasonal trend of flavonoids in olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Agricoltura Mediterranea*, **126**: 205–209
- 136 **Heimler D, Pieroni A, Tattini M and Cimato A.** 1992. Determination of flavonoids, flavonoid glycosides and biflavonoids in *Olea europaea* L. leaves. *Chromatographia*, **33**: 369–373
- 137 **Henstrand JM, McCue KF, Brink K, Handa AK, Herrmann KM and Conn EE.** 1992. Light and fungal elicitor induce 3–deoxy–D–arabino–heptulosonate 7–phosphate synthase mRNA in suspension cultured – cells of parsley (*Petroselinum crispum* L.). *Plant Physiology*, **98**: 761–763
- 138 **Herms DA and Mattson WJ.** 1992. The dilemma of plants: to grow or to defend. *The Quarterly Review of Biology*, **67**(3): 283–335
- 139 **Herrmann KM and Weaver LM.** 1999. The shikimate pathway. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **50**: 473–503
- 139a **Hewitt EJ.** 1952. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops, East Malling, Maidstone, Kent
- 140 **Hirsch AM and Torrey JG.** 1980. Ultrastructural changes in sunflower root cells in relation to boron deficiency and added auxin. *Canadian Journal of Botany*, **58**: 856–866
- 140a **Hoagland DR and Arnon DI.** 1950. The water – culture method for growing plants without soil. California Agriculture Experimental Station Circulum 347
- 141 **Holevas CD.** 1968. Problems of trace element deficiencies and excesses in olive trees. II Coloquio Europeo y Mediterraneo, Sevilla (España)
- 142 **Holevas CD.** 1976. Potassium – boron relationship in olive nutrition. 4e Colloque International sur le Controle de l’Alimentation des Plantes Cultivees, Gent
- 143 **Holton TA and Cornish EC.** 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *The Plant Cell*, **7**: 1071–1083
- 144 **Hopkins WG.** 1999. Introduction to plant physiology. New York: John Wiley and Sons
- 145 **Hose E, Clarkson DT, Steudle E, Schreiber L and Hartung W.** 2001. The exodermis: a variable apoplastic barrier. *Journal of Experimental Botany*, **52**: 2245–2264
- 146 **Hrazdina G.** 1992. Compartmentation in aromatic metabolism. *In*: Recent Advances in Phytochemistry, Vol. 26, Phenolic metabolism in plants, H Stafford and RK Ibrahim (eds), New York: Plenum Press
- 147 **Hu H and Brown PH.** 1994. Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin. Evidence for a structural role of boron in the cell wall. *Plant Physiology*, **105**: 681–689
- 148 **Hu H and Brown PH.** 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil*, **193**: 49–58
- 149 **Hu H, Brown PH and Labavitch JM.** 1996. Species variability in boron requirement is correlated with cell wall pectin. *Journal of Experimental Botany*, **47**: 227–232
- 150 **Hu H, Penn SG, Lebrilla CB and Brown PH.** 1997. Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. *Plant Physiology*, **113**: 649–655
- 151 **Huang L, Pant J, Dell B and Bell RW.** 2000. Effects of boron deficiency on anther development and floret fertility in wheat (*Triticum aestivum* L. ‘Wilgoyne’). *Annals of Botany*, **85**: 493–500
- 152 **Huang L, Ye Z and Bell RW.** 1996. The importance of sampling immature leaves for the diagnosis of boron deficiency in oilseed rape (*Brassica napus* cv. Eureka). *Plant and Soil*, **183**: 187–198
- 153 **Inderjit.** 1996. Plant phenolics in allelopathy. *The Botanical Review*, **62**: 186–202

- 154 **Inderjit** and **del Moral R.** 1997. Is separating resource competition from allelopathy realistic? *The Botanical Review*, **63**: 221–230
- 155 **Inderjit** and **Keating KI.** 1999. Allelopathy: Principles, procedures, processes, and promises for biological control. *Advances in Agronomy*, **67**: 141–231
- 156 **Itai C.** 1999. Role of phytohormones in plant responses to stress. *In*: Plant Responses to Environmental Stress, HR Lerner (ed), New York: Marcel Dekker
- 157 **Jackson JF.** 1991. Borate control of energy – driven protein secretion from pollen and interaction of borate with auxin or herbicide – a possible role for boron in membrane events. *In*: Current topics in Plant Biochemistry and Physiology, Vol. 10, DD Randall, DG Blevis, and CD Miles, (eds) Columbia: Univ. Mo. Press
- 158 **Jacobson M.** 1982. Plants, insects, and man – Their relationships. *Economic Botany*, **36**: 346–354
- 159 **Jetter R, Schaffer S** and **Riederer M.** 2000. Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: evidence from *Prunus laurocerasus* L. *Plant, Cell and Environment*, **23**: 619–628
- 160 **Jones DH.** 1984. Phenylalanine ammonia – lyase: regulation of its induction and its role in plant development. *Phytochemistry*, **23**: 1349–1359
- 161 **Kabata-Pendias A** and **Pendias H.** 1992. Trace elements in soils and plants. Boca Raton: CRC Press
- 162 **Karabourniotis G, Kofidis G, Fasseas C, Liakoura V** and **Drossopoulos I.** 1998. Polyphenol deposition in leaf hairs of *Olea europaea* (Oleaceae) and *Quercus ilex* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, **85**: 1007–1012
- 163 **Karabourniotis G, Kotsabassidis D,** and **Manetas Y.** 1994. Trichome density and its protective potential against ultraviolet – B radiation damage during leaf development. *Canadian Journal of Botany*, **73**: 376–383
- 164 **Karabourniotis G, Kyparissis A** and **Manetas Y.** 1993. Leaf hairs of *Olea europaea* protect underlying tissues against ultraviolet – B radiation damage. *Environmental and Experimental Botany*, **33**: 341–345
- 165 **Karabourniotis G, Papastergiou N, Kabanopoulou E** and **Fasseas C.** 1994. Foliar sclereids of *Olea europaea* may function as optical fibres. *Canadian Journal of Botany*, **72**: 330–336
- 166 **Karabourniotis G, Tzobanoglou D, Nikolopoulos D** and **Liakopoulos G.** 2001. Epicuticular phenolics over guard cells: Exploitation for in situ stomatal counting by fluorescence microscopy and combined image analysis. *Annals of Botany*, **87**: 631–639
- 167 **Kastori R, Plesnicar M, Pankovic D** and **Sakac Z.** 1995. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence and soluble carbohydrates in sunflower leaves as affected by boron deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, **18**: 1751–1763
- 168 **Kerrien F, Chamel A** and **Imbert J–L.** 1997. Comparative study of foliar uptake and translocation of boron (¹⁰B) supplied as four different products in radish roots. *In*: Boron in Soils and Plants, RW Bell and B Rerkasem (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 169 **King RW** and **Zeevaart JAD.** 1974. Enhancement of phloem exudation from cut petioles by chelating agents. *Plant Physiology*, **53**: 96–103
- 170 **Kobayashi M, Kawaguchi S, Takasaki M, Miyagawa I, Takabe K** and **Matoh T.** 1997. A borate – rhamnogalacturonan II complex in germinating pollen tubes of lily (*Lilium longiflorum*). *In*: Plant Nutrition – For sustainable food production and environment, T Ando et al. (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 171 **Kobayashi M** and **Matoh T.** 1997. *In vitro* reconstruction of the boron – polysaccharide complex purified from cultured tobacco BY–2 cells. *In*: Boron in Soils and Plants, RW Bell and B Rerkasem (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 172 **Kobayashi M, Matoh T** and **Azuma J.** 1996. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross – linked by borate – diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiology*, **110**: 1017–1020
- 173 **Kobayashi M, Nakagawa H, Asaka T** and **Matoh T.** 1999. Borate – rhamnogalacturonan II bonding reinforced by Ca²⁺ retains pectic polysaccharides in higher – plant cell walls. *Plant Physiology*, **119**: 199–203
- 174 **Kobayashi M, Ohno K** and **Matoh T.** 1997. Boron nutrition of cultured tobacco BY–2 cells. II. Characterization of the boron – polysaccharide complex. *Plant Cell Physiology*, **38**: 676–683
- 175 **Kolattukudy PE.** 1980. Biopolyester membranes of plants: cutin and suberin. *Science*, **208**: 990–999

- 176 **Kolattukudy PE.** 1981. Structure, biosynthesis and biodegradation of cutin and suberin. *Annual Review of Plant Physiology*, **32**: 539–567
- 177 **Kolattukudy PE.** 1996. Biosynthetic pathways of cutin and waxes, and their sensitivity to environmental stresses. *In: Plant cuticles*, G Kerstiens (ed), Oxford: Bios Scientific Publishers
- 178 **Komor E.** 2000. Source physiology and assimilate transport: the interaction of sucrose metabolism, starch storage and phloem export in source leaves and the effects on sugar status in phloem. *Australian Journal of Plant Physiology*, **27**: 497–505
- 179 **Kozłowski TT.** 1992. Carbohydrate sources and sinks in woody plants. *The Botanical Review*, **58**: 107–167
- 180 **Kroon PA** and **Williamson G.** 1999. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **79**: 355–361
- 181 **Kuwajima H, Uemura T, Takaiishi K, Inoue K and Inoue H.** 1988. A secoiridoid glucoside from *Olea europaea*. *Phytochemistry*, **27**: 1757–1759
- 182 **Lambers H, Chappin III FS and Pons TL.** 1998. Plant physiological ecology. New York: Stringer – Verlag
- 183 **Larcher W.** 1995. Physiological plant ecology. New York: Springer – Verlag
- 184 **Lawrence K, Bhalla P and Misra PC.** 1995. Changes in (NADP)H – dependent redox activities in plasmalemma – enriched vesicles isolated from boron – and zinc – deficient chick pea roots. *Journal of Plant Physiology*, **146**: 652–657
- 185 **Le Bot J, Pilbeam DJ and Kirkby EA.** 1994. Plant mineral nutrition in crop production. *In: Mechanisms of Plant Growth and Improved Productivity: Modern Approaches*, AS Basra (ed), New York: Marcel Dekker
- 186 **Le Floch F, Tena MT, Ríos A, and Valcárcel M.** 1998. Supercritical fluid extraction of phenol compounds from olive leaves. *Talanta*, **46**: 1123–1130
- 187 **Le Tutour B and Guedon D.** 1992. Antioxidative activities of *Olea europaea* and related phenolic compounds. *Phytochemistry*, **31**: 1173–1178
- 188 **Lehto T, Kallio E and Aphalo PJ.** 2000. Boron mobility in two coniferous species. *Annals of Botany*, **86**: 547–550
- 189 **Lewis DH.** 1980. Boron, lignification and the origin of vascular plants – a unified hypothesis. *New Phytologist*, **84**: 209–229
- 190 **Li J, Ou–Lee T–M, Raba R Amundson RG, and Last R L.** 1993. *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV–B irradiation. *The Plant Cell*, **5**: 171–179
- 191 **Liakopoulos G, Stavrianakou S and Karabourniotis G.** 2001. Analysis of epicuticular phenolics of *Prunus persica* and *Olea europaea* leaves: Evidence for the chemical origin of the UV – induced blue fluorescence of stomata. *Annals of Botany*, **87**: 641–648
- 192 **Liakoura V, Manetas Y and Karabourniotis G.** 2001. Seasonal fluctuations in the concentration of UV – absorbing compounds in the leaves of some Mediterranean plants under field conditions. *Physiologia Plantarum*, **111**: 491–500
- 193 **Liakoura V, Stavrianakou S, Liakopoulos G, Karabourniotis G and Manetas Y.** 1999. Effects of UV–B radiation on *Olea europaea*: comparisons between a greenhouse and a field experiment. *Tree Physiology*, **19**: 905–908
- 194 **Liakoura V, Stefanou M, Manetas Y, Cholevas C and Karabourniotis G.** 1997. Trichome density and its UV–B protective potential are affected by shading and leaf position on the canopy. *Environmental and Experimental Botany*, **38**: 223–229
- 195 **Lichtenhaler HK, Schwender J, Disch A and Rohmer M.** 1997. Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a mevalonate – independent pathway. *FEBS Letters*, **400**: 271–274
- 196 **Lichtenhaler HK and Wellburn AR.** 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, **11**: 591–592
- 197 **Lister CE, Lancaster JE and Walker JRL.** 1996. Phenylalanine Ammonia – Lyase (PAL) activity and its relationship to anthocyanin and flavonoid levels in New Zealand – grown apple cultivars. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, **121**(2): 281–285

- 198 **Liu P** and **Yang Y-A**. 2000. Effects of molybdenum and boron on membrane lipid peroxidation and endogenous protective systems of soybean leaves. *Acta Botanica Sinica*, **42**: 461–466
- 199 **Logan BA**, **Demming-Adams B**, **Rosenstiel TN** and **Adams III WW**. 1999. Effect of nitrogen limitation on foliar antioxidants in relation to other metabolic characteristics. *Planta*, **209**: 213–220
- 200 **Longnecker N**. 1994. Nutrient deficiencies and vegetative growth. In: *Mechanisms of Plant Growth and Improved Productivity: Modern Approaches*, AS Basra (ed), New York: Marcel Dekker
- 201 **Loomis WD** and **Durst RW**. 1992. Chemistry and biology of boron. *Biofactors*, **3**: 229–239
- 202 **Lukaszewski KM** and **Blevins DG**. 1996. Root growth inhibition in boron – deficient or Aluminium – stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism. *Plant Physiology*, **112**: 1135–1140
- 203 **Lynn DG**, **Chen RH**, **Manning KS** and **Wood HN**. 1987. The structural characterization of endogenous factors from *Vigna rosea* crown gall tumors that promote cell division of tobacco cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **84**: 615–619
- 204 **Madore MA** and **Webb JA**. 1981. Leaf free space analysis and minor vein loading in *Cucurbita pepo*. *Canadian Journal of Botany*, **59**: 2550–2557
- 205 **Maeshima M**. 2001. Tonoplast transporters: Organization and function. *Annual Review of Plant Physiology*, **52**: 469–497
- 206 **Makkee M**, **Kieboom APG** and **van Bekkum H**. 1985. Studies on borate esters. III. Borate esters of D-mannitol, D-glucitol, D-fructose and D-glucose in water. *Reclueil des Travaux Chimiques Pays-Bas*, **104**: 230–235
- 207 **Marentes E**, **Shelp BJ**, **Vanderpool RA** and **Spiers GA**. 1997. Retranslocation of boron in broccoli and lupin during early reproductive growth. *Physiologia Plantarum*, **100**: 389–399
- 208 **Markham KR**, **Gould KS** and **Ryan KG**. 2001. Cytoplasmic accumulation of flavonoids in flower petals and its relevance to yellow flower colouration. *Phytochemistry*, **58**: 403–413
- 209 **Markham KR**, **Gould KS**, **Winefield CS**, **Mitchell KA**, **Bloor SJ** and **Boase MR**. 2000. Anthocyanic vacuolar inclusions – their nature and significance in flower colouration. *Phytochemistry*, **55**: 327–336
- 210 **Markham KR**, **Ryan KG**, **Gould KS** and **Rickards GK**. 2000. Cell wall sited flavonoids in *Lisianthus* flower petals. *Phytochemistry*, **54**: 681–687
- 211 **Marschner H**. 1995. Mineral nutrition of higher plants, London: Academic Press
- 212 **Martini F** and **Thellier M**. 1993. Boron distribution in parenchyma cells of clover leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, **31**: 777–786
- 213 **Matern U**, **Reichenbach C** and **Heller W**. 1986. Efficient uptake of flavonoids into parsley (*Petroselinum hortense*) vacuoles requires acylated glycosides. *Planta*, **167**: 183–189
- 214 **Matoh T**. 1997. Boron in plant cell walls. *Plant and Soil*, **193**: 59–70
- 215 **Matoh T** and **Kobayashi M**. 1998. Boron and calcium, essential inorganic constituents of pectic polysaccharides in higher plant cell walls. *Journal of Plant Research*, **111**: 179–190
- 216 **Matoh T**, **Ishigaki K**, **Ohno K** and **Azuma J**. 1993. Isolation and characterization of a boron – polysaccharide complex from radish roots. *Plant Cell Physiology*, **34**: 639–642
- 217 **Matoh T**, **Ishigaki K-I**, **Mizutani M**, **Matsunaga W** and **Takabe K**. 1992. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. I. Requirement for an intracellular localization of boron and selection of cells that tolerate low levels of boron. *Plant Cell Physiology*, **33**: 1135–1141
- 218 **Matoh T**, **Kawaguchi S** and **Kobayashi M**. 1996. Ubiquity of a borate – rhamnogalacturonan II complex in the cell walls of higher plants. *Plant Cell Physiology*, **37**: 636–640
- 219 **Matoh T**, **Takasaki M**, **Kobayashi M** and **Takabe K**. 2000. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. III. Characterization of the boron – rhamnogalacturonan II complex in cells acclimated to low levels of boron. *Plant Cell Physiology*, **41**: 363–366
- 220 **Matoh T**, **Takasaki M**, **Takabe K** and **Kobayashi M**. 1998. Immunocytochemistry of rhamnogalacturonan II in cell walls of higher plants. *Plant Cell Physiology*, **39**: 483–491

- 221 **Maurel C.** 1997. Aquaporins and water permeability of plant membranes. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **48**: 399–429
- 222 **McBee GG and Maness NO.** 1983. Determination of sucrose, glucose and fructose in plant tissue by high – performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, **264**: 474–478
- 223 **McKey D.** 1974. Adaptive patterns in alkaloid physiology. *American Society of Agricultural Engineering*, **108**: 305–320
- 224 **McKey D.** 1979. The distribution of secondary compounds within plants. *In: Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*, GA Rosenthal and DH Janzen (eds), New York: Academic Press
- 225 **Mendgen K.** 1996. Fungal attachment and penetration. *In: Plant cuticles*, G Kerstiens (ed), Oxford: Bios Scientific Publishers
- 226 **Meziane D and Shipley B.** 2001. Direct and indirect relationships between specific leaf area, leaf nitrogen and leaf gas exchange. Effects of irradiance and nutrient supply. *Annals of Botany*, **88**: 915–927
- 227 **Mizutani J.** 1999. Selected allelochemicals. *Critical Reviews in Plant Science*, **18**: 653–671
- 228 **Moore HM and Hirsch AM.** 1983. Effects of boron on mitosis and incorporation of tritiated thymidine into nuclei of sunflower root tips. *American Journal of Botany*, **70**: 165–172
- 229 **Mousa YM and Gerasopoulos D** 1996. Effect of altitude on fruit and oil quality characteristics of ‘Mastoides’ olives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **71**: 345–350
- 230 **Muofhe ML and Dacora FD.** 1999. Root phenolic accumulation and loss of autoregulation of root nodule formation in Bambara groundnut (*Vigna subterranea*) following boron nutrition and cotyledon excision. *Australian Journal of Plant Physiology*, **26**: 435–441
- 231 **Napoli CA, Fahy D, Wang H–Y and Taylor LP.** 1999. white anther: A *Petunia* mutant that abolishes pollen flavonol accumulation, induces male sterility, and is complemented by a chalcone synthase transgene. *Plant Physiology*, **120**: 615–622
- 232 **Neill S and Gould KS.** 1999. Optical properties of leaves in relation to anthocyanin concentration and distribution. *Canadian Journal of Botany*, **77**: 1777–1782
- 233 **Noguchi K, Dannel F, Pfeffer H, Römheld V, Hayashi H and Fujiwara T.** 2000. Defect in root – shoot translocation of boron in *Arabidopsis thaliana* mutant bor 1–1. *Journal of Plant Physiology*, **156**: 751–755
- 234 **Ntefidou M, and Manetas Y.** 1996. Optical properties of hairs during the early stages of leaf development in *Platanus orientalis*. *Australian Journal of Plant Physiology*, **23**: 0–0
- 235 **Obermeyer G, Kriebchaumer R, Strasser D, Maschessnig A and Bentrup FW.** 1996. Boric acid stimulates the plasma membrane H⁺–ATPase of ungerminated lily pollen grains. *Physiologia Plantarum*, **98**: 281–290
- 236 **Oertli JJ.** 1993. The mobility of boron in plants. *Plant and Soil*, **155/156**: 301–304
- 237 **Oertli JJ.** 1994. Non – homogeneity of boron distribution in plants and consequence for foliar diagnosis. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **25**: 1133–1147
- 238 **Oertli JJ and Roth JA.** 1969. Boron supply of sugar beet, cotton and soybean. *Agronomy Journal*, **61**: 191–195
- 239 **O’Neill MA, Eberhard S, Albersheim P and Darvill AG.** 2001. Requirement of borate cross – linking of cell wall rhamnogalacturonan II for *Arabidopsis* growth. *Science*, **294**: 846–849
- 240 **O’Neill MA, Warrenfeltz D, Kates K, Pellerin P, Doco T, Darvill AG and Albersheim P.** 1996. Rhamnogalacturonan–II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, forms a dimer that is covalently cross – linked by a borate ester. *Journal of Biological Chemistry*, **271**: 22923–22930
- 241 **Oostendorp M, Kunz W, Dietrich B and Staub T.** 2001. Induced disease resistance in plants by chemicals. *European Journal of Plant Pathology*, **107**: 19–28
- 242 **Oosterhuis DM and Zhao D.** 2001. Effect of boron deficiency on the growth and carbohydrate metabolism of cotton. *In: Plant Nutrition – Food security and sustainability of agro – ecosystems*, WJHorst et al. (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 243 **Palmgren MG.** 2001. Plant plasma membrane H⁺–ATPases: Powerhouses for nutrient uptake. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **52**: 817–845

- 244** Paolacci AR, D'Ovidio R, Marabottini R, Nali C, Lorenzini G, Abenavoli MR and Badiani M. 2001. Ozone induces a differential accumulation of phenylalanine ammonia-lyase, chalcone synthase and chalcone isomerase RNA transcripts in sensitive and resistant bean cultivars. *Australian Journal of Plant Physiology*, **28**: 425–428
- 245** Pariot C, Martini F, Thellier M and Ripoll C. 1994. Quantitative imaging of the distribution of boron in the hypocotyl sections of flax seedlings, using neutron capture radiography. *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, **12**: 61–85
- 246** Pastori GM and Foyer CH. 2002. Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of "redox" and abscisic acid-mediated controls. *Plant Physiology*, **129**: 460–468
- 247** Pate JS. 1983. Exchange of solutes between phloem and xylem and circulation in the whole plant. Encyclopedia of plant physiology, New Series Vol.1, Transport in Plants. I. Phloem transport, MH Zimmermann and JA Miburn (eds) Berlin: Springer-Verlag
- 248** Pearce G, Strydom D, Johnson S and Ryan CA. 1991. A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. *Science*, **253**: 895–898
- 249** Pearson JN and Rengel Z. 1997. Mechanisms of plant resistance to nutrient deficiency stress. In: Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants, AS Basra and RK Basra (eds), Amsterdam: Harwood Academic Publishers
- 250** Penn SG, Hu H, Brown PH and Lebrilla CB. 1997. Direct analysis of sugar alcohol borate complexes in plant extracts, by matrix-assisted laser desorption/ionization Fourier transform mass spectrometry (MALDI-FTMS). *Analytical Chemistry*, **69**: 2471–2477
- 251** Perica S, Bellaloui N, Greve C, Hu H and Brown PH. 2001. Boron transport and soluble carbohydrate concentrations in olive. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **126**: 291–296
- 252** Perica S, Brown PH, Connell JH, Nyomora AMS, Dordas C, Hu H and Stangoulis J. 2001. Foliar boron application improves flower fertility and fruit set of olive. *HortScience*, **36**: 714–716
- 253** Pfeffer H, Dannel F and Römheld V. 1997. Compartmentation of boron in roots and its translocation to the shoot of sunflower as affected by short-term changes in boron supply. In: Boron in Soils and Plants, RW Bell and B Rerkasem (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 254** Pfeffer H, Dannel F and Römheld V. 1998. Are there connections between phenol metabolism, ascorbate metabolism and membrane integrity in leaves of boron-deficient sunflower plants? *Physiologia Plantarum*, **104**: 479–485
- 255** Pfeffer H, Dannel F and Römheld V. 1999. Are there two mechanisms for boron uptake in sunflower? *Journal of Plant Physiology*, **155**: 34–40
- 256** Pfeffer H, Dannel F and Römheld V. 2001. Boron compartmentation in roots of sunflower plants of different boron status: A study using the stable isotopes ¹⁰B and ¹¹B adopting two independent approaches. *Physiologia Plantarum*, **113**: 346–351
- 257** Picchioni GA, Weinbaum SA and Brown PH. 1995. Retention and the kinetics of uptake and export of foliage-applied, labelled boron by apple, pear, prune, and sweet cherry leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **120**: 28–35
- 258** Pichersky E and Gershenzon J. 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, **5**: 237–243
- 259** Pieroni A, Heimler D, Pieters L, van Poel B and Vlietinck AJ. 1996. In vitro anti-complementary activity of flavonoids from olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Pharmazie*, **51**: 765–767
- 260** Pieters AJ, Paul MJ and Lawlor DW. 2001. Low sink demand limits photosynthesis under Pi deficiency. *Journal of Experimental Botany*, **52**: 1083–1091
- 261** Pietta P-G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**: 1035–1042
- 262** Pilbeam DJ and Kirkby EA. 1983. The physiological role of boron in plants. *Journal of Plant Nutrition*, **6**: 563–582
- 263** Pollard AS, Parr AJ and Loughman BC. 1977. Boron in relation to membrane function in higher plants. *Journal of Experimental Botany*, **28**: 831–841

- 264 Polle A, Chakrabarti K, Chakrabarti S, Seifert F, Schramel P and Rennenberg H. 1992. Antioxidants and manganese deficiency in needles of norway spruce (*Picea abies* L.) trees. *Plant Physiology*, **99**: 1084–1089
- 265 Power P. 1997. The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant and Soil*, **193**: 1–13
- 266 Price KR and Rhodes MJC. 1997. Analysis of the major flavonol glycosides present in four varieties of onion (*Allium cepa*) and changes in composition resulting from autolysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **74**: 331–339
- 267 Quereix A, Dewar RC, Gaudillere J-P, Dayau S and Valancogne C. 2001. Sink feedback regulation of photosynthesis in vines: measurements and a model. *Journal of Experimental Botany*, **52**: 2313–2322
- 268 Ragazzi E, Veronese G and Guiotto A. 1973. Demetileoleuropeina, nuovo glucoside isolato da olive mature. *Annalytica Chimica*, **63**: 13–15
- 269 Rajatathnam JA and Lowry JB. 1974. The role of boron in the oil – palm (*Elaeis guinensis*). *Annals of Botany*, **38**: 193–200
- 270 Raschke K and Resemann A. 1986. The midday depression of CO₂ assimilation in leaves of *Arbutus unedo* L.: diurnal changes in photosynthetic capacity related to changes in temperature and humidity. *Planta*, **168**: 546–558
- 271 Raskin I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **43**: 439–463
- 272 Raven JA. 1980. Short – and long – distance transport of boric acid in plants. *New Phytologist*, **84**: 231–249
- 273 Reddy VS, Goud KV, Sharma R, and Reddy AR. 1994. Ultraviolet – B – responsive anthocyanin production in a rice cultivar is associated with a specific phase of phenylalanine ammonia lyase biosynthesis. *Plant Physiology*, **105**: 1059–1066
- 274 Redondo-Nieto M, Rivilla, R, El-Hamdaoui A, Bonilla I and Bolaños L. 2001. Boron deficiency affects early infection events in the pea – *Rhizobium* symbiotic interaction. *Australian Journal of Plant Physiology*, **28**: 819–823
- 275 Reich PB, Ellsworth DS, Walters MB, Vose JM, Gresham C, Volin JC and Bowman WD. 1999. Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology*, **80**: 1955–1969
- 276 Reich PB, Walters MB and Ellsworth DS. 1997. From tropics to tundra: Global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **94**: 13730–13734
- 277 Reid RJ. 2001. Mechanisms of micronutrient uptake in plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, **28**: 659–666
- 278 Rerkasem B and Jamjod S. 1997. Genotypic variation in plant response to low boron and implications for plant breeding. *Plant and Soil*, **193**: 169–180
- 279 Rerkasem B, Lordkaew S and Dell B. 1997. Boron requirement for reproductive development in wheat. In: T Ando, K Fujita, T Mae, H Matsumoto, S Mori, J Sekiya (eds), Plant nutrition – for sustainable food production and environment, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers
- 280 Reuber S, Bornman JF, and Weissenbock G. 1996. Phenylpropanoid compounds in primary leaf tissues of rye (*Secale cereale*). Light response of their metabolism and the possible role in UV-B protection. *Physiologia Plantarum*, **97**: 160–168
- 281 Riipi M, Ossipov V, Lempa K, Haukioja E, Koricheva J, Ossipova S and Pihlaja K. 2002. Seasonal changes in birch leaf chemistry: are there trade – offs between leaf growth and accumulation of phenolics? *Oecologia*, **130**: 380–390
- 282 Riley RG and Kolattukudy PE. 1975. Evidence for covalently attached p-coumaric acid and ferulic acid in cutins and suberins. *Plant Physiology*, **56**: 650–654
- 283 Robertse PJ, Lock JJ, Stoffberg E and Coetzer LA. 1990. Effect of boron on directionality of pollen tube growth in *Petunia* and *Agapanthus*. *South Africa Journal of Botany*, **56**: 487–492
- 284 Robertson GA and Longman BC. 1974. Reversible effects of boron on the absorption and incorporation of phosphate in *Vicia faba* L. *New Phytologist*, **73**: 291–298
- 285 Robertson GA and Loughman BC. 1974. Reversible effects of boron on the absorption and incorporation of phosphate in *Vicia faba* L. *New Phytologist*, **73**: 291–298

- 286 **Robinson JB, Treeby M and Stephenson RA.** 1997. Fruits, vines and nuts. *In: Plant Analysis: an Interpretation Manual*, DJ Reuter and JB Robinson (eds), Collingwood: CSIRO Publishing
- 287 **Robinson JM.** 1988. Does O₂ photoreduction occur within chloroplasts in vivo? *Physiologia Plantarum*, **72**: 666–680
- 288 **Roitsch T.** 1999. Source – sink regulation by sugar and stress. *Current Opinion in Plant Biology*, **2**: 198–206
- 289 **Roubelakis–Angelakis KA and Theodoropoulos PA.** 1990. Uptake characteristics of sugars and amino acids by *Vitis vinifera* L. protoplasts. *In: Plant aging: Basic and applied approaches*, R Rodriguez et al. (eds), New York: Plenum Press
- 290 **Ruiz JM, Bretones G, Baghour M, Ragala L, Belakbir A and Romero L.** 1998. Relationship between boron and phenolic metabolism in tobacco leaves. *Phytochemistry*, **48**: 267–272
- 291 **Ruiz JM, Garcia PC, Rivero RM and Romero L.** 1999. Response of phenolic metabolism to the application of carbendazim plus boron in tobacco. *Physiologia Plantarum*, **106**: 151–157
- 292 **Ryan D, Robards K and Lavee S.** 1998. Assessment of quality in olive oil. *Olivae*, **72**: 23–41
- 293 **Ryan D, Robards K, Prenzler P, Jardine D, Herlt T and Antonovich M.** 1999. Liquid chromatography with electrospray ionisation mass spectrometric detection of phenolic compounds from *Olea europaea*. *Journal of Chromatography A*, **855**: 529–537
- 294 **Salisbury FB and Ross CW.** 1992. Plant physiology, Belmont: Wadsworth Publishing Company
- 295 **Sanchez E, Soto JM, Garcia PC, Lopez–Lefebvre LR, Rivero RM, Ruiz JM and Romero L.** 2000. Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. *Australian Journal of Plant Physiology*, **27**: 973–978
- 296 **Santiago LJM, Louro RP and de Oliveira DE.** 2000. Compartmentation of phenolic compounds and phenylalanine ammonia – lyase in leaves of *Phyllanthus tenellus* Roxb. And their induction by copper sulphate. *Annals of Botany*, **86**: 1023–1032
- 297 **Savournin C, Baghdikian B, Elias R, Dargouth–Kesraoui F, Boukef K and Balansard G.** 2001. Rapid high – performance liquid chromatography analysis for the quantitative determination of oleuropein in *Olea europaea* leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 618–621
- 298 **Schildknecht H.** 1983. Turgorins, hormones of the endogenous daily rhythms of higher organized plants – detection, isolation, structure, synthesis and activity. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **22**: 695–710
- 299 **Schmucker T.** 1935. Uber den einfluss vor borsaeure and pflanzen, insbesondere keimende pollekornen. *Planta*, **23**: 264–283
- 300 **Schnitzler J–P, Jungblut TP, Feicht C, Köfferlein, M, Langebartels C, Heller W, Sandermann H Jr.** 1997. UV–B induction of flavonoid biosynthesis in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings. *Trees*, **11**: 162–168
- 301 **Scott IM, Dat JF, Lopez–Delgado H and Foyer CH.** 1999. Salicylic acid and hydrogen peroxide in abiotic stress signaling in plants. *Plant Physiology*, **39**: 13–17
- 302 **Seigler DS.** 1998. Plant secondary metabolism, Kluwer Academic Publishers: Norwell
- 303 **Seigler DS and Price PW.** 1976. Secondary compounds in plants: primary functions. *The American Naturalist*, **110**: 101–105
- 304 **Sharma PN and Ramchandra T.** 1990. Water relations and photosynthesis in mustard plants subjected to boron deficiency. *Indian Journal of Plant Physiology*, **33**: 150–154
- 305 **Shelp BJ.** 1987. The composition of phloem exudate and xylem sap of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) supplied with NH⁴⁺, NO³⁻ or NH₄NO₃. *Journal of Experimental Botany*, **38**: 1619–1636
- 306 **Shelp BJ.** 1988. Boron mobility and nutrition in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Annals of Botany*, **61**: 83–91
- 307 **Shelp BJ.** 1993. Physiology and biochemistry of boron in plants. *In: Boron and its role in crop production*, UC Gupta (ed), Boca Raton: CRC Press
- 308 **Shelp BJ, Kitheka AM, Vanderpool RA, Van Cauwenberghe OR and Spiers GA.** 1998. Xylem – to – phloem transfer of boron in broccoli and lupin during early reproductive growth. *Physiologia Plantarum*, **104**: 533–540

- 309 **Shelp BJ, Marentes E, Kitheka AM and Vivekanandan P.** 1995. Boron mobility in plants. *Physiologia Plantarum*, **94**: 356–361
- 310 **Shelp BJ and Shattuck VI.** 1987. Boron nutrition and mobility, and its relation to elemental composition of greenhouse grown root crops. I. Rutabega. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **18**: 187–201
- 311 **Shelp BJ and Shattuck VI.** 1987. Boron nutrition and mobility, and its relation to hollow stem and the elemental composition of greenhouse grown cauliflower. *Journal of Plant Nutrition*, **10**: 143–162
- 312 **Shelp BJ, Shattuck VI and Proctor JTA.** 1987. Boron nutrition and mobility, and its relation to elemental composition of greenhouse grown root crops. II. Radish. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **18**: 203–219
- 313 **Shelp BJ, Shattuck VI, McLellan D and Liu L.** 1992. Boron nutrition and composition of glucosinolates and soluble nitrogen compounds in two broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*, **72**: 889–899
- 314 **Shepherd CJ.** 1951. The enzymes of carbohydrate metabolism in *Neurospora*. *Biochemical Journal*, **48**: 483–486
- 315 **Shirley BW.** 1996. Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends in Plant Science*, **1**: 377–382
- 316 **Shkol'nik MY.** 1984. Trace elements in plants, New York: Elsevier
- 317 **Shkol'nik MY, Kupnikova TA, Timofeeva SS and Stom DI.** 1981. Intensification of quinone formation from exogenous polyphenols by homogenates of the leaves of sunflower plants reared under conditions of boron deficiency. *Fiziologiya Rastenii*, **28**: 541–546
- 318 **Shorrocks V M.** 1997. The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant and Soil*, **193**: 121–148
- 319 **Shuman LM.** 1994. Mineral nutrition. In: Plant – Environment Interactions, RE Wilkinson (ed), New York: Marcel Dekker
- 320 **Skaltsa H, Verykokidou E, Harvala C, Karabourniotis G, and Manetas Y.** 1994. UV-B protective potential and flavonoid content of leaf hairs of *Quercus ilex*. *Phytochemistry*, **37**(4): 987–990
- 321 **Smirnov N.** 1995. Metabolic flexibility in relation to the environment. In: Environment and Plant Metabolism, N. Smirnov (ed), Oxford: Bios Scientific Publishers
- 322 **Smirnov N.** 1995. Antioxidant systems and plant response to the environment. In: Environment and Plant Metabolism, N. Smirnov (ed), Oxford: Bios Scientific Publishers
- 323 **Soler-Rivas C, Espin JC and Wichers HJ.** 2000. Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**: 1013–1023
- 324 **Stafford HA.** 1991. Flavonoid evolution: An enzymic approach. *Plant Physiology*, **96**: 680–685
- 325 **Stangoulis JCR, Brown PH, Bellaloui N, Reid RJ and Graham RD.** 2001. The efficiency of boron utilization in canola. *Australian Journal of Plant Physiology*, **28**: 1109–1114
- 326 **Stangoulis JCR, Reid RJ, Brown PH and Graham RD.** 2001. Kinetic analysis of boron transport in *Chara. Planta*, **213**: 142–146
- 327 **Steudle E.** 2001. The cohesion – tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **52**: 847–875
- 328 **Steyn WJ, Wand SJE, Holcroft DM and Jacobs G.** 2002. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist*, **155**: 349–361
- 329 **Stott CE, Thomas HE and Thomas HE.** 1943. Boron deficiency in the olive. *Phytopathology*, **33**: 933–942
- 330 **Strack D.** 1997. Phenolic metabolism. In: P.M. Dey and J.B. Harborne (eds) Plant Biochemistry. Academic Press: London
- 331 **Taiz L and Zeiger E.** 1998. Plant Physiology. Sunderland: Sinauer Associates
- 332 **Takano J, Noguchi K, Yasumori M, Kobayashi M, Gajdos Z, Miwa K, Hayashi H, Yoneyama T and Fujiwara T.** 2002. *Arabidopsis* boron transporter for xylem loading. *Nature*, **420**: 337–340
- 333 **Takano J, Yamagami M, Noguchi K, Hayashi H and Fujiwara T.** 2001. Preferential translocation of boron to young leaves in *Arabidopsis thaliana* regulated by the BOR1 gene. *Soil Science and Plant Nutrition*, **47**: 345–357

- 334 **Takasaki M, Kawaguchi S, Kobayashi M, Takabel K and Matoh T.** 1997. Immunocytochemistry of the borate – rhamnogalacturonan II complex in cell walls of radish roots. *In: Boron in Soils and Plants*, RW Bell and B Rerkasem (eds), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers
- 335 **Tan SC.** 1980. Phenylalanine ammonia – lyase and the phenylalanine ammonia – lyase inactivating system: Effects of light, temperature and mineral deficiencies. *Australian Journal of Plant Physiology*, **7**: 159–167
- 336 **Tanner W and Caspari T.** 1996. Membrane transport carriers. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **47**: 595–626
- 337 **Tattini M, Gucci R, Romani A, Baldi A and Everard JD.** 1996. Changes in non – structural carbohydrates in olive (*Olea europaea*) leaves during root zone salinity stress. *Physiologia Plantarum*, **98**: 117–124
- 338 **Teasdale RD and Richards DK.** 1990. Boron deficiency in cultured pine cells. *Plant Physiology*, **93**: 1071–1077
- 339 **Tenhunen JD, Lange OL, Gebel J, Beyschlag W and Weber JA.** 1984. Changes in photosynthetic capacity, carboxylation efficiency, and CO₂ compensation point associated with midday stomatal closure and midday depression of net CO₂ exchange of leaves of *Quercus suber*. *Planta*, **162**: 193–203
- 340 **Terashima I.** 1992. Anatomy of nonuniform leaf photosynthesis. *Photosynthesis Research*, **31**: 195–212
- 341 **Thellier M, Duval Y and Demarty M.** 1979. Borate exchange of *Lemna minor* as studied with the help of the enriched stable isotopes of an (n, α) nuclear reaction. *Plant Physiology*, **63**: 283–288
- 342 **Theodorou ME and Praxton WC.** 1995. Adaptations of plant metabolism to nutritional phosphate deprivation. *In: Environment and Plant Metabolism*, N. Smirnov (ed), Oxford: Bios Scientific Publishers
- 343 **Threlfall DR and Whitehead IM.** 1991. Terpenoid phytoalexins: Aspects of biosynthesis, catabolism, and regulation. *In: Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant terpenoids*, Phytochemical Society of Europe, Vol. 31, JB Harborne and FA Tomás-Barberán (eds), Oxford: Oxford University Press
- 344 **Tsadilas CD and Chartzoulakis KS.** 1999. Boron deficiency in olive trees in Greece in relation to soil boron concentration. *Acta Horticulturae*, **474**: 341–344
- 345 **Tsadilas CD, Yassoglou N, Kosmas CS and Kallianou Ch.** 1994. The availability of soil fractions to olive trees and barley and their relationships to soil properties. *Plant and Soil*, **162**: 211–217
- 346 **Tsimidou M, Papadopoulos G and Boskou D.** 1992. Phenolic – compounds and stability of virgin olive oil. *Food Chemistry*, **45**: 141–144
- 347 **Turgeon R.** 1991. Symplastic phloem loading and the sink – source transition in leaves: A model. *In: Recent Advances in Phloem Transport and Assimilate Compartmentation*, JL Bonnemain, S Delrot, WJ Lucas, J Dainty (eds), Nantes: Ouest Editions
- 348 **Turgeon R.** 1996. Phloem loading and plasmodesmata. *Trends in Plant Science*, **1**: 418–423
- 349 **Turgeon R.** 2000. Plasmodesmata and solute exchange in the phloem. *Australian Journal of Plant Physiology*, **27**: 521–529
- 350 **Turgeon R, Medville R and Nixon KC.** 2001. The evolution of minor vein phloem and phloem loading. *American Journal of Botany*, **88**: 1331–1339
- 351 **Van Bel AJE.** 1993. Strategies of phloem loading. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **44**: 253–281
- 352 **Van Lijsebettens M and Clarke J.** 1998. Leaf development in *Arabidopsis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, **36**: 47–60
- 353 **Vaughn KC, Lax AR and Duke SO.** 1988. Polyphenol oxidase – The chloroplast oxidase with no established function. *Physiologia Plantarum*, **72**: 659–665
- 354 **Visioli F and Galli C.** 1994. Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. *Life Sciences*, **55**: 1965–1971

- 355 **Visser T.** 1955. Germination and storage of pollen. *Meded. Landbouwhoges., Wageningen*, **55**: 1-68
- 356 **Vogt T, Wollenweber E and Taylor LP.** 1995. The structural requirement of flavonols that induce pollen germination of conitionally male fertile *Petunia*. *Phytochemistry*, **38**: 589-592
- 357 **Wallace G and Fry SC.** 1994. Phenolic components of the plant cell wall. *International Review of Cytology*, **151**: 229-267
- 358 **Walker DA.** 1993. Polarographic measurement of oxygen. *In: Photosynthesis and Production in a Changing Environment: A Field and Laboratory Manual*, DO Hall, JMO Scurlock, HR Bolhar-Nordenkamp, RC Leegood and SP Long (eds), London: Chapman & Hall
- 359 **Warrington K.** 1923. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Annals of Botany*, **37**: 629-672
- 360 **Weaver LM and Herrmann KM.** 1997. Dynamics of the shikimate pathway in plants. *Trends in Plant Science*, **2**: 346-351
- 361 **Weidenbörner M, Hindorf H, Jha HC, Tsotsonos P and Egge H.** 1990. Antifungal activity of isoflavonoids in different reduced stages on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. *Phytochemistry*, **29**: 801-803
- 362 **Wenzl P, Chaves AL, Mayer JE, Rao IM and Nair MG.** 2000. Roots of nutrient - deprived *Brachiaria* species accumulate 1,3-di-O-trans-feruloylquinic acid. *Phytochemistry*, **55**: 389-395
- 363 **Whetten R and Sederoff R.** 1995. Lignin biosynthesis. *The Plant Cell*, **7**: 1001-1013
- 364 **Williams LE and Miller AJ.** 2001. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **52**: 659-688
- 365 **Wojtaszek P and Stobiecki M.** 1997. Differential secretion and accumulation of isoflavonoids in *Lupinus albus* in response to fungal elicitor and CuCl₂. *Plant Physiology and Biochemistry*, **35**: 129-135
- 366 **Wollenweber E, Mayer K and Roitman JN.** 1991. Exudate flavonoids of *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, **30**: 2445-2446
- 367 **Wollenweber E, Wieland A and Haas K.** 2000. Epicuticular waxes and flavonol aglycons of the. *Zeitung Naturforschung*, **55c**: 314-317
- 368 **Xiong L and Zhu J-K.** 2001. Abiotic stress signal transduction in plants: Molecular and genetic perspectives. *Physiologia Plantarum*, **112**: 152-166
- 369 **Yamanouchi M.** 1971. The role of boron In higher plants. I. The relations between boron and calcium on the pectic substances in plants. *Journal of the Science of Soil Manure*, **42**: 207-213
- 370 **Yamauchi T, Hara T and Sonoda Y.** 1986. Distribution of calcium and boron in the pectic fraction of tomato leaf cell wall. *Plant Cell Physiology*, **27**: 729-732
- 371 **Yermiyahu U, Kerenm R and Chen Y.** 2001. Effect of composed organic matter on boron uptake by plants. *Soil Science Society of America Journal*, **65**: 1436-1441
- 372 **Yu Q, Wingender R, Schulz M, Baluška F and Goldbach HE.** 2001. Short - term boron deprivation induces increased levels of cytoskeletal proteins in *Arabidopsis* roots. *Plant Biology*, **3**: 335-340
- 373 **Zaborska W.** 1995. Competitive inhibitors of free and chitosan - immobilized urease. *Acta Biochem. Polon.*, **42**: 115-118
- 374 **Zawistowski J, Biliaderis CG and Eskin NAM.** 1991. Polyphenol oxidase. Oxidative enzymes in foods. Eds. DS Robinson and AM Eskin. Elsevier Science Publishers, England, : 217-273
- 375 **Γαβαλάς ΝΑ.** 1978. Η ανόργανος θρέψη και η λίπανση της ελαιας, Αθήνα: Εκδόσεις Μπενακειού Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου
- 376 **Δροσόπουλος Ι.** 1992. Στοιχεία ανόργανης διατροφής των φυτών. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών
- 377 **Δροσόπουλος Ι.** 1998. Φυσιολογία φυτών, Τόμος ΙΙ. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών
- 378 **Εθνική Στατιστική Υπηρεσία Ελλάδος.** 2002. Υπουργείο Οικονομικών
- 379 **Καραμπουρνιώτης Γ.** 2002. Φυσιολογία καταπονήσεων των φυτών, Αθήνα: Εκδόσεις Έμβρυο
- 380 **Μπαλατσούρας ΓΑ.** 1994. Το ελαιόδενδρο. Τόμος Ι, Αθήνα: Εκδόσεις Πελεκάνος

- 380α Σταυριανάκου Σ.** 2000. Παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τη συσσώρευση δευτερογενών μεταβολιτών στα φύλλα του φυτού *Dittrichia viscosa*. Ερευνητική εργασία στα πλαίσια του μεταπτυχιακού διπλώματος εξειδίκευσης. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 381 Τσαντήλας Χ, Κοσμάς Κ, Γιάσογλου Ν και Καλλιάνου Χ.** 1994. Αξιολόγηση ορισμένων μεθόδων προσδιορισμού του διαθέσιμου εδαφικού βορίου στις καλλιέργειες της ελιάς και της κριθής. *Γεωργική Έρευνα*, **18**: 75–80

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β: ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Two separate experiments were conducted (a growth chamber experiment and a field experiment) in order to investigate the effects of boron deficiency on selected morphological and physiological parameters of olive (*Olea europaea* L.) leaves. In the first experiment, two years old, self-rooted cuttings were hydroponically cultured with either adequate (control B+) or inadequate (B-) boron supply. Two leaf categories were distinguished (mature and young leaves). Mature leaves had been developed before the beginning of the experiment and thus under sufficient boron conditions, while young leaves were developed during the experimental period, under either boron sufficient (B+) or boron deficient conditions (B-). In the second experiment, leaf samples were collected from 20 years, old field-grown trees. Three leaf categories were distinguished, based on the absence or presence of boron deficiency symptoms (control leaves from healthy trees B12, healthy leaves from deficient trees B9, and boron deficient leaves B8). Boron deprivation resulted in dramatic growth inhibition of the new shoots, even 30 days after the beginning of the experiment (first experiment). Analysis of tissue boron concentration showed that, in both treatments, a significant portion of the boron content of mature leaves had been remobilized during the experimental period, possibly towards the developing leaves. However, the above remobilization was found to be higher under boron deficient conditions compared to boron sufficient ones. In both experiments, analysis of critical photosynthetic parameters as well as that of the composition of the soluble non-structural carbohydrate pool showed that boron deficiency does not affect the production of organic carbon in olive, even under severe boron deficiency. Moreover, structural studies of the transport phloem as well as analysis of the chemical composition of phloem exudates showed that boron deficiency does not affect, at least directly, the carbon translocation ability of the source leaves. However, boron deficiency caused a serious cessation of plant growth, which modified the carbon allocation pattern. In particular, carbon was preferably allocated to other (within-leaf) sinks, like the cell walls or secondary metabolites (phenolic compounds). The above carbon allocation pattern was further affected by the presence or absence of, other than boron deprivation, stress factors. These factors are absent in artificial environments (first experiment), but are commonly experienced by plants grown under field conditions (second experiment). Taken together, the results of the present study suggest that various stress factors cause, in many cases, a non-specific response on plant acclimation characteristics. As a result, different combinations of stress factors induce similar plant acclimation mechanisms (e.g. increased leaf thickness and thickness of individual tissues and structures, or accumulation of leaf total phenolic compounds). However, accumulation (varied from 2.5 to 400-fold) of a compound, possibly possessing a phenylpropanoid structure, may be a specific plant response to boron deprivation. As a general response, boron deficiency caused accumulation of leaf carbohydrates. Among them, mannitol concentration was especially increased. This sugar alcohol mediates boron mobility in the phloem via the formation of B-mannitol complexes. The above behaviour seems to account for the existence of a regulation mechanism for boron remobilization, which responds to external nutrient supply.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ: ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αγγλική

ABA	AB sisic A cid
ABC (μεταφορέας)	ATP B inding C assette (transporter)
ATP	A denosine T ri- P hosphate
BOR1 (μεταφορέας)	BOR on 1 (transporter)
CAM	C rassulaceae A cid M etabolism
CCD	C harge C oupled D evice
CHI	CH alcone I somerase
CHS	CH alcone S ynthase
DAHP	3- D eoxy- D - A rabino- H eptonate-7- P hosphate
dRG-II-B	RG-II - B oron d imer
EDTA	E thylene D i-amino T etra- A cetic acid
EPSP	5- E noyl- P yruvyl- S hikimate-3- P hosphate
F _v / F _m	V ariable to M aximum F luorescence ratio
HPLC	H igh P erformance L iquid C hromatography
IAA	I ndole A cetic A cid
IPP	I so- P entane di- P hosphate
MIP	M ajor I ntrinsic P rotein
NAD(H)	N icotine A midic D inucleotide (ανηγμένη μορφή)
NR A	N aturstoff R eagent A
ODS	O cta- D ecyl S ilane
PAL	P henylalanine A mmonia L yase
PAR	P hotosynthetically A ctive R adiation
PEP	P hosphoro E noyl P yruvate
PIP1	P lasma membrane I ntrinsic P rotein 1
PPO	P oly P henol O xidase
PPP	P entose P hosphate P athway
RG-II	R hamno G alacturonane I I
RLK	R eceptor L ike protein K inase
ROS	R eactive O xygen S pecies
RuBisCO	R ib U lose B IS-phosphate C arboxylase / O xygenase
SLM	S pecific L eaf M ass
SOD	S uper O xide D ismutase

Ελληνική

HMA	Η λεκτρονικό Μ ικροσκόπιο Δ ιέλευσης
MB	Μ οριακό Β άρος
ΣΚ-ΗΣ (σύμπλεγμα)	σύμπλεγμα Σ υνοδού Κ υττάρου - Η θμόδους Σ τοιχείου

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα (σε θάλαμο ανάπτυξης ελεγχόμενων συνθηκών και στο πεδίο) ώστε να διαπιστωθούν οι μορφολογικές και φυσιολογικές επιπτώσεις της τροφοπενίας βορίου στα φύλλα της ελιάς (*Olea europaea* L.). Στο πρώτο πείραμα, αυτόριζα μοσχεύματα ελιάς ηλικίας δύο ετών αναπτύχθηκαν με υδροπονική καλλιέργεια σε δύο μεταχειρίσεις (μάρτυρας B+ και έλλειψη βορίου B-) για 90 ημέρες. Διακρίθηκαν δύο κατηγορίες φύλλων (ώριμα και νεαρά φύλλα). Τα ώριμα φύλλα είχαν ολοκληρώσει την ανάπτυξή τους πριν την έναρξη του πειράματος και συνεπώς είχαν αναπτυχθεί σε επάρκεια βορίου, ενώ τα νεαρά αναπτύχθηκαν μετά την έναρξη του πειράματος, είτε σε επάρκεια (B+) είτε σε ανεπάρκεια (B-) του στοιχείου. Στο δεύτερο πείραμα ελήφθησαν δείγματα φύλλων τρέχουσας βλάστησης από δένδρα ηλικίας 20 ετών. Τα δείγματα φύλλων διακρίθηκαν σε τρεις κατηγορίες, με κριτήριο την παρουσία ή απουσία συμπτωμάτων τροφοπενίας βορίου (φύλλα μάρτυρες από υγιή δένδρα B12, υγιή φύλλα από προσβεβλημένα δένδρα B9 και φύλλα με συμπτώματα τροφοπενίας B8). Η έλλειψη βορίου προκάλεσε σημαντική καταστολή της αύξησης της νέας βλάστησης μόλις 30 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος (πρώτο πείραμα). Οι αναλύσεις του περιεχομένου βορίου των φύλλων έδειξαν ότι στο τέλος του πειράματος σημαντικό ποσοστό του βορίου των ώριμων φύλλων επανεκκινήθηκε, πιθανότατα προς τα αναπτυσσόμενα νεαρά φύλλα και στις δύο μεταχειρίσεις. Ωστόσο, η επανεκκίνηση ήταν υψηλότερη υπό συνθήκες έλλειψης του στοιχείου συγκριτικά με αυτή υπό συνθήκες επάρκειας. Και στα δύο πειράματα, οι αναλύσεις των φωτοσυνθετικών παραμέτρων και της σύστασης των φύλλων σε διαλυτούς μη δομικούς υδατάνθρακες, έδειξαν ότι η τροφοπενία βορίου δεν επηρεάζει την παραγωγή οργανικού άνθρακα στο φυτό της ελιάς, ακόμη και σε περιπτώσεις έντονης έλλειψης του στοιχείου. Επιπλέον, μελέτη της λεπτής δομής των στοιχείων μεταφοράς αλλά και χημικές αναλύσεις εξιδρωμάτων του χυμού του ηθμού έδειξαν ότι η τροφοπενία βορίου δεν επηρεάζει, τουλάχιστον άμεσα, την ικανότητα διανομής οργανικού άνθρακα από τα φύλλα παραγωγούς προς τα σημεία μεταβολικής κατανάλωσης. Ωστόσο, λόγω της σημαντικής καταστολής των αυξητικών διεργασιών ως αποτέλεσμα της έλλειψης βορίου, το πρότυπο της κατανομής των φωτοσυνθετικών προϊόντων τροποποιήθηκε. Η τροποποίηση αυτή αφορούσε αφενώς στην επένδυση σημαντικών ποσών οργανικού άνθρακα σε δομές όπως τα κυτταρικά τοιχώματα και αφετέρου στην αυξημένη βιοσύνθεση μορίων του δευτερογενούς μεταβολισμού (φαινολικά συστατικά). Το παραπάνω πρότυπο κατανομής τροποποιήθηκε κατά περίπτωση, ως αποτέλεσμα της παρουσίας ή απουσίας και άλλων παραγόντων καταπόνησης. Οι παράγοντες αυτοί απουσιάζουν από τεχνητά περιβάλλοντα ανάπτυξης (πρώτο πείραμα), αλλά συναντώνται υπό φυσιολογικές συνθήκες σε φυτά που αναπτύσσονται στο πεδίο (δεύτερο πείραμα). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, η επίδραση των διαφόρων παραγόντων καταπόνησης επί των χαρακτηριστικών εγκλιματισμού των φυτών είναι, σε πολλές περιπτώσεις, μη εξειδικευμένη. Ως αποτέλεσμα, διαφορετικοί συνδυασμοί καταπονήσεων επάγουν τους ίδιους μηχανισμούς εγκλιματισμού (όπως η αύξηση του πάχους του ελάσματος και των επιμέρους ιστών και δομών ή η συσσώρευση φαινολικών συστατικών). Ωστόσο, η συσσώρευση (από 2,5 έως και 400 φορές) ενός συστατικού, πιθανότατα με μοριακή δομή φαινυλοπροπανοειδούς, ενδέχεται να αποτελεί εξειδικευμένη αντίδραση των φυτών στην έλλειψη βορίου. Γενικά, η έλλειψη βορίου προκάλεσε συσσώρευση υδατανθράκων στα φύλλα. Ιδιαίτερα αυξημένη εμφανίστηκε η συγκέντρωση της μαννιτόλης. Η σακχαροαλκόλη αυτή αποτελεί το μόριο – φορέα για τη διακίνηση του βορίου στα αγγεία του ηθμού. Η παραπάνω συμπεριφορά αποτελεί ένδειξη για την ύπαρξη ενός μηχανισμού ρύθμισης των ποσοτήτων βορίου που επανεκκινούνται εντός του φυτού, ως απόκριση στις συνθήκες θρέψης.

APPENDIX D: ABSTRACT

