

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ



Μεταπτυχιακή Διατριβή:

**‘Επίδραση «ανακουφιστικών παραγόντων» σε
αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς ποικιλιών ελιάς υπό υδατική
καταπόνηση.’**

ΔΑΜΒΑΚΑΡΗΣ Ζ. ΘΕΟΔΩΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2008

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ: ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ

Μεταπτυχιακή Διατριβή:

**‘Επίδραση «ανακουφιστικών παραγόντων» σε
αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς ποικιλιών ελιάς υπο υδατική
καταπόνηση.’**

ΔΑΜΒΑΚΑΡΗΣ Ζ. ΘΕΟΔΩΡΟΣ

Επιβλέπων: Ρούσσος Πέτρος, Λέκτορας

Εξεταστική Επιτροπή:

Ρούσσος Πέτρος, Λέκτορας

Τζουτζούκου Χρυσούλα, Λέκτορας

Αργυροκαστρίτης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής

Σταυρακάκης Μανόλης, Καθηγητής

Ευθυμιάδης Παναγιώτης, Καθηγητής

ΑΘΗΝΑ 2008

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να απευθύνω τις θερμές ευχαριστίες μου πρωτίστως στον Επιβλέποντα Καθηγητή μου κ. Ρούσσο Πέτρο, Λέκτορα του εργαστηρίου Δενδροκομίας, για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση που μου προσέφερε κατά τη διεξαγωγή της παρούσας πειραματικής μελέτης και κατά την συγγραφή της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής.

Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω την εταιρεία Χελλαφάρμ Α.Ε. για τη δωρεάν παροχή ορισμένων εκ των σκευασμάτων καθώς και μέρους των χρησιμοποιούμενων αναλώσιμων υλικών. Επιπλέον, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου προς το συνάδελφο Γεωπόνο κ. Κωστελένο Γεώργιο για τη δωρεά των χρησιμοποιούμενων δενδρυλλίων ελιάς (Φυτώρια Κωστελένου, Πόρος, Τροιζηνία). Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Δενδροκομίας και των οικείων Εργαστηρίων για τη βοήθεια που μου προσέφεραν όπου και όποτε τη χρειάστηκα.

Θα ήθελα επίσης να εκφράσω τις ευχαριστίες μου προς την τριμελή και πενταμελή επιτροπή για τη διόρθωση και εποικοδομητική κριτική της παρούσας μελέτης, που σκοπό έχει τη περαιτέρω βελτίωση αυτής. Τέλος, θα ήθελα ιδιαιτέρως να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου και στους εκλεκτούς φίλους και συνάδελφους γεωπόνους, Δεναζά Νικολέτα-Κλειώ, Χριστόπουλου Μιλτιάδη και Κανκαλέτου Μίνα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ABSTRACT.....	8
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
1.1 ΤΟ ΚΛΙΜΑΤΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ	10
1.2 Η ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ Ο ΕΤΗΣΙΟΣ ΒΛΑΣΤΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ.....	11
1.3 ΑΝΘΗ ΚΑΙ ΚΑΡΠΟΙ.....	13
1.4 ΟΙ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΕΛΙΑΣ.....	14
1.5 Η ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ	17
1.6 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ ΦΥΤΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ.....	17
1.7 Η ΥΔΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ.....	19
1.8 ΕΝΕΡΓΕΣ ΡΙΖΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ	22
1.9 ΥΔΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ ΚΑΙ Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΡΟ.....	26
1.9.1 Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΡΟ ΣΤΟΥΣ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΕΣ.....	26
1.9.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΡΟ ΣΤΑ ΥΠΕΡΟΞΕΙΣΩΜΑΤΑ.....	29
1.9.3 Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΡΟ ΣΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ	30
1.10 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ.....	31
1.10.1 ΜΗ ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ.....	32
1.10.2 ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ.....	34
1.10.3 Η ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ	36
1.10.4 ΟΣΜΩΡΥΘΜΙΣΤΕΣ	37
1.11 ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	38
1.11.1 Η ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ ΣΤΟ ΞΗΡΟΘΕΡΜΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	38
1.11.2 Η ΚΑΛΥΨΗ ΜΕ ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΚΑΟΛΙΝΙΤΗ	41
1.11.3 Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΟΣΜΩΡΥΘΜΙΣΤΗ	43
1.11.4 Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ AMBIOL.....	44
1.12 ΟΙ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΥΔΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ.....	45
1.13 ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	47
2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	48
2.1 ΤΟ ΦΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	48
2.2 Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ.....	52
2.3 Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ	54
2.4 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
2.5 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.....	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
2.5.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
2.5.2 Η ΔΙΑΡΡΟΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΥΤΩΝ.....	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
2.5.3 ΟΛΙΚΟ ΚΑΙ ΑΝΗΓΜΕΝΟ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟ ΟΞΥ	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.

2.5.4	TBARS (Malondialdehyde) Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
2.5.5	ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
2.5.6	ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΟΥ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ (ΜΕΘΟΔΟΣ BRANDFORD)..... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
2.5.7	ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
2.5.8	Η ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕ HPLC Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
2.6	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ-ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	59
3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	60
3.1	Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ ΣΤΗΝ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΕΛΙΑΣ ΚΟΡΩΝΕΪΚΗ Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.1.1	Η ΔΙΑΡΡΟΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΥΤΩΝ ΚΑΙ ΟΙ ΕΝΕΡΓΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΘΕΙΟΒΑΡΒΙΤΟΥΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ..... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.1.2	Η ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.1.3	ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.1.4	ΟΙ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.1.5	Η ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ, ΑΝΗΓΜΕΝΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΔΙ-ΥΔΡΟΞΥΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.2	Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ ΣΤΗ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΧΟΝΤΡΟΕΛΙΑ ΧΑΛΚΙΔΙΚΗΣ... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.2.1	Η ΔΙΑΡΡΟΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΥΤΩΝ ΚΑΙ ΟΙ ΕΝΕΡΓΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΘΕΙΟΒΑΡΒΙΤΟΥΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ..... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.2.2	Η ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.2.3	Η ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.2.4	ΟΙ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
3.2.5	Η ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ, ΑΝΗΓΜΕΝΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΔΙ-ΥΔΡΟΞΥΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	64
5	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	74
6	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	79
7	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	90

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ελιά αποτελεί τη σημαντικότερη δενδρώδη καλλιέργεια της χώρας μας όπως και πολλών άλλων μεσογειακών χωρών. Πολλοί ελαιώνες στη χώρα μας καλλιεργούνται ως ξηρικοί και αποδίδουν στον παραγωγό ένα σεβαστό εισόδημα. Παρόλα αυτά όμως η άρδευση της ελιάς οδηγεί σε υψηλότερη και καλύτερη ποιοτικά παραγωγή. Τα τελευταία χρόνια όμως τα υδατικά κατακρημνίσματα μειώθηκαν αισθητά, με αποτέλεσμα σταδιακά να αλλάζει και η χρήση του υπάρχοντος νερού. Έτσι το διαθέσιμο καλής ποιότητας νερό οδηγείται κατά προτεραιότητα για την ύδρευση των μεγάλων αστικών κέντρων και δευτερευόντως στην άρδευση για να καλύψει τις ανάγκες της γεωργίας. Αναμφισβήτητα κρίνεται αναγκαία λοιπόν η καλλιέργεια νέων φυτικών ειδών ή ποικιλιών με καλύτερη προσαρμοστικότητα στις συνθήκες που δημιουργούνται ή η ανάπτυξη καταλλήλων καλλιεργητικών τεχνικών ώστε να αμβλυνθούν τα προβλήματα που δημιουργεί η μείωση του διαθέσιμου νερού.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν η μελέτη της επίδρασης της οξειδωτικής καταπόνησης, ως αποτέλεσμα της υδατικής καταπόνησης, σε δέντρα ελιάς δύο ποικιλιών, της Κορωνέικης και της Χονδρολιάς Χαλκιδικής και η διερεύνηση τρόπων εξωγενούς παρέμβασης, για τον περιορισμό των δυσμενών

συνεπειών της. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν διετή δέντρα των δύο παραπάνω ποικιλιών, σε γλάστρες τα οποία υπέστησαν υδατική καταπόνηση κατά το καλοκαίρι. Μετρήθηκε στα φύλλα η διακύμανση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων κατά ομάδες και ορισμένων μεμονωμένων φαινολικών ουσιών με χρήση υγρής χρωματογραφίας, οι ενεργότητες των αντιοξειδωτικών ενζύμων δισμουτάση υπεροξειδίου (SOD), υπεροξειδάση (POD), καταλάση (CAT), υπεροξειδάση ασκορβικού οξέος (APX), ρεδοκτάση γλουταθειόνης (GR), η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος και επίσης η επίδραση της οξειδωτικής καταπόνησης επί της λειτουργίας των μεμβρανών. Οι στρατηγικές προστασίας των δέντρων που διερευνήθηκαν ήταν η κάλυψη με σωματίδια καολίνη με τη χρήση του σκευάσματος Surround® (kaolin 95% w/w) WP, η εξωγενής εφαρμογή του οσμωρυθμιστή βεταΐνη της γλυκίνης, ως απορροφητικό σκεύασμα Bluestim (glycine betaine 95% w/w) WP και η εξωγενής εφαρμογή του συνθετικού αντιοξειδωτικού παράγοντα Ambiol (1-methyl-4-dimethylaminomethyl-5-hydroxybenzimidazole), κατά την περίοδο της υδατικής καταπόνησης και μετά το πέρας αυτής.

Από τα αποτελέσματα του πειράματος προκύπτει ότι τα δέντρα και των δύο ποικιλιών υπό τις συνθήκες του δεδομένου πειράματος, κατά την περίοδο της υδατικής καταπόνησης υπέστησαν οξειδωτική καταπόνηση όπως αυτή εκφράστηκε με την αύξηση της οξείδωσης των λιπιδίων των μεμβρανών (TBARS) και της διαρροής ηλεκτρολυτών των μεμβρανών και με την αύξηση της ενεργότητας της SOD. Ως πιθανή αντίδραση των δέντρων και των δύο ποικιλιών μπορεί να θεωρηθεί η αύξηση της συγκέντρωσης της ελευρωπαΐνης και του διυδρόξυ-ασκορβικού οξέος και ειδικότερα για την ποικιλία ελιάς Κορωνέικη, κυρίως η αύξηση των ολικών φλαβονοειδών. Όλοι οι εφαρμοζόμενοι προστατευτικοί παράγοντες και ειδικότερα τα σκευάσματα Ambiol και Bluestim WP δρουν ευεργετικά και άμεσα μετά την

εφαρμογή τους. Οι παράγοντες Ambiol και Bluestim WP έχουν διαφορετική επίδραση στην κάθε ποικιλία. Η επαναφορά των αρδεύσεων επέφερε την άρση της οξειδωτικής καταπόνησης και άμβλυνση των διαφορών στις μετρούμενες μεταβλητές μεταξύ καταπονημένων και μη δέντρων, ενώ τα ψεκασμένα με τα σκευάσματα δέντρα έδειξαν λίγο έως πολύ, καλύτερη πορεία ανάκαμψης.

ABSTRACT

The olive tree is considered to be the most important fruit tree in our country as well as in many other Mediterranean countries. A lot of olive groves in our country are cultivated as non-irrigated orchards; however, they seem to attribute a significant income to the producer. Nevertheless, the irrigation of olive trees leads to a significantly higher yield and quality of the products. In the past few years, rainfall in the Mediterranean basin has decreased dramatically, resulting in a progressive change of the use of the existing water resources. As a consequence, the available good quality water is used primarily to cover the needs of big urban centres and only circumstantially for irrigation purposes (agricultural use). Therefore, the cultivation of new tolerant plant species and varieties as well as the development of suitable farming techniques, to ameliorate the problems caused by the reduction of available water, is considered to be a crucial issue.

The response of two year-old, self-rooted olive trees (*Olea europaea* L. cv Koroneiki and cv Chalkidikis) to contrasting watering regimes (non-irrigated, NI and well irrigated, WI) and the efficacy of three different counter-stress defensive strategies (particle films-Surround ® WP, osmoprotectant Bluestim ®, synthetic anti-

oxidant compound-Ambiol) were studied during the summer months, in the experimental field of Agricultural University of Athens, Greece. The response to the oxidative stress due to water stress was assessed by measuring the membrane's lipid peroxidation (TBARS), the electrolyte leakage (EL), the total content of phenolics (Tph), flavonoids (Tfd), Flavanols (Tfl), ortho-diphenols (Tod), the concentration of individual phenolic compounds, using high performance liquid chromatography (HPLC) At the same time the activity of anti-oxidative enzymes (superoxide desmutase-SOD, peroxidase-POD, catalase-CAT, ascorbate peroxidase-APX, glutathione reductase-GR) and the concentration of total, reduced and dihydroxy-ascorbic acid during and after the water-stress period (alleviation period) in olive leaf tissue were assessed.

The levels of TBARS, EL and the activity of SOD, indicate that the trees of both cultivars were under oxidative stress during the water stress period. The increase of the Tfl and oleuropein content during the water-stress period could probably be the result of an anti-oxidative response. All the counter-stress defensive mechanisms (product spraying) used in the experiment, especially Bluestim ® WP and Ambiol, have a positive and direct effect, immediately after application. The two cultivars responded differently after the application of Bluestim ® WP and Ambiol, concerning the anti-oxidative stress response strategy. The period of gradual relief of water-stressed trees has begun after re-watering, during which all the differences in the measured variables between the NI and WI trees were diminished, while all the applied counter-stress products exhibited a more or less positive action concerning the recovery rate of stressed trees.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΤΟ ΚΛΙΜΑΤΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ

Το αβιοτικό περιβάλλον είναι γνωστό ότι επηρεάζει την ανάπτυξη και το πληθυσμό των έμβιων όντων. Το αβιοτικό περιβάλλον των φυτών αποτελούν το έδαφος, στο οποίο αναπτύσσεται το ριζικό σύστημα και τα κοντινά στην επιφάνεια της γης στρώματα της ατμόσφαιρας, όπου αναπτύσσεται το υπέργειο τμήμα. Τόσο το υπόγειο όσο και το υπέργειο μέρος του φυτού πρέπει να αντιμετωπίσουν τις έντονες διακυμάνσεις του περιβάλλοντός τους. Οι διακυμάνσεις αυτές είναι εποχιακές και η πρόβλεψή τους είναι πολύπλοκη. Με βάση όμως συγκεκριμένα κριτήρια όπως το γεωγραφικό πλάτος και μήκος, το ανάγλυφο, τη θερμοκρασία, την υγρασία, τις υδατοπτώσεις μιας περιοχής, σε συνδυασμό με τις αντιδράσεις έμβιων όντων (φυτά και ζώα) και φυσικά με τις συνεχείς μετρήσεις μετεωρολογικών σταθμών μπορεί να αναπτυχθεί ένα γενικό πλαίσιο που περιγράφει το κλίμα, δηλαδή τον καιρό μιας περιοχής ανά εποχή.

Η ελιά (*Olea europaea* L. Oleaceae) καλλιεργείται στη λεκάνη της Μεσογείου από τα προϊστορικά χρόνια. Το κλίμα της περιοχής με βάση το Φλόκα (1997)

κατατάσσεται στα Μεσογειακά κλίματα ή κλίματα ξηρού θέρους Υποτροπικά, τα οποία «είναι κλίματα μεταβατικά μεταξύ των κλιμάτων των ευκράτων ζωνών και της Τροπικής. Αυτά απαντούν στη λεκάνη της Μεσογείου, στην Κεντρική Καλιφόρνια, στην Κεντρική Χιλή, στο νότιο άκρο της Αφρικής και στη ΝΔ Αυστραλία. Τα μεσογειακά κλίματα χαρακτηρίζονται από **ξηρό-θερμό καλοκαίρι** και από ήπιο βροχερό χειμώνα».

Η καλλιέργεια της ελιάς έχει εξαπλωθεί σε όλες τις περιοχές οι οποίες έχουν Μεσογειακό ή Υποτροπικό κλίμα. Όλες αυτές οι περιοχές όμως χαρακτηρίζονται από παρατεταμένες περιόδους ανομβρίας και συνεπώς τα ελαιόδεντρα αντιμετωπίζουν τις συνέπειες της υδατικής καταπόνησης.

Ο χρόνος παρουσίας της ελιάς στη Μεσόγειο ήταν αρκετός για τη δράση της φυσικής αλλά και της ανθρώπινης επιλογής ώστε να διατηρηθούν οι πλέον παραγωγικές και προσαρμοσμένες στις Μεσογειακές κλιματικές συνθήκες ποικιλίες. Ωστόσο τις τελευταίες δεκαετίες η υπερθέρμανση του πλανήτη και οι επιπτώσεις της στον κύκλο των βροχών αύξησαν τη διάρκεια των περιόδων ανομβρίας, καθώς οι υδατοπτώσεις αποκτούν χρόνο με το χρόνο χαρακτήρα σποραδικό και έντονο. Το διαθέσιμο επομένως νερό στις ξηρικές και στις αρδευόμενες καλλιέργειες μειώνεται με άμεση συνέπεια στη φυτική παραγωγή άνυδρων και ημι-άνυδρων περιοχών.

1.2 Η ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ Ο ΕΤΗΣΙΟΣ ΒΛΑΣΤΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Η ελιά είναι αειθαλές δενδρώδες φυτό, αιωνόβιο και ύψους από 5 έως 25 μέτρων, αναλόγως της ποικιλίας, των εδαφοκλιματικών συνθηκών και των καλλιεργητικών φροντίδων.

Η ρίζα της ελιάς τα 3 με 4 πρώτα χρόνια έχει αρχικά κάθετη πασσαλώδη ανάπτυξη, ανεξάρτητα αν το φυτό προέρχεται από εγγενή ή αγενή πολλαπλασιασμό (σπορόφυτο ή μόσχευμα) (Ποντίκης, 2000). Αργότερα όμως, από γόγγρους του λαιμού, προκύπτουν θυссανώδεις ρίζες, οι οποίες επεκτείνονται γύρω από τον κορμό, σε μικρό, μεσαίο ή μεγάλο βάθος εδάφους, αναλόγως της μηχανικής σύστασης του εδάφους, το είδος εδαφοκατεργασίας και το ύψος του υδροφόρου ορίζοντα. Είναι σύνηθες φαινόμενο σε ξηρά και αμμώδη εδάφη οι ρίζες των δένδρων να φθάνουν και τα 6 μέτρα βάθος (Ποντίκης, 1997).

Ο κορμός αρχικά είναι λείος αλλά αργότερα αποκτά τραχιά υφή λόγω των ρυτιδωμάτων. Οι βλαστοί μπορεί να φέρουν ξυλοφόρους και μικτούς ανθοφόρους οφθαλμούς. Οι τελευταίοι όταν εκπτύσσονται δίνουν μικρή βλάστηση και επάκρια βοτρυώδη ταξιανθία. Οι ξυλοφόροι και οι μικτοί ανθοφόροι οφθαλμοί δεν έχουν προστατευτικά λέπια και χαρακτηρίζονται ως γυμνοί. Κάθε βλαστός φέρει ανά κόμβο δύο φύλλα, σε αντίθετη διάταξη, τα οποία διατηρούνται επί του δέντρου από την στιγμή της εμφάνισής τους για περίπου 2 με 3 χρόνια. Οι βλαστοί χαρακτηρίζονται από μακρά, μεσαία ή βραχεία μεσογονάτια διαστήματα. Οι βλαστοί με μακρά μεσογονάτια χαρακτηρίζονται ως οι πιο καρποφόροι.

Ο βλαστικός κύκλος της ελιάς περιλαμβάνει δυο κύματα βλαστικής ανάπτυξης, ένα την άνοιξη και ένα το φθινόπωρο, τα οποία διακόπτονται από μια φάση διάπαυσης το καλοκαίρι, εξαιτίας των υψηλών θερμοκρασιών και της έλλειψης υγρασίας και μια χειμερινή ληθαργική φάση κατά το χειμώνα, στην οποία παραμένουν μέχρι το τέλος της περιόδου των δυσμενών συνθηκών. Κατά την εαρινή βλαστική ανάπτυξη έχουμε την κατά μήκος αύξηση των βλαστών και στο τέλος της την ανθοφορία. Κατά την καλοκαιρινή διάπαυση σταματά η βλαστική ανάπτυξη, ωστόσο συνεχίζεται η ανάπτυξη του καρπού. Η φθινοπωρινή βλαστική ανάπτυξη

περιλαμβάνει τη δευτερογενή κατά μήκος και πλάτος αύξηση των βλαστών και την τελική πορεία ανάπτυξης του ελαιοκάρπου έως την ωρίμανση.

1.3 ΑΝΘΗ ΚΑΙ ΚΑΡΠΟΙ

Η πλήρης ανθοφορία της ελιάς για τη χώρα μας ολοκληρώνεται κατά το Μάιο. Τα άνθη της ελιάς είναι μικρά, βραχύμισχα και φέρονται σε βοτρυώδη ταξιανθία. Τα άνθη έχουν κυπελλοειδή κάλυκα, με συμφυή στέπαλα, στεφάνη με τέσσερα πέταλα και δύο στήμονες με νεφρόμορφους ανθήρες. Ο ύπερος έχει μια δίσωρη ωοθήκη και ένα δίλοβο κεφαλωτό στήμα. Ο φυσιολογικός ύπερος έχει δύο καρπόφυλλα και δύο σπερματικές βλάστες, ικανές και οι δύο να γονιμοποιηθούν, όμως η μια μόνο εξελίσσεται σε σπέρμα του καρπού. Τα άνθη ανάλογα με την παρουσία ή όχι λειτουργικού υπέρου διακρίνονται σε ατελή και τέλεια. Αν και τα αίτια του εκφυλισμού του υπέρου δεν είναι γνωστά, φαίνεται να σχετίζονται με την ποικιλία, την έλλειψη νερού, τη θρέψη των δέντρων και τις κλιματικές συνθήκες (Ποντίκης, 2000).

Η ελιά καρποφορεί σε ξύλο παρελθόντος έτους από μικτούς ανθοφόρους οφθαλμούς. Ο καρπός της ελιάς είναι δρύπη, σφαιρική ή ελλειψοειδής. Αποτελείται από εξωκάρπιο, μεσοκάρπιο και το ξυλοποιημένο πυρήνα (Ποντίκης, 2000).

1.4 ΟΙ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΕΛΙΑΣ

Η παραγόμενη ποσότητα ελαιοκάρπου κατευθύνεται είτε προς την παραγωγή ελαιολάδου είτε προς τη νωπή κατανάλωση. Οι δύο αυτές κατευθύνσεις είναι ένα από τα κριτήρια κατηγοριοποίησης των καλλιεργούμενων ποικιλιών ελιάς. Ωστόσο από τα πιο γνωστά κριτήρια κατηγοριοποίησης αποτελεί το βάρος των καρπών που διαχωρίζει τις ποικιλίες σε μικρόκαρπες (1,2 – 2,6g), μεσόκαρπες (2,7 – 4,2g) και σε αδρόκαρπες ($\geq 4,3g$). Αν και οι καρποί των περισσότερων μικρόκαρπων ποικιλιών προορίζονται για την παραγωγή ελαιολάδου, η κατάληξη της παραγωγής των αδρόκαρπων και μεσόκαρπων ποικιλιών επηρεάζεται από δείκτες όπως ο αριθμός καρπών ανά κιλό, η σχέση σάρκας/πυρήνα, η ελαιοπεριεκτικότητα και οπωσδήποτε η διαμορφούμενη τιμή παραγωγού για ελαιολάδο και νωπό καρπό (Ποντίκης, 1997).

Η πιο γνωστή ελληνική μικρόκαρπη ποικιλία είναι η Κορωνέϊκη. Καλλιεργείται κυρίως σε περιοχές της Νότιας Ελλάδος και κυριαρχεί στους Νομούς Μεσσηνίας, Λακωνίας, Ηρακλείου, Ρεθύμνου, Χανίων και Λασιθίου. Από τα κυριότερα χαρακτηριστικά της είναι τα μικρά φύλλα και ο μικρός κυλινδρικοκωνικός καρπός, μέσου βάρους 1,3 gr, ο οποίος φέρει στην άκρη μικρή θηλή (Εικόνα 1). Από τα σημαντικότερα καρπολογικά χαρακτηριστικά είναι η σχέση σάρκας/πυρήνα που κατά μέσο όρο είναι 6,6:1, και η ελαιοπεριεκτικότητά του, η οποία είναι 27%, ίσως είναι η μεγαλύτερη μεταξύ των ελληνικών ποικιλιών. Τέλος η ποικιλία Κορωνέϊκη παράγει εκλεκτής ποιότητας λάδι (Ποντίκης, 2000).



Εικόνα 1. Καρπός ποικιλίας Κορωνέϊκης

Μια από τις σημαντικότερες αδρόκαρπες ποικιλίες είναι η Χοντροελιά Χαλκιδικής. Η ποικιλία ελιάς Χοντροελιά Χαλκιδικής, καλλιεργείται σε πολλές περιοχές της χώρας μας, αλλά συνήθως συναντάται στο νομό Χαλκιδικής και λιγότερο στους νομούς Φθιώτιδας, Φωκίδας, Αττικής. Ο κορμός του δένδρου είναι μέτριας ως ισχυρής αναπτύξης, το σχήμα της κόμης ακανόνιστο και φτάνει σε ύψος τα 6-7 μέτρα. Τα φύλλα είναι άφθονα, έχουν σχήμα λογχοειδές και χρώμα βαθύ πράσινο. Ο καρπός είναι μετρίου μέχρι μεγάλου μεγέθους, σχήματος κυλινδροκωνικού που καταλήγει σε θηλή (Εικόνα 2). Ο πυρήνας είναι επιμήκης και καταλήγει σε μαστοειδή κορυφή που φέρει ακίδα. Η περιεκτικότητα της σάρκας σε λάδι φθάνει το 19-24% επί του βάρους του ελαιοκάρπου. Είναι ποικιλία διπλής χρήσεως αφού ο καρπός της χρησιμοποιείται για ελαιοποίηση και για κονσερβοποίηση. Επιπλέον, είναι ποικιλία μέτριας παραγωγικότητας που ωριμάζει

τον καρπό της μεσοπρώιμα, δηλαδή στις αρχές Νοεμβρίου. Τέλος μπορεί να καλλιεργηθεί και σε άγονα εδάφη και παρουσιάζει ανεκτικότητα στο ψύχος (Τσολάκης, 1991; Ποντίκης, 2000).



Εικόνα 2. Καρπός ποικιλίας Χοντροελιάς Χαλκιδικής

Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει εμφανής η προσπάθεια για την εύρεση ανθεκτικών ή ανεκτικών ποικιλιών σε παθογόνους μύκητες (π.χ. Καλαμών στο *Verticillium dahliae*), στη ξηρασία (π.χ. Κορωνέικη) κ.ά.. Ίσως τα επόμενα χρόνια το σημαντικότερο κριτήριο κατηγοριοποίησης των ποικιλιών της ελιάς θα αποτελεί, εκτός των παραγωγικών και των καρπολογικών στοιχείων, η ικανότητα ορισμένων από αυτών να ανθίστανται ή να ανέχονται βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις,

1.5 Η ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ

Η ελιά αποτελεί την οικονομική «ατμομηχανή» της ελληνικής φυτικής παραγωγής αφού οι καλλιεργούμενες εκτάσεις, η παραγωγή και το εισόδημα που αποδίδουν ξεπερνούν κατά πολύ τα αντίστοιχα των υπολοίπων πολυετών δενδροκομικών καλλιεργειών. Σύμφωνα με τα στατιστικά στοιχεία του οργανισμού τροφίμων και γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (Food and agriculture organization of the united nations, F.A.O., 2007) κατά μέσο όρο στην Ελλάδα καλλιεργούνται περίπου 800 χιλιάδες εκτάρια με ελαιόδεντρα, τα οποία αποδίδουν 2 με 2,5 Μεγατόνους (τόνος 10^3 kg, μεγατόνος 10^6 kg) ανάλογα βέβαια τη χρονιά.

1.6 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ ΦΥΤΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Είναι γεγονός ότι κάθε υπαίθρια καλλιέργεια ετήσια ή πολυετής, ποώδης ή δενδρώδης επηρεάζεται βλαστικά και αναπαραγωγικά από τις διαμορφούμενες περιβαλλοντικές συνθήκες που χαρακτηρίζουν το κλίμα της κάθε περιοχής. Οι κλιματικές συνθήκες μιας περιοχής και συγκεκριμένα οι έντονες διακυμάνσεις τους, συνήθως δημιουργούν αρνητικές επιπτώσεις στην οικολογία των φυτικών οργανισμών. Οι κλιματικές και γενικά οι περιβαλλοντικές εκείνες συνθήκες οι οποίες άρουν αρνητικά στην ανάπτυξη και αναπαραγωγή των ζωντανών οργανισμών συμπεριλαμβάνονται στην κατηγορία των αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης (αβιοτικά στρες). Αβιοτικές καταπονήσεις μπορούν να θεωρηθούν ο άνεμος, η ανοξεία, η θερμική καταπόνηση, το ψύχος, η αλατότητα, η έλλειψη ύδατος, η κοσμική ακτινοβολία, καθώς και οι νεότερες μορφές αβιοτικών καταπονήσεων που

οξύνθηκαν μέσω της βιομηχανικής δραστηριότητας του ανθρώπου (υψηλή συγκέντρωση όζοντος στα χαμηλά στρώματα ατμόσφαιρας, λέπτυνση της στοιβάδας του όζοντος στη στρατόσφαιρα και επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας, ρύποι από καύση ορυκτών υδρογονανθράκων κ.ά.). Τις βιοτικές καταπονήσεις αποτελούν οι εχθροί (έντομα, ζιζάνια) και οι ασθένειες (ιοί, μύκητες, βακτήρια), που μπορούν να προσβάλλουν φυτικούς οργανισμούς σε μια περιοχή.

Η αρνητική επίδραση των αβιοτικών παραγόντων στη βιολογία των φυτικών οργανισμών είναι σημαντικότερη από εκείνη των βιοτικών. Αφενός μεν γιατί ο κίνδυνος των δυσμενών κλιματικών - αβιοτικών παραγόντων υφίσταται οπουδήποτε στη γη, αφετέρου γιατί η αρνητική τους δράση είναι γενική σε όλες τις υπαίθριες καλλιέργειες. Αντίθετα οι εχθροί και οι ασθένειες δείχνουν μια ευρύτερη ή στενότερη εξειδίκευση στη δράση τους ανάλογα του είδους, ενώ η εμφάνιση των εχθρών και των ασθενειών των καλλιεργειών και η εξέλιξη του πληθυσμού τους μπορεί να προβλεφθεί. Τέλος για τις βιοτικές καταπονήσεις υπάρχουν μέτρα και τρόποι εξωγενούς παρέμβασης οι οποίες ελέγχουν με επιτυχία τον πληθυσμό τους και αμβλύνουν τις αρνητικές επιπτώσεις.

Το ίδιο δεν ισχύει βέβαια για τις αβιοτικές καταπονήσεις, η αντιμετώπιση των οποίων βασίζεται στην εξάλειψη του αρχικού αιτίου εμφάνισής τους. Ίσως η μόνη ασφαλής προφύλαξη έναντι των αβιοτικών καταπονήσεων αποτελεί η γενετική εκδήλωση ανοχής ή ανθεκτικότητας. Οι αβιοτικές καταπονήσεις από μόνες τους μπορεί να προκαλούν διακυμάνσεις στο πληθυσμό των ζωντανών οργανισμών. Οι ζωντανοί οργανισμοί αντιδρούν σε αυτές τις διακυμάνσεις και τείνουν να επιστρέψουν στην περιοδικότητα της πληθυσμιακής τους κατανομής μέσω της επικράτησης και της κυριαρχίας των γονοτύπων οι οποίοι επιδεικνύουν χαρακτήρες αντοχής ή ανεκτικότητας στους παράγοντες καταπόνησης (Καρανδεινός, 1993).

Οι αβιοτικοί παράγοντες δρουν είτε άμεσα (ξηρίζωμα φυτών, σπάσιμο και πλάγιασμα κ.ά.) είτε έμμεσα αναστέλλοντας τις φυσιολογικές διεργασίες που είναι συνυφασμένες με την ανάπτυξη των φυτών (φωτοσύνθεση – διαπνοή – αναπνοή). Δρουν έμμεσα πάνω σε ενδογενείς μηχανισμούς του φυτού και εκτρέπουν από το κανονικό τις φυσιολογικές διεργασίες. Είναι επίσης γεγονός ότι συνεχίζει η αρνητική επίδραση των αβιοτικών καταπονήσεων και μετά τη λήξη τους (περίοδος ανακούφισης) όπου οι φυσιολογικές διεργασίες τείνουν να επανέλθουν στο φυσιολογικό.

1.7 Η ΥΔΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ

Σύμφωνα με τον F.A.O., «υδατική καταπόνηση ορίζεται ως εκείνη η κατάσταση κατά την οποία τα φυτά δεν μπορούν να απορροφήσουν αρκετό νερό ώστε να αντισταθμίσουν τις απώλειες από την διαπνοή. Τα αποτελέσματα αυτής της κατάστασης μπορεί να είναι ο μααρασμός, η αναστολή της αύξησης ή ακόμα και ο θάνατος ολόκληρου ή μέρους του φυτού».

Η ανικανότητα αναπλήρωσης του υδατικού ελλείμματος από τα φυτά μπορεί να οφείλεται είτε σε έλλειψη νερού στο έδαφος, είτε σε υπερβολικούς ρυθμούς διαπνοής, είτε σε δυσχέρειες διακινήσεώς του (Reddy et al., 2004b). Τα περισσότερα φυτά δεν είναι δυνατόν να απορροφήσουν νερό από το έδαφος, όταν το τελευταίο συγκρατεί το νερό με μυζητικές δυνάμεις των -15 bars και μικρότερες (μόνιμο σημείο μααρασμού) (Veihmeyer and Hendrickson, 1928). Η δυσχέρεια διακίνησης του νερού μπορεί να οφείλεται είτε στη διακοπή της συνέχειας της στήλης του νερού από τις ρίζες δια μέσου των αγγείων του ξύλου στα φύλλα (σπάσιμο, αέρας στα αγγεία

προκαλεί εμβολισμό), είτε λόγω στενώσεων στα αγγεία του ξύλου από παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών.

Η υδατική καταπόνηση προκαλεί χαρακτηριστική συμπτωματολογία με συγκεκριμένης αλληλουχίας συμπτώματα. Συνοπτικά αυτά είναι: το φύλλο σημαίας, ο μαρασμός, η επιναστία, η χλώρωση, το κιτρίνισμα, η ξήρανση φύλλων, η φυλλόπτωση, η νέκρωση ανθέων, η ανθόρροια, η αφυδάτωση και η συρρίκνωση καρπών, η καρπόπτωση, ο νανισμός και τέλος μεταχρωματισμός αγγείων του ξύλου (Τζάμος, 2004). Πρέπει να αναφερθεί ότι από το μαρασμό και κάτω, τα συμπτώματα της έλλειψης νερού αποκτούν όσο προχωρούν μονιμότερο χαρακτήρα.

Εκτός όμως από τα εξωτερικά μορφολογικά συμπτώματα, η υδατική καταπόνηση προκαλεί και εκτροπή από το κανονικό των φυσιολογικών διεργασιών του φυτού. Ανατομικά, σε επίπεδο κυττάρου, η έλλειψη νερού γίνεται αντιληπτή αρχικώς με την απώλεια της σπαργής των κυττάρων και την ευδιάκριτη αποκόλληση της κυτταροπλασματικής μεμβράνης από το κυτταρικό τοίχωμα. Αυτή η συρρίκνωση του κυττάρου έχει ως συνέπεια την αύξηση της μυζητικής του ικανότητας (όσμωση) και αποτελεί μηχανισμό εντοπισμού της έλλειψης νερού από τα φυτά (Bray, 1997). Στα δενδρώδη φυτά, η κυτταρική αυτή αλλαγή είναι ορατή στα μη μόνιμα μέρη και κυρίως στα φύλλα. Η έλλειψη σπαργής σημαίνει άμεσα το κλείσιμο των στοματίων. Το κλείσιμο όμως των στοματίων ελέγχεται και ορμονικά από την παρουσία αμποιτικού οξέος (ABA). Επίσης η συγκέντρωση του καλίου του οποίου η απορρόφηση ευνοείται έναντι των άλλων κατιόντων (Benlloch-Gonzalez et al., 2007) και το οποίο συνδέεται με την υδατική κατάσταση των κυττάρων, φαίνεται να διαφοροποιείται (MacDougal, 1921; Moinuddin and Goswami, 2004). Το κάλιο και το ABA ίσως ανήκουν στους μηχανισμούς διαβίβασης του σήματος της έλλειψης

νερού στο κύτταρο και ειδικότερα το ABA συνδέεται με την ενεργοποίηση των γενετικών μηχανισμών αντοχής ή ανεκτικότητας (Bray, 1997).

Το κυριότερο αποτέλεσμα του κλεισίματος των στοματίων είναι η διακοπή ανταλλαγής αερίων του φύλλου με την ατμόσφαιρα. Μειώνονται έτσι τα μόρια του νερού που χάνονται, δίνοντας μια παράταση ζωής στο φυτό μέσω της καλύτερης διαχείρισης του νερού των ιστών του. Συγχρόνως όμως και τα ενδογενή ποσοστά του διοξειδίου του άνθρακος μειώνονται. Όταν η συγκέντρωση του ενδογενούς CO₂ φτάσει την κρίσιμη τιμή για την αφομοίωσή του, η φωτοσύνθεση αναστέλλεται. Παράλληλα όμως συνεχίζεται η δέσμευση ηλιακού φωτός και η διέγερση των χρωστικών των φωτοσυστημάτων. Τα διεγερμένα μόρια των φωτοσυστημάτων ενώ κανονικά θα συνέχιζαν τη διαδοχική μετάδοση της διέγερσής τους στους γειτονικούς αποδέκτες ηλεκτρονίων (e⁻), αδυνατούν να συνεχίσουν τη μεταφορά προς τη φωτόλυση του νερού και την αναγωγή του CO₂. Τότε αναλαμβάνουν τον επικουρικό τους ρόλο οι ξανθοφύλλες και οι άλλες χρωστικές (καροτένια), τα οποία ουσιαστικά διαχειρίζονται την περίσσεια της μοριακής διέγερσης των χλωροφυλλών των φωτοσυστημάτων I (PS I) και II (PS II). Παράλληλα της φωτοσυνθέσεως λαμβάνει χώρα και η φωτοαναγωγή. Η επικουρική και προστατευτική αυτή λειτουργία του κυτταρικού μεταβολισμού, που παράγει CO₂ ενεργοποιείται κατόπιν του κλεισίματος των στοματίων αλλά περιορίζεται από τη μείωση της παραγόμενης ενέργειας και από τη μείωση της συγκέντρωσης του οξυγόνου (Veljovic-Jovanovic, 1998).

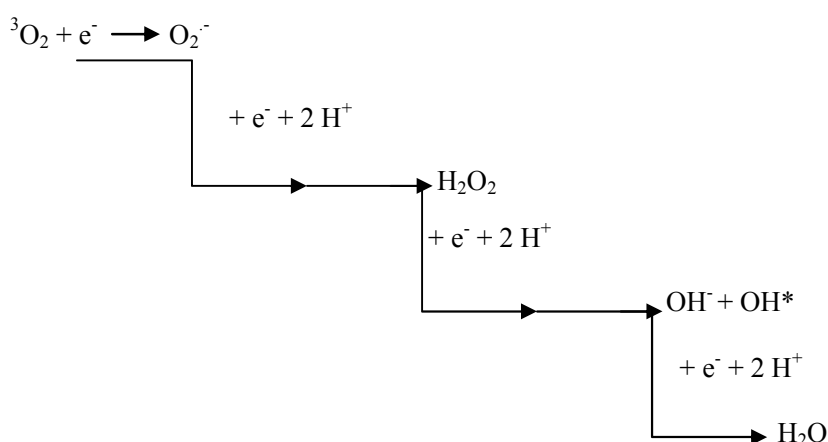
1.8 ΕΝΕΡΓΕΣ ΡΙΖΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

Το ενεργειακό διακύβευμα όλων των ζωντανών οργανισμών οι οποίοι εξελίχθηκαν και πέρασαν στην αερόβιο μεταβολική δραστηριότητα είναι ο συνεχής κίνδυνος της ανεξέλεγκτης οξειδωσης. Οι μη ελεγχόμενες αλυσιδωτές οξειδώσεις προκαλούνται συνήθως από την παρουσία ενεργών ριζών και μορίων υπεύθυνων για την οξειδωτική καταπόνηση (Πίνακας 1). Η παρουσία του μοριακού οξυγόνου ($^3\text{O}_2$) σε σημεία του κυττάρου όπου λαμβάνει χώρα η ενεργειακή διαχείριση (χλωροπλάστες, μιτοχόνδρια), πάντα ελλοχεύει τον κίνδυνο της μετατροπής του σε ενεργή ρίζα οξυγόνου (EPO). Σε στάδια μεταβολικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στα μιτοχόνδρια (περιοχή ουμπικινόνης – β-κυτοχρώματος) (Rhoads et al., 2006), στα υπεροξεισώματα (del Rio et al., 2006), στους χλωροπλάστες (θυλακοειδή των Grana), και στο κυτταρόπλασμα ακόμα (Overmayer et al., 2003; Panda and Choudhury, 2005), η ανταλλαγή e^- ξεφεύγει από τις δυνατότητες του κυττάρου για παραγωγή και αποθήκευση οξειδοαναγωγικής ενέργειας με αποτέλεσμα η επιπλέον ροή e^- να καταλήγει στην αναγωγή του μορίου του οξυγόνου και την δημιουργία ενεργών ριζών οξυγόνου (Van Breusegem et al., 2000; Reddy et al., 2004b).

Πίνακας 1. Μόρια υπεύθυνα για την οξειδωτική καταπόνηση

Είδος	Συμβολισμός
Διατομικό οξυγόνο	$^3\text{O}_2$
Οξυγόνο στη πρώτη κατάσταση διέγερσης απλότητας (Singlet oxygen)	$^1\text{O}_2$
Ρίζα υπεροξειδίου	O_2^-
Ανιόν υδροξυλίου	OH^-
Υπεροξειδίο του υδρογόνου	H_2O_2
Ρίζα υδροξυλίου	OH^*
Σουλφυδρικές ομάδες	RS^-
Peroxyl, alkoxyl ρίζες	$\text{RO}_2^-, \text{RO}^-$
Νιτρώδες ανιόν	NO^-
Περοξεινιτρώδες ανιόν	ONOO^-

Η παραγωγή EPO είναι αναπόφευκτη λόγω της εκτεταμένης παρουσίας του οξυγόνου στο κυττάρο και λόγω της ικανότητάς του να δεχτεί e^- . Η διαλυτότητα του $^3\text{O}_2$ είναι μεγαλύτερη στο εσωτερικό περιβάλλον των μεμβρανών και μικρότερη στο νερό, ενώ αντιδρά σπάνια με άλλα μόρια και είναι αρκετά σταθερό. Για να συμμετάσχει το $^3\text{O}_2$ σε αντιδράσεις πρέπει να μετατραπεί σε ανηγμένες μορφές ή αλλιώς σε ηλεκτρονιακά διεγερμένες μορφές (Σχήμα 1).



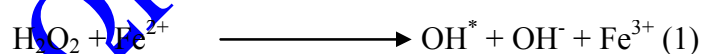
Σχήμα 1. Οι αντιδράσεις σχηματισμού EPO μέσω της ατελούς αναγωγής του μοριακού οξυγόνου

Το πρώτο βήμα της αναγωγής του μοριακού οξυγόνου $^3\text{O}_2$ παράγει τη ρίζα του υπεροξειδίου ($\text{O}_2^{\cdot -}$). Η πιθανότητα αναγωγής του $^3\text{O}_2$ σε ρίζα $\text{O}_2^{\cdot -}$ είναι μεγάλη μέσα στο κύτταρο. Οι μηχανισμοί με τους οποίους γίνεται αυτή η αναγωγή είναι οι εξής:

- με την επαφή του οξυγόνου με διεγερμένα μόρια (π.χ. χλωροφύλλες)
- με ανταλλαγή e^- με δότη ηλεκτρονίου που έχει πολύ υψηλό οξειδοαναγωγικό δυναμικό
- με την παρουσία στοιχείων μεταπτώσεως ή μεταβατικών στοιχείων (όπως σίδηρος Fe^{2+} , χαλκός Cu^{2+})

- ως προϊόν ενζυμικών αντιδράσεων (β-οξείδωση λιπαρών οξέων, οξείδωση του NADPH, αντίδραση Mehler για αναγωγή του μοριακού οξυγόνου μέσω της φερρεδοξίνης, οξείδωση της ξανθίνης) (Asada, 1996; Καραμπουρνιώτης, 2003; Sofo et al., 2005; del Rio et al., 2006).

Ο χρόνος ημιζωής της ρίζας $O_2^{\cdot -}$ είναι περίπου 2-4μs και χαρακτηρίζεται από τη μεγάλη ευχέρειά του να αντιδρά με βιολογικά μακρομόρια (αμινοξέα όπως μεθειονίνη, κυστεΐνη, τρυπτοφάνη, DNA, λιπίδια). Στο επόμενο βήμα αναγωγής του 3O_2 παράγεται το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), με χρόνο ημιζωής 1ms, αρκετά σταθερό, διαπερνά τις μεμβράνες και μπορεί να διαχέεται σε αρκετή απόσταση. Η τοξικότητα του H_2O_2 στο κυτταρικό περιβάλλον είναι γνωστή (Van Breusegem et al., 2001; Reddy et al., 2004b; Dat et al., 2000) και αυξάνεται με την παρουσία μεταλλικών ιόντων όπως ο σίδηρος (Fe^{2+}) και άλλων βαρέων μετάλλων (Αντίδραση Fenton, Εξίσωση 1). Το H_2O_2 με τη λήψη ενός e^- από τα ιόντα τέτοιων μετάλλων μετατρέπεται σε ανιόν υδροξυλίου (OH^-) και ρίζα υδροξυλίου ($OH^{\cdot}$), οι οποίες αποτελούν τις δραστικότερες βιολογικά EPO. Τελικά, με την προσθήκη ενός ακόμα e^- το OH^- ανάγεται σε νερό.



Οι EPO οδηγούν στην εκτροπή από το κανονικό, της ζωτικής σημασίας ισορροπίας μεταξύ των οξειδωτικών και των αναγωγικών αντιδράσεων και μπορεί να οδηγήσει στον κυτταρικό θάνατο (Van Breusegem et al., 2001; Overmayer et al., 2003). Μακροσκοπικά αυξημένες EPO μπορεί να σημάνουν την επιτάχυνση του βιολογικού κύκλου των φυτών, πρόωρη γήρανση και θάνατο φυτικών μερών καθώς το φυτό αδυνατεί να αναπληρώσει τα οξειδωμένα μακρομόρια (Reddy et al., 2004b).

Από την άλλη πλευρά πάλι, η δημιουργία EPO είναι το προϊόν ενός εναλλακτικού μονοπατιού το οποίο κατευθύνει τα e^- προς την αναγωγή του 3O_2 και προστατεύει τα οργανίδια όπου κυριαρχούν οι ανταλλαγές e^- με σκοπό την παραγωγή χημικής ενέργειας, από την υπερανάγωση των μεταφορέων ηλεκτρονίων (Veljovic-Jovanovic, 1998).

Οι EPO είναι μόρια με μικρό χρόνο ημιζωής, δεν διαπερνούν τις κυτταρικές μεμβράνες (εκτός από το H_2O_2) και η παραγωγή τους δεν περιορίζεται από τη διαθεσιμότητα του οξυγόνου. Είναι μόρια που αντιδρούν έντονα με τα συστατικά του κυττάρου. Αντιδρούν με τα φωσφολιπίδια των μεμβρανών καταλύοντας μια αλυσιδωτή αντίδραση οξείδωσής τους, προκαλούν τη διάσπαση των στερολών των μεμβρανών και τελικώς αποδιοργανώνουν τη δομή των μεμβρανών. Τα προϊόντα της διάσπασης των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης με τη σειρά τους αντιδρούν με πρωτεΐνες, άλλα λιπίδια και νουκλεϊκά οξέα μέσα στο κύτταρο (Rhoads et al., 2006). Οι EPO αντιδρούν επίσης με τα μόρια του DNA, με χρωστικές και προκαλούν αναστολή της δράσης αρκετών ενζύμων (Asada, 1996; Navarri-Issso and Rascio, 1999).

Πέρα των κινδύνων που αναφέρθηκαν παραπάνω, οι EPO είναι μέρος του συστήματος της αντίδρασης των φυτών σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Συγκεκριμένα μετέχουν στη μετάδοση του σήματος της καταπόνησης σε κυτταρικό επίπεδο και σηματοδοτούν επίσης τις ενέργειες αντίδρασης σε καταπονήσεις (Rhoads et al., 2006). Είναι άμεσα συσχετισμένες με ακραίες μορφές έκφρασης ανθεκτικότητας όπως η υπερευαισθησία και επίσης αλληλεπιδρούν με αιθυλένιο, σαλκυλικό οξύ, γιασμονικό οξύ και οξείδιο του αζώτου (NO) στην επαγωγή αμυντικών μηχανισμών έναντι των καταπονήσεων (Dat et al., 2000; Van Breusegem et al., 2001; Overmayer et al., 2003).

1.9 ΥΔΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ ΚΑΙ Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΡΟ

Κοινή συνιστώσα όλων των αβιοτικών καταπονήσεων, καθώς και μερικών βιοτικών, είναι η παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου στα φυτικά κύτταρα (Van Breusegem et al., 2001) και η έναρξη της οξειδωτικής καταπόνησης. Στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης, το επίκεντρο της οξειδωτικής καταπόνησης είναι αρχικά οι χλωροπλάστες με τον κύκλο νερού-νερού (water-water cycle) και την αντίδραση Mehler. Παράλληλα οξειδωτική καταπόνηση παρατηρείται και στα υπεροξεισώματα κατά τη διεργασία της φωτοαναπνοής και λιγότερο στα μιτοχόνδρια (Asada, 1996; Navarri-Iso and Rascio, 1999; del Rio et al., 2006; Rhads et al., 2006).

1.9.1 Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΡΟ ΣΤΟΥΣ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΕΣ

Οι χλωροπλάστες κινδυνεύουν περισσότερο από κάθε άλλο κυτταρικό οργανίδιο ή διαμέρισμα από μια εκτροπή του οξειδοαναγωγικού δυναμικού στο οποίο βασίζεται η φωτοσυνθετική τους λειτουργία. Βρίσκονται σε ένα κατεξοχήν αερόβιο περιβάλλον και επιπλέον εκεί καταναλώνεται και παράγεται οξυγόνο. Στους χλωροπλάστες υπάρχουν διεγερμένα μόρια όπως οι χρωστικές και οι κινόνες των φωτοσυστημάτων, ιόντα στοιχείων μεταπτώσεως, ελεύθερα ή δεσμευμένα σε χημικές ενώσεις (κυρίως Cu^{2+} , Fe^{2+}) και επομένως η πιθανότητα να αναχθεί το $^3\text{O}_2$ σε O_2^- είναι μεγαλύτερη.

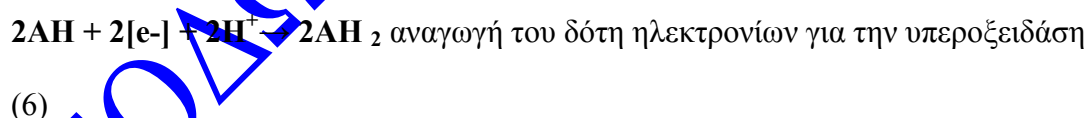
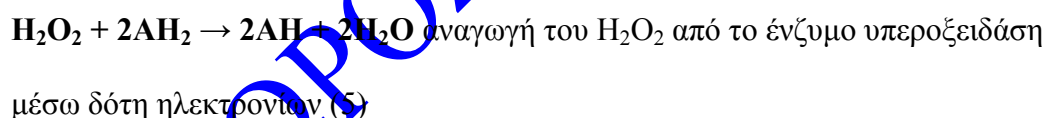
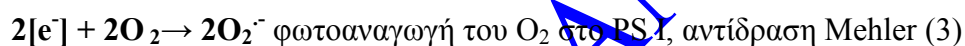
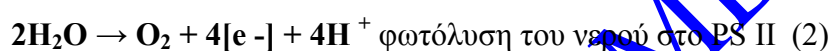
Η πρώτη ορατή αντίδραση του φυτού στην υδατική καταπόνηση είναι το κλείσιμο των στοματίων για τη μείωση της απώλειας του νερού, με επιπτώσεις στη φωτοσυνθετική δραστηριότητα των χλωροπλαστών (Reddy et al., 2004b). Το κλείσιμο των στοματίων δε διακόπτει άμεσα ούτε τη φωτοσύνθεση ούτε τη διέγερση των χρωστικών των φωτοσυνθετικών συστημάτων από την ηλιακή ακτινοβολία. Η

συνεχιζόμενη φωτοσύνθεση μειώνει το ενδογενές CO_2 κάτω από τα επίπεδα που επιτρέπουν την φωτοσύνθεση. Η διακοπή της αφομοίωσης CO_2 μειώνει τη διαθεσιμότητα του NADP^+ ως δέκτη ηλεκτρονίων στο PS I και μπορεί να οδηγήσει στη διακοπή της αλυσίδας της διαδοχικής μεταφοράς e^- από τα διεγερμένα μόρια των PS I και PS II στους γειτονικούς δέκτες ηλεκτρονίων (Asada, 1996; Navarri-Iso and Rascio, 1999; Reddy et al., 2004b). Το $^3\text{O}_2$, που είναι πιθανός αναγωγικός αντικαταστάτης, παρεμβάλλεται των διεγερμένων μορίων και με αυτό τον τρόπο ανάγεται σε ρίζα O_2^- . Από τη ρίζα O_2^- με διαδοχική προσθήκη ενός e^- τη φορά (Σχήμα 1), προκύπτουν οι υπόλοιπες μορφές EPO (Navarri-Iso and Rascio, 1999; Καραμπουρνιώτης, 2003; Reddy et al., 2004b). Ο σίδηρος ή σύνθετες σιδηροπρωτεΐνες, μπορεί να αντιδράσουν με ορισμένες EPO και να παραχθούν ακόμα δραστικότερες ελεύθερες ρίζες, κυρίως $\text{OH}^\cdot$ (Εξίσωση 1, αντίδραση Fenton).

Η φωτοσύνθεση φαίνεται ότι δεν ελέγχεται μόνο από τη δραστηριότητα των στοματίων. Για παράδειγμα σε συνθήκες πλεονάζουσας ενέργειας διεγέρσεως από την ηλιακή ακτινοβολία, το PS II διακόπτει τη λειτουργία του. Μάλιστα το PS II φαίνεται να υπόκειται πρώτο σε φωτοαναστολή (Sofa et al., 2004). Η μεταφορά του φορτίου της διεγερμένης χλωροφύλλης P680 στις κινόνες A και B (Q_A και Q_B) μέσω της φεοφυτίνης αναστέλλεται λόγω της παρουσίας μόνο υπερδιεγερμένων μορφών αυτών των μεταφορέων ηλεκτρονίων (Reddy et al., 2004b; Sofa et al., 2004). Σε αερόβιες συνθήκες το φορτίο του διεγερμένου P680 μεταφέρεται στο μοριακό οξυγόνο παράγοντας τη ρίζα O_2^- . Οι παραγόμενες EPO με τη σειρά τους ξεκινούν τους μηχανισμούς αποδόμησης των χλωροφυλλών και πρωτεϊνών των φωτοσυστημάτων εντείνοντας της αναστολή της λειτουργίας τους (Asada, 1996; Navarri-Iso and Rascio, 1999).

Η αναστολή της δράσης του PS I εκφράζεται κατά τρόπο όμοιο με την αναστολή του PS II. Δηλαδή διακόπτεται η διαδοχική μεταφορά e^- . Το 3O_2 δε φαίνεται να αντιδρά με τις διεγερμένες μορφές της P700. Παρεμβάλλεται όμως κατά την μεταφορά του φορτίου διέγερσης μεταξύ των σίδηρο-θείο-πρωτεϊνών, πρωτεΐνες Rieske (Δροσόπουλος, 1998) και κατά την αποδιέγερση της ανηγμένης φερεδοξίνης (reduced Fd) (Bagder et al., 2000). Οι δύο παραπάνω ομάδες αντιδράσεων περιγράφουν την αντίδραση φωτοαναγωγής του 3O_2 σε O_2^- γνωστή ως αντίδραση Mehler (Εξίσωση 3).

Η φωτοαναγωγή του 3O_2 στο PS I συνδέεται με τη φωτόλυση του νερού στο PS II, στον ονομαζόμενο κύκλο νερού – νερού. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν μέρος σε αυτόν κατά Veljovic-Jovanovic (1998) είναι οι εξής:



Μετά τη φωτόλυση του νερού στο PS II (Εξίσωση 2), η οποία λαμβάνει χώρα στην περιοχή των θυλακοειδών, οι παραγόμενες O_2^- από την αντίδραση Mehler ανάγονται ενζυμικά, πρώτα σε H_2O_2 (Εξίσωση 4) και μετά σε νερό (Εξίσωση 5), κλείνοντας έτσι τον κύκλο νερού – νερού.

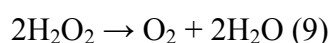
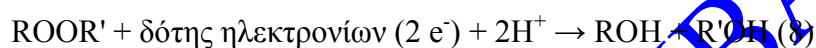
1.9.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΡΟ ΣΤΑ ΥΠΕΡΟΞΕΙΣΩΜΑΤΑ

Τα υπεροξεισώματα είναι κυτταρικά οργανίδια που καλύπτονται από απλή μεμβράνη και εκτελούν οξειδωτικές διεργασίες με κυρίαρχα ένζυμα τις φλαβονο-οξειδάσες που παράγουν H_2O_2 και τις καταλάσες που οξειδώνουν το H_2O_2 . Τα υπεροξεισώματα των φυτών παίζουν σημαντικό ρόλο στη φωτομορφογένεση, στη βιοσύνθεση πρόδρομων μορφών των ρυθμιστών ανάπτυξης ή των ίδιων των ρυθμιστών ανάπτυξης, όπως η αυξίνη και συμμετέχουν στην παραγωγή του οσμορυθμιστή βεταΐνη της γλυκίνης.

Τα υπεροξεισώματα είναι κατεξοχήν κέντρα παραγωγής ΕΡΟ. Ίσως η κυριότερη μορφή ΕΡΟ στα υπεροξεισώματα να είναι το H_2O_2 . Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι παράγεται και η ρίζα $O_2^{\cdot -}$ και το νιτρώδες ανιόν ($NO^{\cdot -}$). Οι κυριότερες μεταβολικές διεργασίες, υπεύθυνες για την παραγωγή H_2O_2 είναι η αντίδραση της οξειδάσης του γλυκολικού του κύκλου της φωτοαναπνοής, η β-οξείδωση των λιπαρών οξέων, η ενζυμική αντίδραση των φλαβινο-οξειδασών και η διαπρωτονίωση του $O_2^{\cdot -}$ (SOD υπεροξεισωμάτων). Υπάρχουν τουλάχιστον δύο κέντρα παραγωγής $O_2^{\cdot -}$ ένα στο στρώμα του οργανιδίου με τη δράση της οξειδάσης της ξανθίνης και το άλλο στη μεμβράνη του οργανιδίου με την δράση ενός NADPH-εξαρτώμενου ενζύμου που συμμετέχει σε μια μικρής έκτασης ανταλλαγή e^- (del Rio et al., 2006). Όλες οι παραπάνω αντιδράσεις που παράγουν ΕΡΟ, φαίνεται να αυξάνονται κατά την υδατική καταπόνηση (Veljovic-Jovanovic, 1998; Blokhina et al., 2003), καθώς επίσης έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνεται και ο αριθμός των υπεροξεισωμάτων (del Rio et al., 2006).

Η ισορροπία της συγκέντρωσης H_2O_2 στα υπεροξεισώματα διατηρείται από τη δράση των υπεροξειδασών (POD) και της καταλάσης (CAT) (οξειδοοδουκτάση του υπεροξειδίου του υδρογόνου). Οι υπεροξειδάσες απαντώνται σε πολλές ισομορφές

και εντοπίζονται συνήθως συνδεδεμένες με την μεμβράνη. Περιέχουν συνήθως κάποιο μεταλλικό ιόν, κυρίως Cu^{2+} , Fe^{2+} και οξειδώνουν μια πληθώρα υποστρωμάτων με την παρουσία H_2O_2 ως δότη ηλεκτρονίων (Εξίσωση 8) (Mika and Lüthje, 2003). Η CAT είναι σύνθετη πρωτεΐνη, αποτελείται από τέσσερις αιμο-πρωτεΐνες (με άτομα Fe). Καταλύει την αποδόμηση του H_2O_2 σε νερό (Εξίσωση 9), αποτρέποντας την αρνητική οξειδωτική του επίδραση. Η CAT μπορεί να εξουδετερώσει μεγάλες ποσότητες παραγομένων μορίων H_2O_2 , ενώ η POD μικρές ποσότητες αλλά ταχύτατα λόγω υψηλότερης εκλεκτικότητας στη σύνδεση τους με το H_2O_2 . Αναφέρεται ότι υπάρχουν και ομολόγα του ενζύμου και σε άλλα κυτταρικά οργανίδια (Van Breusegem et al., 2001; Reddy et al., 2004b).



1.9.3 Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΡΟΣΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ

Τα μιτοχόνδρια είναι κυτταρικά οργανίδια άμεσα συνδεδεμένα με την παραγωγή ενέργειας μέσω της διεργασίας της αναπνοής. Η διαδικασία η οποία είναι άμεσα συνδεδεμένη με την παραγωγή ΕΡΟ είναι η αλυσίδα μεταφοράς e^- (mtETC) κατά την οποία το $^3\text{O}_2$ που λειτουργεί ως τελικός δέκτης ηλεκτρονίων, μεταπίπτει σε O_2^- , το οποίο ανάγεται αμέσως από τις μιτοχονδριακές SOD. Η διεργασία αυτή εκλύει μεγάλα ποσά ενέργειας, μέρος των οποίων χρησιμοποιείται για την παραγωγή ATP (Δροσόπουλος, 1998). Αν ωστόσο η παραγωγή O_2^- συνεχίσει ανεξέλεγκτη, τα μιτοχόνδρια υπόκεινται σε οξειδωτική καταπόνηση με σοβαρότερη συνέπεια την καταστροφή των μεμβρανών τους (Rhoads et al., 2006). Ορισμένες καταπονήσεις, μπορούν να οδηγήσουν στην μείωση της αναπνευστικής λειτουργίας των μιτοχονδρίων. Η υδατική καταπόνηση είχε διαφορετική επίδραση στην αναπνοή

διαφόρων φυτών. Στις περιπτώσεις των φυτών που μειώθηκε η αναπνοή αυτή εν μέρη αιτιολογήθηκε από την οξειδωτική καταπόνηση είτε λόγω υπεραναγωγής των μεταφορέων ηλεκτρονίων της mtETC (Flexas et al., 2005) είτε λόγω αναστολής των αντιοξειδωτικών μηχανισμών από τα προϊόντα της οξείδωσης των φωσφορολιπιδίων των μεμβρανών (Rhoads et al., 2006).

1.10 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Υπό φυσιολογικές συνθήκες στα κύτταρα παράγονται ενεργές ρίζες οι οποίες άμεσα εξουδετερώνονται από ενδοκυτταρικούς μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί εντοπισμού και εξουδετέρωσης των ελευθέρων ριζών ανήκουν σε δύο κατηγορίες. Στη μια κατηγορία ανήκουν μικρά υδατοδιαλυτά και λιποδιαλυτά μόρια που οξειδώνονται όταν έρχονται σε επαφή με τις EPO, ανάγοντας τις ταυτόχρονα και στην άλλη αντιοξειδωτικά ένζυμα που αναγούν και εξουδετερώνουν τις EPO με την παρουσία κατάλληλων υποστρωμάτων. Σε πολλές περιπτώσεις παρατηρείται ότι τα υποστρώματα αυτά μπορεί από μόνα τους να είναι αντιοξειδωτικές ενώσεις.

Επειδή κύριο χαρακτηριστικό των EPO είναι η δυσκολία διακίνησης διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών, εξαιρείται το H_2O_2 , ο εντοπισμός και η εξουδετέρωση τους γίνεται στο οργανίδιο που δημιουργούνται. Συγκεκριμένα το κύτταρο προτιμά να δρα άμεσα στις λιγότερο βιολογικά δραστικές EPO (όπως O_2^- και H_2O_2) πριν παραχθούν οι ρίζες OH^* που δύσκολα ελέγχονται (Van Breusegem et al., 2001). Ο τρόπος δράσης των ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών παρουσιάζει ομοιομορφίες μεταξύ των διαφορετικών κυτταρικών οργανιδίων. Ως παράδειγμα αναφέρεται η παρουσία των ίδιων λειτουργικά ενζύμων, σε διαφορετικές ισομορφές σε χλωροπλάστες, υπεροξεισώματα και μιτοχόνδρια (Asada, 1996; del Rio et al.,

2006; Rhoads et al., 2006). Επίσης, η δράση όλων των μηχανισμών είναι συνεργιστική και η ένταση της δραστηριότητάς τους συνδέεται με την επίδειξη ανθεκτικότητας των φυτικών ειδών στην υδατική καταπόνηση (Reddy et al., 2004b).

1.10.1 ΜΗ ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Οι μικρού μοριακού βάρους αντιοξειδωτικές ενώσεις οι οποίες εξουδετερώνουν τις ΕΡΟ διαχωρίζονται σε λιποδιαλυτές και υδατοδιαλυτές. Οι λιποδιαλυτές εξουδετερώνουν τις ΕΡΟ και εντός των μεμβρανών ενώ οι υδατοδιαλυτές εξουδετερώνουν τις ΕΡΟ οι οποίες είναι διαλυμένες στην υδατική φάση. Για παράδειγμα η λιποδιαλυτή α-τοκοφερόλη (βιταμίνη Ε) είναι ιδιαιτέρως γνωστή για την αντιοξειδωτική της δράση καθώς αδρανοποιεί ελεύθερες ρίζες (Blokhina et al., 2003; Καραμπουρνιώτης, 2003).

Από τις υδατοδιαλυτές αντιοξειδωτικές ουσίες, η πιο σημαντική είναι το ασκορβικό οξύ και βρίσκεται σε όλα τα οργανίδια στα οποία λαμβάνει χώρα η αναγωγή του $^3\text{O}_2$ και στο καταπόπλασμα (Asada, 1996; Smirnov, 1996; Navari-Isso and Rascio, 1999; del Rio et al., 2006; Rhoads et al., 2006). Συμμετέχει στην αύξηση και διαίρεση του κυττάρου, είναι ενεργοποιητής πολλών ενζύμων, συμμετέχει στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς άμεσα και έμμεσα ως υπόστρωμα των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Asada, 1996; Smirnov, 1996; Navari-Isso and Rascio, 1999; Rhoads et al., 2006; Davey et al., 2000; del Rio et al., 2006). Η σύνθεση του λαμβάνει χώρα μόνο στους φωτοσυνθέτοντες οργανισμούς και θεωρητικά γίνεται μέσω δύο μεταβολικών οδών, τα οποία ξεκινούν από τη D-γλυκόζη (Smirnov, 1996; Davey et al., 2000). Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του ασκορβικού οξέος οφείλονται στην ύπαρξη διπλού δεσμού και ταυτόχρονη παρουσία υδροξυλίων στη θέση C2,3

(ενε-διόλη) (Smirnoff, 1996). Το ασκορβικό οξύ μέσα στο κύτταρο μπορεί να οξειδώνεται με την παρουσία ενεργών ριζών και να τις εξουδετερώνει. Με αυτό τον τρόπο σταμάτα τις αλυσιδωτές οξειδωτικές αντιδράσεις. Επίσης στις μεμβράνες των κυττάρων αντιδρά με την οξειδωμένη μορφή της α-τοκοφερόλης την οποία επαναφέρει στη δραστική ανηγμένη της μορφή (Blokina et al., 2003). Επίσης δρα σα δότης ηλεκτρονίων σε πολλές ενζυμικές αντιδράσεις (Smirnoff, 1996; Davey et al., 2006).

Οι φαινολικές ουσίες (φλαβονοειδή, ταννίνες, λιγνίνη κ.ά.) και συγκεκριμένα οι πολυφαινόλες φαίνεται ότι αποτελούν μέρος των μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Είναι πολύ καλοί δότες και δέκτες ηλεκτρονίων, οι δημιουργούμενες ρίζες φαινολικών ουσιών εύκολα σταθεροποιούν τα μαγνήη ηλεκτρόνιά τους και τέλος δημιουργούν σταθερές ενώσεις με στοιχεία μεταπτώσεως τερματίζοντας έτσι την αντίδραση Fenton (Blokina et al., 2003; Tung et al., 2007). Έχουν την ικανότητα να προστατεύουν τα λιπαρά οξέα από την β-οξείδωση (Wang et al., 2000), η οποία δημιουργεί EPO (Asada, 1996; del Rio et al., 2006). Την ίδια στιγμή όμως αποτελούν και πηγή σχηματισμού EPO, καθότι το ενδιάμεσο παράγωγο της οξείδωσής τους, οι ημικινόνες, αποτελούν δότη ηλεκτρονίων προς το $^3\text{O}_2$ (Appel, 1993).

Επίσης οι χρωστικές όπως καροτενοειδή (violaxanthin–antheraxanthin–zeaxanthin κύκλος - (VAZ), (Blokina et al., 2003; Reddy et al., 2004b), και σύμπλοκα πρωτεϊνών με χρωστικές, όπως LHC I και LHC II (light harvesting complexes I & II) (Δροσόπουλος, 1998), φαίνεται να αναλαμβάνουν προστατευτική δράση στους χλωροπλάστες.

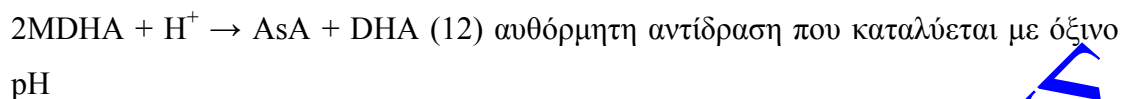
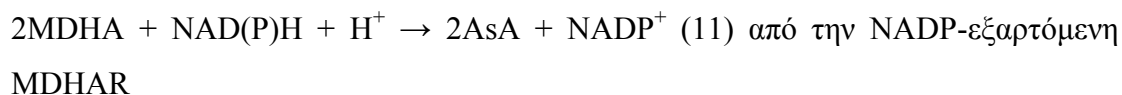
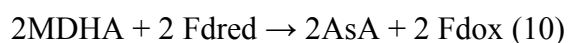
1.10.2 ENZYMΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης, κέντρο της οξειδωτικής καταπόνησης είναι οι χλωροπλάστες. Η περιγραφή των ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών των χλωροπλαστών περιγράφει εν μέρει τους αντίστοιχους μηχανισμούς όλων των κυτταρικών οργανιδίων. Την πρώτη «γραμμή άμυνας» στη δράση των ΕΡΟ αποτελούν οι λιποδιαλυτές αντιοξειδωτικές ουσίες, τα βυθισμένα στις μεμβράνες αντιοξειδωτικά ενζυμικά συστήματα και ο κύκλος γλουταθειόνης – ασκορβικού οξέος. Ο πρωταρχικός στόχος των μηχανισμών είναι να εξουδετερωθούν άμεσα οι λιγότερο δραστικές ΕΡΟ πριν αυτές μεταπέσουν σε πιο δραστικές μορφές. Στο σχήμα 2 δίνονται οι αλληλουχίες των ενζυμικών αντιοξειδωτικών αντιδράσεων στο στρώμα και στα θυλακοειδή των χλωροπλαστών.

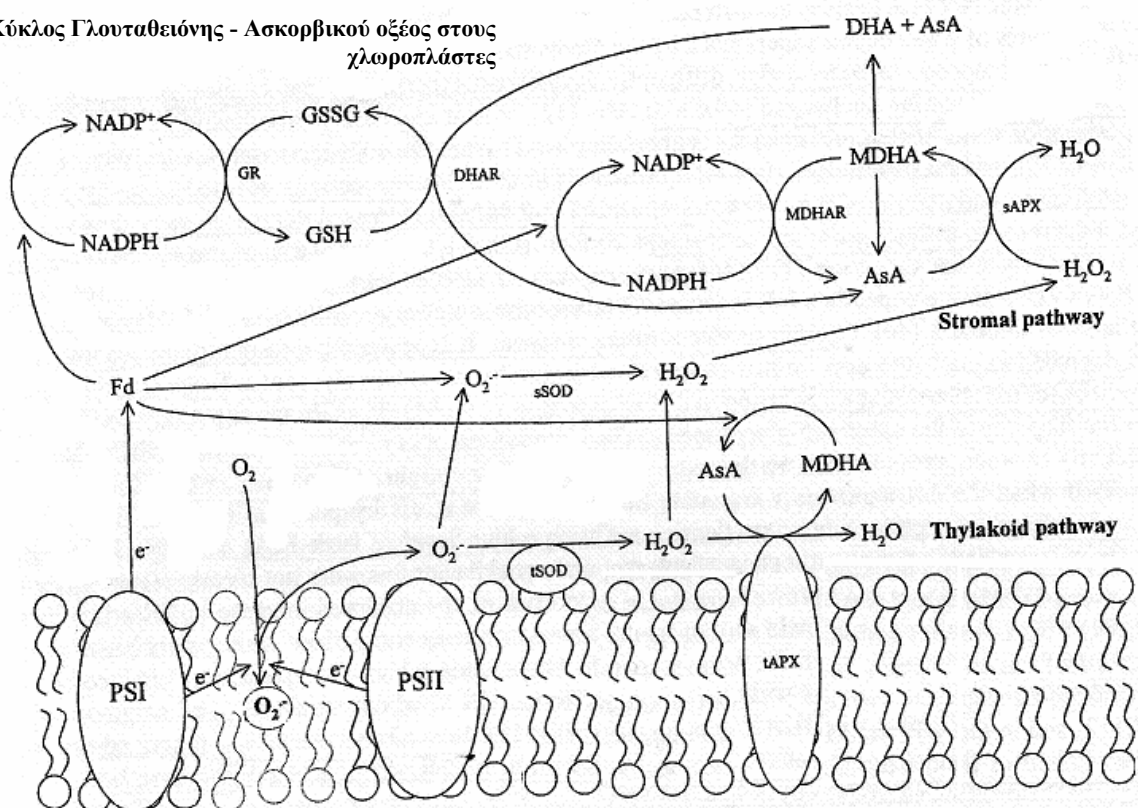
Στις μεμβράνες των θυλακοειδών και μάλιστα προς την πλευρά του στρώματος βρίσκεται το 70% των μορίων Cu/Zn δισμουτάσης της ρίζας του υπεροξειδίου (SOD) (Asada, 1996; Navari-Iso and Rascio, 1999). Σε συνδυασμό με την υπεροξειδάση του ασκορβικού (APX), που κατά ένα ποσοστό βρίσκεται και αυτή βυθισμένη στις μεμβράνες, δημιουργούν έναν ενζυμικό αντιοξειδωτικό μηχανισμό με ενεργότητα που αυξάνεται συνήθως με την αύξηση της συγκέντρωσης των παραγόμενων ΕΡΟ. Συγκεκριμένα η ρίζα O_2^- , αμέσως μόλις παράγεται από τα PS II και I μετατρέπεται σε H_2O_2 από την SOD των μεμβρανών. Με τη δράση των APX των μεμβρανών και με την οξείδωση του ανηγμένου ασκορβικού οξέος (AsA), το H_2O_2 ανάγεται σε νερό και παράγεται η οξειδωμένη μορφή του ασκορβικού, το μονοϋδροασκορβικό οξύ (MDHA).

Στο στρώμα των χλωροπλαστών το MDHA κλείνει τον κύκλο και ξαναγίνεται AsA είτε με την αναγωγή του MDHA από τη διεγερμένη μορφή της φερεδοξίνης (Εξίσωση 10) είτε από τη ρεδοκτάση του μονοϋδροασκορβικού (MDHAR) με

δαπάνη ενός μορίου NADPH (Εξίσωση 11) (Asada, 1996; Smirnov, 1996; Veljovic-Jovanovic, 1998; Navarri-Iso and Rascio, 1999).



Κύκλος Γλουταθειόνης - Ασκορβικού οξέος στους χλωροπλάστες



Σχήμα 2. Ο κύκλος της γλουταθειόνης – ασκορβικού οξέος και ο ενζυμικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός στους χλωροπλάστες κατά Navarri-Iso and Rascio, (1999). s-ένζυμο: ένζυμο του στρώματος των χλωροπλάστων, t-ένζυμο: ένζυμο των μεμβρανών των θυλακοειδών.

Η ρίζα O_2^- που διαφεύγει από την πρώτη γραμμή άμυνας προς το υδατικό διάλυμα του στρώματος των χλωροπλαστών πάλι μετατρέπεται σε H_2O_2 και μετά σε νερό, από τη διαδοχική δράση των υδατοδιαλυτών SOD και APX. Στο στρώμα πολλά μόρια MDHA που δε μετατρέπονται σε AsA γίνονται διϋδροασκορβικό οξύ (DHA) μετά από μια αυθόρμητη αντίδραση η οποία ευνοείται σε όξινο pH (Εξίσωση 12). Το DHA γίνεται πάλι AsA με τη ρεδοκτάση του διϋδροασκορβικού, η οποία χρησιμοποιεί ως δότη ηλεκτρονίων τη γλουταθειόνη (GSH). Το DHA διαχέεται εύκολα δια μέσου των μεμβρανών. Το ένζυμο ρεδοκτάση της γλουταθειόνης επαναφέρει τη GSH στην ανηγμένη της μορφή (από GSSG σε GSH) με τη δαπάνη ενός μορίου NADPH (Asada, 1996; Navarri-Issso and Rascio, 1999). Με την αναγωγή της οξειδωμένης γλουταθειόνης κλείνει ο κύκλος γλουταθειόνης - ασκορβικού οξέος. Η δράση των SOD και APX των μεμβρανών και του στρώματος αντιστοιχούν στις εξισώσεις 4, 5 του κύκλου νερού – νερού, ενώ η αναγωγή του οξειδωμένου ασκορβικού οξέος σε AsA στην εξίσωση 6.

1.10.3 Η ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ

Όλοι οι παραπάνω μηχανισμοί συνδυάζονται στην προσπάθεια του κυττάρου να αντιμετωπίσει αυτή την οξειδοαναγωγική εκτροπή, η οποία είναι αποτέλεσμα των αβιοτικών καταπονήσεων. Η πιο διαδομένη συνδυαστική δράση αντιοξειδωτικών παραγόντων είναι ο κύκλος γλουταθειόνης και ασκορβικού οξέος που περιγράφηκε παραπάνω (Σχήμα 2). Η μεταβολική οδός της α-τοκοφερόλης και η δράση της στην αντιοξειδωτική άμυνα των μεμβρανών συνδέεται με το ασκορβικό οξύ. Οι φαινολικές ουσίες εξουδετερώνουν τις EPO, από μόνες τους ή σε συνεργασία με ενζυμικά συστήματα (για παράδειγμα POD). Επίσης κατά τη διαδικασία αυτή μετατρέπονται

σε φαινολικές ρίζες τις οποίες το ασκορβικό οξύ και η γλουταθειόνη αναλαμβάνουν να επαναφέρουν στην αρχική τους ανηγμένη μορφή (Blokchina et al., 2003).

1.10.4 ΟΣΜΩΡΥΘΜΙΣΤΕΣ

Πέραν των αντιοξειδωτικών μηχανισμών, τα φυτά αντιδρούν στην επίδραση των καταπονήσεων και με άλλους μηχανισμούς ανοχής όπως η συσσώρευση οσμωρυθμιστών. Οι οσμωρυθμιστές είναι ουσίες οι οποίες με την παρουσία τους ελέγχουν το υδατικό δυναμικό των κυττάρων. Με αυτό τον τρόπο τα φυτά μπορούν να ανεχτούν προσωρινά ή μακροπρόθεσμα την υδατική καταπόνηση. Οι ουσίες αυτές ανεξαρτήτως μοριακού βάρους συσσωρεύονται στο κυτταρόπλασμα έτσι ώστε να μειωθούν οι απώλειες ύδατος σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Reddy et al., 2004b). Στην κατηγορία αυτή μπορεί να ανήκουν μεγαλομοριακές ενώσεις όπως πρωτεΐνες, και μάλιστα τύπου LEA (Late embryogenesis abundant) (Bray, 1997), πολύ- ή ολιγοσακχαρίτες (π.χ. τρεαλόζη, μαννιτόλη, η πινιτόλη), αμινοξέα (π.χ., η προλίνη), πολυόλες, οργανικά οξέα και άλλοι οσμωρυθμιστές όπως η βεταΐνη της γλυκίνης και ανόργανα ιόντα (π.χ. K^+) (Dichio et al., 2003; Johnson et al., 1993; Dichio et al., 2005; Reddy et al., 2004b).

Η συνεισφορά των οσμωρυθμιστών στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς δεν είναι άμεση αν και υπάρχουν ενδείξεις για το αντίθετο για ορισμένους όπως η προλίνη (Hoque et al., 2007; Chen and Murata, 2002). Τα μόρια αυτά δρουν ανασταλτικά της αφυδάτωσης του κυττάρου, κυρίως μειώνοντας το οσμωτικό δυναμικό των κυττάρων, αναγκάζοντας έτσι αφενός μεν μόρια νερού να κινηθούν προς το κύτταρο και αφετέρου αυξάνουν την συγκράτηση αυτών μέσα στο κύτταρο. Ακόμα βοηθούν στην προστασία της ακεραιότητας των μεμβρανών και ενισχύουν την αποτελεσματικότητα και την παρουσία των αντιοξειδωτικών ενζύμων με την

προστασία τους από την αποδόμηση και με την ενίσχυση της ενεργότητάς τους (Makela et al., 1996; Rajashekar et al., 1999; Ashraf and Foolad, 2007; Hoque et al., 2007; Zhao et al., 2007).

1.11 ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

1.11.1 Η ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ ΣΤΟ ΞΗΡΟΘΕΡΜΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Από δομικής άποψης το δένδρο της ελιάς έχει προσαρμοστεί στο άνυδρο περιβάλλον των μεσογειακών κλιμάτων. Ξεκινώντας από τα φύλλα βλέπουμε ότι είναι υποστοματικά, φέρουν προστατευτικές τρίχες και εκτεταμένη κάλυψη από στρώματα κουτίνης στο πάνω μέρος τους (Chartzoulakis et al., 1997). Επίσης η πάνω επιφάνεια των φύλλων ανακλά με επιτυχία σημαντικές ποσότητες της προσπίπτουσας ηλιακής ακτινοβολίας. Ένας ακόμη πολύ σημαντικός μηχανισμός στην εξοικονόμηση νερού είναι η μεγάλη συμπίεση και οι πολλές στρώσεις του δρυφρακτοειδούς παρεγχύματος. Τα φύλλα της ελιάς ακολουθούν παραηλιοτροπική κίνηση (θέση ελάσματος του φύλλου παράλληλη των ακτίνων του ήλιου) και αποφεύγουν την απευθείας έκθεση στο ήλιο (Fernandez et al., 1997). Αυτή η τακτική μαζί με το καροόλλισμα μειώνει αποτελεσματικά τις απώλειες σε νερό μέσω της διαπνοής (Fernandez et al., 1997; Pastenes et al., 2004). Τα συμπτώματα έλλειψης νερού στα φύλλα και η επαναφορά τους σε σπαργή γίνεται γρηγορότερα από άλλα πολυετή φυτά, καθώς το υδατικό περιεχόμενο των φύλλων στον κορεσμό είναι πολύ μικρότερο από άλλα είδη (Fernandez et al., 1997).

Τα αγγεία του ξύλου από τις ρίζες έως τα φύλλα χαρακτηρίζονται από μικρή υδραυλική αγωγιμότητα, οπότε ακόμα και σε πολύ άνυδρα περιβάλλοντα, το νερό

στο εσωτερικό των αγγείων φτάνει και εξέρχεται από τα φύλλα με πολύ αργό ρυθμό. Τέλος, έχει τέτοιο οσμωτικό δυναμικό που της επιτρέπει την απορρόφηση εδαφικού νερού που συγκρατείται με ισχυρές μυζητικές δυνάμεις και επίσης υπάρχει ενεργητικός έλεγχος της στοματικής δραστηριότητας, η οποία προσαρμόζεται κατάλληλα για τη μέγιστη εξοικονόμηση νερού (Fernandez et al., 1997).

Όσον αφορά τη συμπεριφορά των δέντρων της ελιάς στην οξειδωτική καταπόνηση λόγω υδατικής καταπόνησης αναφέρεται από τους Sofó et al. (2004) και Sofó et al. (2005) ότι τα φυτά της ελιάς ποικιλίας Coratina τα οποία υποβλήθηκαν σε σταδιακή υδατική καταπόνηση και μετά σε άρδευση, σε περιβάλλον αυξημένης θερμοκρασίας και ηλιακής ακτινοβολίας, αύξησαν τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών μηχανισμών τους. Η αντίδραση αυτή θεωρήθηκε ως ένδειξη της ανθεκτικότητας τους στην αυξημένη παρουσία ΕΡΟ. Όταν μετά την ξηρασία έγινε επανέναρξη των αρδεύσεων παρατηρήθηκε μείωση της ενεργότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων (APX, CAT, POD, λιποξειγενάση-LOX) ενώ ταυτόχρονα υπήρξε αύξηση της ενεργότητας της πολυφαινολοξειδάσης. Παρατηρήθηκε λοιπόν ότι η άρση της υδατικής καταπόνησης ως αιτίου της οξειδωτικής καταπόνησης, τείνει να επαναφέρει τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς των δένδρων της ελιάς στα αρχικά τους επίπεδα.

Όταν σε ελαιόδεντρα των ποικιλιών Cobrancosa, Madural και Verdeal Transmontana εφαρμόστηκαν διάφορα προγράμματα άρδευσης, παρατηρήθηκε έντονη οξειδωτική καταπόνηση όταν βρέθηκαν σε συνθήκες υδατικής ανεπάρκειας.

Από τα πειραματικά αποτελέσματα παρατηρήθηκε ότι ενεργοποιήθηκαν κάποιοι αμυντικοί μηχανισμοί με αποτέλεσμα την αύξηση των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών και των ολικών φαινολικών ουσιών. Φαίνεται ότι υπάρχει διαφορά στην ανθεκτικότητα

της ελιάς στην υδατική καταπόνηση μεταξύ των διαφορετικών ποικιλιών και η Cobrancosa ίσως να είναι η καλύτερα προσαρμοσμένη ποικιλία (Bacelar et al., 2006).

Σε δέντρα ελιάς, ποικιλίας Cobrancosa, τα οποία δέχθηκαν τρία διαφορετικά προγράμματα άρδευσης με βάση την εξατμισοδιαπνοή, παρατηρήθηκε από τους Bacelar et al. (2007), ότι τα δέντρα που δέχθηκαν το περισσότερο νερό υπέστησαν μικρότερης έντασης οξειδωτική καταπόνηση. Αντίθετα στα ξηρικά δέντρα μειώθηκε η συγκέντρωση των χλωροφυλλών και αυξήθηκε η οξείδωση των λιπιδίων όπως αυτή μετρήθηκε από τη συγκέντρωση των ενεργών ουσιών του θειοβαρβιτουρικού οξέος. Η ενεργότητα της SOD αυξήθηκε στα ξηρικά δέντρα ενώ το γεγονός ότι η ενεργότητα της POD γκουαϊακόλης (Guaiacol) μειώθηκε στα ίδια δέντρα, αποτέλεσε ένδειξη ότι το τελευταίο ένζυμο δε έχει σημαντική λειτουργία στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς της ελιάς.

Επειδή η βιβλιογραφία σε ότι αφορά την επίδραση της υδατικής καταπόνησης στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς της ελιάς είναι περιορισμένη θα γίνει αναφορά σε αντίστοιχη βιβλιογραφία που αφορά και άλλα φυτικά είδη. Για παράδειγμα σε πειράματα με δέντρα του φυτού *Arbutus unedo* L., βρέθηκε ότι η μέτρια υδατική καταπόνηση προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης της α-τοκοφερόλης ενώ έμειναν αμετάβλητα τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος και των φωτοσυνθετικών χρωστικών. Η οξεία υδατική καταπόνηση διατήρησε υψηλά τα επίπεδα της α-τοκοφερόλης ενώ αυξήθηκαν τα επίπεδα της ζεαξανθίνης και του ασκορβικού οξέος, το οποίο μάλιστα βρέθηκε περισσότερο στην οξειδωμένη του μορφή. Οι χλωροφύλλες, το β-καροτένιο και η λουτεΐνη μειώθηκαν. Τα αποτελέσματα αυτά επαληθεύουν την ύπαρξη οξειδωτικής καταπόνησης κατά την έλλειψη διαθέσιμου νερού και ότι οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί συμβάλλουν στην αντιμετώπισή της (Munne-Bosch and Penuelas, 2004).

Συνεπώς, η υδατική καταπόνηση μεταβάλλει την δράση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών των φυτών και εξαρτάται αυτή η μεταβολή από το είδος του φυτού και την ένταση της υδατικής καταπόνησης.

1.11.2 Η ΚΑΛΥΨΗ ΜΕ ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΚΑΟΛΙΝΙΤΗ

Ο καολινίτης είναι αργιλικό ορυκτό, το οποίο μετά από κονιορτοποίηση, λαμβάνει μορφή λευκής πούδρας η οποία αποτελείται από σωματίδια με μέγεθος μικρότερο των 2μm. Τα σωματίδια του καολινίτη με κατάλληλη επεξεργασία αποκτούν υδρόφιλο χαρακτήρα, ώστε αναμιγνύόμενα με νερό να δίνουν ένα γαλακτώδες εναιώρημα. Με το ψεκασμό του εναιωρήματος στα φυτά επιτυγχάνεται η κάλυψή τους με καολινίτη. Συγκεκριμένα μετά το ψεκασμό και την εξάτμιση του νερού του εναιωρήματος, δημιουργείται λευκή επίστρωση αλευρώδους υφής, πάνω στα φυτά (Glenn et al., 2001; Rosati et al., 2006a; Saour 2006).

Η κάλυψη των φύλλων με στρώσεις από σωματίδια υλικών όπως ο καολινίτης, βελτιώνει τη συμπεριφορά των φυτών απέναντι και στις αβιοτικές και στις βιοτικές καταπονήσεις (Glenn et al., 2001; Saour, 2006). Η παρεμπόδιση της απευθείας έκθεσης των φύλλων στο ηλιακό φως και η αύξηση της ποσότητας της ανακλώμενης ακτινοβολίας δημιουργεί κατά κάποιο τρόπο συνθήκες σκίασης. Ως αποτέλεσμα της κάλυψης, παρατηρείται πτώση της θερμοκρασίας των καλυμμένων φύλλων σε σύγκριση με τα ακάλυπτα, μείωση της απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας, αποτελεσματικότερη χρήση του νερού και συνέχιση της αφομοίωσης του CO₂, σε συνθήκες υπό τις οποίες αναστέλλεται η φωτοσυνθετική δραστηριότητα των ακάλυπτων φύλλων (Glen et al., 2001; Glenn et al., 2003; Rosati et al., 2006a; Rosati et al., 2006b; Saour, 2006).

Την ίδια στιγμή η στρώση σωματιδίων καολινίτη προστατεύει τα φυτά από βιοτικούς παράγοντες, όπως φυτοφάγα έντομα και εξωπαρασιτικούς μύκητες. Τα μεν έντομα με μασητικά ή μυζητικά στοματικά μόρια δυσκολεύονται να έρθουν σε επαφή με τα καλυπτόμενα μέρη και δεύτερον αποστρέφονται τη γεύση των καταναλισκόμενων ιστών (Glenn et al., 2003; Rosati et al., 2006a). Ορισμένοι φυτοπαθογόνοι μύκητες δεν αναπτύσσονται διότι παρεμποδίζεται η μοριακή επικοινωνία παράσιτου – ξενιστή (Walters, 2006).

Οι βιβλιογραφικές αναφορές στη χρήση σωματιδίων καολινίτη για την αντιμετώπιση των επιδράσεων της υδατικής καταπόνησης και της υψηλής θερμοκρασίας είναι αρκετές. Ωστόσο λίγες είναι αυτές που καταγράφουν και τη συμπεριφορά των αντιοξειδωτικών μηχανισμών των φυτών που καλύφθηκαν. Σε φυτώριο με νεαρά σπορόφυτα ελιάς, η κάλυψη με καολινίτη αύξησε τα ποσοστά επιβίωσης και την ποιότητα των παραγόμενων σποροφύτων (Saour, 2006), βελτιώνοντας την υδατική οικονομία και το φωτοσυνθετικό ρυθμό των δέντρων. Η χρήση του καολινίτη σε φυτά σόγιας και αγγινάρας έδειξε ότι υπάρχει αύξηση της ανάκλασης και μείωση της θερμοκρασίας του φύλλου (Glenn et al., 2001). Σε φυτά μηλιάς (Glenn et al., 2003), σε φυτά καρυδιάς και αμυγδαλιάς (Rosati et al., 2006a; Rosati et al., 2006a) η χρήση καολινίτη ευνόησε την ανάπτυξη, την παραγωγή και την αντοχή των φυτών σε συνθήκες υψηλής ακτινοβολίας, θερμοκρασίας και υδατικής καταπόνησης σε σχέση με τα μη ψεκασμένα φυτά.

1.11.3 Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΟΣΜΩΡΥΘΜΙΣΤΗ

Στα φυτά έχει καταγραφεί η αύξηση της συγκέντρωσης των κυτταρικών διαλυτών ως αντίδραση στην καταπόνηση από τη ξηρασία και την υψηλή αλατότητα για να μειωθεί το κυτταρικό υδατικό δυναμικό (Agboma et al., 1997; Makela et al., 1998; Norikazu and Murata, 1998; Chen and Murata 2002). Μια από τις ουσίες που έχει βρεθεί να συσσωρεύεται υπό συνθήκες καταπόνησης είναι ένα τεταρτοταγές σύμπλοκο του αμμωνίου, η βεταΐνη της γλυκίνης. Η παρουσία της στο κύτταρο σταθεροποιεί την δομή και τη λειτουργία ενζύμων, δομικών πρωτεϊνών, τη λειτουργία των μεμβρανών (Mikela, 1998; Norikazu and Murata, 1998) και το φωτοσυνθετικό μηχανισμό (Zhao et al., 2007).

Η βεταΐνη της γλυκίνης συντίθεται στους γλωσσοπλάστες μετά την οξείδωση της χολίνης σε δύο στάδια, από τα ένζυμα της μονοξειγενάση της γλυκίνης και μετά από την αφυδρογονάση της βεταΐναλδεΐδης (Makela et al., 1996; Chen and Murata, 2002; Ashraf and Foolad, 2007), ενώ φαίνεται ότι και τα υπεροξειδώματα συμμετέχουν έμμεσα στη βιοσύνθεσή της (del Rio et al., 2006). Στα φυτά που δεν ανιχνεύτηκε η βεταΐνη της γλυκίνης έχει παρατηρηθεί η απουσία των ενζύμων αυτών (Makela et al., 1998; Norikazu and Murata, 1998). Η βεταΐνη της γλυκίνης μπορεί να απορροφάται από τα φύλλα χωρίς πρόβλημα, αλλά έχουν παρατηρηθεί και τοξικότητες σε ορισμένα φυτά (Makela et al., 1996). Από τα φύλλα όπου συντίθεται ή απορροφάται μετά από εξωγενή εφαρμογή, η ουσία μεταφέρεται και σε κύτταρα άλλων φυτικών μερών (στέλεχος, ρίζες) διαμέσου του ηθμού (Makela et al., 1996). Η εφαρμογή της βεταΐνης της γλυκίνης εξωγενώς, αύξησε τη συγκέντρωσή της στα φύλλα. Η αύξηση της συγκέντρωσης βεταΐνης της γλυκίνης στα φύλλα, είχε θετικά αποτελέσματα στο περιορισμό των συνεπειών των καταπονήσεων σε φυτά σόγιας (Agboma et al., 1997) σε ότι αφορά το υδατικό περιεχόμενο και τη φωτοσύνθεση, σε

καπνό, σόργο, φασόλι (Ashraf and Foolad, 2007) σε τομάτα (Makela et al., 1996), σε βαμβάκι (Lv et al., 2007) και σε φράουλα (Rajashekar et al., 1999).

1.11.4 Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ AMBIOL

Η ένωση 2 - methyl - 4 - dimethyl - aminomethyl - 5 - hydroxybenzimidazole dihydrochloride (Ambiol), είναι ένας νέος συνθετικός αντιοξειδωτικός παράγοντας, ο οποίος παράλληλα φαίνεται να επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών (Platonova et al., 2002; Islam et al., 2003; Lada et al., 2005). Με την εφαρμογή του στα φυτά έχει παρατηρηθεί η θετική του επίδραση στην αντιμετώπιση των συνεπειών της υδατικής καταπόνησης (Islam et al., 2003; Lada et al., 2005), βελτιώνοντας μεταξύ άλλων τη σύνθεση και τη λειτουργία των μεμβρανών και την φωτοσυνθετική τους συμπεριφορά. Οι αντιοξειδωτικές του ιδιότητες έχουν να κάνουν κυρίως με την προστασία των κυτταρικών μεμβρανών από την οξείδωση των λιπιδίων (Islam et al., 2003). Η στενή σχέση του Ambiol με τους ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών, ίσως ευθύνεται για τις παρατηρούμενες αλλαγές στη φυσιολογία και στο επίπεδο των ενδογενών φυτορρυθμιστών (Kirilova et al., 2003), αλλά και τις μορφολογικές αλλαγές σε επίπεδο κυττάρου (Platonova et al., 2004) και μακροσκοπικά (Platonova et al., 2002; Islam et al., 2003; Lada et al., 2005), στα φυτά που δόθηκαν την εξωγενή εφαρμογή του.

1.12 ΟΙ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΥΔΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ

Η πλήρης αποφυγή της υδατικής καταπόνησης στις περιοχές καλλιέργειας της ελιάς είναι αδύνατη. Η έλλειψη νερού για άρδευση πρέπει να θεωρείται δεδομένη για τις επόμενες δεκαετίες (Ashraf and Foolad, 2007) και οι σποραδικές βροχοπτώσεις θα οξύνουν το πρόβλημα. Μέχρι την ολοκλήρωση της εύρεσης και διάδοσης ποικιλιών που αποδίδουν ικανοποιητικά σε συνθήκες έλλειψης νερού, η ελαιοκαλλιέργεια θα συνεχίσει με τις υπάρχουσες εγκλιματισμένες σε κάθε περιοχή ποικιλίες, με σχεδιασμένα προγράμματα άρδευσης, όπου υπάρχει η δυνατότητα άρδευσης και τέλος με καλλιεργητικές τεχνικές οι οποίες εφαρμόζονται στα δέντρα - προληπτικά και θεραπευτικά - και βοηθούν στην καλύτερη διαχείριση της υδατικής καταπόνησης.

Τα προληπτικά μέτρα αντιμετώπισης της υδατικής καταπόνησης έχουν να κάνουν με την κατεργασία και την αλλαγή των ιδιοτήτων του εδάφους και επιπλέον σε ότι αφορά τις δενδρώδεις καλλιέργειες, με το επιλεγόμενο σύστημα διάταξης και μόρφωσης των φυτών. Τα θεραπευτικά μέτρα αποτελούν τα μέτρα που λαμβάνονται κατά την περίοδο της υδατικής καταπόνησης με σκοπό να μετριάσουν τις δυσμενείς επιπτώσεις και μετά το τέλος της υδατικής καταπόνησης, να επιτευχθεί η ταχύτερη ανάκαμψη των φυτών στη κανονική φυσιολογική τους κατάσταση (ανακούφιση).

Οι στρατηγικές για την ανακούφιση και διαχείριση της υδατικής καταπόνησης μπορεί να έχουν τις εξής κατευθύνσεις:

- Την σκίαση των φυτών
- Την αύξηση των δυνάμεων απορρόφησης και συγκράτησης του νερού από τα κύτταρα
- Την ενίσχυση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών των φυτών

Με την σκίαση των φυτών επιτυγχάνεται η μείωση της θερμοκρασίας της φυλλικής επιφάνειας, η μείωση της φωτοδιέγερσης των χρωστικών των PSI και II αλλά ταυτόχρονα μείωση της φωτοσύνθεσης. Αποτέλεσμα της σκίασης σε συνθήκες έλλειψης εδαφικής υγρασίας, είναι η μείωση της έντασης της διαπνοής, τα στομάτια κλείνουν αργότερα και το κλείσιμο των στοματίων συνοδεύεται με ηπιότερη οξειδωτική καταπόνηση η οποία είναι ευκολότερα αντιμετωπίσιμη από τους υπάρχοντες ενδογενείς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς.

Η σκίαση των φυτών μπορεί να επιτευχθεί είτε με την κάλυψη των φυτών κάτω από επιφάνειες που ανακλούν το φως, είτε με την αύξηση της ανακλαστικής ικανότητας της φυλλικής τους επιφάνειας. Η πρώτη επιλογή είναι ανεφάρμοστη σε φυτά υψηλά και μεγάλου όγκου. Η δεύτερη τεχνική απαιτεί υλικά που καλύπτουν επαρκώς και για ικανοποιητικό χρονικό διάστημα τα φύλλα, ενισχύουν αποτελεσματικά την ανακλαστική ικανότητα των φύλλων, επιτρέπουν τις φυσιολογικές διεργασίες και δεν είναι επιβλαβή για τα φυτά (π.χ. σωματίδια καολινίτη).

Η απορρόφηση και η συγκράτηση του νερού από τα κύτταρα ελέγχεται κατεξοχήν από την συγκέντρωση και το είδος των ενδογενών οσμωρυθμιστών και

των αντιδιαπνευστικών ουσιών κάλυψης των φύλλων. Η συγκέντρωση οσμωρυθμιστών σε μεγαλύτερες του κανονικού συγκεντρώσεις μέσα στο κύτταρο με εξωγενή εφαρμογή θεωρητικώς θα συνεπικουρούσε στην επιβίωση-αντίσταση των κυττάρων, επομένως και ολόκληρων των φυτών στη ξηρασία. Τέτοιες ουσίες είναι η βεταΐνη της γλυκίνης, τα αμινοξέα ασπαραγινικό οξύ, προλίνη και άλλες ενώσεις.

Η ενίσχυση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών του κυττάρου γίνεται με την παροχή εξωγενώς μιας ουσίας η οποία είτε θα οξειδώνεται η ίδια, είτε θα ενισχύει τη δράση των ενζυμικών και μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Η ενίσχυση θα επιτυγχάνεται είτε προστατεύοντας ή ρυθμίζοντας τη βιοσύνθεση των αντιοξειδωτικών ενώσεων, είτε προωθώντας τη δράση και τη βιοσύνθεση των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Τέτοιες ουσίες είναι το ασκορβικό οξύ, το σαλικυλικό οξύ, το γασμονικό οξύ και άλλες, καθώς και συνθετικά αντιοξειδωτικά όπως το Ambiol.

1.13 ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Ο σκοπός του πειράματος ήταν η μελέτη της επίδρασης της υδατικής καταπόνησης σε δέντρα ελιάς δύο ποικιλιών, Κορωνέικης και Χοντροελιάς Χαλκιδικής και η διερεύνηση τρόπων εξωγενούς παρέμβασης για να μετριαστούν οι δυσμενείς συνέπειές της. Πιο συγκεκριμένα, στόχος του πειράματος ήταν η μελέτη του τρόπου που ανταποκρίνονται τα φυτά στην οξειδωτική καταπόνηση, ως αποτέλεσμα της υδατικής καταπόνησης και κατά πόσο η κάλυψη των φυτών με σωματίδια καολινίτη και η εξωγενής εφαρμογή της βεταΐνης της γλυκίνης και της αντιοξειδωτικής ουσίας Ambiol, βοηθά τα φυτά στην περίοδο υδατικής καταπόνησης και μετά το τέλος αυτής.

2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΤΟ ΦΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Το πείραμα έλαβε χώρα σε θέση του δενδροκομείου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Εικόνα 4), με γεωγραφικό πλάτος: $37^{\circ} 58' N$, γεωγραφικό μήκος: $23^{\circ} 32' E$ και υψόμετρο από τη θάλασσα 30 μέτρα. Οι επεμβάσεις στα φυτά έλαβαν χώρα από τις 23 Ιουλίου έως της 18 Αυγούστου 2006. Η μελέτη διεξήχθη σε δέντρα δύο ποικιλιών ελιάς, Κορωνέικη και Χοντροελιά Χαλκιδικής, ηλικίας 2 ετών, υγιή, αυτόριζα, τα οποία μεταφυτεύτηκαν σε πλαστικές γλάστρες, όγκου 20 lt με εδαφικό μίγμα εδάφους με τύρφη και περλίτη σε αναλογία 4:1:1. Οι περιβαλλοντικές καταπονήσεις στο πειραματικό αγρό ήταν αισθητές, με υψηλές θερμοκρασίες, με υψηλά επίπεδα ηλιακής ακτινοβολίας και χωρίς βροχόπτωση.



Εικόνα 4. Ο χώρος του πειραματικού αγρού στο δενδροκομείο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Με βάση την ανάλυση του εδάφους (Πίνακας 2), το εδαφικό μίγμα χαρακτηρίζεται ως αμμοίλυδες εδάφος (sandy loam), είναι αλκαλικής αντίδρασης (pH 8.3) και με 32% ολικό CaCO_3 . Η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων είναι 9,1 meq/100g εδάφους και με περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα 0,75 %. Το νερό άρδευσης είχε pH 6.83 και αγωγιμότητα 272 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Πίνακας 2. Αποτελέσματα εδαφικής ανάλυσης

Μεταβλητή	Μέτρηση
Κοκκομετρική σύσταση	sandy loam
pH	8.32
$\text{CaCO}_3\%$	32
ΙΑΚ(meq/100g)	9.1
ΟΡΓΑΝΙΚΟΣ C%	0.75
P ($\mu\text{g}/\text{gr}$)-Olsen	62.8
Ca (meq/100g)	19.4
Mg (meq/100g)	1.24
K (meq/100g)	5.1
Na (meq/100g)	0.73
Ολικό N%	0.2

Χρησιμοποιήθηκαν στο σύνολο 128 ελαιόδεντρα από 64 δέντρα σε κάθε ποικιλία, με σχήμα κόμης κυπελλοειδές με ελεύθερη ανάπτυξη. Τα φυτά δέχθηκαν 8 επεμβάσεις, κάθε μια από τις οποίες εφαρμόστηκε με τον ίδιο τρόπο σε 4 πειραματικά τεμάχια. Το πειραματικό τεμάχιο αποτελούσαν 2 φυτά της ίδιας ποικιλίας (8 επεμβάσεις x 4 πειραματικά τεμάχια x 2 φυτά ανά τεμάχιο x 2 ποικιλίες = 128). Επίσης παραπλεύρως του πειραματικού χώρου διατηρήθηκαν 8 δέντρα ελιάς, και των δύο ποικιλιών, ίδιας ηλικίας, μορφής και σε ίδιο τύπου πλαστικής γλάστρας για την καταγραφή του σταδίου ανάπτυξης σύμφωνα με την κλίμακα ανάπτυξης της ελιάς BBCH των Sanz-Cortés et al. (2002) (βλέπε παράρτημα Ι).

Τα πειραματικά τεμάχια (2 γλάστρες με φυτά της ίδιας ποικιλίας) τοποθετήθηκαν σε θέσεις στον πειραματικό αγρό ακολουθώντας το εντελώς τυχαίοποιημένο σχέδιο (Σχήμα 3).

CC-CW-4	KR-AD-4	KR-BSD-3	CC-BSD-2	KR-AD-2	KR-SD-1
KR-AW-4	CC-AW-4	KR-SW-3	CC-SD-2	KR-SW-1	CC-SW-1
CC-BSD-4	CC-SD-4	CC-BSW-3	KR-AW-2	CC-SW-2	KR-CD-1
	CC-CW-3	CC-CD-3	KR-CW-2	CC-AD-2	KR-BSW-1
KR-SD-4	KR-SW-4	CC-CW-2	KR-SD-3	CC-AW-2	CC-CD-1
KR-BSW-4	KR-CD-3	CC-SW-3	CC-AD-3	KR-BSW-2	KR-AD-1
CC-CD-4	CC-BSD-3	KR-CW-3	KR-SW-2	KR-CD-2	CC-SD-1
KR-BSD-4	KR-AW-3	KR-BSD-2	CC-CD-2	CC-BSD-1	KR-CW-1
KR-CW-4		KR-BSW-3	CC-BSW-2	CC-CW-1	CC-AD-1
KR-CD-4	CC-BSW-4	CC-SD-3	KR-AD-3	KR-BSD-1	CC-AW-1
CC-SW-4	CC-AD-4	CC-AW-3	KR-AW-1	KR-SD-2	CC-BSW-1

Σχήμα 3. Τυχαιοποίηση των πειραματικών τεμαχίων στον πειραματικό αγρό. Κάθε πειραματικό τεμάχιο περιλαμβάνει δύο δέντρα. Επεξηγήσεις : KR, δέντρα ποικιλίας ελιάς Κορωνέικη – CC, δέντρα ποικιλίας ελιάς Χοντροελιά Χαλκιδικής – A, ψεκασμός με το σκεύασμα Ambiol – BS, ψεκασμός με το σκεύασμα Bluestim® WP – S, ψεκασμός με το σκεύασμα Surround® WP – C, μάρτυρας – W, τακτικά αρδευόμενα δέντρα – D, δέντρα σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.

Μετά την οριστικοποίηση των θέσεων των πειραματικών τεμαχίων εγκαταστάθηκε αρδευτικό σύστημα με οριζόντιους σωλήνες (Φ 25) και αυτορρυθμιζόμενους σταλάκτες μεμβράνης οι οποίοι ανά δύο κατέληγαν σε μία γλάστρα. Η παροχή των σταλακτών στη γλάστρα ήταν 4lt/h. Μετά την εγκατάσταση του αρδευτικού συστήματος οι γλάστρες τοποθετήθηκαν σε ύψος 10 cm από το έδαφος, καλύφθηκαν με αδιαφανές πλαστικό για την μείωση των απωλειών του νερού της άρδευσης από εξάτμιση και για την αποφυγή εισόδου νερού στα φυτά σε περίπτωση βροχόπτωσης. Η παρεχόμενη ποσότητα του νερού ανά δένδρο κυμαινόταν από 0.8 έως 3.2lt ανά εφαρμογή άρδευσης, σύμφωνα με τις ανάγκες των φυτών σε νερό τις καιρικές συνθήκες και τους σκοπούς του πειράματος. Μετά σημάνθηκαν κατάλληλα τα δέντρα για κάθε επέμβαση και σε ένα φυτό ανά επέμβαση τοποθετήθηκε βαθμονομημένο πλακίδιο Βουγιούκου, για την εκτίμηση της εδαφικής υγρασίας (Εικόνα5).



Εικόνα 5. Βαθμονομημένα πλακίδια Βουγιούκου.

2.2 Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ

Στα φυτά του πειράματος εφαρμόστηκαν δια ψεκασμού τρία σκευάσματα, ένα σκεύασμα σωματιδίων καολινίτη, Surround® WP της εταιρίας ENGELHARD, για την πλήρη κάλυψη των φυτών κατά την περίοδο της εφαρμογής της υδατικής καταπόνησης, ένα σκεύασμα με παράγοντα οσμωρύθμισης, Bluestim ® WP της Verdera με δραστική ουσία την glycine betaine με βαθμό καθαρότητας στο σκεύασμα 95% W/W, και ένας αντιοξειδωτικός παράγοντας, το Ambiol. Οι εφαρμοζόμενες μεταχειρίσεις ήταν 8: κάλυψη με καολινίτη (S), κάλυψη με βεταΐνη της γλυκίνης (BS), κάλυψη με αντιοξειδωτικό ambiol (A) και ο μάρτυρας (Control, C) σε συνθήκες άρδευσης (Watered, W) και υδατικής καταπόνησης (Drought, D).

Η εφαρμογή των σκευασμάτων έγινε ως εξής:

- Surround® WP επανειλημμένη εφαρμογή με δόση 5kg/hl έτσι ώστε να έχουμε πλήρη κάλυψη του φυλλώματος
- BlueStim® WP μια εφαρμογή, με δόση 500g/hl
- Ambiol με δόση 10mg/l

Στο μάρτυρα πραγματοποιήθηκε ψεκασμός του φυλλώματος με νερό.

Για το BlueStim® WP και το Ambiol ο μέσος όγκος του ψεκαστικού διαλύματος που εφαρμόστηκε ήταν 152ml ανά φυτό. Το Surround® WP εφαρμόστηκε τρεις φορές (με συνολικό όγκο 412,5ml ανά φυτό), για να επιτευχθεί η πλήρης κάλυψη του φυλλώματος. Στο ψεκαστικό διάλυμα προστέθηκε το προσκολλητικό Rhino σε δόση 100 ml/hl. Για να αποφευχθεί η διαβροχή των παράπλευρων δέντρων από το ψεκαστικό υγρό άλλης επέμβασης, προστατεύθηκαν τα

παραπλευρα δέντρα, κατά την εφαρμογή των επεμβάσεων στο επιθυμητό δέντρο, με καλύπτρα τύπου κουρτίνας από πλαστικό φύλλο (Εικόνα 6).



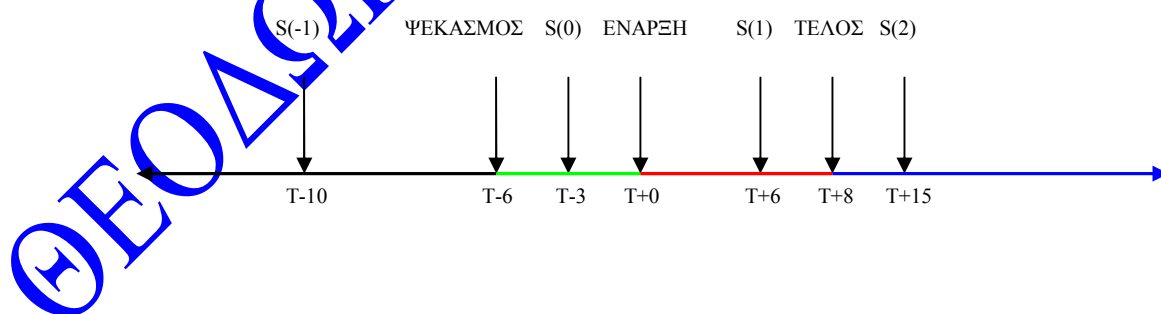
Εικόνα 6. Καλύπτρα τύπου κουρτίνας.

Πριν την εφαρμογή των σκευασμάτων, στα δέντρα της ελιάς τα οποία δέχθηκαν τις επεμβάσεις αφαιρέθηκαν όλοι οι καρποί, ώστε τα φυτά να μην δέχονται την επίδραση της καρποφορίας επί της φυσιολογίας τους, η οποία επιφέρει παραλλακτικότητα λόγω του διαφορετικού αριθμού και βάρους καρπών ακόμα και στα φυτά της ίδιας ποικιλίας (moriana et al, 2003). Οι καρποί διατηρήθηκαν μόνο στα φυτά που βρίσκονταν παραπλεύρως του πειραματικού χώρου και τα οποία αποτέλεσαν δείκτες των φαινολογικών σταδίων ανάπτυξης της ελιάς, όπως αυτά περιγράφονται με βάση την κλίμακα των Sanz-Cortés et al. (2002).

Κατά την εφαρμογή των ψεκασμών το μέσο ύψος των φυτών ήταν 1,70m και η καλλιέργεια βρισκόταν στο στάδιο ανάπτυξης 75-77 (Sanz-Cortés et al., 2002) κατά το οποίο οι καρποί έχουν αποκτήσει το 50-70% του τελικού τους μεγέθους. Το φύλλωμα κατά το ψεκασμό ήταν στεγνό χωρίς ένδειξη φυτοπαθολογικών προβλημάτων. Η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια του ψεκασμού κυμαινόταν από 32-35 °C, η ατμοσφαιρική υγρασία ήταν 31-43%, δεν σημειώθηκε βροχόπτωση τις επόμενες 24 ώρες από το ψεκασμό και η ταχύτητα του ανέμου παρέμεινε μικρή σε επίπεδα που επέτρεπαν το στοχευμένο ψεκασμό των φυτών.

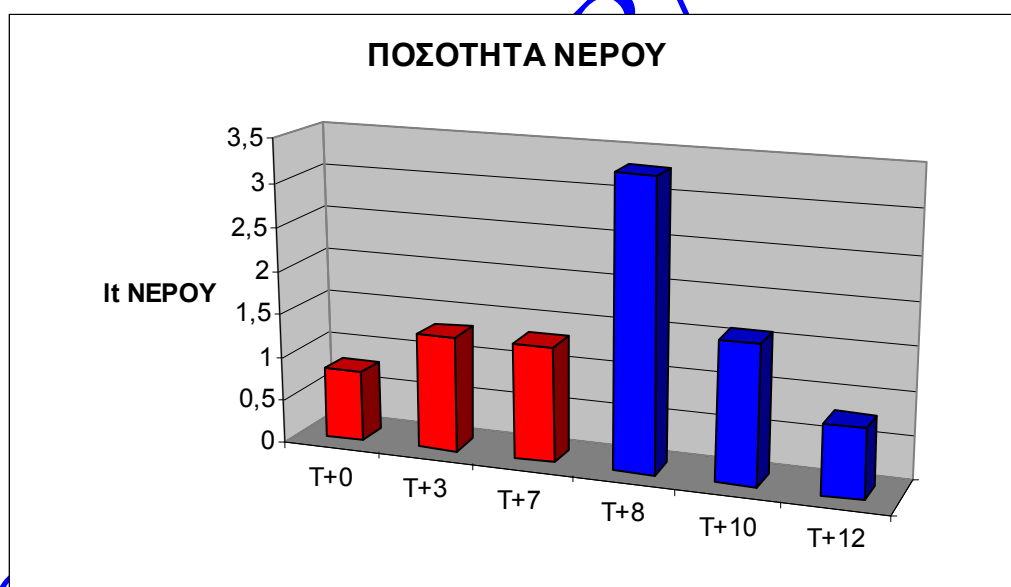
2.3 Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ

Το πείραμα έλαβε κατά το χρονικό διάστημα T από της 23 Ιουλίου έως της 18 Αυγούστου 2006 (Σχήμα 4). Ως χρόνος έναρξης της εφαρμογής της υδατικής καταπόνησης ($T+0$), ορίζεται ο χρόνος που αντιστοιχεί στην έναρξη του χρονικού διαστήματος κατά το οποίο ποτίζονταν μόνο τα αρδευόμενα φυτά.



Σχήμα 4. Η χρονική εξέλιξη (T) του πειράματος στον αγρό: κανονικές αρδεύσεις (πράσινο), υδατική καταπόνηση (κόκκινο), επαναφορά αρδεύσεων (μπλέ), δειγματοληψίες ($S-1$ έως $S2$).

Κατά το χρονικό διάστημα πριν την έναρξη της καταπόνησης, όλα τα φυτά δέχονταν τακτικές αρδεύσεις. Τα φυτά, ποτιστικά και ξηρικά, αρδεύτηκαν για τελευταία φορά μαζί την ημέρα που έγινε ο ψεκασμός των σκευασμάτων. Στη συνέχεια σχεδιάστηκε πρόγραμμα τακτικών αρδεύσεων μόνο για τα αρδευόμενα φυτά (T+0, T+3, T+7). Όσον αφορά τα ξηρικά φυτά, παρέμειναν ουσιαστικά χωρίς άρδευση για δεκαπέντε ημέρες, χρονικό διάστημα αρκετό ώστε να είναι ορατά τα συμπτώματα της έλλειψης ύδατος. Την ημέρα T+8 του πειράματος, ποτίστηκαν και τα ξηρικά φυτά για να ανακουφιστούν από την υδατική καταπόνηση. Η ποσότητα του νερού που δέχτηκαν τα ποτιστικά δέντρα κατά την περίοδο της καταπόνησης και όλα τα φυτά κατά την περίοδο επαναφοράς των αρδεύσεων φαίνεται στο διάγραμμα 1.



Διάγραμμα 1. Η ποσότητα νερού άρδευσης κατά την περίοδο της υδατικής καταπόνησης (κόκκινο) και κατά την επαναφορά των αρδεύσεων (μπλε).

χρήση εκχυλιστή σε όγκους 2x5ml ελάμβανε όλες τις φαινολικές ενώσεις από το δείγμα. Η μεθανόλη και η αλκοόλη είχαν τα ίδια αποτελέσματα χρησιμοποιούμενες στους ίδιους όγκους. Οι συγκέντρωση 75% και 100% (V/v) είχαν

2.3.1.1 ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΗΝ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ (HPLC)

Η αλκοόλη με την βοήθεια ειδικής απλής συσκευής εξατμίστηκε με τη χρήση ροής N_2 από το εναπομείναν αλκοολικό εκχύλισμα, ώστε στους σωλήνες να παραμένει ένα υδατικό υπόλειμμα στο οποίο περιέχονται οι φαινολικές ουσίες των φύλλων. Για τη συνέχεια της ανάλυσης των φαινολικών ουσιών των δειγμάτων στην HPLC, αυτά θα πρέπει να καθαριστούν από όλες τις προσμίξεις και να διαλυθούν στο κατάλληλο διαλύτη.

Ο καθαρισμός των δειγμάτων από τις προσμίξεις έγινε με την χρήση στηλών με σταθερή φάση σωματιδίων C-18 (solid phase extraction columns, SPE reverse phase), τα οποία συγκρατούν τις ανεπιθύμητες προσμίξεις με δυνάμεις λιγότερο ισχυρές από αυτές που συγκρατούν τις φαινολικές ενώσεις, με αποτέλεσμα χρησιμοποιώντας τους κατάλληλους διαλύτες, να απομακρύνονται οι φαινολικές ενώσεις, απαλλαγμένες από ένα μεγάλο ποσοστό των ανεπιθύμητων προσμίξεων. Ο καθαρισμός των δειγμάτων έγινε με τη χρήση μιας ειδικής συσκευής εφαρμογής υποπίεσης για την επίτευξη των επιθυμητών ροών έκλουσης από το υλικό των στηλών (Εικόνα 7).

Η χρήση των στηλών γίνεται ακολουθώντας ένα κύκλο πέντε σταδίων. Αυτά είναι το στάδιο της ενεργοποίησης (conditioning), της προσθήκης του δείγματος, του καθαρισμού του δείγματος (washing), της λήψης του δείγματος (elution), του καθαρισμού του υλικού και η επανενεργοποίησή του για την επαναχρησιμοποίηση των στηλών. Η ενεργοποίηση του υλικού των στηλών έγινε με την έκλυση του υλικού με 3ml μεθανόλης 100% (V/v). Στη συνέχεια από το υλικό διοχετευόταν το δείγμα μας, το οποίο ήταν ένα υδατικό εναιώρημα εντός σωλήνα φυγοκέντρωσης. Από το δείγμα εκπλένονταν οι υδατοδιαλυτές ουσίες με 2x3ml απιονισμένου νερού.

Για την αποφυγή απωλειών δείγματος, το απιονισμένο νερό διοχετευόταν πρώτα στο σωλήνα φυγοκέντρωσης του δείγματος και μετά από εκεί στη στήλη SPE. Στη συνέχεια η λήψη του δείγματος γινόταν με έκλυση του υλικού των στηλών με 3ml μεθανόλης 100% (V/v). Ο καθαρισμός του υλικού γινόταν με 3ml εξανίου 100% (V/v).



Εικόνα 7. Ειδική συσκευή υποπίεσης.

Ως διαλύτες για την λήψη του δείγματος χρησιμοποιήθηκαν η μεθανόλη 100% και ο οξικός αιθυλεστέρας 100% (V/v). Ο έλεγχος για την επιλογή του κατάλληλου διαλύτη και εφαρμοζόμενου όγκου έγινε με τη μέθοδο μέτρησης των ολικών φαινολικών ενώσεων. Επιλέχθηκε η χρήση έκλυσης του υλικού με 3ml μεθανόλης γιατί στον ίδιο όγκο ο οξικός αιθυλεστέρας άφηνε υπολείμματα των φαινολικών στο υλικό της στήλης.

Μετά τη λήψη του μεθανολικού εκχυλίσματος του δείγματος σε δοκιμαστικούς σωλήνες, έγινε η συμπύκνωσή του από τα 3ml, στα 500μl μεθανόλης, αφού προηγουμένως εξατμίστηκε πλήρως η μεθανόλη με τη βοήθεια ειδικής απλής συσκευής υπό τη ροή N₂. Τα 500μl του δείγματος φιλτράρονταν με ειδικά φίλτρα με πόρους 0,25μm, τοποθετούνταν σε erpendorf και στη συνέχεια τοποθετούνταν στην κατάψυξη, μέχρι την ανάλυση τους.

Η ανάλυση των συστατικών του φαινολικού κλάσματος των δειγμάτων έγινε με την χρήση HPLC (HP 1050), με UV ανιχνευτή. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε είναι Lichrospher-RP18. Η κινητή φάση περιείχε ακετονιτρίλιο, οξικό οξύ και νερό σε αναλογία 79 – 1 – 23 . Η θερμοκρασία της στήλης ήταν 28°C, το μήκος κύματος του ανιχνευτή 280nm και χρησιμοποιήθηκε πρόγραμμα μεταβλητής ροής της κινητής φάσης (πίνακας 3) για τον καλύτερο διαχωρισμό των ουσιών.

Πίνακας 3. Μεταβολή της ροής της κινητής φάσης κατά την ανάλυση των φαινολικών ουσιών με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας

Χρόνος(min)	Ροή (ml/min)
0 - 10	0,1
10,5 - 15	0,25
15,5 - 18	0,5
18,5 - 20	1
20,5-30	1,8

Οι ενώσεις που ανιχνεύθηκαν, ταυτοποιήθηκαν με την λήψη των φασμάτων τους, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα των προτύπων ενώσεων και με βάση το χρόνο έκλουσής τους από τη στήλη (πρβλ. παράρτημα II).

2.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ-ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, πειραματικό σχέδιο που ακολουθήθηκε κατά το πειραματικό σχεδιασμό και την εκτέλεση του πειράματος ήταν το εντελώς τυχαιοποιημένο. Ο συνολικός αριθμός φυτών που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 128 ελαιόδενδρα (8 επεμβάσεις x 4 επαναλήψεις x 2 φυτά ανά επανάληψη x 2 ποικιλίες). Στα πειραματικά δεδομένα των δειγματοληψιών S(1) και S(2) έγινε ανάλυση ως πολυπαραγοντικό πείραμα (επεμβάσεις και συνθήκες άρδευσης), ενώ οι σημαντικές διαφορές επισημάνθηκαν χρησιμοποιώντας το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς. Στα μετρούμενα μεγέθη για τη δειγματοληψία S(0) έγινε ανάλυση διασποράς μόνο για την παραλλακτικότητα που επέφερε η εφαρμογή των τεσσάρων σκευασμάτων. Επιλέχθηκε να γίνει στατιστική ανάλυση ανά ποικιλία λόγω του μεγάλου όγκου των δεδομένων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά σε πίνακες και σχεδιαγράμματα. Τέλος, η στατιστική ανάλυση έγινε με το στατιστικό πακέτο StatGraphics v.5 για τα Windows.

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, το πείραμα σχεδιάστηκε και εκτελέστηκε με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης τριών σκευασμάτων (Surround® WP, Ambiol, Bluestim® WP) και δύο τακτικών άρδευσης (άρδευση και υδατική καταπόνηση) στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς των δένδρων δύο ποικιλιών ελιάς, Κορωνέικη και Χοντροελιά Χαλκιδικής (ή Χαλκιδικής). Έγιναν 4 δειγματοληψίες, μία προ του ψεκασμού, κατά την οποία τα φυτά αρδεύονταν κανονικά και δεν είχε γίνει η εφαρμογή κανενός σκευάσματος, S(-1), μία μετά το ψεκασμό, κατά την περίοδο της τελευταίας ταυτόχρονης άρδευσης όλων των δέντρων S(0), μία κατά την περίοδο καταπόνησης S(1) και μία 5 ημέρες μετά το τέλος της καταπόνησης - περιόδου ανακούφισης - όπου όλα τα δέντρα αρδεύονταν κανονικά, δειγματοληψία S(2). Κατά την περίοδο της ανακούφισης, δειγματοληψία S(2), τα περιγραφόμενα ως ξηρικά δέντρα αντιστοιχούν στα δέντρα που δέχτηκαν την υδατική καταπόνηση ενώ ως ολικών ορθο-διφαινολών, των ολικών φλαβονολών και των ολικών φλαβονοειδών κατά τη δειγματοληψία S(1), για την ποικιλία ελιάς Κορωνέικη.

Μεταβλητή	Πηγή παραλλακτικότητας		
	Άρδευση	Επεμβάσεις	Άρδευση x Επέμβαση
Ολικές φαινολικές ενώσεις	ns	p<0,05	ns
Ολικές ο-διφαινόλες	ns	ns	ns
Ολικές φλαβανόλες	ns	ns	ns
Ολικά φλαβονοειδή	p<0,05	ns	ns

Επεξηγήσεις: p, πιθανότητα – ns, μη στατιστικά σημαντική επίδραση – x, υποδηλώνει αλληλεπίδραση.

Οι ολικές φλαβανόλες κυμαίνονται στα 0,2 mg ισοδ. κατεχίνης ανά g Ξ.Β. σε όλα τα δέντρα (Διάγραμμα 6). Οι ολικές ο-διφαινόλες είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση στα ξηρικά δένδρα που δέχθηκαν το Surround® WP και μικρότερη στα αρδευόμενα φυτά που δέχθηκαν το Bluestim® WP, χωρίς να διαφέρουν

Κατά τη φάση της ανακούφισης, δειγματοληψία S(2), παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στα επίπεδα ολικού, ανηγμένου και δι-υδροξυ ασκορβικού

οξέος μεταξύ των επεμβάσεων. Για το ολικό και το ανηγμένο ασκορβικό οξύ υπάρχουν και σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των επεμβάσεων και των τακτικών άρδευσης (Πίνακας 32).

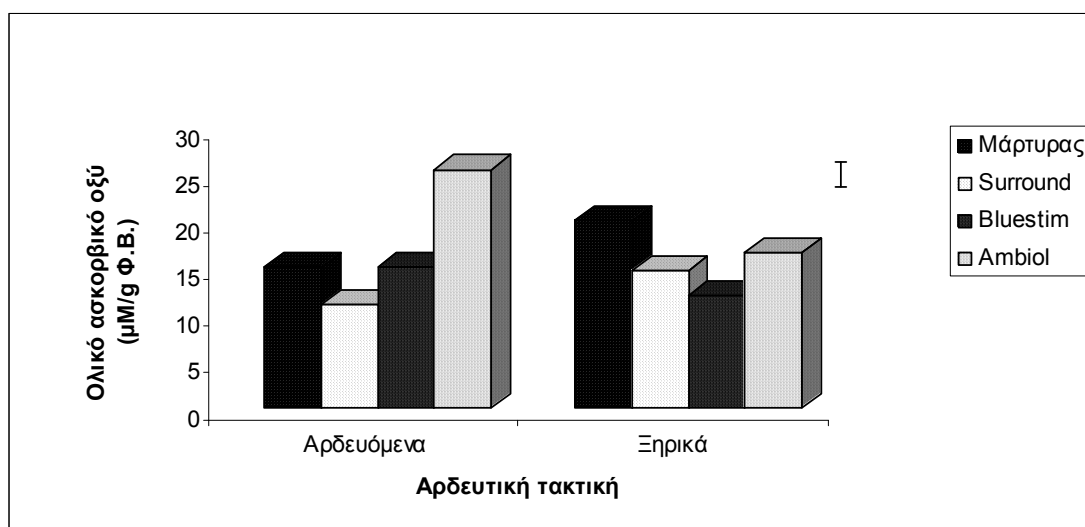
Πίνακας 32. Ανάλυση διασποράς του παραγοντικού πειράματος που αφορά την επίδραση των σκευασμάτων και την επίδραση της υδατικής καταπόνησης (αρδευόμενα, ξηρικά), στη συγκέντρωση του ολικού ασκορβικού οξέος, του ανηγμένου ασκορβικού οξέος και του δι-υδροξυασκορβικού οξέος κατά την δειγματοληψία S(2), για την ποικιλία ελιάς Χοντροελιά Χαλκιδικής.

Μεταβλητή	Πηγή παραλλακτικότητας		
	Άρδευση	Επεμβάσεις	Άρδευση x Επέμβαση
Ολικό ασκορβικό οξύ	ns	p<0,01	p<0,05
Ανηγμένο ασκορβικό οξύ (AsA)	ns	p<0,01	p<0,05
Δι-υδροξυασκορβικό οξύ (DHA)	ns	p<0,05	ns

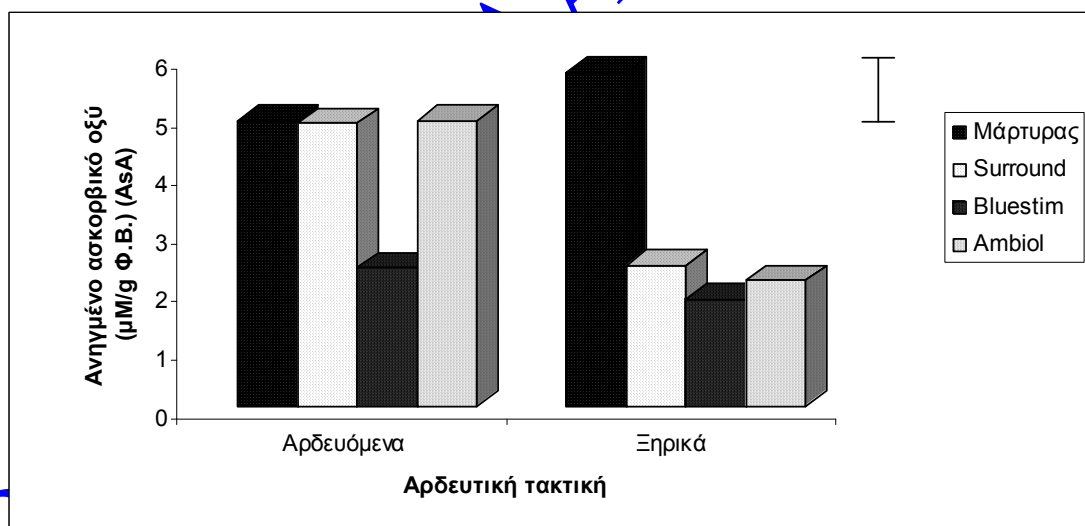
Επεξηγήσεις: p, πιθανότητα – ns, μη στατιστικά σημαντική επίδραση – x, υποδηλώνει αλληλεπίδραση.

Η συγκέντρωση του ολικού ασκορβικού οξέος είναι υψηλότερη στα ψεκασμένα με Ambiol δέντρα και στα δέντρα του μάρτυρα, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο. Αντίθετα, στατιστικά σημαντικά μικρότερα είναι τα επίπεδα του ολικού ασκορβικού οξέος, στα ψεκασμένα με Surround® WP ή Bluestim® WP σε σύγκριση με τα ψεκασμένα με Ambiol δέντρα. Η επίδραση των σκευασμάτων ωστόσο, δεν είναι στατιστικά σημαντική σε σχέση με το μάρτυρα. Επίσης παρατηρείται ότι τα επίπεδα του ολικού ασκορβικού επηρεάζονται στατιστικά σημαντικά από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ αρδευτικής τακτικής και των εφαρμοζόμενων σκευασμάτων. Συγκεκριμένα τα ψεκασμένα με Ambiol αρδευόμενα δέντρα έχουν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικού ασκορβικού και διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με τα ψεκασμένα με Bluestim® WP ξηρικά δέντρα και τα

ψεκασμένα με Surround® WP αρδευόμενα δέντρα, τα οποία έχουν και τις μικρότερες συγκεντρώσεις (Διάγραμμα 76).



Διάγραμμα 76. Η επίδραση των σκευασμάτων και της αρδευτικής τακτικής στη συγκέντρωση του ολικού ασκορβικού οξέος S(2), για την ποικιλία ελιάς Χοντροελιά Χαλκιδικής.

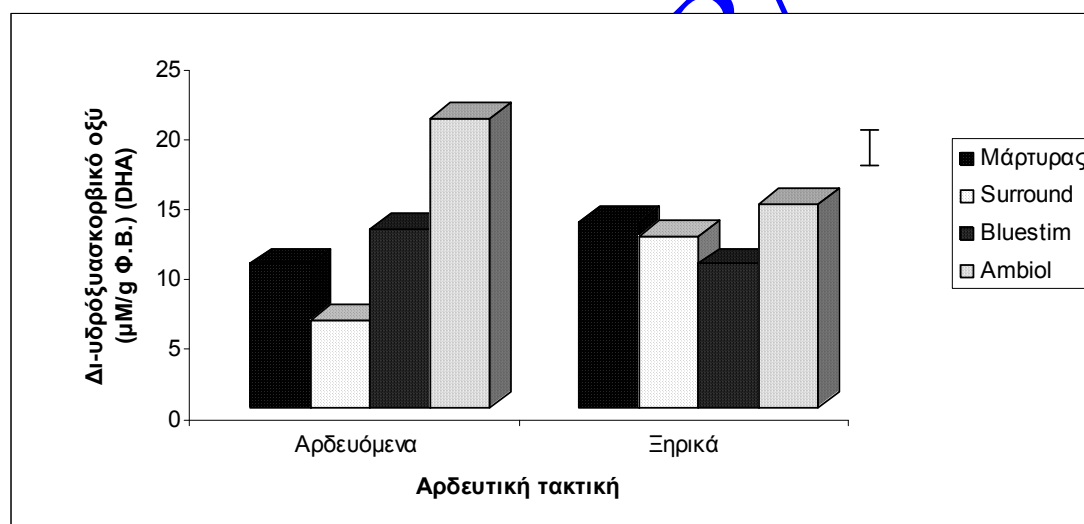


Διάγραμμα 77. Η επίδραση των σκευασμάτων και της αρδευτικής τακτικής στη συγκέντρωση του ανηγμένου ασκορβικού οξέος S(2), για την ποικιλία ελιάς Χοντροελιά Χαλκιδικής.

Το AsA στη φάση της ανακούφισης, είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο στα δέντρα του μάρτυρα σε σχέση με τα δέντρα που ψεκάστηκαν με τα σκευάσματα.

Ειδικότερα τα ξηρικά δέντρα του μάρτυρα έχουν την μεγαλύτερη συγκέντρωση AsA και διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από όλα τα ξηρικά δέντρα των υπόλοιπων μεταχειρίσεων και από τα αρδευόμενα που ψεκάστηκαν με Bluestim® WP. (Διάγραμμα 77).

Η συγκέντρωση του DHA (Διάγραμμα 78), ήταν στο ίδιο επίπεδο για τα δέντρα του μάρτυρα και τα ψεκασμένα με το σκεύασμα Bluestim® WP. Για τα άλλα σκευάσματα παρατηρήθηκε ότι τα ψεκασμένα με Ambiol δέντρα έχουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη συγκέντρωση DHA σε σχέση με το Surround® WP. Και τα δύο σκευάσματα δεν προκάλεσαν στατιστικές σημαντικές διαφορές με τα δέντρα του μάρτυρα.



Διάγραμμα 79. Η επίδραση των σκευασμάτων και της αρδευτικής τακτικής στη συγκέντρωση του δι-υδροξυασκορβικού οξέος S(2), για την ποικιλία ελιάς Χαντροελιά Χαλκιδικής.

Κατά τη φάση της ανακούφισης, τα επίπεδα του ολικού ασκορβικού οξέος, AsA και DHA, εντοπίζονται σε σχετικά υψηλότερες συγκεντρώσεις στα ξηρικά δέντρα του μάρτυρα, σε σχέση με τα αντίστοιχα αρδευόμενα.

4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τη μέτρηση των ολικών ενεργών ουσιών του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS) και τη μέτρηση του ποσοστού της διαρροής ηλεκτρολυτών (E.L.) προκύπτει ότι τα δέντρα και των δύο ποικιλιών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης υπέστησαν σε ορισμένο βαθμό απώλειας της συνοχής και της λειτουργικότητας των μεμβρανών τους, ως αποτέλεσμα πιθανόν οξειδωτικής καταπόνησης. Ειδικότερα, για τα δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη, σε συνθήκες καταπόνησης παρατηρείται ότι έχουν σημαντικά υψηλότερη συγκέντρωση TBARS. Για την ποικιλία Χόντροελιά Χαλκιδικής τα ξηρικά δέντρα παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα ποσοστά E.L. στα ξηρικά δέντρα σε σχέση με τα αρδευόμενα. Η απώλεια της συνοχής των μεμβρανών με βάση τη συγκέντρωση των TBARS σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης έχει παρατηρηθεί και για τις ποικιλίες ελιάς Cobrancosa, Madural και Verdeal Transmontana (Bacelar et al., 2006; Bacelar et al., 2007). Παρόμοιες παρατηρήσεις καταγράφηκαν για τα δέντρα της ποικιλίας ελιάς Coratina τα οποία υπέστησαν υδατική καταπόνηση (Sofa et al., 2004a). Τα επίπεδα της E.L. βρέθηκαν αυξημένα για σπορόφυτα πεύκου (Islam et al., 2003; Borsos-Matovina and Blake, 2004) και νεαρά φυτά καρότου (Lada and Blake, 2002) όταν υπέστησαν συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Αύξηση της συγκέντρωσης των TBARS και του ποσοστού E.L. παρατηρήθηκε και σε ποικιλίες μουριάς (*Morus alba* L.) όταν βρέθηκαν σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Reddy et al., 2004a) και σε ποικιλίες καλαμποκιού ευαίσθητες στη ξηρασία (Valentovič et al., 2006).

Η επίδραση των σκευασμάτων διέφερε μεταξύ των δύο ποικιλιών ελιάς κατά τη φάση της υδατικής καταπόνησης. Για την Κορωνέικη, παρατηρείται σημαντική προστασία των μεμβρανών από την εφαρμογή του Ambiol και του Surround® WP στα ξηρικά δέντρα. Μάλιστα το επίπεδο των TBARS σε αυτά τα δέντρα είναι

παρόμοιο με εκείνο των αρδευόμενων δέντρων. Η θετική συνεισφορά του συνθετικού αντιοξειδωτικού παράγοντα Ambiol στη προστασία των μεμβρανών έχει παρατηρηθεί σε πειράματα υδατικής καταπόνησης σε σπορόφυτα πεύκου (Islam et al., 2003; Borsos-Matovina and Blake, 2004) και νεαρά φυτά καρότου (Lada and Blake, 2002).

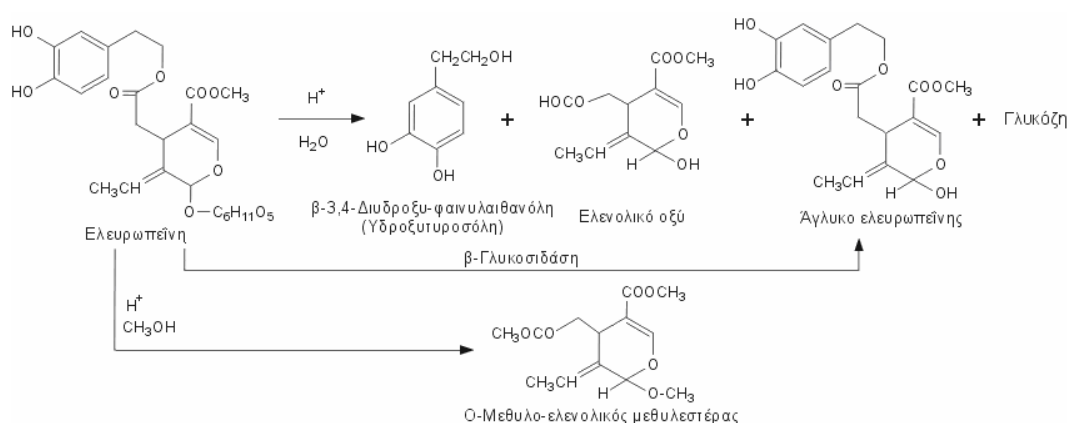
Για την ποικιλία Χοντροελιά Χαλκιδικής κανένα από τα σκευάσματα δεν παρουσίασε σημαντική δράση στη διατήρηση της συνοχής και της λειτουργικότητας των μεμβρανών. Ειδικά για τα ποσοστά E.L., όλες οι επεμβάσεις στα ξηρικά δέντρα είχαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερα ποσοστά από τα αντίστοιχα του ξηρικού μάρτυρα.

Κατά την περίοδο της ανακούφισης των δέντρων από την υδατική καταπόνηση, παρατηρούμε ότι και στις δύο ποικιλίες, οι διαφορές στις συγκεντρώσεις των TBARS και στο ποσοστό της E.L. που παρατηρούνται κατά την υδατική καταπόνηση μεταξύ αρδευόμενων και ξηρικών δέντρων, αμβλύνονται. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρούνται με το τέλος της υδατικής καταπόνησης και την επαναφορά των αρδεύσεων και στην ποικιλία Coratina (Sofa et al. 2004). Μάλιστα τα δέντρα της ποικιλίας ελιάς Κορωνέικη που ψεκάστηκαν με Ambiol ή Bluestim ® WP οι τιμές των TBARS και E.L. τείνουν να επανέλθουν στα προ της υδατικής καταπόνησης επίπεδα. Με βάση τη συγκέντρωση των TBARS κατά τη φάση της καταπόνησης και μετά το πέρας αυτής, φαίνεται ότι ο ψεκασμός με Ambiol προστάτευε τα ξηρικά δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη από την οξείδωση των μεμβρανών τους, με αποτέλεσμα να παρουσιάσουν ταχύτερη ανάκαμψη (Chaves and Oliveira, 2004). Για το σκεύασμα Bluestim ® WP παρατηρείται ότι έχει ευνοϊκότερη δράση όταν το υδατικό περιεχόμενο των κυττάρων είναι υψηλό και από την άλλη ότι η δράση του κατά την περίοδο ανακούφισης ίσως έχει να κάνει με την επιτάχυνση της

Ρουτίνη > Λουτεολίνη $\approx$ Κατεχίνη > Ολικό εκχύλισμα φύλλων $\approx$ Υδροξυτυροσόλη > Διοσμετίνη > Καφεϊκό οξύ > Verbascoside > Ελευρωπαΐνη > 7-γλυκοζίτης της λουτεολίνης $\approx$ Βανιλικό οξύ $\approx$ 7-γλυκοζίτης της διοσμετίνης > 7-γλυκοζίτης της απιγενίνης > Τυροσόλη > Βανιλίνη.

Κατά Bouaziz et al. (2005) στην ποικιλία ελιάς Chemlali στην Τυνησία, η αντίστοιχη σειρά αντιοξειδωτικής δραστηριότητας των ανιχνευόμενων φαινολικών ουσιών ήταν: Κερσετίνη > Λουτεολίνη > Ρουτίνη $\approx$ 7 γλυκοζίτης της λουτεολίνης > Απιγενίνη.

Η αντιοξειδωτική σημασία της ελευρωπαΐνης είναι αρκετά γνωστή. Στους φυτικούς οργανισμούς συνδέεται η δράση της με την αύξηση της αντοχής των φυτών σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις (Edgecombe et al., 2000; Guiso and Marra, 2005; Kruk et al., 2005). Στον άνθρωπο θεωρείται σημαντικός αντιοξειδωτικός παράγοντας (Edgecombe et al., 2000; Benavente-Garcia et al., 2000; Ryan et al. 2003;), με ευεργετική δράση κατά ιώσεων, ισχαιμικών επεισοδίων, καρδιακών παθήσεων και νεοπλασιών. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του μορίου είναι άμεσα συνδεδεμένες με δομές όπως τον Β-δακτύλιο, τα υδροξύλια, τον οξυγονωμένο δακτύλιο (Ryan and Roberts, 1993; Benavente-Garcia et al., 2000; Ryan et al. 2003; Bouaziz et al., 2005) και ουσίες όπως το ελεονολικό οξύ και η υδροξυτυροσόλη που προκύπτουν από την υδρόλυσή της (Guiso and Marra, 2005)(Σχήμα 5). Παρόμοιες αλλά λιγότερο γνωστές ιδιότητες έχει ο 7-γλυκοζίτης της λουτεολίνης. Έχει ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Benavente-Garcia et al., 2000; Bouaziz et al., 2005, Wu et al., 2005), αρνητική επίδραση σε ορισμένα φυτοφάγα έντομα (Regnault-Roger et al., 2004) και ευεργετική δράση για τον ανθρώπινο οργανισμό έναντι ιώσεων και ισχαιμικών επεισοδίων.



Σχήμα 5. Υδρόλυση της ελευρωπαΐνης.

Κατά την περίοδο της υδατικής καταπόνησης, παρατηρείται στα δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη, ότι η συγκέντρωση της τυροσόλης, της ρουτίνης και του 7-γλυκοζίτη της λουτεολίνης είναι μικρότερη στα ξηρικά δέντρα του μάρτυρα σε σχέση με τα αρδευόμενα. Το αντίθετο φαίνεται να ισχύει για τις φαινολικές ενώσεις ελευρωπαΐνη και 4-γλυκοζίτη της λουτεολίνης. Για την ποικιλία Χοντροελιά Χαλκιδικής, οι συγκεντρώσεις της τυροσόλης και του 4-γλυκοζίτη της λουτεολίνης φαίνεται να είναι στα ίδια επίπεδα μεταξύ ξηρικών και αρδευόμενων δέντρων του μάρτυρα. Η ελευρωπαΐνη, η ρουτίνη και ο 7-γλυκοζίτης της λουτεολίνης είναι σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα ξηρικά δέντρα του μάρτυρα. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης από τα δέντρα και των δύο ποικιλιών ίσως αποτελεί αντίδραση των δέντρων στην οξειδωτική καταπόνηση. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις, ίσως αποτελούν ένδειξη ότι η ελευρωπαΐνη χρησιμοποιείται άμεσα ως δότης ηλεκτρονίων, παρά τα προϊόντα της υδρόλυσής της.

Κατά τη φάση της ανακούφισης, παρατηρείται ότι τα μη καταπονημένα δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη έχουν σχετικά υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης όλων των μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων σε σχέση με τα ξηρικά. Για τα δέντρα της ποικιλίας Χοντροελιά Χαλκιδικής, παρατηρείται ότι οι συγκεντρώσεις της τυροσόλης και της ελευρωπαΐνης είναι στα ίδια επίπεδα σε αρδευόμενα και ξηρικά δέντρα, ενώ οι ενώσεις ρουτίνη, 7-γλυκοζίδιο της λουτεολίνης και του 4-γλυκοζίτη της λουτεολίνης ανιχνεύονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα ξηρικά δέντρα σε σχέση με τα αρδευόμενα. Η αντίδραση αυτή των δέντρων της ποικιλίας ελιάς Κορωνέικη κατά τη φάση της ανακούφισης μπορεί να είναι ενδεικτική της σχέσης των φαινολικών ουσιών με τις διεργασίες ανάκαμψης των φυτών μετά την υδατική καταπόνηση και τη σκληραγώγηση των δέντρων. Ίσως ο καταβολισμός αυτών των φαινολικών ενώσεων να βοηθά στην ανάκαμψη των δέντρων. Οι διαφορές μεταξύ των δύο ποικιλιών όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων, μπορεί να συνδέονται περισσότερο με την ταχύτητα αντίδρασης των ξηρικών δέντρων στην επαναφορά των αρδεύσεων.

Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης τα επίπεδα της ελευρωπαΐνης στα δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη ήταν μικρότερα σε όλα τα δέντρα που δέχτηκαν κάποιο από τα σκευάσματα σε σχέση με το μάρτυρα. Συνεπώς υπάρχει ευνοϊκή επίδραση των σκευασμάτων, αν υποθεθεί ότι η συσσώρευση ελευρωπαΐνης αποτελεί για τα ελαιόδέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη και της ποικιλίας Χοντροελιά Χαλκιδικής μηχανισμό αμυντικής αντίδρασης στις συνθήκες καταπόνησης. Η εφαρμογή του Ambiol σε δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη που βρίσκονται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης ευνοεί τη συσσώρευση του 7-γλυκοζίτη της λουτεολίνης και του 4-γλυκοζίτη της λουτεολίνης σε σχέση με το ξηρικά δέντρα του μάρτυρα. Κάτι τέτοιο όμως, δεν παρατηρείται για το Ambiol και στα ξηρικά δέντρα της ποικιλίας

Χοντροελιάς Χαλκιδικής, για καμία φαινολική ουσία. Ίσως ο αντιοξειδωτικός παράγοντας Ambiol να ευνοεί τη συσσώρευση των παραπάνω ουσιών, η παρουσία των οποίων είναι σημαντική στα δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη για την αντιμετώπιση της υδατικής-οξειδωτικής καταπόνησης. Ο ψεκασμός με Bluestim ® WP στα δέντρα της ποικιλίας Χοντροελιά Χαλκιδικής διατηρεί τις συγκεντρώσεις όλων των αναλυόμενων φαινολικών ενώσεων, στα ίδια επίπεδα μεταξύ αρδευόμενων και ξηρικών δέντρων σε συνθήκες καταπόνησης, εκτός της ελευρωπαΐνης, η συγκέντρωση της οποίας αυξάνεται στα φύλλα των καταπονημένων δέντρων. Άρα η παρουσία ενός οσμωρυθμιστή μειώνει την ένταση της υδατικής καταπόνησης, ισοσταθμίζοντας τις διαφορές του υδατικού κυτταρικού περιεχομένου μεταξύ ξηρικών και των αρδευόμενων δέντρων. Επομένως, ίσως να μην είναι αναγκαία η αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών στα ξηρικά δέντρα.

Για την ποικιλία Χοντροελιά Χαλκιδικής παρατηρείται ότι κατά την υδατική καταπόνηση, τα ξηρικά δέντρα, παρουσιάζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση ρουτίνης, ενώ μετά το τέλος της καταπόνησης υπάρχει ισορροπία στα επίπεδα ρουτίνης μεταξύ καταπονημένων και μη δέντρων. Πιθανόν η ρουτίνη να συμμετέχει για την ποικιλία Χοντροελιά Χαλκιδικής σημαντικά στους μηχανισμούς αντιμετώπισης των συνεπειών της υδατικής καταπόνησης. Τα επίπεδα της ρουτίνης, για την ποικιλία αυτή, υπόκεινται σε στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις, κατά την διάρκεια της υδατικής καταπόνησης και της περιόδου ανακούφισης, λόγω της επίδραση των διαφορετικών σκευασμάτων. Συγκεκριμένα τα τακτικά αρδευόμενα ψεκασμένα με Surround ® WP δέντρα παρουσιάζουν αυξημένη συγκέντρωση ρουτίνης σε σχέση με τα αντίστοιχα ξηρικά. Το ίδιο παρατηρείται και στη φάση της ανακούφισης όπου στα ψεκασμένα με Surround ® WP ξηρικά δέντρα, η

συγκέντρωση της ρουτίνης παρουσιάζεται αυξημένη. Οι παραπάνω παρατηρήσεις ίσως αποτελούν ένδειξη ότι ο

Η POD, η οποία χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα φαινολικές ενώσεις για την εξουδετέρωση του H_2O_2 , έχει κατά την υδατική καταπόνηση παρόμοια ενεργότητα, για τα ξηρικά και τα τακτικά αρδευόμενα δέντρα του μάρτυρα και στις δύο ποικιλίες.

Για την ποικιλία ελιάς Κορωνέικη παρατηρούμε ότι η POD, κατά τη φάση της καταπόνησης, είχε μεγαλύτερη ενεργότητα στα ξηρικά δέντρα που ψεκάστηκαν με κάποιο από τα σκευάσματα, από τα αντίστοιχα αρδευόμενα. Κατά την περίοδο ανακούφισης παρατηρείται αυξημένη ενεργότητα της POD στα ψεκασμένα με Ambiol ή Bluestim® WP δέντρα και μειωμένη στα ψεκασμένα με Surround® WP. Από τα παραπάνω μπορεί να υποτεθεί ότι για την ποικιλία Κορωνέικη, η POD έχει κάποια αυξημένη αντιοξειδωτική δράση κατά τη φάση της καταπόνησης ως αποτέλεσμα της προστατευτικής δράσης των σκευασμάτων. Η αυξημένη ενεργότητά της κατά την περίοδο της ανακούφισης στα ψεκασμένα με Ambiol ή Bluestim® WP δέντρα, ίσως να οφείλεται στο ότι δρα ανακουφιστικά, είτε στο ότι λαμβάνει χώρα λιγνινοποίηση.

Για την ποικιλία Χοντροελιά Χαλκιδικής, η ενεργότητα της POD κατά τη φάση της καταπόνησης παρουσιάζει παρόμοια τιμή μεταξύ αρδευόμενων και ξηρικών φυτών, ενώ κατά τη φάση της ανακούφισης, είναι μεγαλύτερη στα καταπονημένα δέντρα. Τα σκευάσματα έχουν, κατά τη φάση της καταπόνησης, την ίδια επίδραση σε ξηρικά και αρδευόμενα δέντρα, ενώ κατά την ανακούφιση, η ενεργότητα της POD ήταν μεγαλύτερη στα καταπονημένα δέντρα που είχαν ψεκαστεί με κάποιο σκεύασμα. Ίσως, η POD για την ποικιλία Χοντροελιά Χαλκιδικής να έχει ουσιαστικότερο ρόλο στη φάση της ανακούφισης και μάλιστα, να ενισχύεται η δράση της από την εφαρμογή των σκευασμάτων.

Το ασκορβικό οξύ στα φύλλα της ελιάς και στις δύο ποικιλίες, βρίσκεται σε χαμηλή οξειδοαναγωγική κατάσταση (redox state). Αυτό φαίνεται από το γεγονός ότι πάνω από το 80% του ολικού ασκορβικού οξέος βρίσκεται στην οξειδωμένη μορφή DHA. Το ίδιο παρατηρείται και για τα φύλλα δέντρων βελανιδιάς και πεύκου (Schwanz et al., 1996). Η χαμηλή οξειδοαναγωγική κατάσταση (redox state) του ασκορβικού οξέος, διατηρείται για την ελιά και κατά την υδατική καταπόνηση. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στα φύλλα δε του δέντρου *Arbutus unedo* L. όταν βρέθηκε σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Munne-Bosch and Penuelas, 2004).

Ο ψεκασμός με Ambiol αυξάνει άμεσα τα επίπεδα του ολικού ασκορβικού οξέος στα τακτικά αρδευόμενα δέντρα και των δύο ποικιλιών. Ίσως λοιπόν όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η παρουσία του Ambiol να ρυθμίζει, άμεσα τη δυναμική των αντιοξειδωτικών μηχανισμών στην ελιά.

Κατά τη φάση της καταπόνησης, η συγκέντρωση του AsA των φύλλων επηρεάζεται σημαντικά από την αρδευτική τακτική και μάλιστα με διαφορετικό τρόπο στις δύο ποικιλίες. Στα ξηρικά δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη έχουμε μικρότερη συγκέντρωση AsA σε σχέση με τα αρδευόμενα. Το ίδιο παρατηρήθηκε και σε φυτά σιταριού που υπέστησαν υδατική καταπόνηση (Bartoli et al., 1999). Το αντίθετο ισχύει για τα αντίστοιχα δέντρα της ποικιλίας Χοντροελιά Χαλκιδικής, στα φύλλα των οποίων αυξάνεται η συγκέντρωση AsA, όπως αντίστοιχα συμβαίνει σε δέντρα βελανιδιάς που υπέστησαν υδατική καταπόνηση (Schwanz et al., 1996). Ίσως λοιπόν ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός του ανηγμένου ασκορβικού οξέος να διαφέρει μεταξύ των ποικιλιών.

Το σκεύασμα Ambiol έχει άμεση δράση στα δέντρα και των δύο ποικιλιών, αφού μετά την εφαρμογή του αυξάνονται τα επίπεδα του ολικού ασκορβικού οξέος. Επομένως το Ambiol με την εφαρμογή του ίσως να διεγείρει την βιοσύνθεση ασκορβικού οξέος ή να το προστατεύει από την αποδόμηση. Στη φάση καταπόνησης, το Ambiol για τα ξηρικά δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικη προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης του AsA. Στα αντίστοιχα δέντρα της Χοντροελιάς Χαλκιδικής, ανάλογη επίδραση είχε η εφαρμογή του Bluestim® WP. Συνεπώς η πιθανή αντιοξειδωτική δράση των δύο αυτών παραγόντων στην ελιά, φαίνεται να διαφοροποιείται ανάλογα με την ποικιλία.

Κατά τη φάση της ανακούφισης, για την ποικιλία Κορωνέικη η συγκέντρωση του AsA των ψεκασμένων με Ambiol ή Bluestim® WP καταπονημένων δέντρων τείνει να επανέλθει στα επίπεδα των αρδευόμενων δέντρων του μάρτυρα με βραδύτερο ρυθμό σε σχέση με τα ψεκασμένα με Surround® WP καταπονημένα δέντρα. Το φαινόμενο αυτό ίσως να οφείλεται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των σκευασμάτων Ambiol και Bluestim® WP τα οποία συνεχίζουν να επιδρούν στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό του ασκορβικού οξέος και κατά την ανακούφιση.

Για την ποικιλία ελιάς Χονδροελιά Χαλκιδικής παρατηρείται ότι τα επίπεδα του AsA σε συνθήκες καταπόνησης φαίνεται να είναι υψηλότερα στα ξηρικά δέντρα σε σχέση με τα αρδευόμενα ενώ το αντίθετο ισχύει κατά τη φάση ανακούφισης. Ιδιαίτερα αντιληπτό γίνεται το φαινόμενο αυτό, στα δέντρα που δέχτηκαν την επίδραση κάποιου σκευάσματος και πιο έντονο είναι το φαινόμενο στα δένδρα που ψεκάστηκαν με το σκεύασμα Bluestim® WP. Τα δέντρα αυτά σε συνθήκες καταπόνησης είχαν την υψηλότερη συγκέντρωση AsA και μετά το τέλος αυτής έχουν τη μικρότερη. Επομένως για αυτή την ποικιλία ελιάς, όλα τα σκευάσματα διατήρησαν υψηλά τα επίπεδα AsA κατά τη φάση της καταπόνησης, είτε διότι αύξησαν την

συνθεσή του είτε διότι το προστάτεψαν από την οξείδωσή του. Μετά το τέλος της καταπόνησης η ανάκαμψη των φυτών που δέχθηκαν κάποιο σκεύασμα ήταν τόσο γρήγορη που τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος επανήλθαν στα αντίστοιχα που παρατηρούνται πριν το χειρισμό με τα σκευάσματα.

ΘΕΟΔΩΡΟΣ ΔΑΜΒΑΚΑΡΗΣ

5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παραμονή των δέντρων της ελιάς των ποικιλιών Κορωνέικη και Χοντροελιά Χαλκιδικής σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης επί 12 ημέρες είχε σαν αποτέλεσμα την πρόκληση οξειδωτικής καταπόνησης στα δέντρα. Το συμπέρασμα αυτό γίνεται έμμεσα αλλά σαφέστατα αντιληπτό από την αύξηση της συγκέντρωσης των TBARS, την αύξηση της E.L. και τέλος από την αύξηση της ενεργότητας της SOD στα ξηρικά δέντρα και των δύο ποικιλιών κατά τη φάση της υδατικής καταπόνησης.

Η επαναφορά των αρδεύσεων προκαλεί την άρση της οξειδωτικής και τη σταδιακή ανάκαμψη των δέντρων και των δύο ποικιλιών. Η ανάκαμψη γίνεται αντιληπτή από τις παραμέτρους TBARS, E.L. και την ενεργότητα της SOD, που ιδιαίτερος για την ποικιλία Κορωνέικη τείνουν να λάβουν τις προ της καταπόνησης τιμές. Αυτό αποτελεί ένδειξη ότι τα καταπονημένα δέντρα της ποικιλίας Κορωνέικης ανακάμπτουν γρηγορότερα.

Για την περίπτωση των αντιοξειδωτικών ενώσεων και αντιοξειδωτικών μηχανισμών που παραμένουν υψηλά σε συγκέντρωση και ενεργότητα αντίστοιχα, μετά το τέλος της καταπόνησης, μπορεί να ειπωθεί ότι η παρουσία τους προσδίδει ένα βαθμό σκληραγωγησης. Αντίθετα, η μείωση των αντιοξειδωτικών ουσιών μετά την υδατική καταπόνηση μπορεί να αποδοθεί είτε στη μικρή συμβολή αυτών στις διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την ανακούφιση είτε στον απαραίτητο καταβολισμό αυτών για την ανάκαμψη των δέντρων.

Τα δέντρα και των δύο ποικιλιών αντιδρούν στην οξειδωτική καταπόνηση και μεταβάλλουν τις τιμές όλων των μετρούμενων συνιστωσών σε σχέση με τα αντίστοιχα επίπεδα προ της υδατικής καταπόνησης, ενώ μεταξύ των δύο ποικιλιών εντοπίζονται άλλοτε ίδιοι και άλλοτε διαφορετικοί τρόποι αντίδρασης.

Πιο συγκεκριμένα και για τις δύο ποικιλίες η υδατική καταπόνηση έχει ως συνέπεια την καταπόνηση των κυτταρικών μεμβρανών, με την ποικιλία ελιάς Κορωνέικη να υφίσταται σημαντική οξειδωση μεμβρανών ενώ στην ποικιλία Χοντροελιά Χαλκιδικής επηρεάζονται σημαντικά τα στοιχεία των μεμβρανών που ελέγχουν την ροή ηλεκτρολυτών. Η υδατική καταπόνηση αύξησε τη συγκέντρωση των ολικών φλαβονοειδών στα φύλλα των δέντρων της ποικιλίας Κορωνέικη τα οποία μειώνονται άμεσα κατά τη φάση ανακούφισης. Για την ποικιλία Χοντροελιά Χαλκιδικής δεν παρατηρείται κάτι αντίστοιχο για καμία ομάδα από τις μετρούμενες ολικές φαινολικές ουσίες, πράγμα που ίσως υποδεικνύει είτε τη μικρή αντιοξειδωτική αξία των ουσιών αυτών για την ποικιλία Χοντροελιά Χαλκιδικής είτε ότι τα δέντρα της ποικιλίας αυτής υπέστησαν μικρότερη φυσιολογική καταπόνηση.

Επίσης και στις δύο ποικιλίες από τις μετρούμενες μεμονωμένες φαινολικές ενώσεις αυτές που βρέθηκαν σε μεγαλύτερη αφθονία ήταν η ελευρωπαΐνη και ο 7-γλυκοζίτης της λουτεολίνης. Η ελευρωπαΐνη εντοπίζεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στα ξηρικά δέντρα και των δύο ποικιλιών, σε σχέση πάντα με τα αρδευόμενα. Αυτό ίσως αποτελεί ένδειξη της σημασίας της στην οξειδωτική καταπόνηση. Ωστόσο η μεταβολή των συγκεντρώσεων όλων των υπολοίπων μετρούμενων μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων διέφεραν μεταξύ των δύο ποικιλιών και στην καταπόνηση και στην ανακούφιση.

Η ενεργότητα του ενζύμου SOD αυξήθηκε κατά την φάση της καταπόνησης και των δύο ποικιλιών. Η αύξηση αυτή ίσως συνδέεται με την αύξηση της οξειδωτικής καταπόνησης και την αυξημένη παραγωγή ρίζας O_2^- μέσα στο κύτταρο. Βέβαια δεν παρατηρείται το ίδιο για την ενεργότητα των ενζύμων APX και GR και αυτό ίσως αποτελεί ένδειξη ότι η δράση των τριών αυτών ενζύμων δεν συνδέεται άμεσα. Οι διακυμάνσεις των ενεργοτήτων των ενζύμων CAT και POD διαφέρουν

μεταξύ των δύο ποικιλιών και κατά τη φάση της καταπόνησης και κατά τη φάση της ανακούφισης.

Το μεγαλύτερο ποσοστό του ολικού ασκορβικού οξέος βρίσκεται στην οξειδωμένη μορφή του DHA (χαμηλή οξειδοαναγωγική κατάσταση) στα φύλλα και των δύο ποικιλιών ελιάς. Τέλος τα επίπεδα του ολικού ασκορβικού, του DHA και του AsA μεταβάλλονται με διαφορετικό τρόπο για τις δύο ποικιλίες κατά τις φάσεις της καταπόνησης και ανακούφισης αντίστοιχα.

Από τα σκευάσματα μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζουν η επίδραση του Ambiol και δευτερευόντως του Bluestim ® WP, επί της συνοχής των μεμβρανών, επί της συγκεντρώσεως των αντιοξειδωτικών ενώσεων (ασκορβικό οξύ, ολικά φλαβονοειδή και ελευρωπαΐνη) και επί των ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών (SOD-APX-GR) των δέντρων. Τα δύο αυτά σκευάσματα δρουν ανασταλτικά των συνεπειών της οξειδωτικής καταπόνησης των μεμβρανών κατά την κύρια φάση της υδατικής καταπόνησης και επιταχύνουν την ανάκαμψη των δέντρων κατά την ανακούφιση. Επιδρούν άμεσα με το ψεκασμό τους στη συγκέντρωση ολικών φαινολικών ενώσεων, στα επίπεδα ελευρωπαΐνης και ολικού ασκορβικού οξέος και στις δύο ποικιλίες. Επιδρούν στη συγκέντρωση ολικών φλαβονοειδών στην ποικιλία Κορωνέικη κατά τη καταπόνηση, ενώ η επίδρασή τους στις μεμονωμένες φαινολικές ενώσεις διαφέρει μεταξύ των ποικιλιών και στις δύο φάσεις του πειράματος. Η επίδραση των δύο αυτών σκευασμάτων επί των ενεργοτήτων των ενζύμων είναι ως επί το πλείστον διαφορετική. Ως προς την μεταβολή της ενεργότητας των ενζύμων, τα δύο αυτά σκευάσματα φαίνεται να δρουν ενισχυτικά για ορισμένα, ενώ για άλλα όχι. Το ίδιο παρατηρείται και κατά την περίοδο της ανακούφισης. Το Surround ® WP ίσως έχει επίδραση στις ενεργότητες των ενζύμων, δια μέσου του ελέγχου της θερμοκρασίας, κατά τη φάση της καταπόνησης. Επίσης, η επίδραση του σκευάσματος

Surround ® WP στη συγκέντρωση ορισμένων μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων ή ομάδες φαινολικών ουσιών μπορεί να συνδέεται με την επίδραση του σκευάσματος στη μεταβολή της απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας.

Η επίδραση των σκευασμάτων στις περισσότερες μετρούμενες μεταβλητές αλληλεπιδρά με την εφαρμοζόμενη αρδευτική τακτική. Εντονότερη είναι αυτή η αλληλεπίδραση με το σκεύασμα Bluestim ® WP, που φαίνεται να δρα καλύτερα στα αρδευόμενα δέντρα.

Τα αποτελέσματα της επίδρασης των σκευασμάτων στη φάση της καταπόνησης και στη φάση της ανακούφισης στις μετρούμενες συνιστώσες δεν αποτελούν τα ασφαλέστερα κριτήρια για να υποδείξουν αν και κατά πόσο κάποιο από τα σκεύασματα αποτελεί το ιδανικό θεραπευτικό μέτρο έναντι της οξειδωτικής καταπόνησης, η οποία αποτελεί συνέπεια της υδατικής καταπόνησης. Το γεγονός αυτό ίσως να οφείλεται αφενός μεν στη σύνθετη μορφή καταπόνησης που δέχθηκαν τα δέντρα στο παρόν πείραμα (έλλειψη νερού σε συνδυασμό με υψηλή θερμοκρασία και ηλιοφάνεια) καθώς επίσης και στο ότι κάθε σκεύασμα παρουσιάζει περιορισμένη προστατευτική δράση, η αποτελεσματικότητα της οποίας εξαρτάται άμεσα από την ανταπόκριση κάθε γονότυπου σε οιαδήποτε καταπόνηση.

Συγκεκριμένα, το σκεύασμα Surround ® WP μεταβάλλει άμεσα τις φυσικές (οπτικές) ιδιότητες του φύλλου, το σκεύασμα Bluestim ® WP μεταβάλλει το οσμωτικό δυναμικό των κυττάρων, ενώ παράλληλα φαίνεται να έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες και το Ambiol αποτελεί τον κατεξοχήν αντιοξειδωτικό παράγοντα. Επομένως η δράση του Surround ® WP είναι λιγότερο εξειδικευμένη και με όριο θετικής δράσης που εξαρτάται από τις ιδιότητες του καολινίτη και την ψεκαζόμενη επιφάνεια. Το Bluestim ® WP και κυρίως το Ambiol έχουν μια περισσότερο εξειδικευμένη δράση μέσω των φυσιολογικών και βιοχημικών μηχανισμών.

Από τα παραπάνω μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η βέλτιστη δυνατή προστασία των δέντρων της ελιάς σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, ίσως μπορεί να επιτευχθεί με την συνδυασμένη είτε ταυτόχρονη, είτε ετεροχρονισμένη-διαδοχική χρήση και των τριών σκευασμάτων.

ΓΕΩΔΩΡΟΣ ΔΑΜΒΑΚΑΡΗΣ

6 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) ABOU-KHALED A., HAGAN R.M., DAVENPORT D.C. (1970). Effects of kaolinite as a reflective antitranspirant on leaf temperature, transpiration, photosynthesis and water use efficiency. *Water Resources Research*, 6, 280-289.
- 2) AGBOMA P.C., SINCLAIR T.R., JOKINEN K., PELTONEN-SAINIO P., PEHU E. (1997). An evaluation of the effect of exogenous glycinebetaine on the growth and yield of soybean: timing of application, watering regimes and cultivars. *Field crop research*, 54, 51-64.
- 3) AHMED S., NAWATA E., HOSOKAWA M., DOMAE Y., SAKURATANI T. (2002). Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to water logging. *Plant Science*, 163, 117 - 123.
- 4) APPEL H.D. (1993). Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. *Journal of chemical ecology*, 19, 1521-1552.
- 5) ARNOUS A., MAKRI D.P., KEFALAS P. (2002). Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. *Journal of food composition and analysis*, 15, 655–665.
- 6) ARTAJO L.S. (2006). Phenolic compounds: Their role during olive oil extraction and in Flaxseed – Transfer and antioxidant function. Doctorate of philosophy Thesis.
- 7) ASADA K. (1996). Radical production and scavenging in the chloroplasts. In: NEIL R. BAKER (ED), Photosynthesis and the environment, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 123-150.
- 8) ASHRAF M. AND FOOLAD M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
- 9) BACELAR E.A., SANTOS D.L., PEREIRA J.M.M., GONCALEZ B.C., FERREIRA H.F., CORREIA C.M. (2006). Immediate responses and adaptive strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and antioxidative damage. *Plant Science*, 170, 596-605.

- 10) BACELAR E.A., SANTOS D.L., PEREIRA J.M.M., GONCALEZ B.C., FERREIRA H.F., CORREIA C.M. (2007). Physiological behaviour, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes. *Plant Soil*, **292**, 1- 12.
- 11) BARTOLI G., SIMONTACCHI M., TAMBUSSI E., BELTRANO J., MONTALDI E., PUNTARULO S. (1999). Drought and watering-dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 373-381.
- 12) BADGER M.R., VON CAEMMERER S., RUUSKA S., NAKANO H. (2000). Electron flow to oxygen in higher plants and algae: rates and control of direct photoreduction (Mehler reaction) and rubisco oxygenase. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, **355**, 1433-1446.
- 13) BENDINI A. , CERRETANI L., CARRASCO-PANCORBO A., GOMEZ-CARAVACA A. M., SEGURA-CARRETERO A., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A., LERCKER G. (2007). Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade. *Molecules*, **12**, 1679-1719.
- 14) BENDINI A. , CERRETANI L. , PIZZOLANTE L. , TOSCHI T. G. , GUZZO F. , CEOLDO S., MARCONI A. M. , ANDREETTA F., LEVI M. (2006). Phenol content related to antioxidant and antimicrobial activities of *Passiflora* spp. extracts. *European Food Research and Technology*, **233**, 102-109.
- 15) BENAVENTE-GARCIA-GARCIA O., CASTILLO J., LORENTE J., ORTUNO A., DEL RIO J.A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, **68**, 457- 462.
- 16) BENLLOCH-GONZALEZ M., ARQUEROB O., FOURNIER J.M., BARRANCO D., BENLLOCH M. (2007). K⁺ starvation inhibits water-stress-induced stomatal closure, *Journal of Plant Physiology*, **(Corrected proofs)**.
- 17) BLOKHINA O., VIROLAINEN E., FAGERSTEDT K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, **91**, 179-194.
- 18) BORSOS-MATOVINA V., BLAKE T. J. (2004). Seed treatment with the antioxidant Ambiol enhances membrane protection in seedlings exposed to drought and low temperatures. *Trees - Structure and Function*, **15**, 163-167.

- 19) BOUAZIZ M., GRAYER R.J., SIMMONDS M.S.J., DAMAK M., SAYADI S. (2005). Identification and Antioxidant potential of Flavonoids and low molecular weight Phenols in Olive Cultivar Chemlali Growing in Tunisia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 236-241.
- 20) BRADFORD M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dyebinding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248 – 254.
- 21) BRAY A., (1997). Plant responses to water deficit. *Trends in plant science*, **2**, 1-7.
- 22) CHAPARZADEH N., D'AMICO M. L., KHAVARI-NEJAD R.A., IZZO R., NAVARI-IZZO F. (2004). Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, **42**, 695-701.
- 23) CHARTZOULAKIS K., PATAKAS A., BOSBALIDIS A.M. (1999). Changes in water relations, photosynthesis and leaf anatomy induced by intermittent drought in two olive cultivars *Environmental and Experimental Botany*, **42**, 113–120.
- 24) CHAVES M.M. AND OLIVEIRA M.M. (2004). Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of experimental Botany*, **85**, 2365-2384.
- 25) CHEN T.H.H., MURATA N. (2002). Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current Opinion of Plant biology*, **5**, 250-257.
- 26) DAT J, VANDENABEELE S, VRANOVÁ E, VAN MONTAGU M, INZÉ D, VAN BREUSEGEM F.(2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell and Molecular Life Sciences*, **57**, 779-95.
- 27) DAVEY M.W., VAN MONTAGU M., INZE D., SANMARTIN M., KANELIS A., SMIRNOFF N., BENZIE I.J.J., STRAIN J. J., FAVELL D., FLETCHER J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, 825-860.

- 28) DEL RIO L.A., SANDALIO L.M., CORPAS F.J., PALMA J.M., BARROSO J.B. (2006). Reactive Oxygen Species and Reactive Nitrogen Species in Peroxisomes. Production, Scavenging, and Role in Cell Signalling. *Plant Physiology*, **141**, 330-335.
- 29) DICHIO B., XILOYANNIS C., ANGELOPOULOS K., NUZZO V., BUFO A. S., CELANO G. (2003). Drought-induced variations of water relations parameters in *Olea europea*. *Plant and Soil*, **257**, 381-389.
- 30) DICHIO B., XILOYANNIS C., SOFO A., MONTANARO G. (2005). Osmotic regulation in leaves and roots of olive trees during a water deficit and rewatering. *Tree physiology*, **26**, 179-185.
- 31) EDGECOMBE S.C., STRETCH G.L., HAYBAL P. J. (2000). Oleuropein, an Antioxidant Polyphenol from Olive Oil, is Poorly Absorbed from Isolated Perfused Rat Intestine. *Journal of Nutrition*, **130**, 2996-3002.
- 32) FARKAS O., JAKUS J., HÉBERGER K. (2004). Quantitative Structure – Antioxidant Activity Relationships of Flavonoid Compounds. *Molecules*, **9**, 1079-1088.
- 33) FERNANDEZ J.E., MORENO F., GIRON I.F., BLAZQUEZ O.M. (1997). Stomatal control of water use in olive tree leaves. *Plant and soil*, **190**, 179-192.
- 34) FLEXAS J., GALMES J., RIBAS-CARBO M., MEDRANO H. (2005). The effects of water stress on plant respiration. In: Lamber H. and Ribas-Carbo M. (Eds), *Plant respiration*, Springer (2005). The Netherlands, pp 85-94.
- 35) FLURKEY H.W. AND JEN, J.J. (1978). Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *Journal of Food Science* **43**, 1826-1828.
- 36) GALMES J., ABADIA A., CIFRE J., MEDRANO H., FLEXAS J. (2007). Photoprotection processes under water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits. *Physiologia Plantarum*, **130**, 495-510.
- 37) GLENN M.D., EREZ A., PUTERKA G. J., GUNDRUM P. (2003). Particle films affect carbon assimilation and yield in 'Empire' apple. *Journal of American Society of Horticulture Science*, **128**, 356-362.

- 38) GLENN M.D., PUTERKA G. J., DRAKE R. S., UNRUH T.R., KNIGHT A. L. BAHERLE P., PRADO E., BAUGHER T.A. (2001). Particle film application influences apple leaf physiology, fruit yield and fruit quality. *Journal of American Society of Horticulture Science*, **162**, 175-181.
- 39) GUIZO M., MARRA C. (2005). Highlights in **oleuropein** aglycone structure. *Natural Product Research* , **19**, 105-109.
- 40) HOQUE A., OKUMA E., BANU N.A.MST., AMAKO K., NAKAMURA Y., SHIMOISHI Y., MURATA Y. (2007). Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology*, **164**, 553-561.
- 41) ISLAM A., BLAKE T., KOCACINAR F., LADA R.R. (2003). Ambiol, spermine, and aminoethoxyvinylglycine prevent water stress and protect membranes in *Pinus strobus* L. under drought. *Trees*, **17**, 278-284.
- 42) JOHNSON J. M., PRITCHARD J., GORHAM J., TOMOS A.D. (1996). Growth, water relations and solute accumulation in osmotically stressed seedling of the tropical tree. *Colophospermum mopane*. *Tree Physiology*, **16**, 713-718.
- 43) KAHKONEN M. P., HOPIA A. I., VUORELA H. J., RAUHA J.-P., PIHLAJA K., KUJALA T. S., HEINONEN M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 3954-3962.
- 44) KARJALAINEN R., LEHTINEN A., HIETANIEMI V., PIHLAVA J.-M., JOKINEN K., KEINÄNEN M., JULKUNEN-TIITO R. (2002). Benzothiadiazole and glycine betaine treatments enhance phenolic compound production in strawberry *Acta Horticulturae (ISHS)*, **567**, 353-356.
- 45) KING A. AND YOUNG G. (1999). Characteristics and Occurrence of Phenolic Phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*, **99**, 213-218.
- 46) KIRILOVA I. G., EVSYUNINA A.S., PUZINA T.I., KOROBLEVA N.P. (2003). Effects of ambiol and 2-Chlorethylphosphonic acid on the content of phytormone in Potato leaves and tubers. *Applied biochemistry and microbiology*, **39**, 210-214.

- 47) KRUK I., ABOUL-ENEIN H. Y., MICHALSKA T., LICHSZTELD K., KAADNA A. (2005). Scavenging of reactive oxygen species by the plant phenols genistein and oleuropein. *Luminescence*, **20**, 81-89.
- 48) LADA R. R. AND BLAKE T. J. (2002). Seed pre-treatment using a derivative of 5-hydroxybenzimidazole (AMBIOL) pre-acclimates carrot seedlings to drought. *Canadian Journal of Plant Science*, **82**, 195–202.
- 49) LADA R.R., STILES A., BLAKE T.J. (2005). The effects of natural and synthetic seed preconditioning agents (SPAs) in the hastening seedling emergence and enhancing yield and quality of processing carrots. *Scientia Horticulturae*, **106**, 25-37.
- 50) LIN J.-S. AND WANG G.-X. (2002). Doubled CO₂ could improve the drought tolerance better in sensitive cultivars than in tolerant cultivars in spring wheat. *Plant Science*, **163**, 627-637.
- 51) LV S., YANG A., ZHANG K., WANG L., ZHANG J. (2007). Increase of glycinebetaine synthesis improves drought tolerance in cotton. *Molecular Breeding*, **20**, 233–248.
- 52) MACDOUGAL D.T., (1921). Water Deficit and the Action of Vitamines, Amino-Compounds, and Salts on Hydration. *American Journal of Botany*, **8**, 296-302.
- 53) MAKELA P., PELTONEN-SAINIO P., JOKINEN K., PEHU E., SETALA H., HINKKANEN R., SOMERSALO S. (1996). Uptake and translocation of foliar-applied glycinebetaine in crop plants. *Plant Science*, **121**, 221-230.
- 54) MAKELA P., MUNNS R., COLMER T.D., CORDON A.G., PELTONEN-SAINIO P. (1998). Effect of foliar applications of glycinebetaine on stomatal conductance, abscisic acid and solute concentrations in leaves of salt- or drought-stressed tomato. *Australian Journal of Plant Physiology*, **25**, 655-663.
- 55) MIKA A. AND LÜTHJE S. (2003). Properties of Guaiacol Peroxidase activities isolated from corn root Plasma Membranes. *Plant Physiology*, **32**, 1489–1498.
- 56) MOINUDDIN G. AND GOSWAMI S.B (2004). Response of wheat to water deficit and foliar spray of urea and potassium sulphate. *Indian Journal of Plant Physiology*, **2**, 212-215.

- 57) MORIANA A., ORGAZ F., PASTOR M., FERERES E. (2003). Yield responses of mature olive orchard to water deficits. *Journal of American Society of Horticulture Science*, **128**, 425-431.
- 58) MUNNE-BOSCH S. AND PENUELAS J. (2004). Drought induces oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Science*, **166**, 1105-1110.
- 59) NAVARI-IZZO F., AND RASCIO N. (1999). Plant response to water-deficit conditions. In: Mohammad Pessarakli (Ed), Handbook of plant and crop stress, Marcel Dekker INC, New York, pp. 231-270.
- 60) NEJATI-YAZDINEJAD M. (2007). Indirect determination of ascorbic acid (vitamin C) by spectrophotometric method. *International Journal of Food Science and Technology*, **42**, 1402–1407.
- 61) NORIKAZU O. AND MURATA N. (2006). Glycinebetaine counteracts the inhibitory effects of salt stress on degradation and synthesis of D1 protein during photoinhibition in *Synechococcus* sp. PCC 7942. *Plant physiology*, **141**, 758-765.
- 62) OVERMYER K., BROSCHE M., KANGASJARVI J. (2003). Reactive oxygen species and hormonal control of cell death. *Trends in Plant Science* , **8**, 335-342.
- 63) PANDA S.K. AND CHOUDHURY S. (2005). Chromium stress in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, **17**, 95-102.
- 64) PASTENESA C., PORTERA V., BAGINSKYA C., HORTONB P., GONZALEZ J. (2004). Paraheliotropism can protect water-stressed bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants against photoinhibition. *Journal of Plant Physiology*, **161**, 1315—1323.
- 65) PLATONOVA T.A., EVSYUNINA A.S., KORABLEVA N.P. (2004). Effect of ambiol on the ultrastructure of mitochondria in the apical cells of tubers of original and transgenic potato plants. *Applied biochemistry and microbiology*, **40**, 488-496.
- 66) PLATONOVA T.A., EVSYUNINA A.S., PUZINA T.I., KORABLEVA N.P. (2002). Morfogenetic changes in ambiol-treated regenerants of parent and transgenic potatoes plants. *Applied biochemistry and microbiology*, **38**, 698-703.

- 67) RAJASHEKAR C.B., ZHOU H., MARCUM K.B., PRAKASH O. (1999). Glycine betaine accumulation and induction of cold tolerance in strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch.) plants. *Plant Science*, **148**, 175-183.
- 68) REDDY A.R., CHAITANYA K.V., JUTUR P.P., SUMITHRA K. (2004a). Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, **52**, 33–42.
- 69) REDDY A.R., CHAITANYA K.V., VIVEKANANDAN M. (2004b). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of plant biology*, **161**, 1189-1202.
- 70) REGNAULT-ROGER C., RIBODEAU M.L., HAMRAOUI A., BAREAU I., BLANCHARD P., GIL-MUNOZ M.-I., TOMAS BARBERAN F. (2004). Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of orientational effects on *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, **40**, 395-408.
- 71) RHOADS D.M., UMBACH A.L., SUBBIAH C.C., SIEDOW J.N. (2006). Mitochondrial Reactive Oxygen Species: Contribution to Oxidative Stress and Interorganellar Signaling. *Plant Physiology*, **141**, 357–366.
- 72) RIOS-GONZALEZ K., ERDEI L., LIPS S. H. (2002). The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. *Plant Science*, **162**, 923-930.
- 73) ROSATI A., METCALF S.G., BUCHNER R. P., FULTON A. E., LAMPINEN B.D. (2006a). Effects of kaolin application on light absorption and distribution, radiation use efficiency and photosynthesis of almond and walnut canopies. *Annals of botany*, **99**, 255-263.
- 74) ROSATI A., METCALF S.G., BUCHNER R. P., FULTON A. E., LAMPINEN B.D. (2006b). Physiological effects of kaolin applications in well-irrigated and water-stressed Walnut and almond trees. *Annals of botany*, **98**, 267-275.
- 75) ROUSSOS P.A., AND PONTIKIS C.A. (2001). Phenolic compounds in olive explants and their contribution to browning during the establishment stage *in vitro*. (Phenolische Verbindungen in Ölbaum Explantate und ihr Beitrag zu der Verbräunung während der Etablierungsphase *in vitro*.) *Gartenbauwissenschaft*, **66**, 298-303.

- 76) RYAN D. AND ROBARDS K. (1998). Phenolic compounds in olive. *Analyst*, **123**, 31R – 44R.
- 77) RYAN D., PRENZLER P.D, LAVEE S., ANTOLOVICH M., ROBARDS K. (2003). Quantitative changes in Phenolic content during physiological development of the Olive (*Olea europaea*) Cultivar Hardy's Mammoth, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 2532-2538.
- 78) SAIRAM R.K. AND SRIVASTAVA G.C. (2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science*, **162**, 897-904
- 79) SALTVEIT M.E., (2005). Influence of heat shocks on the kinetics of chilling-induced ion leakage from tomato pericarp discs. *Postharvest Biology and Technology*, **36**, 87-92.
- 80) SANZ-CORTÉS F., J. MARTÍNEZ-CALVO, M.L. BADENES, H. BLEIHOLDER, H. HACK, G. LLÁCER, MEIER U. (2002). Phenological growth stages of olive tree (*Olea europaea* L.) *Annals of Applied Biology*, **140**, 151-157.
- 81) SAOUR G. (2006). Morphological assesment of olive seedlings treated with kaolin-based particle film and biostimulant. *Advanced Horticultural Sciences*, **20**, 1-5.
- 82) SCHWANZ P., PICON C., VIVIN P., DREYER E., GUEHL J.-M., POLLE A. (1996). Responses of antioxidative Systems stress in pendunculate Oak nad Maritime Pine as Modulates by elevated CO₂. *Plant Physiology*, **110**, 393-402.
- 83) SMIRNOFF N. (1996). The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Annals of Botany*, **78**, 661-669.
- 84) SOFO A., BARTOLOMEO D., XILOYANNIS C., MASIA A. (2005). Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. *Fuctional plant biology*, **32**, 45-53.

- 85) SOFO A., BARTOLOMEO D., XILOYANNIS C., MASIA A. (2004). Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering. *Plant Science*, **166**, 293-302.
- 86) SOFO A., DICHIO B., XILOYANNIS C., MASIA A. (2004a) Lipxygenase activity and praline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiologia Plantarum*, 121,1, 58–65.
- 87) TEGELBERG R. AND JULKUNEN-TIITTO R. (2001). Quantitative changes in secondary metabolites of dark-leaved willow (*Salix myrsinifolia*) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Physiologia Plantarum*, 113, 541-547.
- 88) TUNG Y.-T., WU J.-H., KUO Y.-H., CHANG S.-T. (2007). Antioxidant activities of natural phenolic compounds from *Acacia confusa* bark *Bioresource Technology*, **98**,1120-1123.
- 89) VALENTOVIČ P., LUXOVÁ M., KOLAROVICH L., GAŠPARÍKOVÁ O. (2006). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant soil environment*, **52**, 186–191.
- 90) VAN BREUSEGEM F., VRANOVA E., DAT J.F., INZE D. (2001). The role of active oxygen species in plant signal transduction, *Plant Science*, **161**, 405-414.
- 91) VEIHMEYER F.J. AND HENDRICKSON A.H. (1928). Soil moisture at permanent wilting of plants. *Plant Physiology*, **3**, 355–358.
- 92) VELJOVIC-JOVANOVIC S. (1998). Active oxygen species: Mehler and ascorbate reactions. *Jugoslavian Physiology Pharmacology ACTA*, **34**, 502-522.
- 93) WALTERS D. R. (2006). Disguising the leaf surface: the use of leaf coatings for plant disease control. *European journal of plant pathology*, **114**, 255-260.
- 94) WANG W., WENG X., CHENG D. (2000). Antioxidant activities of natural phenolic components from *Dalbergia odorifera* T. Chen. *Food Chemistry*, **71**, 45-49.
- 95) WOLF B. AND CHRISTA M. (1999). Antioxidant capacity of flavanols and gallate esters: pulse radiolysis studies. *Free Radical Biology and Medicine*, **27**, 1413-1426.

- 96) WU M.-J., HUANG C.-L., LIAN T.-W., KOU M.-C., WANG L. (2005). Antioxidant Activity of *Glossogyne tenuifolia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 6305 -6312.
- 97) YOUNG X.K. AND MCCARTY R.E. (1993). Assay of Proton-Coupled Glycolate and D-Glycerate Transport into Chloroplast Inner Envelope Membrane Vesicles by Stopped-Flow Fluorescence. *Plant Physiology*, **101**, 793-799.
- 98) ZHAO X.-X., MA Q.-Q., LIANG C., FANG Y., WANG Y.-Q., WANG W. (2007). Effect of glycinebetaine on function of thylakoid membranes in wheat flag leaves under water stress. *Biologia Plantarum*, **51**, 584-588.
- 99) ZHU Q.Y., HOLT R.R., LAZARUS S.A., OROZCO T. J., KEEN L.C. (2002). Inhibitory effects of Cocoa Flavanols and Procyanidin Oligomers on Free Radical-Induced Erythrocyte Hemolysis. *Experimental Biology and Medicine*, **227**, 321-329.
- 100) ΔΡΟΣΟΠΟΥΛΟΣ Δ. (1998). Φυσιολογία φυτών. Μέρος Ι. , Αθήνα, σελ 55-249.
- 101) ΚΑΡΑΜΠΟΥΡΝΙΩΤΗΣ, Γ. (2003) Φυσιολογία καταπονήσεων των φυτών, Οι λειτουργίες των φυτών υπό αντίξοες συνθήκες, σελ.274, Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.
- 102) ΚΑΡΑΜΑΛΕΙΝΟΣ Μ. (1993). Εισαγωγή στην πληθυσμιακή οικολογία, τόμος 1, , Αθήνα, σελ. 151-154.
- 103) ΠΟΝΤΙΚΗΣ, Κ.Π. (2000). Ειδική δενδροκομία, ελαιοκομία, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ 39-124.
- 104) ΤΖΑΜΟΣ Ε. (2004). Φυτοπαθολογία, εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ 103-104.
- 105) ΤΣΟΛΑΚΗΣ Ι. (1991). Ποικιλίες ελιάς που αξιολογούνται στον ερευνητικό σταθμό Αγίου Μάμαντος Χαλκιδικής. Πτυχιακή εργασία Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας.
- 106) ΦΛΟΚΑΣ Α. (1997). Μαθήματα μετεωρολογίας και κλιματολογίας, Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη, σελ 334-337.

7 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1.

Olive Sanz-Cortés et al., in press

Phenological growth stages and BBCH-identification keys of olive tree (*Olea europaea* L.)

Code	Description
Principal growth stage 0: Bud development	
00	Foliar buds at the apex of shoots grown the previous crop-year are completely closed, sharp-pointed, stemless and ochre-coloured (Fig. 1: 00).
01	Foliar buds start to swell and open, showing the new foliar primordia.
03	Foliar buds lengthen and separate from the base.
07	External small leaves open, not completely separated, remaining joined by apices (Fig. 1: 07).
09	External small leaves opening further with their tips inter crossing (Fig. 1: 09)
Principal growth stage 1: Leaf development	
11	First leaves completely separated. Grey-greenish coloured (Fig. 1: 11)
15	The leaves are more separated without reaching their final size. First leaves turn greenish on the upperside.
19	Leaves get the typical variety size and shape.
Principal growth stage 3: Shoot development	
31	Shoots reach 10 % of final size.
33	Shoots reach 30 % of final size (Fig. 1: 33).
37	Shoots reach 70 % of final size.
Principal growth stage 5: Inflorescence emergence.	
50	Inflorescence buds in leaf axiles are completely closed. They are sharp-pointed, stemless and ochre-coloured.
51	Inflorescence buds start to swell on its stem.
52	Inflorescence buds open. Flower cluster development starts (Fig 1: 53).
54	Flower cluster growing
55	Flower cluster totally expanded. Floral buds start to open (Fig 1: 55).
57	The corolla, green-coloured, is longer than calyx (Fig 1: 57).
59	The corolla changes from green to white colour.

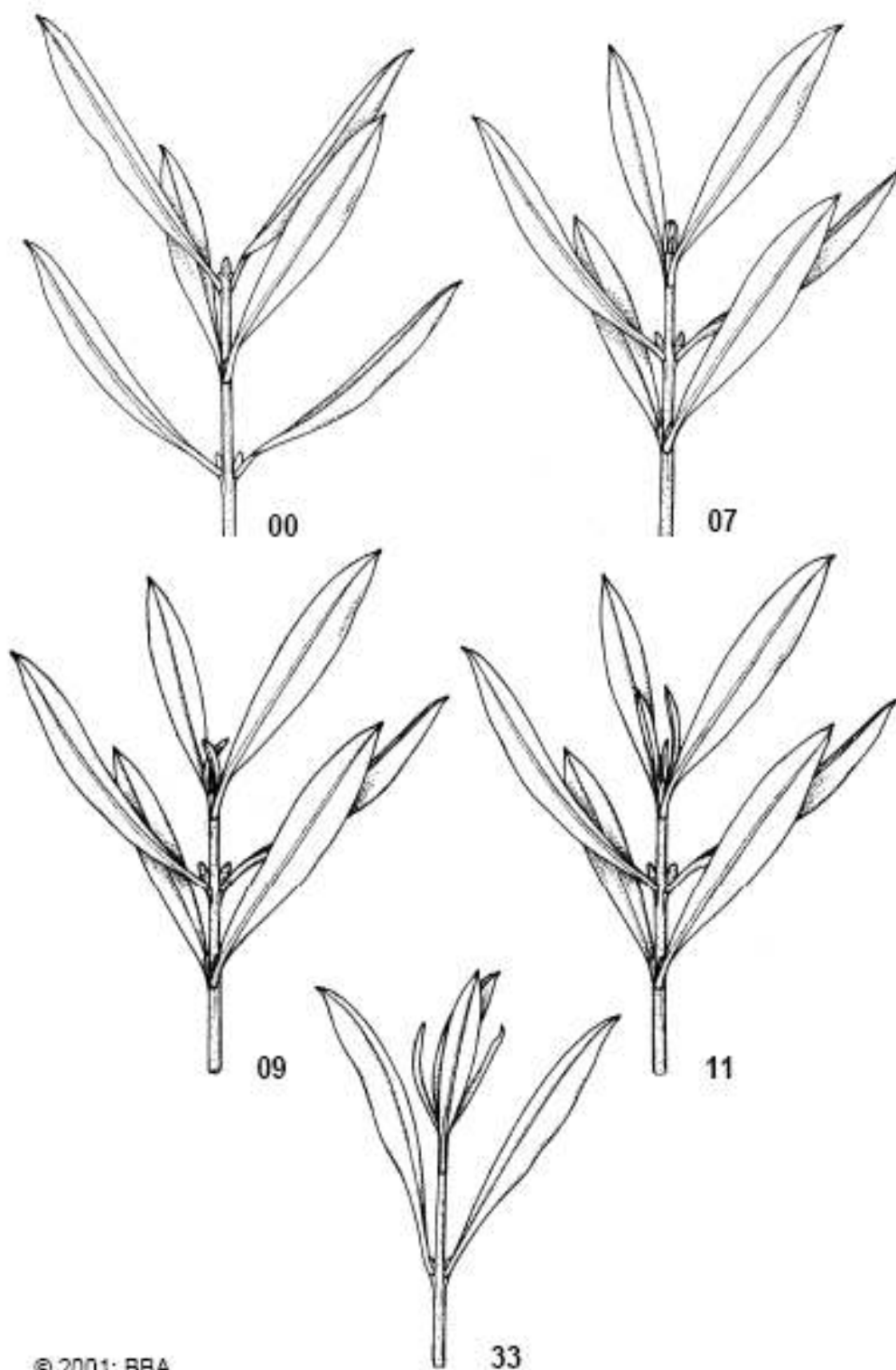
Olive

Sanz-Cortés et al., in press

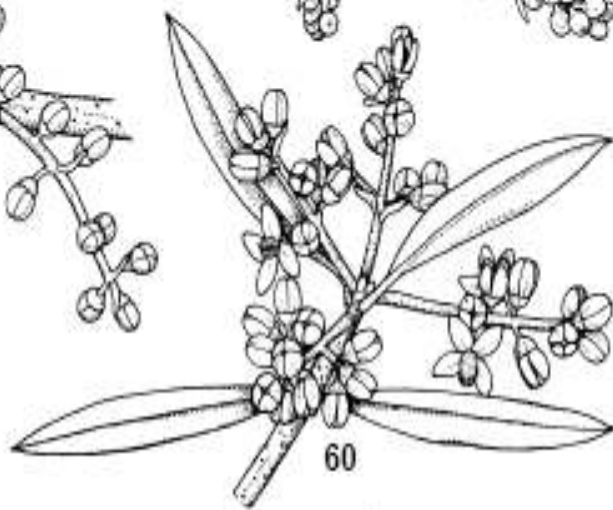
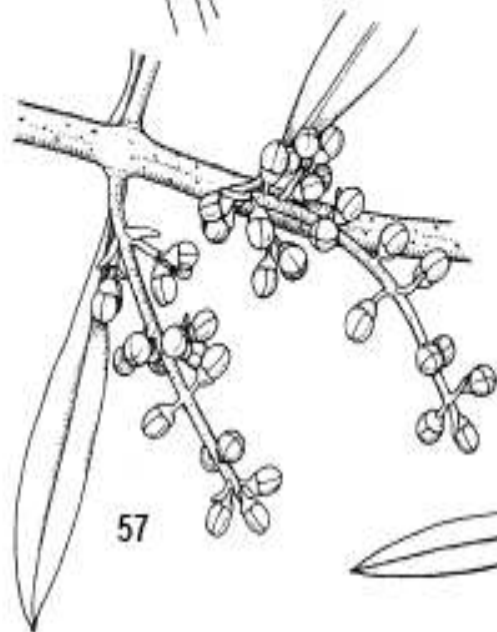
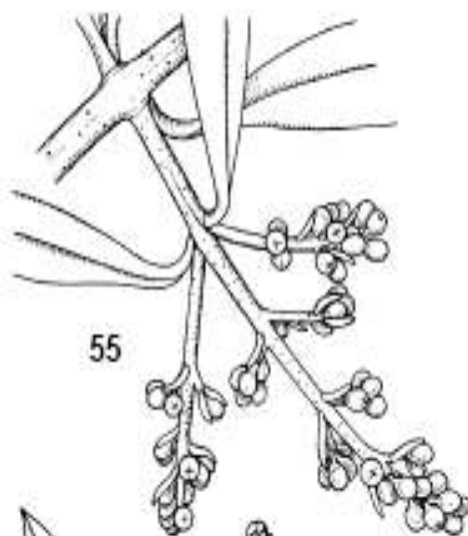
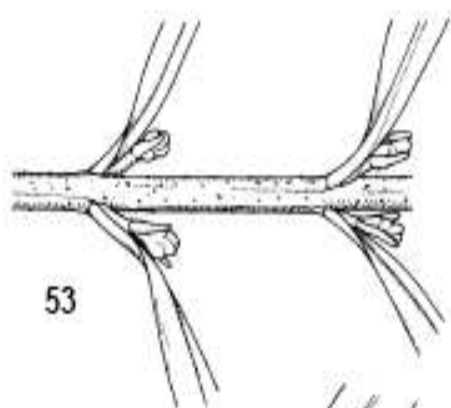
Phenological growth stages and BBCH-identification keys of olive tree (*Olea europaea* L.)

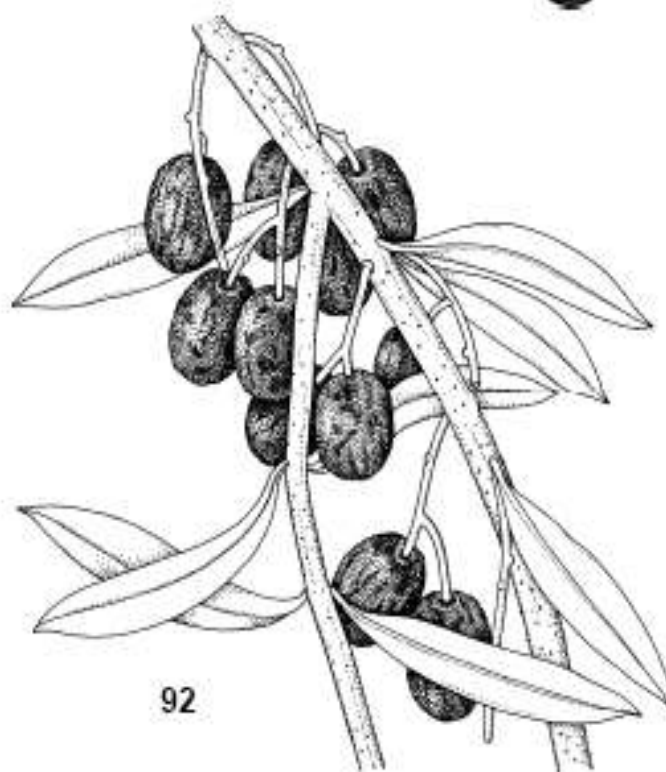
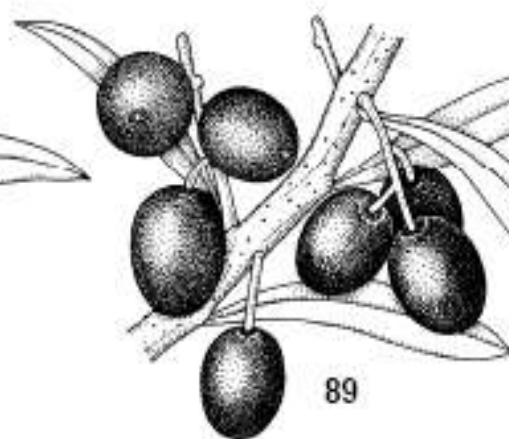
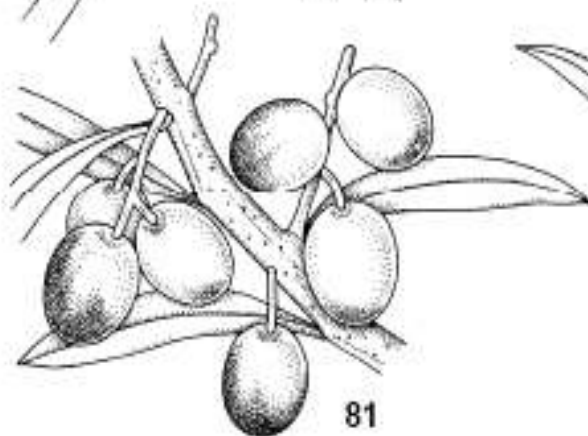
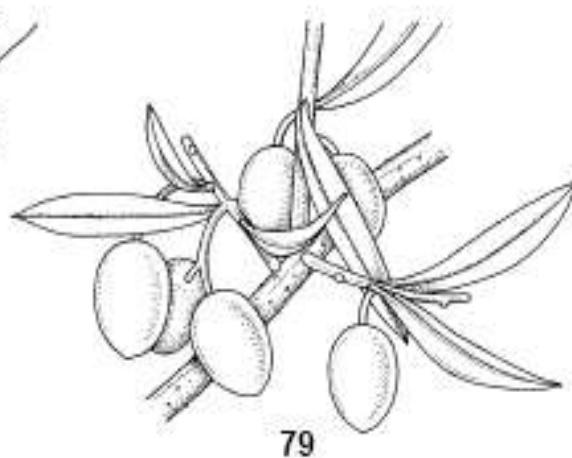
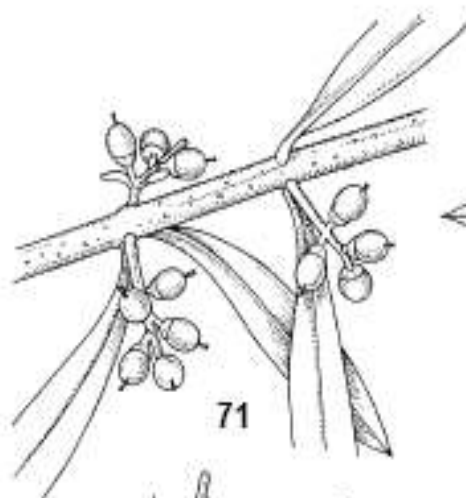
Code	Description
Principal growth stage 6: Flowering	
60	First flowers open (Fig 1: 60).
61	Beginning of flowering: 10 % of flowers open.
65	Full flowering: at least 50 % of flowers open (Fig 1: 65).
67	First petals falling.
68	Majority of petals fallen or faded (Fig 1: 68).
69	End of flowering, fruit set, non-fertilized ovaries fallen.
Principal growth stage 7: Fruit development	
71	Fruit size about 10 % of final size (Fig 1: 71).
75	Fruit size about 50 % of final size. Stone starts to lignificate (it shows cutting resistance).
79	Fruit size about 90 % of final size. Fruit suitable for picking green olives (Fig 1: 79).
Principal growth stage 8: Maturity of fruit	
80	Fruit deep green colour becomes light green, yellowish.
81	Beginning of fruit colouring (Fig 1: 81).
85	Increasing of specific fruit colouring.
89	Harvest maturity: fruits get the typical variety colour, remaining turgid, suitable for oil extraction (Fig. 1: 89).
Principal growth stage 9: Senescence	
92	Overripe: fruits lose turgidity and start to fall (Fig 1: 92).

Olive

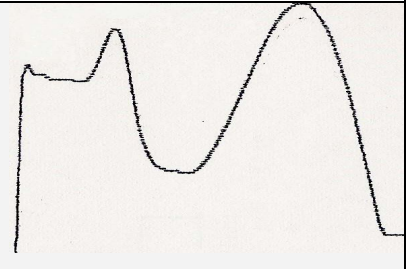
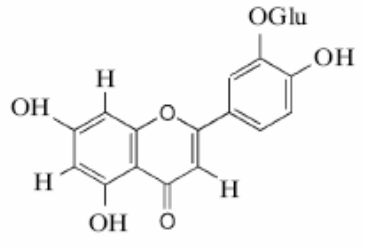
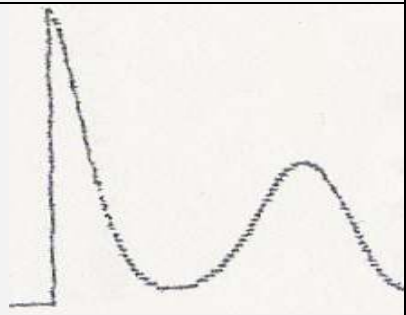
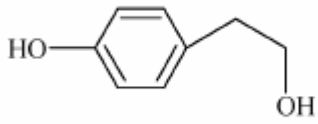
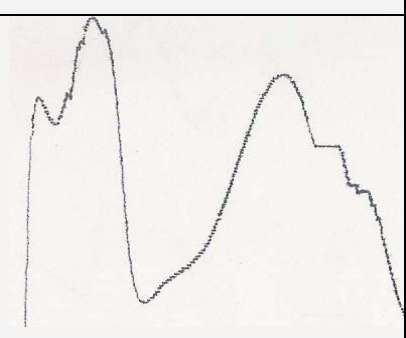
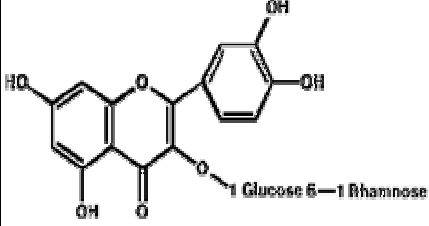
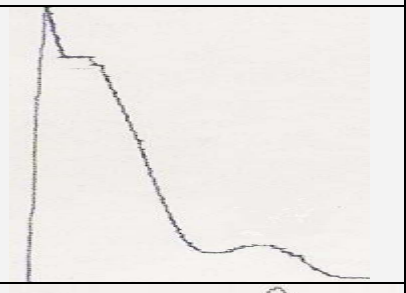
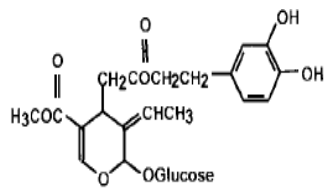
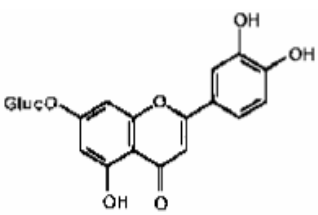


© 2001: BBA





ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2. Φάσματα απορρόφησης των αναλυόμενων φαινολικών ενώσεων.

Ομάδα φαινολικών ενώσεων	Όνομα ένωσης	Φάσμα απορρόφησης	Χημική δομή
Φλαβόνες	4-γλυκοζίτης της λουτεολίνης		
Φαινυλ-αιθυλ-Αλκοόλες	Τυροσόλη		
Φλαβονόλες	Ρουτίνη		
Σεκοϊριδοειδής γλυκοζίτης	Ελευρωπαΐνη		
Φλαβόνες	7-γλυκοζίτης της λουτεολίνης		

ΘΕΟΔΩΡΟΣ ΔΑΜΒΑΚΑΡΗΣ