



**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Η επίδραση του ασκορβικού οξέος στην ‘απάλυνση’ των
συμπτωμάτων τοξικότητας φυτών φράουλας (*Fragaria vesca*
L.) που αναπτύσσονται σε υψηλές συγκεντρώσεις Βορίου.»**

Η ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΗ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ

A.M.: 2014/098

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΔΡ. ΓΙΑΝΝΑΚΟΥΛΑ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ

2019

Σε αυτούς που πίστεψαν σε εμένα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο εκπαιδευτικό θερμοκήπιο του Αγροκτήματος ΑΤΕΙΘ.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια κα. Γιαννακούλα Αναστασία για την επιλογή του θέματος, την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθειά της όλο αυτό το διάστημα που βρισκόταν σε εξέλιξη η εκπόνηση της παρούσας εργασίας, καθώς και η συγγραφή της.

Επίσης, να ευχαριστήσω τους κο. Στεφάνου Στέφανο και κα. Τσανακτσίδου Αγάπη για την προσφορά αναλώσιμων από το Εργαστήριο Εδαφολογίας, καθώς και τον κο. Τάσιο Βασίλειο, για την παραχώρηση του θερμοκηπίου στο οποίο εκπονήθηκε η εργασία καθώς και την φροντίδα του.

Ευχαριστώ τις συμφοιτήτριες Χρυσάφη Δήμητρα και Ζλατίνη Ιωάννα για την άψογη συνεργασία που είχαμε εκπονώντας παράλληλα τις εργασίες μας, και για την βοήθειά τους όταν την χρειαζόμουν.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τους γονείς μου, που όλα αυτά τα χρόνια με στήριζαν υλικά και ηθικά, και επίσης τους δικούς μου ανθρώπους, που στις δυσκολίες με βοήθησαν να συνεχίσω ως το τέλος τις σπουδές μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο εκπαιδευτικό θερμοκήπιο του Αγροκτήματος ΑΤΕΙΘ. Σκοπός της έρευνας ήταν η διερεύνηση της απάλυνσης των συμπτωμάτων τοξικότητας Βορίου, με επέμβαση ασκορβικού οξέος. Χρησιμοποιήθηκαν 64 φυτά φράουλας χωρισμένα σε 8 ομάδες χειρισμών με 8 φυτά σε κάθε ομάδα. Πραγματοποιήθηκαν 8 χειρισμοί, 2 από τους οποίους αποτέλεσαν τους μάρτυρες. Έγινε πρόκληση τοξικότητας σε κάθε ομάδα με διαφορετική συγκέντρωση βορίου, σε 3 δόσεις. Μετά το πέρας των 3 δόσεων έγινε συλλογή καρπών και φύλλων για ανάλυση, και στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε επέμβαση με ασκορβικό οξύ σε 3 δόσεις. Έπειτα έγινε συλλογή καρπών και φύλλων για περαιτέρω ανάλυση και προσδιορισμό τοξικότητας και αποτελεσματικότητας της επέμβασης ασκορβικού οξέος. Πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις για τον προσδιορισμό ελάχιστου φθορισμού (F_0), μέγιστου φθορισμού (F_m), δείκτη απόδοσης PI (Performance Index), επιφάνειας (Area), ρυθμού φωτοσύνθεσης (A), στοματικής αγωγιμότητας (g_s), ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης CO_2 (C_i), ρυθμού διαπνοής (E), υπεροξειδωσης λιπιδίων (MDA), εκλυόμενου υπεροξειδίου υδρογόνου (H_2O_2), χλωροφυλλών a+b, και φλαβονοειδών. Οι μετρήσεις έδειξαν εμφανή καταπόνηση των φυτών και των λειτουργιών τους από το B, όμως έδειξαν και απάλυνση της καταπόνησης αυτής με την προσθήκη ασκορβικού οξέος. Η επέμβαση με τα καλύτερα αποτελέσματα ήταν αυτή με την προσθήκη 10 mmol B και 0,02g ασκορβικού οξέος.

ABSTRACT

The present study was carried out in the educational greenhouse of ATEI Farm. The purpose of the research was to investigate the alleviation of the symptoms of boron toxicity with ascorbic acid. 64 strawberry plants were used divided into 8 control groups with 8 plants in each group. 8 operations were performed, 2 of which were the controls. Toxicity was induced in each group with different boron concentration in 3 doses. At the end of the 3 doses, a collection of fruits for analysis was performed, and then an ascorbic acid treatment was performed in 3 doses. Fruit and leaves were then harvested for further analysis and determination of the toxicity and efficacy of ascorbic acid. Analyzes were performed to determine minimum fluorescence (F_0), maximum fluorescence (F_m), Performance Index (PI), Area Index, photosynthesis rate (A), leaves stomatal conductance (g_s), intracellular CO_2 concentration (C_i), rate of transpiration (E), lipid peroxidation (MDA), released hydrogen peroxide (H_2O_2), chlorophylls a+b, and flavonoids. The analyzes showed apparent strain of plants and their functions from B, but they also showed relief of this strain by the addition of ascorbic acid. The best-effect procedure was that with the addition of 10 mmol B and 0.02 g of ascorbic acid.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ABSTRACT	5
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1. Ονομασία – Ταξινόμηση φράουλας.....	8
2. Οικονομική σημασία.....	9
3. Βοτανικά χαρακτηριστικά – Μορφολογία.....	11
3.1. Γενικά.....	11
3.2. Οφθαλμοί.....	11
3.3. Φύλλα.....	13
3.4. Καρπός.....	14
3.5. Ριζικό σύστημα.....	14
3.6. Πολλαπλασιασμός.....	15
4. Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις.....	16
4.1. Κλίμα.....	16
4.2. Έδαφος.....	16
4.3. Λίπανση.....	17
4.4 Φωτοπερίοδος.....	17
4.5. Υγρασία.....	18
5. Βόριο.....	19
5.1. Γενικά.....	19
5.2. Ρόλος του Β στο φυτό.....	21
5.3. Τοξικότητα Β.....	21
5.4. Μηχανισμοί αντοχής στην τοξικότητα Β.....	23
5.5. Ο ρόλος του Β στην λειτουργικότητα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης.....	24
5.6. Ο ρόλος του βορίου στο μεταβολισμό των φυτών.....	26
5.7. Ο ρόλος του βορίου στη φωτοσυνθετική λειτουργία και τη διανομή σακχάρων.....	27
5.8. Ο ρόλος του βορίου στο δευτερογενή μεταβολισμό.....	28
5.9. Η αλληλεπίδραση βορίου και φαινολικών ενώσεων στο κυτταρικό περιβάλλον.....	29
6. Δομικά χαρακτηριστικά του κυτταρικού τοιχώματος.....	30
7. Χρωστικές.....	31
7.1 Ανθοκυανίνες.....	31
7.2 Χλωροφύλλη.....	33
8. Φθορισμός.....	34
9. Ασκορβικό οξύ.....	36
10. Φωτοσύνθεση.....	41

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	41
1. Σχεδιάγραμμα ψεκασμών.....	41
2. Ψεκασμοί Βορικού οξέος.....	43
3. Ψεκασμοί Ασκορβικού οξέος.....	49
4. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του εκλυόμενου υπεροξειδίου του υδρογόνου (H ₂ O ₂).....	55
5. Προσδιορισμός της υπεροξειδωσης των λιπιδίων των φύλλων (MDA)...	55
6. Μέτρηση του φθορισμού της χλωροφύλλης	57
7. Προσδιορισμός της συνολικής χλωροφύλλης των φύλλων	70
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	71
1. ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ.....	71
2. ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗ.....	76
3. ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗ ΛΙΠΙΔΙΩΝ (MDA).....	80
4. ΕΚΛΥΟΜΕΝΟ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ (H ₂ O ₂).....	81
5. ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΕΣ.....	82
6. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ.....	85
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	86
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	91
ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ.....	91
ΕΛΛΗΝΙΚΗ.....	92

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Ονομασία – Ταξινόμηση φράουλας

Η φράουλα καλλιεργείται εδώ και χιλιάδες χρόνια για τους εύγευστους καρπούς της, καθώς και για τα μεταποιημένα προϊόντα της. Είναι γνωστή από την αρχαιότητα με το όνομα **χαμαικέρασος**, δηλαδή το κεράσι του εδάφους. Το επιστημονικό της όνομα *Fragaria sp.* προέρχεται από τον λατινικό όρο *fragum* ή *fraga* (=γλυκιά γεύση), ή από την Ιταλική λέξη *fragola* (=φράουλα). (Βασιλακάκης, 1997).

Στην Ελλάδα αναφέρεται ως χαμαικέρασος, και πρώτη φορά τον 10^ο με 13^ο αιώνα ο ιατρός Νικόλας Μυρίπσικος κάνει την αναφορά στην φράουλα, που πιθανώς πρόκειται για παράφραση του ιταλικού όρου *fragola*. Αργότερα εμφανίστηκε το όνομα που επικρατεί μέχρι σήμερα, η «φράουλα» (Βασιλακάκης, 1997).

Στην Ευρώπη η συστηματική καλλιέργεια της φράουλας ξεκίνησε μόλις τον 14^ο αιώνα μ.Χ. στη Γαλλία, με ποικιλίες φυτών του είδους *Fragaria vesca* (Κανάκης, 2004).

Η καλλιεργούμενη φράουλα *Fragaria x ananassa* Duch. ανήκει στην οικογένεια Rosaceae και προέκυψε από υβριδισμό μεταξύ δύο οκταπλοειδών ειδών, *Fragaria chiloensis* (L) Duch. και *Fragaria virginiana var. glauca* ή *ovalis*. Όλες οι καλλιεργούμενες ποικιλίες είναι οκταπλοειδείς.

Συστηματική κατάταξη *Fragaria vesca*.

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Tracheobionta

Superdivision: Spermatophyta

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Subclass: Rosidae

Order: Rosales

Family: Rosaceae

Genus: *Fragaria*

Species: *Vesca*

Κ. ονομασία: Φράουλα



2. Οικονομική σημασία

Στην Ελλάδα η μεγαλύτερη παραγωγή φράουλας είναι στην Πελοπόννησο με τις περιφερειακές ενότητες (Π.Ε.) Ηλείας και Αχαΐας να κατέχουν τα πρωτεία. Αν και η παραγωγή επικεντρώνεται στις προαναφερθείσες Π.Ε., μεμονωμένες καλλιέργειες συναντώνται και στις Π.Ε. Πιερίας, Αιτωλοακαρνανίας, Ημαθίας, Καστοριάς και Λάρισας. Οι ποικιλίες που καλλιεργούνται στην Ελλάδα είναι προέλευσης των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής, Ιταλίας και Γαλλίας.

Η καλλιέργεια της φράουλας στην χώρα μας άρχισε την ανοδική πορεία από το 2014 και μετά κατά ένα τεράστιο ποσοστό, της τάξης του 3.473%. Πρόκειται για μια κατακόρυφη άνοδο, και αυτό οφείλεται στην στροφή των πολιτών στον πρωτογενή τομέα, λόγω της δυσμενούς οικονομικής και πολιτικής κατάστασης στην χώρα μας. Παρατηρούμε ότι το 2016 έχουμε μια

σημαντική πτώση, της τάξης του 33,7%, η οποία μειώνεται και σχεδόν εξισορροπείται το 2017 καθώς υπάρχει αύξηση 30%. Η παγκόσμια παραγωγή έχει μια σταθερή ανοδική πορεία τα τελευταία χρόνια. Τα στοιχεία παρατίθενται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Καλλιεργούμενη έκταση και παραγωγή φράουλας στην Ελλάδα και στον υπόλοιπο κόσμο για τα έτη 2017, 2016, 2015, 2014 και 2013.

Έτος	Ελληνική παραγωγή (Τόνοι)	Ελληνική έκταση (Στρέμματα)	Παγκόσμια παραγωγή (Τόνοι)	Παγκόσμια έκταση (Στρέμματα)
2017	58.900	3.632	9.223.815	978.152
2016	51.000	3.681	9.059.557	990.618
2015	66.060	3.335	8.765.242	963.797
2014	56.061	2.834	8.154.169	923.900
2013	6.195	734	7.879.108	913.225

Πηγή: <http://www.factfish.com>

Κυρίαρχες χώρες παγκόσμιας παραγωγής όπως φαίνεται στον Πίνακα 2, για το έτος 2017 είναι η Κίνα, οι ΗΠΑ και το Μεξικό. Η Κίνα έρχεται πρώτη στην παγκόσμια παραγωγή με 3.724.647 τόνους, και ακολουθούν οι ΗΠΑ με 1.449.280 τόνους, σχεδόν τρεις φορές μικρότερη από αυτήν της Κίνας.

Πίνακας 2. Παραγωγή φράουλας σε τόνους στις κυριότερες χώρες παραγωγής ανά τον κόσμο για το έτος 2017.

Χώρες	Παραγωγή (Τόνοι)	Χώρες	Παραγωγή (Τόνοι)
Κίνα	3.724.647	Ισπανία	360.416
ΗΠΑ	1.449.280	Ν. Κορέα	210.304
Μεξικό	658.436	Πολωνία	177.921
Αίγυπτος	407.240	Ρωσία	175.652
Τουρκία	400.167	Μαρόκο	161.793

Πηγή: <http://www.factfish.com>

3. Βοτανικά χαρακτηριστικά – Μορφολογία

3.1 Γενικά

Η φράουλα είναι αγγειόσπερμο, δικότυλο φυτό που ανήκει στην οικογένεια Rosaceae, και στο γένος *Fragaria*. Είναι ετήσιο ή πολυετές φυτό, που σχηματίζει φύλλα σε έναν πολύ βραχύ (μήκους 1-1,5 εκ.) και σαρκώδη βλαστό. Τα φύλλα της φράουλας είναι σύνθετα, αποτελούμενα από 3 έως 5 φυλλάρια ανά φύλλο με διάρκεια ζωής 1-3 μήνες. Τα φύλλα έχουν μεγάλο αριθμό στοματίων (300-400/χιλ²) με αποτέλεσμα να χάνεται μεγάλο ποσοστό υγρασίας μέσω της διαπνοής (Βασιλακάκης, 1997).

3.2 Οφθαλμοί

Οι οφθαλμοί της φράουλας διακρίνονται σε κορυφαίους και πλάγιους. Οι κορυφαίοι οφθαλμοί εξελίσσονται σε ανθοφόρους το φθινόπωρο, ενώ οι πλάγιοι μπορούν να σχηματίσουν πλάγιους βλαστούς, στόλωνες ή να παραμείνουν σε λήθαργο και αυτό εξαρτάται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος (φωτοπερίοδο, θερμοκρασία) (Βασιλακάκης, 1997).

3.2.1 Στόλωνες

Ένας μασχάλιαϊός οφθαλμός μπορεί να δώσει στόλωνα. Ένας τυπικός στόλωνας είναι βλαστός αγεοτροπικός, δηλαδή αυξάνει οριζόντια και φέρει δύο γόνατα. Στο πρώτο γόνατο φέρει οφθαλμό με ένα βράκτιο φύλλο, ενώ στο δεύτερο γόνατο φέρει οφθαλμό με πραγματικό φύλλο, ο οποίος οφθαλμός δίνει γένεση σε βλαστό και στην βάση του σχηματίζονται επίκτητες ρίζες. Αυτές οι ρίζες αρχικά είναι μονοστέλεχες, μέχρις ότου διαπεράσουν το έδαφος.

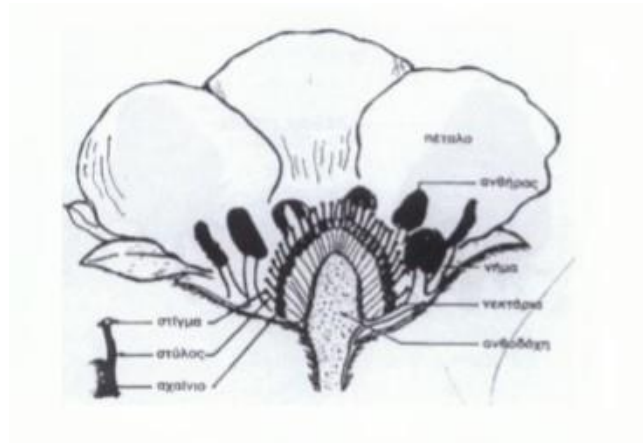


Φυτό φράουλας με στόλωνες.

3.2.2 Άνθη

Ανθοφόροι οφθαλμοί σχηματίζονται στην κορυφή του αρχικού βλαστού καθώς και στις κορυφές των παράπλευρων βλαστών. Ο κάθε ανθοφόρος δίνει ταξιανθία. Η ταξιανθία είναι ένα σύνθετο σκιάδιο, δηλαδή ο κύριος άξονας διασπάται σε δύο διακλαδώσεις, που η κάθε μία καταλήγει σε ένα άνθος κ.ο.κ. Η ταξιανθία μπορεί να διακλαδωθεί στην βάση, με αποτέλεσμα την εμφάνιση περισσότερων του ενός άξονα, ή μακριά από την βάση, έτσι ώστε να υπάρχει ένα κορυφαίο άνθος (βασιλικό) και πολλά δευτεροταγή, τριτοταγή κ.ο.κ. Σε κάθε περίπτωση, μια διακλάδωση της ταξιανθίας σχηματίζεται σε γόνατο αυτής, στη μασχάλη ενός βράκτιου φύλλου. Το βασιλικό άνθος αναπτύσσεται πρώτο και είναι ευάλωτο, ιδιαίτερα στον παγετό νωρίς την άνοιξη (Βασιλακάκης, 1997).

Οι πολυπλοειδείς ποικιλίες της φράουλας είναι όλες τριόικες, δηλαδή απαντώνται αρσενικά, θηλυκά και ερμαφρόδιτα άνθη σε διαφορετικά είδη φράουλας (Ahmadi et al., 1991). Αντίθετα, οι διπλοειδείς ποικιλίες είναι μονόικες με ερμαφρόδιτα άνθη, με μοναδική εξαίρεση την *F. Vesca*, η οποία είναι δίοικη με ερμαφρόδιτα και θηλυκά φυτά (Ahmadi et al., 1991). Τα άνθη της φράουλας αποτελούνται από 5 σέπαλα, 5 λευκά πέταλα, 15-30 στήμονες και μέχρι 400 υπέρους, κίτρινους. Ο αριθμός των υπέρων ποικίλει και εξαρτάται από την θέση του άνθους στην ταξιανθία. Το βασιλικό άνθος (πρωτοταγές) έχει περίπου 382 υπέρους, το δευτεροταγές 224, το τριτοταγές 151 και το τεταρτοταγές 92 (Βασιλακάκης, 1997).



Άνθος φράουλας σε κατά μήκος τομή

3.3 Φύλλα

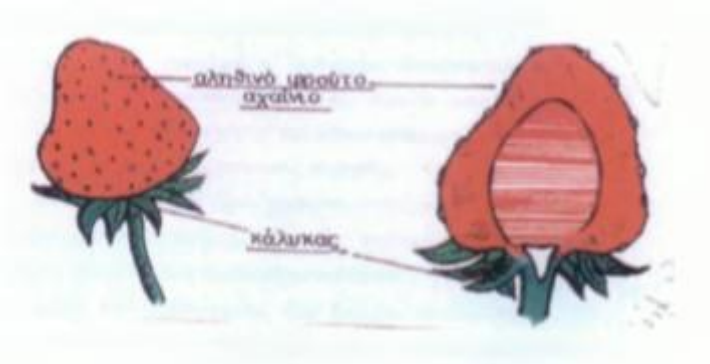
Τα φύλλα είναι σύνθετα, έχουν από 3 έως 5 φυλλάρια ανά φύλλο με διάρκεια ζωής 1-3 μήνες. Τα φύλλα έχουν μεγάλο αριθμό στοματίων (300-400/χιλ²) με αποτέλεσμα να χάνεται μεγάλο ποσοστό υγρασίας μέσω της διαπνοής (Βασιλακάκης, 1997). Έχουν μακρύ μίσχο, μήκους πάνω από 10 εκ. περίπου. Ο μίσχος φέρει πυκνό και κοντό τρίχωμα, Στην άκρη του μίσχου υπάρχουν τρία φυλλάρια, ενώ κάπου στο μέσο του μίσχου υπάρχουν δύο μικρά παράφυλλα. Τα φύλλα είναι οδοντωτά. Στην κάτω επιδερμίδα του φύλλου υπάρχουν στομάτια. Τα φύλλα έχουν βαθύ πράσινο χρώμα στην άνω επιφάνεια και ανοιχτό πράσινο χρώμα στην κάτω επιφάνεια (Κανάκης, 2004).



Φύλλα φράουλας

3.4 Καρπός

Ο καρπός της φράουλας είναι σύνθετος, και συγκεκριμένα συγκάρπιο. Το εδώδιμο τμήμα του καρπού είναι η διογκωμένη ανθοδόχη, εξωτερικά της οποίας φέρονται τα αχάινια, που είναι βυθισμένα ή εξέχουν (Βέμμος, 2008). Το μέγεθος του καρπού συσχετίζεται απόλυτα με το μέγεθος του άνθους ή με τον αριθμό των υπέρων που φέρει και οι οποίοι ύπεροι θα γίνουν αχάινια. Επηρεάζεται βέβαια και από άλλους παράγοντες, όπως θρέψη και άρδευση, αλλά ένα μικρό άνθος δεν μπορεί να δώσει μεγάλο καρπό, ακόμη και αν όλες οι συνθήκες βρίσκονται σε άριστο επίπεδο (Βασιλακάκης, 1997).



Καρπός φράουλας

3.5 Ριζικό σύστημα

Το ριζικό σύστημα της φράουλας είναι θυσανώδες και επιπόλαιο. Αποτελείται από ένα μόνιμο τμήμα (πολυετές) με ξυλώδες και φελλώδες κάμβιο και από ένα ετήσιο έως πολύ βραχύβιο ριζικό σύστημα, που στερείται καμβίου, και αποτελείται από ριζικά τριχίδια, τα οποία προσλαμβάνουν τα θρεπτικά συστατικά. Τα ριζικά τριχίδια ζουν από μερικές ημέρες έως μερικές εβδομάδες, μετά γηράσκουν και πεθαίνουν. Οι πρωτογενείς ρίζες συνήθως γηράσκουν και πεθαίνουν καθώς το φυτό γηράσκει μέσα 1-2 χρόνια. Νέες ρίζες επίκτητες σχηματίζονται και αναπτύσσονται σε υψηλότερες θέσεις του βλαστού (γόνατα).

Το σύνολο σχεδόν του ριζικού συστήματος της φράουλας (90% των ριζών) επεκτείνεται σε βάθος 15 εκ. του επιφανειακού εδαφικού στρώματος, ενώ το 50% στα 8 εκ. (Βασιλακάκης, 1997). Η φράουλα δηλαδή, προσλαμβάνει

τα ανόργανα θρεπτικά στοιχεία και το νερό από το επιφανειακό στρώμα εδάφους που βρίσκεται περίπου στα 20 εκ.



www.shutterstock.com • 779069926



Ριζικό σύστημα σε φυτάριο φράουλας

Ανάπτυξη ρίζας σε νέο φυτάριο από στόλωνα

Ένα ανεπτυγμένο φυτό έχει 20-35 πρωτοταγείς ρίζες, αλλά μπορεί να έχει μέχρι και 100. Η πρωτοταγής ρίζα ζει 1 χρόνο περίπου, ή και περισσότερο υπό ευνοϊκές συνθήκες. Το ριζικό σύστημα, εκτός του ότι στερεώνει το φυτό και προσλαμβάνει το νερό και τα ανόργανα θρεπτικά συστατικά, αποτελεί επίσης αποθήκη αποθησαυριστικών ουσιών (άμυλο). Το αποθηκευμένο άμυλο είναι βασικής σημασίας προϋπόθεση για την ζωηρή βλάστηση και άνθηση την άνοιξη.

3.6 Πολλαπλασιασμός

Η φράουλα πολλαπλασιάζεται με σπόρο, με διαχωρισμό των βλαστικών αξόνων μαζί με τμήμα ρίζας, με ιστοκαλλιέργεια, καθώς και με στόλωνες. Με σπόρο πολλαπλασιάζονται μόνο οι νέες ποικιλίες που προκύπτουν από υβριδισμό. Στην πράξη, υπό εμπορικές συνθήκες, πολλαπλασιάζεται σχεδόν κατά αποκλειστικότητα με στόλωνες (Βασιλακάκης, 1997).

Ο αριθμός των στολώνων που θα παραχθεί ανά φυτό εξαρτάται από την ποικιλία, καθώς και από τις επικρατούσες συνθήκες μήκους ημέρας και θερμοκρασιών. Το κάθε θυγατρικό φυτό μπορεί να δώσει νέο στόλωνα, ο οποίος θα δώσει νέο φυτό και έτσι από έναν πλάγιο οφθαλμό μπορεί να

σχηματισθούν πολλά θυγατρικά φυτά στην σειρά. Ο στόλωνας αποτελεί βασικό μέσο αγενούς πολλαπλασιασμού της φράουλας (Βασιλακάκης, 1997).

4. Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις

4.1. Κλίμα

Το φυτό της φράουλας διαθέτει πολύ μεγάλη γενετική ποικιλομορφία, πράγμα που της επιτρέπει να εγκλιματίζεται σε ποικίλα περιβάλλοντα. Μπορεί να καλλιεργηθεί από τροπικές περιοχές, σε υψόμετρο 1000 μέτρων, έως και περιοχές του αρκτικού κύκλου. Η φράουλα είναι ένα φυτό που αντέχει στις υπερβολικά χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα εφόσον καλυφθεί από χιόνι, το οποίο λειτουργεί ως μονωτικό υλικό. Οι απαιτήσεις της φράουλας σε χειμερινό ψύχος υπολογίζονται στις 500 ώρες, κάτω από τους 5°C (Δεκάζος, 1991). Η καταστροφή του φυλλώματος των περισσότερων καλλιεργούμενων ποικιλιών επέρχεται σε θερμοκρασίες κάτω των -2°C έως -7°C (Μαρίνου, 2011). Όταν το φυτό εισέλθει σε λήθαργο, το ριζικό σύστημα μπορεί να αντέξει παγετούς της τάξης των -40°C έως -51°C (Κανάκης, 2004). Η ελάχιστη θερμοκρασία ατμόσφαιρας, για την ομαλή λειτουργία των φυτών, ανέρχεται στους 5°C - 6°C ενώ η μέγιστη στους 30°C. Η ιδανική θερμοκρασία ημέρας για την φράουλα κυμαίνεται ανάμεσα στους 15°C με 22°C, ενώ για τη νύχτα στους 10°C με 13°C.

4.2. Έδαφος

Η φράουλα καλλιεργείται σε μια μεγάλη γκάμα εδαφών χωρίς ιδιαίτερο πρόβλημα. Αναπτύσσεται καλά σε γόνιμα, πλούσια σε οργανική ουσία εδάφη. Δεν αναπτύσσεται στην υπερβολική εδαφική υγρασία και γι' αυτό πρέπει να αποφεύγονται τα δύσκολα αποστραγγιζόμενα και βαριά αργιλώδη εδάφη. Σε εδάφη με υψηλότερο pH και με υψηλή περιεκτικότητα σε Ca, παρατηρείται χλώρωση λόγω έλλειψης σιδήρου, ειδικά σε ευαίσθητες ποικιλίες. Ιδανικά εδάφη για την καλλιέργεια της φράουλας θεωρούνται τα ελαφρά αμμοπηλώδη εδάφη (Βασιλακάκης, 1997). Οι τιμές του pH του εδάφους πρέπει να κυμαίνονται από 5.0 έως 7.0, ενώ η ηλεκτρική αγωγιμότητα πρέπει να διαμορφώνεται στα 1 – 1.2 mS/cm.

4.3. Λίπανση

Η φράουλα, όπως και όλα τα φυτά, για να αναπτυχθούν και να παράγουν απαιτούν ανόργανα στοιχεία και ιδιαίτερα μεγάλες ποσότητες αζώτου, καλίου και φωσφόρου. Όταν η φράουλα καλλιεργείται σε πλούσια εδάφη δεν χρειάζεται καθόλου λίπανση, όμως συνήθως εκεί που καλλιεργείται χρειάζεται λίπανση και προτιμότερο είναι αυτή να στηρίζεται σε εδαφική ανάλυση. Ένα έδαφος που περιέχει 6 κιλά διαθέσιμου P (P_2O_5) και 25 κιλά K (K_2O) ανά στρέμμα θεωρείται ικανοποιητικό, από άποψη P και K για την καλλιέργεια. Το άζωτο (N) είναι το στοιχείο που ελέγχεται εύκολα και μάλιστα τα φυτά αντιδρούν αμέσως στην εφαρμογή του. Το άζωτο είναι απαραίτητο για ταχεία και πλούσια λίπανση. Επίσης, ο αριθμός στολώνων/φυτό επηρεάζεται από την N-ούχο λίπανση (Βασιλακάκης, 1997).

4.4 Φωτοπερίοδος

Οι σημαντικότεροι παράγοντες για τη διαφοροποίηση των οφθαλμών σε ανθοφόρους είναι: περίοδος 12 ωρών φωτός ημέρας ή λιγότερο και μέσες θερμοκρασίες. Κάθε ποικιλία έχει ανάγκη από διαφορετικό μήκος φωτοπεριόδου και απαιτήσεις σε θερμοκρασία. Το μήκος φωτοπεριόδου επηρεάζει και το σχηματισμό των στολώνων. Γενικά η μεγάλη φωτοπερίοδος ευνοεί το σχηματισμό ανθοφόρων οφθαλμών για τις ποικιλίες βραχείας ημέρας. Αντίθετα για τις everbearing ποικιλίες η διαφοροποίηση των οφθαλμών ευνοείται σε συνθήκες μακράς φωτοπεριόδου (Βαρβέρης, 1977).

4.5. Υγρασία

Το νερό σαν συστατικό των κυττάρων του φυτού, έχει πάντοτε πρωταρχική σημασία για τη ζωή του. Το νερό επιδρά στην ανάπτυξη και την παραγωγή της φράουλας κατά δύο τρόπους, μέσω της ατμοσφαιρικής υγρασίας, και μέσω του απαιτούμενου νερού για την ανάπτυξη και την παραγωγή.

Η ατμοσφαιρική υγρασία παίζει ένα δευτερεύοντα ρόλο στον σχηματισμό ανθοφόρων οφθαλμών, ο οποίος εξαρτάται από την εποχή και την ποικιλία. Η σχετική υγρασία επηρεάζει επίσης την παραγωγή. Για την λήψη ικανοποιητικής παραγωγής, απαιτείται χαμηλά σχετική υγρασία αέρα τον προηγούμενο της παραγωγής Αύγουστο και Σεπτέμβριο. Σχετικά χαμηλές υγρασίες αέρα, κατά τις αρχές Μαΐου ευνοούν υψηλές παραγωγές, ενώ από τα μέσα Μαΐου- Ιουνίου αυξημένη σχετική υγρασία και τροφοδοσία με νερό αυξάνουν την παραγωγή. Περιορισμένη τροφοδοσία με νερό τον Σεπτέμβριο ευνοεί τον σχηματισμό ανθοφόρων οφθαλμών. Η φράουλα θεωρείται γενικά φυτό αρκετά απαιτητικό σε νερό για τη λήψη ικανοποιητικής παραγωγής. Η ποσότητα του νερού εξαρτάται από: την ποικιλία το στάδιο ανάπτυξης τον τύπο του εδάφους το σύστημα φύτευσης τον τρόπο άρδευσης.

Υπολογίζεται ότι η φράουλα κατά τη βλαστική περίοδο έχει ανάγκη 600-900 m νερού/ στρέμμα από τα οποία τα 200 m χρειάζεται από τα μέσα Ιουνίου μέχρι τα μέσα Ιουλίου. Η ποιότητα του νερού χρειάζεται να ελεγχθεί για την άρδευση της φράουλας. Το νερό πρέπει να περιέχει μικρές συγκεντρώσεις Na, Cl, και B. Συγκεντρώσεις νερού πάνω από 900 ή 1000 ppm σε ολικά άλατα χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή γιατί μπορεί να προκαλέσουν συγκεντρώσεις αλάτων σε τοξικό επίπεδο.

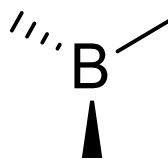
Η ελάχιστη σχετική υγρασία για την ανάπτυξη της φράουλας είναι 60%. Η άριστη 65% και η μέγιστη 75%. Μεγαλύτερα ποσοστά σχετικής υγρασίας ευνοούν την ανάπτυξη μυκήτων και κυρίως του βοτρυτή (Βαρβέρης, 1977).

5. Βόριο

5.1 Γενικά

Το βόριο είναι χημικό στοιχείο με σύμβολο το B και έχει ατομικό αριθμό 5. Ανήκει στην 13^η (IIIA) ομάδα του περιοδικού πίνακα, και είναι το πρώτο μέλος και μοναδικό μη μέταλλο στοιχείο αυτής της ομάδας. Ταξινομείται στα μεταλλοειδή, δηλαδή συμπεριφέρεται και σαν μέταλλο και σαν μη μέταλλο. Παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με το γειτονικό του C και διαγώνια με το Si. Διαφέρει όμως από αυτά κατά ένα ηλεκτρόνιο, και συχνά αναφέρεται ως «ελλιπές ηλεκτρονίων» (electron deficiency), ιδιότητα που επηρεάζει την χημική του συμπεριφορά. (Καραγιαννίδης,). Το βόριο είναι δυσκίνητο στοιχείο (Θερίος, 1996). Είναι το μοναδικό αμέταλλο μικροστοιχείο με σθένος +3 και έχει πολύ μικρή ιοντική ακτίνα (Δροσόπουλος, 1992).

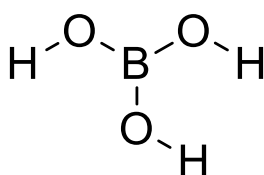
Το βόριο ανακαλύφθηκε το 1908 από τους L.J. Gay-Lussac , L.J. Thernar και Sir Humphry Davy. Ως στοιχείο είναι μια γκρίζα σκόνη η οποία όμως δεν βρίσκεται ελεύθερη στη φύση. Το βόριο βρίσκεται στη φύση στα ύδατα που αναβλύζουν από περιοχές που υπάρχουν ηφαιστειακά πετρώματα υπό μορφή ορθοβορικού οξέος, και ως βορικά άλατα στον βόρακα και στον κολεμανίτη. Η σημαντικότερη πηγή βορίου είναι ο ρασορίτης ο οποίος βρίσκεται σε αφθονία στην έρημο Μοχάβε στην Αμερική (Μαλκάκης, 2004).



Χημικό στοιχείο B (με δεσμούς)

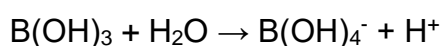
Είναι ένα βασικό μικροστοιχείο για τα φυτά και οι απαιτήσεις τους σε αυτό είναι χαμηλότερες από τις απαιτήσεις για όλα τα άλλα θρεπτικά στοιχεία εκτός από το Mo και τον Cu. Το B είναι μοναδικό ως ιχνοστοιχείο γιατί τα όρια μεταξύ έλλειψης και τοξικότητας είναι στενά (Mortvedt κ.α., 1991). Στα φυτικά και ζωικά κύτταρα, περισσότερο από το 98% του B απαντάται ως βορικό οξύ [B(OH)₃] (Brown κ.α., 2002, Devirian και Volpe, 2003). Βρίσκεται στην φύση υπό μορφή

ορυκτών, το σπουδαιότερο από τα οποία είναι ο βόρακας ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Σχηματίζει ένα ασθενές οξύ, το ορθοβορικό οξύ (H_3BO_3), το οποίο είναι λευκή στερεά ουσία σχετικά ευδιάλυτη στο νερό. Η ασυνήθιστη χημεία του Β υποδεικνύει τη δυνατότητα μιας ευρείας ποικιλίας βιολογικών λειτουργιών για αυτό το ιχνοστοιχείο. Ωστόσο, οι ακριβείς μεταβολικές του λειτουργίες δεν είναι σαφείς. Αν και θεμελιώδη ιχνοστοιχεία βρέθηκαν ως συστατικά σε περισσότερες από 1500 πρωτεΐνες, οι πρωτεΐνες ή οι ενώσεις που σαφώς εμφανίζονται ότι περιέχουν Β είναι πολύ σπάνιες (Hänsch και Mendel, 2009).



Βορικό οξύ

Σε υδατικά διαλύματα το βορικό οξύ συμπεριφέρεται ως ασθενές μονοβασικό οξύ κατά Lewis με K_a ίση με $6 \cdot 10^{10}$ και pK_a 9,24 κατά την αντίδραση:



Ως γενικές χρήσεις εκτός από την γεωργία όπου χρησιμοποιείται ως λίπασμα, το βόριο βρίσκει εφαρμογές στην υαλουργία την πυροτεχνική και την ιατρική όπου το βορικό οξύ χρησιμοποιείται ως αντισηπτικό. Το βόριο είναι απαραίτητο ακόμα και στον άνθρωπο. Ένας άνθρωπος βάρους 80 κιλών πρέπει να περιέχει 0,056 γραμμάρια βορίου περίπου. Οι ενώσεις του βορίου όμως μπορεί να είναι καρκινογόνες (Μαλκάκης, 2004).

5.2 Ρόλος του Β στο φυτό

Σύμφωνα με τους Fageria και Gheyi (1999) οι πιο σημαντικές λειτουργίες του βορίου στα φυτά είναι οι ακόλουθες:

1. Είναι απαραίτητο για τη βλάστηση των γυρεοκόκκων και την αύξηση του γυρεοσωλήνα
2. Είναι απαραίτητο για τον σχηματισμό σπόρων και κυτταρικού τοιχώματος
3. Είναι σημαντικό στον σχηματισμό πρωτεϊνών
4. Όταν είναι ανεπαρκές αναστέλλεται η σύνθεση των κυτοκινινών
5. Έχει μεγάλη σημασία στη σύνθεση νουκλεϊνικών οξέων
6. Σε συνθήκες έλλειψης Β συσσωρεύεται $\text{NO}_3\text{-N}$ στις ρίζες, τα φύλλα και τα στελέχη, δείχνοντας ότι αναστέλλεται η αναγωγή $\text{NO}_3\text{-}$ και η σύνθεση αμινοξέων
7. Διευκολύνει τη μεταφορά σακχάρων
8. Φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά θρεπτικών στοιχείων μέσω των μεμβρανών των φυτών
9. Αυξάνει τον αριθμό των λοβών ανά ταξιανθία στα όσπρια
10. Επηρεάζει την κυτταρική αύξηση και επιμήκυνση
11. Εμπλέκεται στον μεταβολισμό N και P
12. Βελτιώνει τη βλάστηση των σπόρων και τη ζωηρότητα των σποροφύτων
13. Σχετίζεται κυρίως με την πηκτίνη του κυτταρικού τοιχώματος και τα φυσικά χαρακτηριστικά του αναπτυσσόμενου κυτταρικού τοιχώματος. (Σαράφη, 2018)

Επίσης, σύμφωνα με τον Ταμουτσίδη (2008) οι κύριες λειτουργίες του Β σχετίζονται με την απόθεση λιγνίνης, την ακεραιότητα των βιομεμβρανών, την διαίρεση των κυττάρων καθώς και την καρποφορία και ανθοφορία, και σύμφωνα με τον Θεριό (1996) το Β λαμβάνει μέρος στον μεταβολισμό IAA και νουκλεϊκών οξέων.

5.3 Τοξικότητα Β

Οι μειωμένες αποδόσεις σε εδάφη που περιέχουν τοξικά επίπεδα Β αποτελούν παγκόσμιο πρόβλημα στην παραγωγή τροφίμων, ειδικά σε περιοχές με αλκαλικά και αλατούχα εδάφη, χαμηλή βροχόπτωση και περιορισμένη έκπλυση (Leyshon και Jame, 1993; Marschner, 1995). Εκτός από

τη φυσική της εμφάνιση σε αυτές τις περιοχές, η τοξικότητα B μπορεί να οφείλεται σε εδάφη πλούσια σε B, επίσης στο νερό άρδευσης ή σε λιπάσματα πλούσια σε B αλλά και σε B που περιέχεται στη λυματολάσπη ή την αιωρούμενη τέφρα (Nable κ.α., 1997; Parks και Edwards, 2005).

Οι φυσιολογικές επιδράσεις της τοξικότητας B περιλαμβάνουν μεταβολές στο μεταβολισμό, μείωση της κυτταροδιαίρεσης των ριζών, μείωση της χλωροφύλλης των φύλλων, αναστολή της φωτοσύνθεσης, χαμηλότερη στοματική αγωγιμότητα, μείωση των συγκεντρώσεων λιγνίνης και σουβερίνης στα κύτταρα, αυξημένη διαρροή μεμβράνης, υπεροξειδωση λιπιδίων και τροποποίηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών οδών (Reid κ.α., 2004). Σύμφωνα με τους Reid κ.α. (2004), είναι δύσκολο να προσδιοριστεί ποια διαδικασία είναι περισσότερο υπεύθυνη για τη μείωση της συνολικής αύξησης των φυτών υπό συνθήκες τοξικότητας B. Ακόμη και αν οι παράμετροι της φωτοσύνθεσης δεν επηρεάζονται σοβαρά, η απώλεια μέρους της επιφάνειας των φύλλων που προκαλείται από μειωμένη αύξηση στις μεριστωματικές περιοχές, σε συνδυασμό με τις απώλειες λόγω νέκρωσης ώριμων φύλλων, προκαλεί σημαντική μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας και έχει αρνητικές επιπτώσεις στην αύξηση και παραγωγή. Η αναστολή της αύξησης των ριζών θα είχε αρνητικό αντίκτυπο στην αύξηση λόγω μείωσης της περιοχής του ριζοστρώματος που είναι διαθέσιμο για απορρόφηση νερού και θρεπτικών στοιχείων, ενώ παράλληλα θα περιοριζόταν η απορρόφηση B. Οι παραπάνω ερευνητές αναφέρουν επίσης ότι δεν υπάρχουν στοιχεία που να υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η τοξικότητα B στα φύλλα οφείλεται σε οσμωτική καταπόνηση που προκαλείται από τη συσσώρευση του στοιχείου.

Παρόλο που δεν είναι ξεκάθαρη η φυσιολογική βάση της τοξικότητας B, έχουν προταθεί τρεις κύριες αιτίες λαμβάνοντας υπόψη τις γνώσεις μας για τη χημεία B (Camacho-Cristobal κ.α., 2008): 1. μεταβολή της δομής του κυτταρικού τοιχώματος, 2. διαταραχή του μεταβολισμού μέσω της δέσμευσης σε μόρια της ριβόζης όπως η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), νικοτιναμίδο-αδενίνο δινουκλεοτίδιο (ανηγμένη μορφή) (NADH) ή νικοτιναμίδο-αδενίνο-φωσφορικό δινουκλεοτίδιο (ανηγμένη μορφή) (NADPH) και 3. διαταραχή της κυτταρικής διαίρεσης και αύξησης με δέσμευση σε ριβόζη, είτε ως ελεύθερο σάκχαρο είτε εντός RNA.

Μεταξύ μιας μεγάλης ποικιλίας φυτικών ειδών, τα ορατά συμπτώματα της τοξικότητας Β στα φυτά είναι η χλώρωση ή η νέκρωση των κορυφών και των περιθωρίων των ώριμων φύλλων (Gupta 1993; Papadakis κ.α., 2004a). Αυτά τα συμπτώματα αντανακλούν την κατανομή του Β στα περισσότερα είδη, με το Β να συσσωρεύεται στο τέλος του ρεύματος της διαπνοής (περιθώρια φύλλων). Ωστόσο, άλλα είδη παρουσίαζαν διαφορετικά συμπτώματα όπως εκροή κόμμεος στα φύλλα και τους οφθαλμούς, εμφάνιση καφέ αποφελλώσεων κατά μήκος των βλαστών και των μίσχων και σχίσσιμο του φλοιού (Woodbridge, 1955, Brown και Hu, 1998b). Αυτός ο διαφορετικός τύπος συμπτωμάτων τοξικότητας Β προκαλείται από την υψηλή ευκινησία του Β στην ηθμώδη μοίρα (Brown και Hu, 1996) που συμβαίνει ως αποτέλεσμα της χρήσης πολυολών (σύνθετα σάκχαρα), όπως η σορβιτόλη, που έχει υψηλή συγγένεια να δεσμεύει το Β ως πρωτεύον φωτοσυνθετικό μεταβολίτη. Τα τοξικά επίπεδα του Β έχουν επίσης αποδειχθεί ότι προκαλούν αναστολή της αύξησης των βλαστών και ριζών (Lovatt και Bates, 1984; Nable κ.α., 1990; Reid κ.α., 2004) που περιορίζει την ικανότητα του φυτού να απορροφά τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία και το νερό, ενώ η νέκρωση στα φύλλα περιορίζει την ικανότητα παροχής φωτοσύνθεσης στην ανάπτυξη καρπών, σπόρων και οργάνων αποθήκευσης. (Σαράφη, 2018)

5.4 Μηχανισμοί αντοχής στην τοξικότητα Β

Η διόρθωση της τοξικότητας Β των εδαφών είναι δύσκολη πρακτικά στις περισσότερες περιπτώσεις, έτσι ώστε λύσεις που βασίζονται στην αυξημένη αντοχή των φυτών στο Β έχουν διερευνηθεί για αρκετές δεκαετίες. Η αντοχή των φυτών στην τοξικότητα του Β έχει αναγνωριστεί σε μια σειρά γενοτύπων και πρόσφατες έρευνες έχουν αποκαλύψει έναν φυσιολογικό μηχανισμό αυτής της αντοχής στα δημητριακά. Ποικιλίες με υψηλά επίπεδα έκφρασης ενός γονιδίου που κωδικοποιεί έναν μεταφορέα εκροής Β στις ρίζες και στους βλαστούς έχουν αναφερθεί ότι παρουσιάζουν αντοχή στο υψηλό Β των εδαφών. Προτάθηκε ότι η υψηλότερη έκφραση του γονιδίου Bot1 (ένα BOR1 ομόλογο) σε μια ανθεκτική ποικιλία κριθαριού οφειλόταν στην ενίσχυση του γονιδίου μεταφοράς Β (Sutton κ.α., 2007). Η υπερέκφραση του γονιδίου

AtBOR4 ενός μεταφορέα εκροής B BOR4 στις ρίζες της *Arabidopsis* αποδείχθηκε ότι αυξάνει την αντοχή στο B (Miwa κ.α., 2007).

Ένας επιπλέον μηχανισμός που περιλαμβάνει την ανακατανομή του B από τον συμπλάστη στον αποπλάστη των φύλλων από τους ίδιους μεταφορείς εκροής, ενισχύει την αντοχή στο B (Reid και Fitzpatrick, 2009). Οι ανθεκτικές στο B ποικιλίες χαρακτηρίζονται από μειωμένη συγκέντρωση B στους ιστούς των φύλλων τους, σε σύγκριση με τις μη ανθεκτικές ποικιλίες, πιθανώς λόγω μειωμένης πρόσληψης B από τις ρίζες. Υπό αυτή την έννοια, η βάση για την αντοχή στο B της ποικιλίας κριθαριού Sahara έχει εξηγηθεί λόγω της υψηλής ικανότητάς της να αποβάλλει με εκροή B και δύο μοντέλα έχουν αναφερθεί για αυτόν τον μηχανισμό ενεργού εκροής του B, δηλαδή της ανταλλαγής ανιόντων (βορικού) και ενός καναλιού ανιόντων (Hayes κ.α., 2004). Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι το γονίδιο BOR2 κωδικοποιεί έναν τύπου εκροής μεταφορέα βορικού οξέος που είναι υπεύθυνος για την αντοχή στην τοξικότητα B στο σιτάρι και το κριθάρι (Reid, 2010). Οι Bogacki κ.α. (2013) ανέφεραν ότι το γονίδιο MtNIP3, στο *M. Truncatula* συνδέεται με την αντοχή στην τοξικότητα B. Επίσης πρότειναν ότι το MtNIP3 παρέχει μια πηγή μοριακών εργαλείων επιλογής για να διατηρηθεί το χαρακτηριστικό αντοχής στα προγράμματα αναπαραγωγής της μηδικής. (Σαράφη, 2018).

5.5 Ο ρόλος του B στην λειτουργικότητα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης

Είναι προφανές ότι το βόριο παίζει θεμελιώδη ρόλο στην δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων, ωστόσο σε συνθήκες τροφοπενίας του στοιχείου παρουσιάζεται ένας αριθμός συμπτωμάτων που υποδηλώνουν ότι ενδεχομένως το βόριο να λαμβάνει μέρος και σε άλλες κυτταρικές διεργασίες, οι οποίες ακόμη παραμένουν αδιευκρίνιστες. Εκτός αυτού ορισμένα δεδομένα υποστηρίζουν ότι το βόριο αποτελεί ζωτικό στοιχείο και σε ζωικούς οργανισμούς, των οποίων τα κύτταρα στερούνται κυτταρικού τοιχώματος. Το βόριο φαίνεται ότι παίζει βασικό ρόλο στην κατασκευή της πλασματικής μεμβράνης μέσω της ικανότητας του να προσδένεται σε μεμβρανικά συστατικά που περιέχουν ομάδες cis-διόλης όπως είναι οι γλυκοπρωτεΐνες και τα

γλυκολιπίδια. Η πρόσδεση του βορίου σε πολυ-ύδροξυομάδες συστατικών των μεμβρανών και η διατήρηση της δομικής ακεραιότητας των πλασματικών μεμβρανών ερμηνεύει ορισμένα φαινόμενα, όπως η διέγερση που προκαλεί το βόριο στην δραστηριότητα των προσδεδεμένων στις μεμβράνες ATP-σων, τη διατήρηση της μεμβρανικής ακεραιότητας και τον έλεγχο της διαπερατότητας των πλασματικών μεμβρανών (Cakmak et al., 1995; Ferrol et al., 1993; Goldbach et al., 1990; Pollard et al., 1977; Roldan et al., 1992; Tang and Dela Fuente, 1986). Υπάρχουν ενδείξεις ότι το βόριο προστατεύει τις μεμβράνες από την καταστροφή τους από ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS). Ο προστατευτικός ρόλος του βορίου στην ακεραιότητα της μεμβράνης έναντι της επίθεσης ελεύθερων ριζών μπορεί εν μέρη να είναι σημαντικός κάτω από συνθήκες υψηλού φωτισμού και συγκεκριμένα σε φυτά που συσσωρεύουν υψηλά ποσά φαινολικών ως απόκριση στην έλλειψη βορίου, όπως ο ηλίανθος. Σε φυτά με έλλειψη βορίου παρατηρείται αύξηση της περατότητας της μεμβράνης και απώλεια της διαμερισματοποίησης, που συνοδεύεται από διαρροή ιόντων καλίου, σακχάρων, αμινοξέων και φαινολικών συστατικών. Το παραπάνω φαινόμενο ωστόσο δεν είναι καθολικής διάδοσης και προϋποθέτει την επικράτηση ευνοϊκών συνθηκών περιβάλλοντος, έτσι ώστε η έλλειψη βορίου να συνδυαστεί με υψηλούς ρυθμούς αύξησης (Pfeffer et al., 1998). Η εκροή ιόντων K⁺ σε συνθήκες ανεπάρκειας βορίου επηρεάζει και τον μηχανισμό ανοίγματος των στοματίων της επιδερμίδας του φυτού *Commelina communis* (Roth-Bejerano and Itai, 1981). Το βόριο παίζει επίσης ρόλο στην ομαλή ροή ηλεκτρονίων κατά τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην κυττοπλασματική μεμβράνη (Ferrol and Donaire, 1992; Cseh and Fodor, 1997). Κάτω από συνθήκες έλλειψης βορίου παρατηρείται πτώση της δραστηριότητας της οξειδάσης του NADH που εδράζεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, ενώ επανατροφοδοσία με βόριο προκαλεί ταχεία ενεργοποίηση του ενζύμου (Barr and Crane, 1991; Findekleee et al., 1997). Η έλλειψη βορίου προκαλεί επίσης διαταραχή στην ικανότητα πρόσληψης και μεταφοράς ιόντων, η οποία αποκαθίσταται ταχέως όταν προστεθεί βόριο, φαινόμενο το οποίο πιθανώς να οφείλεται σε διαταραχές της λειτουργίας των μεμβρανικών αντλιών και σε αδυναμία ανάπτυξης διαφοράς ηλεκτροχημικού δυναμικού εκατέρωθεν της μεμβράνης (Robertson and Loughman, 1974; Pollard et al., 1977; Goldbach, 1984; Cakmak and Römheld, 1997). Το γεγονός ότι μετά από τη χορήγηση

βορίου αποκαθίσταται ραγδαία η δράση των μεμβρανικών αντλιών πρωτονίων, μπορεί να υποδηλώνει άμεση συμμετοχή του βορίου ως συνενζυμικού παράγοντα (Cakmak and Römheld, 1997). Έχει προταθεί ότι το βόριο σταθεροποιεί τη δομή των κυτταρικών μεμβρανών δημιουργώντας σύμπλοκα με μεμβρανικά συστατικά, μέσω δεσμών υδρογόνου ή εστερικών δεσμών, οι οποίοι συμβάλουν στην απόκτηση της απαιτούμενης διαμόρφωσης, γεωμετρικής τοποθέτησης και αγκίστρωσης των μεμβρανικών πρωτεϊνών (Cakmak et al., 1995). Κάτω από συνθήκες τροφοπενίας βορίου, ορισμένα ένζυμα που βρίσκονται δεσμευμένα στην κυτταρική μεμβράνη ή στο κυτταρικό τοίχωμα και θεωρούνται απενεργοποιημένα εκεί, απελευθερώνονται στον αποπλάστη, ασκώντας ενζυμική δράση (Blevins and Lukaszewski, 1998). Ένζυμα του είδους αυτού είναι η ριβονουκλεάση, η αφυδρογονάση της 6 φωσφορογλυκόζης, η αμμώνιο-λυάση της φαινυλαλανίνης, η β-γλυκοζιδάση και οι πολυφαινολοξειδάσες. Η ενεργοποίηση των ενζύμων αυτών επηρεάζει, όπως είναι φυσικό, τον μεταβολισμό του κυττάρου καθώς επίσης και τη δεξαμενή των φαινολικών συστατικών. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται στα δίκότυλα και όχι στα μονοκότυλα φυτά, γεγονός που οδηγεί στο ερώτημα αν τελικά οι αποπλαστικές πρωτεΐνες των μονοκοτύλων διέπονται από διαφορετικό πρότυπο γλυκοζυλίωσης ή αν η δέσμευσή τους στις μεμβράνες και στα κυτταρικά τοιχώματα είναι περιορισμένη (Shkol' nik, 1984; Cakmak and Römheld, 1997). (Παπαχρήστου, 2008).

5.6 Ο ρόλος του βορίου στο μεταβολισμό των φυτών

Με βάση τα μέχρι σήμερα δεδομένα, παρόλο που ο ρόλος του βορίου στον πρωτογενή μεταβολισμό δε θεωρείται άμεσος, η έλλειψη του βορίου έχει επιπτώσεις στον κυτταρικό μεταβολισμό που σχετίζονται με ζωτικές λειτουργίες ή προκύπτουν από την απώλεια της κυτταρικής ομοιόστασης. Ορισμένα ένζυμα όπως η ουρεάση (Thellier et al., 1979) και η φωσφορογλυκομουτάση (Shepherd, 1951) ενδεχομένως να σχετίζονται με το βόριο, ενώ έχει προταθεί ότι το βόριο αποτελεί ρυθμιστικό παράγοντα για ορισμένα μεταλλοένζυμα (Blevins and Lukaszewski, 1998; Dembitsky et al., 2002). Η ικανότητα ωστόσο του βορίου να αλληλεπιδρά με ορισμένα ένζυμα *in vitro* δεν σημαίνει

κατ'ανάγκη και ανάλογη δράση in vivo (Blevins and Lukaszewski, 1998; Dembitsky et al., 2002) (Παπαχρήστου, 2008).

5.7 Ο ρόλος του βορίου στη φωτοσυνθετική λειτουργία και τη διανομή σακχάρων

Η επίδραση της έλλειψης του βορίου στην φωτοσυνθετική λειτουργία έχει διαπιστωθεί ότι είναι έμμεση και όχι άμεση. Κατ' αρχάς, υπό συνθήκες έλλειψης βορίου μειώνονται οι ρυθμοί αύξησης των φύλλων και έτσι προκαλείται μείωση της ενεργού φωτοσυνθετικής επιφάνειας. Στις συνθήκες αυτές, η πυκνότητα των στομάτων παρουσιάζεται μειωμένη, με μειωμένες διαστάσεις στοματικού πόρου και χαμηλότερες συγκεντρώσεις χλωροφυλλών, συγκριτικά με φύλλα φυτών που αναπτύσσονται σε συνθήκες επάρκειας του στοιχείου (Marschner, 1995; Dell and Huang, 1997). Τα παραπάνω έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της αγωγιμότητας των στομάτων και ως εκ τούτου και τη μείωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας (Dell and Huang, 1997). Ένα ακόμα χαρακτηριστικό σύμπτωμα της τροφοπενίας βορίου είναι και οι δομικές και λειτουργικές διαταραχές των μεμβρανών (Cakmak et al., 1995; Blevins and Lucaszewski, 1998), που μπορούν να προκαλέσουν δυσλειτουργίες στην φωτοσυνθετική ροή των ηλεκτρονίων στις μεμβράνες των θυλακοειδών των χλωροπλαστών (El-Shintinawy, 1999). Πράγματι, στον ηλίανθο σε συνθήκες τροφοπενίας βορίου έχουν διαπιστωθεί αλλοιώσεις στα δομικά λιπίδια των μεμβρανών των χλωροπλαστών, οι οποίες θεωρείται ότι προκαλούν διαρροή συστατικών από τις μεμβράνες και μειώνουν τη φωτοχημική απόδοση του φωτοσυστήματος II (El-Shintinawy, 1999; Kastori et al., 1995; Brown et al., 2002). Επίσης υπάρχουν ενδείξεις ότι η έλλειψη βορίου προκαλεί μείωση στα επίπεδα ορισμένων πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα να παρατηρείται μείωση του μεγέθους των πρωτεϊνικών συμπλόκων των φωτοσυλλεκτικών μηχανισμών, μειωμένη απόδοση της φωτοσυνθετικής ροής ηλεκτρονίων (El-Shintinawy, 1999; Goldbach et al., 1991) καθώς και αυξημένη ευαισθησία έναντι της φωτοπαρεμπόδισης (Dell and Huang, 1997). Οι διαταραχές αυτές ευνοούν τον σχηματισμό ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS), οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικές βλάβες στις μεμβράνες και στις χρωστικές των χλωροπλαστών, εφόσον οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί παρουσιάζουν

αδυναμία να ανταποκριθούν. Σε προχωρημένο στάδιο τροφοπενίας, μια τέτοια κατάσταση μπορεί να οδηγήσει σε χλώρωση (Cakmak and Römheld, 1997). Τα φαινόμενα αυτά ενισχύονται υπό συνθήκες υψηλών εντάσεων φωτός (Cakmak et al., 1995; Marschner, 1995; Robertson and Longman, 1974) διότι στις συνθήκες αυτές αφενώς ευνοείται η φωτοπαρεμπόδιση και επομένως η παραγωγή ROS, και αφετέρου αυξάνεται η παραγωγή πολυσακχαριτών στα κυτταρικά τοιχώματα, ολιγοσακχαριτών και φαινολικών συστατικών, τα οποία δεσμεύουν βόριο με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι απαιτήσεις για το στοιχείο (Cakmak and Römheld, 1997). Ωστόσο, δεν έχουν παρατηρηθεί ανάλογες επιδράσεις της έλλειψης βορίου στην φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων των φυτών *Olea europaea* και *Dittrichia viscosa* (Liakopoulos et al., 2005; Stavrianiakou et al., 2006b). Αντίθετα, σε φύλλα ηλιάνθου (Kastori et al., 1995), η έλλειψη B είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του CO₂. Σε φύλλα σπανακιού η έλλειψη βορίου μείωσε όχι μόνο τη φωτοσυνθετική έκλυση O₂ αλλά και τη μεταφορά ηλεκτρονίων από το PSII στο PSI (Goldbach et al., 1991). Η ικανότητα του βορίου να σχηματίζει σύμπλοκα με σάκχαρα επιδρά στον μεταβολισμό των υδατανθράκων και τη διανομή των φωτοσυνθετικών προϊόντων μεταξύ των φυτικών οργάνων (Brown et al., 2002). Σε ορισμένες περιπτώσεις, η τροφοπενία του βορίου μπορεί να επηρεάσει τη διανομή του οργανικού άνθρακα (Dugger, 1983), ωστόσο οι επιδράσεις αυτές είναι έμμεσες και όχι άμεσες, δεδομένου ότι η δημιουργία συμπλόκων του βορίου με τις πολυόλες σχετίζεται κυρίως με τη διανομή του βορίου και όχι με τη διανομή των φωτοσυνθετικών προϊόντων (Παπαχρήστου, 2008).

5.8 Ο ρόλος του βορίου στο δευτερογενή μεταβολισμό

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ανόργανη διατροφή των ανώτερων φυτών επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τον δευτερογενή μεταβολισμό. Παρόλο που οι επιδράσεις του επιπέδου της θρέψης στον πρωτογενή μεταβολισμό έχουν εκτεταμένα μελετηθεί, οι μηχανισμοί με τους οποίους ο δευτερογενής μεταβολισμός ανταποκρίνεται στο επίπεδο θρέψης δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως (Aerts and Chapin, 2000). Οι μελέτες για τις επιδράσεις της ανόργανης θρέψης στον δευτερογενή μεταβολισμό έχουν γενικά περιοριστεί σε επίπεδο τάξης ενώσεων. Λίγες μελέτες έχουν εστιαστεί στις επιδράσεις της ανόργανης

θρέψης σε συγκεκριμένες δομές, παρόλο που ορισμένοι ερευνητές έχουν προτείνει ότι ανεξάρτητα από γενικές μεταβολικές αντιδράσεις σε εξωτερικά ερεθίσματα, τα φυτά ανταποκρίνονται στις καταπονήσεις αναπτύσσοντας και συντηρώντας υψηλές συγκεντρώσεις διακριτών δευτερογενών μεταβολικών με πιθανώς συγκεκριμένες ιδιότητες (Dixon and Paiva, 1995) (Παπαχρήστου, 2008).

5.9 Η αλληλεπίδραση βορίου και φαινολικών ενώσεων στο κυτταρικό περιβάλλον

Ο σχηματισμός συμπλόκων μεταξύ του βορίου και ορισμένων ορθοδιαφαινολικών υπό συνθήκες επάρκειας του στοιχείου πιστεύεται ότι εξηγεί εν μέρει τη συσσώρευση των φαινολικών στους ιστούς υπό συνθήκες έλλειψης βορίου. Ο σχηματισμός συμπλόκων του βορίου με ορισμένα φαινολικά, όπως το καφεϊκό οξύ, μπορεί ακόμη να επηρεάσει το μέγεθος της δεξαμενής των φαινολικών στους ιστούς. Η δημιουργία ανάλογων συμπλόκων, δεδομένης της διαμερισματοποίησης του κυττάρου, αποτρέπει την οξειδωση των φαινολικών του κυτταροπλάσματος και του χυμοτοπίου από τις φαινολοξειδάσες ενώ επιτρέπει τη διάθεσή τους ως υποστρώματα για τη βιοσύνθεση φαινολικών αλκοολών, οι οποίες αποτελούν πρόδρομα της λιγνίνης. Όπως αναφέρεται από τους Lewis (1980) και Pilbeam και Kirkby (1983), η πρόσδεση του βορίου στο καφεϊκό οξύ εμποδίζει τον σχηματισμό των κινονών. Οι φαινολοξειδάσες, οι οποίες καταλύουν την οξειδωση των φαινολικών ενώσεων προς κινόνες και εντοπίζονται στα πλαστίδια (Vaughn et al., 1988) και στα κυτταρικά τοιχώματα (Zawistowski et al., 1991), εμφανίζουν αυξημένη δραστηριότητα σε συνθήκες τροφοπενίας βορίου και ιδιαίτερα σε φυτά που έχουν αυξημένες απαιτήσεις σε βόριο (Cakmak and Römheld, 1997; Shkol'nik, 1984; Ruiz et al., 1998; Shkol'nik et al., 1981). Δεδομένου ότι η τροφοπενία βορίου προκαλεί απώλεια της διαμερισματοποίησης του κυττάρου εξαιτίας της διαταραχής της λειτουργίας των κυτταρικών μεμβρανών, πιστεύεται πως υπό τις παραπάνω συνθήκες μπορεί να λάβει χώρα διαρροή ουσιών και προώθηση της οξειδωσης των φαινολικών από τις φαινολοξειδάσες με αποτέλεσμα τη συσσώρευση οξειδωμένων μορφών φαινολικών συστατικών καθώς και των προϊόντων συμπύκνωσής τους, των μελανινών (Cakmak and Römheld, 1997). Στις

μελανίνες οφείλεται ο καστανός μεταχρωματισμός των ιστών που έχουν τραυματιστεί και ενδέχεται να εξηγείται με τον ίδιο τρόπο η καστανώση που υφίστανται ορισμένοι ιστοί, ιδιαίτερα μεριστωματικοί, υπό συνθήκες έλλειψης βορίου. Έχει βρεθεί ότι οι κινόνες αποτελούν τις τοξικότερες μορφές των φαινολικών που παράγονται (Mason and Wasserman, 1987; Pillinger et al., 1994). Η συσσώρευση κινονών σε υψηλές συγκεντρώσεις σε φυτά ευαίσθητα στην έλλειψη βορίου αποτελεί ενδεχόμενα μια από τις αιτίες καταστροφής του κυττάρου και της παρεμπόδισης της ανάπτυξης (Lee and Aronoff, 1967; Shkol'nik et al., 1981). Περαιτέρω, η οξειδωση των φαινολικών συστατικών οδηγεί στην παραγωγή ενεργών χημικών ειδών οξυγόνου (ROS), με συνέπεια την οξειδωτική καταπόνηση των κυτταρικών συστατικών όπως τα λιπίδια της μεμβράνης και οι πρωτεΐνες. Τα αυξημένα επίπεδα των ROS στα φυτά με τροφопενία βορίου μπορούν επίσης να οφείλονται σε δυσλειτουργίες της φωτοσύνθεσης και των αντιοξειδωτικών μηχανισμών του κυττάρου (Cakmak and Römheld, 1997) (Παπαχρήστου, 2008)

6. Δομικά χαρακτηριστικά του κυτταρικού τοιχώματος

Το κυτταρικό τοίχωμα διακρίνεται οντογενετικά σε δύο κατηγορίες: το πρωτογενές και το δευτερογενές. Το πρωτογενές τοίχωμα σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της κυτταρικής αύξησης και επιμηκύνεται αυξανόμενου του μεγέθους του κυττάρου. Το δευτερογενές τοίχωμα σχηματίζεται μετά την παύση της κυτταρικής ανάπτυξης και παρουσιάζει μεγάλη διαφοροποίηση αναλόγως του ιστού στον οποίο ανήκει το κύτταρο. Ανάμεσα στα κυτταρικά τοιχώματα δύο γειτονικών κυττάρων βρίσκεται το μεσοτοίχιο. Δημιουργείται κατά την κυτταρική διαίρεση και η σύστασή του διαφέρει από αυτή του υπόλοιπου τοιχώματος καθώς περιέχει αυξημένη ποσότητα πηκτίνης και πρωτεϊνών διαφορετικών από αυτές του κυρίως τοιχώματος.

Το πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα των δικότυλων φυτικών ειδών αποτελείται από ένα πλέγμα μικροϊνιδίων κυτταρίνης και ημικυτταρίνης εντός ενός ενυδατωμένου υποστρώματος πηκτινικών πολυμερών ενώ στην τελική δομή συμμετέχει και ένα δίκτυο γλυκοπρωτεϊνών που αποτελείται κυρίως από

εκτανσίνες. Τα μικροϊνίδια κυτταρίνης συντίθενται από γραμμικές αλυσίδες β-D-γλυκόζης συνδεδεμένες μεταξύ τους με 1-4 γλυκοσιδικό δεσμό. Αρκετές τέτοιες αλυσίδες συμμετέχουν μέσω ενδομοριακών και διαμοριακών δυνάμεων στην συμπαγή δομή που ονομάζουμε μικροϊνίδιο. Οι ημικυτταρίνες είναι ετεροπολυμερή στενά συνδεδεμένα με τα μικροϊνίδια κυτταρίνης. Στα δίκτυλα φυτικά είδη η πιο διαδεδομένη ημικυτταρίνη είναι η ξυλογλυκάνη, η οποία αποτελείται από μια αλυσίδα 1-4 συνδεδεμένων β-D-γλυκοζών με μικρές πλευρικές αλυσίδες περιέχουσες ξυλόζη, γαλακτόζη και συχνά στο τέλος φουκόζη. Οι πηκτίνες αποτελούν μια ετερογενή ομάδα πολυσακχαριτών με κύρια συστατικά την ομογαλακτουρονάνη, και τις ραμνογαλακτουρονάνες (RG) I και II. Η ομογαλακτουρονάνη αποτελείται από 1-4 συνδεδεμένα μόρια α-D-γαλακτουρονικού οξέος. Η RG-I είναι μια αρκετά επιμήκης πηκτίνη που σχηματίζεται από εναλλασσόμενα μόρια α-D-γαλακτουρονικού οξέος ενωμένα με δεσμούς 1-4 και α-D-ραμνόζης ενωμένα με δεσμούς 1-2. Η RG-II σχηματίζεται από μια ραχοκοκαλιά ομογαλακτουρονάνης με πλευρικές αλυσίδες αποτελούμενες από τουλάχιστον δέκα διαφορετικά σάκχαρα. Μία από αυτές τις πλευρικές αλυσίδες, η αλυσίδα A, δημιουργεί, μέσω της απιόζης, διαδεσμούς με το βορικό οξύ.

Οι δομικές πρωτεΐνες των κυτταρικών τοιχωμάτων ταξινομούνται συνήθως βάσει της κύριας αμινοξικής σύστασής τους. Έτσι, υπάρχουν οι πλούσιες σε υδροξυπρολίνη γλυκοπρωτεΐνες, οι πλούσιες σε προλίνη πρωτεΐνες και οι πλούσιες σε γλυκίνη πρωτεΐνες. Πέραν αυτών των δομικών πρωτεϊνών, στο κυτταρικό τοίχωμα υπάρχουν και οι πρωτεΐνες αραβινογαλακτάνης, οι οποίες δρουν στην κυτταρική αναγνώριση συμπεριλαμβανομένης της αναπαραγωγής (Παπαχρήστου, 2008)

7. Χρωστικές

7.1 Ανθοκυανίνες

Είναι μία κατηγορία των φλαβονοειδών με σημαντικές βιολογικές ιδιότητες. Η αντιοξειδωτική ιδιότητα των ανθοκυανινών οφείλεται στο ότι εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μειώνοντας έτσι την πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων και διαφόρων μορφών καρκίνου (Shudeesh κ.ά. 1999, Huang κ.ά. 2004). Οι ανθοκυανίνες αποτρέπουν την οξείδωση του ασκορβικού οξέος από μεταλλικά ιόντα, δεσμεύοντάς τα με χηλικό δεσμό και σχηματίζοντας το σύμπλοκο ασκορβικό οξύ-μεταλλο-ανθοκυανίνη. Εξάλλου, ο σχηματισμός συμπλόκου μεταξύ του DNA αλλά και της κυανιδίνης προστατεύει και τις δύο ουσίες από την οξείδωση (Sarma κ.ά. 1997 και 1999, αναφέρεται από Kong κ.ά. 2003). Εκτός από τις ιδιότητες που αναφέρθηκαν παραπάνω, βρέθηκε ότι οι ανθοκυανίνες έχουν *in vivo* ευεργετικές ιδιότητες στο νευρικό σύστημα και στις εγκεφαλικές λειτουργίες. Έρευνες έδειξαν ότι το εκχύλισμα μούρων είχε νευροπροστατευτικές ιδιότητες σε ποντικούς, ενώ οι αρουραίοι που τράφηκαν με βατόμουρα του γένους *Vaccinium* (3,2 mg ανθοκυανινών ανά kg νωπού βάρους) παρουσίασαν σημαντική βελτίωση της βραχυπρόθεσμης μνήμης τους (Kang κ.ά. 2006, Ramirez κ.ά. 2005). Επίσης, σύμφωνα με τους Joseph κ.ά. (1999) το εκχύλισμα καρπών που περιείχαν ανθοκυανίνες ανέστρεψε τις δυσμενείς επιδράσεις του γήρατος σε αρκετές νευρολογικές παραμέτρους και παραμέτρους συμπεριφοράς. Όπως επίσης σε έρευνα που έγινε σε ποντίκια με εκχυλίσματα από άγρια βατόμουρα τα οποία είναι πλούσια σε πολυφαινόλες, παρουσίασαν σημαντική βελτίωση στην μάθηση και μνήμη (Papandreou, 2009) (Μπακογιάννη, 2016).

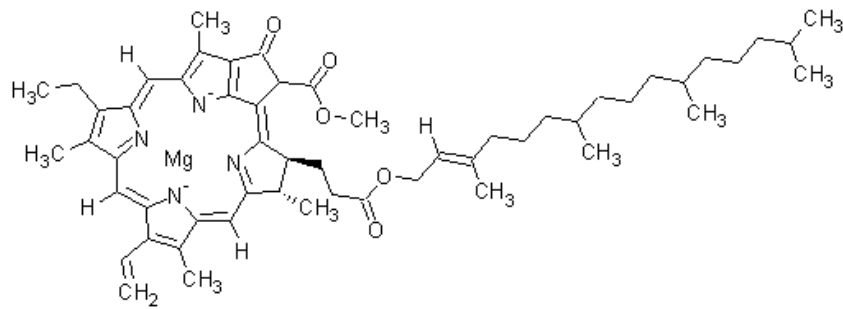
7.1.1 Συμμετοχή των φαινολικών συστατικών στο κυτταρικό τοίχωμα

Μετά την κυτταρίνη, η πιο άφθονη οργανική ουσία στα φυτά είναι η λιγνίνη, ένα πολυμερές που αποτελείται από μονάδες φαινυλοπροπανίου. Η λιγνίνη βρίσκεται στο κυτταρικό τοίχωμα ποικίλων τύπων φυτικών κυττάρων που απαρτίζουν υποστηρικτικούς και αγωγούς ιστούς, όπως τραχείδες και αγγεία του ξύλου. Παρόλο που συσσωρεύονται κυρίως κατά την πάχυνση του

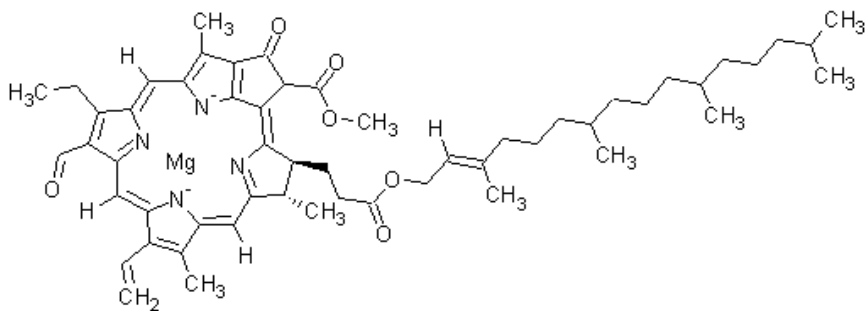
δευτερογενούς τοιχώματος, απαντώνται τόσο στο πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα καθώς και στο μεσοτοίχιο όπου βρίσκονται σε επαφή με τις υπάρχουσες κυτταρίνες και ημικυτταρίνες. Η μηχανική ακαμψία της λιγνίνης ενισχύει τους αγγειακούς ιστούς επιτρέποντας την κατακόρυφη ανάπτυξη και τη μεταφορά του νερού και των ιόντων μέσω του ξύλου κάτω από συνθήκες αρνητικής πίεσης χωρίς τη σύνθλιψη του ιστού (Taiz, Zeiger 2006).

7.2 Χλωροφύλλη

Η χλωροφύλλη είναι μια χρωστική ουσία με αντιοξειδωτική δράση (που υποβαθμίζεται από το οξυγόνο, το φως, τη θερμότητα και τη ταυτόχρονη δράση κάποιων ενζύμων) και συναντάται στα φρούτα και τα λαχανικά, καθώς και σε όλους τους φυτικούς οργανισμούς που έχουν πράσινο χρώμα. Δεν συντίθεται από τους ζωικούς οργανισμούς για αυτό πρέπει να την λαμβάνουν από τα τρόφιμα αφού τα ζωικά κύτταρα μπορούν να την αφομοιώσουν. Στο ελαιόλαδο υπάρχουν διάφορες χρωστικές ουσίες (χλωροφύλλες, φαιοφυτίνες, ξανθοφύλλες, καροτίνες κλπ.) εκ των οποίων η κυριότερη είναι η χλωροφύλλη και είναι αυτή που προσδίδει αυτό το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα στο καρπό αλλά και στο ελαιόλαδο. Η χλωροφύλλη υπάρχει στη μορφή της α- και της β-χλωροφύλλης. Η α- μορφή είναι κυανοπράσινη, ενώ η β- κίτρινοπράσινη. Και οι δυο χλωροφύλλες περιέχουν μαγνήσιο στο μόριο τους, αποικοδομούνται εύκολα και μετατρέπονται σε φαιοφυτίνες. Η β-χλωροφύλλη διαφέρει από την α- στο ότι έχει αλδεϋδική ομάδα (-CHO) αντί μεθύλιο (-CH₃) στο 3 άτομο του άνθρακα. Το μόριο χλωροφύλλης αποτελείται κυρίως από πορφυρίνες, οι οποίες έχουν τέσσερα πυρολικά δακτύλια στις γωνίες ενός υποθετικού τετραγώνου, και ενός ιόντος μαγνήσιου που συνδέεται με τα τέσσερα άτομα αζώτου των πυρολικών δαχτυλιδιών. Και η αστάθεια στο χρώμα του λαδιού που τείνει να αλλάξει κατά τη διάρκεια του χρόνου, και η διαλυτότητα της χρωστικής ουσίας στο λίπος εξαρτώνται από αυτά τα συστατικά. Η χλωροφύλλη-α είναι ίδια με την φαιοφυτίνη-α (και αντίστοιχα η -β) με τη μόνη διαφορά ότι από τον πορφυρικό δακτύλιο λείπει το μαγνήσιο (Αρχοντάκη κ.α., 2007).



Χλωροφύλλη - α



Χλωροφύλλη - β

8. Φθορισμός

Ο μοριακός φθορισμός είναι μία κατηγορία της φασματομετρίας που συνήθως γίνεται με τη βοήθεια ειδικού οργάνου του φθορισμόμετρου όπου η διέγερση προκαλείται με απορρόφηση φωτονίων χωρίς τη μεταβολή του ηλεκτρονιακού spin. Εκτός του φθορισμόμετρου χρησιμοποιούνται και άλλες εργαστηριακές διατάξεις όπου συλλέγεται ο φθορισμός με κατάλληλη οπτική ίνα. Ο φθορισμός είναι βραχύβιο φαινόμενο και η παραγόμενη φωταύγεια εξαφανίζεται αμέσως ($<10^{-5}$ sec.). Σε όλες τις περιπτώσεις η εκπεμπόμενη ακτινοβολία περιέχει μήκη κύματος μεγαλύτερα από εκείνα της ακτινοβολίας διέγερσης. Στο ενεργειακό διάγραμμα ενός τυπικού φωτοφωταυγάζοντος μορίου, η κατώτερη παχιά οριζόντια γραμμή αντιστοιχεί στη βασική ενεργειακή κατάσταση του μορίου που συνήθως συμβολίζεται ως S_0 ενώ οι ανώτερες παχιές γραμμές αντιστοιχούν στα βασικά δονητικά ενεργειακά επίπεδα των τριών διεγερμένων ηλεκτρονιακών καταστάσεων. Τα φάσματα φθορισμού λαμβάνονται με διέγερση σε καθορισμένο μήκος κύματος και καταγραφή της έντασης εκπομπής ως συνάρτηση του μήκους κύματος .

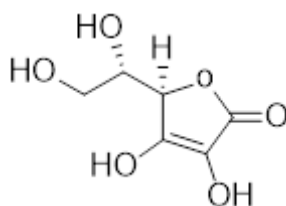
Ο φθορισμός στηρίζεται στο φαινόμενο της φωταύγειας το οποίο , έχει ως εξής: το μόριο μιας διαλυμένης ουσίας, που περιέχεται σε ένα διάλυμα έχει την ικανότητα να απορροφά ακτινοβολία ορισμένου μήκους κύματος και να μεταβαίνει σε κατάσταση αυξημένης ενέργειας (διεγερμένη κατάσταση). Μετά από παραμονή απειροελάχιστου χρόνου σε αυτήν, επιστρέφει αυτόματα στην αρχική βασική του κατάσταση, αποδίδοντας μέρος της προσληφθείσας ενέργειας υπό μορφή ακτινοβολίας. Η εκπεμπόμενη ακτινοβολία έχει πάντα μεγαλύτερο μήκος κύματος από εκείνη που προκάλεσε τη διέγερση (απορροφούμενη) γιατί μεταφέρει μικρότερη ενέργεια. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται φθορισμός και η ακτινοβολία η οποία εκπέμπεται ακτινοβολία φθορισμού. Ο χρόνος παραμονής του μορίου στην διεγερμένη κατάσταση είναι της τάξεως των $10^{-12} - 10^{-8}$ sec. Το διεγερμένο μόριο όμως είναι δυνατόν να χάσει με άλλο τρόπο μέρος την επιπλέον ενέργεια και να μεταβεί σε μια μετασταθή κατάσταση, η οποία είναι σχετικά σταθερή αν και έχει μεγαλύτερη ενέργεια από τη βασική κατάσταση του μορίου. Αφού παραμείνει στη μετασταθή κατάσταση για χρόνο 0,001 sec ή και περισσότερο, επιστρέφει στη βασική του κατάσταση εκπέμποντας φωτεινή ακτινοβολία μικρότερης ενέργειας και συνεπώς μεγαλύτερου μήκους κύματος από εκείνη του φθορισμού. Το φαινόμενο αυτό λέγεται φωσφορισμός. Συνεπώς η φωταύγεια είναι το φαινόμενο ακτινοβολίας από ένα διεγερμένο, λόγω απορρόφησης ακτινοβολίας μόριο, και περιλαμβάνει το φθορισμό και το φωσφορισμό.

Η αρχή λειτουργίας της φθορισμομετρίας στηρίζεται στο γεγονός ότι ένταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας φθορισμού, είναι απ' ευθείας ανάλογη προς τη συγκέντρωση της φθορίζουσας ουσίας στο εξεταζόμενο διάλυμα (για χαμηλές σχετικά συγκεντρώσεις). Η ένταση της ακτινοβολίας φθορισμού είναι ανάλογη επίσης προς την ένταση της ακτινοβολίας διέγερσης για αυτό οι πηγές ακτινοβολίας (λυχνίες) που εφαρμόζονται πρέπει να παρέχουν ενέργεια μεγάλης ισχύος (ακτινοβολία υψηλής έντασης). Σε κάθε περίπτωση εφαρμογής της φθορισμομετρίας πρέπει να δίδονται τα μήκη κύματος (nm) της ακτινοβολίας διέγερσης και εκπομπής. Μια από τις πιο σημαντικές εφαρμογές της μεθόδου αυτής είναι ο προσδιορισμός βιταμινών (πολύ μικρές συγκεντρώσεις) σε τρόφιμα και υγρά. Οι βιταμίνες που έχουν την ιδιότητα να εμφανίζουν το φαινόμενο της φωταύγειας λέμε ότι έχουν φυσικό φθορισμό

όπως είναι η Α (ρετινόλη), η Ε (τοκοφερόλη), η Β12 (ριβοφλαβίνη), κ.α. (Αρχοντάκη κ.α., 2007).

9. Ασκορβικό οξύ

Το ασκορβικό οξύ ή αλλιώς βιταμίνη C, είναι η πιο γνωστή βιταμίνη παγκοσμίως. Ο πρώτος που κατάφερε να την απομονώσει ήταν ο Albert Szent-Györgyi, ουγγρικής καταγωγής το 1932. Η ημερήσια πρόσληψη ενός ανθρώπου σε βιταμίνη C είναι αρκετά υψηλή και αγγίζει τα 70 με 80 mg (American Journal of Clinical Nutrition, 2008). Χημικώς το ασκορβικό οξύ ή βιταμίνη C είναι σχετικά απλή ένωση του εμπειρικού τύπου $C_6H_8O_6$ η οποία εύκολα καταστρέφεται με οξείδωση (Μπακογιάννη, 2016).



Ασκορβικό οξύ

Οι καλύτερες διαιτητικές πηγές βιταμίνης C είναι το σπαράγγι, η πατάγια, το πορτοκάλι και ο χυμός του, το κουνουπίδι, το μπρόκολο, τα λαχανάκια Βρυξελλών, οι πράσινες πιπεριές, το γκρέιπφρουτ και ο χυμός του, το λάχανο, τα λεμόνια και οι φράουλες. Από τα τρόφιμα αυτά, τα εσπεριδοειδή θεωρούνται ως σημαντικότερες πηγές της βιταμίνης (Κανέλλος, 2009). Είναι ισχυρό αντιοξειδωτικό και προστατεύει άλλα αντιοξειδωτικά όπως τη βιταμίνη Ε, βιταμίνη Α και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Βοηθά στην απορρόφηση του σιδήρου από το έντερο και έχει ρόλο αποτοξίνωσης δηλητηριωδών ουσιών, λόγω διευκόλυνσης των αντιδράσεων υδροξυλίωσης. Είναι γνωστό ότι η βιταμίνη C παίζει ρόλο στη σύνθεση και διατήρηση του κολλαγόνου, στη λειτουργία του θυρεοειδούς αδένου, στις μεταβολικές αντιδράσεις των αμινοξέων

και στη σύνθεση της επινεφρίνης και των αντιφλεγμονωδών στεροειδών όπως της υδροκορτιζόνης (Μπακογιάννη, 2016)

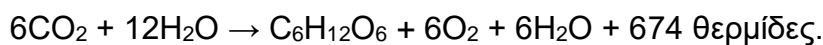
Η απορρόφηση του ασκορβικού οξέος λαμβάνει χώρα κυρίως με ενεργητική μεταφορά. Τα συστήματα μεταφοράς του ασκορβικού οξέος παρουσιάζουν κορεσμό και η μεταφορά είναι δόσοεξαρτώμενη. Η απορρόφηση του ασκορβικού οξέος μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί σε μικρό βαθμό και με απλή διάχυση ή διευκολυνόμενη μεταφορά από το στόμα και το στομάχι. Το μεγαλύτερο ποσοστό της απορρόφησης πραγματοποιείται στον ειλέο με ένα σύστημα ενεργητικής μεταφοράς εξαρτώμενο από το νάτριο. Πριν την απορρόφησή του το ασκορβικό οξύ μπορεί να οξειδωθεί προς δεϋδροασκορβικό οξύ, το οποίο μπορεί να απορροφηθεί με παθητική μεταφορά. Πιστεύεται ότι το ασκορβικό οξύ απορροφάται από τον οργανισμό κυρίως υπό τη μορφή δεϋδροασκορβικού. Ο βαθμός απορρόφησης βιταμίνης C εξαρτάται αντιστρόφως ανάλογα από την ημερήσια πρόσληψη. Στα φυσιολογικά επίπεδα πρόσληψης (20-120 mg/ημέρα) η απορρόφηση κυμαίνεται από 80-95%. Η βιταμίνη C που δεν απορροφάται μπορεί να μεταβολιστεί από την εντερική χλωρίδα. Ουσίες που μπορούν να επιδράσουν αρνητικά στην απορρόφηση βιταμίνης C είναι η πηκτίνη (14,2 g/ημέρα) και ο ψευδάργυρος (9,3 mg/ημέρα). Επιπλέον, υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου στο γαστρεντερικό αυλό μπορεί να οξειδώσουν τη βιταμίνη C προς δικετογουλονικό οξύ και άλλα προϊόντα που δεν παρουσιάζουν βιταμινική δράση. Η μεταφορά της βιταμίνης C κατά μήκος της βασεοπλευρικής μεμβράνης του εντεροκυττάρου γίνεται με ειδικά συστήματα μεταφοράς. Η βιταμίνη C που απορροφάται μεταφέρεται στο πλάσμα κυρίως ως ασκορβικό οξύ και σε μικρό ποσοστό (περίπου 5%) ως δεϋδροασκορβικό. Η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος στους διάφορους ιστούς ποικίλλει. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις βιταμίνης C παρατηρούνται στην υπόφυση και τα επινεφρίδια (περίπου 30-50 mg/100g ιστού). Ενδιάμεσα ποσά βιταμίνης C βρίσκονται στο ήπαρ, στη σπλήνα, στους νεφρούς, στην καρδιά, στους πνεύμονες, στο πάγκρεας, στα λευκά αιμοσφαίρια. Στους μύες και τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχονται μικρά ποσά. Γενικά η συγκέντρωση βιταμίνης C στους διάφορους ιστούς σχετίζεται με τη συγκέντρωση της βιταμίνης στο πλάσμα και συγχρόνως και οι δύο εξαρτώνται από την πρόσληψη της βιταμίνης (Κανέλλος, 2009).

Το ασκορβικό οξύ οξειδώνεται εύκολα προς δεϋδροασκορβικό. Η ένωση αυτή έχει βιταμινική δραστηριότητα και επιπλέον μπορεί να αναχθεί (με GSH ή NADH, NADPH) προς ασκορβικό. Επιπλέον όμως μπορεί να οξειδωθεί παραπέρα οδηγώντας στην απέκκριση της βιταμίνης. Οι αντιδράσεις αυτές λαμβάνουν χώρα κυρίως στο ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό στους νεφρούς. Έτσι, το δεϋδροασκορβικό μπορεί να υδρολυθεί προς το 2,3-δικετογουλονικό οξύ που δεν έχει πλέον βιταμινική δράση. Το δικετογουλονικό μπορεί να ακολουθήσει 2 οδούς είτε να διασπασθεί προς οξαλικό οξύ και θρεονικό οξύ είτε να οδηγηθεί προς μια ποικιλία πεντοζών (π.χ. ξυλόζη). Οι υδατάνθρακες που παράγονται είτε μετατρέπονται σε διάφορα άλλα συστατικά του κυττάρου είτε οξειδώνονται προς CO₂ και H₂O. Διάφοροι μεταβολίτες της βιταμίνης C και η περίσσεια του ασκορβικού απεκκρίνονται από τα ούρα. Περίπου το 25% της βιταμίνης C απεκκρίνονται ως οξαλικό οξύ. Οι νεφροί μπορούν να ανάγουν το δεϋδροασκορβικό προς ασκορβικό και έτσι να επαναπορροφηθεί. Η επαναπορρόφηση βιταμίνης C από τους νεφρούς εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις βιταμίνης C στο πλάσμα. Σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0,8-1,4 mg/dl στο πλάσμα υπάρχει επαναπορρόφηση. Πάνω από αυτές τις τιμές υπάρχει απέκκριση με τα ούρα (Κανέλλος, 2009).

Οι απόψεις για τη συνιστώμενη ημερήσια δόση βιταμίνης C ποικίλουν και έχουν οριστεί διαφορετικά κατά καιρούς. Οι Διαιτητικές Προσλήψεις Αναφοράς που εκδόθηκαν το 2000 συνιστούν μια πρόσληψη 90 mg για τους ενήλικες άνδρες και 75 mg για τις ενήλικες γυναίκες. Για τους καπνιστές συνιστάται η κατανάλωση επιπλέον 35 mg βιταμίνης C καθώς φαίνεται ότι το κάπνισμα μειώνει τα αποθέματα του ασκορβικού οξέος (Κανέλλος, 2009).

9. Φωτοσύνθεση

Η φωτοσύνθεση είναι μια σημαντική βιολογική διεργασία, με την οποία οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί προμηθεύονται τον άνθρακα και το οξυγόνο, που είναι απαραίτητα για τη θρέψη τους. Τα χλωροφυλλούχα φυτά έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό σε οργανικές ουσίες, όπως γλυκόζη, απαραίτητες για την ανάπτυξη και τη συντήρησή τους. Η φωτοσυνθετική αυτή διεργασία γίνεται με την ενέργεια του ηλιακού φωτός. Η χημική αντίδραση της φωτοσύνθεσης, λεγόμενη και αντίδραση φωτοσύνθεσης είναι:



Στην πραγματικότητα όμως η φωτοσύνθεση γίνεται σε στάδια και με μια σειρά από πολύπλοκες χημικές αντιδράσεις.

Η διαδικασία της φωτοσύνθεσης γίνεται σε δυο στάδια.

1. Κατά το πρώτο στάδιο τα μόρια της χλωροφύλλης απορροφούν φωτεινή ενέργεια, ενεργοποιούνται και αποβάλλουν ηλεκτρόνια, ιονίζονται. Ένα μέρος της ενέργειας των ενεργοποιημένων μορίων της χλωροφύλλης χρησιμοποιείται για να διασπαστούν μόρια του νερού σε O_2 και H_2 (οξυγόνο και υδρογόνο). Η διαδικασία αυτή λέγεται φωτόλυση. Το O_2 ελευθερώνεται στην ατμόσφαιρα και το H_2 δεσμεύεται στους χλωροπλάστες.

2. Κατά το δεύτερο στάδιο με μια σειρά χημικών ενώσεων παράγεται γλυκόζη, η οποία μεταφέρεται σε όλα τα μέρη του φυτού. Γενικά η φωτοσύνθεση είναι μια ενδόθερμη λειτουργία των αυτότροφων οργανισμών κατά την οποία η Ηλιακή Ενέργεια μετατρέπεται σε χημική. Λαμβάνει χώρα στους χλωροπλάστες και παράγονται θρεπτικά υλικά.

Πολλές από τις αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά την διάρκεια της φωτοσύνθεσης μπορούν να συμβούν από την ύπαρξη ή μη φωτός και ονομάζονται «σκοτεινές» αντιδράσεις, επηρεάζονται όμως από την θερμοκρασία. Οι ονομαζόμενες «φωτεινές» αντιδράσεις για να πραγματοποιηθούν, προϋποθέτουν τη ύπαρξη φωτός, αλλά είναι ανεξάρτητες από την θερμοκρασία. Στο πρώτο στάδιο της φωτοσύνθεσης, τις φωτεινές

αντιδράσεις, το φυτό δεσμεύει την ηλιακή ενέργεια και μέσω της φωτόλυσης του νερού τη μεταφέρει στο ενεργειακό νόμισμα των κυττάρων, το ADP το οποίο ανάγει σε ATP, και στο NADP το οποίο ανάγει σε NADPH+H⁺

Με το δεύτερο στάδιο της φωτοσύνθεσης, τις σκοτεινές αντιδράσεις, το φυτό χρησιμοποιεί την ενέργεια του ATP και του NADPH+H⁺, τα οποία προέρχονται από τις φωτεινές αντιδράσεις, για την αναγωγή του άνθρακα και τελικά τη σύνθεση σακχάρων. Οι σκοτεινές αντιδράσεις πραγματοποιούνται στο στρώμα, ενώ οι φωτεινές στα θυλακοειδή των χλωροπλαστών. Οι πρώτες ύλες για τη φωτοσύνθεση και το διοξείδιο του άνθρακα, εισέρχονται στα κύτταρα των φύλλων, το πρώτο από το έδαφος μέσω των ριζών ενώ το δεύτερο μέσω των στομάτων των φύλλων. Από τα στόματα ελευθερώνετε στην ατμόσφαιρα το οξυγόνο που παράγεται από τη φωτοσύνθεση καθώς και νερό μέσω του φαινόμενου της εξατμισοδιαπνοής (Γερασιμοπούλου, 2009).

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Σχεδιάγραμμα ψεκασμών

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 64 γλάστρες φυτών φράουλας (*Fragaria Vesca*), οι οποίες τοποθετήθηκαν στο Πειραματικό Θερμοκήπιο του ΑΤΕΙΘ. Εκεί έγινε διαχωρισμός των γλαστρών σε 8 ομάδες επεμβάσεων με 8 γλάστρες στη κάθε ομάδα.

Αναλυτικότερα, οι ψεκασμοί που πραγματοποιήθηκαν σε κάθε ομάδα είναι οι εξής:

	ΒΟΡΙΚΟ ΟΞΥ	ΑΣΚΟΡΒΙΚΟ ΟΞΥ
ΟΜΑΔΑ 1 (Μάρτυρας)	0 mmol	0,00 g
ΟΜΑΔΑ 2	10 mmol	0.01 g
ΟΜΑΔΑ 3	20 mmol	0.01 g
ΟΜΑΔΑ 4	30 mmol	0.01 g
ΟΜΑΔΑ 5 (Μάρτυρας)	0 mmol	0.00 g
ΟΜΑΔΑ 6	10 mmol	0.02 g
ΟΜΑΔΑ 7	20 mmol	0.02 g
ΟΜΑΔΑ 8	30 mmol	0.02 g

Πρώτα πραγματοποιήθηκαν οι ψεκασμοί του βορικού οξέος σε 3 επαναλήψεις, και έπειτα οι ψεκασμοί του ασκορβικού οξέος σε 3 επαναλήψεις. Ενδιάμεσα έγινε ψεκασμός με διαφυλλικό λιπάσμα.

Προετοιμασία χώρου

Αρχικά πραγματοποιήθηκε ανακατανομή των γλαστρών ώστε να σχηματισθούν 8 ομάδες με 8 γλάστρες η κάθε μία (= σύνολο 64 φυτά). Στην συνέχεια έγινε απομάκρυνση των ζιζανίων από τις γλάστρες και από τον χώρο γύρω από τα φυτά.

Προετοιμασία διαλύματος βορικού οξέος

Ζυγίζουμε 61,83 g βορικού οξέος (H_3BO_3) [$pH=5$, $Mr=61,83$]. Το τοποθετούμε σε ποτήρι ζέσεως και συμπληρώνουμε απιονισμένο ύδωρ έως ότου έχουμε 1 λίτρο διαλύματος. Βάζουμε σε αναδευτήρα, θερμαίνουμε το διάλυμα και αναδεύουμε μέχρι να διαλυθεί η σκόνη βορικού οξέος.

Από το ατόφιο διάλυμα (A), δημιουργούμε 3 επιμέρους διαλύματα:

- Διάλυμα 1: 10 g διαλύματος (A) σε 990 g απιονισμένου ύδωρ, δηλαδή αποκτούμε το διάλυμα των 10 mmol H_3BO_3 .
- Διάλυμα 2: 20 g διαλύματος (A) σε 980 g απιονισμένου ύδωρ, δηλαδή αποκτούμε το διάλυμα των 20 mmol H_3BO_3 .
- Διάλυμα 3: 30 g διαλύματος (A) σε 970 g απιονισμένου ύδωρ, δηλαδή αποκτούμε το διάλυμα των 30 mmol H_3BO_3 .

Τοποθετούμε τα διαλύματα σε ψεκασθήρες, και το αρχικό διάλυμα το αποθηκεύουμε σε σκιερό μέρος.

Προετοιμασία διαλύματος ασκορβικού οξέος

Ζυγίζουμε στον ζυγό ακριβείας 0,01 g και 0,02 g ασκορβικού οξέος 99,7+%. Τοποθετούμε τις ζυγισμένες ποσότητες σε δύο ογκομετρικούς κυλίνδρους και προσθέτουμε απιονισμένο ύδωρ μέχρι να έχουμε διάλυμα 1 ltr από την κάθε ζυγισμένη ποσότητα σκόνης. Τα διαλύματα που προκύπτουν τα αποθηκεύουμε σε σκιερό μέρος.

Πραγματοποιούμε ψεκασμό στις αντίστοιχες ομάδες με 500 ml διαλύματος στις δύο ομάδες επέμβασης, που αντιστοιχεί με περίπου 62,5 ml διαλύματος σε κάθε γλάστρα.

2. Ψεκασμοί Βορικού οξέος

1^{ος} ψεκασμός με H_3BO_3

Ο πρώτος ψεκασμός πραγματοποιήθηκε στις 13/03/2018. Αφού πήραμε φωτογραφίες, έγινε τυχαία μέτρηση υψών σε κάθε ομάδα, και απομάκρυνση ζιζανίων, έγιναν οι παρεμβάσεις ως εξής:

ΟΜΑΔΑ 1: 0 mmol H_3BO_3 (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 2: 10 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 3: 20 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 4: 30 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 5: 0 mmol H_3BO_3 (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 6: 10 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 7: 20 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 8: 30 mmol H_3BO_3

Τυχαία μέτρηση υψών (σε cm)

	13/3/2018			
ΟΜΑΔΑ 1	11	9	8	9,333333
ΟΜΑΔΑ 2	10	7	9	8,666667
ΟΜΑΔΑ 3	12	9	10	10,333333
ΟΜΑΔΑ 4	7	14	11	10,666667
ΟΜΑΔΑ 5	9	10	13	10,666667
ΟΜΑΔΑ 6	11	8	7	8,666667
ΟΜΑΔΑ 7	16	8	8	10,666667
ΟΜΑΔΑ 8	8	12	8	9,333333

Φωτογραφίες πριν τον πρώτο ψεκάσμό



Ομάδες 1 - 2



Ομάδες 3 - 4



Ομάδες 5 - 6



Ομάδες 7 - 8



Ψεκασμός με διαφυλλικό λίπασμα

Πραγματοποιήθηκε ψεκασμός με διαφυλλικό λίπασμα Complet 12-12-17 + 2MgO + TE.

Διαλύσαμε 10 g λιπάσματος σε 1 ltr νερού και εφαρμόσαμε με ψεκαστήρα.

2^{ος} ψεκασμός με H₃BO₃

Ο δεύτερος ψεκασμός πραγματοποιήθηκε στις 26/03/2018. Αφού πήραμε φωτογραφίες, έγινε τυχαία μέτρηση υψών σε κάθε ομάδα και απομάκρυνση ζιζανίων, έγιναν οι παρεμβάσεις ως εξής:

ΟΜΑΔΑ 1: 0 mmol H₃BO₃ (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 2: 10 mmol H₃BO₃

ΟΜΑΔΑ 3: 20 mmol H₃BO₃

ΟΜΑΔΑ 4: 30 mmol H₃BO₃

ΟΜΑΔΑ 5: 0 mmol H₃BO₃ (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 6: 10 mmol H₃BO₃

ΟΜΑΔΑ 7: 20 mmol H₃BO₃

ΟΜΑΔΑ 8: 30 mmol H₃BO₃

Τυχαία μέτρηση υψών (σε cm)

	26/3/2018			
ΟΜΑΔΑ 1	14	10	8	10,66667
ΟΜΑΔΑ 2	13	10	9	10,66667
ΟΜΑΔΑ 3	15	12	10	12,33333
ΟΜΑΔΑ 4	16	12	11	13
ΟΜΑΔΑ 5	13	12	10	11,66667
ΟΜΑΔΑ 6	13	8	10	10,33333
ΟΜΑΔΑ 7	16	10	12	12,66667
ΟΜΑΔΑ 8	14	10	12	12

Φωτογραφίες πριν τον δεύτερο ψεκασμό



Ομάδες 1 - 2



Ομάδες 3 - 4



Ομάδες 5 - 6



Ομάδες 7 - 8

3^{ος} ψεκασμός με H_3BO_3

Ο τρίτος ψεκασμός πραγματοποιήθηκε στις 02/05/2018. Αφού πήραμε φωτογραφίες, έγινε τυχαία μέτρηση υψών σε κάθε ομάδα, και απομάκρυνση ζιζανίων, έγιναν οι παρεμβάσεις ως εξής:

ΟΜΑΔΑ 1: 0 mmol H_3BO_3 (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 2: 10 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 3: 20 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 4: 30 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 5: 0 mmol H_3BO_3 (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 6: 10 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 7: 20 mmol H_3BO_3

ΟΜΑΔΑ 8: 30 mmol H_3BO_3

Τυχαία μέτρηση υψών (σε cm)

	2/5/2018			
ΟΜΑΔΑ 1	22	18	20	20
ΟΜΑΔΑ 2	25	22	21	22,66667
ΟΜΑΔΑ 3	26	24	23	24,33333
ΟΜΑΔΑ 4	22	24	21	22,33333
ΟΜΑΔΑ 5	27	25	20	24
ΟΜΑΔΑ 6	22	19	19	20
ΟΜΑΔΑ 7	26	22	24	24
ΟΜΑΔΑ 8	23	19	25	22,33333

Φωτογραφίες πριν τον τρίτο ψεκασμό



Ομάδες 1 - 2



Ομάδες 3 - 4



Ομάδες 5 - 6



Ομάδες 7 - 8

Πριν την διενέργεια του τρίτου ψεκασμού, έγινε συλλογή καρπών και φύλλων φράουλας ανά ομάδα επέμβασης. Οι καρποί συλλέχθηκαν σε πλαστικές σακούλες, και αποθηκεύτηκαν προσωρινώς στο ψυγείο και μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Μετασυλλεκτικής για περαιτέρω ανάλυση.

3. Ψεκασμοί Ασκορβικού οξέος

1^{ος} ψεκασμός με $C_6H_8O_6$

Ο πρώτος ψεκασμός πραγματοποιήθηκε στις 22/05/2018. Αφού πήραμε φωτογραφίες, έγινε τυχαία μέτρηση υψών σε κάθε ομάδα, και απομάκρυνση ζιζανίων, έγιναν οι παρεμβάσεις ως εξής:

ΟΜΑΔΑ 1: 0,00 g $C_6H_8O_6$ (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 2: 0,01 g $C_6H_8O_6$

ΟΜΑΔΑ 3: 0,01 g $C_6H_8O_6$

ΟΜΑΔΑ 4: 0,01 g $C_6H_8O_6$

ΟΜΑΔΑ 5: 0,00 g $C_6H_8O_6$ (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 6: 0,02 g $C_6H_8O_6$

ΟΜΑΔΑ 7: 0,02 g $C_6H_8O_6$

ΟΜΑΔΑ 8: 0,02 g $C_6H_8O_6$

Τυχαία μέτρηση υψών (σε cm)

	22/5/2018			
ΟΜΑΔΑ 1	26	35	22	27,66667
ΟΜΑΔΑ 2	37	27	26	30
ΟΜΑΔΑ 3	32	30	22	28
ΟΜΑΔΑ 4	30	29	20	26,33333
ΟΜΑΔΑ 5	33	23	25	27
ΟΜΑΔΑ 6	33	22	32	29
ΟΜΑΔΑ 7	38	30	29	32,33333
ΟΜΑΔΑ 8	36	26	23	28,33333

Φωτογραφίες πριν τον πρώτο ψεκασμό



Ομάδες 1 - 2



Ομάδες 3 - 4



Ομάδες 5 - 6



Ομάδες 7 - 8

2^{ος} ψεκασμός με C₆H₈O₆

Ο δεύτερος ψεκασμός πραγματοποιήθηκε στις 30/05/2018. Αφού πήραμε φωτογραφίες, έγινε τυχαία μέτρηση υψών σε κάθε ομάδα, και απομάκρυνση ζιζανίων, έγιναν οι παρεμβάσεις ως εξής:

ΟΜΑΔΑ 1: 0,00 g C₆H₈O₆ (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 2: 0,01 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 3: 0,01 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 4: 0,01 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 5: 0,00 g C₆H₈O₆ (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 6: 0,02 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 7: 0,02 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 8: 0,02 g C₆H₈O₆

Τυχαία μέτρηση υψών (σε cm)

	30/5/2018			
ΟΜΑΔΑ 1	36	24	29	29,66667
ΟΜΑΔΑ 2	38	23	23	28
ΟΜΑΔΑ 3	34	28	27	29,66667
ΟΜΑΔΑ 4	23	30	33	28,66667
ΟΜΑΔΑ 5	34	23	30	29
ΟΜΑΔΑ 6	27	28	30	28,33333
ΟΜΑΔΑ 7	33	27	25	28,33333
ΟΜΑΔΑ 8	34	27	25	28,66667

Φωτογραφίες πριν τον δεύτερο ψεκασμό



Ομάδες 1 - 2



Ομάδες 3 - 4



Ομάδες 5 - 6



Ομάδες 7 - 8

3^{ος} ψεκασμός με C₆H₈O₆

Ο τρίτος ψεκασμός πραγματοποιήθηκε στις 21/06/2018. Αφού πήραμε φωτογραφίες, έγινε τυχαία μέτρηση υψών σε κάθε ομάδα, και απομάκρυνση ζιζανίων, έγιναν οι παρεμβάσεις ως εξής:

ΟΜΑΔΑ 1: 0,00 g C₆H₈O₆ (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 2: 0,01 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 3: 0,01 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 4: 0,01 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 5: 0,00 g C₆H₈O₆ (Μάρτυρας)

ΟΜΑΔΑ 6: 0,02 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 7: 0,02 g C₆H₈O₆

ΟΜΑΔΑ 8: 0,02 g C₆H₈O₆

Τυχαία μέτρηση υψών (σε cm)

	21/6/2018			
ΟΜΑΔΑ 1	37	25	31	31
ΟΜΑΔΑ 2	38	24	25	29
ΟΜΑΔΑ 3	35	29	30	31,33333
ΟΜΑΔΑ 4	27	32	35	31,33333
ΟΜΑΔΑ 5	33	36	30	33
ΟΜΑΔΑ 6	32	37	29	32,66667
ΟΜΑΔΑ 7	35	29	27	30,33333
ΟΜΑΔΑ 8	38	30	29	32,33333

Φωτογραφίες πριν τον τρίτο ψεκασμό



Ομάδες 1 - 2



Ομάδες 3 - 4



Ομάδες 5 - 6



Ομάδες 7 - 8

15 ημέρες μετά απο την διενέργεια του τρίτου ψεκασμού, έγινε συλλογή καρπών φράουλας ανά ομάδα επέμβασης. Οι καρποί συλλέχθηκαν σε πλαστικές σακούλες, και αποθηκεύτηκαν προσωρινώς στο ψυγείο και μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Μετασυλλεκτικής για περαιτέρω ανάλυση. Επίσης, έγινε συλλογή φύλλων από κάθε ομάδα επέμβασης, αποθηκεύτηκαν προσωρινώς σε πλαστικές σακούλες και μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Γενετικής για περαιτέρω ανάλυση.

4. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του εκλυόμενου υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂)

Εκχύλιση των δειγμάτων: Για την προετοιμασία των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκε (0,5 gr) νωπών φύλλων τα οποία ομογενοποιήθηκαν με 10 ml 0,1% TCA (τριχλωρικό οξύ) στους 4°C. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 15000 x g για 15 λεπτά στους 4°C. Μετά την απομάκρυνση του ιζήματος, το υπερκείμενο τοποθετήθηκε σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες των 25 ml. Το τελικό αυτό δείγμα (δihήθημα+αιθανόλη) χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του εκλυόμενου H₂O₂ και της υπεροξειδωσής των λιπιδίων.

Ο προσδιορισμός του υπεροξειδίου του υδρογόνου που εκλύεται υπολογίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Alexieva et al. (2001). Χρησιμοποιήθηκαν α) γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες, καθένας από τους οποίους περιείχε 0,5 ml φωσφορικών (K₂HPO₄, KH₂PO₄) 0,1 M με pH 7, 0.5 ml 0.1% TCA και 1 ml ιωδιούχου καλίου (KI) 1M. Ακολούθησε η προσθήκη 0,5 ml δείγματος. Μετά από ισχυρή ανάδευση, οι σωλήνες με τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο σκοτάδι για 30 λεπτά. Η συγκέντρωση του εκλυόμενου H₂O₂ υπολογίστηκε φασματοφωτομετρικά μετά από την αντίδραση του με το KI μετρώντας την απορρόφηση σε μήκος κύματος 390 nm. Για την καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιήθηκε μια σειρά διαλυμάτων H₂O₂.

5. Προσδιορισμός της υπεροξειδωσής των λιπιδίων των φύλλων (MDA).

Για τον προσδιορισμό της υπεροξειδωσής των λιπιδίων στα φύλλα της φράουλας χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος φασματοφωτομετρίας των Heath & Packer (1968), μετά από μικρές τροποποιήσεις. Με τη μέθοδο αυτή είναι δυνατή η αξιόπιστη μέτρηση των συγκεντρώσεων της μηλονικής διαλδεύδης (OHC-CH₂-CHO) σε φυτικά δείγματα, με αναλυτικά χαρακτηριστικά ακρίβειας και επαναληψιμότητας τα οποία δεν προσφέρονται από την μέχρι τώρα διαθέσιμη μεθοδολογία.

Σύμφωνα με την διαδικασία αυτή, 2g φύλλων φράουλας από κάθε μεταχείριση τοποθετήθηκαν σε κατάλληλους υποδοχείς και υποβλήθηκαν σε

ξήρανση επί δύο ημέρες σε αερόθερμο κλίβανο θερμοκρασίας 45°C. Τα αποξηραμένα φύλλα λειοτριβήθηκαν, και ποσότητα περίπου 0,5 g από κάθε μεταχείριση ζυγίστηκε με ακρίβεια τετάρτου δεκαδικού ψηφίου μέσα σε πλαστικό φυγοκεντρικό σωλήνα των 50 ml με βιδωτό πώμα. Στη συνέχεια, προστέθηκαν στον σωλήνα 10 ml 5% υδατικού διαλύματος τριχλωροξικού οξέος και 5 ml εξανίου που περιείχε 0,8% βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT).

Το μίγμα ομογενοποιήθηκε με ομογενοποιητή Ultraturrax (IKA) επί 20 s σε υψηλή ταχύτητα και φυγοκεντρήθηκε επί 3 min στα 3000g. Η υπερκείμενη στιβάδα του εξανίου απορρίφθηκε και 2,5 ml από την υδατική στιβάδα μεταφέρθηκαν σε άλλο σωλήνα και αναμίχθηκαν με 1,5 ml 0,8% υδατικού διαλύματος 2-θειοβαρβιτουρικού οξέος. Το μίγμα επωάστηκε στους 70°C επί 30 min, ψύχθηκε, στη συνέχεια, κάτω από νερό βρύσης και υποβλήθηκε σε συμβατική φασματοφωτομετρία (Shimadzu, Model UV-160A, Tokyo, Japan) χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης (Shimadzu Japan) εφοδιασμένο με λογισμικό που επέτρεπε τον μετασχηματισμό των συμβατικών φασμάτων απορρόφησης σε διαφορικά φάσματα 3^{ης} παραγωγού, προκειμένου να υπάρχει η δυνατότητα εξουδετέρωσης φωτομετρικών παρενοχλήσεων στη μέτρηση της μηλονικής διαλδεύδης από υδατάνθρακες, χρωστικές και άλλες ουσίες των φυτών που επίσης απορροφούν κοντά στα 532 nm και μπορούν να επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την αξιοπιστία των μετρήσεων. Οι συνθήκες φωτομέτρησης ήταν οι εξής:

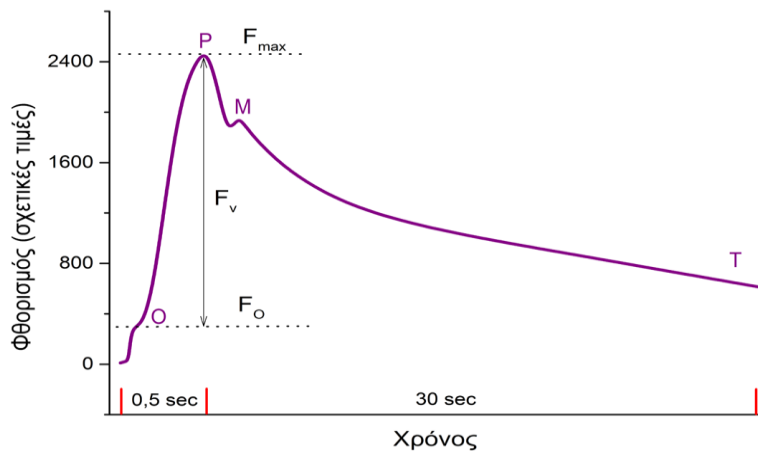
- Εύρος συμβατικού φάσματος: 650-400 nm
- Βαθμός διαφόρισης του φάσματος: 3^η παράγωγος
- Διαφορά μήκους κύματος διαφόρισης (dλ): 21 nm

6. Μέτρηση του φθορισμού της χλωροφύλλης

Όταν ένα φύλλο φωτίζεται με σταθερή ένταση φωτισμού, η εκπομπή φθορισμού παραμένει σταθερή. Η μέτρηση του φθορισμού αυτού, παρέχει ελάχιστες πληροφορίες για τη φυσιολογική κατάσταση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας. Πολύ χρησιμότερη είναι η παρακολούθηση των μεταβολών του φθορισμού της χλωροφύλλης κάτω από μεταβαλλόμενο φωτισμό και, συγκεκριμένα, κατά τα πρώτα λεπτά μετά τον αιφνίδιο φωτισμό ενός φύλλου που παρέμεινε, προηγουμένως, για κάποιο χρονικό διάστημα στο σκοτάδι.

Οι φάσεις επαγωγής του φθορισμού της χλωροφύλλης

Η επαγωγή φθορισμού στα φυτά είναι γνωστή από τις αρχές της δεκαετίας του 1930 ως “φαινόμενο Kautsky”, από το όνομα του Γερμανού επιστήμονα που τη μελέτησε. Η κινητική της επαγωγής αυτής, που χαρακτηρίζεται από μία ταχεία φάση ανόδου και μία αργή φάση απόσβεσης του φθορισμού, παρουσιάζεται στο διάγραμμα 4.1.



Γραφική απεικόνιση της κινητικής επαγωγής φθορισμού (καμπύλη Kautsky) από φύλλο που παρέμεινε προηγουμένως στο σκοτάδι.

Με τον αιφνίδιο φωτισμό ενός φύλλου που έχει προηγουμένως διατηρηθεί για αρκετή ώρα στο σκοτάδι, ο φθορισμός ανέρχεται ακαριαία (σε λίγα msec) σε ένα σημείο O (F_o) και, κατόπιν, αυξάνεται ως το ανώτερο σημείο P (F_m) με μικρότερη κλίση. Ο χρόνος που απαιτείται για να φθάσει στο σημείο P, εξαρτάται από την κατάσταση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας αλλά και από το είδος του φυτού, συνήθως δε, είναι μικρότερος του 1 sec. Την αύξηση αυτή του

φθορισμού, ακολουθεί στη συνέχεια η απόσβεσή του, αφού από το σημείο P και μετά ο φθορισμός μειώνεται και, διαμέσου ενός δεύτερου μεγίστου M, καταλήγει εντός ολίγων λεπτών (συνήθως 3-4 λεπτά), στο επίπεδο T, όπου και παραμένει σταθερός.

Τις δύο τελευταίες δεκαετίες, με την πρόοδο της τεχνολογίας, έγινε δυνατή η κατασκευή εύχρηστων οργάνων για τη μέτρηση ασθενών φωτεινών σημάτων σε πολύ μικρούς χρόνους. Με τη βοήθεια των οργάνων αυτών, διενεργήθηκαν εντατικές μελέτες του φαινομένου Kautsky, σε μια προσπάθεια πλήρους θεωρητικής ερμηνείας των διαφόρων φάσεων της επαγωγής και απόσβεσης του φθορισμού, καθώς και περαιτέρω διερεύνησης των δυνατοτήτων πρακτικής εφαρμογής.

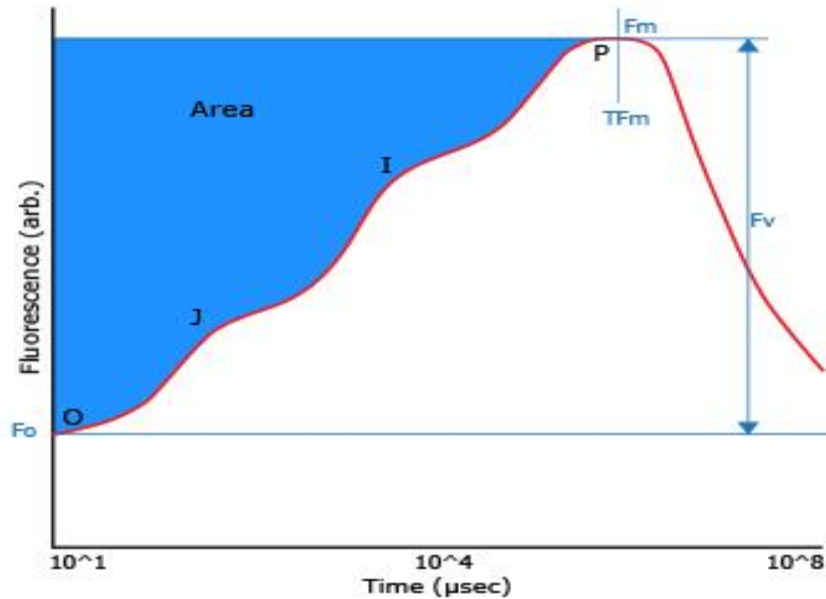
Με βάση τις μελέτες αυτές, συνάγεται ότι μετά από σύντομη παραμονή στο σκοτάδι (10 min έως 2 hr, ανάλογα με το φυτό και τη φυσιολογική του κατάσταση), οι πρωταρχικοί αποδέκτες ηλεκτρονίων του φωτοσυστήματος II (PhotoSystem II, PSII), που είναι η κινόνη A (Quinone A, QA) και η κινόνη B (Quinone B, QB) είναι πλήρως οξειδωμένοι. Κατά συνέπεια, τα φωτοχημικά κέντρα αντίδρασης του PSII μπορούν να δεχθούν ενέργεια διέγερσης, καθώς είναι ικανά να διοχετεύσουν τα ηλεκτρόνια προς τις QA και QB. Στο σκοτάδι, δηλαδή, τα κέντρα αντίδρασης θεωρούνται «ανοιχτά». Το F_0 , επομένως, αντιπροσωπεύει την ένταση του φθορισμού όταν τα δραστικά κέντρα του PSII είναι ανοιχτά.

Ο F_0 μπορεί να αυξηθεί αν ορισμένα κέντρα καταστραφούν ή αν η μεταφορά της ενέργειας διέγερσης από τη φωτοσυλλεκτική κεραία προς τα κέντρα αντίδρασης παρεμποδίζεται. Εφ' όσον το διεγείρον φως είναι ισχυρό, δηλαδή έχει ένταση που κορεννύει την φωτοσύνθεση, ηλεκτρόνια διοχετεύονται από τον δότη P680 προς τις QA και QB, τα αποθέματα των οποίων ανάγονται πλήρως. Στο διάστημα που μεσολαβεί μέχρι οι QA και QB να διοχετεύσουν περαιτέρω τα ηλεκτρόνιά τους προς την πλαστοκινόνη και το PSI, τα κέντρα αντίδρασης του PSII δεν μπορούν να δεχθούν επιπλέον ενέργεια διέγερσης, επειδή η ροή ηλεκτρονίων περιορίζεται, παροδικά, από την έλλειψη οξειδωμένων μορφών των QA και QB. Κατά συνέπεια, ο αριθμός των «κλειστών» κέντρων αντίδρασης αυξάνεται, η παραγωγή φωτοχημικού έργου στο PSII ελαττώνεται, ενώ αντίστοιχα αυξάνεται ο φθορισμός.

Με την άφιξη στο σημείο P, το οποίο αντιστοιχεί στον μέγιστο εκπεμπόμενο φθορισμό (Fm) όταν η χρησιμοποιούμενη ένταση φωτισμού κορεννύει την φωτοσύνθεση, όλα τα κέντρα αντίδρασης του PSII θεωρούνται «κλειστά». Καθώς τα ηλεκτρόνια διοχετεύονται στην πλαστοκινόνη και αρχίζει η λειτουργία του PSI, οι QA και QB επανοξειδώνονται, τα κέντρα αντίδρασης ανοίγουν σταδιακά, η φωτοχημική απόδοση του PSII αυξάνεται και ο φθορισμός αποσβέννυται.

Το μέγιστο σημείο M σηματοδοτεί, πιθανώς, την έναρξη της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του CO₂, ενώ χαμηλές τιμές εκπομπής φθορισμού στο τελικό επίπεδο T υποδεικνύουν καλή συνεργασία των δύο φωτοσυστημάτων και αποδοτικότερη αφομοίωση του CO₂. Αξίζει να επισημανθεί, ότι οι μετρήσεις του φθορισμού είναι πάντοτε σχετικές και τα απόλυτα επίπεδα F₀, F_m και T μπορεί να διαφέρουν σε διάφορα υγιή φύλλα του ίδιου είδους. Συνεπώς, οι μετρήσεις στηρίζονται στις σχετικές αναλογίες των μετρούμενων μεγεθών.

Η ταχεία φάση ανόδου του φθορισμού μελετήθηκε λεπτομερέστερα από τους Strasser et al. (1995), οι οποίοι παρατήρησαν, ότι αν ο άξονας του χρόνου στην καμπύλη του Kautsky λογαριθμιστεί, η μετάβαση από το ελάχιστο σημείο (O) στο μέγιστο σημείο (P) του φθορισμού δεν είναι γραμμική, αλλά πολυφασική, εμφανίζοντας τουλάχιστον δύο επιπλέον κορυφές (J και I), κάτι που φαίνεται καθαρά σε λογαριθμική κλίμακα χρόνου. Εξαιτίας αυτών των σημείων, η ταχεία φάση της επαγωγής του φθορισμού ονομάστηκε OJIP καμπύλη.



Τυπική γραφική απεικόνιση τριφασικής OJIP καμπύλη επαγωγής του φθορισμού της χλωροφύλλης

Τα φύλλα στα οποία μετράται η ένταση του φθορισμού πρέπει να έχουν παραμείνει στο σκοτάδι για αρκετή ώρα. Με αυτόν τον τρόπο, διασφαλίζεται ότι όλοι οι ενδιάμεσοι φορείς ηλεκτρονίων μεταξύ των δύο φωτοσυστημάτων βρίσκονται στην οξειδωμένη τους μορφή και ότι ο δότης P680 είναι αποδιεγερμένος. Στην κατάσταση αυτή, τα ενεργά κέντρα είναι «ανοιχτά» και μπορούν να επιτελέσουν το μέγιστο φωτοχημικό έργο, και άρα να εκπέμψουν τον ελάχιστο φθορισμό. Στο σημείο αυτό (O), ο φθορισμός (F_o) αντανακλά την ενέργεια διεγέρσεως που χάνεται για φωτοχημικό έργο κάτω από ιδανικές συνθήκες (Henriques 2009). Στη συνέχεια, τα δείγματα φωτίζονται και με την προϋπόθεση ότι η ένταση του φωτός με την οποία φωτίζονται τα δείγματα είναι αρκετά ισχυρή (saturating light), όλοι οι ενδιάμεσοι φορείς ηλεκτρονίων ανάγονται, ο δότης P680 διεγείρεται και τα ενεργά κέντρα των φωτοσυστημάτων θεωρούνται «κλειστά». Στο σημείο P, ο φθορισμός έχει την μέγιστη τιμή του (F_m) (Henriques 2009). Μεταξύ των δύο ακραίων σημείων (O και P), εμφανίζονται άλλα δύο χαρακτηριστικά σημεία. Το σημείο J που εμφανίζεται στα 2 ms (Strasser et al. 2004) και το σημείο I που εμφανίζεται στα 30 ms. Οι τρεις διακριτές φάσεις O-J, J-I και I-P της καμπύλης, συνδέονται με τρεις διαφορετικές αναγωγικές διεργασίες κατά μήκος της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Πιο συγκεκριμένα, η φάση O-J σχετίζεται με την αναγωγή της QA (Schansker et al. 2005), η φάση J-I σχετίζεται με την αναγωγή της PQ (Toth et

al. 2007) και η φάση I-P, σχετίζεται με γεγονότα που λαμβάνουν χώρα στην αναγωγική πλευρά του PSI (Schansker et al. 2005).

Διαδικασία μέτρησης

Ο φθορισμός της χλωροφύλλης αποτελεί μία μη επεμβατική, μη καταστρεπτική, φθηνή και γρήγορη μέθοδο εκτίμησης της φωτοσυνθετικής κατάστασης ενός δείγματος. Για τη μέτρησή του είναι διαθέσιμα διάφορα όργανα με διαφορετικά χαρακτηριστικά, που μπορούν όμως να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα φθορισμόμετρα ρυθμιζόμενου εύρους παλμού (pulse modulated fluorometers), και τα φθορισμόμετρα συνεχούς διέγερσης (constant excitation fluorometers).



Φθορισμόμετρο ρυθμιζόμενου εύρους παλμού για τη μέτρηση της χλωροφύλλης (Plant Efficiency Analyzer, PEA)

Με τα φθορισμόμετρα ρυθμιζόμενου εύρους παλμού μελετούμε κατά προτίμηση την κινητική του φθορισμού σε προσαρμοσμένα στο φως δείγματα, αφού προηγουμένως φτάσουν σε μία σταθερή κατάσταση φθορισμού (Baker 2008). Η χρονική ανάλυση του σήματος του φθορισμού σε αυτά τα όργανα είναι σχετικά χαμηλή, δηλαδή το διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ των μετρήσεων είναι σχετικά μεγάλο. Με τα φθορισμόμετρα συνεχούς διέγερσης μελετούμε την κινητική του φθορισμού προσκοτεινισμένων δειγμάτων κατά τη φάση της ταχείας ανόδου του φθορισμού. Τα όργανα αυτά έχουν υψηλή χρονική

ανάλυση, δηλαδή η χρονική απόσταση μεταξύ των μετρήσεων είναι σχετικά μικρή.

Ο φθορισμός της χλωροφύλλης μετρήθηκε με μια ρυθμιζόμενη και χαμηλής έντασης ακτινοβολία από εκπεμπόμενο φως διόδων (μήκος κύματος διέγερσης στα 655nm, μήκος κύματος εκπομπής πάνω από 700nm) χρησιμοποιώντας ένα φορητό παλμικό ρυθμιζόμενο φθορισμόμετρο (Εικόνα 4.6) (Plant Efficiency Analyzer, PEA, Hansatech Ltd King's Lynn, Norfolk, England). Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στην πάνω επιφάνεια των φύλλων, μετά από μισή ώρα παραμονής τους στο σκοτάδι. Το όργανο αυτό αποτελείται από τις εξής τρεις μονάδες: τους συνδετήρες φύλλου που χρησιμοποιούνται για την προσαρμογή του αισθητήρα και διαθέτουν ειδικό κλείστρο για να κρατούν το φύλλο στο σκοτάδι, την μονάδα ελέγχου για αποθήκευση και επεξεργασία των μετρήσεων και την μονάδα του αισθητήρα που εκπέμπει ερυθρό φωτισμό.

Η κεφαλή μέτρησης του αισθητήρα φωτίζει τον ιστό και ανιχνεύει και καταγράφει τα επαγόμενα σήματα του φθορισμού. Αποτελείται από 6 διόδους εκπομπής φωτός υψηλής έντασης που φωτίζουν ομοιόμορφα την επιφάνεια φύλλου (διάμετρος 4mm) με μέγιστη φωτεινή ένταση 630Wm^{-2} . Ο φθορισμός που εκπέμπεται από τον φωτοσυνθετικό ιστό διέρχεται μέσα από ένα οπτικό φίλτρο και φθάνει στον ανιχνευτή, ο οποίος απορροφά τα μεγάλα μήκη κύματος και ανακλά το μικρότερο μήκος κύματος φωτός που προέρχεται από τις διόδους εκπομπής. Η μονάδα του αισθητήρα συνδέεται με ένα καλώδιο με τη συσκευή ελέγχου που έχει και όλα τα ηλεκτρονικά μέρη του φθορισμόμετρου.

Ως πρώτη αξιόπιστη μέτρηση θεωρείται η μέτρηση στα 50μs μετά την έναρξη φωτισμού του δείγματος για αυτό και εκλαμβάνεται ως η αρχική τιμή φθορισμού F_0 . Ο φθορισμός επάγεται από ερυθρό φωτισμό (μέγιστο 735nm) ρυθμιζόμενης έντασης, η οποία αναφέρεται ως ένταση διέγερσης.

Η ελάχιστη απόδοση του φθορισμού F_0 του φύλλου που προσαρμόστηκε στο σκοτάδι προσδιορίστηκε κάτω από αμυδρό κόκκινο φως χαμηλής 34 έντασης. Στην επάνω πλευρά του φύλλου και περίπου στο μέσο αυτού τοποθετήσαμε έναν συνδετήρα φύλλου σε καθορισμένη απόσταση από την

οπτική ίνα του υποδοχέα και μιά αμυδρή 5 s ερυθρή ακτινοβολία (735 nm) στάλθηκε για να οξειδώσει πλήρως την αλυσίδα μεταφοράς των ηλεκτρονίων.

Η μέγιστη απόδοση του φθορισμού των φυτών (F_m) επιτεύχθηκε με έκθεση του φωτοσυστήματος PSII σε ένα παλμικά κορεσμένο (0,8s) άσπρο φως. Η διαφορά ανάμεσα στο F_m (μέγιστη τιμή φθορισμού) και το F_o (αρχική τιμή φθορισμού) έδωσε τον μεταβαλλόμενο φθορισμό F_v ($F_v = F_m - F_o$). Η μέγιστη φωτοχημική απόδοση του φωτοσυστήματος II προσδιορίστηκε ως η αναλογία του μεταβαλλόμενου φθορισμού F_v προς τον μέγιστο επίπεδο φθορισμού (F_v/F_m) και αντιπροσωπεύει την φωτοσυνθετική ικανότητα του ανοιχτού PSII. Οι παράμετροι φθορισμού που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη αυτή και περιλαμβάνουν τις απευθείας παρεχόμενες από το όργανο καθώς και τις εξ' υπολογισμού προκύπτουσες παραμέτρους, είναι οι εξής:

Ο ελάχιστος φθορισμός (F_o). Είναι η πρώτη αξιόπιστη τιμή φθορισμού ύστερα από το φωτισμό του δείγματος στα 50 μs, όταν θεωρητικώς όλα τα ενεργά κέντρα του PSII είναι ανοιχτά και υπάρχει μια ελεύθερη ροή ηλεκτρονίων. Κάθε φωτόνιο που απορροφάται από ένα μόριο χλωροφύλλης μετατοπίζει ένα ηλεκτρόνιο από την θεμελιώδη σε μία διεγερμένη κατάσταση. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, η μεταφορά ηλεκτρονίων είναι αρκετά γρήγορη έτσι ώστε να υπάρχει μια σταθερή ροή ηλεκτρονίων και να εμφανίζεται ένας ελάχιστος φθορισμός (F_o). Ο πραγματικός φθορισμός F_o όμως εμφανίζεται μόνο όταν ο σταθερός αποδέκτης ηλεκτρονίων (QA) του PSII είναι πλήρως οξειδωμένος. Αυτό προϋποθέτει πλήρη προηγούμενη προσαρμογή του δείγματος στο σκοτάδι, οπότε ο φθορισμός F_o εμφανίζεται ουσιαστικά σε χρόνο μηδέν, αφού αποτελεί την σχεδόν άμεση ανύψωση του φθορισμού (κλίμακα nanoseconds) της χλωροφύλλης που φωτίζεται. Τέτοιοι χρόνοι όμως δεν είναι δυνατόν να μετρηθούν εξαιτίας συμφυών περιορισμών στην ηλεκτρονική τεχνολογία. Ωστόσο είναι δυνατή η εκτίμηση με μεγάλη ακρίβεια του επιπέδου του F_o με χρήση κατάλληλου μαθηματικού αλγορίθμου.

- Ο μέγιστος φθορισμός (F_m). Είναι ο μέγιστος φθορισμός χλωροφύλλης που προκαλείται από φως συνεχούς έντασης. Τα ενεργά κέντρα του PSII είναι τώρα κλειστά και ο αποδέκτης ηλεκτρονίων (QA) πλήρως αναγμένος. Η ροή των ηλεκτρονίων εμποδίζεται, επειδή η ποσότητα του QA δεν μπορεί να μεταφέρει τα ηλεκτρόνια αρκετά γρήγορα, έτσι ώστε να συμβαδίσει με την

εισροή των φωτονίων, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται η μέγιστη κβαντική απόδοση του PSII και η μέγιστη εκπομπή φθορισμού (F_m). Η παράμετρος αυτή μπορεί να θεωρείται ως μέγιστος φθορισμός μόνον εφόσον η ένταση του φωτός που παρέχεται από το φθορισμόμετρο κορεννύει πλήρως το φυτό και ο αποδέκτης ηλεκτρονίων QA είναι πλήρως αναγμένος. Εάν η ένταση του φωτός δεν είναι αρκετά υψηλή, το φυτό μπορεί σε κάποιες περιπτώσεις να μην είναι πλήρως κορεσμένο, με αποτέλεσμα ο ανώτερος φθορισμός που επιτυγχάνεται να μην είναι ο μέγιστος και, επομένως, να μην μπορεί να θεωρηθεί ως φθορισμός F_m οπότε και η σχέση F_v/F_m να μην είναι σωστή. Αυτό ήταν και το κύριο πρόβλημα στο παρελθόν με τα παλαιάς τεχνολογίας φθορισμόμετρα, τα οποία δεν ήταν σε θέση πολλές φορές να παρέχουν φως διέγερσης με αρκετά υψηλή ένταση.

- Ο μέγιστος μεταβαλλόμενος φθορισμός (F_v). Είναι η διαφορά στην ένταση φθορισμού μεταξύ των κλειστών και ανοικτών κέντρων αντίδρασης ($F_v = F_m - F_o$). Η διαφορά αυτή ουσιαστικά αντιστοιχεί στο μέρος της απορροφημένης φωτεινής ενέργειας που θα χρησιμοποιούνταν στη φωτοσύνθεση, εάν όλα τα κέντρα αντίδρασης ήταν ανοικτά.

- Ο λόγος F_v/F_m . Έχει αποδειχθεί εμπειρικά ότι σε μια πλειάδα φυτικών ειδών ο λόγος F_v/F_m είναι ανάλογος της ανά φωτόνιο απόδοσης της φωτοσύνθεσης και αποτελεί μέτρο της φωτοχημικής ικανότητας του PSII (Kalaji et al. 2011). Η μείωση του λόγου F_v/F_m είναι ενδεικτική του αποτελέσματος κάποιων περιβαλλοντικών εξωτερικών παραγόντων και αυτή η αλλαγή δείχνει απώλεια της φωτοχημικής απόδοσης (Srivastava et al. 1997). Σε υγιή φυτά με άριστη φωτοσυνθετική δραστηριότητα, η παράμετρος F_v/F_m κυμαίνεται μεταξύ 0,800 και 0,850 (Krause & Weis 1991). Τιμές χαμηλότερες από αυτήν την περιοχή, δείχνουν ότι το φυτό είναι εκτεθειμένο σε κάποιου είδους καταπόνηση. Η μέτρηση της παραμέτρου αυτής παρέχει πολλά πλεονεκτήματα, γιατί η εκτίμηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης απαιτεί αφαίρεση των φύλλων από το φυτό και είναι χρονοβόρα, ενώ η μέτρηση του F_v/F_m είναι μη καταστροφική, μπορεί να γίνει στην ύπαιθρο και ολοκληρώνεται εντός δευτερολέπτων. Οι μεταβολές του F_v/F_m παρουσία των δυσμενών συνθηκών παρουσιάζονται πολύ πριν εμφανιστούν οποιαδήποτε ορατά συμπτώματα στο φυτό. Κατά συνέπεια, η μέθοδος έχει άριστη αξία πρόγνωσης, χωρίς, ωστόσο, να μπορεί

να προσδιορίσει τον δυσμενή παράγοντα καταπόνησης. Και αυτό γιατί όπως μια πληθώρα μελετών των τελευταίων δεκαετιών έχει δείξει, μια μεγάλη σειρά δυσμενών περιβαλλοντικών παραγόντων όπως η υψηλή θερμοκρασία, η χαμηλή θερμοκρασία, ο υπερβολικά υψηλός φωτισμός, η έλλειψη νερού, τα ζιζανιοκτόνα, η υπεριώδης ακτινοβολία, οι ατμοσφαιρικοί ρύποι, κ.α., μπορούν να προκαλέσουν μείωση της ανά φωτόνιο φωτοσυνθετικής απόδοσης, κατ' επέκταση και του F_v/F_m .

- Ο λόγος F_v/F_o . Ο λόγος αυτός, που ουσιαστικά αντανakλά τις δομικές μεταβολές του PSII εκφράζει την ικανότητα παροχής ηλεκτρονίων στα δραστικά κέντρα του PSII, καθώς και την ταχύτητα της φωτοσυνθετικής μετατροπής των κβάντων στα κέντρα αντιδράσεων του PS II (Havaux & Lannoye 1985α). Σε υγιή φυτά με άριστη φωτοσυνθετική δραστηριότητα, η παράμετρος F_v/F_o έχει τιμές μεγαλύτερες του 4. Τιμές χαμηλότερες του 4, δείχνουν ότι το φυτό είναι εκτεθειμένο σε κάποιου είδους καταπόνηση και η δομική και λειτουργική δυνατότητα των χλωροπλαστών έχει υποστεί κάποια βλάβη (Chatzistathis et al. 2011).

- Η Επιφάνεια (Area). Η παράμετρος αυτή εκφράζει την περιοχή υπεράνω της καμπύλης επαγωγής φθορισμού μεταξύ των σημείων F_o and F_m . Είναι ανάλογος του συνολικού μεγέθους της αναγμένης PQ στην αναγμένη πλευρά του PSII. Η παράμετρος αυτή μειώνεται σε μεγάλο βαθμό όταν η μεταφορά των ηλεκτρονίων από τα δραστικά κέντρα στο σύνολο των κινονών εμποδίζεται. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι η παράμετρος αυτή μπορεί να ελαττωθεί μέχρι και 59% σε γενότυπους ευαίσθητους σε καταπόνηση, σε σχέση με ανθεκτικούς γενότυπους (Strasser et al. 2004).

- Ο δείκτης απόδοσης PI (Performance index). Η παράμετρος αυτή που είναι ένας δείκτης ζωτικότητας του δείγματος, διαμορφώνεται σύμφωνα με την εξίσωση Nernst η οποία περιγράφει τις δυνάμεις των αναγωγικών αντιδράσεων και γενικά των κινήσεων της ελεύθερας ενέργειας Gibbs στα βιοχημικά συστήματα. Ο δείκτης αυτός συνιστά ουσιαστικά έναν φωτοσυνθετικό δείκτη απόδοσης της μετατροπής ενέργειας από τα φωτόνια που απορροφούνται από τη φωτοσυλλεκτική κεραία του PSII, έως την αναγωγή της QB.

Μέτρηση της ανταλλαγής αερίων

Η μέγιστη καθαρή φωτοσυνθετική ταχύτητα ενός φυτού μπορεί να μετρηθεί είτε ως κατανάλωση CO₂, είτε ως παραγωγή O₂. Ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος τρόπος μέτρησης είναι μέσω της κατανάλωσης CO₂.

Η εκτίμηση της ταχύτητας της φωτοσυνθετικής δέσμευσης του CO₂ από ένα φύλλο προϋποθέτει, σε γενικές γραμμές, την έγκλειση του φύλλου σε ένα θάλαμο, τη διοχέτευση αέρα στον θάλαμο και τη μέτρηση της μεταβολής της συγκέντρωσης του CO₂ με έναν αναλυτή αερίων υπέρυθρης ακτινοβολίας (IRGA, Infra-Red Gas Analyser).

Οι αναλυτές αερίων υπέρυθρης ακτινοβολίας είναι όργανα μέτρησης της συγκέντρωσης ετεροατομικών αερίων (CO, CO₂, SO₂, NO, υδρατμοί). Στη φυσιολογία φυτών χρησιμοποιούνται ευρύτατα για τον προσδιορισμό της φωτοσυνθετικής και αναπνευστικής ανταλλαγής του CO₂ από τα φυτά. Τα μόρια των ετεροατομικών αερίων απορροφούν σε συγκεκριμένα μήκη κύματος της υπέρυθρης περιοχής του φάσματος και κάθε αέριο έχει το δικό του χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης. Αντίθετα, τα ομοατομικά αέρια (π.χ. O₂, N₂) δεν απορροφούν την υπέρυθρη ακτινοβολία και, επομένως, δεν δημιουργούν παρεμβολές κατά τη μέτρηση των ετεροατομικών αερίων. Το CO₂ παρουσιάζει μία κύρια ζώνη απορρόφησης σε μήκος κύματος 4.25 μm και δευτερεύουσες ζώνες απορρόφησης στα 2.66, 2.77 και 14.99 μm. Το μόνο ετεροατομικό αέριο που το φάσμα απορρόφησης του παρουσιάζει επικάλυψη με το φάσμα απορρόφησης του CO₂ και βρίσκεται φυσιολογικά στην ατμόσφαιρα είναι το H₂O (υδρατμοί). Η αλληλοεπικάλυψη αυτή αποτελεί σημαντικό πρόβλημα κατά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του CO₂, αφού οι υδρατμοί βρίσκονται σε πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις στον αέρα συγκριτικά με το CO₂. Το πρόβλημα παρακάμπτεται με την παρεμβολή ενός ξηραντικού υλικού, πριν το μετρούμενο δείγμα αέρα φτάσει στον αναλυτή.

Ένας αναλυτής αερίων υπέρυθρης ακτινοβολίας περιλαμβάνει τρία βασικά μέρη: την πηγή της ακτινοβολίας, δύο κυψελίδες (τυφλού και δείγματος αντίστοιχα) και δύο ανιχνευτές (έναν για κάθε κυψελίδα). Στην κυψελίδα του τυφλού διοχετεύεται αέρας χωρίς CO₂, ενώ στην κυψελίδα του δείγματος το προς μέτρηση δείγμα αέρα. Έτσι, το ποσό της ακτινοβολίας που φτάνει στον

ανιχνευτή του τυφλού δεν έχει υποστεί καμία απορρόφηση, ενώ το ποσό που φτάνει στον ανιχνευτή του δείγματος είναι μειωμένο, γιατί έχει, κατά ένα μέρος, απορροφηθεί από τα μόρια CO₂ της κυψελίδας του δείγματος. Κατά την αρχική ρύθμιση του οργάνου, γίνεται βαθμονόμηση με δύο γνωστές συγκεντρώσεις CO₂ (0 και 360 ppm).

Ο αναλυτής μπορεί να συνδέεται με τον θάλαμο του φύλλου με ανοιχτό ή κλειστό κύκλωμα. Στο κλειστό κύκλωμα, το ρεύμα αέρα ανακυκλώνεται συνεχώς μεταξύ θαλάμου και αναλυτή. Ως αποτέλεσμα της φωτοσύνθεσης του φύλλου, το CO₂ του συστήματος συνεχώς μειώνεται, μέχρι το σημείο αντιστάθμισης του CO₂. Στο ανοικτό κύκλωμα, ρεύμα αέρα γνωστής συγκέντρωσης σε CO₂ διοχετεύεται σταθερά στον θάλαμο του φύλλου, όπου, λόγω φωτοσύνθεσης, αφαιρείται μέρος του περιεχομένου CO₂. Στη συνέχεια, οδηγείται στον αναλυτή (κυψελίδα δείγματος) και, ακολούθως, στην ελεύθερη ατμόσφαιρα. Στην κυψελίδα του τυφλού οδηγείται το ρεύμα αέρα χωρίς τη μεσολάβηση του θαλάμου. Η φωτοσυνθετική ταχύτητα υπολογίζεται με βάση τη διαφορά της συγκέντρωσης του CO₂ στις δύο κυψελίδες και την ταχύτητα ροής του αέρα.

Τα σύγχρονα όργανα μέτρησης φωτοσύνθεσης είναι φορητά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνθήκες πεδίου και να λειτουργούν σε ανοικτό ή κλειστό κύκλωμα. Επιπλέον, πέραν των παραμέτρων που προαναφέρθηκαν, μπορούν να μετρήσουν και την ταχύτητα διαπνοής.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε αναλυτής αερίων ανοικτού τύπου της LI-COR Biosciences (2005). Η αρχή λειτουργίας του οργάνου βασίζεται στην παράλληλη ύπαρξη δύο ανεξάρτητων μεταξύ τους αναλυτών αερίων υπέρυθρης ακτινοβολίας, οι οποίοι τροφοδοτούνται με αέρα από μία ενσωματωμένη αντλία σταθερής ροής.



Αναλυτής αερίων τύπου Li-6400

Από τις διαφορές που προκύπτουν μεταξύ του υπέρυθρου αναλυτή αερίων του θαλάμου αναφοράς και του υπέρυθρου αναλυτή αερίων του θαλάμου δείγματος παρέχονται άμεσες μετρήσεις καθαρού ρυθμού φωτοσύνθεσης και διαπνοής, καθώς και έμμεση εκτίμηση της στοματικής αγωγιμότητας και πολλών άλλων παραμέτρων.

Ο συγκεκριμένος αναλυτής αερίων παρέχει επίσης τη δυνατότητα ελέγχου και καθορισμού μιας σειράς περιβαλλοντικών παραγόντων που επηρεάζουν τη φωτοσυνθετική λειτουργία, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα επανάληψης των ίδιων συνθηκών μεταξύ των πειραμάτων, αλλά και τη μέτρηση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας κάτω από τις επιθυμητές περιβαλλοντικές συνθήκες σε ό,τι αφορά την ένταση του φωτός, τη θερμοκρασία, την σχετική υγρασία και την συγκέντρωση CO₂. Η ένταση του φωτός που παρέχεται στο δείγμα, παράγεται από μια φωτεινή πηγή κόκκινων και μπλε φωτοδιόδων (6400-O₂B, red-blue LED source) και μπορεί να πάρει τιμές μεταξύ 0 (πλήρες σκοτάδι) και 2000 μmol φωτονίων m⁻² s⁻¹ (πλήρες ηλιακό φως μιας ανέφελης μέρας).

Η ρύθμιση του παρεχόμενου CO₂ γίνεται μέσω ενός συστήματος έγχυσης. Αρχικά ο ατμοσφαιρικός αέρας περνά μέσα από ένα θάλαμο που περιέχει μείγμα σόδας και ασβεστίου (soda lime), όπου απορροφάται όλο το CO₂. Ο εμπλουτισμός του παρεχόμενου αέρα με CO₂ πραγματοποιείται μέσω μιας ειδικής αμπούλας με συμπιεσμένο CO₂ σε υγρή μορφή. Οι τιμές του CO₂ μπορούν να οριστούν μεταξύ 0 και 2100 ppm, τιμή πολύ μεγαλύτερη από την συγκέντρωση του CO₂ στην ατμόσφαιρα (400 ppm).

Ανάλογα γίνεται και ο καθορισμός της σχετικής υγρασίας του παρεχόμενου αέρα με τη διοχέτευσή του διαμέσου ενός θαλάμου με ξηραντικό μέσο (άνυδρο θειικό ασβέστιο), ο οποίος, διαμέσου μιας στρόφιγγας, ρυθμίζει την ποσότητα του αέρα που αποξηραίνεται.

Η τελευταία παράμετρος που μπορεί να ρυθμιστεί είναι η θερμοκρασία στην οποία πραγματοποιείται η φωτοσύνθεση. Για το σκοπό αυτό επιστρατεύονται δύο ανεμιστηράκια που είναι ενσωματωμένα στην κεφαλή μέτρησης και λειτουργούν σε συνδυασμό με δύο ψήκτρες (Peltier devices). Η θερμοκρασία μπορεί να πάρει τιμές μεταξύ -7 και $+7^{\circ}\text{C}$ από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος (LI-COR Biosciences 2005).

Όταν ένα φύλλο εσωκλειστεί στο θάλαμο του LICOR 6400 η υγρασία μέσα στο θάλαμο μέτρησης τείνει να ανεβεί. Αυτό εξισορροπείται με την ροή του ξηρού αέρα που επιστρέφει στο θάλαμο από τον αναλυτή στην περίπτωση που ο αποξηραντής έχει χρησιμοποιηθεί. Το ποσό της διαπνοής μπορεί να υπολογιστεί από την αλλαγή της υγρασίας, εάν υπάρχει, σε σχέση με τον χρόνο και το ποσό της ροής του ξηρού αέρα. Το ποσό της διαπνοής στην συνέχεια χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με τις θερμοκρασίες του φύλλου και του αέρα για τον υπολογισμό της συνολικής αγωγιμότητας του φύλλου και της στοματικής αγωγιμότητας. Οι δείκτες της φωτοσύνθεσης που υπολογίστηκαν ήταν οι εξής:

- Ο ρυθμός φωτοσύνθεσης (A). Η μέτρηση της φωτοσύνθεσης είναι απλή και αξιόπιστη διαδικασία. Όταν το φύλλο κλειστεί στο θάλαμο μέτρησης και με την προϋπόθεση ότι το φως, η θερμοκρασία και η υγρασία διατηρούνται σχετικά σταθερές, αποκαθίσταται ένας σταθερός ρυθμός μεταβολής (μείωσης) της συγκέντρωσης του CO_2 στο εσωτερικό του θαλάμου. Ο καθαρός ρυθμός φωτοσύνθεσης αφομοίωσης εκφράζεται σε $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

- Ο ρυθμός διαπνοής (E) που εκφράζεται σε $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

- Η στοματική αγωγιμότητα (gs). Η αγωγιμότητα των στομάτων είναι το αντίστροφο της στοματικής αντίστασης και εκφράζεται σε $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

- Η ενδοκυτταρική συγκέντρωση του CO_2 (Ci). Η συγκέντρωση του CO_2 στους μεσοκυττάριους χώρους Ci υπολογίζεται από το ρυθμό αφομοίωσης και την αγωγιμότητα των στομάτων (Taiz & Zeiger, 2006). Η ενδοκυτταρική συγκέντρωση του CO_2 εκφράζεται σε $\mu\text{mol CO}_2/\text{mol}^{-1}\text{air}$.

7. Προσδιορισμός της συνολικής χλωροφύλλης των φύλλων

Για τη μέτρηση της συνολικής χλωροφύλλης των φύλλων χρησιμοποιήθηκε ο φορητός μετρητής χλωροφύλλης SPAD-502 (Minolta Camera Co., Osaka, Ιαπωνία), που ζυγίζει 225 γραμμάρια, μετρά επιφάνειες φύλλων εμβαδού 0,06 cm² και παρέχει ενδείξεις χλωροφύλλης σε αυθαίρετες μονάδες SPAD

Ως πηγές φωτισμού χρησιμεύουν δύο δίοδοι εκπομπής φωτός (Light Emitting Diode, LED), μία για την ερυθρά και μία για την υπέρυθη ακτινοβολία, που είναι τοποθετημένες στην κεφαλή του οργάνου και εκπέμπουν φως σε σειρά όταν η κεφαλή κλείνει. Το φως από τα LEDs δια μέσου του παραθύρου εκπομπής και αφού περάσει δια μέσου του φύλλου που βρίσκεται στην κεφαλή μέτρησης, εισέρχεται στο παράθυρο υποδοχής και μετατρέπεται σε ανάλογο ηλεκτρικό σήμα, που στη συνέχεια μετατρέπεται σε ψηφιακό. Η ακρίβεια των μετρήσεων του SPAD-502 εκτιμάται σε $\pm 1,0$ μονάδες SPAD (Richardson et al. 2002). Ο μετρητής αυτός επιτρέπει γρήγορες μετρήσεις, χωρίς καταστροφή του φύλλου, αλλά παρέχει τιμές που δίνουν σχετικές μόνο ενδείξεις της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης στα φύλλα σε σύγκριση με τις κλασικές μεθόδους εκχύλισης (Yadava 1986, Marquard & Tipton 1987, Yamamoto et al. 2002).

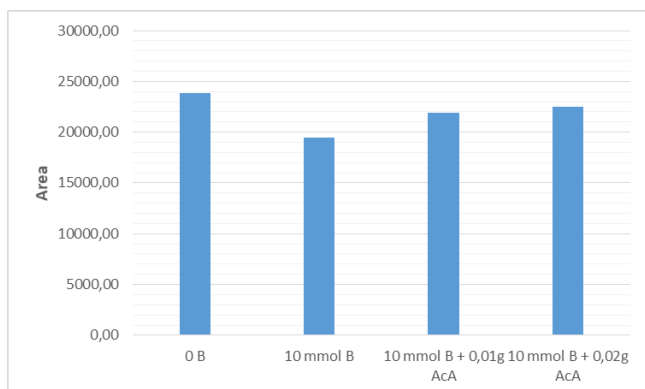
Για την μέτρηση της συνολικής χλωροφύλλης των φύλλων συλλέχθηκαν 3 τυχαία φύλλα από κάθε ομάδα επέμβασης, πλήρως διευρυμένο, υγιές, επίπεδο και ομοιογενές σε χρώμα και μέγεθος. Μετά τον καθαρισμό της επιφανειακής σκόνης από τα επιλεγμένα φύλλα, τρεις μετρήσεις διενεργήθηκαν σε κάθε φύλλο και από αυτές τις μετρήσεις υπολογίστηκε ο μέσος όρος για κάθε ομάδα επέμβασης. Πριν από τη λήψη των μεμονωμένων μετρήσεων, ο μετρητής μηδενίστηκε χωρίς δείγμα στην υποδοχή των δειγμάτων, πιέζοντας το ίδιο πλήκτρο που χρησιμοποιούνταν για τη συλλογή δεδομένων. Κατά την καταγραφή των μετρήσεων SPAD, λαμβανόταν μέριμνα ώστε να διασφαλιστεί η πλήρης κάλυψη της επιφάνειας του φύλλου από τον αισθητήρα μέτρησης SPAD και να αποφευχθούν έτσι οι παρεμβολές από τις φλέβες και τα μεσονεύρια των φύλλων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

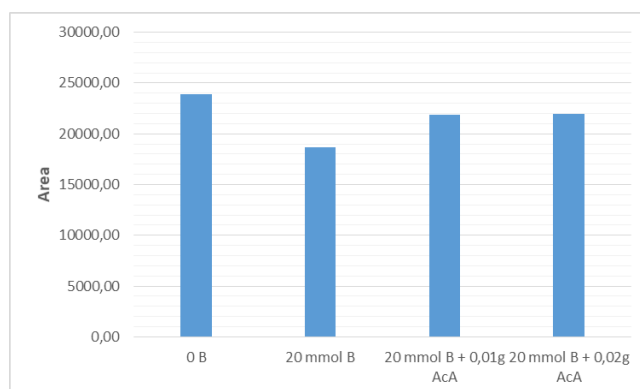
Όλα τα αποτελέσματα που παραθέτονται παρακάτω αποτελούν τον μέσο όρο 3 επαναλήψεων σε κάθε ομάδα επέμβασης.

1. ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ

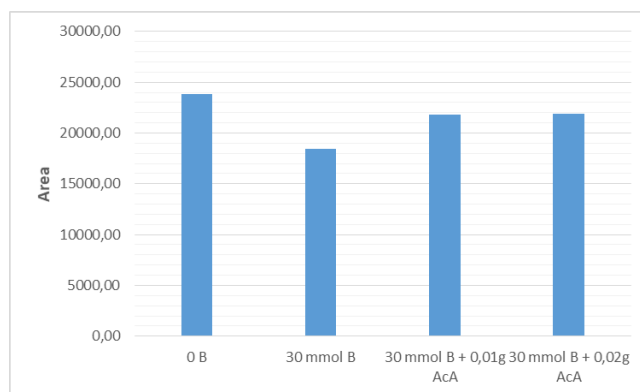
Area								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	23866,67	100,00%	0 B	23866,67	100,00%	0 B	23866,67	100,00%
10 mmol B	19466,67	81,56%	20 mmol B	18666,67	69,48%	30 mmol B	18400,00	77,09%
10 mmol B + 0,01g AcA	21933,33	91,90%	20 mmol B + 0,01g AcA	21866,67	91,62%	30 mmol B + 0,01g AcA	21800,00	91,34%
10 mmol B + 0,02g AcA	22533,33	94,41%	20 mmol B + 0,02g AcA	21933,33	91,90%	30 mmol B + 0,02g AcA	21866,67	91,62%



Σχήμα 1.1



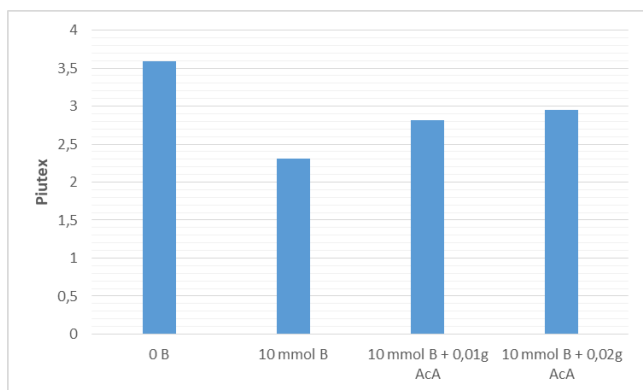
Σχήμα 1.2



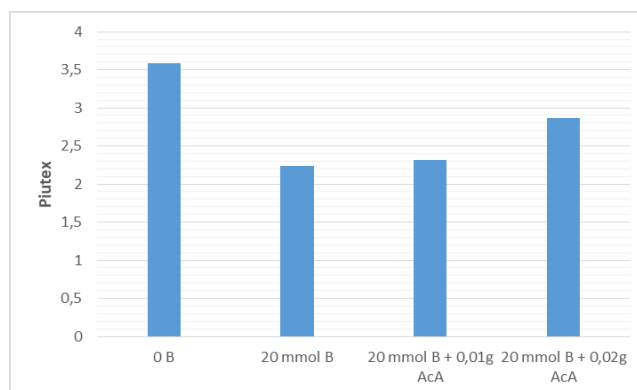
Σχήμα 1.3

Στην τιμή της επιφάνειας (Area) στο Σχήμα 1.1, 1.2 και 1.3 παρατηρούμε πτώσεις στους μάρτυρες των 10 mmol B, 20 mmol B, και 30 mmol B, όμως έχουμε μεγάλη άνοδο μετά την επέμβαση ασκορβικού, που πλησιάζουν προς τον μάρτυρα 0 B.

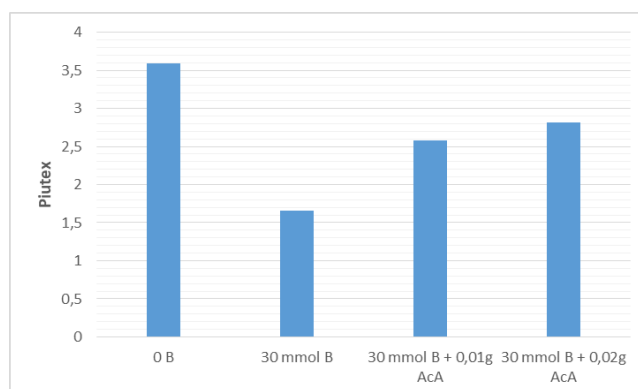
Piutex								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	3,59	100,00%	0 B	3,59	100,00%	0 B	3,59	100,00%
10 mmol B	2,31	64,35%	20 mmol B	2,24	62,40%	30 mmol B	1,66	46,23%
10 mmol B + 0,01g AcA	2,81	78,27%	20 mmol B + 0,01g AcA	2,31	64,35%	30 mmol B + 0,01g AcA	2,58	71,87%
10 mmol B + 0,02g AcA	2,95	82,17%	20 mmol B + 0,02g AcA	2,87	79,94%	30 mmol B + 0,02g AcA	2,81	78,27%



Σχήμα 1.4



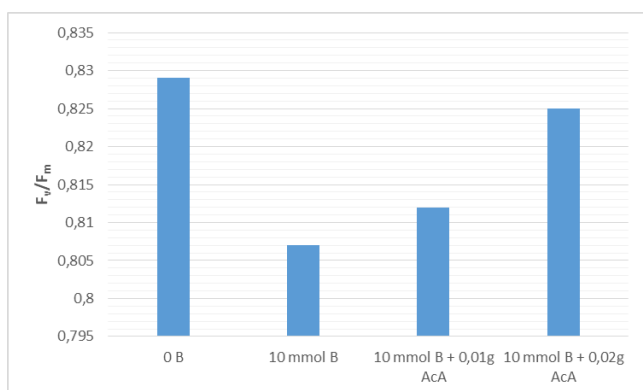
Σχήμα 1.5



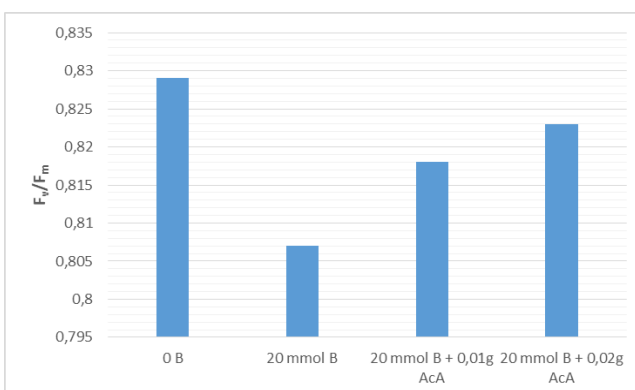
Σχήμα 1.6

Στον δείκτη απόδοσης PI (Photosynthesis Performance Index) στο Σχήμα 1.4, 1.5 και 1.6, παρατηρούμε μεγάλες πτώσεις στους μάρτυρες των 10 mmol B και 20 mmol B, με μεγαλύτερη αυτή των 30 mmol B που πέφτει στο 46,23%. Οι επεμβάσεις ασκορβικού έχουν μια άνοδο, με τα αποτελέσματα να είναι ικανοποιητικά.

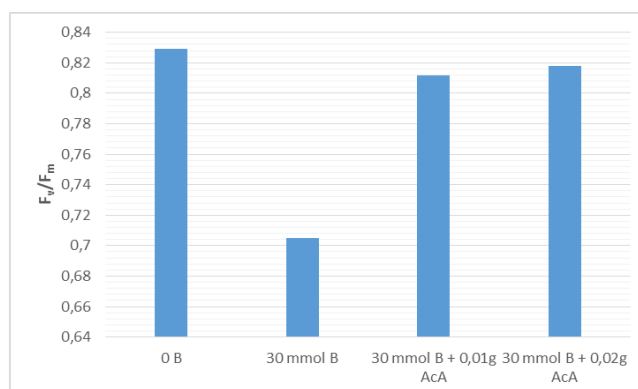
F_v/F_m								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	0,829	100,00%	0 B	0,829	100,00%	0 B	0,829	100,00%
10 mmol B	0,807	97,35%	20 mmol B	0,807	97,35%	30 mmol B	0,705	85,04%
10 mmol B + 0,01g AcA	0,812	97,95%	20 mmol B + 0,01g AcA	0,818	98,67%	30 mmol B + 0,01g AcA	0,812	97,95%
10 mmol B + 0,02g AcA	0,825	99,51%	20 mmol B + 0,02g AcA	0,823	99,28%	30 mmol B + 0,02g AcA	0,818	98,67%



Σχήμα 1.7



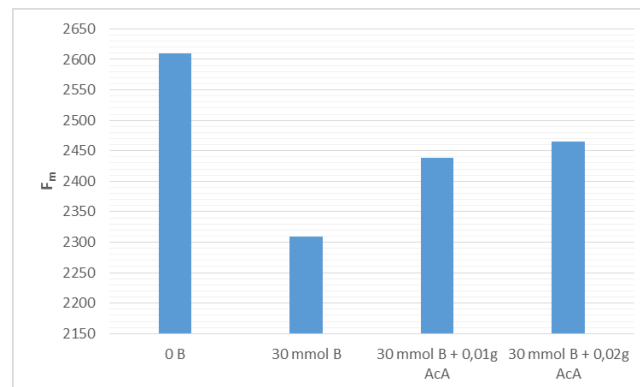
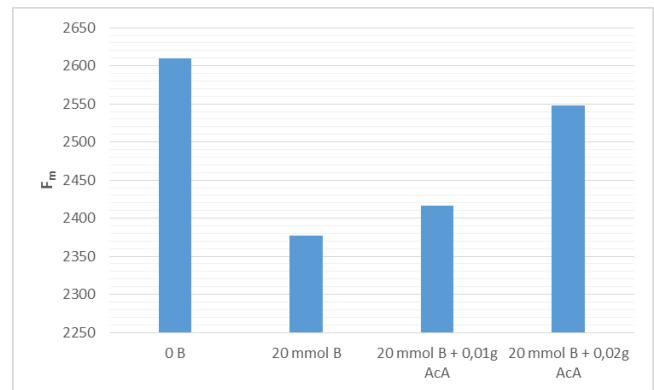
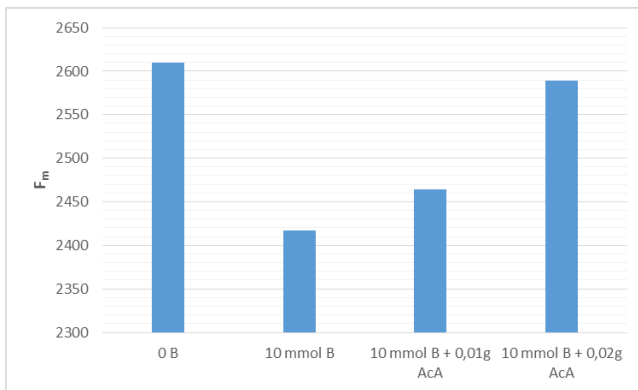
Σχήμα 1.8



Σχήμα 1.9

Στον λόγο F_v/F_m στο Σχήμα 1.7, 1.8 και 1.9, παρατηρούμε ελάχιστη πτώση στους μάρτυρες των 10 mmol B και 20 mmol B στο 2,65%, και λίγο μεγαλύτερη στα 30 mmol B στο 14,96%. Μετά την εφαρμογή του ασκορβικού, όλες οι επεμβάσεις πλησιάζουν κοντά στον μάρτυρα 0 B.

F _m								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	2609,33	100,00%	0 B	2609,33	100,00%	0 B	2609,33	100,00%
10 mmol B	2416,67	92,62%	20 mmol B	2377	91,13%	30 mmol B	2308,67	88,48%
10 mmol B + 0,01g AcA	2464,67	94,46%	20 mmol B + 0,01g AcA	2416,67	92,62%	30 mmol B + 0,01g AcA	2438,33	93,45%
10 mmol B + 0,02g AcA	2588,67	99,20%	20 mmol B + 0,02g AcA	2548,33	97,66%	30 mmol B + 0,02g AcA	2464,67	94,46%



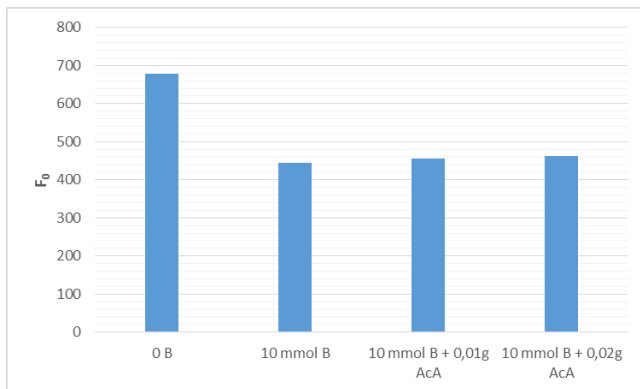
Σχήμα 1.10

Σχήμα 1.11

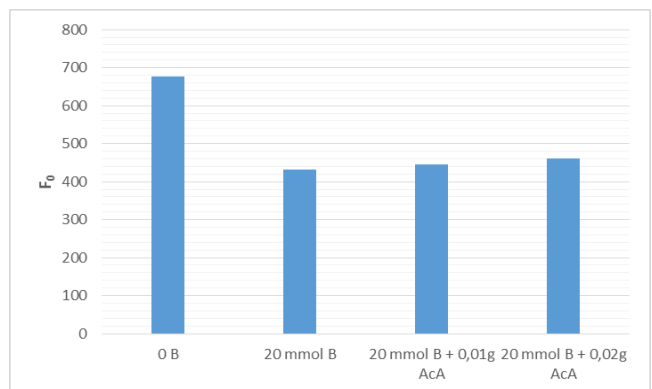
Σχήμα 1.12

Στον μέγιστο φθορισμό (F_m) στο Σχήμα 1.10, 1.11 και 1.12, παρατηρούμε πολύ μικρή μείωση σε όλους του μάρτυρες B περίπου στο 8%, και μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, όλες οι επεμβάσεις βρίσκονται κοντά ποσοστιαία στον μάρτυρα 0 B.

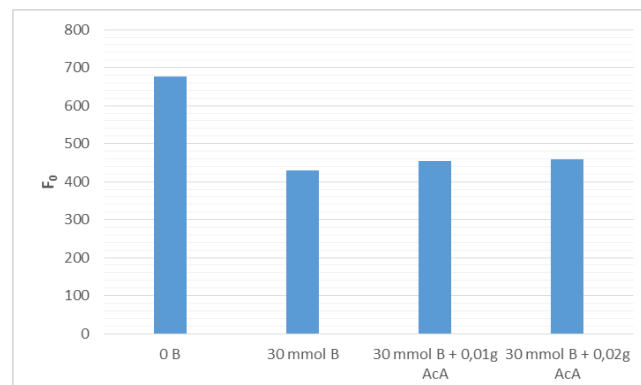
F ₀								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	677,67	100,00%	0 B	677,67	100,00%	0 B	677,67	100,00%
10 mmol B	445,67	65,76%	20 mmol B	431,33	63,65%	30 mmol B	429,47	63,37%
10 mmol B + 0,01g AcA	455,33	67,19%	20 mmol B + 0,01g AcA	445,67	65,77%	30 mmol B + 0,01g AcA	455,33	67,19%
10 mmol B + 0,02g AcA	462	68,17%	20 mmol B + 0,02g AcA	460,33	67,93%	30 mmol B + 0,02g AcA	458	67,58%



Σχήμα 1.13



Σχήμα 1.14

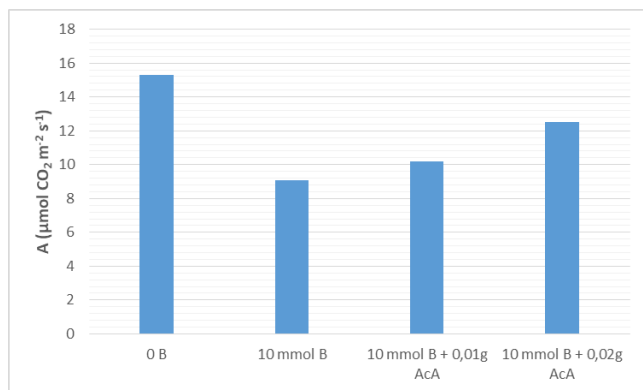


Σχήμα 1.15

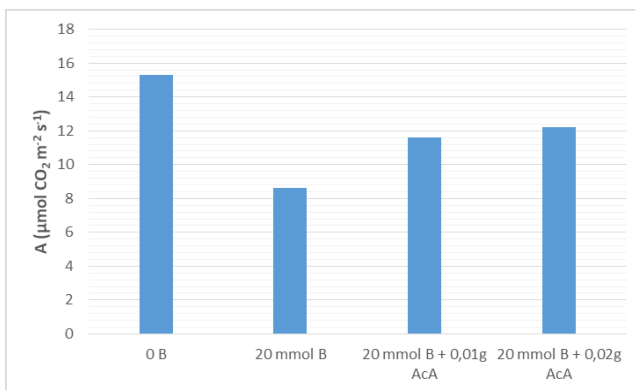
Στον ελάχιστο φθορισμό (F₀) στο Σχήμα 1.13, 1.14 και 1.15, παρατηρούμε πτώσεις σε όλους τους μάρτυρες B γύρω στο 36%, και μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος πολύ μικρή αύξηση, περίπου στο 3-3,5%.

2. ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗ

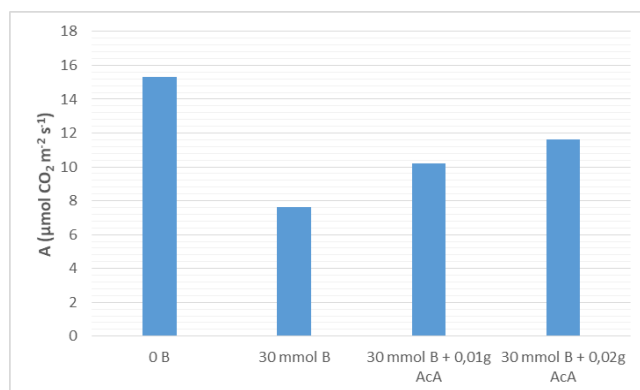
A								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	15,3	100,00%	0 B	15,3	100,00%	0 B	15,3	100,00%
10 mmol B	9,1	59,48%	20 mmol B	8,6	56,20%	30 mmol B	7,6	49,67%
10 mmol B + 0,01g AcA	10,2	66,67%	20 mmol B + 0,01g AcA	11,6	75,82%	30 mmol B + 0,01g AcA	10,2	66,67%
10 mmol B + 0,02g AcA	12,5	81,70%	20 mmol B + 0,02g AcA	12,2	79,74%	30 mmol B + 0,02g AcA	11,6	75,82%



Σχήμα 2.1



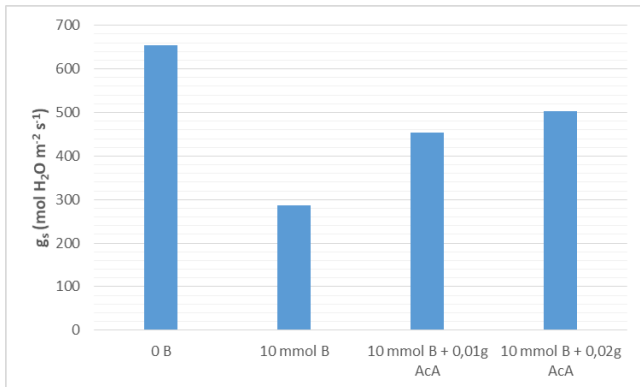
Σχήμα 2.2



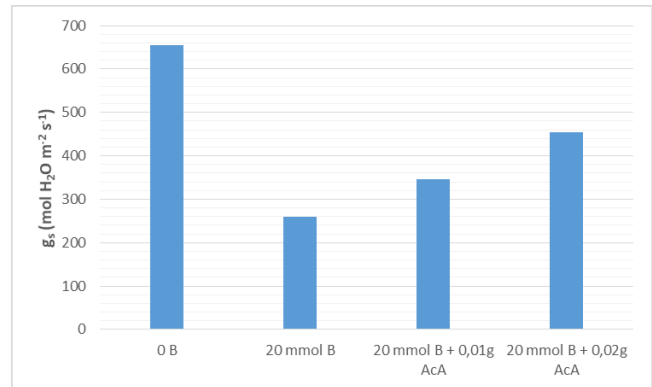
Σχήμα 2.3

Στον ρυθμό φωτοσύνθεσης (A) στο Σχήμα 2.1, 2.2 και 2.3 παρατηρούμε σημαντική μείωση στους μάρτυρες B οι οποίες τείνουν στο 40-50%, και μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, έχουμε άνοδο, ειδικά στην επέμβαση των 30 mmol B που φτάνει στο 30%.

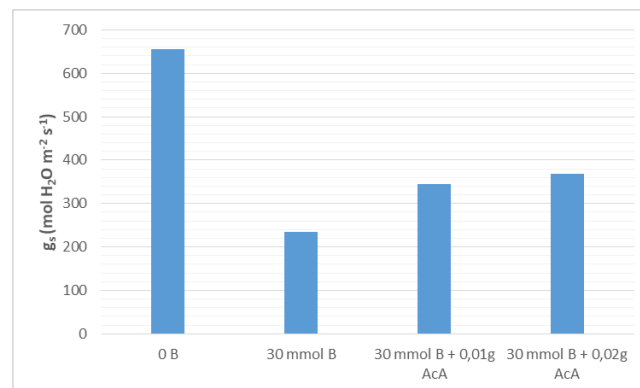
g_s								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	655	100,00%	0 B	655	100,00%	0 B	655	100,00%
10 mmol B	287	43,82%	20 mmol B	259	39,54%	30 mmol B	235	35,88%
10 mmol B + 0,01g AcA	454	69,31%	20 mmol B + 0,01g AcA	345	52,67%	30 mmol B + 0,01g AcA	345	52,67%
10 mmol B + 0,02g AcA	503	76,79%	20 mmol B + 0,02g AcA	454	69,31%	30 mmol B + 0,02g AcA	369	56,33%



Σχήμα 2.4



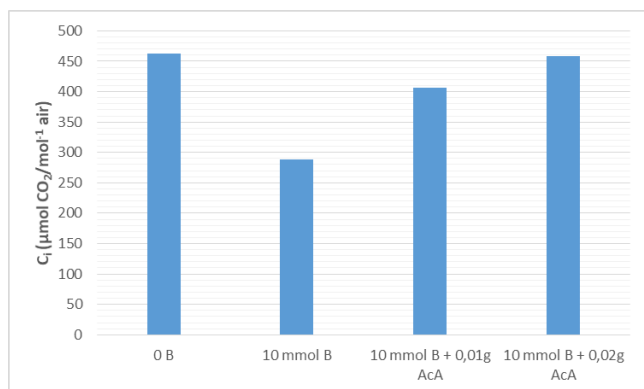
Σχήμα 2.5



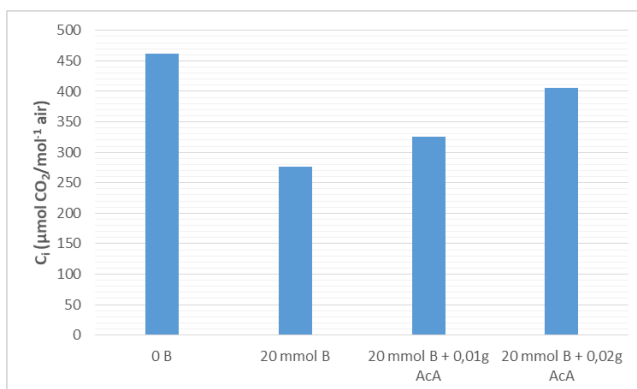
Σχήμα 2.6

Στην στοματική αγωγιμότητα (g_s) στο Σχήμα 2.4, 2.5 και 2.6 σημειώνεται πολύ μεγάλη μείωση στους μάρτυρες B, και μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος βλέπουμε αύξηση περίπου στο 20% στο 0,01g ασκορβικού οξέος, και περίπου 25-30% στα 0,02g ασκορβικού οξέος.

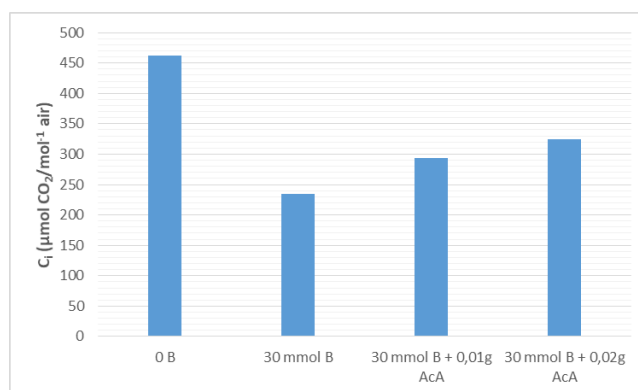
C _i								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	462	100,00%	0 B	462	100,00%	0 B	462	100,00%
10 mmol B	289	62,55%	20 mmol B	277	59,96%	30 mmol B	234	50,65%
10 mmol B + 0,01g AcA	406	87,88%	20 mmol B + 0,01g AcA	325	70,35%	30 mmol B + 0,01g AcA	293	63,42%
10 mmol B + 0,02g AcA	458	99,13%	20 mmol B + 0,02g AcA	406	87,88%	30 mmol B + 0,02g AcA	325	70,35%



Σχήμα 2.7



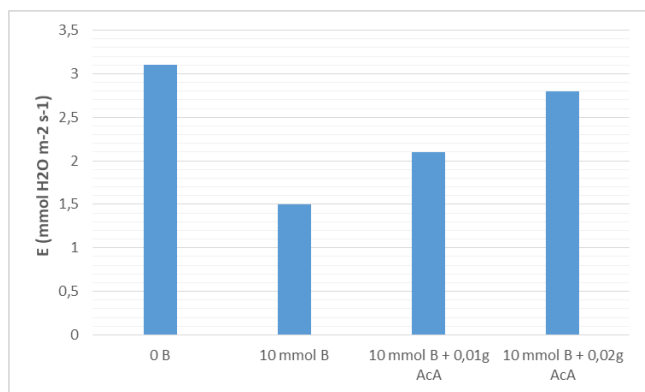
Σχήμα 2.8



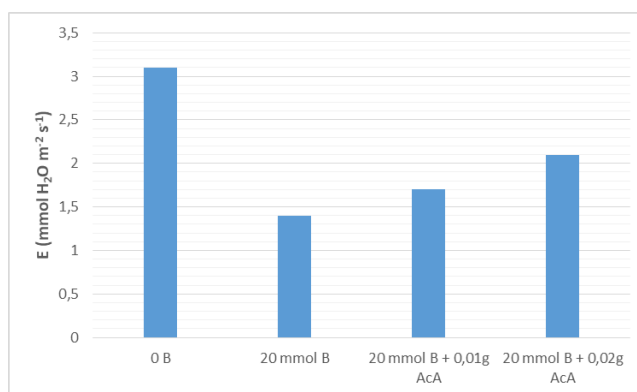
Σχήμα 2.9

Στην ενδοκυτταρική συγκέντρωση CO₂ (C_i) στο Σχήμα 2.7, 2.8 και 2.9, έχουμε μείωση κατά 45% περίπου στους μάρτυρες B, πολύ μεγάλη αύξηση στους χειρισμούς των 10 mmol B όπου η επέμβαση των 0,02g ασκορβικού οξέος τείνει προς τον μάρτυρα 0 B.

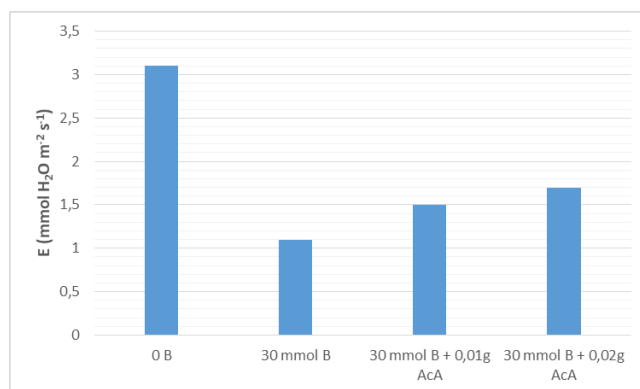
E								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	3,1	100,00%	0 B	3,1	100,00%	0 B	3,1	100,00%
10 mmol B	1,5	48,39%	20 mmol B	1,4	45,16%	30 mmol B	1,1	35,48%
10 mmol B + 0,01g AcA	2,1	67,74%	20 mmol B + 0,01g AcA	1,7	54,84%	30 mmol B + 0,01g AcA	1,5	48,39%
10 mmol B + 0,02g AcA	2,8	90,32%	20 mmol B + 0,02g AcA	2,1	67,74%	30 mmol B + 0,02g AcA	1,7	54,84%



Σχήμα 2.10



Σχήμα 2.11

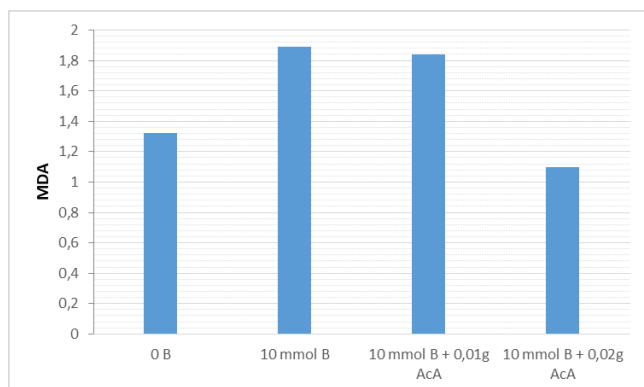


Σχήμα 2.12

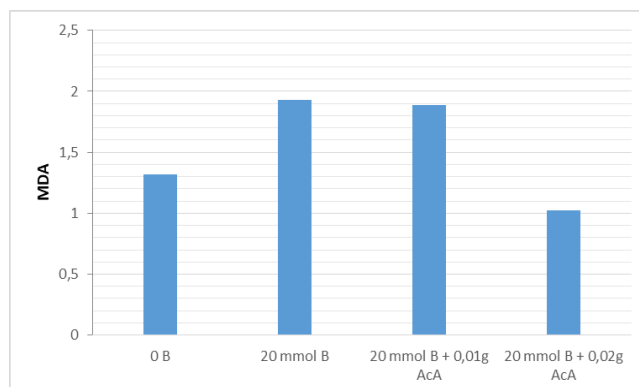
Στον ρυθμό διαπνοής (E) στο Σχήμα 2.10, 2.11 και 2.12 παρατηρείται καταπόνηση στους μάρτυρες B, πολύ μεγάλη αύξηση στους χειρισμούς των 10 mmol B όπου η επέμβαση των 0,01g ασκορβικού οξέος τείνει προς τον μάρτυρα μας, και ίαση στους υπόλοιπους χειρισμούς με ικανοποιητική ποσοστιαία άνοδο.

3. ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗ ΛΙΠΙΔΙΩΝ (MDA)

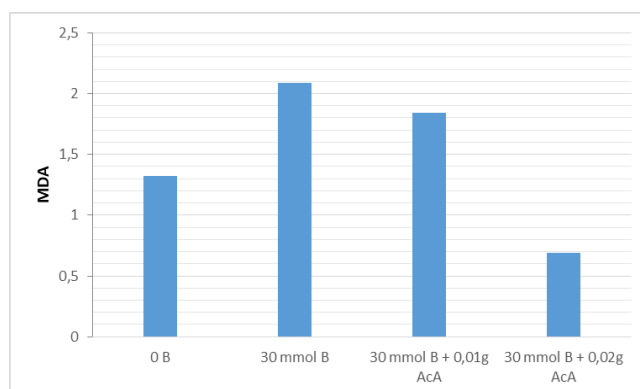
MDA								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	1,32	100,00%	0 B	1,32	100,00%	0 B	1,32	100,00%
10 mmol B	1,89	143,18%	20 mmol B	1,93	146,21%	30 mmol B	2,09	158,33%
10 mmol B + 0,01g AcA	1,84	139,39%	20 mmol B + 0,01g AcA	1,89	143,18%	30 mmol B + 0,01g AcA	1,84	139,39%
10 mmol B + 0,02g AcA	1,10	83,33%	20 mmol B + 0,02g AcA	1,02	77,27%	30 mmol B + 0,02g AcA	0,69	52,27%



Σχήμα 3.1



Σχήμα 3.2

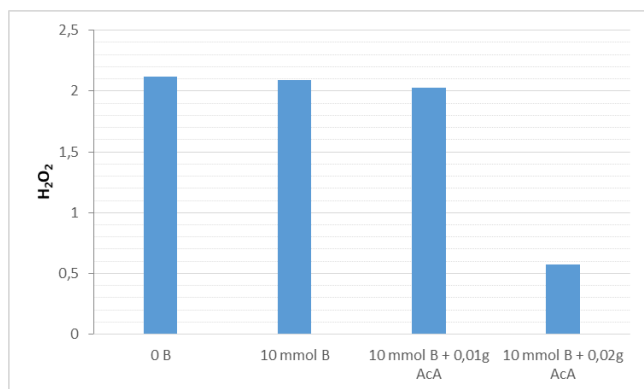


Σχήμα 3.3

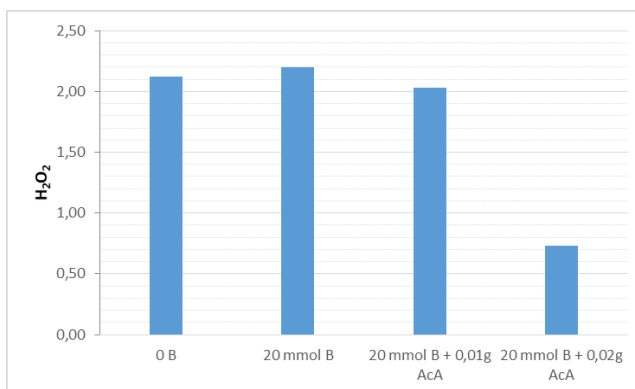
Στην υπεροξειδωση των λιπιδίων (MDA) στο Σχήμα 3.1, 3.2 και 3.3, παρατηρούμε αύξηση γύρω στο 50% σε όλες τους μάρτυρες B, στην επέμβαση του 0,01g ασκορβικού οξέος έχουμε μικρή πτώση, και στην επέμβαση του 0,02g ασκορβικού οξέος έχουμε πτώση, η οποία φτάνει κάτω από τον αρχικό μάρτυρα 0 B.

4. ΕΚΛΥΟΜΕΝΟ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ (H₂O₂)

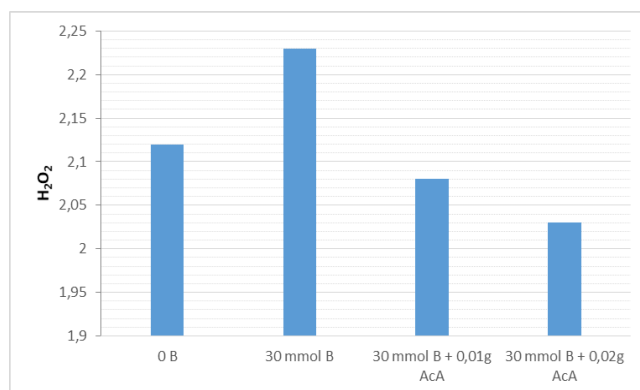
H ₂ O ₂								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	2,12	100,00%	0 B	2,12	100,00%	0 B	2,12	100,00%
10 mmol B	2,09	98,58%	20 mmol B	2,20	103,77%	30 mmol B	2,23	105,19%
10 mmol B + 0,01g AcA	2,03	95,75%	20 mmol B + 0,01g AcA	2,03	95,75%	30 mmol B + 0,01g AcA	2,08	98,11%
10 mmol B + 0,02g AcA	0,57	26,88%	20 mmol B + 0,02g AcA	0,73	34,43%	30 mmol B + 0,02g AcA	2,03	95,75%



Σχήμα 4.1



Σχήμα 4.2

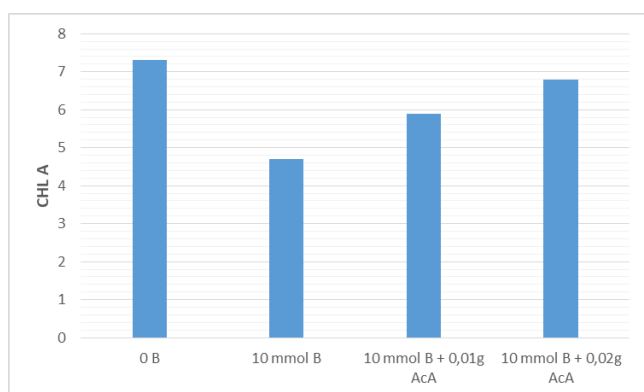


Σχήμα 4.3

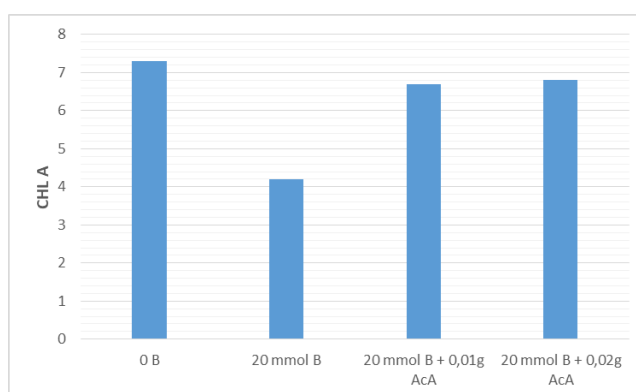
Στο εκλυόμενο υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂) στο Σχήμα 4.1, 4.2 και 4.3, παρατηρούμε μικρή μείωση στον μάρτυρα των 10 mmol B, των 20 mmol B και στην επέμβαση του 0,01g ασκορβικού οξέος, και πολύ μεγάλη μείωση στην επέμβαση του 0,02g ασκορβικού οξέος. Στις υπόλοιπες επεμβάσεις B έχουμε μικρή αύξηση στους μάρτυρες B και μικρές μειώσεις στις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος.

5. ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΕΣ

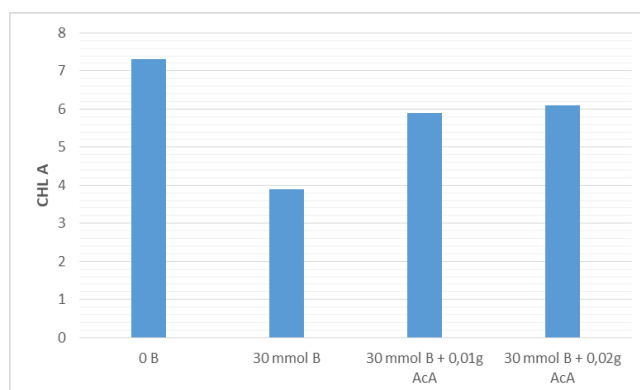
CHL A								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	7,3	100,00%	0 B	7,3	100,00%	0 B	7,3	100,00%
10 mmol B	4,7	64,38%	20 mmol B	4,2	57,53%	30 mmol B	3,9	53,42%
10 mmol B + 0,01g AcA	5,9	80,82%	20 mmol B + 0,01g AcA	6,7	91,78%	30 mmol B + 0,01g AcA	5,9	80,82%
10 mmol B + 0,02g AcA	6,8	93,15%	20 mmol B + 0,02g AcA	6,8	93,15%	30 mmol B + 0,02g AcA	6,1	83,56%



Σχήμα 5.1



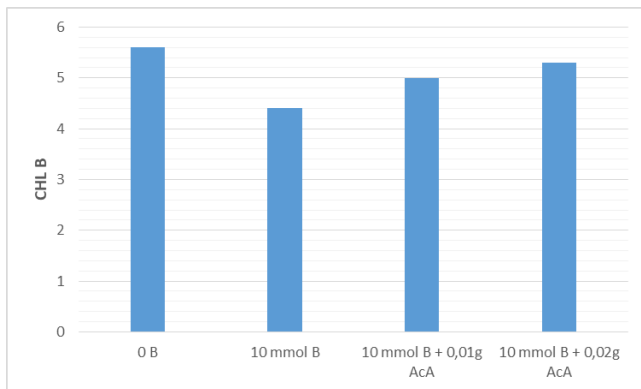
Σχήμα 5.2



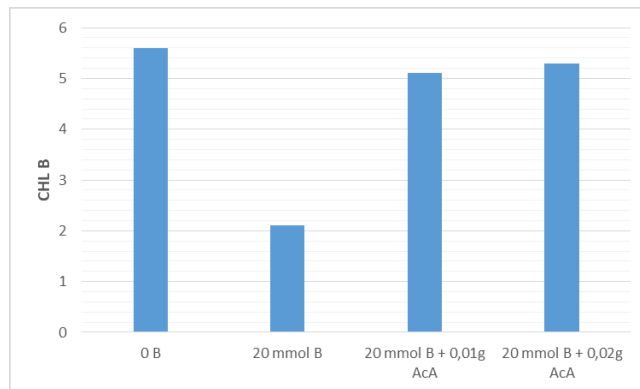
Σχήμα 5.3

Στην χλωροφύλλη a στο Σχήμα 5.1, 5.2 και 5.3, έχουμε μεγάλες μειώσεις σε όλου τους μάρτυρες B, έπειτα έχουμε μεγάλες αυξήσεις μετά τις παρεμβάσεις ασκορβικού οξέος οι οποίες τείνουν προς τον μάρτυρα 0 B.

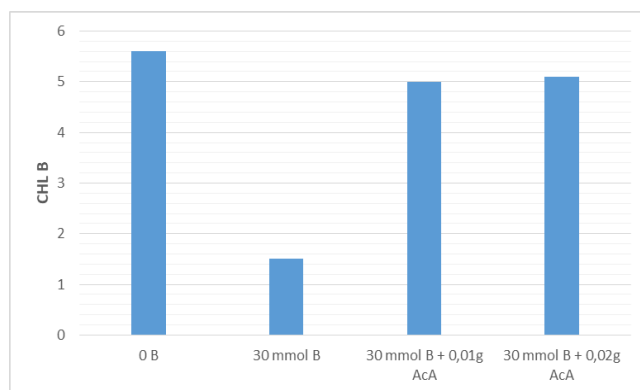
CHL B								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	5,6	100%	0 B	5,6	100%	0 B	5,6	100%
10 mmol B	4,4	78,57%	20 mmol B	2,1	37,50%	30 mmol B	1,5	26,79%
10 mmol B + 0,01g AcA	5	89,28%	20 mmol B + 0,01g AcA	5,1	91,07%	30 mmol B + 0,01g AcA	5	89,28%
10 mmol B + 0,02g AcA	5,3	94,64%	20 mmol B + 0,02g AcA	5,3	94,64%	30 mmol B + 0,02g AcA	5,1	91,07%



Σχήμα 5.4



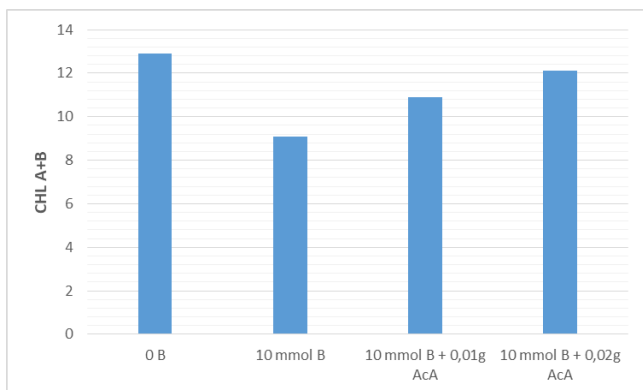
Σχήμα 5.5



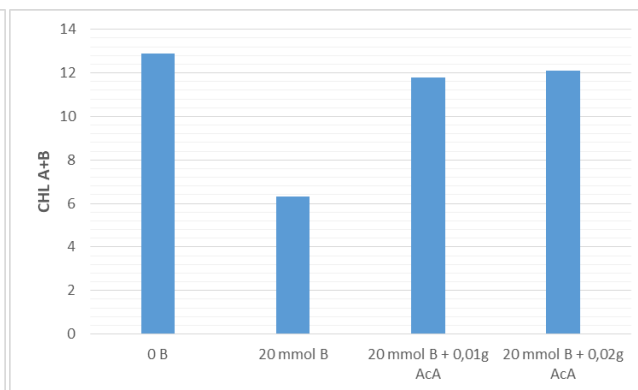
Σχήμα 5.6

Στην χλωροφύλλη b στο Σχήμα 5.4, 5.5 και 5.6, παρατηρούμε μικρή μείωση στον μάρτυρα 10 mmol B, και μεγάλες μειώσεις στους μάρτυρες των 20 και 30 mmol B. Μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, τα ποσοστά αυξάνονται και τείνουν προς τον μάρτυρα 0 B.

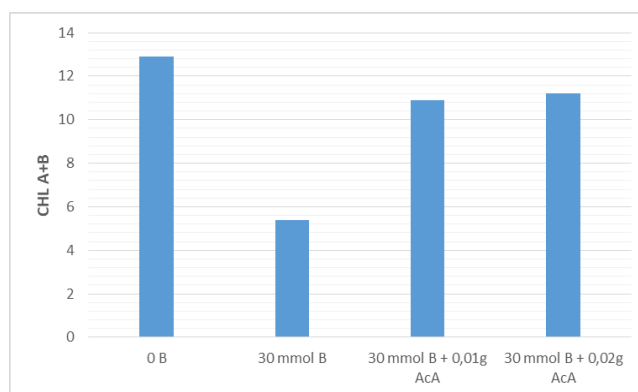
CHL A+B								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	12,9	100%	0 B	12,9	100%	0 B	12,9	100%
10 mmol B	9,1	70,54%	20 mmol B	6,3	48,84%	30 mmol B	5,4	41,86%
10 mmol B + 0,01g AcA	10,9	84,50%	20 mmol B + 0,01g AcA	11,8	91,47%	30 mmol B + 0,01g AcA	10,9	84,50%
10 mmol B + 0,02g AcA	12,1	93,79%	20 mmol B + 0,02g AcA	12,1	93,79%	30 mmol B + 0,02g AcA	11,2	86,82%



Σχήμα 5.7



Σχήμα 5.8

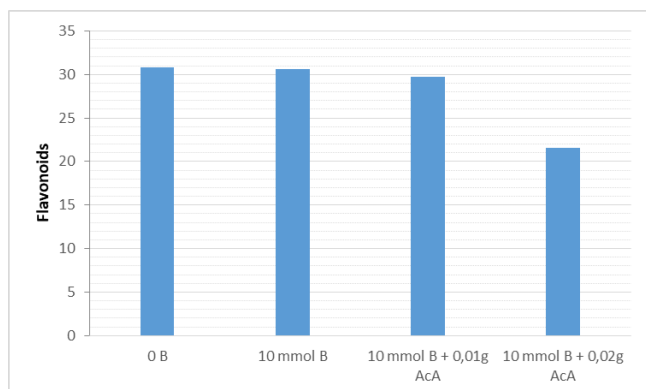


Σχήμα 5.9

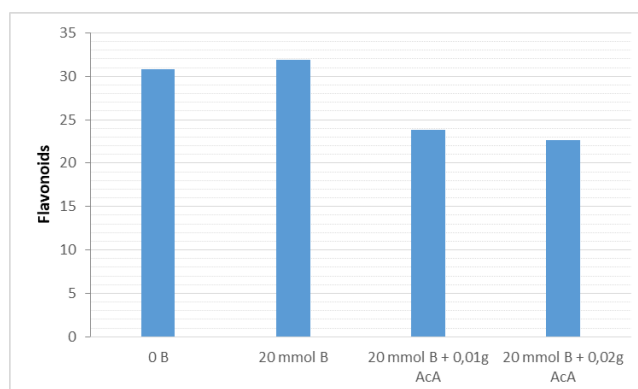
Στις χλωροφύλλες a+b στο Σχήμα 5.7, 5.8 και 5.9, παρατηρούμε μικρή μείωση στον μάρτυρα 10 mmol B, και μεγάλες μειώσεις στους μάρτυρες των 20 και 30 mmol B. Μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, τα ποσοστά αυξάνονται σε ικανοποιητικό επίπεδο.

6. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

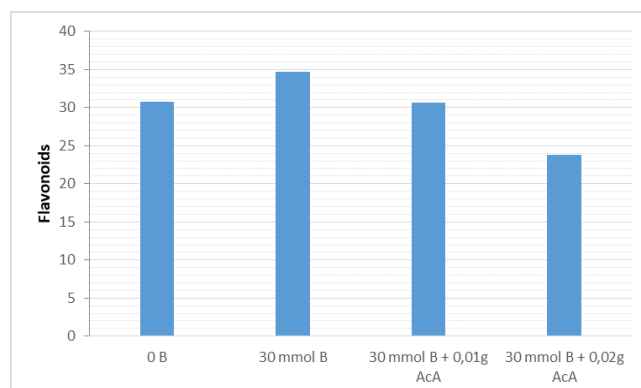
FLAVONOIDS								
10 mmol			20 mmol			30 mmol		
0 B	30,79	100,00%	0 B	30,79	100,00%	0 B	30,79	100,00%
10 mmol B	30,62	99,45%	20 mmol B	31,84	103,41%	30 mmol B	34,68	112,63%
10 mmol B + 0,01g AcA	29,69	96,43%	20 mmol B + 0,01g AcA	23,82	77,36%	30 mmol B + 0,01g AcA	30,62	99,45%
10 mmol B + 0,02g AcA	21,57	70,10%	20 mmol B + 0,02g AcA	22,68	73,66%	30 mmol B + 0,02g AcA	23,82	77,36%



Σχήμα 6.1



Σχήμα 6.2



Σχήμα 6.3

Στα φλαβονοειδή στο Σχήμα 6.1, 6.2 και 6.3, παρατηρούμε μείωση στον μάρτυρα των 10 mmol B, και μικρές αυξήσεις στους μάρτυρες των 20 και 30 mmol B. Μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, έχουμε πτώσεις κάτω του 100% του μάρτυρα 0 B.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η τοξικότητα του βορίου είναι μια σοβαρή θρεπτική ανωμαλία που μπορεί να περιορίσει την αύξηση των φυτών σε πολλές ξηρές και ημίξηρες περιοχές του πλανήτη μας (Nable et al., 1997). Εδάφη πλούσια σε βόριο είναι κυρίως αυτά που προήλθαν από αργιλλώδη θαλάσσια ιζήματα (Nable et al., 1997), δηλαδή είναι θαλάσσιας προέλευσης. Εκτός από τα φυσικώς πλούσια σε βόριο εδάφη, η συγκέντρωση του βορίου είναι αυξημένη σε αρκετά εδάφη λόγω του εμπλουτισμού τους μέσω του νερού άρδευσης, των αστικών και βιομηχανικών αποβλήτων και των λιπασμάτων. Η ανομοιόμορφη εφαρμογή των βοριούχων λιπασμάτων οδηγεί συχνά σε προβλήματα τοξικότητας (Shorrocks, 1997; Jones, 1998). Τα συμπτώματα της τοξικότητας Β είναι η χλώρωση και η νέκρωση των άκρων των φύλλων και τελικά το καψάλισμα και το κάψιμο των φύλλων (Λαμπούδη, 2014). Οι φυσιολογικές επιδράσεις της τοξικότητας Β περιλαμβάνουν μεταβολές στο μεταβολισμό, μείωση της κυτταροδιαίρεσης των ριζών, μείωση της χλωροφύλλης των φύλλων, αναστολή της φωτοσύνθεσης, χαμηλότερη στοματική αγωγιμότητα, μείωση των συγκεντρώσεων λιγνίνης και σουβερίνης στα κύτταρα, αυξημένη διαρροή μεμβράνης, υπεροξειδωση λιπιδίων και τροποποίηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών οδών (Reid κ.α., 2004). Στην παρούσα εργασία θελήσαμε να ερευνήσουμε τις επιδράσεις της τοξικότητας Β καθώς και τον μετριασμό των συμπτωμάτων με προσθήκη ασκορβικού οξέος. Η τοξικότητα Β ήταν εμφανής σε όλες τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν, κάτι το οποίο ήταν αναμενόμενο λόγω των ποσοτήτων Β που εφαρμόσαμε.

Η φωτοσύνθεση είναι μια σημαντική βιολογική διεργασία, με την οποία οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί προμηθεύονται τον άνθρακα και το οξυγόνο, που είναι απαραίτητα για τη θρέψη τους. Τα χλωροφυλλούχα φυτά έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό σε οργανικές ουσίες, όπως γλυκόζη, απαραίτητες για την ανάπτυξη και τη συντήρησή τους. Η φωτοσυνθετική αυτή διεργασία γίνεται με την ενέργεια του ηλιακού φωτός. Η επίδραση της έλλειψης του βορίου στην φωτοσυνθετική λειτουργία έχει διαπιστωθεί ότι είναι έμμεση και όχι άμεση. Κατ' αρχάς, υπό συνθήκες έλλειψης βορίου μειώνονται οι ρυθμοί αύξησης των φύλλων και έτσι προκαλείται μείωση

της ενεργού φωτοσυνθετικής επιφάνειας. Στις συνθήκες αυτές, η πυκνότητα των στομάτων παρουσιάζεται μειωμένη, με μειωμένες διαστάσεις στοματικού πόρου και χαμηλότερες συγκεντρώσεις χλωροφυλλών, συγκριτικά με φύλλα φυτών που αναπτύσσονται σε συνθήκες επάρκειας του στοιχείου (Marschner, 1995; Dell and Huang, 1997). Τα παραπάνω έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της αγωγιμότητας των στομάτων και ως εκ τούτου και τη μείωση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας (Dell and Huang, 1997). Στον ρυθμό φωτοσύνθεσης (A) παρατηρούμε σημαντική μείωση στους μάρτυρες B οι οποίες τείνουν στο 40-50%, και μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, έχουμε άνοδο, ειδικά στην επέμβαση των 30 mmol B που φτάνει στο 30%. Στην στοματική αγωγιμότητα (g_s) σημειώνεται πολύ μεγάλη μείωση στους μάρτυρες B, και μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος βλέπουμε αύξηση περίπου στο 20% στο 0,01g ασκορβικού οξέος, και περίπου 25-30% στα 0,02g ασκορβικού οξέος. Στην ενδοκυτταρική συγκέντρωση CO_2 (C_i) έχουμε μείωση κατά 45% περίπου στους μάρτυρες B, πολύ μεγάλη αύξηση στους χειρισμούς των 10 mmol B όπου η επέμβαση των 0,02g ασκορβικού οξέος τείνει προς τον μάρτυρα μας. Στον ρυθμό διαπνοής (E) παρατηρείται καταπόνηση στους μάρτυρες B, πολύ μεγάλη αύξηση στους χειρισμούς των 10 mmol B όπου η επέμβαση των 0,01g ασκορβικού οξέος τείνει προς τον μάρτυρα μας, και ίαση στους υπόλοιπους χειρισμούς με ικανοποιητική ποσοστιαία άνοδο. Τα αποτελέσματα μας επιβεβαιώνονται και από τους Asad Shah et al., (2017).

Όταν ένα φύλλο φωτίζεται με σταθερή ένταση φωτισμού, η εκπομπή φθορισμού παραμένει σταθερή. Η μέτρηση του φθορισμού αυτού, παρέχει ελάχιστες πληροφορίες για τη φυσιολογική κατάσταση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας. Πολύ χρησιμότερη είναι η παρακολούθηση των μεταβολών του φθορισμού της χλωροφύλλης κάτω από μεταβαλλόμενο φωτισμό και, συγκεκριμένα, κατά τα πρώτα λεπτά μετά τον αιφνίδιο φωτισμό ενός φύλλου που παρέμεινε, προηγουμένως, για κάποιο χρονικό διάστημα στο σκοτάδι. Στην τιμή της επιφάνειας (Area) παρατηρούμε πτώσεις στους μάρτυρες των 10 mmol B, 20 mmol B, και 30 mmol B, όμως έχουμε μεγάλη άνοδο μετά την επέμβαση ασκορβικού, που πλησιάζουν προς τον μάρτυρα H_2O . Στον δείκτη απόδοσης PI (Performance Index) παρατηρούμε μεγάλες πτώσεις στους μάρτυρες των 10 mmol B και 20 mmol B, με μεγαλύτερη αυτή των 30 mmol B

που πέφτει στο 46,23%. Οι επεμβάσεις ασκορβικού έχουν μια άνοδο, με τα αποτελέσματα να είναι ικανοποιητικά. Στον λόγο F_w/F_m παρατηρούμε ελάχιστη πτώση στους μάρτυρες των 10 mmol B και 20 mmol B στο 2,65%, και λίγο μεγαλύτερη στα 30 mmol B στο 14,96%. Μετά την εφαρμογή του ασκορβικού, όλες οι επεμβάσεις πλησιάζουν κοντά στον μάρτυρα. Στον μέγιστο φθορισμό (F_m) παρατηρούμε πολύ μικρή μείωση σε όλους τους μάρτυρες B περίπου στο 8%, και μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, όλες οι επεμβάσεις βρίσκονται κοντά ποσοστιαία στον μάρτυρα. Στον ελάχιστο φθορισμό (F_0), παρατηρούμε πτώσεις σε όλους τους μάρτυρες B γύρω στο 36%, και μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος πολύ μικρή αύξηση, περίπου στο 3-3,5%.

Η υπεροξειδωση των λιπιδίων είναι μια αλυσιδωτή αντίδραση που ξεκινά από μια ελεύθερη ρίζα και κατά την οποία μια ρίζα μπορεί να επάγει την οξειδωση μεγάλου αριθμού λιπιδιακών μορίων, κυρίως φωσφολιπιδίων που περιέχουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA). Τα μονοακόρεστα και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα δεν συμμετέχουν συνήθως στην υπεροξειδωση. Υπεροξειδωση των λιπιδίων διακρίνεται σε 3 στάδια : έναρξη, διάδοση και τερματισμός. Στην έναρξη, παράγεται λιπιδιακή ρίζα ύστερα από αντίδραση μιας ελεύθερης ρίζας με ένα PUFA. Στην συνέχεια η ασταθής λιπιδιακή ρίζα αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο σχηματίζοντας ρίζα υπεροξυλίου. Κατά την διάδοση, ασταθής ρίζα υπεροξυλίου αντιδρά με ένα άλλο PUFA αποσπώντας του ένα άτομο και σχηματίζοντας λιπιδιακό υπεροξειδίο που είναι το πρώτο σχετικά σταθερό προϊόν της σειράς των αντιδράσεων της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. τερματισμός της υπεροξειδωσης των λιπιδίων συμβαίνει με αντίδραση μεταξύ δύο ριζών. Υπεροξειδωση των λιπιδίων δεν εμπλέκεται μόνο στην καταστροφή των μεμβρανικών λιπιδίων αλλά με παραπέρα διάσπαση των λιπιδιακών υπεροξειδίων μπορεί να παράγει τοξικές ενώσεις που είναι συνήθως αλδεύδες με χαρακτηριστικό παράδειγμα την μαλοναλδεύδη (Σαμαράς, 2006) Στην υπεροξειδωση των λιπιδίων (MDA) παρατηρούμε αύξηση γύρω στο 50% σε όλες τους μάρτυρες B, στην επέμβαση του 0,01g ασκορβικού οξέος έχουμε μικρή πτώση, και στην επέμβαση του 0,02g ασκορβικού οξέος έχουμε πτώση, η οποία φτάνει κάτω από τον αρχικό μάρτυρα. Τα αποτελέσματα μας επιβεβαιώνονται και από τους Asad Shah et al., (2017).

Στο εκλυόμενο υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) παρατηρούμε μικρή μείωση στον μάρτυρα των 10 mmol B, των 20 mmol B και στην επέμβαση του 0,01g ασκορβικού οξέος, και πολύ μεγάλη μείωση στην επέμβαση του 0,02g ασκορβικού οξέος. Στις υπόλοιπες επεμβάσεις B έχουμε μικρή αύξηση στους μάρτυρες B και μικρές μειώσεις στις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος. Το φαινόμενο αυτό επιβεβαιώνεται και από την έρευνα των Dongmei Chen et al, 2019 όπου βρέθηκε πως το B προκαλεί αύξηση του MDA και του εκλυόμενου H_2O_2 . Τα αποτελέσματα μας επιβεβαιώνονται και από τους Asad Shah et al., (2017).

Η χλωροφύλλη είναι μια χρωστική ουσία με αντιοξειδωτική δράση (που υποβαθμίζεται από το οξυγόνο, το φως, τη θερμότητα και τη ταυτόχρονη δράση κάποιων ενζύμων). Στην χλωροφύλλη a έχουμε μεγάλες μειώσεις σε όλου τους μάρτυρες B, έπειτα έχουμε μεγάλες αυξήσεις μετά τις παρεμβάσεις ασκορβικού οξέος οι οποίες τείνουν προς τον μάρτυρα 0 B. Στην χλωροφύλλη b, παρατηρούμε μικρή μείωση στον μάρτυρα 10 mmol B, και μεγάλες μειώσεις στους μάρτυρες των 20 και 30 mmol B. Μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, τα ποσοστά αυξάνονται και τείνουν προς τον μάρτυρα 0 B. Στις χλωροφύλλες a+b παρατηρούμε μικρή μείωση στον μάρτυρα 10 mmol B, και μεγάλες μειώσεις στους μάρτυρες των 20 και 30 mmol B. Μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, τα ποσοστά αυξάνονται σε ικανοποιητικό επίπεδο.

Τα φλαβονοειδή είναι πολυφαινολικές ενώσεις με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Η αντιοξειδωτική ικανότητα αυτών των ενώσεων εκδηλώνεται είτε με τον τερματισμό αντιδράσεων ελευθέρων ριζών είτε με την δέσμευση μετάλλων που έχουν καταλυτικές ιδιότητες και καταλύουν οξειδωτικές διαδικασίες όπως υπεροξειδωση των λιπιδίων. Τα φλαβονοειδή παρέχουν ένα άτομο στις ρίζες παράγοντας έτσι ρίζες που είναι σχετικά σταθερές και έτσι δεν ξεκινούν μια νέα σειρά αντιδράσεων ριζών αντιδρούν με άλλες ρίζες τερματίζοντας μια αλυσίδα αντιδράσεων οξειδωτικών διαδικασιών (Σαμαράς, 2006). Στα φλαβονοειδή παρατηρούμε μείωση στον μάρτυρα των 10 mmol B, και μικρές αυξήσεις στους μάρτυρες των 20 και 30 mmol B. Μετά τις επεμβάσεις ασκορβικού οξέος, έχουμε πτώσεις κάτω του 100% του μάρτυρα 0 B.

Οι μετρήσεις έδειξαν εμφανή καταπόνηση των φυτών και των λειτουργιών τους από το B, όμως έδειξαν και απάλυνση της καταπόνησης

αυτής με την προσθήκη ασκορβικού οξέος. Η μεγαλύτερη καταπόνηση υπήρξε στις επεμβάσεις των 20 και 30 mmol B, ενώ στα 10 mmol B υπήρξε καταπόνηση αλλά σε όχι τόσο μεγάλο βαθμό. Η εξυγιαντική επέμβαση με 0,01g ασκορβικό οξύ έδειξε θετικά αποτελέσματα, όμως η επέμβαση με 0,02g ασκορβικού οξέος είχε καλύτερη εξυγίανση των συμπτωμάτων τοξικότητας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

- Ahmadi H. and Bringhurst R.S., 1991. Genetics of Sex Expression in *Fragaria* species. *American Journal of Botany* Vol. 48, No 4 (pp. 504-514).
- Ebru Karabal et al, 2003. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Science*, 164 (2003) pp. 925-933.
- Gunes et al, 2006. Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 110 (2006) pp. 279-284.
- Daniel C. Liebler et al, 1986. Antioxidant Protection of Phospholipid Bilayers by α -Tocopherol. *The journal of biological chemistry*, 261 (15.09.1986) No. 26, pp. 12114-12119.
- Nable, R.O., G.S. Banuelos and J.G. Paull. 1997. Boron toxicity. *Plant Soil* 193, pp. 181-198.
- Shorrocks, V.M. 1997. The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant Soil* 193, pp. 121-148.
- Jones J.B., Jr. 1998. *Plant nutrition - Manual*. CCR Press LLC.
- Dongmei Chen et al, 2019. Effects of boron, silicon and their interactions on cadmium accumulation and toxicity in rice plants. *Journal of Hazardous Materials* 367, pp. 447-455
- Asad Shah et al., 2017. Deficiency and toxicity of boron: Alterations in growth, oxidative damage and uptake by citrange orange plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 145, pp.575–582

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- Βασιλακάκης Μ., 2006. Μικρά οπωροφόρα. Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.
- Κανάκης Α., 2004. Καλλιέργεια λαχανικών στο θερμοκήπιο. Τόμος Β'. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα.
- Βέμμος Σ., 2008. Μικροί καρποί. Μέρος Α'. Πανεπιστημιακές σημειώσεις, Αθήνα.
- Βαρβέρης Λ., 1977. Φράουλα: οδηγός για την καλλιέργεια της. Εκδόσεις Αγροτύπος, Θεσσαλονίκη.
- Δεκάζος Η., 1991. Μικροί καρποί. Τόμος Β'. Κ. Πλέτσας – Ζ. Καρδαρή Ο.Ε. , Αθήνα.
- Μαλκάκης Κ., 2004. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης βορίου σε εδάφη του Νομού Λαρίσης (περιοχή Ελασσόνας) και απεικόνιση των αποτελεσμάτων με τα Γεωγραφικά Συστήματα Πληροφοριών (Γ.Σ.Π) Geographical Information System (G.I.S.). Πτυχιακή Διατριβή. Βόλος.
- Καραγιαννίδης Π., . Ειδική Ανόργανη Χημεία. Τα χημικά στοιχεία και οι ενώσεις τους. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.
- Θεριός Ι., 1996. Ανόργανη θρέψη και λιπάσματα. Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.
- Ταμουτσίδης Ε., 2008. Γεωργική Χημεία. Εκδόσεις +γραμμα, Θεσσαλονίκη.
- Σαράφη Ε., 2018. Η σημασία του Β στην αύξηση και ανάπτυξη φυτών πιπεριάς. Διδακτορική διατριβή. Θεσσαλονίκη
- Παπαχρήστου Χ., 2008. Επίπεδα βορίου σε διάφορες ποικιλίες ελιάς (*Olea europaea* L.). Πτυχιακή διατριβή. Αθήνα
- Μπακογιάννη Α., 2016. Ανάλυση καρπών διαφόρων γενοτύπων του φυτού *Solanum melongena* L. ως προς την περιεκτικότητα σε δευτερογενείς μεταβολίτες και τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Μεταπτυχιακή διατριβή. Πάτρα.

- Αρχοντάκη Ε., Χουχουμή Κ., 2007. Πειραματική μελέτη πάνω στην ανίχνευση της χλωροφύλλης και άλλων δεικτών ποιότητας διαφορετικών τύπων ελαιολάδου και σπορέλαιων για γρήγορο έλεγχο της υποβάθμισης της ποιότητας. Εφαρμογή του Φθορισμού σαν μία εναλλακτική μέθοδο, ελέγχου της ποιότητας του ελαιολάδου. Πτυχιακή διατριβή. Κρήτη.
- Κανέλλος Π., 2009. Προσδιορισμός βιταμινών στην Κορινθιακή σταφίδα. Πτυχιακή διατριβή. Αθήνα.
- Σαμαράς Λ., 2006. Επίδραση της άσκησης στα επίπεδα της οξειδωμένης και της ανηγμένης γλουταθειόνης στο αίμα ανηλίκων αθλητών. Διπλωματική εργασία. Λάρισα.
- Λαμπούδη Χ., 2014. Η τοξικότητα του βορίου (B) στην καλλιέργεια της τομάτας. Πτυχιακή εργασία. Θεσσαλονίκη.
- Γερασιμοπούλου Σ., 2009. Επίδραση καδμίου (Cd) σε μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά φυτών *Nicotiana tabacum* και *Nicotiana glauca*. Διπλωματική διατριβή. Ηράκλειο.