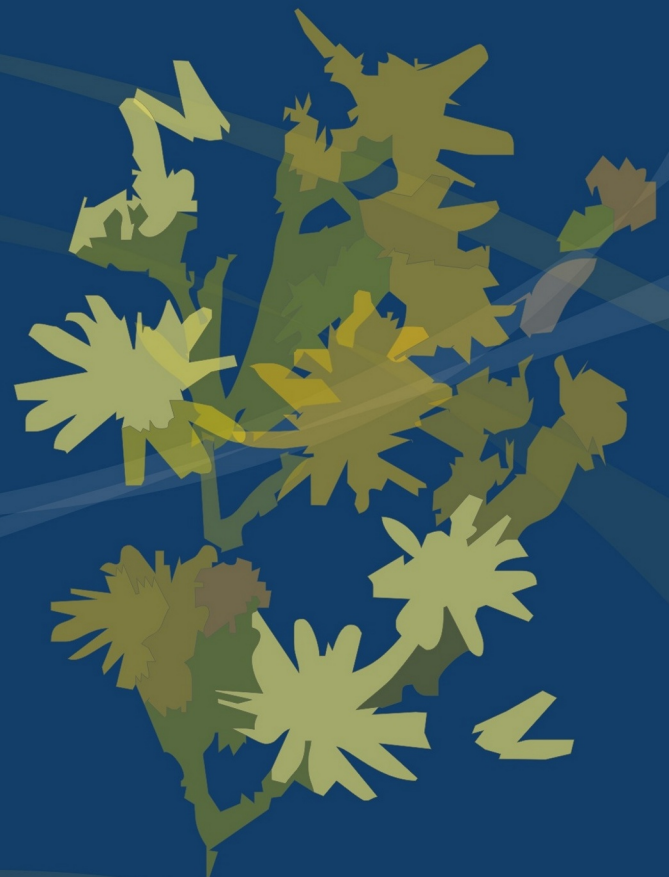


**Χημική Σύσταση του Επιεφυμενιδικού Εκκρίματος
του Φυτού *Dittrichia viscosa* και Αξιολόγηση
του Φυτοπροστατευτικού Δυναμικού του
Έναντι Παθογόνων Μικροοργανισμών**

Διδακτορική Διατριβή

Σωτηρία-Βασιλική Σταυριανάκου
Αθήνα 2009



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ**

**ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΕΦΥΜΕΝΙΔΙΚΟΥ ΕΚΚΡΙΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *DITTRICHIA VISCOSA*
ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΤΟΥ ΕΝΑΝΤΙ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ**

ΣΩΤΗΡΙΑ-ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΣΤΑΥΡΙΑΝΑΚΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2009

‘Η έγκρισις της παρούσης διδακτορικής διατριβής υπό του
Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει
αποδοχήν των γνώμεων του συγγραφέως’

[Νόμος 5343/1932, άρθρο 202]

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΜΕΛΗ

ΙΩΑΝΝΗΣ ΔΡΟΣΟΠΟΥΛΟΣ – ΟΜΟΤΙΜΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΠΟΛΥΔΕΥΚΗΣ ΧΑΤΖΟΠΟΥΛΟΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΖΙΩΓΑΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΚΑΤΙΝΑΚΗΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΓΙΑΝΝΗΣ ΜΑΝΕΤΑΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Π. ΠΑΤΡΩΝ

ΠΟΛΥΔΕΥΚΗΣ ΧΑΤΖΟΠΟΥΛΟΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ – ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Π.Α.

ΕΛΕΝΗ ΣΚΑΛΤΣΑ – ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Ε.Κ.Π.Α.

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΛΙΑΚΟΠΟΥΛΟΣ – ΛΕΚΤΟΡΑΣ Γ.Π.Α.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ



Η εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής
έτυχε χορήγησης υποτροφίας
από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών



Μέρος της διδακτορικής διατριβής
χρηματοδοτήθηκε από την Γενική Γραμματεία
Έρευνας και Τεχνολογίας

Στους γονείς μου Μαρία και Σωτήρη

Αντί προλόγου

Η παρούσα διδακτορική διατριβή μου έδωσε την δυνατότητα να μελετήσω ένα μικρό υποσύνολο των θαυμαστών μηχανισμών μέσω των οποίων οι φυτικοί οργανισμοί εντάσσονται στο περιβάλλον τους και επιβιώνουν επιτυχώς παρά την ύπαρξη πολλών και ετερόκλητων δυσμενών περιβαλλοντικών παραγόντων και εχθρών. Όπως κάθε εστιασμένη επιστημονική εργασία, η παρούσα μελέτη απαίτησε την άοκνη επίβλεψη και καθοδήγηση ορισμένων ανθρώπων τους οποίους θα ήθελα από τη θέση αυτή να αναφέρω.

Τον Καθηγητή κ. Γεώργιο Καραμπουρνιώτη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου αυτή την διδακτορική διατριβή και την υπομονή με την οποία με οδήγησε στην ολοκλήρωσή της.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής του Ε.Κ.Π.Α. κ. Ελένη Σκαλτσά για την ουσιαστική συμβολή της στην εκπόνηση ενός σημαντικού τμήματος της παρούσας διατριβής αλλά επίσης και για τις γνώσεις που μου μετέδωσε όσο καιρό φιλοξενήθηκα στο εργαστήριό της.

Τον Ομότιμο Καθηγητή του Γ.Π.Α. κ. Ιωάννη Δροσόπουλο για την συμμετοχή του στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή καθώς και για τη συμπαράστασή του σε καίριες στιγμές.

Τον Καθηγητή του Γ.Π.Α. κ. Πολυδεύκη Χατζόπουλο για την συμμετοχή του στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή καθώς και για το ειλικρινές του ενδιαφέρον.

Τον Καθηγητή του Γ.Π.Α. κ. Βασίλειο Ζιώγα για την συμμετοχή του στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή αλλά και για την επιστημονική βοήθεια και τις πολύτιμες υποδείξεις του καθόλη τη διάρκεια των πειραμάτων.

Τον Καθηγητή του Γ.Π.Α. κ. Παναγιώτη Κατινάκη για την συμμετοχή του στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή και για την υποστήριξή του τόσο στα πλαίσια της διατριβής αλλά και γενικότερα.

Τον Καθηγητή του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Φυτών του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Πατρών κ. Ιωάννη Μανέτα για τη συμμετοχή του στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή όπως επίσης και για την ενεργή συμμετοχή του στην διαμόρφωση της υπόθεσης εργασίας της παρούσας διατριβής.

Τον Λέκτορα του Γ.Π.Α. κ. Γεώργιο Λιακόπουλο για τη συμμετοχή του στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή, τη βοήθειά του σε όλα τα στάδια της εκπόνησης της παρούσας διατριβής και την αδελφική του φιλία.

Τα μέλη ΔΕΠ του Εργαστηρίου Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών του Γ.Π.Α. Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Δημήτριο Μπουράνη, Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Φασσέα, Επίκουρο Καθηγητή κ. Γεώργιο Αϊβαλάκι, Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Χριστίνα Κιτσάκη, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Σπυρίδων Κίντζιο, και τους Λέκτορες κ. Σταμάτιο Ρήγα και κα Στυλιανή Χωριανοπούλου για την υποστήριξη που μου παρείχαν όποτε την χρειάστηκα. Όπως επίσης και τα μέλη, συνεργάτες και φοιτητές του Εργαστηρίου, Δρ. Δημοσθένη Νικολόπουλο, Δρ. Βάλλυ Λιάκουρα, Δρ. Εμμανουήλ Φιλίππου, Ανδριάντα Σηψά, Σταύρο Πίπιλα, Δρ. Κωνσταντίνο Δελή, Κορνήλιο Βέκκο, Ευαγγελία Ρέστα, Ευάγγελο Καρβώνη, Δρ. Δέσποινα Μυλτιάδου, Βασιλική Καναρά, Βασιλική Σταυρουλάκη και Γεωργία Τσουλάκου.

Τα μέλη ΔΕΠ του Γ.Π.Α., Επίκουρους Καθηγητές κ. Κωνσταντίνο Σαϊτάνη, κ. Θεοφάνη Κωνσταντινίδη και κ. Αναστάσιο Μάρκογλου για την επιστημονική και τεχνική βοήθεια που μου παρείχαν σε θέματα της ειδικεισής τους. Επίσης, την ερευνήτρια κ. Νίκη Προξενιά του Εργαστηρίου Μηχανικής Τροφίμων, Επεξεργασίας και Συντήρησης Γεωργικών Προϊόντων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Γ.Π.Α. για τη βοήθειά της στην λυοφιλίωση δειγμάτων.

Τους συνεργάτες από το Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Πατρών, Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Γιόλα Πετροπούλου, Δρ. Παναγιώτα Καραγεώργου, Επίκουρο Καθηγητή κ. Γεώργιο Γραμματικόπουλο, Δρ. Περικλή Δρίλια, Δρ. Μαριάνθη Στεφάνου και Δρ. Μαριάνθη Κούκη για το ευχάριστο κλίμα που καλλιέργησαν κατά την παραμονή μου στο εργαστήριο. Επίσης τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Άρη Κυπαρίση και την Λέκτορα κ. Ευθυμία Λεβίζου του Εργαστηρίου

Εφαρμοσμένης Βοτανικής του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για τη συνεργασία και τη φιλική τους διάθεση.

Τους συνεργάτες από τον Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής του Ε.Κ.Π.Α. Δρ. Αναστασία Καριώτη, Δρ. Χριστιάνα Γουσιάδου, Δρ. Βάσια Σαρόγλου, Δρ. Κατερίνα Αργυροπούλου για την πολύτιμη βοήθεια και τη φιλία τους.

Τον διευθυντή μου και τους συναδέλφους από την Διεύθυνση Γεωργικής Ανάπτυξης της Περιφέρειας Αττικής για τη συμπαράστασή τους.

Την οικογένειά μου Μαρία, Χρυσάνθη, Χρήστο, Σωτήρη, Παναγιώτη και Χρήστο για την αγάπη, την υποστήριξη, την προτροπή και την αισιοδοξία τους.

Αντί προλόγου	vii
Περίληψη	xi
Abstract	xii
Εισαγωγή	13
I. Το τρίχωμα των φυτών.....	15
I.1. Γενικά.....	15
I.1.1. Μη αδενώδες τρίχωμα.....	16
I.1.2. Αδενώδες τρίχωμα.....	17
I.2. Οντογένεση του τριχώματος.....	18
I.3. Εκκριτική λειτουργία και σύσταση του εκκρίματος των αδενωδών τριχών.....	19
I.4. Φυσιολογικοί και οικολογικοί ρόλοι του τριχώματος.....	21
I.5. Τρίχωμα: Γονίδια και Περιβάλλον.....	27
II. Δευτερογενής μεταβολισμός.....	33
II.1. Φλαβονοειδή.....	34
II.1.1. Βιοσύνθεση φλαβονοειδών.....	34
II.1.1.1. Γενικά.....	34
II.1.1.2. Χαλκόνες και φλαβανόνες.....	34
II.1.1.3. Βιοσυνθετική οδός από τις φλαβανόνες έως τις ανθοκυανίνες.....	35
II.1.1.4. Αουρόνες.....	36
II.1.1.5. Φλαβόνες και φλαβονόλες.....	36
II.1.1.6. Ισοφλαβονοειδή.....	39
II.1.1.7. Φλαβαν-4-όλες και φλαβαν-3-όλες.....	39
II.1.2. Ρόλοι φλαβονοειδών στη φυσιολογία και οικολογία των φυτών.....	40
II.1.2.1. Επίδραση των φλαβονοειδών στην ανάπτυξη και αναπαραγωγή.....	40
II.1.2.2. Αλληλεπίδραση με το αβιοτικό περιβάλλον.....	41
II.1.2.3. Αλληλεπίδραση με ζωικούς οργανισμούς.....	42
II.1.2.4. Αλληλοπαθητική δράση μεταξύ φυτών.....	43
II.1.2.5. Αλληλεπίδραση με μικροοργανισμούς.....	44
II.2. Σεσκιτερπένια.....	46
II.2.1. Βιοσύνθεση σεσκιτερπενίων.....	46
II.2.1.1. Σεσκιτερπενικές λακτόνες.....	47
II.2.2. Ρόλοι σεσκιτερπενίων στη φυσιολογία και οικολογία των φυτών.....	50
II.2.2.1. Επίδραση των σεσκιτερπενίων στη φυσιολογία των φυτών.....	51
II.2.2.2. Αλληλεπίδραση με ζωικούς οργανισμούς.....	51
II.2.2.3. Αλληλοπαθητική δράση μεταξύ φυτών.....	52
II.2.2.4. Αλληλεπίδραση με μικροοργανισμούς.....	53
III. Χαρακτηριστικά του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i>	55
III.1. Βοτανικοί χαρακτήρες.....	55
III.2. Οικολογία.....	56
III.3. Ανατομία και εκκριτική λειτουργία του τριχώματος.....	58
III.4. Χημική σύσταση.....	60
III.4.1. Εκχυλίσματα-εκπλύματα.....	60
III.4.1.1. Φαινολικές ενώσεις.....	60
III.4.1.2. Τερπένια.....	63
III.4.1.3. Γλυκολιπίδια και ακετυλενίδια.....	68
III.4.2. Αιθέρια έλαια.....	68
III.5. Ιδιότητες-Βιολογική δράση.....	69
III.5.1. Φαρμακευτικές ιδιότητες.....	69
III.5.2. Λοιπές ιδιότητες.....	72
Σκοπός	75
Υλικά και Μέθοδοι	79
I. Επίδραση εκπλυμάτων του επιεμφμενιδικού υλικού των φυτών <i>Cistus creticus</i> και <i>Dittrichia viscosa</i> στην ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών.....	81
I.1. Προετοιμασία εκπλυμάτων του φυτικού υλικού.....	81
I.2. Μικροοργανισμοί και συνθήκες καλλιέργειας.....	81
I.3. Διενέργεια βιοδοκιμών.....	82
I.3.1. Προετοιμασία υποστρώματος βιοδοκιμών.....	82
I.3.2. Βιοδοκιμές ανάπτυξης βακτηρίων.....	83
I.3.3. Βιοδοκιμές μυκηλιακής ανάπτυξης μυκήτων.....	83
I.3.4. Βιοδοκιμές βλάστησης σπορίων μυκήτων.....	84
I.3.5. Βιοδοκιμές ανάπτυξης του μύκητα <i>Botrytis cinerea</i> σε φυτά <i>Cucumis sativus</i>	84
I.4. Στατιστική επεξεργασία.....	84

II. Χημική ανάλυση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i>	86
II.1. Χρωματογραφικός διαχωρισμός	86
II.2. Ταυτοποίηση	87
II.2.1. Φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis)	87
II.2.2. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR: Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy)	87
II.2.3. Μέτρηση ειδικής γωνίας στροφής $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$	87
Αποτελέσματα	89
I. Επίδραση εκπλυμάτων του επιεφυμενιδικού υλικού των φυτών <i>Cistus creticus</i> και <i>Dittrichia viscosa</i> στην ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών	91
I.1. Επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Cistus creticus</i> στην <i>in vitro</i> ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών	91
I.1.1. Βακτήρια	91
I.1.2. Μύκητες	94
I.2. Επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i> στην <i>in vitro</i> ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών	98
I.2.1. Βακτήρια	98
I.2.2. Μύκητες	101
I.3. Επίδραση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i> στην <i>in vitro</i> ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών	105
I.3.1. Βακτήρια	106
I.3.2. Μύκητες	108
I.4. Επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i> στην <i>in vitro</i> ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών	109
I.4.1. Βακτήρια	110
I.4.2. Μύκητες	112
I.5. Επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i> στην <i>in planta</i> ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Botrytis cinerea</i>	116
II. Χημική ανάλυση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i>	119
II.1. Φλαβονοειδή	119
II.2. Σεσκιτερπένια	127
Συζήτηση	149
I. Επίδραση εκπλυμάτων του επιεφυμενιδικού υλικού των φυτών <i>Cistus creticus</i> και <i>Dittrichia viscosa</i> στην ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών	151
I.1. Επίδραση των χλωροφορμικών εκπλυμάτων του επιεφυμενιδικού υλικού των φυτών <i>Cistus creticus</i> και <i>Dittrichia viscosa</i> στην <i>in vitro</i> ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών	151
I.2. Επίδραση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i> στην <i>in vitro</i> ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών	154
I.3. Επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i> στην <i>in vitro</i> και <i>in planta</i> ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών	156
II. Χημική ανάλυση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού <i>Dittrichia viscosa</i>	159
Βιβλιογραφία	163

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία αξιολογήθηκε το φυτοπροστατευτικό δυναμικό του επιεφυμενιδικού εκκρίματος του φυτού *Dittrichia viscosa* (Asteraceae) έναντι παθογόνων μικροοργανισμών. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε σύγκριση της *in vitro* αντιμικροβιακής δράσης του χλωροφορμικού εκπλύματος του μίγματος των επιεφυμενιδικών συστατικών του υπέργειου τμήματος των φυτών *D. viscosa* και *Cistus creticus* (Cistaceae). Συγκεκριμένα η σύγκριση αφορούσε στην επίδραση των δύο υλικών επί της ανάπτυξης των βακτηρίων *Pseudomonas syringae* pv *garcae*, *P. syringae* subsp. *savastanoi*, *P. syringae* pv *syringae* και *Xanthomonas campestris* pv *pelargonii* καθώς και των μυκήτων *Ustilago maydis*, *Botrytis cinerea* και *Nectria haematococca* var. *cucurbitae*. Τα εκπλύματα εφαρμόστηκαν σε δόσεις οι οποίες αντιστοιχούσαν σε υπο- ή πολλαπλάσια της δόσης προσομοίωσης η οποία αντιστοιχεί στην φυσική συγκέντρωση επί της επιφάνειας των φυτικών οργάνων του μίγματος των ουσιών οι οποίες εκπλένονται από το εκάστοτε φυτό υπό τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες. Η επίδραση του φυτικού υλικού (θετική ή αρνητική) επί της ανάπτυξης των φυτοπαθογόνων εξαρτήθηκε από το είδος του μικροοργανισμού και το είδος του φυτού καθώς και από την εφαρμοζόμενη δόση. Παρόλα αυτά, ως τα πλέον ευαίσθητα στην επίδραση και των δύο φυτικών υλικών εμφανίστηκαν τα είδη *X. campestris* pv *pelargonii* και *N. haematococca* var. *cucurbitae* μεταξύ των βακτηρίων και των μυκήτων αντίστοιχα. Πάντως, από τη σύγκριση της *in vitro* αντιμικροβιακής δράσης των δύο υλικών προκύπτει ότι το επιεφυμενιδικό έκκριμα του φυτού *D. viscosa* είναι περισσότερο αποτελεσματικό στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης μιας σειράς φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών συγκριτικά με το αντίστοιχο έκκριμα του φυτού *C. creticus*.

Επίσης, δεδομένου του σχετικά υδατοδιαλυτού χαρακτήρα του εκκρίματος του *D. viscosa* και επειδή στη φύση το νερό αποτελεί το μοναδικό διαλύτη έκπλυσής του, στην παρούσα εργασία μελετήθηκε και η *in vitro* αντιμικροβιακή δράση του υδατικού εκπλύματος του μίγματος των επιεφυμενιδικών συστατικών του φυτού και συγκρίθηκε με αυτή του αντίστοιχου χλωροφορμικού εκπλύματος. Αν και η επίδραση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού επί της ανάπτυξης των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών εμφανίστηκε σε γενικές γραμμές λιγότερο παρεμποδιστική συγκριτικά με αυτή του χλωροφορμικού, το προστατευτικό του δυναμικό υπήρξε αρκετά υψηλό και κατά περίπτωση θα μπορούσε ίσως να αποτελέσει παράγοντα προστασίας καλλιεργούμενων φυτών έναντι φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών. Στη συνέχεια και προκειμένου να καταστεί ευκολότερη η παραλαβή και εφαρμογή του επιεφυμενιδικού εκκρίματος εφαρμόστηκε λυοφιλίωση στο παραλαμβανόμενο (μέσω τρίωρης υδατικής έκπλυσης του υπέργειου τμήματος του φυτού *D. viscosa*) φυτικό υλικό έτσι ώστε το εφαρμοζόμενο διάλυμα να προκύπτει ύστερα από επαναδιάλυση του λυοφιλιωμένου υλικού σε νερό. Το λυοφιλιωμένο υλικό δοκιμάστηκε επί της *in vitro* ανάπτυξης φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών με ευρύ γεωπονικό ενδιαφέρον (*Erwinia amylovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, *B. cinerea*, *Fusarium* sp., *Sclerotinia sclerotiorum*). Βρέθηκε ότι η επίδραση του υλικού επί της ανάπτυξης των παραπάνω μικροοργανισμών εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού και την εφαρμοζόμενη δόση. Στη συνέχεια αξιολογήθηκε η ικανότητα του λυοφιλιωμένου υλικού να αποτρέπει την προσβολή φυτών και καρπών αγγουριάς από τον μύκητα *B. cinerea*. Η εφαρμογή του υλικού είχε ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της εξέλιξης έως και την πλήρη παρεμπόδιση της σήψης των κοτυληδόνων ή των καρπών του φυτού από τον μύκητα η οποία ήταν κατά περίπτωση ανάλογη ή ανώτερη αυτής του μυκητοκτόνου Teldor. Δεδομένου ότι η χρήση σκευασμάτων φυτικής προέλευσης προσφέρει συγκριτικά πλεονεκτήματα έναντι συνθετικών χημικών σκευασμάτων και με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμπεραίνεται ότι το επιεφυμενιδικό έκκριμα του *D. viscosa* δύναται να αποτελέσει παράγοντα φυτοπροστασίας έναντι παθογόνων μικροοργανισμών.

Τέλος στα πλαίσια της παρούσας μελέτης διενεργήθηκε χημική ανάλυση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος, η οποία οδήγησε στην απομόνωση επτά φλαβονοειδών (ισπιντουλίνη, 6-μεθοξυκαιμπερόλη, 3,7-διμεθυλαιθέρας της 6-υδροξυκαιμπερόλης, 3,3'-διμεθυλαιθέρας της κερκετίνης, 7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης, 3-ακετυλο-αρωμαδενδρίνη και 3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης) και οκτώ σεσκιτερπενίων (ιλικικό οξύ, κοστικό οξύ, ισοκοστικό οξύ, 3α-υδροξυ-ευδεσμα-4-εν-12,6β-ολίδιο, ινουβισκολίδιο, 8-επι-ινουβισκολίδιο, τομεντοσίνη και 4Η-τομεντοσίνη). Τα κυρίαρχα συστατικά του εκπλύματος ήταν ο 7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης και η τομεντοσίνη ενώ οι ενώσεις 3,7-διμεθυλαιθέρας της 6-υδροξυκαιμπερόλης και 3α-υδροξυ-ευδεσμα-4-εν-12,6β-ολίδιο αναφέρονται για πρώτη φορά ως συστατικά του φυτού. Είναι η πρώτη φυτοχημική ανάλυση του συγκεκριμένου είδους στην Ελλάδα και η πρώτη φορά που μελετήθηκε η σύσταση του υδατικού εκπλύματος του υπέργειου τμήματος του φυτού.

Abstract

The present study focused on antimicrobial potential of the epicuticular exudate from *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). The *in vitro* antimicrobial effect of the leaf chloroform-soluble epicuticular material of *D. viscosa* was compared with that of *Cistus creticus* (Cistaceae). Both materials were assessed against phytopathogenic bacteria (*Pseudomonas syringae* pv *garcae*, *P. syringae* subsp. *savastanoi*, *P. syringae* pv *syringae*, *Xanthomonas campestris* pv *pelargonii*) and fungi (*Ustilago maydis*, *Botrytis cinerea*, *Nectria haematococca* var. *cucurbitae*). Both materials were applied at doses corresponding to sub- or multiples of their native concentration estimated by the abundance of substances rinsed from a particular plant surface under specific conditions. According to the bioassays, the effect (inhibition or promotion) on microbial growth was dependent on plant species, pathogen species and applied dose. Among the tested species, *X. campestris* pv *pelargonii* and *Nectria haematococca* var. *cucurbitae* were found to be the most sensitive for both plant materials. However the defensive potential of epicuticular material of *C. creticus* was lower compared to that of *D. viscosa*.

Taking into account that a considerable part of epicuticular exudate is water soluble and that water is the only solvent naturally available in the phyllosphere, the *in vitro* antimicrobial effect of aqueous rinses of *D. viscosa* was also tested and compared to that of the chloroformic one. Despite that the antimicrobial effect of aqueous rinses was less pronounced, they could be considered as potent antimicrobial agents. In order to result in a more feasible handling and application of the material, the starting material (produced by a 3 h aqueous rinsing of the plant surfaces) was lyophilized. The working solution was prepared by diluting the appropriate amount of lyophilized epicuticular material in water. The lyophilized material was tested against the *in vitro* growth of agronomically important plant pathogens (*Erwinia amylovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, *B. cinerea*, *Fusarium* sp., *Sclerotinia sclerotiorum*). According to the bioassays, the effect on microbial growth was dependent on pathogen species and applied dose. Finally, experiments conducted with cucumber seedlings or fruits showed that external application of the material results in the delay and/or complete inhibition of infection by *B. cinerea*. This inhibitory effect was comparable to superior compared to that of the Teldor commercial fungicide. Given that the application of a naturally occurring phytoprotective material offers comparative advantages and judging from the results of the present study, it is concluded that the epicuticular material of *D. viscosa* is a potent protective agent against phytopathogenic microorganisms.

The chemical analysis of the lyophilized aqueous rinses of *D. viscosa* afforded seven flavonoids (hispidulin, 6-methoxykaempferol, 6-hydroxykaempferol 3,7-dimethyl ether, quercetin 3,3'-dimethyl ether, aromadendrin 7-methyl ether, aromadendrin 3-acetate and aromadendrin 7-methyl ether 3-acetate) as well as eight sesquiterpenes (ilicic acid, costic acid, isocostic acid, 3 α -hydroxy-eudesma-4-en-12,6 β -olide, inuviscolide, 8-*epi*-inuviscolide, tomentosin and 4H-tomentosin). The dominant constituents were aromadendrin 7-methyl ether and tomentosin. So far, 6-hydroxykaempferol 3,7-dimethyl ether and 3 α -hydroxy-eudesma-4-en-12,6 β -olide have not been isolated from this species. This is the first study on the chemical analysis of *D. viscosa* aqueous rinses.

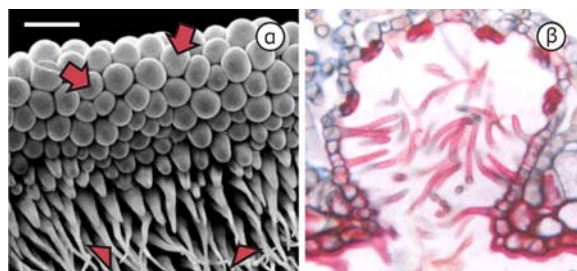
Εισαγωγή

I. Το τρίχωμα των φυτών

I.1. Γενικά

Στην επιφάνεια των οργάνων πλήθους φυτικών ειδών, απαντάται ποικιλία αποφύσεων της επιδερμίδας, οι οποίες διαφέρουν σε μορφή, μέγεθος, αριθμό κυττάρων, προέλευση και λειτουργία. Παρόλο που υπάρχουν διάφορες μέθοδοι κατηγοριοποίησής τους, καμία δεν είναι πλήρως ικανοποιητική αφού όλες παρουσιάζουν μειονεκτήματα, εξαιρέσεις και επικαλύψεις, με αποτέλεσμα η επιλογή της μεθόδου να είναι υποκειμενική (Solereger, 1908; Urfhof, 1962). Μεταξύ των επιδερμικών αυτών αποφύσεων, οι τρίχες αποτελούν, τόσο από πλευράς δομής όσο και προτύπου ανάπτυξης, μια ενδιάμεση ομάδα μεταξύ των θηλών (papillae) και των προεκβολών (emergences) (εικόνα 1.α). Ο όρος θηλής αφορά σε μικρών διαστάσεων αποφύσεις της επιδερμίδας ενώ ο όρος προεκβολές σε ογκώδεις κατασκευές όπως αγκάθια και αδένες. Η διαφορά μεταξύ τριχών και προεκβολών είναι οντογενετική, παρόλο που το τελικό αποτέλεσμα μπορεί να είναι ίδιο σε σχήμα και λειτουργία. Ο όρος τρίχες αποδίδεται σε μονοκύτταρα ή πολυκύτταρα εξαρτήματα, τα οποία προέρχονται αποκλειστικά από επιδερμικά κύτταρα και αναπτύσσονται στην επιφάνεια ποικίλων φυτικών οργάνων. Ορισμένοι ερευνητές μάλιστα, περιορίζουν τη χρήση του όρου αυτού σε αποφύσεις που προέρχονται από ένα και μόνο επιδερμικό κύτταρο. Ο όρος τρίχωμα αφορά στο σύνολο των επιμέρους ανατομικών μονάδων (τριχών) ενός φυτικού οργάνου. Από την άλλη πλευρά, στη δημιουργία των προεκβολών, συμμετέχουν όχι μόνο επιδερμικά κύτταρα αλλά και κύτταρα υποδερμικών ιστών. Πρέπει να επισημανθεί ότι ενώ οι υποδερμικοί ιστοί δεν συμμετέχουν στην κατασκευή του τριχώματος, είναι δυνατό σε κάποιες περιπτώσεις να διαφοροποιούνται τοπικά κάτω από αυτό. Δεδομένου λοιπόν ότι η διάκριση μεταξύ τριχών και προεκβολών απαιτεί οντογενετική μελέτη, συχνά στη βιβλιογραφία ο όρος 'τρίχες' περιλαμβάνει και τις δύο αυτές κατηγορίες επιδερμικών εξαρτημάτων. Επίσης ορισμένοι εντάσσουν στον όρο αυτό και τις θηλές. Λόγω των όσων αναφέρθηκαν και προκειμένου να υπάρχει σαφής μορφολογική διάκριση από

άλλα επιδερμικά εξαρτήματα όπως οι θηλές, οι κύστες, και οι αδένες, για τον χαρακτηρισμό μιας δομής ως τρίχα χρησιμοποιούνται συχνά ως κριτήρια το ύψος ή/και η αναλογία πλάτους και ύψους (Theobald *et al.*, 1979; Behnke, 1984; Fahn, 1990; Werker, 2000).



Εικόνα 1.α. Μικροφωτογραφία Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Σάρωσης (ΗΜΣ) ακραίου τμήματος της προσαξονικής επιφάνειας γλωσσάριου άνθους φυτού *Ophrys fusca*. Με βέλη υποδεικνύονται θηλές και με κεφαλές βέλους τρίχες. Κλίμακα: 150 μm (Ascensão *et al.*, 2005). **β.** κρύπτη στην αποαξονική επιφάνεια φύλλου πικροδάφνης (*Nerium oleander*). Τα στόματα εμφανίζονται στο εσωτερικό τμήμα ενώ το τρίχωμα προς το άνοιγμα. Στην περίπτωση αυτή το τρίχωμα θεωρείται ότι συμβάλλει στη μείωση των απωλειών ύδατος (Wagner *et al.*, 2004).

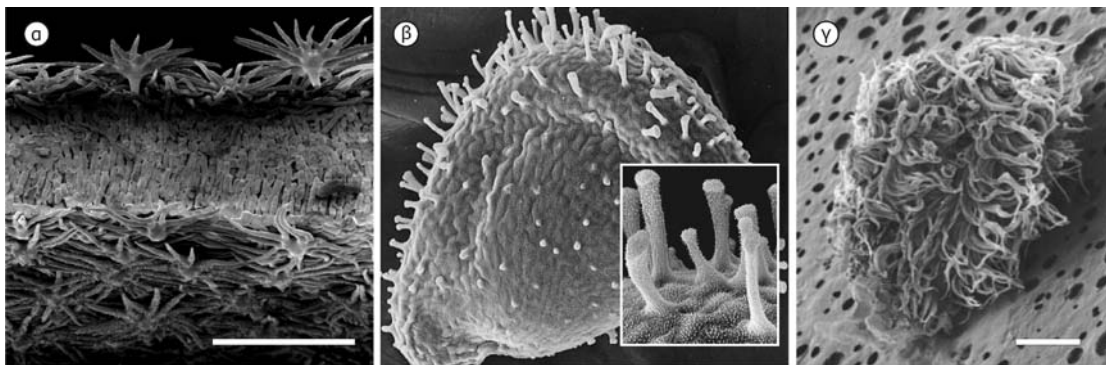
Το τρίχωμα δεν απαντάται αποκλειστικά στην εξωτερική επιφάνεια των φυτικών οργάνων. Για παράδειγμα, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων, και λόγω ανομοιόμορφης ανάπτυξης των επιμέρους ιστών, είναι δυνατόν να συμβεί βύθιση του τριχώματος εντός εγκολπώσεων ή σχεδόν πλήρης εγκλεισμός του εντός κοιλοτήτων οι οποίες ονομάζονται κρύπτες (εικόνα 1.β). Επίσης, σε αντίθεση με τα φύλλα, στα σπέρματα και τους καρπούς η προσαξονική επιφάνεια του σπερματικού περιβλήματος και του περικαρπίου εντοπίζεται στο εσωτερικό του οργάνου. Σε ορισμένα φυτικά είδη, η επιφάνεια αυτή φέρει τρίχωμα (Werker, 2000). Τρίχωμα μπορεί να καλύπτει διαφορετικά όργανα των φυτών, τόσο βλαστητικά (φύλλα, βλαστούς και βράκτια, καθώς και ρίζες σε μικρή απόσταση πάνω από το κορυφαίο μερίστωμα) (Manos, 1993; Bini Maleci *et al.*, 1995; Falciani *et al.*, 1995; Romeis *et al.*, 1999; Rapisarda *et al.*, 2001) όσο και αναπαραγωγικά (σέπαλα, πέταλα (Ascensão *et al.*, 2005), στήμονες, γυναικείο, σπέρματα (Gutterman, 1997; Sánchez-Tinoco and Engleman, 2004) και καρπούς) (Tsukaya *et al.*, 2002), (εικόνες 1-4, 9, 13). Ανάλογα με το

φυτικό όργανο στο οποίο απαντάται το τρίχωμα, η λειτουργία του μπορεί να ποικίλλει. Με βάση τη θέση του στο φυτό, μία σαφής διάκριση θα μπορούσε να γίνει ανάμεσα στο τρίχωμα που εμφανίζεται στα υπόγεια φυτικά τμήματα και σε αυτό που εμφανίζεται στα υπέργεια φυτικά τμήματα. Οι τρίχες των φυτών μπορεί να εμφανίζονται και να είναι λειτουργικές ή/και μεταβολικά ενεργές σε ορισμένα ή/και όλα τα αναπτυξιακά στάδια, να είναι εφήμερες ή μόνιμες και τέλος ζωντανές ή απονεκρωμένες (εξ' ολοκλήρου ή ορισμένα κύτταρά τους) ενώ η πυκνότητά τους μπορεί να εξαρτάται από το αναπτυξιακό στάδιο του φυτικού οργάνου (Johnson, 1975; Mahlberg *et al.*, 1984).

Το τρίχωμα συνήθως καλύπτεται από εφυμενίδα, η οποία εμφανίζει ποικιλία ως προς το πάχος και τη δομή και αποτελεί συνέχεια αυτής των επιδερμικών κυττάρων. Το κυτταρικό τοίχωμα των τριχών συνίσταται κυρίως από κυτταρίνη και μπορεί να είναι εμποτισμένο, εξ' ολοκλήρου ή τοπικά, με λιγνίνη, υμενίνη ή σουβερίνη (Uphof, 1962; Peterson and Vermeer, 1984; Zeriahe *et al.*, 1998; Werker, 2000).

Η ταξινόμηση των τριχών των υπέργειων φυτικών οργάνων είναι δυσχερής λόγω του

εξαιρετικά μεγάλου εύρους χαρακτηριστικών που εμφανίζουν ως προς την μορφή, την προέλευση, το μέγεθος, τη θέση, την λεπτή δομή της επιφάνειας, την εκκριτική ικανότητα, τον τρόπο και χρόνο έκκρισης και τη λειτουργία (εικόνες 1-4, 9, 13). Η χρήση μεμονωμένα καθενός από τα παραπάνω ταξινομικά κριτήρια οδηγεί σε αλληλεπικαλύψεις των διαφόρων ταξινομικών μονάδων, με αποτέλεσμα η ταξινόμηση να βασίζεται σε συνδυασμούς κριτηρίων ενώ είναι δυνατόν να απαιτούνται διαφορετικοί συνδυασμοί για διαφορετικές φυτικές ομάδες. Η σημαντικότερη ενδεχομένως διάκριση είναι αυτή μεταξύ αδενώδους και μη αδενώδους τριχώματος και βασίζεται στην εκκριτική ή μη ικανότητα των τριχών. Βεβαίως, και με αυτή την ταξινόμηση παρατηρούνται περιπτώσεις όπου οι τρίχες δεν μπορούν να ενταχθούν αποκλειστικά σε μία από τις δύο αυτές κατηγορίες. Τέλος αξίζει να επισημανθεί ότι τα μορφολογικά και χημικά χαρακτηριστικά του τριχώματος χρησιμοποιούνται στην ταξινομική όχι μόνο ειδών αλλά και ποικιλιών (Solereider, 1908; Uphof, 1962; Theobald *et al.*, 1979; Behnke, 1984; Wollenweber, 1984; Fahn, 1990; Dickison, 2000; Navarro and El Oualidi, 2000; Werker, 2000).



Εικόνα 2. α-γ. Μικροφωτογραφίες ΗΜΣ. **α.** Τομή φύλλου του φυτού *Alyssum murale* "Kotodesh". Διακρίνεται το πυκνό στρώμα τριχώματος τόσο στην προσαξονική όσο και στην αποσαξονική επιφάνεια του φύλλου, το οποίο απαρτίζεται από έμμισχες αστεροειδείς τρίχες με 8-14 επιμήκεις βραχίονες. Κλίμακα: 200 μm (Broadhurst *et al.*, 2004). **β.** Σπέρμα του φυτού *Spergularia diandra*, του οποίου το περίβλημα φέρει τρίχωμα. Ένθετο: λεπτομέρεια της επιφάνειας του σπερματικού περιβλήματος (Gutterman, 1997). **γ.** Σπερματική βλάστη βαμβακιού μετά από τρεις μέρες ανάπτυξης σε υγρό θρεπτικό μέσο. Διακρίνονται οι αναπτυσσόμενες ίνες. Κλίμακα: 500 μm (Sun *et al.*, 2005).

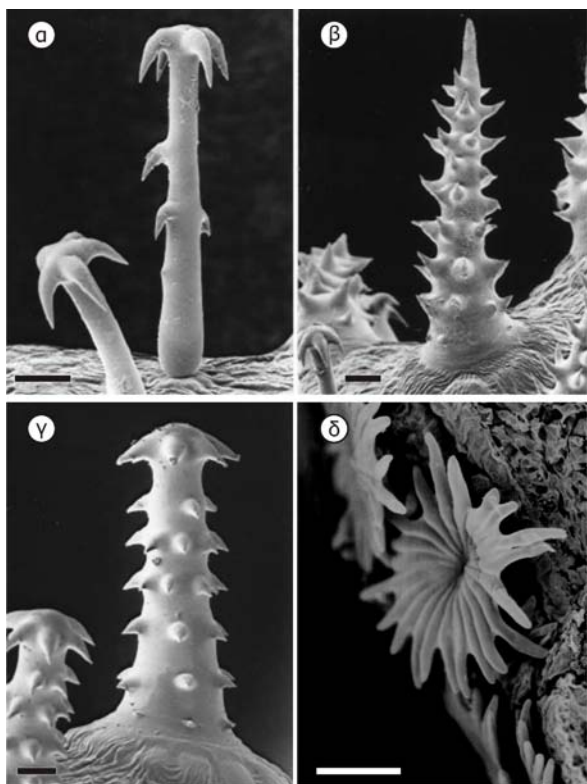
1.1.1. Μη αδενώδες τρίχωμα

Οι μη αδενώδεις τρίχες απαντώνται στα υπέργεια φυτικά όργανα των περισσότερων Αγγειόσπερμων καθώς και ορισμένων Γυμνόσπερμων και Βρυόφυτων και ποικίλλουν όσον αφορά στη μορφολογία, στην ανατομία και στη λεπτή δομή (εικόνα 3). Η ταξινόμησή τους

βασίζεται κυρίως σε μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως για παράδειγμα μονοκύτταρες ή πολυκύτταρες, διακλαδιζόμενες ή μη. Οι μη διακλαδιζόμενες πολυκύτταρες μη αδενώδεις τρίχες μπορεί να απαρτίζονται από ένα ή περισσότερα στρώματα κυττάρων, διαφορετικού μήκους, μεγέθους και μορφής και να είναι συμμετρικές ή ασύμμετρες. Μπορεί να ποικίλλουν

ως προς το πάχος και τη σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος. Οι διακλαδιζόμενες πολυκύτταρες μη αδενώδεις τρίχες είναι δυνατόν να διαθέτουν μονοκύτταρους ή πολυκύτταρους κλάδους, άνισους ή μη, ποικίλου μήκους, στο ίδιο ή διαφορετικό επίπεδο (αντίθετους ή κατ'εναλλαγή), ή να διατάσσονται σε μία ή περισσότερες σπείρες σχηματίζοντας θύσανο (Fahn, 1990).

Συνήθως, στην επιφάνεια του ίδιου φυτικού οργάνου, και σε ορισμένες περιπτώσεις σε διαφορετικές θέσεις του ίδιου οργάνου, απαντώνται περισσότεροι του ενός τύποι μη αδενωδών τριχών (εικόνα 3.α-γ) (Kaya *et al.*, 2007; Tattini *et al.*, 2007; Falara *et al.*, 2008; Marin *et al.*, 2008). Δυστυχώς οι λόγοι για τους οποίους το ίδιο φυτικό όργανο διαθέτει διαφορετικούς τύπους τριχώματος παραμένουν εν πολλοίς άγνωστοι (Eisner *et al.*, 1998).



Εικόνα 3. α-γ. Μικροφωτογραφίες ΗΜΣ διαφορετικών τύπων τριχών του φυτού *Mentzelia pumila*. **α.** Τύπος τρίχας με κορυφή σχήματος αγκίστρου και με σποραδικές πλάγιες διακλαδώσεις κυρτωμένες προς τα κάτω. **β.** Τύπος τρίχας κωνικού σχήματος με αιχμηρή κορυφή και με αιχμηρές πλάγιες διακλαδώσεις με κύρτωση προς τα πάνω. **γ.** Τύπος τρίχας κωνικού σχήματος αλλά με κορυφή και πλάγιες διακλαδώσεις κυρτωμένες προς τα κάτω. Μπάρες: 20 μm (Eisner *et al.*, 1998). **δ.** Μικροφωτογραφία ΗΜΣ μη αδενώδους τρίχας φύλλου ελιάς. Κλίμακα: 50 μm (προετοιμασία δείγματος: Γ. Λιακόπουλος, φωτογράφιση: Γ. Ψαράς).

Το κυτταρικό τοίχωμα των μη αδενωδών τριχών μπορεί να αποτελείται είτε από το πρωτογενές μόνο κυτταρικό τοίχωμα ή και από δευτερογενές (ομοιόμορφα ή ανομοιόμορφα πεπαχυσμένο). Σε ορισμένα ξηρομορφικά φυτικά είδη, τα κατώτερα κύτταρα των τριχών διαθέτουν πλευρικά τοιχώματα πλήρως εμποτισμένα από υμενίνη ώστε να παρεμποδίζεται η αποπλαστική κίνηση του νερού (Fahn, 1990; Werker, 2000).

1.1.2. Αδενώδεις τριχώμα

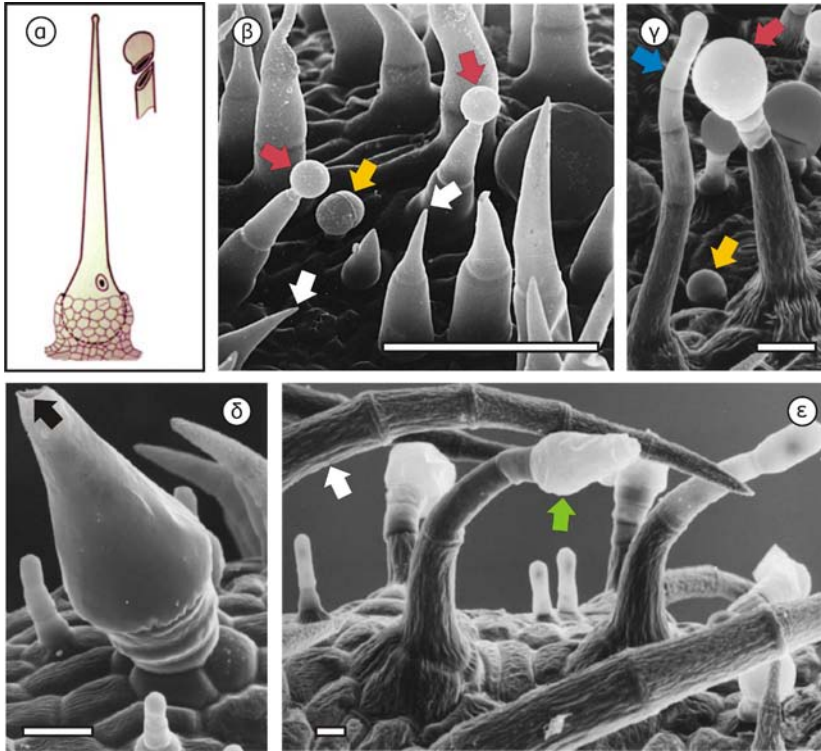
Ο όρος αδενώδεις αφορά σε τρίχες που παρουσιάζουν εκκριτική λειτουργία. Απαντώνται στο 30 % των τραχεόφυτων και μπορούν να διαφέρουν ως προς τη μορφή, την θέση, τη χημική σύσταση και τον μηχανισμό παραγωγής των ουσιών τις οποίες εκκρίνουν, απορροφούν ή συσσωρεύουν.

Οι αδενώδεις τρίχες, όπως και οι μη αδενώδεις, παρουσιάζουν εξαιρετικά ευρύ φάσμα μορφολογικών και ανατομικών χαρακτηριστικών (εικόνα 4) (Μποζαμπαλίδης, 2003). Στην πλειοψηφία των μονοκύτταρων αδενωδών τριχών, είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ του τμήματος βάσης και του κορυφαιού τμήματος λόγω της διαφορετικής τους μορφής (εικόνα 4.α). Στις πολυκύτταρες μονόστρωμες αδενώδεις τρίχες, παρατηρούνται συνήθως μορφολογικές διαφορές μεταξύ των κυττάρων κατά μήκος του άξονα της τρίχας ενώ μερικές φορές στις πολύστρωμες μπορεί να απαντάται διαφοροποίηση κατά μήκος της στρώσης (εικόνες 4.β-ε, 13.α-δ). Μια τυπική πολυκύτταρη αδενώδης τρίχα αποτελείται από τα εξής τμήματα (τα οποία μπορεί να αποτελούνται από ένα ή περισσότερα κύτταρα): **(α)** την εκκριτική κεφαλή, **(β)** το μίσχο, **(γ)** τη βάση, και **(δ)** σε ορισμένες περιπτώσεις από το τμήμα του λαιμού, το οποίο παρεμβάλλεται μεταξύ εκκριτικής κεφαλής και μίσχου και του οποίου τα κύτταρα διαφέρουν από εκείνα των δύο άλλων τμημάτων. Η διάκριση μεταξύ των τεσσάρων αυτών τμημάτων βασίζεται στα μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά των κυττάρων που συνιστούν το κάθε τμήμα (Mahlberg *et al.*, 1984; Fahn, 1990; Dickison, 2000).

Σε πολυάριθμα φυτικά είδη οι αδενώδεις τρίχες συνυπάρχουν στο ίδιο φυτικό όργανο με μη αδενώδεις και συχνά οι δύο αυτές κατηγορίες

αντιπροσωπεύονται από περισσότερους του ενός τύπους τριχών (εικόνα 4.β-ε) (Bini Maleci and Servettaz, 1991; Hill *et al.*, 1997; Corsi and Bottega, 1999; Gurr and McGrath, 2002; Simmons and Gurr, 2005). Οι συνυπάρχοντες τύποι αδενωδών τριχών είναι δυνατόν να διαφέρουν αξιοσημείωτα τόσο σε επίπεδο μορφολογίας όσο και σε επίπεδο χημικής σύστασης του εκκρίματος (Bottega and Corsi,

2000). Στην περίπτωση της συνύπαρξής τους με μη αδενώδεις τρίχες, το στρώμα των τελευταίων φαίνεται ότι προσφέρει προστασία στις συνήθως μικρότερου μεγέθους και δαπανηρές ως προς την κατασκευή και συντήρησή τους, αδενώδεις τρίχες. Σε άλλες περιπτώσεις, οι αδενώδεις τρίχες προστατεύονται με τη βύθιση ή την τοποθέτησή τους εντός κοιλοτήτων ή αυλακώσεων.



Εικόνα 4. α. Σχεδιάγραμμα μονοκύτταρης νύσσουσας τρίχας του φυτού *Urtica dioica*. Η κυστόμορφη βάση της τρίχας περιβάλλεται από κύτταρα της επιδερμίδας. β. Μικροφωτογραφία ΗΜΣ τριχών φύλλου του φυτού *Salvia aurea*. Διακρίνονται μη αδενώδεις τρίχες (λευκά βέλη) και διαφορετικοί τύποι αδενωδών τριχών (έγχρωμα βέλη). Κλίμακα: 100 μm (Serrato-Valenti *et al.*, 1997). γ-ε. Μικροφωτογραφίες ΗΜΣ μη αδενωδών τριχών (λευκά βέλη) και διαφορετικών τύπων αδενωδών τριχών (έγχρωμα βέλη) σε βλασθητικά (γ) και αναπαραγωγικά (δ-ε) όργανα του φυτού *Plectranthus ornatus*. Κλίμακες: 25 μm (Ascensão *et al.*, 1999).

Οι αδενώδεις τρίχες εκκρίνουν ποικιλία ενώσεων (όπως πολυσακχαρίτες, σάκχαρα, άλατα, λίπη, αιθέρια έλαια, κηρούς, πρωτεΐνες, κλπ.), χαρακτηριστικό το οποίο μπορεί να αξιοποιηθεί για την ταξινόμηση τους. Οι εκκρινόμενες ενώσεις δύναται να διακριθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες: (α) ενώσεις οι οποίες εκκρίνονται ως έχουν ή μετά από περιορισμένη μεταβολική τροποποίηση (όπως στην περίπτωση των τριχών που εκκρίνουν άλατα ή νέκταρ), και (β) ενώσεις οι οποίες συντίθενται από κύτταρα του εκκριτικού ιστού. Οι τελευταίες μπορεί να είναι υδρόφιλες (όπως στην περίπτωση των τριχών που εκκρίνουν κολλώδεις ουσίες, των νύσσουσών τριχών καθώς και των πεπτικών αδενωδών τριχών των σαρκοβόρων φυτών) ή λιπόφιλες (όπως για παράδειγμα οι αδενώδεις τρίχες που απαντώνται στις οικογένειες

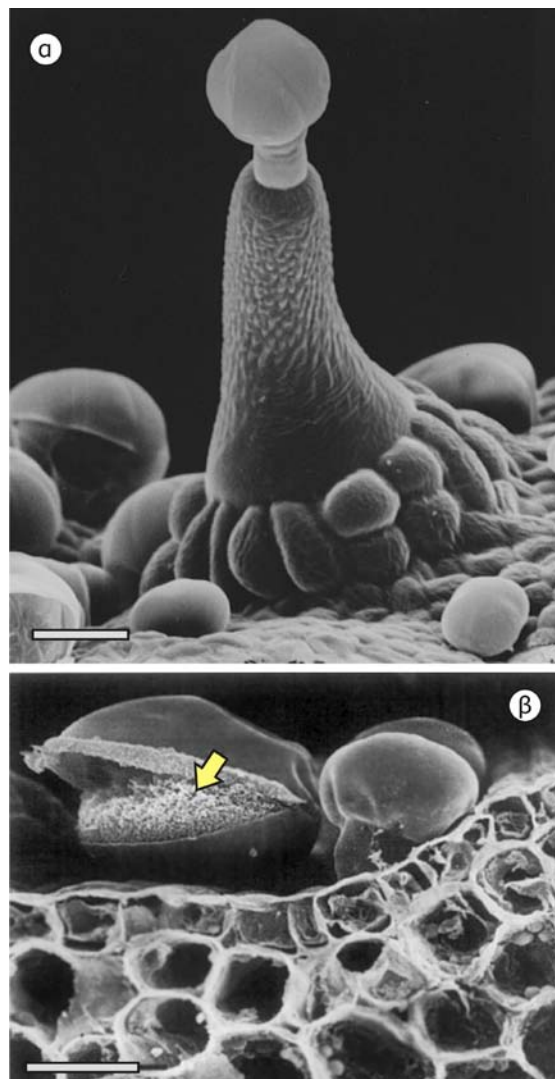
Lamiaceae, Asteraceae, Geraniaceae, Solanaceae και Cannabaceae). Ωστόσο, το σύστημα αυτό ταξινόμησης, το οποίο βασίζεται στον τύπο των εκκριμάτων, παρουσιάζει σημαντικά μειονεκτήματα δεδομένου ότι ορισμένες αδενώδεις τρίχες εκκρίνουν περισσότερους του ενός τύπου ενώσεων (Fahn, 1979). Επίσης, το ίδιο είδος λειτουργίας είναι δυνατό να επιτελείται από διαφορετικού τύπου εκκρίματα αλλά και το ίδιο είδος εκκρίματος μπορεί να επιτελεί διαφορετικές λειτουργίες (Fahn, 1990).

1.2. Οντογένεση του τριχώματος

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι τρίχες προέρχονται οντογενετικά από επιδερμικά κύτταρα. Η οντογένεση μπορεί να ακολουθεί διαφορετικά πρότυπα (Werker, 2000): (α) Ένα επιδερμικό κύτταρο δίνει γένεση σε μία

μονοκύτταρη ή πολυκύτταρη, μονόστρωμη ή πολύστρωμη τρίχα μέσω αντικλινών, περικλινών, κεκλιμένων διαιρέσεων ή/και συνδυασμό τους, ανάλογα με την περίπτωση (Mahlberg *et al.*, 1984; Karousou *et al.*, 1992; Afolayan and Meyer, 1995; Monteiro *et al.*, 2001; Μποζαμπαλίδης, 2003). (β) Ένα επιδερμικό κύτταρο δίνει γένεση σε μονόστρωμη ή πολύστρωμη τρίχα ενώ το βάθρο στήριξης προέρχεται από τα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα (Ascensão *et al.*, 1995; Ascensão and Pais, 1998) (εικόνα 5.α). (γ) Περισσότερα από ένα επιδερμικά κύτταρα δίνουν γένεση σε μια πολύστρωμη τρίχα. (δ) Όσον αφορά στις 'ίδιυμες τρίχες' (τυπικού τριχώματος του περικαρπίου πολλών φυτών της οικογένειας Asteraceae), ένα επιδερμικό κύτταρο διαιρείται αντικλινώς και προκύπτουν ένα κύτταρο βάσης και ένα ακραίο κύτταρο. Στη συνέχεια αυτά υποδιαιρούνται με τη δημιουργία ενός κεκλιμένου και ενός περικλινούς κυτταρικού τοιχώματος αντίστοιχα. Στη συνέχεια μέσω περικλινών διαιρέσεων δημιουργούνται δύο σειρές κυττάρων (Sancho and Katinas, 2002). (ε) Ανάπτυξη τρίχας μέσω διαχωρισμού κυττάρων. Στην περίπτωση αυτή η τρίχα δεν αναπτύσσεται μέσω της προεξοχής ενός πρωτοδερμικού κυττάρου αλλά μέσω του διαχωρισμού κυττάρων μιας αντικλινώς επιμηκυνόμενης επιδερμίδας.

Πρέπει να επισημανθεί ότι σε αρκετές περιπτώσεις, η ανάπτυξη του τριχώματος συμβαίνει κατά τα αρχικά στάδια της ανάπτυξης του φύλλου, συνήθως πριν από την ανάπτυξη των στομάτων, και σε ορισμένες περιπτώσεις ακόμα και πριν από την εμφανή διάκριση των φυλλικών καταβολών. Στο *Arabidopsis*, αλλά και σε πολλά άλλα φυτικά είδη, τα κύτταρα του τριχώματος των νεαρών φυλλικών καταβολών έχουν ήδη εισέλθει στη φάση της διαφοροποίησης ενώ τα γειτονικά τους συνεχίζουν τις κυτταρικές διαιρέσεις. Αντίθετα τα κύτταρα του τριχώματος στα σέπαλα του φυτού *Salvia splendens* και εκείνα του φυτού *Gossypium hirsutum* από τα οποία θα προκύψουν οι ίνες, διαφοροποιούνται μόνο όταν τα υπόλοιπα κύτταρα της επιδερμίδας έχουν ολοκληρώσει τη φάση των κυτταρικών διαιρέσεων (Larkin *et al.*, 1997). Όσον αφορά στα αδενώδη τριχώματα παρατηρούνται τρία αναπτυξιακά στάδια: το προεκκριτικό, το εκκριτικό και το μετεκκριτικό.



Εικόνα 5. Μικροφωτογραφίες ΗΜΣ αδενωδών τριχών των φύλλων του φυτού *Leonotis leonurus*. **α.** Ο τύπος αυτός τρίχας περιλαμβάνει επιμήκη μίσχο και στηρίζεται σε πολυκύτταρο βάθρο (Ascensão and Pais, 1998). **β.** Διεργημένη εφυμενίδα κεφαλής τρίχας. Διακρίνεται το έκκριμα το οποίο έχει συσσωρευτεί στον υποεφυμενιδικό χώρο (βέλος) (Ascensão *et al.*, 1995). Κλίμακες: 10 μm .

1.3. Εκκριτική λειτουργία και σύσταση του εκκρίματος των αδενωδών τριχών

Όπως αναφέρθηκε, οι αδενώδεις τρίχες εκκρίνουν ποικιλία ενώσεων (όπως πολυσακχαρίτες, σάκχαρα, άλατα, λίπη, αιθέρια έλαια, κηρούς, πρωτεΐνες, κλπ.) (Peterson and Vermeer, 1984; Bisio *et al.*, 1999; Schillmiller *et al.*, 2008). Η ποσότητα του εκκρίματος ποικίλλει και σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να ανέλθει στο 30% του ξηρού βάρους ενός ώριμου φύλλου. Οι αδενώδεις τρίχες αποτελούν είτε μόνο θέσεις συσσώρευσης είτε και θέσεις βιοσύνθεσης των ενώσεων του εκκρίματος (Wagner, 1991; Gang *et al.*, 2001). Όσον αφορά στους δευτερογενείς

μεταβολίτες του εκκρίματος, τα τερπένια αποτελούν την συνηθέστερη κατηγορία (Duke *et al.*, 2000). Τα τερπένια εμφανίζουν πολύ μεγάλη δομική ποικιλία με κύριους εκπροσώπους τα μονοτερπένια (Venkatachalam *et al.*, 1984; Clark *et al.*, 1997), τα σεσκιτερπένια (Spring *et al.*, 1997; Muigai *et al.*, 2002), τα διτερπένια (Wang *et al.*, 2001) και τα τριτερπένια (Croteau and Johnson, 1984; Hallahan, 2000). Σε έναν αριθμό φυτικών ειδών απαντώνται χημικές δομές στις οποίες δομικές μονάδες τερπενίων συνδυάζονται με δομικές μονάδες άλλων κατηγοριών δευτερογενών μεταβολιτών (Spring, 2000; Gersbach *et al.*, 2001). Οι φαινολικές ενώσεις εκπροσωπούνται στο έκκριμα πολλών φυτικών ειδών, κυρίως με την μορφή των άγλυκων φλαβονοειδών (Wollenweber, 1984; Wollenweber, 1985; Tomás-Barberán *et al.*, 1990; Wollenweber, 1995b; Bosabalidis *et al.*, 1998). Ο λιπόφιλος χαρακτήρας των ενώσεων αυτών επιτρέπει την ανάμειξή τους με τα τερπένια των εκκριμάτων (Wollenweber, 1990; Wollenweber, 1995a). Τα αλκαλοειδή και γενικώς οι αζωτούχοι δευτερογενείς μεταβολίτες απαντώνται σπανιότερα στο έκκριμα αδενωδών τριχών. Επίσης, τα μέχρι τώρα πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η νικοτίνη η οποία σε ορισμένες περιπτώσεις θεωρείται συστατικό του εκκρίματος αδενωδών τριχών, παράγεται στις ρίζες και μεταφέρεται στις αδενώδεις τρίχες των φύλλων (Kelsey *et al.*, 1984).

Στην εκκριτική λειτουργία είναι δυνατόν να εμπλέκονται όλα τα κυτταρικά οργανίδια (Μποζαμπαλίδης, 2003). Σε όλους τους τύπους των εκκριτικών κυττάρων απαντάται μεγάλος αριθμός μιτοχονδρίων (Gravano *et al.*, 1998). Στα κύτταρα που εκκρίνουν άλατα συνήθως απαντώνται πολυάριθμα μικρά χυμοτόπια ή κυστίδια και πολυκυστιδικές κατασκευές στο περιφερειακό κυτόπλασμα (Fahn and Cutler, 1992). Όσον αφορά στα κύτταρα που εκκρίνουν νέκταρ απαντώνται κυστίδια προερχόμενα από το ενδοπλασματικό δίκτυο καθώς και ενεργά δικτυοσώματα (Fahn, 1979). Πολυάριθμα δικτυοσώματα και κυστίδια Golgi απαντώνται στα κύτταρα που βιοσυνθέτουν πολυσακχαρίτες (Behnke, 1984). Τέλος στην βιοσύνθεση των λιπόφιλων ενώσεων πιστεύεται ότι εμπλέκονται όλα τα κυτταρικά οργανίδια, με πιθανή εμπλοκή

διαφορετικών οργανιδίων ανά κατηγορία ενώσεων. Στην περίπτωση αυτή κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζουν τα πλαστίδια και το ενδοπλασματικό δίκτυο (Mahlberg *et al.*, 1984; Duke *et al.*, 2000; Fahn, 2000; Turner *et al.*, 2000).

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου το έκκριμα αποβάλλεται από τον πρωτοπλάστη παρουσιάζει διαφοροποιήσεις. Στις αδενώδεις τρίχες που εκκρίνουν άλατα θεωρείται ότι λαμβάνει χώρα ενεργητική μεταφορά, παρόλο που σε αρκετές περιπτώσεις παρατηρούνται πολυάριθμα κυστίδια και πολυκυστιδικές κατασκευές πλησίον της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (Thomson and Healey, 1984; Fahn and Cutler, 1992). Στις περισσότερες περιπτώσεις των αδενωδών τριχών που εκκρίνουν νέκταρ, πολυσακχαρίτες και λιπόφιλες ενώσεις, η μεταφορά των ενώσεων αυτών πιστεύεται ότι πραγματοποιείται μέσω κυστιδίων. Στην πλειοψηφία των αδενωδών τριχών, η αποπλαστική κίνηση των εκκριμάτων προς τους γειτονικούς ιστούς θεωρείται ότι παρεμποδίζεται λόγω της εναπόθεσης υμενίνης ή/και σουβερίνης στα πλευρικά τοιχώματα των κυττάρων του μίσχου (Peterson and Vermeer, 1984; Fahn, 1990; Werker, 2000). Όσον αφορά στην ενδοκυτταρική μεταφορά του νέκταρος και των πολυσακχαριτών φαίνεται ότι αυτή πραγματοποιείται με εμπλοκή του ενδοπλασματικού δικτύου και κυστιδίων προερχόμενων από τη συσκευή Golgi αντίστοιχα. Τα πειραματικά δεδομένα συγκλίνουν στην εκδοχή της ενδοκυτταρικής μεταφοράς μέσω κυστιδίων και στην περίπτωση των λιπόφιλων εκκριμάτων. Σε ορισμένες ωστόσο περιπτώσεις, υπάρχουν ενδείξεις ότι το ενδοπλασματικό δίκτυο συλλέγει το, παραγόμενο από διάφορα κυτταρικά οργανίδια, λιπόφιλο έκκριμα και το μεταφέρει απευθείας στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (Thomson and Healey, 1984; Fahn, 1990; Ascensão and Pais, 1998).

Τέλος πρέπει να αναφερθεί ότι στην περίπτωση πολλών αδενωδών τριχών, η ανάπτυξη των κυτταρικών τοιχωμάτων και της εφυμενίδας των εκκριτικών κυττάρων δεν περιορίζεται ακόμα και αν αποκτήσουν το τελικό τους μέγεθος. Μάλιστα, η διαδικασία αυτή αποτελεί τμήμα του μηχανισμού απέκκρισης. Συνεπώς, κατά το εκκριτικό στάδιο είναι δυνατό

να λάβουν χώρα δύο διαδικασίες: (α) σχηματισμός περιορισμένης έκτασης αυξήσεων στην εσωτερική πλευρά του τοιχώματος που εφάπτεται στα εκκριτικά κύτταρα, με αποτέλεσμα μεγιστοποίηση της επιφάνειας της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και (β) απομάκρυνση της εφυμενίδας από το πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα, με συνέπεια τον σχηματισμό ελεύθερου χώρου στον οποίο συσσωρεύεται έκκριμα για μικρό ή μεγάλο χρονικό διάστημα. Λόγω υπερβολικής συσσώρευσης εκκρίματος στο χώρο αυτό, η εφυμενίδα διαρρηγνύεται και το έκκριμα ελευθερώνεται στο περιβάλλον (εικόνα 5.β). Στις αδενώδεις τρίχες του φυτού *Pelargonium scabrum* έχει παρατηρηθεί δημιουργία καινούργιας εφυμενίδας, καθώς η παλιά διαρρηγνύεται λόγω της συνεχούς έκκρισης αιθέριων ελαίων. Σε άλλες περιπτώσεις, η έκκριση πραγματοποιείται και μέσω πόρων της εφυμενίδας. Τέλος, η περιοχή του κυτταρικού τοιχώματος μέσω της οποίας πραγματοποιείται η έκκριση συνήθως φέρει πόρους (Fahn, 1990; Werker, 1993; Ascensão *et al.*, 1995).

I.4. Φυσιολογικοί και οικολογικοί ρόλοι του τριχώματος

Τα φυτά έχουν αναπτύξει πλήθος ανατομικών στρατηγικών προκειμένου να επιβιώσουν και να είναι λειτουργικά και ανταγωνιστικά στο εκάστοτε περιβάλλον διαβίωσής τους. Το τριχώμα αποτελεί ένα από εκείνα τα ανατομικά χαρακτηριστικά που δύναται να επιτελεί πλήθος διαφορετικών (και πολλές φορές αντιφατικών) λειτουργιών (Johnson, 1975; Dickison, 2000; Martin and Glover, 2007), ανάλογα με τη θέση του στο φυτό, τον τύπο του και τη χημική σύσταση (του ίδιου ή των εκκριμάτων) καθώς και την περίοδο της δραστηριότητάς του. Τρίχες με παρόμοια ανατομικά χαρακτηριστικά μπορεί να έχουν διαφορετική χημική σύσταση αλλά ακόμα και τρίχες παρόμοιας σύστασης μπορεί να έχουν διαφορετικούς ρόλους λόγω διαφορετικής χωροθέτησης (π.χ. ο ρόλος του τριχώματος που παράγει κολλώδεις ουσίες και απαντάται σε σπέρματα είναι διαφορετικός από εκείνον του αντίστοιχου τριχώματος σε φύλλα). Εκτός αυτού, διαφορετικοί τύποι αδενωδών τριχών σε ένα φυτικό όργανο μπορεί να εκδηλώνουν την εκκριτική τους δραστηριότητα σε διαφορετικά

αναπτυξιακά στάδια. Οι σημαντικότεροι λειτουργικοί ρόλοι που έχουν αποδοθεί στο τριχώμα (τόσο αδενώδες όσο και μη αδενώδες) κυρίως όσον αφορά στα υπέργεια βλασθητικά ή/και αναπαραγωγικά φυτικά όργανα, είναι οι ακόλουθοι:

1. Προστασία έναντι αβιοτικών και βιοτικών παραγόντων καταπόνησης. Τα ανατομικά χαρακτηριστικά των τριχών, αλλά κυρίως η χωροθέτησή τους στην επιφάνεια των φυτικών οργάνων συνηγορούσε, ήδη από τον 19^ο αιώνα, στη διαμόρφωση της αντίληψης μεταξύ των ερευνητών ότι ο κύριος ρόλος των δομών αυτών ήταν προστατευτικός. Ωστόσο, η αντίληψη αυτή στηρίχθηκε κυρίως σε υποθέσεις και ενδείξεις. Τα πειραματικά δεδομένα των τελευταίων ετών, αλλά και το γεγονός ότι στο τριχώμα εκφράζονται γονίδια και εντοπίζονται πρωτεΐνες και ενώσεις που σχετίζονται με την άμυνα, θεμελιώνουν πλέον την άποψη αυτή (Gutiérrez-Alcalá *et al.*, 2000; Wienkoop *et al.*, 2004; Amme *et al.*, 2005; Shepherd *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2006).

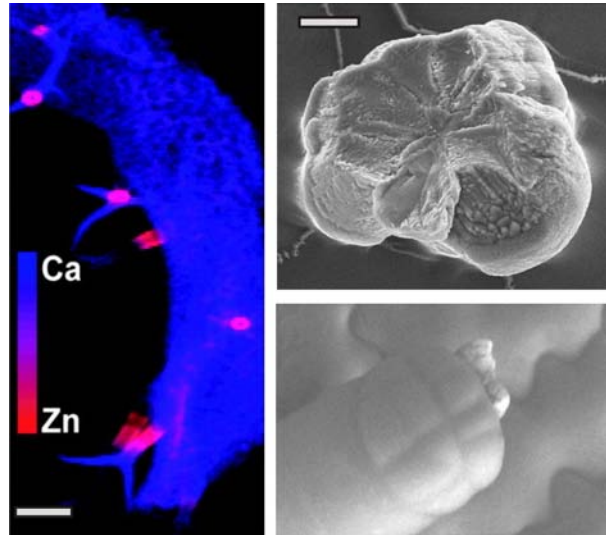
1α. Προστασία από τις διαπνευστικές απώλειες νερού. Η ύπαρξη του τριχώματος στα φύλλα και τους νεαρούς βλαστούς θεωρείται ξηροθερμική προσαρμογή, η οποία συμβάλλει, άμεσα ή έμμεσα, στην εξοικονόμηση ύδατος (εικόνα 1.β). Επειδή ένα πυκνό στρώμα τριχών τροποποιεί το επιφανειακό ανάγλυφο των φυτικών οργάνων, αυξάνει το πάχος του οριακού στρώματος (δηλ. του στρώματος του ακίνητου αέρα στην επιφάνεια του φύλλου μέσω του οποίου διαχέονται οι υδρατμοί) με αποτέλεσμα να μειώνει τις διαπνευστικές απώλειες νερού. Επιπλέον, μέσω της ανάκλασης και σκέδασης σημαντικού μέρους της προσπίπτουσας ακτινοβολίας μεταξύ 400 και 3000 nm, το τριχώμα βελτιώνει το θερμικό ισοζύγιο των φύλλων και οδηγεί σε μειωμένη θερμοκρασία και συνεπώς και σε μειωμένη διαπνοή των φύλλων (Johnson, 1975; Ehleringer, 1984; Fahn and Cutler, 1992; Dickison, 2000; Μανέτας, 2003). Ωστόσο, ορισμένα πειραματικά δεδομένα δεν συνηγορούν υπέρ αυτού του ρόλου, καθώς απομάκρυνση του στρώματος των τριχών δεν επιφέρει μεταβολές στα επίπεδα των διαπνευστικών απωλειών και την αντίσταση διαχύσεως του ύδατος (Bongi *et al.*, 1987; Grammatikopoulos *et al.*, 1994).

1β. Προστασία από τις υψηλές εντάσεις ορατής καθώς και από την υπεριώδη-B ακτινοβολία. Η ύπαρξη πυκνού τριχώματος συμβάλλει στη μείωση της περατότητας της φωτοσυνθετικά ενεργού ακτινοβολίας στα υποκείμενα φωτοσυνθετικά κύτταρα (Karabourniotis and Bornman, 1999; Karabourniotis *et al.*, 1999), τα οποία είναι με τον τρόπο αυτό λιγότερο επιρρεπή στην φωτοπαρεμπόδιση (Lang and Schindler, 1994; Liakopoulos *et al.*, 2006a). Ο τύπος αυτός φωτοπροστασίας είναι ζωτικής σημασίας σε νεαρά φύλλα όπου συνήθως το τρίχωμα είναι προσωρινό ενώ παράλληλα η φωτοσυνθετική συσκευή αλλά και οι βιοχημικοί μηχανισμοί φωτοπροστασίας δεν έχουν αναπτυχθεί επαρκώς (Bisba *et al.*, 1997).

Επίσης, σε ορισμένα τουλάχιστον φυτικά είδη, το στρώμα των μη αδενωδών τριχών των φύλλων απορροφά στην υπεριώδη-B (UV-B) περιοχή του φάσματος, ικανότητα η οποία έχει αποδοθεί στην ύπαρξη ενώσεων ικανών να απορροφούν στην περιοχή αυτή του φάσματος (π.χ. φαινολικές ενώσεις) και οι οποίες εντοπίζονται στην εφυμενίδα, τα κυτταρικά τοιχώματα και στο διαλυτό κλάσμα των τριχών (Karabourniotis *et al.*, 1992; Skaltsa *et al.*, 1994; Karabourniotis *et al.*, 1998; Liakopoulos *et al.*, 2006b). Επομένως, το τρίχωμα τροποποιώντας την ποιότητα και την ποσότητα του φωτός που εισέρχεται στους υποκείμενους ιστούς του μεσοφύλλου (Karabourniotis and Bornman, 1999; Karabourniotis *et al.*, 1999) συμπεριφέρεται και ως ένα επιλεκτικό φίλτρο προστασίας έναντι βλαβών από την UV-B ακτινοβολία (Karabourniotis *et al.*, 1993; Grammatikopoulos *et al.*, 1994; Skaltsa *et al.*, 1994) ιδίως κατά τα νεαρά στάδια ανάπτυξης των φύλλων (Karabourniotis *et al.*, 1995; Karabourniotis and Fasseas, 1996). Ο προστατευτικός ρόλος των μη αδενωδών τριχών έναντι της UV-B ακτινοβολίας επιβεβαιώθηκε και με πειράματα στο πεδίο (Manetas, 2003). Ωστόσο η παρουσία φαινολικών ενώσεων στο επιεφυμενιδικό έκκριμα των αδενωδών τριχών των φύλλων του φυτού *Dittrichia viscosa* δεν φαίνεται να συσχετίζεται με την προστασία από την UV-B ακτινοβολία (Stephanou and Manetas, 1995; Stephanou and Manetas, 1997b).

1γ. Προστασία έναντι των υψηλών συγκεντρώσεων τοξικών ουσιών. Τα φυτά προκειμένου να αποτρέψουν τη διαμόρφωση υψηλών συγκεντρώσεων ορισμένων στοιχείων (π.χ. Na, Cl, Ca, S, Si) ή ακόμα και βαρέων μετάλλων (π.χ. Cd, Zn, Mn, Ni, Pb) τα οποία θα μπορούσαν υπό ορισμένες προϋποθέσεις να υπερσυσσωρεύονται εντός του φυτικού σώματος ή τοξικών μορίων τα οποία αποτελούν προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού, έχουν αναπτύξει δύο στρατηγικές, ήτοι την απομόνωσή τους σε συγκεκριμένους ιστούς (ή/και υποκυτταρικά διαμερίσματα) ή/και την (απ)έκκρισή τους στο εξωτερικό περιβάλλον. Μεταξύ των ιστών αυτών συγκαταλέγεται και το τρίχωμα (Urhof, 1962; Wagner *et al.*, 2004).

Η πρώτη στρατηγική φαίνεται ότι εφαρμόζεται και στην περίπτωση των μη αδενωδών τριχών στις οποίες συσσωρεύεται τυχόν περίσσεια ιόντων. Ο εντοπισμός των ιόντων αυτών εντός των τριχών εξαρτάται από το εκάστοτε στοιχείο. Για παράδειγμα, τα στοιχεία μεταπτώσεως φαίνεται να συσσωρεύονται στη βάση του τριχώματος σε αντίθεση με το Ca



Εικόνα 6. Αριστερά: απεικόνιση της στοιχειακής κατανομής Zn και Ca σε φύλλο φυτού *Arabidopsis halleri*, το οποίο αναπτύχθηκε σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης Zn, με χρήση μSXRF (synchrotron-based x-ray microfluorescence). Κλίμακες: 100 μm (Sarret *et al.*, 2002). **Δεξιά κάτω:** σχηματισμός κρυστάλλων στην κορυφή τρίχας από φυτό καπνού το οποίο αναπτύχθηκε σε υδροπονική καλλιέργεια παρουσία Zn. **Δεξιά πάνω:** μικροφωτογραφία Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Σάρωσης απομονωμένου κρυστάλλου ο οποίος αποτελεί συσσωμάτωμα μικροκρυστάλλων καλσίτη (CaCO_3), Zn-υποκατεστημένου καλσίτη ($\text{Ca}_{(0.93)}\text{Zn}_{(0.07)}\text{CO}_3$) και αραγονίτη (CaCO_3). Κλίμακα: 20 μm (Sarret *et al.*, 2006).

(εικόνα 6) (Salt *et al.*, 1995; Iwasaki and Matsumura, 1999; Küpper *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2000; Sarret *et al.*, 2002; Ager *et al.*, 2003; Broadhurst *et al.*, 2004; Domínguez-Solís *et al.*, 2004; Broadley *et al.*, 2007).

Η δεύτερη στρατηγική εφαρμόζεται στην περίπτωση των αδενωδών τριχών, οι οποίες συσσωρεύουν ή/και εκκρίνουν στην επιφάνειά τους ανόργανα στοιχεία. Για παράδειγμα, τα βαρέα μέταλλα Cd και Zn αδρανοποιούνται με την ενσωμάτωσή τους σε κρυστάλλους ανθρακικού ασβεστίου, εντός ή εκτός των επιδερμικών αυτών εξαρτημάτων (εικόνα 6) (Choi *et al.*, 2001; Lavid *et al.*, 2001; Choi *et al.*, 2004; Choi and Harada, 2005; Sarret *et al.*, 2006).

Στον προστατευτικό αυτό ρόλο του τριχώματος (τουλάχιστον όσον αφορά στα βαρέα μέταλλα) συνηγορούν και δεδομένα σύμφωνα με τα οποία στο τρίχωμα εκφράζονται γονίδια ή εντοπίζονται ενώσεις που σχετίζονται με την 'αποτοξίνωση' των φυτών (Gutiérrez-Alcalá *et al.*, 2000; Domínguez-Solís *et al.*, 2001; Howarth *et al.*, 2003; Domínguez-Solís *et al.*, 2004; Wagner *et al.*, 2004; Wienkoop *et al.*, 2004). Αξίζει να σημειωθεί ότι μορφολογικά διαφορετικοί τύποι τριχώματος του ίδιου φυτού είναι δυνατόν να ευθύνονται για την 'αποτοξίνωση' από διαφορετικά ιόντα (Choi *et al.*, 2004) ή σε διαφορετικό βαθμό για το ίδιο ιόν (Sarret *et al.*, 2006). Όσον αφορά στο ασβέστιο, θεωρείται ότι η συσσώρευσή του στο τρίχωμα παρεμποδίζει τη δημιουργία υψηλών συγκεντρώσεων του ιόντος πλησίον των στομάτων, ώστε να διατηρείται η ομοιόσταση των καταφρακτικών κυττάρων (De Silva *et al.*, 1996; De Silva *et al.*, 2001).

Τέλος η συσσώρευση και έκκριση δευτερογενών μεταβολιτών από τις αδενώδεις τρίχες αποτελεί και μηχανισμό αυτοπροστασίας του φυτού από την τοξικότητα τους. Δεδομένου ότι τα εκκρίματα παρουσιάζουν συνήθως τοξική δράση έναντι των φίλιων κυττάρων, έχει προταθεί ότι οι τρίχες, βιοσυνθετικά και δομικά απομονωμένες, έχουν τη δυνατότητα να παράγουν σε μεγάλες ποσότητες ενώσεις οι οποίες δεν έρχονται σε επαφή με τα υπόλοιπα κύτταρα του οργάνου (Duke *et al.*, 2000; Werker, 2000; Inderjit and Duke, 2003).

1δ. Προστασία έναντι φυτοφάγων οργανισμών. Το στρώμα του τριχώματος, τόσο

των βλαστητικών όσο και των αναπαραγωγικών οργάνων, προβάλλει ένα ισχυρό μηχανικό (βάσει της πυκνότητας, του προσανατολισμού και της μορφολογίας των τριχών ή της υψής των εκκριμάτων) ή/και χημικό φράγμα (βάσει των ενώσεων που αποθηκεύονται ή εκκρίνονται από τις τρίχες) έναντι των φυτοφάγων οργανισμών (Levin, 1973; Johnson, 1975; Kelsey *et al.*, 1984; Armbruster, 1997; Van Dam and Hare, 1998b; Glover, 2000; Gurr and McGrath, 2002; Simmons and Gurr, 2005; Løe *et al.*, 2007; Saeidi *et al.*, 2007). Έτσι είναι δυνατό συγκεκριμένος τύπος τριχών ή/και το σύνολό τους (**α**) να προκαλέσουν το θάνατο εντόμων με μηχανικό τρόπο, είτε λόγω τραυματισμού είτε λόγω ασιτίας ως επακόλουθο της παγίδευσης ή ακινητοποίησής τους (Nihoul, 1993; Eisner *et al.*, 1998; Corsi and Bottega, 1999), (**β**) να προκαλέσουν το θάνατο εντόμων και ζώων λόγω της παρουσίας τοξικών ενώσεων (Wang *et al.*, 2001; Simmons *et al.*, 2004) και (**γ**) να καταστήσουν (είτε μηχανικά είτε χημικά) τα φυτικά όργανα και ιστούς απωθητικά και μη επιλέξιμα για φυτοφαγία ή εναπόθεση ωών (Goertzen and Small, 1993; Chatzivasileiadis and Sabelis, 1997; Wang *et al.*, 2001; Muigai *et al.*, 2002). Ο χαμηλός λόγος άνθρακα:αζώτου των τριχών μειώνει την θρεπτική τους αξία, ενώ τα ανακλαστικά σήματα του στρώματος των τριχών δεν είναι εμπλουτισμένα στην πράσινη περιοχή του φάσματος. Βέβαια υπάρχουν περιπτώσεις εντόμων ή ζώων τα οποία έχουν επιτύχει να αντιμετωπίσουν τις δυσμενείς αυτές συνθήκες μέσω προσαρμοστικών μηχανισμών, αποφυγής ή αποτοξίνωσης (εικόνα 7.α) (Levin, 1973; Eisner *et al.*, 1998; Van Dam and Hare, 1998a). Από την άλλη πλευρά, το τρίχωμα είναι δυνατόν να παρέχει έμμεση προστασία έναντι των φυτοφάγων, διότι προσφέρει ένα ενδιαίτημα για αυξημένη θηρευτική δράση φυσικών εχθρών των εν λόγω φυτοφάγων (Styrsky *et al.*, 2006). Όμως το προσαρμοστικό αυτό πλεονέκτημα των φυτών έχει σε ορισμένες περιπτώσεις και κάποιο κόστος αφού μπορεί το φυτό να καταστεί απωθητικό, να προκαλέσει θάνατο ή να παρεμποδίσει την κίνηση σε ωφέλιμους οργανισμούς όπως επικονιαστές και θηρευτές επιβλαβών εντόμων (εικόνα 7.β) (Eisner *et al.*, 1998; Kennedy, 2003; Romeis *et al.*, 2005).

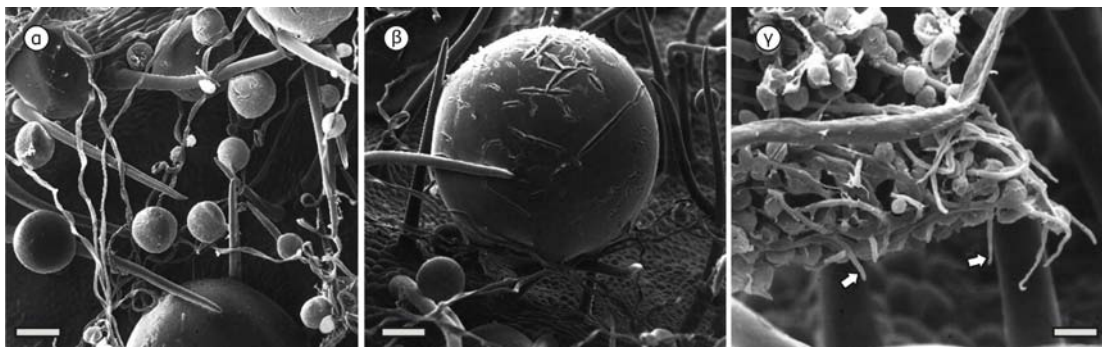
Κατά συνέπεια οι τριτροφικές σχέσεις που αναπτύσσονται σε επιφάνειες που καλύπτονται από πυκνό στρώμα τριχώματος παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον.



Εικόνα 7. α. Φωτογραφία ζωντανού ατόμου αφίδας *Macrosiphum mentzeliae* πάνω σε φύλλο του φυτού *Mentzelia pumila*. Η εν λόγω αφίδα είναι πιθανόν να επιβιώνει χωρίς να παγιδεύεται στο τρίχωμα του φυτού, λόγω των πολύ λεπτών άκρων της και λόγω των προσεκτικών και αργών κινήσεών της. β. Φωτογραφία νεκρού ακμαίου του αρπακτικού εντόμου *Hippodamia convergens*, λόγω παγίδευσής του στο τρίχωμα του φυτού *M. pumila* (Eisner *et al.*, 1998).

1ε. Προστασία από παθογόνα. Το στρώμα των τριχών αποτελεί επίσης ένα μέσο προστασίας των φυτικών οργάνων έναντι φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών. Η προστατευτική δράση του θεωρείται ότι χαρακτηρίζεται από έλλειψη σχέσης εξειδίκευσης μεταξύ φυτού και παθογόνου οργανισμού (Steadman and Shaik, 1988; Mmbaga and Steadman, 1992). Τόσο τα μορφολογικά και χημικά χαρακτηριστικά του τριχώματος όσο και η πυκνότητα και ο προσανατολισμός του επηρεάζουν τόσο την επαφή και παραμονή του μολύσματος στην επιφάνεια των φυτικών οργάνων όσο και την περαιτέρω εξέλιξη της προσβολής (Blakeman, 1971; Allen *et al.*, 1991). Σε ορισμένες περιπτώσεις το τρίχωμα λειτουργεί ως ένα

παθητικό φράγμα το οποίο καθιστά αδύνατη την προσέγγιση της φυτικής επιφάνειας ή/και των θέσεων εισόδου (όπως στόματα) εντός του φυτικού σώματος από τους μικροοργανισμούς (Juniper, 1991; Mmbaga *et al.*, 1994; Romantschuk *et al.*, 1996; Kortekamp *et al.*, 1999; Kortekamp and Zyprian, 1999). Ανεξάρτητα αν η προσέγγιση του παθογόνου αποτραπεί ή όχι, το στρώμα των τριχών μπορεί να αποτρέψει την εξέλιξη της διαδικασίας σε προσβολή, τροποποιώντας το μικροπεριβάλλον ανάπτυξης των μικροοργανισμών (Johnson, 1975). Στην περίπτωση αυτή κυρίαρχο ρόλο παίζει η επίδραση του τριχώματος επί του υδατικού μικροπεριβάλλοντος (τόσο στο χρόνο όσο και στο χώρο), η οποία κυρίως εκδηλώνεται με μείωση της διαβρεξιμότητας και μεταβολή του προτύπου κατανομής της υδατικής φάσης επί των φυτικών επιφανειών (εικόνα 8.α, β). Οι παραπάνω παράμετροι είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση των μικροοργανισμών και μειώνουν την πιθανότητα για επιτυχημένη προσβολή δεδομένου ότι η ύπαρξη νερού σχετίζεται με την βιωσιμότητα των μικροβιακών κυττάρων αλλά και με την πρόσβασή τους στους φυτικούς ιστούς (εικόνα 8.γ) (Juniper and Jeffree, 1983; Brewer *et al.*, 1991; Barnes *et al.*, 1996; Brewer and Smith, 1997; Kortekamp *et al.*, 1999; Bradley *et al.*, 2003). Τα παθογόνα επηρεάζονται επίσης και από τις χημικές ενώσεις που παράγονται, εκπλένονται ή εκκρίνονται από το τρίχωμα. Ορισμένες από τις ενώσεις αυτές μπορεί να είναι τοξικές, άλλες να παρεμποδίζουν πλήρως ή/και να καθυστερούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών καθώς και των αναπαραγωγικών τους δομών (Blakeman and Atkinson, 1981; Kelsey *et al.*, 1984; Mizutani, 1999; Duke *et al.*, 2000; Shepherd *et al.*, 2005), ενώ άλλες να προάγουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών (Adaskaveg, 1992). Σε ορισμένες περιπτώσεις, η θετική ή αρνητική επίδραση των ουσιών αυτών εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους (Armstrong-Cho and Gossen, 2005). Τέλος, έμμεση προστασία έναντι παθογόνων μπορεί να επιτευχθεί και μέσω της απωθητικής δράσης του τριχώματος έναντι εντόμων, τα οποία σε πολλές περιπτώσεις αποτελούν φορείς παθογόνων (Allen *et al.*, 1991).



Εικόνα 8. α, β. Επίδραση του τριχώματος στην διαβρεξιμότητα της φυλλικής επιφάνειας του φυτού *Vitis davidii*. Διακρίνεται η παραμονή των σταγονιδίων σε απόσταση από την επιφάνεια. Κλίμακες: 100 μm (Kortekamp and Zyprian, 1999). **γ.** Ο εγκλωβισμός των σποριαγγείων του μύκητα *Plasmopara vitivola* από το τριχώμα, αποτρέπει την προσέγγιση της επιφάνειας του φύλλου του φυτού *V. davidii* από τους βλαστικούς σωλήνες (βέλη) του μύκητα. Κλίμακα: 20 μm (Kortekamp and Zyprian, 1999).

1στ. Αλληλοπαθητική δράση και συμβολή στην προστασία έναντι τραυματισμών. Οι χημικές ενώσεις του τριχώματος των υπέργειων φυτικών οργάνων ενός φυτού είναι δυνατό να επηρεάζουν την ανάπτυξη του ίδιου ή άλλων φυτικών ειδών, επιδρώντας είτε στο ποσοστό βλάστησης των σπερμάτων καθώς και στο χρόνο που αυτή λαμβάνει χώρα είτε στην ανάπτυξη και λειτουργία των υπέργειων ή υπόγειων φυτικών οργάνων. Στα φυσικά οικοσυστήματα αυτό θα μπορούσε να συμβεί με την απελευθέρωση των ενώσεων αυτών είτε ως πτητικών συστατικών είτε με την έκπλυσή τους από το νερό της βροχής. Το φαινόμενο αυτό δύναται να λάβει χώρα είτε σε άθικτα και λειτουργικά φυτικά όργανα είτε σε απονεκρωμένα τα οποία αποσυντίθενται στο έδαφος. Η αλληλοπαθητική αυτή δράση των ενώσεων του τριχώματος θα μπορούσε να συμβάλλει στη διαμόρφωση των φυτοκοινωνιών και στη χωροθέτηση των φυτικών ειδών αλλά η πραγματοποίηση του φαινομένου σε συνθήκες πεδίου στερείται ακόμα ικανοποιητικής τεκμηρίωσης (Kelsey *et al.*, 1984; Vokou, 1992; Duke *et al.*, 2000).

Επίσης το τριχώμα δύναται να συμβάλλει στην προστασία έναντι τραυματισμών από αβιοτικούς παράγοντες (Wagner *et al.*, 2004). Στην περίπτωση αυτή λειτουργεί ως ένα επιφανειακό μηχανικό φράγμα το οποίο προστατεύει τους υποκείμενους ιστούς από τραυματισμούς σε συνθήκες δυσμενών καιρικών συνθηκών όπως π.χ. ανέμου, χαλαζόπτωσης κ.λπ. (Urhof, 1962). Τέλος, πιστεύεται ότι σε κάποιες περιπτώσεις το τριχώμα λειτουργεί ως δέκτης ερεθισμάτων, ο οποίος πυροδοτεί την

έναρξη αμυντικών μηχανισμών ύστερα από τραυματισμό αβιοτικής ή βιοτικής προέλευσης (Peterson and Vermeer, 1984).

2. Συμβολή στην επικονίαση των φυτών. Το τριχώμα των ανθέων εμπλέκεται, άμεσα ή έμμεσα, στη διαδικασία της επικονίασης, ωστόσο η μορφολογία, η ανατομία, η χημική σύσταση των εκκριμάτων και η λειτουργία του στο συγκεκριμένο φυτικό όργανο δεν έχουν μελετηθεί τόσο εκτενώς όσο στα φύλλα και στους βλαστούς. Το τριχώμα των ανθικών μερών θεωρείται ότι χαρακτηρίζεται από υψηλή εξειδίκευση, γεγονός στο οποίο συνηγορούν αναφορές για πολυπλοειδία σε αδενώδεις τρίχες ανθέων (Peterson and Vermeer, 1984; Werker, 2000). Μάλιστα, στο φυτό *Sternbergia clusiana* (Amaryllidaceae) έχει παρατηρηθεί ότι το τριχώμα των ανθέων έλκει εξειδικευμένα το ένα από τα δύο είδη εντόμων που επιτελούν την επικονίαση (Dafni and Werker, 1982).

Όσον αφορά στη διαδικασία της επικονίασης, το τριχώμα είναι δυνατό να: **(α)** λειτουργεί ως μηχανισμός παγίδευσης των εντόμων εντός του άνθους για συγκεκριμένο αλλά κρίσιμο και αποφασιστικό για την επικονίαση χρονικό διάστημα (Masinde, 2004; Murugan *et al.*, 2006), **(β)** παρέχει μηχανική καθοδήγηση στους επικονιαστές (Beaman *et al.*, 1988; Ascensão *et al.*, 2005), **(γ)** λειτουργεί ως ψευδο-γύρη, παρέχοντας πιθανώς τροφή στους επικονιαστές ως ανταμοιβή για την επικονίαση (Davies and Turner, 2004), **(δ)** προσελκύει τους επικονιαστές, π.χ. συμβάλλοντας σε χρωματισμούς ή/και κινήσεις ελκυστικές σε αυτούς ή εκκρίνοντας ελκυστικές χημικές ενώσεις (Dafni and Werker,

1982; Macior, 1986; Kelly, 1997; Masinde, 2004; Ortiz-Perez *et al.*, 2006), (ε) συμβάλλει στην συλλογή και διασπορά της γύρης με μηχανικό τρόπο (βάσει της πυκνότητας, του προσανατολισμού, της μορφολογίας ή/και της κολλώδους υφής των εκκριμάτων του) (Medan and D'Ambrogio, 1998; Moyano *et al.*, 2003), (στ) παρέχει προστασία στη γύρη έναντι δυσμενών παραγόντων του περιβάλλοντος, οι οποίοι θα μπορούσαν να την καταστήσουν μη ζωτική (Huang *et al.*, 2002).

3. Διασπορά σπερμάτων. Η ύπαρξη τριχώματος στα σπέρματα (ή στους ώριμους καρπούς που φέρουν αυτά) θεωρείται ότι συμβάλλει στον μηχανισμό διασποράς τους. Στο φαινόμενο αυτό παίζουν σημαντικό ρόλο τόσο η μορφολογία του τριχώματος όσο και η φύση των εκκριμάτων του (Li *et al.*, 2006). Έτσι είναι δυνατή η διασπορά των σπερμάτων (α) από ζώα ή έντομα μέσω μηχανικής αγκίστρωσης ή χημικής προσκόλλησης (λόγω της βλεννώδους υφής του εκκρίματος) του τριχώματος (Cook, 1990; Fahn, 1990; Barthlott and Porembski, 1996), (β) από τον άνεμο, π.χ. όπως στην περίπτωση των αχαινίων μελών της οικογένειας Asteraceae των οποίων η μεταφορά από τα ρεύματα του αέρα

διευκολύνεται από τρίχωμα το οποίο διατάσσεται σε θυσάνους μορφής αλεξίπτωτου (εικόνα 9.α, β) (Hensen and Müller, 1997) ή (γ) από το νερό (Steyn *et al.*, 2004), π.χ. όπως στην περίπτωση σπερμάτων τα οποία παρασύρονται εύκολα από το νερό λόγω μειωμένου ειδικού βάρους, ως αποτέλεσμα της παρουσίας βλεννώδους εκκρίματος στην επιφάνεια του τριχώματός τους.

4. Εγκαθίδρυση σπερμάτων στο έδαφος και διευκόλυνση της βλάστησης. Το τρίχωμα στην επιφάνεια των σπερμάτων υποβοηθά, όχι μόνο τη διασπορά τους αλλά και την εγκαθίδρυσή τους στο έδαφος. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με προσκόλλησή τους στα εδαφικά σωματίδια λόγω της κολλώδους υφής του εκκρίματος του τριχώματος είτε με αγκίστρωσή τους στο εδαφικό ανάγλυφο λόγω της μορφολογίας του τριχώματος (εικόνα 9.γ) (Zeriahene *et al.*, 1998). Επίσης πρέπει να αναφερθεί ότι τα βλεννώδη εκκρίματα αδενωδών τριχών μειώνουν τις πιθανότητες αφυδάτωσης των σπερμάτων κατά τη βλάστησή τους, λόγω της ικανότητάς τους να κατακρατούν νερό μέσω απορρόφησής του από το περιβάλλον ενώ είναι πιθανό να διευκολύνουν και την έξοδο του ριζιδίου (Gutterman, 2000).



Εικόνα 9. α, β. Αχαινία του φυτού *Dittrichia viscosa*, *in planta* (α) ή μεμονωμένα (β). β. Τα σπέρματα φέρουν πάππο αποτελούμενο από τρίχες (~20), ο οποίος συμβάλλει στη διασπορά τους από τον άνεμο. γ. Στάχης του φυτού *Lygeum spartum*, εντός του οποίου παραμένουν τα σπέρματα ακόμα και κατά την έναρξη της βλάστησης. Με τα βέλη υποδεικνύεται το τρίχωμα, μέσω του οποίου επιτυγχάνεται η αγκίστρωση των σπερμάτων στο έδαφος. Κλίμακα: 5 mm (Zeriahene *et al.*, 1998).

5. Απορρόφηση-Απώλεια νερού. Η ύπαρξη ειδικού τύπου τριχών στα φύλλα των επίφυτων της υποοικογένειας Tillandsioideae αποτελεί ένα από τα πλέον εντυπωσιακά παραδείγματα συσχέτισης λειτουργίας και επιφανειακής δομής υπέργειων φυτικών οργάνων. Ορισμένα επίφυτα (όχι μόνο τα παραπάνω), λόγω της έλλειψης επαφής τους με το έδαφος, καθώς και φυτά τα οποία αναπτύσσονται υπό ξηρικές συνθήκες

διαθέτουν τύπους τριχώματος ικανούς να απορροφούν υδρατμούς από την ατμόσφαιρα ή νερό της δρόσου και της βροχής (Peterson and Vermeer, 1984; Fahn and Cutler, 1992; Dickison, 2000). Από την άλλη πλευρά είναι δυνατή η απώλεια νερού από το τρίχωμα μέσω έκκρισης ή εξάτμισης. Η έκκριση μπορεί να επιτυγχάνεται από εξειδικευμένο τύπο τριχών (όπως στην περίπτωση φυτών στους τροπικούς) ή μέσω

αδενωδών τριχών. Συνεπώς, ο τρόπος με τον οποίο το τρίχωμα των υπέργειων φυτικών οργάνων συμβάλλει στη ρύθμιση του υδατικού ισοζυγίου των φυτών εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τον τύπο των τριχών (Johnson, 1975). Όσον αφορά στο τρίχωμα που απαντάται στα υπόγεια φυτικά όργανα, τα ριζικά τριχίδια απορροφούν νερό και ανόργανα στοιχεία από το έδαφος αν και είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι σε ορισμένα φυτικά είδη τμήμα των ριζικών τριχιδίων εμφανίζει εκκριτική δραστηριότητα (Werker, 2000; Μποζαμπαλίδης, 2003).

6. Διαμόρφωση ενδιδαιτήματος. Τέλος ένας ρόλος που μπορεί να αποδοθεί στο τρίχωμα και ο οποίος δεν σχετίζεται άμεσα με την φυσιολογία του φυτού είναι η διαμόρφωση ενός ενδιδαιτήματος το οποίο προσφέρει προστασία σε ζωικούς οργανισμούς και μικροοργανισμούς. Τα χαρακτηριστικά του τριχώματος επηρεάζουν καθοριστικά την βιοποικιλότητα του ενδιδαιτήματος που δημιουργείται. Υπάρχουν περιπτώσεις όπου η ύπαρξη τριχώματος σχετίζεται θετικά με την παρουσία οργανισμών και μάλιστα συχνά παρατηρείται εξειδίκευση των οργανισμών που αποικίζουν τα συγκεκριμένα φυτά ξενιστές (Kreiter *et al.*, 2002; Yadav *et al.*, 2005; Vasconcellos-Neto *et al.*, 2006; Seelmann *et al.*, 2007). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στην συνεξέλιξη φυτών και άλλων οργανισμών ενώ υπάρχουν περιπτώσεις όπου θα μπορούσε να σχετίζεται με τη διατήρηση πολυμορφικών, ως προς το τρίχωμα, φυτικών πληθυσμών (Van Dam and Hare, 1998a; Van Dam *et al.*, 1999). Το τρίχωμα είναι δυνατόν να παρέχει προστασία στους οργανισμούς αυτούς έναντι δυσμενών περιβαλλοντικών συνθηκών (έκθεση σε ακτινοβολία, υδατική ή άλλου είδους καταπόνηση) (Schneider and Grogan, 1977; Allen *et al.*, 1991; Beattie and Lindow, 1995; Beattie and Lindow, 1999) ή/και έναντι βιοτικών παραγόντων (παρασίτων ή θηρευτών) π.χ. μειώνοντας την ανιχνευτική αποτελεσματικότητα των τελευταίων (Bottrell *et al.*, 1998; Krips *et al.*, 1999; Roda *et al.*, 2000). Ενδιαφέρουσα είναι η περίπτωση κατά την οποία λάρβες εντόμων συλλέγουν το τρίχωμα φυτικών οργάνων και το τοποθετούν στην ράχη τους επιτυγχάνοντας έτσι παραλλαγή έναντι των θηρευτών τους (εικόνα

10) (Eisner *et al.*, 2002). Επίσης, σε ορισμένες περιπτώσεις παρέχει κατάλληλες συνθήκες για την εναπόθεση σπορίων ή ωών (Gurr, 1995; Roda *et al.*, 2001) καθώς και για την απόκτηση τροφής ή εξασφάλιση θρεπτικών στοιχείων (Behnke, 1984; Beattie and Lindow, 1995; Kreiter *et al.*, 2002; Roda *et al.*, 2003).



Εικόνα 10. α. Λάρβα του εντόμου *Ceraeochrysa lineaticornis* συλλέγει το τρίχωμα από φύλλα του φυτού *Platanus wrightii* και το τοποθετεί στην πλάτη της, επιτυγχάνοντας έτσι παραλλαγή (β) έναντι των θηρευτών της (Eisner *et al.*, 2002).

1.5. Τρίχωμα: Γονίδια και Περιβάλλον

Με βάση όσα αναφέρθηκαν γίνεται αντιληπτό ότι η ύπαρξη ή η απουσία, ο τύπος, η μορφολογία, η σύσταση και η πυκνότητα του τριχώματος των υπέργειων φυτικών οργάνων ποικίλλουν μεταξύ ειδών, ποικιλιών του ίδιου είδους, υπέργειων οργάνων του ίδιου φυτού, τμημάτων του ίδιου οργάνου και εξαρτώνται από το αναπτυξιακό στάδιο. Παρόλο που τα χαρακτηριστικά αυτά καθορίζονται γενετικά, τροποποιούνται είτε μέσω περιβαλλοντικών παραγόντων, είτε μέσω της δράσης ορμονών. Σε ορισμένες περιπτώσεις έχει διαπιστωθεί ότι οι παραπάνω παράγοντες προκαλούν την επαγωγή ή την καταστολή της έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων (Walker and Marks, 2000; Holroyd *et al.*, 2002; Larkin *et al.*, 2003; Broun *et al.*, 2006; Biswas *et al.*, 2009).

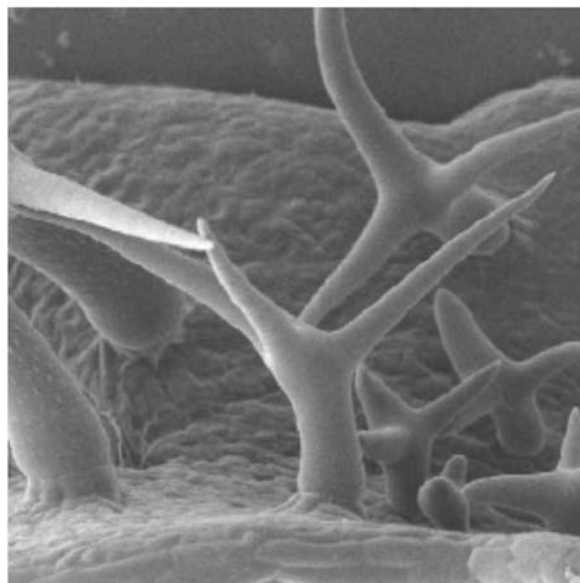
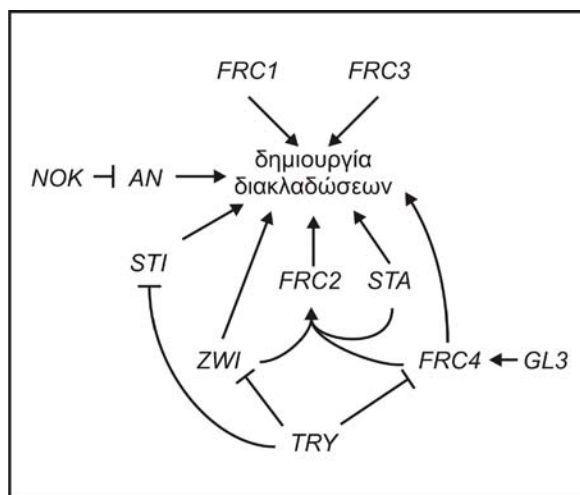
Τα πειραματικά δεδομένα της μοριακής βιολογίας, παρόλο που οι πληροφορίες για τις πολυκύτταρες τρίχες είναι περιορισμένες, συνηγορούν στο ότι τουλάχιστον εν μέρει τα αναπτυξιακά μονοπάτια των μονοκύτταρων και πολυκύτταρων τριχών διαφέρουν (Langdale, 1998; Glover, 2000; Glover and Martin, 2000; Wagner *et al.*, 2004; Perez-Rodriguez *et al.*, 2005; Broun *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2007).

Ο κύριος όγκος των δεδομένων που σχετίζονται με τα γονίδια τα οποία εμπλέκονται στη δημιουργία και μορφογένεση του τριχώματος

των υπέργειων φυτικών οργάνων αφορούν στις μονοκύτταρες μη αδενώδεις τρίχες των φύλλων του φυτού *Arabidopsis* (εικόνα 11). Κατά συνέπεια οι πληροφορίες που παρατίθενται αφορούν στο συγκεκριμένο φυτικό σύστημα, παρόλο που ορισμένα από τα εμπλεκόμενα γονίδια εκφράζονται σε περισσότερα του ενός οργάνων του φυτού. Η διαδικασία της οντογένεσης των τριχών θα μπορούσε να χωριστεί σε τρεις φάσεις. Στην πρώτη φάση, ορισμένα περιβαλλοντικά και ενδογενή ερεθίσματα επάγουν την έκφραση γονιδίων στα κύτταρα της επιδερμίδας ώστε να έχουν τη δυνατότητα να διαφοροποιηθούν σε τρίχα. Στη δεύτερη φάση προσδιορίζονται τα συγκεκριμένα κύτταρα στα οποία ξεκινά η διαδικασία της διαφοροποίησης ώστε να δώσουν γένεση σε τρίχες ενώ παράλληλα επάγονται μηχανισμοί παρεμπόδισης ώστε να αποτραπεί η παραπάνω εξέλιξη σε γειτονικά επιδερμικά κύτταρα. Στα τελευταία, οι κυτταρικές διαιρέσεις συνεχίζονται κανονικά. Τέλος ακολουθεί η φάση της διαφοροποίησης και μορφογένεσης. Θα πρέπει να τονιστεί ότι η δέσμευση ενός πρωτοδερμικού κυττάρου να εξελιχθεί σε τρίχα συνδέεται με τη μετάβαση του από τις μιτωτικές διαιρέσεις σε μια σειρά κύκλων ενδοαντιγραφής, οι οποίοι λαμβάνουν χώρα σε διάφορες φάσεις της διαδικασίας (Glover, 2000; Hülskamp and Kirik, 2000; Larkin *et al.*, 2003; Wagner *et al.*, 2004; Broun *et al.*, 2006; Ishida *et al.*, 2008).

Στην όλη διαδικασία σχηματισμού, διαφοροποίησης και μορφογένεσης των τριχών του *Arabidopsis* εμπλέκεται πλήθος γονιδίων ενώ ορισμένα εξ' αυτών εμπλέκονται σε περισσότερα του ενός στάδια (Marks, 1994; Marks, 1997; Howell, 1998; Hülskamp and Kirik, 2000; Schwab *et al.*, 2000; Bird and Gray, 2003; Zhang *et al.*, 2003; Kirik *et al.*, 2005). Ενδεικτικά και όσον αφορά στην μορφογένεση, στην εικόνα 11 παρουσιάζονται ορισμένα από τα γονίδια τα οποία εμπλέκονται στη διαδικασία δημιουργίας διακλαδώσεων στα κύτταρα των τριχών του *Arabidopsis* (Luo and Oppenheimer, 1999).

Μεταξύ των γονιδίων που καθορίζουν την εξέλιξη ενός επιδερμικού κυττάρου σε τρίχα ή όχι, είναι τα *GLABRA1 (GL1)*, *TRANSPARENT TESTA GLABRA1 (TTG1)*, *GLABRA3 (GL3)*, *TRIPTYCHON (TRY)*, *ENHANCER OF TRY AND CPC1 (ETC1)*,



Εικόνα 11. Μοντέλο (επάνω) για τον γενετικό έλεγχο του αριθμού των διακλαδώσεων των τριχών του *Arabidopsis* (κάτω). Τα γονίδια *STICHEL (STI)*, *ANGUSTIFOLIA (AN)*, *STACHEL (STA)*, *ZWICHEL (ZWI)*, *FURCA1 (FRC1)*, *FURCA2 (FRC2)*, *FURCA3 (FRC3)*, *FURCA4 (FRC4)* αποτελούν θετικούς ρυθμιστές ενώ το γονίδιο *NOECK (NOK)* αρνητικό. Το τριπλό βέλος (υπό του *FRC2*) υποδηλώνει ότι και τα τρία γονίδια (*ZWI*, *STA*, *FRC4*) απαιτούνται για τη λειτουργία του *FRC2* (Luo and Oppenheimer, 1999). Η μικροφωτογραφία της τρίχας από (Schwab *et al.*, 2000).

ENHANCER OF TRY AND CPC2 (ETC2), *CAPRICE (CPC)* και ενδεχομένως τα *GLABRA2 (GL2)*, *TRANSPARENT TESTA GLABRA2 (TTG2)*. Οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα γονίδια αυτά παρουσιάζονται στον πίνακα 1 (Oppenheimer *et al.*, 1991; Rerie *et al.*, 1994; Wada *et al.*, 1997; Shikazono *et al.*, 1998; Walker *et al.*, 1999; Payne *et al.*, 2000; Johnson *et al.*, 2002; Schellmann *et al.*, 2002; Kirik *et al.*, 2004a; Kirik *et al.*, 2004b). Επιπλέον αξίζει να αναφέρουμε και τους γονιδιακούς τόπους *FIDDLEHEAD (FDL)*, *INCREASED CHALCONE*

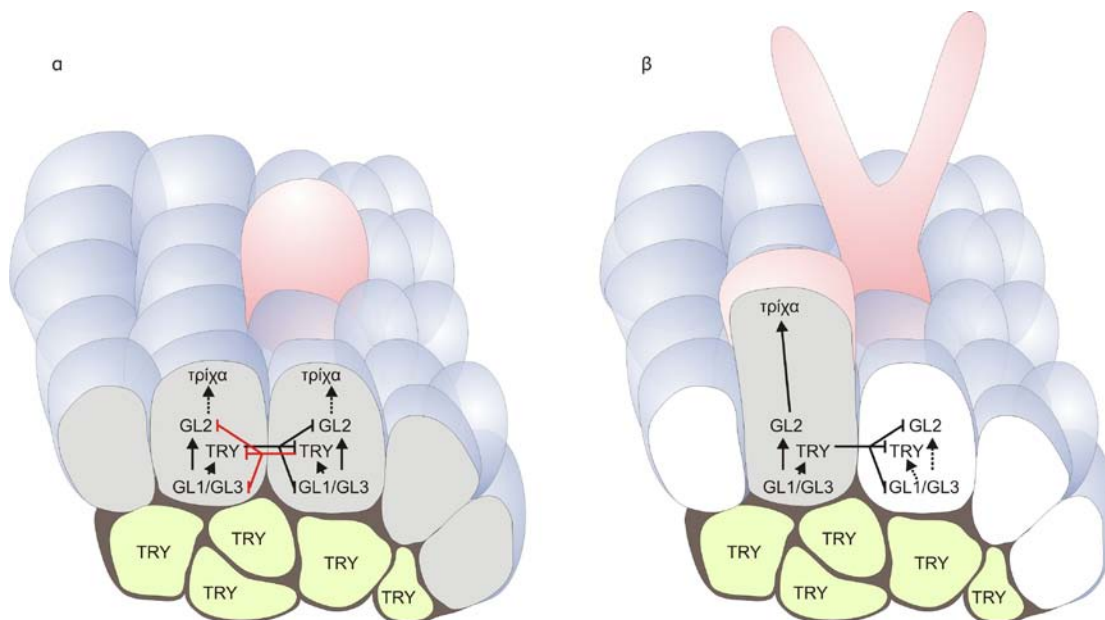
SYNTHASE EXPRESSION (ICX) και *REDUCED TRICHOME NUMBER (RTN)*, οι οποίοι επηρεάζουν και τον αριθμό των τριχών ανά φύλλο. Συγκεκριμένα ο *RTN* καθορίζει τη χρονική στιγμή κατά την οποία παύουν να σχηματίζονται νέες τρίχες (Larkin *et al.*, 2003).

Πίνακας 1. Πρωτεΐνες οι οποίες κωδικοποιούνται από γονίδια τα οποία καθορίζουν την εξέλιξη των επιδερμικών κυττάρων σε τρίχες.

γονίδιο	κωδικοποιεί
<i>GL1</i>	έναν μεταγραφικό παράγοντα R2-R3 MYB
<i>TTG1</i>	μία πρωτεΐνη, η οποία χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενα μοτίβα WD-40
<i>GL3</i>	έναν μεταγραφικό παράγοντα που έχει τη δομή έλικα-στροφή-έλικα
<i>TRY</i>	μία πρωτεΐνη R3 MYB
<i>ETC1</i>	μία πρωτεΐνη R3 MYB
<i>ETC2</i>	μία πρωτεΐνη MYB
<i>CPC</i>	μία πρωτεΐνη R3 MYB
<i>GL2</i>	έναν μεταγραφικό παράγοντα που έχει τη δομή του φερμουάρ-λευκίνης
<i>TTG2</i>	έναν μεταγραφικό παράγοντα WRKY

Η προτεινόμενη αλληλουχία των γεγονότων που καθορίζουν την εξέλιξη των επιδερμικών κυττάρων σε τρίχες, βασίζεται στο μοντέλο της πλευρικής παρεμπόδισης (Larkin *et al.*, 1997; Foster and Veit, 2000; Martin and Glover, 2007).

Αρχικά όλα τα πρωτοδερμικά κύτταρα συναγωνίζονται ώστε να εξελιχθούν σε κύτταρα τριχώματος (εικόνα 12.α), παράγοντας την πρωτεΐνη *GL1* σε χαμηλά επίπεδα και πιθανώς τις πρωτεΐνες *GL3* και *TTG*, η αλληλεπίδραση των οποίων επάγει τη μεταγραφή μεταξύ άλλων και των γονιδίων *GL2*, *TRY* και *CPC*. Η πρωτεΐνη *GL2* προάγει την διαφοροποίηση του κυττάρου σε τρίχα ενώ οι πρωτεΐνες *TRY* και *CPC* πιθανώς μεταφέρονται στα πλευρικά κύτταρα μέσω πλασμοδεσμών, όπου και παρεμποδίζουν την έκφραση των *GL1*, *GL2*, *TRY* και *CPC* και πιθανώς των *GL3* ή *TTG*. Στο στάδιο αυτό τα κύτταρα βρίσκονται σε μία κατάσταση αμοιβαίας παρεμπόδισης (εικόνα 12.α). Η κατάσταση αυτή είναι ασταθής, ωστόσο σε δεδομένη χρονική στιγμή, κύτταρα τα οποία αποκτούν υψηλότερα επίπεδα πρωτεϊνών εισέρχονται στη διαδικασία διαφοροποίησης σε τρίχωμα, και λόγω των υψηλότερων επιπέδων των *TRY* και *CPC* επιτυγχάνουν να παρεμποδίσουν την ίδια διαδικασία στα γειτονικά τους κύτταρα (εικόνα 12.β). Πρέπει να επισημανθεί ότι ο τρόπος αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών *GL1*, *GL3* και *TTG* δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος και



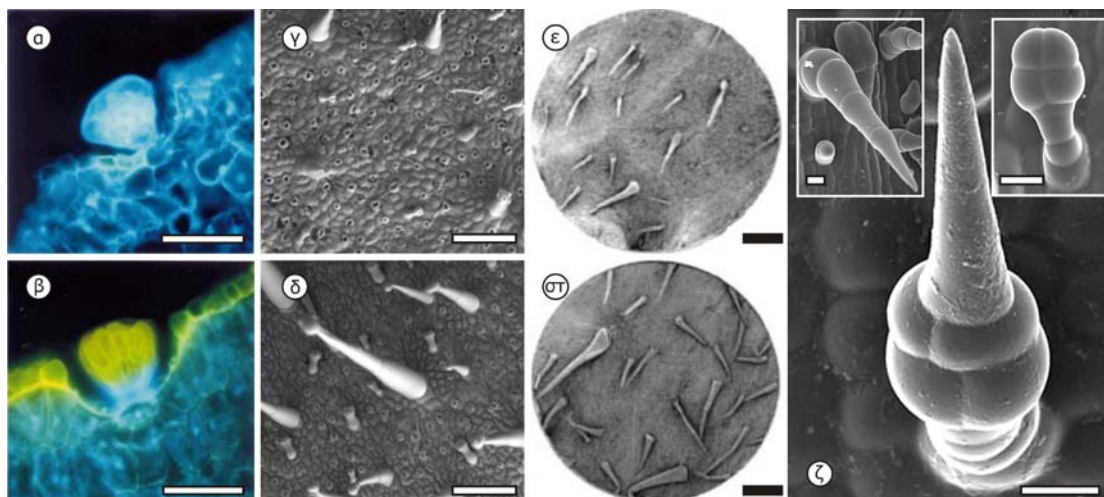
Εικόνα 12. Μοντέλο της αλληλουχίας των γεγονότων που καθορίζουν την μοίρα των επιδερμικών κυττάρων σε φύλλα *Arabidopsis*. **α.** Αμοιβαία παρεμπόδιση μεταξύ των κυττάρων της επιδερμίδας, πριν καθοριστεί ποια θα διαφοροποιηθούν σε κύτταρα τριχώματος. Όλα τα κύτταρα είναι δυνητικά ισοδύναμα στο να διαφοροποιηθούν σε τρίχα και υφίσταται έκφραση των *GL1*, *GL3* και *GL2* ενώ ταυτόχρονα προσπαθούν να παρεμποδίσουν την έκφραση των εν λόγω γονιδίων στα γειτονικά τους κύτταρα μέσω της έκφρασης του *TRY*. **β.** Τα κύτταρα, τα οποία αντιπαρέχονται την παρεμποδιστική δράση της *TRY*, αυξάνουν τα επίπεδα των *GL1*, *GL2*, *TRY* ενώ τα αυξημένα επίπεδα της *TRY* παρεμποδίζουν την έκφραση ή λειτουργία των *GL1*, *GL3*, *GL2* και *TRY* στα διπλανά κύτταρα. Με το γκρι χρώμα υποδεικνύονται κύτταρα που δυνητικά μπορούν να διαφοροποιηθούν σε τρίχα. Ορισμένα γονίδια δεν εμφανίζονται προς απλούστευση (Larkin *et al.*, 2003).

παραμένει άγνωστο εάν η πρωτεΐνη TTG συμμετέχει στο μεταγραφικό σύμπλεγμα των GL1/GL3. Τα μέχρι τώρα πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι είναι δυνατή η αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης GL3 με τις GL1 και TTG σε διαφορετικές θέσεις αλλά δεν έχει αποδειχθεί ότι η τελευταία εισέρχεται στον πυρήνα (Larkin *et al.*, 1993; Larkin *et al.*, 1994; Marks, 1997; Szymanski *et al.*, 1998; Glover, 2000; Scheres, 2000; Walker and Marks, 2000; Larkin *et al.*, 2003). Τέλος στη διαδικασία της πλευρικής παρεμπόδισης εμπλέκονται και τα γονίδια *ETC1* και *ETC2* (Kirik *et al.*, 2004a; Kirik *et al.*, 2004b; Broun *et al.*, 2006).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ορισμένες ορμόνες καθώς και διάφοροι παράγοντες του περιβάλλοντος εμπλέκονται στο σχηματισμό και στην ανάπτυξη του τριχώματος των υπέργειων οργάνων. Καθοριστικός θεωρείται ο ρόλος του γιββερρελικού οξέος (GA) το οποίο, σύμφωνα με πειράματα σε φυτά *Arabidopsis*, επηρεάζει τόσο τον αριθμό των τριχών και των διακλαδώσεων τους όσο και τον χρόνο δημιουργίας τους. Εκτός αυτού, η δράση του GA επί του τριχώματος είναι διαφορετική μεταξύ προσαξονικής και αποαξονικής επιφάνειας των φύλλων. Τέλος, φαίνεται ότι το GA δρα ως σήμα για τη μεταγραφή του *GL1* γονιδίου (Chien and Sussex, 1996; Telfer *et al.*, 1997; Perazza and G., 1998; Hülskamp and Kirik, 2000; Walker and Marks, 2000). Ωστόσο, στη δημιουργία του τριχώματος φαίνεται ότι εμπλέκονται και άλλες ορμόνες. Πρόσφατα πειραματικά δεδομένα συνηγορούν στην εμπλοκή ορμονών που σχετίζονται με την αντιμετώπιση τραυματισμών όπως του γιασμονικού οξέος (JA) και του μέθυλο-γιασμονικού οξέος (MeJA) και αφορούν τόσο σε αδενώδεις όσο και σε μη αδενώδεις τριχώματα (Traw and Bergelson, 2003; Li *et al.*, 2004; Boughton *et al.*, 2005; Xu and Yan, 2005). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα GA και JA επιδρούν θετικά και συνεργιστικά επί της πυκνότητας του τριχώματος (Traw and Bergelson, 2003). Αντίθετα, πειράματα με εφαρμογή σαλικυλικού οξέος (SA), καθώς και πειράματα με μεταλλάγματα του φυτού *Arabidopsis* σε γονίδια που σχετίζονται με το SA, έδειξαν ότι τα υψηλά επίπεδα SA οδηγούν σε μείωση της πυκνότητας του τριχώματος ή/και του αριθμού των τριχών στα νέα φύλλα (Bowling *et*

al., 1997; Traw and Bergelson, 2003). Η αρνητική επίδραση του SA επί της πυκνότητας του τριχώματος είναι όχι μόνο άμεση αλλά και έμμεση, αφού μειώνει τα θετικά αποτελέσματα της επίδρασης του JA (Traw and Bergelson, 2003). Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα πειραμάτων σε φυτά αγγουριάς (*Cucumis sativus*), τα επίπεδα του αιθυλενίου επηρεάζουν την μορφολογία και την πυκνότητα του τριχώματος του υποκοτύλιου (εικόνα 13.ζ) (Kazama *et al.*, 2004). Εκτός αυτών, η πυκνότητα, ο σχηματισμός και η ανάπτυξη των ινών του βαμβακιού επηρεάζονται από την αυξίνη, το αιθυλένιο, τα μπρασσινοστεροειδή και το GA (Kim and Triplett, 2001; Seagull and Giavalis, 2004; Sun *et al.*, 2005; Shi *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2007).

Τα χαρακτηριστικά του τριχώματος των υπέργειων φυτικών οργάνων επηρεάζονται και από μια σειρά αβιοτικών και βιοτικών παραγόντων. Όπως είναι γνωστό το φωτεινό καθεστώς στο οποίο αναπτύσσονται τα φυτά επηρεάζει τόσο τη φυσιολογία όσο και τη μορφολογία και ανατομία τους. Γενικά, φυτά ή/και φύλλα του ίδιου φυτού, τα οποία αναπτύσσονται υπό συνθήκες σκίασης εμφανίζουν μικρότερες τιμές πυκνότητας τριχώματος ή/και μεγέθους της εκκριτικής κεφαλής της αδενώδους τρίχας, σε σχέση με τα ίδια φυτά ή/και φύλλα του ίδιου φυτού, τα οποία έχουν αναπτυχθεί σε συνθήκες άπλετου φωτισμού (Nihoul, 1993; Wilkens *et al.*, 1996; Liakoura *et al.*, 1997; Pérez-Estrada *et al.*, 2000; Tattini *et al.*, 2000; Bentz, 2003; Le Roux *et al.*, 2005; Barp *et al.*, 2006; Roberts and Paul, 2006). Επίσης η φωτοπερίοδος είναι δυνατόν να επηρεάζει την πυκνότητα του τριχώματος, αν και η επίδραση του παράγοντα αυτού μπορεί να διαφέρει μεταξύ της προσαξονικής και αποαξονικής επιφάνειας του φύλλου καθώς επίσης και μεταξύ των διαφορετικών τύπων τριχών που απαντώνται πάνω στο ίδιο φυτικό όργανο (Gianfagna *et al.*, 1992; Chien and Sussex, 1996; Walker and Marks, 2000; Gurr and McGrath, 2001). Τέλος οι συνθήκες φωτισμού (σκιά-φως, φωτοπερίοδος) στις οποίες αναπτύσσονται τα φυτά είναι δυνατό να επηρεάσουν και τη χημική σύσταση του τριχώματος ή των εκκριμάτων του, ποσοτικά



Εικόνα 13. Επίδραση αβιοτικών (**α-δ**), βιοτικών (**ε, στ**) ή ορμονικών (**ζ**) παραγόντων επί της χημικής σύστασης, της μορφολογίας και της πυκνότητας του τριχώματος διαφόρων φυτών. **α, β.** Φωτογραφίες από μικροσκόπιο φθορισμού με διέγερση με υπεριώδες φως μετά από επαγωγή του φθορισμού με προσθήκη Naturstoff A σε τομές φύλλων φυτών *Phillyrea latifolia*, τα οποία αναπτύχθηκαν υπό συνθήκες σκίασης (**α**) ή συνθήκες φωτός (**β**). Διακρίνονται αδενώδεις τρίχες. Ο κίτρινος φθορισμός υποδηλώνει την ύπαρξη φλαβονοειδών. Κλίμακες: 50 μm (Tattini *et al.*, 2000). **γ, δ.** Παρατήρηση μέσω VP-SEM (Variable Pressure-SEM) νεαρών φύλλων (τρίτο από την κορυφή) φυτών καπνού, τα οποία αναπτύχθηκαν *in vitro* για 3 εβδομάδες σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε (**γ**) 0.03 mM Zn και 3 mM Ca ή (**δ**) 1 mM Zn και 3 mM Ca. Κλίμακα: 150 μm. Σύμφωνα με τις μετρήσεις τα αυξημένα επίπεδα Zn επηρέασαν στα νεαρά φύλλα, όχι μόνο τον αριθμό και των δύο τύπων τριχών αλλά και τις διαστάσεις τους (Sarret *et al.*, 2006). **ε, στ.** Μικροφωτογραφίες ΗΜΣ του έβδομου φύλλου φυτών *Brassica nigra*, τα οποία είτε ήταν μάρτυρες (**ε**) είτε είχαν υποστεί τραυματισμό (στο στάδιο του τέταρτου φύλλου) από λάρβα του εντόμου *Pieris rapae* (**στ**). Κλίμακες: 1 mm (Traw and Dawson, 2002). **ζ.** Επίδραση αιθυλενίου επί της μορφολογίας του τριχώματος του υποκοτυλίου του φυτού *Cucumis sativus* (μικροφωτογραφία ΗΜΣ). Η αναπτυσσόμενη τρίχα εμφανίζει μικτά χαρακτηριστικά μεταξύ αδενώδους και μη αδενώδους τρίχας. Στις ένθετες εικόνες παρουσιάζονται μικροφωτογραφίες ΗΜΣ από φυσιολογικές (μη αδενώδης, **αριστερά** και αδενώδης, **δεξιά**) τρίχες του μάρτυρα. Κλίμακες: 20 μm (Kazama *et al.*, 2004).

ή/και ποιοτικά (εικόνα 13.α, β) (Gianfagna *et al.*, 1992; Liakoura *et al.*, 1997; Tattini *et al.*, 2000).

Οι κλιματικές αλλαγές και οι συνέπειές τους αποτελούν σήμερα αντικείμενο μελέτης πολλών επιστημονικών ομάδων. Η μείωση του στρατοσφαιρικού όζοντος συνεπάγεται αύξηση της υπεριώδους (ιδίως της UV-B) ακτινοβολίας στην επιφάνεια της γης, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη των φυτών ποικιλοτρόπως. Παρουσιάζει επομένως ενδιαφέρον η μελέτη των επιδράσεων της UV-ακτινοβολίας σε έναν επιφανειακό ιστό ο οποίος εκτίθεται σε αυξημένες δόσεις. Η UV-B ακτινοβολία μπορεί να επηρεάσει (**α**) την πυκνότητα του τριχώματος θετικά ή αρνητικά (Barnes *et al.*, 1996; Furness *et al.*, 1999; Kostina *et al.*, 2001; Boeger and Poulson, 2006) (**β**) τον προσανατολισμό του (Furness *et al.*, 1999) (**γ**) την πυκνότητα συγκεκριμένου τύπου τριχών (Furness *et al.*, 1999; Yiannopoulos *et al.*, 2001) και (**δ**) τη συγκέντρωση των εντός του τριχώματος ενώσεων που απορροφούν στην UV-B περιοχή του φάσματος (Liakoura *et al.*, 1999). Επίσης οι Kostina *et al.* (2001) κατέγραψαν

επίδραση και της UV-A ακτινοβολίας επί της πυκνότητας του τριχώματος του φυτού *Betula pendula*. Τέλος, πειράματα σε φυτά *Arabidopsis* έδειξαν ότι η ακτινοβολία πλήρως εκπτυγμένων φύλλων με γ-ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει αύξηση του αριθμού των τριχών στα νέα φύλλα, γεγονός το οποίο αποδόθηκε στις παραγόμενες ενεργές ρίζες οξυγόνου (Nagata *et al.*, 1999; Walker and Marks, 2000).

Σε ορισμένες περιπτώσεις η θερμοκρασία του περιβάλλοντος επιδρά στην πυκνότητα του τριχώματος, γεγονός το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε ποσοτικές αλλαγές στην εκκριτική ικανότητα σε επίπεδο φυτικού οργάνου (Gianfagna *et al.*, 1992; Nihoul, 1993; Pérez-Estrada *et al.*, 2000). Η θερμοκρασία είναι δυνατό να επηρεάσει και τη χημική σύσταση των εκκριμάτων του τριχώματος. Φυτά τα οποία αναπτύσσονται σε υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να τροποποιήσουν την σχετική αναλογία των συστατικών των εκκριμάτων τους, οπότε μεταβάλλεται και το ιξώδες, γεγονός που με τη σειρά του προκαλεί αύξηση της ρευστότητας και μείωση του προστατευτικού δυναμικού έναντι φυτοφάγων

(Walters *et al.*, 1991). Οι υψηλές θερμοκρασίες μπορεί επίσης να προκαλέσουν ρήξη της εφυμενίδας της κεφαλής των αδενωδών τριχών και απελευθέρωση του εκκρίματος.

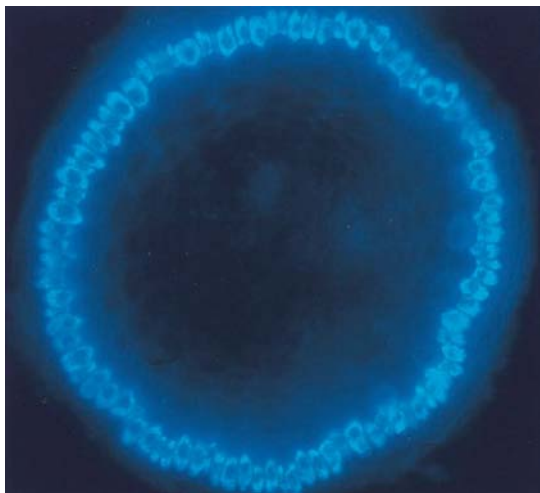
Επίσης, η υδατική καταπόνηση θεωρείται ότι προκαλεί αύξηση της πυκνότητας του τριχώματος (Pérez-Estrada *et al.*, 2000; Bañon *et al.*, 2004). Ωστόσο, η επίδραση αυτή δεν έχει παρατηρηθεί σε ικανό αριθμό φυτικών ειδών ώστε να θεωρηθεί γενικευμένη (Sam *et al.*, 2000). Η ανόργανη διατροφή του φυτού και οι αέριοι ή εδαφικοί ρυπαντές αποτελούν παράγοντες οι οποίοι επίσης επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά του τριχώματος (εικόνα 13.γ, δ) (Roy *et al.*, 1999; Dickison, 2000; Choi *et al.*, 2001; De Silva *et al.*, 2001; Liakopoulos and Karabourniotis, 2005; Sarret *et al.*, 2006).

Τέλος και όσον αφορά στην επίδραση βιοτικών παραγόντων στα χαρακτηριστικά του τριχώματος πρέπει να αναφερθεί ότι πολλά φυτά

ανταποκρίνονται στον τραυματισμό λόγω προσβολής από έντομα, αυξάνοντας την πυκνότητα του τριχώματος ή/και τον συνολικό αριθμό των τριχών στα νέα φύλλα (εικόνα 13.ε, στ) (Agrawal, 1998; Agrawal, 1999; Traw, 2002; Traw and Dawson, 2002). Παρόμοια όμως ανταποκρίνονται και στον τεχνητό τραυματισμό (Traw and Bergelson, 2003), καθώς και όπως αναφέρθηκε ήδη, και στην εφαρμογή ορμονών όπως το JA και MeJA (Traw and Bergelson, 2003; Boughton *et al.*, 2005). Αξίζει λοιπόν να σημειωθεί ότι ο τραυματισμός (τεχνητά ή μη) αλλά και ορμόνες που σχετίζονται με τραυματισμό όπως το JA προάγουν την έκφραση *PIN2* γονιδίων (Koiwa *et al.*, 1997; Ryan, 2000), μέλος των οποίων όπως αποδείχθηκε πρόσφατα εκφράζεται στο τρίχωμα και υπερέκφρασή του προκαλεί αύξηση στην πυκνότητα του τριχώματος και στον αριθμό των διακλαδώσεων των τριχών (Liu *et al.*, 2006).

II. Δευτερογενής μεταβολισμός

Ο δευτερογενής μεταβολισμός συνιστά το σύνολο των βιοσυνθετικών οδών μέσω των οποίων παράγονται μόρια τα οποία στην πλειοψηφία τους δεν εμπλέκονται σε ζωτικές κυτταρικές λειτουργίες όπως η ανάπτυξη και η διαχείριση της ενέργειας (Dixon, 2001). Ωστόσο, τις τελευταίες δεκαετίες έχουν αποδοθεί πολυάριθμοι ρόλοι στους δευτερογενείς μεταβολίτες όσον αφορά στη φυσιολογία και οικολογία των φυτών (εικόνα 14). Επιπλέον, τα μόρια αυτά συνιστούν την πηγή προέλευσης πολλών φαρμακευτικών προϊόντων και για το λόγο αυτό η βιοσύνθεση και οι χημικές τους ιδιότητες αποτελούν αντικείμενο εντατικής έρευνας (Vickery and Vickery, 1981; Edwards and Gatehouse, 1999; Kliebenstein, 2004; Oksman-Caldentey and Inzé, 2004). Από την άποψη της χημικής δομής και της βιοσυνθετικής προέλευσης, οι δευτερογενείς μεταβολίτες διακρίνονται σε τρεις κύριες κατηγορίες, τα φαινολικά, τα τερπένια και τις αζωτούχες ενώσεις (Καραμπουρνιώτης, 2003).



Εικόνα 14. Μικροφωτογραφία μικροσκοπίου φθορισμού εγκάρσιας τομής ρίζας του φυτού *Avena sativa* μετά από διέγερση με υπεριώδες φως. Διακρίνεται η συσσωρευση της αντιμικροβιακής σαπωνίνης αβενασίνης A-1 στα κύτταρα της επιδερμίδας (Morrissey and Osbourn, 1999).

Τα φαινολικά αποτελούν μια κατηγορία δευτερογενών μεταβολιτών με κοινό χαρακτηριστικό την ύπαρξη ενός ή περισσότερων εξαμελών αρωματικών δακτυλίων στο μόριό τους, υποκατεστημένων με ένα ή περισσότερα υδροξύλια (Harborne *et al.*, 1999). Τα

περισσότερα φαινολικά προέρχονται από την βιοσυνθετική οδό του σικιμικού οξέος. Μέσω της οδού αυτής και με ενδιάμεσο πρόδρομο μόριο το αρωματικό αμινοξύ φαινυλαλανίνη παράγονται οι κύριες κατηγορίες φαινολικών συστατικών όπως οι φαινόλες (C_6), τα φαινολικά οξέα (C_6-C_1), τα φαινυλοπροπανοειδή (C_6-C_3) και τα φλαβονοειδή ($C_6-C_3-C_6$, εκτός των ροτενοειδών με δομή $C_6-C_4-C_6$) (Taiz and Zeiger, 1998; Harborne, 1999a).

Η κατηγορία των τερπενίων χαρακτηρίζεται από μια ευρύτατη ποικιλία δομών οι οποίες, με βάση τον αριθμό των δομικών μονάδων C_5 τα οποία συμμετέχουν στον ανθρακικό σκελετό, διακρίνονται σε ημιτερπένια (C_5), μονοτερπένια (C_{10}), σεσκιτερπένια (C_{15}), διτερπένια (C_{20}), σεστερτερπένια (C_{25}), τριτερπένια (C_{30}), τετρατερπένια (C_{40}) και πολυτερπένια (Banthorpe, 1991; McGarvey and Croteau, 1995; Breitmaier, 2006). Τα τερπένια περιλαμβάνουν εκτός από δευτερογενείς μεταβολίτες και ενώσεις με θεμελιώδη ρόλο στη φυσιολογία των φυτών όπως καροτενοειδή, χλωροφύλλες και φυτορμόνες όπως το αμψισικό οξύ και οι κυτοκινίνες (McGarvey and Croteau, 1995; Hendry, 1999). Κοινό χαρακτηριστικό όλων των τερπενίων είναι η βιοσυνθετική τους προέλευση από τις οδούς του μεβαλονικού οξέος (MVA) και της 4-φωσφορο-2-μεθυλοερυθρυτόλης (MEP). Οι δύο αυτές εναλλακτικές οδοί λειτουργούν σε διαφορετικά υποκυτταρικά διαμερίσματα και συγκεκριμένα στο κυτταρόπλασμα (οδός MVA) και τα πλαστίδια (οδός MEP) ενώ παράγονται και διαφορετικά τελικά προϊόντα (Aharoni *et al.*, 2006). Συγκεκριμένα, μέσω της οδού του MVA παράγονται τα σεσκιτερπένια, τα τριτερπένια και οι πολυπρενόλες ενώ μέσω της οδού της MEP παράγονται τα μονοτερπένια, τα διτερπένια και τα τετρατερπένια (Dubey *et al.*, 2003; Cheng *et al.*, 2007). Αξίζει να σημειωθεί ότι η οδός του MEP ανακαλύφθηκε σχετικά πρόσφατα (Lichtenthaler, 1999; Logan *et al.*, 2000). Παρά τον παραπάνω διαχωρισμό μεταξύ των οδών των MVA και MEP, μπορούν μεταξύ αυτών να συμβούν ανταλλαγές σε επίπεδο πρόδρομων μορίων, κυρίως από τα πλαστίδια προς το κυτταρόπλασμα. Ωστόσο, η ταυτότητα των ενδιάμεσων αυτών παραγώγων

δεν είναι γνωστή (Hemmerlin *et al.*, 2003a; Laule *et al.*, 2003; Dudareva *et al.*, 2005).

Οι αζωτούχοι δευτερογενείς μεταβολίτες αφορούν σε μόρια τα οποία εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία δομών και προέρχονται κυρίως από αμινοξέα (Croteau *et al.*, 2000). Οι κύριες κατηγορίες τους περιλαμβάνουν τα αλκαλοειδή, τους κυανογόνους γλυκοζίτες, τους θειογλυκοζίτες, τα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα, τις πολυαμίνες και τις μπεταλαΐνες.

11.1. Φλαβονοειδή

11.1.1. Βιοσύνθεση φλαβονοειδών

11.1.1.1. Γενικά

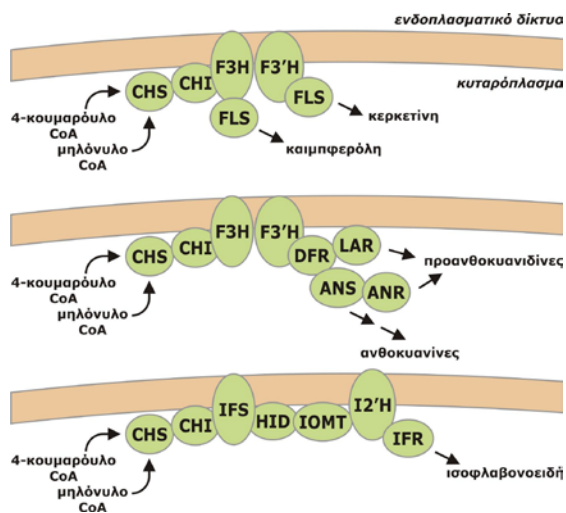
Η κατηγορία των φλαβονοειδών αριθμεί σήμερα περισσότερες από 9000 δομές και η βιοσύνθεση τους έχει αποσαφηνιστεί σε σημαντικό βαθμό, τόσο σε ενζυμικό όσο και γονιδιακό επίπεδο (Dixon, 1999; Winkel-Shirley, 2001b; Martens and Mithöfer, 2005; Kitamura, 2006; Marais *et al.*, 2006; Quattrocchio *et al.*, 2006; Rausher, 2006; Ferrer *et al.*, 2008). Η βιοσύνθεση των φλαβονοειδών πραγματοποιείται στο κυτταρόπλασμα. Έχει προταθεί ότι τα εμπλεκόμενα ένζυμα σχηματίζουν ένα πολυενζυμικό σύστημα το οποίο εδράζει στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου (Burbulis and Winkel-Shirley, 1999; Winkel-Shirley, 1999; Jørgensen *et al.*, 2005; Ralston and Yu, 2006;

Tanaka *et al.*, 2008) (εικόνα 15).

Ο βασικός σκελετός των φλαβονοειδών αποτελείται από 15 άτομα άνθρακα, σε μία διάταξη δύο αρωματικών δακτυλίων με έξι άτομα άνθρακα (δακτύλιοι A και B) που συνδέονται με μια γέφυρα 3 ατόμων άνθρακα (δακτύλιος C) (Taiz and Zeiger, 1998). Η αντίδραση σχηματισμού του βασικού σκελετού όλων των φλαβονοειδών καταλύεται από την συνθάση της χαλκόνης (CHS) (εικόνα 16). Η CHS απαντάται σε πολλές ισοενζυμικές μορφές ο αριθμός των οποίων κυμαίνεται ανάλογα με το φυτό από μία έως και εννιά (Beerhues *et al.*, 1988; Heldt, 2005). Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, οι χαλκόνες δεν αποτελούν τα τελικά προϊόντα αλλά τα πρόδρομα μόρια ενός βιοσυνθετικού μονοπατιού από το οποίο προκύπτουν όλες οι κατηγορίες των φλαβονοειδών. Ο κεντρικός κορμός του βιοσυνθετικού μονοπατιού περιλαμβάνει μια σειρά ενζυμικών αντιδράσεων που οδηγούν σε μόρια όπως οι φλαβανόνες (διυδροφλαβόνες), οι διυδροφλαβονόλες και οι ανθοκυανίνες. Άλλες κατηγορίες φλαβονοειδών (π.χ. οι αουρόνες, οι φλαβόνες, οι ισοφλαβόνες, οι φλαβονόλες, οι προανθοκυανιδίνες) προκύπτουν από πλευρικές διακλαδώσεις του βιοσυνθετικού μονοπατιού που οδηγεί στις ανθοκυανίνες (Shirley, 1996; Forkmann and Martens, 2001) (εικόνα 16).

11.1.1.2. Χαλκόνες και φλαβανόνες

Η CHS καταλύει τη συμπύκνωση του 4-κουμαρόυλο-CoA με τρία μόρια του μηλότυλο-CoA από την οποία προκύπτει ως προϊόν η 4,2',4',6'- τετραϋδροξυχαλκόνη (Heldt, 2005). Η χαλκόνη αυτή αποτελεί τον αρχικό μεταβολίτη από τον οποίο προκύπτουν όλα τα 5-υδροξυφλαβονοειδή. Τα μόρια αυτά διαθέτουν την τυπική υποκατάσταση του A δακτυλίου των φλαβονοειδών. Ένα εναλλακτικό μονοπάτι λειτουργεί μέσω της δράσης των ενζύμων CHS και ρεδουκτάση της χαλκόνης (CHR) κατά το οποίο προκύπτει η 4,2',4'- τριυδροξυχαλκόνη (ισολικουιριπτεγενίνη). Η χαλκόνη αυτή αποτελεί το πρόδρομο μόριο ενός βιοσυνθετικού μονοπατιού από το οποίο προκύπτουν τα 5-δεοξυφλαβονοειδή (Welle and Grisebach, 1988; Dixon and Paiva, 1995; Croteau *et al.*, 2000; Ferrer *et al.*, 2008).



Εικόνα 15. Σχηματική αναπαράσταση τμήματος πολυενζυμικών συστημάτων εμπλεκόμενων στη βιοσύνθεση ορισμένων κατηγοριών φλαβονοειδών. Συντμήσεις: I2'H: 2'-υδροξυλάση των ισοφλαβονών; IFR: συνθάση των 2-υδροξυισοφλαβονών. Λοιπές συντμήσεις όπως στην εικόνα 16. (Jørgensen *et al.*, 2005) με τροποποιήσεις.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα περισσότερα φυτά δεν συσσωρεύουν χαλκόνες. Συνεπώς, μετά τον σχηματισμό της 4,2',4',6'-τετραϋδροξυχαλκόνης, (μιας 6'-υδροξυχαλκόνης) ακολουθεί η ισομερίωσή της (μέσω της ισομεράσης της χαλκόνης (CHI)) προς τη φλαβανόνη ναρινγκενίνη (5,7,4'-τριυδροξυφλαβανόνη). Αντίστοιχα η ισομερίωση της ισολικουιριτιγενίνης (μιας 6'-δεοξυχαλκόνης) οδηγεί στην λικουιριτιγενίνη (7,4'-διυδροξυφλαβανόνη) (Wong, 1976). Δύο τύποι CHI έχουν αναφερθεί. Ο πρώτος καταλύει την ισομερίωση τόσο των 6'-υδροξυχαλκονών όσο και των 6'-δεοξυχαλκονών (απαντώμενος σε ψυχανθή τόσο με 5-υδροξυφλαβονοειδή όσο και με 5-δεοξυφλαβονοειδή) και ο δεύτερος την ισομερίωση των 6'-υδροξυχαλκονών (απαντώμενος σε φυτά με 5-υδροξυφλαβονοειδή) (Forkmann, 1991). Παρόλα αυτά πειράματα στον καπνό (ο οποίος υπό κανονικές συνθήκες δεν παράγει 5-δεοξυφλαβονοειδή) έδειξαν ότι η ενδογενής CHI δύνανται να καταλύει την ισομερίωση 6'-δεοξυχαλκονών (Joung *et al.*, 2003). Η φλαβανόνη ναρινγκενίνη αποτελεί το πρόδρομο μόριο τριών διαφορετικών ομάδων 5-υδροξυφλαβονοειδών: φλαβόνες, ισοφλαβόνες και διυδροφλαβονόλες. Αντίστοιχα, η λικουιριτιγενίνη αποτελεί το πρόδρομο μόριο των 5-δεοξυισοφλαβονών (Schijlen *et al.*, 2004; Ayabe and Akashi, 2006).

11.1.1.3. Βιοσυνθετική οδός από τις φλαβανόνες έως τις ανθοκυανίνες

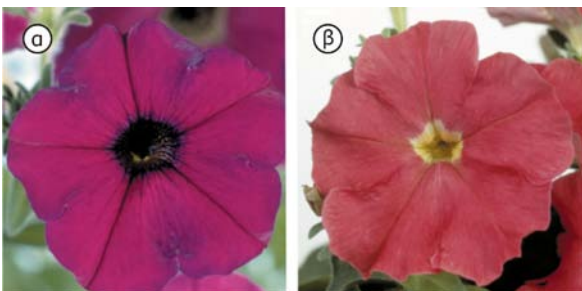
Η υδροξυλίωση των φλαβανονών στο C-3 άτομο άνθρακα οδηγεί στο σχηματισμό των διυδροφλαβονολών. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από την 3-υδροξυλάση των φλαβανονών (F3H) (Gerats and Martin, 1992). Οι διυδροφλαβονόλες συχνά αναφέρονται και ως 3-υδροξυφλαβανόνες ή φλαβανον-3-όλες. Οι τρεις συνηθέστερα απαντώμενες διυδροφλαβονόλες είναι η διυδροκαιμπερόλη (αρωμαδενδρίνη ή 3,5,7,4'-τετραϋδροξυφλαβανόνη), η διυδροκερκετίνη (ταξιφολίνη ή 3,5,7,3',4'-πενταϋδροξυφλαβανόνη) και η διυδρομυρικετίνη (αμπελοψίνη ή 3,5,7,3',4',5'-εξαϋδροξυφλαβανόνη) (Grayer, 1989).

Όπως φαίνεται στην εικόνα 16, η διυδροκαιμπερόλη (η οποία προέρχεται από την

ναρινγκενίνη μέσω της δράσης της F3H) μπορεί να υποστεί επιπλέον υδροξυλίωση είτε στη θέση 3' είτε στις θέσεις 3' και 5' του δακτυλίου B, οδηγώντας έτσι στο σχηματισμό της διυδροκερκετίνης και της διυδρομυρικετίνης αντίστοιχα. Οι αντιδράσεις υδροξυλίωσης στις εν λόγω θέσεις καταλύονται από κυτοχρωμικά P450 ένζυμα και συγκεκριμένα την 3'-υδροξυλάση των φλαβονοειδών (F3'H) και την 3'5'-υδροξυλάση των φλαβονοειδών (F3'5'H) αντίστοιχα (εικόνα 17). Εναλλακτικά, οι ενώσεις διυδροκερκετίνη και διυδρομυρικετίνη μπορούν να προέλθουν μέσω της εριοδικτιόλης (5,7,3',4'-τετραϋδροξυφλαβανόνη) και της 5'-υδροξυεριοδικτιόλης (5,7,3',4',5'-πενταϋδροξυφλαβανόνη) αντίστοιχα. Οι ενώσεις αυτές προκύπτουν από την ναρινγκενίνη μέσω της δράσης των ίδιων ενζύμων (F3'H και F3'5'H αντίστοιχα) (Forkmann and Martens, 2001; Winkel-Shirley, 2001a; Tanaka *et al.*, 2008).

Στη συνέχεια, οι διυδροφλαβονόλες ανάγονται προς λευκοανθοκυανιδίνες (φλαβαν-3,4-διόλες) μέσω του ενζύμου NADPH-4-ρεδοκτάση των διυδροφλαβονολών (DFR). Εκτός των άλλων, οι προκύπτουσες λευκοανθοκυανιδίνες αποτελούν πρόδρομες ενώσεις για τη σύνθεση των ανθοκυανινών (Iwashina, 2000). Αξίζει να αναφερθεί ο πρόσφατος χαρακτηρισμός ενζύμων DFR σε είδη της τάξης Caryophyllales στην οποία απαντώνται αποκλειστικά μπεταλαΐνες αντί ανθοκυανινών (Winkel, 2006). Οι λευκοανθοκυανιδίνες με τη σειρά τους μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες μέσω της δράσης του ενζύμου συνθάση των λευκοανθοκυανιδινών (ANS), μιας 2-οξογλουταρικής-διοξυγονάσης. Οι ανθοκυανιδίνες πελαργονιδίνη, κυανιδίνη και δελφινιδίνη αποτελούν τους συνηθέστερους εκπροσώπους της κατηγορίας αυτής των φλαβονοειδών (Chorgha *et al.*, 2006). Γενικά τα φλαβονοειδή όσο και ειδικότερα οι ανθοκυανιδίνες με ελεύθερη υδροξυλομάδα στη θέση 3 του ετεροκυκλικού δακτυλίου αποτελούν, υπό φυσιολογικές συνθήκες, χημικώς ασταθή προϊόντα με αποτέλεσμα να μεταβολίζονται προς τα γλυκοζυλιωμένα παράγωγά τους. Υπεύθυνο ένζυμο για την γλυκοζυλίωση είναι η 3-O-γλυκοζυλοτρανσφεράση των φλαβονοειδών (3GT). Στην περίπτωση των ανθοκυανιδινών η

δράση του 3GT οδηγεί στη βιοσύνθεση των αντίστοιχων 3-Ο-γλυκοζιτών που ονομάζονται ανθοκυανίνες. Δεδομένου ότι η αντίδραση αυτή είναι απαραίτητη για την σταθεροποίηση των μορίων ώστε να είναι δυνατή η συσσώρευσή τους στο χυμοτόπιο ως υδατοδιαλυτών χρωστικών, η 3GT θεωρείται ως ένα απαραίτητο ένζυμο της βιοσυνθετικής οδού των ανθοκυανινών και όχι απλά ένα ένζυμο υπεύθυνο για την δημιουργία παραγώγων. Με βάση το πρότυπο υδροξυλίωσης του δακτυλίου Β, είναι δυνατή η διάκριση τριών κύριων ομάδων ανθοκυανινών. Κάθε μία από αυτές είναι υπεύθυνη για συγκεκριμένους χρωματισμούς, δεδομένου ότι το μέγιστο της απορρόφησης στο ορατό μετατοπίζεται σε μεγαλύτερα μήκη κύματος αυξανόμενου του αριθμού των υδροξυλομάδων του δακτυλίου Β. Ως εκ τούτου, οι προερχόμενες από την πελαργονιδίνη χρωστικές είναι υπεύθυνες για πορτοκαλί, ροζ ή κόκκινους χρωματισμούς, οι προερχόμενες από την κυανιδίνη για κόκκινους ή πορφυρούς χρωματισμούς ενώ τέλος αυτές που προέρχονται από την δελφινιδίνη για ερυθροκυανούς ή μπλε χρωματισμούς (Koes *et al.*, 2005; Tanaka *et al.*, 2005; Tanaka, 2006). Λόγω της εμπλοκής των ανθοκυανινών (αλλά και άλλων υποκατηγοριών φλαβονοειδών) στους χρωματισμούς των ανθέων (εικόνα 17), πλήθος



Εικόνα 17. Φαινότυποι ανθέων του φυτού *Petunia hybrida*. **α.** αγρίου τύπου όπου παράγονται φλαβονόλες και 3',5'-υδροξυλιωμένες ανθοκυανίνες και **β.** μεταλλάγματος όπου παράγονται κυανιδίνες ως αποτέλεσμα της απουσίας της δράσης του ενζύμου F3'5'H (Mol *et al.*, 1998).

Εικόνα 16. Η βιοσύνθεση των κυριότερων κατηγοριών φλαβονοειδών. Σε κάθε κατηγορία παρουσιάζονται κύρια μεταβολικά προϊόντα. Με κόκκινα βέλη σημειώνεται το βιοσυνθετικό μονοπάτι το οποίο οδηγεί στις ανθοκυανίνες. Με πολλαπλά βέλη σημειώνονται μετατροπές οι οποίες πραγματοποιούνται με περισσότερα του ενός βιοσυνθετικά βήματα. Οι αριθμοί των ατόμων άνθρακα και τα γράμματα των δακτυλίων του σκελετού σημειώνονται όπου είναι απαραίτητο λόγω αλλαγής του τρόπου αρίθμησης ή ονομασίας των δακτυλίων αντίστοιχα. Συντμήσεις: CHS: συνθάση της χαλκόνης; CHR: ρεδοκτάση της χαλκόνης; CHI: ισομερσία της χαλκόνης; F3H: 3-υδροξυλάση των φλαβονών; F3'H: 3'-υδροξυλάση των φλαβονοειδών; F3'5'H: 3',5'-υδροξυλάση των φλαβονοειδών; DFR: 4-ρεδοκτάση των διυδροφλαβονολών; ANS: συνθάση των λευκοανθοκυανιδινών; 3GT: 3-Ο-γλυκοζυλοτρανσφεράση των φλαβονοειδών; AS: συνθάση της αουρεοσιδίνης; FNSI(II): συνθάση I (ή II) των φλαβονών; FLS: συνθάση των φλαβονολών; ISF: συνθάση των ισοφλαβονών; IOMT: Ο-μεθυλοτρανσφεράση των ισοφλαβονών; LAR: ρεδοκτάση των λευκοανθοκυανιδινών; ANR: ρεδοκτάση των ανθοκυανιδινών.

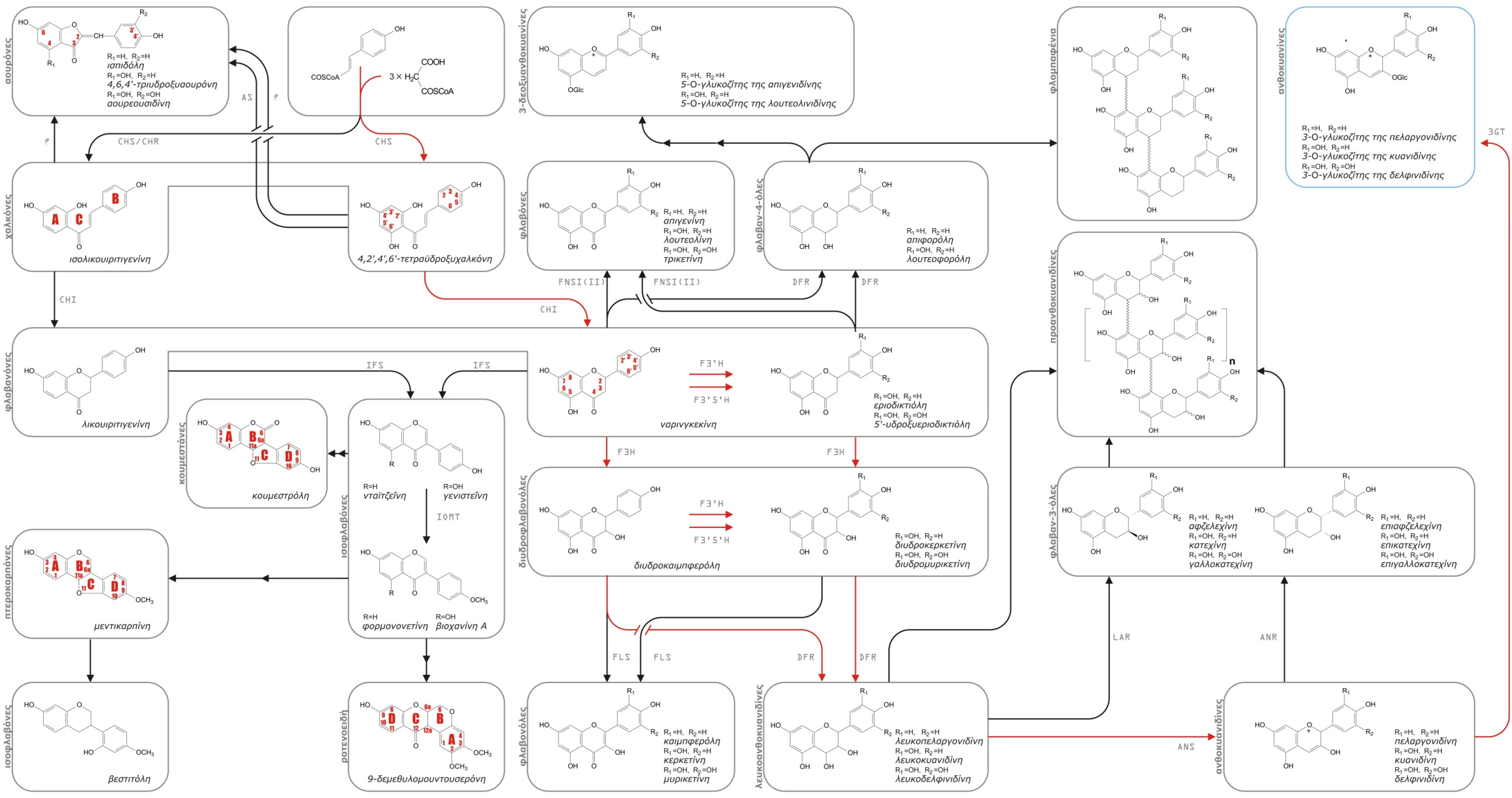
εργασιών πραγματοποιείται τη γενετική τροποποίηση της βιοσυνθετικής τους οδού (Courtney-Gutterson *et al.*, 1994; Davies *et al.*, 1998; Derolles *et al.*, 1998; Mol *et al.*, 1998; Mol *et al.*, 1999; Aida *et al.*, 2000a; Aida *et al.*, 2000b; Tanaka and Ohmiya, 2008).

II.1.1.4. Αουρόνες

Μέσω των χαλκονών παράγεται επίσης μια κατηγορία φλαβονοειδών που ονομάζονται αουρόνες. Οι συνηθέστερες δομές είναι η σουλφουρετίνη (6,3',4'-τριυδροξυαουρόνη) και η αουρεουσιδίνη (4,6,3',4'-τετραυδροξυαουρόνη). Ο ενζυμικός μηχανισμός του σχετικού βιοσυνθετικού μονοπατιού δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί αν και πιστεύεται ότι περιλαμβάνει οξειδωτική μετατροπή μέσω μιας υπεροξειδάσης (Strack, 1997). Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι ειδικά η αουρόνη αουρεουσιδίνη προέρχεται από την 4,2',4',6'-τετραυδροξυχαλκόνη μέσω της δράσης της συνθάσης της αουρεουσιδίνης (AS). Επίσης, με τη δράση του ίδιου ενζύμου στην 3,4,2',4',6'-πενταυδροξυχαλκόνη προκύπτει η αουρόνη μπρακτεατίνη (4,6,3',4',5'-πενταυδροξυαουρόνη) (Nakayama *et al.*, 2000; Sato *et al.*, 2001). Η AS είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 39 kDa η οποία περιέχει χαλκό και θεωρείται ομόλογη των φυτικών πολυφαινολοξειδασών (PPO) (Nakayama *et al.*, 2000).

II.1.1.5. Φλαβόνες και φλαβονόλες

Οι φλαβόνες, οι οποίες αποτελούν μία από τις πολυπληθέστερες υποκατηγορίες φλαβονοειδών, προέρχονται από τις φλαβανόνες με την εισαγωγή διπλού δεσμού μεταξύ των C-2 και C-3 ατόμων άνθρακα (Sinha, 2004). Θεωρείται πιθανό ότι για τη μετατροπή αυτή απαιτούνται δύο διαδοχικά στάδια. Έχει προταθεί ότι σε ορισμένες τουλάχιστον περιπτώσεις η μετατροπή πραγματοποιείται μέσω του σχηματισμού μιας 2-υδροξυφλαβανόνης η οποία στη συνέχεια



ασουρόνες

χαλκόνες

φλαβονόλες

πτεροκαρπίνες

ισοφλαβονόλες

3-δρεοεπιανθοκυανιδίνες

φλαβονόλες

διυδροφλαβονόλες

φλαβονόλες

λευκοανθοκυανιδίνες

φλοιομπαφένια

προανθοκυανιδίνες

φλαβαν-3-όλες

ανθοκυανιδίνες

ανθοκυανιδίνες

3GT

υπόκειται σε αφυδάτωση (Strack, 1997; Tanaka *et al.*, 2008). Έχουν περιγραφεί δύο διαφορετικές συνθάσεις των φλαβονών: η συνθάση I των φλαβονών (FNSI) (η οποία απαντάται μόνο σε είδη της οικογένειας *Apiaceae*) είναι μια τυπική 2-οξογλουταρική-εξαρτώμενη διοξυγονάση και η συνθάση II των φλαβονών (FNSII) (η οποία απαντάται σε όλες τις υπόλοιπες φυτικές οικογένειες που συνθέτουν φλαβόνες, π.χ. όπως στο φυτό *Antirrhinum majus*, *Scrophulariaceae*) είναι μια κυτοχρωμική P450 μονοοξυγονάση (Forkmann, 1991; Martens *et al.*, 2003; Martens and Mithöfer, 2005). Οι πλέον διαδεδομένες φλαβόνες είναι η απιγενίνη (5,7,4'-τριυδροξυφλαβόνη) και η λουτεολίνη (5,7,3',4'-τετραυδροξυφλαβόνη) (Harborne and Baxter, 1999).

Οι φλαβονόλες προέρχονται από τις διυδροφλαβονόλες με την εισαγωγή διπλού δεσμού μεταξύ των C-2 και C-3 ατόμων άνθρακα. Η μετατροπή αυτή καταλύεται από το ένζυμο συνθάση των φλαβονολών (FLS), η οποία είναι μία 2-οξογλουταρική-εξαρτώμενη διοξυγονάση. Όπως και στην περίπτωση των φλαβονών, πιστεύεται ότι για τη μετατροπή αυτή απαιτούνται δύο διαδοχικά στάδια (Strack, 1997). Οι φλαβονόλες αποτελούν αναμφίβολα την πλέον διαδεδομένη κατηγορία φλαβονοειδών. Μεταξύ των συνηθέστερα απαντώμενων φλαβονολών συγκαταλέγονται η κερκετίνη (3,5,7,3',4'-πενταυδροξυφλαβόνη), η καιμπερόλη (3,5,7,4'-τετραυδροξυφλαβόνη) και η μυρικετίνη (3,5,7,3',4',5'-εξαυδροξυφλαβόνη) (Williams *et al.*, 1988; Harborne and Baxter, 1999).

II.1.1.6. Ισοφλαβονοειδή

Οι φλαβανόνες αποτελούν τις πρόδρομες ενώσεις και για τα ισοφλαβονοειδή, των οποίων η βιοσύνθεση αποτελεί αντικείμενο εκτενούς μελέτης (Yu *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2003) δεδομένου του ρόλου τους στη φυτική άμυνα (βλ. ενότητα II.1.2.5). Κύριο δομικό χαρακτηριστικό των ισοφλαβονοειδών αποτελεί η αναδιευθετημένη αρυλομάδα (δακτύλιος B) η οποία βρίσκεται ενωμένη στο C-3 άτομο άνθρακα του σκελετού (Sinha, 2004; Marais *et al.*, 2006) (εικόνα 16). Η μετατροπή των φλαβανονών σε ισοφλαβόνες περιλαμβάνει δύο ενζυμικά στάδια. Αρχικά λαμβάνει χώρα οξειδωση και

αναδιευθέτηση των φλαβανονών σε 2-υδροξυισοφλαβανόνες και στη συνέχεια ακολουθεί αφυδάτωση των τελευταίων προς ισοφλαβόνες. Το πρώτο στάδιο καταλύεται από την συνθάση των ισοφλαβονών (IFS), μια NADPH-κυτοχρωμική P450 μονοοξυγονάση, ενώ το δεύτερο από την αφυδατάση των 2-υδροξυισοφλαβανονών (HID) (Whiting, 2001; Jørgensen *et al.*, 2005; Ayabe and Akashi, 2006). Από τη δράση των παραπάνω ενζύμων στις φλαβανόνες λικουριτιγενίνη και ναρινγκενίνη προκύπτουν οι ισοφλαβόνες νταιτζεϊνή και γενιστεϊνή αντίστοιχα. Σε ένα επόμενο βιοσυνθετικό βήμα, με μεθυλίωση στη θέση 4' των παραπάνω ισοφλαβονών, προκύπτει η φορμονονετίνη και η βιοχανίνη A αντίστοιχα (Phillips and Kapulnik, 1995; Winkel-Shirley, 1999). Υπεύθυνο ένζυμο για την παραπάνω μετατροπή είναι η O-μεθυλοτρανσφεράση των ισοφλαβονών (IOMT). Οι ισοφλαβόνες αποτελούν την πολυπληθέστερη κατηγορία των ισοφλαβονοειδών με περισσότερες από 350 δομές. Παρόλα αυτά απαντώνται περίπου μόνο 50 γλυκοζυλιωμένα παράγωγά τους, τα οποία είναι κυρίως παράγωγα της νταιτζεϊνής (7,4'-διυδροξυισοφλαβόνη), της φορμονονετίνης (7-υδροξυ,4'-μεθοξυισοφλαβόνη) και της γενιστεϊνής (5,7,4'-τριυδροξυισοφλαβόνη) (Iwashina, 2000).

Περαιτέρω, οι ισοφλαβόνες αποτελούν πρόδρομες ενώσεις και για άλλες σημαντικές κατηγορίες ισοφλαβονοειδών, με κυριότερες τις κουμπεστάνες, τις ισοφλαβάνες, τις πτεροκαρπάνες και τα ροτενοειδή (Phillips and Kapulnik, 1995). Κάθε ένα από τα βιοσυνθετικά μονοπάτια που οδηγούν στη σύνθεση των μεταβολιτών αυτών παρουσιάζει διαφορετικές παραλλαγές και επιτελείται από διαφορετικούς συνδυασμούς ενζύμων ανάλογα με το τελικό προϊόν (Dixon and Paiva, 1995; Seigler, 1998).

II.1.1.7. Φλαβαν-4-όλες και φλαβαν-3-όλες

Σε ορισμένα φυτικά είδη, εκτός από την συνήθη διακλάδωση που οδηγεί στα 3-υδροξυφλαβονοειδή (π.χ. ανθοκυανίνες), τη διακλάδωση των φλαβονών και τη διακλάδωση των ισοφλαβονοειδών, απαντάται και μια βιοσυνθετική οδός η οποία, επίσης με πρόδρομα μόρια τις φλαβανόνες, οδηγεί στην παραγωγή φλαβαν-4-ολών. Η αναγωγή των φλαβανονών

προς φλαβαν-4-όλες, καταλύεται από την 4-ρεδουκτάση των διυδροφλαβονολών (DFR) (Winkel-Shirley, 2001a). Περαιτέρω, από τις φλαβαν-4-όλες παράγονται δύο κατηγορίες 3-δεοξυφλαβονοειδών. Πρόκειται για τις 3-δεοξυανθοκυανίνες και τα πολυμερή φλομπαφένια. Για την βιοσύνθεση των 3-δεοξυανθοκυανινών, οι φλαβαν-4-όλες υπόκεινται σε μετατροπές ανάλογες με αυτές που οδηγούν στις ανθοκυανίνες. Από την άλλη μεριά, τα φλομπαφένια παράγονται από πολυμερισμό των φλαβαν-4-ολών, αντίδραση η οποία είναι πιθανώς μη ενζυμική (Boddu *et al.*, 2005; Chopra *et al.*, 2006).

Κατά μήκος του βιοσυνθετικού μονοπατιού των ανθοκυανινών υφίστανται δύο διακλαδώσεις οι οποίες οδηγούν προς φλαβαν-3-όλες. Η πρώτη διακλάδωση ξεκινά από τις λευκοανθοκυανιδίνες οι οποίες μπορούν να αναχθούν προς κατεχίνες (φλαβαν-3-όλες) με τη δράση του ενζύμου NADPH-ρεδουκτάση των λευκοανθοκυανιδινών (LAR). Αντίστοιχα, οι ανθοκυανιδίνες μπορούν να αναχθούν σε επικατεχίνες (*επι*-φλαβαν-3-όλες), αντίδραση η οποία καταλύεται από το ένζυμο ρεδουκτάση των ανθοκυανιδινών (ANR) (Bartel and Matsuda, 2003; Xie *et al.*, 2003). Περαιτέρω, οι (*επι*)κατεχίνες συμμετέχουν στο σχηματισμό προανθοκυανιδινών (συμπυκνωμένων ταννινών). Οι προανθοκυανιδίνες φαίνεται ότι προκύπτουν με σταδιακή προσθήκη ενδιάμεσων παραγώγων των λευκοανθοκυανιδινών σε ένα πρόδρομο μονομερές με δομή (*επι*)κατεχίνης (Marles *et al.*, 2003; Tanner *et al.*, 2003; Schijlen *et al.*, 2004; Dixon *et al.*, 2005; Winkel, 2006). Πειράματα στο *Arabidopsis* υποδεικνύουν την εμπλοκή πλήθους γονιδίων στη διαδικασία συσσώρευσης των προανθοκυανιδινών (Abrahams *et al.*, 2002).

II.1.2. Ρόλοι φλαβονοειδών στη φυσιολογία και οικολογία των φυτών

Τα φλαβονοειδή αποτελούν καθολικής διάδοσης δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών στους οποίους έχουν αποδοθεί πολυάριθμοι και ετερόκλητοι ρόλοι. Δεδομένου ότι αποτελούν βασικά συστατικά της διατροφής του ανθρώπου, οι φαρμακολογικές ιδιότητες των φλαβονοειδών αποτελούν αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης (Kyriakidis *et al.*, 1986; Brantner and Brantner, 1991; Hou *et al.*, 1994; Lichius *et al.*, 1994;

Perry and Foster, 1994; Di Carlo *et al.*, 1999; Seidel *et al.*, 2000; Sarkar and Li, 2003; Williams *et al.*, 2004; Yao *et al.*, 2004; Cushnie and Lamb, 2005; Lin and Weng, 2006). Οι ρόλοι τους στη φυσιολογία των φυτών αφορούν τόσο ενδογενείς κυτταρικές λειτουργίες όσο και αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φυτικών οργανισμών και του αβιοτικού και βιοτικού περιβάλλοντος. Παρακάτω συνοψίζονται οι κυριότεροι από αυτούς.

II.1.2.1. Επίδραση των φλαβονοειδών στην ανάπτυξη και αναπαραγωγή

Τα φλαβονοειδή εμπλέκονται έμμεσα σε ορισμένες αναπτυξιακές λειτουργίες των φυτών. Σύμφωνα με *in vitro* πειραματικά δεδομένα (Jacobs and Rubery, 1988), ορισμένα φλαβονοειδή δρουν επί της πολικής μεταφοράς της αυξίνης, επίδραση η οποία επιβεβαιώθηκε και *in vivo* (Murphy *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2001; Buer and Muday, 2004). Αν και ο μηχανισμός μέσω του οποίου επιτυγχάνεται η παραπάνω επίδραση δεν έχει αποσαφηνιστεί, ορισμένες πειραματικές ενδείξεις οδηγούν σε κάποιες υποθέσεις, οι οποίες εμπλέκουν τις PIN (pin-formed) πρωτεΐνες (Muday *et al.*, 2003; Friml *et al.*, 2004; Peer *et al.*, 2004; Taylor and Grotewold, 2005). Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι τα φλαβονοειδή δρουν και επί του μεταβολισμού της αυξίνης μέσω της δράσης τους επί συγκεκριμένων ενζύμων (Seigler, 1998; Mathesius, 2001). Μάλιστα ορισμένα πειραματικά δεδομένα σχετικά με την εμπλοκή των φλαβονοειδών σε αναπτυξιακές διαδικασίες των φυτών συσχετίζουν το βαθμό γλυκουρονυλίωσής τους με τον κυτταρικό κύκλο. Σύμφωνα με τους Woo *et al.* (2005), η τροποποίηση της έκφρασης γονιδίων τα οποία εμπλέκονται στη μεταφορά μονάδων γλυκουρονικών οξέων σε φλαβονοειδή έχει ως αποτέλεσμα την τροποποίηση του βαθμού συσσώρευσης άγλυκων φλαβονοειδών η οποία με τη σειρά της επηρεάζει την ανάπτυξη ορισμένων φυτών μέσω αλλαγών στην διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Στα φυτά αυτά έχουν επίσης παρατηρηθεί ορισμένες δευτερογενείς επιδράσεις όπως αδυναμία επιβίωσης, αλλαγή στο βαθμό ανταπόκρισης σε ενδογενή και εξωτερικά ερεθίσματα και αλλαγές στη μορφολογία των φύλλων (Woo *et al.*, 2007).

Επίσης τα φλαβονοειδή και συγκεκριμένα ορισμένες φλαβονόλες, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην δημιουργία λειτουργικής γύρης. Σε ορισμένα φυτικά είδη τα φλαβονοειδή του περιβλήματος της γύρης αποτελούν απαραίτητους παράγοντες για τη φυσιολογική ανάπτυξη και βλάστηση των γυρεοκόκκων καθώς και την επιμήκυνση του γυρεοσωλήνα (Coe *et al.*, 1981; Mo *et al.*, 1992; van der Meer *et al.*, 1992; Ylstra *et al.*, 1992; Ylstra *et al.*, 1994; Vogt *et al.*, 1995; Derksen *et al.*, 1999; Napoli *et al.*, 1999). Η σχέση μεταξύ φλαβονολών και λειτουργικής γύρης έχει διαπιστωθεί τόσο σε μονοκότυλα και δικότυλα αγγειόσπερμα όσο και σε γυμνόσπερμα, γεγονός το οποίο ενδεχομένως υποδηλώνει την ύπαρξη κοινού προγόνου μεταξύ των φυτών της ξηράς (Jorgensen, 1993). Αξίζει βέβαια να σημειωθεί ότι στην περίπτωση του *Arabidopsis* η απουσία φλαβονοειδών οδηγεί σε λειτουργική γύρη, η οποία ωστόσο παρουσιάζει μειωμένη βλαστητική ικανότητα που συνοδεύεται από μειωμένη παραγωγή σπερμάτων (Burbulis *et al.*, 1996; Ylstra *et al.*, 1996). Πειράματα συσχέτισης μοριακής δομής-δράσης σε φυτά των οποίων η λειτουργικότητα της γύρης εξαρτάται από την παρουσία φλαβονολών έδειξαν ότι τα συγκεκριμένα μόρια διαθέτουν μη υποκατεστημένες υδροξυλομάδες στις θέσεις 3 και 7 του ανθρακικού σκελετού (Vogt *et al.*, 1995). Στο φυτό *Brassica napus* οι φλαβονόλες εμφανίζονται αρχικά στο ενδοπλασματικό δίκτυο των κυττάρων του τάπητα του ανθήρα και ακολούθως συσσωρεύονται στα ταπητοσωμάτια, εξειδικευμένα οργανίδια τα οποία παράγει το ενδοπλασματικό δίκτυο (Hsieh and Huang, 2007). Με το θάνατο των κυττάρων του τάπητα και την ταυτόχρονη ωρίμανση των γυρεοκόκκων, οι φλαβονόλες εντοπίζονται στο περίβλημα των τελευταίων όπου και γλυκοζυλιώνονται στη θέση 3 (Taylor and Hepler, 1997). Σύμφωνα με ένα από τα προτεινόμενα πρότυπα δράσης, κατά το στάδιο στο οποίο η γύρη έρχεται σε επαφή με το στίγμα, η απαραίτητη για την βλάστηση του γυρεοκόκκου άγλυκη φλαβονόλη παρέχεται από το γλυκοζυλιωμένο παράγωγο της μέσω της δράσης μιας 3-Ο-γαλακτοσυλο-τρανσφεράσης (Miller *et al.*, 1999). Εκτός αυτού, έχει προταθεί ότι οι φλαβονόλες λειτουργούν ως σήμα σε ένα μονοπάτι στο οποίο εμπλέκεται και η εξω-

κυτταρική πρωτεΐνη SHY η οποία θεωρείται απαραίτητη για την διείσδυση του γυρεοσωλήνα στο ωοκύτταρο (Guyon *et al.*, 2000; Guyon *et al.*, 2004). Η εμπλοκή των φλαβονοειδών στη λειτουργικότητα της γύρης μπορεί να αξιοποιηθεί για την πρόκληση παρθενοκαρπίας σε φυτά όπως η τομάτα (Schijlen *et al.*, 2007).

II.1.2.2. Αλληλεπίδραση με το αβιοτικό περιβάλλον

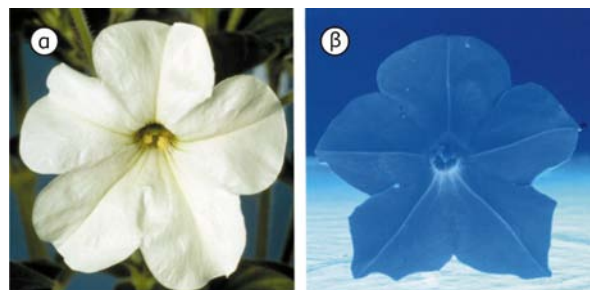
Η πλέον γνωστή προστατευτική δράση των φλαβονοειδών στους φυτικούς οργανισμούς αφορά στην προστασία ευαίσθητων μορίων-στόχων, όπως τα νουκλεϊκά οξέα και οι πρωτεΐνες, από την επιβλαβή δράση της υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας (Caldwell *et al.*, 1998). Η πιο αποδεκτή ερμηνεία για την παραπάνω δράση των φλαβονοειδών αφορά αφενός στην ικανότητά τους να απορροφούν στην περιοχή αυτή του φάσματος και αφετέρου στον κατάλληλο εντοπισμό τους στους φυτικούς ιστούς (Skaltsa *et al.*, 1994; Stapleton and Walbot, 1994; Jungblut *et al.*, 1995; Reuber *et al.*, 1996; Schnitzler *et al.*, 1996). Έτσι, για παράδειγμα, υψηλότερες συγκεντρώσεις φλαβονοειδών παρατηρούνται στους επιδερμικούς ιστούς οι οποίοι είναι εκτεθειμένοι στο άπλετο ηλιακό φως, ενώ παρατηρείται συσσώρευσή τους γύρω από πυρήνες επιδερμικών κυρίως κυττάρων (περιπυρηνικά φλαβονοειδή) (Dixon and Paiva, 1995; Grandmaison and Ibrahim, 1996; Karabourniotis *et al.*, 1998; Winkel-Shirley, 2002). Ορισμένοι ερευνητές θεωρούν ότι η βιοσύνθεση των φλαβονοειδών απετέλεσε τη βασική προϋπόθεση εποίκισμού της ξηράς από φυτικούς οργανισμούς και επομένως ο πρωταρχικός φυσιολογικός τους ρόλος ήταν αυτός του φίλτρου έναντι της UV ακτινοβολίας (Lowry *et al.*, 1980). Ωστόσο, η άποψη αυτή δεν είναι καθολικά αποδεκτή (Stafford, 1991). Η εμπλοκή των φλαβονοειδών στην προστασία έναντι της UV ακτινοβολίας έχει επιβεβαιωθεί από πλήθος πειραματικών δεδομένων (Li *et al.*, 1993; Buchholz *et al.*, 1995; Ormrod *et al.*, 1995; Gitz III *et al.*, 1998; Bieza and Lois, 2001). Ωστόσο, η ικανότητα απορρόφησης ίσως να μην είναι ο μοναδικός μηχανισμός μέσω του οποίου τα φλαβονοειδή δρουν προστατευτικά έναντι της UV ακτινοβολίας. Δεδομένου ότι έκθεση στην UV

ακτινοβολία επάγει την βιοσύνθεση φλαβονοειδών με αυξημένο επίπεδο υδροξυλίωσης (Markham *et al.*, 1998a; Markham *et al.*, 1998b; Olsson *et al.*, 1998) (και άρα αυξημένη αντιοξειδωτική δράση), η προστατευτική δράση των φλαβονοειδών ενδεχομένως να σχετίζεται και με την απόσβεση των ελευθέρων ριζών που παράγονται ύστερα από έκθεση στην UV ακτινοβολία (Ryan *et al.*, 1998; Ryan *et al.*, 2001; Ryan *et al.*, 2002). Μεταξύ των εμπλεκόμενων κατηγοριών φλαβονοειδών κυριαρχούν αυτές των φλαβονών, φλαβονολών και ανθοκυανινών (Harborne and Williams, 2000; Martens and Mithöfer, 2005). Ειδικά στην κατηγορία των ανθοκυανινών αποδίδεται επιπλέον και φωτοπροστατευτικός ρόλος έναντι υψηλών εντάσεων ορατής ακτινοβολίας (Gould *et al.*, 1995; Chalker-Scott, 1999; Smillie and Hetherington, 1999; Gould *et al.*, 2002; Hughes *et al.*, 2005). Σύμφωνα με τους Steyn *et al.* (2002), η φωτοπροστατευτική δράση των ανθοκυανινών έναντι υψηλών εντάσεων ορατής ακτινοβολίας υπερτερεί από πλευράς διάδοσης αλλά και αποτελεσματικότητας έναντι της προστασίας από την UV ακτινοβολία.

Σύμφωνα με πρόσφατες πειραματικές ενδείξεις τα φλαβονοειδή πιθανόν εμπλέκονται σε μηχανισμούς ανθεκτικότητας των φυτών έναντι της τοξικότητας αργιλίου (Al) (Winkel-Shirley, 2002). Ο πιθανός αυτός ρόλος έχει ιδιαίτερο γεωπονικό ενδιαφέρον δεδομένου ότι το Al αποτελεί τον κύριο παρεμποδιστικό παράγοντα της ανάπτυξης των φυτών σε όξινα εδάφη. Πειράματα στο καλαμπόκι (*Zea mays*) και στο λάπαθο (*Rumex acetosa*) έδειξαν ότι ο μηχανισμός αυτός περιλαμβάνει τη δέσμευση του Al από (γλυκοζυλιωμένες ή μη) πενταϋδροξυφλαβόνες και φλαβανπεντόλες, όπως η κατεχίνη, η κερκετίνη και η ρουτίνη, εντός ή εκτός του φυτικού σώματος (Kidd *et al.*, 2001; Barceló and Poschenrieder, 2002; Tolrà *et al.*, 2005). Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερα πειραματικά δεδομένα ώστε να τεκμηριωθεί ο παραπάνω ρόλος των φλαβονοειδών. Επίσης, έχει προταθεί η εμπλοκή των ανθοκυανινών σε μηχανισμό αδρανοποίησης του μολυβδαινίου στα χυμοτόπια των κυττάρων φυτών του γένους *Brassica* (Hale *et al.*, 2001).

11.1.2.3. Αλληλεπίδραση με ζωικούς οργανισμούς

Τα φλαβονοειδή συμβάλλουν στους μηχανισμούς επικονίασης και διασποράς των σπερμάτων καθιστώντας άνθη και καρπούς ελκυστικά σε φορείς γύρης και σπερμάτων αντίστοιχα (Harborne and Grayer, 1994). Αυτό επιτυγχάνεται με τη συμβολή τους στους χρωματισμούς και τα χρωματικά μοτίβα των αναπαραγωγικών οργάνων, ακόμα και αν τα μοτίβα δεν είναι αντιληπτά μέσω της ανθρώπινης όρασης (εικόνα 18). Οι κατηγορίες των φλαβονοειδών που εμπλέκονται στη διαδικασία ποικίλλουν ανάλογα με το φυτικό είδος, τα επιμέρους φυτικά όργανα και το είδος του χρωματισμού. Οι ανθοκυανίνες κατέχουν δεσπόζουσα θέση τόσο λόγω της ευρείας διάδοσής τους στο φυτικό βασίλειο όσο και λόγω της ευρύτατης κλίμακας χρωμάτων που παρέχουν, η οποία κυμαίνεται από το ερυθρό έως το κυανό. Επίσης, η συνύπαρξη των ανθοκυανινών με κίτρινα φλαβονοειδή παρέχει πορτοκαλί χρωματισμούς. Επιπλέον, μεταξύ των εμπλεκόμενων κατηγοριών φλαβονοειδών, συγκαταλέγονται οι χαλκόνες και οι σουρόνες (υπεύθυνες και οι δύο για κίτρινους χρωματισμούς), οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες (και οι δύο είναι κυρίως άχρωμες, υπεύθυνες κυρίως για λευκούς, υπόλευκους και σπάνια για κίτρινους χρωματισμούς ενώ συμμετέχουν στη διαμόρφωση κυανών χρωματισμών από κοινού με παράγωγα της δελφινιδίνης καθώς και στη διαμόρφωση – αόρατων στο ανθρώπινο μάτι – μοτίβων λόγω απορρόφησης στη UV περιοχή του φάσματος), καθώς και οι 3-δεοξυανθοκυανίνες (υπεύθυνες για πορτοκαλί αποχρώσεις) και τα



Εικόνα 18. Φαινότυπος άνθους μεταλλάγματος του φυτού *Petunia hybrida* το οποίο χαρακτηρίζεται από την απουσία ανθοκυανινών. **α.** Η παρουσία φλαβονολών προσδίδει υπόλευκο χρωματισμό στο ορατό φάσμα. **β.** Το ίδιο άνθος όπως φαίνεται στο υπεριώδες φως, φασματική περιοχή η οποία αξιοποιείται από την όραση των μελισσών (Mol *et al.*, 1998).

φλομπαφένια (υπεύθυνα για σκούρους ερυθρούς χρωματισμούς) (Forkmann, 1991; Harborne and Baxter, 1999; Harborne and Williams, 2000; Chopra *et al.*, 2006).

Για το σύνολο των φυτοφάγων οργανισμών τα φλαβονοειδή αποτελούν φυσιολογικά συστατικά της διατροφής τους χωρίς στις περισσότερες περιπτώσεις να διαδραματίζουν κάποιο ιδιαίτερο ρόλο (Harborne, 2001). Ωστόσο, υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες ορισμένα φλαβονοειδή εμπλέκονται στη διατροφή ζωικών οργανισμών ως τοξικοί, απωθητικοί ή ακόμα και προσελκυστικοί παράγοντες (Elliger *et al.*, 1980; Clausen *et al.*, 1990; Grayer *et al.*, 1992; Harborne and Grayer, 1994; Jones *et al.*, 1994; Reyes-Chilpa *et al.*, 1995; Ohmura *et al.*, 2000; Heil *et al.*, 2002). Ενώσεις με τέτοια δράση ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες φλαβονοειδών, όπως προανθοκυανιδίνες, ισοφλαβονοειδή, φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόνες, χαλκόνες, φλαβανόλες, διυδροφλαβονόλες και διυδροχαλκόνες (Howe and Westley, 1988; Janzen *et al.*, 1990; Rogers *et al.*, 1990; Beninger and Abou-Zaid, 1997). Τα παραπάνω φαινόμενα χαρακτηρίζονται συχνά από υψηλό βαθμό εξειδίκευσης με συνέπεια να αφορούν αλληλεπιδράσεις συγκεκριμένων φυτών και ειδών φυτοφάγων υποδηλώνοντας στενή συνεξέλιξη των δύο οργανισμών (Mole *et al.*, 1990). Η εξειδίκευση υλοποιείται στο επίπεδο της χημικής δομής του κάθε συστατικού, της συγκέντρωσής του σε συγκεκριμένα όργανα ή ιστούς του φυτού σε συνδυασμό με την συνύπαρξη άλλων μεταβολικών προϊόντων και του σταδίου ανάπτυξης του φυτοφάγου οργανισμού (Harborne and Grayer, 1994). Αξίζει να αναφερθεί η οιστρογονική δράση ορισμένων ισοφλαβονοειδών η οποία μπορεί να οδηγήσει σε στειρότητα (Whiting, 2001). Επίσης, σε ορισμένες αξιοσημείωτες περιπτώσεις που αφορούν σε λεπιδόπτερα, η κατανάλωση φλαβονοειδών οδηγεί στην κατακράτησή τους στο σώμα του εντόμου (Harborne, 2001). Συνήθως οι ενώσεις αυτές υφίστανται μεταβολικές τροποποιήσεις μετά την κατανάλωσή τους από τα έντομα και συμμετέχουν στη διαμόρφωση των χρωματισμών των φτερών τους (Wilson, 1986a; Wilson, 1986b; Wilson, 1987).

Τα φλαβονοειδή είναι δυνατό να επηρεάζουν

όχι μόνο τις διατροφικές συνήθειες των εντόμων αλλά και την επιλογή του κατάλληλου φυτού για την εναπόθεση των ωών τους. Παρόλο που στο φαινόμενο εμπλέκονται μέλη διαφορετικών κατηγοριών φλαβονοειδών, η πλειοψηφία των αποτελεσμάτων αναφέρεται σε γλυκοζίτες φλαβονών, φλαβονολών και φλαβανονών (Haribal and Renwick, 1998; Harborne, 2001; Iwashina, 2003). Πρέπει να τονιστεί ότι το φαινόμενο είναι πολύπλοκο και η τελική έκβαση της αλληλεπίδρασης μπορεί να κυμανθεί από θετική έως αρνητική ανάλογα με την μοριακή δομή των εμπλεκόμενων φλαβονοειδών, τη σχετική συγκέντρωσή τους στα μίγματα των φυτικών μεταβολιτών, τη συνύπαρξη μη-φλαβονοειδών ενώσεων, καθώς και το είδος του εντόμου (Nishida *et al.*, 1987; Honda, 1990; Nishida *et al.*, 1990; Harborne and Grayer, 1994; Haribal and Feeny, 2003).

II.1.2.4. Αλληλοπαθητική δράση μεταξύ φυτών

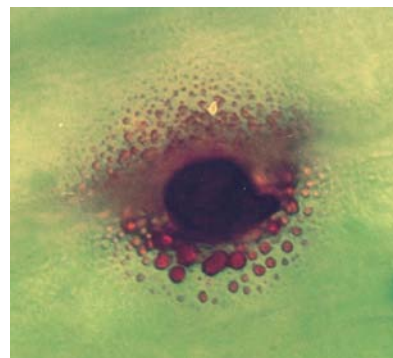
Τα φλαβονοειδή συμπεριλαμβάνονται μεταξύ των χημικών ενώσεων που εμπλέκονται στην αλληλοπαθητική δράση φυτών έναντι άλλων φυτών, ένα φαινόμενο με έντονο γεωπονικό ενδιαφέρον (Rice, 1979; Anaya, 1999; Chou, 1999). Τα αλληλοπαθητικά φλαβονοειδή απελευθερώνονται στο εδαφικό περιβάλλον είτε με έκπλυση ή έκκριση από τα υπέργεια ή υπόγεια φυτικά όργανα, είτε μέσω της αποσύνθεσης φυτικών οργάνων (Inderjit and Dakshini, 1991; Inderjit and Dakshini, 1992; Inderjit and Dakshini, 1994; Bais *et al.*, 2002) και μπορούν να επιδράσουν θετικά ή αρνητικά επί γειτονικών φυτών. Για ένα δεδομένο συστατικό, η έκβαση της αλληλοπαθητικής του δράσης σε ένα φυτό εξαρτάται συχνά από τη συγκέντρωσή του (Star, 1980; Macías *et al.*, 1997). Η αρνητική επίδραση μπορεί να αφορά σε μειωμένη ανάπτυξη υπέργειων και υπόγειων φυτικών οργάνων, μειωμένη βλάστηση σπερμάτων (Inderjit and Dakshini, 1991; Inderjit and Dakshini, 1992; Baruah *et al.*, 1994; Anaya *et al.*, 1999; Hierro and Callaway, 2003; Kong *et al.*, 2004; Parvez *et al.*, 2004) μειωμένη συγκέντρωση χλωροφύλλης (Beninger and Hall, 2005) και απώλεια γεωτροπισμού (Levizou *et al.*, 2004). Ο μηχανισμός δράσης των παραπάνω

αλληλοπαθητικών ουσιών στα φυτά παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστος (Berhow and Vaughn, 1999). Ωστόσο, η μελέτη της φυτοτοξικότητας της (-)-κατεχίνης η οποία εκκρίνεται από το φυτό *Centaurea maculosa* έδειξε ότι προκαλεί ταχύτατη παραγωγή ενεργών ειδών οξυγόνου (ROS) στη ρίζα των φυτικών ειδών *Arabidopsis thaliana* και *C. diffusa* με τελική κατάληξη τον κυτταρικό θάνατο (Bais *et al.*, 2003a). Έχει επίσης προταθεί ότι η απώλεια γεωτροπισμού ως αποτέλεσμα ορισμένων αλληλοπαθητικών φλαβονοειδών μπορεί να προκαλείται από διαταραχές στην πολική μεταφορά αυξίνης (Levizou *et al.*, 2004; Weir *et al.*, 2004). Τέλος, έχει αναφερθεί ότι ορισμένα φλαβονοειδή διαταράσσουν την μιτοχονδριακή αναπνοή και την χλωροπλαστική φωτοφωσφορυλίωση (Takahashi *et al.*, 1998 και εκεί αναφορές). Ωστόσο οι παραπάνω μελέτες αφορούν σε απομονωμένα οργανίδια, γεγονός που εμποδίζει την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τη φυσιολογική σημασία των ευρημάτων. Τα φλαβονοειδή με διαπιστωμένη αλληλοπαθητική δράση είναι ολιγάριθμα σε σύγκριση με τις γνωστές δομές (Rice, 1984). Αυτά ανήκουν στις υποκατηγορίες των φλαβονών, φλαβονολών, φλαβανονών, διυδροφλαβονολών, φλαβαν-3-ολών, χαλκονών, διυδροχαλκονών, ισοφλαβονοειδών και διφλαβονοειδών (Kong *et al.*, 2002; Bais *et al.*, 2003b; Basile *et al.*, 2003; Iwashina, 2003; Beninger *et al.*, 2004). Τέλος, ορισμένα φλαβονοειδή συμβάλλουν στην αναγνώριση των φυτών-ξενιστών από φυτά-παράσιτα προωθώντας τη βλάστηση των σπερμάτων των τελευταίων, αν και δεν φαίνεται να απαιτούνται για την επίτευξη του παρασιτισμού (Winkel-Shirley, 2001b; Ndakidemi and Dakora, 2003). Ωστόσο, σε μια τουλάχιστον περίπτωση, η συσσώρευση φλαβονοειδών στους περιδερμικούς ιστούς φυτών του είδους *Populus* φαίνεται να σχετίζεται με την άμυνα του τελευταίου έναντι του ημιπαρασιτικού είδους *Viscum album* (Hariri *et al.*, 1991).

II.1.2.5. Αλληλεπίδραση με μικροοργανισμούς

Τα φλαβονοειδή διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και στην αλληλεπίδραση φυτών με μικροοργανισμούς, αφού εμπλέκονται τόσο στην άμυνα των φυτικών οργανισμών έναντι

παθογόνων όσο και στην εγκαθίδρυση συμβιωτικών σχέσεων με ωφέλιμους μικροοργανισμούς (Paiva *et al.*, 1994; Phillips and Kapulnik, 1995; Shirley, 1996; Treutter, 2005; Field *et al.*, 2006). Φλαβονοειδή με συμβολή στην άμυνα των φυτών απαντούν σε διάφορες κατηγορίες, όπως χαλκόνες, φλαβάνες, φλαβανόνες, φλαβόνες, φλαβονόλες, διυδροφλαβονόλες, αουρόνες, ισοφλαβονοειδή (όπως πτεροκαρπάνες, ισοφλαβάνες και ισοφλαβόνες) και 3-δεοξυανθοκυανίνες (Chowdhury *et al.*, 1973; Biswas *et al.*, 1981; Laks and Pruner, 1989; Wang *et al.*, 1989; Weidenbörner *et al.*, 1990b; Kodama *et al.*, 1992; Perez-Garcia *et al.*, 1992; Grayer and Harborne, 1994; Weidenbörner and Jha, 1994a; Weidenbörner and Jha, 1994b; Geibel, 1995; Shirley, 1996; Bais *et al.*, 2002; Iwashina, 2003; Báidez *et al.*, 2006). Το γεγονός ότι ορισμένες κατηγορίες αμυντικών φλαβονοειδών απαντώνται σε συγκεκριμένες φυτικές ομάδες (όπως τα ισοφλαβονοειδή στα φυτά της οικογένειας των ψυχανθών) υποδηλώνει ότι οι αντίστοιχες βιοσυνθετικές οδοί εμφανίστηκαν σχετικά πρόσφατα στην εξελικτική πορεία των φυτών (Shirley, 1996).



Εικόνα 19. Μικροφωτογραφία οπτικού μικροσκοπίου της συσσώρευσης φυτοαλεξινών σε ανθεκτική ποικιλία του φυτού *Sorghum bicolor* μετά από προσβολή από τον μύκητα *Colletotrichum graminicola*. Διακρίνεται ο σχηματισμός κυστιδίων που περιέχουν 3-δεοξυανθοκυανίνες στο σημείο της επιχειρούμενης διείσδυσης μιας πλάκας συγκράτησης (Morrissey and Osbourn, 1999).

Τα αντιμικροβιακά φλαβονοειδή συμμετέχουν τόσο στην προϋπάρχουσα όσο και στην επαγόμενη άμυνα έναντι φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών, χωρίς να αποκλείονται περιπτώσεις όπου μία ένωση μπορεί να συμμετέχει και στους δύο μηχανισμούς (Snyder and Nicholson, 1990; Treutter and Feucht, 1990;

Nicholson and Hammerschmidt, 1992; Dai *et al.*, 1995; Hakulinen *et al.*, 1999; Harborne, 1999b; Dixon, 2001; Grayer and Kokubun, 2001) (εικόνα 19). Η εμπλοκή των φλαβονοειδών στην φυτική άμυνα, παρόλο που στο παρελθόν είχε αμφισβητηθεί λόγω ανεπαρκών αποδείξεων, τεκμηριώνεται πλέον με τη βοήθεια *in vivo* πειραμάτων τα οποία χρησιμοποιούν τεχνικές ανάλυσης και επέμβασης στο γονιδίωμα είτε των φυτών είτε των παθογόνων μικροοργανισμών (Enkerli *et al.*, 1998; He and Dixon, 2000). Πρέπει ωστόσο να επισημανθεί ότι η ύπαρξη μιας ένωσης ή κλάσης ενώσεων σε ένα φυτό δεν είναι απαραίτητα ο μοναδικός παράγοντας που καθορίζει την ανθεκτικότητά του έναντι ενός συγκεκριμένου παθογόνου, γεγονός που συμβαδίζει και με την πολυσιχιδή φύση των αμυντικών μηχανισμών των φυτών (Κυύ, 1995; Goetz *et al.*, 1999; Dixon *et al.*, 2002). Εξάλλου, ο βαθμός αποτελεσματικότητας ενός αμυντικού μεταβολίτη καθορίζεται και από την ύπαρξη αντισταθμιστικών μηχανισμών από την πλευρά του παθογόνου μικροοργανισμού, όπως η ικανότητά του να μεταβολίζει συγκεκριμένα φλαβονοειδή και να τα μετατρέπει σε άλλα λιγότερο τοξικά παράγωγα (Scalbert, 1991; Κυύ, 1995; Padmavati *et al.*, 1997; Morrissey and Osbourn, 1999).

Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν και αναφορές σχετικές με τη διεγερτική δράση ορισμένων φλαβονοειδών επί της βλάστησης σποριών ή της μυκηλιακής ανάπτυξης φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών (Krämer *et al.*, 1984; Weidenböner *et al.*, 1990a; Ruan *et al.*, 1995; Dakora and Phillips, 1996; Bagga and Straney, 2000). Επίσης ορισμένα φλαβονοειδή, και συγκεκριμένα γλυκοζίτες φλαβονολών, επάγουν την έκφραση των *vir* γονιδίων του βακτηρίου *Agrobacterium tumefaciens*, γεγονός που συνδέει τις παραπάνω ενώσεις με την προώθηση της φυσικής διαδικασίας μόλυνσης των φυτών από το παραπάνω παθογόνο (Zerback *et al.*, 1989).

Φλαβονοειδή τα οποία απελευθερώνονται από σπέρματα ή εκκρίνονται από τις ρίζες εμπλέκονται και στην εγκαθίδρυση συμβιωτικών σχέσεων μεταξύ ψυχανθών και συμβιωτικών αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων της οικογένειας Rhizobiaceae (Peters *et al.*, 1986; Hartwig *et al.*,

1990; Maxwell and Phillips, 1990; Phillips *et al.*, 1995). Η εμπλοκή τους αφορά στη δράση τους ως επαγωγέων των *nod* γονιδίων των βακτηρίων μέσω της αλληλεπίδρασής τους με τη βακτηριακή ρυθμιστική πρωτεΐνη NodD (Maxwell *et al.*, 1989; Perret *et al.*, 1999; Kobayashi *et al.*, 2004). Η έκφραση των παραπάνω γονιδίων οδηγεί στην παραγωγή των παραγόντων Nod οι οποίοι εμπλέκονται στη δεκτικότητα των ριζικών τριχιδίων στη μόλυνση από το βακτήριο και στη δημιουργία των φυματίων (Taylor and Grotewold, 2005). Παράλληλα, έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις στις οποίες συγκεκριμένα φλαβονοειδή δρουν κατασταλτικά επί της έκφρασης των παραπάνω γονιδίων (Perret *et al.*, 2000; Novák *et al.*, 2002). Επομένως η *in vivo* επαγωγή των *nod* γονιδίων ενδεχομένως εξαρτάται από τον συγκεκριμένο συνδυασμό της επαγωγικής και κατασταλτικής δράσης των φλαβονοειδών του μίγματος το οποίο παράγει ένα συγκεκριμένο φυτικό είδος (Zuanazzi *et al.*, 1998). Στο μηχανισμό αυτό εμπλέκονται δομές από διάφορες κατηγορίες φλαβονοειδών, όπως χαλκόνες, φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόνες, ισοφλαβονοειδή και ανθοκυανιδίνες (Phillips and Karulnik, 1995; Shirley, 1996). Η ικανότητα ενός φλαβονοειδούς να επάγει την έκφραση των *nod* γονιδίων ενός συγκεκριμένου βακτηριακού είδους εξαρτάται από την χημική του δομή καθώς και την αμινοξική αλληλουχία της αντίστοιχης πρωτεΐνης NodD (Kosslak *et al.*, 1987).

Τέλος, ορισμένα φλαβονοειδή εμπλέκονται στην εξέλιξη των μυκοριζικών σχέσεων, συμβιωτικών σχέσεων οι οποίες αναπτύσσονται μεταξύ του ριζικού συστήματος των ανώτερων φυτών και εξειδικευμένων μυκήτων. Παρά το γεγονός ότι η δράση τους ως κύριων χημικών σημάτων κατά την αναγνώριση των δύο συμβιωτών είναι αμφισβητήσιμη (Bécard *et al.*, 1995), θεωρείται βέβαιο ότι επηρεάζουν ορισμένες αναπτυξιακές παραμέτρους του μύκητα τόσο κατά την προσυμβιωτική φάση (Requena *et al.*, 2007) όσο και κατά τα διάφορα στάδια της εγκατάστασής του στις ρίζες του φυτού-ξενιστή, ρυθμίζοντας με τον τρόπο αυτό τη δυναμική της συμβιωτικής σχέσης (Rengel, 2002; Scervino *et al.*, 2005c). Η ρύθμιση της συμβιωτικής σχέσης επιτυγχάνεται με την αλλαγή του προτύπου συσσώρευσης των φλαβονοειδών στο ριζικό

σύστημα του φυτού ανάλογα με το στάδιο της συμβίωσης (Larose *et al.*, 2002; Steinkellner *et al.*, 2007). Η επίδραση των φλαβονοειδών, η οποία μπορεί να είναι τόσο προωθητική όσο και παρεμποδιστική (Scervino *et al.*, 2005a), χαρακτηρίζεται από εξειδίκευση από την πλευρά του είδους του μύκητα σε συνδυασμό επίσης με το στάδιο της συμβίωσης (Scervino *et al.*, 2005b; Scervino *et al.*, 2006).

11.2. Σεσκιτερπένια

11.2.1. Βιοσύνθεση σεσκιτερπενίων

Όπως αναφέρθηκε, τα σεσκιτερπένια αποτελούν τερπένια των οποίων το μόριο αποτελείται από ανθρακικό σκελετό 15 ατόμων άνθρακα, είτε αλειφατικό είτε μονο-, δι-, τρι-, ή τετρα-κυκλικό. Επίσης απαντώνται τριμελείς έως και επταμελείς αιθερικοί δακτύλιοι. Τα σεσκιτερπένια απαντώνται κυρίως ως άκορεστοι υδρογονάνθρακες αλλά και ως αλκοόλες, κετόνες, αλδεΐδες και καρβοξυλικά οξέα. Σε ορισμένες περιπτώσεις, στη χημική δομή συμμετέχουν και ετεροάτομα όπως χλώριο, βρώμιο και άζωτο (Rücker, 1973Σκαλτσά, 2004).

Ο βασικός ανθρακικός σκελετός των σεσκιτερπενίων, όπως και οι αντίστοιχοι σκελετοί των υπολοίπων κατηγοριών τερπενίων, προέρχεται από σταδιακή συμπύκνωση μεταξύ των πρόδρομων μορίων πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο (IPP) και πυροφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο (DMAPP). Γενικά, τα μόρια αυτά μπορούν να προέλθουν τόσο από την οδό του MVA όσο και από αυτή της MEP (εικόνα 20). Αν και στην περίπτωση της οδού της MEP τα IPP και DMAPP ενδέχεται να βιοσυντίθενται ανεξάρτητα, και στις δύο μεταβολικές οδούς κάθε ένα από τα δύο αυτά πρόδρομα μόρια μπορεί να μετατραπεί στο άλλο με τη δράση της ισομεράσης του IPP (IPPIS) (Wanke *et al.*, 2001). Τόσο η δομή όσο και ο μηχανισμός δράσης της IPPIS προσδιορίστηκαν πρόσφατα (Wouters *et al.*, 2003). Η σταδιακή συμπύκνωση των απαιτούμενων μονάδων ισοπρενυλίου (C₅) για την βιοσύνθεση του βασικού σκελετού, ανάλογα με την κατηγορία του τερπενίου, πραγματοποιείται σύμφωνα με το πρότυπο 'κεφαλής με ουρά' (Σκαλτσά, 2004; Cheng *et al.*,

2007). Η παραπάνω διαδικασία ξεκινάει με υπόστρωμα το DMAPP το οποίο πρενυλιώνεται με μια μονάδα IPP. Λόγω του είδους της αντίδρασης αυτής, τα ένζυμα που συμμετέχουν στη μετατροπή αναφέρονται ως πρενυλοτρανσφεράσες (PTs) (Schwab *et al.*, 2008). Μια και μοναδική πρενυλίωση παράγει το πυροφωσφορικό γερανύλιο (GPP, C₁₀), πρόδρομο μόριο των μονοτερπενίων. Μέσω δύο διαδοχικών πρενυλίωσεων του DMAPP, διαδικασία κατά την οποία η πρενυλοτρανσφεράση παραμένει προσδεσμένη στο αρχικό υπόστρωμα μέχρι την ολοκλήρωσή της, παράγεται το πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο (FPP, C₁₅), πρόδρομο μόριο μεταξύ άλλων και των σεσκιτερπενίων (εικόνα 20). Ανάλογα με το προϊόν, η κάθε εξειδικευμένη πρενυλοτρανσφεράση αναφέρεται και ως η αντίστοιχη συνθάση. Έτσι, στην περίπτωση του FPP, το συγκεκριμένο ένζυμο αναφέρεται και ως συνθάση του FPP (FPPS) (McCaskill and Croteau, 1997). Η FPPS κωδικοποιείται από οικογένεια γονιδίων (Szkopinska and Plochocka, 2005). Τουλάχιστον δύο διαφορετικές ισομορφές της FPPS έχουν ανιχνευθεί στα φυτά *Lupinus albus* (Attucci *et al.*, 1995), *Arabidopsis thaliana* (Cunillera *et al.*, 1996), *Parthenium argentatum* (Pan *et al.*, 1996) και *Artemisia tridentata* (Hemmerlin *et al.*, 2003b).

Το πρόδρομο μόριο FPP μπορεί να υποστεί ιονισμό του πυροφωσφορικού εστέρα με σχηματισμό του αντίστοιχου αλληλικού καρβοκατιόντος, αντίδραση η οποία καταλύεται από μια σειρά ενζύμων τα οποία αναφέρονται συλλογικά ως συνθάσες των σεσκιτερπενίων (SSs). Η αμινοξική αλληλουχία των ενζύμων αυτών κυμαίνεται μεταξύ 530 και 600 αμινοξέων και είναι κατά 50-70 αμινοξέα μικρότερη αυτής των συνθασών των μονοτερπενίων (Bohlmann *et al.*, 1998). Στο σύνολό τους οι έως σήμερα χαρακτηρισμένες SSs απαιτούν την παρουσία δισθενών ιόντων (με προτίμηση στα Mg²⁺ έναντι των Mn²⁺) ως συνενζυμικό παράγοντα (Rupasinghe *et al.*, 2003; Segura *et al.*, 2003). Στην περίπτωση των κυκλικών σεσκιτερπενίων, οι αντίστοιχες συνθάσες αναφέρονται και ως κυκλάσες (McCaskill and Croteau, 1997; Dixon, 1999). Ακολούθως, το καρβοκατιόν μπορεί να υποστεί μια από τις δυνατές κατιονικές κυκλοποιήσεις (ή να προωθηθεί σε επόμενο

μεταβολικό στάδιο ως άκυκλο μόριο), παράγοντας μια σειρά από κατηγορίες σεσκιτερπενίων (Heldt, 1997; Torssell, 1997). Οι αντιδράσεις αυτές καταλύονται επίσης από τις SSs (McCaskill and Croteau, 1997). Ενώ η πλειοψηφία των SSs οδηγούν στο σχηματισμό περισσοτέρων του ενός προϊόντος, ορισμένες από αυτές εμφανίζουν αξιοσημείωτη εξειδίκευση στην παραγωγή ενός κύριου προϊόντος (Phillips and Croteau, 1999; Davis and Croteau, 2000; Firn and Jones, 2003; Theis and Lerdau, 2003) ή/και η δράση τους εντοπίζεται σε συγκεκριμένους ιστούς του φυτού (Falara *et al.*, 2008) (εικόνα 21). Ορισμένες από τις δυνατές κυκλοποιήσεις δεν δύνανται να υλοποιηθούν απευθείας από το καρβοκατιόν του FPP λόγω μη ευνοϊκής διαμόρφωσης του υποστρώματος στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Για τις συγκεκριμένες μετατροπές, απαιτείται η μετατροπή του FPP στο ισομερές του μόριο πυροφωσφορικό νερολιδύλιο (NPP), αντίδραση η οποία επίσης καταλύεται από την αντίστοιχη SS (McCaskill and Croteau, 1997) (εικόνα 20). Εναλλακτικά, αντί της απευθείας κυκλοποίησης, το καρβοκατιόν (προερχόμενο από το FPP ή το NPP), μπορεί να υποστεί μια ποικιλία από μεταφορές υδριδίου και μεταθέσεις παράγοντας διαφορετικά καρβοκατιόντα και τελικά διαφορετικές κυκλοποιήσεις με τελικό αποτέλεσμα την δημιουργία μίας ευρύτατης ποικιλίας ανθρακικών σκελετών η οποία αριθμεί πλέον των 200 σκελετικών τύπων (Seigler, 1998; Davis and Croteau, 2000; Breitmaier, 2006). Στην εικόνα 20 παρουσιάζονται ορισμένες από τις κυκλοποιήσεις του ανθρακικού σκελετού οι οποίες οδηγούν στις κυριότερες κατηγορίες σεσκιτερπενίων. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται τα γερμακράνια (με σκελετό 4,10-διμεθυλο-7-ισοπροπυλο-κυκλοδεκανίου), τα ελεμάνια (με σκελετό 10-μεθυλο-10-αιθυλο-5,7-διισοπροπυλο-κυκλοεξανίου), τα ευδεσμάνια ή σελινάνια (με σκελετό διμεθυλο-7-ισοπροπυλο-δεκαλίνης στο οποίο η τριτοταγής μεθυλομάδα συνδέεται στον C-10), τα ερεμοφιλάνια (με σκελετό διμεθυλο-7-ισοπροπυλο-δεκαλίνης στο οποίο η τριτοταγής μεθυλομάδα συνδέεται στον C-5), τα γουαϊάνια (με σκελετό 4,10-διμεθυλο-7-ισοπρόπυλο-αζουλενίου), τα ψευγογουαϊανολίδια (με σκελετό 5,10-διμεθυλο-7-ισοπρόπυλο-αζουλενίου), τα καδινάνια (με σκελετό 4,10-διμεθυλο-7-

ισοπροπυλο-δεκαλίνης), τα ξανθάνια ή σεκογουαϊάνια (με σκελετό 10-μεθυλο-7-ισοπρόπυλο-1-βουτυλο-κυκλοεπτανίου), και τα χουμουλάνια (με σκελετό ενδεκαμελούς δακτυλίου) (Rücker, 1973).

11.2.1.1. Σεσκιτερπενικές λακτόνες

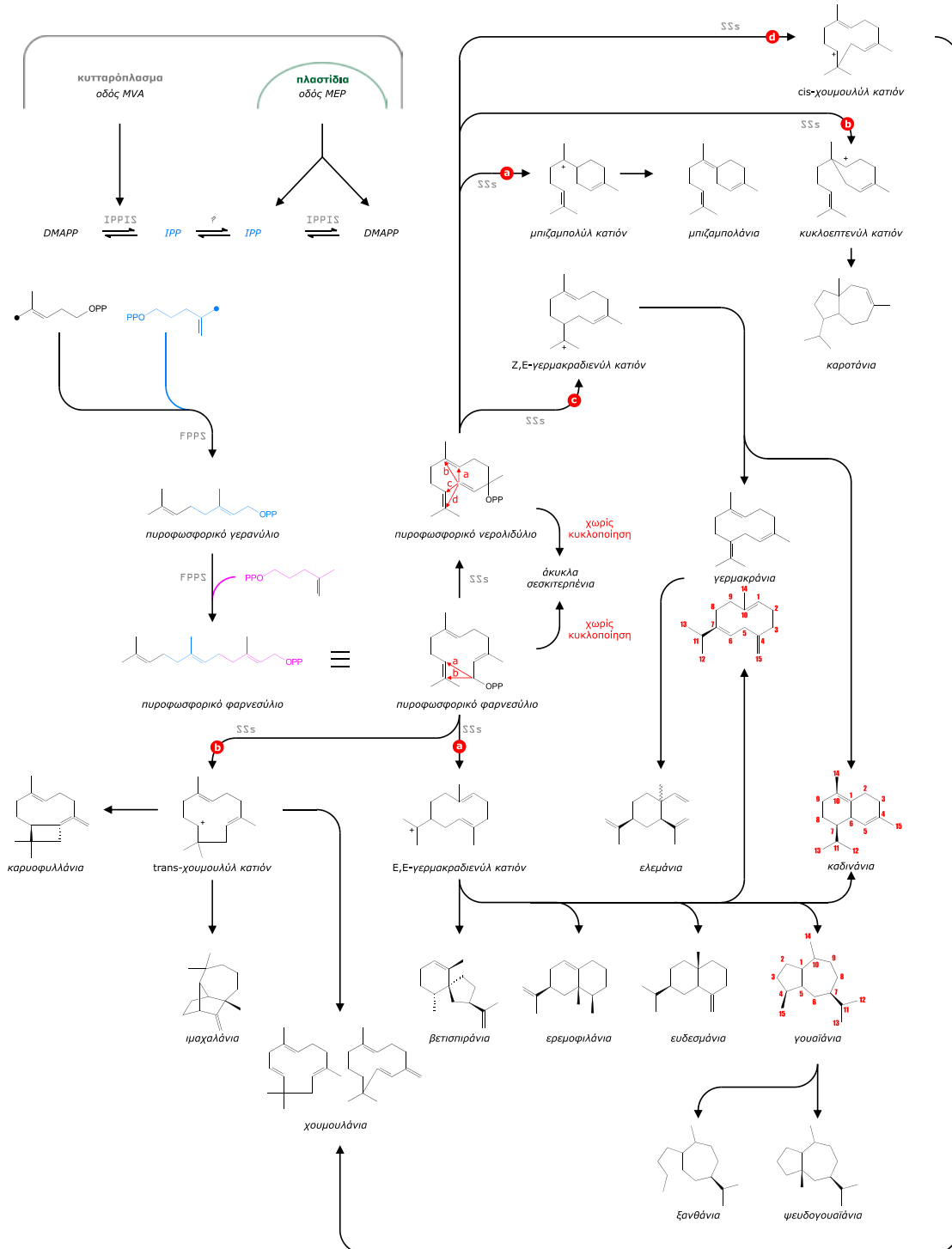
Οι σεσκιτερπενικές λακτόνες αποτελούν σεσκιτερπένια με κοινό χαρακτηριστικό την παρουσία ενός γ-λακτονικού δακτυλίου (Kasymov, 1983). Την παρουσία του δακτυλίου αυτού στον σεσκιτερπενικό σκελετό δηλώνει η κατάληξη -ολίδιο που χρησιμοποιείται στην ονοματολογία των ενώσεων αυτών (Woerdenbag, 1986). Ο λακτονικός δακτύλιος μπορεί να κλείσει είτε στον άνθρακα C-6 είτε στον άνθρακα C-8 (Harborne *et al.*, 1999; Σκαλτσά, 2004). Έτσι οι συνηθέστερα απαντώμενες λακτόνες φέρουν το δακτύλιο είτε στους άνθρακες C-6 και C-7 (όπως το κουστουνολίδιο, εικόνα 22) είτε στους άνθρακες C-8 και C-7, αν και υπάρχουν περιπτώσεις όπου αυτός βρίσκεται σε άλλη θέση όπως στους άνθρακες C-8 και C-9 (όπως το κινναμολίδιο) ή στους C-4 και C-6 (όπως η λιντεραλακτόνη) (Rücker, 1973; Kasymov, 1983; Fischer, 1991). Στα ανώτερα φυτά, η πλειοψηφία των σεσκιτερπενικών λακτονών φέρει α-μεθυλενο-γ-λακτονικό σύστημα και το H-7 έχει, χωρίς καμία εξαίρεση, α-προσανατολισμό (Seigler, 1998). Ωστόσο, εναντιομερείς ενώσεις απαντώνται σε βρυόφυτα (Fischer, 1991). Μεταξύ των συνηθέστερων τροποποιήσεων του σκελετού των σεσκιτερπενικών λακτονών συγκαταλέγονται η ενσωμάτωση υδροξυλομάδων (εστεροποιημένων ή μη) και εποξειδικού δακτυλίου. Επίσης αξίζει να αναφερθεί ότι ελάχιστες σεσκιτερπενικές λακτόνες απαντώνται ως γλυκοζίτες ενώ υπάρχουν και περιπτώσεις διμερών ενώσεων (Picman, 1986; Harborne *et al.*, 1999).

Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί περισσότερες από 4000 σεσκιτερπενικές λακτόνες, εκ των οποίων οι περισσότερες από την οικ. Asteraceae όπου η παρουσία τους εμφανίζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την ταξινομική και την μελέτη της εξέλιξης των ειδών (Kelsey and Shafizadeh, 1979; Abad *et al.*, 1995; Seigler, 1998; Staneva *et al.*, 2008; Zidorn, 2008). Απαντώνται επίσης σε άλλες 16 οικογένειες

-Εισαγωγή-

αγγειόσπερμων (Harborne *et al.*, 1999; Σκαλτσά, 2004) μεταξύ των οποίων αξίζει να αναφέρουμε την οικ. Αριaceae (Umbelliferae) λόγω της διαφορετικής στερεοχημικής διαμόρφωσης που

εμφανίζουν οι σесκιτερπενικές λακτόνες της οικογένειας αυτής σε σχέση με τις ισομερείς τους ενώσεις που απαντώνται στην οικ. Asteraceae (Holub and Buděšínský, 1986; Holub *et al.*,



Εικόνα 20. Η βιοσύνθεση των κυριότερων κατηγοριών σесκιτερπενίων. Συντμήσεις: MEP: 4-φωσφορο-2-μεθυλοερυθρούλη; MVA: μεβαλονικό οξύ; IPP: πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο; IPPIS: ισομεράση του IPP; DMAPP: πυροφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο; FPPS: συνθάση του πυροφωσφορικού φαρνεσυλίου; SSSs: συνθάσεις των σесκιτερπενίων. Με τα κόκκινα γράμματα (a-d) παριστάνονται οι συνδυασμοί κυκλοποιήσεων οι οποίοι οδηγούν σε διαφορετικά ενδιάμεσα καρβοκατιόντα. Με ερωτηματικό (?) επισημαίνεται ότι δεν είναι διευκρινισμένη η χημική ταυτότητα των ενδιάμεσων παραγώγων τα οποία ανταλλάσσονται μεταξύ των δύο βιοσυνθετικών οδών (MVA και MEP). Σημειώνεται πως στο σχήμα οι βιοσυνθετικές αλληλουχίες για την παραγωγή των διαφόρων κατηγοριών σесκιτερπενίων δεν είναι σε κάθε περίπτωση πλήρεις. Στο σχήμα, για λόγους κατανόησης, εμφανίζονται δύο ισοδύναμοι συντακτικοί τύποι του πυροφωσφορικού φαρνεσυλίου (≡).



Εικόνα 21. Στερεομικροφωτογραφία αδενωδών (πράσινα βέλη) και μη αδενωδών τριχών (λευκά βέλη) στην επιφάνεια των φύλλων του είδους *Cistus creticus* (Falara *et al.*, 2008).

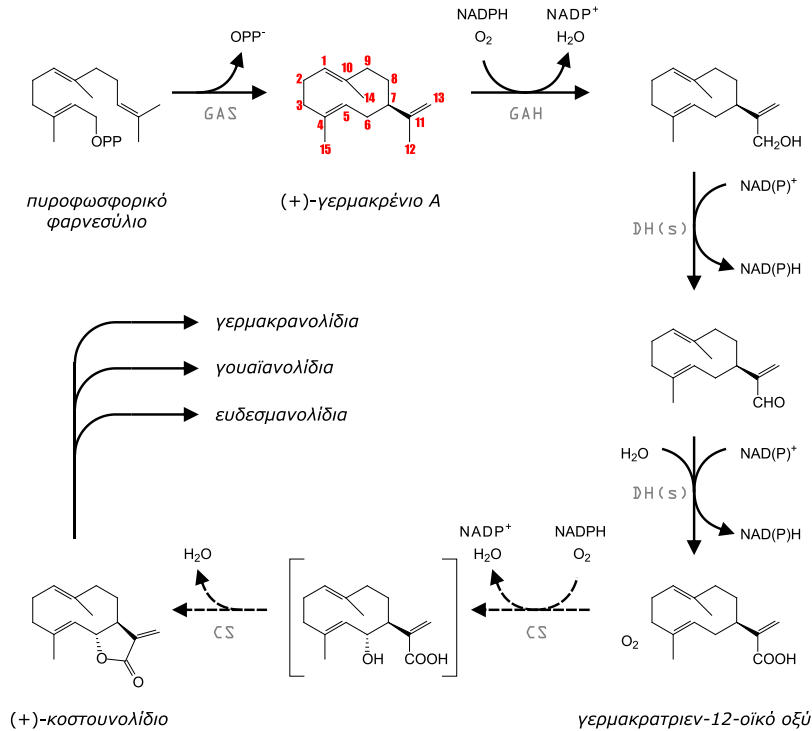
1987). Σεσκιτερπενικές λακτόνες έχουν επίσης απομονωθεί από μέλη της οικ. Cupressaceae (γυμνόσπερμα) καθώς και από βρυόφυτα (Picman, 1986). Οι σεσκιτερπενικές λακτόνες απαντώνται σε διάφορα φυτικά όργανα, αλλά κυρίως η παρουσία τους αφορά στα φύλλα, στα άνθη και στο αδενώδες τρίχωμα (εικόνα 21) ενώ δύνανται να αποτελέσουν έως και το 5% του ξηρού βάρους του φυτού (Kelsey and Shafizadeh, 1980; Cappelletti *et al.*, 1986; Seigler, 1998; Harborne *et al.*, 1999).

Παρά το πλήθος των δεδομένων σχετικών με τη δομή και τις ιδιότητές τους, ελάχιστα είναι γνωστά για τη βιοσύνθεση των σεσκιτερπενικών λακτονών (Bramley, 1997; Σκαλτσά, 2004). Η πλειοψηφία των φυσικώς απαντώμενων σεσκιτερπενικών λακτονών ανήκει στην κατηγορία των γερμακρανολιδίων, από την οποία πιστεύεται ότι προέρχονται οι υπόλοιπες κατηγορίες, είτε άμεσα είτε έμμεσα (Woerdenbag, 1986; Fischer, 1991). Ιδιαίτερα το (+)-κοστουνολίδιο, το οποίο αποτελεί μία από τις απλούστερες δομές γερμακρανολιδίων, θεωρείται ένα από τα πρόδρομα μόρια άλλων γερμακρανολιδίων καθώς και γουαϊανολιδίων και ευδεσμανολιδίων (Fischer, 1990; Dewick, 1997; Seigler, 1998). Έτσι, οι σεσκιτερπενικές λακτόνες μπορούν να ταξινομηθούν βιογενετικά, βάσει του καρβοκυκλικού σκελετού σε τέσσερις κύριες κατηγορίες: τα γερμακρανολίδια, τα ευδεσμανολίδια, τα γουαϊανολίδια και τα ψευδογουαϊανολίδια. Εκτός των τεσσάρων αυτών σκελετικών τύπων, περαιτέρω τροποποιήσεις του ανθρακικού σκελετού οδηγούν στη βιοσύνθεση άλλων κατηγοριών σεσκιτερπενικών λακτονών. Ενδεικτικά μπορεί να αναφερθεί ότι τα

ξανθανολίδια προκύπτουν με αναδιευθέτηση του μορίου πρόδρομων ενώσεων του τύπου των γουαϊανολιδίων (Rodriguez *et al.*, 1976; Harborne *et al.*, 1999; Σκαλτσά, 2004).

Πρόσφατα πειραματικά δεδομένα επιβεβαιώνουν, σε ορισμένα τουλάχιστον φυτά της οικογένειας Asteraceae, την βιοσυνθετική πορεία από το FPP προς το (+)-κοστουνολίδιο μέσω του (+)-γερμακρένιου A, η οποία είχε προταθεί στο παρελθόν, και συνηγορούν στο ότι τα τελευταία αποτελούν κοινά πρόδρομα μόρια άλλων σεσκιτερπενικών λακτονών (Song Q. *et al.*, 1995; de Kraker *et al.*, 1998; de Kraker *et al.*, 2001; Bennett *et al.*, 2002; de Kraker *et al.*, 2002) (εικόνα 22). Συγκεκριμένα, στο ραδίκι (*Cichorium intybus*) η κυκλοποίηση του FPP προς το (+)-γερμακρένιο A καταλύεται από τη συνθάση του (+)-γερμακρένιου A (GAS), η οποία στη συνέχεια απελευθερώνει το (+)-γερμακρένιο A σε αντίθεση με άλλες σεσκιτερπενικές συνθάσες (de Kraker *et al.*, 1998). Πλέον, η απομόνωση γονιδίων που κωδικοποιούν για την GAS δημιουργεί νέες προοπτικές τόσο για τη μελέτη όσο και για την πιθανή τροποποίηση της βιοσύνθεσης των σεσκιτερπενίων (Bouwmeester *et al.*, 2002; Ren *et al.*, 2006), δεδομένου ότι το γερμακρένιο A αποδεδειγμένα εμπλέκεται όχι μόνο στη βιοσυνθετική πορεία σεσκιτερπενικών λακτονών αλλά και άλλων σεσκιτερπενίων (Rising *et al.*, 2000; Σκαλτσά, 2004). Επίσης, αξίζει να επισημανθεί ότι το γερμακρένιο B, το οποίο από χημικής απόψεως θα μπορούσε να αποτελεί πρόδρομο μόριο αντί του γερμακρένιου A (Fischer, 1990), δεν φαίνεται να εμπλέκεται στη βιοσύνθεση των οξυγονομένων στον άνθρακα C-8 γουαϊανολιδίων του φυτού *C. intybus* (de Kraker *et al.*, 1998). Στη συνέχεια της βιοσυνθετικής πορείας προς το (+)-κοστουνολίδιο ακολουθεί υδροξυλίωση της πλευρικής ισοπροπενυλικής αλυσίδας του (+)-γερμακρένιου A, αντίδραση η οποία καταλύεται από ένα κυτοχρωμικό P450 ένζυμο, την υδροξυλάση του (+)-γερμακρένιου A (GAH). Ακολούθως, πραγματοποιείται οξειδωση της προκύπτουσας αλκοόλης προς το αντίστοιχο οξύ, αν και δεν έχει διευκρινιστεί αν η αντίδραση καταλύεται από μία ή περισσότερες NADP⁺-αφυδρογονάσες των σεσκιτερπενίων (DH(s)) καθώς και αν η οξειδωση πραγματοποιείται μέσω ενός ενζυμικού βήματος ή

-Εισαγωγή-



Εικόνα 22. Προτεινόμενη βιοσυνθετική πορεία προς το (+)-κοστουνολίδιο, το οποίο θεωρείται σημείο διακλάδωσης των βιοσυνθετικών οδών των γερμακρανολιδίων, γουαϊανολιδίων και ευδεσμανολιδίων. Συντμήσεις: GAS: συνθάση του (+)-γερμακρενίου A, GAH: υδροξυλάση του (+)-γερμακρένιου A, DH(s): αφυδρογονάση(ες) των σесκιτερπενίων, CS: συνθάση του (+)-κοστουνολιδίου (de Kraker *et al.*, 2002).

μέσω της αντίστοιχης αλδεϋδης (de Kraker *et al.*, 2001). Τέλος, το οξύ μετατρέπεται στο (+)-κοστουνολίδιο με τη δράση ενός επίσης κυτοχρωμικού P450 ενζύμου και συγκεκριμένα της NADPH-συνθάσης του (+)-κοστουνολιδίου (CS). Επομένως, η CS καταλύει το τελευταίο βιοσυνθετικό βήμα σχηματισμού του λακτονικού δακτυλίου των σесκιτερπενικών λακτονών, κατά το οποίο πιθανότατα λαμβάνει χώρα ενδιάμεση υδροξυλίωση στον άνθρακα C-6 (de Kraker *et al.*, 2002) (εικόνα 22).

Πρέπει να τονιστεί ότι όσα αναφέρθηκαν ανωτέρω για την βιοσύνθεση των σесκιτερπενικών λακτονών δεν αφορούν όλες τις φυσικά απαντώμενες δομές τους. Επίσης αρκετά βιοσυνθετικά στάδια τα οποία αφορούν σε συγκεκριμένες δομές απαιτούν επιπλέον διερεύνηση. Όσον αφορά, για παράδειγμα, στη βιοσύνθεση της αρτεμισίνης (δραστική ουσία στην οποία βασίζονται ορισμένα φάρμακα για τη θεραπεία της ελονοσίας), η κυκλοποίηση του FPP μέσω της δράσης της συνθάσης του αμορφα-4,11-διένιου οδηγεί στο σχηματισμό ενός σесκιτερπενίου του τύπου των αμορφανίων ενώ ελάχιστα από τα επόμενα βιοσυνθετικά βήματα

έχουν διευκρινιστεί (Bouwmeester *et al.*, 1999; Berteau *et al.*, 2005; Covello *et al.*, 2007; Bohlmann and Keeling, 2008). Τέλος υπάρχουν περιπτώσεις σесκιτερπενικών λακτονών των οποίων η βιοσύνθεση δεν πραγματοποιείται μέσω της οδού του MVA και συνεπώς δεν περιλαμβάνει το FPP ως πρόδρομο μόριο (Van Klink *et al.*, 2003; Fonseca *et al.*, 2005).

11.2.2. Ρόλοι σесκιτερπενίων στη φυσιολογία και οικολογία των φυτών

Τα σесκιτερπένια αποτελούν την πολυπληθέστερη κατηγορία τερπενίων με περισσότερες από 5000 γνωστές δομές οι οποίες κατανέμονται σε περίπου 30 κύριους σκελετικούς τύπους (Seigler, 1998). Η ποικιλομορφία των δομών των σесκιτερπενίων συνοδεύεται από ανάλογη ποικιλία στους βιολογικούς ρόλους οι οποίοι αφορούν κυρίως στην αλληλεπίδραση με βιοτικούς παράγοντες (Picman, 1986). Αν και στην πλειοψηφία τους οι ρόλοι των σесκιτερπενίων είναι αμυντικοί, είναι δυνατόν να εμπλέκονται και σε φαινόμενα όπως η εγκαθίδρυση μυκοριζικών σχέσεων και η επικονίαση (Seigler, 1998). Ιδιαίτερα σημαντική

από πλευράς βιοδραστικότητας είναι η ύπαρξη λακτονικού δακτυλίου (Macías *et al.*, 1992; Wedge *et al.*, 2000). Η βιοδραστικότητα των σεσκιτερπενικών λακτονών οφείλεται καταρχάς στην ύπαρξη της α – μεθυλενο – γ - λακτονικής λειτουργικότητας του μορίου. Ωστόσο, δεν έχει έως σήμερα διατυπωθεί ένας γενικευμένος κανόνας ο οποίος να ερμηνεύει τη βιολογική δράση των σεσκιτερπενικών λακτονών επειδή η συνύπαρξη της χαρακτηριστικής αυτής λειτουργικής ομάδας με άλλους υποκαταστάτες καθώς και οι ιδιαιτερότητες των επιμέρους βιοχημικών συστημάτων των οργανισμών-στόχων επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την βιολογική τους δράση (Picman, 1986).

II.2.2.1. Επίδραση των σεσκιτερπενίων στη φυσιολογία των φυτών

Ένα από τα γνωστότερα τερπένια που διαθέτει σκελετό C₁₅ είναι το αμπισικό οξύ. Ως γνωστόν το αμπισικό οξύ δρα ως ενδογενής φυτο-ορμόνη. Ωστόσο, στα ανώτερα φυτά, δεν παράγεται μέσω της μεταβολικής οδού των σεσκιτερπενίων αλλά αποτελεί προϊόν αποδόμησης των ξανθοφυλλών και υπό την έννοια αυτή αποτελεί παράγωγο των τετρατερπενίων (Seigler, 1998). Ορισμένες σεσκιτερπενικές λακτόνες εμπλέκονται στους μηχανισμούς αύξησης των φυτών γεγονός το οποίο αποδίδεται στην - συνήθως παρεμποδιστική - δράση τους επί της αυξίνης (Bonde, 1953; Spring and Hager, 1982; Picman, 1986; Harborne, 1999a). Θεωρείται πιθανό ότι η επίδραση αυτή των σεσκιτερπενικών λακτονών επί της αυξίνης σχετίζεται και με την αλληλοπαθητική δράση τους (Picman, 1986) (βλ. ενότητα II.2.2.3).

II.2.2.2. Αλληλεπίδραση με ζωικούς οργανισμούς

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες συμβάλλουν στους μηχανισμούς επικονίασης και διασποράς των σπερμάτων, αποτελώντας όχι μόνο 'οπτικά' (βλέπε ανωτέρω για φλαβονοειδή) αλλά και 'οσφρητικά' ερεθίσματα για τους επικονιαστές και τους διασπορείς σπερμάτων (Harborne and Grayer, 1994; Harborne, 2001). Στην κατηγορία των οσφρητικών ερεθισμάτων δύναται να συμπεριληφθούν και τα σεσκιτερπένια, τα οποία

συμμετέχουν στη σύσταση των αιθέριων ελαίων ανθέων και καρπών (Seigler, 1998). Αξίζει να αναφερθεί ότι τα σεσκιτερπένια αποτελούν μία από τις κύριες κατηγορίες ενώσεων οι οποίες συμβάλλουν στο άρωμα των ανθέων, με χαρακτηριστικό εκπρόσωπο το καρυοφυλλένιο, το οποίο απαντάται σε ποσοστό άνω του 50% των φυτικών οικογενειών (Dudareva and Pichersky, 2000; Knudsen *et al.*, 2006). Σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις έχει αναφερθεί ότι τα σεσκιτερπένια αποτελούν την κυρίαρχη κατηγορία (Knudsen and Tollsten, 1993; Ervik *et al.*, 1999). Ωστόσο, παρά το γεγονός ότι η συμβολή των σεσκιτερπενίων αλλά και γενικότερα των πτητικών συστατικών των ανθέων στην προσέλκυση επικονιαστών εμφανίζεται αυτονόητη, πρέπει να επισημανθεί ότι το φαινόμενο είναι πολύπλοκο και χρήζει περαιτέρω μελέτης (Pichersky and Gershenzon, 2002). Αξιοσημείωτο παράδειγμα αποτελεί η επικονίαση φυτών του γένους *Ophrys*, τα οποία απελευθερώνουν πτητικές ενώσεις, οι οποίες μιμούνται το άρωμα θηλυκών εντόμων αποτελούν ερεθίσματα για τα αρσενικά άτομα (Seigler, 1998; Ayasse *et al.*, 2000) (εικόνα 23). Κάποιες από τις ενώσεις αυτές προσελκύουν ενώ κάποιες άλλες απωθούν τα αρσενικά άτομα των εντόμων, ανάλογα με το αναπτυξιακό και φυσιολογικό στάδιο του άνθους (Borg-Karlson, 1990; Schiestl *et al.*, 1999; Schiestl and Ayasse, 2001). Η απελευθέρωση ενώσεων με απωθητική δράση από τα άνθη που έχουν ήδη επικονιαστεί ενδεχομένως ελαχιστοποιεί τον τραυματισμό των αναπτυσσόμενων σπερμάτων ενώ ταυτόχρονα



Εικόνα 23. Επικονίαση του είδους *Ophrys sphegodes* από αρσενική μέλισσα του είδους *Andrena nigroaenea*. Το άνθος μιμείται την οσμή του θηλυκού *A. nigroaenea*, μέσω εκπομπής πτητικών ενώσεων, με αποτέλεσμα την προσέλκυση του εντόμου (Pichersky and Gershenzon, 2002).

ευνοεί την επικονίαση παρακείμενων ανθέων (Pichersky and Gershenzon, 2002).

Όσον αφορά στην εμπλοκή των σεσκιτερπενίων (με ή χωρίς λακτονικό δακτύλιο) στις διατροφικές συνήθειες εντόμων και άλλων ζωικών οργανισμών, η πλειοψηφία των πειραματικών δεδομένων διαπραγματεύεται τη δράση τους ως αμυντικών μορίων έναντι φυτοφάγων αν και σε ορισμένες περιπτώσεις η δράση τους αποδεικνύεται προσελκυστική (Peterson *et al.*, 1994; Jordon-Thaden and Louda, 2003; Huber *et al.*, 2004). Οι αμυντικές ιδιότητες των σεσκιτερπενίων μπορούν είτε να έχουν ως στόχο εξειδικευμένους εχθρούς των φυτών είτε να εμφανίζουν γενικευμένη δράση. Τα σεσκιτερπένια δρουν κυρίως ως απωθητικά της κατανάλωσης τροφής, ως παράγοντες ρύθμισης της ανάπτυξης ή ως τοξικοί παράγοντες, ενώ η βιολογική τους δράση εξαρτάται και από το στάδιο ανάπτυξης του φυτοφάγου (Harmatha and Nawrot, 1984; Rees and Harborne, 1985; Alarcon *et al.*, 1990; Powell *et al.*, 1995; Reina *et al.*, 2001; García *et al.*, 2003; Watanabe *et al.*, 2005; Ravi Kiran *et al.*, 2007). Η κατανάλωση ορισμένων σεσκιτερπενίων παρεμποδίζει την ομαλή ανάπτυξη εντόμων επιδρώντας είτε στην αύξηση είτε στην ομαλή διαδοχή των αναπτυξιακών τους σταδίων (Howe and Westley, 1988; Castillo *et al.*, 1998; Bardón *et al.*, 1999). Εκτός αυτού, ορισμένα σεσκιτερπένια μιμούνται τις φυσικές φερομόνες των εντόμων (Nahrstedt, 1989; Fraga, 1991; Crock *et al.*, 1997). Η απωθητική δράση τους επί των ανώτερων ζωικών οργανισμών σχετίζεται πρωτίστως με την πικρή γεύση που προσδίδουν στην τροφή. Επίσης, ορισμένες ενώσεις είναι τοξικές όταν καταναλωθούν από θηλαστικά (Picman, 1986; Seigler, 1998).

Ενώσεις του τύπου των σεσκιτερπενίων είναι δυνατό να παρέχουν προστασία έναντι φυτοφάγων εντόμων και με έμμεσο τρόπο. Αυτό επιτυγχάνεται με τη συμμετοχή τους σε μίγματα πτητικών ενώσεων που απελευθερώνονται από τα φυτά και τα οποία προσελκύουν φυσικούς θηρευτές των φυτοφάγων. Το φαινόμενο παρουσιάζει πολυπλοκότητα δεδομένου ότι μπορεί να σχετίζεται με μία ή περισσότερες ενώσεις, τη συγκέντρωσή τους καθώς και την εξειδίκευση του φυτοφάγου (Baldwin and Preston, 1999; Paré

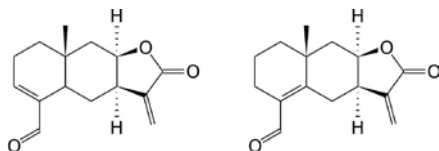
and Tumlinson, 1999; Mumm and Hilker, 2005). Η απελευθέρωση των ενώσεων αυτών πραγματοποιείται είτε από τα υπέργεια είτε από τα υπόγεια φυτικά όργανα και δύναται να σχετίζεται είτε με τον τραυματισμό ύστερα από προσβολή ή με την εναπόθεση ωών φυτοφάγων εντόμων είτε και με τα δύο (Kessler and Baldwin, 2001; Wegener *et al.*, 2001; Colazza *et al.*, 2004; Rasmann *et al.*, 2005). Η απομόνωση γονιδίων που κωδικοποιούν για ένζυμα της βιοσύνθεσης σεσκιτερπενίων τα οποία εμπλέκονται στο φαινόμενο και η περαιτέρω δημιουργία διαγονιδιακών φυτών, δημιουργεί νέες προοπτικές στην εφαρμογή της βιολογικής φυτοπροστασίας στην γεωργική πρακτική (Shen *et al.*, 2000; Degenhardt *et al.*, 2003; Kappers *et al.*, 2005; Schnee *et al.*, 2006).

Εκτός των όσων αναφέρθηκαν ανωτέρω, τα μίγματα των πτητικών συστατικών που απελευθερώνονται από τα φυτά δύναται να αποτελούν ερεθίσματα για τα θηλυκά άτομα εντόμων επηρεάζοντας, μεταξύ άλλων, την εναπόθεση των ωών. Μεταξύ των κατηγοριών των ενώσεων που εμπλέκονται στο φαινόμενο συγκαταλέγονται και τα σεσκιτερπένια (Eisemann and Rice, 1992; Maia *et al.*, 2000; Wang and Kays, 2002). Η επίδρασή τους δύναται να είναι είτε θετική είτε αρνητική και να εξαρτάται ή όχι από την συνύπαρξη τους με άλλες χημικές ενώσεις καθώς και τη σχετική τους αναλογία (Hartlieb and Rembold, 1996; Binder and Robbins, 1997; Harborne, 2001; Mozuraitis *et al.*, 2002). Τέλος, η έκβαση του φαινομένου εξαρτάται τόσο από την ακριβή δομή του σεσκιτερπενίου όσο και από το είδος του εντόμου (Coates *et al.*, 1988; Juvik *et al.*, 1988; Douglass *et al.*, 1993; Binder *et al.*, 1995).

II.2.2.3. Αλληλοπαθητική δράση μεταξύ φυτών

Ορισμένα μέλη των σεσκιτερπενίων (με ή χωρίς λακτονικό δακτύλιο) είναι πιθανό να εμπλέκονται σε φαινόμενα αλληλοπάθειας μεταξύ φυτών (Harborne, 1993; Anaya *et al.*, 1995; Inderjit and Keating, 1999). Η επίδραση των ενώσεων αυτών (θετική ή αρνητική) μπορεί να αφορά τόσο στη βλάστηση σπερμάτων όσο και στην ανάπτυξη φυτικών οργάνων (Kalsi *et al.*, 1989; Talwar *et al.*, 1992; Anaya *et al.*, 1996;

Tan *et al.*, 1998; Macías *et al.*, 2000). Για δεδομένο συστατικό, το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης εξαρτάται τόσο από τη συγκέντρωσή του όσο και από το είδος του φυτού-στόχου. Ακόμα και περιορισμένες αλλαγές στη μοριακή δομή μπορούν να επηρεάσουν δραματικά τη βιοδραστικότητα ενός μορίου (Kalsi *et al.*, 1984; Kaur and Kalsi, 1985; Kalsi *et al.*, 1988; Singh *et al.*, 1992) (εικόνα 24). Επίσης, το σύστημα- ή μόριο-στόχος του σεσκιτερπενίου ενδεχομένως μεταβάλλεται ανάλογα με τη συγκέντρωση του αλληλοπαθητικού μορίου, γεγονός το οποίο μπορεί να εξηγήσει την εξάρτηση της βιολογικής δράσης των ενώσεων αυτών από τη συγκέντρωση (Kalsi *et al.*, 1984; Fischer *et al.*, 1990; Macías *et al.*, 1992). Ένας από τους πιθανούς μηχανισμούς φυτοτοξικής δράσης ορισμένων σεσκιτερπενικών λακτονών είναι η καταστροφή των κυτταροπλασματικών μεμβρανών (Galindo *et al.*, 1999). Ορισμένες σεσκιτερπενικές λακτόνες είναι πιθανό να ευθύνονται και για την παρεμποδιστική δράση που εμφανίζει η γύρη ορισμένων φυτών έναντι της βλάστησης των γυρεοκόκκων καθώς και της επιμήκυνσης του γυρεοσωλήνα άλλων φυτικών ειδών (Picman, 1986). Αξίζει επίσης να αναφερθεί ότι δομές του τύπου των σεσκιτερπενικών λακτονών συμμετέχουν και σε φαινόμενα ανεύρεσης φυτών-ξενιστών από ορισμένα παρασιτικά φυτά. Στις περιπτώσεις αυτές, τα σπέρματα του παρασίτου βλαστάνουν μόνο παρουσία των σεσκιτερπενικών λακτονών οι οποίες εκκρίνονται από τις ρίζες του φυτού-ξενιστή (Seigler, 1998; Steinkellner *et al.*, 2007).



Εικόνα 24. Δύο σεσκιτερπενικές λακτόνες (**αριστερά:** ινουνάλη, **δεξιά:** ισοίνουνάλη) με ορμονική δράση επί της ριζοβολίας. Η ισοίνουνάλη παρουσιάζει τριπλάσια δραστηριότητα συγκριτικά με την ισομερή της ινουνάλη (Kalsi *et al.*, 1988).

II.2.2.4. Αλληλεπίδραση με μικροοργανισμούς

Τα σεσκιτερπένια εμπλέκονται τόσο στην άμυνα έναντι παθογόνων μικροοργανισμών όσο και στην εγκαθίδρυση συμβιωτικών σχέσεων. Ως

αμυντικές ενώσεις μπορούν να συμμετέχουν τόσο σε μηχανισμούς προϋπάρχουσας όσο και επαγομένης άμυνας (Koshino *et al.*, 1989; Bennett and Wallsgrave, 1994; Inoue *et al.*, 1995; Seigler, 1998; Singh *et al.*, 1998; Essenberg, 2001; Cheng *et al.*, 2007). Η δράση τους εμφανίζει υψηλό βαθμό εξειδίκευσης και εξαρτάται από την συγκέντρωση (Anaya *et al.*, 1996; Wedge *et al.*, 2000). Επίσης, η αποτελεσματικότητα ενός αμυντικού σεσκιτερπενίου επηρεάζεται από την ύπαρξη μηχανισμών ανθεκτικότητας του παθογόνου οργανισμού (Κυΐ, 1995; Barrero *et al.*, 1999; Morrissey and Osbourn, 1999). Κατ' αντιστοιχία προς τα ισοφλαβονοειδή των μελών της οικογένειας Fabaceae, τα σεσκιτερπένια λειτουργούν ως φυτοαλεξίνες σε είδη των οικογενειών Solanaceae, Convolvulaceae, Asteraceae και Malvaceae (Grayer and Harborne, 1994; Κυΐ, 1995; Harborne, 1999b). Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων (τόσο όσον αφορά σε φλαβονοειδή όσο και σε σεσκιτερπένια), οι συγκεντρώσεις των φυτοαλεξινών δεν έχουν προσδιοριστεί *in vivo* στα κύτταρα τα οποία βρίσκονται αντιμέτωπα με τον φυτοπαθογόνο μικροοργανισμό (Dixon, 2001). Σε μια εξαίρεση, ωστόσο, η συγκέντρωση των σεσκιτερπενικών φυτοαλεξινών στα επαπειλούμενα κύτταρα ανθεκτικών ποικιλιών βαμβακιού υπό συνθήκες προσβολής από το βακτήριο *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum*, βρέθηκε πολύ υψηλότερη από αυτή η οποία τεκμηριώθηκε ως πλήρως βακτηριοστατική σε *in vitro* πειράματα (Pierce *et al.*, 1996).

Ορισμένες σεσκιτερπενικές λακτόνες σχετίζονται με την εγκαθίδρυση μυκοριζικών σχέσεων όπως επίσης και με την μετέπειτα εξέλιξη της συμβίωσης μέσω του ρυθμιστικού ρόλου που ασκούν στο βαθμό αποίκησης του ριζικού συστήματος του φυτού (Akiyama *et al.*, 2005; Akiyama and Hayashi, 2006; Requena *et al.*, 2007). Ο ρυθμιστικός αυτός ρόλος των λακτονών παρουσιάζει κοινά χαρακτηριστικά με τον αντίστοιχο που επιτελούν τα φλαβονοειδή (Steinkellner *et al.*, 2007). Ενδιαφέρον επίσης είναι το γεγονός ότι οι ενώσεις που εμπλέκονται στην εγκατάσταση των μυκοριζών μπορούν να παρουσιάσουν και δράση επί του παρασιτισμού των φυτών αυτών από φυτά. Έτσι, έχει

-Εισαγωγή-

παρατηρηθεί ότι η βλαστικότητα των σπερμάτων παρασιτικών φυτών μειώνεται με την εφαρμογή εκκριμάτων φυτών με εγκαθιδρυμένη μυκοριζική σχέση σε σύγκριση με αυτή των εκκριμάτων φυτών χωρίς μυκοριζική συμβίωση (Lendzemo *et al.*, 2007).

III. Χαρακτηριστικά του φυτού *Dittrichia viscosa*

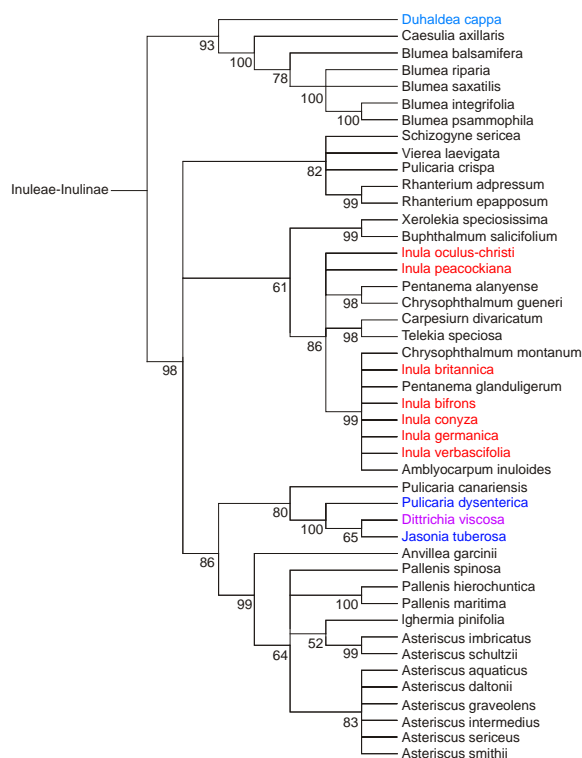
III.1. Βοτανικοί χαρακτήρες

Το φυτό *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter, Exs. Genav. fasc. 4: 71 (1973) ανήκει στην οικογένεια Asteraceae. Συνώνυμα: *Inula viscosa* (L.) Aiton, Hort. Kew. 3: 223 (1789), *Erigeron viscosum* L., Sp. Pl. ed. 2: 1209 (1763). Αναφέρεται με τα κοινά ονόματα κονυζός, κόνυζα, γκρουζιά, ψυλλίστρα, ψυλλήθρα και στρογγυλόχορτο (τα οποία χρησιμοποιούνται και για την *I. graveolens*). Επίσης αναφέρεται και ως νεροκόνυζος ή νεροκολλησιά. Πιθανόν πρόκειται για την κόνυζα την άρρηνη του Θεόφραστου, καθώς και την κόνυζα την μεγάλη του Διοσκορίδη (Καββάδας, 1956; Grierson, 1975; Anderberg, 1991; Zareh, 2005).

Πρόκειται για όρθιο, πολύφυλλο, αειθαλή πολυετή θάμνο, με ιξώδη και κολλώδη υφή και χαρακτηριστική οσμή. Τα υπέργεια όργανα του φυτού χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη τριχώματος, τα χαρακτηριστικά του οποίου συμβάλλουν στην ταξινομική του είδους. Το ύψος του μπορεί να φτάσει το 1 μέτρο και σπανιότερα τα 2 μέτρα ενώ ο βλαστός του είναι αποξυλωμένος μόνο στη βάση του. Φέρει φύλλα λογχοειδή ή αντίστροφα λογχοειδή, 2-9 × 0,3-1,5(-2) cm, οξέα, ακέραια ή οδοντωτά. Τα φύλλα



Εικόνα 25. Φύλλα και ταξιανθία του φυτού *D. viscosa*.



Εικόνα 26. Τμήμα φυλογενετικού δέντρου της φυλής Inuleae βασισμένο σε jackknife ανάλυση της αλληλουχίας βάσεων του γονιδίου *ndhF*. Απεικονίζονται μόνο οι κόμβοι με στήριξη >50%. Η βάση του εν λόγω τμήματος του δέντρου διακλαδίζεται σε δύο κύριες ομάδες. Η πρώτη, εμφανίζει στήριξη 93% (περιλαμβάνει είδη των γενών *Duhaldea*, *Blumea* και *Caesulia*) και η δεύτερη, στήριξη 98%. Στον δεύτερο αυτό κλάδο, διακρίνονται τρεις κύριες μονοφυλετικές ομάδες (με στήριξη 82%, 61% και 86%) και παρατηρούμε ότι τα είδη του γένους *Inula* περιλαμβάνονται σε διαφορετική ομάδα από αυτή της *D. viscosa*. Τα γένη *Dittrichia* και *Jasonia* απαρτίζουν μία μονοφυλετική ομάδα (65%) εντός μιας παραφυλετικής *Pulicaria*, με την *P. dysenterica* ως αδελφή των *Dittrichia* + *Jasonia* και την *P. canariensis* ως αδελφή των *P. dysenterica*, *Dittrichia* και *Jasonia* (Anderberg et al., 2005).

του βλαστού είναι ημιπερίβλαστα ή καρδιοειδή στη βάση τους. Τα άνθη σχηματίζουν ταξιανθία κεφαλίου, η οποία περιβάλλεται από βράκτεια (εικόνα 25). Τα κεφάλια είναι πολυπληθή και διατάσσονται σε μορφή φόβης ή σε ελεύθερη βότρυ. Τα βράκτεια είναι πλάτους 0,75-1 cm και τα φυλλάκια είναι επάλληλα, 4-5-εν σειρά, κάπως μεμβρανώδη και ωχρά με πράσινο κεντρικό νεύρο. Τα εξωτερικά φυλλάκια είναι λογχοειδή, 1,5-2 × 0,5 mm και τα εσωτερικά γραμμοειδή-λογχοειδή, 6-7 mm. Άνθη ακτινωτά c. 10, γλωσσίδια 5-6 × 1,5 mm. Άνθη δίσκου 5,5-6.5 mm. Οι καρποί χαρακτηρίζονται ως αχάινια, συμπιεσμένα στην κορυφή, αραιά χνουδωτά και αδενώδη. Ο πάππος είναι τραχύς, καφετής, εκ

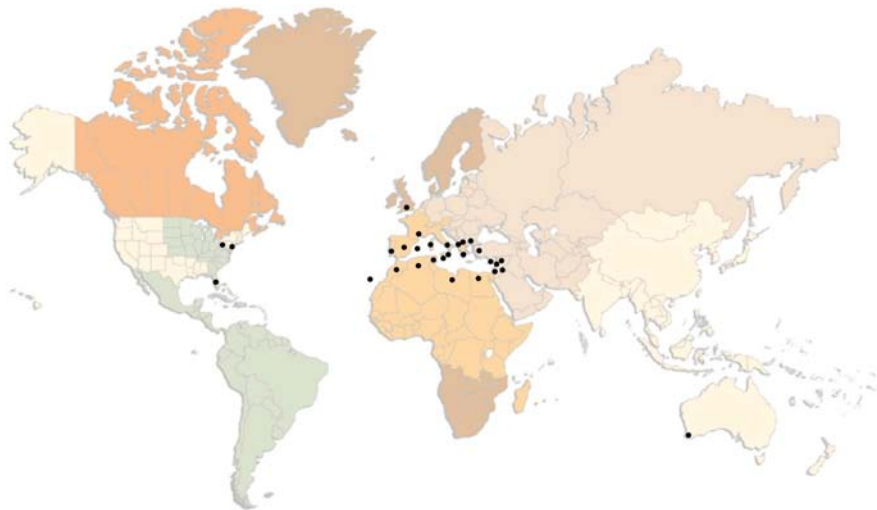
τριχών c. 20, 5,5-6.5 mm, οι οποίες είναι ενωμένες στη βάση σε κατασκευή σχήματος κυπέλλου (εικόνα 9) (Καββάδας, 1956; Grierson, 1975; Anderberg, 1991; Zareh, 2005; Ciccarelli *et al.*, 2007).

Η οικογένεια Asteraceae, η οποία αποτελεί την μεγαλύτερη οικογένεια της κλάσης των Δικοτυλήδονων (Magnoliopsida), εμφανίζει ταξινομικές δυσκολίες. Σήμερα αρκετές ερευνητικές ομάδες χρησιμοποιούν μοριακές μεθόδους στη συστηματική των φυτών, κυρίως όσον αφορά στην αξιοποίηση δεδομένων DNA αλληλουχιών για την εύρεση εξελικτικών σχέσεων μεταξύ γενών και ειδών. Φυλογενετικές αναλύσεις βασισμένες στην αλληλουχία βάσεων είτε του γονιδίου *ndhF* (χλωροπλαστικό DNA) είτε των ITS (πυρηνικό ριβοσωμικό DNA), έδειξαν ότι το φυτό *D. viscosa* δεν τοποθετείται σε κλάδο κοινό με είδη του γένους *Inula* αλλά σε κλάδο κοινό με τα *Jasonia tuberosa* και *Pulicaria dysenterica* (εικόνα 26) (Eldenäs *et al.*, 1998; Francisco-Ortega *et al.*, 2001; Andrus *et al.*, 2004; Anderberg *et al.*, 2005). Σύμφωνα με μία παλαιότερη φυλογενετική ανάλυση, η οποία όμως βασιζόταν σε μορφολογικά χαρακτηριστικά, τα προαναφερόμενα γένη τοποθετούνται σε κοινό μεν κλάδο, διαφορετικό όμως από αυτόν που προτείνουν τα μοριακά δεδομένα (Anderberg,

1991). Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό το οποίο συνηγορεί για την τοποθέτηση του γένους *Dittrichia* (το οποίο περιλαμβάνει τα είδη *D. viscosa* και *D. graveolens*) πιο κοντά στο γένος *Pulicaria* από ότι στο γένος *Inula* είναι η σύσταση των ειδών του γένους *Dittrichia* σε φλαβονόλες και διυδροφλαβονόλες, μεταβολίτες οι οποίοι έχουν βρεθεί και σε τρία είδη του γένους *Pulicaria* (Khafagy *et al.*, 1976; Metwally *et al.*, 1986; Öksüz and Torcu, 1992; Wollenweber *et al.*, 1997b; Wollenweber *et al.*, 2005).

III.2. Οικολογία

Το φυτό *D. viscosa* απαντάται σε χέρσους, πετρώδεις τόπους σε όλη την Ελλάδα και εξαπλώνεται στη Μεσογειακή Ευρώπη, Ασία και Αφρική (Καββάδας, 1956). Ήδη από τη δεκαετία του 1960 παρατηρείται ταχεία εξάπλωση του φυτού στη βορειοδυτική πλευρά της Μεσογειακής λεκάνης, διότι αποτελεί θάμνο ιδιαίτερα επιθετικό στην κατάληψη διαταραγμένων, λόγω ανθρωπογενών δραστηριοτήτων, περιοχών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η γεωγραφική του εξάπλωση να επεκτείνεται ταχύτατα τόσο στην Ευρώπη όσο και σε άλλες ηπείρους (εικόνα 27), διότι οι υποβαθμισμένες αυτές περιοχές διευρύνονται (Wacquand, 1990; Khater *et al.*, 2003).



Εικόνα 27. Γεωγραφική εξάπλωση του φυτού *D. viscosa*. **Βόρεια Αφρική:** Αλγερία, Αίγυπτο, Λιβύη, Μαρόκο, Τυνησία. **Δυτική Ασία:** Ισραήλ, Ιορδανία, Λίβανο, Συρία, Τουρκία. **Ευρώπη:** Ελλάδα, Κύπρο, Αλβανία, Βουλγαρία, Γιουγκοσλαβία, Ιταλία (συμπεριλαμβανομένων των νησιών της Σαρδηνίας και της Σικελίας), Ισπανία (συμπεριλαμβανομένων των Καναρίων και Βαλεαρίδων νήσων), Γαλλία (συμπεριλαμβανομένης της Κορσικής), Πορτογαλία, Μάλτα. Τέλος, εντοπίστηκε και εγκλιματίστηκε σε ορισμένες περιοχές της Βρετανίας. **Αμερική:** Εντοπίστηκε στις πολιτείες της Φλόριντα, Πενσυλβάνια και του Ν. Τζέρσεϊ, χωρίς όμως να έχει εγκλιματιστεί. **Αυστραλία:** Έχει εισβάλλει σε περιοχές της Αυστραλίας και έχει εγκλιματιστεί. Έχει συμπεριληφθεί στην Εθνική Λίστα μη ιθαγενών φυτών, τα οποία δυνητικά μπορούν να απειλήσουν την βιοποικιλότητα των φυτοκοινωνιών της ηπείρου και γι' αυτό έχει απαγορευτεί η εισαγωγή του ενώ συνιστάται η εξόντωσή του (Anonymus, 2004; Glanznig *et al.*, 2004; Groves *et al.*, 2005).

Η παρουσία του φυτού σε υποβαθμισμένες περιβαλλοντικά περιοχές, σε ορισμένες περιπτώσεις ίσως σχετίζεται με ανθεκτικότητά του έναντι ρυπαντών. Πειραματικές μετρήσεις σε φυτά που αναπτύσσονται σε επιβαρημένες περιοχές, όπως ορυχεία, αυτοκινητόδρομους και βιομηχανικές ζώνες αλλά και πειράματα σε ελεγχόμενες συνθήκες στο εργαστήριο, έδειξαν ότι η *D. viscosa* έχει την ικανότητα να συσσωρεύει βάρεια μέταλλα. Επομένως η εξάπλωση του φυτού στις περιοχές αυτές δίνει τη δυνατότητα απομάκρυνσης ορισμένων βαρέων μετάλλων από το έδαφος, αλλά και ως βιοδείκτης παρέχει ενδείξεις ρύπανσης από εδαφικούς αλλά και αέριους ρυπαντές (Freitas, 1995; Harres, 1998; Shallari *et al.*, 1998; Ater *et al.*, 2000; Swaileh *et al.*, 2001; Melendo *et al.*, 2002; Swaileh *et al.*, 2004; Nogales and Benítez, 2006; Murciego Murciego *et al.*, 2007; Fernández *et al.*, 2008; Gisbert *et al.*, 2008; Pérez-Sirvent *et al.*, 2008). Επιπλέον, το φυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πειραματικό υλικό για τη διερεύνηση των μηχανισμών που ενεργοποιούνται στα φυτικά κύτταρα προκειμένου να ανταπεξέλθουν σε υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων (Hunaiti *et al.*, 2007).

Το φυτό *D. viscosa* παρουσιάζει επίσης ενδιαφέρον διότι μπορεί να εξαπλωθεί και σε αμμώδεις παράκτιες περιοχές (Campos *et al.*, 2004). Πειράματα έδειξαν ότι εμφανίζει ανθεκτικότητα σε επίπεδα αλατότητας παρόμοια με αυτά του θαλασσινού νερού, μέσω συσσώρευσης του Na στα κατώτερα φύλλα και αποκλεισμού του από τους φωτοσυνθετικά ενεργούς νεαρούς ιστούς (Curadi *et al.*, 2005). Αξίζει να σημειώσουμε ότι το φυτό καταφέρνει να επιβιώνει, έστω και με μειωμένη ανάπτυξη, υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Karageorgou *et al.*, 2002).

Η ταχεία γεωγραφική εξάπλωση του φυτού, ενδεχομένως επιτυγχάνεται και μέσω της δημιουργίας διαφορετικών οικότυπων. Προκαταρκτικές μελέτες έδειξαν την απουσία μορφολογικά διαφοροποιούμενων οικότυπων, κατέστησαν ωστόσο πιθανή την ύπαρξη οικότυπων διαφοροποιούμενων ως προς τους μηχανισμούς πρόσληψης ανοργάνων στοιχείων (Wacquant and Bouab, 1983; Wacquant and Bouab, 1985; Wacquant, 1990). Πειράματα

έδειξαν ότι οι διαφοροποιήσεις φυτών *D. viscosa* ως προς την διαχείριση του καλίου και του ασβεστίου, μπορεί να έχουν προσαρμοστικό χαρακτήρα και να έχουν προέλθει εξελικτικά, με αποτέλεσμα την δημιουργία οικότυπων που συσσωρεύουν ή όχι ασβέστιο σε ασβεστούχα ή πυριτικά εδάφη, αντίστοιχα (Wacquant and Picard, 1992). Τέλος, σε *in vitro* καλλιέργεια τα φυτά διατηρούν τις διαφοροποιήσεις τους ως προς τους μηχανισμούς πρόσληψης και κατανομής των στοιχείων (Boonpe *et al.*, 1992).

Όπως αναφέρθηκε ανωτέρω, το φυτό εξαπλώνεται σε παραμεσόγειες χώρες (Καββάδας, 1956). Δεδομένου ότι οι φυσικές πυρκαγιές συμμετέχουν στη διαμόρφωση του μεσογειακού οικοσυστήματος, πραγματοποιήθηκαν πειράματα με σπέρματα του φυτού προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση προϊόντων καύσης στη βλάστησή τους. Η μελέτη έδειξε ότι ο καπνός, τα διαλύματα NH_4Cl καθώς και τα διαλύματα KNO_3 , έχουν την ικανότητα να προάγουν την βλάστηση των σπερμάτων του φυτού (Pérez-Fernández and Rodríguez-Echeverría, 2003). Επίσης, η ταχεία βλάστηση των σπερμάτων του φυτού σε ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών συνθηκών συμβάλλει καθοριστικά στην εξάπλωσή του (Pérez-Fernández *et al.*, 2003; Pérez-Fernández *et al.*, 2006). Τέλος αξίζει να σημειώσουμε ότι η ανάπτυξη του φυτού επηρεάζεται από την παρουσία συνυπαρχόντων φυτικών ειδών (Bonanomi and Mazzoleni, 2005; Bonanomi *et al.*, 2005).

Στο φυτό απαντώνται διάφορες τάξεις εντόμων καθώς και ακάρεα και αράχνες (Ward and Lubin, 1992). Τα άνθη του είναι επισκέψιμα για το νέκταρ τους, τόσο από μέλισσες (Baydar and Cürel, 1998; La-Serna Ramos and Gómez Ferreras, 2006) όσο και από λεπιδόπτερα (Whitehead, 1998; Trematerra and Baldizzone, 2004). Τα τελευταία απαντώνται στο φυτό και στο στάδιο της λάρβας (Trematerra and Baldizzone, 2004). Όμως ιδιαίτερου γεωπονικού ενδιαφέροντος είναι το γεγονός ότι στο φυτό απαντώνται αρπακτικά ακάρεα (Tixier *et al.*, 1998; Tixier *et al.*, 2000; Tixier *et al.*, 2006) καθώς και αρπακτικά έντομα (Lykouressis *et al.*, 2000). Για ορισμένα από αυτά το φυτό αποτελεί τον κύριο ξενιστή στην περιοχή της Μεσογείου συμβάλλοντας στην διατήρηση των πληθυσμών

τους, όπως π.χ. συμβαίνει στην περίπτωση του αρπακτικού εντόμου *Macrolophus melanotoma* (Josifov, 1992; Perdikis *et al.*, 2007) και του αρπακτικού ακάρεος *Typhloseiella isotricha* (Tixier *et al.*, 2000). Αξίζει να επισημάνουμε ότι μελέτη βασισμένη σε αναλύσεις μιτοχονδριακού DNA, έδειξε ότι το φυτό αποτελεί οικολογικό θώκο για ένα διακριτό διμορφικό taxon του *M. melanotoma* (Perdikis *et al.*, 2003). Επίσης, στο φυτό απαντώνται διάφορα είδη αφίδων μεταξύ των οποίων και η *Capitophorus inulae*, η οποία επίσης φαίνεται να έχει ιδιαίτερη προτίμηση σε αυτό (Hille Ris Lambers, 1953; Kavallieratos *et al.*, 2001; Kavallieratos *et al.*, 2004; Kavallieratos *et al.*, 2006). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον από πλευράς φυτοπροστασίας, παρουσιάζει το γεγονός ότι φυτά *D. viscosa* μολυσμένα από την εν λόγω αφίδα αποτελούσαν ξενιστή και για το παράσιτό της, ήτοι το *Aphidius matricariae* (Kavallieratos *et al.*, 2003). Τέλος στο φυτό απαντάται το *Ceraninus menes* το οποίο αποτελεί παράσιτο των θριπών (Loomans, 2006).

Όσον αφορά στους μύκητες, το φυτό στην Ελλάδα έχει καταγραφεί ως ξενιστής των μυκήτων *Coleosporium tussilaginis*, *Phoma inulae-viscosae*, *Pleospora herbarum* και *Sirococcus inulae* (Παντίδου, 1973). Επίσης, η *D. viscosa* ανήκει στα φυτά τα οποία μπορούν να αναπτύξουν μυκόριζες (Roldan-Fajardo, 1994; Oliveira *et al.*, 2005; Wang and Qiu, 2006). Τέλος, το φυτό αποτελεί ξενιστή και για τον ιό TYLCV (Tomato Yellow Leaf Curl Virus) (Jordá *et al.*, 2001).

III.3. Ανατομία και εκκριτική λειτουργία του τριχώματος

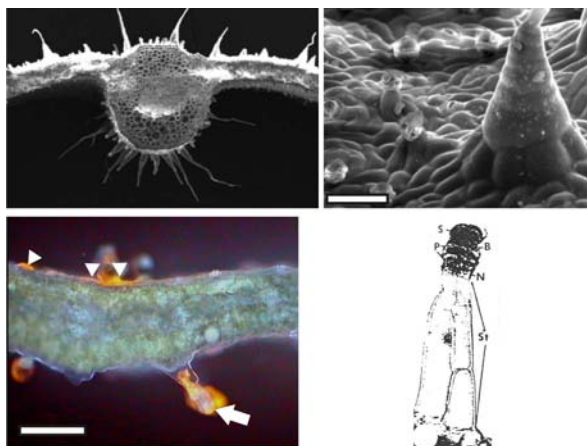
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η *D. viscosa* χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη τριχώματος. Συγκεκριμένα ανήκει σε εκείνα τα φυτικά είδη, στα φυτικά όργανα των οποίων συνυπάρχουν αδενώδεις και μη αδενώδεις τρίχες. Η διάκριση μεταξύ αδενωδών και μη αδενωδών τριχών είναι εφικτή μετά από την πρώτη αντικλινή διαίρεση σε οποιοδήποτε από τα κύτταρα πάνω από το κύτταρο της βάσης. Ο τελικός αριθμός τριχών καθορίζεται σε πολύ νεαρό στάδιο της ανάπτυξης του φύλλου (Werker and Fahn, 1981; Werker, 2000). Ενδεχομένως για το λόγο αυτό, η πυκνότητα των αδενωδών

τριχών στα φύλλα του φυτού δεν επηρεάζεται υπό συνθήκες καταπόνησης, όπως σκίαση, υδατική καταπόνηση, έλλειψη (τροφοπενία βορίου) ή επιπλέον παροχή θρεπτικών στοιχείων (αζώτου, φωσφόρου και καλίου) (Karageorgou *et al.*, 2002; Stavrianakou *et al.*, 2006).

Οι μη αδενώδεις τρίχες εντοπίζονται στην επιφάνεια των φύλλων και των νεαρών βλαστών του φυτού και παρέχουν μηχανική προστασία. Αποκτούν την τελική τους μορφή κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης των φύλλων, όταν το φύλλο έχει μήκος περίπου 2 mm. Στο στάδιο αυτό αποκτούν κλίση προς την κορυφή του νεαρού φύλλου και το καλύπτουν. Στη συνέχεια και καθώς το φύλλο αναπτύσσεται διατάσσονται σχεδόν κάθετα σε αυτό. Απαντώνται τόσο στην προσαξονική όσο και στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου και σε μεγαλύτερο αριθμό στη βάση και κατά μήκος του κεντρικού νεύρου (εικόνα 28) (Werker and Fahn, 1981; Werker, 2000; Nikolakaki and Christodoulakis, 2004).

Οι μη αδενώδεις τρίχες χαρακτηρίζονται από το πολύ μεγάλο μήκος τους και από το γεγονός ότι είναι πολυκύτταρες κατασκευές, αποτελούμενες από τα κύτταρα της βάσης, του μίσχου και τα επιμήκη κύτταρα του ακραίου τμήματος. Τα κύτταρα της βάσης διατάσσονται σε κύκλο, ο οποίος περιβάλλει τον κωνικό μίσχο. Τον μίσχο απαρτίζουν πέντε κύτταρα τοποθετημένα επάλληλα με τη μορφή ανορθωμένης στήλης και με μειούμενο μέγεθος προς την κορυφή του μίσχου. Στο άκρο του μίσχου εφάπτεται η διογκωμένη πλευρά ενός λεπτού και επιμήκους κυττάρου. Τρία τέτοια κύτταρα συγκροτούν το ακραίο τμήμα της τρίχας. Το τελικό κύτταρο διαθέτει μεγαλύτερο μήκος έναντι των άλλων δύο και αιχμηρή απόληξη (εικόνα 28). Τα κύτταρα του μίσχου χαρακτηρίζονται από παχύ κυτταρικό τοίχωμα και ο πρωτοπλάστης τους διατηρείται ακόμα και κατά την πλήρη ωριμότητα του φύλλου. Αντίθετα στα επιμήκη, ακραία κύτταρα της τρίχας ο πρωτοπλάστης νεκρώνεται πρόωρα κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης του φύλλου. Το κορυφαίο κύτταρο της τρίχας είναι το πρώτο το οποίο επιμηκύνεται κατά την ανάπτυξή της, και το πρώτο που νεκρώνεται (Werker and Fahn, 1981; Werker, 2000; Nikolakaki and Christodoulakis, 2004).

Τα φύλλα και οι νεαροί βλαστοί του φυτού



Εικόνα 28. Επάνω: Μικρογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης από φύλλα του φυτού *D. viscosa* (Nicolakaki and Christodoulakis, 2004). **Επάνω αριστερά:** Εγκάρσια τομή φύλλου όπου διακρίνονται οι μη αδενώδεις τρίχες, κυρίως επί του κεντρικού νεύρου. **Επάνω δεξιά:** Διακρίνεται τμήμα μη αδενώδους τρίχας σε φύλλο, όπου είναι εμφανής η διάταξη των κυττάρων της βάσης σε κύκλο, ο οποίος περιβάλλει τα κύτταρα του κωνικού μίσχου. **Κάτω αριστερά:** Φωτογραφία από μικροσκόπιο φθορισμού σε εγκάρσια τομή φύλλου του φυτού *D. viscosa* (Stavrianakou *et al.*, 2006). Διακρίνονται αδενώδεις τρίχες και στις δύο πλευρές του ελάσματος. Φαίνεται καθαρά ο λαμπρός πορτοκαλί φθορισμός του εκκρίματος (κεφαλή βέλους), ένδειξη ύπαρξης φλαβονοειδών που εκκρίνονται από την κεφαλή των τριχών (βέλος). **Κάτω δεξιά:** Έμμιση αδενώδους τρίχα (Werker and Fahn, 1981). Διακρίνονται: ένα ζεύγος κυττάρων της κορυφής (S), ένα ζεύγος κυττάρων κάτω από αυτό (B), τρία ζεύγη φωτοσυνθετικών κυττάρων (P), ένα ζεύγος κυττάρων λαιμού (N) και τα κύτταρα του μίσχου (St).

φέρουν τόσο άμισχες, όσο και έμμισches αδενώδεις τρίχες ποικίλου μήκους. Οι έμμισches αδενώδεις τρίχες διατάσσονται διάσπαρτα μεταξύ των άμισχων και απαντώνται τόσο στην προσαξονική όσο και στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου. Οι αδενώδεις τρίχες, ανεξαρτήτως τύπου, διαθέτουν ένα ζεύγος κυττάρων λαιμού και μια αδενώδη κεφαλή. Η τελευταία απαρτίζεται από τρεις τύπους κυττάρων: ένα ζεύγος κυττάρων της κορυφής, ένα ζεύγος κυττάρων κάτω από αυτό και ακολούθως, τρία ζεύγη φωτοσυνθετικών κυττάρων (εικόνα 28). Όσον αφορά στις έμμισches αδενώδεις τρίχες, τα κύτταρα της κεφαλής μεγενθύνονται πριν την ολοκλήρωση των κυτταρικών διαιρέσεων στο μίσχο. Η επιμήκυνση των κυττάρων του μίσχου ξεκινά όταν τα κύτταρα της κεφαλής έχουν αποκτήσει σχεδόν το τελικό τους μέγεθος (Werker and Fahn, 1981; Werker, 2000).

Η εκκριτική λειτουργία των αδενωδών τριχών ξεκινά όταν το φύλλο έχει μήκος περίπου 2 mm και συνεχίζεται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του. Δεν είναι γνωστό εάν οι άμισχες και έμμισches

τρίχες εκκρίνουν τις ίδιες ή διαφορετικές ουσίες. Στην τελευταία περίπτωση οι ουσίες μπορεί να έχουν και διαφορετική λειτουργία. Και στους δύο τύπους τριχών, όλα τα κύτταρα της κεφαλής εκκρίνουν μία ποικιλία λιπόφιλων ενώσεων (λιπίδια, μεταξύ των άλλων), πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες (Werker and Fahn, 1981; Werker, 2000).

Όσον αφορά στα κύτταρα της κορυφής, τα λιπίδια εκκρίνονται μέσω πόρων που υπάρχουν στην εφυμενίδα, ενώ οι πολυσακχαρίτες συσσωρεύονται κάτω από την εφυμενίδα, η οποία αργότερα διαρρηγνύεται. Κατά συνέπεια το επιπλέον υλικό το οποίο παράγεται στη συνέχεια από τα εκκριτικά κύτταρα εκκρίνεται απευθείας στο εξωτερικό περιβάλλον. Όσον αφορά στα υπόλοιπα κύτταρα της αδενώδους κεφαλής, η έκκριση πραγματοποιείται από ειδικές θέσεις, χωρίς όμως να είναι γνωστό αν γίνεται μέσω πόρων ή σχισμών της εφυμενίδας (Werker and Fahn, 1981). Οι τρεις κατηγορίες κυττάρων της αδενώδους κεφαλής δεν διαφέρουν μόνο στον τρόπο έκκρισης αλλά και στον τύπο των πλαστιδίων που εμπλέκονται στις εκκριτικές διεργασίες καθώς και στην αλληλουχία, στο ρυθμό και στον τύπο των αλλαγών σε υποκυτταρικό επίπεδο κατά τα στάδια της εκκριτικής λειτουργίας. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι τα εκκρινόμενα συστατικά, παρότι εμφανίζονται ως ένα ομοιογενές ρητινώδες υλικό, ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες ενώσεων. Σε αυτό συνηγορεί και η εμπλοκή όλων των τύπων των κυτοπλασματικών οργανιδίων στην παραγωγή των υλικών έκκρισης. Συγκεκριμένα, σε υποκυτταρικό επίπεδο, φαίνεται ότι στην εκκριτική λειτουργία συμμετέχουν το λείο και το αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, τα πλαστίδια, τα μιτοχόνδρια και η συσκευή Golgi (Werker and Fahn, 1981). Εξάλλου, η εφαρμογή εξειδικευμένων ιστοχημικών μεθόδων οδηγεί στο συμπέρασμα ότι μεταξύ των εκκρινόμενων λιπόφιλων συστατικών συμπεριλαμβάνονται ενώσεις της τάξεως των φαινολικών και των τερπενίων (Werker and Fahn, 1981; Fahn, 2000; Werker, 2000; Nicolakaki and Christodoulakis, 2004).

Η έκκριση του λιπόφιλου μίγματος είναι υπεύθυνη για την χαρακτηριστική κολλώδη και ιξώδη υφή των επιφανειών του βλαστού και των

φύλλων του φυτού (εικόνα 28) (Καββάδας, 1956; Grierson, 1975). Το έκκριμα αυτό, όπως και σε παρόμοιες περιπτώσεις άλλων φυτών, αναφέρεται και ως μίγμα επιεφυμενιδικών συστατικών επειδή είναι ενσωματωμένο, σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό, στην κηρώδη επίστρωση της επιεφυμενίδας (Wollenweber and Dietz, 1981). Με βάση τη σχετική συγκέντρωση των ενώσεων που απορροφούν στην UV-B περιοχή του φάσματος, υπολογίστηκε ότι το επιεφυμενιδικό έκκριμα της *D. viscosa* είναι υδατοδιαλυτό σε ποσοστό περίπου 75%, (Stephanou and Manetas, 1995; Stephanou and Manetas, 1997b) και παρουσιάζει εποχικές διακυμάνσεις (Stephanou and Manetas, 1997a). Η συγκέντρωση των ενώσεων αυτών (φλαβονοειδή και/ή άλλα φαινολικά) στην επιφάνεια των φύλλων παρουσιάζεται υψηλότερη κατά το θέρος και χαμηλότερη κατά την υγρή περίοδο του έτους, ενδεχομένως λόγω της έκπλυσής τους μέσω των σταγόνων της βροχής (Stephanou and Manetas, 1997a; Stephanou and Manetas, 1997b). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η σχετική συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών του εκκρίματος επηρεάστηκε σημαντικά μόνο υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης και όχι υπό συνθήκες σκίασης, επιπλέον παροχής κάποιων θρεπτικών στοιχείων (αζώτου, φωσφόρου και καλίου) ή έλλειψης κάποιου άλλου (τροφοπενία βορίου) (Karageorgou *et al.*, 2002; Stavrianakou *et al.*, 2006). Στην τελευταία περίπτωση και όσον αφορά στα φαινολικά συστατικά του εκκρίματος, δεν παρατηρήθηκαν ούτε ποσοτικές, αλλά ούτε και ποιοτικές αλλαγές (Stavrianakou *et al.*, 2006).

III.4. Χημική σύσταση

III.4.1. Εκχυλίσματα-εκπλύματα

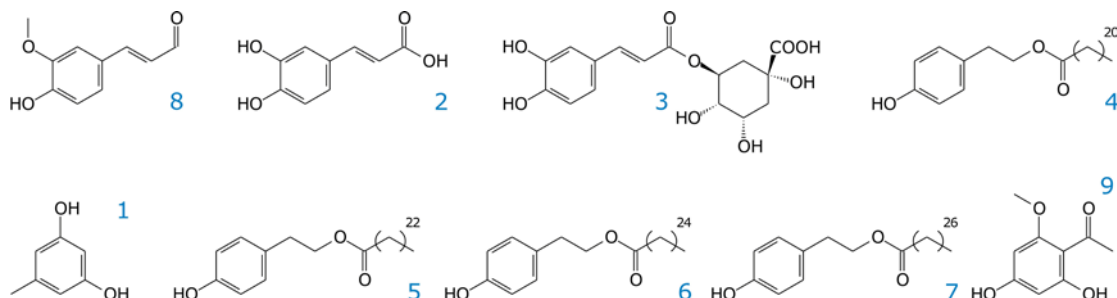
Λόγω των φαρμακολογικών δράσεων των

διαφόρων παρασκευασμάτων του φυτού, τα εκχυλίσματα του έχουν αποτελέσει το αντικείμενο μελέτης πληθώρας εργασιών, οι οποίες έχουν οδηγήσει στην απομόνωση και ταυτοποίηση εκατόν δεκαέξι ενώσεων. Παρακάτω γίνεται ανασκόπηση των ενώσεων αυτών.

III.4.1.1. Φαινολικές ενώσεις

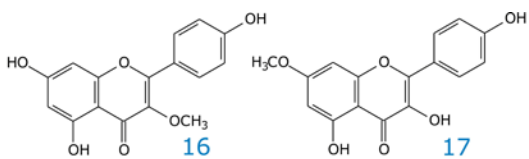
Το φυτό *D. viscosa* χαρακτηρίζεται εκτός των άλλων δευτερογενών μεταβολιτών από την παρουσία φαινολικών ενώσεων (πίνακας 2). Παρόλο που τα φλαβονοειδή αποτελούν την κυρίαρχη αριθμητικά υποομάδα φαινολικών ενώσεων, απαντώνται και μέλη άλλων κατηγοριών φαινολικών. Συγκεκριμένα έχουν ταυτοποιηθεί η απλή φαινόλη ορκινόλη (1), δύο φαινολικά οξέα, ήτοι το καφεϊκό οξύ (2) και το χλωρογενικό οξύ (3), τέσσερα φαινυλαιθανοειδή, ήτοι οι εστέρες της 2-(4'-υδροξυφαινυλο)-αιθανόλης με το μπεχενικό (4), λιγνοκερικό (5), κερκοτικό (6) και μοντανικό οξύ (7), μία φαινολική αλδεΐδη, η φερουλική αλδεΐδη (8), καθώς και ένα παράγωγο της ακετοφαινόλης, η 2,4-διυδροξυ-6-μεθοξυακετοφαινόλη (9).

Μεταξύ των κατηγοριών των φλαβονοειδών που έχουν ανιχνευτεί, οι άγλυκες φλαβονόλες συνιστούν την πολυπληθέστερη ομάδα με δεκατέσσερις εκπροσώπους. Συγκεκριμένα έχουν ταυτοποιηθεί τέσσερα παράγωγα της καιμπερόλης, ήτοι ο 3-μεθυλαιθέρας της καιμπερόλης (16), ο 7-μεθυλαιθέρας της καιμπερόλης (17), ο 4'-μεθυλαιθέρας της καιμπερόλης (18) και η 6-μεθοξυκαιμπερόλη (19), καθώς και η κερκετίνη (20) και πέντε παράγωγά της, ήτοι ο 3-μεθυλαιθέρας της κερκετίνης (21), ο 7-μεθυλαιθέρας της κερκετίνης (22), ο 3'-μεθυλαιθέρας της κερκετίνης (23), ο 3,3'-διμεθυλαιθέρας της κερκετίνης (24) και ο 3,7,4'-τριμεθυλαιθέρας της κερκετίνης (25), ενώ τέλος έχουν ανιχνευτεί και τέσσερα παράγωγα της κερκετατζετίνης, ήτοι ο

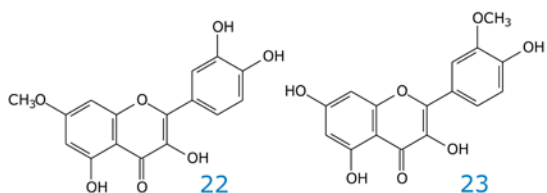
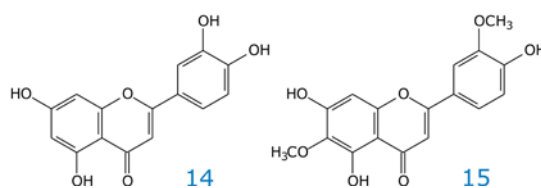
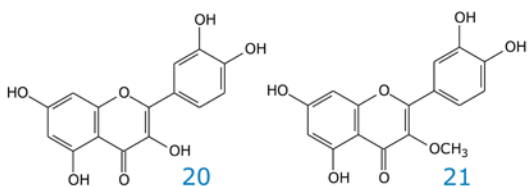
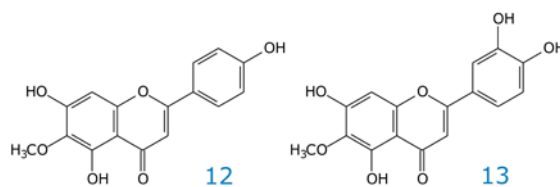
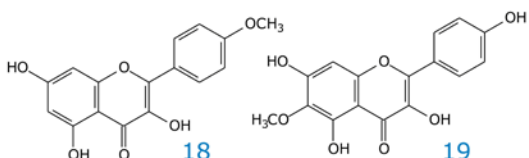
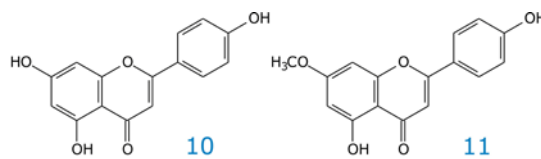


-Εισαγωγή-

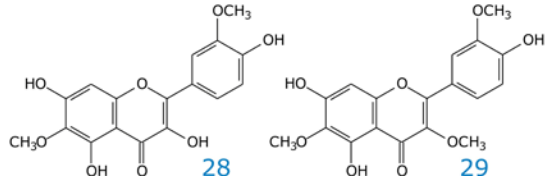
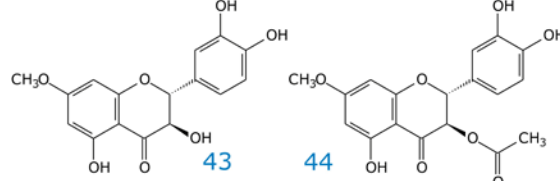
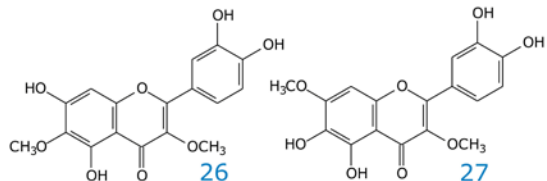
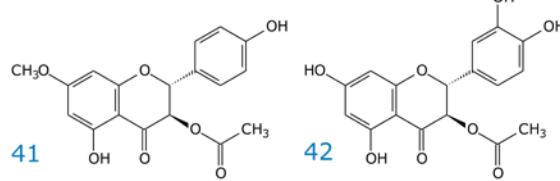
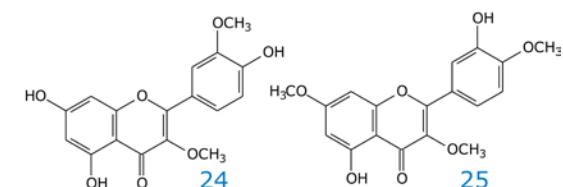
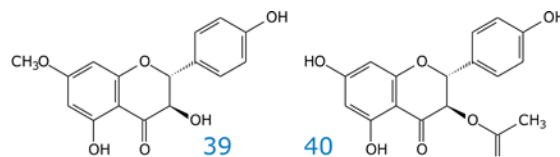
3,6-διμεθυλαιθέρας της κερκετατζετίνης (26), ο 3,7-διμεθυλαιθέρας της κερκετατζετίνης (27), ο 6,3'-διμεθυλαιθέρας της κερκετατζετίνης (28) και ο 3,6,3'-τριμεθυλαιθέρας της κερκετατζετίνης (29).



λουτεολίνη (13) και δύο παράγωγά της, ήτοι η 6-μεθοξυλουτεολίνη (14) και ο 6,3'-διμεθυλαιθέρας της 6-υδροξυλουτεολίνης (15).



Όσον αφορά στις διυδροφλαβονόλες απαντώνται τρία παράγωγα της αρωμαδενδρίνης, ήτοι ο 7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης (39), η 3-ακετυλο-αρωμαδενδρίνη (40) και ο 3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης (41), καθώς επίσης και τρία παράγωγα της ταξιφολίνης, ήτοι η 3-ακετυλο-ταξιφολίνη (42), ο 7-μεθυλαιθέρας της ταξιφολίνης (43) και ο 3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρας της ταξιφολίνης (44).



Οι φλαβόνες και οι διυδροφλαβονόλες εκπροσωπούνται με έξι μέλη η κάθε μία. Συγκεκριμένα όσον αφορά στις φλαβόνες απαντώνται η απιγενίνη (10) και δύο παράγωγά της, ήτοι ο 7-μεθυλαιθέρας της απιγενίνης (11) και η 6-μεθοξυαπιγενίνη (12), καθώς επίσης και η

Οι φλαβανόνες εκπροσωπούνται στο φυτό με πέντε μέλη. Συγκεκριμένα απαντώνται η ναρινγκενίνη (34) και ο 7-μεθυλαιθέρας της ναρινγκενίνης (35), η εριοδικτιόλη (36) και ο 7-

Πίνακας 2. Φαινολικά συστατικά τα οποία έχουν απομονωθεί από το φυτό. Σε παρένθεση αναφέρεται ο αριθμός του χημικού τύπου. Οι αριθμοί των αναφορών αντιστοιχούν στην ενότητα 'Βιβλιογραφία'.

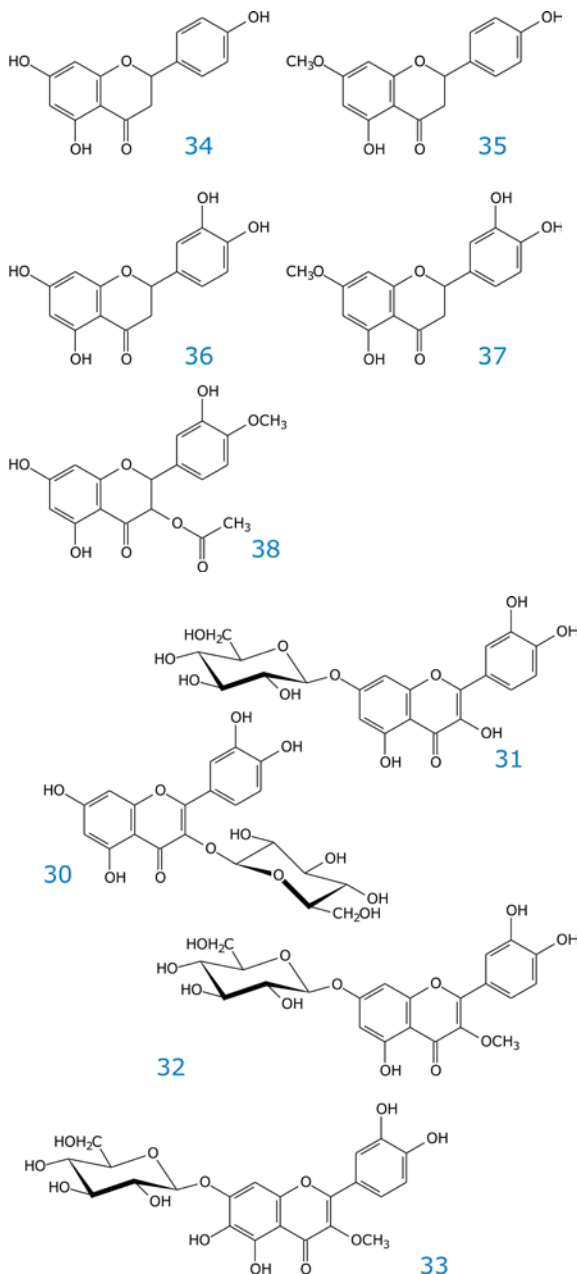
κατηγορία ένωσης / ένωση	αναφορές
φαινόλες, φαινολικά οξέα και παράγωγα φαινολικών	
ορκινόλη (1)	26
καφεϊκό οξύ (2)	26
χλωρογενικό οξύ (3)	26
μπεχενικός εστέρας της 2-(4'-υδροξυφαινυλο)-αιθανόλης (4)	315
λιγνοκερικός εστέρας της 2-(4'-υδροξυφαινυλο)-αιθανόλης (5)	315
κεροτικός εστέρας της 2-(4'-υδροξυφαινυλο)-αιθανόλης (6)	315
μοντανικός εστέρας της 2-(4'-υδροξυφαινυλο)-αιθανόλης (7)	315
φερουλική αλδεΐδη (φερουλαλδεΐδη) (8)	314, 313
2-μεθυλαιθέρας της φλοροακετοφαινόνης (2,4-διυδροξυ-6-μεθοξακετοφαινόνη) (9)	314, 313
φλαβονοειδή	
φλαβόνες	
5,7,4'-τριυδροξυφλαβόνη (απιγενίνη) (10)	314, 936
5,4'-διυδροξυ-7-μεθοξυφλαβόνη (γκενκβανίνη) (11)	314
5,7,4'-τριυδροξυ-6-μεθοξυφλαβόνη (ισπιντουλίνη) (12)	314, 936, 91, 7, 3
5,7,3',4'-τετραυδροξυφλαβόνη (λουτεολίνη) (13)	936, 91
5,7,3',4'-τετραυδροξυ-6-μεθοξυφλαβόνη (νεπετίνη) (14)	936, 91, 7
5,7,4'-τριυδροξυ-6,3'-διμεθοξυφλαβόνη (τζασεοσινίνη) (15)	91
φλαβονόλες	
5,7,4'-τριυδροξυ-3-μεθοξυφλαβόνη (ισοκαμπφερίδιο) (16)	314, 936
3,5,4'-τριυδροξυ-7-μεθοξυφλαβόνη (ραμνοσιτρίνη) (17)	314, 936, 91, 545
3,5,7-τριυδροξυ-4'-μεθοξυφλαβόνη (καιμπφερίδιο) (18)	818
3,5,7,4'-τετραυδροξυ-6-μεθοξυφλαβόνη (6-μεθοξυκαιμπφερόλη) (19)	936
3,5,7,3',4'-πενταυδροξυφλαβόνη (κερκετίνη) (20)	314, 630, 936, 91, 818, 25
5,7,3',4'-τετραυδροξυ-3-μεθοξυφλαβόνη (3-μεθυλαιθέρας της κερκετίνης) (21)	314, 630, 936, 91, 818, 7, 25
3,5,3',4'-τετραυδροξυ-7-μεθοξυφλαβόνη (ραμνετίνη) (22)	936
3,5,7,4'-τετραυδροξυ-3'-μεθοξυφλαβόνη (ισοραμνετίνη) (23)	936, 91
5,7,4'-τριυδροξυ-3,3'-διμεθοξυφλαβόνη (3,3'-διμεθυλαιθέρας της κερκετίνης) (24)	314, 936, 91, 175, 118, 7
5,3'-διυδροξυ-3,7,4'-τριμεθοξυφλαβόνη (αγιανίνη) (25)	7
5,7,3',4'-τετραυδροξυ-3,6-διμεθοξυφλαβόνη (αξιλαρίνη) (26)	936, 91
5,6,3',4'-τετραυδροξυ-3,7-διμεθοξυφλαβόνη (τομεντίνη) (27)	91
3,5,7,4'-τετραυδροξυ-6,3'-διμεθοξυφλαβόνη (σπινασετίνη) (28)	936
5,7,4'-τριυδροξυ-3,6,3'-τριμεθοξυφλαβόνη (τζασεϊνίνη) (29)	91
γλυκοζίτες φλαβονολών	
3-Ο-γλυκοζίτης της 5,7,3',4'-τετραυδροξυφλαβόνης (ισοκερσιτρίνη) (30)	91
7-Ο-γλυκοζίτης της 3,5,3',4'-τετραυδροξυφλαβόνης (κερσιμεριτρίνη) (31)	91
7-Ο-γλυκοζίτης του 3-Ο-μεθυλαιθέρα της 5,3',4'-τριυδροξυφλαβόνης (7-Ο-γλυκοζίτης του 3-Ο-μεθυλαιθέρα της κερκετίνης) (32)	630, 91
7-Ο-γλυκοζίτης της 5,6,3',4'-τετραυδροξυ-3-μεθοξυφλαβόνης (7-Ο-γλυκοζίτης του 3-Ο-μεθυλαιθέρα της κερκετατζετίνης) (33)	91
φλαβανόνες	
5,7,4'-τριυδροξυφλαβανόνη (ναρινγκενίνη) (34)	314, 25
5,4'-διυδροξυ-7-μεθοξυφλαβανόνη (σακουρανετίνη) (35)	314, 936, 853, 733, 370
5,7,3',4'-τετραυδροξυφλαβανόνη (εριοδικτιόλη) (36)	936
5,3',4'-τριυδροξυ-7-μεθοξυφλαβανόνη (στερνμπίνη) (37)	936
5,7,3'-τριυδροξυ-4'-μεθοξυ-3-ακετοξυφλαβανόνη (3-ακετοξυεσπεριτίνη) (38)	118
διυδροφλαβονόλες	
3,5,4'-τριυδροξυ-7-μεθοξυφλαβανόνη (7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης) (39)	314, 936, 175, 853, 545, 733, 25, 370
3-ακετυλο-3,5,7,4'-τετραυδροξυφλαβανόνη (3-ακετυλο-αρωμαδενδρίνη) (40)	314, 936
3-ακετυλο-3,5,4'-τριυδροξυ-7-μεθοξυφλαβανόνη (3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης) (41)	314, 370
3-ακετυλο-3,5,7,3',4'-πενταυδροξυφλαβανόνη (3-ακετυλο-ταξιφολίνη) (42)	314, 936, 853
3,5,3',4'-τετραυδροξυ-7-μεθοξυφλαβανόνη (παντματίνη, 7-μεθυλαιθέρας της ταξιφολίνης) (43)	314, 936
3-ακετυλο-3,5,3',4'-τετραυδροξυ-7-μεθοξυφλαβανόνη (3-ακετυλο-παντματίνη, 3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρας της ταξιφολίνης) (44)	314, 936, 853, 7, 545

μεθυλαιθέρας της εριοδικτιόλης (37) καθώς και η 3-ακετοξυεσπεριτίνη (38).

Τέλος είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι από τα τριανταπέντε συνολικά φλαβονοειδή τα οποία

έχουν ανιχνευτεί στο φυτό, μόνο τέσσερα αποτελούν γλυκοζυλιωμένα παράγωγα. Επιπλέον, αυτά περιορίζονται σε γλυκοζίτες φλαβονολών και συγκεκριμένα σε τρία γλυκοζυλιωμένα παράγωγα

της κερκετίνης, ήτοι τον 3-*O*-γλυκοζίτη της κερκετίνης (30), τον 7-*O*-γλυκοζίτη της κερκετίνης (31) και τον 7-*O*-γλυκοζίτη του 3-μεθυλαιθέρα της κερκετίνης (32), καθώς και σε ένα γλυκοζυλιωμένο παράγωγο της κερκετατζετίνης, ήτοι τον 7-*O*-γλυκοζίτη του 3-μεθυλαιθέρα της κερκετατζετίνης (33).



III.4.1.2. Τερπένια

Από τις κατηγορίες των δευτερογενών μεταβολιτών που έχουν απομονωθεί από το φυτό, η ομάδα των τερπενίων αριθμεί τα περισσότερα μέλη.

Όσον αφορά στα μονοτερπένια (πίνακας 3) έχουν ταυτοποιηθεί ένα άκυκλο (αλειφατικό) και

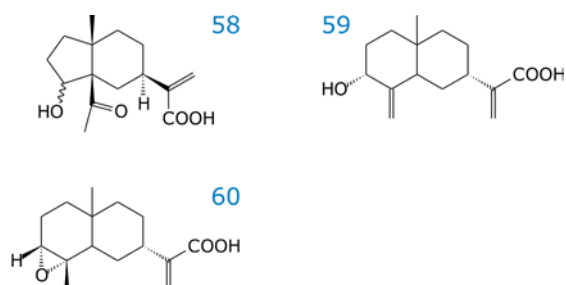
τρία μονοκυκλικά. Συγκεκριμένα πρόκειται για έναν εστέρα της νερόλης, ήτοι το νευρολο-ισοβαλερικό οξύ (47) και τρία παράγωγα της θυμόλης, ήτοι το 3-μεθοξυ-4-ισοπροπουλοβενζυλο-ισοβαλερικό οξύ (45), το 3-μεθοξυ-4-ισοπροπουλοβενζυλο-ισοβουτυρικό οξύ (46) και την ένωση (48).

Πίνακας 3. Μονοτερπένια τα οποία έχουν απομονωθεί από το φυτό. Σε παρένθεση αναφέρεται ο αριθμός του χημικού τύπου. Οι αριθμοί των αναφορών αντιστοιχούν στην ενότητα 'Βιβλιογραφία'.

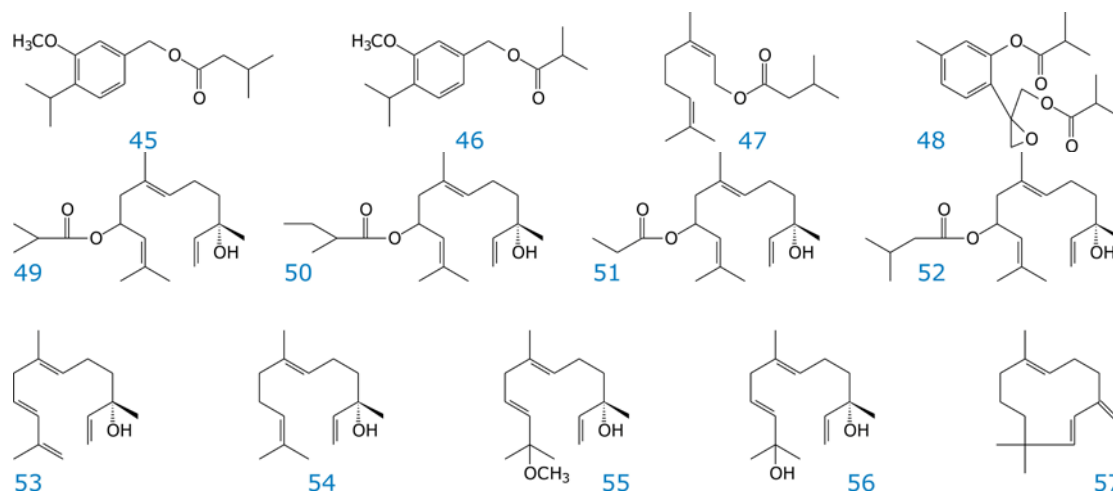
ένωση	αναφορές
3-μεθοξυ-4-ισοπροπουλοβενζυλο-ισοβαλερικό οξύ (45)	774, 118
3-μεθοξυ-4-ισοπροπουλοβενζυλο-ισοβουτυρικό οξύ (46)	774, 118, 313
νευρολο-ισοβαλερικό οξύ (47)	774, 118
[5-μεθυλο-2-[2-(2-μεθυλοπροπανοϋλοξυμεθυλο)οξυραν-2-υλο]φαινυλο] 2-μεθυλοπροπανοϊκό οξύ (48)	117

Όσον αφορά στα αλειφατικά σесκιτερπένια (πίνακας 4) έχουν ταυτοποιηθεί οκτώ παράγωγα του φαρνεζάνιου. Συγκεκριμένα απαντώνται η σесκιτερπενική αλκοόλη νερολιδόλη (54) και τέσσερα παράγωγά της, ήτοι οι εστέρες της 9-υδροξυνερολιδόλης με το ισοβουτυρικό (49), μεθυλοβουτυρικό (50), προπιονικό (51) και ισοβαλερικό οξύ (52), καθώς επίσης και οι σесκιτερπενικές αλκοόλες φοκιενόλη (53), 11-μεθοξυ-3,7,11-τριμεθυλοδωδεκα-1,6,9-τριεν-3-όλη (55) και 3,7,11-τριμεθυλοδωδεκα-1,6,9-τριεν-3,11-διόλη (56).

Όσον αφορά στα απομονωθέντα από εκχυλίσματα του φυτού, κυκλικά σесκιτερπένια, το μοναδικό μονοκυκλικό είναι η ένωση γ-χουμουλένιο (57) (πίνακας 4). Τα σесκιτερπενικά οξέα (πίνακας 5) τα οποία απαντώνται στο φυτό είναι του τύπου των ευδεσμανίων, με μοναδική εξαίρεση το κυπερανικό οξύ (58). Αξίζει να επισημάνουμε ότι το κυπερανικό οξύ αποτελεί ένα σπάνιο παράδειγμα φυσικού προϊόντος με σκελετό κυπεράνιου. Η συνύπαρξή του στο φυτό



-Εισαγωγή-



Πίνακας 4. Αλειφατικά και μονοκυκλικά σεσκιτερπένια τα οποία έχουν απομονωθεί από το φυτό. Σε παρένθεση αναφέρεται ο αριθμός του χημικού τύπου. Οι αριθμοί των αναφορών αντιστοιχούν στην ενότητα 'Βιβλιογραφία'.

ένωση	αναφορές
3-υδροξυ-3,7,11-τριμεθυλοδωδεκα-1,6E,10-τριεν-9-υλο-ισοβουτυρικό οξύ (49)	733, 313
3-υδροξυ-3,7,11-τριμεθυλοδωδεκα-1,6E,10-τριεν-9-υλο-μεθυλοβουτυρικό οξύ (50)	733, 313
3-υδροξυ-3,7,11-τριμεθυλοδωδεκα-1,6E,10-τριεν-9-υλο-προπιονικό οξύ (51)	733
3-υδροξυ-3,7,11-τριμεθυλοδωδεκα-1,6E,10-τριεν-9-υλο-ισοβαλερικό οξύ (52)	313
φοκιενόλη (53)	313
νερολιδόλη (54)	313
11-μεθοξυ-3,7,11-τριμεθυλοδωδεκα-1,6,9-τριεν-3-όλη (55)	313
3,7,11-τριμεθυλοδωδεκα-1,6,9-τριεν-3,11-διόλη (56)	313
γ-χουμουλένιο (57)	117

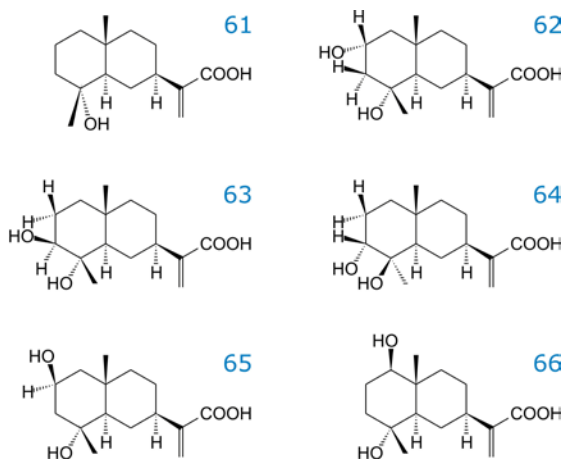
Πίνακας 5. Σεσκιτερπενικά οξέα τα οποία έχουν απομονωθεί από το φυτό. Σε παρένθεση αναφέρεται ο αριθμός του χημικού τύπου. Οι αριθμοί των αναφορών αντιστοιχούν στην ενότητα 'Βιβλιογραφία'.

ένωση	αναφορές
κυπερανικό οξύ (58)	170, 719
βισκικό οξύ (59)	853, 7
βισκοζικό οξύ (60)	853
ιλικικό οξύ (61)	853, 7, 545, 733, 72, 171, 313, 368, 209
2α-υδροξυ-ιλικικό οξύ (62)	7
3β-υδροξυ-ιλικικό οξύ (63)	7
3α-υδροξυ-επι-ιλικικό οξύ (64)	7
2β-υδροξυ-ιλικικό οξύ (65)	8
1β-υδροξυ-ιλικικό οξύ (66)	8
κοστικό οξύ (67)	853, 626
3α-υδροξυκοστικό οξύ (68)	171
2,3-δεϋδροκοστικό οξύ (69)	733, 72, 313, 369
ισοκοστικό οξύ (70)	853, 812, 118, 62, 171, 719, 773, 164, 626, 280
2α-υδροξυ-ισοκοστικό οξύ (71)	171, 719, 209
2α-μεθοξυ-ισοκοστικό οξύ (72)	733
2-οξοισοκοστικό οξύ (73)	7, 719
9β-υδροξυ-2-οξοισοκοστικό οξύ (74)	7
2,5-περοξυ-ισοκοστικό οξύ (75)	313
4β-υδροξυ-2,3-δεϋδροκοστικό οξύ (76)	733
2α-ισοβουτυλοξυ-3,4-δεϋδρο-4,15-διυδροκοστικό οξύ (77)	719
2,5-διυδροξυ-ισοκοστικό οξύ (78)	280
2,3-διυδροξυ-κοστικό οξύ (79)	280

με τα ευδεσμάνια ενισχύει την υπόθεση ότι τα κυπεράνια είναι πιθανό να βιοσυντίθενται από μία πρόδρομη ένωση του τύπου των ευδεσμανίων.

Το βισκικό οξύ (59), το βισκοζικό οξύ (60) και το ιλικικό οξύ (61) συγκαταλέγονται μεταξύ των ευδεσμανίων του φυτού. Επίσης έχουν βρεθεί και πέντε παράγωγα του ιλικικού οξέος. Πρόκειται για το 2α-υδροξυ-ιλικικό οξύ (62), το 3β-υδροξυ-ιλικικό οξύ (63), το 3α-υδροξυ-επι-ιλικικό οξύ (64), το 2β-υδροξυ-ιλικικό οξύ (65) και το 1β-υδροξυ-ιλικικό οξύ (66).

Τέλος έχουν ταυτοποιηθεί και δύο ισομερή ευδεσμανικά οξέα, ήτοι το κοστικό οξύ (67) και το ισοκοστικό οξύ (70), καθώς και έντεκα παράγωγά τους. Πρόκειται για το 3α-υδροξυκοστικό οξύ (68), το 2,3-δεϋδροκοστικό οξύ (69), το 2α-υδροξυ-ισοκοστικό οξύ (71), το 2α-μεθοξυ-ισοκοστικό οξύ (72), το 2-οξοισοκοστικό οξύ (73), το 9β-υδροξυ-2-οξοισοκοστικό οξύ (74), το 2,5-περοξυ-ισοκοστικό οξύ (75), το 4β-υδροξυ-2,3-δεϋδροκοστικό οξύ (76), το 2α-ισοβουτυλοξυ-3,4-δεϋδρο-4,15-διυδροκοστικό οξύ (77), το 2,5-διυδροξυ-ισοκοστικό οξύ (78) και το 2,3-διυδροξυ-κοστικό οξύ (79).

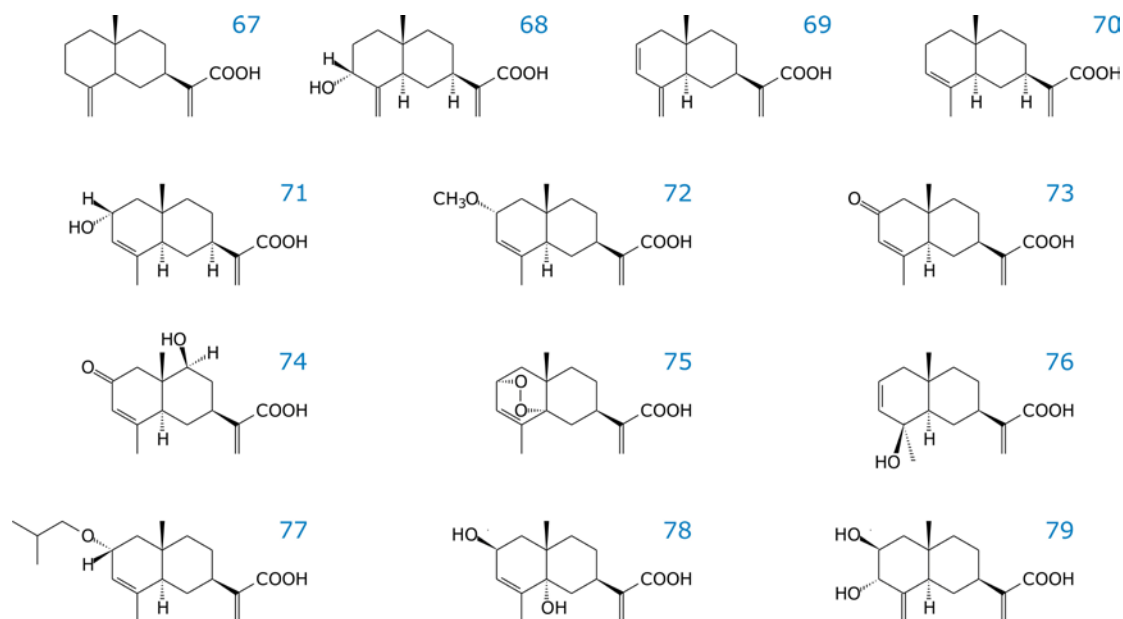


Στα εκχυλίσματα του φυτού η κατηγορία των σεσκιτερπενικών λακτονών εκπροσωπείται με δεκαεφτά μέλη (πίνακας 6), τα οποία εμφανίζουν πέντε διαφορετικούς σκελετικούς τύπους. Όσον αφορά στα γουαϊανολίδια, απαντώνται το ινουβισκολίδιο (80), ένα επιμερές του, ήτοι το 8-επι-ινουβισκολίδιο (81) και ένα παράγωγό του, ήτοι το 11α,13-διυδρο-ινουβισκολίδιο (82).

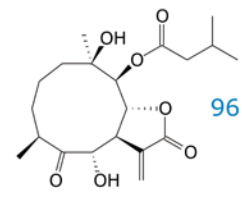
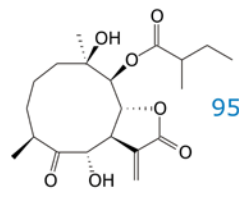
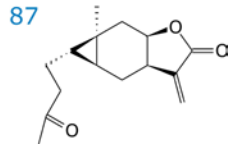
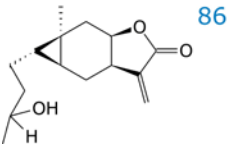
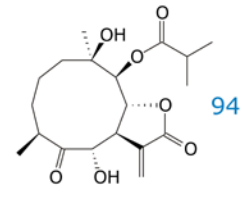
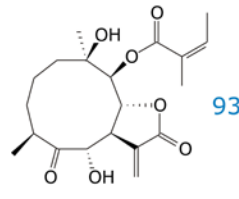
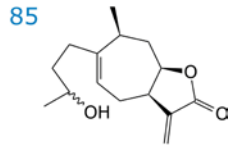
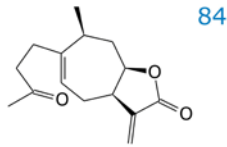
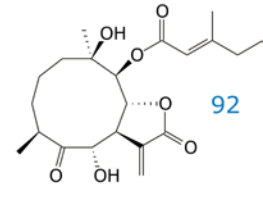
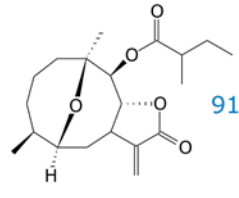
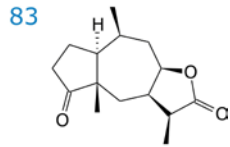
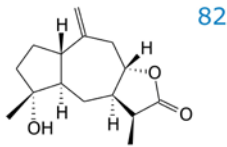
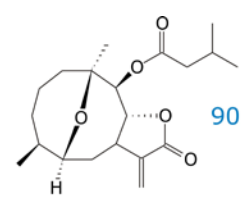
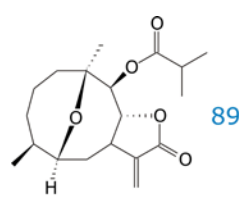
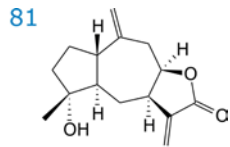
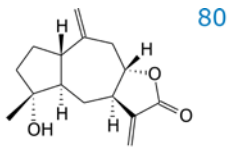
Επίσης έχουν βρεθεί ένα ψευδογουαϊανολίδιο, ήτοι η 11αH,13-διυδροκονφερτίνη (83) καθώς και δύο ξανθανολίδια, ήτοι η τομεντοσίνη (84) και το παράγωγο αυτής, η 4H-τομεντοσίνη (85). Επιπλέον έχουν βρεθεί και δύο ανάλογα του κυκλοπροπανίου. Πρόκειται για την καραμπρόνη (87) καθώς και την αντίστοιχη αλκοόλη αυτής, την 4H-καραμπρόνη (86).

Τέλος έχουν βρεθεί και εννέα γερμακρानολίδια. Από αυτά μόνο η ταγιουνίνη (88) έχει απομονωθεί από τα φύλλα του φυτού. Τα υπόλοιπα οκτώ γερμακρानολίδια απομονώθηκαν από τη ρίζα του φυτού και όλα εμφανίζουν δομική συγγένεια με το ινευπατορολίδιο Β. Τα τρία από αυτά απομονώθηκαν ως μίγμα ενώσεων, παραγώγων του νπιτριχιολιδίου. Το κύριο συστατικό του μίγματος ήταν ο ισοβουτυρικός εστέρας του νπιτριχιολιδίου (89), ενώ τα άλλα δύο παράγωγα ήταν ο ισοβαλερικός εστέρας του νπιτριχιολιδίου (90) και ο 2-μεθυλοβουτυρικός εστέρας του νπιτριχιολιδίου (91). Μεταξύ των οκτώ γερμακρानολιδίων, το κύριο συστατικό της ρίζας ήταν ο 3-μεθυλοπεντ-3c-ενικός εστέρας του 6α-υδροξυ-9-δεακυλο-ινευπατορολιδίου (92), ενώ τα εναπομείναντα τέσσερα γερμακρानολίδια απομονώθηκαν ως μίγμα ενώσεων παραγώγων του 6α-υδροξυ-9-δεακυλο-ινευπατορολιδίου. Πρόκειται για τους εστέρες του 6α-υδροξυ-9-δεακυλο-ινευπατορολιδίου με το αγγελικό (93), ισοβουτυρικό (94), 2-μεθυλοβουτυρικό (95) και ισοβαλερικό οξύ (96).

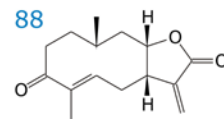
Όσον αφορά στα απομονωθέντα από εκχυλίσματα του φυτού τριτερπένια (πίνακας 7), δεκατέσσερα από αυτά είναι πεντακυκλικά. Δύο από αυτά κατέχουν το δομικό σκελετό των φριεντελανίων. Πρόκειται για την φριεντελίνη (97) και την αντίστοιχη 3-επι-αλκοόλη, ήτοι την 3-επι-φριεντελινόλη (98). Τέσσερα από αυτά



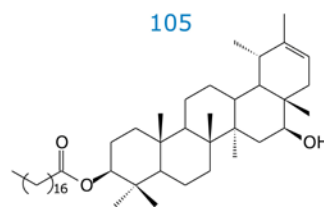
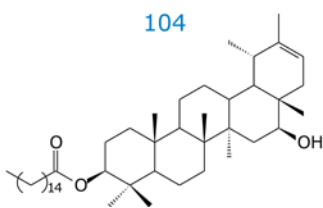
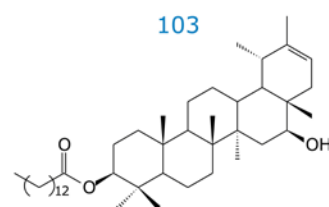
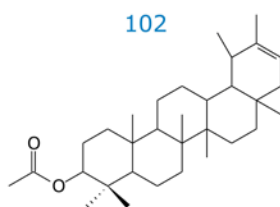
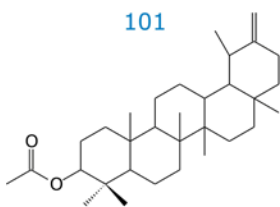
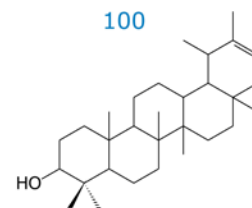
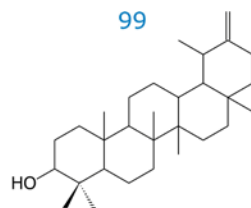
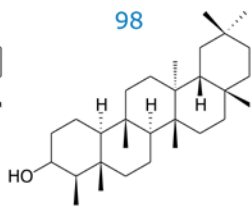
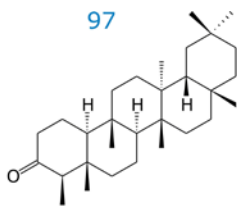
-Εισαγωγή-



κατέχουν το δομικό σκελετό των ταραξαστανίων. Πρόκειται για την ταραξαστερόλη (99) και το ισομερές αυτής, την ψευδοταραξαστερόλη (100) καθώς και για τα ισομερή παράγωγά τους, ήτοι τους οξικούς εστέρες της ταραξαστερόλης (101) και της ψευδοταραξαστερόλης (102). Επίσης από το υπέργειο τμήμα του φυτού έχουν απομονωθεί, ως μίγμα, και τρεις λιπαροί εστέρες της φαραδιόλης, Πρόκειται για τους 3-μυριστικό (103), 3-παλμιτικό (104) και 3-στεαρικό εστέρα της φαραδιόλης (105).



Τέλος, τρία από τα απομονωθέντα πεντακυκλικά τριτερπένια κατέχουν το δομικό σκελετό των λουπανίων. Πρόκειται για εστέρες



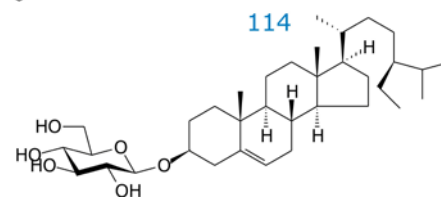
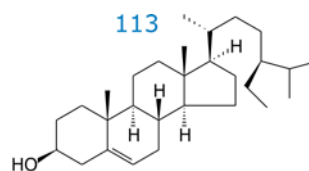
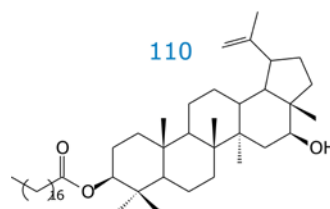
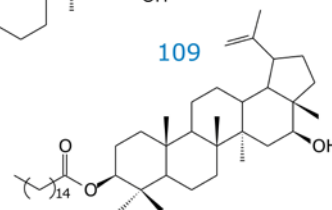
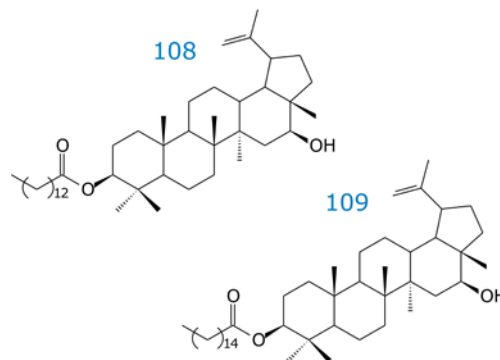
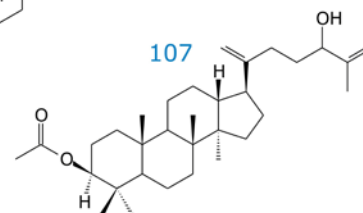
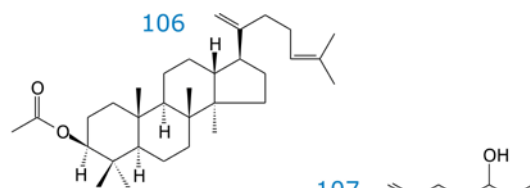
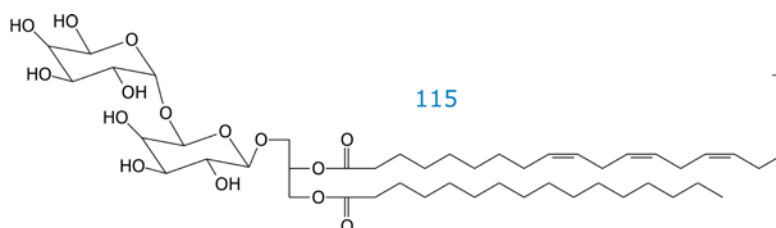
Πίνακας 6. Σεσκιτερπενικές λακτόνες οι οποίες έχουν απομονωθεί από το φυτό. Σε παρένθεση αναφέρεται ο αριθμός του χημικού τύπου. Οι αριθμοί των αναφορών αντιστοιχούν στην ενότητα 'Βιβλιογραφία'.

ένωση	αναφορές
ινουβισκολίδιο (80)	314, 118, 853, 7, 545, 733, 171, 313, 719, 368, 209, 714
8-επι-ινουβισκολίδιο (81)	719
11α,13-διυδρο-ινουβισκολίδιο (82)	7
11αΗ,13-διυδροκονφερτίνη (83)	209
τομεντοσίνη (84)	314, 118, 7, 171, 313, 164, 714, 280
4Η-τομεντοσίνη (85)	733
4Η-καραμπρόνη (86)	719
καραμπρόνη (87)	719, 209, 280
ταγιουνίνη (88)	550
ισοβουτυρικός εστέρας του νπιτριχιολιδίου (89)	117
ισοβαλερικός εστέρας του νπιτριχιολιδίου (90)	117
2-μεθυλοβουτυρικός εστέρας του νπιτριχιολιδίου (91)	117
3-μεθυλοπεντ-3c-ενικός εστέρας του 6α-υδροξυ-9-δεακυλο-ινευπατορολιδίου (92)	117
αγγελικός εστέρας του 6α-υδροξυ-9-δεακυλο-ινευπατορολιδίου (93)	117
ισοβουτυρικός εστέρας του 6α-υδροξυ-9-δεακυλο-ινευπατορολιδίου (94)	117
2-μεθυλοβουτυρικός εστέρας του 6α-υδροξυ-9-δεακυλο-ινευπατορολιδίου (95)	117
ισοβαλερικός εστέρας του 6α-υδροξυ-9-δεακυλο-ινευπατορολιδίου (96)	117

υδροξυλιωμένους παραγώγους της λουπεόλης και συγκεκριμένα για τους 3-μυριστικό (108), 3-παλμιτικό (109) και 3-στεαρικό εστέρα της 3β,16β-διυδροξυλουπεόλης (110).

Δύο από τα απομονωθέντα τετρακυκλικά τριτερπένια κατέχουν το δομικό σκελετό των νταμαρανίων. Πρόκειται για τον 3β-οξικό εστέρα της νταμαραδιενόλης (106) και τον 3β-οξικό εστέρα της νταμαρα-20,25-διεν-24-όλης (107). Ο τελευταίος απομονώθηκε για πρώτη φορά ως φυσικό προϊόν από την *D. viscosa*. Όσον αφορά στους δύο απομονωμένους εστέρες της α-αμυρίνης, ήτοι στις ενώσεις (111) και (112), δεν γίνεται λόγος για το είδος των οξέων που συμμετέχουν στην εστεροποίηση (Ulubelen *et al.*, 1987).

Τέλος, έχουν απομονωθεί και δύο στεροειδή (πίνακας 7). Πρόκειται για τη β-σιτοστερόλη (113) και τον γλυκοζίτη της β-σιτοστερόλης (114).



Πίνακας 7. Τριτερπένια και στεροειδή τα οποία έχουν απομονωθεί από το φυτό. Σε παρένθεση αναφέρεται ο αριθμός του χημικού τύπου. Οι αριθμοί των αναφορών αντιστοιχούν στην ενότητα 'Βιβλιογραφία'.

ένωση	αναφορές
φριεντελίνη (97)	313, 315
3-επι-φριεντελινόλη (98)	313, 315
ταραξαστερόλη (99)	315
ψευδοταραξαστερόλη (100)	315
οξικός εστέρας της ταραξαστερόλης (101)	315
οξικός εστέρας της ψευδοταραξαστερόλης (102)	629, 853, 315
3-μυριστικός εστέρας της φαραδιόλης (103)	315
3-παλμιτικός εστέρας της φαραδιόλης (104)	315
3-στεαρικός εστέρας της φαραδιόλης (105)	315
3β-οξικός εστέρας της νταμμαραδιενόλης (106)	118, 313, 315
3β-οξικός εστέρας της νταμμαρα-20,25-διεν-24-όλης (107)	315
3-μυριστικός εστέρας της 3,16-διυδροξυλουπεόλης (108)	853, 315
3-παλμιτικός εστέρας της 3,16-διυδροξυλουπεόλης (109)	853, 315
3-στεαρικός εστέρας της 3β,16β-διυδροξυλουπεόλης (110)	315
εστέρας της α-αμυρίνης 1 (111)	853
εστέρας της α-αμυρίνης 2 (112)	853
β-σιποστερόλη (113)	7
γλυκοζιτής της β-σιποστερόλης (114)	7

III.4.1.3. Γλυκολιπίδια και ακετυλενίδια

Κλείνοντας με την ανασκόπηση των χημικών ενώσεων που έχουν απομονωθεί από εκχυλίσματα του φυτού, πρέπει να αναφέρουμε την παρουσία ενός γλυκολιπιδίου και ενός ακετυλενιδίου, στο υπέργειο τμήμα του φυτού. Πρόκειται για ένα γλυκοζυλιωμένο ανάλογο της διακυλγλυκερόλης, ήτοι το ινουγαλακτολιπιδίου A (115) (Máñez *et al.*, 1999) και το πενταϊνένιο (116) (Bohlmann *et al.*, 1977), αντίστοιχα.

III.4.2. Αιθέρια έλαια

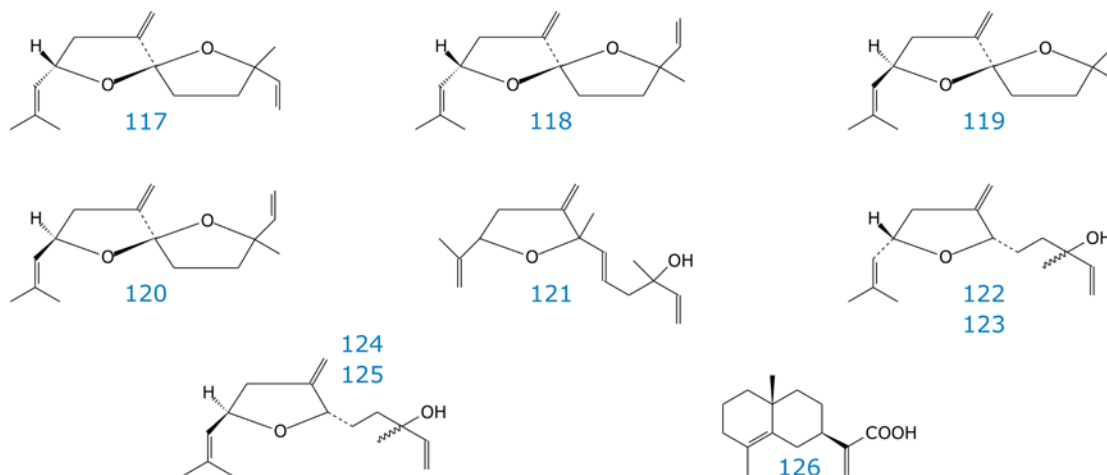
Σε αντίθεση με τα εκχυλίσματα του φυτού τα οποία έχουν αποτελέσει το αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητικών ομάδων, τα αιθέρια έλαια του έχουν μελετηθεί ελάχιστα. Πέρα από ορισμένες μεμονωμένες αναφορές ανίχνευσης συγκεκριμένων ενώσεων (Müller-Riebau *et al.*, 1995; Müller-Riebau *et al.*, 1997; Owen *et al.*, 1997), οι μελέτες που αφορούν στην αποκλειστική ανάλυση των αιθέριων ελαίων του φυτού είναι περιορισμένες και τα κύρια συμπεράσματά τους συνοψίζονται στο κείμενο που ακολουθεί. Στο σημείο αυτό αξίζει να επισημάνουμε ότι η σύσταση των αιθέριων ελαίων εμφανίζει διαφοροποιήσεις, οι οποίες εκτός των

άλλων φαίνεται να σχετίζονται τόσο με την προέλευση του δείγματος όσο και με τη μέθοδο επεξεργασίας του.

Συγκεκριμένα, ένα δείγμα από την Τουρκία περιείχε ως κύρια συστατικά τις ενώσεις βορνεόλη (25,2%), οξικό ισοβορνυλεστέρα (22.5%) και οξικό βορνυλεστέρα (19.5%) (Pérez-Alonso *et al.*, 1996; Grayson, 1998) ενώ σε ένα δείγμα από τη Σαρδηνία κυριαρχούσαν η γλοβουλόλη (16,8%), η βαλεριανόλη (12,0%) και το οξειδίο του καριοφυλένιου (8,0%) (Marongiu *et al.*, 2003). Όταν το δείγμα από τη Σαρδηνία υπέστη διαφορετική επεξεργασία η γλοβουλόλη (15,0%) και το οξειδίο του καριοφυλένιου (8,2%) παρέμειναν τα κύρια συστατικά, συνοδεύονταν όμως και από τις ενώσεις 8-ισοβουτυρυλοξυ ισοβουτυρικό ισοβορνυλεστέρα (13,1%) και βρινιτιφλορόλη (8,3%) (Marongiu *et al.*, 2003). Παρόλο που δείγμα επίσης από τη Σαρδηνία έχει δοκιμαστεί στο παρελθόν για αντιμικροβιακή δράση, δεν αναφέρεται η σύσταση των αιθέριων ελαίων του (Bonsignore *et al.*, 1990). Επίσης αξίζει να σημειώσουμε ότι διαφορετική επεξεργασία του δείγματος από την Τουρκία απέδωσε ως κύρια συστατικά τις ενώσεις βορνεόλη (20,8%) και οξικό βορνυλεστέρα (48.7%) αλλά η ένωση οξικός ισοβορνυλεστέρας απομονώθηκε σε πολύ μικρή ποσότητα (0.3%) (Pérez-Alonso *et al.*, 1996).

Μελέτη των αιθέριων ελαίων της *D. viscosa* subsp. *revoluta* από την Πορτογαλία, οδήγησε στην ταυτοποίηση 24 ενώσεων εκ των οποίων τα κύρια συστατικά ήταν οι ενώσεις 1,8-κινεόλη, δ-καδινένιο, (E)-νερολιδόλη, T-καδινόλη και α-καδινόλη (Costa *et al.*, 2003). Πρόσφατα, αιθέριο έλαιο του ίδιου φυτού επίσης από την Πορτογαλία έδωσε ως κύρια συστατικά τις ενώσεις ισοβουτυρικό εστέρα του 3-μεθοξυκουμινιλίου (12%), α-καδινόλη (6,3%), ευδέσμα-6-εν-4α-όλη (4,8%) και δ-καδινένιο (4,6%) (Miguel *et al.*, 2008). Η μελέτη του *D. viscosa* subsp. *viscosa* επίσης από την Πορτογαλία έδωσε ως κύρια συστατικά τις ενώσεις φοκιενόλη (11,8%), T-μουουρορόλη (7,9%), (E)-νερολιδόλη (5,5%) και δ-καδινένιο (5,0%) (Silva *et al.*, 2005). Επίσης, σε ένα δείγμα από την Κορσική, το οποίο αποκάλυψε 71 συστατικά, κυριαρχούσαν η φοκιενόλη (21,1%), η (E)-νερολιδόλη (8,6%) και η ευδέσμα-6-εν-4α-όλη (6,2%) (Blanc *et al.*,

2006). Όσον αφορά στο τελευταίο δείγμα πρέπει να τονιστεί ότι χαρακτηρίζεται σε πολύ μεγάλο ποσοστό από την παρουσία σεσκιτερπενίων. Από τα σεσκιτερπένια αυτά, τα οποία εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία στη δομή του ανθρακικού σκελετού, μπορεί να επισημανθεί η παρουσία εννέα ασυνήθιστων δομών εκ των οποίων τα τέσσερα είναι δι-εποξυ-φαρνεζατριένια (117-120)



και τα πέντε υπόλοιπα είναι εποξυ-φαρνεζατριενόλες (121-125). Τέλος, η παραπάνω ανάλυση οδήγησε στην ταυτοποίηση, για πρώτη φορά στην *D. viscosa*, του ευδεσμα-4,11(13)-διεν-12-οϊκού οξέος (126), ενός σεσκιτερπενικού οξέος του τύπου των ευδεσμανίων (Blanc *et al.*, 2005; Blanc *et al.*, 2006).

III.5. Ιδιότητες-Βιολογική δράση

III.5.1. Φαρμακευτικές ιδιότητες

Ορισμένα φυτά είναι γνωστά για τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες από αρχαιοτάτων χρόνων. Μάλιστα ακόμα και σήμερα το 80% του παγκόσμιου πληθυσμού στηρίζει την ιατρική του περιθαλψη σε φυτικής προέλευσης παρασκευάσματα (Anonymous, 2002). Επίσης, παρά την πρόοδο στον τομέα της φαρμακευτικής χημείας και επειδή πολλά από τα φάρμακα εμφανίζουν παρενέργειες ή τα παθογόνα εμφανίζουν σταδιακή ανθεκτικότητα έναντι αυτών, η έρευνα στρέφεται εκ νέου στην αξιοποίηση των παραδοσιακών φαρμακευτικών φυτών. Στον τομέα αυτό, η συμβολή των εθνοβοτανικών μελετών θεωρείται καθοριστική.

Όσον αφορά στο φυτό *D. viscosa*, ορισμένες μελέτες καταγράφουν τη χρήση και το είδος της φαρμακευτικής του δράσης σε παραμεσόγειες χώρες (González-Tejero *et al.*, 2008). Οι παλαιότερες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί στο Ισραήλ και αναφέρουν ότι το φυτό σε διάφορες μορφές του χρησιμοποιείται ως τονωτικό, τοπικό αναισθητικό, μαλακτικό για το δέρμα, καθώς και κατά των μυϊκών σπασμών, του πονόδοντου και των ρευματικών πόνων αλλά και τη χρήση του ως

θεραπευτικού παράγοντα στα σπασίματα, σε επιφανειακές πληγές καθώς και στην στοματική υγιεινή και τον τερματισμό της κύησης (Dafni *et al.*, 1984; Palevitch *et al.*, 1986). Σε πρόσφατες μελέτες, οι οποίες αφορούν και σε άλλες παραμεσόγειες χώρες της Ασίας, καταγράφονται κάποιες από τις προαναφερόμενες ιδιότητες του φυτού, καθώς και η δράση του έναντι διαφόρων δερματικών παθήσεων και ως μυοχαλαρωτικού (Ali-Shtayeh *et al.*, 2000; Lev and Amar, 2000; Said *et al.*, 2002; Azaizeh *et al.*, 2006; Hudaib *et al.*, 2008; Marc *et al.*, 2008). Έχει αναφερθεί επίσης χρήση του φυτού στο Ισραήλ (Yaniv *et al.*, 1987) και στο Μαρόκο (Eddouks *et al.*, 2007), για τη θεραπεία του διαβήτη. Στο Μαρόκο, τα φύλλα και τα σπέρματα του φυτού χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της υπέρτασης και των καρδιακών παθήσεων (Eddouks *et al.*, 2002). Στην Ιταλία το φυτό χρησιμοποιείται σε αιματώματα και πληγές, λόγω των αιμοστατικών και θεραπευτικών του ιδιοτήτων (Lentini, 2000; Passalacqua *et al.*, 2007), για τη θεραπεία της ψωρίασης (Amenta *et al.*, 2000) καθώς και ως εντομοσπασθητικό (Loi *et al.*, 2004; Guarrera *et al.*, 2005; Salerno *et al.*, 2005). Τέλος, στην Ιταλία το φυτό χρησιμοποιείται για θεραπευτικούς σκοπούς και στα ζώα, όσον αφορά σε πληγές, δερματικά

προβλήματα, αδιαθεσίες που προκαλούν κινητικά προβλήματα αλλά και ως παρασιτοκτόνο για παράσιτα του εντέρου (Viegi *et al.*, 2003; Passalacqua *et al.*, 2006).

Παρά την συμβολή των μελετών αυτών στη γνωστοποίηση των χρήσεων του φυτού και προκειμένου να δοθεί επιστημονική βάση στις προσδιδόμενες στο φυτό θεραπευτικές και φαρμακευτικές ιδιότητες, απαιτείται πειραματική έρευνα. Στο πνεύμα αυτό έχουν πραγματοποιηθεί πολυάριθμες εργασίες από διάφορες ερευνητικές ομάδες.

Η συμβολή εκχυλισμάτων του φυτού στην επούλωση πληγών, επιβεβαιώθηκε με *in vivo* πειράματα, στα οποία επιτεύχθηκε πλήρης ανάπλαση των ιστών της επιδερμίδας (Khalil *et al.*, 2007). Πειράματα σε ποντίκια επαλήθευσαν ότι εκχυλίσματα του φυτού μπορούν να προκαλέσουν αποβολή ενώ ταυτόχρονα βρέθηκε ότι μπορούν να οδηγήσουν σε αποτυχία την εμφύτευση ζυγωτών, δράσεις οι οποίες συσχετίστηκαν με την επίδρασή τους στα επίπεδα της προγεστερόνης στο αίμα και στα ωχρά σωματίδια (Al-Dissi *et al.*, 2001). Επίσης, πειράματα σε ποντίκια επιβεβαίωσαν και την υπογλυκαιμική δράση του φυτού, η οποία φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από την έκκριση ινσουλίνης, ενώ τέλος δεν επηρεάζει το μεταβολισμό των λιπιδίων, αφού δεν καταγράφηκε αντιυπερλιπιδαιμική δράση (Zeggwagh *et al.*, 2006).

Η ανθελμινθική δράση του φυτού αποδόθηκε πειραματικά σε ένα σεσκιτερπενικό οξύ το οποίο εντοπίζεται μόνο στο υπέργειο τμήμα του *D. viscosa*. Πρόκειται για το ισοκοστικό οξύ, το οποίο εμφάνισε αντιπαρασιτική δράση *in vitro* έναντι των *Hymenolepis nana var. fraterna*, *Syphacia obvelata* και *Fasciola hepatica* (Susplugas *et al.*, 1979; Susplugas *et al.*, 1980; Azoulay *et al.*, 1986).

Παρότι δεν καταγράφεται σε εθνο-βοτανικές μελέτες, το φυτό θεωρείται ότι διαθέτει αντιελκωτική δράση. Η δράση αυτή επιβεβαιώθηκε τόσο με πειράματα σε ποντίκια όπου τα έλκη είχαν προκληθεί με μη μικροβιακούς παράγοντες (Martin *et al.*, 1988b; Alarcón de la Lastra *et al.*, 1993; Alkofahi and Atta, 1999), όσο και με *in vitro* πειράματα με το βακτήριο *Helicobacter pylori* (Stamatis *et al.*,

2003). Χημική ανάλυση εκχυλισμάτων του φυτού έδειξε ότι τα δραστικά κλάσματα περιέχουν φαινολικές ενώσεις (κυρίως φλαβονοειδή), λακτόνες και ρητίνες (Martin *et al.*, 1988a; Martin *et al.*, 1988b; Alarcón de la Lastra *et al.*, 1993).

Επίσης στο φυτό αποδίδονται αντισηπτικές, μυοχαλαρωτικές, αναλγητικές, αντιπυρετικές και αντιφλογιστικές ιδιότητες. Φυτοχημική μελέτη απέδωσε τις μεν αντιφλογιστικές ιδιότητες στην παρουσία αζουλενίων, τις δε αντισηπτικές στην παρουσία ευκαλυπτόλης (Lauro and Rolih, 1990) ενώ πειράματα σε ποντίκια επιβεβαίωσαν την αντιπυρετική (Lauro and Rolih, 1990) και αναλγητική δράση (Martin *et al.*, 1987). Τέλος, πειράματα έδειξαν ότι η απομονωμένη από το φυτό φλαβόνη ισπιντουλίνη εμφανίζει δράση επί λειών μυών ινδικών χοιριδίων. Η δράση αυτή δυνητικά μπορεί να έχει και θεραπευτικές προεκτάσεις ενώ φαίνεται ότι σχετίζεται με την επίδραση της συγκεκριμένης φλαβόνης επί του μεταβολισμού του ασβεστίου στον εν λόγω ιστό (Abdalla *et al.*, 1988).

Στο φυτό έχει επίσης αποδοθεί αντιφλεγμονώδης δράση. Η δράση αυτή επιβεβαιώθηκε με πειράματα σε ποντίκια και αποδόθηκε στις περιεχόμενες ενώσεις ραμνοσιτρίνη, 7-μεθυλαιθέρα της αρωμαδενδρίνης, 3-ακετυλο-παντματίνη, ινουβισκολίδιο, ιλικικό οξύ και ινουγαλακτολιπίδιο A (Martin *et al.*, 1988c; Máñez *et al.*, 1999). Σε συνέχεια της εργασίας των Máñez *et al.* (1999), βρέθηκε ότι μεταξύ των δύο προαναφερόμενων σεσκιτερπενίων, το κυρίως υπεύθυνο για την αντιφλεγμονώδη δράση είναι το ινουβισκολίδιο (Hernández *et al.*, 2001), του οποίου ο τρόπος δράσης ερευνάται (Máñez *et al.*, 2007). Η ίδια ερευνητική ομάδα παρουσίασε πρόσφατα σειρά αποτελεσμάτων, τα οποία αποδίδουν αντιφλεγμονώδη δράση και σε ένα άλλο σεσκιτερπενικό οξύ, το 2,3-δεϋδροκοστικό οξύ (Hernández *et al.*, 2005) καθώς και στα φλαβονοειδή σακουρανετίνη και 3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρα της αρωμαδενδρίνης (Hernández *et al.*, 2007). Τέλος, οι πειραματικά αποδεδειγμένες αντιοξειδωτικές ιδιότητες εκχυλισμάτων του φυτού ίσως μπορούν να εξηγήσουν, τουλάχιστον εν μέρει, την αντιφλεγμονώδη δράση του φυτού (Schinella *et al.*, 2002).

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως στο φυτό αποδίδονται θεραπευτικές ιδιότητες έναντι ορισμένων δερματικών παθήσεων (Ali-Shtayeh *et al.*, 2000). Δεδομένου ότι οι μύκητες *Microsporium canis*, *M. gypseum* και *Trichophyton mentagrophytes*, αποτελούν από τις συχνότερες αιτίες μυκητιάσεων στον άνθρωπο και τα ζώα, αρκετές ερευνητικές ομάδες έχουν ασχοληθεί με την γενικότερη αντιμικροβιακή δράση του φυτού έναντι παθογόνων του ανθρώπου και των ζώων. Πράγματι, εκχυλίσματα υπέργειων τμημάτων του φυτού παρουσιάζουν αντιμικροβιακή δράση έναντι των μυκήτων *M. canis*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* και *T. violaceum*, της ζύμης *Candida albicans*, καθώς και βακτηρίων μεταξύ των οποίων συγκαταλέγονται είδη των γενών *Bacillus*, *Salmonella*, *Sarcina*, *Staphylococcus* και *Pseudomonas* (Ali-Shtayeh *et al.*, 1998; Maoz and Neeman, 1998; Ali-Shtayeh and Abu Ghdeib, 1999; Kivçak *et al.*, 2002; Oskay and Sar, 2007; Sassi *et al.*, 2007). Στο σημείο αυτό πρέπει να επισημανθεί ότι οι δραστικές ουσίες των εκχυλισμάτων αλλά και η δράση τους ποικίλλουν. Όσον αφορά στα *M. canis*, *T. rubrum* και *C. albicans*, η αντιμικροβιακή δράση φαίνεται ότι σχετίζεται με την επίδραση του εκχυλίσματος στην σύνθεση της χιτίνης (Maoz and Neeman, 2000). Εκχύλισμα του φυτού που περιείχε τα φαινολικά οξέα καφεϊκό και χλωρογενικό καθώς και την φαινόλη ορκινόλη, εμφάνισε αντιμικροβιακή δράση έναντι Gram(+) βακτηρίων και της ζύμης *C. albicans* και όχι έναντι Gram(-) βακτηρίων (Alarcón de la Lastra *et al.*, 1988). Επίσης εκχυλίσματα από φύλλα καθώς και από άνθη του φυτού εμφάνισαν αντιμικροβιακή δράση έναντι δερματόφυτων μυκήτων καθώς και ειδών της ζύμης *Candida* ενώ η ισχυρότερη δράση των ανθικών έναντι των φυλλικών εκχυλισμάτων θεωρήθηκε ότι οφείλεται στην διαφορετική σύστασή τους σε φλαβονοειδή (Cafarchia *et al.*, 1999). Το απομονωθέν από φύλλα του φυτού ισοκοστικό οξύ, εμφάνισε *in vitro* επιλεκτική αντιμικροβιακή δράση. Βρέθηκε δραστικό μόνο έναντι δερματόφυτων μυκήτων και όχι έναντι βακτηρίων και ειδών ζύμης του γένους *Candida*. Η παρουσία του ελεύθερου καρβοξυλίου και των δύο ολεφινικών δεσμών κρίθηκαν απαραίτητες για την αντιδερματοφυτική δράση του μορίου (Shtacher and Kashman, 1970). Επίσης, *in vitro*

αντιμικροβιακή δράση έναντι των δερματόφυτων μυκήτων *M. canis* και *T. rubrum* εμφάνισε και η απομονωμένη από τα φύλλα του φυτού σεσκιτερπενική λακτόνη ταγιουνίνη (Maoz *et al.*, 1999). Τέλος, η σεσκιτερπενική λακτόνη τομεντοσίνη, απομονωμένη από άνθη του φυτού, εμφάνισε αντιμυκητιακή δράση *in vitro* (σε συγκέντρωση 1 mg/ml) έναντι των δερματόφυτων *M. canis*, *M. gypseum* και *T. mentagrophytes*, (Cafarchia *et al.*, 2001).

Εκτός από τη μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης των εκχυλισμάτων του φυτού έναντι παθογόνων του ανθρώπου και των ζώων, ορισμένες εργασίες αφορούν και στην αντίστοιχη δράση των αιθέριων ελαίων του. Συγκεκριμένα καταγράφεται παρεμποδιστική δράση των αιθέριων ελαίων έναντι των *Aspergillus fumigatus*, *C. albicans*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Streptococcus faecalis*, και *Proteus vulgaris*. Η ισχυρότερη δράση παρατηρείται έναντι των τριών τελευταίων μικροοργανισμών (Blanc *et al.*, 2006). Επίσης τα αιθέρια έλαια του *D. viscosa* εμφανίζουν δράση έναντι του *H. pylori* (Silva *et al.*, 2005; Miguel *et al.*, 2008).

Στα πλαίσια μιας ερευνητικής προσπάθειας να βρεθούν φυτικά φυσικά προϊόντα με αντιϊική δράση, βρέθηκε ότι (υδατικά ή/και μεθανολικά) εκχυλίσματα του φυτού παρουσιάζουν *in vitro* δράση έναντι DNA και RNA ιών και συγκεκριμένα των ιών του απλού έρπητα (HSV), της στοματίτιδας με φλύκταινες (VSV), Sindbis (SINV) καθώς και της πολιομυελίτιδας (Abad *et al.*, 2000; Mouhajir *et al.*, 2001). Όσον αφορά στον ιό VSV, ο τρόπος δράσης του εκχυλίσματος εντοπίζεται στο στάδιο αντιγραφής του ιού (Abad *et al.*, 2000). Σε συνέχεια των αποτελεσμάτων αυτών και σε συνδυασμό με την συνεχή αναζήτηση φαρμάκων κατά του AIDS, βρέθηκε ότι υδατικά εκχυλίσματα του φυτού παρουσιάζουν *in vitro* δράση έναντι του ρετροϊού HIV (Bedoya *et al.*, 2002; Asres *et al.*, 2005).

Αξίζει να αναφερθεί επίσης, ότι το φυτό αποτέλεσε πρόσφατα αντικείμενο μελέτης και στα πλαίσια της έρευνας για τη θεραπεία του καρκίνου (Kalleh *et al.*, 2007; Rozenblat *et al.*, 2008). Ιδιαίτερα εντυπωσιακά και πολλά υποσχόμενα από φαρμακευτικής άποψης, είναι τα πειραματικά αποτελέσματα για τη θεραπεία του

μελανώματος, ο οποίος αποτελεί την πιο επιθετική μορφή καρκίνου του δέρματος. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα αυτά αφορούν στην κυτταροτοξική δράση των απομονωμένων από το φυτό σεσκιτερπενικών λακτονών τομεντοσίνη και ινουβισκολίδιο (Rozenblat *et al.*, 2008).

Τέλος πρέπει να επισημανθεί ότι τα φυτά εκτός από τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες έναντι δερματικών ή άλλων παθήσεων, είναι δυνατόν να εμπλέκονται και σε διάφορες αλλεργικές αντιδράσεις (Mantle *et al.*, 2001). Τα μέλη της οικογένειας Asteraceae θεωρούνται ως μία από τις σημαντικότερες αιτίες πρόκλησης αλλεργικής δερματίτιδας. Όσον αφορά στο φυτό *D. viscosa*, υπάρχουν αναφορές ότι προκαλεί αλλεργική δερματίτιδα μέσω των φύλλων και του αδενώδους τριχώματος και η αλλεργιογόνος δράση του αποδίδεται κυρίως στην ύπαρξη σεσκιτερπενικών λακτονών (Sertoli *et al.*, 1978; Pecegueiro and Brandão, 1985; Pinedo *et al.*, 1987; Gonçalo and Gonçalo, 1991; Estrela *et al.*, 1995; Gonçalo *et al.*, 1996; Paulsen, 2002).

III.5.2. Λοιπές ιδιότητες

Το επιστημονικό ενδιαφέρον για το φυτό *D. viscosa* επεκτείνεται σήμερα και προς το γεωπονικό τομέα, κυρίως όσον αφορά στην φυτοπροστασία. Με βάση τις σύγχρονες αντιλήψεις αναζητούνται φυτοπροστατευτικά σκευάσματα φυτικής προέλευσης προκειμένου να αντιμετωπιστούν προβλήματα όπως η απουσία ανθεκτικών ποικιλιών καλλιεργούμενων φυτών, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι συνθετικών χημικών σκευασμάτων από τα παθογόνα αλλά και η ύπαρξη διαφόρων παρενεργειών από την χρήση των συνθετικών σκευασμάτων για τον άνθρωπο, τα ζώα και το περιβάλλον.

Στα πλαίσια *in vitro* πειραμάτων, τόσο με εκχυλίσματα όσο και με αποξηραμένα φυτικά τμήματα, βρέθηκε ότι το φυτό παρουσιάζει μυκητοστατική δράση έναντι των *Helminthosporium sativum* και *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Η δράση αυτή εξαρτάται από την εφαρμοζόμενη δόση και την ηλικία του φυτού και τουλάχιστον εν μέρει αποδίδεται σε πτητικά συστατικά (Qasem *et al.*, 1995). Υδατικά εκχυλίσματα και αιθέρια έλαια του φυτού εμφανίζουν τοξικότητα έναντι των φυτοπαθογόνων μυκήτων *F. moniliforme*,

Rhizoctonia solani, *Sclerotinia sclerotiorum* και *Phytophthora capsici* (Yegen *et al.*, 1992). Επίσης τα αιθέρια έλαια του φυτού παρουσιάζουν αντιμυκητιακή δράση έναντι των *F. moniliforme* και *P. capsici*, ενώ δεν επηρεάζουν την ανάπτυξη των *R. solani* και *S. sclerotiorum* (Müller-Riebau *et al.*, 1995; Müller-Riebau *et al.*, 1997). Παρεμποδιστική δράση των αιθέριων ελαίων καταγράφεται και έναντι των *Cladosporium cladosporioides* και *Aspergillus niger*, ωστόσο ο βαθμός παρεμπόδισης εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού (Blanc *et al.*, 2006). Στα πλαίσια *in vitro* πειραμάτων στα οποία χρησιμοποιήθηκαν εκχυλίσματα του φυτού με οργανικούς διαλύτες, καταγράφηκε παρεμποδιστική δράση έναντι της γραμμικής αύξησης και της βλάστησης των σπορίων ορισμένων μυκήτων, μεταξύ των οποίων συγκαταλέγονταν οι *Verticillium dahliae*, *F. oxysporum* f. sp. *melonis* και *Botrytis cinerea*. Η δράση αυτή διαφοροποιείται ως προς το είδος του μικροοργανισμού καθώς και του διαλύτη εκχύλισης (Abou-Jawdah *et al.*, 2002). Επίσης στα πλαίσια *in planta* πειραμάτων παρεμποδιστική δράση έναντι των *Pseudoperonospora cubensis*, *P. infestans*, *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* και *Puccinia helianthi*, εμφανίζουν και εκχυλίσματα του φυτού με οργανικούς διαλύτες (Wang *et al.*, 2004). Τέλος, τόσο σε *in vitro* όσο και *in planta* πειράματα, τα εκχυλίσματα αυτά εμφανίζουν παρόμοια δράση και έναντι του *Plasmopara viticola*, η οποία εν μέρει τουλάχιστον αποδίδεται στις ενώσεις τομεντοσίνη και κοστικό οξύ (Cohen *et al.*, 2006).

Η δράση του φυτού καθώς και των επιμέρους συστατικών του επί ζωικών οργανισμών δύναται να είναι διπλής φύσεως (παρεμποδιστική ή συνεργιστική) ανάλογα με το είδος. Πειράματα με το αρπακτικό έντομο *Macrolophus caliginosus*, για το οποίο το εν λόγω φυτό αποτελεί ξενιστή, έδειξαν ότι η προσέλκυσή του οφείλεται εν μέρει σε εκχυλιζόμενες από το φυτό ενώσεις (Constant *et al.*, 1996). Από την άλλη πλευρά τα απομονωμένα από υπέργεια τμήματα του φυτού, σεσκιτερπενικά οξέα ιλικικό και 2α-υδροξυισοκοστικό εμφάνισαν αντιτροφική δράση έναντι επιλεγμένων εντόμων των αποθηκών (Daniewski *et al.*, 1986). Επίσης, διάφορα εκχυλίσματα του φυτού, παρουσιάζουν δράση

έναντι του ακάρεος *Tetranychus cinnabarinus*, είτε απωθώντας τα ακμαία είτε προκαλώντας θνησιμότητα αλλά και υπογονιμότητα (Mansour *et al.*, 2004; Topakci *et al.*, 2005). Το φυτό παρουσιάζει επίσης δράση έναντι νηματώδων σκωλήκων όπως αυτή επί του νηματώδους *Meloidogyne javanica* για τον οποίο μάλιστα η *D. viscosa* αποτελεί ξενιστή. Ωστόσο, η αντινηματηδιακή δράση έχει αποδοθεί μόνο στο υπέργειο τμήμα του φυτού. Τα αποξηραμένα και κονιορτοποιημένα φύλλα καθώς και εκχυλίσματα αυτών με οργανικούς διαλύτες, παρουσιάζουν την ισχυρότερη παρεμποδιστική δράση. Ωστόσο πρέπει να επισημανθεί ότι η δράση αυτή του φυτού εξαρτάται και από το είδος του νηματώδη. Συγκεκριμένα, ο *Meloidogyne javanica* εμφανίζεται ο περισσότερο ευαίσθητος, ακολουθούμενος από τον *Tylenchulus semipenetrans* ενώ οι *Ditylenchus dipsaci*, *Pratylenchus mediterraneus* και *Aphelenchus avenae*, παρεμποδίζονται σε μικρότερο ή μηδενικό βαθμό. Η παρεμποδιστική δράση αποδίδεται τουλάχιστον εν μέρει σε δύο

σεσκιτερπένια, το κοστικό και το ισοκοστικό οξύ (Oka *et al.*, 2001; Oka *et al.*, 2006).

Τέλος, το επιεφυμενιδικό έκκριμα του φυτού εμφανίζει αλληλοπαθητική δράση έναντι της βλάστησης των σπερμάτων άλλων φυτών, χωρίς να επηρεάζει τα σπέρματα του μητρικού φυτού (Stephanou and Manetas, 1995; Stephanou and Manetas, 1997a; Stavrianakou *et al.*, 2004). Σε μία προσπάθεια να ανιχνευτεί ο τρόπος δράσης του, βρέθηκε ότι προκαλεί ποικιλία αναπτυξιακών διαταραχών στις ρίζες μαρουλιού, γεγονός το οποίο μπορεί να αποδοθεί μόνο εν μέρει στην δράση φλαβονοειδών (Levizou *et al.*, 2002; Levizou *et al.*, 2004). Επίσης, το επιεφυμενιδικό έκκριμα εμφανίζει αντιδιαπνευστική δράση, περιορίζοντας τις απώλειες του νερού από την εφυμενίδα, όχι όμως και από τα στομάτια (Stephanou and Manetas, 1995). Τέλος, παρόλο που το έκκριμα απορροφά σημαντικά στη UV-B περιοχή του φάσματος, η απομάκρυνσή του δεν αύξησε την ευαισθησία του φυτού στην UV-B ακτινοβολία (Stephanou and Manetas, 1995; Stephanou and Manetas, 1997b).

Σκοπός

Το φυτό *Dittrichia viscosa* έχει αποτελέσει έως σήμερα αντικείμενο έρευνας πλήθους εργασιών, κυρίως σε επίπεδο χημικής σύστασης καθώς και φαρμακευτικών ιδιοτήτων συμπεριλαμβανομένης της *in vitro* αντιμικροβιακής του δράσης έναντι παθογόνων του ανθρώπου. Επίσης ορισμένες μελέτες αφορούν στην αντιμικροβιακή δράση εκχυλισμάτων του φυτού έναντι φυτοπαθογόνων μυκήτων. Το φυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία επιεφυμενιδικού εκκρίματος στην επιφάνεια των υπέργειων φυτικών οργάνων του λόγω της ύπαρξης αδενώδους τριχώματος. Ωστόσο, οι έως σήμερα μελέτες του φυτοπροστατευτικού δυναμικού, τόσο του *D. viscosa* όσο και παρόμοιων ως προς αυτό το χαρακτηριστικό φυτικών ειδών, έναντι παθογόνων μικροοργανισμών, δεν παρέχουν ενδείξεις της οικοφυσιολογικής βάσης του φαινομένου διότι δεν λαμβάνουν υπόψη ότι το μίγμα των φυτοπροστατευτικών ουσιών με το οποίο έρχονται σε επαφή οι μικροοργανισμοί προέρχεται από την επιφάνεια των φυτικών οργάνων όπου απαντάται σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις και απελευθερώνεται με συγκεκριμένους τρόπους όπως η έκπλυση.

Για τους λόγους αυτούς, η παρούσα μελέτη επικεντρώθηκε στην αξιολόγηση του φυτοπροστατευτικού δυναμικού του εκπλύματος του επιεφυμενιδικού εκκρίματος του υπέργειου τμήματος του φυτού *D. viscosa* έναντι παθογόνων μικροοργανισμών. Για την αξιολόγηση της *in vitro* αντιμικροβιακής του δράσης τέθηκαν ως στόχοι:

(α) η σύγκριση με την αντίστοιχη δράση του χλωροφορμικού επιεφυμενιδικού εκκρίματος του υπέργειου τμήματος του φυτού *Cistus creticus*, το οποίο επίσης χαρακτηρίζεται από την παρουσία επιεφυμενιδικού εκκρίματος στην επιφάνεια των υπέργειων φυτικών οργάνων του λόγω της ύπαρξης αδενώδους τριχώματος, και επίσης αποτελεί χαρακτηριστικό φυτικό είδος του μεσογειακού οικοσυστήματος

(β) η χρήση εκπλυμάτων των οποίων οι δόσεις να αντιστοιχούν σε υπο- ή πολλαπλάσια

της δόσης προσομοίωσης, η οποία αντιστοιχεί στην φυσική συγκέντρωση επί της επιφάνειας των φυτικών οργάνων του μίγματος των ουσιών οι οποίες εκπλένονται υπό συγκεκριμένες συνθήκες, έτσι ώστε να είναι δυνατή η σύγκριση του 'προϋπάρχοντος' φυτοπροστατευτικού δυναμικού μεταξύ των δύο φυτών

(γ) η διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράσης του φυτού και έναντι φυτοπαθογόνων βακτηρίων, η οποία δεν έχει αποτελέσει, για κανένα από τα δύο είδη, αντικείμενο έρευνας έως σήμερα και

(δ) η σύγκριση της *in vitro* αντιμικροβιακής δράσης του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού εκκρίματος του υπέργειου τμήματος του *D. viscosa* με την αντίστοιχη του υδατικού, δεδομένου ότι το νερό αποτελεί το μοναδικό διαλύτη στη φύση.

Στη συνέχεια, και προκειμένου τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας να αξιολογηθούν υπό όρους πρακτικής εφαρμογής, τέθηκαν ως στόχοι:

(α) η πραγματοποίηση *in vitro* πειραμάτων ελέγχου της αντιμικροβιακής δράσης του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού εκκρίματος του φυτού *D. viscosa* έναντι φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών με ευρύ γεωπονικό ενδιαφέρον και

(β) η πραγματοποίηση *in planta* πειραμάτων ελέγχου της φυτοπροστατευτικής δράσης του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού εκκρίματος του φυτού *D. viscosa* βάσει των *in vitro* πειραμάτων.

Τέλος, προκειμένου να διερευνηθεί περαιτέρω η βάση της βιολογικής δράσης του λυοφιλιωμένου επιεφυμενιδικού υδατικού εκπλύματος του φυτού, τέθηκε ως στόχος η χημική ανάλυσή του η οποία επικεντρώθηκε στις κατηγορίες των φλαβονοειδών και σεσκιτερπενίων οι οποίες:

(α) αντιπροσωπεύουν τους κύριους (ποσοτικά και ποιοτικά) δευτερογενείς μεταβολίτες του φυτού και

(β) αποτελούν κατηγορίες ενώσεων στις οποίες αποδίδεται αντιμικροβιακή δράση.

Υλικά και Μέθοδοι

I. Επίδραση εκπλυμάτων του επιεφυμενιδικού υλικού των φυτών *Cistus creticus* και *Dittrichia viscosa* στην ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

I.1. Προετοιμασία εκπλυμάτων του φυτικού υλικού

Το υπέργειο τμήμα των επιλεγμένων φυτικών ειδών συλλέχθηκε είτε από το όρος Πάρνηθα (38° 08' N, 23° 43' E, 580 m a.s.l.) (*Cistus creticus* L. και *Dittrichia viscosa*) είτε από την περιοχή του Ρίου Αχαΐας (38° 17' N, 21° 47' E, 65 m a.s.l.) (*D. viscosa*). Η συλλογή πραγματοποιήθηκε κατά τους καλοκαιρινούς μήνες, δεδομένου ότι την εποχή αυτή μεγιστοποιείται η συγκέντρωση του επιεφυμενιδικού υλικού των δύο φυτών (Stephanou and Manetas, 1997a; Stephanou and Manetas, 1997c). Τα εκπλύματα του επιεφυμενιδικού υλικού του υπέργειου τμήματος των φυτών παρασκευάστηκαν εμβαπίζοντας βλαστούς της τρέχουσας βλάστησης σε χλωροφόρμιο ή νερό για χρόνο 15 s ή 15 min αντίστοιχα. Στη συνέχεια συμπυκνώθηκαν με διαβίβαση ρεύματος αζώτου σε ειδική διάταξη υπό σταθερή θερμοκρασία και επαναδιαλύθηκαν σε μικρό όγκο μεθανόλης. Στην περίπτωση των χλωροφορμικών εκπλυμάτων, η επαναδιάλυση σε μικρό όγκο μεθανόλης συνοδεύτηκε από κατακρήμνιση επιεφυμενιδικών κηρών. Η κατακρήμνιση των κηρών μεγιστοποιήθηκε μέσω ταχείας ψύξης του εκπλύματος (-30° C) και οι κηροί απομακρύνθηκαν με φυγοκέντρηση. Συνήθως, ακολουθήθηκαν περισσότεροι του ενός

κύκλοι ψύξης - φυγοκέντρησης για την ικανοποιητική απομάκρυνση των κηρών. Ακολούθησε φασματοφωτομέτρηση των εκπλυμάτων. Εναλλακτικά, στην περίπτωση του φυτού *D. viscosa*, υδατικό έκπλυμα του επιεφυμενιδικού υλικού του υπέργειου τμήματος παραλήφθηκε με εμβάπτιση βλαστών σε νερό για 3 h, λυοφιλιώθηκε και η σκόνη φυλάχθηκε σε θερμοκρασία 4°C. Για τη χρήση του λυοφιλιωμένου υλικού στις βιοδοκιμές *in vitro* και *in planta*, ορισμένη μάζα σκόνης επαναδιαλύθηκε σε απεσταγμένο νερό (Stavrianakou *et al.*, 2004). Η απομάκρυνση ξένων υλικών και μικροοργανισμών από τα εκπλύματα πραγματοποιήθηκε με διήθηση από κατάλληλα φίλτρα.

I.2. Μικροοργανισμοί και συνθήκες καλλιέργειας

Τα είδη βακτηρίων και μυκήτων που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 1. Πρόκειται για τα βακτηριακά στελέχη *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Συλλογή Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας, Γ.Π.Α.), *Erwinia amylovora* (Benaki Phytopathological Institute Culture Collection, (BPIC)916), *Pseudomonas syringae* pv *garcae* (BPIC1445; (National Collection of Plant Pathogenic Bacteria, United Kingdom) NCPPB512), *P. syringae* subsp.

Πίνακας 1. Φυτοπαθογόνοι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιήθηκαν και οι ασθένειες που προκαλούν.

Βακτήρια	
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	βακτηριακή σήψη κονδύλων και φυτών πατάτας
<i>Erwinia amylovora</i>	βακτηριακό κάψιμο ειδών της οικογένειας Rosaceae
<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>garcae</i>	βακτηριακό κάψιμο του <i>Coffea arabica</i>
<i>Pseudomonas syringae</i> subsp. <i>savastanoi</i>	καρκίνωση του <i>Olea europaea</i>
<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>syringae</i>	βακτηριακός καρκίνος στα πυρηνόκαρπα και μηλοειδή
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>pelargonii</i>	βακτηριακό κάψιμο στα γένη <i>Pelargonium</i> , <i>Geranium</i>
Μύκητες	
<i>Botrytis cinerea</i>	γκρίζα μούχλα των λαχανικών, των καλλωπιστικών και της αμπέλου
<i>Fusarium</i> sp.	σήψη του λαιμού και της ρίζας ψυχανθών και κολοκυνθοειδών αλλά και μετασυσπλεκτική σήψη π.χ. κονδύλων πατάτας
<i>Nectria haematococca</i> var. <i>cucurbitae</i>	σήψη του λαιμού και της ρίζας κολοκυνθοειδών
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	λευκή μούχλα ή υδατώδη μαλακή σήψη των λαχανικών, των καλλωπιστικών και ψυχανθών
<i>Ustilago maydis</i>	άνθρακας του αραβόσιτου

savastanoi (BPIC264), *P. syringae* pv *syringae* (BPIC1) και *Xanthomonas campestris* pv *pelargonii* (BPIC69). Επίσης χρησιμοποιήθηκαν τα είδη μυκήτων *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp., *Nectria haematococca* var. *cucurbitae*, *Sclerotinia sclerotiorum* και *Ustilago maydis* (όλα από την Συλλογή του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας, Γ.Π.Α.).

Τα βακτήρια διατηρήθηκαν σε θρεπτικό μέσο Nutrient Agar (NA, 13 g nutrient broth l⁻¹, Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire, UK) στους 30° C (*C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*) ή 26° C (όλα τα υπόλοιπα στελέχη) υπό φωτοπερίοδο 12 h με ανανέωση της καλλιέργειας ανά εβδομάδα (*E. amylovora*) ή ανά μήνα (όλα τα υπόλοιπα στελέχη). Οι μύκητες *B. cinerea*, *Fusarium* sp., *N. haematococca* var. *cucurbitae* και *S. sclerotiorum* διατηρήθηκαν σε θρεπτικό μέσο Potato Dextrose Agar (39 g PDA l⁻¹, Merck, Darmstadt, Germany) στους 23° C υπό φωτοπερίοδο 14 h με ανανέωση της καλλιέργειας ανά μήνα (Ziogas *et al.*, 1991). Ο μύκητας *U. maydis* διατηρήθηκε σε θρεπτικό μέσο Ustilago Complete Agar Medium (UCM) στους 30° C στο σκοτάδι. Το UCM προετοιμάστηκε όπως παρακάτω: ως βασικό μέσο χρησιμοποιήθηκε μίγμα (σε g (750 ml)⁻¹) από: γλυκόζη 10,0, νουκλεϊκά οξέα 0,5, καζαμινοξέα 3,0, εκχυλίσμα ζύμης 1,0, άγαρ 15,0. Το βασικό μέσο αναμίχθηκε με διαλύματα βιταμινών και ανόργανων αλάτων σε αναλογία 750:1:250 (βασικό μέσο:διάλυμα βιταμινών:διάλυμα ανόργανων αλάτων (v/v)). Το διάλυμα βιταμινών περιείχε (σε mg (100 ml)⁻¹): ινοσιτόλη 200, θειαμίνη 20, πανθοθενικό ασβέστιο 20, νιασίνη 20, πυριδοξίνη 10. Το διάλυμα ανόργανων αλάτων περιείχε (σε mg l⁻¹): NH₄NO₃ 12000, KH₂PO₄ 8000, KCl 4000, Na₂SO₄ 2000, MgSO₄·7H₂O 1000, CaCl₂ 500, FeSO₄·7H₂O 4,2, ZnSO₄·7H₂O 3,6, CuSO₄·5H₂O 3,3, Na₂MoO₄·2H₂O 2,4, MnSO₄·H₂O 2,2. Το θρεπτικό μέσο UMM (Ustilago Minimal Agar Medium), το οποίο χρησιμοποιήθηκε σε ορισμένες βιοδοκιμές, προετοιμάστηκε όπως το UCM με την παράληψη των νουκλεϊκών οξέων, καζαμινοξέων, εκχυλίσματος ζύμης και βιταμινών. Το άγαρ προστέθηκε σε συγκέντρωση 20,0 αντί των 15,0 g (750 ml)⁻¹. Στα πειράματα επίδρασης της τιμής pH του θρεπτικού μέσου στην ανάπτυξη των μυκήτων, η ρύθμιση του πραγματοποιήθηκε με

την προσθήκη K₂HPO₄ για τις τιμές pH 5,9 και 6,7.

Για την προετοιμασία των βιοδοκιμών των βακτηρίων, καλλιέργειες ηλικίας μιας ημέρας εναιωρήθηκαν σε αποστειρωμένο νερό και διενεργήθηκαν διαδοχικές αραιώσεις σε τελική συγκέντρωση 0,5-3 × 10⁴ μονάδων σχηματιζόμενων αποικιών (colony-forming units (cfu)) ml⁻¹ με βάση την οπτική πυκνότητα στα 560 nm του αρχικού εναιωρήματος. Τα αραιωμένα εναιωρήματα χρησιμοποιήθηκαν ως εμβόλια για τις καλλιέργειες των βιοδοκιμών. Για την προετοιμασία των βιοδοκιμών των μυκήτων (*B. cinerea*, *Fusarium* sp. και *N. haematococca* var. *cucurbitae*), σπόρια από καλλιέργειες ηλικίας μιας εβδομάδας εναιωρήθηκαν σε αποστειρωμένο νερό και το εναιώρημα απλώθηκε σε τρυβλία με PDA. Μετά την επώαση για 24 h στους 23° C υπό φωτοπερίοδο 14 h, απομονώθηκαν δίσκοι του αναπτυσσόμενου μυκηλίου με τη χρήση φελοτρυπητήρα διαμέτρου 4 mm και χρησιμοποιήθηκαν ως εμβόλια για τις καλλιέργειες των βιοδοκιμών μυκηλιακής ανάπτυξης. Στην περίπτωση του μύκητα *S. sclerotiorum*, οι δίσκοι που χρησιμοποιήθηκαν ως εμβόλια προήλθαν από την περιφέρεια αναπτυσσόμενων μυκηλιακών καλλιεργειών. Για τις βιοδοκιμές της βλαστικότητας των σπορίων (*B. cinerea* και *Fusarium* sp.), τα εναιωρήματα των σπορίων προήλθαν από καλλιέργειες ηλικίας μιας εβδομάδας. Για την προετοιμασία των βιοδοκιμών του *U. maydis*, λήφθηκαν σπορίδια από καλλιέργειες του μύκητα σε υγρό θρεπτικό μέσο UCM οι οποίες αναπτύχθηκαν στους 30° C, στο σκοτάδι, υπό ανακίνηση (150 Hz) για 48 h (Ziogas *et al.*, 2005). Η συγκέντρωση των εναιωρημάτων ρυθμίστηκε στις 0,5 × 10³ cfu ml⁻¹.

1.3. Διενέργεια βιοδοκιμών

1.3.1. Προετοιμασία υποστρώματος βιοδοκιμών

Το χλωροφορμικό ή υδατικό έκπλυμα εφαρμόστηκε στην επιφάνεια στερεού θρεπτικού μέσου σε κατάλληλους όγκους ώστε να αντιστοιχεί στην δόση προσομοίωσης κάθε φυτικού υλικού. Εφαρμόστηκαν επίσης, και δόσεις του υλικού οι οποίες κατά περίπτωση

αντιστοιχούσαν σε υπο- και πολλαπλάσια της δόσης προσομοίωσης. Ως δόση προσομοίωσης για κάθε φυτικό είδος ορίστηκε η ποσότητα του επιεφυμενιδικού φυτικού υλικού (υπό μορφή εκπλύματος) η οποία εφαρμοζόμενη στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού αντιστοιχούσε στην ποσότητα του φυτικού υλικού η οποία συλλέχθηκε με έκπλυση από την ίδια επιφάνεια φύλλων. Για την διενέργεια των σχετικών υπολογισμών, ο όγκος του εκπλύματος προς εφαρμογή στο θρεπτικό μέσο υπολογίστηκε φασματοφωτομετρικά με βάση το περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά (Inderjit and Nilsen, 2003) και σε σύγκριση με την τιμή απορρόφησης σε

συγκεκριμένο μήκος κύματος (300 nm) ανά όγκο εκπλύματος και ανά επιφάνεια φύλλου (Stephanou and Manetas, 1997b; Stephanou and Manetas, 1997c). Οι δόσεις προσομοίωσης ανά φυτικό υλικό παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Σε κάθε πείραμα, όλες οι μεταχειρίσεις καθώς και ο μάρτυρας δέχθηκαν συνολικά τον ίδιο όγκο διαλύτη. Στην περίπτωση του μάρτυρα, το σύνολο του όγκου αφορούσε σε καθαρό διαλύτη. Μετά την εφαρμογή του φυτικού υλικού, τα τρυβλία παρέμειναν ανοικτά για αρκετά λεπτά εντός του θαλάμου νηματικής ροής προκειμένου να εξατμιστεί ή και να απορροφηθεί εντός του θρεπτικού μέσου ο διαλύτης του εκπλύματος.

Πίνακας 2. Δόσεις προσομοίωσης ανά φυτικό υλικό.

φυτικό υλικό	βακτήρια	μύκητες
χλωροφορμικό έκπλυμα του φυτού <i>C. creticus</i>	40 μl*	25 μl*
χλωροφορμικό έκπλυμα του φυτού <i>D. viscosa</i>	15 μl*	30 μl*
υδατικό έκπλυμα του φυτού <i>D. viscosa</i>	30 μl	30 μl
λυσφιλιωμένο υδατικό έκπλυμα του φυτού <i>D. viscosa</i>	1 mg ml ⁻¹	1 mg ml ⁻¹

*Όπου υπάρχουν διαφορές στην δόση προσομοίωσης ανά κατηγορία μικροοργανισμού οφείλονται στην χρήση διαφορετικού διαλύματος του εκπλύματος του φυτικού υλικού μεταξύ των δύο κατηγοριών πειραμάτων.

Μέσω προκαταρκτικού πειράματος εξετάστηκε ο βαθμός κατανομής του εφαρμοζόμενου φυτικού υλικού εντός του θρεπτικού μέσου. Η κατανομή του φυτικού υλικού κατά βάθος οφείλεται στην διάχυσή του εντός του πηγματος του στερεού θρεπτικού μέσου η οποία αν είναι υψηλή μειώνει την αλληλεπίδραση του φυτικού υλικού με τον αναπτυσσόμενο μικροοργανισμό καθώς ο τελευταίος αναπτύσσεται αποκλειστικά επιφανειακά. Στο παρόν πείραμα η διάχυση του χλωροφορμικού εκπλύματος των δύο φυτικών ειδών εκτιμήθηκε μέσω μικροσκοπίας φθορισμού κατά την εξέταση εγκάρσιων τομών του θρεπτικού υλικού μετά την πάροδο τριών ημερών από την εφαρμογή. Η παραπάνω μέθοδος παρατήρησης αποτυπώνει την κατανομή των φαινολικών συστατικών τα οποία αποτελούν σημαντικό μέρος του εφαρμοζόμενου φυτικού υλικού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η διάχυση του φυτικού υλικού εντός του πηγματος ήταν διαφορετική, ανάλογα με την πηγή του φυτικού υλικού. Το υλικό του φυτού *D. viscosa* παρουσίασε διάχυση σε βάθος έως και 300 μm από την επιφάνεια ενώ αυτό του φυτού *C. creticus* παρουσίασε σημαντικά μικρότερη

διάχυση έως και 50 μm από την επιφάνεια.

1.3.2. Βιοδοκιμές ανάπτυξης βακτηρίων

Εναιωρήματα βακτηρίων εφαρμόστηκαν εντοπισμένα υπό μορφή σταγόνων-επαναλήψεων (6-10 ανά τρυβλίο) στην επιφάνεια θρεπτικού μέσου NA και αναπτύχθηκαν στους 26° C (ή 30° C στην περίπτωση του *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*) υπό φωτοπερίοδο 12 h. Η καταμέτρηση των βακτηριακών αποικιών κατά τη διάρκεια της περιόδου των βιοδοκιμών ξεκίνησε αμέσως μετά την εμφάνιση μετρήσιμων αποικιών στον μάρτυρα και ακολούθως ανά 24 h.

1.3.3. Βιοδοκιμές μυκηλιακής ανάπτυξης μυκήτων

Στην περίπτωση των μυκήτων (*B. cinerea*, *Fusarium* sp., *N. haematococca* var. *cucurbitae* και *S. sclerotiorum*), δίσκοι από μυκηλιακές καλλιέργειες εφαρμόστηκαν στην επιφάνεια θρεπτικού μέσου PDA ή UMM. Η μυκηλιακή αύξηση μετρήθηκε ως η μέση διάμετρος της αναπτυσσόμενης αποικίας στους 23° C στο σκοτάδι για την αποφυγή σπορογένεσης. Η διάμετρος του εμβολίου αφαιρέθηκε από την διάμετρο της αποικίας. Ειδικότερα στην

περίπτωση του μύκητα *U. maydis*, εναιωρήματα σποριδίων εφαρμόστηκαν στην επιφάνεια θρεπτικού μέσου UCM σε τρεις επαναλήψεις και αναπτύχθηκαν στους 30° C υπό φωτοπερίοδο 16 h. Η καταμέτρηση των αποικιών του μύκητα ξεκίνησε αμέσως μετά την εμφάνιση μετρήσιμων αποικιών στον μάρτυρα και ακολούθως ανά 24 h.

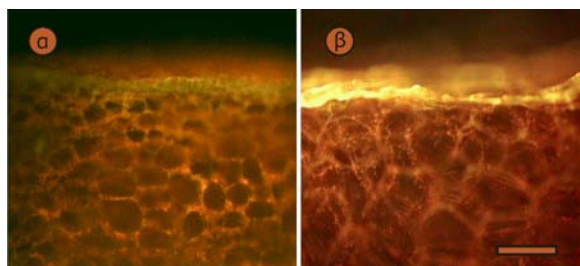
1.3.4. Βιοδοκιμές βλάστησης σποριών μυκήτων

Εναιωρήματα σποριών των μυκήτων *B. cinerea* και *Fusarium* sp. εφαρμόστηκαν στην επιφάνεια στερεού μέσου από καθαρό άγαρ (water agar, WA). Η βλαστικότητα των σποριών μετρήθηκε μετά από επώαση στους 23° C υπό φωτοπερίοδο 14 h. Βλαστημένα σπόρια θεωρούνταν αυτά των οποίων ο βλαστικός σωλήνας ήταν εμφανής.

1.3.5. Βιοδοκιμές ανάπτυξης του μύκητα *Botrytis cinerea* σε φυτά *Cucumis sativus*

Σπέρματα αγγουριάς (ποικιλία Safaa F₁) φυτεύτηκαν σε φυτοδοχεία πεπαισμένης τύρφης και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ανάπτυξης ελεγχόμενων συνθηκών στους 25° C υπό φωτοπερίοδο 14 h. Τα νεαρά φυτάρια χρησιμοποιήθηκαν αφού είχαν εκπτυχθεί πλήρως οι κοτυληδόνες. Η εφαρμογή του φυτικού υλικού, του μυκητοκτόνου αναφοράς Teldor 50 Wettable Powder (Fenhexamid 50% w/w, Bayer CropScience AG, Monheim, Germany) ή του νερού (βλ. 'Αποτελέσματα', ενότητα I.5) έγινε με ψεκασμό στην προσαξονική επιφάνεια των κοτυληδόνων χρησιμοποιώντας μονάδα ψεκασμού με προωθητικό αέριο (Preval Spray Gun, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Δίσκοι από μυκηλιακή καλλιέργεια του *B. cinerea* εφαρμόστηκαν στην προσαξονική επιφάνεια των κοτυληδόνων στην περιοχή του κεντρικού νεύρου. Για την επιτυχημένη μόλυνση των φυτών, το σημείο επαφής κάθε κοτυληδόνας με το εμβόλιο είχε προηγουμένως τραυματιστεί με τη χρήση ανατομικής βελόνας. Μετά τον εμβολιασμό τα φυτά διατηρήθηκαν σε θάλαμο ανάπτυξης ελεγχόμενων συνθηκών στους 18° C υπό φωτοπερίοδο 14 h και σχετική υγρασία >64%.

Ανά χρονικό διάστημα 24 h γινόταν εκτίμηση της εξέλιξης της σήψης των κοτυληδόνων και στη συνέχεια αλλαγή θέσης στα φυτοδοχεία για την εξάλειψη της επίδρασης πιθανών ανομοιομορφιών του περιβάλλοντος του θαλάμου ανάπτυξης. Στο πείραμα με καρπούς αγγουριάς, επιλέχθηκαν καρποί σε καλή φυσιολογική κατάσταση και απολυμάνθηκαν επιφανειακά με εμβάπτιση σε διάλυμα NaClO 0,45% (w/v) για 15 min και στη συνέχεια ξεπλύθηκαν με νερό για 20 min. Οι πειραματικοί χειρισμοί, ο εμβολιασμός και οι συνθήκες παραμονής των καρπών κατά την διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν όπως και στην περίπτωση των κοτυληδόνων. Ανά χρονικό διάστημα 24 h γινόταν μέτρηση της μέσης διαμέτρου της επιφανειακής σήψης. Η διάμετρος του εμβολίου αφαιρέθηκε από την διάμετρο της σήψης. Η ομοιομορφία και η επιτυχής προσκόλληση του φυτικού υλικού στην επιφάνεια των καρπών διαπιστώθηκε μέσω μικροσκοπίας φθορισμού σε εγκάρσιες τομές (εικόνα 1).



Εικόνα 1. Μικροφωτογραφίες από μικροσκόπιο φθορισμού εγκάρσιων τομών νωπών δειγμάτων καρπών αγγουριάς μετά από διέγερση με μπλε φως. Καρπός ψεκασμένος με νερό (α) και καρπός ψεκασμένος με διάλυμα συγκέντρωσης 6 mg ml⁻¹ λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεμφυμενιδικού υλικού του υπέργειου τμήματος του φυτού *D. viscosa* (β). Ο κόκκινος φθορισμός οφείλεται στην χλωροφύλλη των παρεγχυματικών κυττάρων. Στο (β) παρατηρείται έντονος κίτρινος φθορισμός στην επιφάνεια του καρπού και προέρχεται από το ψεκασμένο φυτικό υλικό λόγω της παρουσίας φλαβονοειδών. Κλίμακα: 140 μm.

1.4. Στατιστική επεξεργασία

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων ανάπτυξης των μικροοργανισμών αφορούσε στον υπολογισμό της παρεμπόδισης και της βιολογικής απόκρισης. Επίσης, αφορούσε στον υπολογισμό του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης ή ρυθμού βλαστικότητας των σποριών καθώς και της

διάρκειας της φάσης υστέρησης για την έναρξη της μυκηλιακής αύξησης ή την έναρξη της βλάστησης των σπορίων.

Η παρεμπόδιση της ανάπτυξης υπό δεδομένη μεταχείριση εκφράστηκε ως προς τον μάρτυρα και υπολογίστηκε όπως παρακάτω:

$$\text{Παρεμπόδιση (\%)} = 100 \times [1 - (A_{\text{μεταχείρισης}} / A_{\text{μάρτυρα}})]$$

όπου A: η παράμετρος ανάπτυξης (διάμετρος αποικίας ή αριθμός σχηματιζομένων αποικιών).

Αντίστοιχα, η παρεμπόδιση της βλάστησης των σπορίων των μυκήτων υπολογίστηκε όπως παρακάτω:

$$\text{Παρεμπόδιση (\%)} = 100 \times [1 - (B_{\text{μεταχείρισης (\%)}} / B_{\text{μάρτυρα (\%)})]$$

όπου B: η βλαστικότητα των σπορίων ως ποσοστό (%) των σπορίων που εξετάστηκαν σε κάθε μεταχείριση (ή στον μάρτυρα).

Ως βιολογική απόκριση ορίζεται η σχετική ανάπτυξη του μικροοργανισμού σε κάθε χειρισμό αναφορικά με τον μάρτυρα για τον οποίο η βιολογική απόκριση ορίζεται ως 100%. Τιμές της παραμέτρου υψηλότερες ή χαμηλότερες αυτής του μάρτυρα υποδηλώνουν προώθηση ή παρεμπόδιση της ανάπτυξης αντίστοιχα. Η απεικόνιση της παραμέτρου βασίστηκε στα δεδομένα ανάπτυξης της τελευταίας ημέρας κάθε πειράματος δεδομένου ότι οι τιμές της προώθησης ή παρεμπόδισης είχαν σταθεροποιηθεί. Για την προσαρμογή της καμπύλης απόκρισης σε συνάρτηση της δόσης χρησιμοποιήθηκε μαθηματικό μοντέλο το οποίο προβλέπει την ύπαρξη φάσης προώθησης της ανάπτυξης του

οργανισμού λόγω χαμηλών δόσεων του υπό εξέταση υλικού οι οποίες από μια τιμή και πάνω καθίστανται παρεμποδιστικές της ανάπτυξής του (An *et al.*, 1993). Σύμφωνα με το μοντέλο, θεωρείται ότι η βιολογική απόκριση (y) ενός οργανισμού υπό οποιαδήποτε συγκέντρωση (x) ενός δεδομένου αλληλοχημικού υλικού καθορίζεται από τον συνδυασμό δύο αντίθετων δράσεων του επί του οργανισμού, της προώθησης (S) και της παρεμπόδισης (I). Με την αύξηση της συγκέντρωσης, η σχετική κυριαρχία κάθε δράσης μεταβάλλεται με αποτέλεσμα τον καθορισμό των ιδιοτήτων του αλληλοχημικού σε κάθε τιμή συγκέντρωσης. Η γενική εξίσωση του μοντέλου φαίνεται παρακάτω:

$$y = 100 + \frac{S_m x^q}{x_s^q + x^q} - \frac{I_m x^q}{x_i^q + x^q}$$

όπου S_m : η μέγιστη προώθηση της ανάπτυξης υπό την επίδραση του αλληλοχημικού υλικού (ως ποσοστό % της ανάπτυξης του μάρτυρα),

I_m : η μέγιστη παρεμπόδιση της ανάπτυξης η οποία θα μπορούσε να επιτευχθεί υπό την επίδραση του αλληλοχημικού υλικού (ως ποσοστό % της ανάπτυξης του μάρτυρα) προσαυξημένη κατά το S_m ,

x_s : η τιμή συγκέντρωσης του αλληλοχημικού υλικού όπου η βιολογική απόκριση είναι ίση με το ήμισυ του S_m προσαυξημένο κατά 100%,

x_i : η τιμή συγκέντρωσης του αλληλοχημικού υλικού όπου η βιολογική απόκριση είναι ίση με το ήμισυ του I_m και

q: σταθερά η οποία ελέγχει το σχήμα της προσαρμοσμένης καμπύλης.

Για τον υπολογισμό των παραμέτρων του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης ή βλαστικότητας των σπορίων και της διάρκειας της φάσης υστέρησης για την έναρξη της μυκηλιακής αύξησης ή την έναρξη της βλάστησης των σπορίων, μελετήθηκε η γραμμική φάση αύξησης της αποικίας ή βλαστικότητας των σπορίων. Ο

ρυθμός μυκηλιακής αύξησης ή βλαστικότητας των σπορίων υπολογίστηκε ως η κλίση της προσαρμοσμένης ευθείας ενώ η διάρκεια της φάσης υστέρησης εντοπίστηκε στο χρονικό σημείο όπου η προσαρμοσμένη ευθεία τέμνει τον άξονα του χρόνου.

Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των

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

των μέσων. Σε αντίθετη περίπτωση εφαρμόστηκε η ανάλυση διασποράς Kruskal-Wallis και οι πολλαπλές συγκρίσεις διεξήχθησαν μέσω του κριτηρίου Dunn (SigmaStat 3.1, Systat Software Inc., Chicago, IL).

II. Χημική ανάλυση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεμφυμενιδικού υλικού του φυτού *Dittrichia viscosa*

II.1. Χρωματογραφικός διαχωρισμός

Το λυοφιλιωμένο υδατικό έκπλυμα (VISB, 2.3 g) υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης υπό κενό (VLC, 10cm x 6cm) με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας (κυκλαεξάνιο-EtOAc 100:0-0:100). Η διαδικασία αυτή οδήγησε στην παραλαβή δεκαέξι κλασμάτων τα οποία μετά από συνενώσεις έδωσαν δέκα κλάσματα (VISB-A έως VISB-J).

κλάσμα	κυκλοεξάνιο-EtOAc	συνενώσεις
1	100:0	
2	95:5	VISB-A
3	90:10	VISB-B
4	80:20	VISB-C
5	70:30	
6	70:30	VISB-D
7	65:35	VISB-E
8	65:35	
9	60:40	VISB-F
10	55:45	VISB-G
11	50:50	
12	40:60	VISB-H
13	30:70	
14	20:80	VISB-I
15	10:90	
16	0:100	VISB-J

Το κλάσμα VISB-D (135 mg) υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (CC) (Sephadex LH-20, 25x2 cm, MeOH) από την οποία παραλήφθηκαν τριανταέξι κλάσματα. Τα κλάσματα No19 έως και No32 της CC συνενώθηκαν (VISB-DE, 112.5 mg) και υποβλήθηκαν σε παρασκευαστική υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) (Kromasil, Reverse Phase C₁₈ Semi-prep, 250x10 mm, MeOH-H₂O 2:1), η οποία απέδωσε τις ουσίες **7*** (3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης, 4.4 mg), **10** (ισοκοστικό οξύ, 4.7 mg) και **14** (τομεντοσίνη, 22.7 mg).

* Αναφέρεται στην αντίστοιχη αρίθμηση των ουσιών της ενότητας 'Αποτελέσματα'.

Το κλάσμα VISB-E ταυτοποιήθηκε ως η ουσία **5** (7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης, 42.0 mg).

Το κλάσμα VISB-F (86.1 mg) υποβλήθηκε σε παρασκευαστική υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) (MeOH-H₂O 2.1:1), η οποία απέδωσε τις ουσίες **6** (3-ακετυλο-αρωμαδενδρίνη, 1.0 mg) και **15** (4H-τομεντοσίνη, 3.6 mg) καθώς και ένα κλάσμα το οποίο υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) (Merck, Art.5716, AcOH-30), η οποία απέδωσε τις ουσίες **1** (ισπιντουλίνη, 1.4 mg), **2** (6-μεθοξυκαϊμπερόλη, 4.7 mg), **3** (3,7-διμεθυλαιθέρας της 6-υδροξυκαϊμπερόλης, 1.2 mg) και **4** (3,3'-διμεθυλαιθέρας της κερκετίνης, 0.9 mg).

Το κλάσμα VISB-G (49.2 mg) υποβλήθηκε σε παρασκευαστική υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) (MeOH-H₂O 3:2), η οποία απέδωσε τις ουσίες **11** (3α-υδροξυ-ευδεσμα-4-εν-12,6β-ολίδιο, 1.8 mg), **12** (ινουβισκολίδιο, 14.0 mg) και **13** (8-επι-ινουβισκολίδιο, 2.8 mg).

Το κλάσμα VISB-J (88.0 mg) υποβλήθηκε σε παρασκευαστική υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) (MeOH-H₂O 2:1), η οποία απέδωσε τις ουσίες **8** (ιλικικό οξύ, 10.1 mg) και **9** (κοστικό οξύ, 3.2 mg).

Η παρασκευαστική HPLC πραγματοποιήθηκε στα συστήματα: **(α)** Ανιχνευτής δείκτη διάθλασης: GBC, LC 1240, RI Detector. Αντλία: CE 1100 Liquid Chromatography Pump. Καταγραφέας: Pharmacia LKB REC 1 και **(β)** Ανιχνευτής δείκτη διάθλασης: RI-920, RI Detector. Αντλία: PU-970 Liquid Chromatography Pump. Καταγραφέας: Perkin-Elmer Recorder 56.

Τα κλάσματα που λαμβάνονταν από τις HPLC υποβάλλονταν στην ακόλουθη κατεργασία: **(α)** σε κάθε κλάσμα γινόταν προσθήκη ίσου όγκου κορεσμένου υδατικού διαλύματος NaCl, **(β)** στη συνέχεια γινόταν εκχύλιση με απεσταγμένο

CH₂Cl₂, (**γ**) διήθηση της οργανικής φάσης μέσω άνυδρου Na₂SO₄ και (**δ**) συμπύκνωση έως ξηρού.

Οι συνενώσεις καθώς και η επιλογή των κλασμάτων τόσο της VLC όσο και της CC που αποτέλεσαν αντικείμενο μελέτης πραγματοποιήθηκαν μετά από εξέταση των κλασμάτων σε αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης οξειδίου του πυριτίου με δείκτη φθορισμού σε φύλλα αλουμινίου διαστάσεων 20x20 cm και πάχους στιβάδας 0.1 mm (Kieselgel F254, Merck, Art.5554). Αρχικά έγινε παρατήρηση των χρωματογραφημάτων στο υπεριώδες φως (254 nm, 366 nm) και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε εμφάνισή τους με κατάλληλα αντιδραστήρια. Συγκεκριμένα για τις σεσκιτερπενικές λακτόνες χρησιμοποιήθηκε διάλυμα ανισαλδεΐδης-θειικού οξέος (0.5 ml ανισαλδεΐδης +1 ml πυκνό θειικό οξύ +50 ml οξικού οξέος) και ακολούθησε θέρμανση επί 5 λεπτά στους 105° C. Οι σεσκιτερπενικές λακτόνες μετά από ψεκασμό εμφανίζουν διάφορους χρωματισμούς. Στην περίπτωση των φλαβονοειδών έγινε χρήση του αντιδραστηρίου Neu (διάλυμα 1% σε μεθανόλη του β-αμινοαιθυλεστέρα του διφαινυλοβορικού οξέος) (Neu, 1957). Τα παράγωγα της απιγενίνης εμφανίζουν κιτρινοπράσινο φθορισμό και μετά 24 h χρωματίζονται κόκκινα στο φως της ημέρας, τα παράγωγα της λουτεολίνης εμφανίζουν κίτρινο φθορισμό.

II.2. Ταυτοποίηση

II.2.1. Φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis).

Τα φάσματα UV-Vis ελήφθησαν σε φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-160 A ενώ η ακολουθούμενη μεθοδολογία βασίστηκε στους

Mabry *et al.* (1970), Mears and Mabry (1972), Sakakibara and Mabry (1977), Markham (1982), Wollenweber (1982), Voirin (1983) και Markham (1989).

II.2.2. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR: Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy)

Για την λήψη των φασμάτων NMR χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι φασματογράφοι: (**α**) Φασματογράφος Bruker AC 200 (200.13 MHz για ¹H-NMR και 50.3 MHz για ¹³C-NMR) και (**β**) Φασματογράφος Bruker DRX 400 (399.95 MHz για ¹H-NMR).

Η λήψη των φασμάτων πραγματοποιήθηκε με τους ακόλουθους διαλύτες: (**α**) CDCl₃ δίχως εσωτερικό πρότυπο, λαμβάνοντας το σήμα του διαλύτη ως αναφορά (7.24 ppm για ¹H-NMR και 77.0 ppm για ¹³C-NMR) και (**β**) CD₄O (3.31 ppm για ¹H-NMR). Οι χημικές μετατοπίσεις εκφράζονται σε δ (ppm) και οι σταθερές σύζευξης (J) σε Hertz (Hz).

Επίσης χρησιμοποιήθηκαν οι τεχνικές COSY (C**O**relation S**P**ectrosc**O**py), HSQC (H**e**teronuclear S**I**ngle Q**U**antum C**O**relation), HMBC (H**e**teronuclear M**U**ltiple B**O**nd C**O**relation) και NOESY (N**O**uclear O**U**erhauser E**F**fect S**P**ectrosc**O**py).

II.2.3. Μέτρηση ειδικής γωνίας στροφής

$[\alpha]_D^{20}$.

Η ειδική γωνία στροφής μετρήθηκε σε πολωσίμετρο Perkin-Elmer Polarimeter 341, με κυψελίδα μήκους 10 cm. Χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα των ουσιών σε CHCl₃ (g (100 ml)⁻¹) (Lab-Scan Code no. A3505E).

Αποτελέσματα

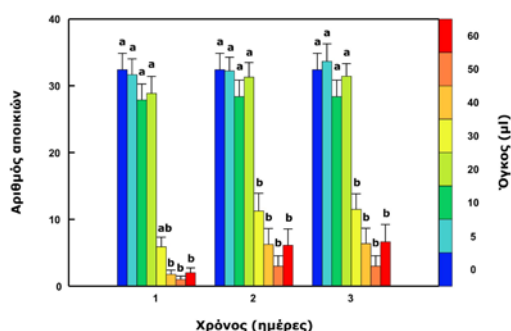
I. Επίδραση εκπλυμάτων του επιεφυμενιδικού υλικού των φυτών *Cistus creticus* και *Dittrichia viscosa* στην ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

I.1. Επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *Cistus creticus* στην *in vitro* ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

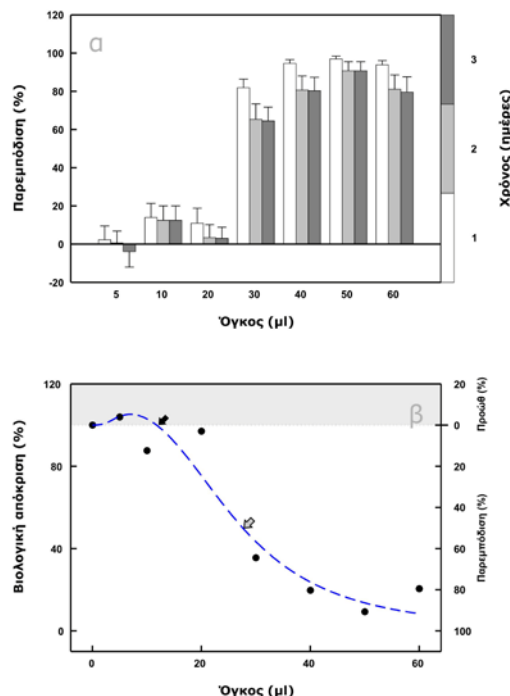
Στην παρούσα ενότητα εξετάστηκε η επίδραση του επιεφυμενιδικού υλικού του υπέργειου τμήματος του φυτού *C. creticus* στην ανάπτυξη επιλεγμένων στελεχών φυτοπαθογόνων βακτηρίων και μυκήτων. Στα πειράματα της ενότητας χρησιμοποιήθηκε το χλωροφορμικό έκπλυμα του φυτού λόγω της ύπαρξης υψηλού ποσοστού υδρόφοβων μορίων στο επιεφυμενιδικό υλικό και συνεπώς της ικανοποιητικής παραλαβής τους από τον παραπάνω οργανικό διαλύτη. Παράλληλα, το χλωροφόρμιο, λόγω της υδροφοβικότητάς του δεν παραλαμβάνει ενδοκυτταρικά συστατικά κατά τη διάρκεια του σύντομου χρονικού διαστήματος της έκπλυσης.

I.1.1. Βακτήρια

Στις εικόνες 1 και 2 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος του φυτού στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *P.*

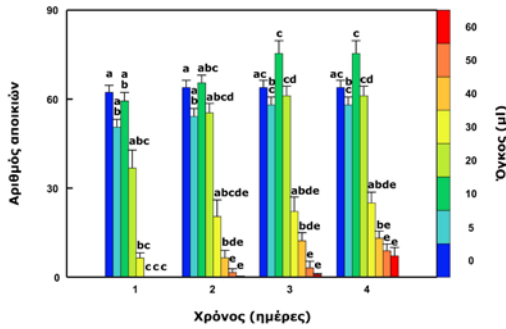


Εικόνα 1. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv. *garcae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε όγκο εκπλύματος επαναδιαλυμένου σε μεθανόλη επί της συνολικής επιφάνειας του τρυβλίου. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($P \leq 0,05$).



Εικόνα 2. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv. *garcae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι τρεις πρώτες ημέρες (α) ή η τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (β) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε όγκο εκπλύματος επαναδιαλυμένου σε μεθανόλη επί της συνολικής επιφάνειας του τρυβλίου. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Η προσαρμοσμένη καμπύλη περιγράφεται από την εξίσωση $y = 100 + \frac{S_m x^q}{x_s^q + x^q} - \frac{I_m x^q}{x_i^q + x^q}$, με $S_m = 10\%$, $x_s = 5,00 \mu\text{l}$, $I_m = 110\%$, $x_i = 26,0 \mu\text{l}$, $q = 3,00$, $R^2 = 0,976$. Η σκούρα περιοχή αντιστοιχεί στην περιοχή της θετικής απόκρισης (προώθησης της ανάπτυξης). Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{thr} = 11,7 \mu\text{l}$ (μαύρο) και $ID_{50} = 27,5 \mu\text{l}$ (γκρι). Η τιμή ID_{thr} αναφέρεται στην εκτιμώμενη τιμή δόσης πέραν της οποίας παρατηρείται μετάβαση από θετική (προώθηση ανάπτυξης) σε αρνητική βιολογική απόκριση (παρεμπόδιση ανάπτυξης). Η τιμή ID_{50} αναφέρεται στην εκτιμώμενη τιμή δόσης όπου παρατηρείται το 50% της παρεμπόδισης.

syringae pv. *garcae*. Σε εφαρμοζόμενες δόσεις έως και 20 μl δεν σημειώθηκε επίδραση επί της ανάπτυξης των βακτηριακών αποικιών ενώ σε δόσεις υψηλότερες των 20 μl, η παρουσία του εκπλύματος είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών. Στις δόσεις άνω των 20 μl σημειώθηκε

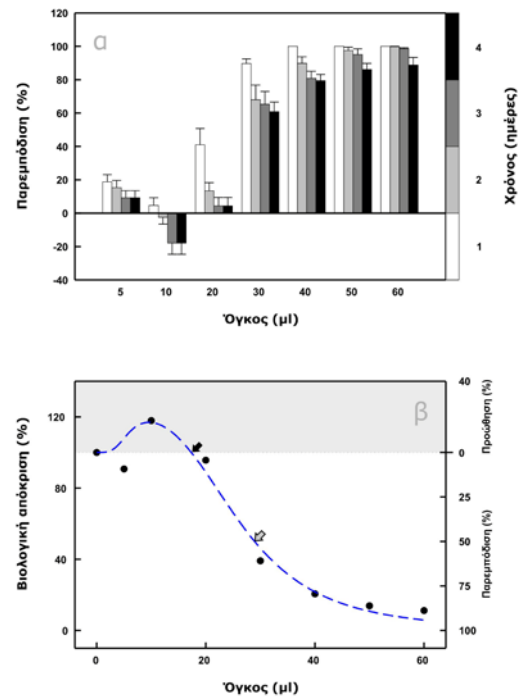


Εικόνα 3. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* subsp. *savastanoi* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

αύξηση του αριθμού των αποικιών μεταξύ πρώτης και δεύτερης ημέρας σε τιμές οι οποίες σταθεροποιήθηκαν κατά την τρίτη ημέρα (εικόνα 1). Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, οι εφαρμοζόμενες δόσεις άνω των 20 μl είχαν ως συνέπεια την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 64 έως 97%. Πάντως το υψηλότερο ποσοστό παρεμπόδισης παρατηρήθηκε κατά την πρώτη ημέρα όπου για τις δόσεις αυτές ανήλθε σε τιμές άνω του 80% ενώ πρακτικά, το ποσοστό παρεμπόδισης σταθεροποιήθηκε από τη δεύτερη ημέρα και μετά (εικόνα 2.α). Στην εικόνα 2.β παρουσιάζεται η βιολογική απόκριση της ανάπτυξης του βακτηρίου σε συνάρτηση με την εφαρμοζόμενη δόση. Στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου παρουσίασε προώθηση σε χαμηλές δόσεις του φυτικού υλικού ενώ υψηλότερες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σταδιακή παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 3 και 4 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *P. syringae* subsp. *savastanoi*. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε εφαρμοζόμενες δόσεις έως και 20 μl δεν σημειώθηκε εμφανής αρνητική επίδραση επί της ανάπτυξης των βακτηριακών αποικιών. Ωστόσο, η εφαρμογή του εκπλύματος στις παραπάνω δόσεις συνοδεύτηκε από μικρές αλλαγές στην ανάπτυξη των βακτηρίων οι οποίες όμως δεν συσχετίστηκαν με τον όγκο του εκπλύματος που επιστρώθηκε στο τρυβλίο (εικόνες 3 και 4). Σε δόσεις

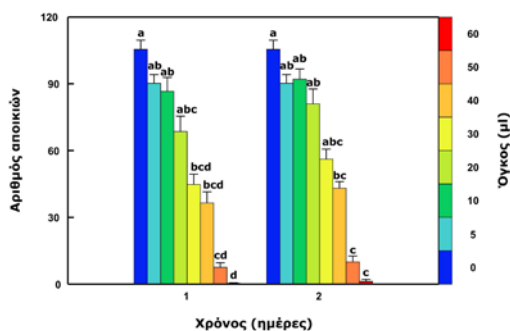
υψηλότερες των 20 μl, η παρουσία του εκπλύματος είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών, φαινόμενο το οποίο ήταν εντονότερο στις υψηλότερες δόσεις. Μεταξύ των δόσεων αυτών, ανάπτυξη βακτηριακών αποικιών κατά την πρώτη ημέρα σημειώθηκε μόνο στη δόση των 30 μl ενώ σε όλες τις δόσεις σημειώθηκε αύξηση του αριθμού των αποικιών τις επόμενες ημέρες (εικόνα 3). Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, οι εφαρμοζόμενες δόσεις άνω των 20 μl είχαν ως συνέπεια την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 61 έως 100%. Πάντως το υψηλότερο ποσοστό παρεμπόδισης παρατηρήθηκε κατά την πρώτη ημέρα όπου για τις δόσεις αυτές ανήλθε σε τιμές άνω του 89% ενώ πρακτικά, το ποσοστό παρεμπόδισης



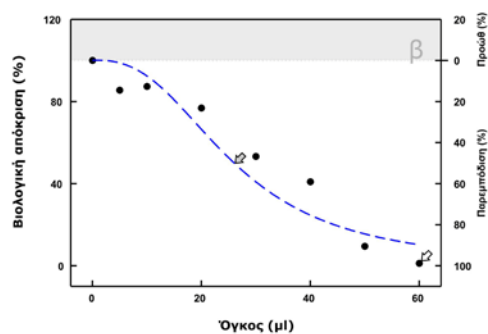
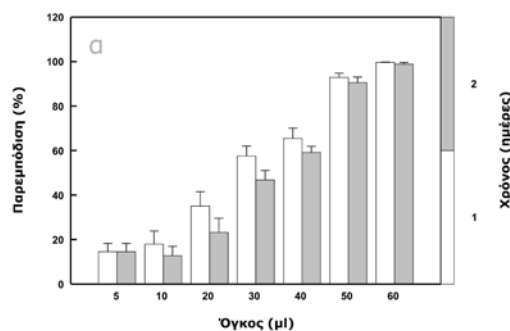
Εικόνα 4. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* subsp. *savastanoi* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι τέσσερις πρώτες ημέρες (α) ή η τέταρτη ημέρα της καλλιέργειας (β) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 24\%$, $x_s = 6,00 \mu l$, $I_m = 124\%$, $x_i = 26,0 \mu l$, $q = 3,60$, $R^2 = 0,990$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{thr} = 17,3 \mu l$ (μαύρο) και $ID_{50} = 28,8 \mu l$ (γκρι). Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 2.

σταθεροποιήθηκε την τέταρτη ημέρα (εικόνα 4.α). Σύμφωνα με την εικόνα 4.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου παρουσίασε προώθηση σε χαμηλές δόσεις του φυτικού υλικού ενώ υψηλότερες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σταδιακή παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 5 και 6 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *P. syringae* pv *syringae*. Παρατηρείται ότι η παρουσία του εκπλύματος είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών, επίδραση η οποία ήταν στατιστικώς σημαντική μόνο στις υψηλότερες δόσεις. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, η δόση των 60 μl ήταν η μόνη στην οποία πρακτικά δεν σημειώθηκε ανάπτυξη βακτηριακών αποικιών ενώ στις υπόλοιπες δόσεις σημειώθηκε αύξηση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών μεταξύ πρώτης και δεύτερης ημέρας (εικόνα 5). Για τις εφαρμοζόμενες δόσεις άνω των 30 μl, όπου η επίδραση του εκπλύματος επί της ανάπτυξης του βακτηρίου παρέμεινε στατιστικώς σημαντική κατά τη διάρκεια του πειράματος, η παρεμπόδιση ήταν υψηλότερη του 59% καθ' όλη τη διάρκεια ενώ πλήρης παρεμπόδιση επιτεύχθηκε μόνο στη δόση των 60 μl. Πάντως, το υψηλότερο ποσοστό παρεμπόδισης παρατηρήθηκε κατά την πρώτη ημέρα όπου για τις δόσεις αυτές ανήλθε σε τιμές άνω του 65% (εικόνα 6.α). Σύμφωνα με την εικόνα 6.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου δεν



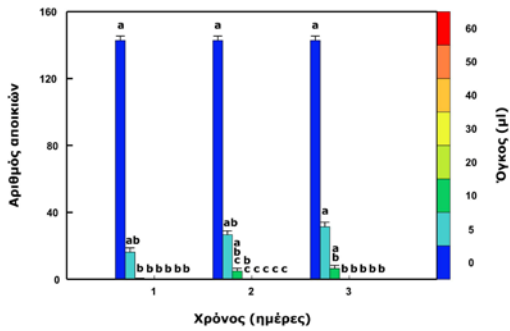
Εικόνα 5. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv *syringae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.



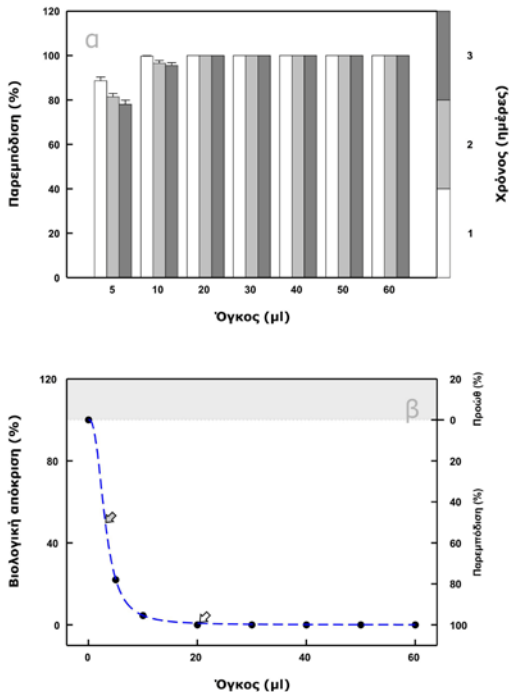
Εικόνα 6. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv *syringae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι δύο πρώτες ημέρες (α) ή η δεύτερη ημέρα της καλλιέργειας (β) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $X_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 26,0 \mu\text{l}$, $q = 2,60$, $R^2 = 0,976$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 26,0 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 60 \mu\text{l}$ (λευκό). Η τιμή LID_{100} αναφέρεται στην ελάχιστη πειραματική δόση του φυτικού υλικού η οποία προκάλεσε πλήρη παρεμπόδιση της ανάπτυξης. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 2.

παρουσίασε προώθηση ενώ οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σταδιακή παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 7 και 8 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *X. campestris* pv *pelargonii*. Το συγκεκριμένο βακτήριο εμφανίστηκε ιδιαίτερα ευαίσθητο στην παρουσία του εκπλύματος καθώς δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη αποικιών σε καμία από τις εφαρμοζόμενες δόσεις άνω των 10 μl καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος ενώ ταυτόχρονα στις δόσεις των 5 και 10 μl, όπου σημειώθηκε ανάπτυξη του βακτηρίου, ήταν εμφανής η αρνητική επίδραση του εκπλύματος επί του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών (εικόνα 7).



Εικόνα 7. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *X. campestris* pv *pelargonii* σε στερεό θρεπτικό μέσο ΝΑ σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.



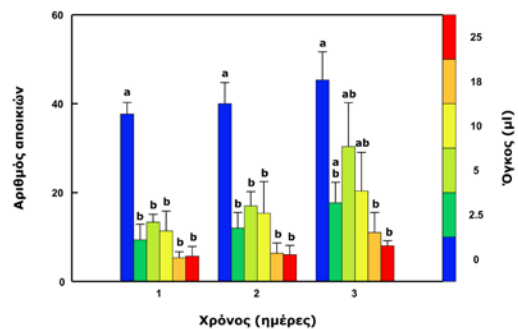
Εικόνα 8. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *X. campestris* pv *pelargonii* σε στερεό θρεπτικό μέσο ΝΑ σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι τρεις πρώτες ημέρες (α) ή η τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (β) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 3,10 \mu\text{l}$, $q = 2,60$, $R^2 = 1,000$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 3,10 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 20 \mu\text{l}$ (λευκό). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

Κατά συνέπεια, στη διάρκεια του πειράματος η παρεμπόδιση της ανάπτυξης του συγκεκριμένου βακτηρίου για τις δόσεις άνω των 10 μl ήταν

πλήρης ενώ για τις δόσεις των 5 και 10 μl κυμάνθηκε σε ποσοστά από 78 έως 100%. Πάντως, για τις δόσεις αυτές το υψηλότερο ποσοστό παρεμπόδισης παρατηρήθηκε κατά την πρώτη ημέρα όπου ανήλθε σε τιμές άνω του 88% (εικόνα 8.α). Όπως φαίνεται στην εικόνα 8.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου δεν παρουσίασε προώθηση ενώ όλες οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σημαντική παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.

1.1.2. Μύκητες

Στις εικόνες 9 και 10 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του μύκητα *U. maydis*. Παρατηρείται ότι κάθε μεταχείριση προκάλεσε μείωση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών συγκριτικά με τον μάρτυρα. Ωστόσο, η μείωση δεν ήταν κατά αναλογία με την αύξηση της δόσης καθώς οι δόσεις των 5 και 10 μl προκάλεσαν μικρότερη ανάσχεση της αύξησης συγκριτικά με τη δόση των 2,5 μl. Σε όλες τις εφαρμοζόμενες δόσεις σημειώθηκε ανάπτυξη αποικιών από την πρώτη ημέρα και πρακτικά σταθεροποίηση του πλήθους τους από την τρίτη ημέρα (εικόνα 9). Για τις δόσεις των 18 και 25 μl, όπου η μείωση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών παρέμεινε στατιστικά σημαντική καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, το ποσοστό παρεμπόδισης κυμάνθηκε από 76 έως 86% με υψηλότερο αυτό της πρώτης ημέρας (εικόνα



Εικόνα 9. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου μύκητα *U. maydis* σε στερεό θρεπτικό μέσο UCM σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση πέντε διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

10.α). Όπως φαίνεται στην εικόνα 10.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του μύκητα δεν παρουσίασε προώθηση ενώ όλες οι εφαρμοζόμενες δόσεις πλην αυτής των 2,5 μl, είχαν ως αποτέλεσμα τη σταδιακή αύξηση της παρεμπόδισης της ανάπτυξής του.

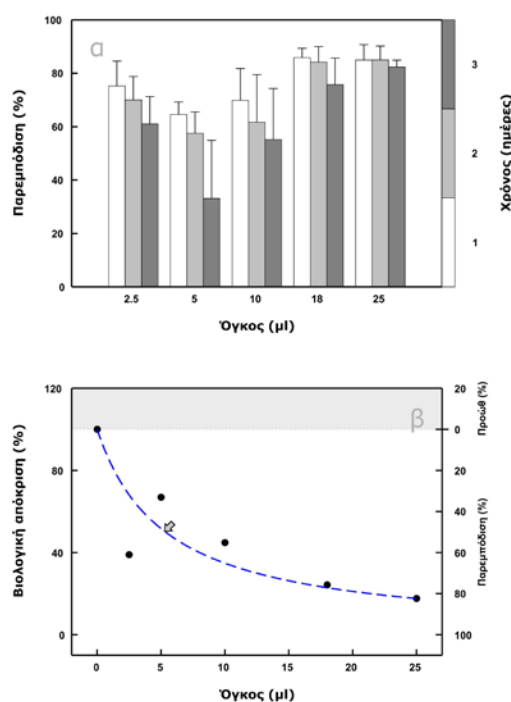
Στις εικόνες 11 και 12 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *B. cinerea* σε δύο διαφορετικά στερεά θρεπτικά μέσα. Σύμφωνα με την εικόνα 11.α, όπου ως θρεπτικό μέσο ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το PDA, η εφαρμογή του φυτικού υλικού επέδρασε αρνητικά στη μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα και στο τέλος του πειράματος η επίδραση αυτή για τις δόσεις άνω των 2,5 μl ήταν ομοιόμορφη ανεξάρτητα της αύξησης της δόσης. Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων της φάσης γραμμικής αύξησης του μύκητα, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως συνέπεια (α) τη μείωση του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης κατά 56% για τη δόση των 2,5 μl και περίπου κατά 75% για τις υπόλοιπες δόσεις και (β) τον διπλασιασμό έως περίπου και τον τριπλασιασμό της διάρκειας της φάσης υστέρησης (εικόνα 11.β).

Σύμφωνα με την εικόνα 11.γ, όπου ως θρεπτικό μέσο ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το UMM, η εφαρμογή του φυτικού υλικού επίσης επέδρασε αρνητικά στη μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα. Επιπλέον, στο τέλος του πειράματος η επίδραση αυτή για τις δόσεις άνω των 2,5 μl ήταν ομοιόμορφη ανεξάρτητα της αύξησης της δόσης. Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων της φάσης γραμμικής αύξησης του μύκητα, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως συνέπεια (α) τη μείωση του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης κατά 23% για τη δόση των 2,5 μl και κατά 50% περίπου για τις υπόλοιπες δόσεις και (β) την αύξηση της διάρκειας της φάσης υστέρησης κατά περίπου 150% για όλες τις δόσεις (εικόνα 11.δ). Επισημαίνεται πως η αλλαγή του θρεπτικού υποστρώματος από PDA σε UMM είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του ρυθμού αύξησης του μάρτυρα κατά 53% ενώ η διάρκεια της φάσης υστέρησης αυξήθηκε κατά 16% (εικόνα 11.β και δ).

Η παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μύκητα λόγω της εφαρμογής του φυτικού υλικού ήταν

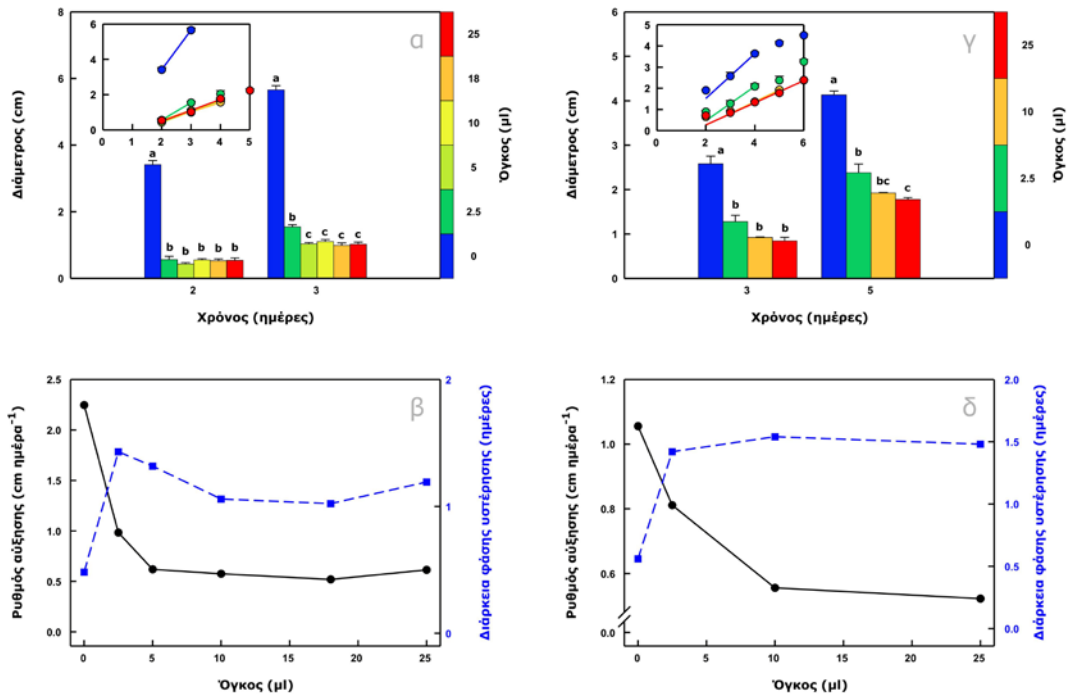
σημαντική και κυμάνθηκε στο τέλος του πειράματος μεταξύ 73 και 83% για το θρεπτικό μέσο PDA και μεταξύ 42 και 57% για το θρεπτικό μέσο UMM (εικόνα 12.α και γ). Σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, ο μύκητας δεν εμφάνισε προώθηση της ανάπτυξης εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης ενώ όλες οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σημαντική παρεμπόδιση της ανάπτυξής του και στα δύο θρεπτικά υποστρώματα (εικόνα 12.β και δ). Είναι ωστόσο αξιοσημείωτο ότι σε καμία περίπτωση δεν σημειώθηκε πλήρης παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μικροοργανισμού (εικόνα 12).

Στις εικόνες 13 και 14 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε δύο διαφορετικά στερεά θρεπτικά μέσα. Σύμφωνα με

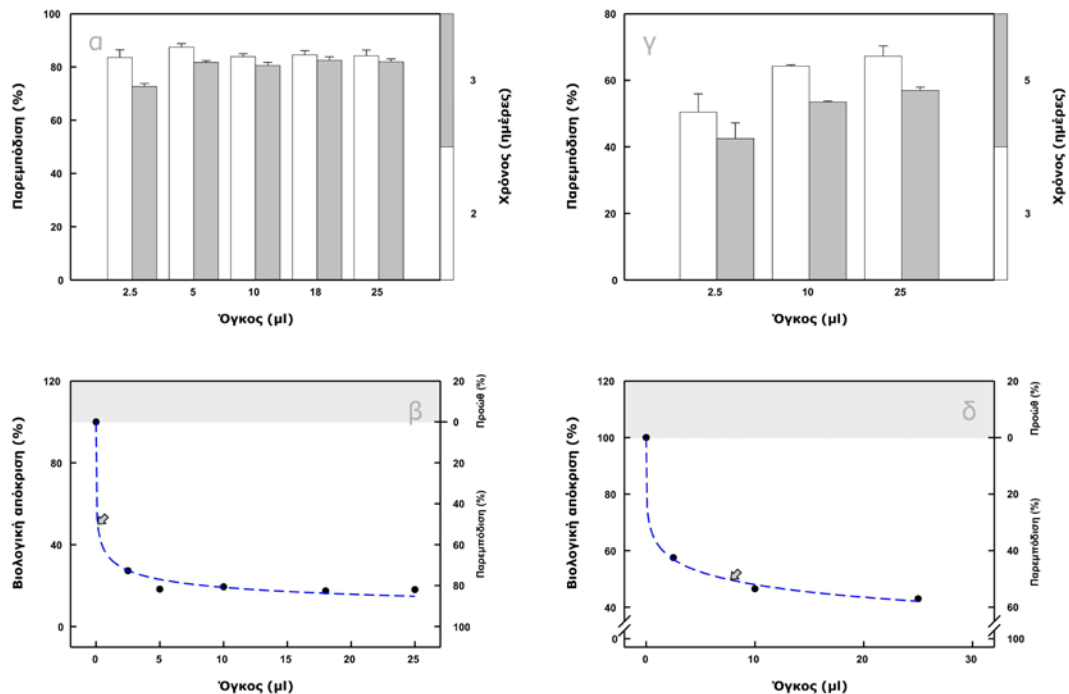


Εικόνα 10. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου μύκητα *U. maydis* σε στερεό θρεπτικό μέσο UCM σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεμφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι τρεις πρώτες ημέρες (α) ή η τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (β) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 5,33 \mu\text{l}$, $q = 1,00$, $R^2 = 0,937$. Το βέλος αντιστοιχεί στην τιμή $ID_{50} = 5,34 \mu\text{l}$. Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

-Αποτελέσματα-

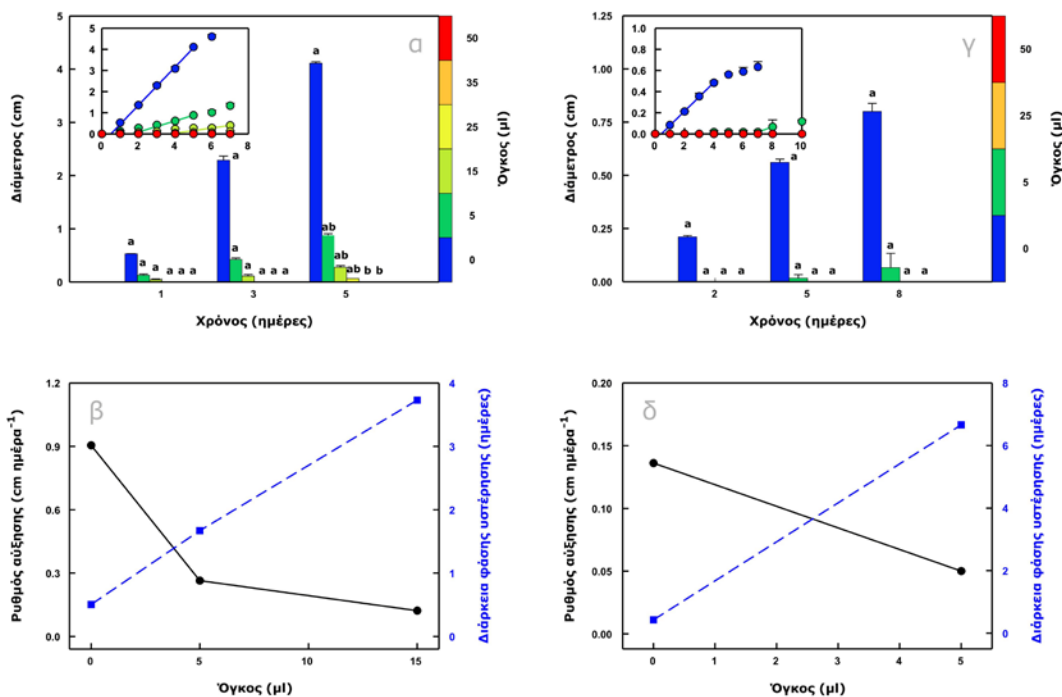


Εικόνα 11. α, γ. Μυκηλιακή ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (α) ή UMM (γ) σε συνάρτηση με το χρόνο υπό την επίδραση πέντε (α) ή τριών (γ) διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1. β, δ. Επίδραση διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus* στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (β) ή UMM (δ). Οι τιμές προέκυψαν μετά από προσαρμογή ευθειών στη γραμμική φάση των καμπυλών αύξησης όπως φαίνεται στα αντίστοιχα ένθετα των εικόνων (α) ή (γ).

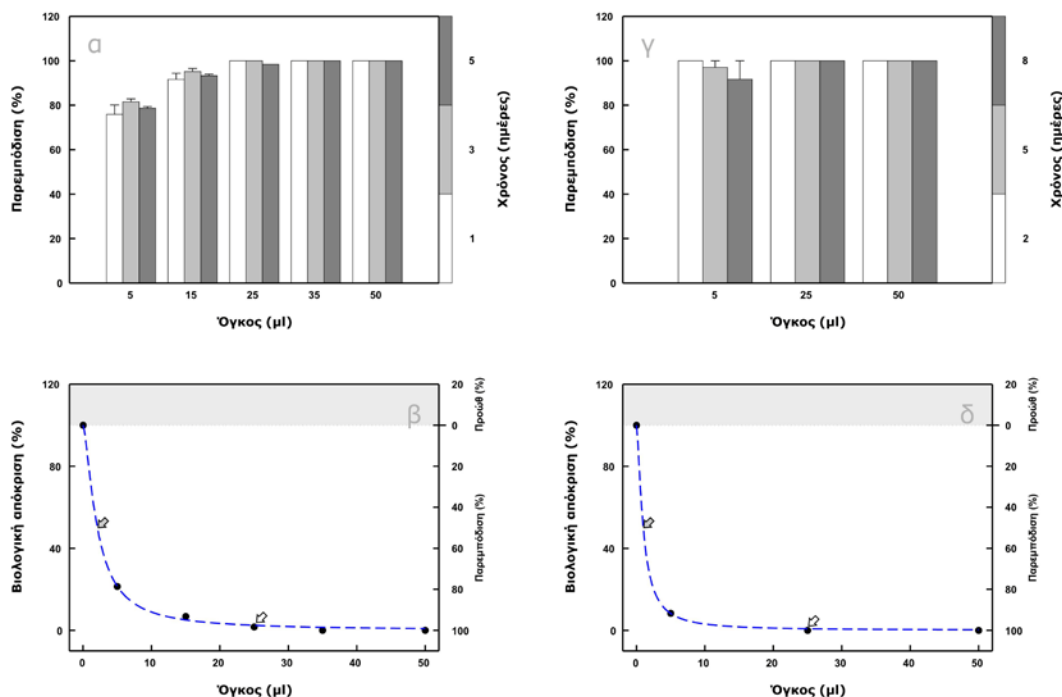


Εικόνα 12. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α, γ) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β, δ) της μυκηλιακής ανάπτυξης του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (α, β) ή UMM (γ, δ) σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται δύο αντιπροσωπευτικές ημέρες (α, γ) και η τρίτη (β) ή η πέμπτη (δ) ημέρα της καλλιέργειας. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Οι προσαρμοσμένες καμπύλες έχουν τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 0,14 \mu\text{l}$, $q = 0,337$, $R^2 = 0,997$ (β) και $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 7,25 \mu\text{l}$, $q = 0,259$, $R^2 = 1,000$ (δ). Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 0,149 \mu\text{l}$ (β) και $ID_{50} = 7,32 \mu\text{l}$ (δ). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

-Αποτελέσματα-



Εικόνα 13. α, γ. Μυκηλιακή ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (α) ή UMM (γ) σε συνάρτηση με το χρόνο υπό την επίδραση πέντε (α) ή τριών (γ) διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1. β, δ. Επίδραση διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus* στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (β) ή UMM (δ). Οι τιμές προέκυψαν μετά από προσαρμογή ευθείων στη γραμμική φάση των καμπυλών αύξησης όπως φαίνεται στα αντίστοιχα ένθετα των εικόνων (α) ή (γ).



Εικόνα 14. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α, γ) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β, δ) της μυκηλιακής ανάπτυξης του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (α, β) ή UMM (γ, δ) σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus*. Παρουσιάζονται δύο αντιπροσωπευτικές ημέρες (α, γ) και η πέμπτη (β) ή η όγδοη (δ) ημέρα της καλλιέργειας. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Οι προσαρμοσμένες καμπύλες έχουν τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 2,10 \mu\text{l}$, $q = 1,49$, $R^2 = 0,999$ (β) και $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 1,0 \mu\text{l}$, $q = 1,50$, $R^2 = 1,000$ (δ). Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 2,11 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 25 \mu\text{l}$ (λευκό) (β) και $ID_{50} = 1,01 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 25 \mu\text{l}$ (λευκό) (δ). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

την εικόνα 13.α, όπου ως θρεπτικό μέσο ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το PDA, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση της ανάπτυξης του μύκητα ενώ για δόσεις υψηλότερες από 15 μl η ανάπτυξη πρακτικά απουσίαζε. Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων της φάσης γραμμικής αύξησης του μύκητα, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως συνέπεια (α) τη μείωση του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης σε ποσοστά άνω του 70% ήδη από την δόση των 5 μl και (β) την σημαντική αύξηση της διάρκειας της φάσης υστέρησης (εικόνα 13.β). Αντίστοιχα, όταν ως θρεπτικό υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε το UMM, η ανάπτυξη του μύκητα υπό την επίδραση του φυτικού υλικού ήταν σχεδόν μηδενική σε όλες τις εφαρμοζόμενες δόσεις (εικόνα 13.γ) λόγω της επίδρασης του τόσο στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης όσο και στην διάρκεια της φάσης υστέρησης (εικόνα 13.δ). Επισημαίνεται πως η αλλαγή του θρεπτικού υποστρώματος από PDA σε UMM είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του ρυθμού αύξησης του μάρτυρα κατά 85% και της διάρκειας της φάσης υστέρησης κατά 15% (εικόνα 13.β και δ).

Η παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μύκητα λόγω της εφαρμογής του φυτικού υλικού ήταν σημαντική και κυμάνθηκε στο τέλος του πειράματος σε ποσοστά άνω του 78% και για τα δύο θρεπτικά υποστρώματα ανεξαρτήτως δόσης ενώ δόσεις των 25 μl και άνω προκάλεσαν σχεδόν πλήρη παρεμπόδιση της ανάπτυξης του (εικόνα 14.α και γ). Σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, ο μύκητας δεν εμφάνισε προώθηση της ανάπτυξης εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης (εικόνα 14.β και δ).

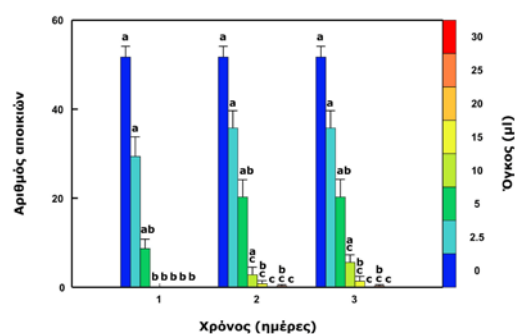
1.2. Επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *Dittrichia viscosa* στην *in vitro* ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

Στην παρούσα ενότητα εξετάστηκε η επίδραση του επιεφυμενιδικού υλικού του υπέργειου τμήματος του φυτού *D. viscosa* στην ανάπτυξη επιλεγμένων στελεχών φυτοπαθογόνων βακτηρίων και μυκήτων. Στα πειράματα της ενότητας χρησιμοποιήθηκε το χλωροφορμικό έκπλυμα του φυτού για τους ίδιους λόγους που

αναφέρονται και στην περίπτωση του φυτού *C. creticus* (βλ. ενότητα I.1).

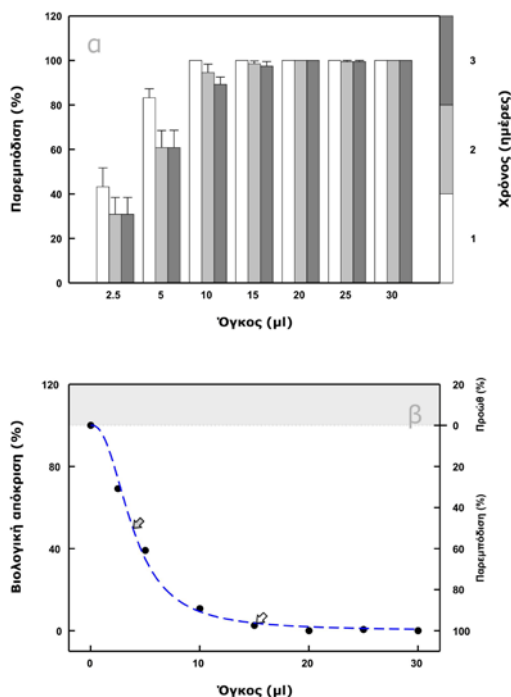
1.2.1. Βακτήρια

Στις εικόνες 15 και 16 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος του φυτού στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *P. syringae* pv *garcae*. Παρατηρείται ότι ο αριθμός των σχηματιζόμενων αποικιών του βακτηρίου μειώθηκε με την αύξηση του όγκου του εκπλύματος που επιστρώθηκε στην επιφάνεια του



Εικόνα 15. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv *garcae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

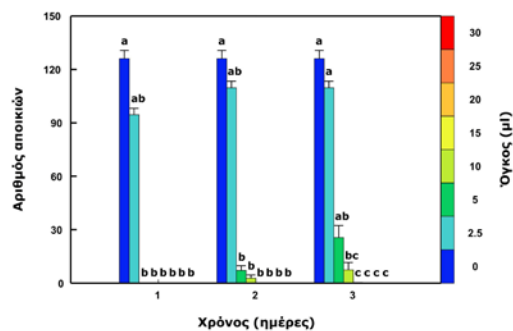
τρυβλίου. Σε εφαρμοζόμενες δόσεις έως και 5 μl σημειώθηκε ανάπτυξη αποικιών από την πρώτη ημέρα, με αύξηση του αριθμού τους στη συνέχεια. Αύξηση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών παρατηρείται και για τη δόση των 10 μl μεταξύ δεύτερης και τρίτης ημέρας (εικόνα 15). Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, οι εφαρμοζόμενες δόσεις άνω των 2,5 μl είχαν ως συνέπεια την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου σε ποσοστά υψηλότερα του 61%, με τις δόσεις άνω των 10 μl να προκαλούν πλήρη παρεμπόδιση σταθερά με το χρόνο. Πάντως, το υψηλότερο ποσοστό παρεμπόδισης για όλες τις εφαρμοζόμενες δόσεις παρατηρήθηκε κατά την πρώτη ημέρα όπου, εκτός από την περίπτωση της ελάχιστης δόσης των 2,5 μl, ανήλθε άνω του 83%. Πρακτικά, το ποσοστό παρεμπόδισης για όλες τις δόσεις σταθεροποιήθηκε από τη δεύτερη ημέρα και μετά (εικόνα 16.α). Όπως φαίνεται στην εικόνα 16.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η



Εικόνα 16. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**α**) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**β**) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv. *garcae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι τρεις πρώτες ημέρες (**α**) ή η τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (**β**) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (**β**) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 3,87 \mu\text{l}$, $q = 2,40$, $R^2 = 0,997$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 3,87 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 15 \mu\text{l}$ (λευκό). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

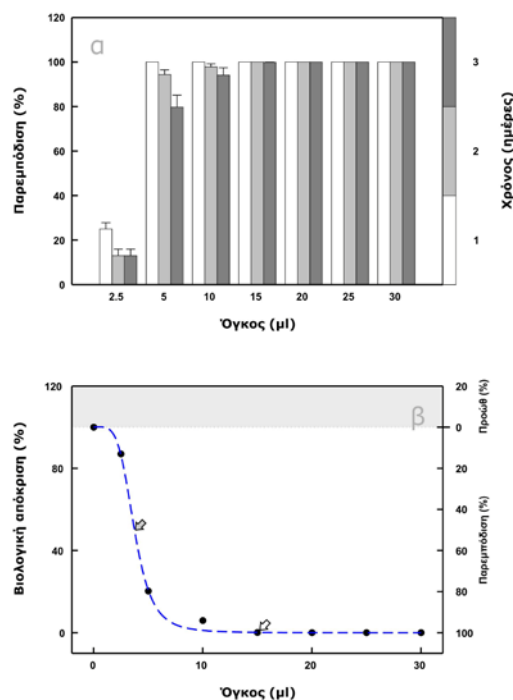
βιολογική απόκριση του βακτηρίου δεν παρουσίασε προώθηση ενώ όλες οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σταδιακή παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 17 και 18 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *P. syringae* subsp. *savastanoi*. Παρατηρείται ότι ο αριθμός των σχηματιζόμενων αποικιών του βακτηρίου μειώθηκε με την αύξηση του όγκου του εκπλύματος που επιστρώθηκε στην επιφάνεια του τρυβλίου. Ανάπτυξη αποικιών κατά την πρώτη ημέρα σημειώθηκε μόνο στην δόση των 2,5 μl στην οποία παρατηρήθηκε μικρή αύξηση του αριθμού τους στη συνέχεια. Αύξηση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών παρατηρείται και στις δόσεις των 5 και 10 μl μεταξύ δεύτερης και τρίτης ημέρας. Σε δόσεις άνω των 10 μl δεν



Εικόνα 17. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* subsp. *savastanoi* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι οκτώ επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

σημειώθηκε ανάπτυξη βακτηριακών αποικιών (εικόνα 17). Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, οι εφαρμοζόμενες δόσεις άνω των



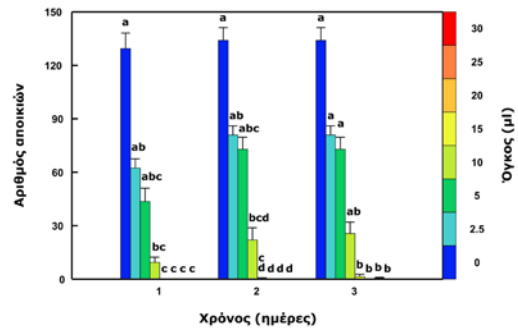
Εικόνα 18. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**α**) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**β**) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* subsp. *savastanoi* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι τρεις πρώτες ημέρες (**α**) ή η τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (**β**) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι οκτώ επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (**β**) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 3,74 \mu\text{l}$, $q = 4,60$, $R^2 = 0,999$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 3,75 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 15 \mu\text{l}$ (λευκό). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

-Αποτελέσματα-

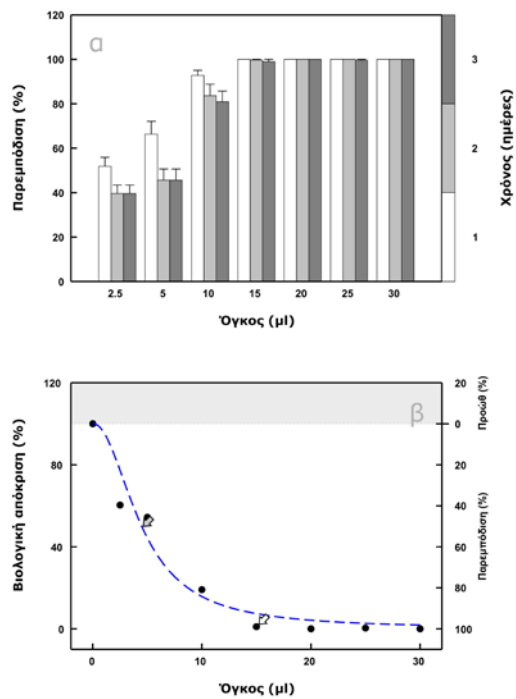
2,5 μl είχαν ως συνέπεια την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου σε ποσοστά υψηλότερα του 79%, με τις δόσεις άνω των 5 μl να προκαλούν σχεδόν πλήρη παρεμπόδιση σταθερά με το χρόνο. Πάντως, το υψηλότερο ποσοστό παρεμπόδισης για όλες τις εφαρμοζόμενες δόσεις παρατηρείται κατά την πρώτη ημέρα όπου, εκτός από την περίπτωση της ελάχιστης δόσης των 2,5 μl, ήταν ίσο με 100% (εικόνα 18.α). Σύμφωνα με την εικόνα 18.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου δεν παρουσίασε προώθηση ενώ σχεδόν όλες οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σημαντική παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 19 και 20 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *P. syringae* pv *syringae*. Παρατηρείται ότι ο αριθμός των σχηματιζόμενων αποικιών του βακτηρίου μειώθηκε με την αύξηση του όγκου του εκπλύματος που επιστρώθηκε στην επιφάνεια του τρυβλίου. Σε εφαρμοζόμενες δόσεις έως και 10 μl σημειώθηκε ανάπτυξη αποικιών από την πρώτη ημέρα, με αύξηση του αριθμού τους στη συνέχεια ενώ σε δόσεις άνω των 10 μl δεν σημειώθηκε πρακτικά ανάπτυξη βακτηριακών αποικιών (εικόνα 19). Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, όλες οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως συνέπεια την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 39 έως 100%. Ειδικότερα οι δόσεις άνω των 10 μl προκάλεσαν πλήρη παρεμπόδιση σταθερά με το χρόνο. Πάντως, το υψηλότερο ποσοστό παρεμπόδισης παρατηρείται κατά την πρώτη ημέρα όπου για όλες τις εφαρμοζόμενες δόσεις ανήλθε σε τιμές άνω του 51%. Πρακτικά, το ποσοστό παρεμπόδισης για όλες τις δόσεις σταθεροποιήθηκε από τη δεύτερη ημέρα και μετά (εικόνα 20.α). Σύμφωνα με την εικόνα 20.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου δεν παρουσίασε προώθηση ενώ οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σταδιακή αύξηση της παρεμπόδισης της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 21 και 22 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *X. campestris* pv *pelargonii*. Το συγκεκριμένο βακτήριο εμφανίστη-

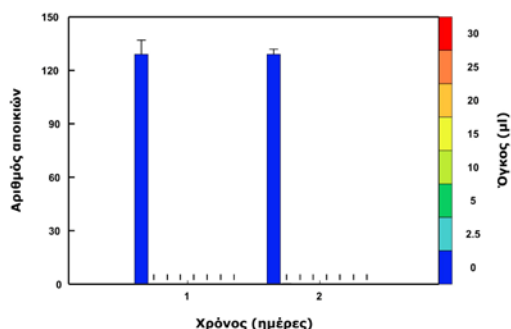


Εικόνα 19. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv *syringae* σε στερεό θρεπτικό μέσο ΝΑ σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι οκτώ επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

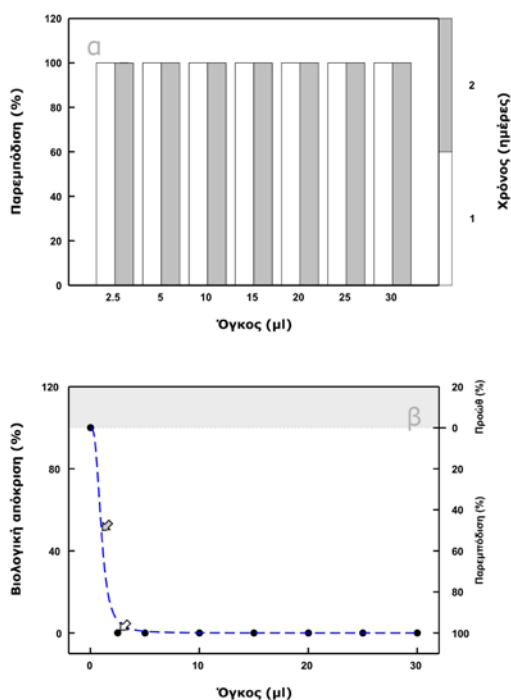


Εικόνα 20. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv *syringae* σε στερεό θρεπτικό μέσο ΝΑ σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι τρεις πρώτες ημέρες (α) ή τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (β) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι οκτώ επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 4,50 \mu\text{l}$, $q = 2,10$, $R^2 = 0,972$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 4,50 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 15 \mu\text{l}$ (λευκό). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

κε ιδιαίτερα ευαίσθητο στην παρουσία του εκπλύματος καθώς δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη αποικιών σε καμία από τις δόσεις οι οποίες



Εικόνα 21. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *X. campestris* pv *pelargonii* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Τα κάθετα σύμβολα κοντά στον οριζόντιο άξονα σημειώνουν την θέση των μέσων που είναι ίσοι με μηδέν. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.



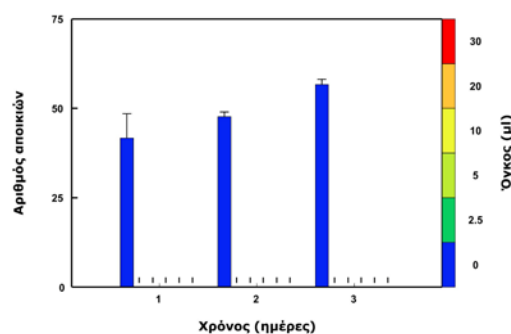
Εικόνα 22. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *X. campestris* pv *pelargonii* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι επτά επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 1,00 \mu\text{l}$, $q = 3,00$, $R^2 = 0,996$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 1,00 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 2,5 \mu\text{l}$ (λευκό). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

εφαρμόστηκαν (εικόνα 21). Κατά συνέπεια, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου δεν

παρουσίασε προώθηση ενώ οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την πλήρη παρεμπόδιση της ανάπτυξής του (εικόνα 22).

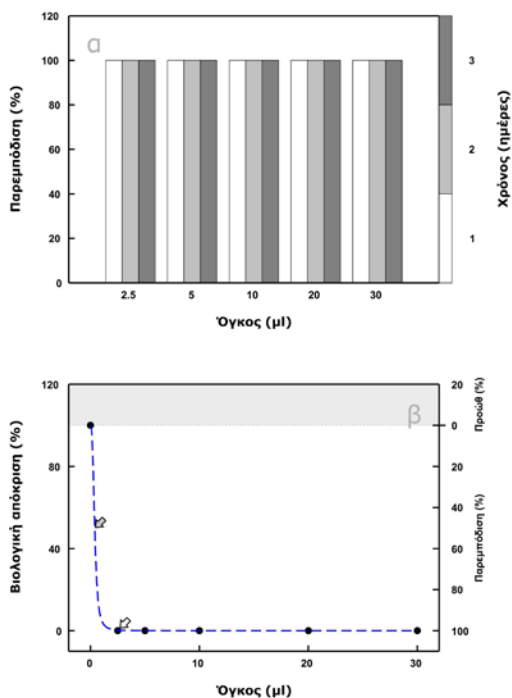
1.2.2. Μύκητες

Στις εικόνες 23 και 24 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του μύκητα *U. maydis*. Ο συγκεκριμένος μύκητας εμφανίστηκε ιδιαίτερα ευαίσθητος στην παρουσία του εκπλύματος καθώς δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη αποικιών σε καμία από τις δόσεις οι οποίες εφαρμόστηκαν (εικόνα 23). Κατά συνέπεια, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του μύκητα δεν παρουσίασε προώθηση ενώ οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την πλήρη παρεμπόδιση της ανάπτυξής του (εικόνα 24).



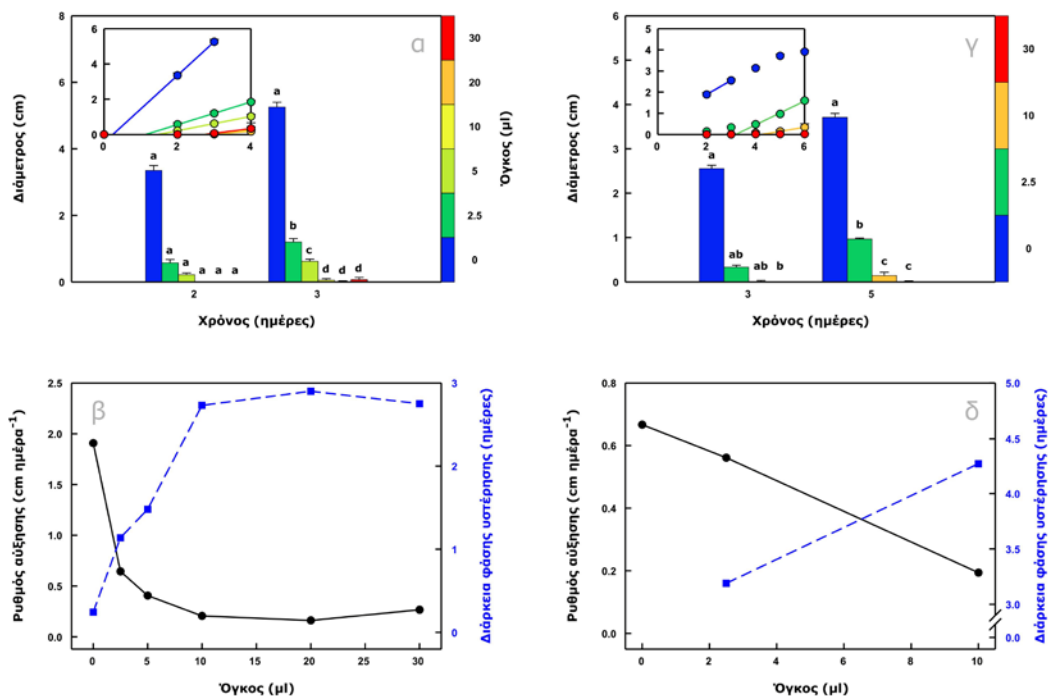
Εικόνα 23. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου μύκητα *U. maydis* σε στερεό θρεπτικό μέσο UCM σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση πέντε διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Τα κάθετα σύμβολα κοντά στον οριζόντιο άξονα σημειώνουν την θέση των μέσων που είναι ίσοι με μηδέν. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

Στις εικόνες 25 και 26 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *B. cinerea* σε δύο διαφορετικά στερεά θρεπτικά μέσα. Σύμφωνα με την εικόνα 25.a, όπου ως θρεπτικό μέσο ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το PDA, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση της ανάπτυξης του μύκητα ενώ για δόσεις υψηλότερες από 5 μl η ανάπτυξη πρακτικά απουσίαζε. Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων της φάσης γραμμικής αύξησης του μύκητα, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως συνέπεια (α) τη μείωση του



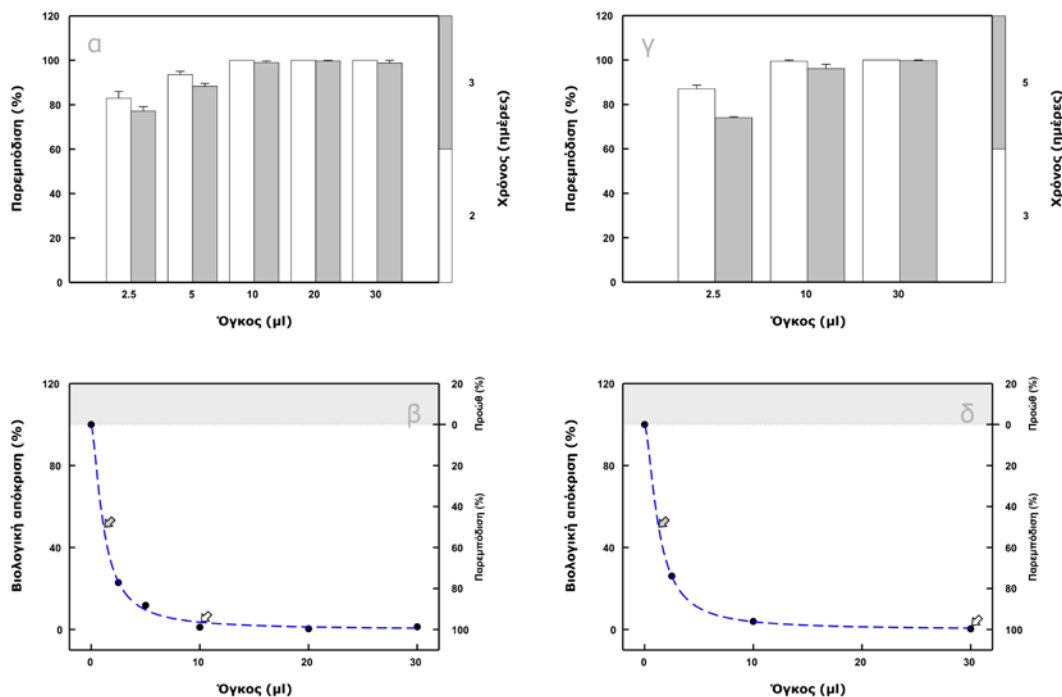
Εικόνα 24. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**α**) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**β**) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου μύκητα *U. maydis* σε στερεό θρεπτικό μέσο UCM σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι τρεις πρώτες ημέρες (**α**) ή η τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (**β**) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (**β**) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 0.40 \mu\text{l}$, $q = 3,10$, $R^2 = 1,000$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 0,41 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 2.5 \mu\text{l}$ (λευκό). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

ρυθμού μυκηλιακής αύξησης η οποία μεγιστοποιήθηκε σε δόσεις άνω των 5 μl και (**β**) την σημαντική αύξηση της διάρκειας της φάσης υστέρησης έως και δώδεκα φορές (εικόνα 25.β). Αντίστοιχα, όταν ως θρεπτικό υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε το UMM, η ανάπτυξη του μύκητα υπό την επίδραση του φυτικού υλικού μειώθηκε σημαντικά ανάλογα με την εφαρμοζόμενη δόση. Σημαντική και δοσοεξαρτώμενη ήταν επίσης η επίδραση του



Εικόνα 25. **α, γ.** Μυκηλιακή ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (**α**) ή UMM (**γ**) σε συνάρτηση με το χρόνο υπό την επίδραση πέντε (**α**) ή τριών (**γ**) διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1. **β, δ.** Επίδραση διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (**β**) ή UMM (**δ**). Οι τιμές προέκυψαν μετά από προσαρμογή ευθείων στη γραμμική φάση των καμπυλών αύξησης όπως φαίνεται στα αντίστοιχα ένθετα των εικόνων (**α**) ή (**γ**).

-Αποτελέσματα-



Εικόνα 26. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**α, γ**) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**β, δ**) της μυκηλιακής ανάπτυξης του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (**α, β**) ή UMM (**γ, δ**) σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεμφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται δύο αντιπροσωπευτικές ημέρες (**α, γ**) και η τρίτη (**β**) ή η πέμπτη (**δ**) ημέρα της καλλιέργειας. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Οι προσαρμοσμένες καμπύλες έχουν τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 1,15 \mu\text{l}$, $q = 1,53$, $R^2 = 0,999$ (**β**) και $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 1,29 \mu\text{l}$, $q = 1,59$, $R^2 = 1,000$ (**δ**). Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 1,15 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 10 \mu\text{l}$ (λευκό) (**β**) και $ID_{50} = 1,30 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 30 \mu\text{l}$ (λευκό) (**δ**). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

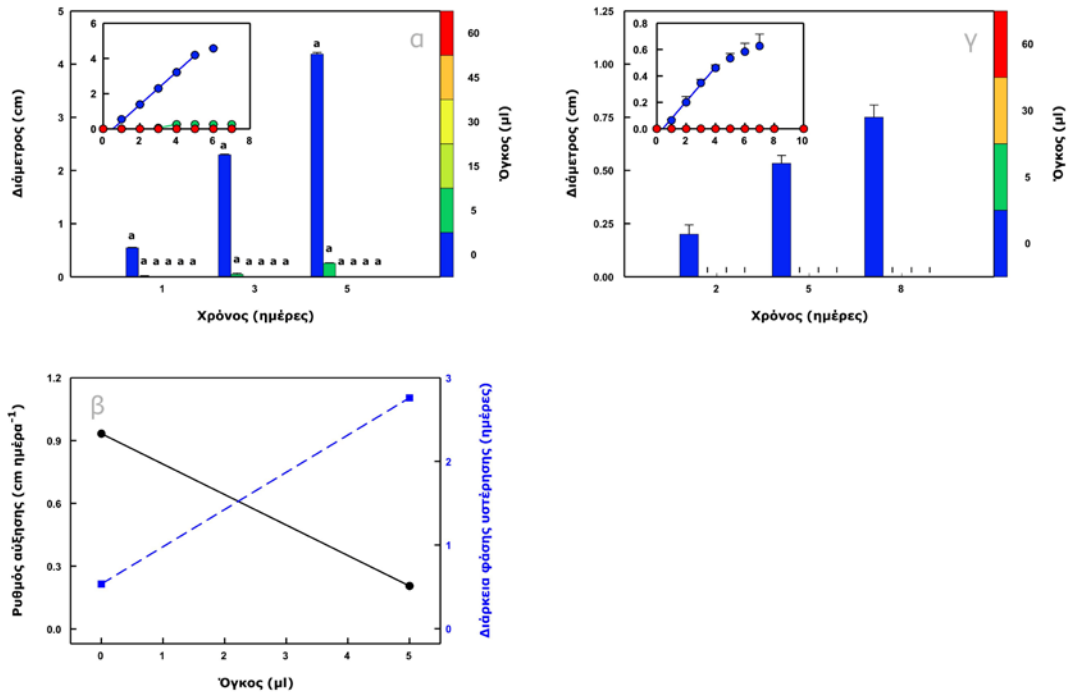
φυτικού υλικού στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης του μύκητα (εικόνα 25.δ). Επισημαίνεται πως η αλλαγή του θρεπτικού υποστρώματος από PDA σε UMM είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του ρυθμού αύξησης του μάρτυρα κατά 65% (εικόνα 25.β και δ). Η παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μύκητα λόγω της εφαρμογής του φυτικού υλικού ήταν σημαντική και κυμάνθηκε στο τέλος του πειράματος σε ποσοστά άνω του 74% και για τα δύο θρεπτικά υποστρώματα ανεξαρτήτως δόσης ενώ δόσεις άνω των 5 μl προκάλεσαν πλήρη παρεμπόδιση της ανάπτυξης του (εικόνα 26.α και γ). Σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, ο μύκητας δεν εμφάνισε προώθηση της ανάπτυξης εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης (εικόνα 26.β και δ).

Στις εικόνες 27 και 28 παρουσιάζεται η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε δύο διαφορετικά στερεά θρεπτικά μέσα. Τόσο σε

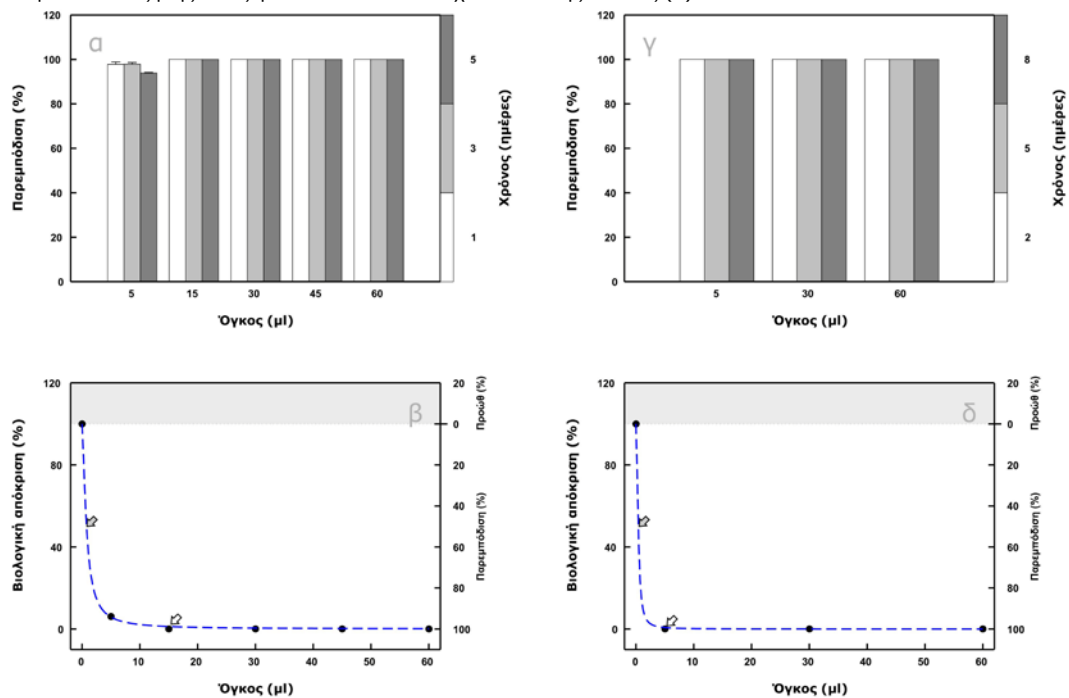
θρεπτικό μέσο PDA (εικόνα 27.α και β, εικόνα 28.α) όσο και σε UMM (εικόνα 27.γ, εικόνα 28.γ), η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως αποτέλεσμα την σχεδόν παντελή απουσία ανάπτυξης του μύκητα σε όλες τις εφαρμοζόμενες δόσεις. Σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, ο μύκητας δεν εμφάνισε προώθηση της ανάπτυξης εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης (εικόνα 28.β και δ). Επισημαίνεται πως η αλλαγή του θρεπτικού υποστρώματος από PDA σε UMM είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του ρυθμού αύξησης του μάρτυρα κατά 86% και της διάρκειας της φάσης υστέρησης κατά 22% (εικόνα 27).

Στην εικόνα 29 παρουσιάζεται η συνδυασμένη επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος και της τιμής pH του θρεπτικού μέσου UMM στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae*. Η εφαρμογή του φυτικού υλικού επέδρασε αρνητικά στην ανάπτυξη του μύκητα, επίδραση η οποία αμβλύνθηκε σημαντικά όταν το pH κυμάνθηκε σε

-Αποτελέσματα-

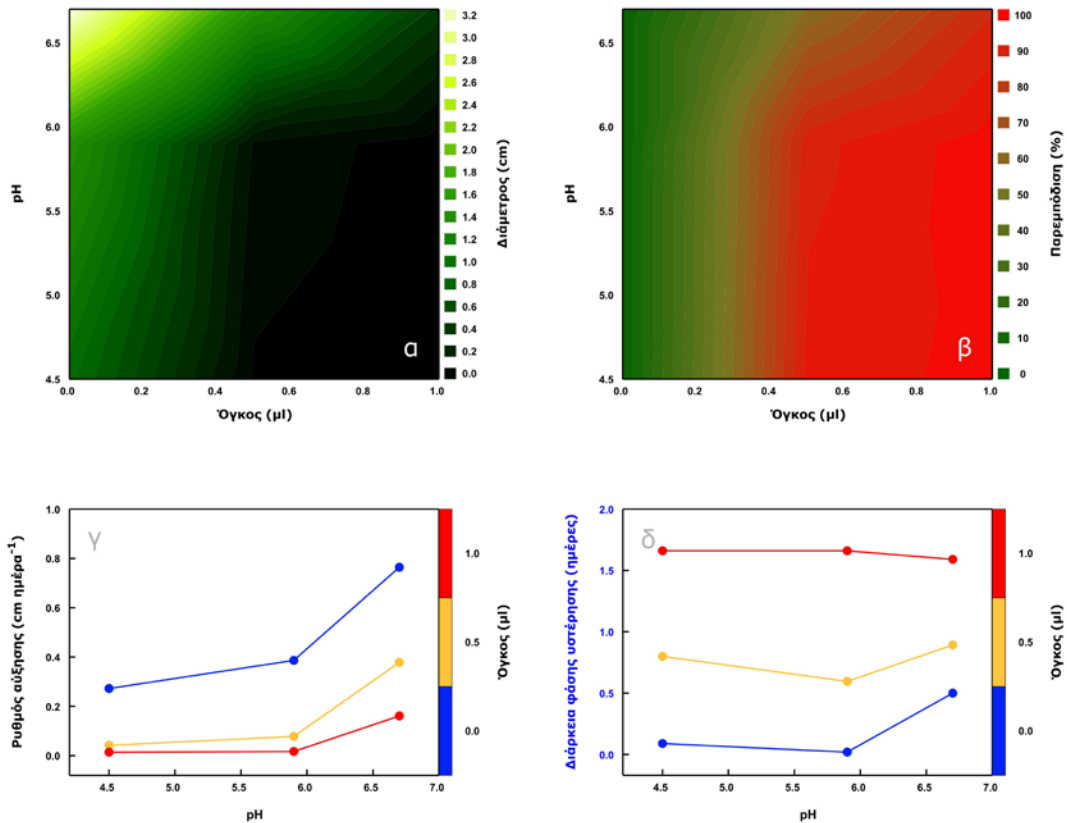


Εικόνα 27. α, γ. Μυκηλιακή ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (**α**) ή UMM (**γ**) σε συνάρτηση με το χρόνο υπό την επίδραση πέντε (**α**) ή τριών (**γ**) διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1. Στο (γ), τα κάθετα σύμβολα κοντά στον οριζόντιο άξονα σημειώνουν την θέση των μέσων που είναι ίσοι με μηδέν. **β.** Επίδραση διαφορετικών δόσεων του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης και τη διάρκεια φάσης υστέρησης του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA. Οι τιμές προέκυψαν μετά από προσαρμογή ευθειών στη γραμμική φάση των καμπυλών αύξησης όπως φαίνεται στο αντίστοιχο ένθετο της εικόνας (α).



Εικόνα 28. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**α, γ**) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**β, δ**) της μυκηλιακής ανάπτυξης του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA (**α, β**) ή UMM (**γ, δ**) σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται δύο αντιπροσωπευτικές ημέρες (**α, γ**) και η πέμπτη (**β**) ή η όγδοη (**δ**) ημέρα της καλλιέργειας. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων \pm τυπικό σφάλμα του μέσου. Οι προσαρμοσμένες καμπύλες έχουν τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 0,779 \mu\text{l}$, $q = 1,50$, $R^2 = 1,000$ (**β**) και $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 0,400 \mu\text{l}$, $q = 2,00$, $R^2 = 1,000$ (**δ**). Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 0,788 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 15 \mu\text{l}$ (λευκό) (**β**) και $ID_{50} = 0,411 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 5 \mu\text{l}$ (λευκό) (**δ**). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

-Αποτελέσματα-



Εικόνα 29. Μυκηλιακή ανάπτυξη (**α**) και παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της ανάπτυξης (**β**) του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο UMM σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* και το pH του θρεπτικού υποστρώματος. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων για την πέμπτη ημέρα του πειράματος. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1. **γ, δ.** Επίδραση του pH και της δόσης του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο UMM. Οι τιμές προέκυψαν μετά από προσαρμογή ευθειών στη γραμμική φάση των καμπυλών αύξησης (δεν παρουσιάζονται).

τιμές 5,9 και πάνω (εικόνα 29.α και β). Ενδεικτικά μπορεί να αναφερθεί ότι, σύμφωνα με την πρόβλεψη του διαγράμματος ισοϋψών, η μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα σε τιμή pH 6,7 για την δόση του 1 μl εμφανίστηκε ανάλογη αυτής που θα επιτυγχανόταν εάν η δόση ήταν μόλις 0,2-0,3 μl σε τιμή pH 4,5 (εικόνα 29.α). Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων της φάσης της γραμμικής αύξησης του μύκητα, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της διάρκειας της φάσης υστέρησης σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 79 έως 8637% καθώς και τη μείωση του ρυθμού αύξησης σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 50 έως 96%. Όμως, για κάθε επιμέρους δόση, η αύξηση της τιμής του pH προκάλεσε αύξηση του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης η οποία κυμάνθηκε από 20 έως 1058% (εικόνα 29.γ). Συνεπώς, η αύξηση της τιμής του pH του θρεπτικού μέσου είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική άμβλυνση της αρνητικής επίδρασης του φυτικού υλικού επί του

ρυθμού αύξησης, ειδικά σε τιμές 5,9 και πάνω (εικόνα 29.γ). Αντίθετα, η αλλαγή της τιμής του pH δεν επηρέασε αισθητά τη διάρκεια της φάσης υστέρησης για τις επιμέρους τιμές δόσης φυτικού υλικού (με εξαίρεση την μεταχείριση του μάρτυρα όπου σε τιμή pH 6,7 παρατηρήθηκε αύξηση της διάρκειας της φάσης υστέρησης κατά 461%) (εικόνα 29.δ).

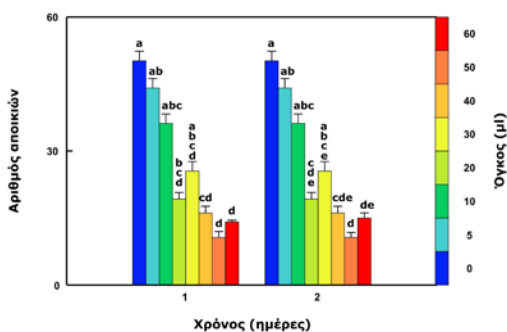
1.3. Επίδραση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *Dittrichia viscosa* στην *in vitro* ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

Στην παρούσα ενότητα εξετάστηκε η επίδραση του επιεφυμενιδικού υλικού του υπέργειου τμήματος του φυτού *D. viscosa* στην ανάπτυξη επιλεγμένων στελεχών φυτοπαθογόνων βακτηρίων και μυκήτων. Στα πειράματα της ενότητας χρησιμοποιήθηκε το υδατικό έκπλυμα

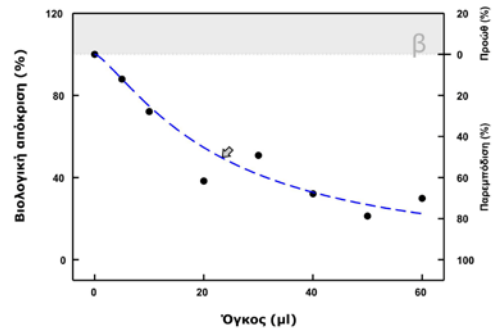
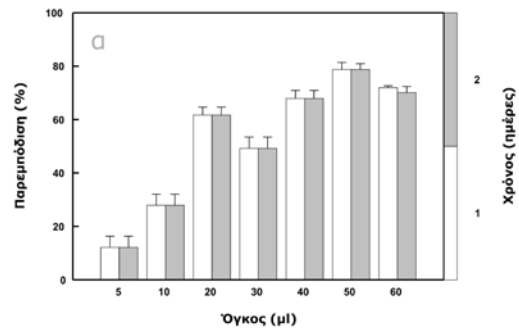
του φυτού λόγω της φυσιολογικής σημασίας του νερού ως του μόνου διαλύτη ο οποίος είναι διαθέσιμος στο περιβάλλον παρόλο που η χρήση του, σε αντιδιαστολή με την χρήση οργανικών διαλυτών όπως το χλωροφόρμιο, δεν συνιστάται για την εξαντλητική έκπλυση του επιεφυμενιδικού υλικού (Stephanou and Manetas, 1995; Stephanou and Manetas, 1997b).

1.3.1. Βακτήρια

Στις εικόνες 30 και 31 παρουσιάζεται η επίδραση του υδατικού εκπλύματος του φυτού στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *P. syringae* pv *garcae*. Παρατηρείται ότι κάθε μεταχείριση προκάλεσε μείωση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών. Ωστόσο, η μείωση δεν ήταν κατά αναλογία με την αύξηση της δόσης καθώς οι δόσεις των 30 και 60 μl προκάλεσαν μικρότερη ανάσχεση της αύξησης συγκριτικά με τις δόσεις των 20 και 50 μl αντίστοιχα. Σε όλες τις εφαρμοζόμενες δόσεις σημειώθηκε ανάπτυξη αποικιών από την πρώτη ημέρα και πρακτικά σταθεροποίηση του πλήθους τους στη συνέχεια (εικόνα 30). Σύμφωνα με την εικόνα 31.α, οι εφαρμοζόμενες δόσεις άνω των 10 μl είχαν ως συνέπεια την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου σε ποσοστά υψηλότερα του 49% σταθερά με το χρόνο. Ωστόσο, σε καμία από τις εφαρμοζόμενες δόσεις το ποσοστό της παρεμπόδισης δεν ανήλθε σε τιμή ανώτερη του 79%. Όπως φαίνεται στην εικόνα 31.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η



Εικόνα 30. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv *garcae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι εννέα επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

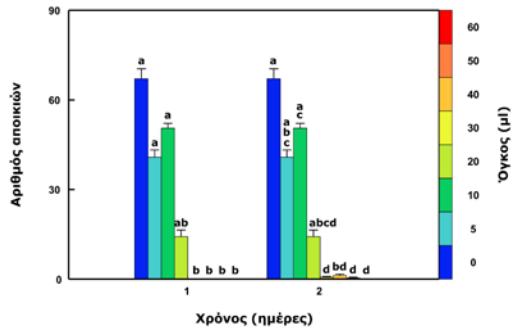


Εικόνα 31. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv *garcae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι δύο πρώτες ημέρες (α) ή η δεύτερη ημέρα της καλλιέργειας (β) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι εννέα επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 23,0 \mu\text{l}$, $q = 1,30$, $R^2 = 0,985$. Το βέλος αντιστοιχεί στην τιμή $ID_{50} = 23,0 \mu\text{l}$. Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

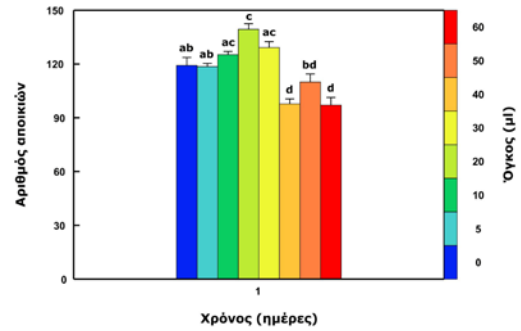
βιολογική απόκριση του βακτηρίου δεν παρουσίασε πρόωθηση ενώ όλες οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 32 και 33 παρουσιάζεται η επίδραση του υδατικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *P. syringae* subsp. *savastanoi*. Παρατηρείται ότι κάθε μεταχείριση προκάλεσε μείωση του αριθμού των σχηματιζόμενων αποικιών. Ωστόσο, η μείωση δεν ήταν κατά αναλογία με την αύξηση της δόσης καθώς η δόση των 10 μl προκάλεσε μικρότερη ανάσχεση της αύξησης συγκριτικά με την δόση των 5 μl. Ανάπτυξη αποικιών πρακτικά σημειώθηκε μόνο στις δόσεις έως 20 μl (εικόνα 32). Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, οι εφαρμοζόμενες δόσεις κάτω των 20 μl είχαν ως συνέπεια την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου σε ποσοστά από 24 έως 79% ενώ σε

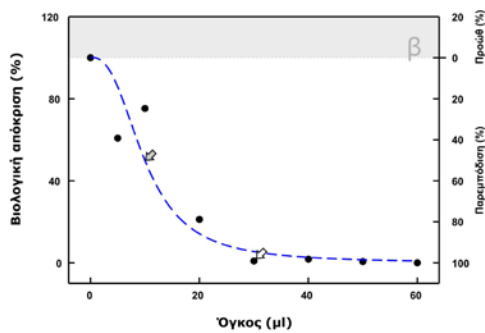
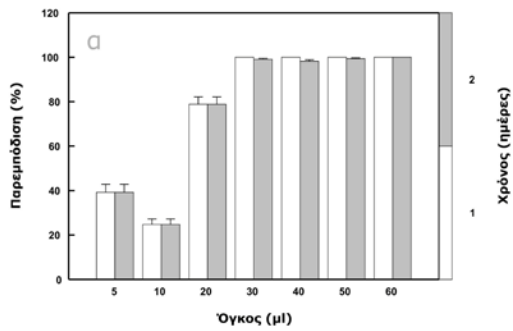
-Αποτελέσματα-



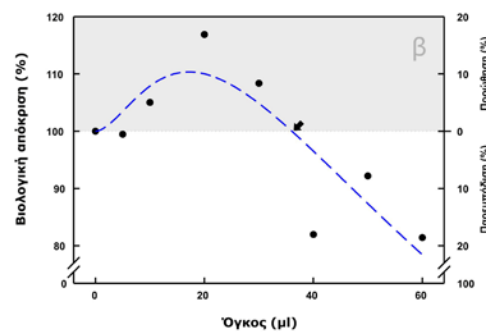
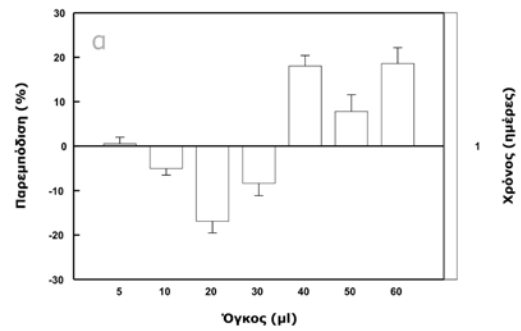
Εικόνα 32. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* subsp. *savastanoi* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι δέκα επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.



Εικόνα 34. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv. *syringae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA την πρώτη ημέρα της καλλιέργειας μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα, υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι εννέα επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.



Εικόνα 33. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**α**) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**β**) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* subsp. *savastanoi* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι δύο πρώτες ημέρες (**α**) ή η δεύτερη ημέρα της καλλιέργειας (**β**) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι δέκα επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 10,0 \mu\text{l}$, $q = 2,60$, $R^2 = 0,932$. Τα βέλος αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 10,0 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 30 \mu\text{l}$ (λευκό). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.



Εικόνα 35. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**α**) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**β**) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *P. syringae* pv. *syringae* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζεται η πρώτη ημέρα της καλλιέργειας μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι εννέα επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 41\%$, $x_s = 16,3 \mu\text{l}$, $I_m = 141\%$, $x_i = 73,0 \mu\text{l}$, $q = 1,70$, $R^2 = 0,996$. Το βέλος αντιστοιχεί στην τιμή $ID_{thr} = 36,1 \mu\text{l}$. Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

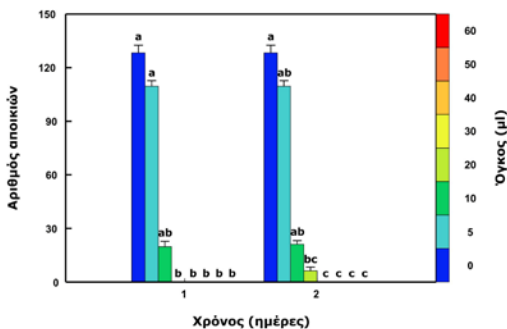
υψηλότερες δόσεις, η παρεμπόδιση ήταν πρακτικά πλήρης (εικόνα 33.α). Σύμφωνα με την εικόνα 33.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζό-

μενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου δεν παρουσίασε προώθηση ενώ οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την

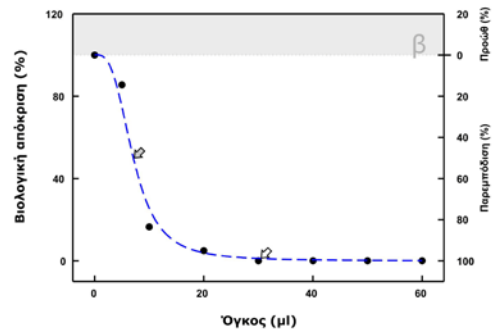
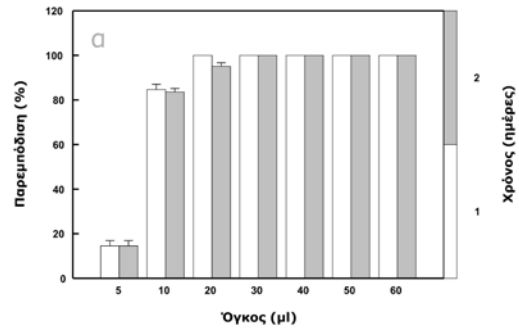
σταδιακή αύξηση της παρεμπόδισης της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 34 και 35 παρουσιάζεται η επίδραση του υδατικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *P. syringae* pv *syringae*. Παρατηρείται ότι ο αριθμός των σχηματιζόμενων αποικιών του βακτηρίου εμφάνισε διακύμανση λόγω εφαρμογής του φυτικού υλικού. Συγκεκριμένα, σε δόσεις έως και 30 μl σημειώθηκε αύξηση του αριθμού των αποικιών συγκριτικά με το μάρτυρα ενώ σε μεγαλύτερες δόσεις σημειώθηκε μείωση (εικόνα 34). Η μικρότερη δόση η οποία προκάλεσε παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου βρέθηκε στα 40 μl ενώ σε κάθε περίπτωση η παρεμπόδιση δεν ξεπέρασε το 19% (εικόνα 35.α). Σύμφωνα με την εικόνα 35.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου παρουσίασε προώθηση σε χαμηλές δόσεις του φυτικού υλικού ενώ υψηλότερες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 36 και 37 παρουσιάζεται η επίδραση του υδατικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *X. campestris* pv *pelargonii*. Η παρουσία του εκπλύματος είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του αριθμού των αποικιών του βακτηρίου ήδη από την μικρότερη δόση των 5 μl ενώ σε δόσεις ανώτερες των 20 μl δεν σημειώθηκε ανάπτυξη αποικιών. Η δόση των 20 μl ήταν ο μόνος χειρισμός στον οποίο παρατηρήθηκε ανάπτυξη αποικιών μετά την



Εικόνα 36. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *X. campestris* pv *pelargonii* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση επτά διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι δέκα επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

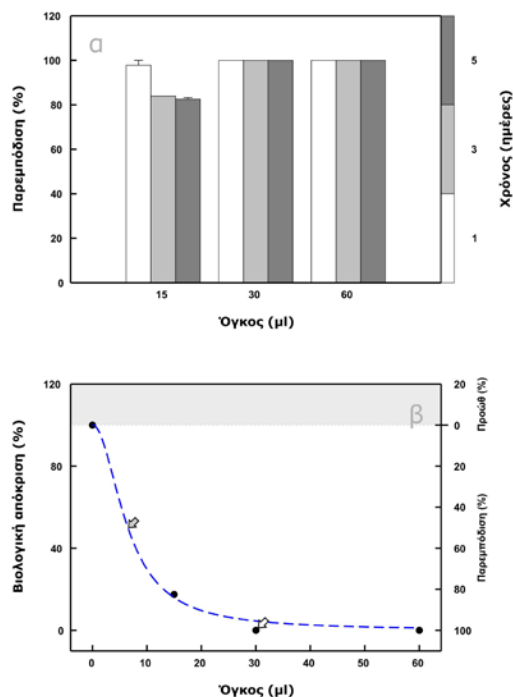
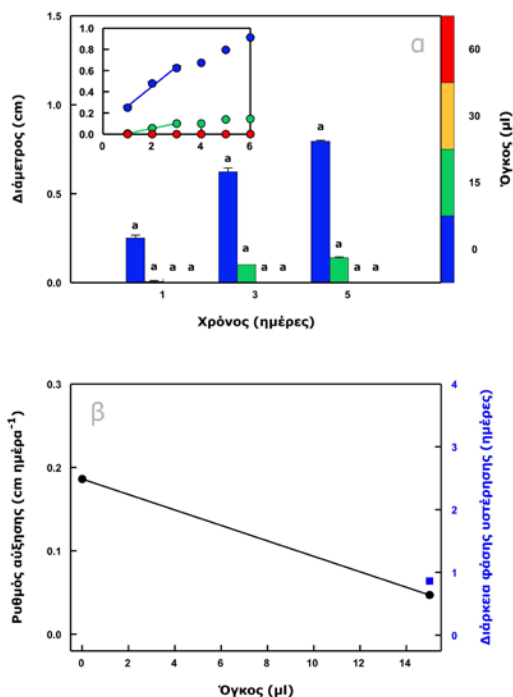


Εικόνα 37. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *X. campestris* pv *pelargonii* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι δύο πρώτες ημέρες (α) ή η δεύτερη ημέρα της καλλιέργειας (β) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι δέκα επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \mu\text{l}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 7,10 \mu\text{l}$, $q = 3,10$, $R^2 = 0,989$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{50} = 7,10 \mu\text{l}$ (γκρι) και $LID_{100} = 30 \mu\text{l}$ (λευκό). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

πρώτη ημέρα (εικόνα 36). Στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου δεν παρουσίασε προώθηση ενώ σχεδόν όλες οι εφαρμοζόμενες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σημαντική παρεμπόδιση της ανάπτυξής του (εικόνα 37).

1.3.2. Μύκητες

Στις εικόνες 38 και 39 παρουσιάζεται η επίδραση του υδατικού εκπλύματος στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο UMM. Η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως αποτέλεσμα την περιορισμένη ανάπτυξη του μύκητα μόνο στην δόση των 15 μl (εικόνες 38.α και 39.α). Μάλιστα, στην δόση αυτή, ο ρυθμός μυκηλιακής αύξησης του μύκητα μειώθηκε κατά 75% (εικόνα 38.β). Σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, ο μύκητας δεν



εμφάνισε προώθηση της ανάπτυξης εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης (εικόνα 39.β).

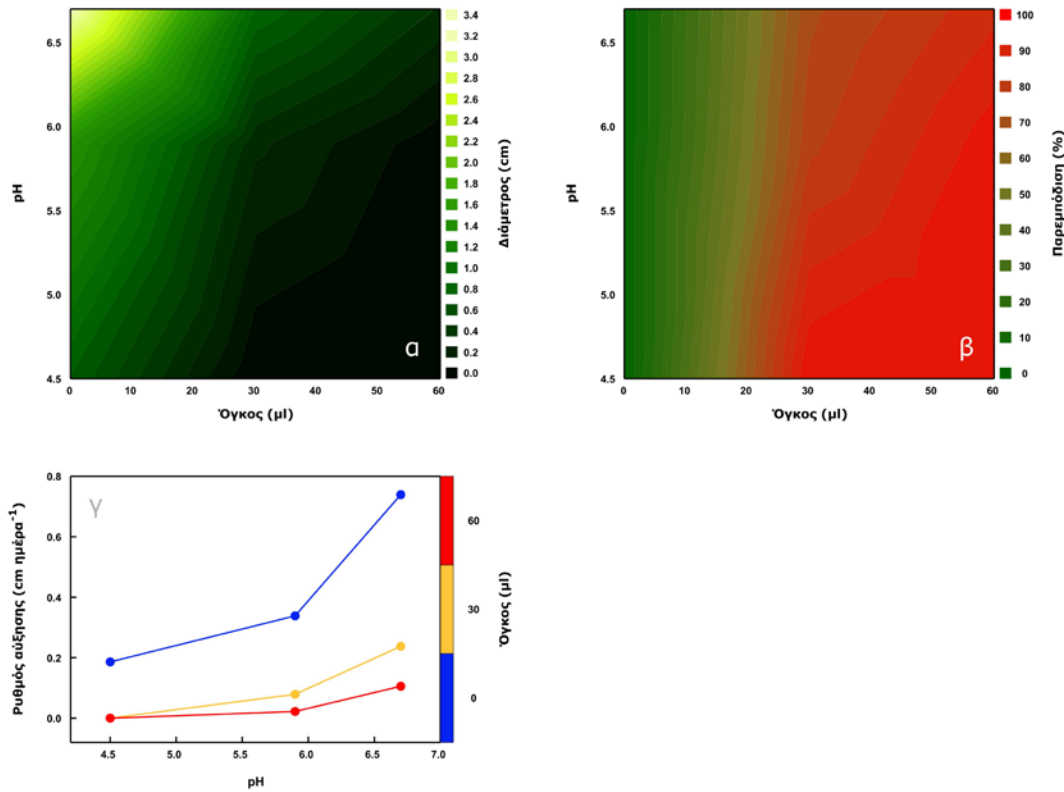
Στην εικόνα 40 παρουσιάζεται η συνδυασμένη επίδραση του υδατικού εκπλύματος και της τιμής pH του θρεπτικού μέσου UMM στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae*. Η εφαρμογή του φυτικού υλικού επέδρασε αρνητικά στην ανάπτυξη του μύκητα, επίδραση η οποία εξαρτήθηκε από την τιμή του pH (εικόνα 40.α και β). Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων της φάσης της γραμμικής αύξησης του μύκητα, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού αύξησης σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 68 έως 100%. Για κάθε επιμέρους χειρισμό, η αύξηση της τιμής του pH προκάλεσε αύξηση του ρυθμού μυκηλιακής

αύξησης η οποία για τον μάρτυρα κυμάνθηκε από 82 έως 297% ενώ στις δόσεις 30 και 60 μl είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη του μύκητα σε αντίθεση με την απουσία ανάπτυξης όταν η τιμή του pH ήταν 4,5 (εικόνα 40.γ).

1.4. Επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *Dittrichia viscosa* στην *in vitro* ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

Στην παρούσα ενότητα εξετάστηκε η επίδραση του επιεφυμενιδικού υλικού του υπέργειου τμήματος του φυτού *D. viscosa* στην ανάπτυξη επιλεγμένων στελεχών φυτοπαθογόνων βακτηρίων και μυκήτων. Στα πειράματα της ενότητας χρησιμοποιήθηκε το λυοφιλιωμένο

-Αποτελέσματα-



Εικόνα 40. Μυκηλιακή ανάπτυξη (α) και παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της ανάπτυξης (β) του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο UMM σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* και το pH του θρεπτικού υποστρώματος. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων για την πέμπτη ημέρα του πειράματος. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1. γ. Επίδραση του pH και της δόσης του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης του φυτοπαθογόνου μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* σε στερεό θρεπτικό μέσο UMM. Οι τιμές προέκυψαν μετά από προσαρμογή ευθειών στη γραμμική φάση των καμπυλών αύξησης (δεν παρουσιάζονται).

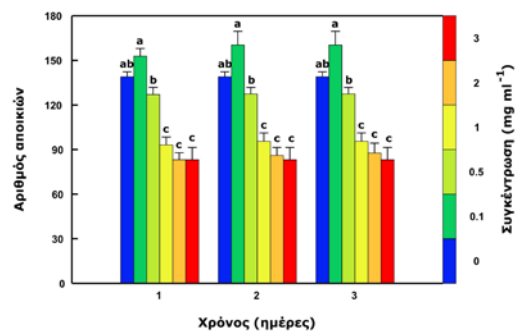
υδατικό έκπλυμα του φυτού λόγω των πλεονεκτημάτων της λυοφιλιωμένης μορφής αναφορικά με την αποθήκευση και εφαρμογή του επιεφυμενιδικού υλικού.

επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Μικρή αύξηση του αριθμού των αποικιών

1.4.1. Βακτήρια

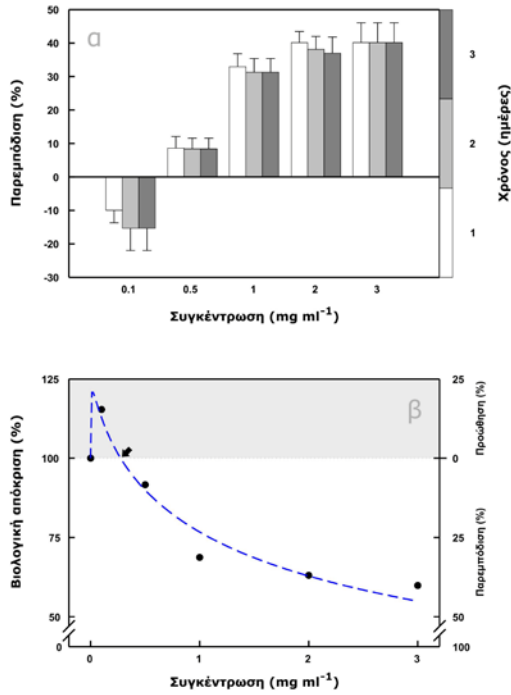
Στις εικόνες 41 και 42 παρουσιάζεται η επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος στην *in vitro* ανάπτυξη του βακτηρίου *E. amylovora*. Εκτός της δόσης των 0,1 mg ml⁻¹, η εφαρμογή των δόσεων προκάλεσε μείωση του αριθμού των αποικιών του βακτηρίου η οποία ήταν στατιστικά σημαντική μετά την δόση των 0,5 mg ml⁻¹ (εικόνα 41). Σε κάθε περίπτωση, η παρεμπόδιση δεν ξεπέρασε το 40% (εικόνα 42.α) ενώ σύμφωνα με την εικόνα 42.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου παρουσίασε προώθηση σε χαμηλές δόσεις του φυτικού υλικού ενώ υψηλότερες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.

Στις εικόνες 43 και 44 παρουσιάζεται η



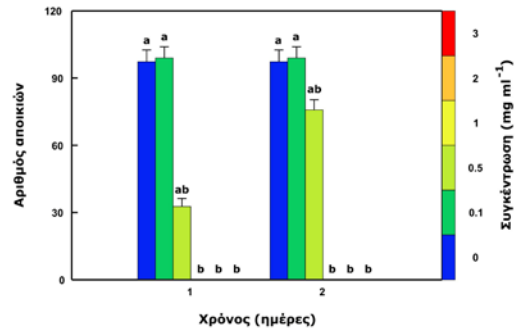
Εικόνα 41. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *E. amylovora* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση πέντε διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι έξι επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (P ≤ 0,05).

-Αποτελέσματα-

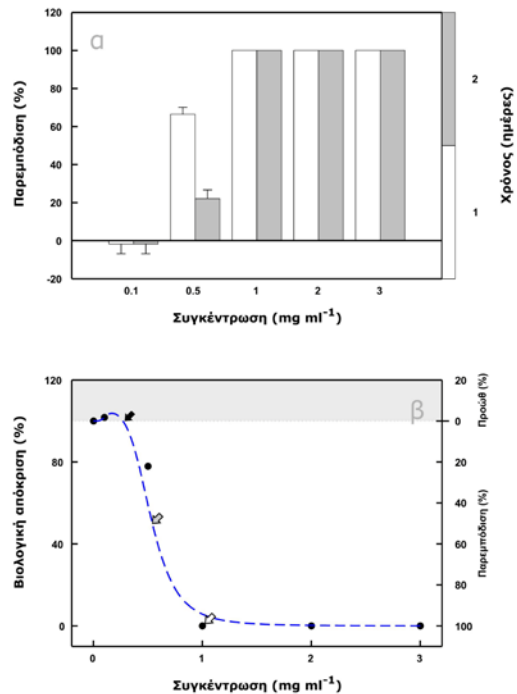


Εικόνα 42. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**α**) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**β**) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *E. amylovora* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι τρεις πρώτες ημέρες (**α**) ή η τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (**β**) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι έξι επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 50\%$, $x_s = 0,005 \text{ mg ml}^{-1}$, $I_m = 150\%$, $x_i = 1,21 \text{ mg ml}^{-1}$, $q = 0,57$, $R^2 = 0,998$. Το βέλος αντιστοιχεί στην τιμή $ID_{thr} = 0,27 \text{ mg ml}^{-1}$. Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

σημειώθηκε μόνο στην μικρότερη από τις εφαρμοζόμενες δόσεις ($0,1 \text{ mg ml}^{-1}$) ενώ υψηλότερες δόσεις προκάλεσαν μείωση του αριθμού των αποικιών του βακτηρίου. Ιδιαίτερα από την δόση του 1 mg ml^{-1} και πάνω δεν σημειώθηκε ανάπτυξη αποικιών (εικόνα 43) και συνεπώς η παρεμπόδιση ήταν πλήρης (εικόνα 44.α). Η επίδραση του φυτικού υλικού στην ανάπτυξη του βακτηρίου σταθεροποιήθηκε από την δεύτερη ημέρα και μετά. Σύμφωνα με την εικόνα 44.β, στα πλαίσια τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης, η βιολογική απόκριση του βακτηρίου παρουσίασε πρόωθηση σε χαμηλές δόσεις του φυτικού υλικού ενώ υψηλότερες δόσεις είχαν ως αποτέλεσμα την σημαντική παρεμπόδιση της ανάπτυξής του.



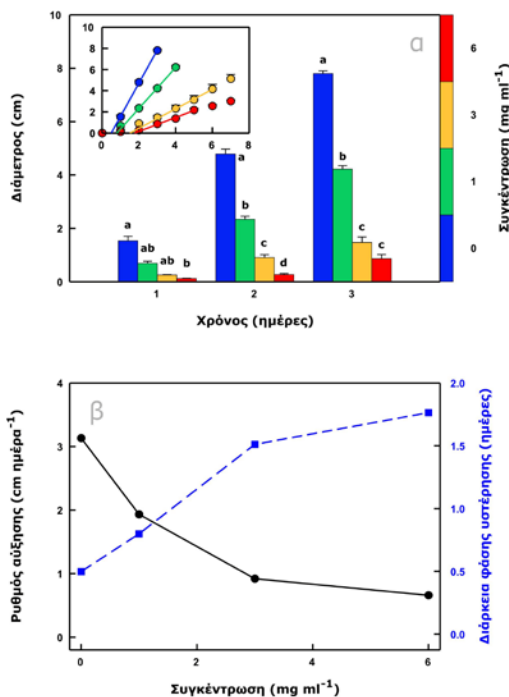
Εικόνα 43. Αριθμός αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με το χρόνο (μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα), υπό την επίδραση πέντε διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι έξι επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 41.



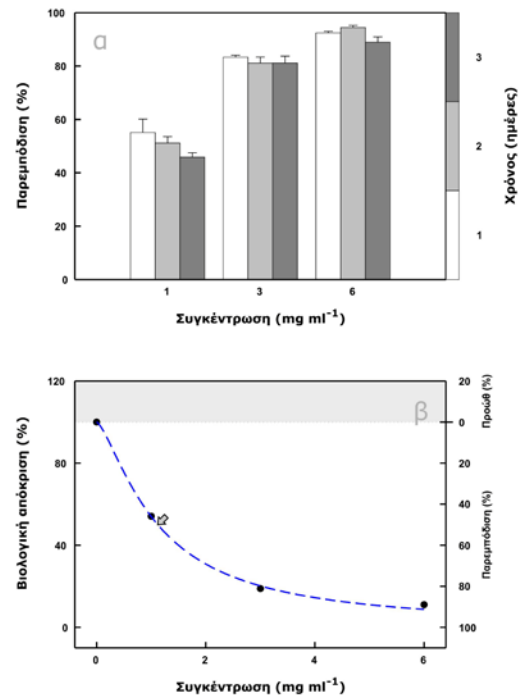
Εικόνα 44. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**α**) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (**β**) της ανάπτυξης αποικιών του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι δύο πρώτες ημέρες (**α**) ή η δεύτερη ημέρα της καλλιέργειας (**β**) μετά την εμφάνιση των αποικιών στο μάρτυρα. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι έξι επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 5\%$, $x_s = 0,112 \text{ mg ml}^{-1}$, $I_m = 105\%$, $x_i = 0,53 \text{ mg ml}^{-1}$, $q = 4,50$, $R^2 = 0,986$. Τα βέλη αντιστοιχούν στις τιμές $ID_{thr} = 0,27 \text{ mg ml}^{-1}$ (μαύρο), $ID_{50} = 0,54 \text{ mg ml}^{-1}$ (γκρι) και $LID_{100} = 1,00 \text{ mg ml}^{-1}$ (λευκό). Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

1.4.2. Μύκητες

Στις εικόνες 45 και 46 παρουσιάζεται η επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *B. cinerea*. Παρατηρείται ότι η διάμετρος του αναπτυσσόμενου μυκηλίου μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του φυτικού υλικού που επιστρώθηκε στην επιφάνεια του τρυβλίου (εικόνα 45.α). Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων της φάσης γραμμικής αύξησης του μύκητα, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως συνέπεια (α) τη μείωση του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης κατά 38% για τη δόση του 1 mg ml⁻¹ και άνω του 70% για τις υπόλοιπες δόσεις και (β) την αύξηση της διάρκειας της φάσης υστέρησης κατά 60% για τη δόση του 1 mg ml⁻¹ και άνω του 200% για τις δόσεις των 3 και 6 mg ml⁻¹ (εικόνα 45.β). Κατά συνέπεια, στη διάρκεια του πειράματος η παρεμπόδιση της



Εικόνα 45. α. Μυκηλιακή ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA σε συνάρτηση με το χρόνο υπό την επίδραση τριών διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 41. **β.** Επίδραση διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA. Οι τιμές προέκυψαν μετά από προσαρμογή ευθειών στη γραμμική φάση των καμπυλών αύξησης όπως φαίνεται στο αντίστοιχο ένθετο της εικόνας (α).



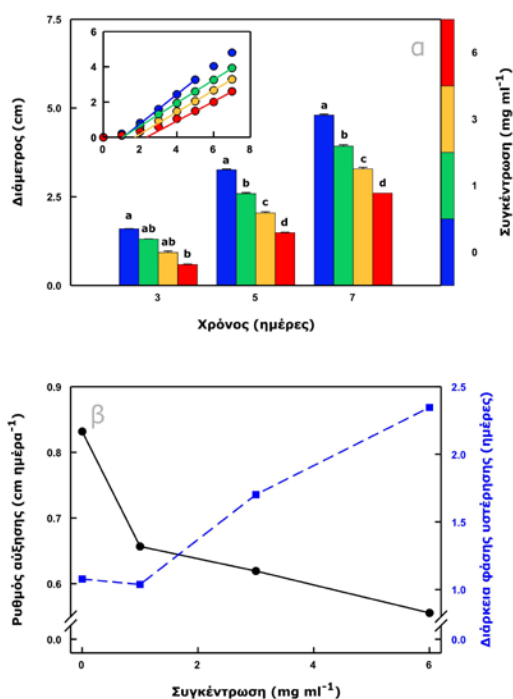
Εικόνα 46. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της μυκηλιακής ανάπτυξης του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται τρεις αντιπροσωπευτικές ημέρες (α) ή η τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (β). Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \text{ mg ml}^{-1}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 1.12 \text{ mg ml}^{-1}$, $q = 1,40$, $R^2 = 1,000$. Το βέλος αντιστοιχεί στην τιμή $ID_{50} = 1,12 \text{ mg ml}^{-1}$. Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

μυκηλιακής ανάπτυξης κυμάνθηκε σε ποσοστά άνω του 45% για τη δόση του 1 mg ml⁻¹ και άνω του 81% για τις υπόλοιπες δόσεις (εικόνα 46.α) ενώ σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, ο μύκητας δεν εμφάνισε προώθηση της ανάπτυξης εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης (εικόνα 46.β).

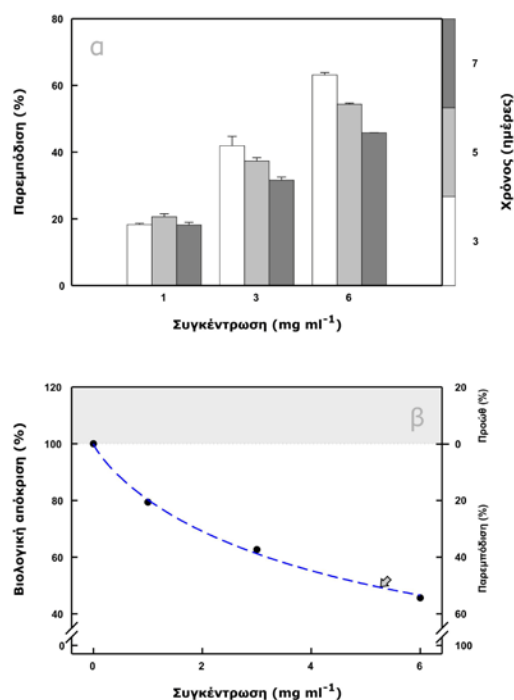
Στις εικόνες 47 και 48 παρουσιάζεται η επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *Fusarium* sp. Παρατηρείται ότι η διάμετρος του αναπτυσσόμενου μυκηλίου μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του φυτικού υλικού που επιστρώθηκε στην επιφάνεια του τρυβλίου (εικόνα 47.α). Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων της φάσης γραμμικής αύξησης του μύκητα, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως συνέπεια (α) τη μείωση του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης σε ποσοστά που κυμάνθηκαν

μεταξύ 21 και 33% για τις εφαρμοζόμενες δόσεις και (β) την αύξηση της διάρκειας της φάσης υστέρησης κατά 58 και 118% για τις δόσεις των 3 και 6 mg ml⁻¹ αντίστοιχα ενώ η διάρκεια της φάσης υστέρησης ουσιαστικά δεν μεταβλήθηκε για τη δόση του 1 mg ml⁻¹ (εικόνα 47.β). Κατά συνέπεια, η παρεμπόδιση της μυκηλιακής ανάπτυξης για τη δόση του 1 mg ml⁻¹ κυμάνθηκε σε ποσοστά κοντά στο 20% καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος ενώ για τις υπόλοιπες δόσεις δεν ξεπέρασε το 46% στο τέλος του πειράματος (εικόνα 48.α). Τέλος, σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, ο μύκητας δεν εμφάνισε προώθηση της ανάπτυξης εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης (εικόνα 48.β).

Στις εικόνες 49 και 50 παρουσιάζεται η επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος στην *in vitro* μυκηλιακή ανάπτυξη



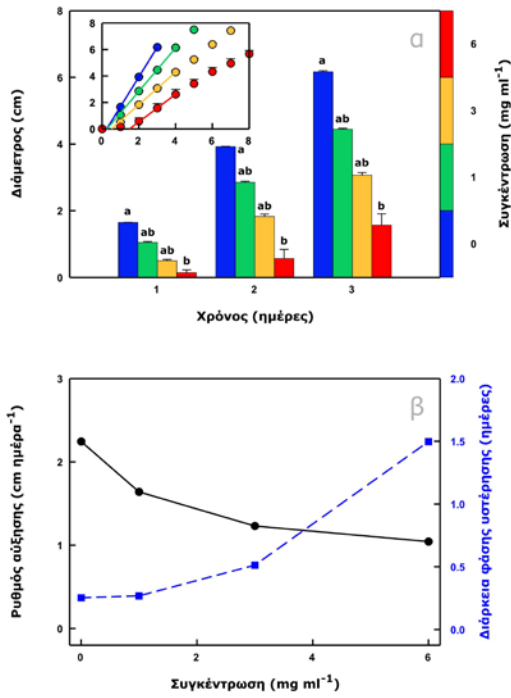
Εικόνα 47. α. Μυκηλιακή ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA σε συνάρτηση με το χρόνο υπό την επίδραση τριών διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 41. **β.** Επίδραση διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA. Οι τιμές προέκυψαν μετά από προσαρμογή ευθειών στη γραμμική φάση των καμπυλών αύξησης όπως φαίνεται στο αντίστοιχο ένθετο της εικόνας (α).



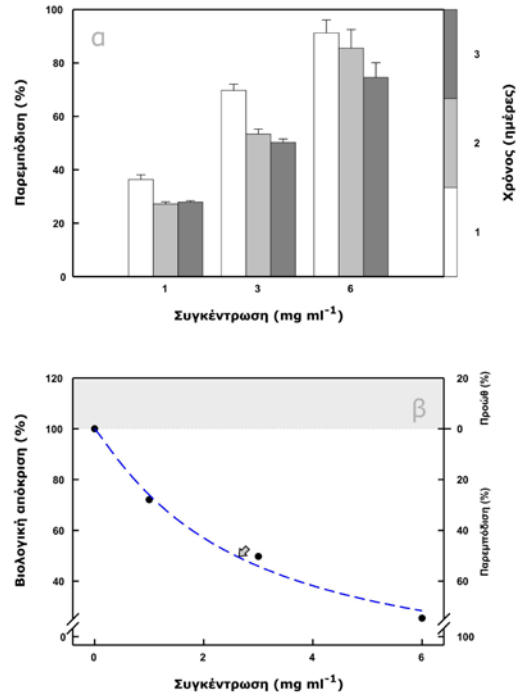
Εικόνα 48. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της μυκηλιακής ανάπτυξης του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται τρεις αντιπροσωπευτικές ημέρες (α) ή η πέμπτη ημέρα της καλλιέργειας (β). Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \text{ mg ml}^{-1}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 5.09 \text{ mg ml}^{-1}$, $q = 0,858$, $R^2 = 1,000$. Το βέλος αντιστοιχεί στην τιμή $ID_{50} = 5,10 \text{ mg ml}^{-1}$. Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

του μύκητα *S. sclerotiorum*. Παρατηρείται ότι η διάμετρος του αναπτυσσόμενου μυκηλίου μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του φυτικού υλικού που επιστρώθηκε στην επιφάνεια του τρυβλίου (εικόνα 49.α). Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων της φάσης γραμμικής αύξησης του μύκητα, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως συνέπεια (α) τη μείωση του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης σε ποσοστά που κυμάνθηκαν μεταξύ 27 και 53% για τις εφαρμοζόμενες δόσεις και (β) το διπλασιασμό έως και περίπου τον εξαπλασιασμό της διάρκειας της φάσης υστέρησης για τις δόσεις των 3 και 6 mg ml⁻¹ αντίστοιχα ενώ η διάρκεια της φάσης υστέρησης ουσιαστικά δεν μεταβλήθηκε για τη δόση του 1 mg ml⁻¹ (εικόνα 49.β). Κατά συνέπεια, τα υψηλότερα ποσοστά παρεμπόδισης της μυκηλιακής ανάπτυξης παρατηρήθηκαν την πρώτη ημέρα του πειράματος τα οποία έτειναν να σταθεροποιηθούν στη

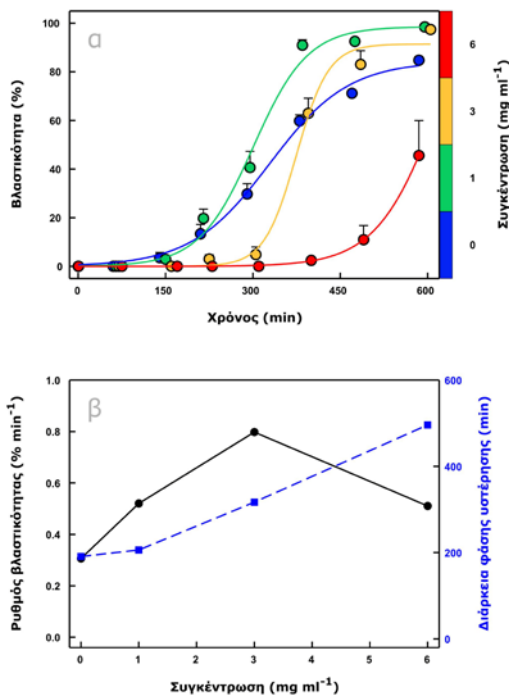
-Αποτελέσματα-



Εικόνα 49. α. Μυκηλιακή ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα *S. sclerotiorum* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA σε συνάρτηση με το χρόνο υπό την επίδραση τριών διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 41. **β.** Επίδραση διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στον ρυθμό μυκηλιακής αύξησης και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης του φυτοπαθογόνου μύκητα *S. sclerotiorum* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA. Οι τιμές προέκυψαν μετά από προσαρμογή ευθειών στη γραμμική φάση των καμπυλών αύξησης όπως φαίνεται στο αντίστοιχο ένθετο της εικόνας (α).



Εικόνα 50. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της μυκηλιακής ανάπτυξης του φυτοπαθογόνου μύκητα *S. sclerotiorum* σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται τρεις αντιπροσωπευτικές ημέρες (α) ή η τρίτη ημέρα της καλλιέργειας (β). Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \text{ mg ml}^{-1}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 2.58 \text{ mg ml}^{-1}$, $q = 1,10$, $R^2 = 0,999$. Το βέλος αντιστοιχεί στην τιμή $ID_{50} = 2,58 \text{ mg ml}^{-1}$. Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.



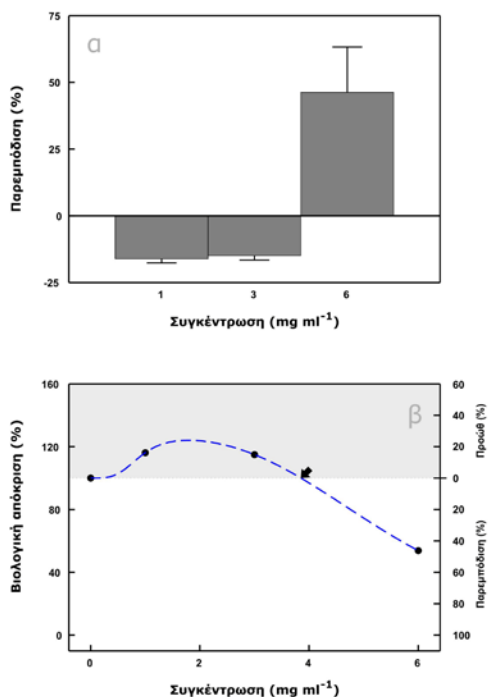
Εικόνα 51. α. Βλαστικότητα σπορίων του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο WA σε συνάρτηση με το χρόνο υπό την επίδραση τριών διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Οι καμπύλες βλάστησης περιγράφονται από την εξίσωση $y = \frac{a}{1 + e^{-\left(\frac{x-x_0}{\beta}\right)}}$. **β.** Επίδραση διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στον ρυθμό και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης της βλάστησης των σπορίων του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο WA. Οι τιμές προέκυψαν από ανάλυση του γραμμικού τμήματος των προσαρμοσμένων καμπυλών βλάστησης.

συνέχεια σε τιμές μεταξύ 28 και 75% (εικόνα 50.α). Τέλος, σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, ο μύκητας δεν εμφάνισε προώθηση της ανάπτυξης εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης (εικόνα 50.β).

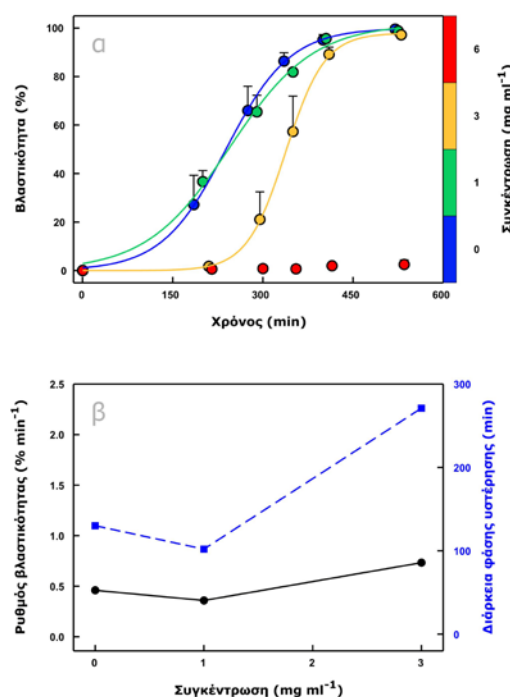
Στις εικόνες 51 και 52 παρουσιάζεται η επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος στην βλαστικότητα των σπορίων του μύκητα *B. cinerea*. Παρατηρείται ότι στα χρονικά πλαίσια του πειράματος το τελικό ποσοστό των βλαστημένων σπορίων του μύκητα επηρεάστηκε θετικά από τις δόσεις των 1 και 3 mg ml⁻¹ και αρνητικά από την δόση των 6 mg ml⁻¹ (εικόνα 51.α). Βάσει της ανάλυσης των δεδομένων του γραμμικού τμήματος των καμπυλών βλάστησης, η εφαρμογή του φυτικού υλικού είχε ως συνέπεια (α) την αύξηση του ρυθμού βλάστησης σε ποσοστά 70 και 67% για τις δόσεις των 1 και 6 mg ml⁻¹ αντίστοιχα και σε ποσοστό 160% για τη δόση των 3 mg ml⁻¹ και (β) την αύξηση της

διάρκειας της φάσης υστέρησης της βλάστησης σε ποσοστά μεταξύ 8 και 160% (εικόνα 51.β). Σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης παρατηρείται προώθηση η οποία ακολουθείται από παρεμπόδιση της βλάστησης των σπορίων του μύκητα η οποία δεν ξεπερνά το 46% (εικόνα 52.α και β).

Στις εικόνες 53 και 54 παρουσιάζεται η επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος στην βλαστικότητα των σπορίων του μύκητα *Fusarium* sp. Παρατηρείται ότι στα χρονικά πλαίσια του πειράματος οι δόσεις των 1 και 3 mg ml⁻¹ δεν επηρέασαν το τελικό ποσοστό των βλαστημένων σπορίων του μύκητα (εικόνα 53.α). Πρέπει όμως να επισημανθεί ότι βάσει της ανάλυσης των δεδομένων του γραμμικού τμήματος των καμπυλών βλάστησης, η δόση του 1 mg ml⁻¹ προκάλεσε μείωση τόσο του ρυθμού όσο και της διάρκειας φάσης υστέρησης της

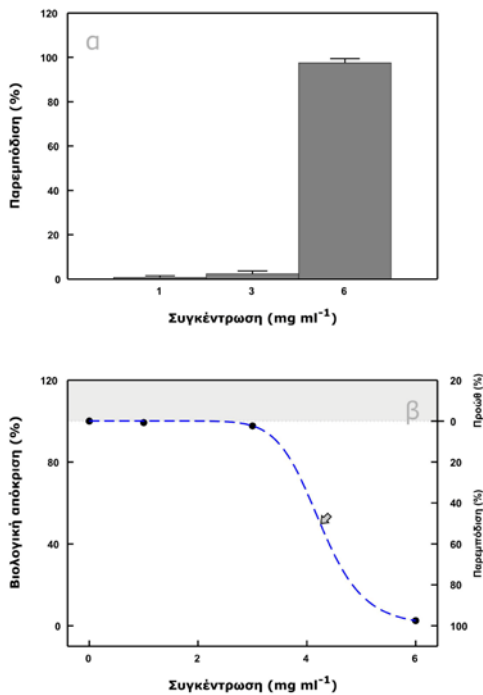


Εικόνα 52. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της βλαστικότητας των σπορίων του φυτοπαθογόνου μύκητα *B. cinerea* σε στερεό θρεπτικό μέσο WA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεμφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στο τέλος του πειράματος. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 29\%$, $x_s = 0,925 \text{ mg ml}^{-1}$, $I_m = 129\%$, $x_i = 5,46 \text{ mg ml}^{-1}$, $q = 3,57$, $R^2 = 1,000$. Το βέλος αντιστοιχεί στην τιμή $ID_{thr} = 3,85 \text{ mg ml}^{-1}$. Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.



Εικόνα 53. α. Βλαστικότητα σπορίων του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. σε στερεό θρεπτικό μέσο WA σε συνάρτηση με το χρόνο υπό την επίδραση τριών διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεμφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. **β.** Επίδραση διαφορετικών δόσεων του υδατικού εκπλύματος του επιεμφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στον ρυθμό και τη διάρκεια της φάσης υστέρησης της βλάστησης των σπορίων του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. σε στερεό θρεπτικό μέσο WA. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 51.

βλάστησης περίπου κατά 22% ενώ η δόση των 3 mg ml⁻¹ προκάλεσε αύξηση του ρυθμού και της διάρκειας φάσης υστέρησης της βλάστησης κατά 59 και 108% αντίστοιχα (εικόνα 53.β). Τέλος, σε αντίθεση με τις μικρότερες δόσεις, η δόση των 6 mg ml⁻¹ προκάλεσε σχεδόν πλήρη παρεμπόδιση της βλάστησης των σπορίων του μύκητα (εικόνας 53.α και 54.α) ενώ σύμφωνα με την ανάλυση της βιολογικής απόκρισης, εντός των ορίων τιμών της εφαρμοζόμενης δόσης δεν παρατηρήθηκε προώθηση της βλάστησης (εικόνα 54.β).

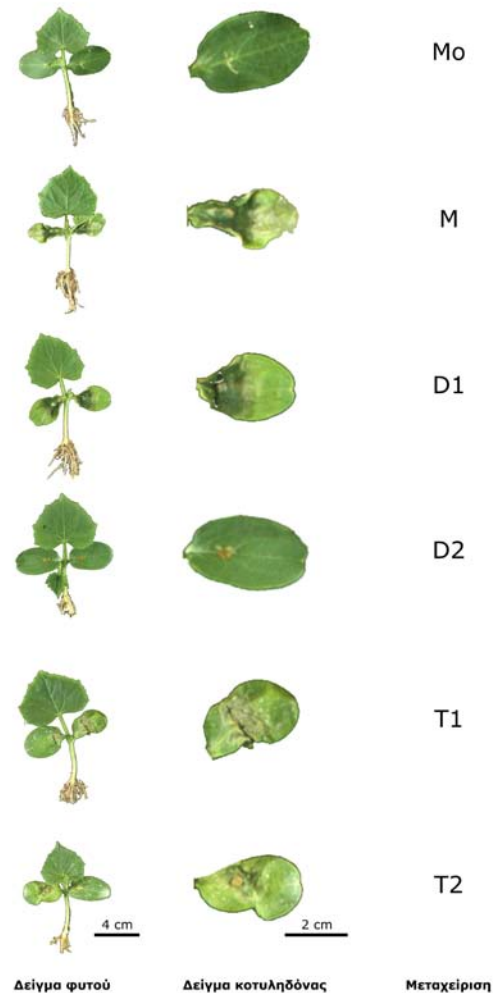


Εικόνα 54. Παρεμπόδιση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (α) και βιολογική απόκριση (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) (β) της βλαστικότητα των σπορίων του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. σε στερεό θρεπτικό μέσο WA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στο τέλος του πειράματος. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι τριών επαναληψεων ± τυπικό σφάλμα του μέσου. Στο (β) η προσαρμοσμένη καμπύλη έχει τις εξής παραμέτρους: $S_m = 0\%$, $x_s = 0 \text{ mg ml}^{-1}$, $I_m = 100\%$, $x_i = 4,25 \text{ mg ml}^{-1}$, $q = 10,6$, $R^2 = 1,000$. Το βέλος αντιστοιχεί στην τιμή $ID_{50} = 4,25 \text{ mg ml}^{-1}$. Άλλες λεπτομέρειες όπως στις εικόνες 2 και 6.

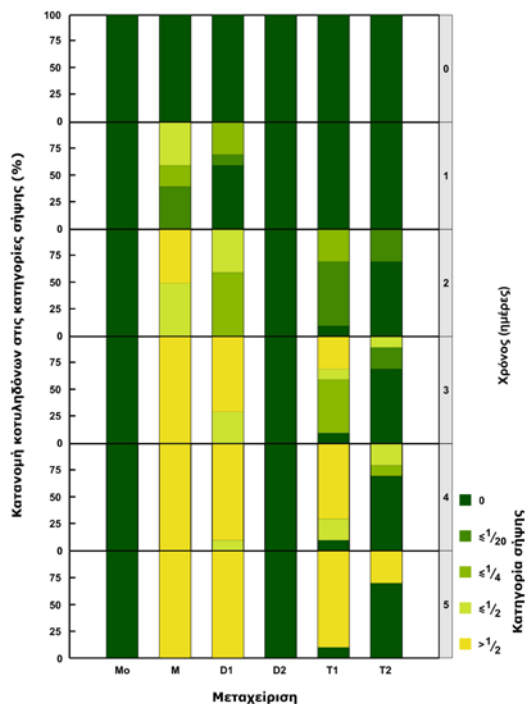
1.5. Επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *Dittrichia viscosa* στην *in planta* ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα *Botrytis cinerea*

Στην παρούσα ενότητα εξετάστηκε η επίδραση του επιεφυμενιδικού υλικού του

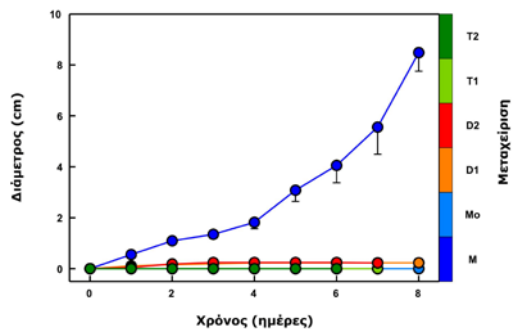
υπέργειου τμήματος του φυτού *D. viscosa* στην εξέλιξη της σήψης του φυτού *Cucumis sativus* μετά από μόλυνσή του από τον μύκητα *B. cinerea*. Στα πειράματα της ενότητας χρησιμοποιήθηκαν κοτυληδόνες και καρποί και η εφαρμογή του εκπλύματος έγινε σε συγκέντρωση 6 mg ml⁻¹.



Εικόνα 55. Επίδραση της εφαρμογής του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* συγκέντρωσης 6 mg ml⁻¹ ή του μυκητοκτόνου Teldor ίδιας συγκέντρωσης στην εξέλιξη της προσβολής κοτυληδόνων νεαρών φυτών *Cucumis sativus* από τον φυτοπαθογόνο μύκητα *B. cinerea*. Mo: φυτό μάρτυρας με τραυματισμένες κοτυληδόνες, M: φυτό μάρτυρας με τραυματισμένες κοτυληδόνες, ψεκασμένες με νερό και μολυσμένες με μυκήλιο του μύκητα. D1: φυτό με τραυματισμένες κοτυληδόνες, ψεκασμένες με υδατικό έκπλυμα και μολυσμένες με μυκήλιο του μύκητα, D2: φυτό με τραυματισμένες κοτυληδόνες, ψεκασμένες με υδατικό έκπλυμα, μολυσμένες με μυκήλιο του μύκητα και επαναψεκασμένες με υδατικό έκπλυμα, T1: φυτό με τραυματισμένες κοτυληδόνες, ψεκασμένες με μυκητοκτόνο και μολυσμένες με μυκήλιο του μύκητα, T2: φυτό με τραυματισμένες κοτυληδόνες, ψεκασμένες με μυκητοκτόνο, μολυσμένες με μυκήλιο του μύκητα και επαναψεκασμένες με μυκητοκτόνο. Παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικά φυτά από την τρίτη ημέρα του πειράματος.



Εικόνα 56. Χρονική εξέλιξη της σήψης κοτυληδόνων νεαρών φυτών *Cucumis sativus* λόγω προσβολής από τον φυτοπαθογόνο μύκητα *B. cinerea* υπό την επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* συγκέντρωσης 6 mg ml⁻¹ ή του μυκητοκτόνου Teldor ίδιας συγκέντρωσης. Παρουσιάζεται η κατανομή δέκα κοτυληδόνων σε κατηγορίες σήψης σύμφωνα με το ποσοστό κάλυψης της σήψης επί της επιφάνειας του ελάσματος που αναφέρεται στην κλίμακα. Οι λεπτομέρειες των πειραματικών μεταχειρίσεων όπως στην εικόνα 55.



Εικόνα 57. Χρονική εξέλιξη της σήψης καρπών του φυτού *Cucumis sativus* λόγω προσβολής από τον φυτοπαθογόνο μύκητα *B. cinerea* υπό την επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* συγκέντρωσης 6 mg ml⁻¹ ή του μυκητοκτόνου Teldor ίδιας συγκέντρωσης. Mo: καρπός μάρτυρας με τραυματισμό, M: καρπός μάρτυρας με τραυματισμό, ψεκασμένος με νερό και μολυσμένος με μυκήλιο του μύκητα. D1: καρπός με τραυματισμό, ψεκασμένος με υδατικό έκπλυμα και μολυσμένος με μυκήλιο του μύκητα, D2: καρπός με τραυματισμό, ψεκασμένος με υδατικό έκπλυμα, μολυσμένος με μυκήλιο του μύκητα και επαναψεκασμένος με υδατικό έκπλυμα, T1: καρπός με τραυματισμό, ψεκασμένος με μυκητοκτόνο και μολυσμένος με μυκήλιο του μύκητα, T2: καρπός με τραυματισμό, ψεκασμένος με μυκητοκτόνο, μολυσμένος με μυκήλιο του μύκητα και επαναψεκασμένος με μυκητοκτόνο. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της διαμέτρου της επιφανειακής σήψης από πέντε επαναλήψεις ± τυπικό σφάλμα του μέσου.



Εικόνα 58. Επίδραση της εφαρμογής του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* συγκέντρωσης 6 mg ml⁻¹ ή του μυκητοκτόνου Teldor ίδιας συγκέντρωσης στην εξέλιξη της προσβολής καρπών του φυτού *Cucumis sativus* από τον φυτοπαθογόνο μύκητα *B. cinerea*. Παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικοί καρποί από την έκτη ημέρα του πειράματος. Οι λεπτομέρειες των πειραματικών μεταχειρίσεων όπως στην εικόνα 57.

Στις εικόνες 55 και 56 παρουσιάζεται η επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος στην εξέλιξη της σήψης κοτυληδόνων φυτών *Cucumis sativus* λόγω προσβολής από τον μύκητα *B. cinerea*. Παρατηρείται ότι μονή εφαρμογή του εκπλύματος (D1) δεν απέτρεψε την προσβολή των φυτών από τον μύκητα αν και προκάλεσε μικρή καθυστέρηση στην εξέλιξη της σήψης συγκριτικά με τον μάρτυρα (M). Ουσιαστικά, καθυστέρηση αλλά όχι και αποτροπή της σήψης επιτεύχθηκε και στην περίπτωση μονής εφαρμογής του μυκητοκτόνου Teldor (T1) ίδιας συγκέντρωσης. Από την άλλη μεριά, διπλή εφαρμογή του εκπλύματος του φυτού (D2) προκάλεσε πλήρη παρεμπόδιση της *in planta*

-Αποτελέσματα-

ανάπτυξης του μύκητα με αποτέλεσμα την απουσία προσβολής στις κοτυληδόνες. Αποτροπή της προσβολής, αν και σε μικρότερο ποσοστό, επιτεύχθηκε και με διπλή εφαρμογή του μυκητοκτόνου (T2).

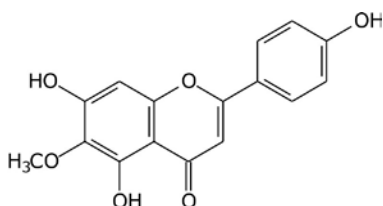
Στις εικόνες 57 και 58 παρουσιάζεται η επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος

στην εξέλιξη της σήψης καρπών *Cucumis sativus* λόγω προσβολής από τον μύκητα *B. cinerea*. Παρατηρείται ότι τόσο η εφαρμογή του εκπλύματος (D1 και D2) όσο και η εφαρμογή του μυκητοκτόνου (T1 και T2) είχε ως αποτέλεσμα την πλήρη αποτροπή της προσβολής του καρπού από τον μύκητα σε αντίθεση με τον μάρτυρα (M).

II. Χημική ανάλυση του λυοφιλωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεμφυμενιδικού υλικού του φυτού *Dittrichia viscosa*

II.1. Φλαβονοειδή

Ισπιντουλίνη (ουσία 1), [=5,7,4'-τριυδροξυ-6-μεθοξυφλαβόνη, =6-μεθοξυαπιγενίνη, =6-μεθυλαιθέρας της σκουτελλαρεΐνης], [κτ. IUPAC: 5,7-διυδροξυ-2-(4-υδροξυφαινυλο)-6-μεθοξυχρωμεν-4-όνη]



Η ουσία 1 απομονώθηκε ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε ως 5,7,4'-τριυδροξυ-6-μεθοξυφλαβόνη, κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε από το φυτό *Ambrosia hispida* (Asteraceae) (Herz and Sumi, 1964). Έκτοτε έχει απομονωθεί αρκετές φορές και από άλλα είδη της ίδιας οικογένειας όπως τα *Brickellia californica*, *Gaillardia arizonia*, *Gymnosperma glutinosum* (Wollenweber et al., 1997a), *Centaurea americana*, *C. jacea*, *C. nigra* και *C. pseudophrygia*, *Dittrichia graveolens* (Öksüz and Topçu, 1992), *Helenium elegans*, *Flourensia cernua*, *Brickellia rusbui* (Wollenweber et al., 1989), *Inula montana* (Reynaud and Lussignol, 1999), *I. brittanica* και *I. germanica* (Wollenweber et al., 1997b), *Iva frutescens*

(Herz et al., 1972a), *Ratibida columnifera* (Cui et al., 1999), *Oncosiphon grandiflorum*, *Tanacetum balsamita* (Wollenweber et al., 1997b) και *T. vulgare*, (Williams et al., 1999). Επίσης απαντάται και σε φυτά άλλων οικογενειών όπως στα *Clerodendrum phlomoides* (Verbenaceae) (Seth et al., 1982), *Digitalis lanata* (Scrophulariaceae) (Hiermann et al., 1977), *Eriodictyon trichocalyx* (Hydrophyllaceae) (Bohm and Constant, 1990) και *Salvia officinalis* (Labiatae) (Kavvadias et al., 2003).

Από το *D. viscosa* απομονώθηκε πρώτη φορά από τους Grande et al. (1985). Έκτοτε έχει απομονωθεί αρκετές φορές από το ίδιο είδος (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.1).

Σε χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας με το αντιδραστήριο Neu δεν εμφανίζει στο υπεριώδες φως κάποιο χαρακτηριστικό φθορισμό και μετά από 24 h χρωματίζεται καστανή στο φως της ημέρας. Κατά την φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας (φάσματα UV-Vis) ελήφθησαν χαρακτηριστικές καμπύλες με τις ακόλουθες μέγιστες απορροφήσεις (nm):

διαλύτης	κορυφή II	κορυφή I	Δλ (I)
MeOH	272	333	
MeONa	275	324	+62
AlCl ₃	274	299 sh	+28
AlCl ₃ /HCl	277	301 sh	+25
NaOAc	275 (Δλ=+3)	388	
NaOAc/H ₃ BO ₃	275	336	+3

Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 25 nm της I κορυφής μετά την προσθήκη AlCl₃ και π. HCl οφείλεται στο σχηματισμό σταθερού συμπλόκου στην επίδραση του οξέος. Το σύμπλοκο αυτό σχηματίζεται από την κετονομάδα της θέσης 4 με το -OH της θέσης 5 και δείχνει την απουσία συστήματος ο-OH στον Β δακτύλιο. Η απουσία συστήματος ο-OH στον Β δακτύλιο επιβεβαιώνεται και από την σταθερότητα του φάσματος μετά την προσθήκη NaOAc/H₃BO₃

(Δλ<10 nm) (Mabry et al., 1970; Markham, 1982; Markham, 1989). Η τιμή της μετατόπισης (Δλ=+25 nm) με τα αντιδραστήρια AlCl₃/HCl μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι υπάρχει υποκαταστάτης στην θέση 6 (Mears and Mabry, 1972; Sakakibara and Mabry, 1977). Λόγω της παρουσίας μεθοξυ-ομάδας στη θέση 6, ο όξινος χαρακτήρας του -OH της θέσης 7 μειώνεται με αποτέλεσμα το NaOAc, που είναι ασθενής βάση, να μην ιονίζει επαρκώς το -OH αυτό, οπότε δεν

Πίνακας Η-1. ¹H-NMR της ουσίας **1** (CD₄O, 200 MHz).

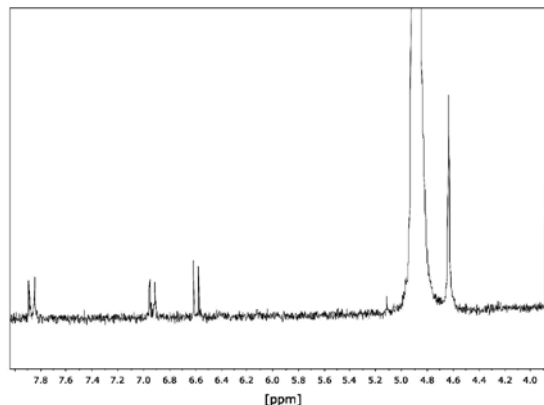
δ (ppm)	n ^o H	πολλαπλότητα J (Hz)	ταυτοποίηση
7.90	2	d (J=8.9)	H-2', H-6'
6.97	2	d (J=8.9)	H-3', H-5'
6.65	1	s	H-8
6.61	1	s	H-3
3.92	3	s	-OCH ₃

παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II (τουλάχιστον κατά 5 nm), όπως θα αναμενόταν. Το -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 62 nm της I κορυφής, με αύξηση της εντάσεώς της, κατόπιν προσθήκης MeONa (Mabry *et al.*, 1970; Markham, 1982; Markham, 1989).

Στο φάσμα ¹H-NMR παρατηρείται η ύπαρξη μιας μεθοξυ-ομάδας (δ 3.92, s), η οποία σε συνδυασμό με τα φάσματα UV-Vis συμπεραίνεται ότι είναι στη θέση 6. Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων εμφανίζονται δύο διπλές

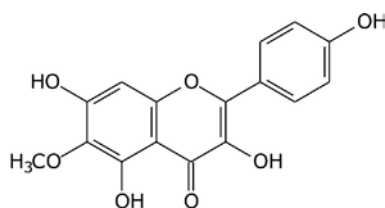
κορυφές σε δ 7.90 (J=8.9 Hz) και 6.97 (J=8.9 Hz), που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-2', H-6' και H-3', H-5', καθώς και δύο απλές κορυφές σε δ 6.65 και 6.61 που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-8 και H-3.

Από τα ανωτέρω συμπεραίνεται ότι η ουσία είναι η 5,7,4'-τριυδροξυ-6-μεθοξυφλαβόνη.



Φάσμα ¹H-NMR της ουσίας **1** (CD₄O, 200 MHz).

6-μεθοξυκαιμπερόλη (ουσία **2**), [=3,5,7,4'-τετραϋδροξυ-6-μεθοξυφλαβόνη], [κτ. IUPAC: 3,5,7-τριυδροξυ-2-(4-υδροξυφαινυλο)-6-μεθοξυχρωμεν-4-όνη]



Η ουσία **2** απομονώθηκε ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε ως 3,5,7,4'-τετραϋδροξυ-6-μεθοξυφλαβόνη, κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε από το φυτό *Prunus avium* (Rosaceae) (Lebreton *et al.*, 1971). Ευρέως διαδεδομένο στα Asteraceae, π.χ. *Baccharis vaccinioides*, *Eupatorium areolare*, *Heterotheca grandiflora*, *Matricaria chamomilla* (Harborne and Baxter, 1999), *Ambrosia artemisifolia* (Wollenweber *et al.*, 1989), *Arnica* spp. (Merfort and Wendisch, 1992; Schmidt *et al.*, 1992; Woerdenbag *et al.*, 1993), *Centaurea incana* (Akkal *et al.*, 1997), *Chrysactinia*

mexicana (Wollenweber *et al.*, 1989), *Pulicaria odora* (Williams *et al.*, 2003), *Telekia speciosa* (Wollenweber *et al.*, 2005) και *Xanthium strumarium* (Wollenweber *et al.*, 1997b). Επίσης απαντάται και σε φυτά άλλων οικογενειών όπως στα *Adenostoma sparsifolium* (Rosaceae) (Wollenweber *et al.*, 1996), *Aeonium* spp. (Crassulaceae) (Stevens *et al.*, 1995) και *Eriodictyon trichocalyx* (Hydrophyllaceae) (Harborne and Baxter, 1999).

Από το *D. viscosa* έχει απομονωθεί μόνο μια φορά από τους Wollenweber *et al.* (1991).

Σε χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας εμφανίζει στο υπεριώδες φως κίτρινο φθορισμό, ο οποίος με το αντιδραστήριο Neu στο υπεριώδες φως αλλάζει σε κίτρινοπράσινο (Markham, 1989). Κατά την φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας (φάσματα UV-Vis) ελήφθησαν χαρακτηριστικές καμπύλες με τις ακόλουθες μέγιστες απορροφήσεις (nm):

διαλύτης	κορυφή II	κορυφή I		Δλ (Ia)
		Ib	Ia	
MeOH	273		353	
MeONa	275		390 ↑	+37
AlCl ₃	271	305 sh	359 sh	+55
AlCl ₃ /HCl	272	305 sh	369	+16
NaOAc	276 (Δλ=+3)		359	
NaOAc/H ₃ BO ₃	273		357	+4

Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 16 nm της I κορυφής μετά την προσθήκη AlCl₃ και π. HCl οφείλεται στο σχηματισμό σταθερού συμπλόκου στην επίδραση του οξέος. Το σύμπλοκο αυτό σχηματίζεται από την κετονομάδα της θέσης 4 με το -OH της θέσης 5 και δείχνει την απουσία συστήματος ο-OH στον Β δακτύλιο. Η απουσία συστήματος ο-OH στον Β δακτύλιο επιβεβαιώνεται και από την σταθερότητα του φάσματος μετά την προσθήκη NaOAc/H₃BO₃ (Δλ<10 nm) (Mabry *et al.*, 1970; Markham, 1982; Markham, 1989). Η τιμή της μετατόπισης (Δλ=+16 nm) με τα αντιδραστήρια AlCl₃/HCl μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι υπάρχει υποκαταστάτης στην θέση 6 (Mears and Mabry, 1972; Sakakibara and Mabry, 1977). Λόγω της παρουσίας μεθοξυ-ομάδας στη θέση 6, ο όξινος χαρακτήρας του -OH της θέσης 7 μειώνεται με αποτέλεσμα το NaOAc, που είναι ασθενής βάση, να μην ιονίζει επαρκώς το -OH αυτό, οπότε δεν παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II (τουλάχιστον κατά 5 nm), όπως θα αναμενόταν. Το -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 37 nm της I κορυφής, με αύξηση της εντάσεώς της, κατόπιν προσθήκης MeONa (Mabry *et al.*, 1970; Markham, 1982; Markham, 1989).

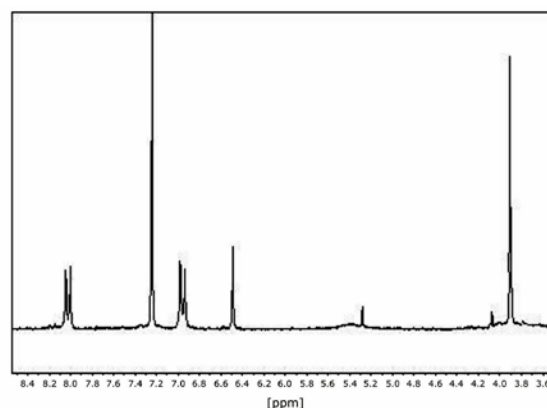
Στο φάσμα ¹H-NMR παρατηρείται η ύπαρξη

μιας μεθοξυ-ομάδας (δ 3.90, s), η οποία σε συνδυασμό με τα φάσματα UV-Vis πρέπει να είναι στη θέση 6. Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος ¹H-NMR εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές σε δ 8.08 (J=8.8 Hz, H-2', H-6'), δ 6.95 (J=8.8 Hz, H-3', H-5') και μία απλή κορυφή σε δ 6.49, που αντιστοιχεί σε ένα πρωτόνιο (H-8).

Από τα ανωτέρω συμπεραίνεται ότι η ουσία είναι η 6-μεθοξυκαιμπερόλη.

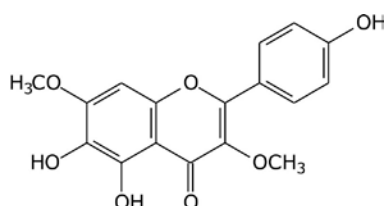
Πίνακας Η-2. ¹H-NMR της ουσίας 2 (CDCl₃, 200 MHz).

δ (ppm)	n° H	πολλαπλότητα J (Hz)	ταυτοποίηση
8.08	2	d (J=8.8)	H-2', H-6'
6.95	2	d (J=8.8)	H-3', H-5'
6.49	1	s	H-8
3.90	3	s	6-OCH ₃



Φάσμα ¹H-NMR της ουσίας 2 (CDCl₃, 200 MHz).

3,7-διμεθυλαιθέρας της 6-υδροξυκαιμπερόλης (ουσία 3), [=5,6,4'-τριυδροξυ-3,7-διμεθοξυφλαβόνη], [κτ. IUPAC: 5,6-διυδροξυ-2-(4-υδροξυφαινυλο)-3,7-διμεθοξυχρωμεν-4-όνη]



Η ουσία 3 απομονώθηκε ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε ως 5,6,4'-τριυδροξυ-3,7-διμεθοξυφλαβόνη, κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Απομονώθηκε για πρώτη φορά από το φυτό *Inula grandis* (Asteraceae) (Nikonova and Nikonov, 1975). Επίσης είναι ευρέως διαδεδομένο και σε άλλα φυτά της οικογένειας όπως είδη του γένους *Parthenium* (Shen *et al.*, 1976; Wagner *et al.*, 1976; Wollenweber *et al.*, 1989), καθώς επίσης και τα είδη *Ageratina deltoidea* (Yang *et al.*, 1990), *Heterotheca inuloides* (Jerga *et al.*, 1990), *Neurolaena lobata* (Kerr *et al.*, 1981), *Pulicaria dysenterica* (Pares *et al.*, 1981;

Wollenweber *et al.*, 1989; Williams *et al.*, 2000; Williams *et al.*, 2003) και *Tanacetum parthenium* (Williams *et al.*, 1995).

Από το είδος *D. viscosa* απομονώνεται για πρώτη φορά.

Σε χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας με το

αντιδραστήριο Neu δεν εμφανίζει στο υπεριώδες φως κάποιο φθορισμό. Κατά την φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας (φάσματα UV-Vis) ελήφθησαν χαρακτηριστικές καμπύλες με τις ακόλουθες μέγιστες απορροφήσεις (nm):

διαλύτης	κορυφή II	κορυφή I		Δλ (Ia)
		Ib	Ia	
MeOH	272		340	
MeONa	275	328	398 ↑	+58
AlCl ₃	274	305 sh	361	400 sh
AlCl ₃ /HCl	277	305 sh	360	393 sh
NaOAc	275 (Δλ=+3)	305 sh	381	
NaOAc/H ₃ BO ₃	273		345	+5

Η τιμή απορρόφησης του μεθανολικού διαλύματος 340 nm υποδηλώνει ότι η ουσία ανήκει είτε στις φλαβόνες τύπου λουτεολίνης, είτε στις πολλαπλώς υποκατεστημένες φλαβονόλες. Η βαθυχρωμική και υπερχρωμική μετατόπιση κατά 58 nm της I κορυφής μετά την προσθήκη του MeONa υποδηλώνει ότι το 4'-OH είναι ελεύθερο (Mabry *et al.*, 1970; Markham, 1982; Markham, 1989). Η τιμή της μετατόπισης (Δλ=+20 nm) με τα αντιδραστήρια AlCl₃/HCl μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι υπάρχει υποκαταστάτης στην θέση 6 (Mears and Mabry, 1972; Sakakibara and Mabry, 1977). Λόγω της παρουσίας υδροξυ-ομάδας στη θέση 6, ο όξινος χαρακτήρας του -OH της θέσης 7 μειώνεται με αποτέλεσμα το NaOAc, που είναι ασθενής βάση, να μην ιονίζει επαρκώς το -OH αυτό, οπότε δεν παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II (τουλάχιστον κατά 5 nm), όπως θα αναμενόταν. Επίσης, στην θέση 8 υπάρχει πρωτόνιο δεδομένου ότι στο αρχικό φάσμα δεν παρατηρείται κάποια επιπλέον κορυφή ή ώμος σε λ_{max} περίπου 290-300 nm (Voirin, 1983). Η απουσία συστήματος ελεύθερων ο-OH στον Β δακτύλιο επιβεβαιώνεται και από την βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής Ia του φάσματος μετά την προσθήκη NaOAc/H₃BO₃ (Δλ<10 nm) (Mabry *et al.*, 1970; Markham, 1982; Markham, 1989).

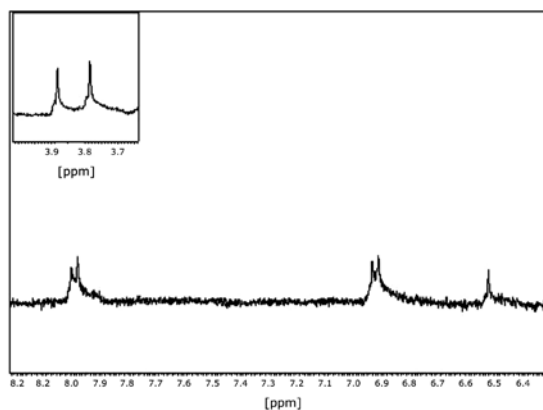
Στο φάσμα ¹H-NMR παρατηρείται η ύπαρξη δύο μεθοξυ-ομάδων (δ 3.89 και 3.78). Στην

περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος ¹H-NMR εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές, που αντιστοιχεί η καθεμία σε δύο πρωτόνια, σε δ 7.99 (J=8.9 Hz, H-2', H-6') και 6.93 (J=8.9 Hz, H-3', H-5'), καθώς και μία απλή κορυφή σε δ 6.53, που αντιστοιχεί σε ένα πρωτόνιο (H-8).

Από τα ανωτέρω συμπεραίνεται και σε συνδυασμό με τα βιβλιογραφικά δεδομένα ότι η ουσία είναι ο 3,7-διμεθυλαιθέρας της 6-υδροξυκαιμπερόλης.

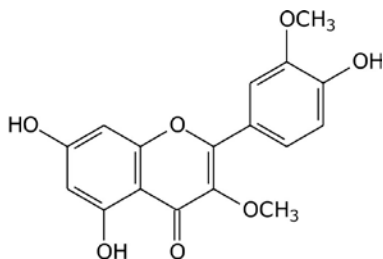
Πίνακας Η-3. ¹H-NMR της ουσίας **3** (CD₄O, 400 MHz).

δ (ppm)	n° H	πολλαπλότητα J (Hz)	ταυτοποίηση
7.99	2	d (J=8.9)	H-2', H-6'
6.93	2	d (J=8.9)	H-3', H-5'
6.53	1	s	H-8
3.89	3	s	-OCH ₃
3.78	3	s	-OCH ₃



Φάσμα ¹H-NMR της ουσίας **3** (CD₄O, 400 MHz).

3,3'-διμεθυλαιθέρας της κερκετίνης (ουσία **4**), [=5,7,4'-τριυδροξυ-3,3'-διμεθοξυφλαβόνη], [κτ. IUPAC: 5,7-διυδροξυ-2-(4-υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλο)-3-μεθοξυχρωμεν-4-όνη]



Η ουσία **4** απομονώθηκε ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε ως 5,7,4'-τριυδροξυ-3,3'-διμεθοξυφλαβόνη, κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε από τα άνθη του φυτού *Nicotiana tabacum* (Solanaceae) (Yang *et al.*, 1960). Είναι ευρέως διαδεδομένο στο Φυτικό Βασίλειο, όπως σε είδη των οικογενειών Asteraceae, Betulaceae, Cistaceae,

Fouquieriaceae, Hippocastanaceae, Leguminosae, Rutaceae, Salicaceae, Solanaceae, Zygophyllaceae, κ.λπ. (Wollenweber and Dietz, 1981; Wollenweber, 1982; Wollenweber, 1994; Wollenweber *et al.*, 1997a; Harborne and Baxter, 1999).

Από το *D. viscosa* απομονώθηκε πρώτη φορά από τους Bohlmann *et al.* (1977). Έκτοτε έχει απομονωθεί αρκετές φορές από το ίδιο είδος (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.1).

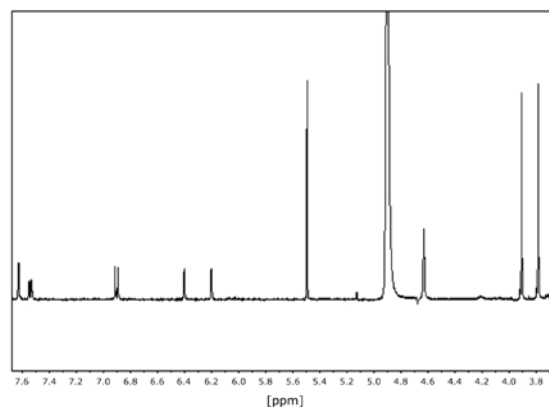
Σε χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας με το αντιδραστήριο Neu εμφανίζει στο υπεριώδες φως κίτρινο φθορισμό (Markham, 1989). Κατά την φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας (φάσματα UV-Vis) ελήφθησαν χαρακτηριστικές καμπύλες με τις ακόλουθες μέγιστες απορροφήσεις (nm):

διαλύτης	κορυφή II	κορυφή I		Δλ (Ia)		
		Ib	Ia			
MeOH	267		348			
MeONa	275	326	398 ↑	+50		
AlCl ₃	237 sh	273	305	359	390 sh	+42
AlCl ₃ /HCl	240 sh	274	305	357	394 sh	+46
NaOAc	276 (Δλ=+9)	305		382		
NaOAc/H ₃ BO ₃	273			357		+9

Η τιμή απορρόφησης του μεθανολικού διαλύματος 348 nm υποδηλώνει ότι η ουσία ανήκει στις φλαβονόλες. Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 46 nm της I κορυφής μετά την προσθήκη AlCl₃ και π. HCl οφείλεται στο σχηματισμό σταθερού συμπλόκου στην επίδραση του οξέος. Το σύμπλοκο αυτό σχηματίζεται από την κετονομάδα της θέσης 4 με το -OH της θέσης 5. Η απουσία συστήματος ελεύθερων ο-OH στον Β δακτύλιο επιβεβαιώνεται και από την βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής Ia του φάσματος μετά την προσθήκη NaOAc/H₃BO₃ (Δλ<10 nm) (Mabry *et al.*, 1970; Markham, 1982; Markham, 1989). Η βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II μετά την προσθήκη του NaOAc κατά 9 nm οφείλεται στον ιονισμό του -OH της θέσης 7 και υποδηλώνει ότι το 7-OH είναι ελεύθερο. Το -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 50 nm της I κορυφής, με αύξηση της εντάσεώς της, κατόπιν

Πίνακας Η-4. ¹H-NMR της ουσίας **4** (CD₄O, 400 MHz).

δ (ppm)	n° H	πολλαπλότητα J (Hz)	ταυτοποίηση
7.63	1	d (J=2.8)	H-2'
7.54	1	dd (J=2.1, 8.4)	H-6'
6.90	1	d (J=8.6)	H-5'
6.40	1	d (J=2.1)	H-8
6.20	1	d (J=2.1)	H-6
3.93	3	s	-OCH ₃
3.79	3	s	-OCH ₃



Φάσμα ¹H-NMR της ουσίας **4** (CD₄O, 400 MHz).

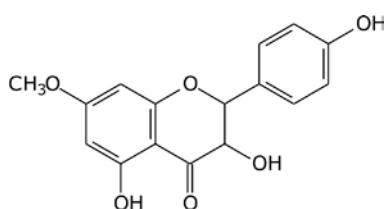
προσθήκης MeONa (Mabry *et al.*, 1970; Markham, 1982; Markham, 1989).

Στο φάσμα ¹H-NMR παρατηρείται η ύπαρξη δύο μεθοξυ-ομάδων (δ 3.93 και 3.79). Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος ¹H-NMR εμφανίζονται οι ακόλουθες κορυφές: μια διπλή κορυφή σε δ 7.63 (H-2') με μικρή σταθερά σύζευξης (J=2.8 Hz) λόγω μετα-σύζευξης με το H-6', μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ 7.54 (H-6') με μια μικρή σταθερά σύζευξης (J=2.1 Hz) λόγω της μετα-σύζευξης με το H-2'

και μια μεγάλη σταθερά σύζευξης (J=8.4 Hz) λόγω της ορθο-σύζευξης με το H-5', μια διπλή κορυφή σε δ 6.90 (H-5') με μια μεγάλη σταθερά σύζευξης (J=8.6 Hz) λόγω της ορθο-σύζευξης με το H-6' και δυο διπλές κορυφές σε δ 6.40 (H-8) και 6.20 (H-6) με μικρή σταθερά σύζευξης (J=2.1 Hz) λόγω της μετα-σύζευξης μεταξύ τους.

Από τα ανωτέρω συμπεραίνεται και σε συνδυασμό με τα βιβλιογραφικά δεδομένα ότι η ουσία 4 είναι ο 3,3'-διμεθυλαιθέρας της κερκετίνης.

7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης (ουσία 5), [=3,5,4'-τριυδροξυ-7-μεθοξυφλαβανόνη, =7-μεθυλαιθέρας της διυδροκαιμπερόλης], [κτ. IUPAC: 3,5-διυδροξυ-2-(4-υδροξυφαινυλο)-7-μεθοξυ-2,3-διυδροχρωμεν-4-όνη]



Η ουσία 5 απομονώθηκε ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε ως 7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε από τα φυτά *Eucalyptus maculata* (Myrtaceae) (Gell *et al.*, 1958) και *Prunus avium* (Rosaceae) (Chopin and Pacheco, 1958) αλλά η στερεοχημεία της αποδόθηκε από τους Herz *et al.* (1972b) οι οποίοι την απομόνωσαν από τα είδη *Eupatorium capillifolium* και *E. perfoliatum*. Επίσης έχει βρεθεί στα είδη: *Belamcanda chinensis* (Iridaceae) (Chung and Woo, 1991), *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae) (Freitas *et al.*, 2007), *Glycyrrhiza* spp. (Leguminosae) (Wollenweber and Dietz, 1981), *Podocarpus nivalis* (Podocarpaceae) (Harborne and Baxter, 1999), *Populus alba*

(Salicaceae) (Stoessl *et al.*, 1971) και *Prunus avium* (Rosaceae) (Vinciguerra *et al.*, 2003). Επίσης έχει απομονωθεί από αρκετά είδη της οικογένειας Asteraceae όπως τα *Artemisia dracunculul* (Balza and Towers, 1984), *Dittrichia graveolens* (Öksüz and Topçu, 1992), *Pulicaria undulata* (Metwally *et al.*, 1986; Abdel-Mogib *et al.*, 1989) και *Trixis vauthieri* (Bohlmann *et al.*, 1981c; Ribeiro *et al.*, 1997).

Από το *D. viscosa* απομονώθηκε πρώτη φορά από τους Chiappini *et al.* (1982). Έκτοτε έχει απομονωθεί αρκετές φορές από το ίδιο είδος (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.1).

Από την χαρακτηριστική χρώση κατά τον ψεκάσμο με το αντιδραστήριο Neu, καθώς και από την μορφή του φάσματος υπεριώδους-ορατού στη μεθανόλη, συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στην ομάδα των διυδροφλαβονολών (Neu, 1957; Markham, 1982; Grayer, 1989). Κατά την φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας (λήψη φασμάτων UV-Vis) ελήφθησαν χαρακτηριστικές καμπύλες με τα ακόλουθα μέγιστα (nm):

διαλύτης	κορυφή II	κορυφή I	Δλ (II)
MeOH	289.5	330 sh	
MeONa	285	διάσπαση	
AlCl ₃	314.5	375	+25
AlCl ₃ /HCl	300 sh	369.5	+20.5
NaOAc	289.5	328 sh	0.0
NaOAc/H ₃ BO ₃	291	328.5 sh	+1.5

Όπως φαίνεται από τον πίνακα και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία των φλαβονολών το -OH της

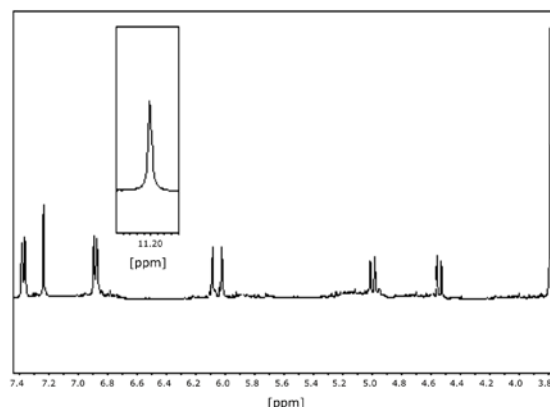
θέσης 5 είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι η βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II με την

προσθήκη AlCl_3 είναι 25 nm. Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, δεδομένου ότι δεν υπάρχει καμία μετατόπιση της κορυφής II με την προσθήκη NaOAc. Επίσης, δεν υπάρχει σύστημα ο-OH στον Α δακτύλιο, όπως αποδεικνύεται με την προσθήκη NaOAc/ H_3BO_3 (Horowitz and Jurd, 1961; Markham, 1982; Grayer, 1989).

Το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ επιβεβαιώνει ότι η ουσία ανήκει στην ομάδα των διυδροφλαβονολών (Markham, 1982; Grayer, 1989). Τα σήματα των πρωτονίων H-8 και H-6 εμφανίζονται ως δύο διπλές κορυφές σε δ 6.09 ($J=2.0$ Hz) και 6.02 ($J=2.1$ Hz), αντίστοιχα. Το σήμα των πρωτονίων H-2' και H-6' εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ 7.37 ($J=8.2$ Hz) και το σήμα των πρωτονίων H-3' και H-5' εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ 6.88 ($J=8.5$ Hz). Τα σήματα των πρωτονίων H-3 και H-2 εμφανίζονται ως δυο διπλές κορυφές σε δ 5.00 ($J=12.0$ Hz) και δ 4.54 ($J=12.0$ Hz) αντίστοιχα. Επίσης, σε δ 3.79 εμφανίζεται μια απλή κορυφή, που αντιστοιχεί σε τρία πρωτόνια.

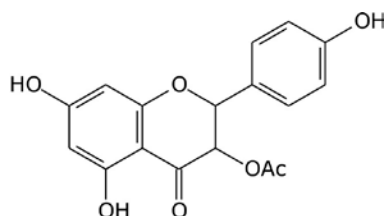
Πίνακας Η-5. $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας 5 (CDCl_3 , 400 MHz).

δ (ppm)	n° H	πολλαπλότητα J (Hz)	ταυτοποίηση
7.37	2	d ($J=8.2$)	H-2', H-6'
6.88	2	d ($J=8.5$)	H-3', H-5'
6.09	1	d ($J=2.0$)	H-8
6.02	1	d ($J=2.1$)	H-6
5.00	1	d ($J=12.0$)	H-3
4.54	1	d ($J=12.0$)	H-2
3.79	3	s	-OCH ₃
11.20	1	s	5-OH



Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας 5 (CDCl_3 , 400MHz)

3-ακετυλο-αρωμαδενδρίνη (ουσία 6), [=3-ακετυλο-3,5,7,4'-τετραϋδροξυφλαβανόνη], [κτ. IUPAC: [5,7-διυδροξυ-2-(4-υδροξυφαινυλο)-4-οξο-2,3-διυδροχρωμεν-3-υλο]-οξικό οξύ]



Η ουσία 6 απομονώθηκε ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε ως 3-ακετυλο-αρωμαδενδρίνη κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε από τα φυτά *Aframomum pruinosum* (Zingiberaceae) (Ayafor and Connolly, 1981) και *Baccharis varians* (Asteraceae) (Bohlmann *et al.*, 1981d). Έχει επίσης απομονωθεί από τα φυτά *Aframomum*

lesteuianum (Zingiberaceae) (Kamnaing *et al.*, 2003) και *Ageratina espinosara* (Asteraceae) (Harborne and Baxter, 1999).

Από το *D. viscosa* απομονώθηκε πρώτη φορά από τους Grande *et al.* (1985). Έκτοτε έχει απομονωθεί ακόμα μια φορά (Wollenweber *et al.*, 1991).

Από την χαρακτηριστική χρώση κατά τον ψεκάσμο με το αντιδραστήριο Neu, καθώς και από την μορφή του φάσματος υπεριώδους-ορατού στη μεθανόλη, συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στην ομάδα των διυδροφλαβονολών (Markham, 1982; Grayer, 1989). Κατά την φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας (λήψη φασμάτων UV-Vis) ελήφθησαν χαρακτηριστικές καμπύλες με τα ακόλουθα μέγιστα (nm):

διαλύτης	κορυφή II	κορυφή I	Δλ (II)
MeOH	290	331.5 sh	
MeONa	289 sh	—	+45
AlCl_3	310	366	+20
AlCl_3/HCl	312	361.5	+22
NaOAc	329.5	—	+39.5
NaOAc/ H_3BO_3	290	330 sh	0.0

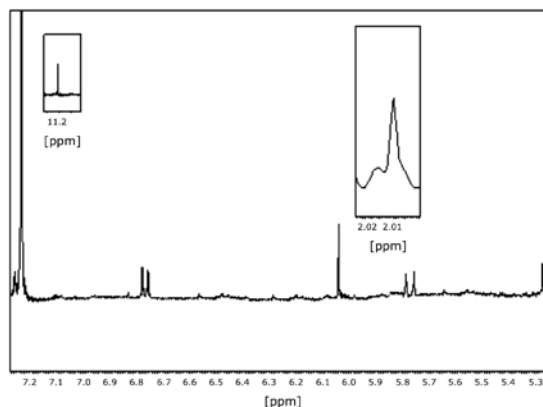
Κατόπιν προσθήκης MeONa παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά +45 nm της κορυφής II χωρίς ελάττωση της εντάσεώς της. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία των φλαβονών, όταν υπάρχει 5,7-διυδροξυ-σύστημα με την προσθήκη MeONa εμφανίζεται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II σε σχέση με την ανάλογη του μεθανολικού διαλύματος κατά 35–45 nm. Η παρουσία του ελεύθερου 7-OH επιβεβαιώνεται και από τη βαθυχρωμική μετατόπιση κατά +39.5 nm της κορυφής II σε σχέση με την ανάλογη κορυφή του μεθανολικού διαλύματος κατά την προσθήκη NaOAc. Η παρουσία του ελεύθερου 5-OH επιβεβαιώνεται και με τη βαθυχρωμική μετατόπιση κατά +22 nm της κορυφής II, παρουσία AlCl₃/HCl. Η απουσία μετατόπισης της κορυφής II παρουσία NaOAc/H₃BO₃ σε σχέση με την ανάλογη κορυφή του μεθανολικού διαλύματος υποδηλώνει την απουσία συστήματος ο-OH στον Α δακτύλιο (Horowitz and Jurd, 1961; Markham, 1982; Grayer, 1989).

Το φάσμα ¹H-NMR επιβεβαιώνει ότι η ουσία ανήκει στην ομάδα των διυδροφλαβονολών (Markham, 1982; Grayer, 1989). Τα σήματα των πρωτονίων H-2 και H-3 εμφανίζονται ως δυο διπλές κορυφές σε δ 5.27 (J=12.8 Hz) και 5.78 (J=11.6 Hz), αντίστοιχα. Τα σήματα των πρωτονίων H-8 και H-6 εμφανίζονται επικαλυμμένα ως μια ευρεία απλή κορυφή σε δ

6.05, που ολοκληρώνει για 2 πρωτόνια. Το σήμα των πρωτονίων H-2' και H-6' εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ 7.26 (J=8.7 Hz) και το σήμα των πρωτονίων H-3' και H-5' εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ 6.78 (J=8.7 Hz). Επίσης, σε δ 2.01 εμφανίζεται μια απλή κορυφή, που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια. Σε δ 11.2 εμφανίζεται μια ευρεία απλή κορυφή, πολύ αποθωρακισμένη, που αντιστοιχεί στο 5-OH.

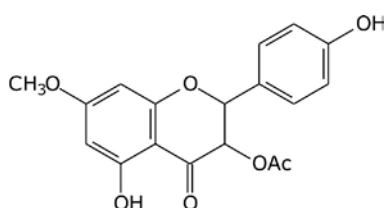
Πίνακας Η-6. ¹H-NMR της ουσίας 6 (CDCl₃, 400 MHz).

δ (ppm)	n° H	πολλαπλότητα J (Hz)	ταυτοποίηση
7.26	2	d (J=8.7)	H-2', H-6'
6.78	2	d (J=8.7)	H-3', H-5'
6.05	2	br s	H-8, H-6
5.78	1	d (J=11.6)	H-3
5.27	1	d (J=12.8)	H-2
2.01	3	s	-OCOCH ₃
11.2	1	br s	5-OH



Φάσμα ¹H-NMR της ουσίας 6 (CDCl₃, 400MHz)

3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης (ουσία 7), [=3-ακετυλο-3,5,4'-τριυδροξυ-7-μεθοξυφλαβονόνη], [κτ. IUPAC: [5-υδροξυ-2-(4-υδροξυφαινυλο)-7-μεθοξυ-4-οξο-2,3-διυδροχρωμεν-3-υλο]-οξικό οξύ]



Η ουσία 7 απομονώθηκε ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε ως 3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Απομονώθηκε για πρώτη φορά από το είδος *Aframomum pruinatum* (Zingiberaceae) (Ayafor and Connolly, 1981). Επίσης, έχει απομονωθεί

από τα είδη *Aframomum letestuanum* (Zingiberaceae) (Kamnaing *et al.*, 2003), *Eremophila glutinosa* (Myoporaceae) (Harborne and Baxter, 1999) και *Dittrichia graveolens* (Asteraceae) (Öksüz and Topçu, 1992).

Από το *D. viscosa* απομονώθηκε πρώτη φορά από τους Grande *et al.* (1985). Έκτοτε έχει απομονωθεί ακόμα μια φορά (Hernández *et al.*, 2007).

Από την χαρακτηριστική χρώση κατά τον ψεκασμό με το αντιδραστήριο Neu, καθώς και από την μορφή του φάσματος υπεριώδους-ορατού στη μεθανόλη, συμπεραίνεται ότι η ουσία

ανήκει στην ομάδα των διυδροφλαβονολών (λήψη φασμάτων UV-Vis) ελήφθησαν (Markham, 1982; Grayer, 1989). Κατά την χαρακτηριστικές καμπύλες με τα ακόλουθα φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας μέγιστα (nm):

διαλύτης	κορυφή II	κορυφή I	Δλ (II)
MeOH	290	328 sh	
MeONa	287.5	347 ↑	
AlCl ₃	315	364	+25
AlCl ₃ /HCl	312	361.5	+22
NaOAc	289.5	329.5 sh	-0.5
NaOAc/H ₃ BO ₃	289	328.5 sh	-1

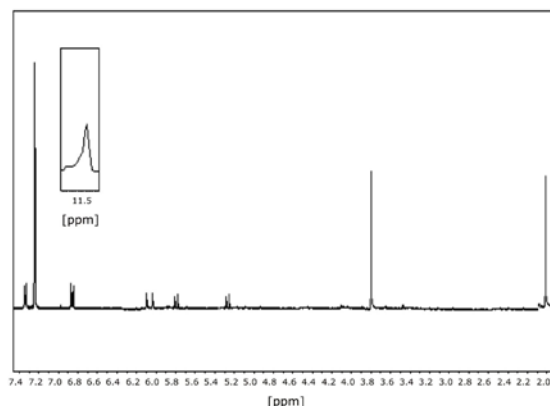
Όπως φαίνεται από τον πίνακα το -OH της θέσης 5 είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι η βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II με την προσθήκη AlCl₃ είναι 25 nm. Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, δεδομένου ότι υπάρχει υπιχρωμική μετατόπιση της κορυφής II με την προσθήκη NaOAc. Επίσης, δεν υπάρχει σύστημα ο-OH στον Α δακτύλιο, όπως αποδεικνύεται με την προσθήκη NaOAc/H₃BO₃ (Horowitz and Jurd, 1961; Markham, 1982; Grayer, 1989).

Το φάσμα ¹H-NMR επιβεβαιώνει ότι η ουσία ανήκει στην ομάδα των διυδροφλαβονολών (Markham, 1982; Grayer, 1989). Τα σήματα των πρωτονίων H-2 και H-3 εμφανίζονται ως δυο διπλές κορυφές σε δ 5.78 (J =12.0 Hz) και δ 5.27 (J=12.0 Hz), αντίστοιχα. Τα σήματα των πρωτονίων H-8 και H-6 εμφανίζονται ως δύο διπλές κορυφές σε δ 6.09 (J=2.1 Hz) και 6.03 (J=2.4 Hz), αντίστοιχα. Το σήμα των πρωτονίων H-2' και H-6' εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ 7.34 (J=8.7 Hz) και το σήμα των πρωτονίων H-3' και H-5' εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ 6.85 (J=8.7 Hz). Επίσης, σε δ 3.80 και 2.02 εμφανίζονται δυο απλές κορυφές, που αντιστοιχούν η καθεμία σε τρία πρωτόνια. Σε

πολύ χαμηλό πεδίο και σε δ 11.5 εμφανίζεται μια ευρεία απλή κορυφή, που αντιστοιχεί στο 5-OH.

Πίνακας Η-7. ¹H-NMR της ουσίας **7** (CDCl₃, 400 MHz).

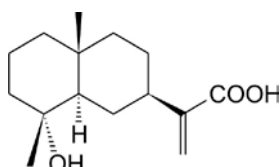
δ (ppm)	ν° H	πολλαπλότητα J (Hz)	ταυτοποίηση
7.34	2	d (J=8.7)	H-2', H-6'
6.85	2	d (J=8.7)	H-3', H-5'
6.09	1	d (J=2.1)	H-8
6.03	1	d (J=2.4)	H-6
5.78	1	d (J=12.0)	H-3
5.27	1	d (J=12.0)	H-2
3.80	3	s	-OCH ₃
2.02	3	s	-OCOC ₂ H ₅
11.5	1	br s	5-OH



Φάσμα ¹H-NMR ουσίας **7** (CDCl₃, 400MHz)

II.2. Σεσκιτερπένια

Ιλικικό οξύ (ουσία **8**), [=4α-υδροξυμευδεσμ-11(13)εν-5α,7αΗ-12-οϊκό οξύ], [κτ. IUPAC: 2-(8-υδροξυ-4α,8-διμεθυλο-δεκαϋδρο-ναφθαλεν-2-υλο)-ακρυλικό οξύ]



$[α]_D^{20} = -0.06$ (c, CHCl₃, 11.67).

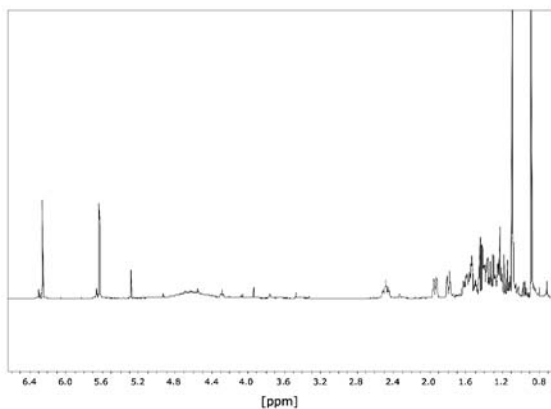
Η ουσία **8** απομονώθηκε σε ελαιώδη μορφή και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε το 1966

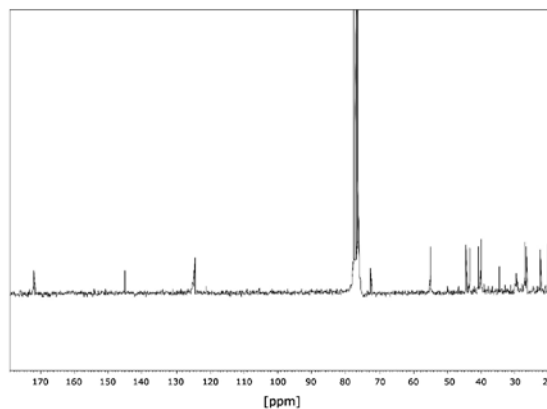
από το *Ambrosia ilicifolia* (Herz *et al.*, 1966) της οικογένειας Asteraceae. Από την ίδια οικογένεια έχει επίσης απομονωθεί από τα *Alcantara ekmaniana* (Bohlmann *et al.*, 1982b), *Dittrichia graveolens* (Fardella, 1979; Lanzetta *et al.*, 1991; Öksüz and Topçu, 1992), *Flourensia oolepis* (Guerreiro *et al.*, 1979; Donadel *et al.*, 2005), *Hymenoclea*

Πίνακας Η-8. $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **8** (CDCl_3 , 400 MHz).

δ (ppm)	$n^\circ\text{H}$	πολλαπλότητα, J (Hz)	ταυτοποίηση
1.45-1.22	2	<i>m</i>	H-1a, H-1b
1.60-1.30	2	<i>m</i>	H-2a, H-2b
*	1	<i>m</i>	H-3a
1.30	1	<i>m</i>	H-3b
1.94	1	<i>dt</i> (J=1.7, 12.4)	H-5
1.87	1	<i>dd</i> (J=1.3, 12.4)	H-6a
1.22	1	<i>m</i>	H-6b
2.48	1	<i>tt</i> (J=3.3, 12.0)	H-7
1.48	1	<i>m</i>	H-8a
1.65	1	<i>m</i>	H-8b
1.40-1.10	2	<i>m</i>	H-9a, H-9b
6.12	1	br s	H-13a
5.58	1	br s	H-13b
0.89	3	<i>s</i>	H-14
1.09	3	<i>s</i>	H-15



Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **8** (CDCl_3 , 400 MHz).

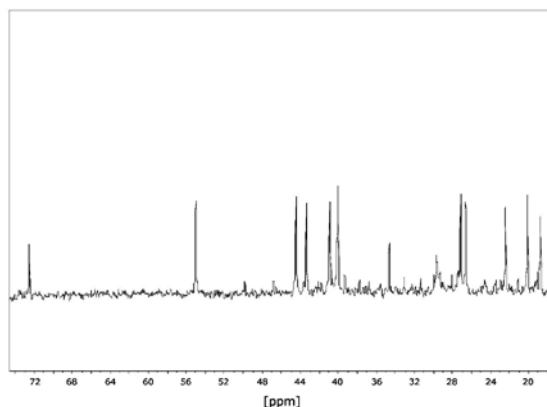


Φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ ουσίας **8** (CDCl_3 , 50.3 MHz).

salsola (Geissman and Toribio, 1967), *Jasonia montana* (Ahmed and Jakupovic, 1990), *Laggera alata* (Zheng *et al.*, 2003), *L. pterodonta* (Zhao *et al.*, 1997; Xiao *et al.*, 2003), *Pluchea quitoc*

Πίνακας C-8. $^{13}\text{C-NMR}$ της ουσίας **8** (CDCl_3 , 50.3 MHz).

δ (ppm)	τύπος C	ταυτοποίηση
43.3	CH_2	C-1
20.1	CH_2	C-2
44.5	CH_2	C-3
72.5	C	C-4
54.9	CH	C-5
27.1	CH_2	C-6
40.9	CH	C-7
26.6	CH_2	C-8
40.0	CH_2	C-9
34.6	C	C-10
145.1	C	C-11
171.8	C=O	C-12
124.6	CH_2	C-13
18.7	CH_3	C-14
22.4	CH_3	C-15



Λεπτομέρεια **φάσματος $^{13}\text{C-NMR}$** ουσίας **8** (CDCl_3 , 50.3 MHz).

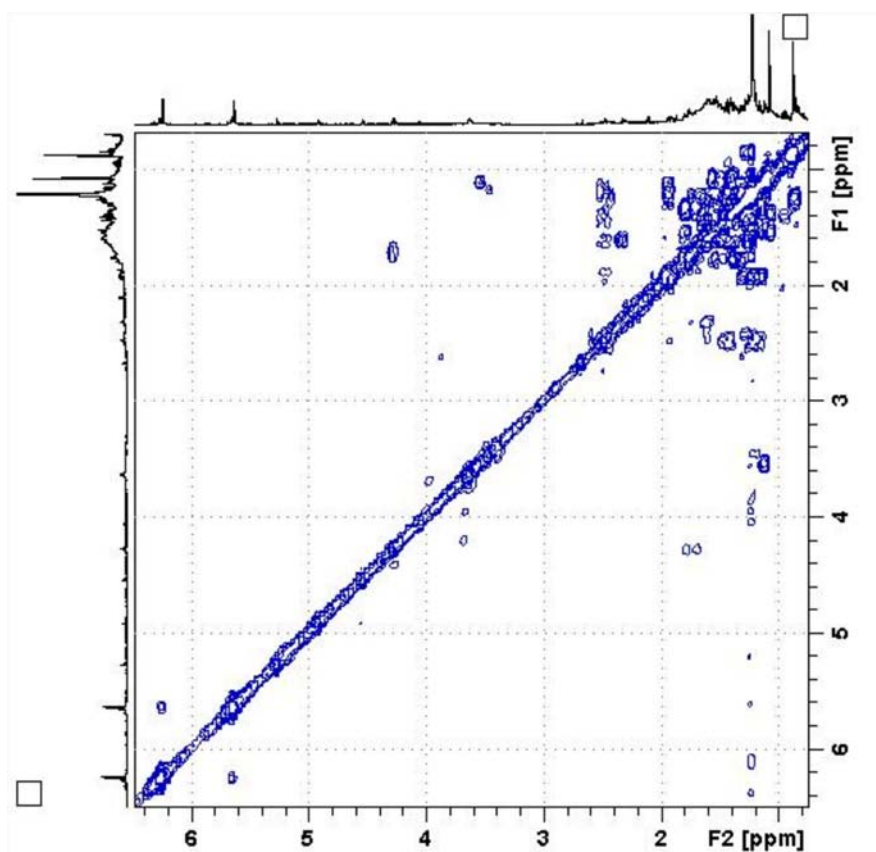
(Guilhon and Müller, 1998), *Sphaeranthus indicus* (Sohoni *et al.*, 1988), *Tessaria absinthioides* (Kurina Sanz *et al.*, 1997) και *T. fastigiata* (Guerreiro *et al.*, 1990).

Από το *D. viscosa* απομονώθηκε για πρώτη φορά από τους Barbetti *et al.* (1985) και

(Ceccherelli *et al.*, 1985). Έκτοτε έχει απομονωθεί αρκετές φορές από το ίδιο είδος (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.2).

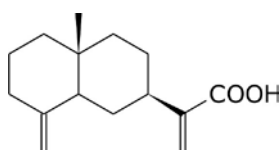
Στο φάσμα ^{13}C -NMR παρατηρούνται 15 άνθρακες, οι οποίοι υποδηλώνουν την ύπαρξη σεσκιτερπενίου με σήμα καρβονυλίου σε δ 171.8. Στο φάσμα ^1H -NMR, παρατηρούνται δύο τυπικά σήματα στην ολεφινική περιοχή σε δ 6.12 και 5.58, υπό μορφή διευρυμένων απλών κορυφών, που ολοκληρώνουν η καθεμία για ένα πρωτόνιο. Πρόκειται για μεθυλένιο διπλού δεσμού, που δεν βρίσκεται σε λακτονικό δακτύλιο, διότι σ' αυτή την περίπτωση θα εμφανιζόταν ως δύο διπλές κορυφές. Επίσης, παρατηρούνται δύο απλές κορυφές σε δ 1.09 και 0.89, που ολοκληρώνουν

η καθεμία για τρία πρωτόνια και αντιστοιχούν στα μεθύλια CH_3 -15 και CH_3 -14. Το πρωτόνιο H-7 εμφανίζεται ως μια τριπλώς τριπλή κορυφή σε δ 2.48 και ο άνθρακας C-7 στα 40.9. Το πρωτόνιο H-5 εμφανίζεται ως διπλώς τριπλή κορυφή σε δ 1.94 ($J=1.7, 12.4$ Hz), λόγω σύζευξης με τα δίδυμα πρωτόνια H-6, εκ των οποίων το H-6a εμφανίζεται ως διπλώς διπλή κορυφή σε δ 1.87 ($J=1.3, 12.4$ Hz), λόγω σύζευξης με το δίδυμο πρωτόνιό του και με το H-5. Στο φάσμα COSY είναι εμφανείς οι συζεύξεις του πρωτονίου H-7 με τα γειτονικά πρωτόνια H-6a και H-8a, H-8b. Λόγω της παρουσίας σχεδόν ισοδύναμων μεθυλενίων παρατηρούνται επικαλύψεις τόσο στο φάσμα ^1H -NMR όσο και στο φάσμα COSY.



Φάσμα COSY ουσίας 8 (CDCl_3 , 400 MHz).

Κοστικό οξύ (ουσία 9), [=ευδεσμα-4(15), 11(13)-διεν-12-οϊκό οξύ], [κτ. IUPAC: 2-(4a-μεθυλο-8-μεθυλενο-δεκαϋδρο-ναφθαλεν-2-υλο)-ακρυλικό οξύ]



$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -0.06 \text{ (c, } \text{CHCl}_3, 7.78).$$

Η ουσία 9 απομονώθηκε σε ελαιώδη μορφή και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε από το έλαιο της ρίζας του φυτού *Saussurea* spp. [costus root oil] (Bawdekar and Kelkar, 1965) της οικογένειας

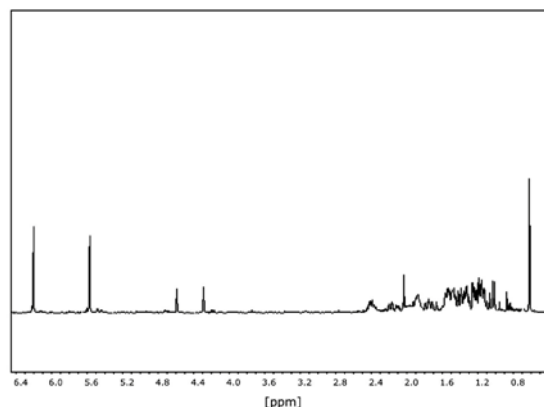
-Αποτελέσματα-

Asteraceae. Από την ίδια οικογένεια έχει απομονωθεί από τα *Alcantara ekmaniana* (Bohlmann *et al.*, 1982b), *Allagorappus dichotoma* (Eid *et al.*, 1987), *Ambrosia ilicifolia* (Herz *et al.*, 1966), *Apalochlamys spectabilis* (Zdero *et al.*, 1990), *Dimerostemma lippioides* (Bohlmann *et al.*, 1981a), *Dittrichia graveolens* (Rustaiyan *et al.*, 1987; Öksüz and Torçu, 1992), *Eupatorium capillifolium* (Rao and Alvarez, 1981), *Fitchia speciosa* (Bohlmann *et al.*, 1980b), *Jasonia montana* (Ahmed *et al.*, 1988), *Laggera pterodonta* (Xiao *et al.*, 2003), *L. alata* (Zheng *et al.*, 2003), *Marshallia obovata* (Bohlmann *et al.*, 1980a), *Schistostephium crataegifolium* (Bohlmann *et al.*, 1983) και *Serratula latifolia* (Rustaiyan and Faramarzi, 1988). Επίσης έχει βρεθεί στο εγκάρδιο ξύλο του κωνοφόρου είδους *Callitris glaucophylla* (Cupressaceae) (Watanabe *et al.*, 2005).

Απομονώθηκε από το *D. viscosa* για πρώτη φορά από τους Ulubelen *et al.* (1987) και έκτοτε μια φορά ακόμα (Oka *et al.*, 2001).

Στο φάσμα ¹³C-NMR παρατηρούνται 15 άνθρακες, οι οποίοι υποδηλώνουν την ύπαρξη σεσκιτερπενίου με σήμα καρβονυλίου σε δ 172.0. Στο φάσμα ¹H-NMR, παρατηρούνται δύο τυπικά σήματα στην ολεφινική περιοχή σε δ 6.30 και 5.67, υπό μορφή διευρυμένων απλών κορυφών, που ολοκληρώνουν η καθεμία για ένα πρωτόνιο.

Πρόκειται για μεθυλένιο διπλού δεσμού, που δεν βρίσκεται σε λακτονικό δακτύλιο, διότι σ' αυτή την περίπτωση θα εμφανιζόταν ως δύο διπλές κορυφές. Επίσης, παρατηρούνται δύο διπλές κορυφές σε δ 4.92 και 4.55, που ολοκληρώνουν η καθεμία για ένα πρωτόνιο. Από τα φάσματα HSQC και HMBC προκύπτει ότι αντιστοιχούν στο CH₂-15. Το CH₃-14, αρκετά θωρακισμένο, εμφανίζεται ως απλή κορυφή σε δ 0.72, που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια. Το πρωτόνιο H-7 εμφανίζεται ως μια διπλώς διπλώς διπλώς διπλώς διπλή (dddd) κορυφή σε δ 2.51 και ο άνθρακας C-7 στα 39.3. Οι συζεύξεις του H-7 έχουν ως ακολούθως: H-7/H-6b J=12.0, H-7/H-8b J=11.2, H-7/H-8a J=3.0, H-7/H-6a J=2.5, H-7/H-13b J=0.5. Το πρωτόνιο H-5 εμφανίζεται ως διπλώς τριπλή κορυφή σε δ 1.94 (J=1.7, 12.4 Hz), λόγω



Φάσμα ¹H-NMR της ουσίας **9** (CDCl₃, 400 MHz)

Πίνακας Η-9. ¹H-NMR της ουσίας **9** (CDCl₃, 400 MHz).

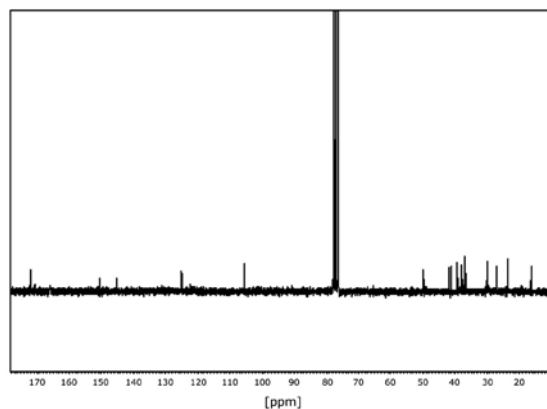
δ (ppm)	n°H	πολλαπλότητα, J (Hz)	ταυτοποίηση
1.42	1	<i>m</i>	H-1a
1.39	1	<i>m</i>	H-1b
1.60	1	<i>m</i>	H-2a
1.58	1	<i>m</i>	H-2b
2.31	1	<i>m</i>	H-3a
2.01	1	<i>m</i>	H-3b
1.94	1	<i>dt</i> (J=1.7, 12.4)	H-5
1.65	1	<i>m</i>	H-6a
1.28	1	<i>dd</i> (J=2.8, 12.4)	H-6b
2.51	1	<i>dddd</i> (J=0.5, 2.5, 3.0, 11.2, 12.0)	H-7
1.65	1	<i>m</i>	H-8a
1.44	1	<i>m</i>	H-8b
1.50	1	<i>m</i>	H-9a
1.34	1	<i>m</i>	H-9b
6.30	1	<i>br s</i>	H-13a
5.67	1	<i>br s</i>	H-13b
0.72	3	<i>br s</i>	H-14
4.92	1	<i>d</i> (J=1.2)	H-15a
4.55	1	<i>d</i> (J=1.2)	H-15b

-Αποτελέσματα-

σύζευξης με τα δίδυμα πρωτόνια H-6, εκ των οποίων το H-6b εμφανίζεται ως διπλώς διπλή κορυφή σε δ 1.28 ($J=2.8, 12.4$ Hz), λόγω σύζευξης με το δίδυμο πρωτόνιο του και με το H-5. Στο φάσμα COSY είναι εμφανείς οι συζεύξεις

Πίνακας C-9. ^{13}C -NMR της ουσίας **9** (CDCl_3 , 50.3 MHz).

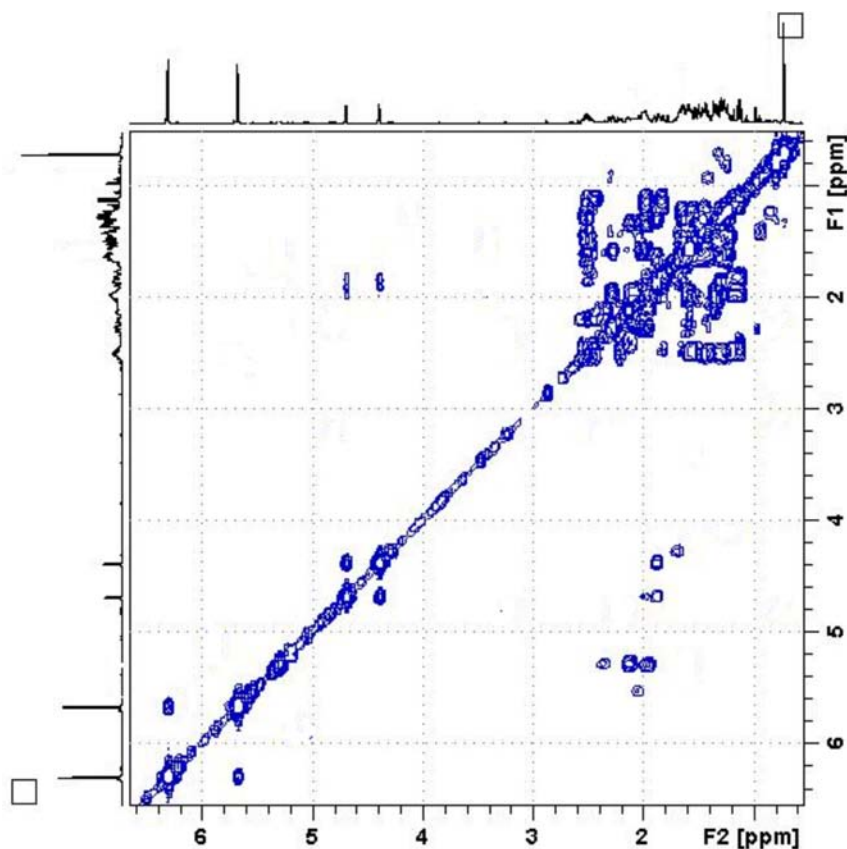
δ (ppm)	τύπος C	ταυτοποίηση
41.8	CH ₂	C-1
23.4	CH ₂	C-2
36.7	CH ₂	C-3
150.6	C	C-4
49.8	CH	C-5
29.9	CH ₂	C-6
39.3	CH	C-7
27.2	CH ₂	C-8
41.0	CH ₂	C-9
37.8	C	C-10
145.1	C	C-11
172.0	C=O	C-12
124.9	CH ₂	C-13
16.3	CH ₃	C-14
105.5	CH ₂	C-15



Φάσμα ^{13}C -NMR ουσίας **9** (CDCl_3 , 50.3 MHz).

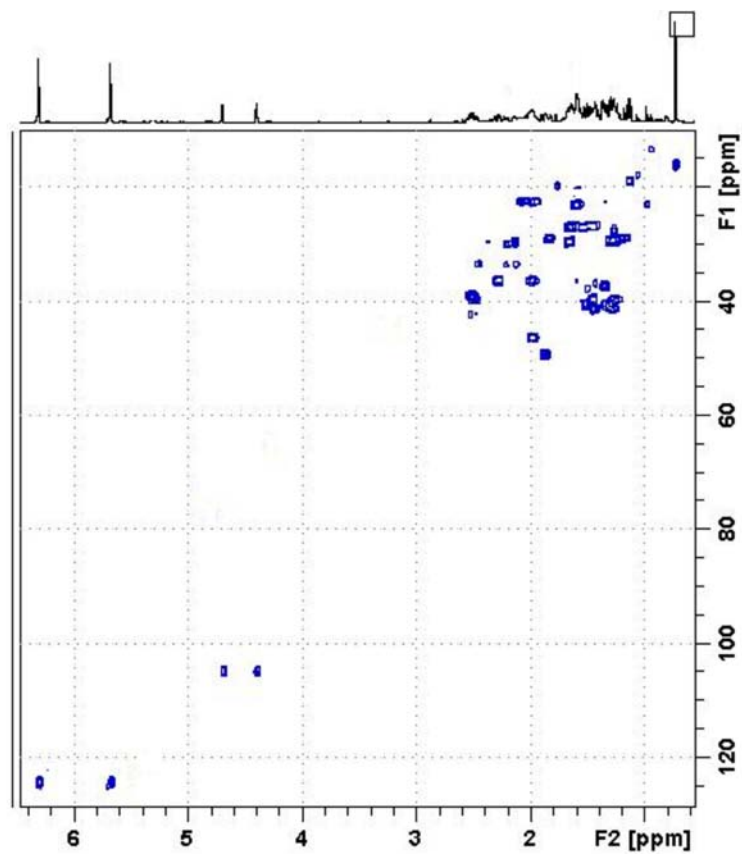
του πρωτονίου H-7 με τα γειτονικά πρωτόνια H-6a και H-8a, H-8b. Σε περιοχή υψηλού πεδίου εμφανίζονται τα σήματα των μεθυλενίων των θέσεων 1, 2 και 3 ως πολλαπλές κορυφές μερικώς επικαλυπτόμενες.

Από την ανάλυση των φασμάτων και με σύγκριση των πειραματικών δεδομένων με αυτά της βιβλιογραφίας (Watanabe *et al.*, 2005) συμπεραίνεται ότι η ουσία **9** είναι το κοστικό οξύ.

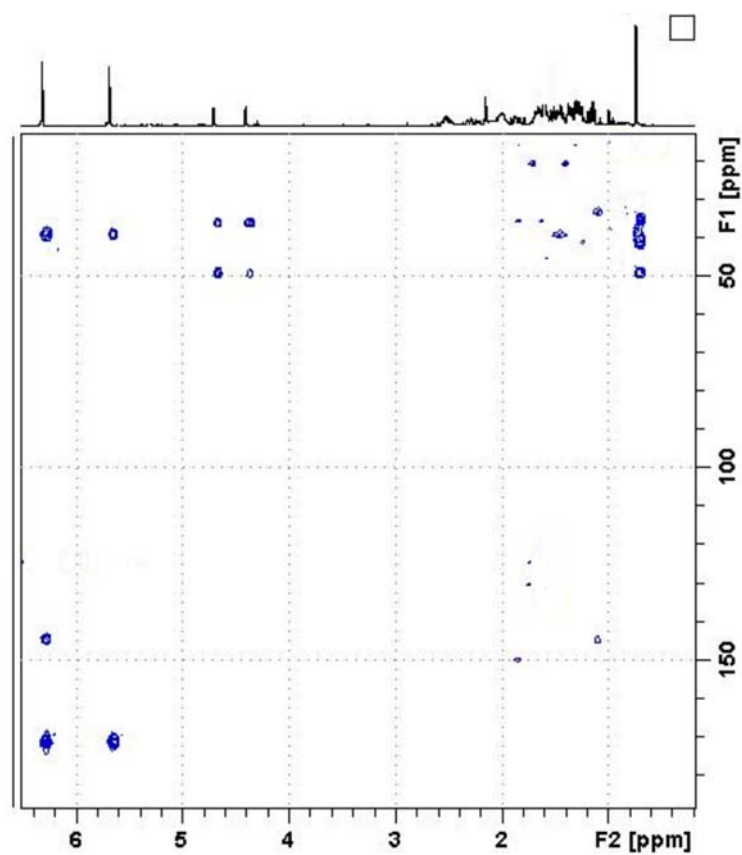


Φάσμα COSY ουσίας **9** (CDCl_3 , 400 MHz).

-Αποτελέσματα-

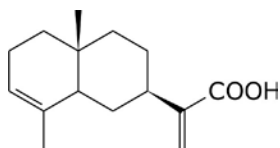


Φάσμα HSQC ουσίας 9 (CDCl₃, 400 MHz).



Φάσμα HMBC ουσίας 9 (CDCl₃, 400 MHz).

Ισοκοστικό οξύ (ουσία **10**), [=ευδεσμα-3, 11(13)-διεν-12-οϊκό οξύ], [κτ. IUPAC: 2-(4a,8-διμεθυλο-1,2,3,4,4a,5,6,8a-οκταϋδρο-ναφθαλεν-2-υλο)-ακρυλικό οξύ]

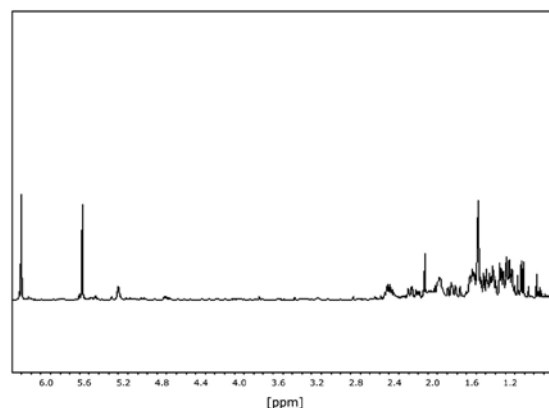


Η ουσία **10** απομονώθηκε σε ελαιώδη μορφή και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε από την *D. viscosa* (Shtacher and Kashman, 1970). Έκτοτε απομονώθηκε αρκετές φορές από το ίδιο φυτικό είδος (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.2). Από την ίδια οικογένεια έχει απομονωθεί από τα είδη *Alcantara ekmaniana* (Bohlmann *et al.*, 1982b), *Apalochlamys spectabilis* (Zdero *et al.*, 1990), *Calea teucrifolia* (Bohlmann *et al.*, 1981e), *Dimerostemma lippioides* (Bohlmann *et al.*, 1981a), *Dittrichia graveolens* (Lanzetta *et al.*, 1991; Öksüz and Topçu, 1992), *Fitchia speciosa* (Bohlmann *et al.*, 1980b), *Laggera alata* (Zheng *et al.*, 2003), *Marshallia obovata* (Bohlmann *et al.*, 1980a), *Schistostephium crataegifolium* (Bohlmann *et al.*, 1983) και *Stevia achalensis* (Bohlmann *et al.*, 1986).

Στο φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ παρατηρούνται 15 άνθρακες, οι οποίοι υποδηλώνουν την ύπαρξη σεσκιτερπενίου με σήμα καρβονυλίου σε δ 172.0. Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$, παρατηρούνται δύο τυπικά σήματα στην ολεφινική περιοχή σε δ 6.30 και 5.67, υπό μορφή διευρυμένων απλών κορυφών,

που ολοκληρώνουν η καθεμία για ένα πρωτόνιο. Πρόκειται για μεθυλένιο διπλού δεσμού, που δεν βρίσκεται σε λακτονικό δακτύλιο, διότι σ' αυτή την περίπτωση θα εμφανιζόταν ως δύο διπλές κορυφές. Το CH_3 -14, αρκετά θωρακισμένο, εμφανίζεται ως απλή κορυφή σε δ 0.80, που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και το CH_3 -15, αρκετά αποθωρακισμένο λόγω της παρουσίας διπλού δεσμού στον C-4 εμφανίζεται ως διευρυμένη απλή κορυφή σε δ 1.58, που



Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **10** (CDCl_3 , 400 MHz)

ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια. Το πρωτόνιο H-7 εμφανίζεται ως μια διπλώς διπλώς τριπλή κορυφή σε δ 2.50 και από το φάσμα HSQC ο άνθρακας C-7 εμφανίζεται σε δ 41.7. Στο φάσμα COSY είναι εμφανείς οι συζεύξεις του πρωτονίου H-7 με τα γειτονικά πρωτόνια H-6a, H-6b και H-8a. Τα CH_2 -1, CH_2 -2, CH_2 -6, CH_2 -8, CH_2 -9 είναι

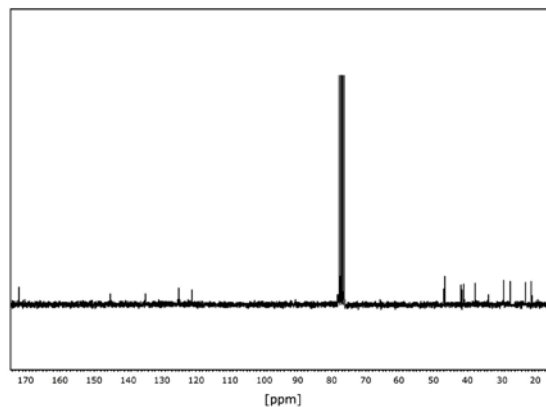
Πίνακας Η-10. $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **10** (CDCl_3 , 400 MHz).

δ (ppm)	n° H	πολλαπλότητα, J (Hz)	ταυτοποίηση
1.60-1.40	4	m	H-1a,1b H-2a,2b
5.30	1	dd (J=3.2, 11.9)	H-3
1.65	2	m	H-6a, H-8a
1.98	1	dd (J=1.3, 11.3)	H-5
1.30	2	m	H-6b, H-9b
2.50	1	ddt (J=2.5, *, 11.9)	H-7
1.46	2	m	H-8b, H-9a
6.30	1	br s	H-13a
5.67	1	br s	H-13b
0.80	3	s	H-14
1.58	3	br s	H-15

-Αποτελέσματα-

Πίνακας C-10. ^{13}C -NMR της ουσίας **10** (CDCl_3 , 50.3 MHz).

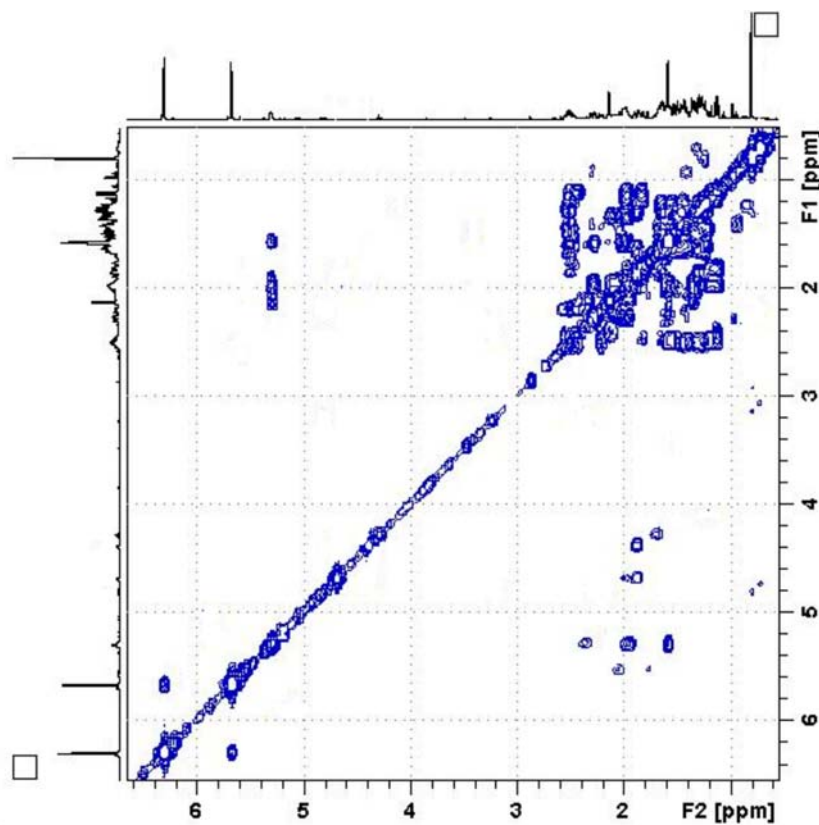
δ (ppm)	τύπος C	ταυτοποίηση
37.8	CH_2	C-1
22.9	CH_2	C-2
121.0	CH	C-3
134.8	C	C-4
46.8	CH	C-5
29.3	CH_2	C-6
41.7	CH	C-7
27.4	CH_2	C-8
40.7	CH_2	C-9
32.2	C	C-10
145.1	C	C-11
172.0	C=O	C-12
125.0	CH_2	C-13
15.6	CH_3	C-14
21.1	CH_3	C-15



Φάσμα ^{13}C -NMR της ουσίας **10** (CDCl_3 , 50.3 MHz)

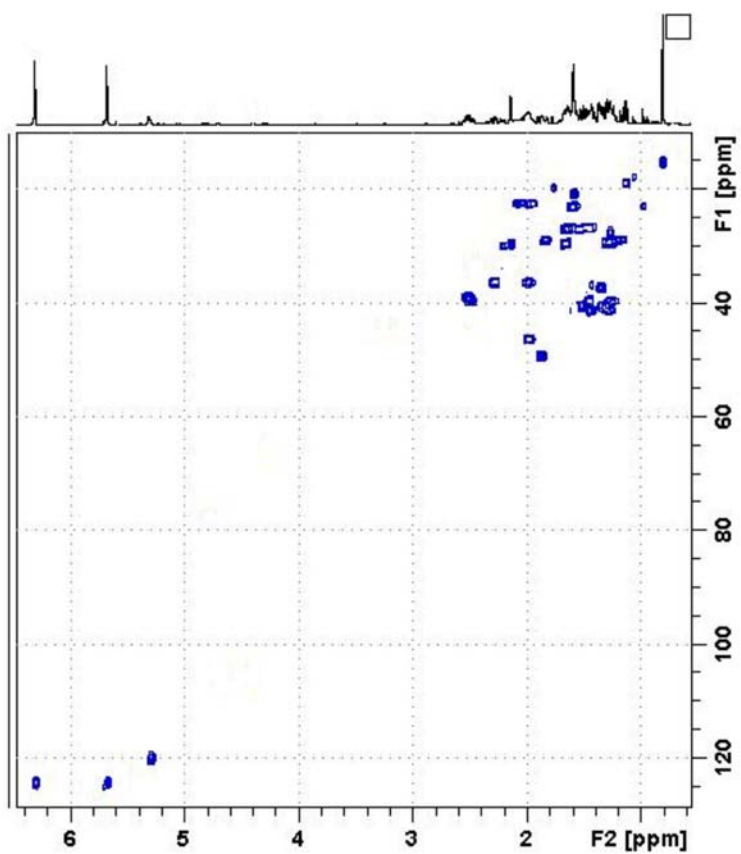
αλληλοεπικαλυπτόμενα και η θέση τους προσδιορίστηκε μέσω των φασμάτων COSY και HSQC.

Από την ανάλυση των φασμάτων και με σύγκριση των πειραματικών δεδομένων με αυτά της βιβλιογραφίας (Shtacher and Kashman, 1970; Lanzetta *et al.*, 1991) συμπεραίνεται ότι η ουσία **10** είναι το ισοκοστικό οξύ.

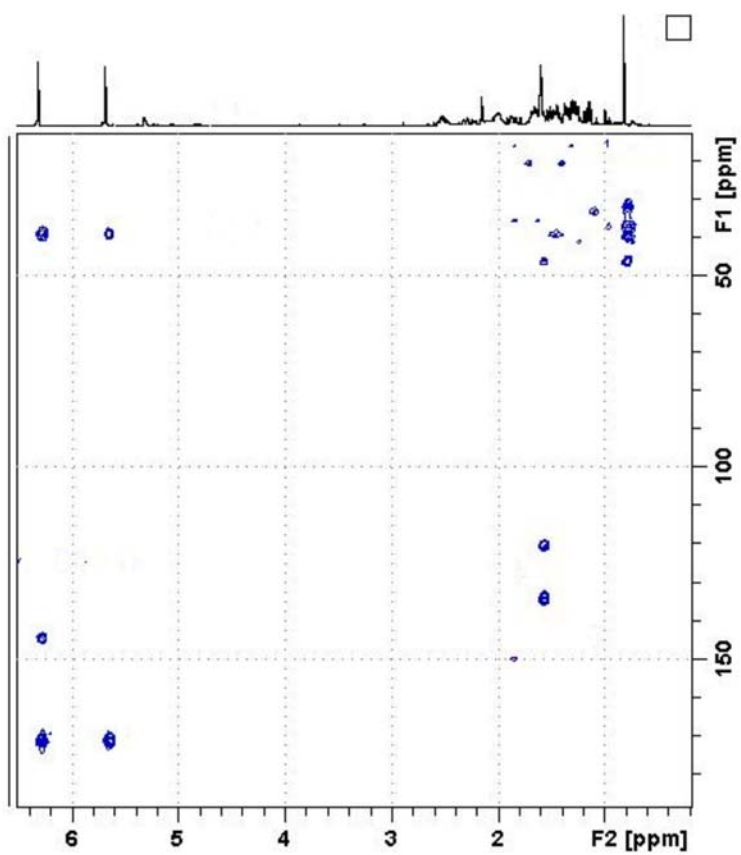


Φάσμα COSY ουσίας **10** (CDCl_3 , 400 MHz).

-Αποτελέσματα-

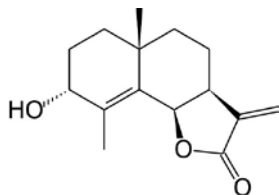


Φάσμα HSQC ουσίας 10 (CDCl₃, 400 MHz).



Φάσμα HMBC ουσίας 10 (CDCl₃, 400 MHz).

3α-υδροξυ-ευδεσμα-4-εν-12,6β-ολιδιο (ουσία **11**), [κτ. IUPAC: 8-υδροξυ-5α,9-διμεθυλο-3-μεθυλενο-3α,4,5,5α,6,7,8,9b-οκταϋδρο-3H-ναφθο[1,2-*b*]φουραν-2-όνη]

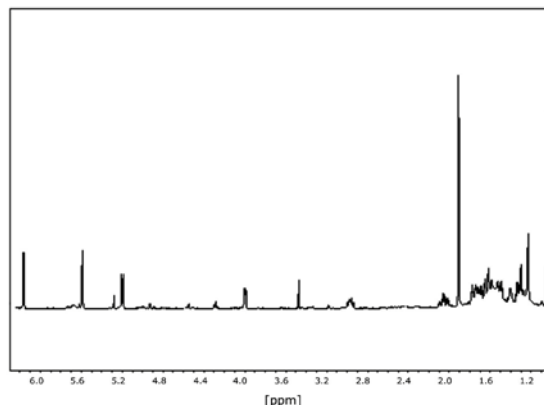


$$[a]_D^{20} = -0.09 \text{ (c, CHCl}_3, 24.44).$$

Η ουσία **11** απομονώθηκε σε ελαιώδη μορφή και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε το 1992 από την *Dittrichia graveolens* (Asteraceae) (Öksüz and Torcu, 1992). Είναι η δεύτερη φορά, που απομονώνεται η ουσία αυτή και η πρώτη φορά που απομονώνεται από το είδος *D. viscosa*.

Από τα φάσματα πρωτονίου $^1\text{H-NMR}$ και άνθρακα $^{13}\text{C-NMR}$ της ουσίας **11**, συμπεραίνεται η παρουσία ενός σκελετού ευδεσμανολιδίου με 6-12 λακτονικό δακτύλιο και μεθυλομάδα (CH_3 -15), ως υποκαταστάτη στη θέση 4: σε δ 1.91 ως απλή κορυφή στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ εμφανίζεται το CH_3 -15 και η παρουσία του επιβεβαιώνεται και από το φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ (δ 17.5). Η θέση του μεθυλίου αυτού στο μόριο συμπεραίνεται από το φάσμα HMBC, όπου παρατηρείται σήμα μεταξύ των πρωτονίων του CH_3 -15 και του C-3, ο οποίος είναι οξυγονωμένος και εμφανίζεται σε δ 69.5. Σε δ 170.8 στο φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ εμφανίζεται σήμα τεταρτοταγούς άνθρακα, που αντιστοιχεί στο λακτονικό καρβονύλιο.



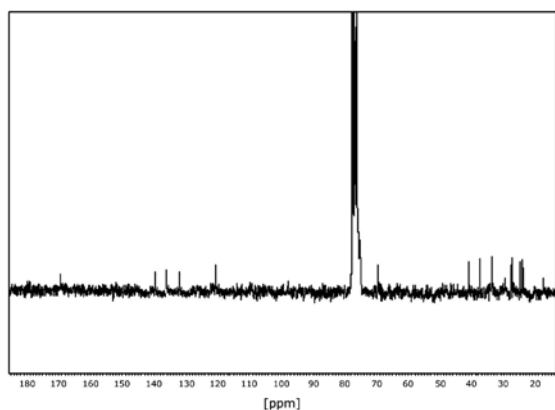
Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **11** (CDCl_3 , 400 MHz)

Σε δ 1.04 ως μια απλή κορυφή εμφανίζεται το σήμα του CH_3 -14, που είναι η κεφαλή της γέφυρας (H-14, C_{10} - CH_3) στο σκελετό του ευδεσμανολιδίου και η παρουσία του επιβεβαιώνεται και από το φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ (δ 24.1). Στην ολεφινική περιοχή του φάσματος πρωτονίου εμφανίζονται τα πρωτόνια H-13a και H-13b, ως δύο διπλές κορυφές σε δ 6.16 ($J=1.4$ Hz) και 5.58 ($J=1.0$ Hz), αντίστοιχα. Τα πρωτόνια αυτά είναι χαρακτηριστικά της ομάδας α -μεθυλενο- γ -λακτόνης και παρουσιάζουν σύζευξη με το σήμα του πρωτονίου H-7, που εμφανίζεται ως διπλώς διπλώς διπλώς διπλώς διπλή κορυφή (*dddd*) σε δ 2.97, χαρακτηριστικό για τα προϊόντα του τύπου αυτού. Η σύζευξη αυτή επιβεβαιώνεται και από το φάσμα COSY της ουσίας. Επίσης, το H-7 συζεύγνυται με το μεθυλένιο C-13 με μικρές σταθερές σύζευξης

Πίνακας H-11. $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **11** (CDCl_3 , 400 MHz).

δ (ppm)	$n^\circ \text{H}$	πολλαπλότητα, J (Hz)	ταυτοποίηση
1.66	1	<i>m</i>	H-1a
1.33	1	<i>m</i>	H-1b
2.05	1	<i>tt</i> ($J=3.4, 14.7$)	H-2a
1.75	1	<i>m</i>	H-2b
3.99	1	<i>br d</i> ($J=3.4$)	H-3
5.20	1	<i>d</i> ($J=6.2$)	H-6
2.97	1	<i>dddd</i> ($J=1.0, 1.4, 3.4, 3.7, 6.2$)	H-7
1.74	1	<i>m</i>	H-8a
1.65	1	<i>m</i>	H-8b
1.51	1	<i>m</i>	H-9a
1.31	1	<i>m</i>	H-9b
6.16	1	<i>d</i> ($J=1.4$)	H-13a
5.58	1	<i>d</i> ($J=1.0$)	H-13b
1.04	3	<i>s</i>	H-14
1.91	3	<i>s</i>	H-15

-Αποτελέσματα-



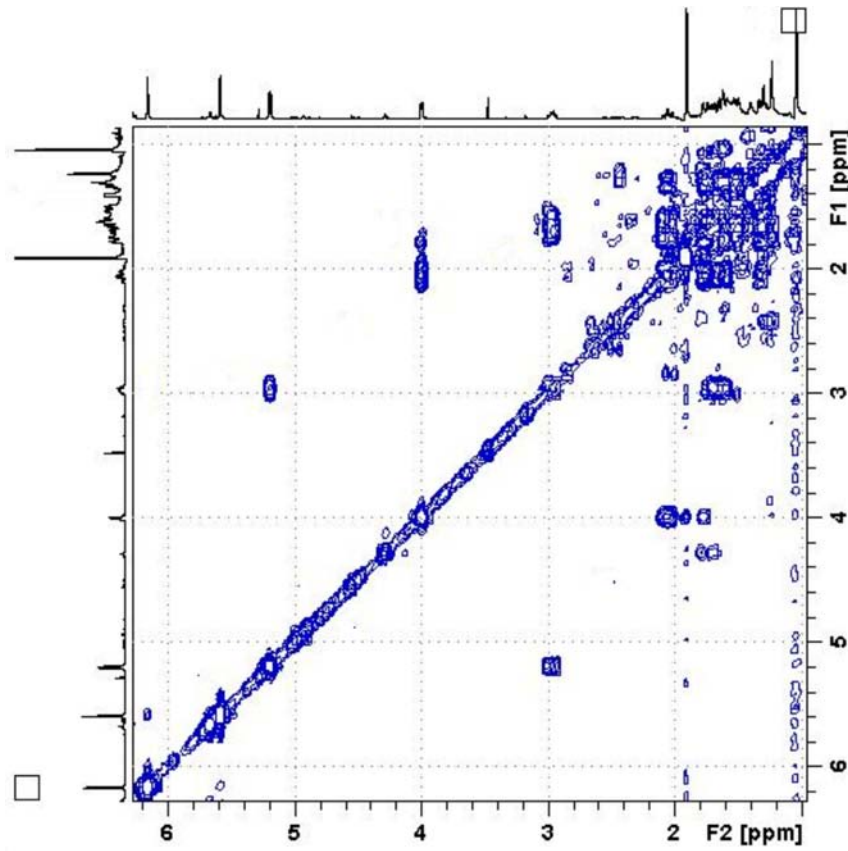
Φάσμα ^{13}C -NMR ουσίας **11** (CDCl_3 , 50.3 MHz).

($J=1.4$, H-7/H-13a και $J=1.0$, H-7/H-13b), καθώς και με το μεθυλένιο C-8. Ο C-13 εμφανίζεται στην ολεφινική περιοχή σε δ 120.7. Επίσης στην ίδια περιοχή στο φάσμα άνθρακα εμφανίζεται ο C-11 σε δ 141.7. Το γεγονός, ότι στην περιοχή υψηλών πεδίων εμφανίζεται μεγάλος αριθμός σημάτων, ενώ αντίθετα η ολεφινική περιοχή είναι φτωχή σε σήματα, υποδεικνύει την παρουσία ενός σχετικά κεκορεσμένου κεντρικού σκελετού με ένα διπλό δεσμό (C4-C5), δεδομένου ότι στην ολεφινική περιοχή εμφανίζονται οι C-4 και C-5 σε

δ 138.1 και 133.8, αντιστοίχως, όπως επιβεβαιώνεται από το φάσμα HMBC. Το πρωτόνιο H-6 βρίσκεται σε σύζευξη με το πρωτόνιο H-7 (φάσμα COSY), σε δ 5.20 ως μία διπλή κορυφή ($J=6.2$ Hz). Από τη σταθερά συζεύξεως προκύπτει ότι τα πρωτόνια αυτά διατάσσονται σε θέση *cis*. Συνεπώς ο λακτονικός δακτύλιος είναι σε θέση *cis*

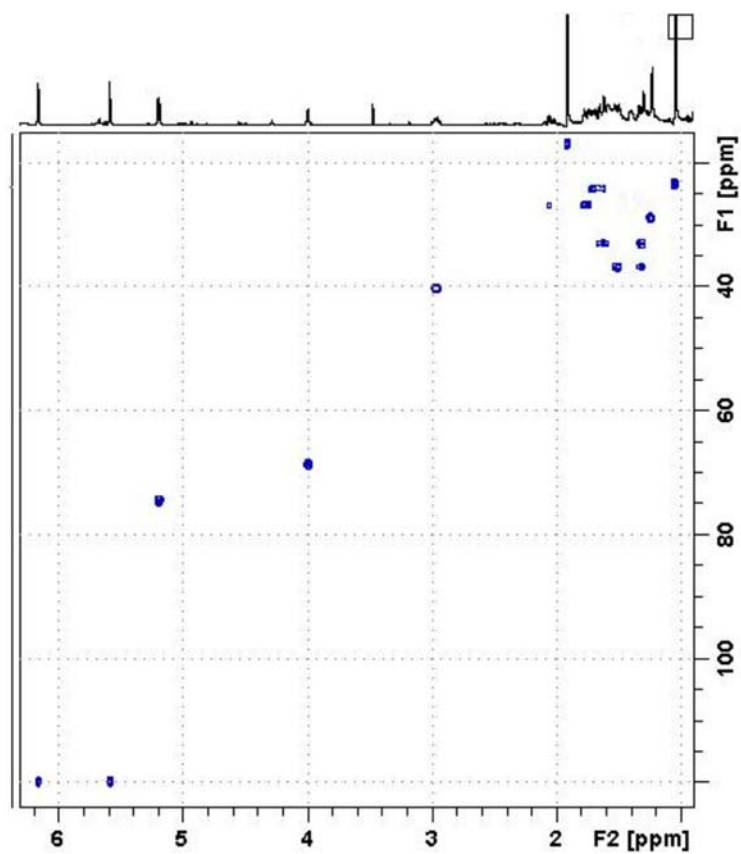
Πίνακας C-11. ^{13}C -NMR της ουσίας **11** (CDCl_3 , 50.3 MHz).

δ (ppm)	τύπος C	ταυτοποίηση
33.7	CH ₂	C-1
27.5	CH ₂	C-2
69.5	CH	C-3
138.1	C	C-4
133.8	C	C-5
75.3	CH	C-6
41.0	CH	C-7
24.8	CH ₂	C-8
37.6	CH ₂	C-9
*	C	C-10
141.7	C	C-11
170.8	C=O	C-12
120.7	CH ₂	C-13
24.1	CH ₃	C-14
17.5	CH ₃	C-15

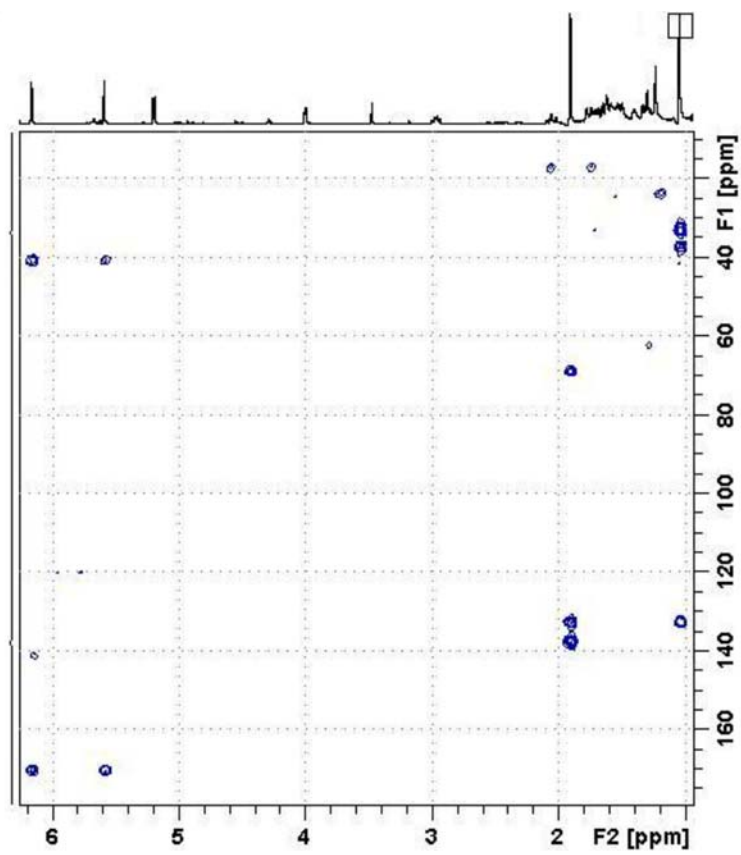


Φάσμα COSY ουσίας **11** (CDCl_3 , 400 MHz).

-Αποτελέσματα-



Φάσμα HSQC ουσίας 11 (CDCl₃, 400 MHz).

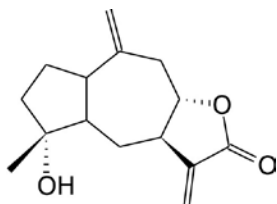


Φάσμα HMBC ουσίας 11 (CDCl₃, 400 MHz).

ως προς τον σκελετό του ευδεσμανίου. Τα πρωτόνια H-8a και H-8b εμφανίζονται ως δύο πολλαπλές κορυφές σε δ 1.65 και 1.74, αντιστοίχως, όπως επιβεβαιώνεται και από το φάσμα HSQC. Ενδιαφέρουσα είναι η περίπτωση

από το φάσμα άνθρακα, όπου ο C-3 εμφανίζεται στην περιοχή των οξυγονωμένων ανθράκων σε δ 69.5, αρκετά αποθωρακισμένος, λόγω της παρουσίας οξυγονούχου υποκαταστάτη (υδροξυλική ομάδα).

Ινουβισκολίδιο (ουσία **12**), [=4*a*-υδροξυγουαΐα-11(13),10(14)-διεν-1*β*,5*α*,7*α*,8*β*H-12,8-ολίδιο], [κτ. IUPAC: 5-υδροξυ-5-μεθυλο-3,8-διμεθυλενο-δεκαϋδρο-αζουλενο[6,5-*b*]φουραν-2-όνη]



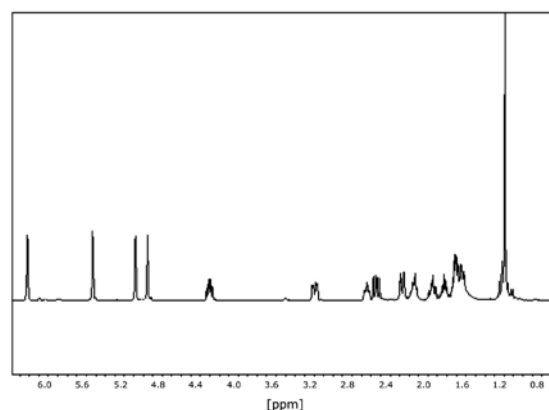
$$[\alpha]_D^{20} = -0.86 \text{ (} c, \text{CHCl}_3, 7.28 \text{)}.$$

Η ουσία **12** απομονώθηκε σε ελαιώδη μορφή και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Απομονώθηκε για πρώτη φορά από το *D. viscosa* (Bohlmann *et al.*, 1977). Έκτοτε έχει απομονωθεί από το είδος αυτό αρκετές φορές (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.2). Επίσης έχει απομονωθεί και από άλλα είδη της οικογένειας Asteraceae και συγκεκριμένα τα *Apalochlamys spectabilis* (Zdero *et al.*, 1990), *Bedfordia arborescens* (Zdero *et al.*, 1987), *Dittrichia graveolens* (Rustaiyan *et al.*, 1987; Lanzetta *et al.*, 1991; Τορτσου *et al.*, 1993), *Gnephosis brevifolia* (Jakupovic *et al.*, 1988), *Helichrysum dasyanthum* (Jakupovic *et al.*, 1989), *Inula japonica* (Yang *et al.*, 2003), *Jasonia candicans*

(Ahmed and Mahmoud, 1998), *Stevia ovata* (Calderon *et al.*, 1987) και *Vicoa pentanema* (Mossa *et al.*, 1997).

Τα φάσματα της ουσίας αυτής εμφανίζουν πολλές ομοιότητες με τα φάσματα της ουσίας **13**. Από τη σύγκριση των φασμάτων καθίσταται εμφανές ότι οι δύο λακτόνες διαφέρουν στην στερεοχημεία του C-8. Στο φάσμα ¹H-NMR, το πρωτόνιο H-8 εμφανίζεται σε δ 4.30 ως τριπλώς τριπλή κορυφή (J=6.2, 10.2 Hz) σαφώς θωρακισμένο έναντι του αντίστοιχου 8-επιμερούς



Φάσμα ¹H-NMR της ουσίας **12** (CDCl₃, 400 MHz)

Πίνακας Η-12. ¹H-NMR της ουσίας **12** (CDCl₃, 400 MHz).

δ (ppm)	n° H	πολλαπλότητα, J (Hz)	ταυτοποίηση
2.15	1	dt (J=3.4, 11.9)	H-1
1.96	1	m	H-2a
1.71	1	m	H-2b
1.83	1	m	H-3a
1.70	1	m	H-3b
1.63	1	dd (J=3.8, 11.6)	H-5
2.27	1	tt (J=3.1, 13.0)	H-6 <i>a</i>
1.20	1	dd (J=5.8, 12.6)	H-6 <i>β</i>
2.64	1	dt (J=3.1, 11.6)	H-7
4.30	1	tt (J=6.2, 10.2)	H-8 <i>β</i>
2.54	1	dd (J=10.9, 15.6)	H-9 <i>a</i>
3.19	1	td (J=3.1, 15.6)	H-9 <i>β</i>
6.22	1	d (J=3.4)	H-13a
5.53	1	d (J=3.1)	H-13b
5.08	1	br s	H-14a
4.95	1	br s	H-14b
1.19	3	s	H-15 <i>β</i>

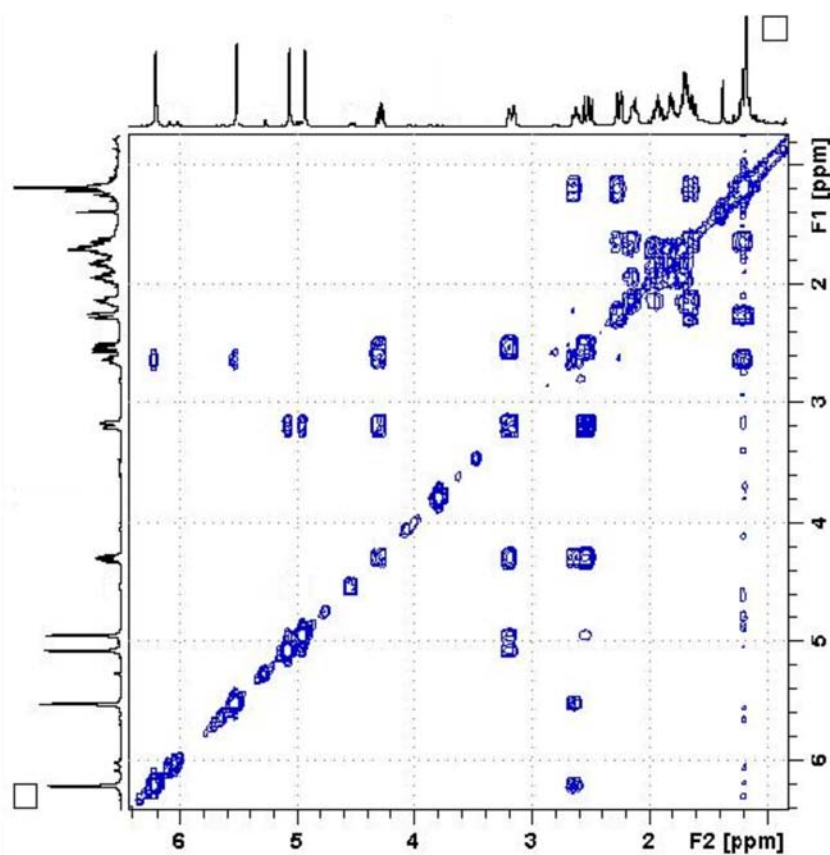
(δ 4.57, ουσία **13**). Στο φάσμα COSY, το πρωτόνιο H-8 δίνει σήμα με τα πρωτόνια H-9*a*,

H-9 β και H-7. Η μεγάλη σταθερά σύζευξης μεταξύ των H-7 και H-9 α υποδηλώνει αντιπαράλληλο μεταξύ τους προσανατολισμό στο χώρο, ενώ η μικρότερη σταθερά σύζευξης αφορά το πρωτόνιο H-9 β , που έχει ισημερινό προσανατολισμό. Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι ο λακτονικός δακτύλιος είναι *trans*. Όπως και για άλλα *trans*-8,12 γουαϊανολίδια το σήμα του H-7 μετατοπίζεται σε περιοχές υψηλότερου πεδίου, ήτοι σε δ 2.64 έναντι δ 3.19 του 8-επιμερούς (ουσία **13**).

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$, παρατηρούνται δύο διπλές κορυφές σε δ 6.22 ($J=3.4$ Hz) και 5.53 ($J=3.1$ Hz), που ολοκληρώνουν η καθεμία για ένα πρωτόνιο. Πρόκειται για το εξωκυκλικό μεθυλένιο του λακτονικού δακτυλίου (C-13). Ομοίως, οι σταθερές σύζευξης υποδεικνύουν ότι ο λακτονικός δακτύλιος είναι σε *trans*-θέση

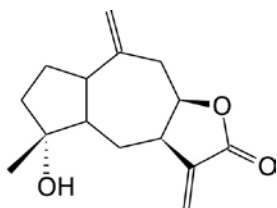
ως προς τον επταμελή δακτύλιο, σύμφωνα με τον κανόνα του Samek (Samek, 1978). Επίσης, στην ολεφινική περιοχή παρατηρούνται δύο ευρείες απλές κορυφές σε δ 5.08 και 4.95, που ολοκληρώνουν η καθεμία για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούν στο μεθυλένιο της θέσεως 14. Σε περιοχή υψηλού πεδίου, σε δ 1.19 παρατηρείται μια οξεία κορυφή, που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στο μεθύλιο C-15. Ομοίως, σε περιοχή υψηλού πεδίου εμφανίζονται τα σήματα των μεθυλενίων των θέσεων 2 και 3 ως πολλαπλές κορυφές μερικώς επικαλυπτόμενες. Το H-1 εμφανίζεται σε δ 2.15 ως διπλώς τριπλή κορυφή ($J=3.4, 11.9$ Hz). Η μεγάλη σταθερά σύζευξης ($J=11.9$ Hz) μεταξύ των H-1 και H-5 υποδεικνύει την *trans*-διάταξη μεταξύ τους.

Από την ανάλυση των φασμάτων και με σύγκριση των πειραματικών δεδομένων με αυτά της βιβλιογραφίας (Bohlmann *et al.*, 1977; Zdero *et al.*, 1987) συμπεραίνεται ότι η ουσία **12** είναι το ινουβισκολίδιο.



Φάσμα COSY της ουσίας **12** (CDCl_3 , 400 MHz)

8-επι-ινουβισκολίδιο (ουσία **13**), [=4α-υδροξυγουαϊα-11(13),10(14)-διεν-1β,5α,7α,8αH-12,8-ολίδιο], [κτ. IUPAC: 5-υδροξυ-5-μεθυλο-3,8-διμεθυλενο-δεκαϋδρο-αζουλενο[6,5-b]φουραν-2-όνη]



$$[\alpha]_D^{20} = +0.09 \text{ (c, CHCl}_3\text{, 10.53)}.$$

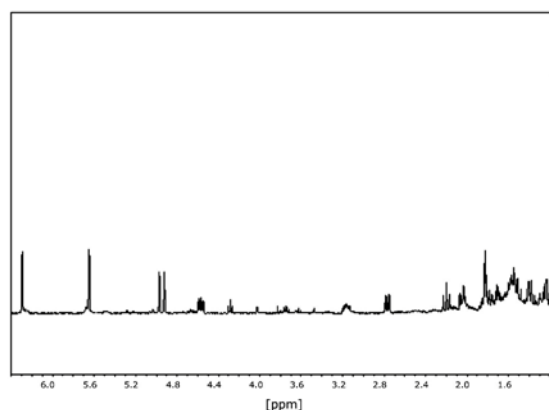
Η ουσία **13** απομονώθηκε σε ελαιώδη μορφή και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Απομονώθηκε για πρώτη φορά από το είδος *Geigeria aspera* var. *aspera* (Asteraceae) (Bohlmann *et al.*, 1982c). Έχει απομονωθεί και από άλλα είδη της οικογένειας Asteraceae και συγκεκριμένα τα *Bedfordia arborescens* (Zdero *et al.*, 1987), *Dittrichia graveolens* (Torcu *et al.*, 1993), *Helichrysum dasyanthum* (Jakupovic *et al.*, 1989) και *Jasonia candicans* (Ahmed and Mahmoud, 1998).

Από το *D. viscosa* απομονώθηκε πρώτη φορά από τους Rustaiyan *et al.* (1987). Είναι η δεύτερη φορά που απομονώνεται από το παραπάνω είδος.

Η λακτονοποίηση, όπως και στην ουσία **12**, γίνεται στη θέση 8, καθότι όπως φαίνεται από το φάσμα HSQC, ο C-8 είναι πιο αποθωρακισμένος σε δ 81.0 από τον C-6 που δίνει σήμα σε δ 30.0. Τα φάσματα της ουσίας αυτής εμφανίζουν πολλές ομοιότητες με τα φάσματα της ουσίας **12**. Από

την σύγκριση των φασμάτων καθίσταται εμφανές ότι οι δύο λακτόνες διαφέρουν στην στεreoχημεία του C-8. Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$, το H-8 εμφανίζεται αποθωρακισμένο σε δ 4.57 έναντι 4.30 του ινουβισκολιδίου (ουσία **12**). Η μικρή σταθερά σύζευξης ($J=4.1$ Hz) μεταξύ του H-8α/H-7 οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα πρωτόνια αυτά έχουν *cis*-διάταξη μεταξύ τους, άρα ο λακτονικός δακτύλιος έχει *cis*-διαμόρφωση ως προς τον επταμελή δακτύλιο.



Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **13** (CDCl_3 , 400 MHz).

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$, παρατηρούνται δύο διπλές κορυφές σε δ 6.29 ($J=3.1$ Hz) και 5.65 ($J=2.5$ Hz), που είναι χαρακτηριστικές του εξωκυκλικού μεθυλενίου του λακτονικού δακτυλίου. Στο φάσμα HSQC παρατηρείται ότι οι

Πίνακας H-13. $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **13** (CDCl_3 , 400 MHz).

δ (ppm)	n° H	πολλαπλότητα, J (Hz)	ταυτοποίηση
2.05	1	br dd ($J=4.8, 12.7$)	H-1
1.82	1	<i>m</i>	H-2a
1.57-1.51	1	<i>m</i>	H-2b
1.70	1	<i>m</i>	H-3a
1.57-1.51	1	<i>m</i>	H-3b
1.40	1	dd ($J=10.9, 11.3$)	H-5
2.05	1	br dd ($J=4.8, 13.3$)	H-6α
1.53	1	ddd ($J=11.3, 12.0, 13.3$)	H-6β
3.19	1	dddd ($J=2.5, 3.1, 4.1, 12.0$)	H-7
4.57	1	dq ($J=4.1, 12.6$)	H-8α
2.77	1	dd ($J=4.1, 12.6$)	H-9α
2.20	1	dd ($J=12.3, 12.6$)	H-9β
6.29	1	<i>d</i> ($J=3.1$)	H-13a
5.65	1	<i>d</i> ($J=2.5$)	H-13b
4.97	1	br <i>s</i>	H-14a
4.92	1	br <i>s</i>	H-14b
1.18	3	<i>s</i>	H-15β

κορυφές αυτές αντιστοιχούν σε ολεφινικό μεθυλένιο και το σήμα του εμφανίζεται σε δ 122.5. Τα πρωτόνια αυτά παρουσιάζουν σύζευξη, όπως φαίνεται από το φάσμα COSY της

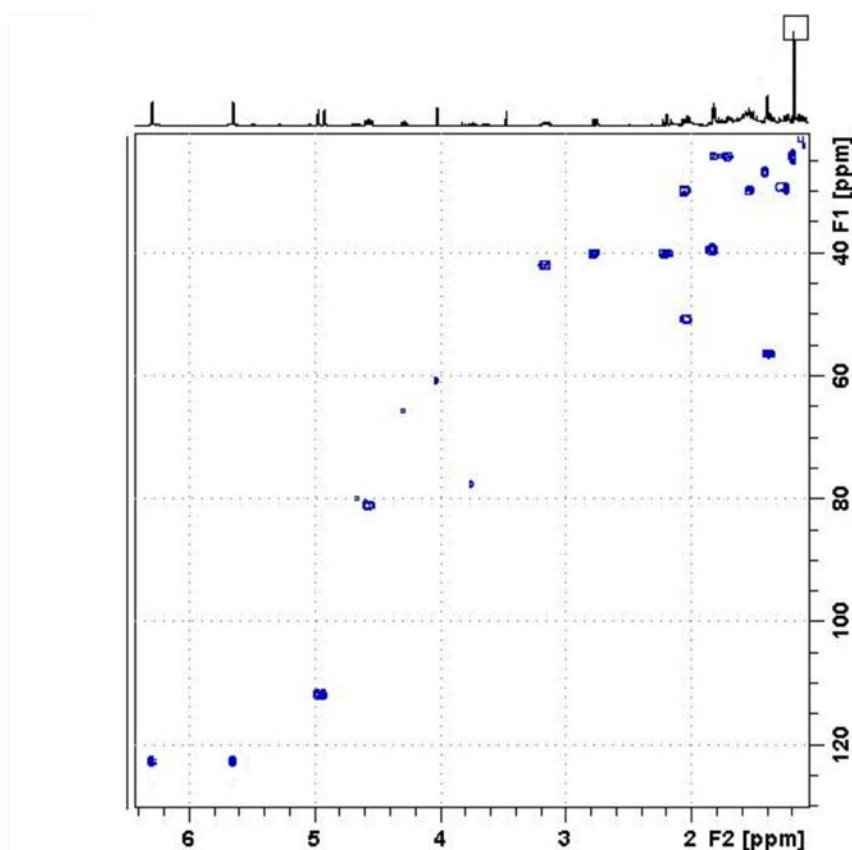
Πίνακας C-13. ^{13}C -NMR της ουσίας **13** (CDCl_3 , 50.3 MHz).

δ (ppm)	τύπος C	ταυτοποίηση
51.0	CH	C-1
39.8	CH ₂	C-2
24.2	CH ₂	C-3
*	C	C-4
56.5	CH	C-5
30.0	CH ₂	C-6
42.2	CH	C-7
81.0	CH	C-8
40.0	CH ₂	C-9
*	C	C-10
*	C	C-11
*	CO	C-12
122.5	CH ₂	C-13
111.5	CH ₂	C-14
24.5	CH ₃	C-15

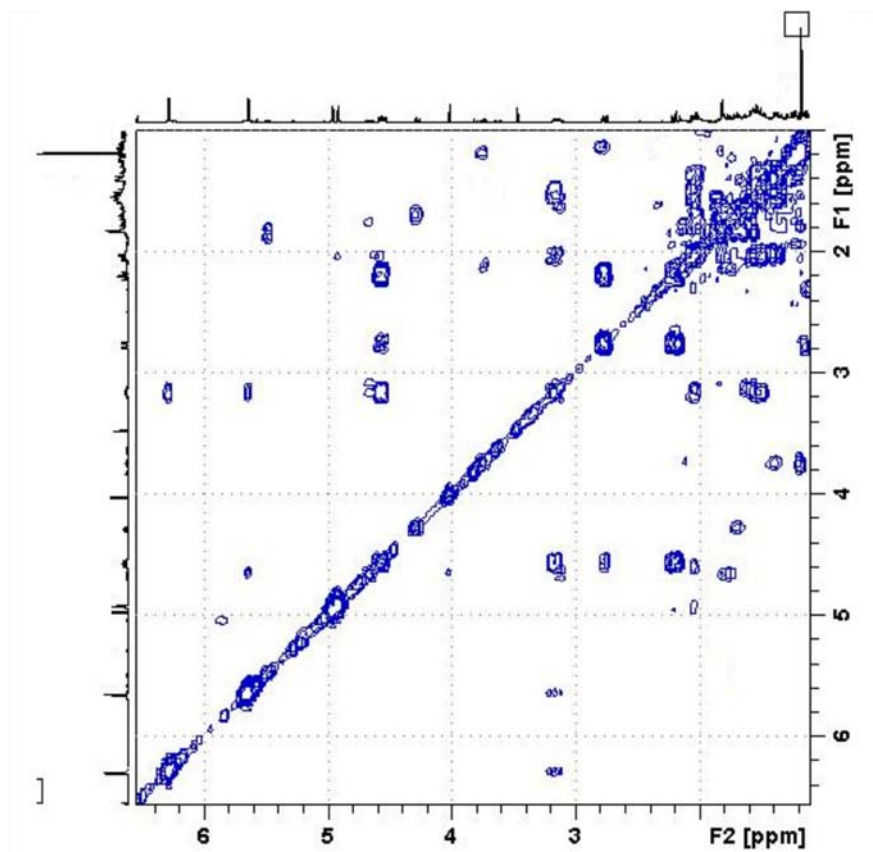
* Η απόδοση έγινε με βάση το φάσμα HSQC.

ουσίας, με το πρωτόνιο H-7. Το πρωτόνιο H-7 εμφανίζεται ως μια διπλώς διπλώς διπλώς διπλή κορυφή σε δ 3.19 και από το φάσμα HSQC προκύπτει ότι ο C-7 βρίσκεται στα 42.2. Από το φάσμα COSY διαπιστώνεται, ότι το H-7 ομοίως συζεύγνυται και με τα γειτονικά πρωτόνια H-6 α , H-6 β και H-8 α .

Επίσης, παρατηρούνται δύο απλές κορυφές σε δ 4.97 και 4.92, που ολοκληρώνουν η καθεμία για ένα πρωτόνιο. Ομοίως, από το φάσμα HSQC διαπιστώνεται ότι πρόκειται για μεθυλένιο (CH₂-14), του οποίου το σήμα εμφανίζεται στην ολεφινική περιοχή σε δ 111.5. Σε περιοχή υψηλού πεδίου, σε δ 1.18 παρατηρείται μια οξεία κορυφή, που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στο μεθύλιο C-15. Από το φάσμα HSQC διαπιστώνεται ότι αντιστοιχεί στον θωρακισμένο άνθρακα σε δ 24.5. Τα σήματα των μεθυλενίων των θέσεων 2 και 3 εμφανίζονται σε περιοχή υψηλού πεδίου ως πολλαπλές κορυφές



Φάσμα HSQC της ουσίας **13** (CDCl_3 , 400 MHz).

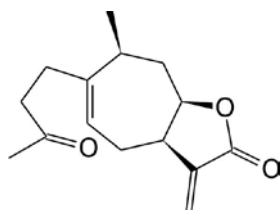


Φάσμα COSY της ουσίας **13** (CDCl₃, 400 MHz).

μερικώς επικαλυπτόμενες. Το H-1 εμφανίζεται σε δ 2.05 ως διπλώς διπλή κορυφή (J=4.8, 12.7 Hz). Η μεγάλη σταθερά σύζευξης (J=12.7 Hz) μεταξύ των H-1 και H-5 υποδεικνύει την *trans*-διάταξη μεταξύ τους.

Από την ανάλυση των φασμάτων και με σύγκριση των πειραματικών δεδομένων με αυτά της βιβλιογραφίας (Zdero *et al.*, 1987) συμπεραίνεται ότι η ουσία **13** είναι το 8-επιινουβισκολίδιο.

Τομεντοσίνη (ουσία **14**), [=2-απακετοξυξανθινίνη, =ξανθαλογγίνη, =2,3-διυδρο-4-κετο-1(5),11(13)-ξανθαδιεν-8β,12-ολίδιο], [κτ. IUPAC: 7-μεθυλο-3-μεθυλενο-6-(3-οξο-βουτυλο)-3,3a,4,7,8,8a-εξαϋδρο-κυκλοεπτα[*b*] φουραν-2-όνη]



$$[\alpha]_D^{20} = +11.68 \text{ (c, CHCl}_3\text{, 0.74)}.$$

Η ουσία **14** απομονώθηκε σε ελαιώδη μορφή και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

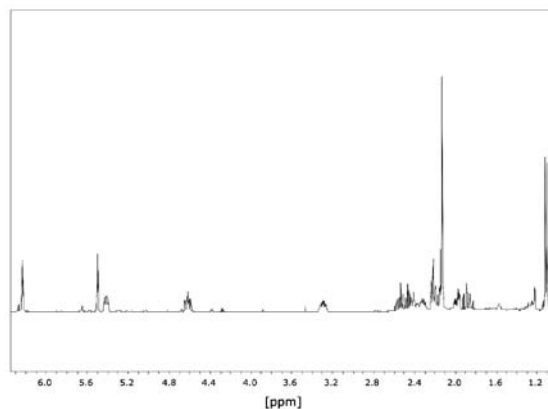
Για πρώτη φορά απομονώθηκε από το *Parthenium tomentosum* (Asteraceae) (Rodriguez *et al.*, 1971) χωρίς να αποδοθεί η στερεοχημεία στον C-8. Επίσης έχει απομονωθεί και από άλλα είδη της ίδιας οικογένειας και συγκεκριμένα τα

Arnica amplexicaulis (PaBreiter *et al.*, 1990), *A. mollis* (Marcinek-Hüpen-Bestendonk *et al.*, 1990; Passreiter *et al.*, 1996), *A. longifolia* (Willuhn *et al.*, 1998), *Carpesium macrocephalum* (Kim *et al.*, 2004), *Dittrichia graveolens* (Lanzetta *et al.*, 1991; Öksüz and Topçu, 1992), *Geigeria brevifolia* (Bohlmann *et al.*, 1982c), *Gnephosis brevifolia* (Jakupovic *et al.*, 1988), *Helianthopsis sagasteguii* (Spring *et al.*, 1991), *Inula britannica* var. *chinensis* (Ito and Iida, 1981), *I. japonica* (Jeske *et al.*, 1993; Yang *et al.*, 2003), *I. helenium*, *I. royleana* (Bohlmann *et al.*, 1978), *Pegolettia oxydonta* (Zdero and Bohlmann, 1989), *Scalesia* spp. (Spring *et al.*, 1997), *Telekia speciosa* (Bohlmann *et al.*, 1981b), *Xanthium strumarium* (Malik *et al.*, 1992), *X.*

indicum (Bohlmann *et al.*, 1982a) και *Viguiera tucumanensis* (Meragelman *et al.*, 1996).

Από το *D. viscosa* απομονώθηκε για πρώτη φορά από τους Bohlmann *et al.* (1977). Έκτοτε, έχει απομονωθεί ακόμα αρκετές φορές από το ίδιο είδος (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα ΙΙΙ.4.1.2).

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$, παρατηρούνται στην ολεφινική περιοχή δύο τυπικά σήματα υπό μορφή διπλών κορυφών σε δ 6.23 ($J=2.9$ Hz) και 5.50 ($J=3.5$ Hz), που ολοκληρώνουν η καθεμία για ένα πρωτόνιο. Πρόκειται για το εξωκυκλικό μεθυλένιο του διπλού δεσμού του λακτονικού δακτυλίου. Επίσης, παρατηρείται μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ 5.42 ($J=5.4, 8.9$ Hz), που αντιστοιχεί στο H-5. Το πρωτόνιο H-8 εμφανίζεται σε δ 4.62 ως τριπλώς τριπλή κορυφή ($J=2.8, 8.6$ Hz). Το πρωτόνιο H-7 εμφανίζεται ως μια διπλώς διπλώς διπλώς διπλώς διπλή κορυφή σε δ 3.30 ($J=2.9, 3.5, 5.7, 8.0, 12.0$ Hz). Το πρωτόνιο H-6a εμφανίζεται σε δ 2.32 ($J=6.4, 11.8$ Hz), ενώ το πρωτόνιο H-6b εμφανίζεται σε δ 2.15 μερικώς επικαλυπτόμενο με το CH_3 -15. Το CH_3 -14 εμφανίζεται ως διπλή κορυφή σε δ 1.11 ($J=7.0$ Hz), ενώ το CH_3 -15 εμφανίζεται πιο αποθωρακισμένο καθότι ανήκει σε ακετοξυομάδα, ως απλή κορυφή σε δ 2.13. Το πρωτόνιο H-2a εμφανίζεται ως διπλώς διπλή κορυφή σε δ 2.53 ($J=7.3, 7.6$ Hz), ενώ το πρωτόνιο H-2b εμφανίζεται ως διπλώς διπλή κορυφή σε δ 2.47 ($J=7.6, 8.0$ Hz). Το πρωτόνιο H-9a εμφανίζεται ως διπλώς διπλώς διπλή κορυφή σε δ 1.98 ($J=2.9, 6.0, 13.6$ Hz), ενώ το πρωτόνιο H-9b



Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **14** (CDCl_3 , 400 MHz).

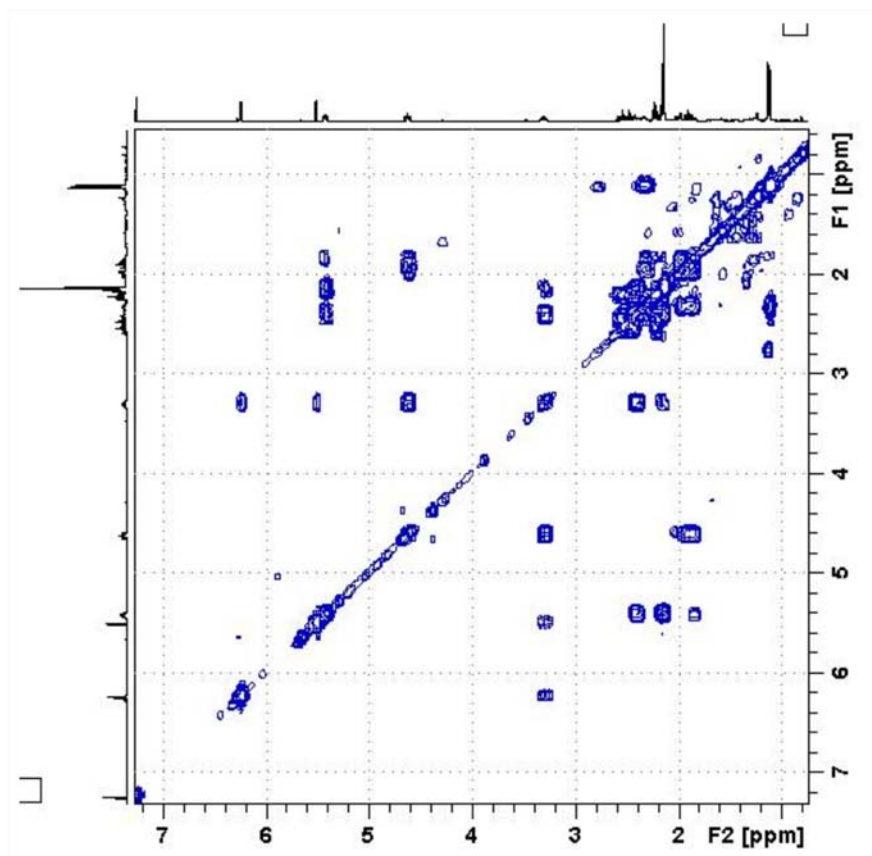
εμφανίζεται ως τριπλή κορυφή σε δ 1.89 ($J=11.8$ Hz). Σε δ 2.22 εμφανίζεται μια διπλώς διπλή κορυφή που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια: H-3a και H-3b. Το πρωτόνιο H-10 εμφανίζεται υπό μορφή πολλαπλής κορυφής σε δ 2.38. Η θέση του καθορίστηκε από το φάσμα COSY, όπου φαίνεται η σύζευξη του με το H-5. Επίσης, στο ίδιο φάσμα είναι εμφανείς οι συζεύξεις του πρωτονίου H-5 με τα γειτονικά πρωτόνια H-6a, H-6b, καθώς και οι συζεύξεις του πρωτονίου H-7 με τα γειτονικά πρωτόνια H-6a, H-6b, H-8, H-13a, H-13b. Στο φάσμα NOESY, παρατηρείται σήμα μεταξύ του H-7 και του H-8, που υποδηλώνει ότι ο λακτονικός δακτύλιος είναι σε θέση *cis* ως προς τον κεντρικό δακτύλιο.

Προγενέστερες βιβλιογραφικές αναφορές στα φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας είναι ελλειπείς: (Bohlmann *et al.*, 1977; Bohlmann *et al.*, 1978; Ito and Iida, 1981; Lanzetta *et al.*, 1991; Cafarchia *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2004).

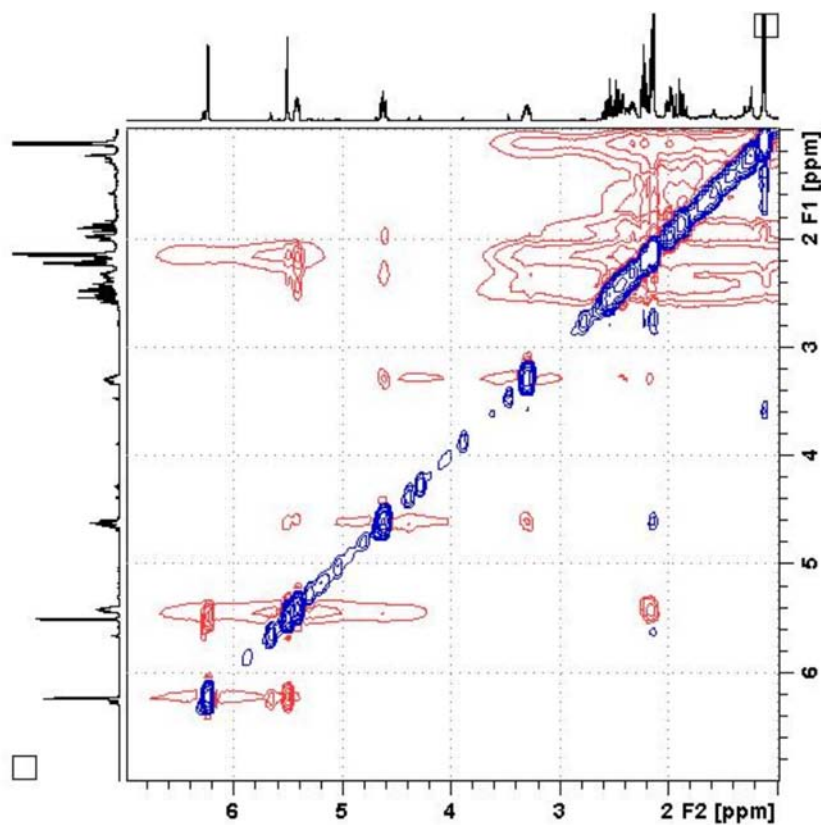
Πίνακας H-14. $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **14** (CDCl_3 , 400 MHz).

δ (ppm)	$n^\circ \text{H}$	πολλαπλότητα, J (Hz)	ταυτοποίηση
2.53	1	dd ($J=7.3, 7.6$)	H-2a
2.47	1	dd ($J=7.6, 8.0$)	H-2b
2.22	2	dd ($J=7.3, 8.0$)	H-3a, H-3b
5.42	1	dd ($J=5.4, 8.9$)	H-5
2.32	1	dd ($J=6.4, 11.8$)	H-6a
2.15	1	*	H-6b
3.30	1	dddd ($J=2.9, 3.5, 5.7, 8.0, 12.0$)	H-7
4.62	1	tt ($J=2.8, 8.6$)	H-8
1.98	1	ddd ($J=2.9, 6.0, 13.6$)	H-9a
1.89	1	t ($J=11.8$)	H-9b
2.38	1	m	H-10
6.23	1	d ($J=2.9$)	H-13a
5.50	1	d ($J=3.5$)	H-13b
1.11	3	d ($J=7.0$)	H-14
2.13	3	s	H-15

-Αποτελέσματα-

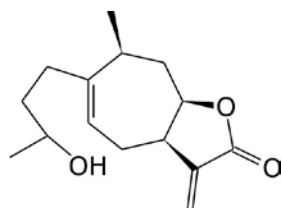


Φάσμα COSY της ουσίας 14 (CDCl₃, 400 MHz).



Φάσμα NOESY της ουσίας 14 (CDCl₃, 400 MHz).

4H-τομεντοσίνη (ουσία **15**), [=2-απακετυλο-11α,13-ξανθουμινόλη, =4H-ξανθαλογγίνη, =2,3-διυδρο-4-υδροξυ-1(5),11(13)-ξανθαδιεν-8β,12-ολίδιο], [κτ. IUPAC: 6-(3-υδροξυ-βουτυλο)-7-μεθυλο-3-μεθυλενο-3,3a,4,7,8,8a-εξαϋδρο-κυκλοεπτα[*b*] φουραν-2-όνη]



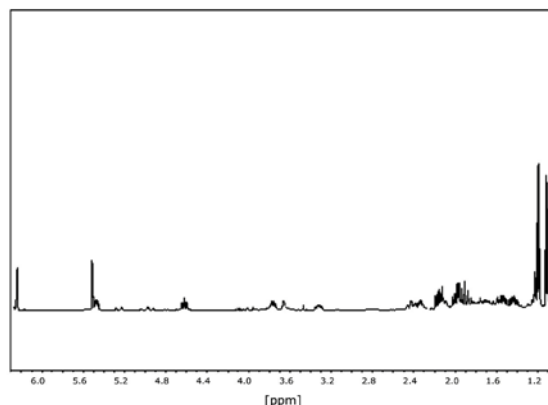
$$[\alpha]_D^{20} = +0.06 \text{ (c, CHCl}_3, 23.33).$$

Η ουσία **15** απομονώθηκε σε ελαιώδη μορφή και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.

Για πρώτη φορά απομονώθηκε από την *Inula royleana* (Asteraceae) (Bohlmann *et al.*, 1978). Επίσης έχει απομονωθεί από τα φυτά *Arnica mollis* (Marcinek-Hüpen-Bestendonk *et al.*, 1990), *A. longifolia* (Willuhn *et al.*, 1998), *Carpesium macrocephalum* (Kim *et al.*, 2004), *Dittrichia graveolens* (Öksüz and Torcu, 1992), *Inula japonica* (Jeske *et al.*, 1993; Yang *et al.*, 2003) και *Scalesia* spp. (Spring *et al.*, 1997) της οικογένειας Asteraceae.

Από το φυτό *D. viscosa* έχει απομονωθεί μόνο μια φορά (Sanz *et al.*, 1991).

Το φάσμα ¹H-NMR της ουσίας αυτής εμφανίζει πολλές ομοιότητες με αυτό της ουσίας **14**. Από την σύγκριση των φασμάτων καθίσταται εμφανές ότι οι δύο λακτόνες διαφέρουν στον υποκαταστάτη της θέσεως 4, ο οποίος στην ουσία **14** είναι κετονομάδα, ενώ στην παρούσα ουσία



Φάσμα ¹H-NMR της ουσίας **15** (CDCl₃, 400 MHz).

είναι αλκοολομάδα. Το CH₃-15 εμφανίζεται ως διπλή κορυφή σε δ 1.19 (J=6.2 Hz), ενώ στην ουσία **14** εμφανίζεται ως απλή κορυφή σε δ 2.13. Το H-4 εμφανίζεται ως διπλώς διπλώς τριπλή κορυφή σε δ 3.77 (J=1.6, 2.9, 6.2 Hz), λόγω σύζευξης με τα δίδυμα πρωτόνια της θέσεως 3 και με το CH₃-15, ενώ στην ουσία **14** το πρωτόνιο αυτό απουσιάζει. Το CH₃-14 εμφανίζεται ως διπλή κορυφή σε δ 1.11 (J=7.0 Hz), όπως και στην ουσία **14**. Στην ολεφινική περιοχή παρατηρούνται τα δύο τυπικά σήματα υπό μορφή διπλών κορυφών σε δ 6.24 (J=3.3 Hz) και 5.51 (J=2.9 Hz), που ολοκληρώνουν η καθεμία για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούν στο εξωκυκλικό μεθυλένιο του λακτονικού δακτυλίου. Επίσης,

Πίνακας Η-15. ¹H-NMR της ουσίας **15** (CDCl₃, 400 MHz).

δ (ppm)	n° H	πολλαπλότητα, J (Hz)	ταυτοποίηση
2.29-2.46	2	<i>m</i>	H-2a, H-2b
1.45	1	<i>dddd</i> (J=3.4, 6.6, 11.2, 14.8)	H-3a
1.54	1	<i>ddt</i> (J=3.3, 5.0, 14.8)	H-3b
3.77	1	<i>ddt</i> (J=1.6, 2.9, 6.2)	H-4
5.47	1	<i>dd</i> (J=5.4, 8.7)	H-5
2.32	1	<i>m</i>	H-6a
2.16	1	<i>ddt</i> (J=5.0, 9.1, 14.2)	H-6b
3.32	1	<i>dddd</i> (J=2.9, 6.1, 8.0, 9.1, 11.6)	H-7
4.63	1	<i>tt</i> (J=2.9, 8.3)	H-8
1.97-2.03	2	<i>m</i>	H-9a, H-9b
2.34	1	<i>br q</i> (J=6.2)	H-10
6.24	1	<i>d</i> (J=3.3)	H-13a
5.51	1	<i>d</i> (J=2.9)	H-13b
1.11	3	<i>d</i> (J=7.0)	H-14
1.19	3	<i>d</i> (J=6.2)	H-15

-Αποτελέσματα-

παρατηρείται μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ 5.47 ($J=5.4, 8.7$ Hz), που αντιστοιχεί στο H-5. Το πρωτόνιο H-8 εμφανίζεται σε δ 4.63 ως τριπλώς τριπλή κορυφή ($J=2.9, 8.3$ Hz). Το πρωτόνιο H-7 εμφανίζεται ως διπλώς διπλώς διπλώς διπλώς διπλή κορυφή σε δ 3.32 ($J=2.9, 6.1, 8.0, 9.1, 11.6$ Hz). Το πρωτόνιο H-6a εμφανίζεται ως πολλαπλή κορυφή σε δ 2.32 και πρωτόνιο H-6b εμφανίζεται ως διπλώς διπλώς τριπλή σε δ 2.16 ($J=5.0, 9.1, 14.2$ Hz).

Συζήτηση

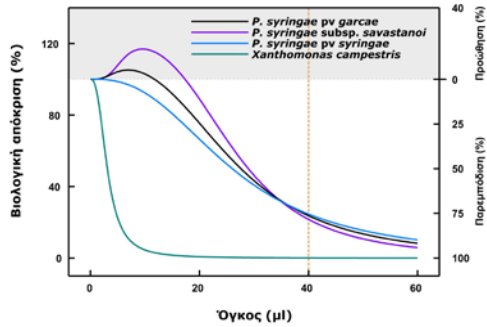
I. Επίδραση εκπλυμάτων του επιεφυμενιδικού υλικού των φυτών *Cistus creticus* και *Dittrichia viscosa* στην ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

I.1. Επίδραση των χλωροφορμικών εκπλυμάτων του επιεφυμενιδικού υλικού των φυτών *Cistus creticus* και *Dittrichia viscosa* στην *in vitro* ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

Το φυτό *C. creticus* (Cistaceae), όπως και το φυτό *D. viscosa* (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητες III.2 και III.3), αποτελεί χαρακτηριστικό φυτικό είδος του μεσογειακού οικοσυστήματος το οποίο επίσης χαρακτηρίζεται από την παρουσία επιεφυμενιδικού εκκρίματος στην επιφάνεια των υπέργειων οργάνων του λόγω της ύπαρξης αδενώδους τριχώματος (Solereder, 1908; Καββάδας, 1956; Glz *et al.*, 1996). Επιπλέον στη χημική σύσταση του φυτού *C. creticus*, όπως και σ' αυτή του φυτού *D. viscosa* (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4), συμπεριλαμβάνονται δευτερογενείς μεταβολίτες της κατηγορίας των τερπενίων (μονοτερπένια, διτερπένια και σесκιτερπένια) (Demetzos *et al.*, 1994a; Demetzos *et al.*, 1994b; Dimas *et al.*, 1998; Anastasaki *et al.*, 1999; Demetzos *et al.*, 2002; Hatzellis *et al.*, 2004) αλλά και φλαβονοειδή (Vogt *et al.*, 1987; Demetzos *et al.*, 1989; Demetzos *et al.*, 1990). Για τους προαναφερόμενους λόγους και προκειμένου να αξιολογηθεί το φυτοπροστατευτικό δυναμικό του φυτού *D. viscosa* έναντι παθογόνων, στην παρούσα εργασία γίνεται σύγκριση της *in vitro* αντιμικροβιακής δράσης του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού των δύο φυτών. Οι έως τώρα ανάλογες μελέτες δεν λαμβάνουν υπ' όψη το γεγονός ότι το μίγμα των φυτοπροστατευτικών ουσιών με το οποίο έρχονται καταρχάς σε επαφή οι μικροοργανισμοί εντοπίζεται στην επιφάνεια των φυτικών οργάνων και σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις (Kelsey *et al.*, 1984; Duke *et al.*, 1999; Karamanolis, 2002). Έτσι, πολλές μελέτες αφορούν στην μελέτη εκχυλισμάτων (των οποίων η χημική σύσταση δεν αντιπροσωπεύει την σύσταση των επιφανειακών μιγμάτων) (Duke *et al.*, 2000) και σε

συγκεντρώσεις οι οποίες δεν ορίζονται στη βάση κάποιας οικοφυσιολογικής παραμέτρου (Inderjit and Nilsen, 2003). Για να αντιμετωπιστούν τα παραπάνω προβλήματα, στην παρούσα εργασία έγινε χρήση εκπλυμάτων των οποίων οι δόσεις αντιστοιχούσαν σε υπο- ή πολλαπλάσια της δόσης προσομοίωσης η οποία αντιστοιχεί στην φυσική συγκέντρωση επί της επιφάνειας των φυτικών οργάνων του μίγματος των ουσιών οι οποίες εκπλένονται υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες (βλ. 'Υλικά και Μέθοδοι', ενότητα I.3.1). Η παραπάνω πειραματική προσέγγιση επιτρέπει την σύγκριση του προϋπάρχοντος φυτοπροστατευτικού δυναμικού μεταξύ των δύο φυτών.

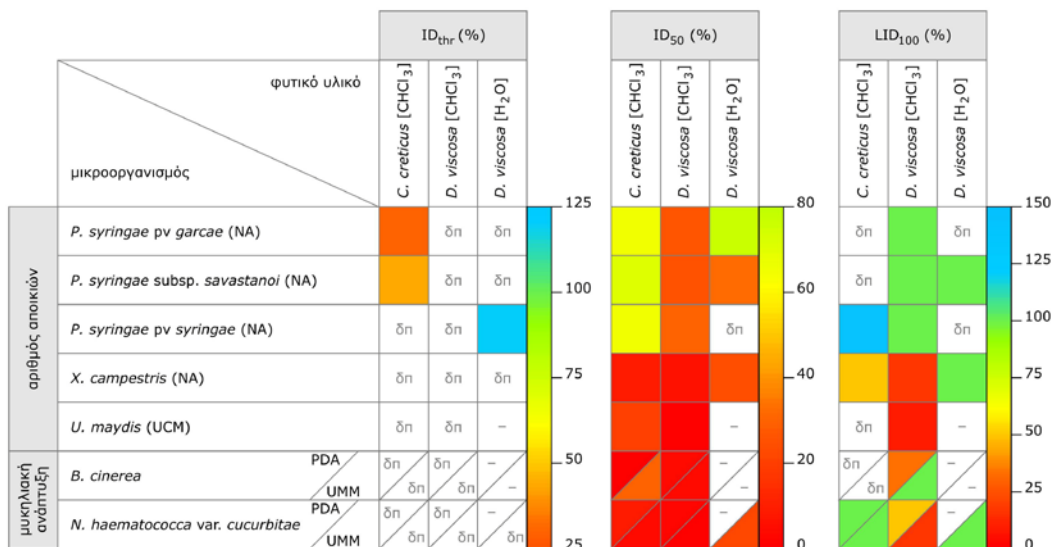
Η *in vitro* ανάπτυξη των επιλεγμένων βακτηρίων παρουσιάζει διαφοροποιήσεις όσον αφορά στην παρεμπόδιση υπό την επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού των δύο υπό εξέταση φυτών. Ο βαθμός της παρεμπόδισης εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού και το είδος του φυτού καθώς και από τη δόση του φυτικού υλικού. Συγκεκριμένα από την συγκριτική μελέτη των τεσσάρων βακτηρίων υπό την επίδραση του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus* προέκυψε ότι το πλέον ευαίσθητο είναι το *X. campestris* pv *pelargonii* (εικόνες 1 και 2). Επίσης, δύο από τα στελέχη εμφάνισαν φάση προώθησης της ανάπτυξης σε χαμηλές δόσεις του υλικού (εικόνες 1 και 2). Είναι αξιοσημείωτο πως σε τιμές κοντά στην δόση προσομοίωσης τρία από τα στελέχη εμφάνισαν παρόμοια παρεμπόδιση (εικόνα 1). Αρκετά διαφορετική εικόνα παρουσιάστηκε κατά την μελέτη του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* καθώς και τα τέσσερα βακτήρια εμφανίστηκαν πιο ευαίσθητα (εικόνες 3 και 2). Και στην περίπτωση αυτή ωστόσο, το είδος *X. campestris* pv *pelargonii* εμφανίστηκε περισσότερο ευαίσθητο στην επίδραση του φυτικού υλικού συγκριτικά με τα υπόλοιπα τρία βακτήρια (εικόνες 3 και 2). Στην δόση προσομοίωσης για το συγκεκριμένο υλικό, όλα τα βακτήρια εμφάνισαν σημαντική



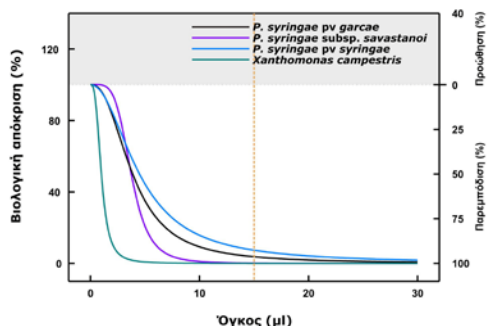
Εικόνα 1. Συγκριτική απεικόνιση της βιολογικής απόκρισης (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της ανάπτυξης αποικιών φυτοπαθογόνων βακτηρίων σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεμφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus* στο τέλος κάθε πειράματος. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε όγκο εκπλύματος επαναδιαλυμένο σε μεθανόλη επί της συνολικής επιφάνειας του τρυβλίου. Οι προσαρμοσμένες καμπύλες είναι αυτές της ενότητας 'Αποτελέσματα'. Η σκούρα περιοχή αντιστοιχεί στην περιοχή της θετικής απόκρισης (προώθηση της ανάπτυξης) και η κάθετη διακεκομμένη γραμμή στην δόση προσομοίωσης.

παρεμπόδιση της ανάπτυξής τους ενώ σε καμία δόση του φυτικού υλικού και για κανένα βακτήριο δεν σημειώθηκε φάση προώθησης (εικόνα 3). Η εμφάνιση φάσης προώθησης της ανάπτυξης σε χαμηλές δόσεις ενός βιοδραστικού συστατικού είναι συχνό φαινόμενο αν και τα αίτια δεν είναι διευκρινισμένα (An *et al.*, 1993; An *et al.*, 2001; Armstrong-Cho and Gossen, 2005; Dayan and Duke, 2006; Sinkkonen, 2006).

Αν και οι μέχρι σήμερα μελέτες του φυτού *C. creticus* αφορούν μόνο στις φαρμακευτικές του ιδιότητες (Dimas *et al.*, 1998; Kaliroutzakis *et al.*, 1998; Demetzos *et al.*, 2001; Dimas *et al.*, 2001; Kintziou *et al.*, 2001; Fokialakis *et al.*, 2006) εκείνες οι οποίες πραγματεύονται την αντιβακτηριακή του δράση οδηγούν σε συμπεράσματα ανάλογα της παρούσας εργασίας. Συγκεκριμένα έχει βρεθεί ότι αυτή εξαρτάται από το είδος του βακτηρίου, την εφαρμοζόμενη δόση, τη μέθοδο και το διαλύτη παραλαβής του φυτικού υλικού (Demetzos *et al.*, 1995; Demetzos *et al.*, 1997; Anastasaki *et al.*, 1999; Demetzos *et al.*, 1999; Güvenç *et al.*, 2005). Σε ανάλογα συμπεράσματα καταλήγουν και οι μελέτες που αφορούν στο φυτό *D. viscosa* και την αντιμικροβιακή δράση εκχυλισμάτων του με οργανικούς διαλύτες έναντι βακτηρίων (παθογόνων του ανθρώπου) (Ali-Shtayeh *et al.*, 1998; Oskay and Sar, 2007; Sassi *et al.*, 2007) αλλά και μυκήτων (παθογόνων του ανθρώπου και των φυτών) (Cafarchia *et al.*, 1999; Abou-Jawdah *et al.*, 2002). Αξίζει να επισημανθεί ότι σε ορισμένες περιπτώσεις η αλλαγή του οργανικού διαλύτη μπορεί να εξαλείψει την παρεμποδιστική δράση του εκχυλισματος (Cafarchia *et al.*, 1999; Abou-Jawdah *et al.*, 2002).

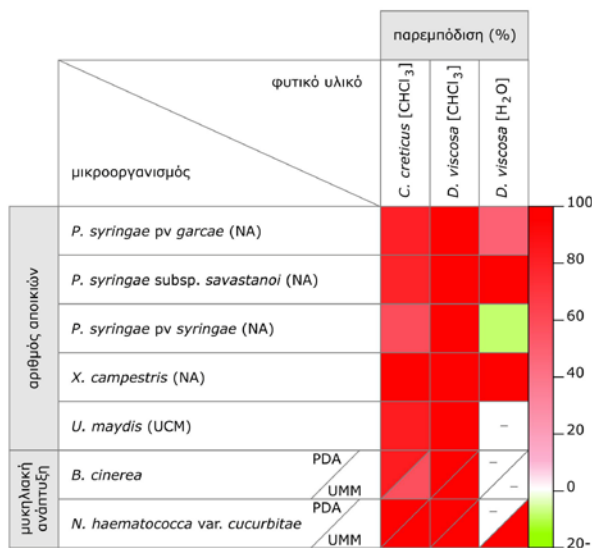


Εικόνα 2. Σύνοψη της επίδρασης χλωροφορμικού (*C. creticus* ή *D. viscosa*) ή υδατικού εκπλύματος (*D. viscosa*) του επιεμφυμενιδικού υλικού των φυτών στην ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών σε στερεό θρεπτικό μέσο (κατά περίπτωση). Το φυτικό υλικό έχει επαναδιαλυθεί σε μεθανόλη. Οι τιμές του πίνακα παρουσιάζονται κωδικοποιημένες χρωματικά σύμφωνα με την κλίμακα και αφορούν σε δόση εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της δόσης προσομοίωσης στην οποία παρατηρείται παρεμπόδιση ίση με αυτή που αντιστοιχεί στις παραμέτρους ID_{thr}, ID₅₀ και LID₁₀₀. Δεν παρουσιάζονται τιμές όπου δεν είναι διαθέσιμα αντίστοιχα πειράματα (-) ή όπου δεν μπορούσαν να προσδιοριστούν οι αντίστοιχες παράμετροι (δη).

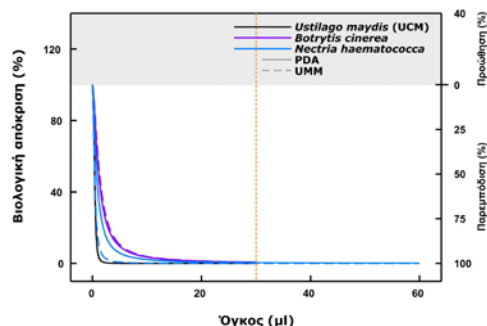


Εικόνα 3. Συγκριτική απεικόνιση της βιολογικής απόκρισης (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της ανάπτυξης αποικιών φυτοπαθογόνων βακτηρίων σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στο τέλος κάθε πειράματος. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

Η υπεροχή του χλωροφορμικού εκπλύματος του φυτού *D. viscosa* συγκριτικά με αυτό του φυτού *C. creticus* όσον αφορά στην παρεμπόδιση της *in vitro* ανάπτυξης μικροοργανισμών ήταν φανερή ιδιαίτερα στην περίπτωση των μυκήτων (εικόνες 2 και 4). Πιο συγκεκριμένα, η εφαρμογή της δόσης προσομοίωσης του φυτικού υλικού του *D. viscosa* προκάλεσε πρακτικά πλήρη παρεμπόδιση της ανάπτυξης των τριών ειδών μυκήτων ανεξαρτήτως θρεπτικού υλικού, ενώ

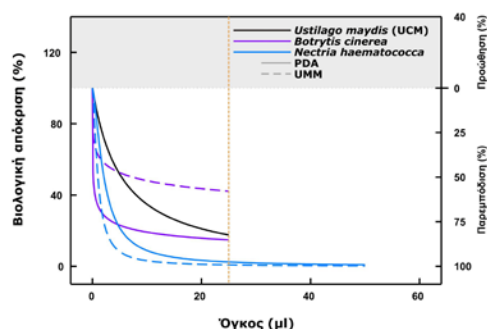


Εικόνα 4. Σύνοψη της επίδρασης χλωροφορμικού (*C. creticus* ή *D. viscosa*) ή υδατικού εκπλύματος (*D. viscosa*) του επιεφυμενιδικού υλικού των φυτών στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών σε στερεό θρεπτικό μέσο (κατά περίπτωση). Το φυτικό υλικό έχει επαναδιαλυθεί σε μεθανόλη. Οι τιμές του πίνακα παρουσιάζονται κωδικοποιημένες χρωματικά σύμφωνα με την κλίμακα και αφορούν στην παρεμπόδιση η οποία σημειώνεται με εφαρμογή δόσης ίσης με την δόση προσομοίωσης. Δεν παρουσιάζονται τιμές όπου δεν είναι διαθέσιμα αντίστοιχα πειράματα (-).



Εικόνα 5. Συγκριτική απεικόνιση της βιολογικής απόκρισης (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της ανάπτυξης αποικιών ή μυκηλίου φυτοπαθογόνων μυκήτων σε στερεά θρεπτικά μέσα (κατά περίπτωση) σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στο τέλος κάθε πειράματος. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

πολύ υψηλά ποσοστά παρεμπόδισης σημειώθηκαν και όταν εφαρμόστηκαν μικρότερες δόσεις (εικόνα 5). Αντίθετα, η επίδραση του χλωροφορμικού εκπλύματος του φυτού *C. creticus* στην ανάπτυξη των μυκήτων ήταν λιγότερο δραστική καθώς η παρεμπόδιση στην δόση προσομοίωσης αλλά ιδιαίτερα σε χαμηλότερες δόσεις ήταν σημαντικά μικρότερη αυτής του φυτού *D. viscosa* (συγκρ. εικόνες 6 και 5, βλ. επίσης εικόνες 2 και 4). Μεταξύ των μικροοργανισμών, ο μύκητας *B. cinerea* εμφανίστηκε αρκετά ανθεκτικός ενώ ο μύκητας *N. haematococca* var. *cucurbitae* αρκετά ευαίσθητος συγκριτικά με τα υπόλοιπα είδη και για τα δύο φυτικά υλικά (εικόνες 6, 5 και 2). Η διαφορά στην ευαισθησία μεταξύ των δύο ειδών μυκήτων θα μπορούσε μεταξύ άλλων να σχετίζεται και με πιθανή διαφορά στα βέλτιστα όρια τιμών pH του



Εικόνα 6. Συγκριτική απεικόνιση της βιολογικής απόκρισης (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της ανάπτυξης αποικιών ή μυκηλίου φυτοπαθογόνων μυκήτων σε στερεά θρεπτικά μέσα (κατά περίπτωση) σε συνάρτηση με τη δόση του χλωροφορμικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *C. creticus* στο τέλος κάθε πειράματος. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

θρεπτικού μέσου για την ανάπτυξή τους (Noble and Drysdale, 1983; Oritsejafor, 1986; Manteau *et al.*, 2003) καθώς τουλάχιστον η ανάπτυξη αλλά και η παρεμποδιστική δράση του φυτικού υλικού επί της ανάπτυξης του μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae* εξαρτώνται από την τιμή pH (βλ. 'Αποτελέσματα', ενότητες I.2.2 και I.3.2). Σύμφωνα με τους Noble and Drysdale (1983), η παρεμποδιστική δράση ορισμένων φαινολικών συστατικών επί της ανάπτυξης του μύκητα *N. galligena* ήταν υψηλότερη υπό συνθήκες χαμηλού pH.

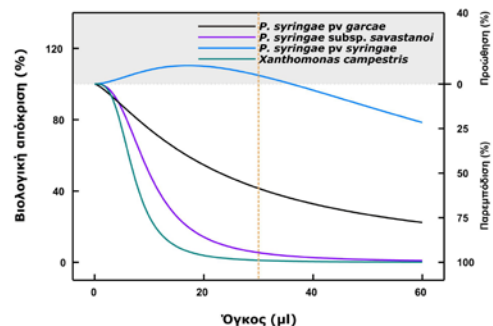
Όσον αφορά στο φυτό *D. viscosa* πρέπει να αναφερθεί ότι στα πλαίσια της εργασίας των Abou-Jawdah *et al.* (2002) καταγράφεται παρεμποδιστική δράση έναντι του *B. cinerea* σε ποσοστά μικρότερα από αυτά της παρούσας εργασίας, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη διαφορετική μεθοδολογία (τρόπος και διαλύτης παραλαβής του φυτικού υλικού) ή/και εφαρμοζόμενη δόση. Σε γενικές γραμμές, οι μύκητες εμφανίστηκαν περισσότερο ευαίσθητοι στην εφαρμογή του φυτικού υλικού (και από τα δύο φυτικά είδη) συγκριτικά με τα βακτήρια (εικόνες 2 και 4). Αξίζει να αναφέρουμε την επίδραση του υλικού και των δύο φυτικών ειδών όχι μόνο επί του ρυθμού μυκηλιακής αύξησης αλλά και επί της διάρκειας της φάσης υστέρησης, γεγονός που δικαιολογεί τη διαφορά στα ποσοστά παρεμπόδισης στην αρχή των πειραμάτων (βλ. 'Αποτελέσματα', ενότητες I.1.2 και I.2.2). Ανάλογες διαφορές καταγράφονται και στην περίπτωση των βακτηρίων και πιθανώς έχουν την ίδια αιτιολογία (βλ. 'Αποτελέσματα', ενότητες I.1.1 και I.2.1).

Από τα δεδομένα της ενότητας αυτής προκύπτει ότι το επιεφμενιδικό έκκριμα του φυτού *D. viscosa* είναι περισσότερο αποτελεσματικό στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης μιας σειράς φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών συγκριτικά με το αντίστοιχο έκκριμα του φυτού *C. creticus*. Λαμβάνοντας υπόψη όμως ότι στη φύση το νερό αποτελεί το μοναδικό διαλύτη έκπλυσης του εκκρίματος (Inderjit and Nilsen, 2003), τον σχετικά υδατοδιαλυτό χαρακτήρα του εκκρίματος του *D. viscosa* (Stephanou and Manetas, 1995; Stephanou and Manetas, 1997b) καθώς και την εξάρτηση των αποτελεσμάτων από το είδος του μικροοργανισμού, ελέγχθηκε στη συνέχεια το

φυτοπροστατευτικό δυναμικό του υδατικού εκπλύματος του φυτού *D. viscosa* έναντι ορισμένων μικροοργανισμών της παρούσας ενότητας.

I.2. Επίδραση του υδατικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *Dittrichia viscosa* στην *in vitro* ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

Η επίδραση του υδατικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* επί της ανάπτυξης των τεσσάρων φυτοπαθογόνων βακτηρίων (εικόνα 7) εμφανίστηκε σε γενικές γραμμές λιγότερο παρεμποδιστική συγκριτικά με αυτή του αντίστοιχου χλωροφορμικού εκπλύματος (εικόνα 3, βλ. επίσης εικόνες 2 και 4). Η μεγαλύτερη διαφορά παρατηρήθηκε για το είδος *P. syringae* pv *syringae* όπου ενώ υπήρξε σχεδόν πλήρης παρεμπόδιση με την δόση προσομοίωσης του χλωροφορμικού εκπλύματος, η αντίστοιχη δόση του υδατικού εκπλύματος προκάλεσε προώθηση της ανάπτυξης του βακτηρίου. Αν και παρεμποδιστική, η δόση προσομοίωσης του υδατικού εκπλύματος προκάλεσε αισθητά μικρότερη παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου *P. syringae* pv *garcae* συγκριτικά με αυτή του χλωροφορμικού (συγκρ. εικόνες 3 και 7, βλ. επίσης εικόνα 4). Από την άλλη μεριά, στην δόση προσομοίωσης, η παρεμποδιστική δράση του υδατικού εκπλύματος ήταν συγκρίσιμη με αυτή του χλωροφορμικού εκπλύματος (επίσης εφαρμοζόμενο στην δόση



Εικόνα 7. Συγκριτική απεικόνιση της βιολογικής απόκρισης (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της ανάπτυξης αποικιών φυτοπαθογόνων βακτηρίων σε στερεό θρεπτικό μέσο NA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στο τέλος κάθε πειράματος. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 1.

προσομοίωσης) για τα είδη *P. syringae* subsp. *savastanoi* και *X. campestris* pv *pelargonii* (συγκρ. εικόνες 3 και 7, βλ. επίσης εικόνα 4). Πάντως η σειρά ευαισθησίας των τεσσάρων βακτηρίων υπό την επίδραση και των δύο φυτικών υλικών παρέμεινε αμετάβλητη (συγκρ. εικόνες 3 και 7). Όσον αφορά στον μύκητα *N. haematococca* var. *cucurbitae*, παρόλο που η παρεμποδιστική επίδραση του υδατικού εκπλύματος στην μυκηλιακή αύξηση του μύκητα ήταν μικρότερη αυτής του χλωροφορμικού, ήταν επίσης πλήρως παρεμποδιστική στην δόση προσομοίωσης (συγκρ. εικόνα 5 με 'Αποτελέσματα', εικόνα 39.β).

Η εξάρτηση της αντιμικροβιακής δράσης του φυτού από την κατηγορία και το είδος του μικροοργανισμού καθώς και την εφαρμοζόμενη δόση καταγράφεται και σε μελέτες που εφαρμόζουν υδατικά εκχυλίσματα (Yegen *et al.*, 1992; Qasem *et al.*, 1995; Ali-Shtayeh *et al.*, 1998; Maoz and Neeman, 1998; Ali-Shtayeh and Abu Ghdeib, 1999). Μέχρι σήμερα μία μόνο μελέτη που αφορά στην αντιμικροβιακή δράση του φυτού συγκρίνει τη χρήση ενός οργανικού διαλύτη και του νερού. Η μελέτη δεν αφορά σε μύκητες και έδειξε ότι για όλα τα βακτήρια που συμπεριελήφθηκαν σε αυτή, η δράση του φυτικού υλικού που παραλήφθηκε με τον οργανικό διαλύτη ήταν ίδια ή ισχυρότερη εκείνης όπου ως διαλύτης παραλαβής χρησιμοποιήθηκε το νερό. Η μη αναφορά σε προώθηση της ανάπτυξης των βακτηρίων ίσως οφείλεται στη διαφορετική μέθοδο παραλαβής του φυτικού υλικού (εκχύλιση) αλλά και καταγραφής της αντιμικροβιακής δράσης ή/και στη μελέτη διαφορετικών βακτηριακών ειδών καθώς και εφαρμοζόμενων δόσεων (Ali-Shtayeh *et al.*, 1998). Άλλωστε όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, εξάλειψη της παρεμποδιστικής δράσης του εκχυλίσματος του φυτού έχει αναφερθεί και με την αλλαγή του είδους του οργανικού διαλύτη (Cafarchia *et al.*, 1999; Abou-Jawdah *et al.*, 2002). Οι παραπάνω διαφορές μεταξύ φυτικών υλικών τα οποία έχουν παραληφθεί με διαφορετικούς διαλύτες πιθανότατα οφείλονται σε διαφορές στη σύσταση του μίγματος, το οποίο τελικά παραλαμβάνεται ως υποσύνολο του αρχικού υλικού, και προφανώς επηρεάζουν με τη σειρά τους την δραστηριότητά του επί των

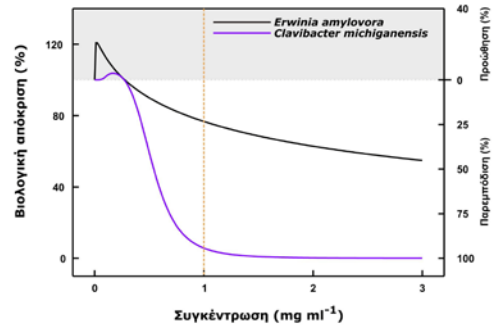
μικροοργανισμών. Είναι ενδεικτική η εργασία των Qasem *et al.* (1995) όπου επισημαίνεται η συμμετοχή πτητικών συστατικών στα υδατικά εκχυλίσματα, η εξάλειψη των οποίων δύναται να εκμηδενίσει ή να ανατρέψει την παρεμποδιστική δράση του φυτικού υλικού. Επίσης, σύμφωνα με τους Abou-Jawdah *et al.* (2002), η εξέταση επιμέρους συστατικών μίγματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* επί της ανάπτυξης φυτοπαθογόνων μυκήτων έδειξε την παρουσία ουσιών οι οποίες ασκούν προωθητική δράση παρόλο που η δράση του μίγματος ήταν παρεμποδιστική. Ωστόσο στην παραπάνω εργασία δεν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν στη δράση των επιμέρους ουσιών του μίγματος.

Σε πολλές από τις βιοδοκιμές της παρούσας εργασίας ανεξαρτήτως της προέλευσης και του τρόπου παραλαβής του επιεφυμενιδικού υλικού, (βλ. 'Αποτελέσματα', ενότητες I.1 και I.3.1) παρατηρήθηκε ότι η μεταβολή της επίδρασης του υλικού δεν είναι ομοιόμορφη με την αύξηση της δόσης, ανεξάρτητα από το αν αυτή έβαινε αυξανόμενη είτε μειούμενη. Για παράδειγμα, μεταξύ δύο δόσεων οι οποίες είχαν ως αποτέλεσμα την σταδιακή μείωση της βιολογικής απόκρισης ήταν δυνατόν να παρεμβάλλεται μια ενδιάμεση δόση η οποία είχε ως αποτέλεσμα την αισθητή αύξησή της. Τέτοιες διακυμάνσεις 'πριονωτής' μορφής της σχέσης μεταξύ δόσης του φυτικού υλικού και βιολογικής απόκρισης είναι γνωστές από αρκετές μελέτες οι οποίες αναφέρονται στην αλληλοπαθητική δράση μιγμάτων ουσιών (Yegen *et al.*, 1992; Reigosa *et al.*, 1999). Μια πιθανή ερμηνεία του φαινομένου θα μπορούσε να στηρίζεται στο γεγονός ότι μια ουσία του μίγματος μπορεί να ασκεί δεδομένη επίδραση, έστω παρεμποδιστική, σε δεδομένη συγκέντρωση αλλά αυξανόμενης της δόσης του μίγματος να ασκεί σημαντική επίδραση (έστω προωθητική της ανάπτυξης) μια άλλη ουσία της οποίας η συγκέντρωση ήταν μέχρι πρότινος μη σημαντική. Το φαινόμενο είναι δυνατόν να είναι αισθητό αυξανόμενης της δόσης του μίγματος έως του σημείου όπου η παρεμποδιστική δράση συγκεκριμένων συστατικών είναι τόσο υψηλή ώστε να επικαλύπτει την τυχόν ευνοϊκή επίδραση άλλων συστατικών του μίγματος. Επίσης είναι δυνατό ο στόχος δράσης μίας ουσίας να

διαφοροποιείται με τη συγκέντρωσή της (Fischer *et al.*, 1990; Macías *et al.*, 1992) ή η αποτελεσματικότητά της να είναι μεγαλύτερη σε μικρές συγκεντρώσεις (Kalsi *et al.*, 1984).

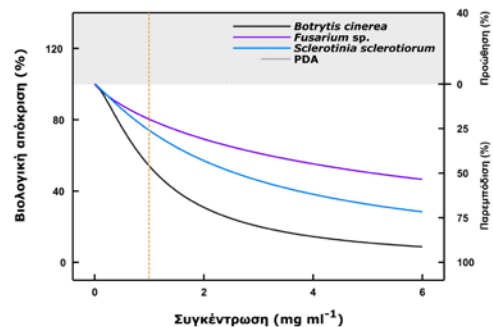
1.3. Επίδραση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *Dittrichia viscosa* στην *in vitro* και *in planta* ανάπτυξη φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών

Από τις προηγούμενες ενότητες προκύπτει ότι το φυτοπροστατευτικό δυναμικό του επιεφυμενιδικού εκκρίματος του φυτού *D. viscosa* είναι υψηλό και κατά περίπτωση θα μπορούσε ίσως να αποτελέσει παράγοντα προστασίας καλλιεργούμενων φυτών έναντι φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών. Περαιτέρω, η χρήση σκευασμάτων φυτικής προέλευσης προσφέρει συγκριτικά πλεονεκτήματα έναντι συνθετικών χημικών σκευασμάτων, όπως (α) η μείωση της πιθανότητας ανάπτυξης ανθεκτικότητας του παθογόνου, καθώς το φυτοπροστατευτικό αποτέλεσμα στηρίζεται στην συνδυασμένη δράση πολλών διαφορετικών ουσιών οι οποίες πιθανώς να παρουσιάζουν περισσότερους του ενός τρόπους δράσης επί του συγκεκριμένου μικροοργανισμού, (β) η απουσία δυσμενών περιβαλλοντικών επιδράσεων και (γ) η απάλειψη παρενεργειών επί της υγείας των εκτρεφόμενων ζώων και του ανθρώπου από την χρήση συμβατικών φυτοπροστατευτικών ουσιών. Ωστόσο, η πιθανή χρήση του υλικού αυτού στην φυτοπροστασία προϋποθέτει ευκολία παραλαβής και εφαρμογής, διαπίστωση της προστατευτικής δράσης του έναντι φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών *in planta* και απουσία δυσμενών επιδράσεων επί του προστατευόμενου φυτού. Σχετικά με την μέθοδο εφαρμογής του, επιλέχθηκε η λυοφιλίωση του παραλαμβανόμενου (μέσω υδατικής έκπλυσης του υπέργειου τμήματος του φυτού *D. viscosa*) φυτικού υλικού. Πριν την εφαρμογή, ορισμένη μάζα λυοφιλιωμένου υλικού διαλύεται σε νερό ώστε να προκύψει το εφαρμοζόμενο διάλυμα. Το λυοφιλιωμένο υλικό δοκιμάστηκε επί της *in vitro* ανάπτυξης φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών με ευρύ γεωπονικό ενδιαφέρον.

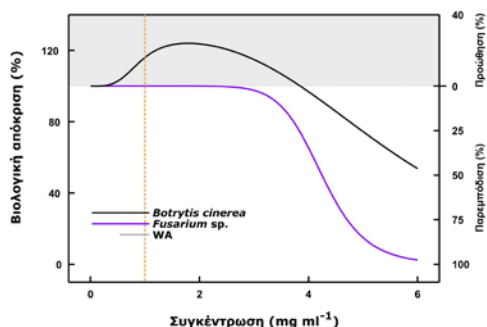


Εικόνα 8. Συγκριτική απεικόνιση της βιολογικής απόκρισης (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της ανάπτυξης αποικιών φυτοπαθογόνων βακτηρίων σε στερεό θρεπτικό μέσο ΝΑ σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στο τέλος κάθε πειράματος. Οι τιμές της δόσης αναφέρονται σε ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού επαναδιαλυμένου σε νερό. Οι προσαρμοσμένες καμπύλες είναι αυτές της ενότητας 'Αποτελέσματα'. Η σκούρα περιοχή αντιστοιχεί στην περιοχή της θετικής απόκρισης (προώθηση της ανάπτυξης) και η κάθετη διακεκομμένη γραμμή στην δόση προσομοίωσης.

Στην εικόνα 8 παρουσιάζεται η επίδραση του λυοφιλιωμένου υλικού επί της *in vitro* ανάπτυξης δύο φυτοπαθογόνων βακτηρίων. Στις σχετικές βιοδοκιμές επιλέχθηκαν τα βακτήρια *E. amylovora*, (Gram(-)) και *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Gram(+)). Η επίδραση του υλικού στην δόση προσομοίωσης ήταν παρεμποδιστική επί της ανάπτυξης των δύο βακτηρίων αν και το *E. amylovora* παρουσίασε μικρή παρεμπόδιση συγκριτικά με το είδος *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* του οποίου η παρεμπόδιση της ανάπτυξης ήταν πλήρης. Μικρή περαιτέρω αύξηση της παρεμπόδισης της ανάπτυξης του *E. amylovora* παρατηρήθηκε με την αύξηση της δόσης (εικόνες 8, 11, 12). Σε



Εικόνα 9. Συγκριτική απεικόνιση της βιολογικής απόκρισης (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της ανάπτυξης μυκηλίου φυτοπαθογόνων μυκήτων σε στερεό θρεπτικό μέσο PDA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στο τέλος κάθε πειράματος. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 8.



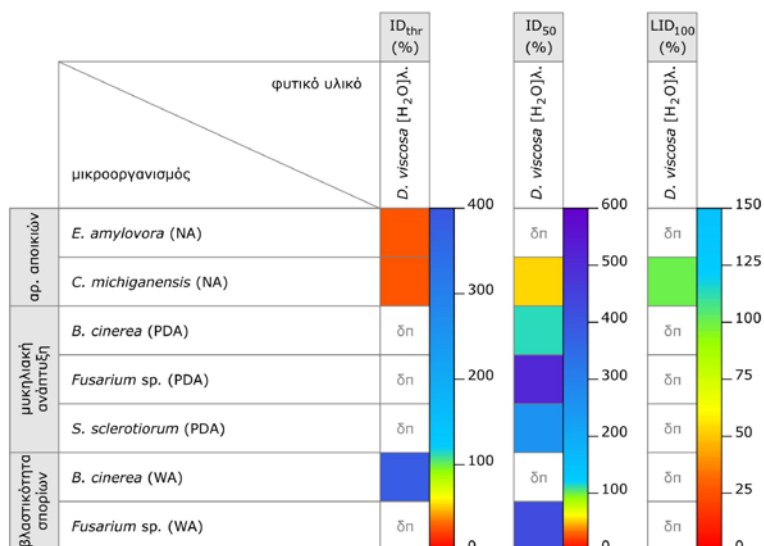
Εικόνα 10. Συγκριτική απεικόνιση της βιολογικής απόκρισης (εκφρασμένη ως % του μάρτυρα) της βλαστικότητας σπορίων φυτοπαθογόνων μυκήτων σε στερεό θρεπτικό μέσο WA σε συνάρτηση με τη δόση του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στο τέλος κάθε πειράματος. Άλλες λεπτομέρειες όπως στην εικόνα 8.

χαμηλά έως μέτρια επίπεδα κυμάνθηκε και η επίδραση της δόσης προσομοίωσης του λυοφιλωμένου υλικού επί της παρεμπόδισης της ανάπτυξης των φυτοπαθογόνων μυκήτων που δοκιμάστηκαν. Περαιτέρω αύξηση της παρεμπόδισης της ανάπτυξης τους παρατηρήθηκε με την αύξηση της δόσης η έκταση της οποίας ήταν μεγαλύτερη για το είδος *B. cinerea* συγκριτικά με τα υπόλοιπα δύο είδη (εικόνα 9). Απουσία επίδρασης ή προώθηση της βλάστησης των σπορίων των δύο παθογόνων μυκήτων οι οποίοι δοκιμάστηκαν παρατηρήθηκε στην δόση

προσομοίωσης του υλικού ενώ σε υψηλότερες δόσεις η παρεμπόδιση ήταν σημαντική για τον *B. cinerea* και πλήρης για τον *Fusarium* sp. (εικόνες 10, 11, 12). Από τα παραπάνω προκύπτει πως η εφαρμογή υψηλότερων δόσεων της δόσης προσομοίωσης απαιτείται για την αποτελεσματική παρεμπόδιση της *in vitro* ανάπτυξης των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών που δοκιμάστηκαν.

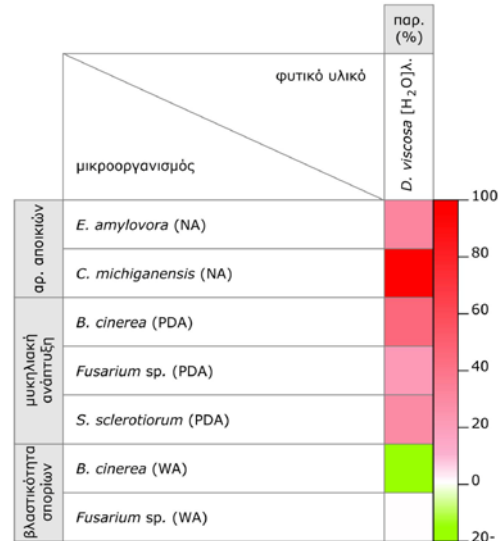
Αντιμικροβιακή δράση υδατικών εκχυλισμάτων ή/και αιθέριων ελαίων του φυτού έναντι του *S. sclerotiorum* και ειδών του γένους *Fusarium* έχει αναφερθεί παλαιότερα αν και τα αποτελέσματα των εργασιών αυτών δεν είναι άμεσα συγκρίσιμα ούτε μεταξύ τους ούτε και με αυτά της παρούσας εργασίας για τους λόγους που ήδη έχουμε αναφέρει μέχρι τώρα (Yegeen *et al.*, 1992; Müller-Riebau *et al.*, 1995; Qasem *et al.*, 1995; Müller-Riebau *et al.*, 1997). Για τους λόγους αυτούς ούτε τα αποτελέσματα που αφορούν στη βλαστικότητα των σπορίων μπορούν να συγκριθούν με εκείνα της επίδρασης οργανικών εκχυλισμάτων του φυτού όσον αφορά στους μύκητες *F. oxysporum* f. sp. *melonis* και *B. cinerea* (Abou-Jawdah *et al.*, 2002).

Με βάση τις *in vitro* βιοδοκιμές μυκηλιακής ανάπτυξης, αξιολογήθηκε η ικανότητα του



Εικόνα 11. Σύνοψη της επίδρασης του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στην ανάπτυξη ή βλαστικότητα σπορίων φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών σε στερεό θρεπτικό μέσο (κατά περίπτωση). Το φυτικό υλικό έχει λυοφιλωθεί και επαναδιαλυθεί σε νερό. Οι τιμές του πίνακα παρουσιάζονται κωδικοποιημένες χρωματικά σύμφωνα με την κλίμακα και αφορούν σε δόση εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της δόσης προσομοίωσης στην οποία παρατηρείται παρεμπόδιση ίση με αυτή που αντιστοιχεί στις παραμέτρους ID_{thr}, ID₅₀ και LID₁₀₀. Δεν παρουσιάζονται τιμές όπου δεν μπορούσαν να προσδιοριστούν οι αντίστοιχες παράμετροι (δπ).

λυοφιλιωμένου υλικού να αποτρέπει την προσβολή φυτών και καρπών αγγουριάς από τον μύκητα *B. cinerea*. Για την επιλογή του μύκητα *B. cinerea* λήφθηκε υπ' όψη το γεγονός ότι αποτελεί ένα φυτοπαθογόνο με ευρύτατο κύκλο ξενιστών στους οποίους περιλαμβάνονται φυτικά είδη με σημαντικό γεωπονικό ενδιαφέρον όπως κηπευτικά και καλλωπιστικά είδη σε υπαίθριες και θερμοκηπιακές καλλιέργειες αλλά και φυτικά είδη δενδρωδών καλλιεργειών καθώς και το αμπέλι (Gjaerum *et al.*, 1988; Agrios, 2005). Επιπλέον, ο κίνδυνος της ανάπτυξης ανθεκτικότητας έναντι μυκητοκτόνων με συγκεκριμένο τρόπο δράσης αποτελεί υπαρκτό πρόβλημα στην αντιμετώπιση της ασθένειας της γκριζας μούχλας και έχει αναφερθεί για συγκεκριμένες κατηγορίες μυκητοκτόνων (Leroux *et al.*, 1999; Ziogas *et al.*, 2005; Markoglou *et al.*, 2006). Με βάση την αποτελεσματικότητα του λυοφιλιωμένου υλικού κατά τις *in vitro* δοκιμές, επιλέχθηκε η εφαρμογή της δόσης των 6 mg ml⁻¹ η οποία αντιστοιχεί στο εξαπλάσιο της δόσης προσομοίωσης. Η αποτελεσματικότητα του λυοφιλιωμένου υλικού στην παραπάνω δόση συγκρίθηκε με την αποτελεσματικότητα του εμπορικού σκευάσματος Teldor, ενός ευρέως εφαρμοζόμενου για το συγκεκριμένο φυτοπαθογόνο εμπορικού μυκητοκτόνου, το οποίο χρησιμοποιήθηκε επίσης σε δόση 6 mg ml⁻¹ (αντιστοιχεί σε συγκέντρωση δραστικής ουσίας 3 mg ml⁻¹ η οποία είναι διπλάσια της μέγιστης συνιστώμενης). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η εφαρμογή του λυοφιλιωμένου υλικού είχε ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της εξέλιξης έως και την πλήρη παρεμπόδιση της σήψης των κοτυληδόνων ή των καρπών του φυτού από τον μύκητα η οποία ήταν κατά περίπτωση ανάλογη ή ανώτερη αυτής του μυκητοκτόνου Teldor. Επισημαίνεται πως η



Εικόνα 12. Σύνοψη της επίδρασης του υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa* στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης ή της βλαστικότητας σπορίων φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών σε στερεό θρεπτικό μέσο (κατά περίπτωση). Το φυτικό υλικό έχει λυοφιλιωθεί και επαναδιαλυθεί σε νερό. Οι τιμές του πίνακα παρουσιάζονται κωδικοποιημένες χρωματικά σύμφωνα με την κλίμακα και αφορούν στην παρεμπόδιση η οποία σημειώνεται με εφαρμογή δόσης ίσης με την δόση προσομοίωσης.

ολοκληρωτική προστασία των κοτυληδόνων του φυτού από την προσβολή του μύκητα επιτεύχθηκε μόνο στην περίπτωση της εφαρμογής του λυοφιλιωμένου υλικού. Τέλος, *in vitro* πειράματα (δεν παρουσιάζονται) έδειξαν ότι το λυοφιλιωμένο υλικό παρεμποδίζει πλήρως την δημιουργία κονιδίων του μύκητα, γεγονός το οποίο είναι ιδιαιτέρως σημαντικό καθώς τα αρχικά μολύσματα κατά την διαδικασία διάδοσης του μύκητα προέρχονται από κονίδια (Agrios, 2005). Μέχρι σήμερα στα πλαίσια *in planta* πειραμάτων αντιμυκητιακή δράση έχει αναφερθεί μόνο με εκχυλίσματα του φυτού με οργανικούς διαλύτες (Wang *et al.*, 2004; Cohen *et al.*, 2006).

II. Χημική ανάλυση του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του επιεφυμενιδικού υλικού του φυτού *Dittrichia viscosa*

Όπως αναφέρθηκε αναλυτικά στην εισαγωγή (βλ. ενότητα III.4.1) από τα εκχυλίσματα του φυτού *D. viscosa* έχει απομονωθεί πλήθος δευτερογενών μεταβολιτών. Μεταξύ αυτών οι κατηγορίες των σεσκιτερπενίων και φλαβονοειδών αριθμούν τα περισσότερα μέλη. Επίσης οι κατηγορίες αυτές συγκαταλέγονται στους απαντώμενους στο τρίχωμα των φυτών δευτερογενείς μεταβολίτες (Wollenweber and Dietz, 1981; Schillmiller *et al.*, 2008) ενώ ταυτόχρονα εκπρόσωποι τους εμφανίζουν δράση έναντι φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών (Kelsey *et al.*, 1984; Adaskaveg, 1992; Grayer and Harborne, 1994; Karamanolis, 2002). Η δράση αυτή έχει χαρακτηριστεί από παρεμποδιστική έως και προωθητική και ασκείται σε διάφορες φάσεις του βιολογικού τους κύκλου (Blakeman and Atkinson, 1981; Aguinagalde *et al.*, 1990; Shirley, 1996; Bagga and Straney, 2000; Wedge *et al.*, 2000; Treutter, 2005; Steinkellner *et al.*, 2007). Προκειμένου λοιπόν να διερευνηθεί περαιτέρω η βάση της βιολογικής δράσης του λυοφιλιωμένου επιεφυμενιδικού υδατικού εκπλύματος του φυτού, διενεργήθηκε χημική ανάλυσή του, η οποία επικεντρώθηκε στις δύο αυτές κατηγορίες ενώσεων.

Στο σημείο αυτό πρέπει να επισημανθεί ότι στην επιλογή αυτή συνέβαλαν και τα παρακάτω δεδομένα. Συγκεκριμένα στην παρούσα εργασία το υλικό έχει παραληφθεί με νερό ενώ στις έως σήμερα φυτοχημικές μελέτες του *D. viscosa*, τόσο για φλαβονοειδή όσο και για σεσκιτερπένια, έγινε χρήση οργανικών διαλυτών των οποίων η πολικότητα κυμαίνεται από χαμηλή (βενζόλιο) έως υψηλή (αιθανόλη). Επίσης δόθηκε προσοχή στην εποχή λήψης του δείγματος (κατά τους καλοκαιρινούς μήνες) δεδομένου ότι το επιεφυμενιδικό έκκριμα του φυτού εμφανίζει εποχική διακύμανση (Stephanou and Manetas, 1997a) και στις έως σήμερα μελέτες η εποχή συλλογής των δειγμάτων κυμαίνεται μεταξύ του τέλους του καλοκαιριού και της αρχής του χειμώνα. Επιπλέον η ύπαρξη διαφορετικών χημειότυπων ενός είδους είναι πάντα πιθανή και οι έως σήμερα φυτοχημικές μελέτες του φυτού

αφορούσαν μεν σε χώρες της μεσογειακής λεκάνης (Ισπανία, Γαλλία, Αλγερία, Ιταλία, Ιορδανία, Ισραήλ και Τουρκία) αλλά καμία δεν είχε πραγματοποιηθεί στην Ελλάδα. Άλλωστε ήδη θεωρείται πιθανή η ύπαρξη οικότυπων του φυτού διαφοροποιούμενων ως προς τους μηχανισμούς πρόσληψης ανοργάνων στοιχείων (Wacquant and Bouab, 1983; Wacquant and Bouab, 1985; Wacquant, 1990).

Όσον αφορά στα φλαβονοειδή, οι έως σήμερα φυτοχημικές μελέτες του *D. viscosa* έχουν κατά πλειοψηφία πραγματοποιηθεί σε εκχυλίσματα είτε του υπέργειου τμήματος, είτε ολόκληρου του φυτού με εξαίρεση την μελέτη του (Wollenweber *et al.*, 1991) στην οποία μελετήθηκε το ακετονικό έκπλυμα του υπέργειου τμήματος. Τα απομονωμένα φλαβονοειδή του φυτού ανήκουν στις κατηγορίες των φλαβονών, φλαβονολών, διυδροφλαβονολών, φλαβανονών και γλυκοζιτών φλαβονολών (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.1).

Στην παρούσα εργασία η μελέτη της χημικής σύστασης του λυοφιλιωμένου υδατικού εκπλύματος του υπέργειου τμήματος του φυτού οδήγησε στην απομόνωση και ταυτοποίηση επτά εκπροσώπων της κατηγορίας των φλαβονοειδών. Συγκεκριμένα πρόκειται για μία φλαβόνη (ουσία 1: ισπιντουλίνη), τρεις φλαβονόλες (ουσία 2: 6-μεθοξυκαιμπερόλη, ουσία 3: 3,7-διμεθυλαιθέρας της 6-υδροξυκαιμπερόλης και ουσία 4: 3,3'-διμεθυλαιθέρας της κερκετίνης) και τρεις διυδροφλαβονόλες (ουσία 5: 7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενοδρίνης, ουσία 6: 3-ακετυλο-αρωμαδενοδρίνη και ουσία 7: 3-ακετυλο-7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενοδρίνης). Από τις παραπάνω, η ουσία 5 αποτέλεσε το κύριο συστατικό, αποτέλεσμα το οποίο συμφωνεί με προηγούμενες αναφορές (Grande *et al.*, 1985; Wollenweber *et al.*, 1991) καθώς και με το φάσμα απορρόφησης του υδατικού εκπλύματος του φυτού (Stephanou and Manetas, 1997a). Περαιτέρω, η ουσία 3 αναφέρεται για πρώτη φορά ως συστατικό του φυτού *D. viscosa*.

Κατά την παρούσα φυτοχημική μελέτη δεν απομονώθηκε κανένας από τους γνωστούς

γλυκοζίτες φλαβονολών (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.1), γεγονός αναμενόμενο καθώς η φυτοχημική μελέτη αφορούσε στο επιεφυμενιδικό υλικό και όχι στο συνολικό εκχύλισμα του φυτού (Öksüz, 1977; Benayache *et al.*, 1991). Είναι γνωστό ότι πολλά είδη της οικογένειας Asteraceae παράγουν και συσσωρεύουν φαινολικά συστατικά στο επιεφυμενιδικό έκκριμα των υπέργειων οργάνων τα οποία περιορίζονται σε άγλυκα φλαβονοειδή τα οποία λόγω του λιπόφιλου χαρακτήρα τους, αναμιγνύονται με τα τερπένια του εκκρίματος (Wollenweber and Dietz, 1981; Wollenweber and Valant-Vetschera, 1996).

Επίσης, κατά την παρούσα μελέτη δεν απομονώθηκε κάποια από τις φλαβανόνες (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.1) οι οποίες έχουν αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες (Bohlmann *et al.*, 1977; Grande *et al.*, 1985; Ulubelen *et al.*, 1987; Sanz *et al.*, 1991; Wollenweber *et al.*, 1991; Alarcón de la Lastra *et al.*, 1993; Hernández *et al.*, 2007). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις ή στην απουσία τους στο συγκεκριμένο δείγμα λόγω φυτικού τμήματος, χημειότυπου, εποχής δειγματοληψίας ή λόγω του νερού το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης για την απομόνωση του αρχικού φυτικού υλικού καθώς και της έκπλυσης η οποία ακολουθήθηκε ως μέθοδος απομόνωσης. Ενδεχομένως, για κάποιους από τους παραπάνω λόγους, οι σχετικές φυτοχημικές μελέτες παρουσιάζουν διαφορές όσον αφορά στις απομονωμένες φλαβανόνες του φυτού και συχνά αποτυγχάνουν στην απομόνωσή συγκεκριμένων δομών (βλ. επίσης Wollenweber *et al.* (1991)). Επίσης, για τους παραπάνω λόγους η παρούσα εργασία οδήγησε στην απομόνωση και ταυτοποίηση ενός μόνο μέρους από τις υπόλοιπες κατηγορίες φλαβονοειδών ενώ ταυτόχρονα η ουσία **3** αναφέρεται για πρώτη φορά ως συστατικό του φυτού (ειδικότερα, από το φυτό *D. viscosa* έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί δεκατέσσερις άγλυκες φλαβονόλες, έξι φλαβόνες και έξι διυδροφλαβονόλες (Grande *et al.*, 1985; Benayache *et al.*, 1991; Wollenweber *et al.*, 1991), βλ. επίσης 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.1).

Τα σесκιτερπένια του φυτού *D. viscosa*, όπως και στην περίπτωση των φλαβονοειδών, έχουν μελετηθεί κυρίως μέσω εκχυλισμάτων τα οποία παραλαμβάνονται με οργανικούς διαλύτες από το

υπέργειο τμήμα ή και όλο το φυτό, γεγονός το οποίο καθιστά δύσκολη την απευθείας σύγκριση των αποτελεσμάτων της βιβλιογραφίας με αυτά της παρούσας μελέτης. Η πλειοψηφία των απομονωμένων σесκιτερπενίων από εκχυλίσματα του φυτού ανήκουν στις κατηγορίες των σесκιτερπενικών οξέων και σесκιτερπενικών λακτονών (βλ. 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.2).

Η παρούσα εργασία είχε ως αποτέλεσμα την απομόνωση οκτώ σесκιτερπενίων και συγκεκριμένα τριών ευδεσμανικών οξέων (ουσία **8**: ιλικικό οξύ, ουσία **9**: κοστικό οξύ και ουσία **10**: ισοκοστικό οξύ), ενός ευδεσμανολιδίου (ουσία **11**: 3α-υδροξυ-ευδεσμα-4-εν-12,6β-ολιδιο), δύο γουαϊανολιδίων (ουσία **12**: ινουβισκολίδιο και ουσία **13**: 8-επι-ινουβισκολίδιο) και δύο ξανθανολιδίων (ουσία **14**: τομεντοσίνη και ουσία **15**: 4Η-τομεντοσίνη). Από τις παραπάνω ουσίες, η ουσία **14** βρέθηκε να είναι το κύριο συστατικό του εκπλύματος για την κατηγορία των σесκιτερπενίων και η ουσία **11** αναφέρεται για πρώτη φορά ως συστατικό του φυτού ενώ είναι η δεύτερη φορά που απομονώνεται ως φυσικό προϊόν (Öksüz and Torcu, 1992). Τέλος αξίζει να αναφέρουμε ότι οι ουσίες **8**, **10**, **12** και **14** αποτελούν τα συχνότερα απαντώμενα σесκιτερπένια του φυτού (Bohlmann *et al.*, 1977; Ceccherelli *et al.*, 1985; Ulubelen *et al.*, 1987; Grande and Bellido, 1992; Abu Zarga *et al.*, 1998), βλ. επίσης 'Εισαγωγή', ενότητα III.4.1.2).

Σε ορισμένες από τις ουσίες που απομονώθηκαν στην παρούσα φυτοχημική μελέτη έχει αποδοθεί δράση έναντι μικροοργανισμών και μάλιστα σε κάποιες περιπτώσεις η απομόνωση έχει γίνει από το *D. viscosa* (Shtacher and Kashman, 1970; Cafarchia *et al.*, 2001; Cohen *et al.*, 2006). Συγκεκριμένα δράση έναντι μυκήτων έχει αποδοθεί στην ισπιντουλίνη (Tan *et al.*, 1999; Alcerito *et al.*, 2002), στο ισοκοστικό οξύ (Shtacher and Kashman, 1970) και στην τομεντοσίνη (Cafarchia *et al.*, 2001; Cohen *et al.*, 2006). Στο κοστικό οξύ αποδίδεται αντιμυκητιακή (Cohen *et al.*, 2006) αλλά και αντιβακτηριακή δράση (Rao and Alvarez, 1981). Περιορισμένου εύρους αντιβακτηριακή δράση αναφέρεται για την 6-μεθοξυκαιμπερόλη (Hashimoto *et al.*, 1999) και το ινουβισκολίδιο (Torcu *et al.*, 1993) ενώ σύμφωνα με τους Torcu *et al.* (1993) το ιλικικό

οξύ δεν βρέθηκε δραστικό έναντι βακτηρίων. Αξίζει να αναφέρουμε ότι ο 7-μεθυλαιθέρας της αρωμαδενδρίνης (ουσία η οποία αποτέλεσε το κυρίαρχο φλαβονοειδές του εκπλύματος) δεν διαθέτει αντιμυκητιακή (Stoessl *et al.*, 1971) αλλά μόνο περιορισμένου εύρους αντιβακτηριακή δράση (Torcu *et al.*, 1993). Η αντιμυκητιακή δράση ορισμένων τουλάχιστον συστατικών του φυτού έχει ως στόχο την σύνθεση της χιτίνης (η οποία δεν αποτελεί συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων) δεδομένου ότι επί αυτής καταγράφεται δράση των εκχυλισμάτων του έναντι μυκήτων (Maoz and Neeman, 2000). Επίσης, το γεγονός ότι αρκετά από τα συστατικά του φυτού δρουν έναντι μυκήτων αλλά ενδεχομένως όχι τόσο αποτελεσματικά έναντι βακτηρίων μπορεί να εξηγεί την αυξημένη αποτελεσματικότητα του εκπλύματος έναντι μυκήτων συγκριτικά με την δράση του έναντι βακτηρίων. Ωστόσο, το φυτικό υλικό δεν στερείται αντιβακτηριακής δράσης λόγω της ταυτόχρονης παρουσίας στο μίγμα του εκπλύματος αντιβακτηριακών συστατικών όπως η 5. Γενικά, σε αντίθεση με τις μεμονωμένες ουσίες, η παρουσία πολύπλοκων μιγμάτων δευτερογενών μεταβολιτών έναντι μεμονωμένων

συστατικών στις φυτικές επιφάνειες φαίνεται να προσδίδει συγκριτικά πλεονεκτήματα λόγω της συνεργιστικής δράσης που παρουσιάζουν οι συνδυασμοί δραστικών συστατικών (Weidenböner and Jha, 1993; Weidenböner and Jha, 1994c; Blum *et al.*, 1999; Wittstock and Gershenson, 2002; Inderjit and Duke, 2003) καθώς και λόγω του μεγαλύτερου εύρους οργανισμών επί των οποίων μπορεί να παρουσιάζουν δράση (Kelsey *et al.*, 1984; An *et al.*, 2001). Προηγούμενη εργασία έδειξε ότι το υδατικό έκπλυμα του φυτού παρεμποδίζει την βλάστηση σπερμάτων ενός αριθμού ζιζανίων (Stavrianakou *et al.*, 2004).

Συμπερασματικά, η παρούσα εργασία εξέτασε τη χημική σύσταση και το φυτοπροστατευτικό δυναμικό του επιεφμενιδικού υλικού του φυτού *D. viscosa*, τόσο σε οικοφυσιολογική βάση όσο και υπό όρους πρακτικής εφαρμογής, έναντι παθογόνων μικροοργανισμών. Τα βασικά του χαρακτηριστικά συνιστούν το υλικό αυτό ως πιθανό παράγοντα φυτοπροστασίας καλλιεργούμενων φυτών έναντι παθογόνων μικροοργανισμών με τα προφανή πλεονεκτήματα που συνοδεύουν τη χρήση ενός μη συνθετικού φυτοπροστατευτικού υλικού.

Βιβλιογραφία

-Βιβλιογραφία-

- [1] Abad, M.J., Bermejo, P., Villar, A. 1995. An approach to the genus *Tanacetum* L. (Compositae): Phytochemical and pharmacological review. *Phytotherapy Research*, **9**: 79-92
- [2] Abad, M.J., Guerra, J.A., Bermejo, P., Irurzun, A., Carrasco, L. 2000. Search for antiviral activity in higher plant extracts. *Phytotherapy Research*, **14**: 604-607
- [3] Abdalla, S., Abu-Zarga, M., Afifi, F., Al-Khalil, S., Sabri, S. 1988. Effects of hispidulin, a flavone isolated from *Inula viscosa*, on isolated guinea-pig smooth muscle. *General Pharmacology*, **19**: 559-563
- [4] Abdel-Mogib, M., Dawidar, A.M., Metwally, M.A., Abou-Elzahab, M. 1989. Flavonols of *Pulicaria undulata*. *Pharmazie*, **44**: 801-801
- [5] Abou-Jawdah, Y., Sobh, H., Salameh, A. 2002. Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 3208-3213
- [6] Abrahams, S., Tanner, G.J., Larkin, P.J., Ashton, A.R. 2002. Identification and biochemical characterization of mutants in the proanthocyanidin pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **130**: 561-576
- [7] Abu Zarga, M.H., Hamed, E.M., Sabri, S.S., Voelter, W., Zeller, K.-P. 1998. New sesquiterpenoids from the Jordanian medicinal plant *Inula viscosa*. *Journal of Natural Products*, **61**: 798-800
- [8] Abu Zarga, M.H., Sabri, S.S., Hamed, E.M., Khanfar, M.A., Zeller, K.-P., Atta-Ur-Rahman 2003. A new eudesmane type sesquiterpene from *Inula viscosa*. *Natural Product Research*, **17**: 99-102
- [9] Adaskaveg, J.E. 1992. Defense mechanisms in leaves and fruit of trees to fungal infection, *In*: Springer Series in Wood Science - Defense Mechanisms of Woody Plants Against Fungi (R.A. Blanchette, A.R. Biggs eds.). Berlin: Springer Verlag, pp. 207-245
- [10] Afolayan, A.J., Meyer, J.J.M. 1995. Morphology and ultrastructure of secreting and nonsecreting foliar trichomes of *Helichrysum aureonitens* (Asteraceae). *International Journal of Plant Science*, **156**: 481-487
- [11] Ager, F.J., Ynsa, M.D., Domínguez-Solís, J.R., López-Martin, M.C., Gotor, C., Romero, L.C. 2003. Nuclear microprobe analysis of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, **210**: 401-406
- [12] Agrawal, A.A. 1998. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science*, **279**: 1201-1202
- [13] Agrawal, A.A. 1999. Induced responses to herbivory in wild radish: Effects on several herbivores and plant fitness. *Ecology*, **80**: 1713-1723
- [14] Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology, Fifth ed. Burlington: Elsevier Academic Press, pp. 922
- [15] Aguinagalde, I., Perez-Garcia, F., Gonzalez, A.E. 1990. Flavonoids in seed coats of two *Colutea* species: ecophysiological aspects. *Journal of Basic Microbiology*, **30**: 547-553
- [16] Aharoni, A., Jongsma, M.A., Kim, T.-Y., Ri, M.-B, Giri, A.P., Verstappen F.W.A., Schwab W., Bouwmeester H. 2006. Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis in plants. *Phytochemistry Reviews*, **5**: 49-58
- [17] Ahmed, A.A., Jakupovic, J. 1990. Sesqui- and monoterpenes from *Jasonia montana*. *Phytochemistry*, **29**: 3658-3661
- [18] Ahmed, A.A., Jakupovic, J., Eid, F., Ali, A.A. 1988. 11-Hydroxyjasionone, a new sesquiterpene type from *Jasonia montana*. *Phytochemistry*, **27**: 3875-3877
- [19] Ahmed, A.A., Mahmoud, A.A. 1998. Jasonol, a rare tricyclic eudesmane sesquiterpene and six other new sesquiterpenoids from *Jasonia candicans*. *Tetrahedron*, **54**: 8141-8152
- [20] Aida, R., Kishimoto, S., Tanaka, Y., Shibata, M. 2000a. Modification of flower color in torenia (*Torenia fournieri* Lind.) by genetic transformation. *Plant Science*, **153**: 33-42
- [21] Aida, R., Yoshida, K., Kondo, T., Kishimoto, S., Shibata, M. 2000b. Copigmentation gives bluer flowers on transgenic torenia plants with the antisense dihydroflavonol-4-reductase gene. *Plant Science*, **160**: 49-56
- [22] Akiyama, K., Hayashi, H. 2006. Strigolactones: chemical signals for fungal symbionts and parasitic weeds in plant roots. *Annals of Botany*, **97**: 925-931
- [23] Akiyama, K., Matsuzaki, K.-I., Hayashi, H. 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, **435**: 824-827
- [24] Akkal, S., Benayache, F., Benayache, S., Jay, M. 1997. Flavonoids from *Centaurea incana* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, **25**: 361-362
- [25] Alarcón de la Lastra, C., López, A., Motilva, V. 1993. Gastroprotection and prostaglandin E₂ generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica*, **59**: 497-501
- [26] Alarcón de la Lastra, C., Martin, M.J., Delgado, F., Marhuenda, E., Menendez, M. 1988. Isolement des acides phénols caféique et chlorogénique et de l' orcinol de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. Étude de l' activité antimicrobienne. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **22**: 11-16
- [27] Alarcon, M.C.B.V., Lopes, J.L.C., Herz, W. 1990. Glaucolide B, a molluscicidal sesquiterpene lactone, and other constituents of *Vernonia eremophila*. *Planta Medica*, **56**: 271-273
- [28] Alcerito, T., Barbo, F.E., Negri, G., Santos, D.Y.A.C., Meda, C.I., Young, M.C.M., Chávez, D., Blatt, C.T.T. 2002. Foliar epicuticular wax of *Arrabidaea brachypoda*: Flavonoids and antifungal activity. *Biochemical Systematics and Ecology*, **30**: 677-683
- [29] Al-Dissi, N.M., Salhab, A.S., Al-Hajj, H.A. 2001. Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **77**: 117-121
- [30] Ali-Shtayeh, M.S., Abu Ghdeib, S.I. 1999. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*, **42**: 665-672

- [31] Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour, R.M.-R., Faidi, Y.R., Salem, K., Al-Nuri, M.A. 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, **60**: 265-271
- [32] Ali-Shtayeh, M.S., Yaniv, Z., Mahajna, J. 2000. Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **73**: 221-232
- [33] Alkofahi, A., Atta, A.H. 1999. Pharmacological screening of the anti-ulcerogenic effects of some Jordanian medicinal plants in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **67**: 341-345
- [34] Allen, E.A., Hoch, H.C., Steadman, J.R., Stavelly, R.J. 1991. Influence of leaf surface features on spore deposition and the epiphytic growth of phytopathogenic fungi. In: *Microbial Ecology of Leaves* (J.H. Andrews, S.S. Hirano eds.). New York: Springer Verlag, pp. 87-110
- [35] Amenta, R., Camarda, L., Di Stefano, V., Lentini, F., Venza, F. 2000. Traditional medicine as a source of new therapeutic agents against psoriasis. *Fitoterapia*, **71**: S13-S20
- [36] Amme, S., Rutten, T., Melzer, M., Sonsmann, G., Vissers, J.P.C., Schlesier, B., Mock, H.-P. 2005. A proteome approach defines protective functions of tobacco leaf trichomes. *Proteomics*, **5**: 2508-2518
- [37] An, M., Johnson, I.R., Lovett, J.V. 1993. Mathematical modeling of allelopathy: Biological response to allelochemicals and its interpretation. *Journal of Chemical Ecology*, **19**: 2379-2388
- [38] An, M., Pratley, J.E., Haig, T. 2001. Phytotoxicity of vulpia residues: III. Biological activity of identified allelochemicals from *Vulpia myuros*. *Journal of Chemical Ecology*, **27**: 383-394
- [39] Anastasaki, T., Demetzos, C., Perdetzoglou, D., Gazouli, M., Loukis, A., Harvala, C. 1999. Analysis of labdane-type diterpenes from *Cistus creticus* (subsp. *creticus* and subsp. *eriocephalus*), by GC and GC-MS. *Planta Medica*, **65**: 735-739
- [40] Anaya, A.L. 1999. Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **18**: 697-739
- [41] Anaya, A.L., Hernández-Bautista, B.E., Pelayo-Benavides, H.R., Carera, M., Fernández-Luiselli, E. 1995. Allelopathy in Mexican plants. In: *Allelopathy: Organisms, Processes, and Applications* (Inderjit, K.M.M. Dakshini, F.A. Einhellig eds.). Washington: American Chemical Society, pp. 224-241
- [42] Anaya, A.L., Hernández-Bautista, B.E., Torres-Barragán, A., León-Cantero, J., Jiménez-Estrada, M. 1996. Phytotoxicity of cacalol and some derivatives obtained from the roots of *Psacalium decompositum* (A. Gray) H. Rob & Brettell (Asteraceae), matarique or maturin. *Journal of Chemical Ecology*, **22**: 393-403
- [43] Anaya, A.L., Mata, R., Rivero-Cruz, F., Hernández-Bautista, B.E., Chávez-Velasco, D., Gómez-Pompa, A. 1999. Allelochemical potential of *Metopium brownei*. *Journal of Chemical Ecology*, **25**: 141-155
- [44] Anderberg, A.A. 1991. Taxonomy and phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution*, **176**: 75-123
- [45] Anderberg, A.A., Eldenäs, P., Bayer, R.J., Englund, M. 2005. Evolutionary relationships in the Asteraceae tribe Inuleae (incl. Plucheeae) evidenced by DNA sequences of *ndhF*; with notes on the systematic positions of some aberrant genera. *Organisms, Diversity and Evolution*, **5**: 135-146
- [46] Andrus, N., Trusty, J., Santos-Guerra, A., Jansen, R.K., Francisco-Ortega, J. 2004. Using molecular phylogenies to test phytogeographical links between East/South Africa-Southern Arabia and the Macaronesian islands - a review, and the case of *Vierea* and *Pulicaria* section *Vieraeopsis* (Asteraceae). *Taxon*, **53**: 333-346
- [47] Anonymous. 2002. WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005. Geneva: World Health Organization, pp. 74
- [48] Anonymous. 2004. Alert List for Environmental Weeds. Adelaide : CRC for Australian Weed Management.
- [49] Armbruster, W.S. 1997. Exaptations link evolution of plant-herbivore and plant-pollinator interactions: a phylogenetic inquiry. *Ecology*, **78**: 1661-1672
- [50] Armstrong-Cho, C., Gossen, B.D. 2005. Impact of glandular hair exudates on infection of chickpea by *Ascochyta rabiei*. *Canadian Journal of Botany*, **83**: 22-27
- [51] Ascensão, L., Francisco, A., Cotrim, H., Pais, M.S. 2005. Comparative structure of the labellum in *Ophrys fusca* and *O. lutea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, **92**: 1059-1067
- [52] Ascensão, L., Marques, N., Pais, M.S. 1995. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). *Annals of Botany*, **75**: 619-626
- [53] Ascensão, L., Pais, M.S. 1998. The leaf capitate trichomes of *Leonotis leonurus*: Histochemistry, ultrastructure and secretion. *Annals of Botany*, **81**: 263-271
- [54] Ascensão, L., Mota, L., Castro, M.de M. 1999. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. *Annals of Botany*, **84**: 437-447
- [55] Asres, K., Seyoum, A., Veeresham, C., Bucar, F., Gibbons, S. 2005. Naturally derived anti-HIV agents. *Phytotherapy Research*, **19**: 557-581
- [56] Ater, M., Lefèbvre, C., Gruber, W., Meerts, P. 2000. A phytogeochemical survey of the flora of ultramafic and adjacent normal soils in north Morocco. *Plant and Soil*, **218**: 127-135
- [57] Attucci, S., Aitken, S.M., Gulick, P.J., Ibrahim, R.K. 1995. Farnesyl pyrophosphate synthase from white lupin: Molecular cloning, expression, and purification of the expressed protein. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **321**: 493-500
- [58] Ayabe, S.-I., Akashi, T. 2006. Cytochrome P450s in flavonoid metabolism. *Phytochemistry Reviews*, **5**: 271-282
- [59] Ayafor, J.F., Connolly, J.D. 1981. 2*R*,3*R*-(+)-3-acetoxy-4',5-dihydroxy-7-methoxyflavanone and 2*R*,3*R*-(+)-3-acetoxy-4',5,7-trihydroxyflavanone: Two new 3-acetylated dihydroflavonols from *Aframomum prinosum* Gagnepain (Zingiberaceae). *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, **1981**: 2563-2565

- [60] Ayasse, M., Schiestl, F.P., Paulus, H.F., Löfstedt, C., Hansson, B., Ibarra, F., Francke, W. 2000. Evolution of reproductive strategies in the sexually deceptive Orchid *Ophrys sphegodes*: How does flower-specific variation of odor signals influence reproductive success? *Evolution*, **54**: 1995-2006
- [61] Azaizeh, H., Saad, B., Khalil, K., Said, O. 2006. The state of the art of traditional Arab herbal medicine in the eastern region of the Mediterranean: a review. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, **3**: 229-235
- [62] Azoulay, P., Reynier, J.-P., Balansard, G., Gasquet, M., Timon-David, P. 1986. L' héléline et la santonine, le 12 carboxy-eudesma 3,11(13) diène. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, **61**: 345-352
- [63] Bagga, S., Straney, D. 2000. Modulation of cAMP and phosphodiesterase activity by flavonoids which induce spore germination of *Nectria haematococca* MP VI (*Fusarium solani*). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **56**: 51-61
- [64] Báidez, A.G., Gómez, P., Del Río, J.A., Ortuño, A. 2006. Antifungal capacity of major phenolic compounds of *Olea europaea* L. against *Phytophthora megasperma* Drechsler and *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **69**: 224-229
- [65] Bais, H.P., Vepachedu, R., Gilroy, S., Callaway, R.M., Vivanco, J.M. 2003a. Allelopathy and exotic plant invasion: From molecules and genes to species interactions. *Science*, **301**: 1377-1380
- [66] Bais, H.P., Walker, T.S., Kennan, A.J., Stermitz, F.R., Vivanco, J.M. 2003b. Structure-dependent phytotoxicity of catechins and other flavonoids: Flavonoid conversions by cell-free protein extracts of *Centaurea maculosa* (spotted knapweed) roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 897-901
- [67] Bais, P.H., Walker, T.S., Stermitz, F.R., Hufbauer, R.A., Vivanco, J.M. 2002. Enantiomeric-dependent phytotoxic and antimicrobial activity of (±)-catechin. A rhizosecreted racemic mixture from spotted knapweed. *Plant Physiology*, **128**: 1173-1179
- [68] Baldwin, I.T., Preston, C.A. 1999. The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores. *Planta*, **208**: 137-145
- [69] Balza, F., Towers, G.H.N. 1984. Dihydroflavonols of *Artemisia dracunculus*. *Phytochemistry*, **23**: 2333-2337
- [70] Bañon, S., Fernandez, J.A., Franco, J.A., Torrecillas, A., Alarcón, J.J., Sánchez-Blanco, M.J. 2004. Effects of water stress and night temperature preconditioning on water relations and morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. *Scientia Horticulturae*, **101**: 333-342
- [71] Banthorpe, D.V. 1991. Classification of terpenoids and general procedures for their characterisation, *In: Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 7 - Terpenoids (B.V. Charlwood, D.V. Banthorpe eds.). New York: Academic Press, pp. 1-41
- [72] Barbetti, P., Chiappini, I., Fardella, G., Menghini, A. 1985. A new eudesmane acid from *Dittrichia (Inula) viscosa*. *Planta Medica*, **51**: 471-471
- [73] Barceló, J., Poschenrieder, C. 2002. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: A review. *Environmental and Experimental Botany*, **48**: 75-92
- [74] Bardón, A., Popich, S., Alvarez Valdés, D., Catalán, C.A.N. 1999. Toxic Effects of a Lactone-Containing Fraction of *Cyrtocymura cincta* (Asteraceae) on *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology*, **92**: 1369-1372
- [75] Barnes, J.D., Percy, K.E., Paul, N.D., Jones, P., McLaughlin, C.K., Mullineaux, P.M., Creissen, G., Wellburn, A.R. 1996. The influence of UV-B radiation on the physicochemical nature of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaf surfaces. *Journal of Experimental Botany*, **47**: 99-109
- [76] Barp, E.A., Soares, G.L.G., Gosmann, G., Machado, A.M., Vecchi, C., Moreira, G.R.P. 2006. Phenotypic plasticity in *Passiflora suberosa* L. (Passifloraceae): induction and reversion of two morphs by variation in light intensity. *Brazilian Journal of Biology*, **66**: 853-862
- [77] Barrero, A.F., Oltra, J.E., Raslan, D.S., Saúde, D.A. 1999. Microbial transformation of sesquiterpene lactones by the fungi *Cunninghamella echinulata* and *Rhizopus oryzae*. *Journal of Natural Products*, **62**: 726-729
- [78] Bartel, B., Matsuda, S.P.T. 2003. Seeing red. *Science*, **299**: 352-353
- [79] Barthlott, W., Porembski, S. 1996. Ecology and morphology of *Blossfeldia liliputana* (Cactaceae): A poikilohydric and almost astomate succulent. *Botanica Acta*, **109**: 161-166
- [80] Baruah, N.C., Sarma, J.C., Barua, N.C., Sarma, S., Sharma, R.P. 1994. Germination and growth inhibitory sesquiterpene lactones and a flavone from *Tithonia diversifolia*. *Phytochemistry*, **36**: 29-36
- [81] Basile, A., Sorbo, S., López-Sáez, J.A., Cobiánchi, R.C. 2003. Effects of seven pure flavonoids from mosses on germination and growth of *Tortula muralis* HEDW. (Bryophyta) and *Raphanus sativus* L. (Magnoliophyta). *Phytochemistry*, **62**: 1145-1151
- [82] Bawdekar, A.S., Kelkar, G.R. 1965. Terpenoids-LXVIII. Structure and absolute configuration of costic acid-a new sesquiterpenic acid from costus root oil. *Tetrahedron*, **21**: 1521-1528
- [83] Baydar, H., Cürel, F. 1998. The pollen collection activity and preference of honey bees (*Apis mellifera*) in the natural habitat of Antalya and some morphological and quality properties of different pollen types [Antalya dogal florasında bal arisi (*Apis mellifera*) nin polen toplama aktivitesi, polen tercihi ve farkli polen tiplerinin morfolojik ve kalite ozellikleri]. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **22**: 475-482
- [84] Beaman, R.S., Decker, P.J., Beaman, J.H. 1988. Pollination of *Rafflesia* (Rafflesiaceae). *American Journal of Botany*, **75**: 1148-1162
- [85] Beattie, G.A., Lindow, S.E. 1995. The secret life of foliar bacterial pathogens on leaves. *Annual Review of Phytopathology*, **33**: 145-172

-Βιβλιογραφία-

- [86] Beattie, G.A., Lindow, S.E. 1999. Bacterial colonization of leaves: a spectrum of strategies. *Phytopathology*, **89**: 353-359
- [87] Bécard, G., Taylor, L.P., Douds, D.D., Pfeffer, P.E., Doner, L.W. 1995. Flavonoids are not necessary plant signal compounds in arbuscular mycorrhizal symbioses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **8**: 252-258
- [88] Bedoya, L.M., Sanchez Palomino, S., Abad, M.J., Bermejo, P., Alcamí, J. 2002. Screening of selected plant extracts for *in vitro* inhibitory activity on human immunodeficiency virus. *Phytotherapy Research*, **16**: 550-554
- [89] Beerhues, L., Robenek, H., Wiermann, R. 1988. Chalcone synthases from spinach (*Spinacia oleracea* L.). II. Immunofluorescence and immunogold localization. *Planta*, **173**: 544-553
- [90] Behnke, H.-D. 1984. Plant trichomes - Structure and ultrastructure: General terminology, taxonomic applications, and aspects of trichome-bacteria interaction in leaf tips of Dioscorea, *In: Biology and Chemistry of Plant Trichomes* (E. Rodriguez, P.L. Healey, I. Mehta eds.). New York: Plenum Press, pp. 1-21
- [91] Benayache, S., Benayache, F., Dendougui, H., Jay, M. 1991. Les flavonoïdes d' *Inula viscosa* L.. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **25**: 170-176
- [92] Beninger, C.W., Abou-Zaid, M.M. 1997. Flavonol glycosides from four pine species that inhibit early instar gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) development. *Biochemical Systematics and Ecology*, **25**: 505-512
- [93] Beninger, C.W., Abou-Zaid, M.M., Kistner, A.L.E., Hallett, R.H., Iqbal, M.J., Grodzinski, B., Hall, J.C. 2004. A flavanone and two phenolic acids from *Chrysanthemum morifolium* with phytotoxic and insect growth regulating activity. *Journal of Chemical Ecology*, **30**: 589-606
- [94] Beninger, C.W., Hall, J.C. 2005. Allelopathic activity of luteolin 7-O- β -glucuronide isolated from *Chrysanthemum morifolium* L.. *Biochemical Systematics and Ecology*, **33**: 103-111
- [95] Bennett, M.H., Mansfield, J.W., Lewis, M.J., Beale, M.H. 2002. Cloning and expression of sesquiterpene synthase genes from lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Phytochemistry*, **60**: 255-261
- [96] Bennett, R.N., Wallsgrave, R.M. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, **127**: 617-633
- [97] Bentz, J.-A. 2003. Shading induced variability in azalea mediates its suitability as a host for the azalea lace bug. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **128**: 497-503
- [98] Berhow, M.A., Vaughn, S.F. 1999. Higher plant flavonoids: biosynthesis and chemical ecology, *In: Principles and Practices in Plant Ecology: Allelochemical Interactions* (Inderjit, K.M.M. Dakshini, C.L. Foy eds.). Boca Raton: CRC Press, pp. 423-438
- [99] Berteaux, C.M., Freije, J.R., van der Woude, H., Verstappen, F.W.A., Perk, L., Marquez, V., de Kraker, J.-W., Posthumus, M.A., Jansen, B.J.M., de Groot, A., Franssen, M.C.R., Bouwmeester, H.J. 2005. Identification of intermediates and enzymes involved in the early steps of artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua*. *Planta Medica*, **71**: 40-47
- [100] Bieza, K., Lois, R. 2001. An *Arabidopsis* mutant tolerant to lethal ultraviolet-B levels shows constitutively elevated accumulation of flavonoids and other phenolics. *Plant Physiology*, **126**: 1105-1115
- [101] Binder, B.F., Robbins, J.C. 1997. Effect of terpenoids and related compounds on the oviposition behavior of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**: 980-984
- [102] Binder, B.F., Robbins, J.C., Wilson, R.L. 1995. Chemically mediated ovipositional behaviors of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology*, **21**: 1315-1327
- [103] Bini Maleci, L., Pinetti, A., Servettaz, O. 1995. Micromorphological and phytochemical characters of the two subspecies of *Teucrium flavum* (Labiatae) from the Italian flora. *Flora*, **190**: 237-242
- [104] Bini Maleci, L., Servettaz, O. 1991. Morphology and distribution of trichomes in Italian species of *Teucrium* sect. *Chamaedrys* (Labiatae) - a taxonomical evaluation. *Plant Systematics and Evolution*, **174**: 83-91
- [105] Bird, S.M., Gray, J.E. 2003. Signals from the cuticle affect epidermal cell differentiation. *New Phytologist*, **157**: 9-23
- [106] Bisba, A., Petropoulou, Y., Manetas, Y. 1997. The transiently pubescent young leaves of plane (*Platanus orientalis*) are deficient in photodissipative capacity. *Physiologia Plantarum*, **101**: 373-378
- [107] Bisio, A., Corallo, A., Gastaldo, P., Romussi, G., Ciarallo, G., Fontana, N., De Tommasi, N., Profumo, P. 1999. Glandular hairs and secreted material in *Salvia blepharophylla* Brandege ex Epling grown in Italy. *Annals of Botany*, **83**: 441-452
- [108] Biswas, K.K., Foster, A.J., Aung, T., Mahmoud, S.S. 2009. Essential oil production: Relationship with abundance of glandular trichomes in aerial surface of plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, **31**: 13-19
- [109] Biswas, P., Bhattacharyya, A., Bose, P.C., Mukherjee, N., Adityachaudhury, N. 1981. Further studies on the sensitivity of plant pathogenic microorganisms towards some naturally occurring chalcones and flavanones. *Experientia*, **37**: 397-398
- [110] Blakeman, J.P. 1971. The chemical environment of the leaf surface in relation to growth of pathogenic fungi, *In: Ecology of Leaf Surface Micro-organisms. Proceedings of an International Symposium held at the University of Newcastle upon Tyne, September 1970* (T.F. Preece, C.H. Dickinson eds.). London: Academic Press, pp. 256-268
- [111] Blakeman, J.P., Atkinson, P. 1981. Antimicrobial substances associated with aerial surfaces of plants, *In: Microbial Ecology of the Phylloplane* (J.P. Blakeman eds.). New York: Academic Press, pp. 245-263
- [112] Blanc, M.-C., Bradesi, P., Casanova, J. 2005. Identification and quantitative determination of eudesmane-type acids from the essential oil of *Dittrichia viscosa* sp *viscosa* using ¹³C-NMR spectroscopy. *Phytochemical Analysis*, **16**: 150-154

-Βιβλιογραφία-

- [113] Blanc, M.-C., Bradesi, P., Gonçalves, M.J., Salgueiro, L., Casanova, J. 2006. Essential oil of *Dittrichia viscosa* ssp. *viscosa*: analysis by ¹³C-NMR and antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*, **21**: 324-332
- [114] Blum, U., Shafer, S.R., Lehman, M.E. 1999. Evidence for inhibitory allelopathic interactions involving phenolic acids in field soils: Concepts vs. an experimental model. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **18**: 673-693
- [115] Boddu, J., Svabek, C., Ibraheem, F., Jones, A.D., Chopra, S. 2005. Characterization of a deletion allele of a sorghum Myb gene *yellow seed1* showing loss of 3-deoxyflavonoids. *Plant Science*, **169**: 542-552
- [116] Boeger, M.R.T., Poulson, M. 2006. Efeitos da radiação ultravioleta-B sobre a morfologia foliar de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae). *Acta Botanica Brasílica*, **20**: 329-338
- [117] Bohlmann, F., Gupta, R.K. 1982. Ineupatorolide-like sesquiterpene lactones from *Dittrichia viscosa*. *Phytochemistry*, **21**: 1443-1445
- [118] Bohlmann, F., Czerson, H., Schöneweß, S. 1977. Natürlich vorkommende terpen-derivate. 83. Neue inhaltsstoffe aus *Inula viscosa* Ait. *Chemische Berichte*, **110**: 1330-1334
- [119] Bohlmann, F., Dhar, A.K., Jakupovic, J., King, R.M., Robinson, H. 1981a. Eudesmanolides from *Dimerostemma lippioides*. *Phytochemistry*, **20**: 838-839
- [120] Bohlmann, F., Jakupovic, J., Ahmed, M., Schuster, A. 1983. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Schistostephium* species. *Phytochemistry*, **22**: 1623-1636
- [121] Bohlmann, F., Jakupovic, J., King, R.M., Robinson, H. 1980a. Chromones and flavans from *Marshallia obovata*. *Phytochemistry*, **19**: 1815-1820
- [122] Bohlmann, F., Jakupovic, J., Schuster, A. 1981b. Further eudesmanolides and xanthanolides from *Telekia speciosa*. *Phytochemistry*, **20**: 1891-1893
- [123] Bohlmann, F., Mahanta, P.K., Jakupovic, J., Rastogi, R.C., Natu, A.A. 1978. New sesquiterpene lactones from *Inula* species. *Phytochemistry*, **17**: 1165-1172
- [124] Bohlmann, F., Singh, P., Joshi, K.C., Singh, C.L. 1982a. Xanthanolides from *Xanthium indicum*. *Phytochemistry*, **21**: 1441-1443
- [125] Bohlmann, F., Singh, P., Robinson, H., King, R.M. 1982b. Epi-ilicic acid from *Alcantara ekmaniana*. *Phytochemistry*, **21**: 456-457
- [126] Bohlmann, F., Suwita, A., Jakupovic, J., King, R.M., Robinson, H. 1981c. Trixikingolides and germacrene derivatives from *Trixis* species. *Phytochemistry*, **20**: 1649-1655
- [127] Bohlmann, F., Zdero, C., Ahmed, M. 1982c. New sesquiterpene lactones, geranylinalol derivatives and other constituents from *Geigeria* species. *Phytochemistry*, **21**: 1679-1691
- [128] Bohlmann, F., Zdero, C., Grenz, M., Dhar, A.K., Robinson, H., King, R.M. 1981d. Five diterpenes and other constituents from nine *Baccharis* species. *Phytochemistry*, **20**: 281-286
- [129] Bohlmann, F., Zdero, C., King, R.M., Robinson, H. 1980b. New sesquiterpene lactones and other constituents from *Fitchia speciosa*. *Phytochemistry*, **19**: 1141-1143
- [130] Bohlmann, F., Zdero, C., King, R.M., Robinson, H. 1981e. Heliangolides, and nerolidol and p-hydroxyacetophenone derivatives from *Calea* species. *Phytochemistry*, **20**: 1643-1647
- [131] Bohlmann, F., Zdero, C., King, R.M., Robinson, H. 1986. Neue sesquiterpenlactone und andere inhaltsstoffe aus *Stevia mercedensis* und *Stevia achalensis* [New sesquiterpene lactones and other constituents from *Stevia mercedensis* and *Stevia achalensis*]. *Liebigs Annalen der Chemie*, **1986**: 799-813
- [132] Bohlmann, J., Keeling, C.I. 2008. Terpenoid biomaterials. *Plant Journal*, **54**: 656-669
- [133] Bohlmann, J., Meyer-Gauen, G., Croteau, R. 1998. Plant terpenoid synthases: molecular biology and phylogenetic analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**: 4126-4133
- [134] Bohm, B.A., Constant, H. 1990. Leaf surface flavonoids of *Eriodictyon trichocalyx*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **18**: 491-492
- [135] Bonanomi, G., Mazzoleni, S. 2005. Soil history affects plant growth and competitive ability in herbaceous species. *Community Ecology*, **6**: 23-28
- [136] Bonanomi, G., Rietkerk, M., Dekker, S.C., Mazzoleni, S. 2005. Negative plant-soil feedback and positive species interaction in a herbaceous plant community. *Plant Ecology*, **181**: 269-278
- [137] Bonde, K.K. 1953. Growth inhibitors and auxin in leaves of cocklebur. *Physiologia Plantarum*, **6**: 234-239
- [138] Bongi, G., Mencuccini, M., Fontanazza, G. 1987. Photosynthesis of olive leaves: effect of light flux density, leaf age, temperature, peltates, and H₂O vapour pressure deficit on gas exchange. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **112**: 143-148
- [139] Bonsignore, L., Loy, G., Secci, D., De Logu, A., Palmieri, G. 1990. A preliminary microbiological screening of sardinian plants. *Fitoterapia*, **61**: 339-341
- [140] Boonne, C., Wacquant, J.P., Jonard, R. 1992. *In-vitro* cloning of *Dittrichia viscosa* for screening nutritional ecotypes. *Plant and Soil*, **142**: 323-328
- [141] Borg-Karlson, A.-K. 1990. Chemical and ethological studies of pollination in the genus *Ophrys* (Orchidaceae). *Phytochemistry*, **29**: 1359-1387
- [142] Bosabalidis, A., Gabrieli, C., Niopas, I. 1998. Flavone aglycones in glandular hairs of *Origanum × intercedens*. *Phytochemistry*, **49**: 1549-1553
- [143] Bottega, S., Corsi, G. 2000. Structure, secretion and possible functions of calyx glandular hairs of *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, **132**: 325-335
- [144] Bottrell, D.G., Barbosa, P., Gould, F. 1998. Manipulating natural enemies by plant variety selection and modification: A realistic strategy? *Annual Review of entomology*, **43**: 347-367

-Βιβλιογραφία-

- [145] Boughton, A.J., Hoover, K., Felton, G.W. 2005. Methyl jasmonate application induces increased densities of glandular trichomes on tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Chemical Ecology*, **31**: 2211-2216
- [146] Bouwmeester, H.J., Kodde, J., Verstappen, F.W.A., Altug, I.G., de Kraker, J.-W., Wallaart, T.E. 2002. Isolation and characterization of two germacrene A synthase cDNA clones from chicory. *Plant Physiology*, **129**: 134-144
- [147] Bouwmeester, H.J., Wallaart, T.E., Janssen, M.H.A., van Loo, B., Jansen, B.J.M., Posthumus, M.A., Schmidt, C.O., de Kraker, J.-W., König, W.A., Franssen, M.C.R. 1999. Amorpho-4,11-diene synthase catalyses the first probable step in artemisinin biosynthesis. *Phytochemistry*, **52**: 843-854
- [148] Bowling, S.A., Clarke, J.D., Liu, Y., Klessig, D.F., Dong, X. 1997. The *cpr5* mutant of *Arabidopsis* expresses both NPR1-dependent and NPR1-independent resistance. *Plant Cell*, **9**: 1573-1584
- [149] Bradley, D.J., Gilbert, G.S., Parker, I.M. 2003. Susceptibility of clover species to fungal infection: the interaction of leaf surface traits and environment. *American Journal of Botany*, **90**: 857-864
- [150] Bramley, P.M. 1997. Isoprenoid metabolism, *In*: Plant Biochemistry (P.M. Dey, J.B. Harborne eds.). San Diego: Academic Press, pp. 417-437
- [151] Brantner, A., Brantner, H. 1991. Screening of flavonoid aglycones and glycosides for antimicrobial activity. *Planta Medica*, **57**: A43-A44
- [152] Breitmaier, E. 2006. Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones. Weinheim: Wiley, pp. 223
- [153] Brewer, C.A., Smith, W.K. 1997. Patterns of leaf surface wetness for montane and subalpine plants. *Plant, Cell and Environment*, **20**: 1-11
- [154] Brewer, C.A., Smith, W.K., Vogelmann, T.C. 1991. Functional interaction between leaf trichomes, leaf wettability and the optical properties of water droplets. *Plant, Cell and Environment*, **14**: 955-962
- [155] Broadhurst, C.L., Chaney, R.L., Angle, J.S., Maugel, T.K., Erbe, E.F., Murphy, C.A. 2004. Simultaneous hyperaccumulation of nickel, manganese, and calcium in *Alyssum* leaf trichomes. *Environmental Science and Technology*, **38**: 5797-5802
- [156] Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I., Lux, A. 2007. Zinc in plants. *New Phytologist*, **173**: 677-702
- [157] Broun, P., Liu, Y., Queen, E., Schwarz, Y., Abenes, M.L., Leibman, M. 2006. Importance of transcription factors in the regulation of plant secondary metabolism and their relevance to the control of terpenoid accumulation. *Phytochemistry Reviews*, **5**: 27-38
- [158] Brown, D.E., Rashotte, A.M., Murphy, A.S., Normanly, J., Tague, B.W., Peer, W.A., Taiz, L., Muday, G.K. 2001. Flavonoids act as negative regulators of auxin transport *in vivo* in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **126**: 524-535
- [159] Buchholz, G., Ehmann, B., Wellmann, E. 1995. Ultraviolet light inhibition of phytochrome-induced flavonoid biosynthesis and DNA photolyase formation in mustard cotyledons (*Sinapis alba* L.). *Plant Physiology*, **108**: 227-234
- [160] Buer, C.S., Muday, G.K. 2004. The *transparent testa4* mutation prevents flavonoid synthesis and alters auxin transport and the response of *Arabidopsis* roots to gravity and light. *Plant Cell*, **16**: 1191-1205
- [161] Burbulis, I.E., Iacobucci, M., Shirley, B.W. 1996. A null mutation in the first enzyme of flavonoid biosynthesis does not affect male fertility in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **8**: 1013-1025
- [162] Burbulis, I.E., Winkel-Shirley, B. 1999. Interactions among enzymes of the *Arabidopsis* flavonoid biosynthetic pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**: 12929-12934
- [163] Cafarchia, C., De Laurentis, N., Milillo, M.A., Losacco, V., Puccini, V. 1999. Ricerche sull' attività fungistatica di fiori e foglie di *Inula viscosa* (Asteraceae). *Parassitologia*, **41**: 579-582
- [164] Cafarchia, C., De Laurentis, N., Milillo, M.A., Losacco, V., Puccini, V. 2001. Attività fungistatica di un sesquiterpene lattone (tomentosina) isolato dai fiori freschi di *Inula viscosa* (Asteraceae) della regione Puglia. *Parassitologia*, **43**: 117-121
- [165] Calderon, J.S., Quijano, L., Gómez-Garibay, F., Sanchez, D.M., Rios, T., Fronczek, F.R. 1987. Sesquiterpene lactones from *Stevia ovata* and crystal structure of 11,13-dehydroeriolin. *Phytochemistry*, **26**: 1747-1750
- [166] Caldwell, M.M., Björn, L.O., Bornman, J.F., Flint, S.D., Kulandaivelu, G., Teramura, A.H., Tevini, M. 1998. Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology*, **46**: 40-52
- [167] Campos, J.A., Herrera, M., Biurrun, I., Loidi, J. 2004. The role of alien plants in the natural coastal vegetation in central-northern Spain. *Biodiversity and Conservation*, **13**: 2275-2293
- [168] Cappelletti, E.M., Caniato, R., Appendino, G. 1986. Localization of the cytotoxic hydroperoxyeudesmanolides in *Artemisia umbelliformis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **14**: 183-190
- [169] Castillo, M., Martínez-Pardo, R., Garcerá, M.D., Couillaud, F. 1998. Biological activities of natural sesquiterpene lactones and the effect of synthetic sesquiterpene derivatives on insect juvenile hormone biosynthesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 2030-2035
- [170] Ceccherelli, P., Curini, M., Marcotullio, M.C. 1988. Structure of cyperanic acid, a new sesquiterpene from *Dittrichia viscosa*. *Journal of Natural Products*, **51**: 1006-1009
- [171] Ceccherelli, P., Curini, M., Marcotullio, M.C., Menghini, A. 1985. Sesquiterpene acids from *Dittrichia viscosa*. *Phytochemistry*, **24**: 2987-2989
- [172] Chalker-Scott, L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology*, **70**: 1-9

-Βιβλιογραφία-

- [173] Chatzivasileiadis, E.A., Sabelis, M.W. 1997. Toxicity of methyl ketones from tomato trichomes to *Tetranychus urticae* Koch. *Experimental and Applied Acarology*, **21**: 473-484
- [174] Cheng, A.-X., Lou, Y.-G., Mao, Y.-B., Lu, S., Wang, L.-J., Chen, X.-Y. 2007. Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions. *Journal of Intergrative Plant Biology*, **49**: 179-186
- [175] Chiappini, I., Fardella, G., Menghini, A., Rossi, C. 1982. Flavonoids from *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica*, **44**: 159-161
- [176] Chien, J.C., Sussex, I.M. 1996. Differential regulation of trichome formation on the adaxial and abaxial leaf surfaces by gibberellins and photoperiod in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Physiology*, **111**: 1321-1328
- [177] Choi, Y.-E., Harada, E. 2005. Roles of calcium and cadmium on Cd-containing intra- and extracellular formation of Ca crystals in tobacco. *Journal of Plant Biology*, **48**: 113-119
- [178] Choi, Y.-E., Harada, E., Kim, G.-H., Yoon, E.-S., Sano, H. 2004. Distribution of elements on tobacco trichomes and leaves under cadmium and sodium stresses. *Journal of Plant Biology*, **47**: 75-82
- [179] Choi, Y.-E., Harada, E., Wada, M., Tsuboi, H., Morita, Y., Kusano, T., Sano, H. 2001. Detoxification of cadmium in tobacco plants: formation and active excretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes. *Planta*, **213**: 45-50
- [180] Chopin, J., Pacheco, H. 1958. Isolation and determination of the structure of a new hydroxyflavanone from the cherry-tree heartwood (*Prunus avium*). *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, **40**: 1593-1601
- [181] Chopra, S., Hoshino, A., Boddu, J., Iida, S. 2006. Flavonoid pigments as tools in molecular genetics, *In: The Science of Flavonoids* (E. Grotewold eds.). New York: Springer, pp. 147-173
- [182] Chou, C.-H. 1999. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **18**: 609-636
- [183] Chowdhury, A., Mukherjee, N., Adityachaudhury, N. 1973. Sensitivity of some plant pathogenic fungi towards plant metabolites: antifungal activity of some chalcones, dihydrochalcones and flavanones. *Experientia*, **30**: 1022-1024
- [184] Chung, H.S., Woo, W.S. 1991. Flavonoids from the rhizomes of *Belamcanda chinensis*. *Archives of Pharmacal Research*, **14**: 357-358
- [185] Ciccarelli, D., Garbari, F., Pagni, A.M. 2007. Glandular hairs of the ovary: A helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy? *Annales Botanici Fennici*, **44**: 1-7
- [186] Clark, L.J., Hamilton, J.G.C., Chapman, J.V., Rhodes, M.J.C., Hallahan, D.L. 1997. Analysis of monoterpenoids in glandular trichomes of the catmint *Nepeta racemosa*. *Plant Journal*, **11**: 1387-1393
- [187] Clausen, T.P., Provenza, F.D., Burritt, E.A., Reichardt, P.B., Bryant, J.P. 1990. Ecological implications of condensed tannin structure: A case study. *Journal of Chemical Ecology*, **16**: 2381-2392
- [188] Coates, R.M., Denissen, J.F., Juvik, J.A., Babka, B.A. 1988. Identification of α -santalenoic and *endo*- β -bergamotenoic acids as moth oviposition stimulants from wild tomato leaves. *Journal of Organic Chemistry*, **53**: 2186-2192
- [189] Coe, E.H., McCormick, S.M., Modena, S.A. 1981. White pollen in maize. *Journal of Heredity*, **72**: 318-320
- [190] Cohen, Y., Wang, W., Ben-Daniel, B.-H., Ben-Daniel, Y. 2006. Extracts of *Inula viscosa* control downy mildew of grapes caused by *Plasmopara viticola*. *Phytopathology*, **96**: 417-424
- [191] Colazza, S., McElfresh, J.S., Millar, J.G. 2004. Identification of volatile synomones, induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on bean spp., that attract the egg parasitoid: *Trissolcus basal*. *Journal of Chemical Ecology*, **30**: 945-964
- [192] Constant, B., Grenier, S., Bonnot, G. 1996. Artificial substrate for egg laying and embryonic development by the predatory bug *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae). *Biological Control*, **7**: 140-147
- [193] Cook, C.D.K. 1990. Seed dispersal of *Nymphoides peltata* (S.G. Gmelin) O. Kuntze (Menyanthaceae). *Aquatic Botany*, **37**: 325-340
- [194] Corsi, G., Bottega, S. 1999. Glandular hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Annals of Botany*, **84**: 657-664
- [195] Costa, M., Nogueira, J.M.F., Miguel, M.G., Romano, A. 2003. *In vitro* mass clonal propagation of *Dittrichia viscosa* subsp. *revoluta* and analysis of its secondary metabolites. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **78**: 310-314
- [196] Courtney-Gutterson, N., Napoli, C., Lemieux, C., Morgan, A., Firoozabady, E., Robinson, K.E.P. 1994. Modification of flower color in florist's chrysanthemum: Production of a white-flowering variety through molecular genetics. *Nature Biotechnology*, **12**: 268-271
- [197] Covello, P.S., Teoh, K.H., Polichuk, D.R., Reed, D.W., Nowak, G. 2007. Functional genomics and the biosynthesis of artemisinin. *Phytochemistry*, **68**: 1864-1871
- [198] Crock, J., Wildung, M., Croteau, R. 1997. Isolation and bacterial expression of a sesquiterpene synthase cDNA clone from peppermint (*Mentha x piperita*, L.) that produces the aphid alarm pheromone (*E*)- β -farnesene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**: 12833-12838
- [199] Croteau, R., Johnson, M.A. 1984. Biosynthesis of terpenoids in glandular trichomes, *In: Biology and Chemistry of Plant Trichomes* (E. Rodriguez, P.L. Healey, I. Mehta eds.). New York: Plenum Press, pp. 133-185
- [200] Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. 2000. Natural products (secondary metabolites), *In: Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones eds.). Rockville: American Society of Plant Biologists, pp. 1250-1318

-Βιβλιογραφία-

- [201] Cui, B., Lee, Y.H., Chai, H., Tucker, J.C., Fairchild, C.R., Raventos-Suarez, C., Long, B., Lane, K.E., Menendez, A.T., Beecher, C.W.W., Cordell, G.A., Pezzuto, J.M., Kinghorn, A.D. 1999. Cytotoxic sesquiterpenoids from *Ratibida columnifera*. *Journal of Natural Products*, **62**: 1545-1550
- [202] Cunillera, N., Arró, M., Delourme, D., Karst, F., Boronat, A., Ferrer, A. 1996. *Arabidopsis thaliana* contains two differentially expressed farnesyl-diphosphate synthase genes. *Journal of Biological Chemistry*, **271**: 7774-7780
- [203] Curadi, M., Graifenberg, A., Magnani, G., Giustiniani, L. 2005. Growth and element allocation in tissues of *Inula viscosa* in sodic-saline conditions: a candidate for programs of desertification control. *Arid Land Research and Management*, **19**: 257-265
- [204] Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **26**: 343-356
- [205] Dafni, A., Werker, E. 1982. Pollination ecology of *Sternbergia clusiana* (Ker-Gawler) Spreng. (Amaryllidaceae). *New Phytologist*, **91**: 571-577
- [206] Dafni, A., Yaniv, Z., Palevitch, D. 1984. Ethnobotanical survey of medicinal plants in northern Israel. *Journal of Ethnopharmacology*, **10**: 295-310
- [207] Dai, G.H., Andary, C., Mondolot-Cosson, L., Boubals, D. 1995. Histochemical studies on the interaction between three species of grapevine, *Vitis vinifera*, *V. rupestris* and *V. rotundifolia* and the downy mildew fungus, *Plasmopara viticola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **46**: 177-188
- [208] Dakora, F.D., Phillips, D.A. 1996. Diverse functions of isoflavonoids in legumes transcend anti-microbial definitions of phytoalexins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **49**: 1-20
- [209] Daniewski, W.M., Kroszczyński, W., Bloszyk, E., Drożdż, B., Nawrot, J., Rychlewska, U., Buděšínský, M., Holub, M. 1986. On terpenes. 294. Sesquiterpenoids from *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter. Their structure and deterrent activity. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, **51**: 1710-1721
- [210] Davies, K.L., Turner, M.P. 2004. Pseudopollen in *Dendrobium unicum* Seidenf. (Orchidaceae): Reward or deception? *Annals of Botany*, **94**: 129-132
- [211] Davies, K.M., Bloor, S.J., Spiller, G.B., Derolles, S.C. 1998. Production of yellow colour in flowers: Redirection of flavonoid biosynthesis in *Petunia*. *Plant Journal*, **13**: 259-266
- [212] Davis, E.M., Croteau, R. 2000. Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes. *Topics in Current Chemistry*, **209**: 53-95
- [213] Dayan, F.E., Duke, S.O. 2006. Clues in the search for new herbicides, In: Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications (M.J. Reigosa, N. Pedrol, L. González eds.). Dordrecht: Springer, pp. 63-83
- [214] de Kraker, J.-W., Franssen, M.C.R., Dalm, M.C.F., de Groot, A., Bouwmeester, H.J. 2001. Biosynthesis of germacrene A carboxylic acid in chicory roots. Demonstration of a cytochrome P450 (+)-germacrene A hydroxylase and NADP⁺-dependent sesquiterpenoid dehydrogenase(s) involved in sesquiterpene lactone biosynthesis. *Plant Physiology*, **125**: 1930-1940
- [215] de Kraker, J.-W., Franssen, M.C.R., de Groot, A., König, W.A., Bouwmeester, H.J. 1998. (+)-Germacrene A biosynthesis. The committed step in the biosynthesis of bitter sesquiterpene lactones in chicory. *Plant Physiology*, **117**: 1381-1392
- [216] de Kraker, J.-W., Franssen, M.C.R., Joerink, M., de Groot, A., Bouwmeester, H.J. 2002. Biosynthesis of costunolide, dihydrocostunolide, and leucodin. Demonstration of cytochrome P450-catalyzed formation of the lactone ring present in sesquiterpene lactones of chicory. *Plant Physiology*, **129**: 257-268
- [217] De Silva, D.L.R., Hetherington, A.M., Mansfield, T.A. 1996. Where does all the calcium go? Evidence of an important regulatory role for trichomes in two calcicoles. *Plant, Cell and Environment*, **19**: 880-886
- [218] De Silva, D.L.R., Mansfield, T.A., McAinsh, M.R. 2001. Changes in stomatal behaviour in the calcicole *Leontodon hispidus* due to the disruption by ozone of the regulation of apoplastic Ca⁺² by trichomes. *Planta*, **214**: 158-162
- [219] Degenhardt, J., Gershenzon, J., Baldwin, I.T., Kessler, A. 2003. Attracting friends to feast on foes: Engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies. *Current Opinion in Biotechnology*, **14**: 169-176
- [220] Demetzos, C., Anastasaki, T., Perdetzoglou, D. 2002. A chemometric interpopulation study of the essential oils of *Cistus creticus* L. growing in Crete (Greece). *Zeitschrift für Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, **57**: 89-94
- [221] Demetzos, C., Dimas, K., Hatziantoniou, S., Anastasaki, T., Angelopoulou, D. 2001. Cytotoxic and anti-inflammatory activity of labdane and *cis*-clerodane type diterpenes. *Planta Medica*, **67**: 614-618
- [222] Demetzos, C., Harvala, C., Philianos, S.M., Skaltsounis, A.L. 1990. A new labdane-type diterpene and other compounds from the leaves of *Cistus incanus* ssp. *creticus*. *Journal of Natural Products*, **53**: 1365-1368
- [223] Demetzos, C., Katerinopoulos, H., Kouvarakis, A., Stratigakis, N., Loukis, A., Ekonomakis, C., Spiliotis, V., Tsaknis, J. 1997. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cistus creticus* subsp. *eriocephalus*. *Planta Medica*, **63**: 477-479
- [224] Demetzos, C., Loukis, A., Spiliotis, V., Zoakis, N., Stratigakis, N., Katerinopoulos, H.E. 1995. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cistus creticus* L. *Journal of Essential Oil Research*, **7**: 407-410
- [225] Demetzos, C., Mitaku, S., Hottellier, F., Harvala, A. 1989. Polyphenolic glycosides from *Cistus creticus* L. leaves. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **47**: 314-318

- [226] Demetzos, C., Mitaku, S., Loukis, A., Harvala, C. 1994a. A new drimane sesquiterpene, isomers of manoyl oxide and other volatile constituents from the resin 'Ladano' of *Cistus incanus* subsp. *creticus* (L.) Heywood. *Journal of Essential Oil Research*, **6**: 37-41
- [227] Demetzos, C., Mitaku, S., Skaltsounis, A.L., Couladis, M., Harvala, C., Libot, F. 1994b. Diterpene esters of malonic acid from the resin 'Ladano' of *Cistus creticus*. *Phytochemistry*, **35**: 979-981
- [228] Demetzos, C., Stahl, B., Anastassaki, T., Gazouli, M., Tzouveleki, L.S., Rallis, M. 1999. Chemical analysis and antimicrobial activity of the resin Ladano, of its essential oil and of the isolated compounds. *Planta Medica*, **65**: 76-78
- [229] Derksen, J., van Wezel, R., Knuiman, B., Ylstra, B., van Tunen, A.J. 1999. Pollen tubes of flavonol-deficient *Petunia* show striking alterations in wall structure leading to tube disruption. *Planta*, **207**: 575-581
- [230] Deroles, S.C., Bradley, J.M., Schwinn, K.E., Markham, K.R., Bloor, S., Manson, D.G., Davies, K.M. 1998. An antisense chalcone synthase cDNA leads to novel colour patterns in *lisianthus* (*Eustoma grandiflorum*) flowers. *Molecular Breeding*, **4**: 59-66
- [231] Dewick, P.M. 1997. The biosynthesis of C₅-C₂₅ terpenoid compounds. *Natural Product Reports*, **14**: 111-144
- [232] Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F. 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, **65**: 337-353
- [233] Dickison, W.C. 2000. Integrative Plant Anatomy. San Diego: Academic Press, pp. 533
- [234] Dimas, K., Demetzos, C., Marsellos, M., Sotiriadou, R., Malamas, M., Kokkinopoulos, D. 1998. Cytotoxic activity of labdane type diterpenes against human leukemic cell lines *in vitro*. *Planta Medica*, **64**: 208-211
- [235] Dimas, K., Demetzos, C., Vaos, V., Ioannidis, P., Trangas, T. 2001. Labdane type diterpenes down-regulate the expression of *c-Myc* protein, but not of *Bcl-2*, in human leukemia T-cells undergoing apoptosis. *Leukemia Research*, **25**: 449-454
- [236] Dixon, R.A. 1999. Plant natural products: the molecular genetic basis of biosynthetic diversity. *Current Opinion in Biotechnology*, **10**: 192-197
- [237] Dixon, R.A. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature*, **411**: 843-847
- [238] Dixon, R.A., Achnine, L., Kota, P., Liu, C.-J., Reddy, M.S.S., Wang, L. 2002. The phenylpropanoid pathway and plant defence - A genomics perspective. *Molecular Plant Pathology*, **3**: 371-390
- [239] Dixon, R.A., Paiva, N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, **7**: 1085-1097
- [240] Dixon, R.A., Xie, D.-Y., Sharma, S.B. 2005. Proanthocyanidins - A final frontier in flavonoid research? *New Phytologist*, **165**: 9-28
- [241] Domínguez-Solís, J.R., Gutiérrez-Alcalá, G., Romero, L.C., Gotor, C. 2001. The cytosolic *O*-acetylserine(thiol)lyase gene is regulated by heavy metals and can function in cadmium tolerance. *Journal of Biological Chemistry*, **276**: 9297-9302
- [242] Domínguez-Solís, J.R., López-Martín, M.C., Ager, F.J., Ynsa, M.D., Romero, L.C., Gotor, C. 2004. Increased cysteine availability is essential for cadmium tolerance and accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology Journal*, **2**: 469-476
- [243] Donadel, O.J., Guerreiro, E., María, A.O., Wendel, G., Enriz, R.D., Giordano, O.S., Tonn, C.E. 2005. Gastric cytoprotective activity of ilicic aldehyde: Structure-activity relationships. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **15**: 3547-3550
- [244] Douglass, S.K., Juvik, J.A., Pyun, H.-J., Coates, R.M. 1993. Structure-activity relationships for analogs of (+)-(E)-endo- β -bergamoten-12-oic acid, an oviposition stimulant of *Helicoverpa zea* (Boddie). *Journal of Chemical Ecology*, **19**: 11-27
- [245] Dubey, V.S., Bhalla, R., Luthra, R. 2003. An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *Journal of Biosciences*, **28**: 637-646
- [246] Dudareva, N., Andersson, S., Orlova, I., Gatto, N., Reichelt, M., Rhodes, D., Boland, W., Gershenzon, J. 2005. The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**: 933-938
- [247] Dudareva, N., Pichersky, E. 2000. Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiology*, **122**: 627-633
- [248] Duke, S.O., Canel, C., Rimando, A.M., Tellez, M.R., Duke, M.V., Paul, R.N. 2000. Current and potential exploitation of plant glandular trichome productivity, *In: Advances in Botanical Research*, Vol. 31 - Plant Trichomes (D.L. Hallahan, J.C. Gray eds.). London: Academic Press, pp. 121-151
- [249] Duke, S.O., Rimando, A.M., Duke, M.V., Paul, R.N., Ferreira, J.F.S., Smeda, R.J. 1999. Sequestration of phytotoxins by plants: implications for biosynthetic production, *In: Biologically Active Natural Products: Agrochemicals* (S.J. Cutler, H.G. Cutler eds.). Boca Raton: CRC Press, pp. 127-136
- [250] Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M.L., Jouad, H. 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of Ethnopharmacology*, **82**: 97-103
- [251] Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., Lemhadri, A. 2007. The use of medicinal plants in the treatment of diabetes in Morocco [L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc]. *Phytotherapie*, **5**: 194-203
- [252] Edwards, R., Gatehouse, J.A. 1999. Secondary metabolism, *In: Plant Biochemistry and Molecular Biology* (P.J. Lea, R.C. Leegood eds.). New York: John Wiley and Sons, pp. 193-218

- [253] Ehleringer, J. 1984. Ecology and ecophysiology of leaf pubescence in North American desert plants, *In: Biology and Chemistry of Plant Trichomes* (E. Rodriguez, P.L. Healey, I. Mehta eds.). New York: Plenum Press, pp. 113-132
- [254] Eid, F., El-Dahmy, S., Gupta, P.K. 1987. Constituents from *Jasonia montana* and *Allagopappus dichotoma*. *Pharmazie*, **42**: 423-424
- [255] Eisemann, C.H., Rice, M.J. 1992. Attractants for the gravid Queensland fruit fly *Dacus tryoni*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **62**: 125-130
- [256] Eisner, T., Carrel, J.E., van Tassell, E., Hoebeke, E.R., Eisner, M. 2002. Construction of a defensive trash packet from sycamore leaf trichomes by a chrysopid larva (Neuroptera: Chrysopidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, **104**: 437-446
- [257] Eisner, T., Eisner, M., Hoebeke, E.R. 1998. When defense backfires: Detrimental effect of a plant's protective trichomes on an insect beneficial to the plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**: 4410-4414
- [258] Eldenäs, P., Anderberg, A.A., Källersjö, M. 1998. Molecular phylogenetics of the tribe Inuleae s. str. (Asteraceae), based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Plant Systematics and Evolution*, **210**: 159-173
- [259] Elliger, C.A., Chan, B.C., Waiss, A.C. 1980. Flavonoids as larval growth inhibitors. *Naturwissenschaften*, **67**: 358-360
- [260] Enkerli, J., Bhatt, G., Covert, S.F. 1998. Maackiain detoxification contributes to the virulence of *Nectria haematococca* MP VI on chickpea. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **11**: 317-326
- [261] Ervik, F., Tollsten, L., Knudsen, J.T. 1999. Floral scent chemistry and pollination ecology in phytelephantoid palms (Arecaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **217**: 279-297
- [262] Essenberg, M. 2001. Prospects for strengthening plant defenses through phytoalexin engineering. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **59**: 71-81
- [263] Estrela, F., Tapadinhas, C., Pereira, F. 1995. Allergic contact dermatitis from *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter. *Contact Dermatitis*, **32**: 108-109
- [264] Fahn, A. 1979. *Secretory Tissues in Plants*. London: Academic Press, pp. 302
- [265] Fahn, A. 1990. *Plant Anatomy*, Forth ed. Oxford: Pergamon Press, pp. 588
- [266] Fahn, A. 2000. Structure and function of secretory cells, *In: Advances in Botanical Research*, Vol. 31 - Plant Trichomes (D.L. Hallahan, J.C. Gray eds.). London: Academic Press, pp. 37-75
- [267] Fahn, A., Cutler, D.F. 1992. *Encyclopedia of Plant Anatomy*, Vol. 13 - Xerophytes. Berlin: Gebrüder Borntraeger, pp. 176
- [268] Falara, V., Fotopoulos, V., Margaritis, T., Anastasaki, T., Pateraki, I., Bosabalidis, A.M., Kafetzopoulos, D., Demetzos, C., Pichersky, E., Kanellis, A.K. 2008. Transcriptome analysis approaches for the isolation of trichome-specific genes from the medicinal plant *Cistus creticus* subsp. *creticus*. *Plant Molecular Biology*, **68**: 633-651
- [269] Falciani, L., Bini Maleci, L., Mariotti Lippi, M. 1995. Morphology and distribution of trichomes in Italian species of the *Stachys germanica* group (Labiatae): a taxonomic evaluation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **119**: 245-256
- [270] Fardella, G. 1979. Ilicic acid from *Inula graveolens* L.. *Fitoterapia*, **50**: 3-4
- [271] Fernández, R., Bertrand, A., Casares, A., García, R., González, A., Tamés, R.S. 2008. Cadmium accumulation and its effect on the *in vitro* growth of woody fleabane and mycorrhized white birch. *Environmental Pollution*, **152**: 522-529
- [272] Ferrer, J.-L., Austin, M.B., Stewart Jr., C., Noel, J.P. 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry*, **46**: 356-370
- [273] Field, B., Jordán, F., Osbourn, A. 2006. First encounters - deployment of defence-related natural products by plants. *New Phytologist*, **172**: 193-207
- [274] Firn, R.D., Jones, C.G. 2003. Natural products – a simple model to explain chemical diversity. *Natural Product Reports*, **20**: 382-391
- [275] Fischer, N.H. 1990. Sesquiterpene lactones: biogenesis and biomimetic transformations, *In: Recent Advances in Phytochemistry*, Vol. 24 - Biochemistry of the Mevalonic Acid Pathway to Terpenoids (G.H.N. Towers, H.A. Stafford eds.). New York: Plenum Press, pp. 161-201
- [276] Fischer, N.H. 1991. Sesquiterpenoid lactones, *In: Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 7 - Terpenoids (B.V. Charlwood, D.V. Banthorpe eds.). New York: Academic Press, pp. 187-211
- [277] Fischer, N.H., Weidenhamer, J.D., Riopel, J.L., Quijano, L., Menelaou, M.A. 1990. Stimulation of witchweed germination by sesquiterpene lactones: a structure-activity study. *Phytochemistry*, **29**: 2479-2483
- [278] Fokialakis, N., Kalpoutzakis, E., Tekwani, B.L., Skaltsounis, A.L., Duke, S.O. 2006. Antileishmanial activity of natural diterpenes from *Cistus* sp. and semisynthetic derivatives thereof. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **29**: 1775-1778
- [279] Fonseca, J.M., Rushing, J.W., Rajapakse, N.C., Thomas, R.L., Riley, M.B. 2005. Parthenolide and abscisic acid synthesis in feverfew are associated but environmental factors affect them dissimilarly. *Journal of Plant Physiology*, **162**: 485-494
- [280] Fontana, G., La Rocca, S., Passannanti, S., Paternostro, M.P. 2007. Sesquiterpene compounds from *Inula viscosa*. *Natural Product Research*, **21**: 824-827

-Βιβλιογραφία-

- [281] Forkmann, G. 1991. Flavonoids as flower pigments: The formation of the natural spectrum and its extensions by genetic engineering. *Plant Breeding*, **106**: 1-26
- [282] Forkmann, G., Martens, S. 2001. Metabolic engineering and applications of flavonoids. *Current Opinion in Biotechnology*, **12**: 155-160
- [283] Foster, T., Veit, B. 2000. Genetic analysis of leaf development and differentiation, *In: Leaf Development and Canopy Growth* (B. Marshall, J.A. Roberts eds.). Sheffield: Academic Press, pp. 59-95
- [284] Fraga, B.M. 1991. Sesquiterpenoids, *In: Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 7 - Terpenoids (B.V. Charlwood, D.V. Banthorpe eds.). New York: Academic Press, pp. 145-185
- [285] Francisco-Ortega, J., Park, S.-J., Santos-Guerra, A., Benabid, A., Jansen, R.K. 2001. Origin and evolution of the endemic Macaronesian Inuleae (Asteraceae): evidence from the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. *Biological Journal of the Linnean Society*, **72**: 77-97
- [286] Freitas, M.C. 1995. Elemental bioaccumulators in air pollution studies. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **192**: 171-181
- [287] Freitas, M.O., Lima, M.A.S., Silveira, E.R. 2007. Polyphenol compounds of the kino of *Eucalyptus citriodora* [Compostos polifenólicos do kino de *Eucalyptus citriodora*]. *Quimica Nova*, **30**: 1926-1929
- [288] Friml, J., Yang, X., Michniewicz, M., Weijers, D., Quint, A., Tietz, O., Benjamins, R., Ouwerkerk, P.B.F., Ljung, K., Sandberg, G., Hooykaas, P.J.J., Palme, K., Offringa, R. 2004. A PINOID-dependent binary switch in apical-basal PIN polar targeting directs auxin efflux. *Science*, **306**: 862-865
- [289] Furness, N.H., Upadhyaya, M.K., Ormrod, D.P. 1999. Seedling growth and leaf surface morphological responses of three rangeland weeds to ultraviolet-B radiation. *Weed Science*, **47**: 427-434
- [290] Galindo, J.C.G., Hernández, A., Dayan, F.E., Tellez, M.R., Macías, F.A., Paul, R.N., Duke, S.O. 1999. Dehydrozaluazinin C, a natural sesquiterpenolide, causes rapid plasma membrane leakage. *Phytochemistry*, **52**: 805-813
- [291] Gang, D.G., Wang, J., Dudareva, N., Hee Nam, K., Simon, J.E., Lewinsohn, E., Pichersky, E. 2001. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropanes in sweet basil. *Plant Physiology*, **125**: 539-555
- [292] Garcia, M., Sosa, M.E., Donadel, O.J., Giordano, O.S., Tonn, C.E. 2003. Allelochemical effects of eudesmane and eremophilane sesquiterpenes on *Tribolium castaneum* larvae. *Journal of Chemical Ecology*, **29**: 175-187
- [293] Geibel, M. 1995. Sensitivity of the fungus *Cytospora persoonii* to the flavonoids of *Prunus cerasus*. *Phytochemistry*, **38**: 599-601
- [294] Geissman, T.A., Toribio, F.P. 1967. Sesquiterpene lactones. Constituents of *Hymenoclea salsola* T. and G. *Phytochemistry*, **6**: 1563-1567
- [295] Gell, R.J., Pinkey, J.T., Ritchie, E. 1958. Constituents of the kino of *E. maculata*. *Australian Journal of Chemistry*, **11**: 372-375
- [296] Gerats, A.G.M., Martin, G. 1992. Flavonoid synthesis in *Petunia hybrida*; genetics and molecular biology of flower colour, *In: Recent Advances in Phytochemistry*, Vol. 26 - Phenolic Metabolism in Plants (H.A. Stafford, R.K. Ibrahim eds.). New York: Plenum Press, pp. 165-199
- [297] Gersbach, P.V., Wyllie, S.G., Sarafis, V. 2001. A new histochemical method for localization of the site of monoterpene phenol accumulation in plant secretory structures. *Annals of Botany*, **88**: 521-525
- [298] Gianfagna, T.J., Carter, C.D., Sacalis, J.N. 1992. Temperature and photoperiod influence trichome density and sesquiterpene content of *Lycopersicon hirsutum* f. *hirsutum*. *Plant Physiology*, **100**: 1403-1405
- [299] Gisbert, C., Almela, C., Vélez, D., López-Moya, J.R., de Haro, A., Serrano, R., Montoro, R., Navarro-Aviño, J. 2008. Identification of As accumulation plant species growing on highly contaminated soils. *International Journal of Phytoremediation*, **10**: 185-196
- [300] Gitz III, D.C., Liu, L., McClure, J.W. 1998. Phenolic metabolism, growth, and UV-B tolerance in phenylalanine ammonia-lyase-inhibited red cabbage seedlings. *Phytochemistry*, **49**: 377-386
- [301] Gjaerum, H.B., Tjamos, E.C., Virányi, F. 1988. Ascomycetes V: Rhytismatales, Pezizales, Caliciales, Helotiales, *In: European Handbook of Plant Diseases* (I.M. Smith, J. Dunez, D.H. Phillips, R.A. Lelliott, S.A. Archer eds.). Oxford: Blackwell Scientific Publishers, pp. 425-461
- [302] Glanznig, A., McLachlan, K., Kessal, O. 2004. Garden Plants that are Invasive Plants of National Importance: an Overview of their Legal Status and Commercial Availability. Sydney: WWF Australia, pp. 60.
- [303] Glover, B.J. 2000. Differentiation in plant epidermal cells. *Journal of Experimental Botany*, **51**: 497-505
- [304] Glover, B.J., Martin, C. 2000. Specification of epidermal cell morphology, *In: Advances in Botanical Research*, Vol. 31 - Plant Trichomes (D.L. Hallahan, J.C. Gray eds.). London: Academic Press, pp. 193-217
- [305] Goertzen, L.R., Small, E. 1993. The defensive role of trichomes in black medick (*Medicago lupulina*, Fabaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **184**: 101-111
- [306] Goetz, G., Fkyerat, A., Métails, N., Kunz, M., Tabacchi, R., Pezet, R., Pont, V. 1999. Resistance factors to grey mould in grape berries: identification of some phenolics inhibitors of *Botrytis cinerea* stilbene oxidase. *Phytochemistry*, **52**: 759-767
- [307] Gonçalves, M., Gonçalves, S. 1991. Allergic contact dermatitis from *Dittrichia viscosa*. *Contact Dermatitis*, **24**: 40-44
- [308] Gonçalves, S., Gonçalves, M., Sequeira, J. 1996. Contact dermatitis to *Dendranthema morifolium* (Ramat). *Contact Dermatitis*, **35**: 310-311

- [309] González-Tejero, M.R., Casares-Porcel, M., Sánchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutiérrez, J.M., Molero-Mesa, J., Pieroni, A., Giusti, M.E., Censorii, E., de Pasquale, C., Della, A., Paraskeva-Hadjichambi, D., Hadjichambis, A., Houmani, Z., El-Demerdash, M., El-Zayat, M., Hmamouchi, M., ElJohrig, S. 2008. Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia. *Journal of Ethnopharmacology*, **116**: 341-357
- [310] Gould, K.S., Kuhn, D.N., Lee, D.W., Oberbauer, S.F. 1995. Why leaves are sometimes red. *Nature*, **378**: 241-242
- [311] Gould, K.S., Neill, S.O., Vogelmann, T.C. 2002. A unified explanation for anthocyanins in leaves? *Advances in Botanical Research*, **37**: 167-192
- [312] Grammatikopoulos, G., Karabourniotis, G., Kyparissis, A., Petropoulou, Y., Manetas, Y. 1994. Leaf hairs of olive (*Olea europaea*) prevent stomatal closure by ultraviolet-B radiation. *Australian Journal of Plant Physiology*, **21**: 293-301
- [313] Grande, M., Bellido, I.S. 1992. 9-Hydroxynerolidol esters and bicyclic sesquiterpenoids from *Dittrichia viscosa*. *Journal of Natural Products*, **55**: 1074-1079
- [314] Grande, M., Piera, F., Cuenca, A., Torres, P., Bellido, I.S. 1985. Flavonoids from *Inula viscosa*. *Planta Medica*, **51**: 414-419
- [315] Grande, M., Torres, P., Piera, F., Bellido, I.S. 1992. Triterpenoids from *Dittrichia viscosa*. *Phytochemistry*, **31**: 1826-1828
- [316] Grandmaison, J., Ibrahim, R.K. 1996. Evidence for nuclear protein binding of flavonol sulphate esters in *Flaveria chloraefolia*. *Journal of Plant Physiology*, **147**: 653-660
- [317] Gravano, E., Tani, C., Bennici, A., Gucci, R. 1998. The ultrastructure of glandular trichomes of *Phillyrea latifolia* L. (Oleaceae) leaves. *Annals of Botany*, **81**: 327-335
- [318] Grayer, R.J. 1989. Flavonoids, *In: Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 1 - Plant Phenolics (J.B. Harborne eds.). New York: Academic Press, pp. 283-323
- [319] Grayer, R.J., Harborne, J.B. 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry*, **37**: 19-42
- [320] Grayer, R.J., Kimmins, F.M., Padgham, D.E., Harborne, J.B., Rao, D.V.R. 1992. Condensed tannin levels and resistance of groundnuts (*Arachis hypogaea*) against *Aphis craccivora*. *Phytochemistry*, **31**: 3795-3800
- [321] Grayer, R.J., Kokubun, T. 2001. Plant-fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry*, **56**: 253-263
- [322] Grayson, D.H. 1998. Monoterpenoids. *Natural Product Reports*, **15**: 439-475
- [323] Grierson, A.J.C. 1975. *Inula* L., *In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 5 (Davis, P.H. eds.). Edinburgh: Edinburgh University Press, pp. 54-73
- [324] Groves, R.H., Boden, R., Lonsdale, W.M. 2005. Jumping the Garden Fence: Invasive Garden Plants in Australia and their environmental and agricultural impacts. Sydney: WWF Australia, pp. 102
- [325] Guarrera, P.M., Salerno, G., Caneva, G. 2005. Folk phytotherapeutical plants from Maratea area (Basilicata, Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, **99**: 367-378
- [326] Guerreiro, E., Kavka, J., Giordano, O.S., Gros, E.G. 1979. Sesquiterpenoids and flavonoids from *Flourensia oolepis*. *Phytochemistry*, **18**: 1235-1237
- [327] Guerreiro, E., Pestchanker, M.J., Vitto, L.D., Giordano, O.S. 1990. Sesquiterpenes and flavonoids from *Tessaria* species. *Phytochemistry*, **29**: 877-879
- [328] Guilhon, G.M.S.P., Müller, A.H. 1998. Eudesmane sesquiterpenoids from *Pluchea quitoc*. *Phytochemistry*, **47**: 227-229
- [329] Gülz, P.-G., Herrmann, T., Hangst, K. 1996. Leaf trichomes in the genus *Cistus*. *Flora*, **191**: 85-104
- [330] Gurr, G.M. 1995. Effect of foliar pubescence on oviposition by *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). *Plant Protection Quarterly*, **10**: 17-19
- [331] Gurr, G.M., McGrath, D. 2001. Effect of plant variety, plant age and photoperiod on glandular pubescence and host-plant resistance to potato moth (*Phthorimaea operculella*) in *Lycopersicon* spp. *Annals of Applied Biology*, **138**: 221-230
- [332] Gurr, G.M., McGrath, D. 2002. Foliar pubescence and resistance to potato moth, *Phthorimaea operculella*, in *Lycopersicon hirsutum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **103**: 35-41
- [333] Gutiérrez-Alcalá, G., Gotor, C., Meyer, A.J., Fricker, M., Vega, J.M., Romero, L.C. 2000. Glutathione biosynthesis in *Arabidopsis* trichome cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**: 11108-11113
- [334] Gutterman, Y. 1997. Effect of daylength on flowering and seed morphology of *Spergularia diandra* occurring in the Negev Desert, Israel. *Journal of Arid Environments*, **36**: 611-622
- [335] Gutterman, Y. 2000. Environmental factors and survival strategies of annual plant species in the Negev Desert, Israel. *Plant Species Biology*, **15**: 113-125
- [336] Güvenç, A., Yıldız, S., Özkan, A.M., Erdurak, C.S., Coşkun, M., Yilmaz, G., Okuyama, T., Okada, Y. 2005. Antimicrobiological studies on Turkish *Cistus* species. *Pharmaceutical Biology*, **43**: 178-183
- [337] Guyon, V., Tang, W.-H., Monti, M.M., Raiola, A., De Lorenzo, G., McCormick, S., Taylor, L.P. 2004. Antisense phenotypes reveal a role for SHY, a pollen-specific leucine-rich repeat protein, in pollen tube growth. *Plant Journal*, **39**: 643-654
- [338] Guyon, V.N., Astwood, J.D., Garner, E.C., Dunker, A.K., Taylor, L.P. 2000. Isolation and characterization of cDNAs expressed in the early stages of flavonol-induced pollen germination in petunia. *Plant Physiology*, **123**: 699-710
- [339] Hakulinen, J., Sorjonen, S., Julkunen-Tiitto, R. 1999. Leaf phenolics of three willow clones differing in resistance to *Melampsora* rust infection. *Physiologia Plantarum*, **105**: 662-669

-Βιβλιογραφία-

- [340] Hale, K.L., McGrath, S.P., Lombi, E., Stack, S.M., Terry, N., Pickering, I.J., George, G.N., Pilon-Smits, E.A.H. 2001. Molybdenum sequestration in *Brassica* species. A role for anthocyanins? *Plant Physiology*, **126**: 1391-1402
- [341] Hallahan, D.L. 2000. Monoterpenoid biosynthesis in glandular trichomes of Labiate plants, *In: Advances in Botanical Research*, Vol. 31 - Plant Trichomes (D.L. Hallahan, J.C. Gray eds.). London: Academic Press, pp. 77-120
- [342] Hanley, M. E., Fenner, M. 1997. Seedlings growth of four fire-following Mediterranean plant species deprived of single mineral nutrients. *Functional Ecology*, **11**: 398-405
- [343] Harborne, J.B. 1993. Advances in chemical ecology. *Natural Product Reports*, **10**: 327-348
- [344] Harborne, J.B. 1999a. Classes and functions of secondary products from plants, *In: Chemicals from Plants: Perspectives on Plant Secondary Products* (N.J. Walton, D.E. Brown eds.). London: Imperial College Press, pp. 1-25
- [345] Harborne, J.B. 1999b. The comparative biochemistry of phytoalexin induction of plants. *Biochemical Systematics and Ecology*, **27**: 335-367
- [346] Harborne, J.B. 2001. Twenty-five years of chemical ecology. *Natural Product Reports*, **18**: 361-379
- [347] Harborne, J.B., Baxter, H. 1999. The Handbook of Natural Flavonoids. Chichester: Wiley, pp. 1768
- [348] Harborne, J.B., Baxter, H., Moss, G.P. 1999. Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants, Second ed. London: Taylor and Francis, pp. 992
- [349] Harborne, J.B., Grayer, R.J. 1994. Flavonoids and insects, *In: The Flavonoids: Advances in Research since 1986* (J.B. Harborne eds.). London: Chapman and Hall, pp. 589-618
- [350] Harborne, J.B., Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**: 481-504
- [351] Haribal, M., Feeny, P. 2003. Combined roles of contact stimulant and deterrents in assessment of host-plant quality by ovipositing zebra swallowtail butterflies. *Journal of Chemical Ecology*, **29**: 653-670
- [352] Haribal, M., Renwick, J.A.A. 1998. Identification and distribution of oviposition stimulants for monarch butterflies in hosts and nonhosts. *Journal of Chemical Ecology*, **24**: 891-904
- [353] Hariri, E.B., Sallé, G., Andary, C. 1991. Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.). *Protoplasma*, **162**: 20-26
- [354] Harmatha, J., Nawrot, J. 1984. Comparison of the feeding deterrent activity of some sesquiterpene lactones and a lignan lactone towards selected insect storage pests. *Biochemical Systematics and Ecology*, **12**: 95-98
- [355] Harres, H.-P. 1998. Regional differentiation and geocological implications of soil and plant heavy metal contents in a contaminated mining area in southern Sardinia [Zur regionalen differenzierung und geokologischen bedeutung von schwermetallgehalten in boden und pflanzen eines bergbaualtlastgebietes in sudsardinien]. *Petermanns Geographische Mitteilungen*, **142**: 277-302
- [356] Hartlieb, E., Rembold, H. 1996. Behavioral response of female *Helicoverpa (Heliothis) armigera* HB. (Lepidoptera: Noctuidae) moths to synthetic pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) kairomone. *Journal of Chemical Ecology*, **22**: 821-837
- [357] Hartwig, U.A., Maxwell, C.A., Joseph, C.M., Phillips, D.A. 1990. Chrysoeriol and luteolin released from alfalfa seeds induce *nod* genes in *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiology*, **92**: 116-122
- [358] Hashimoto, T., Hajime, A., Chaen, H., Fukuda, S., Kurimoto, M. 1999. Isolation and identification of anti-*Helicobacter pylori* compounds from *Polygonum tinctorium* Lour. *Natural Medicines*, **53**: 27-31
- [359] Hatzellis, K., Pagona, G., Spyros, A., Demetzos, C., Katerinopoulos, H.E. 2004. Correction of the structure of a new sesquiterpene from *Cistus creticus* ssp. *creticus*. *Journal of Natural Products*, **67**: 1996-2001
- [360] He, X.-Z., Dixon, R.A. 2000. Genetic manipulation of isoflavone 7-*O*-methyltransferase enhances biosynthesis of 4'-*O*-methylated isoflavonoid phytoalexins and disease resistance in alfalfa. *Plant Cell*, **12**: 1689-1702
- [361] Heil, M., Baumann, B., Andary, C., Linsenmair, K.E., McKey, D. 2002. Extraction and quantification of "condensed tannins" as a measure of plant anti-herbivore defence? Revisiting an old problem. *Naturwissenschaften*, **89**: 519-524
- [362] Heldt, H.-W. 1997. Plant Biochemistry and Molecular Biology. Oxford: Oxford University Press, pp. 522
- [363] Heldt, H.-W. 2005. Plant Biochemistry, Third ed. Burlington: Elsevier Academic Press, pp. 630
- [364] Hemmerlin, A., Hoeffler, J.F., Meyer, O., Tritsch, D., Kagan, I.A., Grosdemange-Billiard, C., Rohmer, M., Bach, T.J. 2003a. Cross-talk between the cytosolic mevalonate and the plastidial methylerythritol phosphate pathways in Tobacco Bright Yellow-2 cells. *Journal of Biological Chemistry*, **278**: 26666-26676
- [365] Hemmerlin, A., Rivera, S.B., Erickson, H.K., Poulter, C.D. 2003b. Enzymes encoded by the farnesyl diphosphate synthase gene family in the big sagebrush *Artemisia tridentata* ssp. *spiciformis*. *Journal of Biological Chemistry*, **278**: 32132-32140
- [366] Hendry, G.A.F. 1999. Plant pigments, *In: Plant Biochemistry and Molecular Biology* (P.J. Lea, R.C. Leegood eds.). New York: John Wiley and Sons, pp. 219-234
- [367] Hensen, I., Müller, C. 1997. Experimental and structural investigations of anemochorous dispersal. *Plant Ecology*, **133**: 169-180
- [368] Hernández, V., del Carmen Recio, M., Máñez, S., Prieto, J.M., Giner, R.M., Ríos, J.L. 2001. A mechanistic approach to the *in vivo* anti-inflammatory activity of sesquiterpenoid compounds isolated from *Inula viscosa*. *Planta Medica*, **67**: 726-731
- [369] Hernández, V., Máñez, S., Recio, M.C., Giner, R.M., Ríos, J.L. 2005. Anti-inflammatory profile of dehydrocostic acid, a novel sesquiterpene acid with a pharmacophoric conjugated diene. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **26**: 162-169

-Βιβλιογραφία-

- [370] Hernández, V., Recio, M.C., Máñez, S., Giner, R.M., Ríos, J.-L. 2007. Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism. *Life Sciences*, **81**: 480-488
- [371] Herz, W., Bhat, S.V., Sudarsanam, V. 1972a. Sesquiterpene lactones and flavones of *Iva frutescens*. *Phytochemistry*, **11**: 1829-1831
- [372] Herz, W., Chikamatsu, H., Tether, L.R. 1966. Constituents of *Ambrosia ilicifolia* (Gray) Payne. *Journal of Organic Chemistry*, **31**: 1632-1634
- [373] Herz, W., Gibaja, S., Bhat, S.V., Srinivasan, A. 1972b. Dihydroflavonols and other flavonoids of *Eupatorium* species. *Phytochemistry*, **11**: 2859-2863
- [374] Herz, W., Sumi, Y. 1964. Constituents of *Ambrosia hispida* Pursh. *Journal of Organic Chemistry*, **29**: 3438-3439
- [375] Hiermann, A., Kartnig Th., Seligmann, O., Wagner, H. 1977. Flavonoids in the leaves of *Digitalis lanata* (Ehrhart) [Flavonoide in den blättern von *Digitalis lanata* (Ehrhart)]. *Planta Medica*, **32**: 24-26
- [376] Hierro, J.L., Callaway, R.M. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil*, **256**: 29-39
- [377] Hill, M.P., Hulley, P.E., Allsopp, J., Van Harmelen, G. 1997. Glandular trichomes on the exotic *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae) : effective deterrents against an indigenuous south african herbivore. *African Entomology*, **5**: 41-50
- [378] Hille Ris Lambers, D. 1953. Contributions to a monograph of the Aphididae of Europe. *Temminckia*, **9**: 1-176
- [379] Holroyd, G.H., Hetherington, A.M., Gray, J.E. 2002. A role for the cuticular waxes in the environmental control of stomatal development. *New Phytologist*, **153**: 433-439
- [380] Holub, M., Buděšínský, M. 1986. Sesquiterpene lactones of the Umbelliferae. *Phytochemistry*, **25**: 2015-2026
- [381] Holub, M., Toman, J., Herout, V. 1987. The phylogenetic relationships of the Asteraceae and Apiaceae based on phytochemical characters. *Biochemical Systematics and Ecology*, **15**: 321-326
- [382] Honda, K. 1990. Identification of host-plant chemicals stimulating oviposition by swallowtail butterfly, *Papilio protenor*. *Journal of Chemical Ecology*, **16**: 325-337
- [383] Horowitz, R.M., Jurd, L. 1961. Spectral studies on flavonoid compounds. II. Isoflavones and flavanones. *Journal of Organic Chemistry*, **26**: 2446-2449
- [384] Hou, R.-S., Duh, C.-Y., Wang, S.-K., Chang, T.-T. 1994. Cytotoxic flavonoids from the leaves of *Melicope triphylla*. *Phytochemistry*, **35**: 271-272
- [385] Howarth, J.R., Domínguez-Solis, J.R., Gutiérrez-Alcalá, G., Wray, J.L., Romero, L.C., Gotor, C. 2003. The serine acetyltransferase gene family in *Arabidopsis thaliana* and the regulation of its expression by cadmium. *Plant Molecular Biology*, **51**: 589-598
- [386] Howe, H.F., Westley, L.C. 1988. Ecological Relationships of Plants and Animals. New York: Oxford University Press, pp. 288
- [387] Howell, S.H. 1998. Molecular Genetics of Plant Development. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 384
- [388] Hsieh, K., Huang, A.H.C. 2007. Tapetosomes in *Brassica* tapetum accumulate endoplasmic reticulum-derived flavonoids and alkanes for delivery to the pollen surface. *Plant Cell*, **19**: 582-596
- [389] Huang, S.-Q., Takahashi, Y., Dafni, A. 2002. Why does the flower stalk of *Pulsatilla cernua* (Ranunculaceae) bend during anthesis? *American Journal of Botany*, **89**: 1599-1603
- [390] Huber, D.P.W., Ralph, S., Bohlmann, J. 2004. Genomic hardwiring and phenotypic plasticity of terpenoid-based defenses in conifers. *Journal of Chemical Ecology*, **30**: 2399-2418
- [391] Hudaib, M., Mohammad, M., Bustanji, Y., Tayyem, R., Yousef, M., Abuirjeie, M., Aburjai, T. 2008. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Jordan, Mujib Nature Reserve and surrounding area. *Journal of Ethnopharmacology*, **120**: 63-71
- [392] Hughes, N.M., Neufeld, H.S., Burkey, K.O. 2005. Functional role of anthocyanins in high-light winter leaves of the evergreen herb *Galax urceolata*. *New Phytologist*, **168**: 575-587
- [393] Hülskamp, M., Kirik, V. 2000. Trichome differentiation and morphogenesis in *Arabidopsis*, In: Advances in Botanical Research, Vol. 31 - Plant Trichomes (D.L. Hallahan, J.C. Gray eds.). London: Academic Press, pp. 237-260
- [394] Hunaiti, A.A., Al-Oqlah, A., Shannag, N.M., Abukhalaf, I.K., Silvestrov, N.A., Von Deutsch, D.A., Bayorh, M.A. 2007. Toward understanding the influence of soil metals and sulfate content on plant thiols. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, **70**: 559-567
- [395] Inderjit, Dakshini, K.M.M. 1991. Hesperetin 7-rutinoside (hesperidin) and taxifolin 3-arabinoside as germination and growth inhibitors in soils associated with the weed, *Pluchea lanceolata* (DC) C.B. Clarke (Asteraceae). *Journal of Chemical Ecology*, **17**: 1585-1591
- [396] Inderjit, Dakshini, K.M.M. 1992. Formononetin 7-O-glucoside (ononin), an additional growth inhibitor in soils associated with the weed, *Pluchea lanceolata* (DC) C.B. Clarke (Asteraceae). *Journal of Chemical Ecology*, **18**: 713-718
- [397] Inderjit, Dakshini, K.M.M. 1994. Allelopathic potential of the phenolics from the roots of *Pluchea lanceolata*. *Physiologia Plantarum*, **92**: 571-576
- [398] Inderjit, Duke, S.O. 2003. Ecological aspects of allelopathy. *Planta*, **217**: 529-539
- [399] Inderjit, Keating, K.I. 1999. Allelopathy: Principles, procedures, processes, and promises for biological control. *Advances in Agronomy*, **67**: 141-231
- [400] Inderjit, Nilsen, E.T. 2003. Bioassays and field studies for allelopathy in terrestrial plants: Progress and problems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **22**: 221-238
- [401] Inoue, A., Tamogami, S., Kato, H., Nakazato, Y., Akiyama, M., Kodama, O., Akatsuka, T., Hashidoko, Y. 1995. Antifungal melampolides from leaf extracts of *Smallanthus sonchifolius*. *Phytochemistry*, **39**: 845-848

-Βιβλιογραφία-

- [402] Ishida, T., Kurata, T., Okada, K., Wada, T. 2008. A genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs. *Annual Review of Plant Biology*, **59**: 365-386
- [403] Ito, K., Iida, T. 1981. Seven sesquiterpene lactones from *Inula britannica* var. *chinensis*. *Phytochemistry*, **20**: 271-273
- [404] Iwasaki, K., Matsumura, A. 1999. Effect of silicon on alleviation of manganese toxicity in pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch cv. Shintosa). *Soil Science and Plant Nutrition*, **45**: 909-920
- [405] Iwashina, T. 2000. The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*, **113**: 287-299
- [406] Iwashina, T. 2003. Flavonoid function and activity to plants and other organisms. *Biological Sciences in Space*, **17**: 24-44
- [407] Jacobs, M., Rubery, P.H. 1988. Naturally occurring auxin transport regulators. *Science*, **241**: 346-349
- [408] Jakupovic, J., Schuster, A., Bohlmann, F., King, R.M., Lander, N.S. 1988. Sesquiterpene lactones from *Gnephosis* species. *Phytochemistry*, **27**: 3181-3185
- [409] Jakupovic, J., Zdero, C., Grenz, M., Tschritizis, F., Lehmann, L., Hashemi-Nejad, S.M., Bohlmann, F. 1989. Twenty-one acylphloroglucinol derivatives and further constituents from South African *Helichrysum* species. *Phytochemistry*, **28**: 1119-1131
- [410] Janzen, D.H., Fellows, L.E., Waterman, P.G. 1990. What protects *Lonchocarpus* (Leguminosae) seeds in a Costa Rican dry forest? *Biotropica*, **22**: 272-285
- [411] Jerga, C., Merfort, I., Willuhn, G. 1990. Flavonoid aglycones from flowers of *Heterotheca inuloides* [Flavonoidaglyka aus den Blüten von *Heterotheca inuloides*]. *Planta Medica*, **56**: 122-123
- [412] Jeske, F., Huneck, S., Jakupovic, J. 1993. Secoederesmanolides from *Inula japonica*. *Phytochemistry*, **34**: 1647-1649
- [413] Johnson, C.S., Kolevski, B., Smyth, D.R. 2002. *TRANSPARENT TESTA GLABRA2*, a trichome and seed coat development gene of *Arabidopsis*, encodes a WRKY transcription factor. *Plant Cell*, **14**: 1359-1375
- [414] Johnson, H.B. 1975. Plant pubescence: an ecological perspective. *Botanical Review*, **41**: 233-260
- [415] Jones, G.A., Mcallister, T.A., Muir, A.D., Cheng, K.-J. 1994. Effects on sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**: 1374-1378
- [416] Jordá, C., Font, I., Martínez, P. 2001. Current status and new natural hosts of Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) in Spain. *Plant Disease*, **85**: 445-445
- [417] Jordon-Thaden, I.E., Louda, S.M. 2003. Chemistry of *Cirsium* and *Carduus*: a role in ecological risk assessment for biological control of weeds? *Biochemical Systematics and Ecology*, **31**: 1353-1396
- [418] Jørgensen, K., Rasmussen, A.V., Morant, M., Nielsen, A.H., Bjarnholt, N., Zagrobelny, M., Bak, S., Møller, B.L. 2005. Metabolon formation and metabolic channeling in the biosynthesis of plant natural products. *Current Opinion in Plant Biology*, **8**: 280-291
- [419] Jørgensen, R. 1993. The origin of land plants: a union of alga and fungus advanced by flavonoids? *Biosystems*, **31**: 193-207
- [420] Josifov, M. 1992. Zur Taxonomie der paläarktischen *Macrolophus*-Arten (Insecta, Heteroptera: Miridae). *Reichenbachia*, **29**: 1-4
- [421] Joung, J.-Y., Mangai Kasthuri, G., Park, J.-Y., Kang, W.-J., Kim, H.-S., Yoon, B.-S., Joung, H., Jeon, J.-H. 2003. An overexpression of chalcone reductase of *Pueraria montana* var. *lobata* alters biosynthesis of anthocyanin and 5'-deoxyflavonoids in transgenic tobacco. *Biochemical and Biophysical research communications*, **303**: 326-331
- [422] Jungblut, T.P., Schnitzler, J.P., Heller, W., Hertkorn, N., Metzger, J.W., Szymczak, W., Sandermann, H.Jr. 1995. Structures of UV-B induced sunscreen pigments of the scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Angewandte Chemie International Edition in English*, **34**: 312-314
- [423] Juniper, B.E. 1991. The leaf from the inside and the outside: a microbe's perspective, *In: Microbial Ecology of Leaves* (J.H. Andrews, S.S. Hirano eds.). New York: Springer Verlag, pp. 21-42
- [424] Juniper, B.E., Jeffree, C.E. 1983. *Plant Surfaces*. London: Edward Arnold Publishers, pp. 93
- [425] Juvik, J.A., Babka, B.A., Timmermann, E.A. 1988. Influence of trichome exudates from species of *Lycopersicon* on oviposition behavior of *Heliothis zea* (Boddie). *Journal of Chemical Ecology*, **14**: 1261-1278
- [426] Kaileh, M., Berghe, W.V., Boone, E., Essawi, T., Haegeman, G. 2007. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **113**: 510-516
- [427] Kalpoutzakis, E., Chinou, I., Mitaku, S., Skaltsounis, A.-L., Harvala, C. 1998. Antibacterial labdane-type diterpenes from the resin 'ladano' of *Cistus creticus* subsp. *creticus*. *Natural Product Letters*, **11**: 173-179
- [428] Kalsi, P.S., Goyal, R., Talwar, K.K., Chhabra, B.R. 1988. Epoxy alantolides: isoinunal-a new potent plant growth regulator from *Inula racemosa*. *Phytochemistry*, **27**: 2079-2081
- [429] Kalsi, P.S., Goyal, R., Talwar, K.K., Chhabra, B.R. 1989. Stereostructures of two biologically active sesquiterpene lactones from *Inula racemosa*. *Phytochemistry*, **28**: 2093-2096
- [430] Kalsi, P.S., Kaur, G., Sharma, S., Talwar, K.K. 1984. Dehydrocostuslactone and plant growth activity of derived guaianolides. *Phytochemistry*, **23**: 2855-2861
- [431] Kamnaing, P., Tsopmo, A., Tanifum, E.A., Tchuendem, M.H.K., Tane, P., Ayafor, J.F., Sterner, O., Rattendi, D., Iwu, M.M., Schuster, B., Bacchi, C. 2003. Trypanocidal diarylheptanoids from *Aframomum letestuanum*. *Journal of Natural Products*, **66**: 364-367

- [432] Kappers, I.F., Aharoni, A., Van Herpen, T.W.J.M., Luckerhoff, L.L.P., Dicke, M., Bouwmeester, H.J. 2005. Genetic engineering of terpenoid metabolism attracts bodyguards to *Arabidopsis*. *Science*, **309**: 2070-2072
- [433] Karabourniotis, G., Bornman, J.F. 1999. Penetration of UV-A, UV-B and blue light through the leaf trichome layers of two xeromorphic plants, olive and oak, measured by optical fibre microprobes. *Physiologia Plantarum*, **105**: 655-661
- [434] Karabourniotis, G., Bornman, J.F., Liakoura, V. 1999. Different leaf surface characteristics of three grape cultivars affect leaf optical properties as measured with fibre optics: possible implication in stress tolerance. *Australian Journal of Plant Physiology*, **26**: 47-53
- [435] Karabourniotis, G., Fasseas, C. 1996. The dense indumentum with its polyphenol content may replace the protective role of the epidermis in some young xeromorphic leaves. *Canadian Journal of Botany*, **74**: 347-351
- [436] Karabourniotis, G., Kofidis, G., Fasseas, C., Liakoura, V., Drossopoulos, I. 1998. Polyphenol deposition in leaf hairs of *Olea europaea* (Oleaceae) and *Quercus ilex* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, **85**: 1007-1012
- [437] Karabourniotis, G., Kotsabassidis, D., Manetas, Y. 1995. Trichome density and its protective potential against ultraviolet-B radiation damage during leaf development. *Canadian Journal of Botany*, **73**: 376-383
- [438] Karabourniotis, G., Kyparissis, A., Manetas, Y. 1993. Leaf hairs of *Olea europaea* protect underlying tissues against ultraviolet-B radiation damage. *Environmental and Experimental Botany*, **33**: 341-345
- [439] Karabourniotis, G., Papadopoulos, K., Papamarkou, M., Manetas, Y. 1992. Ultraviolet-B radiation absorbing capacity of leaf hairs. *Physiologia Plantarum*, **86**: 414-418
- [440] Karageorgou, P., Levizou, E., Manetas, Y. 2002. The influence of drought, shade and availability of mineral nutrients on exudate phenolics of *Dittrichia viscosa*. *Flora*, **197**: 285-289
- [441] Karamanoli, K. 2002. Secondary metabolites as allelochemicals in plant defence against microorganisms of the phyllosphere, *In: Allelopathy. From molecules to ecosystems* (M.J. Reigosa, N. Pedrol eds.). Enfield: Science Publishers, pp. 277-288
- [442] Karousou, R., Bosabalidis, A.M., Kokkini, S. 1992. *Sideritis syriaca* ssp. *syriaca*: Glandular trichome structure and development in relation to systematics. *Nordic Journal of Botany*, **12**: 31-37
- [443] Kasymov, S.Z. 1983. Advances in the chemistry of sesquiterpene lactones. *Chemistry of Natural Compounds*, **18**: 519-537
- [444] Kaur, B., Kalsi, P.S. 1985. Stereostructures of inulal and isoalloalantolactone, two biologically active sesquiterpene lactones from *Inula racemosa*. *Phytochemistry*, **24**: 2007-2010
- [445] Kavallieratos, N.G., Lykouressis, D.P., Sarlis, G.P., Stathas, G.J., Sanchis Segovia, A., Athanassiou, C.G. 2001. The Aphidiinae (Hymenoptera: Ichneumonoidea: Braconidae) of Greece. *Phytoparasitica*, **29**: 306-340
- [446] Kavallieratos, N.G., Stathas, G.J., Athanassiou, C.G., Papadoulis, G.Th. 2003. *Dittrichia viscosa* and *Rubus ulmifolius* as reservoirs of aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) and the role of certain coccinellid species. *Phytoparasitica*, **30**: 231-242
- [447] Kavallieratos, N.G., Tomanović, Ž., Sarlis, G.P., Fasseas, C., Emmanouel, N.E. 2006. A review of the genus *Aphidius* Nees in Greece (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) with the description of a new species. *Journal of Natural History*, **40**: 1179-1197
- [448] Kavallieratos, N.G., Tomanović, Ž., Starý, P., Athanassiou, C.G., Sarlis, G.P., Petrović, O., Niketić, M., Veroniki, M.A. 2004. A survey of aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) of Southeastern Europe and their aphid-plant associations. *Applied Entomology and Zoology*, **39**: 527-563
- [449] Kavvadias, D., Monschein, V., Sand, P., Riederer, P., Schreier, P. 2003. Constituents of sage (*Salvia officinalis*) with *in vitro* affinity to human brain benzodiazepine receptor. *Planta Medica*, **69**: 113-117
- [450] Kaya, A., Demirci, B., Baser, K.H.C. 2007. Micromorphology of glandular trichomes of *Nepeta congesta* Fisch. & Mey. var. *congesta* (Lamiaceae) and chemical analysis of the essential oils. *South African Journal of Botany*, **73**: 29-34
- [451] Kazama, H., Dan, H., Imaseki, H., Wasteneys, G.O. 2004. Transient exposure to ethylene stimulates cell division and alters the fate and polarity of hypocotyl epidermal cells. *Plant Physiology*, **134**: 1614-1623
- [452] Kelly, L.M. 1997. A cladistic analysis of *Asarum* (Aristolochiaceae) and implications for the evolution of herkogamy. *American Journal of Botany*, **84**: 1752-1765
- [453] Kelsey, R.G., Reynolds, G.W., Rodriguez, E. 1984. The chemistry of biologically active constituents secreted and stored in plant glandular trichomes, *In: Biology and Chemistry of Plant Trichomes* (E. Rodriguez, P.L. Healey, I. Mehta eds.). New York: Plenum Press, pp. 187-241
- [454] Kelsey, R.G., Shafizadeh, F. 1979. Sesquiterpene lactones and systematics of the genus *Artemisia*. *Phytochemistry*, **18**: 1591-1611
- [455] Kelsey, R.G., Shafizadeh, F. 1980. Glandular trichomes and sesquiterpene lactones of *Artemisia nova* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, **8**: 371-377
- [456] Kennedy, G.G. 2003. Tomato, pests, parasitoids, and predators: Tritrophic interactions involving the genus *Lycopersicon*. *Annual Review of entomology*, **48**: 51-72
- [457] Kerr, K.M., Mabry, T.J., Yoser, S. 1981. 6-Hydroxy- and 6-methoxyflavonoids from *Neurolaena lobata* and *N. macrocephala*. *Phytochemistry*, **20**: 791-794
- [458] Kessler, A., Baldwin, I.T. 2001. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science*, **291**: 2141-2144
- [459] Khafagy, S.M., Metwally, A.M., Omar, A.A. 1976. Isolation of dihydroflavonol from *Pulicaria undulata* (L.) Kostel. *Pharmazie*, **31**: 649-649

-Βιβλιογραφία-

- [460] Khalil, E.A., Afifi, F.U., Al-Hussaini, M. 2007. Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology*, **109**: 104-112
- [461] Khater, C., Martin, A., Maillet, J. 2003. Spontaneous vegetation dynamics and restoration prospects for limestone quarries in Lebanon. *Applied Vegetation Science*, **6**: 199-204
- [462] Kidd, P.S., Llugany, M., Poschenrieder, C., Günsé, B., Barceló, J. 2001. The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, **52**: 1339-1352
- [463] Kim, H.J., Triplett, B.A. 2001. Cotton fiber growth in planta and in vitro. Models for plant cell elongation and cell wall biogenesis. *Plant Physiology*, **127**: 1361-1366
- [464] Kim, M.-R., Lee, S.-K., Kim, C.-S., Kim, K.-S., Moon, D.-C. 2004. Phytochemical constituents of *Carpesium macrocephalum* Fr. et Sav. *Archives of Pharmacal Research*, **27**: 1029-1033
- [465] Kintziou, H., Chinou, E., Chinou, I.B. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from Greek plants: Applications and therapeutic uses. *Review of Clinical Pharmacology and Pharmacokinetics, International Edition*, **15**: 15-20
- [466] Kirik, V., Lee, M.M., Wester, K., Herrmann, U., Zheng, Z., Oppenheimer, D., Schiefelbein, J., Hulskamp, M. 2005. Functional diversification of *MYB23* and *GL1* genes in trichome morphogenesis and initiation. *Development*, **132**: 1477-1485
- [467] Kirik, V., Simon, M., Huelskamp, M., Schiefelbein, J. 2004a. The *ENHANCER OF TRY AND CPC1* gene acts redundantly with *TRIPTYCHON* and *CAPRICE* in trichome and root hair cell patterning in *Arabidopsis*. *Developmental Biology*, **268**: 506-513
- [468] Kirik, V., Simon, M., Wester, K., Schiefelbein, J., Hulskamp, M. 2004b. *ENHANCER* of *TRY* and *CPC2* (*ETC2*) reveals redundancy in the region-specific control of trichome development of *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, **55**: 389-398
- [469] Kitamura, S. 2006. Transport of flavonoids: From cytosolic synthesis to vacuolar accumulation, *In: The Science of Flavonoids* (E. Grotefeld eds.). New York: Springer, pp. 123-146
- [470] Kivçak, B., Akay, S., Sağlam, H., Öztürk, H.T. 2002. Antimicrobial activity of *Inula viscosa* (L.) Ait. *Gazi Universitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **19**: 101-104
- [471] Kliebenstein, D.J. 2004. Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinted glasses. *Plant, Cell and Environment*, **27**: 675-684
- [472] Knudsen, J.T., Eriksson, R., Gershenzon, J., Ståhl, B. 2006. Diversity and distribution of floral scent. *Botanical Review*, **72**: 1-120
- [473] Knudsen, J.T., Tollsten, L. 1993. Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: Floral scent composition in moth-pollinated taxa. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **113**: 263-284
- [474] Kobayashi, H., Naciri-Graven, Y., Broughton, W.J., Perret, X. 2004. Flavonoids induce temporal shifts in gene-expression of *nod*-box controlled loci in *Rhizobium* sp. NGR234. *Molecular Microbiology*, **51**: 335-347
- [475] Kodama, O., Miyakawa, J., Akatsuka, T., Kiyosawa, S. 1992. Sakuranetin, a flavanone phytoalexin from ultraviolet-irradiated rice leaves. *Phytochemistry*, **31**: 3807-3809
- [476] Koes, R., Verweij, W., Quattrocchio, F. 2005. Flavonoids: A colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in Plant Science*, **10**: 236-242
- [477] Koiwa, H., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M. 1997. Regulation of protease inhibitors and plant defense. *Trends in Plant Science*, **2**: 379-384
- [478] Kong, C., Xu, X., Hu, F., Chen, X., Ling, B., Tan, Z. 2002. Using specific secondary metabolites as markers to evaluate allelopathic potentials of rice varieties and individual plants. *Chinese Science Bulletin*, **47**: 839-843
- [479] Kong, C., Xu, X., Zhou, B., Hu, F., Zhang, C., Zhang, M. 2004. Two compounds from allelopathic rice accession and their inhibitory activity on weeds and fungal pathogens. *Phytochemistry*, **65**: 1123-1128
- [480] Kortekamp, A., Wind, R., Zyprian, E. 1999. The role of hairs on the wettability of grapevine (*Vitis* spp.) leaves. *Vitis*, **38**: 101-105
- [481] Kortekamp, A., Zyprian, E. 1999. Leaf hairs as a basic protective barrier against downy mildew of grape. *Journal of Phytopathology*, **147**: 453-459
- [482] Koshino, H., Togiya, S., Terada, S.-i., Yoshihara, T., Sakamura, S., Shimanuki, T., Sato, T., Tajimi, A. 1989. New fungitoxic sesquiterpenoids, chokols A-G, from stromata of *Epichloe typhina* and the absolute configuration of chokol E. *Agricultural and Biological Chemistry*, **53**: 789-796
- [483] Koslák, R.M., Bookland, R., Barkei, J., Paaren, H.E., Appelbaum, E.R. 1987. Induction of *Bradyrhizobium japonicum* common *nod* genes by isoflavones isolated from *Glycine max*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **84**: 7428-7432
- [484] Kostina, E., Wulff, A., Julkunen-Tiitto, R. 2001. Growth, structure, stomatal responses and secondary metabolites of birch seedlings (*Betula pendula*) under elevated UV-B radiation in the field. *Trees*, **15**: 483-491
- [485] Krämer, R.P., Hindorf, H., Jha, H.C., Kallage, J., Zilliken, F. 1984. Antifungal activity of soybean and chickpea isoflavones and their reduced derivatives. *Phytochemistry*, **23**: 2203-2205
- [486] Kreiter, S., Tixier, M.-S., Croft, B.A., Auger, P., Barret, D. 2002. Plants and leaf characteristics influencing the predaceous mite *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) in habitats surrounding vineyards. *Environmental Entomology*, **31**: 648-660
- [487] Krips, O.E., Kleijn, P.W., Willems, P.E.L., Gols, G.J.Z., Dicke, M. 1999. Leaf hairs influence searching efficiency and predation rate of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, **23**: 119-131

-Βιβλιογραφία-

- [488] Kuć, J. 1995. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. *Annual Review of Phytopathology*, **33**: 275-297
- [489] Küpper, H., Lombi, E., Zhao, F.-J., McGrath, S.P. 2000. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Planta*, **212**: 75-84
- [490] Kurina Sanz, M.B., Donadel, O.J., Rossomando, P.C., Tonn, C.E., Guerreiro, E. 1997. Sesquiterpenes from *Tessaria absinthioides*. *Phytochemistry*, **44**: 897-900
- [491] Kyriakidis, S.M., Sotiroudis, T.G., Evangelopoulos, A.E. 1986. Interaction of flavonoids with rabbit muscle phosphorylase kinase. *Biochimica et Biophysica Acta*, **871**: 121-129
- [492] Laks, P.E., Pruner, M.S. 1989. Flavonoid biocides: structure/activity relations of flavonoid phytoalexin analogues. *Phytochemistry*, **28**: 87-91
- [493] Lang, M., Schindler, C. 1994. The effect of leaf-hairs on blue and red fluorescence emission and on zeaxanthin cycle performance of *Senecio medley* L.. *Journal of Plant Physiology*, **144**: 680-685
- [494] Langdale, J.A. 1998. Cellular differentiation in the leaf. *Current Opinion in Cell Biology*, **10**: 734-738
- [495] Lanzetta, R., Lama, G., Mauriello, G., Parrilli, M., Raciotti, R., Sodano, G. 1991. Ichthyotoxic sesquiterpenes and xanthanolides from *Dittrichia graveolens*. *Phytochemistry*, **30**: 1121-1124
- [496] Larkin, J.C., Oppenheimer, D.G., Pollock, S., Marks, M.D. 1993. *Arabidopsis* *GLABROUS1* gene requires downstream sequences for function. *Plant Cell*, **5**: 1739-1748
- [497] Larkin, J.C., Brown, M.L., Schiefelbein, J. 2003. How do cells know what they want to be when they grow up? Lessons from epidermal patterning in *Arabidopsis*. *Annual Review of Plant Biology*, **54**: 403-430
- [498] Larkin, J.C., Marks, M.D., Nadeau, J., Sack, F. 1997. Epidermal cell fate and patterning in leaves. *Plant Cell*, **9**: 1109-1120
- [499] Larkin, J.C., Oppenheimer, D.G., Lloyd, A.M., Papparozzi, E.T., Marks, M.D. 1994. Roles of the *GLABROUS1* and *TRANSPARENT TESTA GLABRA* genes in *Arabidopsis* trichome development. *Plant Cell*, **6**: 1065-1076
- [500] Larose, G., Chênevert, R., Moutoglis, P., Gagné, S., Piché, Y., Vierheilg, H. 2002. Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. *Journal of Plant Physiology*, **159**: 1329-1339
- [501] La-Serna Ramos, I.E., Gómez Ferreras, C. 2006. Pollen and sensorial characterization of different honeys from El Hierro (Canary Islands). *Grana*, **45**: 146-159
- [502] Laule, O., Fürholz, A., Chang, H.-S., Zhu, T., Wang, X., Heifetz, P.B., Grisse, W., Lange, B.M. 2003. Crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**: 6866-6871
- [503] Lauro, L., Rolih, C. 1990. Observations and research on an extract of *Inula viscosa* Ait.. *Bollettino della Societa Italiana di Biologia Sperimentale*, **66**: 829-834
- [504] Lavid, N., Barkay, Z., Tel-Or, E. 2001. Accumulation of heavy-metals in epidermal glands of the waterlily (Nymphaeaceae). *Planta*, **212**: 313-322
- [505] Le Roux, P.C., McGeoch, M.A., Nyakatia, M.J., Chown, S.L. 2005. Effects of a short-term climate change experiment on a sub-Antarctic keystone plant species. *Global Change Biology*, **11**: 1628-1639
- [506] Lebreton, P., Wollenweber, E., Southwick, L., Mabry, T.J. 1971. Sur la tétrahydroxy 3,4',5,7 méthoxy-6 flavone, ou méthoxy-6 kaempférol, nouveau composé naturel, extrait de *Prunus avium* L. var. *juliana* (L.) Koch. Note. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences. Série C. Sciences Chimiques*, **272**: 1529-1532
- [507] Lee, J.J., Woodward, A.W., Chen, Z.J. 2007. Gene expression changes and early events in cotton fibre development. *Annals of Botany*, **100**: 1391-1401
- [508] Lenzemo, V.W., Kuyper, T.W., Matusova, R., Bouwmeester, H., Van Ast, A. 2007. Colonization by arbuscular mycorrhizal fungi of sorghum leads to reduced germination and subsequent attachment and emergence of *Striga hermonthica*. *Plant Signaling and Behavior*, **2**: 58-62
- [509] Lentini, F. 2000. The role of ethnobotanics in scientific research. State of ethnobotanical knowledge in Sicily. *Fittoterapia*, **71**: 83-88
- [510] Leroux, P., Chapeland, F., Desbrosses, D., Gredt, M. 1999. Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. *Crop Protection*, **18**: 687-697
- [511] Lev, E., Amar, Z. 2000. Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in Israel at the end of the 20th century. *Journal of Ethnopharmacology*, **72**: 191-205
- [512] Levin, D.A. 1973. The role of trichomes in plant defense. *The Quarterly Review of Biology*, **48**: 3-15
- [513] Levizou, E., Karageorgou, P., Petropoulou, Y., Grammatikopoulos, G., Manetas, Y. 2004. Induction of ageotropic response in lettuce radicle growth by epicuticular flavonoid aglycons of *Dittrichia viscosa*. *Biologia Plantarum*, **48**: 305-307
- [514] Levizou, E., Karageorgou, P., Psaras, G.K., Manetas, Y. 2002. Inhibitory effects of water soluble leaf leachates from *Dittrichia viscosa* on lettuce root growth, statocyte development and graviperception. *Flora*, **197**: 152-157
- [515] Li, J., Ou-Lee, T.-M., Raba, R., Amundson, R.G., Last, R.L. 1993. *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *Plant Cell*, **5**: 171-179
- [516] Li, L., Zhao, Y., McCaig, B.C., Wingerd, B.A., Wang, J., Whalon, M.E., Pichersky, E., Howe, G.A. 2004. The tomato homolog of CORONATINE-INSENSITIVE1 is required for the maternal control of seed maturation, jasmonate-signaled defense responses, and glandular trichome development. *Plant Cell*, **16**: 126-143

- [517] Li, W.-Q., Liu, X.-J., Mao, R.-Z., An, P., Qiao, H.-L., Huang, W., Li, Z.-G. 2006. Advances in plant seed dimorphism (or polymorphism) research. *Acta Ecologica Sinica*, **26**: 1234-1242
- [518] Liakopoulos, G., Karabourniotis, G. 2005. Boron deficiency and concentrations and composition of phenolic compounds in *Olea europaea* leaves: a combined growth chamber and field study. *Tree Physiology*, **25**: 307-315
- [519] Liakopoulos, G., Nikolopoulos, D., Klouvatou, A., Vekkos, K.-A., Manetas, Y., Karabourniotis, G. 2006a. The photoprotective role of epidermal anthocyanins and surface pubescence in young leaves of grapevine (*Vitis vinifera*). *Annals of Botany*, **98**: 257-265
- [520] Liakopoulos, G., Stavrianakou, S., Karabourniotis, G. 2006b. Trichome layers versus dehaired lamina of *Olea europaea* leaves: differences in flavonoid distribution, UV-absorbing capacity, and wax yield. *Environmental and Experimental Botany*, **55**: 294-304
- [521] Liakoura, V., Stavrianakou, S., Liakopoulos, G., Karabourniotis, G., Manetas, Y. 1999. Effects of UV-B radiation on *Olea europaea*: comparisons between a greenhouse and a field experiment. *Tree Physiology*, **19**: 905-908
- [522] Liakoura, V., Stefanou, M., Manetas, Y., Cholevas, C., 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
- [523] Lichius, J.J., Thoison, O., Montagnac, A., Pais, M., Guéritte-Voegelein, F., Sévenet, T., Cosson, J.P., Hadi, A.H.A. 1994. Antimitotic and cytotoxic flavonols from *Zieridium pseudobtusifolium* and *Acronychia porteri*. *Journal of Natural Products*, **57**: 1012-1016
- [524] Lichtenthaler, H.K. 1999. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **50**: 47-65
- [525] Lin, J.-K., Weng, M.-S. 2006. Flavonoids as nutraceuticals, In: *The Science of Flavonoids* (E. Grotewold eds.). New York: Springer, pp. 213-238
- [526] Liu, C.-J., Blount, J.W., Steele, C.L., Dixon, R.A. 2002. Bottlenecks for metabolic engineering of isoflavone glycoconjugates in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**: 14578-14583
- [527] Liu, J., Xia, K.-F., Zhu, J.-C., Deng, Y.-G., Huang, X.-L., Hu, B.-L., Xu, X., Xu, Z.-F. 2006. The nightshade proteinase inhibitor IIb gene is constitutively expressed in glandular trichomes. *Plant and Cell Physiology*, **47**: 1274-1284
- [528] Løe, G., Torång, P., Gaudeul, M., Ågren, J. 2007. Trichome production and spatiotemporal variation in herbivory in the perennial herb *Arabidopsis lyrata*. *OIKOS*, **116**: 134-142
- [529] Logan, B.A., Monson, R.K., Potosnak, M.J. 2000. Biochemistry and physiology of foliar isoprene production. *Trends in Plant Science*, **5**: 477-481
- [530] Loi, M.C., Poli, F., Sacchetti, G., Seleno, M.B., Ballero, M. 2004. Ethnopharmacology of Ogliastra (Villagrande Strisaili, Sardinia, Italy). *Fitoterapia*, **75**: 277-295
- [531] Loomans, A.J.M. 2006. Exploration for hymenopterous parasitoids of thrips. *Bulletin of Insectology*, **59**: 69-83
- [532] Lowry, B., Lee, D., Henabt, C. 1980. The origin of land plants: a new look at an old problem. *Taxon*, **29**: 183-197
- [533] Luo, D., Oppenheimer, D.G. 1999. Genetic control of trichome branch number in *Arabidopsis*: the roles of the *FURCA* loci. *Development*, **126**: 5547-5557
- [534] Lykouressis, D., Perdakis, D., Tsagarakis, A. 2000. Polyphagous mirids in Greece: Host plants and abundance in traps placed in some crops. *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silverstri*, **56**: 57-68
- [535] Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. 1970. The Systematic Identification of Flavonoids. Berlin: Springer Verlag, pp. 547
- [536] Macías, F.A., Galindo, J.C.G., Massanet, G.M. 1992. Potential allelopathic activity of several sesquiterpene lactone models. *Phytochemistry*, **31**: 1969-1977
- [537] Macías, F.A., Galindo, J.C.G., Molinillo, J.M.G., Castellano, D. 2000. Dehydrozalanin C: a potent plant growth regulator with potential use as a natural herbicide template. *Phytochemistry*, **54**: 165-171
- [538] Macías, F.A., Molinillo, J.M.G., Torres, A., Varela, R.M., Castellano, D. 1997. Bioactive flavonoids from *Helianthus annuus* cultivars. *Phytochemistry*, **45**: 683-687
- [539] Macior, L.W. 1986. Floral resource sharing by bumblebees and hummingbirds in *Pedicularis* (Scrophulariaceae) pollination. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, **113**: 101-109
- [540] Mahlberg, P.G., Hammond, C.T., Turner, J.C., Hemphill, J.K. 1984. Structure, development and composition of glandular trichomes of *Cannabis sativa* L., In: *Biology and Chemistry of Plant Trichomes* (E. Rodriguez, P.L. Healey, I. Mehta eds.). New York: Plenum Press, pp. 23-51
- [541] Maia, B.H.L.N.S., De Paula, J.R., Sant'Ana, J., Da Silva, M.F.D.G.F., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Costa, M.D.S.S., Ohashi, O.S., Silva, J.N.M. 2000. Essential oils of *Toona* and *Cedrela* species (Meliaceae): taxonomic and ecological implications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **6**: 629-639
- [542] Malik, M.S., Sangwan, N.K., Singh Dhindsa, K. 1992. Xanthanolides from *Xanthium strumarium*. *Phytochemistry*, **32**: 206-207
- [543] Manetas, Y. 2003. The importance of being hairy: the adverse effects of hair removal on stem photosynthesis of *Verbascum speciosum* are due to solar UV-B radiation. *New Phytologist*, **158**: 503-508
- [544] Máñez, S., Hernández, V., Giner, R.-M., Rios, J.-L., Recio, M.d.C. 2007. Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. *Fitoterapia*, **78**: 329-331

- [545] Máñez, S., Recio, M.C., Gil, I., Gómez, C., Giner, R.-M., Waterman, P.G., Ríos, J.-L. 1999. A glycosyl analogue of diacylglycerol and other antiinflammatory constituents from *Inula viscosa*. *Journal of Natural Products*, **62**: 601-604
- [546] Manos, P.S. 1993. Foliar trichome variation in *Quercus* section *Protobalanus* (Fagaceae). *SIDA*, **15**(3): 391-403
- [547] Mansour, F., Azaizeh, H., Saad, B., Tadmor, Y., Abo-Moch, F., Said, O. 2004. The potential of middle eastern flora as a source of new safe bio-acaricides to control *Tetranychus cinnabarinus*, the carmine spider mite. *Phytoparasitica*, **32**: 66-72
- [548] Manteau, S., Aboune, S., Lambert, B., Legendre, L. 2003. Differential regulation by ambient pH of putative virulence factor secretion by the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *FEMS Microbiology Ecology*, **43**: 359-366
- [549] Mantle, D., Gok, M.A., Lennard, T.W.J. 2001. Adverse and beneficial effects of plant extracts on skin and skin disorders. *Adverse drug reactions and toxicological reviews*, **20**: 89-103
- [550] Maoz, M., Kashman, Y., Neeman, I. 1999. Isolation and identification of a new antifungal sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. *Planta Medica*, **65**: 281-282
- [551] Maoz, M., Neeman, I. 1998. Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. *Letters in Applied Microbiology*, **26**: 61-63
- [552] Maoz, M., Neeman, I. 2000. Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, **71**: 479-482
- [553] Marais, J.P.J., Deavours, B., Dixon, R.A., Ferreira, D. 2006. The stereochemistry of flavonoids, *In: The Science of Flavonoids* (E. Grotewold eds.). New York: Springer, pp. 1-46
- [554] Marc, E.B., Nelly, A., Annick, D.-D., Frederic, D. 2008. Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *Journal of Ethnopharmacology*, **120**: 315-334
- [555] Marcinek-Hüpen-Bestendonk, C., Willuhn, G., Steigel, A., Wendisch, D., Middelhaue, B., Wiebcke, M., Mootz, D. 1990. Germacranolides, guaianolides, and xanthanolides from the flowers of *Arnica mollis* and an X-ray structure analysis of baileyin acetate [Germacranolide, guaianolide und xanthanolide aus blüten von *Arnica mollis* und röntgenstrukturanalyse von baileyinacetat]. *Planta Medica*, **56**: 104-110
- [556] Marin, M., Koko, V., Duletić-Laušević, S., Marin, P.D. 2008. Micromorphology of trichomes of *Thymus malyi* (Lamiaceae). *Journal of Microscopy*, **232**: 406-409
- [557] Markham, K.R. 1982. Biological Techniques Series - Techniques of Flavonoid Identification. London: Academic Press, pp. 113
- [558] Markham, K.R. 1989. Flavones, flavonols and their glycosides, *In: Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 1 - Plant Phenolics (J.B. Harborne eds.). New York: Academic Press, pp. 197-235
- [559] Markham, K.R., Ryan, K.G., Bloor, S.J., Mitchell, K.A. 1998a. An increase in the luteolin:apigenin ratio in *Marchantia polymorpha* on UV-B enhancement. *Phytochemistry*, **48**: 791-794
- [560] Markham, K.R., Tanner, G.J., Caasi-Lit, M., Whitecross, M.I., Nayudu, M., Mitchell, K.A. 1998b. Possible protective role for 3',4'-dihydroxyflavones induced by enhanced UV-B in a UV-tolerant rice cultivar. *Phytochemistry*, **49**: 1913-1919
- [561] Markoglou, A.N., Malandrakis, A.A., Vitoratos, A.G., Ziogas, B.N. 2006. Characterization of laboratory mutants of *Botrytis cinerea* resistant to QoI fungicides. *European Journal of Plant Pathology*, **115**: 149-162
- [562] Marks, M.D. 1994. The making of a plant hair. The identification of genes required for leaf-hair formation in the plant *Arabidopsis thaliana* is leading to the detailed dissection of a cell-differentiation pathway. *Current Biology*, **4**: 621-623
- [563] Marks, M.D. 1997. Molecular genetic analysis of trichome development in *Arabidopsis*. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **48**: 137-163
- [564] Marles, M.A.S., Ray, H., Gruber, M.Y. 2003. New perspectives on proanthocyanidin biochemistry and molecular regulation. *Phytochemistry*, **64**: 367-383
- [565] Marongiu, B., Piras, A., Pani, F., Porcedda, S., Ballero, M. 2003. Extraction, separation and isolation of essential oils from natural matrices by supercritical CO₂. *Flavour and Fragrance Journal*, **18**: 505-509
- [566] Martens, S., Forkmann, G., Britsch, L., Wellmann, F., Matern, U., Lukačín, R. 2003. Divergent evolution of flavonoid 2-oxoglutarate-dependent dioxygenases in parsley. *FEBS Letters*, **544**: 93-98
- [567] Martens, S., Mithöfer, A. 2005. Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*, **66**: 2399-2407
- [568] Martin, C., Glover, B.J. 2007. Functional aspects of cell patterning in aerial epidermis. *Current Opinion in Plant Biology*, **10**: 70-82
- [569] Martin, M.J., Alarcón de la Lastra, C., Marhuenda, E., Delgado, F. 1988a. Gastric antiulcerous activity of different extracts of *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **46**: 371-375
- [570] Martin, M.J., Alarcón de la Lastra, C., Marhuenda, E., Delgado, F., Torreblanca, J. 1988b. Anti-ulcerogenicity of the flavonoid fraction from *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter in rats. *Phytotherapy Research*, **2**: 183-186
- [571] Martin, M.J., Alarcón de la Lastra, C., Marhuenda, E., Jiménez, B. 1987. Étude de l'activité analgésique et antipyrétique de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **21**: 285-291
- [572] Martin, M.J., Alarcón de la Lastra, C., Marhuenda, E., Jiménez, B. 1988c. Etude préliminaire de l'activité antiinflammatoire de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **46**: 309-312
- [573] Masinde, P.S. 2004. Trap-flower fly pollination in East African *Ceropegia* L. (Apocynaceae). *International Journal of Tropical Insect Science*, **24**: 55-72

- [574] Mathesius, U. 2001. Flavonoids induced in cells undergoing nodule organogenesis in white clover are regulators of auxin breakdown by peroxidase. *Journal of Experimental Botany*, **52**: 419-426
- [575] Maxwell, C.A., Hartwig, U.A., Joseph, C.M., Phillips, D.A. 1989. A chalcone and two related flavonoids released from alfalfa roots induce *nod* genes of *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiology*, **91**: 842-847
- [576] Maxwell, C.A., Phillips, D.A. 1990. Concurrent synthesis and release of *nod*-gene-inducing flavonoids from alfalfa roots. *Plant Physiology*, **93**: 1552-1558
- [577] McCaskill, D., Croteau, R. 1997. Prospects for the bioengineering of isoprenoid biosynthesis. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, **55**: 107-146
- [578] McGarvey, D.J., Croteau, R. 1995. Terpenoid metabolism. *Plant Cell*, **7**: 1015-1026
- [579] Mears, J.A., Mabry, T.J. 1972. A procedure for the UV detection of hydroxyl and methoxyl groups at C₆ in flavones and 3-*O*-substituted flavonols. *Phytochemistry*, **11**: 411-412
- [580] Medan, D., D'Ambrogio, A.C. 1998. Reproductive biology of the andromonoecious shrub *Trevoa quinquenervia* (Rhamnaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, **126**: 191-206
- [581] Melendo, M., Benítez, E., Nogales, R. 2002. Assessment of the feasibility of endogenous Mediterranean species for phytoremediation of lead-contaminated areas. *Fresenius Environmental Bulletin*, **11**: 1105-1109
- [582] Meragelman, K.M., Espinar, L.A., Sosa, V.E., Uriburu, M.L., De La Fuente, J.R. 1996. Terpenoid constituents of *Viguiera tucumanensis*. *Phytochemistry*, **41**: 499-502
- [583] Merfort, I., Wendisch, D. 1992. New flavonoid glycosides from Arnicae flos DAB 9. *Planta Medica*, **58**: 355-357
- [584] Metwally, R.M.A., Dawidar, A.A., Metwally, S. 1986. A new thymol derivative from *Pulicaria undulata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **34**: 378-379
- [585] Miguel, G., Faleiro, L., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., Casanova, J. 2008. Susceptibility of *Helicobacter pylori* to essential oil of *Dittrichia viscosa* subsp. *revoluta*. *Phytotherapy Research*, **22**: 259-263
- [586] Miller, K.D., Guyon, V., Evans, J.N.S., Shuttleworth, W.A., Taylor, L.P. 1999. Purification, cloning, and heterologous expression of a catalytically efficient flavonol 3-*O*-galactosyltransferase expressed in the male gametophyte of *Petunia hybrida*. *Journal of Biological Chemistry*, **274**: 34011-34019
- [587] Mizutani, J. 1999. Selected allelochemicals. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **18**: 653-671
- [588] Mmbaga, M.T., Steadman, J.R. 1992. Adult-plant resistance associated with leaf pubescence in common bean. *Plant Disease*, **76**: 1230-1236
- [589] Mmbaga, M.T., Steadman, J.R., Roberts, J.J. 1994. Interaction of bean leaf pubescence with rust urediniospore deposition and subsequent infection density. *Annals of Applied Biology*, **125**: 243-254
- [590] Mo, Y., Nagel, C., Taylor, L.P. 1992. Biochemical complementation of chalcone synthase mutants defines a role for flavonols in functional pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **89**: 7213-7217
- [591] Mol, J., Cornish, E., Mason, J., Koes, R. 1999. Novel coloured flowers. *Current Opinion in Biotechnology*, **10**: 198-201
- [592] Mol, J., Grofowold, E., Koes, R. 1998. How genes paint flowers and seeds. *Trends in Plant Science*, **3**: 212-217
- [593] Mole, S., Butler, L.G., Iason, G. 1990. Defense against dietary tannin in herbivores: A survey for proline rich salivary proteins in mammals. *Biochemical Systematics and Ecology*, **18**: 287-293
- [594] Monteiro, W.R., Castro, M.D.M., Mazzoni-Viveiros, S.C., Mahlberg, P.G. 2001. Development and some histochemical aspects of foliar glandular trichomes of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bert.-Asteraceae. *Revista Brasileira de Botânica*, **24**: 349-357
- [595] Morrissey, J.P., Osbourn, A.E. 1999. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **63**: 708-724
- [596] Mossa, J.S., El-Ferally, F.S., Muhammad, I., Zaw, K., Mbwambo, Z.H., Pezzuto, J.M., Fong, H.H.S. 1997. Sesquiterpene lactones and thymol esters from *Vicoa pentanema*. *Journal of Natural Products*, **60**: 550-555
- [597] Mouhajir, F., Hudson, J.B., Rejdali, M., Towers, G.H.N. 2001. Multiple antiviral activities of endemic medicinal plants used by Berber peoples of Morocco. *Pharmaceutical Biology*, **39**: 364-374
- [598] Moyano, F., Cocucci, A., Sérsic, A. 2003. Accessory pollen adhesive from glandular trichomes on the anthers of *Leonurus sibiricus* L. (Lamiaceae). *Plant Biology*, **5**: 411-418
- [599] Mozuraitis, R., Strandén, M., Ramirez, M.I., Borg-Karlson, A.-K., Mustaparta, H. 2002. (-)-Germacrene D increases attraction and oviposition by the tobacco budworm moth *Heliothis virescens*. *Chemical Senses*, **27**: 505-509
- [600] Muday, G.K., Peer, W.A., Murphy, A.S. 2003. Vesicular cycling mechanisms that control auxin transport polarity. *Trends in Plant Science*, **8**: 301-304
- [601] Muigai, S.G., Schuster, D.J., Snyder, J.C., Scott, J.W., Bassett, M.J., McAuslane, H.J. 2002. Mechanisms of resistance in *Lycopersicon* germplasm to the whitefly *Bemisia argentifolii*. *Phytoparasitica*, **30**: 347-360
- [602] Müller-Riebau, F., Berger, B., Yegen, O. 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**: 2262-2266
- [603] Müller-Riebau, F.J., Berger, B.M., Yegen, O., Cakir, C. 1997. Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**: 4821-4825

- [604] Mumm, R., Hilker, M. 2005. The significance of background odour for an egg parasitoid to detect plants with host eggs. *Chemical Senses*, **30**: 337-343
- [605] Murciego Murciego, A., García Sánchez, A., Rodríguez González, M.A., Pinilla Gil, E., Toro Gordillo, C., Cabezas Fernández, J., Buyolo Triguero, T. 2007. Antimony distribution and mobility in topsoils and plants (*Cytisus striatus*, *Cistus ladanifer* and *Dittrichia viscosa*) from polluted Sb-mining areas in Extremadura (Spain). *Environmental Pollution*, **145**: 15-21
- [606] Murphy, A., Peer, W.A., Taiz, L. 2000. Regulation of auxin transport by aminopeptidases and endogenous flavonoids. *Planta*, **211**: 315-324
- [607] Murugan, R., Shivanna, K.R., Rao, R.R. 2006. Pollination biology of *Aristolochia tagala*, a rare species of medicinal importance. *Current Science*, **91**: 795-798
- [608] Nagata, T., Todoriki, S., Hayashi, T., Shibata, Y., Mori, M., Kanegae, H., Kikuchi, S. 1999. γ -Radiation induces leaf trichome formation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **120**: 113-119
- [609] Nahrstedt, A. 1989. The significance of secondary metabolites for interactions between plants and insects. *Planta Medica*, **55**: 333-338
- [610] Nakayama, T., Yonekura-Sakakibara, K., Sato, T., Kikuchi, S., Fukui, Y., Fukuchi-Mizutani, M., Ueda, T., Nakao, M., Tanaka, Y., Kuzumi, T., Nishino, T. 2000. Aureusidin synthase: a polyphenol oxidase homolog responsible for flower coloration. *Science*, **290**: 1163-1166
- [611] Napoli, C.A., Fahy, D., Wang, H.-Y., Taylor, L.P. 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
- [612] Navarro, T., El Oualidi, J. 2000. Trichome morphology in *Teucrium* L. (Labiatae). A taxonomic review. *Anales Jardín Botánico de Madrid*, **57**: 277-297
- [613] Ndakidemi, P.A., Dakora, F.D. 2003. Legume seed flavonoids and nitrogenous metabolites as signals and protectants in early seedling development. *Functional Plant Biology*, **30**: 729-745
- [614] Negash, L., Bjorn, L.O. 1986. Stomatal closure by ultraviolet radiation. *Physiologia Plantarum*, **66**: 360-364
- [615] Neu, R. 1957. Chelate von diarylborsäuren mit aliphatischen oxyalkylaminen als reagenzien für den nachweis von oxyphenyl-benzo- γ -pyronen. *Naturwissenschaften*, **44**: 181-183
- [616] Nicholson, R.L., Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **30**: 369-389
- [617] Nihoul, P. 1993. Do light intensity, temperature and photoperiod affect the entrapment of mites on glandular hairs of cultivated tomatoes? *Experimental and Applied Acarology*, **17**: 709-718
- [618] Nikolakaki, A., Christodoulakis, N.S. 2004. Leaf structure and cytochemical investigation of secretory tissues in *Inula viscosa*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **144**: 437-448
- [619] Nikonova, L.P., Nikonov, G.K. 1975. 4',5,6-Trihydroxy-3,7-dimethoxyflavone from *Inula grandis*. *Chemistry of Natural Compounds*, **11**: 104-104
- [620] Nishida, R., Ohsugi, T., Fukami, H., Nakajima, S. 1990. Oviposition deterrent of a Rutaceae-feeding swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*, from a non-host rutaceous plant, *Orixa japonica*. *Agricultural and Biological Chemistry*, **54**: 1265-1270
- [621] Nishida, R., Ohsugi, T., Kokubo, S., Fukami, H. 1987. Oviposition stimulants of a Citrus-feeding swallowtail butterfly, *Papilio xuthus* L. *Experientia*, **43**: 342-344
- [622] Noble, J.P., Drysdale, R.B. 1983. The role of benzoic acid and phenolic compounds in latency in fruits of two apple cultivars infected with *Pezizula malicorticis* or *Nectria galligena*. *Physiological Plant Pathology*, **23**: 207-216
- [623] Nogales, R., Benítez, E. 2006. Absorption of zinc and lead by *Dittrichia viscosa* grown in a contaminated soil amended with olive-derived wastes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **76**: 538-544
- [624] Novák, K., Chovanec, P., Škrdleta, V., Kropáčková, M., Lisá, L., Němcová, M. 2002. Effect of exogenous flavonoids on nodulation of pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Experimental Botany*, **53**: 1735-1745
- [625] Ohmura, W., Doi, S., Aoyama, M., Ohara, S. 2000. Antifeedant activity of flavonoids and related compounds against the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. *Journal of Wood Science*, **46**: 149-153
- [626] Oka, Y., Ben-Daniel, B.-H., Cohen, Y. 2001. Nematicidal activity of powder and extracts of *Inula viscosa*. *Nematology*, **3**: 735-742
- [627] Oka, Y., Ben-Daniel, B.-H., Cohen, Y. 2006. Control of *Meloidogyne javanica* by formulations of *Inula viscosa* leaf extracts. *Journal of Nematology*, **38**: 46-51
- [628] Oksman-Caldentey, K.-M., Inzé, D. 2004. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. *Trends in Plant Science*, **9**: 433-440
- [629] Öksüz, S. 1976. ψ -Taraxasterol acetate from *Inula viscosa*. *Planta Medica*, **29**: 343-345
- [630] Öksüz, S. 1977. Flavonoidal compounds of *Inula viscosa* Part II. *Planta Medica*, **31**: 270-273
- [631] Öksüz, S., Topçu, G. 1992. A eudesmanolide and other constituents from *Inula graveolens*. *Phytochemistry*, **31**: 195-197
- [632] Oliveira, R.S., Vosátka, M., Dodd, J.C., Castro, P.M.L. 2005. Studies on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and the efficacy of two native isolates in a highly alkaline anthropogenic sediment. *Mycorrhiza*, **16**: 23-31
- [633] Olsson, L.C., Veit, M., Weissenböck, G., Bornman, J.F. 1998. Differential flavonoid response to enhanced UV-B radiation in *Brassica napus*. *Phytochemistry*, **49**: 1021-1028
- [634] Oppenheimer, D.G., Herman, P.L., Sivakumaran, S., Esch, J., Marks, M.D. 1991. A myb gene required for leaf trichome differentiation in *Arabidopsis* is expressed in stipules. *Cell*, **67**: 483-493

-Βιβλιογραφία-

- [635] Oritsejafor, J.J. 1986. Influence of moisture and pH on growth and survival of *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* in soil. *Transactions-British Mycological Society*, **87**: 511-517
- [636] Ormrod, D.P., Landry, L.G., Conklin P.L. 1995. Short-term UV-B radiation and ozone exposure effects on aromatic secondary metabolite accumulation and shoot growth of flavonoid-deficient *Arabidopsis* mutants. *Physiologia Plantarum*, **93**: 602-610
- [637] Ortiz-Perez, E., Horner, H.T., Hanlin, S.J., Palmer, R.G. 2006. Insect-mediated seed-set evaluation of 21 soybean lines segregating for male sterility at 10 different loci. *Euphytica*, **152**: 351-360
- [638] Oskay, M., Sar, D. 2007. Antimicrobial screening of some Turkish medicinal plants. *Pharmaceutical Biology*, **45**: 176-181
- [639] Owen, S., Boissard, C., Street, R.A., Duckham, S.C., Csiky, O., Hewitt, C.N. 1997. Screening of 18 mediterranean plant species for volatile organic compound emissions. *Atmospheric Environment*, **31**: S101-S117
- [640] Padmavati, M., Sakthivel, N., Thara, K.V., Reddy, A.R. 1997. Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. *Phytochemistry*, **46**: 499-502
- [641] Paiva, N.I., Oommen, A., Harrison, M.J., Dixon, R.A. 1994. Regulation of isoflavonoid metabolism in alfalfa. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **38**: 213-220
- [642] Palevitch, D., Yaniv, Z., Dafni, A. 1986. Medicinal plants of Israel: an ethnobotanical survey, *In: Herbs, Spices and Medicinal Plants* (L.A. Craker, J.E. Simon eds.). Phoenix: Oryx Press, pp. 281-345
- [643] Pan, Z., Herickhoff, L., Backhaus, R.A. 1996. Cloning, characterization, and heterologous expression of cDNAs for farnesyl diphosphate synthase from the guayule rubber plant reveals that this prenyltransferase occurs in rubber particles. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **332**: 196-204
- [644] Paré, P.W., Tumlinson, J.H. 1999. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology*, **121**: 325-331
- [645] Pares, J.O., Öksüz, S., Ulubelen, A., Mabry, T.J. 1981. 6-Hydroxyflavonoids from *Pulicaria dysenterica* (Compositae). *Phytochemistry*, **20**: 2057-2057
- [646] Parvez, M.M., Tomita-Yokotani, K., Fujii, Y., Konishi, T., Iwashina, T. 2004. Effects of quercetin and its seven derivatives on the growth of *Arabidopsis thaliana* and *Neurospora crassa*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **32**: 631-635
- [647] Passalacqua, N.G., De Fine, G., Guarrera, P.M. 2006. Contribution to the knowledge of the veterinary science and of the ethnobotany in Calabria region (Southern Italy). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **2**: 52
- [648] Passalacqua, N.G., Guarrera, P.M., De Fine, G. 2007. Contribution to the knowledge of the folk plant medicine in Calabria region (Southern Italy). *Fitoterapia*, **78**: 52-68
- [649] Paßreiter, C.M., Marcinek, C., Willuhn, G., Merfort, I., Steigel, A., Schröder, E. 1990. Xanthanolide und 11 α ,13-dihydro-4H-xanthalongin-4-O- β -D-glucopyranosid aus den Blüten von *Arnica amplexicaulis* Nutt. *Archiv der Pharmazie*, **323**: 759-759
- [650] Passreiter, C.M., Merfort, I., Bestendonk, C., Willuhn, G., Steigel, A. 1996. 11 α ,13- and 11 β ,13-Dihydro-4H-xanthalongin 4-O- β -glucopyranosides: New sesquiterpene lactone glycosides from flowers of *Arnica amplexicaulis* and *A. mollis*. *Planta Medica*, **62**: 39-41
- [651] Paulsen, E. 2002. Contact sensitization from Compositae-containing herbal remedies and cosmetics. *Contact Dermatitis*, **47**: 189-198
- [652] Payne, C.T., Zhang, F., Lloyd, A.M. 2000. *GL3* encodes a bHLH protein that regulates trichome development in *Arabidopsis* through interaction with GL1 and TTG1. *Genetics*, **156**: 1349-1362
- [653] Pecegueiro, M., Brandão, F.M. 1985. Airborne contact dermatitis to plants. *Contact Dermatitis*, **13**: 277-279
- [654] Peer, W.A., Bandyopadhyay, A., Blakeslee, J.J., Makam, S.N., Chen, R.J., Masson, P.H., Murphy, A.S. 2004. Variation in expression and protein localization of the PIN family of auxin efflux facilitator proteins in flavonoid mutants with altered auxin transport in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, **16**: 1898-1911
- [655] Perazza, D. Vachon, G., Herzog, M. 1998. Gibberellins promote trichome formation by up-regulating *GLABROUS1* in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **117**: 375-383
- [656] Perdikis, D., Favas, C., Lykouressis, D., Fantinou, A. 2007. Ecological relationships between non-cultivated plants and insect predators in agroecosystems: the case of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae) and *Macrolophus melanotoma* (Hemiptera: Miridae). *Acta Oecologica*, **31**: 299-306
- [657] Perdikis, D.C., Margaritopoulos, J.T., Stamatis, C., Mamuris, Z., Lykouressis, D.P., Tsitsipis, J.A., Pekas, A. 2003. Discrimination of the closely related biocontrol agents *Macrolophus melanotoma* (Hemiptera: Miridae) and *M. pygmaeus* using mitochondrial DNA analysis. *Bulletin of Entomological Research*, **93**: 507-514
- [658] Pérez-Alonso, M.J., Velasco-Neguera, A., Emin Duru, M., Harmandar, M., Vallejo, M.C.G. 1996. Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Flavour and Fragrance Journal*, **11**: 349-351
- [659] Pérez-Estrada, L.B., Cano-Santana, Z., Oyama, K. 2000. Variation in leaf trichomes of *Wigandia urens*: environmental factors and physiological consequences. *Tree Physiology*, **20**: 629-632
- [660] Pérez-Fernández, M. A., Rodríguez-Echeverría, S., Calvo-Magro, E., David-Antonio, C. 2003. Germinations of selected perennial plant species from western Spain under nitrogen, light and wet and dry heat treatments. *Journal of Mediterranean Ecology*, **4**: 23-33

-Βιβλιογραφία-

- [661] Pérez-Fernández, M.A., Calvo-Magro, E., Ferrer-Castán, D. 2006. Simulation of germination of pioneer species along an experimental drought gradient. *Journal of Environmental Biology*, **27**: 679-685
- [662] Pérez-Fernández, M.A., Rodríguez-Echeverría, S. 2003. Effect of smoke, charred wood, and nitrogenous compounds on seed germination of ten species from woodland in central-western Spain. *Journal of Chemical Ecology*, **29**: 237-251
- [663] Perez-Garcia, F., Ceresuela, J.L., Gonzalez, A.E., Aguinagalde, I. 1992. Flavonoids in seed coats of *Medicago arborea* and *M. strasseri* (Leguminosae): ecophysiological aspects. *Journal of Basic Microbiology*, **32**: 241-248
- [664] Perez-Rodriguez, M., Jaffe, F.W., Butelli, E., Glover, B.J., Martin, C. 2005. Development of three different cell types is associated with the activity of a specific MYB transcription factor in the ventral petal of *Antirrhinum majus* flowers. *Development*, **132**: 359-370
- [665] Pérez-Sirvent, C., Martínez-Sánchez, M.J., García-Lorenzo, M.L., Bech, J. 2008. Uptake of Cd and Pb by natural vegetation in soils polluted by mining activities. *Fresenius Environmental Bulletin*, **17**: 1666-1671
- [666] Perret, X., Freiberg, C., Rosenthal, A., Broughton, W.J., Fellay, R. 1999. High-resolution transcriptional analysis of the symbiotic plasmid of *Rhizobium* sp. NGR234. *Molecular Microbiology*, **32**: 415-425
- [667] Perret, X., Staehelin, C., Broughton, W.J. 2000. Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **64**: 180-201
- [668] Perry, N.B., Foster, L.M. 1994. Antiviral and antifungal flavonoids, plus a triterpene from *Hebe cupressoides*. *Planta Medica*, **60**: 491-492
- [669] Peters, N.K., Frost, J.W., Long, S.R. 1986. A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium melloti* nodulation genes. *Science*, **233**: 977-980
- [670] Peterson, J.K., Horvat, R.J., Elsey, K.D. 1994. Squash leaf glandular trichome volatiles: identification and influence on behavior of female pickleworm moth [*Diaphania nitidalis* (stoll.)] (Lepidoptera : Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology*, **20**: 2099-2109
- [671] Peterson, R.L., Vermeer, J. 1984. Histochemistry of trichomes, *In: Biology and Chemistry of Plant Trichomes* (E. Rodriguez, P.L. Healey, I. Mehta eds.). New York: Plenum Press, pp. 71-94
- [672] Philips, D.A., Wery, P., Joseph, M.C., Jones, D.A., Teuber, L.R. 1995. Release of flavonoids and betaines from seeds of seven *Medicago* species. *Crop Science*, **35**: 805-808
- [673] Phillips, D.A., Kapulnik, Y. 1995. Plant isoflavonoids, pathogens and symbionts. *Trends in Microbiology*, **3**: 58-64
- [674] Phillips, M.A., Croteau, R.B. 1999. Resin-based defenses in conifers. *Trends in Plant Science*, **4**: 184-190
- [675] Pichersky, E., Gershenzon, J. 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, **5**: 237-243
- [676] Picman, A.K. 1986. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochemical Systematics and Ecology*, **14**: 255-281
- [677] Pierce, M.L., Cover, E.C., Richardson, P.E., Scholes, V.E., Essenberg, M. 1996. Adequacy of cellular phytoalexin concentrations in hypersensitively responding cotton leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **48**: 305-324
- [678] Pinedo, J.M., Gonzalez, D., De Canales, F., Hinojosa, J.L., Llamas, P., Hausen, B.M. 1987. Contact dermatitis to sesquiterpene lactones in *Inula viscosa* Aiton. *Contact Dermatitis*, **17**: 322-323
- [679] Powell, G., Hardie, J., Pickett, J.A. 1995. Behavioural evidence for detection of the repellent polygodial by aphid antennal tip sensilla. *Physiological Entomology*, **20**: 141-146
- [680] Qasem, J.R., Al-Abed, A.S., Abu-Blan, H.A. 1995. Antifungal activity of clammy *Inula* (*Inula viscosa*) on *Helminthosporium sativum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathologia Mediterranea*, **34**: 7-14
- [681] Quattrocchio, F., Baudry, A., Lepiniec, L., Grotewold, E. 2006. The regulation of flavonoid biosynthesis, *In: The Science of Flavonoids* (E. Grotewold eds.). New York: Springer, pp. 97-122
- [682] Ralston, L., Yu, O. 2006. Metabolons involving plant cytochrome P450s. *Phytochemistry Reviews*, **5**: 459-472
- [683] Rao, K.V., Alvarez, F.M. 1981. Antibiotic principle of *Eupatorium capillifolium*. *Journal of Natural Products*, **44**: 252-256
- [684] Rapisarda, A., Galati, E.M., Tzakou, O., Flores, M., Miceli, N. 2001. *Nepeta sibthorpii* Benth (Lamiaceae): micromorphological analysis of leaves and flowers. *II Pharmaco*, **56**: 413-415
- [685] Rasmann, S., Köllner, T.G., Degenhardt, J., Hiltbold, I., Toepfer, S., Kuhlmann, U., Gershenzon, J., Turlings, T.C.J. 2005. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature*, **434**: 732-737
- [686] Rausher, M.D. 2006. The evolution of flavonoids and their genes, *In: The Science of Flavonoids* (E. Grotewold eds.). New York: Springer, pp. 175-211
- [687] Ravi Kiran, S., Sita Devi, P., Janardhan Reddy, K. 2007. Bioactivity of essential oils and sesquiterpenes of *Chloroxylon swietenia* DC against *Helicoverpa armigera*. *Current Science*, **93**: 544-548
- [688] Rees, S.B., Harborne, J.B. 1985. The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. *Phytochemistry*, **24**: 2225-2231
- [689] Reigosa, M.J., Sánchez-Moreiras, A., González, L. 1999. Ecophysiological approach in allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **18**: 577-608
- [690] Reina, M., González-Coloma, A., Gutiérrez, G., Cabrera, R., Rodríguez, M.L., Fajardo, V., Villarreal, L. 2001. Defensive chemistry of *Senecio miser*. *Journal of Natural Products*, **64**: 6-11
- [691] Ren, J., Liu, Y.-Q., Yang, L., Ni, R., You, S. 2006. Molecular cloning and bacterial expression of germacrene A synthase cDNA from *Crepidiastrum sonchifolium*. *Chemical Research in Chinese Universities*, **22**: 606-611
- [692] Rengel, Z. 2002. Breeding for better symbiosis. *Plant and Soil*, **245**: 147-162

-Βιβλιογραφία-

- [693] Requena, N., Serrano, E., Ocón, A., Breuninger, M. 2007. Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. *Phytochemistry*, **68**: 33-40
- [694] Rerie, W.G., Feldmann, K.A., Marks, M.D. 1994. The *GLABRA2* gene encodes a homeo domain protein required for normal trichome development in *Arabidopsis*. *Genes and Development*, **8**: 1388-1399
- [695] Reuber, S., Bornman, J.F., Weissenböck, G. 1996. A flavonoid mutant of barley (*Hordeum vulgare* L.) exhibits increased sensitivity to UV-B radiation in the primary leaf. *Plant, Cell and Environment*, **19**: 593-601
- [696] Reyes-Chilpa, R., Viveros-Rodríguez, N., Gómez-Garibey, F., Alavez-Solano, D. 1995. Antitermitic activity of *Lonchocarpus castilloi* flavonoids and heartwood extracts. *Journal of Chemical Ecology*, **21**: 455-463
- [697] Reynaud, J., Lussignol, M. 1999. Free flavonoids aglycones from *Inula montana*. *Pharmaceutical Biology*, **37**: 163-164
- [698] Ribeiro, A., Pilo-Veloso, D., Romanha, A.J., Zani, C.L. 1997. Trypanocidal flavonoids from *Trixis vauthieri*. *Journal of Natural Products*, **60**: 836-838
- [699] Rice, E.L. 1979. Allelopathy-an update. *The Botanical Review*, **45**: 15-109
- [700] Rice, E.L. 1984. Allelopathy, Second ed. Orlando: Academic Press, pp. 353
- [701] Rising, K.A., Starks, C.M., Noel, J.P., Chappell, J. 2000. Demonstration of germacrene A as an intermediate in 5-*epi*-aristolochene synthase catalysis. *Journal of the American Chemical Society*, **122**: 1861-1866
- [702] Roberts, M.R., Paul, N.D. 2006. Seduced by the dark side: integrating molecular and ecological perspectives on the influence of light on plant defence against pests and pathogens. *New Phytologist*, **170**: 677-699
- [703] Roda, A., Nyrop, J., Dicke, M. English-Loeb, G. 2000. Trichomes and spider-mite webbing protect predatory mite eggs from intraguild predation. *Oecologia*, **125**: 428-435
- [704] Roda, A., Nyrop, J., English-Loeb, G. 2003. Leaf pubescence mediates the abundance of non-prey food and the density of the predatory mite *Typhlodromus pyri*. *Experimental and Applied Acarology*, **29**: 193-211
- [705] Roda, A., Nyrop, J., English-Loeb, G., Dicke, M. 2001. Leaf pubescence and two-spotted spider mite webbing influence phytoseiid behavior and population density. *Oecologia*, **129**: 551-560
- [706] Rodriguez, E., Towers, G.H.N., Mitchell, J.C. 1976. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Phytochemistry*, **15**: 1573-1580
- [707] Rodriguez, E., Yoshioka, H., Mabry, T.J. 1971. The sesquiterpene lactone chemistry of the genus *Parthenium* (Compositae). *Phytochemistry*, **10**: 1145-1154
- [708] Rogers, M.E.R., Maisels, F., Williamson, E.A., Fernandez, M., Tutin, C.E.G. 1990. Gorilla diet in the Lopé Reserve, Gabon. *Oecologia*, **84**: 326-339
- [709] Roldan-Fajardo, B.E. 1994. Effect of indigenous arbuscular mycorrhizal endophytes on the development of six wild plants colonizing a semi-arid area in south-east Spain. *New Phytologist*, **127**: 115-121
- [710] Romantschuk, M., Roine, E., Björklöf, K., Ojanen, T., Nurmianho-Lassila, E.-L., Haahtela, K. 1996. Microbial attachment to plant aerial surfaces, *In: Aerial Plant Surface Microbiology* (C.G. Morris, P.C. Nicot, C. Nguyen-The eds.). New York: Plenum Press, pp. 43-57
- [711] Romeis, J., Babendreier, D., Wäckers, F.L., Shanower, T.G. 2005. Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids-underlying mechanisms and implications. *Basic and Applied Ecology*, **6**: 215-236
- [712] Romeis, J., Shanower, T.G., Peter, A.J. 1999. Trichomes on pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] and two wild *Cajanus* spp. *Crop Science*, **39**: 564-569
- [713] Roy, B.A., Stanton, M.L., Eppley, S.M. 1999. Effects of environmental stress on leaf hair density and consequences for selection. *Journal of Evolutionary Biology*, **12**: 1089-1103
- [714] Rozenblat, S., Grossman, S., Bergman, M., Gottlieb, H., Cohen, Y., Dovrat, S. 2008. Induction of G₂/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in human melanoma cell lines. *Biochemical Pharmacology*, **75**: 369-382
- [715] Ruan, Y., Kotraiah, V., Straney, D.C. 1995. Flavonoids stimulate spore germination in *Fusarium solani* pathogenic on legumes in a manner sensitive to inhibitors of cAMP-dependent protein kinase. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **8**: 929-938
- [716] Rücker, G. 1973. Sesquiterpenes. *Angewandte Chemie International Edition in English*, **12**: 793-806
- [717] Rupasinghe, H.P.V., Paliyath, G., Murr, D.P. 2003. Biosynthesis of isoprenoids in higher plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, **9**: 19-28
- [718] Rustaiyan, A., Faramarzi, S. 1988. Sesquiterpene lactones from *Serratula latifolia*. *Phytochemistry*, **27**: 479-481
- [719] Rustaiyan, A., Jakupovic, J., Chau-Thi, T.V., Bohlmann, F., Sadjadi, A. 1987. Further sesquiterpene lactones from the genus *Dittrichia*. *Phytochemistry*, **26**: 2603-2606
- [720] Ryan, C.A. 2000. The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1477**: 112-121
- [721] Ryan, K.G., Markham, K.R., Bloor, S.J., Bradley, J.M., Mitchell, K.A., Jordan, B.R. 1998. UVB radiation induced increase in quercetin:kaempferol ratio in wild-type and transgenic lines of *Petunia*. *Photochemistry and Photobiology*, **68**: 323-330
- [722] Ryan, K.G., Swinny, E.E., Markham, K.R., Winefield, C. 2002. Flavonoid gene expression and UV photoprotection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry*, **59**: 23-32
- [723] Ryan, K.G., Swinny, E.E., Winefield, C., Markham, K.R. 2001. Flavonoids and UV photoprotection in *Arabidopsis* mutants. *Zeitschrift für Naturforschung C*, **56**: 745-754

- [724] Saeidi, Z., Mallik, B., Kulkarni, R.S. 2007. Inheritance of glandular trichomes and two-spotted spider mite resistance in cross *Lycopersicon esculentum* "Nandi" and *L. pennellii* "LA2963". *Euphytica*, **154**: 231-238
- [725] Said, O., Khalil, S., Fulder, S., Azaizeh, H. 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*, **83**: 251-265
- [726] Sakakibara, A., Mabry, T.J. 1977. A UV procedure for distinguishing 5-hydroxyl-6-methoxyl from 5,6-dihydroxyl systems in flavones and 3-O-substituted flavonols. *Revista Latinoamericana de Quimica*, **8**: 99-100
- [727] Salerno, G., P.M., Caneva, G. 2005. Agricultural, domestic and handicraft folk uses of plants in the Tyrrhenian sector of Basilicata (Italy). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **1**: 2
- [728] Salt, D.E., Prince, R.C., Pickering, I.J., Raskin, I. 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiology*, **109**: 1427-1433
- [729] Sam, O., Jeréz, E., Dell'Amico, J., Ruiz-Sanchez, M.C. 2000. Water stress induced changes in anatomy of tomato leaf epidermes. *Biologia Plantarum*, **43**: 275-277
- [730] Samek, Z. 1978. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, **43**: 3210-3226
- [731] Sánchez-Tinoco, M.Y., Engleman, E.M. 2004. Seed coat anatomy of *Ceratozamia mexicana* (Cycadales). *Botanical Review*, **70**: 24-38
- [732] Sancho, G., Katinas, L. 2002. Are the trichomes in corollas of Mutisieae (Asteraceae) really twin hairs? *Botanical Journal of the Linnean Society*, **140**: 427-433
- [733] Sanz, J.F., Ferrando, C., Marco, J.A. 1991. Oxygenated nerolidol esters and eudesmane acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, **30**: 3653-3655
- [734] Sarkar, F.H., Li, Y. 2003. Soy isoflavones and cancer prevention. *Cancer Investigation*, **21**: 744-757
- [735] Sarret, G., Harada, E., Choi, Y.-E., Isaure, M.-P., Geoffroy, N., Fakra, S., Marcus, M.A., Birschwilks, M., Clemens, S., Manceau, A. 2006. Trichomes of tobacco excrete zinc as zinc-substituted calcium carbonate and other zinc-containing compounds. *Plant Physiology*, **141**: 1021-1034
- [736] Sarret, G., Saumitou-Laprade, P., Bert, V., Proux, O., Hazemann, J.-L., Traverse, A., Marcus, M.A., Manceau, A. 2002. Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Plant Physiology*, **130**: 1815-1826
- [737] Sassi, A.B., Harzallah-Skhiri, F., Aouni, M. 2007. Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharmaceutical Biology*, **45**: 421-428
- [738] Sato, T., Nakayama, T., Kikuchi, S., Fukui, Y., Yonekura-Sakakibara, K., Ueda, T., Nishino, T., Tanaka, Y., Kusumi, T. 2001. Enzymatic formation of aurones in the extracts of yellow snapdragon flowers. *Plant Science*, **160**: 229-236
- [739] Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, **30**: 3875-3883
- [740] Scervino, J.M., Ponce, M.A., Erra-Bassells, R., Vierheilig, H., Ocampo, J.A., Godeas, A. 2005a. Flavonoids exclusively present in mycorrhizal roots of white clover exhibit a different effect on arbuscular mycorrhizal fungi than flavonoids exclusively present in non-mycorrhizal roots of white clover. *Journal of Plant Interactions*, **1**: 15-22
- [741] Scervino, J.M., Ponce, M.A., Erra-Bassells, R., Vierheilig, H., Ocampo, J.A., Godeas, A. 2005b. Flavonoids exhibit fungal species and genus specific effects on the presymbiotic growth of *Gigaspora* and *Glomus*. *Mycological Research*, **109**: 789-794
- [742] Scervino, J.M., Ponce, M.A., Erra-Bassells, R., Vierheilig, H., Ocampo, J.A., Godeas, A. 2005c. Arbuscular mycorrhizal colonization of tomato by *Gigaspora* and *Glomus* species in the presence of root flavonoids. *Journal of Plant Physiology*, **162**: 625-633
- [743] Scervino, J.M., Ponce, M.A., Erra-Bassells, R., Bompadre, M.J., Vierheilig, H., Ocampo, J.A., Godeas, A. 2006. Glycosidation of apigenin results in a loss of its activity on different growth parameters of arbuscular mycorrhizal fungi from the genus *Glomus* and *Gigaspora*. *Soil Biology and Biochemistry*, **38**: 2919-2922
- [744] Schellmann, S., Schnittger, A., Kirik, V., Wada, T., Okada, K., Beermann, A., Thumfahrt, J., Jürgens, G., Hülskamp, M. 2002. *TRIPTYCHON* and *CAPRICE* mediate lateral inhibition during trichome and root hair patterning in *Arabidopsis*. *The EMBO Journal*, **21**: 5036-5046
- [745] Scheres, B. 2000. Non-linear signaling for pattern formation? *Current Opinion in Plant Biology*, **3**: 412-417
- [746] Schiestl, F.P., Ayasse, M. 2001. Post-pollination emission of a repellent compound in a sexually deceptive orchid: A new mechanism for maximising reproductive success? *Oecologia*, **126**: 531-534
- [747] Schiestl, F.P., Ayasse, M., Paulus, H.F., Lofstedt, C., Hansson, B.S., Ibarra, F., Francke, W. 1999. Orchid pollination by sexual swindle. *Nature*, **399**: 421-422
- [748] Schijlen, E.G.W.M., De Vos, C.H.R., Martens, S., Jonker, H.H., Rosin, F.M., Molthoff, J.W., Tikunov, Y.M., Angenent, G.C., Van Tunen, A.J., Bovy, A.G. 2007. RNA interference silencing of chalcone synthase, the first step in the flavonoid biosynthesis pathway, leads to parthenocarpic tomato fruits. *Plant Physiology*, **144**: 1520-1530
- [749] Schijlen, E.G.W.M., Ric de Vos, C.H., van Tunen, A.J., Bovy, A.G. 2004. Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry*, **65**: 2631-2648
- [750] Schilmiller, A.L., Last, R.L., Pichersky, E. 2008. Harnessing plant trichome biochemistry for the production of useful compounds. *Plant Journal*, **54**: 702-711
- [751] Schinella, G.R., Tournier, H.A., Prieto, J.M., Mordujovich de Buschiazzo, P., Ríos, J.L. 2002. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sciences*, **70**: 1023-1033
- [752] Schmidt, T., Merfort, I., Matthiesen, U. 1992. Gas chromatography-mass spectrometry of flavonoid aglycones and their determination in *Arnica* species. *Planta Medica*, **58**: 689-690

-Βιβλιογραφία-

- [753] Schnee, C., Köllner, T.G., Held, M., Turlings, T.C.J., Gershenzon, J., Degenhardt, J. 2006. The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**: 1129-1134
- [754] Schneider, R.W., Grogan, R.G. 1977. Tomato leaf trichomes, a habitat for resident populations of *Pseudomonas tomato*. *Phytopathology*, **67**: 898-902
- [755] Schnitzler, J.-P., Jungblut, T.P., Heller, W., Köfferlein, M., Hutzler, P., Heinzmann, U., Schmelzer, E., Ernst, D., Langebartels, C., Sandermann Jr., H. 1996. Tissue localization of u.v.-B-screening pigments and of chalcone synthase mRNA in needles of Scots pine seedlings. *New Phytologist*, **132**: 247-258
- [756] Schwab, B., Folkers, U., Ilgenfritz, H., Hülskamp, M. 2000. Trichome morphogenesis in *Arabidopsis*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, **355**: 879-883
- [757] Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R., Lewinsohn, E. 2008. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *Plant Journal*, **54**: 712-732
- [758] Seagull, R.W., Giavalis, S. 2004. Molecular biology and physiology: Pre- and post-anthesis application of exogenous hormones alters fiber production in *Gossypium hirsutum* L. cultivar Maxxa GTO. *Journal of Cotton Science*, **8**: 105-111
- [759] Seelmann, L., Auer, A., Hoffmann, D., Schausberger, P. 2007. Leaf pubescence mediates intraguild predation between predatory mites. *OIKOS*, **116**: 807-817
- [760] Segura, M.J.R., Jackson, B.E., Matsuda, S.P.T. 2003. Mutagenesis approaches to deduce structure-function relationships in terpene synthases. *Natural Product Reports*, **20**: 304-317
- [761] Seidel, V., Verholle, M., Malard, Y., Tillequin, F., Fruchart, J.C., Duriez, P., Bailleul, F., Teissier, E. 2000. Phenylpropanoids from *Ballota nigra* L. inhibit *in vitro* LDL peroxidation. *Phytotherapy Research*, **14**: 93-98
- [762] Seigler, D.S. 1998. Plant Secondary Metabolism. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp. 772
- [763] Serrato-Valenti, G., Bisio, A., Cornara, L., Ciarallo, G. 1997. Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea* L. leaves, and chemical analysis of the essential oil. *Annals of Botany*, **79**: 329-336
- [764] Sertoli, A., Fabbri, P., Campolmi, P., Panconesi, E. 1978. Allergic contact dermatitis to *Salvia officinalis*, *Inula viscosa* and *Conyza bonariensis*. *Contact Dermatitis*, **4**: 314-315
- [765] Seth, K.K., Pandey, V.B., Dasgupta, B. 1982. Flavonoids of *Clerodendron phlomidis* flowers. *Pharmazie*, **37**: 74-75
- [766] Shallari, S., Schwartz, C., Hasko, A., Morel, J.L. 1998. Heavy metals in soils and plants of serpentine and industrial sites of Albania. *The Science of the Total Environment*, **209**: 133-142
- [767] Shen, B., Zheng, Z., Dooner, H.K. 2000. A maize sesquiterpene cyclase gene induced by insect herbivory and volicitin: Characterization of wild-type and mutant alleles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**: 14807-14812
- [768] Shen, M.C., Rodríguez, E., Kerr, K., Mabry, T.J. 1976. Flavonoids of four species of *Parthenium* (Compositae). *Phytochemistry*, **15**: 1045-1047
- [769] Shepherd, R.W., Bass, W.T., Houtz, R.L., Wagner, G.J. 2005. Phylloplanins of tobacco are defensive proteins deployed on aerial surfaces by short glandular trichomes. *Plant Cell*, **17**: 1851-1861
- [770] Shi, Y.-H., Zhu, S.-W., Mao, X.-Z., Feng, J.-X., Qin, Y.-M., Zhang, L., Cheng, J., Wei, L.-P., Wang, Z.-Y., Zhu, Y.-X. 2006. Transcriptome profiling, molecular biological, and physiological studies reveal a major role for ethylene in cotton fiber cell elongation. *Plant Cell*, **18**: 651-664
- [771] Shikazono, N., Tanaka, A., Yokota, Y., Watanabe, H., Tano, S.M. 1998. Nucleotide sequence of the *GLABROUS1* gene of *Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia. *DNA Sequence-The Journal of Sequencing and Mapping*, **9**: 177-181
- [772] Shirley, B.W. 1996. Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends in Plant Science*, **1**: 377-382
- [773] Shtacher, G., Kashman, Y. 1970. 12-Carboxyeudesma-3,11(13)-diene. A novel sesquiterpenic acid with a narrow antifungal spectrum. *Journal of Medicinal Chemistry*, **13**: 1221-1223
- [774] Shtacher, G., Kashman, Y. 1971. Chemical investigation of volatile constituents of *Inula viscosa* Ait. *Tetrahedron*, **27**: 1343-1349
- [775] Silva, D., Denham, E., Faleiro, L., Miguel, G., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. 2005. Antimicrobial activity of the essential oils of *Dittrichia viscosa* subsp. *viscosa* on *Helicobacter pylori*. *Acta Horticulturae*, **680**: 147-151
- [776] Simmons, A.T., Gurr, G.M. 2005. Trichomes of *Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. *Agricultural and Forest Entomology*, **7**: 265-276
- [777] Simmons, A.T., Gurr, G.M., McGrath, D., Martin, P.M., Nicol, H.I. 2004. Entrapment of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on glandular trichomes of *Lycopersicon* species. *Australian Journal of Entomology*, **43**: 196-200
- [778] Singh, G., Gavrieli, J., Oakey, J.S., Curtis, W.S. 1998. Interaction of methyl jasmonate, wounding and fungal elicitation during sesquiterpene induction in *Hyoscyamus muticus* in root cultures. *Plant Cell Reports*, **17**: 391-395
- [779] Singh, I.P., Talwar, K.K., Arora, J.K., Chhabra, B.R., Kalsi, P.S. 1992. A biologically active guaianolide from *Saussurea lappa*. *Phytochemistry*, **31**: 2529-2531
- [780] Sinha, R.K. 2004. Modern Plant Physiology. Pangbourne: Alpha Science International, pp. 620

- [781] Sinkkonen, A. 2006. Ecological relationships and allelopathy, *In: Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications* (M.J. Reigosa, N. Pedrol, L. González eds.). Dordrecht: Springer, pp. 373-393
- [782] Skaltsa, H., Verekokidou, E., Harvala, C., Karabourniotis, G., Manetas, Y. 1994. UV-B protective potential and flavonoid content of leaf hairs of *Quercus ilex*. *Phytochemistry*, **37**: 987-990
- [783] Smillie, R.M., Hetherington, S.E. 1999. Photoabatement by anthocyanin shields photosynthetic systems from light stress. *Photosynthetica*, **36**: 451-463
- [784] Snyder, B.A., Nicholson, R.L. 1990. Synthesis of phytoalexins in sorghum as a site-specific response to fungal ingress. *Science*, **248**: 1637-1639
- [785] Sohoni, J.S., Rojatar, S.R., Kulkarni, M.M., Dhaneshwar, N.N., Tavale, S.S., Gururow, T.N., Nagasampagi, B.A. 1988. A new eudesmenolide and 2-hydroxycostic acid from *Sphaeranthus indicus* Linn. X-ray molecular structure of 4a,5a-epoxy-7a-hydroxyeudesmanolide. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, **1**: 157-160
- [786] Solereder, H. 1908. Systematic Anatomy of the Dicotyledons. Stuttgart: Ferdinand Enke, pp. 1211
- [787] Song Q., Gomez-Barrrios, M.L., Hopper, E.L., Hjortso, M.A., Fischer, N.H. 1995. Biosynthetic studies of lactucin derivatives in hairy root cultures of *Lactuca floridana*. *Phytochemistry*, **40**: 1659-1665
- [788] Spring, O. 2000. Chemotaxonomy based on metabolites from glandular trichomes, *In: Advances in Botanical Research*, Vol. 31 - Plant Trichomes (D.L. Hallahan, J.C. Gray eds.). London: Academic Press, pp. 153-174
- [789] Spring, O., Hager, A. 1982. Inhibition of elongation growth by two sesquiterpene lactones isolated from *Helianthus annuus* L. - Possible molecular mechanism. *Planta*, **156**: 433-440
- [790] Spring, O., Heil, N., Vogler, B. 1997. Sesquiterpene lactones and flavanones in *Scalesia* species. *Phytochemistry*, **46**: 1369-1373
- [791] Spring, O., Vargas, D., Fischer, N.H. 1991. Sesquiterpene lactones and benzofurans in glandular trichomes of three *Pappobolus* species. *Phytochemistry*, **30**: 1861-1867
- [792] Stafford, H.A. 1991. Flavonoid evolution: An enzymic approach. *Plant Physiology*, **96**: 680-685
- [793] Stamatis, G., Kyriazopoulos, P., Golegou, S., Basayannis, A., Skaltsas, S., Skaltsa, H. 2003. *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of Greek herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, **88**: 175-179
- [794] Staneva, J.D., Todorova, M.N., Evstatieva, L.N. 2008. Sesquiterpene lactones as chemotaxonomic markers in genus *Anthemis*. *Phytochemistry*, **69**: 607-618
- [795] Stapleton, A.E., Walbot, V. 1994. Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. *Plant Physiology*, **105**: 881-889
- [796] Star, A.E. 1980. Frond exudate flavonoids as allelopathic agents in *Pityrogramma*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, **107**: 146-153
- [797] Stavrianakou, S., Liakopoulos, G., Karabourniotis, G. 2006. Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). *Environmental and Experimental Botany*, **56**: 293-300
- [798] Stavrianakou, S., Liakoura, V., Levizou, E., Karageorgou, P., Delis, C., Liakopoulos, G., Karabourniotis, G., Manetas, Y. 2004. Allelopathic effects of water-soluble leaf epicuticular material from *Dittrichia viscosa* on seed germination of crops and weeds. *Allelopathy Journal*, **14**: 35-42
- [799] Steadman, J.R., Shaik, M. 1988. Leaf pubescence confers apparent race-nonspecific rust resistance in bean (*Phaseolus vulgaris*). *Phytopathology*, **78**: 1566-1566
- [800] Steinkellner, S., Lenzemo, V., Langer, I., Schweiger, P., Khaosaad, T., Toussaint, J.-P., Vierheilig, H. 2007. Flavonoids and strigolactones in root exudates as signals in symbiotic and pathogenic plant-fungus interactions. *Molecules*, **12**: 1290-1306
- [801] Stephanou, M., Manetas, Y. 1995. Allelopathic and water conserving functions of leaf epicuticular exudates in the Mediterranean shrub *Dittrichia viscosa*. *Australian Journal of Plant Physiology*, **22**: 755-759
- [802] Stephanou, M., Manetas, Y. 1997a. Seasonal variations in UV-B absorbing capacity and allelopathic potential of *Dittrichia viscosa* leaf rinsates. *Canadian Journal of Botany*, **75**: 1371-1374
- [803] Stephanou, M., Manetas, Y. 1997b. Ultraviolet-B radiation effects on the Mediterranean ruderal *Dittrichia viscosa*. *Plant Ecology*, **128**: 109-112
- [804] Stephanou, M., Manetas, Y. 1997c. The effects of seasons, exposure, enhanced UV-B radiation, and water stress on leaf epicuticular and internal UV-B absorbing capacity of *Cistus creticus*: a Mediterranean field study. *Journal of Experimental Botany*, **48**: 1977-1985
- [805] Stevens, J.F., Hart, H.T., Wollenweber, E. 1995. The systematic and evolutionary significance of exudate flavonoids in *Aeonium*. *Phytochemistry*, **39**: 805-813
- [806] Steyn, E.M.A., Smith, G.F., Van Wyk, A.E. 2004. Functional and taxonomic significance of seed structure in *Salix mucronata* (Salicaceae). *Bothalia*, **34**: 53-59
- [807] Steyn, W.J., Wand, S.J.E., Holcroft, D.M., Jacobs, G. 2002. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist*, **155**: 349-361
- [808] Stoessl, A., Toth, A., Hardegger, E., Kern, H. 1971. 7-O-Methylaromadendrin from *Populus alba*. *Phytochemistry*, **10**: 1972-1973
- [809] Strack, D. 1997. Phenolic metabolism, *In: Plant Biochemistry* (P.M. Dey, J.B. Harborne eds.). San Diego: Academic Press, pp. 387-416
- [810] Styrsky, J.D., Kaplan, I., Eubanks, M.D. 2006. Plant trichomes indirectly enhance tritrophic interactions involving a generalist predator, the red imported fire ant. *Biological Control*, **36**: 375-384

-Βιβλιογραφία-

- [811] Sun, Y., Veerabomma, S., Abdel-Mageed, H.A., Fokar, M., Asami, T., Yoshida, S., Allen, R.D. 2005. Brassinosteroid regulates fiber development on cultured cotton ovules. *Plant and Cell Physiology*, **46**: 1384-1391
- [812] Susplugas, C., Balansard, G., Julien, J., Gasquet, M., Timon-David, P., Rossi, J.C. 1980. Evidence of anthelmintic action of aerial parts from *Inula viscosa* Ait. Attribution to a sesquiterpenic acid of this activity. *Herba Hungarica*, **19**: 19-33
- [813] Susplugas, C., Balansard, G., Julien, J., Timon-David, P., Rossi, J.C., Gasquet, M. 1979. Evidence of anthelmintic action of aerial parts from *Inula viscosa* L. Attribution to a sesquiterpenic acid of this activity. *Planta Medica*, **36**: 253-254
- [814] Swaileh, K.M., Hussein, R.M., Abu-Elhaj, S. 2004. Assessment of heavy metal contamination in roadside surface soil and vegetation from the West Bank. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **47**: 23-30
- [815] Swaileh, K.M., Rabay'a, N., Salim, R., Ezzughayyar, A., Abed Rabbo, A. 2001. Concentrations of heavy metals in roadside soils, plants, and landsnails from the West Bank, Palestine. *Journal of Environmental Science and Health*, **A36**: 765-778
- [816] Szkopinska, A., Plochocka, D. 2005. Farnesyl diphosphate synthase; regulation of product specificity. *Acta Biochimica Polonica*, **52**: 45-55
- [817] Szymanski, D.B., Jilk, R.A., Pollock, S.M., Marks, M.D. 1998. Control of *GL2* expression in *Arabidopsis* leaves and trichomes. *Development*, **125**: 1161-1171
- [818] Taillade, C., Susplugas, P., Balansard, G. 1980. Sur les flavonoïdes d' *Inula viscosa* Ait (Composées). *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **14**: 26-28
- [819] Taiz, L., Zeiger, E. 1998. *Plant Physiology*, Second ed. Sunderland: Sinauer Associates, pp. 792
- [820] Takahashi, L., Sert, M.A., Kelmer-Bracht, A.M., Bracht, A., Ishii-Iwamoto, E.L. 1998. Effects of rutin and quercetin on mitochondrial metabolism and on ATP levels in germinating tissues of *Glycine max*. *Plant Physiology and Biochemistry*, **36**: 495-501
- [821] Talwar, K.K., Singh, I.P., Kalsi, P.S. 1992. A sesquiterpenoid with plant growth regulatory activity from *Saussurea lappa*. *Phytochemistry*, **31**: 336-338
- [822] Tan, R.X., Lu, H., Wolfender, J.-L., Yu, T.T., Zheng, W.F., Yang, L., Gafner, S., Hostettmann, K. 1999. Mono- and sesquiterpenes and antifungal constituents from *Artemisia* species. *Planta Medica*, **65**: 64-67
- [823] Tan, R.X., Zheng, W.F., Tang, H.Q. 1998. Biologically active substances from the genus *Artemisia*. *Planta Medica*, **64**: 295-302
- [824] Tanaka, Y. 2006. Flower colour and cytochromes P450. *Phytochemistry Reviews*, **5**: 283-291
- [825] Tanaka, Y., Katsumoto, Y., Brugliera, F., Mason, J. 2005. Genetic engineering in floriculture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **80**: 1-24
- [826] Tanaka, Y., Ohmiya, A. 2008. Seeing is believing: engineering anthocyanin and carotenoid biosynthetic pathways. *Current Opinion in Biotechnology*, **19**: 190-197
- [827] Tanaka, Y., Sasaki, N., Ohmiya, A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant Journal*, **54**: 733-749
- [828] Tanner, G.J., Francki, K.T., Abrahams, S., Watson, J.M., Larkin, P.J., Ashton, A.R. 2003. Proanthocyanidin biosynthesis in plants. Purification of legume leucoanthocyanidin reductase and molecular cloning of its cDNA. *Journal of Biological Chemistry*, **278**: 31647-31656
- [829] Tattini, M., Gravano, E., Pinelli, P., Mulinacci, N., Romani, A. 2000. Flavonoids accumulate in leaves and glandular trichomes of *Phillyrea latifolia* exposed to excess solar radiation. *New Phytologist*, **148**: 69-77
- [830] Tattini, M., Matteini, P., Saracini, E., Traversi, M.L., Giordano, C., Agati, G. 2007. Morphology and biochemistry of non-glandular trichomes in *Cistus salvifolius* L. leaves growing in extreme habitats of the Mediterranean basin. *Plant Biology*, **9**: 411-419
- [831] Taylor, L.P., Grotewold, E. 2005. Flavonoids as developmental regulators. *Current Opinion in Plant Biology*, **8**: 317-323
- [832] Taylor, L.P., Hepler, P.K. 1997. Pollen germination and tube growth. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **48**: 461-491
- [833] Telfer, A., Bollman, K.M., Poethig, R.S. 1997. Phase change and the regulation of trichome distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, **124**: 645-654
- [834] Theis, N., Lerdau, M. 2003. The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Science*, **164**: S93-S102
- [835] Theobald, W.L., Krahulik, J.L., Rollins, R.C. 1979. Trichome description and classification, *In: Anatomy of the Dicotyledons, Vol. 1 - Systematic Anatomy of Leaf and Stem, with a Brief History of the Subject* (C.R. Metcalfe, L. Chalk eds.), Second ed. New York: Oxford University Press, pp. 40-53
- [836] Thomson, W.W., Healey, P.L. 1984. Cellular basis of trichome secretion, *In: Biology and Chemistry of Plant Trichomes* (E. Rodriguez, P.L. Healey, I. Mehta eds.). New York: Plenum Press, pp. 95-111
- [837] Tixier, M.-S., Kreiter, S., Auger, P., Sentenac, G., Salva, G., Weber, M. 2000. Phytoseiid mite species located in uncultivated areas surrounding vineyards in three French regions. *Acarologia*, **41**: 127-140
- [838] Tixier, M.-S., Kreiter, S., Auger, P., Weber, M. 1998. Colonization of Languedoc vineyards by phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae): influence of wind and crop environment. *Experimental and Applied Acarology*, **22**: 523-542
- [839] Tixier, M.-S., Kreiter, S., Cheval, B., Guichou, S., Auger, P., Bonafos, R. 2006. Immigration of phytoseiid mites from surrounding uncultivated areas into a newly planted vineyard. *Experimental and Applied Acarology*, **39**: 227-242
- [840] Tolrà, R.P., Poschenrieder, C., Luppi, B., Barceló, J. 2005. Aluminium-induced changes in the profiles of both organic acids and phenolic substances underlie Al tolerance in *Rumex acetosa* L.. *Environmental and Experimental Botany*, **54**: 231-238

-Βιβλιογραφία-

- [841] Tomás-Barberán, F.A., Ferreres, F., Tomás-Lorente, F., Rivera-Núñez, D., Obón-de Castro, C. 1990. A chemotaxonomical study of some Portuguese *Sideritis* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, **18**: 245-249
- [842] Topakci, N., İkten, C., Göçmen, H. 2005. A research on some effects of *Inula viscosa* (L.) Ait. (Asteraceae) leaf extract on carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisd.) (Acari: Tetranychidae). *Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi*, **18**: 411-415
- [843] Topçu, G., Öksüz, S., Shieh, H.-L., Cordell, G.A., Pezzuto, J.M., Bozok-Johansson, C. 1993. Cytotoxic and antibacterial sesquiterpenes from *Inula graveolens*. *Phytochemistry*, **33**: 407-410
- [844] Torrsell, K.B.G. 1997. Natural Product Chemistry: A Mechanistic, Biosynthetic and Ecological Approach. Stockholm: Apotekarsocieteten Swedish Pharmaceutical Society, pp. 480
- [845] Traw, M.B. 2002. Is induction response negatively correlated with constitutive resistance in black mustard? *Evolution*, **56**: 2196-2205
- [846] Traw, M.B., Bergelson, J. 2003. Interactive effects of jasmonic acid, salicylic acid, and gibberellin on induction of trichomes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **133**: 1367-1375
- [847] Traw, M.B., Dawson, T.E. 2002. Differential induction of trichomes by three herbivores of black mustard. *Oecologia*, **131**: 526-532
- [848] Trematerra, P., Baldizzone, G. 2004. Records of Lepidoptera Tortricidae from Krk island (Croatia). *Entomologica Croatica*, **8**: 25-44
- [849] Treutter, D. 2005. Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*, **7**: 581-591
- [850] Treutter, D., Feucht, W. 1990. Accumulation of flavan-3-ols in fungus-infected leaves of Rosaceae. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **97**: 634-641
- [851] Tsukaya, H., Fujikawa, K., Wu, S.-G. 2002. Thermal insulation and accumulation of heat in the downy inflorescences of *Saussurea medusa* (Asteraceae) at high elevation in Yunnan, China. *Journal of Plant Research*, **115**: 263-268
- [852] Turner, G.W., Gershenzon, J., Croteau, R.B. 2000. Development of peltate glandular trichomes of peppermint. *Plant Physiology*, **124**: 665-679
- [853] Ulubelen, A., Öksüz, S., Gören, N. 1987. Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, **26**: 1223-1224
- [854] Uphof, J.C.T. 1962. Encyclopedia of Plant Anatomy, Vol. 4 - Plant Hairs. Berlin: Gebrüder Borntraeger, pp. 206
- [855] Van Dam, N.M., Hare, D. 1998a. Differences in distribution and performance of two sap-sucking herbivores on glandular and nonglandular *Datura wrightii*. *Ecological Entomology*, **23**: 22-32
- [856] Van Dam, N.M., Hare, J.D. 1998b. Biological activity of *Datura wrightii* glandular trichome exudate against *Manduca sexta* larvae. *Journal of Chemical Ecology*, **24**: 1529-1549
- [857] Van Dam, N.M., Hare, J.D., Elle, E. 1999. Inheritance and distribution of trichome phenotypes in *Datura wrightii*. *The Journal of Heredity*, **90**: 220-227
- [858] van der Meer, I.M., Stam, M.E., van Tunen, A.J., Mol, J.N.M., Stuitje, A.R. 1992. Antisense inhibition of flavonoid biosynthesis in petunia anthers results in male sterility. *Plant Cell*, **4**: 253-262
- [859] Van Klink, J., Becker, H., Andersson, S., Boland, W. 2003. Biosynthesis of anthecotuloide, an irregular sesquiterpene lactone from *Anthemis cotula* L. (Asteraceae) via a non-farnesyl diphosphate route. *Organic and Biomolecular Chemistry*, **1**: 1503-1508
- [860] Vasconcellos-Neto, J., Romero, G.Q., Santos, A.J., Dippenaar-Schoeman, A.S. 2006. Associations of spiders of the genus *Peucetia* (Oxyopidae) with plants bearing glandular hairs. *Biotropica*, **39**: 221-226
- [861] Venkatachalam, K.V., Kjonaas, R., Croteau, R. 1984. Development and essential oil content of secretory glands of sage (*Salvia officinalis*). *Plant Physiology*, **76**: 148-150
- [862] Vickery, M.L., Vickery, B. 1981. Introduction, In: Secondary Plant Metabolism (M.L. Vickery, B. Vickery eds.). London: The MacMillan Press, pp. 1-19
- [863] Viegi, L., Pieroni, A., Guarrera, P.M., Vangelisti, R. 2003. A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of Ethnopharmacology*, **89**: 221-244
- [864] Vinciguerra, V., Luna, M., Bistoni, A., Zollo, F. 2003. Variation in the composition of the heartwood flavonoids of *Prunus avium* by on-column capillary gas chromatography. *Phytochemical Analysis*, **14**: 371-377
- [865] Vogt, T., Proksch, P., Gulz, P.-G. 1987. Epicuticular flavonoid aglycones in the genus *Cistus*, Cistaceae. *Journal of Plant Physiology*, **131**: 25-36
- [866] Vogt, T., Wollenweber, E., Taylor, L.P. 1995. The structural requirement of flavonols that induce pollen germination of conditionally male fertile *Petunia*. *Phytochemistry*, **38**: 589-592
- [867] Voirin, B. 1983. UV spectral differentiation of 5-hydroxy- and 5-hydroxy-3-methoxyflavones with mono-(4'), di-(3',4') or tri-(3',4',5')-substituted B rings. *Phytochemistry*, **22**: 2107-2145
- [868] Vokou, D. 1992. The allelopathic potential of aromatic shrubs in phrygamic (east Mediterranean) ecosystems, In: Allelopathy. Basic and applied aspects (S.J.H. Rizvi, V. Rizvi eds.). London: Chapman and Hall, pp. 303-320
- [869] Wacquant, J.P. 1990. Biogeographical and physiological aspects of the invasion by *Dittrichia* (ex-*Inula*) *viscosa* W. Greuter, a ruderal species in the Mediterranean Basin, In: Biological Invasions in Europe and the Mediterranean Basin (F. Di Castri, A.J. Hansen, M. Debussche eds.). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp. 353-364
- [870] Wacquant, J.P., Bouab, N. 1983. Nutritional differentiation within the species *Dittrichia viscosa* W. Greuter, between a population from a calcareous habitat and another from an acidic habitat. *Plant and Soil*, **72**: 297-303

- [871] Wacquant, J.P., Bouab, N. 1985. Ion transport differentiation among plants from four contrasting soils in the mediterranean ruderal *Dittrichia (ex-Inula) viscosa* W. Greuter, *In: NATO ASI Series - Genetic Differentiation and Dispersal in Plants* (P. Jacquard, G. Heim, J. Antonovics eds.). Berlin: Springer Verlag, pp. 271-290
- [872] Wacquant, J.P., Picard, J.B. 1992. Nutritional differentiation among populations of the mediterranean shrub *Dittrichia viscosa* (Asteraceae) in siliceous and calcareous habitats. *Oecologia*, **92**: 14-22
- [873] Wada, T., Tachibana, T., Shimura, Y., Okada, K. 1997. Epidermal cell differentiation in *Arabidopsis* determined by a Myb homolog, CPC. *Science*, **277**: 1113-1116
- [874] Wagner, G.J. 1991. Secreting glandular trichomes: more than just hairs. *Plant Physiology*, **96**: 675-679
- [875] Wagner, G.J., Wang, E., Shepherd, R.W. 2004. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Annals of Botany*, **93**: 3-11
- [876] Wagner, H., Maurer, I., Farkas, L., Strelisky, J. 1976. Synthese neuer flavonol-dimethyläther der quercetagenin-, gossypetin-, herbacetin- und 6-hydroxy-kämpferol-reihe. Strukturbeweis für flavonole aus *Parthenium*-, *Larrea*-, *Spinacia*- und *Betula*-arten. *Tetrahedron Letters*, **17**: 67-70
- [877] Walker, A.R., Davison, P.A., Bolegnesi-Winfield, A.C., James, C.M., Srinivasan, N., Blundell, T.L., Esch, J.J., Marks, M.D., Gray, J.C. 1999. The *TRANSPARENT TESTA GLABRA1* locus, which regulates trichome differentiation and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*, encodes a WD40 repeat protein. *Plant Cell*, **11**: 1337-1350
- [878] Walker, A.R., Marks, M.D. 2000. Trichome initiation in *Arabidopsis*, *In: Advances in Botanical Research*, Vol. 31 - Plant Trichomes (D.L. Hallahan, J.C. Gray eds.). London: Academic Press, pp. 219-236
- [879] Walters, D.S., Harman, J., Craig, R., Mumma, R.O. 1991. Effect of temperature on glandular trichome exudate composition and pest resistance in geraniums. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **60**: 61-69
- [880] Wang, B., Qiu, Y.-L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, **16**: 299-363
- [881] Wang, E., Wang, R., DeParasis, J., Loughrin, J.H., Gan, S., Wagner, G.J. 2001. Suppression of a P450 hydroxydase gene in plant trichome glands enhances natural-product-based aphid resistance. *Nature Biotechnology*, **19**: 371-374
- [882] Wang, W., Ben-Daniel, B.H., Cohen, Y. 2004. Control of plant diseases by extracts of *Inula viscosa*. *Phytopathology*, **94**: 1042-1047
- [883] Wang, Y., Hamburger, M., Gueho, J., Hostettmann, K. 1989. Antimicrobial flavonoids from *Psiadia trinervia* and their methylated and acetylated derivatives. *Phytochemistry*, **28**: 2323-2327
- [884] Wang, Y., Kays, S.J. 2002. Sweetpotato volatile chemistry in relation to sweetpotato weevil (*Cylas formicarius*) behavior. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **127**: 656-662
- [885] Wanke, M., Skorupinska-Tudek, K., Swiezewska, E. 2001. Isoprenoid biosynthesis via 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate/2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate (DOXP/MEP) pathway. *Acta Biochimica Polonica*, **48**: 663-672
- [886] Ward, D., Lubin, Y. 1992. Temporal and spatial segregation of web-building in a community of orb-weaving spiders. *The Journal of Arachnology*, **20**: 73-87
- [887] Watanabe, Y., Mihara, R., Mitsunaga, T., Yoshimura, T. 2005. Termite repellent sesquiterpenoids from *Callitris glaucophylla* heartwood. *Journal of Wood Science*, **51**: 514-519
- [888] Wedge, D.E., Galindo, J.C.G., Macías, F.A. 2000. Fungicidal activity of natural and synthetic sesquiterpene lactone analogs. *Phytochemistry*, **53**: 747-757
- [889] Wegener, R., Schulz, S., Meiners, T., Hadwich, K., Hilker, M. 2001. Analysis of volatiles induced by oviposition of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* on *Ulmus minor*. *Journal of Chemical Ecology*, **27**: 499-515
- [890] Weidenböner, M., Hindorf, H., Jha, H.C., Tsotsonos, P. 1990a. Antifungal activity of flavonoids against storage fungi of the genus *Aspergillus*. *Phytochemistry*, **29**: 1103-1105
- [891] Weidenböner, M., Hindorf, H., Jha, H.C., Tsotsonos, P., Egge, H. 1990b. Antifungal activity of isoflavonoids in different reduced stages on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. *Phytochemistry*, **29**: 801-803
- [892] Weidenböner, M., Jha, H.C. 1993. Antifungal activity of flavonoids and their mixtures against different fungi occurring on grain. *Pesticide Science*, **38**: 347-351
- [893] Weidenböner, M., Jha, H.C. 1994a. Antifungal activity of flavonoids in relation to degree of hydroxylation, methoxylation and glycosidation. *Acta Horticulturae*, **381**: 702-709
- [894] Weidenböner, M., Jha, H.C. 1994b. Structure-activity relationships among isoflavonoids with regard to their antifungal properties. *Mycological Research*, **98**: 1376-1378
- [895] Weidenböner, M., Jha, H.C. 1994c. Fungicidal activity of flavonoid mixtures against grain contaminating fungi. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*, **59**: 1017-1022
- [896] Weir, T.L., Park, S.-W., Vivanco, J.M. 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biology*, **7**: 472-479
- [897] Welle, R., Grisebach, H. 1988. Isolation of a novel NADPH-dependent reductase which coacts with chalcone synthase in the biosynthesis of 6'-deoxychalcone. *FEBS Letters*, **236**: 221-225
- [898] Werker, E. 1993. Function of essential oil-secreting glandular hairs in aromatic plants of the Lamiaceae - a review. *Flavour and Fragrance Journal*, **8**: 249-255
- [899] Werker, E. 2000. Trichome diversity and development, *In: Advances in Botanical Research*, Vol. 31 - Plant Trichomes (D.L. Hallahan, J.C. Gray eds.). London: Academic Press, pp. 1-35
- [900] Werker, E., Fahn, A. 1981. Secretory hairs of *Inula viscosa* (L) Ait.-Development, ultrastructure, and secretion. *Botanical Gazette*, **142**: 461-476

- [901] Whitehead, P.F. 1998. Does the plain tiger, *Danaus chrysippus* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Nymphalidae, Danainae) breed in Greece? *Entomologist's Gazette*, **49**: 140-140
- [902] Whiting, D.A. 2001. Natural phenolic compounds 1900-2000: a bird's eye view of a century's chemistry. *Natural Product Reports*, **18**: 583-606
- [903] Wienkoop, S., Zoeller, D., Ebert, B., Simon-Rosin, U., Fisahn, J., Glinski, M., Weckwerth, W. 2004. Cell-specific protein profiling in *Arabidopsis thaliana* trichomes: Identification of trichome-located proteins involved in sulfur metabolism and detoxification. *Phytochemistry*, **65**: 1641-1649
- [904] Wilkens, R.T., Shea, G.O., Halbreich, S., Stamp, N.E. 1996. Resource availability and the trichome defenses of tomato plants. *Oecologia*, **106**: 181-191
- [905] Williams, C.A., Harborne, J.B., Geiger, H., Hoults, J.R.S. 1999. The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties. *Phytochemistry*, **51**: 417-423
- [906] Williams, C.A., Harborne, J.B., Greenham, J. 2000. Geographical variation in the surface flavonoids of *Pulicaria dysenterica*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **28**: 679-687
- [907] Williams, C.A., Harborne, J.B., Greenham, J.R., Grayer, R.J., Kite, G.C., Eagles, J. 2003. Variations in lipophilic and vacuolar flavonoids among European *Pulicaria* species. *Phytochemistry*, **64**: 275-283
- [908] Williams, C.A., Harborne, J.B., Mathew, B. 1988. A chemical appraisal via leaf flavonoids of Dahlgren's Liliiflorae. *Phytochemistry*, **27**: 2609-2629
- [909] Williams, C.A., Hoults, J.R., Harborne, J.B., Greenham, J., Eagles, J. 1995. A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*, **38**: 267-270
- [910] Williams, R.J., Spencer, J.P.E., Rice-Evans, C. 2004. Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology and Medicine*, **36**: 838-849
- [911] Willuhn, G., Skibinski, A., Schmidt, T.J. 1998. Structure revision of xanthalongin and further sesquiterpene lactones from flowers of *Arnica longifolia*. *Planta Medica*, **64**: 635-639
- [912] Wilson, A. 1986a. Flavonoid pigments and wing color in *Melanargia galathea*. *Journal of Chemical Ecology*, **12**: 49-68
- [913] Wilson, A. 1986b. Flavonoid pigments in swallowtail butterflies. *Phytochemistry*, **25**: 1309-1313
- [914] Wilson, A. 1987. Flavonoid pigments in chalkhill blue (*Lysandra coridon* Poda) and other lycaenid butterflies. *Journal of Chemical Ecology*, **13**: 473-493
- [915] Winkel, B.S.J. 2006. The biosynthesis of flavonoids, *In: The Science of Flavonoids* (E. Grotewold eds.). New York: Springer, pp. 71-95
- [916] Winkel-Shirley, B. 1999. Evidence for enzyme complexes in the phenylpropanoid and flavonoid pathways. *Physiologia Plantarum*, **107**: 142-149
- [917] Winkel-Shirley, B. 2001a. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, **126**: 485-493
- [918] Winkel-Shirley, B. 2001b. It takes a garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism. *Plant Physiology*, **127**: 1399-1404
- [919] Winkel-Shirley, B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*, **5**: 218-223
- [920] Wittstock, U., Gershenzon, J. 2002. Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, **5**: 300-307
- [921] Woerdenbag, H.J. 1986. *Eupatorium cannabinum* L. A review emphasizing the sesquiterpene lactones and their biological activity. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, **8**: 245-251
- [922] Woerdenbag, H.J., Merfort, I., Passreiter, C.M., Schmidt, T., Willuhn, G., Kampinga, H.H., Konings, A.W.T. 1993. Cytotoxicity of flavonoids and sesquiterpene lactones from *Arnica* species. *Planta Medica*, **59**: 681-682
- [923] Wollenweber, E. 1982. Flavones and flavonols, *In: The Flavonoids: Advances in Research* (J.B. Harborne, T.J. Marby eds.). New York: Chapman and Hall, pp. 189-259
- [924] Wollenweber, E. 1984. The systematic implication of flavonoids secreted by plants, *In: Biology and Chemistry of Plant Trichomes* (E. Rodriguez, P.L. Healey, I. Mehta eds.). New York: Plenum Press, pp. 53-69
- [925] Wollenweber, E. 1985. Exudate flavonoids in higher plants of arid regions. *Plant Systematics and Evolution*, **150**: 83-88
- [926] Wollenweber, E. 1990. On the distribution of exudate flavonoids among Angiosperms. *Revista Latinoamericana de Quimica*, **21**: 115-121
- [927] Wollenweber, E. 1994. Flavones and flavonols, *In: The Flavonoids: Advances in Research since 1986* (J.B. Harborne eds.). London: Chapman and Hall, pp. 259-335
- [928] Wollenweber, E. 1995a. Flavonoids, phenolics and terpenoids in leaf exudates of angiosperms and pteridophytes, *In: Flavonoids and Bioflavonoids, Proceedings of the International Bioflavonoid Symposium, 9th Hungarian Bioflavonoid Symposium, Vienna, Austria* (S. Antus, M. Gábor, K. Vetschera eds.). Budapest: Akadémiai Kiadó, pp. 211-220
- [929] Wollenweber, E. 1995b. Externally accumulated flavonoids and other lipophilic phenolics in Angiosperms. *Bulletin de Liaison du Groupe Polyphenols*, **16**: 323-324
- [930] Wollenweber, E., Dörr, M., Fritz, H., Papendieck, S., Yatskievych, G., Roitman, J.N. 1997a. Exudate flavonoids in Asteraceae in Arizona, California and Mexico. *Zeitschrift für Naturforschung C*, **52**: 301-307
- [931] Wollenweber, E., Christ, M., Dunstan, R.H., Roitman, J.N., Stevens, J.F. 2005. Exudate flavonoids in some Gnaphalieae and Inuleae (Asteraceae). *Zeitschrift für Naturforschung C*, **60**: 671-678
- [932] Wollenweber, E., Dietz, V.H. 1981. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. *Phytochemistry*, **20**: 869-932

-Βιβλιογραφία-

- [933] Wollenweber, E., Dörr, M., Fritz, H., Valant-Vetschera, K.M. 1997b. Exudate flavonoids in several Asteroideae and Cichorioideae (Asteraceae). *Zeitschrift für Naturforschung C*, **52**: 137-143
- [934] Wollenweber, E., Henrich, B., Mann, K., Roitman, J.N. 1996. Lipophilic exudate constituents of some Rosaceae from the southwestern USA. *Zeitschrift für Naturforschung Section C - Journal of Biosciences*, **51**: 296-300
- [935] Wollenweber, E., Mann, K., Hockwart, S., Yatskievych, G. 1989. Exudate flavonoids in miscellaneous Asteraceae. *Phytochemical Bulletin*, **21**: 19-23
- [936] Wollenweber, E., Mayer, K., Roitman, J.N. 1991. Exudate flavonoids of *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, **30**: 2445-2446
- [937] Wollenweber, E., Valant-Vetschera, K.M. 1996. New results with exudate flavonoids in Compositae, *In*: Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference, Vol. 1 (D.J.N. Hind, H.J. Beentje eds.). Kew: Royal Botanic Gardens, pp. 169-185
- [938] Wong, E. 1976. Biosynthesis of flavonoids, *In*: Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments, Vol. 1 (T.W. Goodwin eds.). New York: Academic Press, pp. 464-526
- [939] Woo, H.-H., Jeong, B.R., Hawes, M.C. 2005. Flavonoids: from cell cycle regulation to biotechnology. *Biotechnology Letters*, **27**: 365-374
- [940] Woo, H.-H., Jeong, B.R., Koo, K.B., Choi, J.W., Hirsch, A.M., Hawes, M.C. 2007. Modifying expression of closely related UDP-glycosyltransferases from pea and *Arabidopsis* results in altered root development and function. *Physiologia Plantarum*, **130**: 250-260
- [941] Wouters, J., Oudjama, Y., Ghosh, S., Stalon, V., Droogmans, L., Oldfield, E. 2003. Structure and mechanism of action of isopentenylpyrophosphate-dimethylallylpyrophosphate isomerase. *Journal of the American Chemical Society*, **125**: 3198-3199
- [942] Xiao, Y., Zheng, Q., Zhang, Q., Sun, H., Guéritte, F., Zhao, Y. 2003. Eudesmane derivatives from *Laggera pterodonta*. *Fitoterapia*, **74**: 459-463
- [943] Xie, D.-Y., Sharma, S.B., Paiva, N.L., Ferreira, D., Dixon, R.A. 2003. Role of anthocyanidin reductase, encoded by *BANYULS* in plant flavonoid biosynthesis. *Science*, **299**: 396-399
- [944] Xu, W., Yan, S.-C. 2005. The function of jasmonic acid in induced plant defence. *Acta Ecologica Sinica*, **25**: 2074-2082
- [945] Xu, Y., Li, H.-B., Zhu, Y.-X. 2007. Molecular biological and biochemical studies reveal new pathways important for cotton fiber development. *Journal of Integrative Plant Biology*, **49**: 69-74
- [946] Yadav, R.K.P., Karamanoli, K., Vokou, D. 2005. Bacterial colonization of the phyllosphere of Mediterranean perennial species as influenced by leaf structural and chemical features. *Microbial Ecology*, **50**: 185-196
- [947] Yang, C., Wang, C.-M., Jia, Z.-J. 2003. Sesquiterpenes and other constituents from the aerial parts of *Inula japonica*. *Planta Medica*, **69**: 662-666
- [948] Yang, C.H., Braymer, H.D., Murphy, E.L., Chorney, W., Scully, N., Wender, S.H. 1960. Methyl ethers of quercetin in tobacco flowers. *Journal of Organic Chemistry*, **25**: 2063-2064
- [949] Yang, S.-L., King, R.A., Roberts, M.F. 1990. The flavonoids of *Ageratina deltoidea*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **18**: 485-486
- [950] Yaniv, Z., Dafni, A., Friedman, J., Palevitch, D. 1987. Plants used for the treatment of diabetes in Israel. *Journal of Ethnopharmacology*, **19**: 145-151
- [951] Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomás-Barberán, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen S.S. 2004. Flavonoids in foods and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, **59**: 113-122
- [952] Yegen, O., Berger, B., Heitefuss, R. 1992. Untersuchungen zur fungitoxischen Wirkung der Extrakte sechs ausgewählter Pflanzen aus der Türkei auf phytopathogene Pilze. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **99**: 349-359
- [953] Yiannopoulos, D., Manetas, Y., Psaras, G.K. 2001. The influence of enhanced UV-B radiation on the surface micromorphology of the winter annual *Malcolmia maritima* (L.) R. Br. (Brassicaceae). *Flora*, **196**: 390-394
- [954] Ylstra, B., Busscher, J., Franken, J., Hollman, P.C.H., Mol, J.N.M., van Tunen, A.J. 1994. Flavonols and fertilization in *Petunia hybrida*: localization and mode of action during pollen tube growth. *Plant Journal*, **6**: 201-212
- [955] Ylstra, B., Muskens, M., Van Tunen, A.J. 1996. Flavonols are not essential for fertilization in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, **32**: 1155-1158
- [956] Ylstra, B., Touraev, A., Benito Moreno, R.M., Stöger, E., van Tunen, A.J., Vicente, O., Mol, J.N.M., Heberle-Bors, E. 1992. Flavonoids stimulate development, germination and tube growth of tobacco pollen. *Plant Physiology*, **100**: 902-907
- [957] Yu, O., Jung, W., Shi, J., Croes, R.A., Fader, G.M., McGonigle, B., Odell, J.T. 2000. Production of the isoflavones genistein and daidzein in non-legume dicot and monocot tissues. *Plant Physiology*, **124**: 781-793
- [958] Yu, O., Shi, J., Hession, A.O., Maxwell, C.A., McGonigle, B., Odell, J.T. 2003. Metabolic engineering to increase isoflavone biosynthesis in soybean seed. *Phytochemistry*, **63**: 753-763
- [959] Zareh, M.M. 2005. Systematic and anatomical studies of Inuleae and Plucheeae in Egypt. *Feddes Repertorium*, **116**: 43-53
- [960] Zdero, C., Bohlmann, F. 1989. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Pegolettia* species. *Phytochemistry*, **28**: 1949-1953
- [961] Zdero, C., Bohlmann, F., King, R.M. 1990. Eudesmane derivatives and other constituents from *Apalochlamys spectabilis* and *Cassinia* species. *Phytochemistry*, **29**: 3201-3206
- [962] Zdero, C., Bohlmann, F., King, R.M., Robinson, H. 1987. Sesquiterpene lactones from *Bedfordia arborescens*. *Phytochemistry*, **26**: 1207-1209

-Βιβλιογραφία-

- [963] Zeggwagh, N.-A., Ouahidi, M.-L., Lemhadri, A., Eddouks, M. 2006. Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of *Inula viscosa* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **108**: 223-227
- [964] Zerback, R., Dressler, K., Hess, D. 1989. Flavonoid compounds from pollen and stigma of *Petunia hybrida*: Inducers of the *vir* region of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid. *Plant Science*, **62**: 83-91
- [965] Zeriahene, N., Prat, R., Goldberg, R., Catesson, A.M., Harche-Kaid, M. 1998. Cell walls of seed hairs from *Lygeum spartum*: Ultrastructure, composition and mechanical properties. *Annals of Botany*, **81**: 61-66
- [966] Zhang, F., Gonzalez, A., Zhao, M., Payne, C.T., Lloyd, A. 2003. A network of redundant bHLH proteins functions in all TTG1-dependent pathways of *Arabidopsis*. *Development*, **130**: 4859-4869
- [967] Zhao, F.J., Lombi, E., Breedon, T., McGrath, S.P. 2000. Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. *Plant, Cell and Environment*, **23**: 507-514
- [968] Zhao, Y., Yue, J., Lin, Z., Ding, J., Sun, H. 1997. Eudesmane sesquiterpenes from *Laggera pterodonta*. *Phytochemistry*, **44**: 459-464
- [969] Zheng, Q.X., Xu, Z.J., Sun, X.F., Guéritte, F., Cesario, M., Sun, H.D., Cheng, C.H.K., Hao, X.-J., Zhao, Y. 2003. Eudesmane derivatives and other sesquiterpenes from *Laggera alata*. *Journal of Natural Products*, **66**: 1078-1081
- [970] Zidorn, C. 2008. Sesquiterpene lactones and their precursors as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae. *Phytochemistry*, **69**: 2270-2296
- [971] Ziogas, B.N., Markoglou, A.N., Spyropoulou, V. 2005. Effect of phenylpyrrole-resistance mutations on ecological fitness of *Botrytis cinerea* and their genetical basis in *Ustilago maydis*. *European Journal of Plant Pathology*, **113**: 83-100
- [972] Ziogas, B.N., Oesterhelt, G., Masner, P., Steel, C.C., Furter, R. 1991. Fenpropimorph: A three site inhibitor of ergosterol biosynthesis in *Nectria haematococca* var. *cucurbitae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **39**: 74-83
- [973] Zuanazzi, J.A.S., Clergeot, P.H., Quirion, J.C., Husson, H.P., Kondrosi, A., Ratet, P. 1998. Production of *Sinorhizobium meliloti* nod gene activator and repressor flavonoids from *Medicago sativa* roots. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **11**: 784-794
- [974] Καββάδας, Δ.Σ. 1956. Εικονογραφημένον Βοτανικόν-Φυτολογικόν Λεξικόν. Αθήνα: Εκδόσεις Γ.Π. Ξένου, σελ. 4584
- [975] Καραμπουρνιώτης, Γ. 2003. Δευτερογενής μεταβολισμός, *Εντός: Φυσιολογία Φυτών: Από το Μόριο στο Περιβάλλον* (Κ.Α. Ρουμπελάκη-Αγγελάκη eds.). Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, σελ. 333-354
- [976] Μανέτας, Ι. 2003. Πρόσληψη και μεταφορά νερού, *Εντός: Φυσιολογία Φυτών: Από το Μόριο στο Περιβάλλον* (Κ.Α. Ρουμπελάκη-Αγγελάκη eds.). Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, σελ. 40-98
- [977] Μποζαμπαλίδης, Α. 2003. Βοτανική (Μορφολογία και Ανατομία Φυτών). Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, σελ. 398
- [978] Παντίδου, Μ. 1973. Κατάλογος Μυκήτων και Ξενιστών της Ελλάδος. Αθήνα: Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, σελ. 382
- [979] Σκαλτσά, Ε. 2004. Χημεία Φυσικών Προϊόντων Ι. Μεταπτυχιακά Μαθήματα. Αθήνα: Εκδόσεις ΕΚΠΑ, σελ. 177

